

野外トランスクリプトミクスによる植物環境応答の研究

永野 惇 (龍谷大学農学部)

anagano@agr.ryukoku.ac.jp

植物本来の生育場所であり、主たる農業生産の場でもある野外では、温度や光などが刻一刻と複雑に変化する。このような環境下で植物はどのように環境に対して分子レベルで応答しているのか？単純な実験室環境で得られた知見だけから、野外での応答を推し量ることは困難である。

イネの野外トランスクリプトミクス

そこで我々は野外での遺伝子発現の環境応答をそのまま捉えるために、数百サンプルのトランスクリプトームデータを野外で収集し、これと気象データをあわせて統計モデリングによって解析する『野外トランスクリプトミクス』と呼ばれるアプローチを確立した(図1)。解析の結果、イネの葉のトランスクリプトーム変動は概日時計と気温で大部分が説明できることが分かった。また、環境刺激に対する日周性の感度変化(ゲート効果)や、日射に対する応答の閾値と日長測定との関係など、興味深い特徴が明らかになった¹⁾。

野外トランスクリプトミクスには、多検体のトランスクリプトームデータ取得に関わる労力や費用が大きいという問題と、得られたデータの統計モデリングのための計算コストが大きいという問題があった。そこで、これらの問題を解消するための技術開発を行った。多検体のトランスクリプトームデータ取得に関しては、多検体の RNA-Seq のライブラリ調製を効率的に行うプロトコルを開発し、極めて安価かつ簡便にデータ取得を行うことが可能となった。これによって、数百、数千サンプルのデータを日常的に用いて研究することが可能となった。統計モデリングについては、前述の研究で用いたモデルを、adaptive LASSO や変分ベイズを取り入れて改良、R のパッケージ“FIT”として整備し、CRAN から公開した²⁾。アルゴリズムの改良とコードのリファクタリングなどによって、モデリングに必要な計算時間を一般的な PC で実行可能なレベルまで大幅に削減できた。これらの開発によってトランスクリプトームワイドなモデリングを、実質待ち時間 1 日程度で完了することが可能となった。

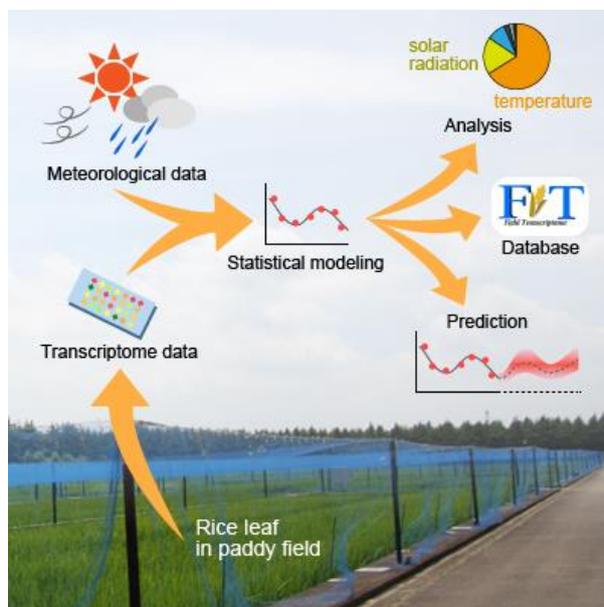


図1 大規模なイネ野外トランスクリプトームデータと気象データの統計モデリングから、野外における環境応答の包括的解析や予測が可能となった。

これらの技術を基盤として、野外トランスクリプトミクスと量的遺伝学を組み合わせた解析手法を開発した。イネのコシヒカリ/タカナリ染色体断片置換系統群を圃場で栽培し、毎週1回の24時間サンプリングを16週間にわたって行った。これらのサンプルから約1300サンプル分の野外トランスクリプトームデータを取得し、気象データとの関係をFITを用いてモデリングした。さらにCSSLの各系統のジェノタイプを用いて新規に開発した手法で解

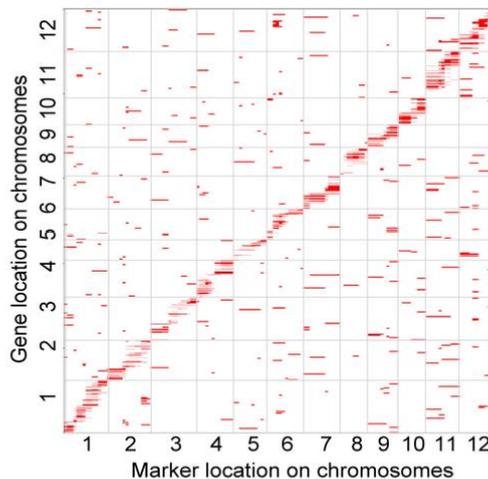


図2 発現ダイナミクスに多型が見られた遺伝子(縦軸)とその多型を説明するゲノム領域(横軸)

