

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19101

研究課題名（和文）器官成長モデリングによる作物の3D構造形成の原理解明と予測技術の開発

研究課題名（英文）Understanding morphogenesis of crop tissue using 3D growth modeling

研究代表者

小出 陽平（Koide, Yohei）

北海道大学・農学研究院・准教授

研究者番号：70712008

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：植物の立体形状は遺伝子と環境の双方によって複合的にコントロールされており、従来の遺伝学のみでは立体構造形成の原理をとらえることは困難である。本研究では、イネのコメの形を決定する穎花の形状をモデルケースとし、物理ベースの数値モデリングにより、器官の立体構造の形成原理を解明することを目的とした。北海道で容易に栽培を行うことができる品種キタアケを用い、発生過程の穎花の概形（縦と横）の測定を行った。その結果、成長方向にパターンがあり、成長過程のあるタイミングでそのパターンが切り替わることが示唆された。定量データをもとに、最終的な形状を記述できるモデルを構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、イネの穎花の成長についてはコメの形をシミュレートできる3次元モデルを構築した。コメは世界の主要な食料の一つであり、その形は食味や収量性だけでなく、食文化などとも関連する重要な形質である。そのため、コメの形状を予測・操作できる技術はイネの品種改良や、食糧生産の安定化にとって重要であると考えられる。得られたモデルを利用することにより、品種ごとのコメの形の違いをモデルパラメーターの違いとして表すことができる。これにより、コメの形の違いをより詳細に操作するための品種改良技術が創出されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Plant tissue shape is controlled by genes and environment. Therefore, it is difficult to fully understand the principles of its development only using genetic based approaches.

In this study, I aimed to construct a tissue growth model for rice grain using computational simulations. The outgrowth of rice grain of Kitaake variety was measured. As a result, the presence of different growth stages (stages I to III) was observed. Using growth parameters specific to these stages, simulation models were constructed.

研究分野：遺伝育種科学

キーワード：イネ

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

作物の器官形状の制御は、古くから育種学・作物学における課題の一つである。これまでに、品種の遺伝的改良や栽培条件の変更等により、器官の形状を制御しようとする試みがなされてきた。これら試みによって、作物の器官の形状をある程度まで制御できるようになっている。しかしながら、自由自在に作物の器官形状を操ることができるかと言われれば、決してそのようなことはない。

では、作物の器官形状をより高度に制御するために必要な技術要素は何であろうか。研究代表者は、このような問いに対し、作物の器官の形を決める設計図に関する知識が足りないことを、答えの一つとして挙げたい。例として、作物の葉の長さを変更したいとする。このとき、葉の長さを長くする遺伝子を、交配などにより導入することで、目的は達成されるとする。これは、通常、このような遺伝子が、細胞の伸長や分裂を制御し、細胞数、あるいは細胞サイズが代わることに起因する。しかしながらここで考えなければならないことは、長さを変更した葉は、付随的に葉全体の形も変更されることが多いということである。つまり、ここでの問題は、我々は、長さの変更が、全体の形にどのような影響を及ぼすか、ほとんど理解していないことにある。植物は3次元的な器官の組み合わせからなる複雑な構造を持っている。上記問題を踏まえると、我々は、個々の器官におけるある特定の部位の大きさの変化が、その周辺の部位にどのように影響し、器官形状をどう変えるのか、よくわかっていないといえる。

近年の計算機技術の発達により、植物の器官の成長過程を、コンピューター上で再現する手法が確立されつつある。この手法では、有限要素法という考え方をを用いている。植物の成長をシミュレートする有限要素法の場合、個々の要素の体積が、単位時間ごとに一定の割合で増加するという仮定を与える。しかしながら、要素同士がつながっているため、個々の要素の実際の体積増加は、隣接する要素の体積増加に影響を受けることとなる。その結果、要素に変形が生じ、器官全体の形状が変化する。

これまでに研究代表者は、器官形状変化のシミュレーションを植物の器官形成に応用する研究を進めている。本研究では、これまでの知見を活かし、作物の器官形状は発生過程でどのように変化するのか、また、その変化をシミュレートすることは可能か、という点について研究を進める。

本研究では、世界の主要な食料の一つであるイネを対象にし、コメの形を決定する穎花（コメの周りにもみ殻）の形状をモデルケースとする。これは、本研究の萌芽要素が強く、比較的簡単な形状で試行する必要があると考えているからである。イネの穎花は、発生初期段階では細胞塊からなる膨らみのような形をしているが、発生過程を経るに従い、2つの扁平のカップ状の立体構造を持つようになる。穎花の形は、複数の遺伝子により制御されており、穎花の形状に従い、コメの形が変わる。コメの形は食味や収量性だけでなく、食文化などとも関連する重要な形質であり、その形状を予測・操作できる技術はイネの品種改良や、食糧生産の安定化にとって重要である。

