

2023年度GITIフォーラム

『ICT 技術による一次産業の DX 展開から
サイバーフィジカル化への展望を考察する』

16:00-16:20



環境遺伝資源利活用のためのDXへの挑戦

微生物を通じて環境を把握し利活用する

早稲田大学 先進理工学部 生命医科学科

竹山 春子



微小な環境からマクロな環境まで、ハイスループットな新たな測定によるDXが進展している

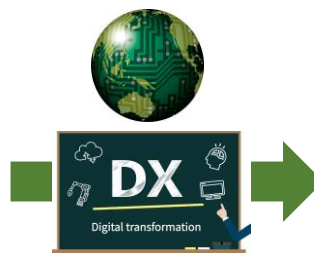
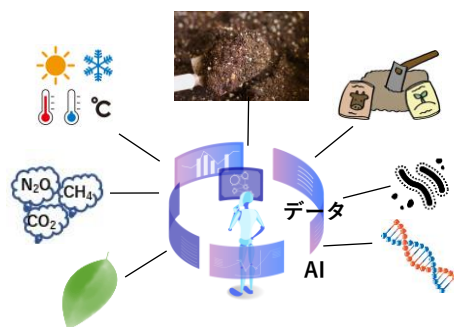


スーパーコンピューター



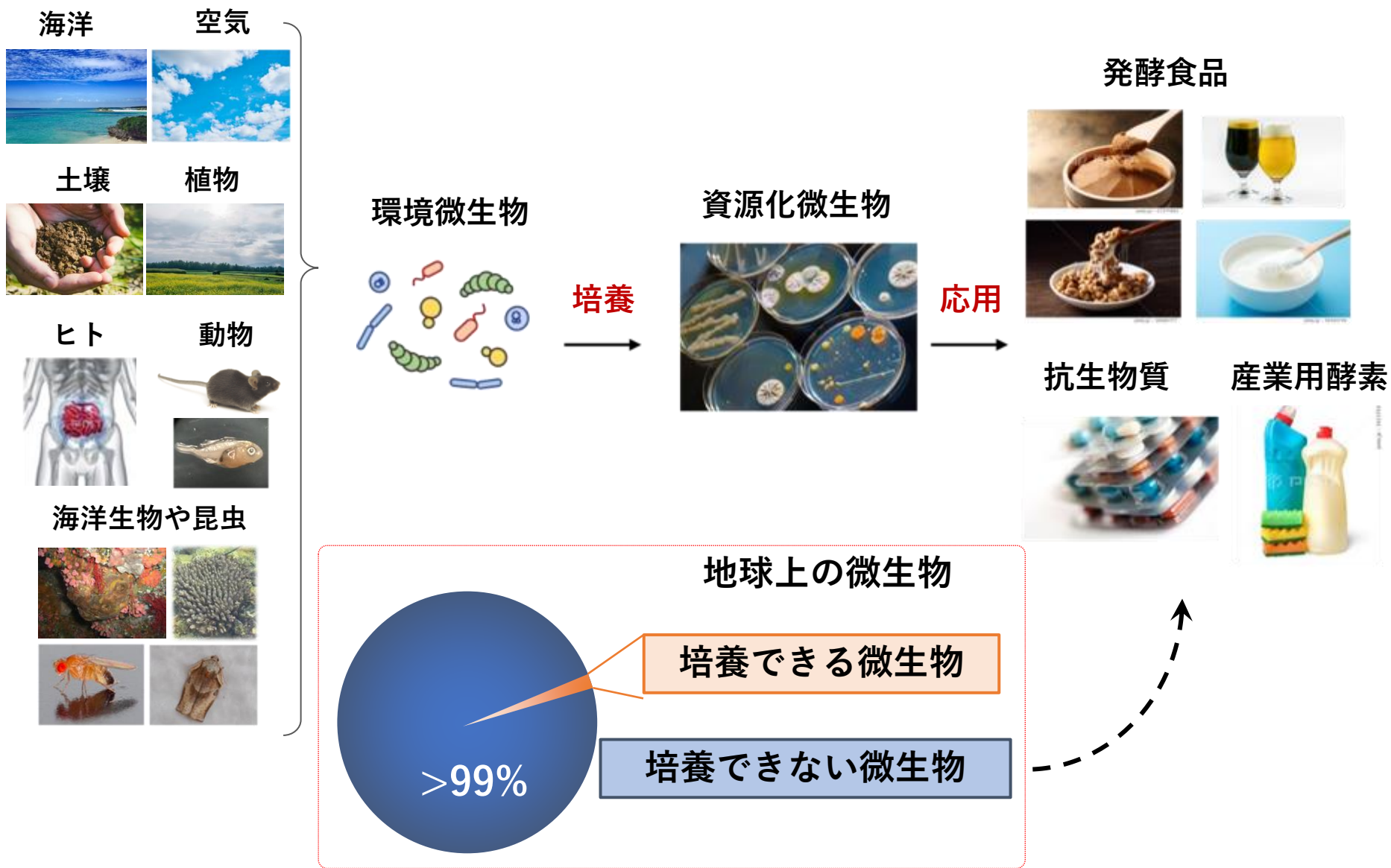
多様な環境を把握するには、計測が重要。
特に、今までにはない技術でハイスループットな計測
が求められている。