析することで、遺伝子ごとにコシヒカリ/タカナリ間の発現パターンの多型を説明しうるゲノム上の領域を多数検出することが出来た(図2)。さらに、未知の遺伝子型をもつ系統に対する予測能力を検証するため、モデルのトレーニングに用いていないBIL(HPa系統)のトランスクリプトームの予測を行ったところ、遺伝子型情報を用いて我々のモデルで予測することで有意に予測を改善できることが出来た。

また、並行して、多数の並列制御環境で植物栽培・解析を可能とするシステムを開発し、我々がこれまでに開発してきた低コスト多検体RNA-Seqと気象-系統-発現モデルと組み合わせることで、野外

と制御環境を統一的に表現できるモデルの作出に取り組んでいる(図3)。さらに、そのモデルを活用し、任意の環境条件下でのトランスクリプトームの予測・設計、さらにトランスクリプトーム時系列データを介した形質の予測・設計手法を確立することを目指して研究を進めている。

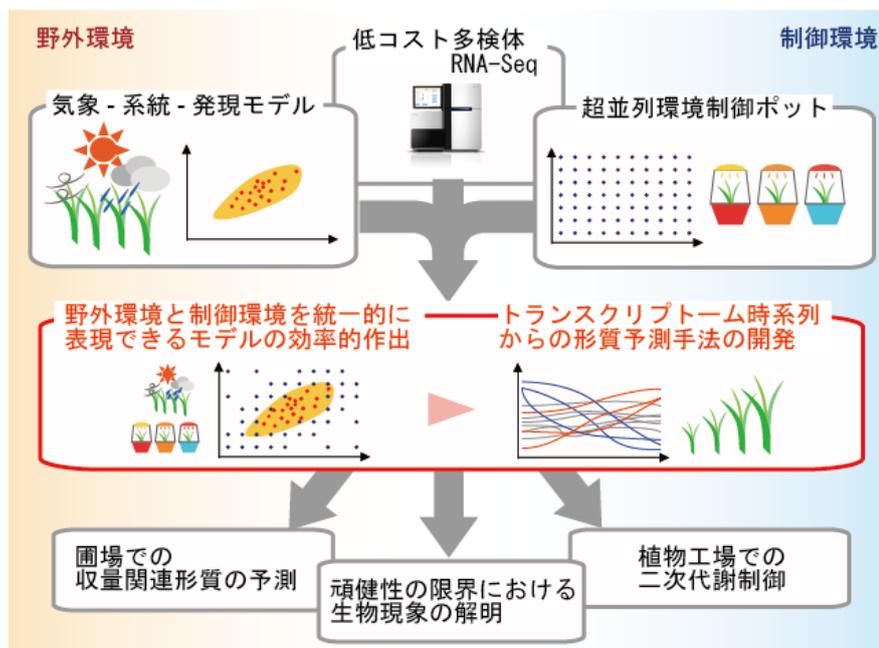


図3 CREST「野外環境と超並列高度制御環境の統合モデリングによる頑健性限界の解明と応用」の概要

ハクサンハタザオの年周トランスクリプトーム解析と季節環境への適応の解明

地球上の多くの場所では季節的な環境の変動がみられる。多くの生物は本来、そのような野外環境で生育し、進化してきたことから、季節的な環境の変動に対して適応したシステムをもっていると考えられる。実際、植物の開花や展葉、落葉、動物の繁殖や渡り、変態、休眠など、動植物問わず様々な生物季節現象が古くから知られている。

季節的な環境変化への応答を遺伝子レベルから網羅的に明らかにするため、シロイヌナズナの近縁多年草ハクサンハタザオの自然集団を用いて、2年間にわたるトランスクリプトームデータを取得し、解析を行った。

その結果、葉で発現が見られた 17205 遺伝子中、2879 遺伝子が 2 倍以上季節変動することや、季節ごとに特徴的な機能を持った遺伝子が発現のピークを持つことが明らかになった

(図 4)。加えて、気温と日長を変化させた長期のインキュベータ実験によって、季節変動の大部分は気温によって説明できることを実験的に示した。また、温帯域では最も日長が長い日から 1.5 か月後に最も気温が高い日が訪れる。このズレを再現した条件（自然条件：図 5 の n）と比較して、日長が最も長い日に気温が最も高くなる条件（順相条件：図 5 の i）や、逆に日長が最も長い日に気温が最も低くなる条件（逆相条件：図 5 の a）では花数が減ることが明らかとなった。この結果は、温帯域で見られる気温と日長の年周期のズレに対して植物が適応していることを初めて明らかにしたものである。これまでの解析から、この現象に概日時計、光合成、低温応答関連のいくつかの遺伝子が重要であることを示唆する結果を得ている。

