

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：14603

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21428

研究課題名（和文）栄養素を介した根と地上部の間の概日時計のフィードバックループの存在と意義

研究課題名（英文）Existence and significance of a nutrient-mediated circadian clock feedback loop between root and shoot

研究代表者

遠藤 求（Endo, Motomu）

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授

研究者番号：80551499

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：時間情報は近距離および長距離に伝達されており、これが概日リズムの安定化に関わっていると考えられている。器官レベルでは地上部から根への時間情報伝達は示されていたものの、根から地上部への時間情報伝達の有無は不明であり、また、これらが概日リズムの安定化にどう関わっているかも不明であった。

本研究では、根における時計遺伝子PRR7はカリウムの吸収リズムを制御した。さらに、カリウム欠乏培地中で生育させると、地上部の概日リズムの周期が不安定化した。この現象は、接ぎ木によって根だけをprp7にした植物を通常培地で生育した場合でも観察され、変地上部の概日リズムの安定化に関わっていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

フィードバックループによって概日リズムは安定化していると考えられており、これを遺伝子間、オルガネラ間、細胞間と階層化することでより安定なリズムが形成されていると考えられる。本研究ではこれまでに報告されている地上部 根に加えて、根 地上部の長距離シグナル伝達経路を明らかにしたことで、植物でもっとも大きいレベルである器官間でのフィードバックループを強く示唆する結果を得た。

根の概日時計が栄養シグナルを介して地上部の概日リズムを制御することから、植物工場における水耕栽培などにおいては施肥のタイミングも収量や品質に影響しうることを示唆し、新たな制御ターゲットになると期待される。

研究成果の概要（英文）：Temporal information is transmitted over short and long distances, and this is thought to be involved in stabilizing circadian rhythms. Although temporal information has been shown to be transferred from the aboveground to the roots at the organ level, the presence or absence of temporal information transfer from the roots to the aboveground is unknown, and how these are involved in stabilizing circadian rhythms is also unknown. In this study, the clock gene PRR7 in roots regulated the potassium absorption rhythm. Furthermore, when the plants were grown in a potassium-deficient medium, the periodicity of the aboveground circadian rhythm was destabilized. This phenomenon was observed even when plants with grafted prp7 roots were grown on normal medium, indicating that prp7 is involved in the stabilization of the circadian rhythm in the aboveground portion of the substratum. Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

研究分野：概日時計

キーワード：概日リズム 長距離シグナル伝達 シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景

生物は自身の体内に時間を測る仕組みを有しており、中でも約 24 時間を測る概日時計は植物を含め多くの生物において周期的な変動を予測するための仕組みとして重要である。多細胞生物が概日時計による協調的な制御を達成するためには、個々の細胞が持つ時間情報を器官間で共有し、個体レベルで情報を統合する必要がある。動物では、神経性・体液性のシグナルを介して脳(中枢)が持つ時間情報は末梢組織に伝えられる。しかし、神経や血管を持たない植物がどのように時間情報を個体レベルで統合しているかは不明であり、地上部から根への時間情報の伝達には維管束を介した糖シグナルが関わっていることが示唆されているのみであった[James et al., 2008, Takahashi et al., 2015]。

時間情報の伝達についても、明確な中枢が存在する動物では血管や神経を介して脳の時計から抹消臓器の時計へと時間情報が伝達されることが知られている。しかし、明確な中枢を持たない植物がどのように時間情報を伝達しているのか、また、何が情報伝達を担っているのかは不明なままであった。こうした状況において、(1) 光合成を阻害すると根の概日リズムが影響を受けること、(2) 糖を投与すると根の概日リズムが増強されること、(3) 接ぎ木を利用して根を概日時計の変異体にしても、地上部の概日時計が正常であれば根で概日リズムが観察されることが、相次いで報告され、糖が地上部から根への時間情報の伝達物質である可能性が強く示唆された。さらに、申請者の予備実験から根から地上部への時間情報の伝達にカリウムなどの栄養素が関わるということが示唆された。

