

令和元年6月13日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05011

研究課題名(和文) 無相関多元環境栽培試験による環境応答モデルの高速同定

研究課題名(英文) Rapid identification of environmental response model by uncorrelated multi-environmental cultivation tests

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)・教授

研究者番号：90405358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：環境応答の解明と制御技術の開発は、植物栽培における基本課題である。特に、機能性野菜や薬用植物については機能性を司る代謝システムへの高度な環境調節が重要であるため、総合的な環境応答の解明と数値モデル化が必要となる。そこで本研究では、「全遺伝子を対象とした環境応答の一斉モデル化」について新規手法の確立を目指した。ここでは、最先端のモデリング手法を基軸とし、植物工場環境制御技術と数理科学を駆使することで、モデリングの精度と同定速度を著しく高める手法の構築を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「植物工場」は、我が国が世界に誇る植物生産技術であり、更なる高度化が求められている。現在、多くの新規参入企業が高機能な野菜等の開発に注力しているが、高機能野菜や薬用植物などは従来の勘と経験則に頼った手法だけでは開発が困難とされるものが多い。したがって、網羅的な生理代謝の情報(オミクス情報)の活用が重要となるが、オミクス情報を植物生産へ適用するための「モデリング技術」が大きな研究課題となっている。そのため、本研究の成果は、産業上も有用であり、様々な植物に対する最適環境条件の高速探索、育種、次世代植物生産(制御されたフィールド、知能化施設園芸、植物工場など)の高度化に大きく貢献すると期待される。

研究成果の概要(英文)：Elucidation of environmental response and development of control technology are basic issues in plant cultivation. In particular, with regard to functional vegetables and medicinal plants, advanced environmental control to the metabolic system that controls the functionality is important, so it is necessary to elucidate comprehensive environmental responses and mathematical modeling. In this study, we aimed to establish a new method for "simultaneous modeling of environmental responses for all genes". Here, based on the advanced modeling method, we constructed a method to significantly increase the modeling accuracy and identification speed by making full use of environmental control technology and mathematical science of plant physiology.

研究分野：農業工学

キーワード：概日時計 植物工場 環境応答 数理生物学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)「植物工場」は、我が国が世界に誇る植物生産技術であり、更なる高度化が求められている。現在、多くの新規参入企業が高機能な野菜等の開発に注力しているが、高機能野菜や薬用植物などは従来の勘と経験則に頼った手法だけでは開発が困難とされるものが多い。したがって、網羅的な生理代謝の情報(オミクス情報)の活用が重要となるが、オミクス情報を植物生産へ適用するための「モデリング技術」が大きな研究課題となっている。

しかしながら、全てのオミクス情報を扱うことは、コストが膨大でかつデータが複雑化するため、現時点では技術開発への負担が大きい。そこで申請者らは、オミクス情報の中でも近年、利用コストと処理速度が劇的に向上し、データの信頼性も格段に高まっている「トランスクリプトーム解析(全遺伝子発現解析)」に研究開発を集中させ、実用可能性の高い研究開発を行ってきた。

(2)【直面する研究課題】生理代謝の網羅的な予測・制御を実現する「オミクス・モデリング技術」を構築するためには、環境データと全遺伝子発現の時系列データを照合して、「環境応答」を網羅的に同定する作業が必須となる。現在、「野外の気象データ」に含まれる複雑不規則な環境パターンを利用し、能率的に環境応答をモデル化する手法が実用レベルに到達しているが、

- ・環境要素間(例えば光と温度)に高い相関があり、環境要因の分離効率が悪い
- ・野外において同一の環境条件を再現できない

といった課題があり、モデリングの律速となっている。したがって、これらを克服できる植物工場技術として「無相関多元環境(光や温度などの各環境要素の変動を無相関にした環境)」が有効であり、モデリングの精度と同定速度を著しく高めることが期待できる。

2. 研究の目的

環境応答の解明と制御技術の開発は、植物栽培における基本課題である。特に、機能性野菜や薬用植物については機能性を司る代謝システムへの高度な環境調節が重要であるため、総合的な環境応答の解明と数理モデル化が必要となる。そこで本研究では、「全遺伝子を対象とした環境応答の一斉モデル化」についての新規手法の確立を目指す。ここでは、最先端のモデリング手法を基軸とし、植物工場の環境制御技術と数理科学を駆使することで、モデリングの精度と同定速度を著しく高めることを実現することを目指す。本研究の成果は産業上も有用であり、様々な植物に対する最適環境条件の高速探索、育種、次世代植物生産(制御されたフィールド、知能化施設園芸、植物工場など)の高度化に大きく貢献することを将来の目標とした。

