

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：24403

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2015

課題番号：25712029

研究課題名(和文)細胞から個体までの全階層を繋ぐ包括的代謝制御体系「体内時計制御工学」の基盤研究

研究課題名(英文) Basic Research of a comprehensive metabolic control system, the control engineering of biological clock, connecting the entire hierarchy from the cell to the individual

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) 19,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年、植物工場における生産品目は拡大傾向にあり、2次代謝がより重要となる高機能植物の研究が急増している。このため、細胞内の代謝分子情報を利用した環境調節工学や、数理モデルを駆使した工学的な代謝制御の研究が、重視されるようになってきた。そこで本研究では、研究が進展している「体内時計」に着目し、多検体RNA-seq解析と代謝産物解析、走査型レーザー照明を利用した任意の部位に任意の光条件を与えることができる研究システムを開発した。これにより、成長器官(茎頂分裂組織)と光合成器官(成熟した葉)で異なる体内時計制御を行い、細胞から個体までの全階層を繋ぐための理論的基盤・技術の創出を行った。

研究成果の概要(英文)：In recent years, because the types of production in the plant factory is tend to be increasing, the study of high-performance plants that secondary metabolisms is more important is expanded rapidly. Therefore, the metabolic molecular information and environmental conditioning engineering utilizing intracellular studies of engineering metabolic control with mathematical models, has come to be emphasized. In this study, we focus on the "biological clock" that research is progressing. Omics analysis including RNA-Seq analysis and metabolite analysis, and new experimental system that is possible to give any light conditions to any site using a scanning laser lighting have been developed. As a result, a different biological clock in the growth organs and the photosynthetic apparatus could be controlled independently. The creation of the theoretical basis and technology for connecting the entire hierarchy from the cell to the individual have also been performed.

研究分野：農業工学

キーワード：アグリバイオインフォマティクス 数理モデル オミクス解析

### 1. 研究開始当初の背景

現在、植物工場の研究に新たな潮流が生まれ勢いを増している。近年、植物工場における生産品目は拡大傾向にあり、2次代謝がより重要となる高機能植物(ハーブ類や薬用植物)の研究が急増している。このため、細胞内の代謝分子情報を利用した環境調節工学(Speaking Cell Approach: SCA)や、数理モデルを駆使した工学的な代謝制御の研究が、重視されるようになってきた。

しかし一方で、学術上の課題が浮き彫りとなってきている。1)数万の遺伝子や数千の代謝情報(オミクス診断情報)を包括的に扱うための理論的基盤が脆弱であること、2)細胞レベルの分子情報を個体レベルの成長制御等に利用するための、ミクロからマクロまでの全階層を繋ぐ学術基盤が欠如していること、が大きな課題となっている。これらの課題の克服は容易ではないが、植物工場の革新的な技術開発のためにも、挑戦的かつ大規模な研究が求められている。

このような背景の下、研究代表者は加速度的に研究が進展している「体内時計」に着目し、本研究を提案している。体内時計は、数百に及ぶ遺伝子群の発現調節を行い植物成長に重大な影響を与えている(欧米グループ、Science 2000 & 2005)、ルシフェラーゼ遺伝子(ホタルの発光遺伝子)によって活動を可視化できる(欧米グループ、Science 1995, PNAS 2012)、物理学を基盤とした理論研究が可能となっている(研究代表者グループ、Fukuda, Physical Review 2007 & 2012)など、上述の課題の解決において非常に有効な特長を持っている。研究代表者は、これら3つの特長に関する先進研究を過去8年に渡って行っており、最近では体内時計を利用した植物工場の技術開発についても実績を上げている(JST A-STEP 研究、特許出願3件)。

本研究では、新たに2つの最新鋭の研究システムを開発することで応募者のこれまでの研究を進展させ、細胞から個体までの全階層を繋ぐことができる包括的な代謝制御体系である「体内時計制御工学」を構築し、学術上の重要課題の解決に寄与することを目指した。

### 2. 研究の目的

学術上の重要課題(前述2つ)を解決するために、独自の最新鋭研究システムを開発し、「レタス」を題材とした新規の理論体系「体内時計制御工学」を構築する。

#### (1)研究項目1:ダイナミック多元環境条件におけるオミクス診断システムの開発

光や温度などの複数の環境パラメータが、それぞれ独立に無相関でダイナミックに制御された環境条件下で、約500サンプルの多検体 RNA-seq 解析と代謝産物解析を行うた

