

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2017～2020

課題番号：17KT0022

研究課題名(和文)植物の時間秩序形成過程の観測と理論

研究課題名(英文) Observation and formulation of the coordination processes of circadian rhythms in plants

研究代表者

小山 時隆 (OYAMA, Tokitaka)

京都大学・理学研究科・准教授

研究者番号：30324396

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：昼夜環境への適応するため植物は概日時計システムを利用している。個々の細胞がもつ細胞概日振動子を基本単位に植物個体内で自律的に形成される時間秩序について、植物増殖時、個体加齢時の秩序形成過程や法則、細胞概日振動子の特性を明らかにした。発光概日リズムをしめす形質転換ウキクサを観測することで、クローン増殖する植物の親子間の概日時計の伝達様式と植物体内での細胞振動子の示す時刻の空間的なパターン形成様式を見出した。孤立細胞概日振動子の性質や質的に異なる細胞概日リズムを解明した。それらの結果に基づき、細胞振動子間の結合程度が成熟・加齢に伴い減少する植物個体内時間秩序形成モデルを構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、植物個体増殖する際にどのような時間秩序形成を行うかを初めて明確に示した点で、時間生物学分野で重要な意味を持った。分裂組織から成熟個体まで発生しても細胞間相互作用を軸に、自律的な秩序形成を行えることを示した点で、概日時計システムのみならず、他の様々な細胞自律的システムの時空間的制御の理解を助ける事例となると期待される。本研究で用いたウキクサ植物は近年、産業応用可能な新たな有用植物として期待されており、研究成果の昼夜環境対策などのウキクサ栽培技術への応用に加えて、ウキクサ植物用に本研究で開発された様々な研究手法は今後の応用研究の基盤になると期待される。

研究成果の概要(英文)：The plant circadian system is based on self-sustained cellular oscillations and is utilized to adjust physiological processes harmonically in daily environmental changes. In this research, coordination processes of circadian rhythms in proliferating plants were elucidated; the processes in the development and aging of a plant organ and characteristics of cellular circadian oscillators were understood. By observing transgenic duckweed plants showing bioluminescence circadian rhythms, parent-daughter transmission of time information in the clonally proliferating plants and dynamic pattern formation of time of cellular oscillators in the plant body were elucidated. Circadian properties of isolated cells and a circadian rhythm uncoupled with the cellular oscillator were also analyzed. For the coordination of time in developing plants, a model in which the coupling strength between cellular oscillators is decreasing during the development and aging has been proposed.

研究分野：時間生物学

キーワード：概日リズム 生物発光 植物発生

## 1. 研究開始当初の背景

細胞は生物システムの最も基本的な単位である。単細胞生物はもちろんのこと多細胞生物においても細胞の挙動が組織、さらには個体の挙動を決める基盤となっている。一方で、多細胞生物個体内での個々の細胞の挙動は、細胞固有の性質を軸としながらも外部(個体外)環境および個体内環境に左右される。特に、発生にともない細胞が増殖・分化する際には、個体内環境の影響を強く受ける。植物においては、分裂組織での細胞増殖とその後の分化・成長が発生の基本となるが、これまでの研究の視点は『環境が発生に与える影響』や『発生過程・分化状態の違いが環境応答性に与える効果』など環境と内的現象(反応)とを1方向的にとらえるものが主流であった。本研究課題で解析対象とする概日リズムは外部環境変化(差異)に応答して位相や振幅を変化させるが、その発振装置である概日時計は細胞自律的に働くことがわかっている。しかし、植物において分裂組織で新規に形成される細胞での挙動(あるいは、存在)は不明であるうえ、他の細胞/組織から影響を受けていない細胞でのリズムの挙動も不明であることからわかるように、植物個体内での概日時計の時間秩序形成について細胞の挙動からアプローチするのは困難であった。

植物体の概日リズムの挙動の観測は、概日発現プロモーターで発現させた発光酵素の活性(つまり生物発光)変動をモニターすることで行われてきた。特に、モデル植物であるシロイヌナズナの概日発光形質転換体を利用した解析が進められており、根の伸長時の概日リズム(位相)パターンの形成・維持様式についての研究代表者等らの研究や、子葉・葉での概日リズム(位相)パターンの動的変化などについての研究がなされていた。一方で、シロイヌナズナをはじめとする典型的な植物は立体的に成長するため、その観察対象・範囲が非常に限られていた。