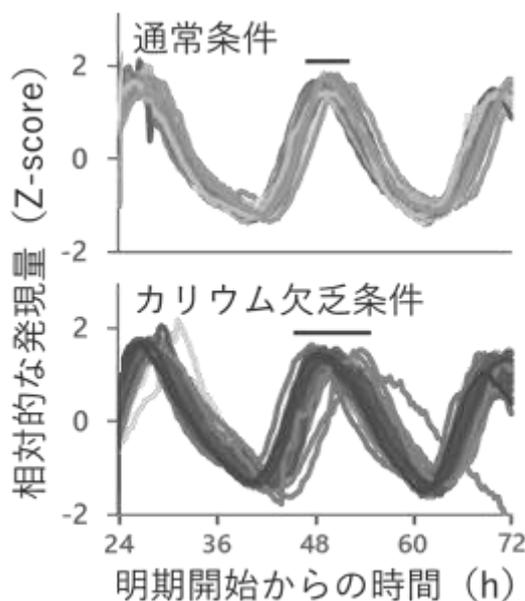
これにより、植物では維管束を介した栄養素が時間情報の伝達を担っており、根と地上部の間にも概日時計の巨大なフィードバックループが存在すると考え、本研究を着想した。

2. 研究の目的

そこで本研究では、**植物が時間情報を伝達・共有する仕組みを解明すると共に、こうした仕組みが実際に植物の適応度を向上させることを証明する**。具体的には、概日周期の不安定性というこれまで着目されてこなかった新たなパラメーターを指標に、維管束を介したカリウムと糖の栄養シグナル伝達こそが植物の地上部と根をつなぐ時間情報の相互伝達の本質であることを明らかにする。

3. 研究の方法

申請者はこれまでに、根から吸収されるカリウムなどの栄養素の道管液中の濃度は概日時計によって制御されていることを予備的な実験から明らかにした。さらに、カリウムを根に添加すると地上部の概日周期が不安定になることを明らかにしており(右図)、植物は根から周期的かつ安定的にカリウムを吸収することを通じて、地上部の概日周期を安定化させていることが示唆された。



(1) 概日時計によるカリウム取り込み制御機構の解明

カリウムの取り込みリズムが道管液中のカリウム濃度を決定する直接的な要因であると考えられ、また、カリウム以外にもマグネシウムやカルシウムなど幅広い陽イオンが植物に周期的に取り込まれていたことから、個々のトランスポーターの活性が概日時計によって制御されているというよりは、H(+)-ATPase など間接的に複数の栄養素の取り込みに関わる因子が概日時計によって制御されている可能性が想定された。

そこで本研究では、時計遺伝子によって発現や活性が制御されている遺伝子の中で、特に膜電位の調節に関わる遺伝子について変異体を取得し、道管液中のカリウム濃度を定量することで概日時計の制御下で栄養素の取り込みに関わる候補遺伝子を絞り込む。H(+)-ATPase の一つである AHA1 の変異体では、概日時計の変異体で見られたのと同様に栄養素の取り込みリズムが消失していることを申請者はすでに確認しており、仮に栄養素の取り込みに関わる他の候補が得られなかった場合についても、以降の実験には影響しない。

AHA1 遺伝子の第一イントロンには時計タンパク質 PRR7 が結合していることが、網羅的な解析から示唆されている。そこで、PRR7 を過剰発現させた植物の根における AHA1 の発現や活性を定量し、AHA1 の機能が PRR7 によって制御されていることを確認する。

(2) 取り込まれたカリウムの濃度リズムが葉の概日時計および糖産生に与える影響の解析

カリウムの欠乏/過剰条件では、植物の地上部における概日周期が不安定化することを申請者は見出している。このことは、カリウムの量ではなく、カリウムのリズムこそが安定的な概日周期を生み出すために重要であることを示唆している。そこで、接ぎ木により道管液中のカリウム量を大きく変化させずリズムだけを喪失させた条件においても、地上部の概日周期の不安定化が観察されるかを確認する。これによって、より生理学的な条件においても、カリウムの取り込みリズムが根の時間情報を地上部へと伝える本質であることを確認する。

