

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2019

課題番号：16K14805

研究課題名（和文）細胞性粘菌の協力と裏切りの進化ゲーム：多様な細胞系譜集団における戦略の定量化

研究課題名（英文）Evolutionary game in the social amoeba: Quantification of evolutionary dynamics among interacting diverse cell lineages

研究代表者

嶋田 正和 (SHIMADA, Masakazu)

東京大学・大学院総合文化研究科・名誉教授

研究者番号：40178950

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：協力がどのように進化の過程で維持されるか検証するため、細胞性粘菌を用いて、キメラ実験と進化実験を行なった。単細胞状態の方が有利な環境が訪れ、協力が失われていく状況を想定して、協力をを行う集団に単細胞状態への移行を開始した系統を侵入させるキメラ実験を行った。その結果単細胞状態へ移行する細胞は、他の細胞との相互作用の中で、自己犠牲的な役割を押し付けられた。これは細胞性粘菌が、協力が不利な場面でも協力を維持する社会機構を持つことを示唆している。実際の進化過程を検証するため突然変異体集団を作り進化実験を行った。今後条件検討を繰り返すことで、定量的に各突然変異系統の個体数変化を計測できる見通しが立った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物が複雑な社会性を進化させるためには、安定して協力を継続する必要がある。しかし協力の継続は、いくつかの要因で阻害されうる。一つは協力を搾取する裏切り行動の侵入である。もう一つは環境変動で協力よりも単独行動が有利となれば協力はあっさり失われるだろう。これまで前者に対しては、多くの解決策が見出されてきた。しかし後者は説明が難しく国内外でも研究例が少ない。本研究は、細胞性粘菌が既に持っている社会分業体制が、副産物として単独行動が有利な環境でも協力を維持するのに役立つことを世界に先駆けて示している。さらにこの独自の実験系を用い、進化動態を実測する手法を開発途上にあり、今後さらなる発展が見込まれる。

研究成果の概要（英文）：We investigate maintenance of cooperation using a social amoeba *Dictyostelium discoideum*. We focused on social loss under environments where fitness as a solitary individual surpasses that as a social group member. From live-cell imaging, we revealed that cells that switch back to the solitary state were disadvantageous, because they were forced to take an altruistic role when allowed to interact with social cells. The results indicate that division of labor process of the social amoeba will contribute to maintaining cooperation even under environments where solitary cells are advantageous. Furthermore, to measure evolutionary dynamics under the prevention of social loss, populations with random mutations were constructed, and nucleotide sequences of the mutants were decided with next-generation sequencer. We are in the trial and error stage to find an effective way to measure each mutant number, and have some good prospect on quantitative measurement of the evolutionary dynamics.

研究分野：進化生態学

キーワード：細胞性粘菌 協力行動 進化動態 細胞系譜 社会分業 社会形成 裏切り行動 進化ゲーム

1. 研究開始当初の背景

異なる協力度合いを持った系統同士が相互作用した時に、状況により様々な進化動態が予想される (Dyken & Wade 2012)。例えば、血縁選択が働く場面では、非協力者は排除されると考えられる。一方で頻度依存選択や、軍拡競争などのメカニズムが働く場面では、非協力者と協力者が共存する複雑な進化動態が考えられる。しかし実際の生物で協力形質がどのような進化パターンをとるか、リアルタイムで進化動態を計測することは難しい。

2. 研究の目的

協力がどのような進化パターンを経て維持されるか検証することを目的とする。世代時間が短く、かつ遺伝子操作も容易な微生物である細胞性粘菌を材料とした。最新の細胞系譜追跡計数技術を用いて、多数の細胞系譜が協力する過程で、各系譜の個体数を定量する。さらに社会分業過程の生細胞イメージングを合わせて行うことで、細胞の協力分業の決定と細胞系譜間の進化動態の関係性を明らかにする。

3. 研究の方法

以下の(1)、(2)の二つのアプローチで、環境変動下での細胞性粘菌の社会性維持を検証した。

(1)分業過程の解析：細胞性粘菌は、生活史の中で富栄養下では単細胞状態でバクテリアなどを食べて生活しているが、飢餓状態になると集合して多細胞体となり胞子とそれを助けて死ぬ柄細胞に分化する協力行動を行う。しかし一度飢餓状態になると途中で餌が再びあっても、無視して協力行動を続行する協力行動の安定性を持つ。素早く単細胞状態に戻れば餌を食べて増殖できるので、この協力行動の安定性を細胞(個体)にとっての有利さからは説明することができない。個体にとって不利なこの協力行動の安定性がどのように進化的に維持されているか検証した。蛍光タンパクでラベルした細胞を、飢餓状態にして、協力行動を誘発した。一部の細胞を分業途中の細胞を脱分化処理して、再び集団に戻して相互作用させた。これは、協力行動の途中で富栄養になったのを感じて素早く単細胞状態に脱分化する系譜が協力集団に出現した場面を模している。共焦点レーザー顕微鏡での細胞集塊のイメージングと、リアルタイム PCR による遺伝子発現解析により脱分化した細胞の状態を調べた。

