

解説

フィールド・トランスクリプトミクスから30年後の生物学を考える[‡]京都大学 生態学研究センター/JST さきがけ
永野 惇*

植物の本来の生育環境である野外では、温度や光などが刻一刻と複雑に変化する。単純にコントロールされた実験室環境における研究のみから、複雑に変化する野外環境に対して植物がどのように応答しているのかを類推することは難しい。我々は、野外圃場における大量のイネのトランスクリプトームデータと気象データを統計モデリングによって解析することでこの問題に答えた。同時に、葉で発現の見られる大半の遺伝子に関して発現のシミュレーションが可能となった。最後にフィールド・トランスクリプトミクスの立場から、「予測」・「設計」・「制御」へ向けた展望をのべる。

1. はじめに

近年の植物の分子生物学的研究は、そのほとんどが実験室内で行われている。栽培環境・実験環境を可能な限りコントロールし、研究対象としている要因以外を極力そろえた条件で実験を行う、というのが基本姿勢である。このようなアプローチによって、植物の様々な側面に関する詳細な分子機構が明らかにされてきた。もちろん、今後もさらに精緻な実験によって、多くのことが明らかにされていくことだろう。

一方で植物の本来の生育環境は実験室ではなく野外であることは言うまでもない。野生植物であれば自然環境下で生育し、作物であれば圃場で栽培される。となれば、実際に野外環境下で起こっていることを理解する必要があるだろう。ここで問題になるのが、野外環境の複雑さである。先にふれたように、実験室では気温・光を一定にするなど、比較的単純な条件にコントロールして植物を栽培する。一方、野外では激しく変動する(図1)。兵庫県における気温を例に見ると、まず日周変動がある(図1A)。ほとんどの日では、1日の中で昼は暖かく夜は涼しい。季節にもよるが昼夜の気温差は10°C以上になることも多い。より長いスパンでみると年周変動を見ることが出来るし(図1B)、より短いスパンでみると分オーダーの変動も存在する。このように複雑に変動する野外環境に対して、生物はどのように応答しているのだろうか。単純な環境にコントロールされた実験室で得られた知見から、野外で

起こっていることを想像するのは容易ではない。例えば、ある実験で高温に対する応答を、25°Cのインキュベーターから35°Cのインキュベーターに移すことで調べたとしよう。温度変化に対する応答の分子機構を明らかにするためには十分なセッティングかもしれない。しかしながら、野外での気温は細かい変動を繰り返しながら徐々に変わっていく。仮に明け方の最低気温が25°C、昼過ぎの最高気温が35°Cだったとすると、

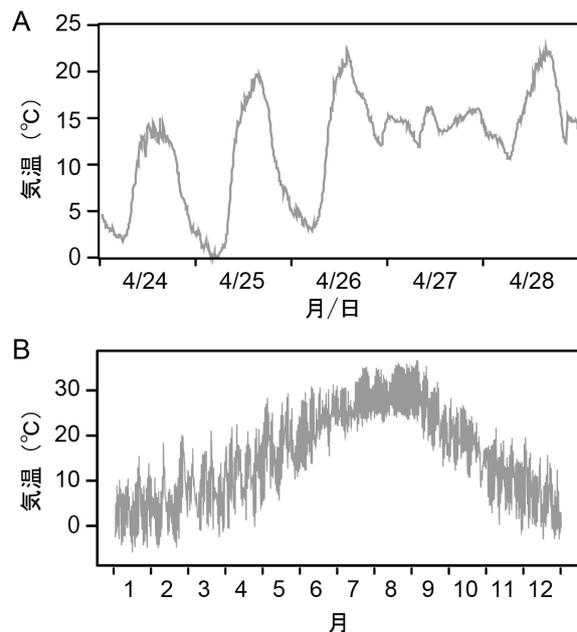


図1 (A) 2010年4月24日から28日の兵庫県西脇のアメダス気温データ。4月27日は雨天のため日中の気温上昇がみられない。(B) 2010年の兵庫県西脇のアメダス気温時別平均データ。