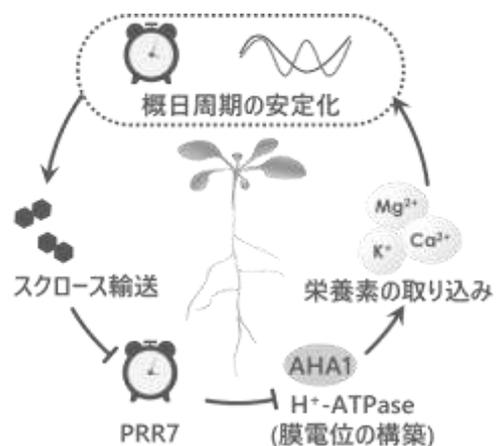
また、こうした概日周期の安定性の低下が単なる栄養不足の結果として生じるのではなく、不適当な環境において自身の適応度を最大化するための戦略として積極的に誘導している可能性を検証する。カリウム欠乏条件では概日時計が示す周期長の幅は 22 時間~26 時間へと通常の 2 倍程度に拡大し、周期長が不安定化する。このことが、変動環境下においては有利な植物個体を生み出すことを示すため、環境に摂動を与えた条件ではカリウム欠乏条件の方が適応度の高い植物が生じやすいかについて検討する。

(3) 地上部からの糖輸送に応答した PRR7 と AHA1 活性の制御機構の解析

カリウムは光合成や糖輸送にも重要な役割を果たしている。根から伝えられたカリウムのリズムはこれらを介して、糖シグナルとして再び根へと伝えられると考えられる。

PRR7 は糖シグナルに反応する時計遺伝子であることから [Haydon et al., 2013, 2015]、**根の AHA1 活性 → カリウムの吸収リズム → 地上部における糖リズム → 根における PRR7 制御**

といった維管束を介した栄養素による時間情報伝達メカニズムが存在すると考えた (図)。



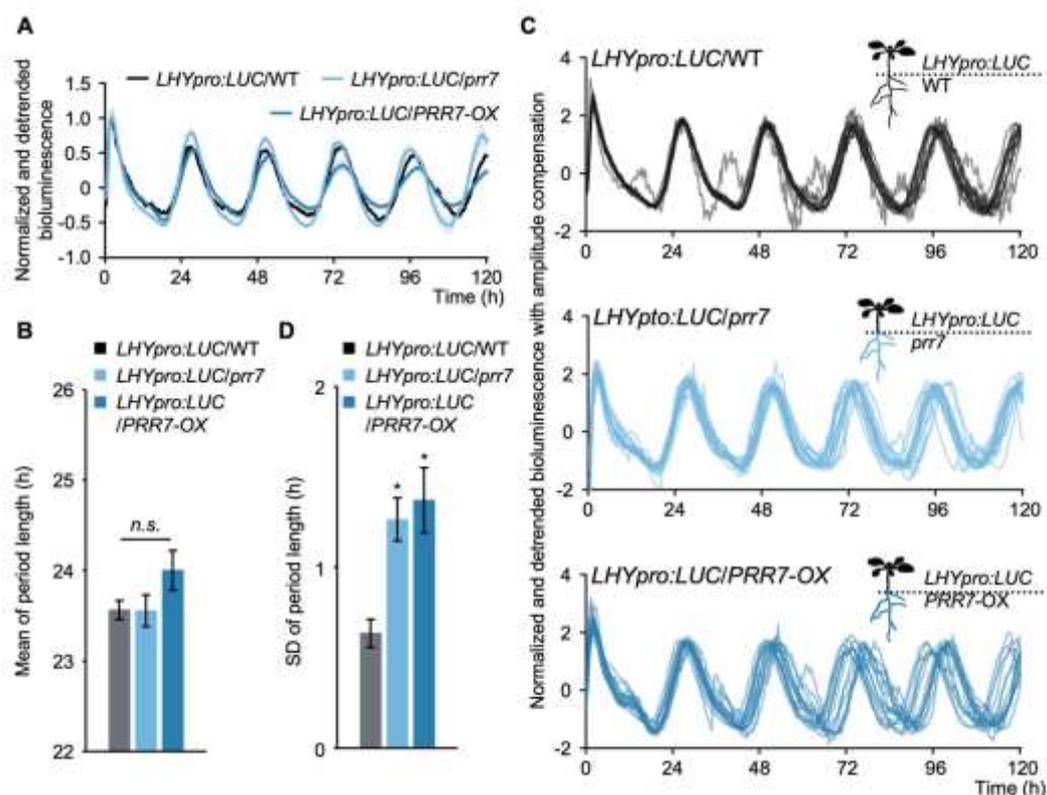
そこで、シヨ糖や光合成阻害剤の投与、接ぎ木による地上部から根への糖輸送を阻害、といった方法により地上部から根へと輸送される糖を人為的にコントロールし、それに応じて根における PRR7 の発現および AHA1 の活性化、道管へのカリウムの取り込みがどのように変化するかを解析する。すでに糖の過剰添加によって PRR7 の発現が抑制され、道管へのカリウム取り込みリズムが消失すること、また、*prp7* 変異体ではカリウムの取り込みリズムが失われることを予備的に見出していた。