めの研究システムを開発する。これを用いて、包括的に代謝状態を分析できる「ODME モデル(\*)」を開発する。

(\*)Omics in Dynamic Multi-Environment model

#### (2)研究項目2:走査型レーザー照明を用いた体内時計制御システムの開発

研究代表者の物理学的研究(Physical Review 2007 & 2012)に基づき、走査型レーザー照明を利用して、任意の部位に任意の光条件を与えることができる研究システムを開発する。これにより、成長器官(茎頂分裂組織)と光合成器官(成熟した葉)で異なる体内時計制御を行い、細胞から個体までの全階層を繋ぐための理論的基盤・技術の創出を行う。

#### (3)研究項目3:3つのモデルの統合による体内時計制御工学の構築

膨大なオミクス診断データを記述する「ODME モデル」と、体内時計の分子機構(時計遺伝子)を記述する「分子ネットワークモデル」、細胞間・器官間の相互作用を記述する「細胞ネットワークモデル」を統合することで、包括的な代謝制御の理論体系「体内時計制御工学」を構築する。

### 3. 研究の方法

本研究は、以下の3つの研究項目で構成されている。

#### (1)研究項目1「ダイナミック多元環境条件におけるオミクス診断システム」の開発

#### (2)研究項目2「走査型レーザー照明を用いた体内時計制御システム」の開発

#### (3)研究項目3「3つのモデルの統合による体内時計制御工学の構築」

また、以下の研究スケジュールにおいて研究を実施した。

平成25年度:研究項目1と2における、システム設計・工事(購入)とシステムの動作検証、予備実験を行う。

平成26年度:研究項目1と2における、本実験を行う。

平成27年度:研究項目3を実施し、研究項目1と2についても補強・補充実験を行う

詳細な研究スケジュールは下記の通りである。

#### ・平成25年度

研究項目1「ダイナミック多元環境条件におけるオミクス診断システム」の開発

1)特殊栽培システムの設計・工事、動作の検証を行う(植物栽培機器メーカーの協力の下)。

2)最新の低コスト型・超多検体 RNA-seq 解析の手法を用いた、栽培・サンプリングを行う。

研究項目2「走査型レーザー照明を用いた体内時計制御システム」の開発

1) 2次元 MENS スキャナーミラーを利用した RGB 半導体レーザーシステムを独自に設計・購入する。システムの動作の検証を行う(光学デバイスメーカーの協力の下)

2) 当レーザーシステムを用いて、成長点などの特定の部位の選択的な体内時計制御による成長制御の研究を開始する。既に研究済みの「細胞ネットワークモデル」(Fukuda, Physical Review 2007 & 2012)に基づいて実施。

・平成26年度

研究項目1「ダイナミック多元環境条件におけるオミクス診断システム」の開発

1) 前年度と同様に、最新の低コスト型・超多検体 RNA-seq 解析の手法を用いた、栽培・サンプリングを行い、最終的に「超多検体 RNA-seq のデータベース」を作成する。

2) 膨大な遺伝子発現データを処理する「ODME モデル」、体内時計の活動を記述する「分子ネットワークモデル」に1)の超多検体 RNA-seq のデータベースを利用する。

研究項目2「走査型レーザー照明を用いた体内時計制御システム」の開発

1) 成長点などの特定の部位の選択的な体内時計制御による成長制御の実証実験を行う。  
2) 得られた実験結果を利用して、「細胞ネットワークモデル」の改良を行う。

・平成27年度

研究項目3「3つのモデルの統合による体内時計制御工学の構築」

1) 3つのモデルを統合し、包括的な代謝制御の理論体系「体内時計制御工学」を構築する。

2) 研究項目1と2に関して、補強・補充する実験を実施する。

#### 4. 研究成果

(1) 研究項目1「ダイナミック多元環境条件におけるオミクス診断システム」の開発

まず、作物におけるオミクス診断の環境開発を行った。図1に、太陽光利用植物工場におけるトマト葉の網羅的遺伝子発現解析の結果を示した。縦軸が27,420個の遺伝子、横軸がサンプリング時刻を示し、各遺伝子の発現量を色の濃淡で示す(白が遺伝子発現量の増加、黒が遺伝子発現量の低下)。白色帯は発現が確認できなかった遺伝子を示す。グラフは明確な周期性を示した遺伝子の発現パターンを示す。本研究では、ストレス応答遺伝子群の解析も行っており、モデル植物(シロイヌナズナ)における遺伝子の発現パターンとの相違点、類似点を明らかにしている(Tanigaki, et al., PLoS one 2015)。

さらに、葉菜類(レタス) 果菜類(トマト) 薬用植物(大葉)を対象に、網羅的遺伝子発現解析(300検体以上)を行い、概日リズム成分について解析を行った。モデル植

物シロイヌナズナと作物(トマト)におけるストレス応答遺伝子群の相違点を見出し、レタス・トマト・大葉・シロイヌナズナにおける概日リズムの相違点も見出した。トマトに関しては、愛媛大学の植物工場研究センターと共同で実施した。