[‡] 解説特集「30年後の光合成研究」

* 連絡先 E-mail: anagano@gr.bot.kyoto-u.ac.jp

数時間かけて変化が起こることになる。数分で25°Cから35°Cになる場合と、数時間かけて25°Cから35°Cになる場合で植物の応答が根本的に異なっているかもしれない。そう考えると、一口に高温応答といっても実験の条件設定はいくらでもありうる事が分かる。それならばいつそのこと、実際の野外環境で植物の応答を調べてみるのが、手取り早い方法の一つだろう。

では、何を測定するべきか。野外での栽培や研究は一般に実験室で行う場合より労力がかかる。また、環境条件は自然任せになるため栽培シーズンが限られ、多くの場合、年に1回きりのチャンスで可能な限りのことをすることになる。そのため、なるべく沢山の項目をまとめて測れて、定量性が良いものが良いと考えられる。そのような条件を満たすもののひとつが、トランスクリプトームである。DNAマイクロアレイやRNA-Seqによるトランスクリプトミクスは網羅性・定量性ともに高い。その網羅性ゆえに、トランスクリプトームデータは直接的・間接的に様々な生物現象を反映していると期待できるだろう。また、遺伝子発現は数分から数時間で変動しうること、その変化の幅はときに100倍以上になることが明らかになっている^{1,2)}。このように短時間で大きく変動しうる性質からも、トランスクリプトームは野外環境下における植物の環境応答を知るための測定対象として適していると考えられる。

2. フィールド・トランスクリプトミクス：野外環境下での遺伝子発現研究

これまでに、野外環境下での遺伝子発現研究はいくつか行われている。トランスクリプトームレベルのデータがとられているものに限っても、イネ³⁻⁵⁾、シロイヌナズナ⁶⁾、トウモロコシ⁷⁾、*Andropogon gerardii*⁸⁾、*Populus tremula*⁹⁾、*Shorea beccariana*¹⁰⁾、変わったところではサングと共生藻¹¹⁾などがある。また、最近では海洋のメタトランスクリプトームの日周変動解析¹²⁾も報告されている。もちろん、これらのすべてが気象データなどとの関係を解析しているわけではない。目的とする特定の現象を解析するためのデザインで行われた実験においては、野外環境下における気象条件の変動はむしろ背景のノイズとみなされている。イネでは、通常の栽培期間を通じた変化³⁾や、FACEにおける応答⁴⁾、野生型と概日時計関連遺伝子の変異体 (*osgi*) に

おける日周変動の比較⁵⁾を行った研究があるが、気温など気象条件の変動の影響は評価されていない。シロイヌナズナ⁶⁾、*Andropogon gerardii*⁸⁾、*Populus tremula*⁹⁾を用いた研究では気象データとの関係を解析している。なかなか直観的な解釈は難しいものの、いずれも何らかのパターンは見出しており、一定の成果が得られている。例えば、いずれの研究でも温度の影響が検出されている。しかしながら一方で、サンプリング時点数(日数)が少ないことなど様々な原因から、それ以上の踏み込んだ議論が難しい結果になっている。

ここでトランスクリプトーム解析ではないものの、結果が比較的明瞭で解釈しやすい研究をひとつ紹介したい。相川らは、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) に近縁な多年草のハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri*) の兵庫県の自生集団を用いて、週に1回、正午の葉のサンプリングを2年間行い、*FLC* オーソログ (*AhgFLC*) の発現を定量PCRによって測定した¹³⁾。*FLC*は花成の抑制因子であり、シロイヌナズナでは低温処理によって発現が抑制され、その結果、花成が誘導されることが良く知られている¹⁴⁾。先述の定量PCRの結果から、野生のハクサンハタザオ集団において、*AhgFLC*の発現は晩秋から冬にかけて徐々に低下していくことが明らかになった(図2)。春になると再び発現が上昇し始め、夏前にはピーク