4. 研究成果

本研究では、地上部と根の間で輸送される栄養素（シヨ糖とイオン）に着目することで、これらが相互に時間情報を伝達していることを明らかにし、植物の新たな概日リズムの制御様式を明らかにし、その意義についての洞察を得ることを目的とした。

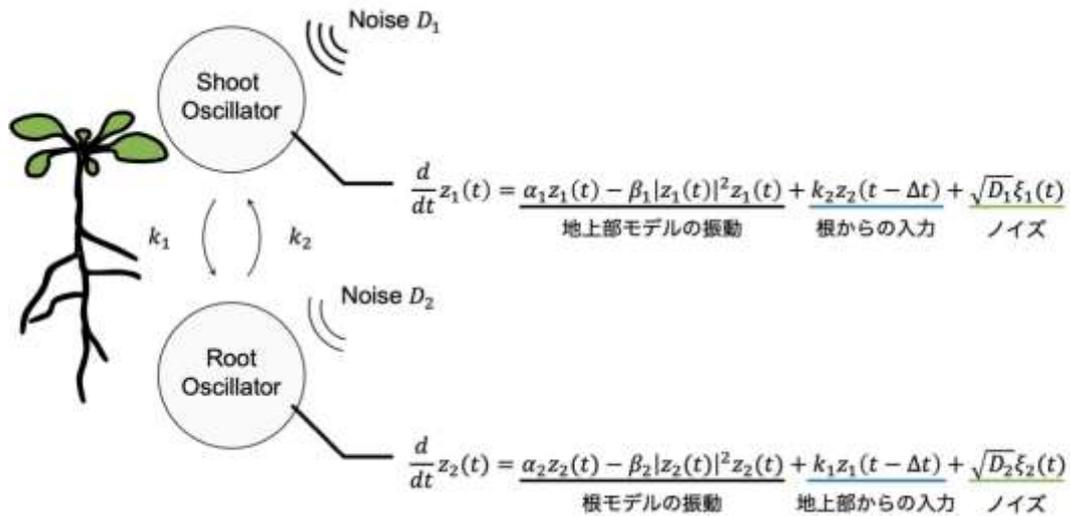
まず、根のみを対象とした解析を行うことで、シヨ糖輸送が根の概日時計に与える影響を詳細に解析した。根に輸送されるシヨ糖量は概日時計による制御を受け、さらに、シヨ糖量に応じて PRR7 を含む複数の時計遺伝子の発現量が変動することを明らかにし、地上部の概日時計によって制御されているシヨ糖の産生・輸送が、根の時計遺伝子の発現を制御することを明らかにした。

時計遺伝子のなかでも PRR7 はとくに鋭敏にシヨ糖に応答したことから、つぎに、根の PRR7 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が知られており、また、これらの陽イオンの欠乏は概日リズムの周期や位相を制御することも知られていたことから、根の PRR7 は栄養の取り込み・輸送を介して地上部に時間情報伝達している可能性を考えた。そこで、接木実験によりこの可能性を検証したところ、根の PRR7 は地上部が示す概日リズムの周期長の維持、すなわち概日時計の精度に重要であることが示された（図）。