研究代表者は2次元的な植物体をもつウキクサを対象に個体内の細胞概日リズム(パーティクルガン法で導入した生物発光レポーターによる)を単一細胞レベルで長期間観測する技術を開発し、個体内で細胞概日時計の安定性や同調性などについての詳細を明らかにしていた。また、ウキクサの一種であるコウキクサ(*Lemna minor*)で安定的な形質転換体の作出に成功し、シロイヌナズナでは困難であった『増殖する植物個体の概日リズム』をモニターすることが可能になっていた。

## 2. 研究の目的

本研究は、植物の発生・成長過程における自律的な時間秩序の形成原理を細胞レベル、組織レベル、個体レベルなどそれぞれの階層において明らかにするとともに、それぞれの階層をつなぎ統合的に理解するための理論を作ることを目的とした。分裂組織から新たな個体(ウキクサの場合はフロンド)を形成するまでの各成長段階において、細胞概日時計システムの安定性評価と時計時刻の自律的な調整に関する法則を見出し、さらに結合振動子系に関する理論と観測するリズム現象との整合性などを調べることで、植物個体の時間秩序形成の理論背景を提案することを試みた。

## 3. 研究の方法

(1) 概日発光リズム観測。細胞での概日発振をベースにする植物個体の概日リズムの時空間的解析のために、概日リズム発現する生物発光レポーター系を活用した発光イメージング(モニタリング)を行なった。植物材料としては、イボウキクサ、コウキクサ、シロイヌナズナを主に用いた。概日発光レポーターはシロイヌナズナの時計遺伝子 *CCA1* のプロモーターで発現させたホタルルシフェラーゼ遺伝子(*LUC*)を主に用いた。微弱な生物発光検出には主に冷却 EM-CCD カメラを用い、20分~1時間間隔で取得した時系列発光画像をデータとし、生物発光リズムの時空間解析を行なった。観測対象は、細胞、個体(内)(ウキクサの場合は、フロンドと呼ばれる基本単位)増殖する個体(群)(ウキクサの場合は、1つのフロンドから複数の子フロンドが生じ、増殖に伴い親フロンドから子フロンドは分離する)である。個体(組織)レベルの観測には概日発光レポーターをもつ形質転換コウキクサを用いた。単離細胞の細胞概日リズムは、概日発光する形質転換シロイヌナズナから単離したプロトプラスト(由来細胞)を用いた。個体内の細胞概日リズムの観測には、パーティクルガン法による一過的遺伝子導入法を用いた(ウキクサの場合は、~100細胞/フロンドの細胞発光が同時観測可能)。また、パーティクルガン法を用いた解析では、CRISPR/cas9 系エフェクターをレポーターと共導入することで、細胞破壊を行なった。

(2) 2波長発光測定系の開発。単一細胞レベルで2つの発光レポーター活性を同時にモニタリングする系であり、*CCA1:LUC*(細胞時計の挙動:ホタルルシフェラーゼ、黄緑色)と *CaMV35S::PtRLUC*(一般には恒常発現が期待されるが、少なくともウキクサでは概日リズムをもつ:ヒカリコメツキムシ改変ルシフェラーゼ、赤色)をパーティクルガン法でコウキクサに遺伝子導入した。それぞれの波長の発光向けのフィルタの透過光量から、それぞれの元の発光量を推定した。

(3) 結合振動子の数理モデル。フロンド内の動的な位相パターンの説明のため、Myung らが提案した 2 次元の Twist 因子( 瞬時振幅と瞬時振動数が正の相関) をもつ改変ポアンカレ振動子で構成された結合振動子系モデル(*Nature Communications*, 9, 1062, 2018)を用いた。

#### 4. 研究成果

本研究を通して、当初の目的であった増殖する植物体での時間秩序形成の様式( 法則) をコウキクサの概日発光リズムの解析から明らかにした。さらに、概日発光する形質転換シロイヌナズナの単離プロトプラストの概日リズムを細胞単位で観測することに成功し、細胞間相互作用の働かない状態での細胞概日リズムの挙動について明らかにした。また、新たな解析手法の開発などを行う中で、*Wolffiella* という維管束系等がなくなったウキクサの概日リズムが不安定なこと、ウキクサで見られる *CaMV35S:LUC* の発光リズムが *CCA1:LUC* の発光リズムと細胞内で非連結性を示すこと( 2 波長発光レポーター系) CRISPR/cas9 エフェクターによる遺伝子破壊系が導入細胞の染色体倍加度によらず有効なこと、植物の細胞概日時計の昼夜への同調能力は理論的にみても非常に高いこと、などを明らかにした。以下に、それらの研究成果を個別に述べる。