(2)協力の進化動態を追跡：(2a)突然変異体集団作成と進化動態計測のための次世代シーケンス

突然変異集団は、制限酵素処理を介してランダムにゲノム DNA に変異をつくりだす細胞性粘菌での技術 REMI を用いた。細胞性粘菌に導入した配列を含むプラスミドは、Harwood らのグループにより作成されたものを使用した(Gruenheit et al 2019)。作出した突然変異体集団を、下記(2b)に記した異なる環境条件で、5 生活史サイクル(約 50 細胞世代)細胞の植え継ぎを繰り返した。その後 DNA サンプルの調整を先行研究のプロトコル(Gruenheit et al 2019)を元に行なった。要約すると、細胞から DNA を抽出して、目印配列の 20bp 上流を切断する制限酵素(I-SceI, MmeI)を用い、目印配列の一部と(目印配列の挿入により)機能が阻害された遺伝子の配列の一部を切り出した(50bp 程度)。そして次世代シーケンサー MiSeq を用いて配列を読んだ。この手法により、どの遺伝子の機能が欠損した突然変異体が集団中で増殖したか知ることができる。

(2b)進化実験を行なった環境条件

(進化条件 1) 飢餓状態での協力

細胞を飢餓処理して、子実体形成させ、胞子を回収して、発芽させ、再び飢餓処理して子実体形成させる工程を繰り返す。この条件では、それぞれの突然変異体がランダムに出会い、協力する過程で、どちらか片方が多く胞子になる裏切り者になり、もう一方の相手方が多く柄細胞を作り搾取されると考えられる。

(進化条件 2) 協力行動の途中で富栄養状態に戻す攪乱を与える

細胞を飢餓処理して、集合途中で大腸菌を与え富栄養下におき、協力行動を攪乱する。これは、野外での富栄養環境(頻りに動物の糞や腐葉土が供給される牧場や森林)を模している。これまでの(1)の分業過程の解析結果から、細胞性粘菌は、協力が不利な富栄養環境でも、協力を維持する社会機構を持っていることを明らかにしている。この環境条件で進化実験を行うことで、本研究で発見した協力維持の機構がどのような進化動態をもたらすか検証できる。

4. 研究成果

研究の主な成果

(1) 飢餓状態での協力の途中で栄養が回復した時に、いち早く単細胞状態に移行する細胞(単細胞移行型細胞)は、協力行動を行なっている細胞(社会型)と相互作用すると、自己犠牲的利他行動を行う細胞に分化して死ぬことがわかった。この結果は、本来は栄養が回復した場面で、協力をやめて単細胞に戻り餌を食べる個体は有利なはずだが、協力集団から離脱する前に不利な状態に追いやられてしまうということを示している。さらにこの分業運命の転換の至近要因の解明を行うため、遺伝子発現の変化を調べた。その結果、いくつかの細胞接着/凝集性関連の遺伝子の発現量の低下が確かめられた。また直接、細胞凝集性を調べたアッセイでも同様に、単細胞移行型細胞の凝集性の低下を確認した。先行研究の結果と合わせると、単細胞移行型細胞の細胞凝集性が低下して、柄細胞(自己犠牲的利他行動)と同様の細胞集塊内の場所に移動したことで、柄細胞としての役割を担ったと理由づけられる。

(2) 進化実験に関しては、突然変異集団を作成し、世代を追って協力させ、進化動態を次世代シーケンサーで計測する工程を完了した。しかしシーケンス結果は、どのサンプルでもターゲット配列がわずかしき見られなかった。これは今回採用した手法では、制限酵素で切り出されるゲノム中の多種多様な配列の中から、電気泳動でのバンドの大きさをターゲットを絞り込む必要があり、技術的な難しさがあった。今後、ターゲット配列を効率よく回収して、長期の進化動態を計測するための第一歩となる萌芽の結果が得られたと考えている。