2. 研究の目的

本研究では、以下を目的としている。

- (1) 発生過程の穎花の形状変化を定量的に把握する。
- (2) (1)に基づき、3次元形状をシミュレートできるモデルを構築する。
- (3) モデルの精度を確認するために、イネのクローナル解析実験系を構築する。

3. 研究の方法

- (1) 穎花発生過程の形状変化の定量

材料に北海道のイネ品種キタアケを用いた。イネは、北海道大学農学部農場および温室において慣行法により栽培を行った。環境が異なる場合の穎花の発生過程の変化を調べるために、農場では、播種日を2週間ずらし2回の栽培を行った。播種後40日以降、幼穂形成期に幼穂のサンプリングを行い、得られた幼穂のうち、上部の特定の部位の穎花を5つサンプリングし、縦と横の長さを測定した。また、同時に穂軸の長さも測定した。これら計測を出穂に至るまで約40日の間継続して行った。

品種が異なる場合の穎花の発生過程の変化を調べるため、イネ品種カサラスを用いて、温室において同様の測定を行った。

縦方向、横方向の形状だけでなく、立体的形状の変化を明らかにするため、発生過程の穎花を共焦点顕微鏡により観察した。発生過程の穎花を固定したのち、染色を行った。共焦点顕微鏡により画像を取得したのち、解析ソフトMorphographXを用いて部位ごとの成長率の算出を行った。

- (2) 穎花形状をシミュレートするモデルの構築

(1) で得られたデータに基づき、有限要素法を基礎としたモデリングソフトGrowthToolBoxを用いて、モデル化を行った。モデルの初期形状は、湾曲した半円とし、穎花の外側部分（外穎）

の成長を模している。プロトタイプモデルを構築したのち、モデルパラメーターを変更し、実際の形状変化に合うモデルを構築した。

4. 研究成果

(1) 穎花発生過程の形状変化

圃場におけるキタアケの発生過程の穎花の縦と横の長さを図 1 に示す。この結果から、穎花の成長過程は 3 つの異なるステージに大別される。まず、縦と横の長さが同時に、比例関数的に増加する期間（ステージ I とする）があり、その後、横の長さの増加に対し、縦の長さは 2 次関数的な増加を示す期間（ステージ II とする）が存在する。さらに、その後、横の長さのみが増加する期間（ステージ III とする）があることがわかる。この傾向は、播種時期を変えた 2 つの反復および温室内での同様の実験においても検出された。

次に、キタアケとは異なる品種（カサラス）を用い、同様の解析を行った（図 1）。その結果、カサラスでは、ステージ II における縦の長さの増加率がキタアケよりも高く、また、ステージ III への移行がキタアケよりも早いことが示された。このように、品種の違いが、ステージにおける器官の成長率の違いやステージの長さの違いをもたらすことが明らかとなった。

さらに、3 次元的な器官形状の測定を行うために、共焦点顕微鏡を用いた発生過程の穎花の観察を行った。共焦点顕微鏡により得られたイメージを MorphographX を用いて解析した。その結果、穎花表面の各部位において成長率の違いがあることが明らかとなった。