(1) 増殖する植物における自律的な概日リズムの時間秩序形成。当初の目的に対して、概日発光レポーターを持つ形質転換コウキクサの概日発光リズムの時空間的な解析から個体( フロンド) 形成時とフロンド成熟後のフロンド内の時間秩序形成様式について明らかにした。コウキクサでは、親フロンドの左右のポケットから子フロンドが合わせて 10 個以上生じる。恒常明条件下でみられる基本法則として、子フロンドは親フロンドより高い振幅の概日リズムをもって生じてくるといことが挙げられる。ここでの振幅は基本的にはフロンドにある細胞間の概日リズムの同期の程度を意味している。子フロンドはフロンド原基( 分裂組織) から生じるが、シロイヌナズナにおいては分裂組織で高い同期状態が観測されている点と符合する。フロンドが成熟した後は徐々にフロンド内の概日リズムの脱同期が観測され、同期の度合いが低いレベルで維持されることから、少なくとも成熟後はフロンド内の細胞概日リズムの連結性が低いレベルになることが明らかとなった。高い同期状態にあるフロンドでは、恒常明条件下で求心的( フロンド中心に向かう) リズムの位相波が観測された。哺乳類でも同様の概日リズム位相波が観測される臓器( 脈絡叢: 脳内で脳髄液を産出する器官) があり、その現象の説明に使われた結合振動子系の数理モデルがウキクサでの位相波においても非常によく当てはまることがわかった。このモデルでは細胞振動子の振幅が重要であるが、ウキクサにおいてはその振幅を周辺細胞の時計との同期度で表すことでうまく表現できることから、原形質連絡などを通過できる概日リズム性の( 低) 分子やイオンが細胞間同期の介在物質である可能性が考えられた。これらの成果は植物に限らず増殖する多細胞体の時計による時間秩序形成を明確に示した最初の例となった。その成果は *bioRxiv* で発表され、査読雑誌投稿中である(Ueno et al.)。

(2) 細胞間相互作用のない単離細胞の概日リズム特性。概日発光シロイヌナズナ形質転換体から単離したプロトプラスト( 葉由来の葉肉細胞と根由来細胞) の発光概日リズムの解析を行なった。単離細胞でも概日リズムを示すことは知られていたが、多数の細胞のリズムを単一細胞レベルで長期的に観測した例はなかった。外部環境からの擾乱をなくするために恒常暗条件下で行なった観測の結果から、葉由来細胞も根由来細胞も周期の温度補償性や明暗同調性を示すいわゆる概日リズムを持つことを明確に示した。一方で葉由来細胞と根由来細胞を比較すると、葉由来細胞は高振幅だが明暗同調が不正確になり、根由来細胞は低振幅( 減衰型) だが明暗同調の正確性が高い傾向を示した。また、培地中の細胞密度を上げると細胞レベルで概日リズムが安定化し、明暗同調の正確性も向上した。高細胞密度では細胞時計間の相互作用によりリズムの安定化等がおこった可能性が考えられたが、高細胞密度培養をした培養液( 細胞除去後の条件培地) でも同じ現象を引き起こせることから、高密度化の効果は時間的な要素は関係なく細胞自体の安定性等によることがわかった。興味深いことに、リズムの安定性つまり周期の安定性は細胞の状態/ 環境によって大きく変化する一方で、安定性が異なっても細胞時計の周期分布のモードはほとんど変わらないことを明らかにした。つまり、リズムの安定性と周期性のそれぞれに働くメカニズムは異なっていることが示唆された。また、一般的に、高振幅の振動子は低振幅のものと比較して、外部環境の影響を受けにくい、外部環境周期に正確に合わせるためには正確性の高い振動子でなければならない。昼夜( 光/ 温度) 環境は地下部と比べて地上部において非常に大きな揺らぎやノイズを持つが昼夜の環境変動量も非常に大きい。( 高密度時) の葉由来細胞は高振幅/ 高正確性であり、根由来細胞は低振幅/ 不安定であることから、それぞれ地上部と地下部の環境に適した特性をもっていると考えられた。この成果は、葉と根の概日振動システムは、( 個々の細胞レベルでそれぞれ地上部と地下部に適応していることが明らかとなった。これらの成果の一部は査読雑誌で出版済みである(Nakamura, Oyama, *Plant Biotechnology*, 2018)。

