

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「環境変動に対する植物の頑健性の解明
と応用に向けた基盤技術の創出」
研究課題「データ科学に基づく作物設計基盤技術
の構築」

研究終了報告書

研究期間 2016年10月～2022年 3月

研究代表者：平山隆志
(岡山大学資源植物科学研究所、
教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

農業形質は、それに至るまでの成長過程の状態変化の積み重ねと捉えられ、系統間や年次間の農業形質の多様性は成長過程の状態の多様性として記述できる。また、状態の多様性は、遺伝要因と環境要因が関わる形質(状態形質)として定義することが可能である。即ち、農業形質を左右する潜在的な遺伝要因と環境要因を作物の状態変遷履歴から抽出し、それらの要因の相互作用を理解すること、さらにそれらの情報に基づいて構築した高精度に農業形質を予測するモデルを利用し作物をデザインすることが可能であると考えられる。本研究課題ではこの考えに沿って、圃場作物の成長データから抽出した状態形質を利用して構築した農業形質予測モデルに基づく、将来に予想された地球環境も含む任意の環境において最適な生産性を担保するゲノム構成のデザインにより、植物の環境頑健性を付与する技術を提供することを目指した。

成長過程の状態の多様性という状態形質を、データ科学的手法を用いて抽出するというアプローチは、これまで報告はなく、参考にできる前例はない。そこで、生物現象の階層性を考慮し、遺伝子発現、エピゲノム状態、植物ホルモン、形態など多階層のデータを、エネルギー消費・生産や生理応答の主体である葉身と、葉身を含め地上部の起源となる茎頂メリステムから、ライフコース全般にわたり獲得することとした。この理由は、植物の生長過程での状態の変遷を、生命現象の履歴性を考慮して理解を深めるためと、一つの指標で記載するのではなく異なる階層のデータから多角的に捉えるためである。本課題研究では、オオムギの出穂期の早晩を研究対象とし、複数品種を環境が異なる倉敷市と横浜市の実験圃場で生育し、成長および生理状態の変遷を、画像データおよび実測による外観データ、葉身のマルチオミックス解析による生理状態データ、茎頂メリステムの形態データおよびトランスクリプトームデータを、ライフコースにわたり経時的に収集した(平山 G、辻 G、梅崎 G)。これらの実施にあたり、梅崎 G による画像解析のためのモデル構築、平山 G による植物ホルモン分析の高速化および多検体 RNA の抽出方法の確立、辻 G によるオオムギメリステムの採取法とその RNA-seq 法の開発などを行った。

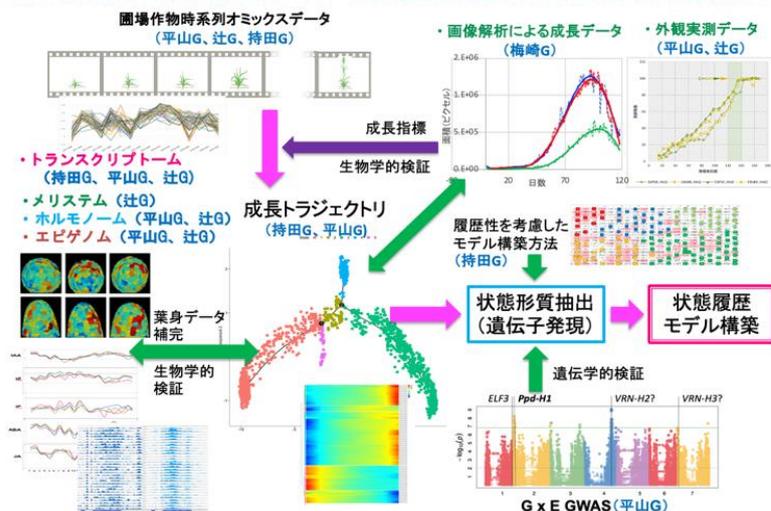
得られた多階層の圃場オオムギライフコースデータから状態形質をデータ科学に基づいて抽出する方法については、実際のデータを対象に検討された。通常行われる実時間を参照した系統間や年時間のデータ比較では、成長過程そのものの多様性が反映されず、想定した状態形質の抽出が困難であるとわかった。様々な手法の検討の結果、持田 G により1細胞解析でも用いられる仮想時間軸に沿って抽出したトラジェクトリに基づいた状態の比較により、状態形質を効率よく抽出する方法が考案された。さらにこの方法は、抽出したトラジェクトリ上に実時間で紐づく他の階層のデータを投影することを可能とし、各階層のデータ間比較を容易に行うプラットフォームを提供した。これにより、獲得した圃場オオムギ葉身および茎頂メリステムのライフコースデータから、状態形質候補を多数抽出することに成功した。特筆すべき事は、仮想時間軸推定やトラジェクトリ抽出において、各グループが獲得・蓄積した葉身の各オミックスデータ、メリステムデータ、外観データ、画像解析から抽出された成長速度など、各データを相互に比較・補完することにより、より実際に反映した成長トラジェクトリが構築できた点である。