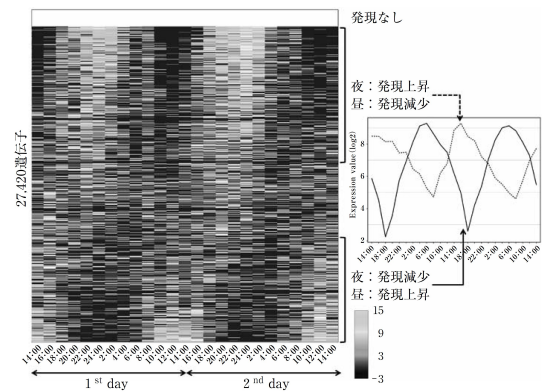


図1 太陽光利用植物工場におけるトマト葉の網羅的遺伝子発現解析

(2) 研究項目2「走査型レーザー照明を用いた体内時計制御システム」の開発

図2に走査型レーザー照明を用いた細胞レベルの概日時計の位相制御を示した。極微弱なレーザー光であっても、位相の反転が起こせることを示せた(Seki, et al., J. Biosens Bioelectron 2015)。

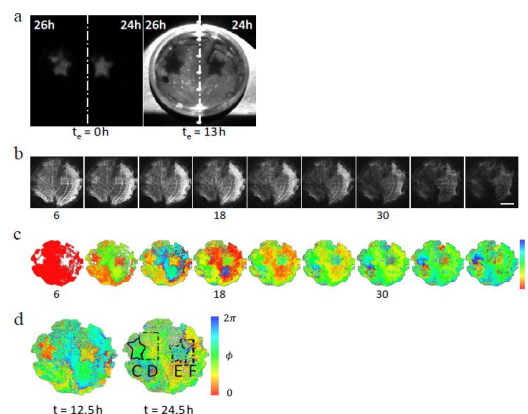


図2 走査型レーザー照明による体内時計の位相制御

(3) 研究項目3「3つのモデルの統合による体内時計制御工学の構築」

膨大なオミクス診断データを記述する「ODME モデル」と、体内時計の分子機構(時計遺伝子)を記述する「分子ネットワークモデル」、細胞間・器官間の相互作用を記述する「細胞ネットワークモデル」を統合することで、包括的な代謝制御の理論体系「体内時計制御工学」を構築した。

## 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9件)

Takanobu Higashi, Yusuke Tanigaki, Kotaro Takayama, Atsushi J. Nagano, Mie N. Honjo and Hirokazu Fukuda. Detection of diurnal variation of tomato transcriptome through the molecular timetable method in a sunlight-type plant factory. *Frontiers in Plant Science*, 査読有, doi: 10.3389/fpls.2016.00087(2016).

Takanobu Higashi, Shuhei Nishikawa, Nobuya Okamura and Hirokazu Fukuda: Evaluation of Growth under Non-24 h Period Lighting Conditions in *Lactuca sativa* L., *Environmental Control in Biology*, 査読有, 53(1), 7-12, 2015年3月.

Takayuki Ohara, Hirokazu Fukuda, \*Isao T. Tokuda: Phase Response of the *Arabidopsis thaliana* Circadian Clock to Light Pulses of Different Wavelengths. *Journal of Biological Rhythms*, 査読有, 30 (2), 95-103, 2015.

Takanobu Higashi, Shuhei Nishikawa, Nobuya Okamura and Hirokazu Fukuda Evaluation of Growth under Non-24 h Period Lighting Conditions in *Lactuca sativa* L. *Environmental Control in Biology*, 査読有, 53,7-12(2015).

Takayuki Ohara, Hirokazu Fukuda, Isao T. Tokuda. An Extended Mathematical Model for Reproducing the Phase Response of *Arabidopsis thaliana* Under Various Light Conditions. *Journal of Theoretical Biology*, 査読有, 382,337-334 (2015).

Takayuki Ohara, Hirokazu Fukuda, Isao T. Tokuda. Phase Response of the *Arabidopsis thaliana* Circadian Clock to Light Pulses of Different Wavelengths. *Journal of Biological Rhythms*, 査読有, 30, 95-103(2015).

Naoki Seki, Kazuya Ukai, Takanobu Higashi and Hirokazu Fukuda. Entrainment of Cellular Circadian Rhythms in *Lactuca sativa* L. Leaf by Spatially Controlled Illuminations. *Journal of Biosensors & Bioelectronics*, 査読有, 6(4),1-5,(2015).