(3) *Wolffiella* の概日リズム特性。*Wolffiella* 属は根と維管束がないウキクサのグループであり、子フロンドの出てくる場所も一箇所になった単純化した植物である。この概日リズムを調べたところ、周期長が 24 時間から大きくずれ、不安定になる傾向を示した。シロイヌナズナにおいては、植物体の安定的な概日リズムに維管束系のリズムが重要であることが示されており、維管束系を持たないウキクサでのリズム不安定性も似たメカニズムで生じている可能性が示唆

された。これらの成果の一部は査読雑誌で出版済みである(Isoda et al., *Plant Biotechnology*, 2018)

(4) 2波長発光レポーター系による細胞内非連結性概日リズム。これまでの発光概日リズムは主に *CCA1:LUC* レポーターの活性変動として観測してきたが、*CaMV35S:LUC* もウキクサ類では発光概日リズムを生じることが研究代表者らの研究で明らかとなっていた(Muranaka et al., *Plant Biology*, 2015)。これら2つの発光レポーター活性を同一細胞で同時に観測することを目的に、黄緑色発光 *CCA1:LUC* と赤色発光 *CaMV35S:PtRLUC* を使った2波長発光レポーター系を開発した。これまでは、一般的にもっともよく使用されているホタルルシフェラーゼは波長特性的に赤色のルシフェラーゼと分離するのは難しいと考えられてきたが、発光分離フィルタ/発光比率等を最適化することで、再現性の良い発光強度再構築(計算)を可能とした。非常に興味深いことに、明暗同調していない植物では、*CCA1:LUC* は基本的に全ての細胞が発光概日リズムを生じるのに対して、*CaMV35S:PtRLUC* の細胞発光リズムは同一個体内でもリズムのある細胞とない細胞が出てきた。その状況において、*CCA1:LUC* は同一個体内でも細胞間のリズムの位相が揃っていないのに対して、*CaMV35S:PtRLUC* では、発光リズムが見られる細胞間ではそれらのリズムの位相が揃っていることを明らかにした。また、これら2つのレポーター由来の細胞発光リズムは周期も位相関係も一致しないことから、これらは細胞内非連結性の概日リズムと結論づけられた。植物において同一細胞内で特性が根本的に異なる概日リズムを実証した最初の例となった。また、*CaMV35S:PtRLUC* の細胞発光リズムのメカニズムは不明であるが、細胞周辺の同期度に依存して生じている可能性が考えられ、原形質連絡を透過する様々な代謝産物変動に見られる概日リズムを反映したものとなっているかもしれない。その場合、組織の同期状態依存的な概日リズムの挙動(*CaMV35S:PtRLUC* の細胞発光)と細胞時計の挙動(*CCA1:LUC* の発光リズム)を対比させながら、植物個体内の時間秩序動態を解析することで、細胞時計間の連結性を生み出す実体/様式への新たなアプローチが可能になると期待される。これらの成果は査読雑誌に掲載済みである(Watanabe et al., *Plant Cell Physiology*, 2021)。

(5) CRISPR/cas9 エフェクターの一過的発現系への応用。CRISPR/cas9 エフェクターの一過的導入が、ウキクサの細胞の遺伝子破壊を引き起こすことは研究代表者らの研究で知られていた(Okada et al., *Scientific Reports*, 2017)。ウキクサの染色体は4nのように倍数化していることが多いことが知られているが、シロイヌナズナのような組織非特異的な核内倍加(16n ぐらいまで)は生じていない。シロイヌナズナでもCRISPR/cas9 エフェクターの一過的導入が有効であることを、時計遺伝子 *ELF3* 破壊エフェクターと発光概日リズムレポーターをパーティクルガン法で共導入し、細胞時計破壊の程度を定量的に解析した。また、倍数化個体(4n を基本)と通常個体(2n を基本)とでの破壊効率を比較したところ、ガイドRNAを選べば両者ともエフェクターは十分有効であることを示した。この成果により、シロイヌナズナでのパーティクルガン法による細胞レベルの遺伝子操作の可能性を広げることができた。これらの成果は査読雑誌に掲載済みである(Kanesaka et al., *Plant Biotechnology*, 2019)。