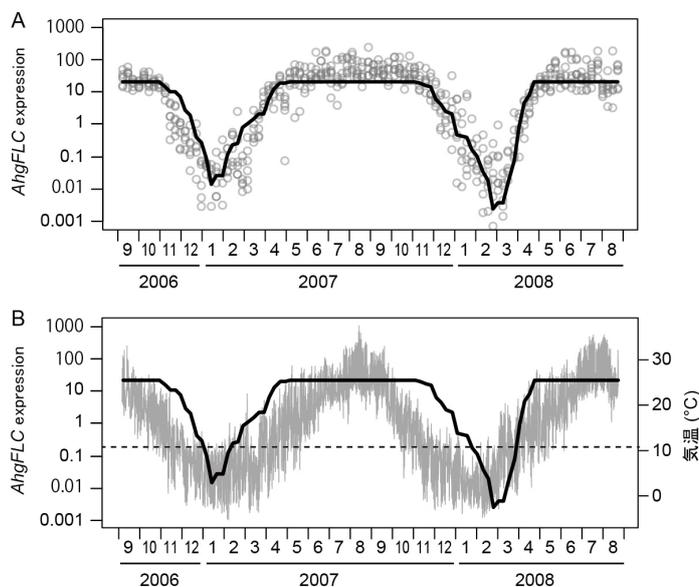


図2 (A) 兵庫の自生集団におけるハクサンハタザオ *AhgFLC* 遺伝子の発現量変動。週に1回、正午に6個体からの葉のサンプリングを行った。定量PCRによる実測値(灰色の円)とモデルから期待される予測量(黒線)。(B) 気温の実測値(灰色線)とモデルから期待される *AhgFLC* 遺伝子の予測量(黒線)。

レベルまで戻る。ハクサンハタザオのこの集団では2月末～3月初旬に抽台、4月末ごろに開花、5～6月にかけてリバージョン（花茎先端からロゼット葉、根が形成され、花茎が倒れて接地し新しい個体として定着する）がおこる。これらのイベントは、*AhgFLC*の発現の変動と密接に関係していると考えられる。

では、このような*AhgFLC*の発現パターンは気温によって説明されるのだろうか。気温の影響を受けるとした場合、ある時点のmRNAの蓄積量はその時点の気温だけで決まるわけではなく、その時点に至るまでの気温の影響も受けると考えられる。これを表現する一つの方法として、積算温度という考え方がある。“過去一定期間に温度がどのくらい閾値を超えた（あるいは下回った）か”が積算温度である。閾値を超えるかどうかが重要でどのくらい超えたかが関係ない場合は“閾値以上の温度に曝された時間の積算”と言いかえることができ、閾値を大きく超えた場合は大きな効果があると考えられる場合は“閾値以上の温度の過去一定期間における積分”となる。このような考え方は生態学におけるフェノロジーのモデリングや植生予測、農業における収穫タイミングの予測などに広く用いられている^{15,16}。*AhgFLC*の発現は低温の影響を受けると予想されるので、過去一定期間において閾値以下の温度に曝された時間の積算が発現量を説明すると仮定したモデルによる解析が行われた。その結果、*AhgFLC*の発現の変動を最もよく説明したのは、過去42日間の10.5°C以下の温度の積算であった。驚くべきことにこの温度の情報のみで、2年間の発現変動のうち83%が説明された。さらに、このモデルはグロースチャンバーを用いて人工的に気温をコントロールした場合の応答も高い精度で予測することが出来た。これらの結果から、積算温度を用いたモデルは、遺伝子発現変動のモデリングにおいても役立つことが分かる。