何を対象とするのか？どんな測定方法が必要なのか？



新たなサイエンス・
ビジネスが広がる

環境中の微生物資源を把握して有効に使う研究



微生物ゲノムの解析に向けた新たな戦略：シングルセルゲノム解析

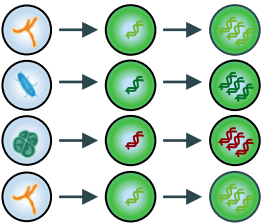
多様な微生物の集団



単離培養株ゲノム
単離培養株のDNA

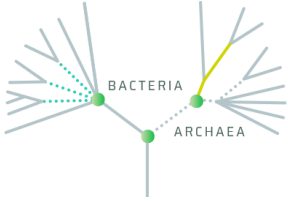


1998年～2000年(DeLong)～
メタゲノム
全微生物DNAの混合物



シングルセルゲノム
1細胞から増幅したDNA

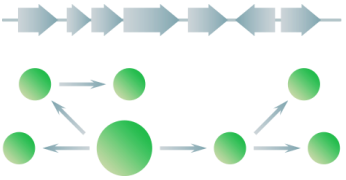
ゲノム解析のアウトプット



リファレンスゲノム拡張



微生物叢組成解析

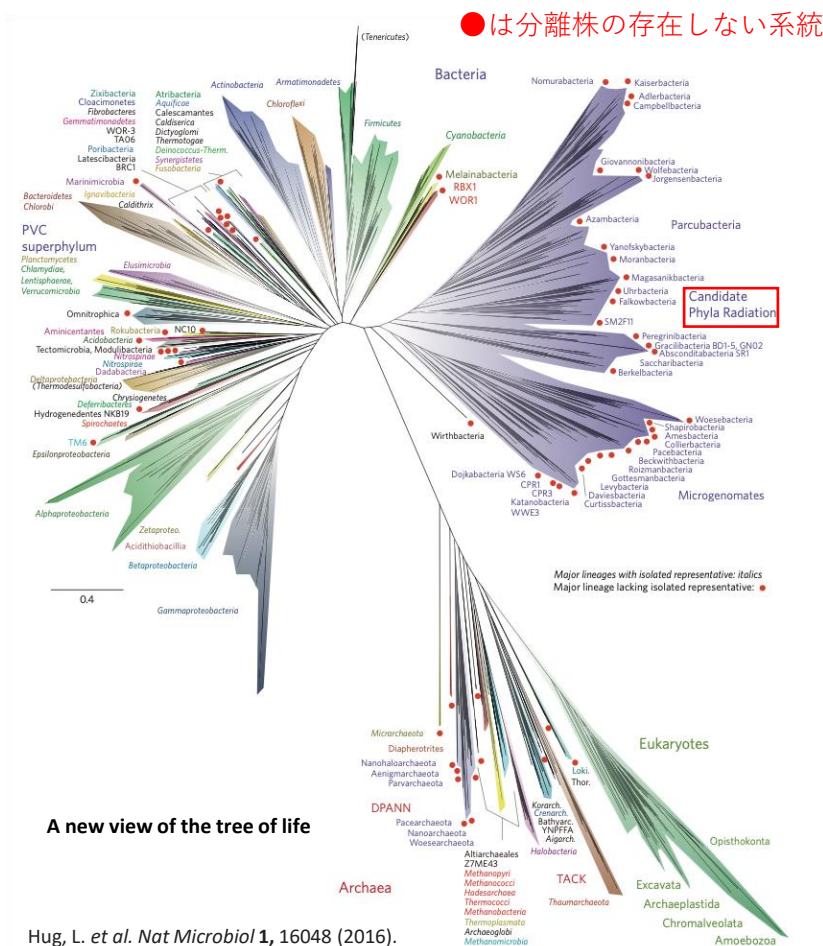


遺伝子組成・パスウェイ解析

G	A	T	T	A	C	A
G	A	T	T	A	C	A
T	T	T	C	A		
T	T	C	A			
T	T	C	A			

株の多様性解析

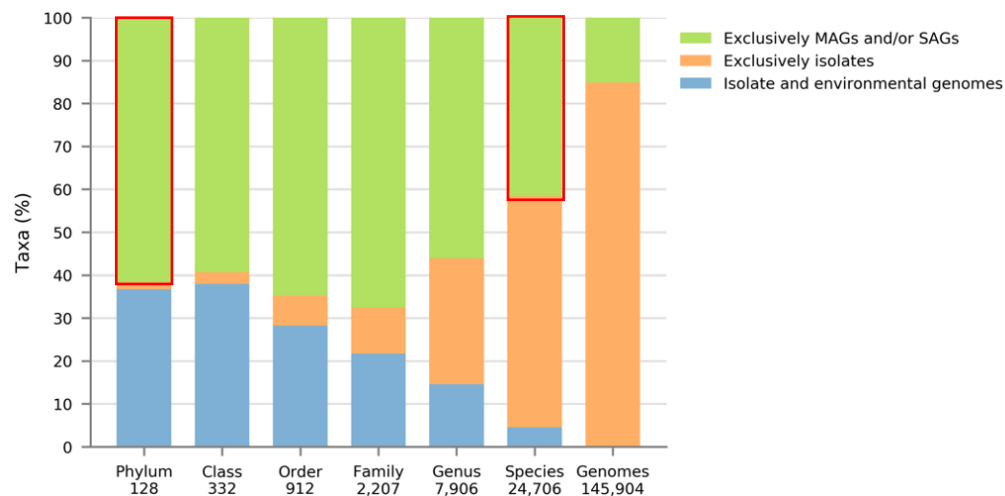
メタ・シングルセルゲノム由来の未培養細菌ゲノム情報が生物多様性の理解を押し広げている



メタゲノム解析で大量の新種微生物が推定

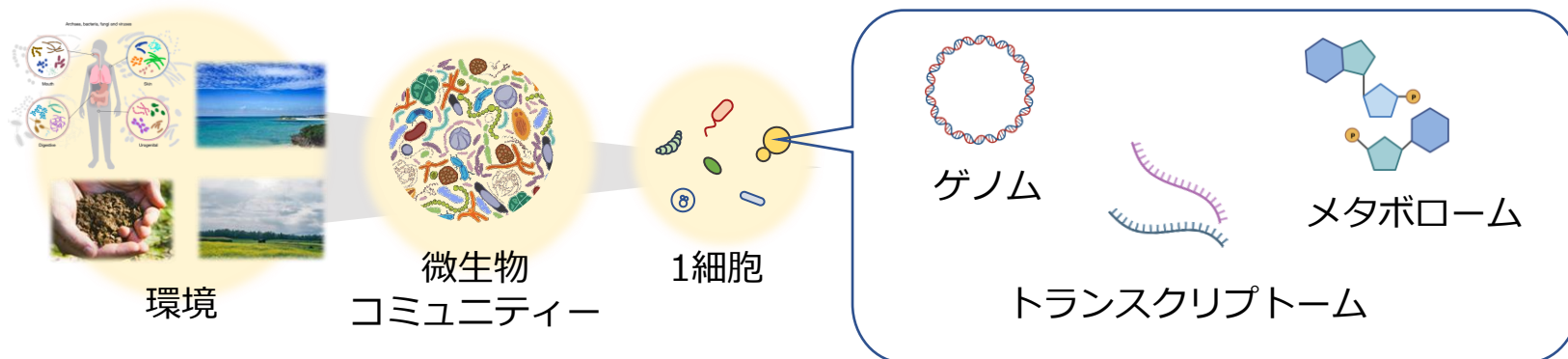
⇒世界中の研究者がアクセス可能なリファレンスに

Genome taxonomy database 14万バクテリアゲノム、
24000種の40%がメタゲノム由来



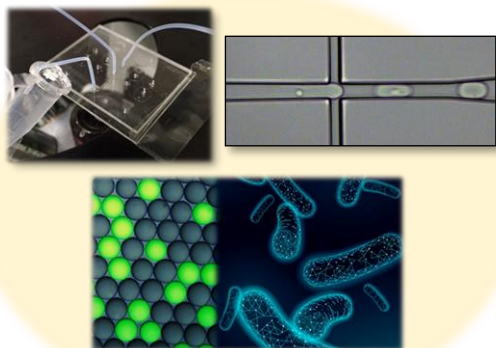
Parks, D., *et al. Nat Biotechnol* 36, 996–1004 (2018).

1細胞解析技術に向けた基盤技術の開発と応用



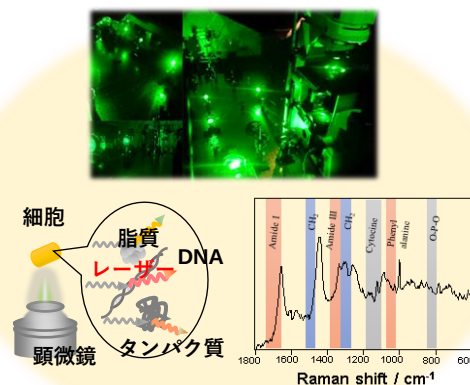
「微生物1細胞由来の生体情報を対象としたマルチオミックス解析」の実現に向けた技術開発