興味深いことに、同様の表現型は K^+ 欠乏条件によっても引き起こされていた。そこで、道管液中のイオン濃度を経時的に測定したところ、*prp7* 変異体や PRR7 の過剰発現体では、野生型で見られた道管液中の K^+ 濃度の時間変動が失われていた。こうしたことから、根の PRR7 が K^+ 輸送を制御することで、地上部における概日リズムの安定化に寄与している可能性が考えられた。

こうした根から地上部への時間情報伝達の意義についての洞察を得るため、地上部と根で異なる特性を持つ概日時計が時間遅れをもって相互に結合する数理モデルを構築し、これを用いたシミュレーションから、こうした地上部と根の相互結合は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示した (図)。



地上部から根への時間情報伝達のみを遮断、あるいは、根から地上部への時間情報伝達のみを遮断することは技術的に困難であったことから、実際にこうした相互作用が植物に存在することを直接は示せなかったものの、DCMU による光合成阻害が K^+ 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 PRR7 はイオンの取り込みに間接的に関わっている AHA1 が関与してい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、そこで PRR7 が重要な働きをしていると考えられた。

こうした結果から、PRR7 と K^+ 輸送を介した根から地上部への新規の時間情報伝達メカニズムの一端を明らかにし、これが概日リズムの安定性に寄与していることを明らかにした。こうした結果は、概日リズムの安定化が器官レベルの大きなスケールで起こっていることを意味しており、概日時計の機能を明らかにしていくうえで、器官や組織の違いを考慮した解析が今後必要であることを意味している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hirohata Atsuhiko, Yamatsuta Yuta, Ogawa Kaori, Kubota Akane, Suzuki Takamasa, Shimizu Hanako, Kanesaka Yuki, Takahashi Nozomu, Endo Motomu	4. 巻 -
2. 論文標題 Sulfanilamide Regulates Flowering Time through Expression of the Circadian Clock Gene LUX	5. 発行年 2022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/pcac027	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 Makino Koki, Susaki Etsuo A., Endo Motomu, Asanuma Hiroyuki, Kashida Hiromu	4. 巻 144
2. 論文標題 Color-Changing Fluorescent Barcode Based on Strand Displacement Reaction Enables Simple Multiplexed Labeling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 1572 ~ 1579
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/jacs.1c09844	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 Kon Naohiro, Wang Hsin-tzu, Kato Yoshiaki S., Uemoto Kyouhei, Kawamoto Naohiro, Kawasaki Koji, Enoki Ryosuke, Kurosawa Gen, Nakane Tatsuto, Sugiyama Yasunori, Tagashira Hideaki, Endo Motomu, Iwasaki Hideo, Iwamoto Takahiro, Kume Kazuhiko, Fukada Yoshitaka	4. 巻 7
2. 論文標題 Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger mediates cold Ca ²⁺ signaling conserved for temperature-compensated circadian rhythms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	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） 10.1126/sciadv.abe8132	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 Davis W, Endo M, Locke JCW.	4. 巻 -
2. 論文標題 Spatially specific mechanisms and functions of the plant circadian clock.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant 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） 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 Kon, N., Wang, H., Kato, Y.S., Uemoto, K., Kawamoto, N., Kawasaki, K., Enoki, R., Kurosawa, G., Nakane, T. Sugiyama, Y., Tagashira, H., Endo M., Iwasaki, H., Iwamoto, T., Kume, K., Fukada Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger mediates cold Ca ²⁺ signaling conserved for temperature-compensated circadian rhythms.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advance	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) 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 -