(6) 概日振動子の明暗同調理論。本研究開始前にウキクサの細胞発光リズムを指標に、非24時間明暗周期(12, 16, 20, 24時間)に対する同調可能性を検討し、20時間まではほぼ全ての細胞が同調するが、16時間の明暗周期では同調する細胞としない細胞に別れ、12時間まで短くするとほとんどの細胞がその短い明暗周期に同調できないことを明らかにしていた(Okada et al., *Scientific Reports*, 2017)。それらの同調可能限度および比率がどのように生じのかなど同調可能範囲の一般的な理解につながる数理モデルを構築した。2値的な外部環境周期への振動子の位相依存的な角速度変化(変調)に基づくものであり、ウキクサの細胞時計の周期の分布に基づき、もっとも強い角速度変化(変調)を引き起こす条件でシミュレーションすると、16時間や12時間の明暗周期に同調する細胞としない細胞の比率を再現できることを示した。この結果により、ウキクサの細胞時計は非常に強い同調能をもっていることを示すことができた。また、この理論は一般的な振動子の2値的環境周期への同調可能性を広く扱うことが可能であり、広い応用が期待されている。これらの成果はbioRxivに発表されている(Takakura et al.)。

上記の6項目の研究成果は、当初の研究目的に対して直接的な答えを与えるものに加えて、その同調/振動子間連結メカニズムなどへの新たなアプローチ法へとつながるものであり、今後のさらなる研究発展を期待させるものとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ueno Kenya, Ito Shogo, Oyama Tokitaka	4. 巻 -
2. 論文標題 An endogenous basis for synchronization manners of the circadian rhythm in proliferating Lemna minor plant	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.02.09.430421	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Watanabe Emiri, Isoda Minako, Muranaka Tomoaki, Ito Shogo, Oyama Tokitaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Detection of uncoupled circadian rhythms in individual cells of Lemna minor using a dual-color bioluminescence monitoring system	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Muranaka Tomoaki, Oyama Tokitaka	4. 巻 1098
2. 論文標題 Application of Single-Cell Bioluminescent Imaging to Monitor Circadian Rhythms of Individual Plant Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioluminescent Imaging, Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 231~242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9940-8_17	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kanesaka Yuki, Okada Masaaki, Ito Shogo, Oyama Tokitaka	4. 巻 36
2. 論文標題 Monitoring single-cell bioluminescence of <i>Arabidopsis</i> leaves to quantitatively evaluate the efficiency of a transiently introduced CRISPR/Cas9 system targeting the circadian clock gene <i>ELF3</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 187 ~ 193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.19.0531a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takakura Ren、Ichikawa Masatoshi、Oyama Tokitaka	4. 巻 -
2. 論文標題 A solvable model of entrainment ranges for the circadian rhythm under light/dark cycles	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/683615	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Isoda Minako、Oyama Tokitaka	4. 巻 35
2. 論文標題 Use of a duckweed species, <i>Wolffiella hyalina</i> , for whole-plant observation of physiological behavior at the single-cell level	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 387 ~ 391
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.18.0721a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Shunji、Oyama Tokitaka	4. 巻 35
2. 論文標題 Long-term monitoring of bioluminescence circadian rhythms of cells in a transgenic <i>Arabidopsis</i> mesophyll protoplast culture	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 291 ~ 295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.18.0515a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 小山時隆	4. 巻 24
2. 論文標題 細胞レベルの概日リズム測定からわかる植物の時間秩序	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 時間生物学	6. 最初と最後の頁 16 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Muranaka, T., Oyama, T.	4. 巻 131
2. 論文標題 Monitoring circadian rhythms of individual cells in plants.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Plant Res.	6. 最初と最後の頁 15-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-017-1001-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada, M., Muranaka, T., Ito, S., Oyama, T.	4. 巻 7
2. 論文標題 Synchrony of plant cellular circadian clocks with heterogeneous properties under light/dark cycles.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-00454-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計37件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 中村 駿志、小山 時隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの単離細胞における細胞間コミュニケーションが与える細胞概日リズムの安定性への影響
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊 絵美理、伊藤 照悟、小山 時隆