3. イネを用いたフィールド・トランスクリプトミクス

話をトランスクリプトームに戻し、著者が関わったプロジェクトを紹介する¹⁷。2008年から、イネの圃場でのトランスクリプトーム解析を通じて、複雑に

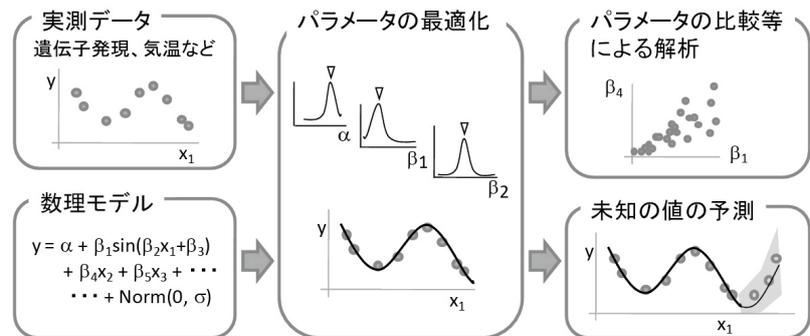


図3 統計モデリングのイメージ

変動する野外環境への応答を探る試みがスタートした。まず、6月から9月にかけて461サンプルの葉を収集した。の中には、9セットの2時間おき48時間サンプル（豪雨が観測された日を含む）や、毎週火曜の12時と24時のサンプルなど様々な時刻・気象条件のサンプルが含まれている。これらのサンプルから、DNAマイクロアレイによってトランスクリプトームデータを得た。次に気象データは気象庁が測定・提供しているものを利用することとした。トランスクリプトーム解析用のイネを栽培していたつくばの農業生物資源研究所実験圃場から3kmほどの距離に気象庁の地上気象観測地点があり、1分ごとの気温、相対湿度、気圧、風向・風速、全天日射量、降水量などのデータが利用可能となっている。

500枚近いマイクロアレイデータと20万分以上の気象データが手元に集まった。次はそれらを、どのように解析すれば変動する野外環境とトランスクリプトームの関係性を明らかにできるか、というのが問題になる。解析の切り口は幾通りもありうる。それらの中から最終的に得たい情報にあわせた手法を選ぶことが肝要である。いくつかの解析手法を検討した結果、統計モデリングと呼ばれるアプローチを採用した（図3）。統計モデリングでは最終的に解釈したい切り口を仮定として与えて解析できるため、結果を生物学者が解釈しやすいというメリットがある。統計モデリングにおいては説明される側のデータ（例えば遺伝子発現量）と説明する側のデータ（気温やサンプリング時刻など）の間の関係を数式で表す必要がある。例えば、概日時計に由来するサンプリング時刻に依存した発現変動は正弦関数を用いた。また、気温などの環境要因からの影響は、前節で説明したような積算温度のモデルを拡張して用いた。積算“温度”のみではなく、相対湿度、気圧、風速、全天日射量、降水量も含めた

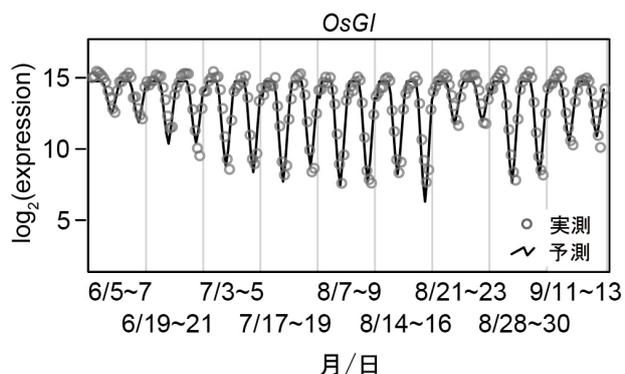


図4 9セットの2時間おき48時間サンプルにおけるイネ*OsGI*遺伝子の発現量。マイクロアレイによる実測値（灰色の円）とモデルから期待される予測量（黒線）。

6通りの気象データから、最もよく発現を説明するデータを各遺伝子について選ぶこととした。さらに、一日のうち特定の時間帯のみ環境応答を示す現象（ゲート効果）を表現できるようにした。モデルの詳細や計算上の工夫などは省くが、遺伝子ごとに最大17パラメータを最適化する計算を行った。大型計算機を用いた2カ月の計算の結果、葉での遺伝子発現を発現が見られた遺伝子のうち96.7%について予測可能なモデル・パラメータを得ることができた。このことは、パラメータの最適化に用いたのとは別の年（2009年、2010年）の野外サンプルのデータや、実験室で温度条件・光条件を変えて栽培した際のデータ149サンプル分を用いて検証済みである。なお、個々の遺伝子のモデリング結果はデータベース（FIT-DB : <http://fitdb.dna.affrc.go.jp/>）として公開している。