当初予期していなかった新たな知見、成果の国内外における位置づけとインパクト、今後の展望

当初の計画では、飢餓状態での協力行動だけをターゲットにしていたが、研究開始後に富栄養と飢餓の変動環境に着目したことで、予想外に細胞性粘菌の分業体制が持つ警察行動様の新たな機能を発見することとなった。進化実験はすぐには出版可能なデータとはならなかったが、今後この分業体制が協力の進化に与える影響を、進化実験で検証していきたいと考えている。

本研究は、生物が変動する環境の中で、一時的に協力行動が不利となる場面でも協力を維持する仕組みを明らかにした国内外でも数少ない研究例である。生物が複雑な社会性を進化させる過程では、一時的な環境変動で失われることなく安定して協力行動を継続する必要があると考えられるため、本研究の視点は重要である。

<引用文献>

Van Dyken, J. D. & Wade, M. J. 2012 Detecting the Molecular Signature of Social Conflict: Theory and a Test with Bacterial Quorum Sensing Genes. *The American Naturalist* 179, 436-450. (doi:10.1086/664609)

Gruenheit, N., et al 2019 REMI-seq: Development of methods and resources for functional genomics in *Dictyostelium*. bioRxiv, 582072. (doi:10.1101/582072)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shibasaki Shota, Shimada Masakazu	4. 巻 285
2. 論文標題 Cyclic dominance emerges from the evolution of two inter-linked cooperative behaviours in the social amoeba	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences	6. 最初と最後の頁 20180905
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0905	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shibasaki Shota, Shimada Masakazu	4. 巻 -
2. 論文標題 Cyclic dominance emerges from the evolution of two cooperative behaviors in the social amoeba	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1101/251553	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shibasaki Shota, Shimada Masakazu	4. 巻 14
2. 論文標題 Stochastic sexual interaction facilitates the evolution of asexual cooperation in the social amoeba	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proceedings of European Conference on Artificial Life	6. 最初と最後の頁 372-379
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7551/ecal_a_064	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shibasaki S., Shirokawa Y., Shimada M.	4. 巻 421
2. 論文標題 Cooperation Induces Other Cooperation: Fruiting Bodies Promotes the Evolution of Macrocyts in Dictyostelium discoideum	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Theoretical Biology	6. 最初と最後の頁 136-145
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.04.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shirokawa Y., Shimada M.	4. 巻 283
2. 論文標題 Cytoplasmic inheritance of parent-offspring cell structure in the clonal diatom <i>Cyclotella meneghiniana</i>	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1098/rspb.2016.1632	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 城川祐香、嶋田正和、澤井哲
2. 発表標題 Evolutionary stability of cooperation against selection for solitary proliferation in the social amoeba
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Shibasaki and M. Shimada
2. 発表標題 Cyclic dominance emerges from the two cooperative behaviors in the social amoeba.
3. 学会等名 ゲーム理論ワークショップ2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Shibasaki and M. Shimada
2. 発表標題 Evolution of cooperation with the multi-game dynamics in the social amoeba.
3. 学会等名 第27回日本数理生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y. Shirokawa, M. Shimada, S. Sawai
2. 発表標題 Irreversibility of social organization arises from cooperation cost in the social amoeba
3. 学会等名 個体群生態学会第33回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S. Shibasaki and M. Shimada
2. 発表標題 Stochastic sexual interaction facilitates the evolution of asexual cooperation in the social amoeba.
3. 学会等名 European Conference on Artificial Life (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 城川祐香、嶋田正和、澤井哲
2. 発表標題 社会を去るときは協力者になってから~細胞性粘菌の脱分化の進化生態学
3. 学会等名 第64回日本生態学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shibasaki S., Shirokawa Y., Shimada M.
2. 発表標題 The evolutionary game in sexual reproduction of the social amoeba
3. 学会等名 The 2016 (26th) annual meeting of the Japanese Society for Mathematical Biology
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 柴崎祥太、城川祐香、嶋田正和
2. 発表標題 細胞性粘菌 <i>Dictyostelium discoideum</i> の有性生殖における協力と裏切り
3. 学会等名 日本新化学会第18回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yuka Shirokawa
2. 発表標題 Evolutionary ecology on cellular heterogeneity: cell competition, cooperation and evolution
3. 学会等名 Department of Evolutionary Studies of Biosystems Seminars (招待講演)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>MASAKAZU SHIMADA'S HOMEPAGE https://sites.google.com/view/shimada-lab/publications 東京大学大学院総合文化研究科嶋田研究室ホームページ http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/shimada-lab/activities.html 東京大学大学院総合文化研究科嶋田研究室ホームページ http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/shimada-lab/index.html</p>

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考