シングルセルゲノミックス



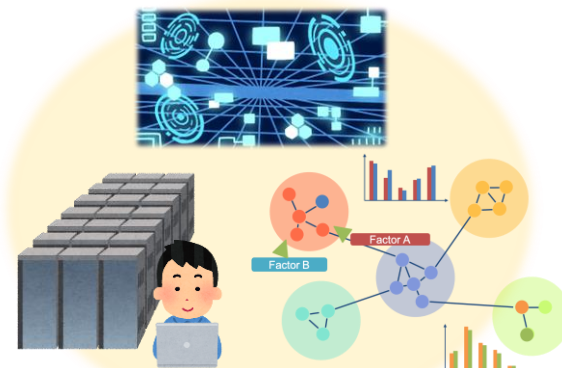
微小液滴作成技術

シングルセルメタボロミックス



共焦点顕微ラマン分光法

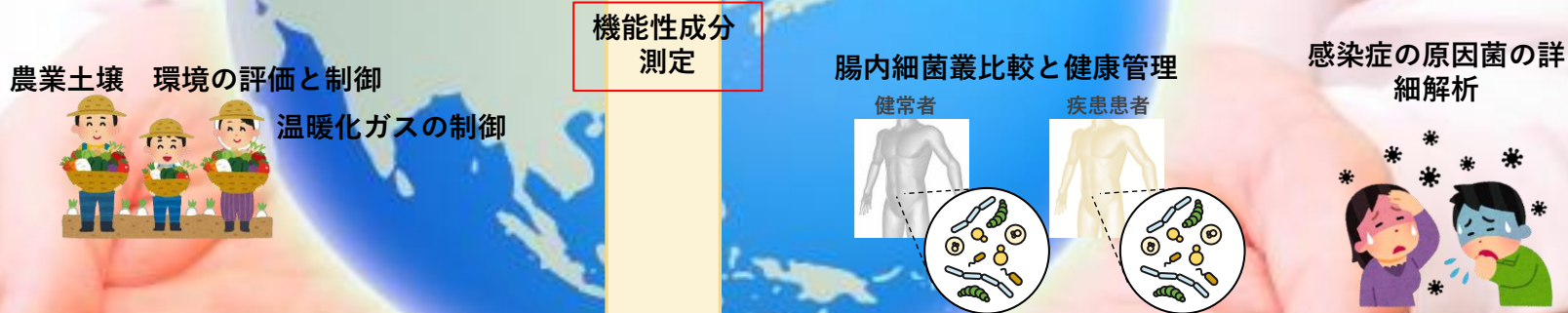
バイオDX



ビッグデータ解析

基盤技術の開発から、出力されたビッグデータの解析までを一貫して実施
生物と環境との相互関係を生物分子情報から解析し生物学的知見の獲得を目指す

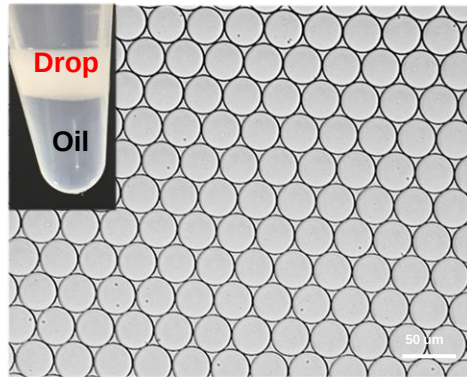
新しいプラットフォーム技術を用いたプラネットヘルスへの展開



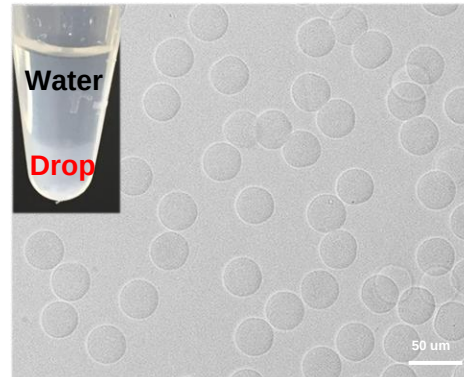
- 生物遺伝情報資源として、**細菌の作る酵素や抗生物質の探索**に利用
- ヒトの健康や環境と関わる**細菌叢の機能理解**のための基礎情報として、**産業応用、環境保全、医療分野**へ貢献

SAG-gel法：ドロップレットを活用したハイスループット1細胞ゲノム解析技術

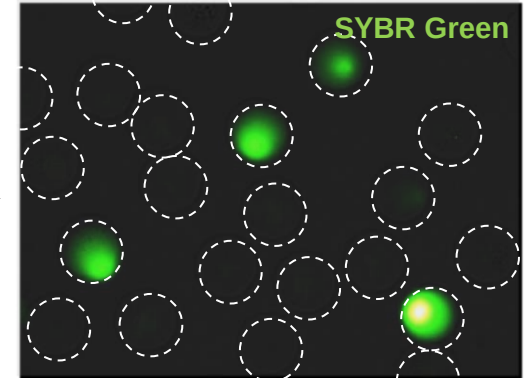
Water in Oil (W/O) ドロップレット



ゲルビーズ



ゲルビーズ内でのゲノム増幅



Chijiwa et al., Microbiome, 2020, Nishikawa et al., *ISME communications*, 2022

多様な環境サンプルへの応用



海洋



河川



土壤

宿主共生細菌

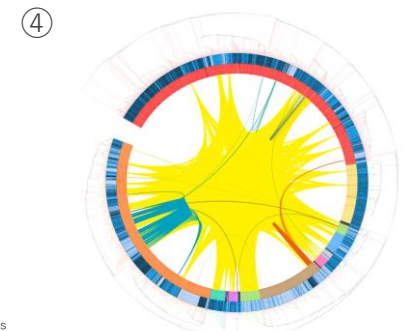
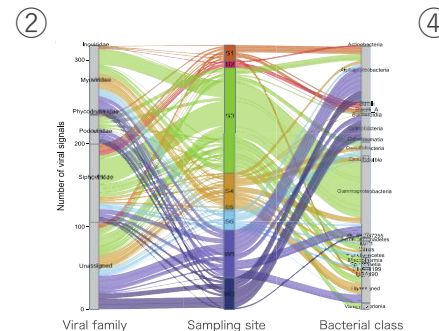


環境ウイルス

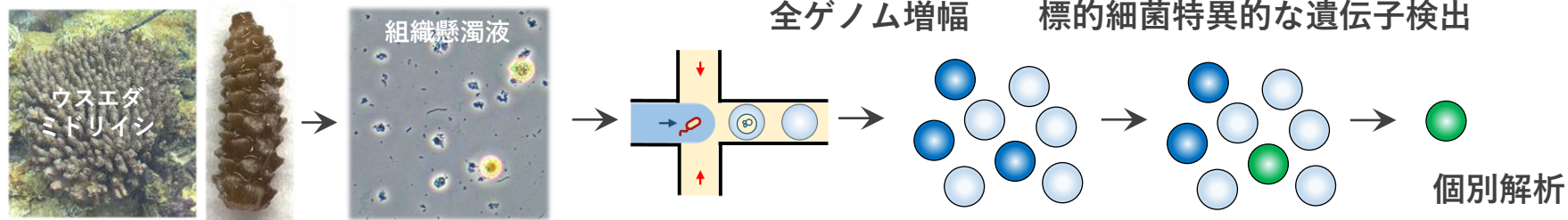


1細胞ゲノム解析のメリット

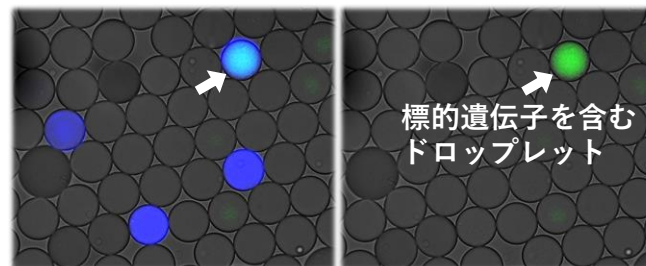
- ① 株レベルでの詳細な比較ゲノム解析が可能
- ② ファージ-宿主間の紐付けが可能
- ③ 未培養細菌系統のゲノム情報が獲得可能
- ④ 標的遺伝子保有菌の検出が可能
(プラスミドを含む)