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Motomu Endo
2. 発表標題 Time to update the external coincidence model in Arabidopsis
3. 学会等名 Sapporo Symposium on Biological Rhythm 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森本 隆弘, Carlo F M Gian 粕谷 日向子, 久保田 茜, 高橋 望, 中道 範人, 遠藤 求
2. 発表標題 時計遺伝子PRR7は光受容体phototropinのシグナル伝達系を制御する
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会、オンライン
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上本 恭平, 国本 由美, 森 史, 伊藤 浩史, 江頭 春樹, 久保田 茜, 木下 俊則, 荒木 崇, 遠藤 求
2. 発表標題 栄養素の輸送を介した器官間でのカップリングが概日時計の安定性を高める
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会、オンライン
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yu Leng, Akane Kubota, Nozomu Takahashi, Tatsuaki Goh, Motomu Endo
2. 発表標題 Different root expression patterns of circadian clock in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会、オンライン
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大畑 駿一郎, 高橋 望, 久保田 茜, 遠藤 求
2. 発表標題 組織特異的な時計遺伝子の機能解明
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会、オンライン
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤 祐雅, 久保田 茜, 菅野 茂夫, 村中 智明, 高橋 望, 今泉 貴登, 遠藤 求
2. 発表標題 B-boxファミリーGroupVIは低温下で花成を制御する
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会、オンライン
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保田 茜, 山本 いずみ, 遠藤 求
2. 発表標題 時差ボケ実験から植物の外的符合モデルを再考する
3. 学会等名 第28回 日本時間生物学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yu Leng, Akane Kubota, Nozomu Takahashi, Tatsuaki Goh, Motomu Endo
2. 発表標題 Clock genes show different spatiotemporal expression in Arabidopsis thaliana root
3. 学会等名 第28回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上本 恭平, 国本 有美, 荒木 崇, 遠藤 求
2. 発表標題 地上部-根間での双方向カップリングによる概日周期の安定化の仕組み
3. 学会等名 第28回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akane Kubota, Yusuke Ozaki, Yoshinori Kondo, Motomu Endo, Takato Imaizumi
2. 発表標題 Seasonal cues control the daily expression patterns of FT to optimize flowering time in nature
3. 学会等名 第44回分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池田 ひかり, 内川 大雅, 近藤 洋平, 久保田 茜, 遠藤 求
2. 発表標題 地上部の概日時計による根毛伸長メカニズムの解析
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保田 茜, 近藤 祐雅, 遠藤 求, 今泉 貴登
2. 発表標題 野外環境における光と温度によるFT遺伝子の発現制御機構
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾崎 友亮, 久保田 茜, 今泉 貴登, 遠藤 求
2. 発表標題 高温による花成制御機構の解析
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上本 恭平, 国本 有美, 森 史, 伊藤 浩史, 久保田 茜, 江頭 春樹, 木下 俊則, 荒木 崇, 遠藤 求
2. 発表標題 栄養素の輸送を介した器官間でのカップリングが概日時計の安定性を高める
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内川 大雅, Yu Leng, 近藤 洋平, 久保田 茜, 遠藤 求
2. 発表標題 シロイヌナズナの根を用いた概日時計による発生制御機構の解明
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 廣畑 敦洋, 山蔦 祐太, 小河 香織, 久保田 茜, 鈴木 孝征, 遠藤 求
2. 発表標題 概日時計を介した植物の季節認識機構の制御
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾崎 友亮, 久保田 茜, 今泉 貴登, 遠藤 求
2. 発表標題 日中の高温は朝 FT の誘導を介して花成を促進する
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上本 恭平, 国本 有美, 荒木 崇, 遠藤 求
2. 発表標題 栄養素を介した器官間カップリングによる概日周期安定化の仕組み
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内川 大雅, Leng Yu, 久保田 茜, 遠藤 求
2. 発表標題 植物における3D single cellトランスクリプトーム技術の開発
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣畑 敦洋, 山蔦 祐太, 小河 香織, 久保田 茜, 鈴木 孝征, 遠藤 求
2. 発表標題 概日時計を介した植物の季節認識機構の制御
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣畑 敦洋, 山蔦 祐太, 荒木 崇, 遠藤 求
2. 発表標題 花成時期を制御する新規化合物の同定とその作用機序の解明に向けて
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上本 恭平, 荒木 崇, 遠藤 求
2. 発表標題 栄養素の輸送を介した時間情報伝達が概日時計の安定性を生み出す仕組み
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------