3. 研究の方法

申請者らが実績をもつ「レタス」と「シソ」を対象植物とした。レタスは植物工場におけるモデル作物として、シソは薬用植物(生薬:蘇葉)のモデル植物として扱った。申請者らはこれまで、レタスとシソのトランスクリプトーム解析(次世代シーケンサーによるRNA-Seq解析)を実施し、両植物において公共データベース(NBDC等)を活用した解析プラットフォームを用いた。研究項目として、次の2つを設定した。

(1) 植物工場技術を駆使した「無相関多元環境栽培試験」の手法構築

ここでは、特に、「代謝相似性」(成育ステージに依存せず生涯同量の代謝を示す性質)に着目した。代謝相似性を示す遺伝子群を用いることで、「苗」のデータを成長期の植物体にも適用でき、診断のコンパクト化が図れる。これにより、「苗」段階の植物体を対象とすることで、栽培の省力化・高速化を実現できる「コンパクト化」を目指した。

(2) 無相関多元環境栽培試験に特化した「環境応答の高速同定手法」の確立

多くの生理現象が概日時計に影響を受け、その結果、日周期性変動を示す(Harmer, et al. Science 2000; Hsu, et al., Trends in Plant Science 2014)。このことは、多くの生理応答が日周期性の周期関数(非線形関数)で表されることを意味している。したがって、環境応答には非線形性が伴う。

本研究では、環境応答の非線形性を解明し、同定することを積極的に行った。

4. 研究成果

(1)植物工場技術を駆使した「無相関多元環境栽培試験」の手法構築

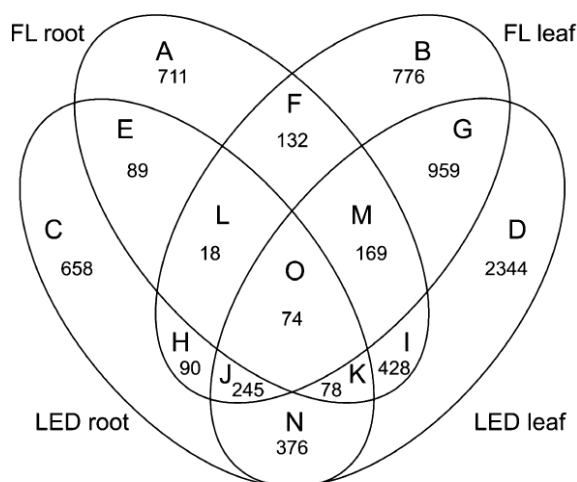


図1 シソにおける発現レベルが変動しない遺伝子群[1]

図1は、シソ (Green perilla, *Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis*) において、発現レベルが部位 (葉または根) と光質 (蛍光灯 FL または LED) で変化しない (変動量が2倍未満) の遺伝子数を示している。また、これらは定植後 7、14、35 d において、発現レベルの変動が2倍未満でもある。この時系列トランスクリプトーム解析によって、74 個の遺伝子が安定であり、「代謝相似性」を示す遺伝子として同定することに成功した[1]。

また、リーフレタス (*Lactuca sativa* L. cv. Frill Ice) における時系列トランスクリプトーム解析から、連続明条件 (LL 条件) ならびに明暗条件 (LD 条件) で概日リズムを刻む 215 個の遺伝子を同定した[2]。また、モデル植物シロイヌナズナ、シソ、リーフレタスの時系列トランスクリプトームデータを用いて、概日リズムを示す遺伝子群の同定手法の改善を行った[3]。

以上の成果により、環境応答のコアとなる概日時計の分子動態を RNA-Seq 解析 (トランスクリプトーム) にて、同定する基盤を構築できた。この基盤を参照データとすることにより、無相関多元環境下における複雑な環境応答を定量化する手法の提案を行うことができた。特に、代謝相似性の遺伝子を見出す方法論を構築したことにより、環境応答の高速同定手法において重要となる栽培の省力化・高速化、いわゆる「コンパクト化」を可能とした。