応用例) サンゴ共生微生物の比較ゲノム解析



サンゴ組織の代表的な共生細菌である *Endozoicomonas* sp. を標的とした細胞特異的なゲノム解析技術を開発

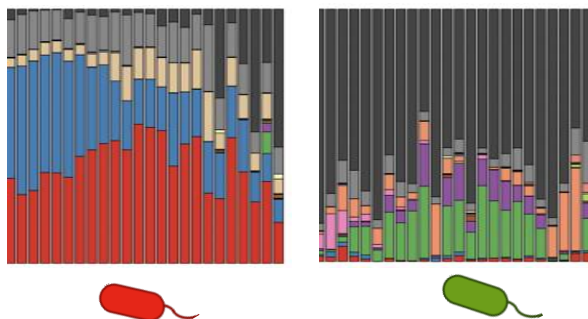


Blue(DAPI):
DNA増幅

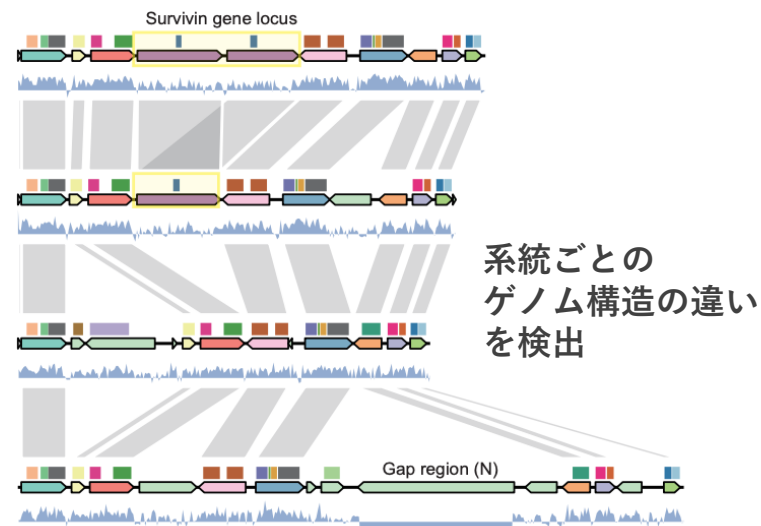
Green(FAM):
標的16S rDNA

異なる地点のサンゴに共生する *Endozoicomonas* のゲノム解析

各サンゴ個体内の細菌組成

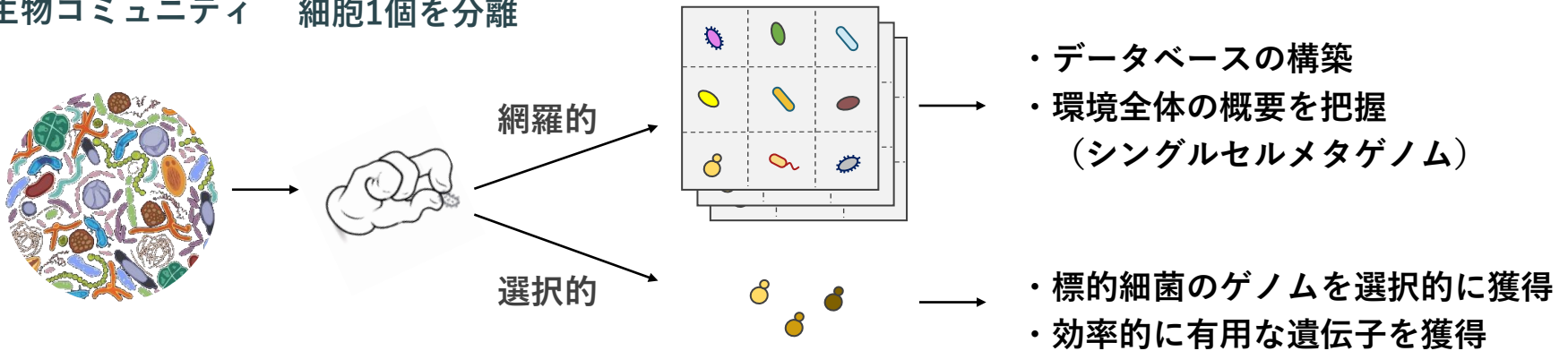


異なる地点に生息する同一種のサンゴ個体内に系統的に離れた *Endozoicomonas* 細菌が共生している

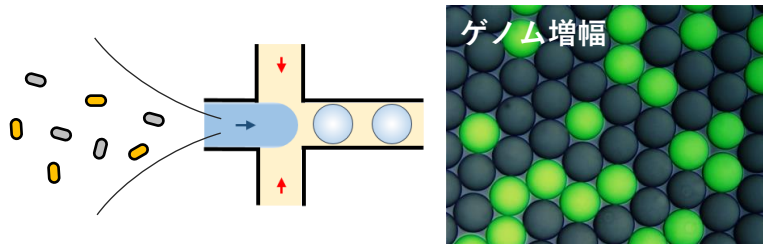


シングルセルゲノム解析における2通りの戦略：網羅的 or 選択的

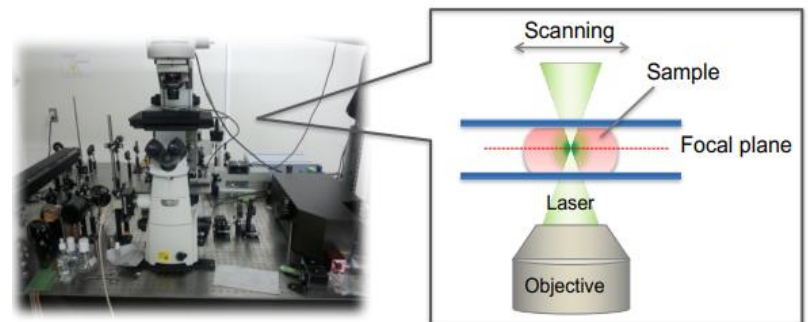
微生物コミュニティ 細胞1個を分離



微小液滴（ドロップレット）を用いた
ゲノム解析

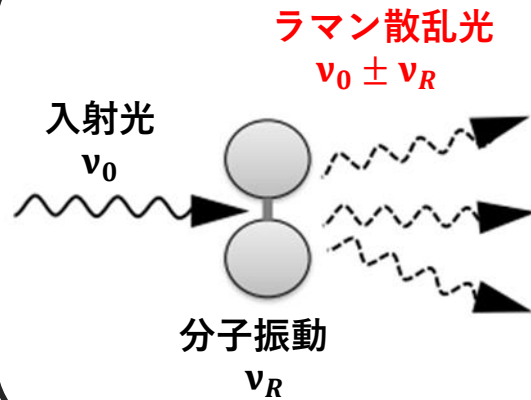


共焦点顕微ラマン分光計による
一次スクリーニング

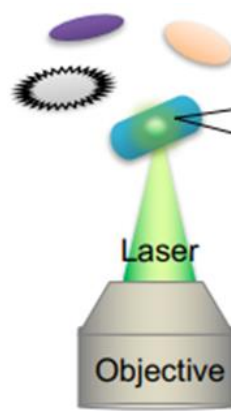


ラマン分光法を用いた一菌体内における代謝産物の検出

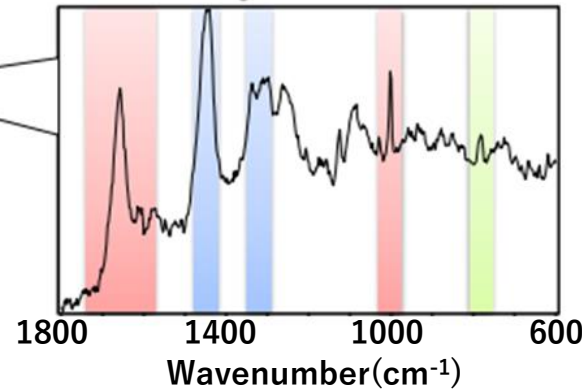