例として*OsGI*遺伝子の結果を示した（図4）。*OsGI*はシロイヌナズナの*GI*遺伝子のオーソログであり、概日時計に関わる遺伝子であることが変異体の解析から示されている⁵⁾。そのことから予想される通り、明瞭な日周期の変動がみられた。加えて、日によって大きく振幅が異なっていることもわかった。モデリングの結果、*OsGI*の発現変動は、過去約6時間の14.8°C以上の気温の積算で、かつ21時すぎから5時前の間のみ気温に感受性と考えた場合最もよく説明できた。すなわち、振幅の違いは夜間の気温の違いによって説明でき、夜間の気温が高いほど振幅が大きくなるということが明らかになった。さらにトランスクリプトームワイドな結果の解析から、例えば、野外環境下でのトランスクリプトームの変動には、概日時計の影響が最も大きく、次に温度・光などへの環境応答が大きく、植物の日齢はそれほど影響しないことが

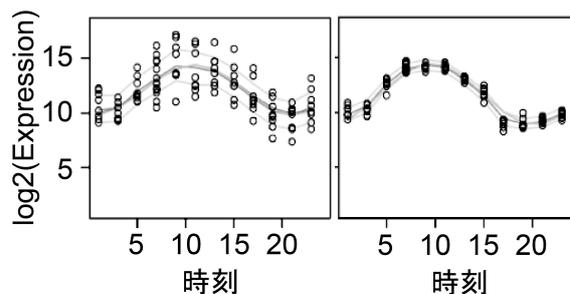


図5 良く似た日周の発現変動を示すが個体間の確率的な“ゆらぎ”の大きさが異なる遺伝子の例。(A) ゆらぎの大きい遺伝子、(B) ゆらぎの小さい遺伝子。

分かった。また、環境応答の中では温度の影響が特に大きいこと（環境応答を示す遺伝子の約8割が温度に対して応答）や、一日のうち特定の時間帯のみ環境応答を示す現象（ゲート効果）が多くの遺伝子で見られること（環境応答を示す遺伝子の約3割）を明らかにした。さらに、概日時計や環境応答などの決定論的な変動では説明できない個体間の確率的な“ゆらぎ”の大きさが遺伝子ごとに異なっており（図5）、リボソームやヒストンなど基本的な細胞機能に関わる遺伝子では小さく、病害応答などの外的な刺激に関わる遺伝子では大きいことを発見した。また、得られたモデルを用いて、任意の環境下でのトランスクリプトームを予測することも可能である。仮に、つくばの気温に対して平均気温が5°C上昇した場合、どのような遺伝子の発現に影響が出るかをシミュレーションした。その結果、light harvesting complexの遺伝子やセルロース合成酵素の遺伝子に特に大きな影響が出るという予測が得られた。もちろん、予測の精度に関しては今後慎重な検討が必要である。

4. 30年後への展望、「予測」・「設計」・「制御」へむけて

30年度の光合成研究、あるいは生物学研究を正確に予測することは、言うまでもなく極めて困難だろう。しかしながら、このような方向に進んでいきたい、という展望を述べることはできる。僭越ながら、特にフィールド・トランスクリプトミクスの立場から、30年後に向けた展望を述べさせていただきたい。キーワードは、「予測」・「設計」・「制御」である。

