# 科研費

# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号: 24403 研究種目: 挑戦的萌芽研究 研究期間: 2015~2017 課題番号: 15K12142

研究課題名(和文)野生トランスクリプトームの数理モデリングと植物工場による再現

研究課題名(英文) Mathematical modeling of wild transcriptome and reproduction by plant factory

#### 研究代表者

福田 弘和 (Fukuda, Hirokazu)

大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号:90405358

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文):野生の植物が呈する「固有の遺伝子発現パターン」は、固有の地質や気象、生態系によって形成される固有の生命状態を表し、かけがえのない生物情報である。しかし現在、この生物情報が気候変動によって急速に失われつつある。本研究では、網羅的な遺伝子発現解析(トランスクリプトーム解析)によって計測される生命状態を、人工環境システムによって再現する手法の提案と検証を目的とした。野外に自生する多年草の薬用植物(ツボクサCentella asiatica)を対象に、トランスクリプトームの情報構造を数理モデルとして縮約する技術、植物工場によってそのトランスクリプトームを再現する技術、について基礎研究を行った。

研究成果の概要(英文): An "inherent gene expression pattern in wild plants" represents an inherent life state formed by unique geology, weather, and ecosystem, and is irreplaceable biological information. Currently, however, this biological information is being rapidly lost by climate change. In this research, we aimed to propose and verify a method to reproduce life status characterized by comprehensive gene expression analysis (transcriptome analysis) in artificial environment system. We conducted fundamental research on perennial herbal plants (Centella asiatica) that was naturally growing in the field, in order to establish a mathematical model of the core pattern on the transcriptome for reproducing its pattern by a plant factory.

研究分野: 農業工学

キーワード: 植物環境工学 植物工場 数理生物学 概日リズム 位相方程式

## 1.研究開始当初の背景

環境悪化により日々多く生物情報が失われている。絶滅種・絶滅危惧種といった「ゲノム情報」はもとより、「生命状態の情報」に関する貴重な情報が失われている。例えば、同じ農作物品種であっても、温暖化による環境変化によって生産量や品質が変化していることが知られる。このように、ゲノム情報を確保できても、その種がもつ「固有の生命状態の情報」を定量的かつ緻密に保存できなければ、未来社会において人類は貴重な生物情報を失うことになる。

原理的には、ゲノム情報と環境情報があれば生命状態は再現できる。しかしながら、自然環境を完全に再現することは非常に困難である。本研究室では、LED 光や空調システムにより人工環境下で農作物を作る「植物工場」の研究開発に従事しているが、自然環境の完全な再現は現状においては不可能と言える。したがって、直接的に生命状態の情報を取得することが重要である。

現在、次世代シーケンサーによって、あらゆる生物の全遺伝子発現情報(トランスクリプトーム)を取得できる。トランスクリプトームは生命現象に対する網羅性と定量性に優れているため、トランスクリプトーム自体が生命状態を表す「情報」となる。近年、次世代シーケンサーの利用コストや処理速度が劇的に向上し、統計処理・予測シミュレーション技術が急速に進展している。このため、これまで研究例のない野生の植物資源に対しても、トランスクリプトームの研究を展開することができる。

#### 2.研究の目的

本研究では、トランスクリプトームの情報構造(固有の遺伝子発現パターン)を数理モデルとして縮約する技術、 植物工場によるトランスクリプトームの再現技術、の基礎研究を統合的に行う。野生の薬用植物(ツボクサ Centella asiatica)をモデル植物とし、植物工場において野生のトランスクリプトームを再現することを目的とした(図1)。

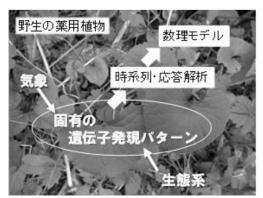


図 1 西日本に自生する薬用植物「ツボクサ」 インド伝統医学の中で重要なハーブとして 知られる。主な有効成分はアシアチコシド。

### 3.研究の方法

野生の薬用植物 Centella asiatica (多年生植物)を主な対象とする。同時に、モデル植物のシロイヌナズナ(1年生植物)を副対象とすることで、本手法の「一般化」を目指した。