ラマン分光法



環境微生物

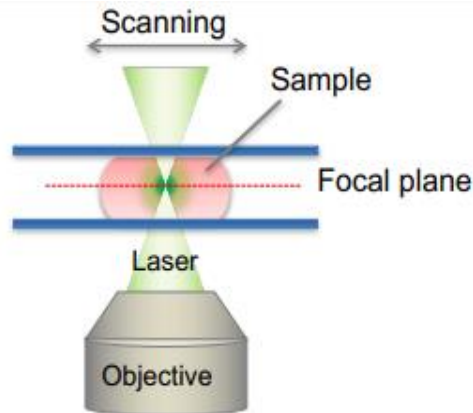


ラマンスペクトル



生体分子組成

- タンパク質
- 脂質
- 核酸
-
-
-
- 生理活性物質



空間分機能
 $0.3 \times 0.3 \times 2.6 \mu\text{m}$
 (x, y and Z direction)

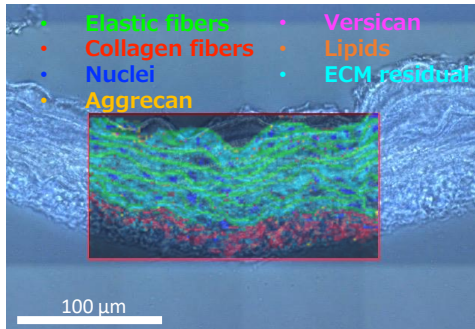
分析手法	分子分析	ラベルフリー	非破壊	感度	空間分解能
蛍光イメージング	○	×	○	◎	50 nm
質量顕微鏡	◎	○	×	○	5-10 μm
顕微赤外	○	○	○	○	10 μm
顕微ラマン	○	○	○	○	300 nm

➤ ラベルフリー、非(低)侵襲計測、空間分解能 ~300 nm

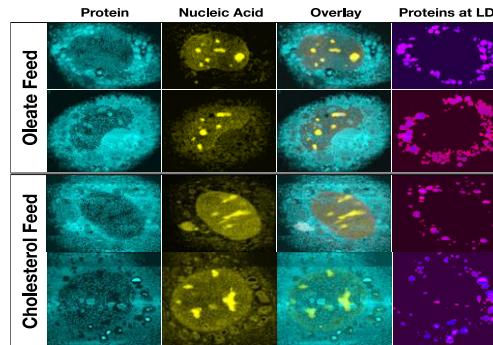
ラマンメタボロミックス

ラマン分子イメージング

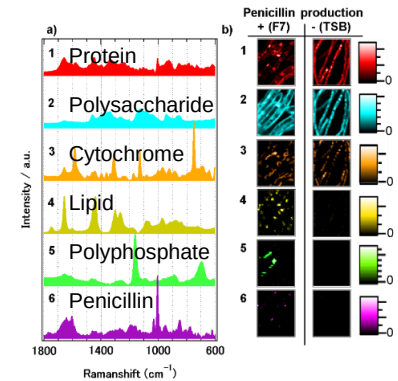
組織切片



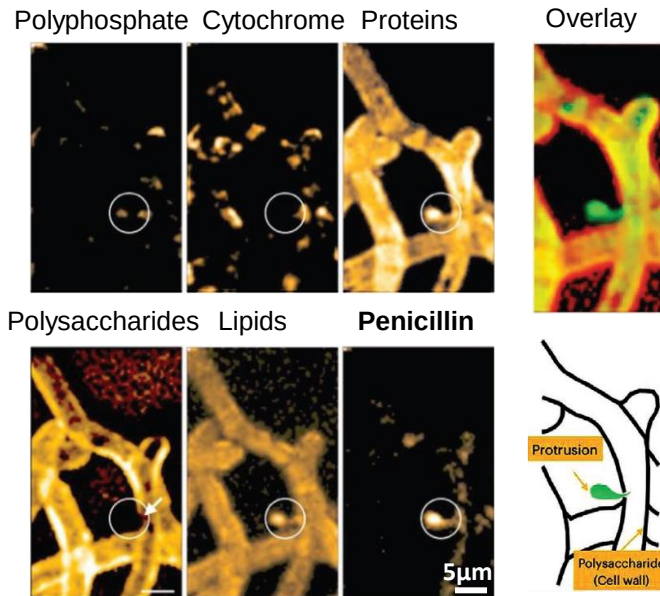
動物細胞



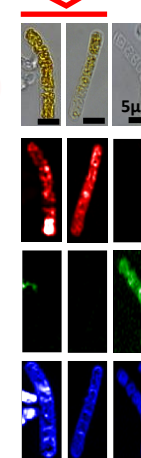
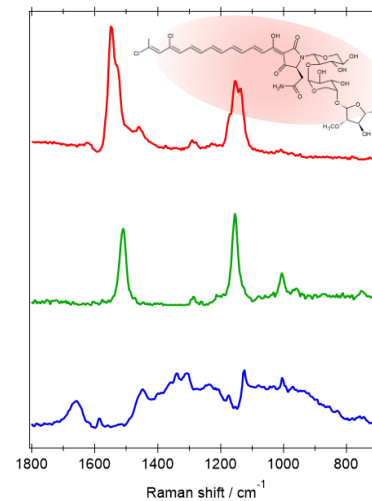
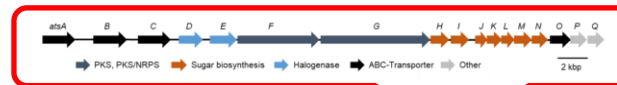
微生物