状態形質に関連した情報を搭載し出穂を高精度に予測するモデル構築については、まずオオムギのゲノム情報の整備から進められた。獲得したトランスクリプトームデータを利用して、持田 G がゲノム情報の刷新を行なった。また、オオムギの多様性を代表する SV274 系統のエクソーム解析、H602 や J647 のゲノム解読により、ゲノムマーカーの充実を図った。これらを利用して GWAS を実施し、オオムギ出穂期に関する SNP を複数抽出し、それらの情報を用いて出穂期を予測する機械学習モデルを構築した。その予測精度は、線形モデルを遥かに凌ぐものであったが、予測できない年次が複数見られた。次に、上述の方法で抽出された状態形質の情報を基本モデルに搭載することで、飛躍的に予測精度を向上させることに成功した。これにより、圃場作物のライフコースデータの収集から状態形質の抽出、その情報を利用した農業形質予測モデルの構築という、本課題研究の目的の主要部分は達成できたと考える(図)。

さらに、構築したモデルの遺伝学的補完と状態形質の理解を目的に、環境の影響を考慮した GWAS を行うことで出穂期の環境応答性にかかわる遺伝要因の同定も平山 G が成功した。現在、

構築したモデルのデザイン性能を検証するために、データ収集には使われていないゲノム構成を持つ、Nested association mapping (NAM) 集団や RIL 集団の出穂期の予測を行い、高精度で予測できるかの実証実験を遂行中で、すでに期待にかなう成果が得られつつある。

本課題研究における作物ライフコースデータの取得・解析から状態履歴モデル構築への道程



図：本課題研究の各グループ間の連携とその研究目的達成への貢献

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 状態形質の抽出とそれを利用した形質予測モデル構築法の開発

概要：ライフコースから成長状態を記述し、その比較により、農業形質に影響する成長過程の変遷の特定とそれに関わる遺伝要因または環境要因を抽出することで、これまでになく遺伝要因や遺伝要因 x 環境要因相互作用の探索方法が提案され、その有効性が実証された。この方法により、集団構造などによりGWASによって得られない遺伝要因の探索が可能である。また、時系列データに基づく状態変遷のトラジェクトリ抽出方法やそれを利用した分析方法も、基礎生物学および農学、医学において有用と考えられる。

2. 微細組織を対象とした詳細な生体データ取得法の開発

概要：メリステムなどの微細組織を対象とした研究を可能にする、外科的メリステム取得方法、1メリステムの画像解析法、1メリステムの RNA-seq 方法の開発確立および、それら手法を利用して獲得したデータに基づいた圃場オオムギメリステム発生トラジェクトリの抽出は、生物の研究においては必須となる微細組織を対象とした、遺伝子発現動態データの取得およびその解析方法を提案しており、これを用いて得られたデータの基礎生物学的知見の新規性と、汎用性の高い手法の提案は、意義が大きい。

3. オオムギゲノム構造の多様性の解明

概要：オオムギパンゲノム解析国際コンソーシアムの一員として、日本在来品種の赤神力を含む多様な20品種のオオムギゲノム解読と詳細なゲノム構造比較を実施した。その結果、系統間でゲノム構造には逆位を含め多くの構造的な相違と、遺伝子構造の違いが認められた。これらのゲノム情報は、オオムギをはじめムギ類を対象とした今後の基礎科学はもとより育種研究においても重要な情報をもたらす大きなインパクトを与えた。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. 防犯カメラを利用した圃場作物画像解析システム

概要：本課題研究において、少数の防犯カメラによって取得した画像から、圃場作物の成長データを取得する技術が確立された。これにより、大規模な設備や高精度の多数のカメラを使うことなく、高時間分解画像から成長や状態変遷の推定に利用するデータ取得が可能であり、スマート農業を実現するシステム開発に貢献すると期待される。