2. 発表標題 2波長発光レポーター測定系を用いたウキクサの細胞内非連結性リズムの挙動の解析
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊 絵美理、伊藤 照悟、小山 時隆
2. 発表標題 コウキクサにみられる細胞内非連結性概日リズムの解析
3. 学会等名 第27回時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tokitaka Oyama
2. 発表標題 Circadian rhythms and single-cell analysis in duckweed
3. 学会等名 The 5th International Conference on Duckweed Research and Applications, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山時隆
2. 発表標題 細胞から見る植物概日リズム
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会学術大会・シンポジウム「細胞・組織・個体に表出されるリズムの自律性と非自律性の分界」(金沢文化ホール)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村 駿志、伊藤 照悟、小山 時隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの単離した細胞を用いた細胞概日リズムの安定性の解析
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会(大阪大学)
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 渡邊給美理, 伊藤照悟, 小山時隆
2. 発表標題 波長の異なる概日発光レポーターの共導入によるウキクサの細胞内非連結性リズムの観測
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会(大阪大学)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上野賢也, 磯田珠奈子, 伊藤照悟, 小山時隆
2. 発表標題 波長の異なる概日発光レポーターの共導入によるウキクサの細胞内非連結性リズムの観測
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会学術大会(金沢市文化ホール)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊給美理, 伊藤照悟, 小山時隆
2. 発表標題 コウキクサの細胞内非連結性リズムの2波長発光レポーター測定系による検出
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会学術大会(金沢市文化ホール)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉永彩夏, 四方純, 伊藤照悟, 小山時隆
2. 発表標題 弱光および局所的な明暗刺激を与えたウキクサ個体の概日リズムの応答
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会学術大会(金沢市文化ホール)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 磯田珠奈子、小山時隆
2. 発表標題 異なる温度環境下でのウキクサ植物Lemna属とWolffiella属の概日リズム特性の比較
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会学術大会(金沢市文化ホール)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村駿志、伊藤照悟、小山時隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの葉と根における光応答に対する細胞概日リズム特性の解析
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会学術大会(金沢市文化ホール)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tokitaka Oyama
2. 発表標題 Properties of cellular circadian rhythms in plants
3. 学会等名 12th International Congress of the International Plant Molecular Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tokitaka Oyama
2. 発表標題 Single cell circadian analysis in duckweed
3. 学会等名 Plant & Animal Genome Conference 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金坂侑紀,岡田全朗,荒木 崇,小山市隆
2. 発表標題 細胞の概日リズム表現型 に基づいた一過的導入 CRISPR/Cas9システムの定 量的な評価
3. 学会等名 第 6 0 回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊給美理,伊藤照悟,小山市隆
2. 発表標題 植物細胞で2 遺伝子発現同時モニタリングを可能にする2波長発光レポーター測定系の開発
3. 学会等名 第 6 0 回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高蔵蓮,市川正敏,小山市隆
2. 発表標題 明暗周期に対する概日リズムの同期モデリング
3. 学会等名 第 2 5 回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中澤詩風 上野賢也 伊藤照悟 小山市隆
2. 発表標題 クローン増殖中の植物個体間に見られる概日リズムの位相差形成様式の解析
3. 学会等名 第 2 5 回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 磯田珠奈子 小山時隆
2. 発表標題 Lemna 属と Wolffiella 属のウキクサ種間での概日リズム特性の比較解析
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 磯田珠奈子, 小山時隆
2. 発表標題 Wolffiella属のウキクサ植物種の概日リズム特性の比較解析
3. 学会等名 第59回植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村駿志, 伊藤照悟, 小山時隆
2. 発表標題 AtCCA1::LUCシロイヌナズナ葉の単離細胞を用いた単一細胞概日リズム解析
3. 学会等名 第59回植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Minako Isoda, Tokitaka Oyama
2. 発表標題 Characterization of circadian rhythms of a genus of duckweed plants(Wolffiella).
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村 駿志、伊藤 照悟、小山 時隆
2. 発表標題 植物の単離プロトプラストを用いた細胞発光概日リズム測定系
3. 学会等名 第24回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 磯田 珠奈子、小山 時隆
2. 発表標題 自由継続周期の異なる近縁植物(Wolffiella属)を用いた明暗周期に対する概日リズムの同調性の比較
3. 学会等名 第24回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上野 賢也、中澤 詩風、伊藤 照悟、小山 時隆
2. 発表標題 ウキクサ個体内の概日リズムの位相に見られる空間パターンの解析
3. 学会等名 第24回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 村中智明、小山時隆	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 222
3. 書名 村中智明、小山時隆 "植物個体内の単一細胞発光モニタリング" 実験医学別冊 『発光イメージング実験ガイド』 145- 158頁	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	市川 正敏  (ICHIKAWA Masatoshi)  (40403919)	京都大学・理学研究科・講師    (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関