In situ 分子イメージング / 細胞動態



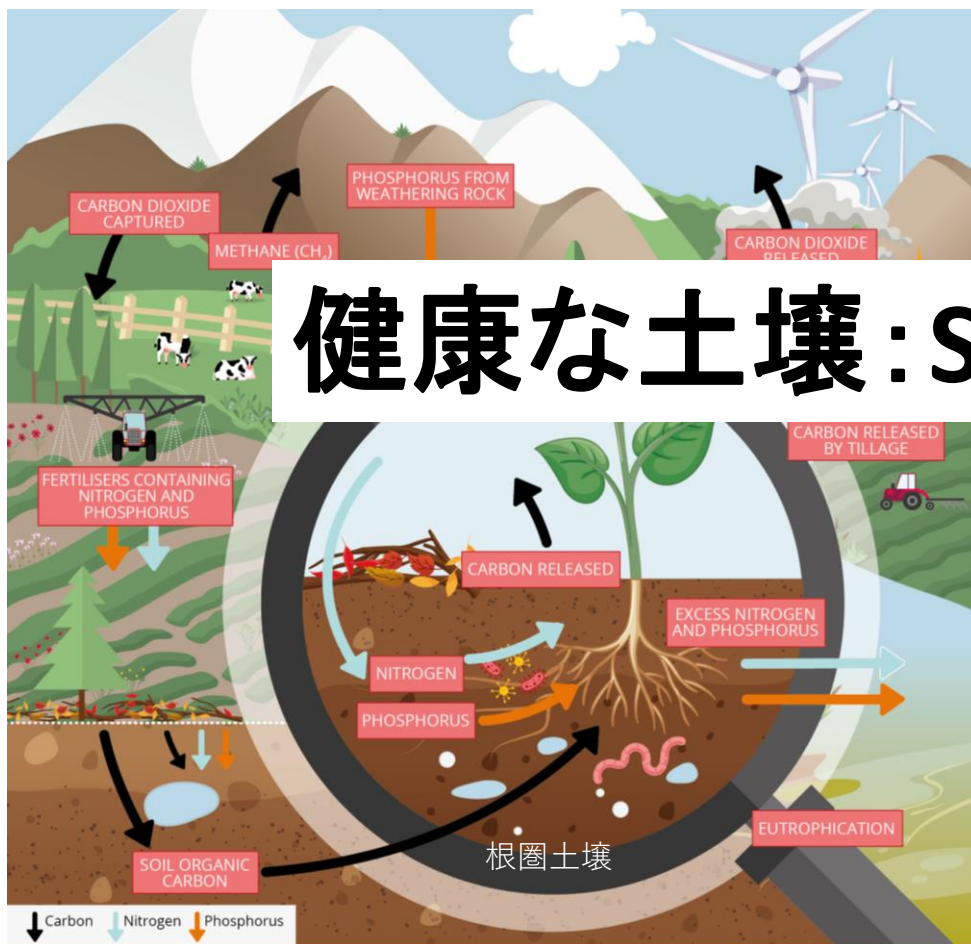
二次代謝産物産生菌スクリーニング



シングルセルゲノミクス

ラマンメタボロミクス による菌体スクリーニング

循環型農業の達成に向けて現在の農業が抱える問題：国内外で共有される課題



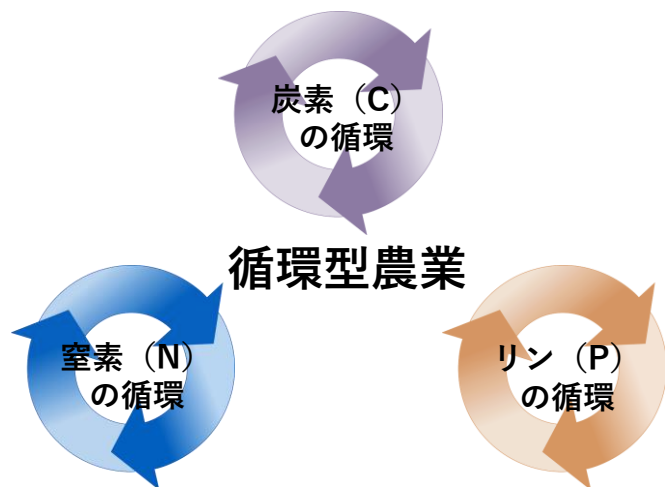
European environment agency

→ 炭素 (C) → 窒素 (N) → リン (P)

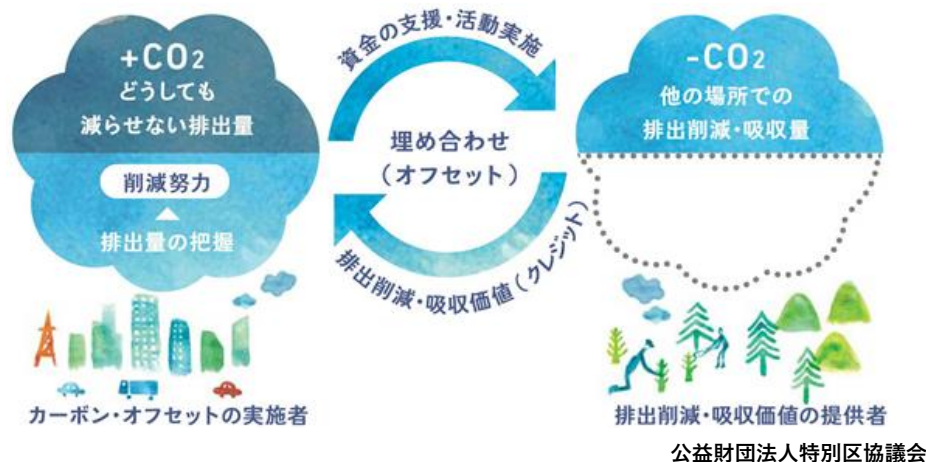


未知の微生物の機能を活用し、土壌・環境の制御を試みる → 持続可能・循環型の農業

社会が直面している食料生産課題



カーボンオフセット、 カーボンニュートラル、カーボンクレジット



フードセキュリティー ロシアの軍事侵攻の影響 を受けた肥料価格の高騰



みどりの食料システム戦略

2021年5月12日策定



2050年までに

- ・ 化学農薬の使用量を**50%低減**
- ・ 化学肥料の使用量を**30%低減**
- ・ **有機農業**の取組面積の割合を**25%に拡大 (100万ha)**

「意欲的な計画。生産者、事業者、消費者
それぞれの理解と共同で実現するもの」

By 野上浩太郎農相

農林水産省

2018年実績：耕地面積の0.5% (2万3000ha)

微生物と植物の相互作用を含む農業土壌環境の全体を理解し、作物生産の向上と持続可能な新事業の創出のために**土壌環境の健康度**を改善・維持していくことを目標にする。

多様な因子からなるビッグデータの解析（Soil DX）を通じて、**未来社会のための農業食糧生産システム**の実現を目指す。

ムーンショット目標5が目指すこと

- **ムーンショット型研究開発制度**は、我が国発の破壊的イノベーションの創出を目指し、従来技術の延長にない、より大胆な発想に基づく挑戦的な研究開発（ムーンショット）を推進する制度です。
- 目標5では「**2050年までに、未利用の生物機能等のフル活用により、地球規模でムリ・ムダのない持続的な食料供給産業を創出**」することを目指しています。

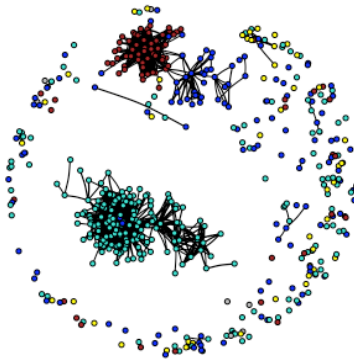
微生物

- ・細菌叢（16S rRNA）
- ・メタゲノム / シングルセル**ゲノム**
- ・シングルセル**メタボローム**
- ・希少放線菌、窒素固定菌、リン溶解菌を含む**カルチャーコレクション**
- ・**遺伝子発現プロファイル**

植物

- ・トランスクリプトーム、メタボローム

微生物-植物 ネットワーク



土壌データ

- ・土壌物性
- ・各種イオン濃度・含量
- ・硬度



Naylor D, et al. 2020. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 45:29-59