2. ライフコースデータに基づく形質予測モデル構築

概要：本研究課題で確立した、圃場作物のライフコースデータから高精度に形質を予測する成長モデルを構築する技術基盤は、汎用性がたかくどのような作物にも適用可能である。実際、すでにコムギ、イネなどの植物はもとより、動物においても実施され成果が出ている。この方法の幅広い適用により、作物の生育や生産量を高精度に予測するモデルの構築が可能になり、スマート農業に搭載することで、農作業の効率化と生産量の向上が見込まれる。

3. 種子画像解析法の開発

概要：さきがけ研究者(戸田陽介、大倉史生)との共同研究で、オオムギ種子形状解析を飛躍的に効率化、高精度化する技術を開発した。従来は手作業で膨大な時間を費やして実施していた教師データの生成を、仮想空間上にランダムに自動合成することで、教師データに使われる画像を大量かつ迅速に生成し、機械学習(深層学習)モデルの効率的な訓練を行う手法である。収量性に直結する種子形状の高精度な遺伝解析等に新たな道を拓く成果である。

<代表的な論文>

1. Jayakodi, et al., The barley pan-genome reveals the hidden legacy of mutation breeding. *Nature* 588, 284-289, 2020.

概要：国際的コンソーシアムにより、日本在来品種の赤神力を含むオオムギ20品種のゲノム解読と詳細な比較の結果の報告。このデータは、基礎科学および育種学に大きく貢献する事が期待される。

2. Sato K, Ishii M, Takahagi K, Inoue K, Shimizu M, Uehara-Yamaguchi Y, Nishii R, Mochida K. Genetic Factors Associated with Heading Responses Revealed by Field Evaluation of 274 Barley Accessions for 20 Seasons. *iScience*. 2020 Jun 26;23(6):101146

概要：岡山大学において世界各地から収集されたオオムギ 274 品種についての 20 年にわたる圃場出穂形質データに基づいて、圃場出穂性に関する遺伝要因を明らかにした。

3. Higo, A, Saihara, N, Miura, F, Higashi, Y, Yamada, M, Tamaki, S, Ito, T, Tarutani, Y, Sakamoto, T, Fujiwara, M, Kurata, T, Fukao, Y, Moritoh, S, Terada, S, Kinoshita, T, Ito, T, Kakutani, T, Ko Shimamoto, K, Tsuji, H. DNA methylation is reconfigured at the onset of reproduction in rice shoot apical meristem. *Nature Communications* 11, 4079 (2020)

概要：茎頂メリステムの微細単離技術を活用して花成の際に生じる mRNA トランスクリプトーム、small RNA、プロテオーム、エピゲノムの変化をすべて解明し、メリステムにおける花成の進行の全体像を描出した。このデータは基礎科学および本課題の状態形質探索に大きく貢献する。

§ 2. 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「平山」グループ

研究代表者: 平山隆志 (岡山大学資源植物科学研究所 教授)

研究項目

- ・圃場における作物生長データ収集及び時系列オミックスデータ取得

② 「持田」グループ

主たる共同研究者: 持田 恵一 (理学研究所環境資源科学研究センター チームリーダー)

研究項目

- ・トランスクリプトーム解析と圃場作物データを用いた状態履歴モデルの構築

③ 「辻」グループ

主たる共同研究者: 辻 寛之 (横浜市立大学木原生物学研究所 准教授)

研究項目

- ・圃場におけるオオムギ出穂制御基本モデル構築と作物生長データ収集

④ 「梅崎」グループ

主たる共同研究者: 梅崎 太造 (中部大学工学部ロボット理工学科 教授)

