

称号及び氏名 博士（工学） 鵜飼 和也

学位授与の日付 平成 28 年 3 月 31 日

論文名 「植物概日時計システムのモデル化と時空間ダイナミクスの
制御に関する研究」

論文審査委員 主査 杉村 延広

副査 吉田 篤正

副査 三村 耕司

副査 福田 弘和

論文要旨

植物工場とは施設内で植物の生育環境（光、温度、湿度、二酸化炭素濃度、養分、水分等）を制御して栽培を行う施設園芸のうち、環境及び生育のモニタリングを基礎として、高度な環境制御と生育予測を行うことにより、野菜等の植物の周年計画生産が可能な栽培施設である。特に外環境から遮断して人工的に制御された室内環境で栽培するものを完全人工光型植物工場と呼ぶ。高度に施設化された人工光型植物工場は耕作不適地や極地など多様な立地を選ぶことができる可能性を持っており、これまでにない食料生産の技術となることが期待される。

自然環境は通常、地球の自転に伴う日周期変動を持つ。この周期的な環境変動に適応するため、多くの生物は概日時計（体内時計とも呼ばれる）を持っていることが知られている。植物概日時計は時計遺伝子と呼ばれる *Circadian Clock Associated 1 (CCA1)*, *Timing of CAB expression (TOC1)* などの一群の遺伝子が約 24 時間の周期的な発現をすることによって駆動することが知られている。これらの時計遺伝子は植物個体を構成するほとんどの細胞で発現し、転写翻訳において互いに相互作用することが知られている。発現抑制を含む負のフィードバックループを構成することで、外環境の周期的な変動なしに維持される自律振動を実現していると考えられている。植物概日時計を構成する各時計遺伝子は光受容体や各種のストレス応答遺伝子と特異的に相互作用することで、外環境の変化を入力として捉えることができる。一方で光合成を含め多くの重要な代謝ネットワークと相互作用することも明らかとなり、糖代謝産物による時計遺伝子発現の制御機構が報告されるなど、精力的に研究が行われている。さらには米、大豆などの穀物、トマトなどの果菜類の時計関連遺伝

子の同定が報告されるなど、農業への応用が期待されている。

植物概日時計では各細胞が自律振動しながら、互いに相互作用することによって自発的にパターン形成などの時空間的なダイナミクスを示す。したがって植物概日時計の制御とは外環境刺激を入力として局所的な同期の促進、破壊などの時空間ダイナミクスを制御することであると言える。時空間ダイナミクスの制御を実現するためには、パターン形成などの自発的な時空間ダイナミクスを実現するシステムをモデル化し、外環境からの入力を記述することが重要であると考えられる。

本研究では植物の根に着目した。植物の根は培養地からの水分および塩類の吸収、植物体の支持など成長において重要な役割を担う器官である。しかしながら、根の概日時計システムにおける時空間計測についての報告はない。そこで、本研究では植物の根における概日時計システムのモデル化と時空間ダイナミクスの制御の実現のため、遺伝子組み換え植物を用いた概日リズムの時空間計測実験と位相振動子モデルを用いた数値シミュレーションを用いて、植物の根における概日時計システムの数理モデルを構築し、時空間パターンの形成メカニズムや外環境に対する応答を数理的に解き明かす。

本論文は6章構成となっている。以下に各章の構成と概要を記す。

第1章では研究の背景、目的をまとめ、本論文の構成と概要について述べている。

第2章では植物の根における時計遺伝子発現の時空間パターンの発見と観察に基づいたモデル化について述べている。ここでは根における細胞間の自発的な時空間ダイナミクスについて調べるため、遺伝子組み換え植物を用いたルシフェラーゼ発光計測法による概日リズムの時空間計測を行った。その結果、植物の根における概日時計において縞模様ストライプパターンの形成現象を見出した。このストライプパターンは恒常条件下で自発的に形成される脱同期パターンであり、その特徴について整理した。

さらに、観察された時空間パターンを再現できる概日時計システムのモデル化のため、位相方程式で記述される結合振動子系による植物の根の概日時計の数理モデルを構築した。根における概日時計システムに対する外的な入力がない状況を仮定し、自律振動を示す単純な位相振動子が1次元的に配列され、伸長速度に従って一方向に振動子を増やしていくというモデルを構築し、ストライプパターンの形成において実験で観測された先端部の位相リセット効果が重要な役割を果たすことを示した。次に、根の組織構造やストライプの特徴について考察し、位相リセット項を導入し、3次元的に振動子が配列された位相振動子モデルを構築した。実験で観察されたストライプパターンの特徴を再現できることを示した。またパラメータ空間における時空間ダイナミクスを解析し、位相リセット C と結合強度 K に対する時空間パターンの変化を明らかにした。

第3章では作物における時空間パターンの観測結果について述べている。葉も含めて時空間ダイナミクスの計測は実験用モデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis Thaliana*) でしか確認されておらず、作物種における計測が必要である。ここでは、人工環境下での栽培作物において重要品種であり、植物工場で広く栽培されているレタスに着目し、遺伝子組み換え体による時計遺伝子発現の葉および根における時空間計測を行った。作物における時空間パターン現象について検証し、提唱したモデルの有用性を考察した。

葉における時空間計測の結果、葉脈における位相遅れを含む位相波パターンの形成が観測された。葉の一部領域と全体の同期率を比較することでサイズ依存的な同期率の持続を示し、位相波による