前節で紹介した研究によって、野外環境下におけるトランスクリプトームの予測はある程度は可能になった。となれば、次は遺伝子発現をもとに形質の予測を

行いたいと考えるのが自然だろう。ほとんどの場合、最終的に興味があるのは遺伝子発現そのものではなく、その帰結として生じる形質だからだ。遺伝子発現から何らかの形質を予測する場合、2つのアプローチがありうる。ひとつ目はあらかじめその形質を制御する遺伝子を特定しておき、それらの発現の予測から形質の予測を行うアプローチ。この場合、対象とする形質の背後にある分子機構の詳細な理解が重要になる。このようなアプローチが可能で形質の一つに花成がある。実験室で低温処理を施したハクサンハタザオにおける*FLC*、*FT*オーソログの発現量データを元にモデル化し、北海道（札幌）と滋賀（大津）の圃場での発現量、抽台、リバージョンを予測した研究が最近発表された¹⁸⁾。ポイントは*FT*オーソログの発現量から抽台、リバージョンのタイミングを上手く説明できる点だ。このため、気温と日長から*FLC*、*FT*オーソログの発現を予測し、それらをもとにさらに抽台、リバージョンのタイミングを予測することが可能となった。もうひとつは形質のデータとトランスクリプトーム（の予測値）を解析することで、形質と強い相関を示す遺伝子の発現（あるいは複数遺伝子の発現を組み合わせた指標）を見つけ出すアプローチである。手法としては癌のバイオマーカーの探索に近い。植物における近い研究としてトウモロコシの窒素栄養状態を示す発現マーカーをトランスクリプトームデータから得た研究がある¹⁹⁾。低窒素条件、高窒素条件、それぞれ30枚のマイクロアレイデータをもとに、84遺伝子の発現量から計算される指標を作成した。この指標は様々な発生ステージのサンプルを用いても頑健に窒素条件を反映しただけでなく、窒素欠乏状態からの窒素施肥にも鋭敏に応答し数時間オーダーでの変化も反映していた。

予測が可能になると、次の目標としてそれをもとにした遺伝学的な設計が考えられる。これまでの我々の研究はイネの標準系統である日本晴のみを用いて得られた結果であり、各遺伝子の各パラメータを支配する遺伝的基盤は未知であった。そこで次のステップとして、QTL解析用の集団を用いた同様の解析が進行中である。これによって、各遺伝子の各パラメータを量的形質としてゲノムにマッピングすることが可能になる。さらに、その結果を逆に用いることで、任意の遺伝子型の個体の任意の環境条件におけるトランスクリプトームをシミュレーションできる。これは、野外で望んだ遺伝子発現パターンを示す系統を設計すること

が可能になるということの意味する。しかしながら、このアプローチを正攻法で実現するためには、「系統数（100程度）」×「モデリングに必要なサンプル数（500程度）」=50000サンプルという膨大なトランスクリプトームデータが必要なことが問題となる。そこで、実験側・解析側の両面からの対策を進めている。実験側では、低コスト・ハイスループットなRNA-Seq用ライブラリ調整システムを確立している。解析側では、いくつかの工夫により必要なサンプル数、RNA-Seqのリード数を大幅に減らすことが出来る見込みである。QTL解析では利用可能なのは両親間の多型のみであるが、将来的にはGWASやゲノミックセレクションといった手法と組み合わせて行くことでより広い範囲の設計が可能となるだろう。さらには、TALENやCRISPR/Casなどを活用したより柔軟な設計も考えられる²⁰⁾。

さらに先の目標としては、システムとしての制御がある。システムを制御するために必要なことは、システムの状態のモニタリングとそれに入力を加える手法である。また、前提として、システムの時間変化と入力による応答を表現するモデルが必要となる。実験室レベルであれば、薬剤誘導性プロモーターを用いた形質転換体などを用いることで、任意のタイミングで特定の遺伝子の発現を変化させるという入力が増えられる²¹⁾。現状、特に日本国内では野外でそのような実験を行うことは難しい。ましてや、実際の農業現場で使える技術になるまではいくつものハードルがあることだろう。しかしながら、海外で研究レベルでは薬剤誘導性プロモーターを導入した形質転換植物を野外で栽培し、生態学的研究を行おうというプロジェクトも行われつつある²²⁾。また、特定のタンパク質間相互作用やタンパク質-DNA相互作用を阻害する化学物質をスクリーニング、あるいはデザインすることによって取得する技術が大きく発展すれば、組換え体を用いることなく入力を加えることが可能になるかもしれない。