<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-environ-012320-082720>

ネットワーク解析を活用し、**土壌健康度**を評価

堆肥、リン回収物、微生物資材の添加に伴う、土壌細菌叢の変化を追跡

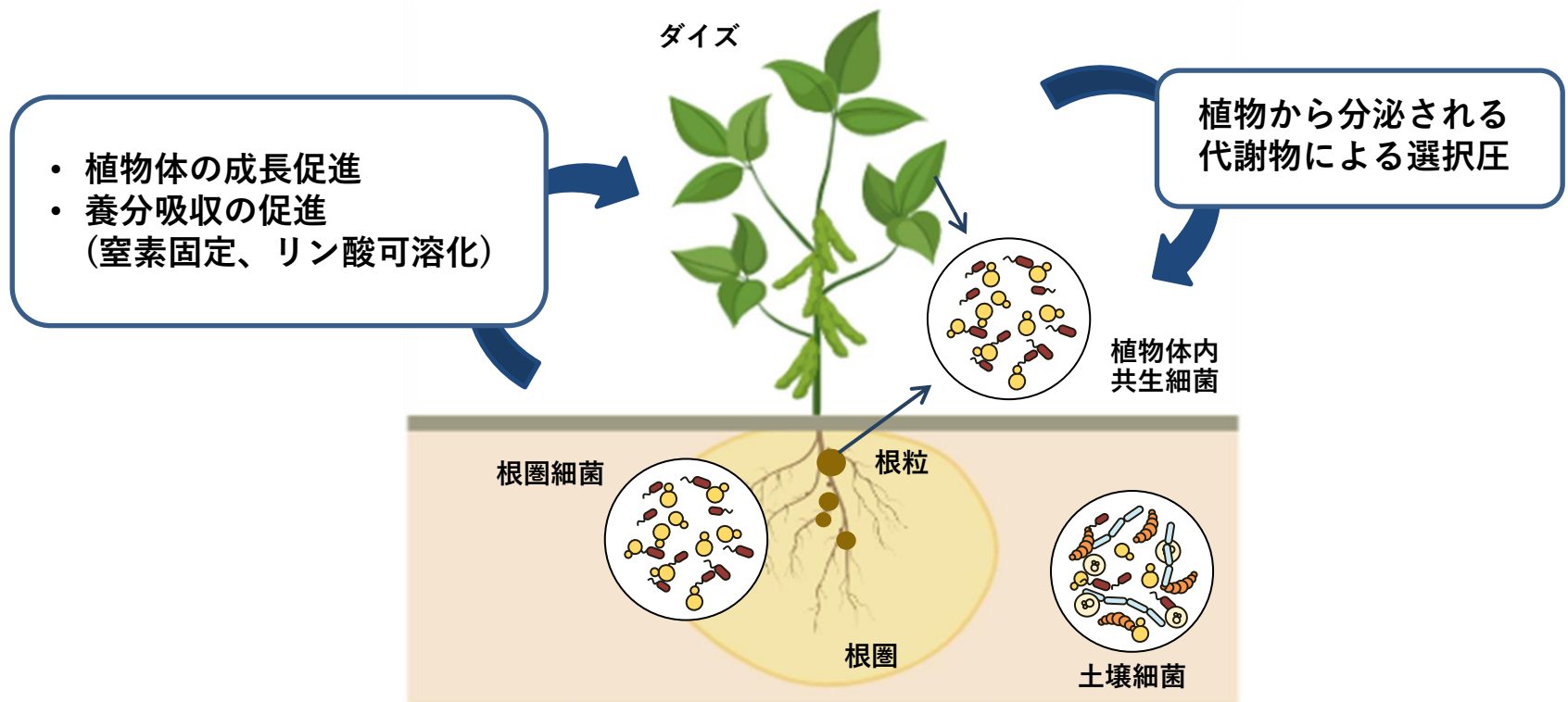
微生物の特徴(系統・遺伝子)を土壌の性質ごとに体系化し、土壌微生物を中心にした**地図帳（アトラス）**を構築

根圏における植物-細菌間の相互作用

根圏：

植物から離れた土壌に比べ、植物根から分泌される有機物や二次代謝産物の濃度が高い領域。
分泌物の影響により特定の細菌が誘引され、増加している。

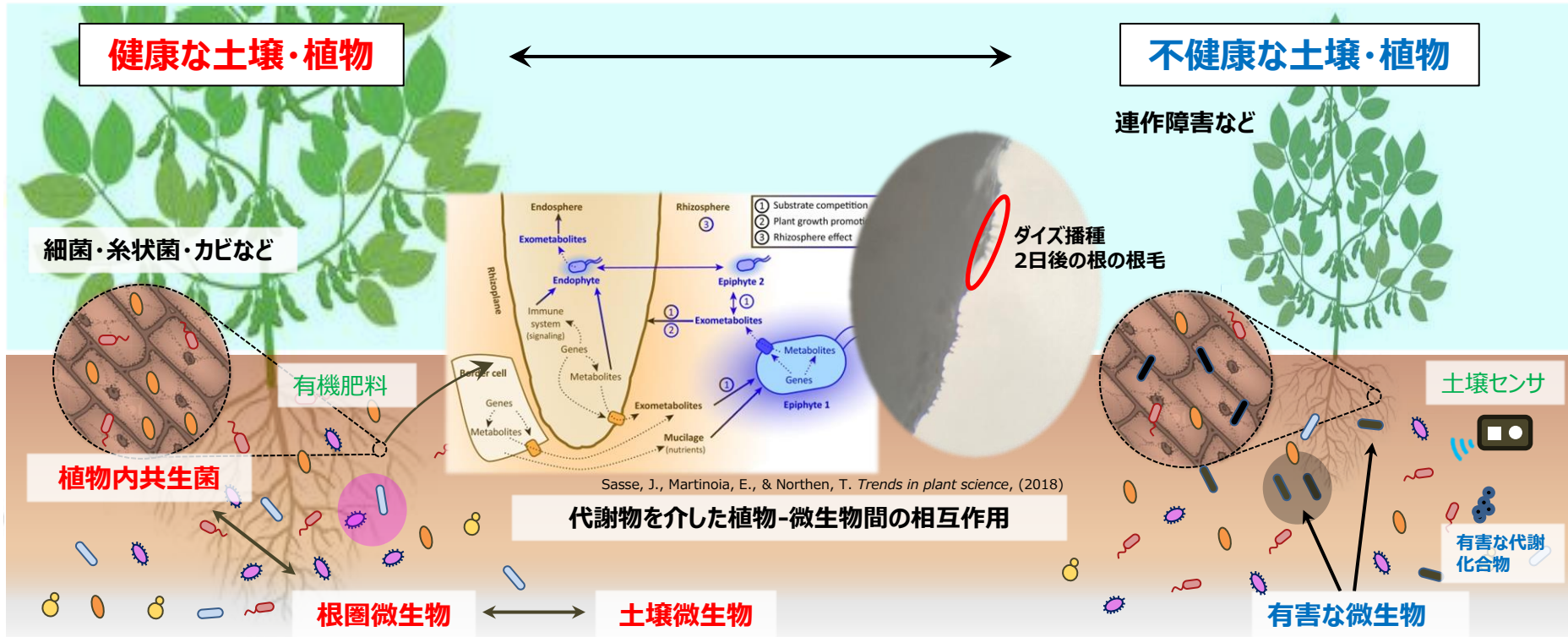
(南澤究他, 土壌微生物学, 2021)