(2) 無相関多元環境栽培試験に特化した「環境応答の高速同定手法」の確立

無相関多元環境では、自然界で生じ得ない環境入力が生じ得る。例えば、自然界では「温度の日周リズム」と「光の日周リズム」の位相関係 (それぞれのピーク時刻の時間差) はほぼ固定されている。この位相関係が逆転することなどは、ほとんど生じ得ない。しかし、人工光植物工場では自然界で生じない位相関係を作ることができる。このような環境応答をモデル化するにあたり、基準となる生理代謝を設定することが重要になる。

概日時計は様々な環境入力に対し、環境応答の情報処理ハブとしての役割を果たしていると言える。そこで、概日時計を基準となる生理代謝と設定し、その位相応答を光と温度に対して独立に求めた上で、それを合成する方法論を構築することを試みた。そのために、まず、概日時計の位相応答 (位相応答曲線) を従来法に比べ精緻かつ高速で求める手法を開発した[4]。そして、温度入力 (温度上昇と温度低下) や光入力 (主に数時間の暗期) を様々組み合わせた条件において、概日時計の位相変動を正確に測定する手法と数理モデリングの開発を行った。

生体情報にはほとんどの場合、日周性リズム (概日リズム) が計測されるため、環境応答の正確な導出においては概日リズムのデータ処理法の確立が必要でもある。本研究によって、概日リズムの処理方法の基礎手法が得られ、また環境応答に含まれる非線形応答特性を正確に取り扱う手法が得られた。これらの成果によって、無相関多元環境栽培試験に特化した「環境応答の高速同定手法」の構築を行うことができた。

< 引用文献 >

- [1] Y. Tanigaki, et al., Environ. Control Biol., **56**(4), 137-142, 2018.
- [2] T. Higashi, et al., Front. Plant Science, **7**:1114. 2016.
- [3] M. Takeoka, et al., Environ. Control Biol., **56**(2), 67-72, 2018.
- [4] K. Masuda, et al., Science Advances, **3**, e1700808, 2017.

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

T. Higashi, K. Aoki, A. J. Nagano, H. Fukuda. Circadian Oscillation of the Lettuce Transcriptome under Constant Light and Light-Dark Conditions. *Frontiers in Plant Science*, **7**:1114. 2016.

Y. Tanigaki, T. Higashi, K. Aoki, A. J. Nagano, M. H. Honjo, H. Fukuda. Transcriptome Analysis of a Cultivar of Green Perilla Using Genetic Similarity with Other Plants via Public Databases. *Environ. Control Biol.*, **56**(4), 137-142, 2018.

Kosaku Masuda, Ryota Kitaoka, Kazuya Ukai, Isao T. Tokuda, Hirokazu Fukuda. Multicellularity enriches the entrainment of *Arabidopsis* circadian clock. *Science Advances* Vol. 3, no. 10, e1700808 (2017).

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** (2), 67-72 (2018).

Naoki Seki, Yusuke Tanigaki, Atsumasa Yoshida, Hirokazu Fukuda. Spatiotemporal analysis of localized circadian arrhythmias in plant roots. *Environmental Control in Biology* **56** (3), 93-97 (2018).

Shogo Moriyuki, Hiroaki Kaneda, Yusaku Miyagi, Nobuhiro Sugimura, Hirokazu Fukuda.

Profit Models Based on the Growth Dynamics of Lettuce Populations in a Plant Factory. *Environmental Control in Biology* 56 (4), 143-148(2018).
Yusuke Tanigaki, Takano Higashi, Atsushi J. Nagano, Mie N. Honjo, Hirokazu Fukuda. Growth and Environmental Change-Independent Genes Associated with Clock Gene *TOC1* in Green Perilla. *Environmental Control in Biology* 56 (4), 137-142(2018).
Shogo Nagano, Shogo Moriyuki, Kazumasa Wakamori, Hiroshi Mineno, Hirokazu Fukuda. Leaf Movement Based Growth Prediction Model Using Optical Flow Analysis and Machine Learning in Plant Factory. *Frontiers in Plant Science* 10:227 (2019).