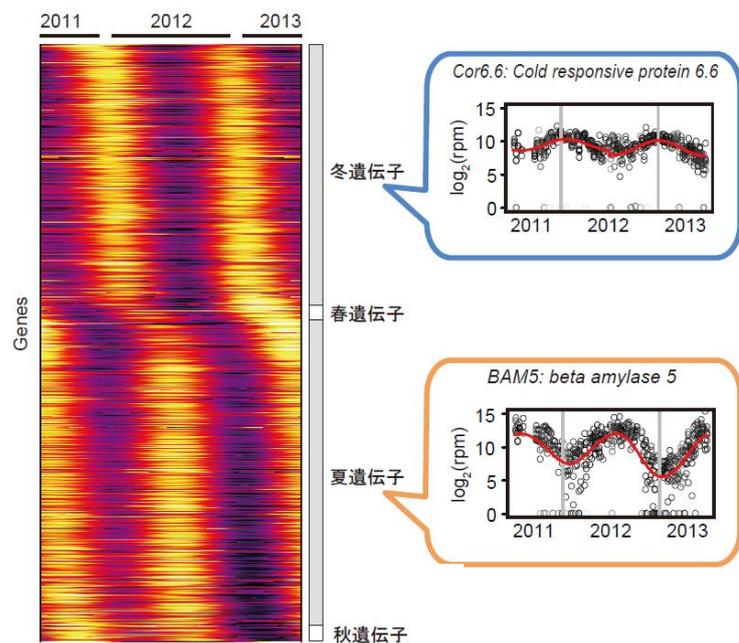


図4 約 500 サンプルの RNA-Seq データから得られた 2 年間のトランスクリプトームの季節変動パターン。【左】顕著な季節変動を示す約 2000 遺伝子の発現パターン。明るい部分が高発現を意味する。【右】冬遺伝子、夏遺伝子の例。

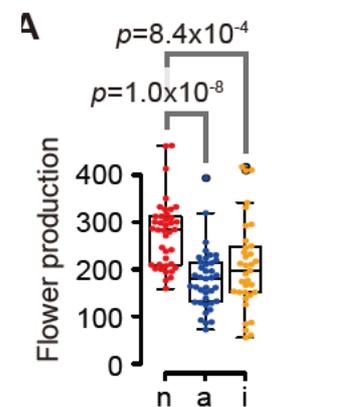


図 5 野外と同様に日長と気温を 1.5 か月ずらしたインキュベータ (n) は他のインキュベータ (a, i) より花数が多い。

多検体オミクス技術やデータ解析技術を用いた技術支援

以上の研究に加えて、多検体のトランスクリプトームデータ、ゲノムワイド SNP データ取得技術やデータ解析技術を用いて、年間 100 件以上の共同研究を行ってきた。植物生理学の研究者のみならず、育種学や畜産学などの農学系の分野の研究者や、進化学・生態学分野の研究者との共同研究も多く行っており、共同研究において扱った生物種は作物（イネ、コムギ、オオムギ、ダイズ、ハクサイ、トマトなど）、樹木（ポプラ、クリ、カキ、ビワ、トドマツ、アカメガシワなど）、藻類（アオサ、マリモ、フクロノリ、ミルなど）、昆虫（カイコ、アメンボ、オオマルハナバチ、クルミホソガなど）、脊椎動物（マウス、ニワトリ、ウズラ、イトヨ、フグ、サケ、アユ、チョウザメなど）、真菌（シイタケ、コウジカビなど）など多岐にわたっている。

謝辞

多数の共同研究者のみなさまに感謝を申し上げます。これらの研究は、農林水産省「新農業展開ゲノムプロジェクト」、「次世代ゲノム基盤プロジェクト」、科学技術振興機構 さきがけ「CO₂資源化」領域、CREST「植物頑健性」領域、ACCEL「共生ネットワークの分子基盤とその応用展開」、科研費 若手研究 (A)、新学術領域「環境記憶統合」領域の支援を受けて行った。

引用文献

1. Nagano AJ, Sato Y, Mihara M, Antonio BA, Motoyama R, Itoh H, *Nagamura Y, *Izawa, T, (2012) Deciphering and Prediction of Transcriptome Dynamics under Fluctuating Field Conditions, **Cell**, 51(6):1358-69.
2. Iwayama K, Aisaka Y, Kutsuna N, *Nagano AJ (2017) FIT: Statistical modeling tool for transcriptome dynamics under fluctuating field conditions., **Bioinformatics**, btx049