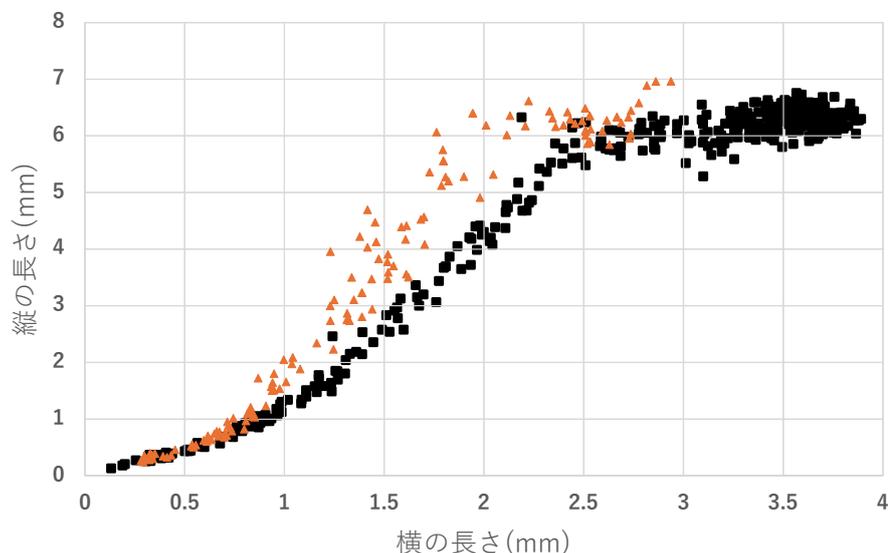


図1. 発生過程の穎花における縦と横の長さ。黒色はキタアケ、オレンジはカサラスのデータを示している。

(2) 穎花形状をシミュレートするモデル

実測により得られた発達過程の穎花の縦と横の成長率の違いに基づき、穎花の発生モデルの構築を行った。(1)で得られた結果は、穎花の成長過程が、異なる 3 つのステージ（ステージ I, II, III）に分けられることを示している。そこで、まず、ステージ I では縦と横が等しく成長し、ステージ II では縦方向の成長率が横方向の成長率よりも大きい非等張的な成長率を持ち、ステージ III では横方向で大きな成長率を持つというモデルを構築した（図 2）。その結果、得られたモデルでは実際の外観と比較して、穎花の横方向の丸みが大きく、また、基部が広がってしまうという特徴がみられた。モデルを改良し、穎花の基部部分の生長を抑制し、かつ、外穎の中央部分の成長率を促進する改良型モデルを構築した。この改良型モデルでは、実際の穎花の外観と比べ、外穎の周縁部分がやや膨らんでいるものの、実際の形状により類似していることがわかる。

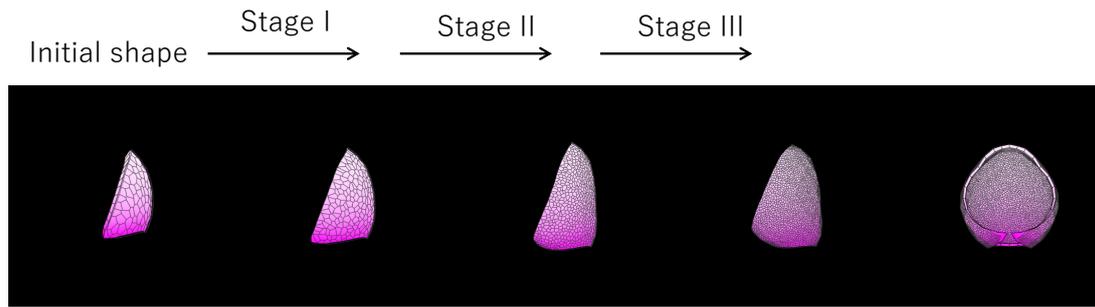


図2. 発生過程の穎花をシミュレートするモデル

(3) モデル検証実験系の構築

共焦点顕微鏡による観察およびモデルを使った実験から、穎花の部位ごとの成長率に違いがあることが示唆された。そこで、これら違いをより明確に可視化するために、イネのクローナル解析系の構築を行った。Cre/loxP システムにより、熱ショック後 GFP が細胞ごとにランダムに発現する系統を作出した。この系統を用いて、最適な熱ショック条件の検討を行った。

(4) まとめ

本研究では、実測値を用いることにより、実際のキタアケの穎花の成長に近いシミュレーションモデルを得ることに成功した。このモデルを改良することにより、他の品種の穎花成長をシミュレートすることができると考えられる。また、穎花の部位ごとの成長率の違いが、モデル上のパラメーターにどのように寄与するのか、今後解析を行うための基盤情報を手に入れることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Tokuyama Yoshiki, Omachi Miku, Kushida Shiori, Hikichi Kiwamu, Okada Shuhei, Onishi Kazumitsu, Ishii Takashige, Kishima Yuji, Koide Yohei	4. 巻 259
2. 論文標題 Different contributions of PROG1 and TAC1 to the angular kinematics of the main culm and tillers of wild rice (<i>Oryza rufipogon</i>)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Planta	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） 10.1007/s00425-023-04300-2	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8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小出陽平
2. 発表標題 イネの捻れ葉変異 twisted leaf blade の解析
3. 学会等名 国立遺伝学研究所研究集会 イネ発生研究のルネサンス
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡田脩平 曳地究 徳山芳樹 小出陽平 貴島祐治 高牟禮逸郎
2. 発表標題 マイクロCTを用いたイネ捻れ葉変異体の表現型解析
3. 学会等名 日本育種学会・日本作物学会 北海道談話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 徳山芳樹 串田菜理 曳地究 貴島祐治 小出陽平
2. 発表標題 フォトグラメトリを利用した野生イネ草姿の三次元解析
3. 学会等名 日本育種学会第142回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 串田菜理 徳山芳樹 貴島祐治 小出 陽平
2. 発表標題 野生イネ分げつの頂端-基部軸まわりの回転運動に関する時系列三次元解析
3. 学会等名 日本育種学会第142回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 曳地究 岡田脩平 徳山芳樹 高牟禮逸郎 貴島祐治 小出陽平
2. 発表標題 イネ捻れ葉変異体における捻れ形成原理の解明と原因変異の遺伝解析
3. 学会等名 日本育種学会第143回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小出 陽平
2. 発表標題 野生イネをモデルとした単子葉植物の草姿形成に関する研究
3. 学会等名 2021年度国立遺伝学研究所 NIG-Joint イネ属近縁野生種研究会 生態・遺伝・進化(招待講演)
4. 発表年 2022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
---------	---------