時空間ダイナミクスの発生を示した。また、根における時空間計測の結果、縞模様のストライプパターンの形成が観測された。地上部との接合部から先端に向かって進行する移動波パターンであり、伸長速度の変化によって伝播速度が変化するという特徴が見られた。これらの特徴はシロイヌナズナにおいて観測されたストライプパターンの特徴と一致した。

第4章では環境に対する植物の根における概日時計の位相応答関数の推定について述べている。植物概日時計の制御において、各細胞の概日時計が持つ外環境に対する応答関数を求める必要がある。ここでは概日時計の外環境に対する応答関数である位相応答関数を求めるために、根におけるストライプパターンにおける位相分布を利用した温度変化刺激に対する概日時計の位相応答関数の推定を行った。また得られた実験結果は細胞集団の位相応答であることから、細胞集団の位相応答と個々の細胞が持つ位相応答関数との違いを、第2章で構築した位相振動子モデルを用いて考察した。

ストライプパターンを形成している植物の根に対して温度パルス刺激を与え、各位置における局所的な概日リズムの位相応答を観測し、位相応答関数を求めた。この結果は位相分布を持つ状態を利用して一細胞から位相応答関数を推定できることを示している。一方、位相振動子モデルを用いた細胞集団の位相応答の数値シミュレーションの結果、細胞集団の位相応答は同期率依存性があり、特徴的な3次元構造を示すことがわかった。その特徴から高い同期率を持つ集団からは細胞レベルの位相応答を推定できることを示した。一方で同期率が一定以上低下した場合、連続的な位相応答関数をもつシステムにおいても不連続な位相応答が観測されうることを示唆した。実験データで得られる振動量から位相を推定した場合においても位相応答に同期率依存性があることを示した。さらに計測ノイズおよび内因性のノイズを与えた場合においても位相応答に同期率依存性があることを示した。

第5章では植物の根における概日時計の周期パルス刺激による時空間ダイナミクスの制御について述べている。外環境刺激による時空間ダイナミクスの制御を実証するため、ストライプパターンの非24時間周期の周期パルス刺激に対する時空間ダイナミクスを観測と、前章で推定された応答関数を用いた位相振動子モデルにおける数値シミュレーション結果を比較し、時空間ダイナミクスの制御について考察した。

周期パルス刺激の設定において、根における非24時間周期を持つ外環境への同期条件を検討した。簡単のため、概日時計システムとして単一振動子系を想定し、位相応答関数 $Z(\phi)$ から固有振動数と外力振動数との差が一定となる解の存在する範囲を求め、同期可能かつ非24時間周期の外力を設定した。また、設定した外力周期における外力との同期状態におけるロッキング位相を求めた。検討結果に基づき、23時間周期の温度パルス刺激を与えた実験結果において全体の位相分布がロッキング位相に偏り、外力への同期の傾向が見られた。シミュレーションにおいても実験データよりはかなり位相分布が収束したが、さらに周期を重ねることで、より外力に同期していく様子が見られると考えられる。さらに、異なる特徴を持つパターンを示す領域ごとに同期率を計算し、周期パルス刺激による空間的な同期状態を調べた。それぞれの同期率が向上し、脱同期状態であるストライプパターンから周期パルス刺激による同期の促進を行うことができた。

第6章では本論文で得られた結果を総括した。

審査結果の要旨

本論文は、植物生産における育成の向上を目的として、植物の光合成、代謝プロセスなどの基本リズムを構成する概日時計(いわゆる体内時計)システムの計測とモデル化およびその制御について検討したものである。特に、植物の根に着目し、遺伝子組み換え植物を用いた概日時計の時空間計測実験と位相振動子モデルを用いた数値シミュレーションを行うとともに、外環境からの入力に対する応答を計測することにより概日時計の時空間ダイナミクスの制御について研究を行った、その成果を以下にまとめる。

- (1) 植物の根における概日時計システムの時空間ダイナミクスについて調べるため、遺伝子組み換え植物を用いたルシフェラーゼ発光計測法による概日リズムの時空間計測を行った。また、計測結果に基づいて位相振動子モデルを提案し、シミュレーションによる時空間ダイナミクスの解析を行った。
- (2) 植物工場で広く栽培されているレタスに着目し、葉および根における時計遺伝子発現の時空間計測を行った。これにより、(1)で提案した位相振動子に基づくモデルが、レタスなどの栽培作物の概日時計システムの解析にも適用できることを示した。
- (3) 環境に対する植物の根の概日時計システムの位相応答関数の推定を行った。特に、一固体の植物に対する計測実験により位相応答関数の推定可能であること、細胞集団の位相応答は同期率依存性があり特徴的な3次元構造を示すこと、を示した。
- (4) 植物の根における概日時計の周期パルス刺激による時空間ダイナミクスの制御について検討した。すなわち、23時間周期の温度パルス刺激を与えた実験結果およびシミュレーション実験において全体の位相分布がロッキング位相に偏り、温度パルス刺激への同期の傾向が見られることを明らかにした。

以上の諸成果は、植物における概日時計システムの計測と制御に関する新しい知見であり、植物工場における生産効率の向上に寄与するものである。また、申請者が自立して研究活動を行うに必要な能力と学識を有することを証したものである。

学位論文審査委員会は、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。