野外サンプリングを行い、野生トランスク リプトームと気象データを得る。

時系列分析と各環境シグナルに対する応答を推定する。

環境パラメータの変換を行い、植物工場で 再現する。

植物工場における再現実験を行う。

本研究の検証と総括を行い、手法や理論の一般化を行う。

#### 4. 研究成果

毎月 15 日頃正午、自生する場所におい て、野外サンプリングを行い、野生トランス クリプトームの時系列を得た。RNA-Seq 解析 の結果、132,349 個の遺伝子(contig)を得 た。並行して気象観測器を現地に設置し、照 度・気温・湿度・風速のデータを約3年間に 渡って取得した。また、対象植物はゲノム未 読であるため de novo シーケンシングにより リファレンス配列を取得した。さらには、公 共データベースを用いて、他の複数の植物種 との配列比較により、遺伝子機能を推定する 手法を開発した。これらの取り組みにより、 ゲノム情報が十分に解析されていない「野生 の薬用植物」においても、生理学的な機能面 からトランスクリプトーム解析を実施でき る基礎研究環境を整えることができた。

図2は、気象データと高い相関を示す遺伝子の発現パターンを示している。全遺伝子に対し相関解析を行うことで、各環境刺激に対する応答性を分析した。

一方で、モデル植物シロイヌナズナを用いて、環境応答の基礎生理機構として機能し約24時間周期の体内リズムを生み出す「概日時計」に着目し、その関連遺伝子群の選抜手法を考案した。本開発手法を用いることで、環境変動がない条件(一定条件)において自発的に変動する遺伝子群を特定し、その固有の変動周期を算出することができるようになった。

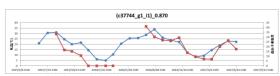


図 2 熊本県本渡市における気温の変化と、 それに対して高い相関を示す遺伝子 (c37744\_g1\_i1)の変動。

図3は、人工光を用いた栽培試験の様子である。植物工場で栽培するにあたり、ツボクサの人工光環境下における標準栽培法の確立を行った。ここでは、特に水耕栽培の条件確立と、挿し木のための栽培条件を決定した。

図4は、高精度な植物工場システム実験施設での栽培の様子である。当システムでは、温度、湿度、光強度において、様々な条件を再現することができる。本研究で用いているツボクサの原産地(熊本県)の気象条件も模倣することが可能である。



図 3 簡易栽培システムにおけるツボクサの 栽培。



図 4 ダイナミック多元環境・植物工場試験機。大阪府立大学・植物工場研究センター(経産省 2009)に設置されたクリーンルーム型実験室を改良した。

本研究の検証と総括を行い、手法や理論の一般化を行った。関連する成果を、計4報の論文として発表した。

以上、本研究では、国際的に有用性が認められる薬用植物「ツボクサ」を対象とし、その時系列トランスクリプトームの取得法の開発、1次データ処理(1次モデル) 植物工場における基礎栽培法、植物工場での野生環境の再現法、について成果を得た。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

## 〔雑誌論文〕(計4件)

- (1) Yusuke Tanigaki, Takanobu Higashi, Atsushi J. Nagano, Mie N. Honjo, <u>Hirokazu Fukuda</u>. Transcriptome analysis of a cultivar of green perilla (Perilla frutescens) using genetic similarity with other plants via public databases. Environmental Control in Biology. 55: 77-83, 2017.
- (2) Kosaku Masuda, Ryota Kitaoka, Kazuya Ukai, Isao T. Tokuda, <u>Hirokazu Fukuda</u>. Multicellularity enriches the entrainment of Arabidopsis circadian clock. Science Advances, 3(10), e1700808, 2017.
- (3) Mari Takeoka, Takanobu Higashi, Mie N. Honjo, Ayumi Tezuka, Atsushi J. Nagano, Yusuke Tanigaki, Hirokazu Fukuda. Estimation of the circadian phase by oscillatory analysis of the transcriptome in plants. Environmental Control in Biology. 56:67-72, 2018.
- (4) <u>福田弘和</u>. 植物工場における概日時計の科学技術. 植物環境工学, 30(1): 20-28, 2018.

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕 特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

福田 弘和 (FUKUDA, Hirokazu)

研究者番号:90405358

(2)研究分担者

徳田 功(TOUDA, Isao)

研究者番号:00261389