研究項目

- ・画像解析アルゴリズム開発と圃場植物情報抽出

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

- The University of Arizona データサイエンス研究所の Director である David Lebaure 博士 (<https://datascience.arizona.edu/person/david-lebauer>) とは屋外作物の 3D 成長データの解析で連携している。
- University of Illinois Urbana-Champaign 校の Alexander Lipka 博士 (<https://cropsciences.illinois.edu/people/profile/alipka>) とは K-chr モデル等を用いた作物の GWAS で連携している。Lipka 博士とは、Plant and Cell Physiology 誌の植物ライフコースに関する Special Issue を編集した。
- 滋賀大学データサイエンス学部の松井秀俊博士とは、関数データ解析を用いた研究で連携している。
- IEEE フェローで University of Trento の Farid Melgani 博士 (https://en.wikipedia.org/wiki/Farid_Melgani)とは、Computer vision による作物のリモートセンシングデータの解析等で連携している。国際共同研究の予算支援で来日し、最新の植物フェノーム解析方法について情報交換を行うとともに、その議論に基づいて総説をとりまとめた。
- 理化学研究所 医科学イノベーション推進プログラム副プログラムディレクターの桜田一洋博士と、生物の成長における状態変遷の秩序を見出す方法論について様々な議論を行っている。
- 滋賀大学データサイエンス学部の松井秀俊博士のさきがけの課題では、トマト等の栽培支援システムについて事業展開を行っている JSOL 社と連携している。
- (株)ユーグレナと連携チームをつくった。(株)ユーグレナはアグリ分野を含むベンチャーを支援するリアルテックファンドを運営しているので、事業化に向けた相談などが常に可能な状況にある。
- バイオスティミュラントの開発・販売を行なっているアクプランタ株式会社と、共同研究を見据えた協議を進めている。
- 中国南方科技大学の Hongwei Guo 教授と MTA を締結し、共同研究について関して協議を進

めている。

- CREST「植物頑健性」三宅チームと連携し、圃場における微小環境の差異が植物生育に与える影響を調査している。これまでに平山チームでは、圃場に2列並べて栽培したオオムギの中で、必ずある列のオオムギのみが大きく成長することを見出した。列間のわずか 16cm が再現性良く成長の差を引き起こす。微小環境の違いが成長の差の要因であると考えられるが、圃場のわずか 16cm の環境差を識別できるセンサーがないため実験不可能であった。そこで三宅チームと共同で新規に開発した超小型の環境センサーを圃場に設置し、わずかな距離間の環境差と植物成長を精密に計測する共同研究を進めている(課題間連携促進費)。
- CREST「植物頑健性」工藤チームと連携し、我々がオオムギで経時的に取得したエピゲノム情報の解析を検討した(課題間連携促進費)。
- CREST「植物頑健性」清水チームに参画している京都大学農学部的那須田周平博士との共同研究を実施した。本課題で開発した茎頂メリステムの1細胞解像度全層イメージング技術によって、那須田博士の作出したコムギ系統のメリステムを超高精細に撮影し表現型計測した。
- CREST「植物頑健性」永野チームとの共同研究により、永野チームの開発した安価・簡便な多検体 RNA-seq 技術 Lasy-seq を導入した。オオムギにおいても Lasy-seq による多検体解析を実施する体制を構築できた。
- CREST「統合 1 細胞」大川チームと共同研究で、大川チームの開発した極微量エピゲノム解析技術 ChIP-seq を植物の茎頂メリステムにおいて可能にする技術開発を開始した。
- さきがけ研究者(戸田陽介、大倉史生)との共同研究により、機械学習の教師データの自動生成による種子形状解析を飛躍的に効率化、高精度化する技術を開発した。さらにこの技術を応用的に発展させて、穂画像から収量関連形質の迅速、大量取得技術の開発に向けて協議を開始している。
- オオムギパンゲノム国際コンソーシアムに参加し、日本在来種の赤神力のゲノム解読を行い、オオムギゲノムの多様性の解明に貢献した。
- 植物体内の生理状態を把握するためのナノセンサーの開発を、岡山大学工学部、林靖彦教授のグループと共同で実施している。このための予算として、岡山大学革新的素材拠点予算および科研費を獲得している。
- バイオスティミュラントの作用の科学的記載と、その理解に基づく最適利用方法の提案を行うことを目的とした生物刺激制御研究会の創設に関わり、作物の成長予測のための技術、知見の周知を進めている。
- Deep phenotyping に基づく植物の環境ストレス耐性遺伝子の同定とその利用を目的としたムーンショット型研究に2020年から参加している。
- 長崎大学に新設された情報データ科学部にクロスアポイントメント教員として参加し、高次元データ科学の研究者らとあらたな教育・研究体制を構築した。
- Texas Tech University の Son Tran 教授と PCP special issue (Plant Growth Regulation)を編集するとともに、植物ホルモン分析による作物の生育向上手法に関する総説を投稿し受理された(Hirayama & Mochida, 2022)。