Yusuke Tanigaki, Takanobu Higashi, Kotaro Takayama, Atsushi J Nagano, Mie N.

Honjo, Hirokazu Fukuda. Transcriptome analysis of plant hormone-related tomato (*Solanum lycopersicum*) genes in a sunlight-type plant factory. *Plos one*, 査読有, DOI:10.1371/journal.pone.0143412(2015).

Ryuta Udo, Shogo Moriyuki, Kazuya Ukai, \*Hirokazu Fukuda: Collective Synchronization of Circadian Rhythms in Germinating Plants by Temperature Fluctuations. *Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers*, 査読有, 31(3), 359-365, 2014.

〔学会発表〕(計50件)

京都駅前セミナー 非線形現象の数理を考える(2014年4月25日,キャンパスプラザ京都(京都府京都市)), 福田弘和, 細胞集団モデリングによる植物概日時計の外力応答の解明

公益財団法人 横浜企業経営支援財団横浜市中小企業支援センター次世代植物工場研究会 2014 (2014年5月9日, IDEC 大会議室(神奈川県横浜市)), 福田弘和, 植物工場における遺伝子発現解析 植物生理状態の高度な評価法とその有用性

電子情報通信学会 2014年度第10回複雑コミュニケーションサイエンス時限研究会(2014年5月19日,大阪大学(大阪府吹田市)) 福田弘和, 鶴飼和也, 山上昌三, 有働龍太, 守行正悟  
植物概日時計における振動子集団の外力応答

日本生物環境工学会西日本支部・日本養液栽培研究会共催(2014年7月11日,大阪府立大学(大阪府堺市))  
福田弘和  
植物工場における時系列トランスクリプトームとモデリング

第36回光医学・光生物学会(2014年7月25日,大阪大学(大阪府吹田市))  
福田弘和  
植物における概日時計細胞集団の光による制御

超高速環境パラメータ最適化の研究会(2014年8月7日,大阪府立大学(大阪府堺市))  
福田弘和  
植物工場における匠の栽培プロファイルと黄金領域

IFAC 2014 The 19th IFAC World Congress  
(Cape Town, Republic of South Africa,  
August24-30, 2014)  
K.Ukai, H.Fukuda  
Controlling Plant Circadian Clock by Pulse  
Perturbation Based on Phase Response  
Curve.

日本生物環境工学会 (2014年9月9日-11  
日, 明治大学(東京都千代田区))  
福田弘和, 東 孝信, 有働龍太, 三浦孝江  
RNA-seqとLC-Orbitrap-MSによる大葉の概日  
リズム解析

日本生物環境工学会 (2014年9月9日-11  
日, 明治大学(東京都千代田区))  
東 孝信, 高山弘太郎, 福田弘和  
時系列 RNA-seq データを用いたトマトにおけ  
る体内時刻の推定

日本生物環境工学会 (2014年9月9日-11  
日, 明治大学(東京都千代田区))  
守行正悟, 福田弘和  
フリルアイス発芽初期のクロロフィル蛍光  
にみられる概日リズムの振動性解析

関西ネットワークシステム 第46回 KNS  
定例会 in MOBIQ 2014年9月13日 MOBIO(大  
阪府東大阪))  
福田弘和  
大阪府立大学植物工場研究センターの研究  
開発

日本宇宙生物科学会 第28回大会 (2014  
年9月22日-23日, 大阪府立大学(大阪府堺  
市))  
福田弘和  
植物における体内時計の計測と制御

JPC (日本フォトリソグラフィ協会) 関西定例  
講演会 植物工場の発展を支える光技術  
(2014年9月29日, 大阪府立大学(大阪府堺  
市))  
福田弘和  
植物工場の発展に無くてはならない光技術  
とは!

The International Conference on Plant  
Factory 2014 (Kyoto, Japan, November10-12,  
2014)  
R. Masuishi, H. Fukuda, H. Murase  
Optimal Position of the Dry-Heat  
Sterilizer in a Plant Factory by CFD  
Analysis.

The International Conference on Plant  
Factory 2014 (Kyoto, Japan, November10-12,  
2014)  
T. Nishikawa, K. Shimonosono, H. Fukuda,

H. Murase  
Effects of Uniform Airflow for Lettuce  
Growth with Electric Turntable.

The International Conference on Plant  
Factory 2014 (Kyoto, Japan, November10-12,  
2014)  
T. Higashi, H. Fukuda  
Accurate Estimation of Plant Body Time by  
RNA-seq Single-Point Assay in Plant  
Factory.