植物形質がライフサイクルにわたって変化する。(Wagner, M.R., *New Phytol*, 2021)

→ 植物の成長に応じた根圏細菌叢の変動を明らかにする必要がある。

研究概要：これまでにない解像度で細菌-土壌-植物間の相互作用を解析

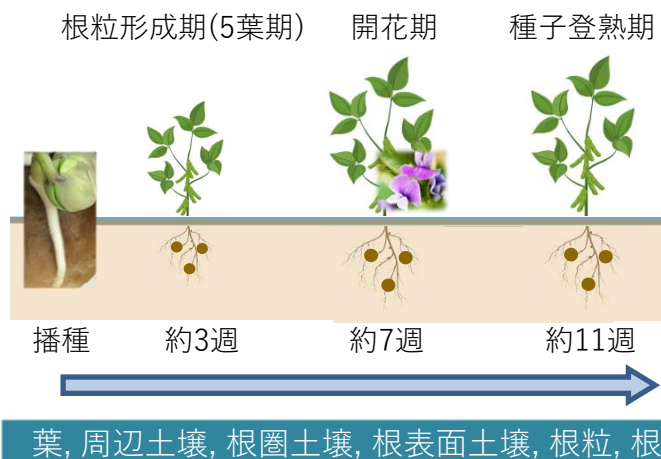


- 独自の計測・解析技術を開発し、細菌-土壌-植物の相互作用をモニタリング
- 得られたビッグデータを解析することによって土壌の活性・健康度の指標を構築
- 水産廃棄物の肥料化（海と畑をつなぐ循環型農業モデルの構築）

安定した栽培、収穫アップ、土壌ビジネスへの道筋

多種多様なデータの収集

ダイズ・土壌のサンプリング



チャンバー・
ポット栽培



2020, 21年度
佐賀：生ダイズ
異なる8種の前作履歴
生育良好

圃場栽培



2022年度
佐賀：生ダイズ
5種の前作履歴、生育良好
イソフラボン変異体



2022年度
京都：黒ダイズ
連作圃場
生育良好・不良

2022年度

秋田：青ダイズ・生ダイズ
連作圃場
生育良好・不良

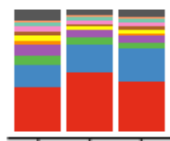
2022年度

宮城：生ダイズ
連作圃場
1年連作・10年連作

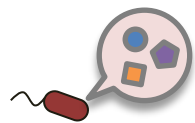
2022年度

早稲田 チャンバー栽培
SG3 大型チャンバー栽培

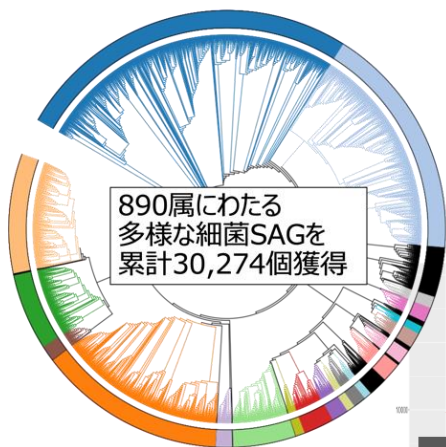
異なる土壌条件で栽培したダイズ株と周辺土壌を、成長段階ごとに採取
これまでの解析総数 16S rDNA：約600サンプル シングルセル：約30,000個



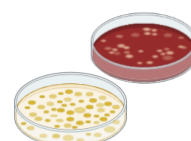
微生物組成
(16S, ITS)



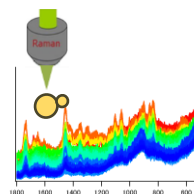
シングルセル
ゲノム



当初予定の10倍以上
のゲノム数を獲得



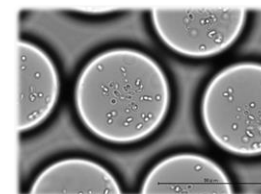
放線菌・微生物
培養



顕微ラマン分光



保有菌株数：2105株
全ゲノムシーケンス：131株



ラマンスペクトラムライブラリー：80株
抽出物解析(LC/MS, LCラマン)：255株

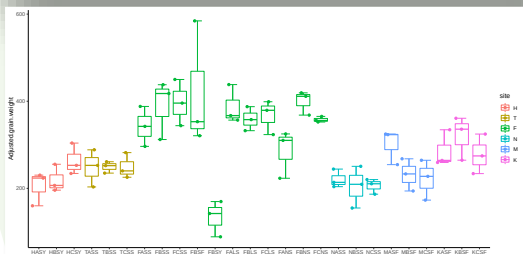
ムーンショット目標5の私たちサブグループの位置づけ

新たな農業制御システムに向けたPDCA

基礎科学、土壌DX→実用化ビジョン→社会実証



全国の圃場を対象とした
大規模解析：シュミレーション



5. 栽培マネジメント

理研・市橋



早稲田大・下川

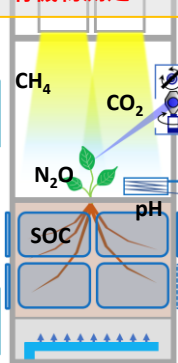
4. 社会科学



PM 竹山 春子



光でガスを測定する
有機物測定



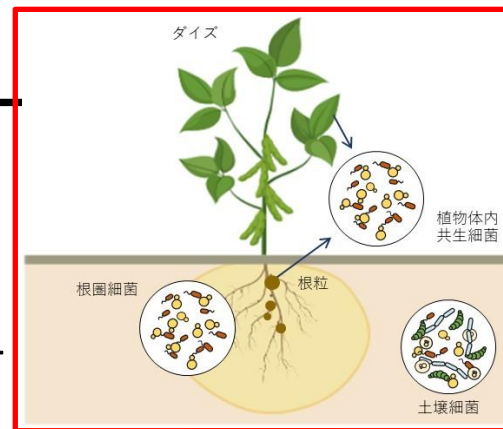
人工気象チャンバー

多様な環境を人工的に再現
解析データの実証



3. 環境制御・測定

理研・和田



微生物コミュニティ解析

1細胞オミクス解析により
植物-微生物の総合作用を
より詳細に解析

有用微生物の取得と
リン供給システムの開発



1. 土壌微生物叢アトラス



早稲田大・竹山



農工大・田中

植物体のオミクス解析

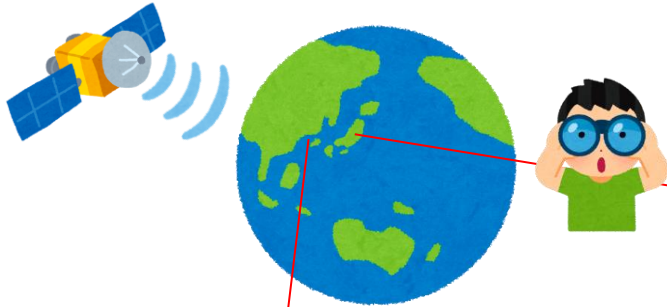
ダイズのトランスクリプトームと
メタボローム解析



2. 作物

横浜市立・松井
九州大・穴井

先進的循環型社会の構築にむけて（小規模から大規模循環を考える必要性）



先進技術を活用し、陸から海までをモニタリング
微生物の力を活用し、ヒトにも環境にも優しい社会を創出

土壌微生物叢アトラスに基づいた環境制御による 循環型協生農業プラットフォーム構築