〔学会発表〕(計8件)

竹岡真梨、東孝信、福田弘和．連続明期及び明暗周期条件でのリーフレタスにおける遺伝子発現の周期性解析．日本生物環境工学会 2016 年金沢大会．
北岡竜太、増田亘作、福田弘和．ダークパルス概日リズム制御理論を用いた植物のデンプン消費調節機構の動的モデル．日本生物環境工学会 2016 年金沢大会．
金田浩彰、守行正悟、福田弘和．時系列画像を用いた育苗期におけるレタスの成長速度と概日リズムの解析．日本生物環境工学会 2016 年金沢大会．
増田亘作、北岡竜太、鵜飼和也、福田弘和．植物概日振動子集団の同期率低下に伴う位相応答の変化に関する数理モデル．2016 年複雑コミュニケーションサイエンス研究会．
増田亘作、北岡竜太、鵜飼和也、福田弘和．植物細胞集団の脱同期に伴うダークパルスに対する位相応答の変化．2016 年日本時間生物学会学術大会．
Hirokazu Fukuda, Kazuya Ukai, Kosaku Masuda, Ryuta Kitaoka, Naoki Seki. Estimation of Cellular Phase Response Function Through Spatiotemporal Pattern in Plant Circadian Clock. Gordon Research Conference: Oscillations & Dynamic Instabilities in Chemical System (VT, USA, July, 2016)
Antony Dodd, Hirokazu Fukuda. How plants sense and respond to environmental cycles. CIGR World Workshop 2017 (Ehime, 2017).
Shogo Nagano, Yusuke Tanigaki, Hirokazu Fukuda. Non-destructive estimation of internal time information of Perilla using hyperspectral data and machine learning. Greensys 2017 - International Symposium on New Technologies for Environment Control, Energy-Saving and Crop Production in Greenhouse and Plant Factory (China, August, 2017).

〔図書〕(計12件)

福田弘和, 谷垣悠介, 守行正悟, 関直基. 植物工場における体内時計の利用技術-成長予測とオミクス診断-. *BIO Clinica*, 31(9), 66-72 (2016).
福田弘和, 守行正悟, 谷垣悠介. データ駆動型アプローチによる植物工場の生産管理. *アグリバイオ*, AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY, 1(2), 25-29, (2017).
福田弘和. 「植物工場」. 植物学の百科事典, 日本植物学会 (2016).
福田弘和. 物理学と生理学の融合から植物工場への途. *農業および園芸*, Vol193, No.2, 156-158(2018).
福田弘和. 生物が刻む時間に迫る: 植物が刻むリズムを植物工場に生かす. *JSTnews*, 2018年3月号 (2018).
福田弘和. 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).
福田弘和, 西田泰士. 植物工場における体内時計の利用~次世代ソフトウェアに向けた研究戦略. *日本弁理士会パテント誌*, 71(3), 41-52 (2017).
福田弘和. 植物生産における概日時計のシステム科学. *科研費 NEWS*, 4, 15 (2018).
福田弘和, 増田亘作. 可視光による植物概日リズムの精密制御. *日本赤外線学会誌*, 28(2), 39-45 (2018).
Hirokazu Fukuda, Yusuke Tanigaki, Shogo Moriyuki. Smart Plant Factory: The next generation indoor vertical farms (Chapter 22) Detection and Utilization of Biological Rhythms in Plant Factories. Springer, 367-384 (2018).
Masakazu Anpo, Hirokazu Fukuda, Teruo Wada. Plant Factory Using Artificial Light - Adapting to environmental disruption and clues to agricultural innovation. Elsevier (2018).
福田弘和, 守行正悟, 谷垣悠介. アグリフォトニクス 植物工場の最新動向と将来展望, 第11章大阪府立大学における植物工場の基盤研究 生体計測・制御技術. シーエムシー出版, 112-122 (2018).

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.bioproduction-opu.info/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：徳田 功

ローマ字氏名：Isao Tokuda

所属研究機関名：立命館大学

部局名：理工学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：00261389

研究分担者氏名：永野 惇

ローマ字氏名：Atsushi Nagano

所属研究機関名：龍谷大学

部局名：農学部

職名：准教授

研究者番号(8桁)：00619877

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：谷垣 悠介

ローマ字氏名：Yusuke Tanigaki

研究協力者氏名：東 孝信

ローマ字氏名：Takanobu Higashi

研究協力者氏名：関 直基

ローマ字氏名：Naoki Seki

研究協力者氏名：守行 正悟

ローマ字氏名：Shogo Moriyuki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。