The International Conference on Plant  
Factory 2014 (Kyoto, Japan, November10-12,  
2014)  
K. Kakumoto, R. Kitaoka, S. Nagano, H.  
Fukuda  
Modeling of the Plant Stress Caused by  
Desynchronization of Circadian Clock for  
Environmental Cycles in *Arabidopsis  
thaliana*.

The International Conference on Plant  
Factory 2014 (Kyoto, Japan, November10-12,  
2014)  
N. Seki, K. Ukai, H. Fukuda  
Analysis of Phase Singularities Creation  
Caused by Cell Deterioration in Plant  
Circadian Rhythms.

The International Conference on Plant  
Factory 2014 (Kyoto, Japan, November10-12,  
2014)  
S. Moriyuki, R. Udo, M. Tanowaki, H. Fukuda  
Prediction of Plant Growth by Measurement  
of Circadian Rhythms in Chlorophyll  
Fluorescence.

The International Conference on Plant  
Factory 2014 (Kyoto, Japan, November10-12,  
2014)  
R. Udo, S. Moriyuki, K. Ukai, H. Fukuda  
Collective Synchronization of Circadian  
Rhythm in Germinating Seedlings by  
Temperature Fluctuation.

他 30 件

〔図書〕(計 13 件)

小倉 東一, 福田 弘和, 和田 光生: 特集  
人工光型植物工場の研究開発- 大阪府立大  
学の新世代植物工場, 「施設と園芸」, 168,  
4(12-15), (2015 冬)

福田弘和: 多振動子系としてみた植物の概  
日時計システム, 種生物学研究第 38 号「生  
物リズムの生態学 時をはかる生物たちの  
多様性」, 287(115-128), (2015) .

福田弘和：連載-最先端科学技術を駆使した新世代大規模植物工場の開設新世代大規模植物工場における最新技術「優良苗早期診断ロボットの研究開発」, CMC 月刊機能材料, 4(47-50)2015年3月5日

福田弘和：京大大学生態学研究センターニュース,大規模生物現象研究会 - 制御/非制御環境下における生物形質の分布 -, No.127, (14), 2015 3月

監修：安保重一，福田弘和，和田光生：植物工場の生産性向上，コスト削減技術とビジネス構築 今，注目されている植物工場とは，その全容，シーエムシー出版 地球環境シリーズ，245(1-245)，(2015)。

安保重一，福田弘和，和田光生：序章 完全人工光型植物工場の概要，植物工場の生産性向上，コスト削減技術とビジネス構築 今，注目されている植物工場とは，その全容，シーエムシー出版 地球環境シリーズ，245(1-12)，(2015)。

福田弘和，和田光生，小倉東一：第1編第1章4．植物工場栽培野菜の味と安全性および技術的課題  
植物工場の生産性向上，コスト削減技術とビジネス構築 今，注目されている植物工場とは，その全容，シーエムシー出版 地球環境シリーズ，245(40-45)，(2015)。

福田弘和，東孝信：第1編第2章2．植物の代謝リズムと制御理論  
植物工場の生産性向上，コスト削減技術とビジネス構築 今，注目されている植物工場とは，その全容，シーエムシー出版 地球環境シリーズ，245(54-64)，(2015)。

福田弘和，守行正悟：第3編第1章2．優良苗早期診断ロボットの研究開発  
植物工場の生産性向上，コスト削減技術とビジネス構築 今，注目されている植物工場とは，その全容，シーエムシー出版 地球環境シリーズ，245(179-183)，(2015)。

⑩福田弘和：優良苗早期診断ロボットの研究開発  
機能材料 シーエムシー出版，No.35,47-50，(2015)。

福田弘和，守行正悟，有働龍太：大規模植物工場における苗選別ロボットシステムと概日リズム診断 酵素工学ニュース 第72号，(29-32)，2014年10月

福田弘和：連載-最先端科学技術を駆使した新世代大規模植物工場の開設植物を制御する最先端科学技術「植物の体内時計と制御理論」, CMC 月刊機能材料, 49-52, 2014年

10月5日

小倉東一，福田弘和：大阪府立大学の新世代植物工場，建築と社会，1，2014年8月。

〔産業財産権〕  
出願状況(計1件)  
名称：栽培システム  
発明者：福田弘和，他6名  
権利者：大阪府立大学、椿本チエイン  
種類：  
番号：特願2014-077212号  
出願年月日：2014年4月3日  
国内外の別：国内

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)研究代表者  
福田 弘和 (FUKUDA, Hirokazu)  
大阪府立大学・工学研究科・准教授  
研究者番号：90405358

(2)研究分担者  
なし

(3)連携研究者  
なし