

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	上本 恭平
論文題目	地上部と根の概日時計間におけるシグナル伝達とその機能		
(論文内容の要旨)			
<p>植物の概日時計に関しては、細胞内のフィードバックループに加えて、オルガネラ間や組織間といったより大きいスケールでのフィードバックループの存在が報告されている。しかし、個体内の離れた器官間の情報伝達に着目した研究はなかった。本研究では、地上部と根に着目し、その間で輸送される栄養素 (ショ糖とイオン) がこれらの間で時間情報を伝達していることを明らかにし、その意義についての洞察を得ることを目的とした。</p> <p>先行研究から、ショ糖が時計遺伝子 <i>PSEUDO-RESPONSE REGULATOR 7 (PRR7)</i> の発現を制御することで、概日時計の調節を行うことが知られていたが、これらは植物体全体を用いた解析であったため、ショ糖の輸送が実際に根の概日時計に対して影響を与えるかは不明であった。本研究では、根のみを対象とした解析により、根に輸送されるショ糖量は地上部の概日時計による制御を受けること、ショ糖量に応じて <i>PRR7</i> を含む複数の時計遺伝子の根における発現量が変動することを明らかにした。これらの結果は、根の概日時計が地上部よりも鋭敏にショ糖シグナルに応答し、地上部の概日時計によって制御されるショ糖の産生・輸送が、根の時計遺伝子の発現を制御することを示している。</p> <p>時計遺伝子中で <i>PRR7</i> が特に鋭敏にショ糖に応答したことから、次に、根の <i>PRR7</i> の機能を解析した。根の概日時計は陽イオンの吸収や輸送を制御すること、また、これらの陽イオンおよびその欠乏シグナルは概日リズムの周期や位相に影響することから、根の <i>PRR7</i> が栄養の取り込み・輸送を介して地上部に時間情報伝達している可能性が考えられる。接木実験および欠乏条件を用いた実験により、根の <i>PRR7</i>、またカリウムイオン (K^+) の輸送が、それぞれ、地上部における概日リズムの安定化に寄与していることが明らかになった。導管液中のイオン濃度を時系列解析したところ、<i>PRR7</i> が K^+ を含むイオン濃度の制御に関与していることが明らかとなったことから、K^+ の輸送は根の <i>PRR7</i> の下流で機能し、地上部における概日時計の安定化に寄与している可能性が示された。</p> <p>さらに、共同研究によって新たに確立した数理モデルを用いることで、地上部と根の相互結合がノイズの影響を強く受ける地上部の概日リズムの安定化に寄与していることを理論的に示した。直接的に示すことは出来なかったものの、<i>DCMU</i> による光合成阻害が K^+ の輸送を阻害し、同時に地上部における概日リズムの安定性を低下させること、根の <i>PRR7</i> がイオンの取り込みに間接的に関わる <i>AUTOINHIBITED H^+-ATPASE 1 (AHA1)</i> を制御する可能性を示すデータが得られていることなどから、植物は糖および K^+ の輸送を介して地上部と根の間で時間情報を相互に伝達しており、<i>PRR7</i> が両方向のシグナル伝達において重要な働きをしていると考えられる。</p> <p>これらの結果から、植物は器官レベルという大きなスケールでシグナル伝達を行うことで、概日リズムの安定性を維持していることが示された。このことは、概日時計の機能を明らかにする上で、器官や組織の違いを考慮した解析が必要であることを意味する。根から地上部へと輸送された K^+ の蓄積量が葉肉細胞でも柵状組織の細胞と海綿状組織の細胞で異なることが示唆されていることから、K^+ がどのように概日リズムの安定性を制御しているかを明らかにするためには、葉肉細胞を柵状組織と海綿状組織に分けて解析する必要がある。そこで、既報の方法に改良を加えることで新たな方法を確立した。</p> <p>本研究によって、(1) 地上部の概日時計によって制御されたショ糖シグナルが根の <i>PRR7</i> を含む時計遺伝子の発現制御を行うという地上部から根への時間情報伝達メカニズム、(2) 根の <i>PRR7</i> による K^+ 輸送の制御が地上部における概日リズムの安定化に寄与するという根から地上部への新規の時間情報伝達メカニズム、の二つが存在することを明らかにした。さらに、これらのシグナル伝達が互いに協調して概日リズムの安定性に寄与している可能性が示された。本研究で明らかとなった器官レベルでのフィードバックループの存在は、植物における概日時計の構造を理解する上での重要な知見であり、今後の植物における概日時計研究に新たな視点を与えるものと考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

概日時計は、単細胞の原核生物であるシアノバクテリアから菌類、植物、動物に至るまでほとんどの生物で見られる仕組みであり、地球の自転に伴う 24 時間の周期的な環境変動を予測することで適応度の向上に関わる。そのため、概日リズムの安定性の制御は生物にとって重要である。移動できない植物は、ダイナミックに変動する環境の影響を大きく受けるため、いかに安定した概日リズムを実現することは特に重要である。植物では、これまでに時計遺伝子間で形成されるマルチフィードバックループが概日リズムの安定性に重要であることが知られており、また、より高次のオルガネラ間や組織間のフィードバックループも概日リズムの制御に重要であることが示されている。さらに、地上部から根へは糖や時計タンパク質自身が輸送されて時間情報を伝えていることが示されているが、こうした器官間の時間情報伝達が概日リズムの安定化につながっているかは不明であることは示されていたが、どのようなメカニズムで概日リズムの安定化が実現されているかについては明らかにされていなかった。これを踏まえて、申請者は、地上部と根の間で輸送される栄養素に着目して研究を行った。

申請者は、まず、これまでに予想はされていたものの詳しい解析が行われてこなかった地上部から根への糖の輸送とその影響を器官別に評価し、時計遺伝子のひとつである *PRR7* が根においてもっとも顕著に地上部からの糖シグナルに応答していることを明らかにし、地上部から根への糖輸送が実際に器官間の時間情報伝達物質であることを示した。次に、接ぎ木や取り込まれた栄養素の定量などを通じて、根における *PRR7* の機能を解析し、根から取り込まれた K^+ などの栄養素の量が *PRR7* によって制御されていること、 K^+ 欠乏、*prp7* 変異体では地上部の概日リズムの安定性が著しく低下していることを見出し、根の概日時計によって制御される栄養素が地上部への時間情報伝達物質であること、そして、そうした栄養素はこれまでに知られている、周期や位相、振幅あるいは発現量ではなく、周期の安定性という新たなパラメーターに影響しうることを明らかにした。

申請者は、また、共同研究により、これまでの単純な同質 2 振動子結合モデルを大きく改良した数理モデルによるシミュレーションも行い、性質の異なる 2 つの概日時計が相互に結合することによって、安定性が増すことを明らかにした。こうした結果から、器官間においても概日時計のフィードバック制御が存在することを示唆し、植物は遺伝子レベルから器官レベルまで様々な制御階層において概日リズムの安定性を制御していることが示された。さらに、細胞タイプごとに区別して概日リズムの解析を行うために、柵状組織と海綿状組織の葉肉細胞を簡便かつ選択的に単離する方法を新たに開発し、今後の研究の礎とした。

本研究によって明らかになった器官レベルでのフィードバックループの存在は、植物における概日時計の構造を理解する上での重要な知見であり、今後の植物における概日時計研究に新たな視点を与えるものと評価される。

以上のように、本論文では、生命科学に関する高度で幅広い学識、植物生理学分野と時間生物学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見ならびに概念が示されており、論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、令和 5 年 1 月 31 日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行い、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日