以上で述べた「予測」・「設計」・「制御」はシステムのモデリングを軸に互いに深くかかわっており、それぞれが有機的に影響を及ぼしながら発達していくべきものだ。同時に、個々の生物学的現象の背後にある分子機構の理解も、より良い「予測」・「設計」・「制御」に不可欠である。詳細な分子機構を明らかにする研究の重要性は、今後も下がることはない。今後

は、実験室、実験圃場、さらには自然集団や農業現場における研究や知見が、今まで以上に相互に理解・活用されることで、以上で述べたような技術が30年後よりずっと早期に実現されることを期待したい。

Received October 9, 2013, Accepted November 26, 2013,
Published December 31, 2013

参考文献

1. Goda, H., Sasaki, E., Akiyama, K., Maruyama-Nakashita, A., Nakabayashi, K., Li, W., Ogawa, M., Yamauchi, Y., Preston, J., Aoki, K., Kiba, T., Takatsuto, S., Fujioka, S., Asami, T., Nakano, T., Kato, H., Mizuno, T., Sakakibara, H., Yamaguchi, S., Nambara, E., Kamiya, Y., Takahashi, H., Hirai, M.Y., Sakurai, T., Shinozaki, K., Saito, K., Yoshida, S. and Shimada, Y. (2008) The AtGenExpress hormone and chemical treatment data set: experimental design, data evaluation, model data analysis and data access. *Plant J.* 55, 526-542.
2. Kilian, J., Whitehead, D., Horak, J., Wanke, D., Weinl, S., Batistic, O., D'Angelo, C., Bornberg-Bauer, E., Kudla, J. and Harter, K. (2007) The AtGenExpress global stress expression data set: protocols, evaluation and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses. *Plant J.* 50, 347-363.
3. Sato, Y., Antonio, B., Namiki, N., Motoyama, R., Sugimoto, K., Takehisa, H., Minami, H., Kamatsuki, K., Kusaba, M., Hirochika, H. and Nagamura, Y. (2011) Field transcriptome revealed critical developmental and physiological transitions involved in the expression of growth potential in japonica rice. *BMC Plant Biol.* 11:10.
4. Fukayama, H., Sugino, M., Fukuda, T., Masumoto, C., Taniguchi, Y., Okada, M., Sameshima, R., Hatanaka, T., Misoo, S., Hasegawa, T. and Miyao, M. (2010) Gene expression profiling of rice grown in free air CO₂ enrichment (FACE) and elevated soil temperature. *Field Crop. Res.* 121, 195-199.
5. Izawa, T., Mihara, M., Suzuki, Y., Gupta, M., Itoh, H., Nagano, A.J., Motoyama, R., Sawada, Y., Yano, M., Hirai, M.Y., Makino, A. and Nagamura, Y. (2011) Os-GIGANTEA confers robust diurnal rhythms on the global transcriptome of rice in the field. *Plant Cell* 23, 1741-1755.
6. Richards, C.L., Rosas, U., Banta, J., Bhambhra, N. and Purugganan, M.D. (2012) Genome-wide patterns of Arabidopsis gene expression in nature. *PLoS Genet.* 8, e1002662.
7. Hayes, K.R., Beatty, M., Meng, X., Simmons, C.R., Habben, J.E. and Danilevskaya, O.N. (2010) Maize global transcriptomics reveals pervasive leaf diurnal rhythms but rhythms in developing ears are largely limited to the core oscillator. *PLoS One* 5, e12887.
8. Travers, S.E., Tang, Z., Caragea, D., Garrett, K.A., Hulbert, S.H., Leach, J.E., Bai, J., Saleh, A., Knapp, A.K., Fay, P.A., Nippert, J., Schnable, P.S. and Smith, M.D. (2010) Variation in gene expression of *Andropogon gerardii* in response to altered environmental conditions associated with climate change. *J. Ecol.* 98, 374-383.
9. Sjödin, A., Wissel, K., Bylesjö, M., Trygg, J. and Jansson, S. (2008) Global expression profiling in leaves of free-growing aspen. *BMC Plant Biol.* 8:61.
10. Kobayashi, M.J., Takeuchi, Y., Kenta, T., Kume, T., Diway, B. and Shimizu, K.K. (2013) Mass flowering of the tropical tree *Shorea beccariana* was preceded by expression changes in flowering and drought-responsive genes. *Mol. Ecol.* 22, 4767-4782.
11. Levy, O., Kaniewska, P., Alon, S., Eisenberg, E., Karako-Lampert, S., Bay, L.K., Reef, R., Rodriguez-Lanetty, M., Miller, D.J. and Hoegh-Guldberg, O. Complex diel cycles of gene expression in coral-algal symbiosis. *Science* 331, 175.
12. Ottesen, E.A., Young, C.R., Eppley, J.M., Ryan, J.P., Chavez, F.P., Scholin, C.A. and DeLong, E.F. Pattern and synchrony of gene expression among sympatric marine microbial populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, E488-97.
13. Aikawa, S., Kobayashi, M.J., Satake, A., Shimizu, K.K. and Kudoh, H. (2010) Robust control of the seasonal expression of the Arabidopsis FLC gene in a fluctuating environment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 11632-11637.
14. Sheldon, C.C., Rouse, D.T., Finnegan, E.J., Peacock, W.J. and Dennis, E.S. (2000) The molecular basis of vernalization: The central role of FLOWERING LOCUS C (FLC). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 3753-3758.
15. Schwartz, M.D. (2003) *Phenology: An Integrative Environmental Science*. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA, USA.
16. Kira, T. (1948) On the altitudinal arrangement of climatic zones in Japan. *Kanti-Nogaku* 2, 143-173.
17. Nagano, A.J., Sato, Y., Mihara, M., Antonio, B.A., Motoyama, R., Itoh, H., Nagamura, Y. and Izawa, T. (2012) Deciphering and prediction of transcriptome dynamics under fluctuating field conditions. *Cell* 51, 1358-1369.
18. Satake, A., Kawagoe, T., Saburi, Y., Chiba, Y., Sakurai, G. and Kudoh, H. (2013) Forecasting flowering phenology under climate warming by modelling the regulatory dynamics of flowering-time genes. *Nature. Commun.* 4, 2303.
19. Yang, X.S., Wu, J., Ziegler, T.E., Yang, X., Zayed, A., Rajani, M.S., Zhou, D., Basra, A.S., Schachtman, D.P., Peng, M., Armstrong, C.L., Caldo, R.A., Morrell, J.A., Lacy, M. and Staub, J.M. (2011) Gene expression biomarkers provide sensitive indicators of in planta nitrogen status in maize. *Plant Physiol.* 157, 1841-1852.
20. Gaj, T., Gersbach, C.A. and Barbas, C.F. 3rd. (2013) ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for

- genome engineering. *Trends Biotechnol.* 31, 397-405.
21. Borghi, L. (2010) Inducible gene expression systems for plants. *Methods Mol. Biol.* 655, 65-75.
22. Schafer, M., Brutting, C., Gase, K., Reichelt, M., Baldwin, I. and Meldau, S. (2013) "Real time" genetic manipulation: a new tool for ecological field studies. *Plant J.* 76, 506-518.

Field Transcriptomics and a Future Perspective

Atsushi J. Nagano*

Center for Ecological Research, Kyoto University / JST PRESTO