

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26840147

研究課題名(和文)メタ個体群における協力関係の進化・維持機構の実験的解析

研究課題名(英文) Evolution and maintenance of cooperation in metapopulation: theoretical and experimental approaches

研究代表者

門脇 浩明 (Kadowaki, Kohmei)

京都大学・人間・環境学研究科(研究院)・研究員

研究者番号：30643548

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：自然界において協力関係が維持されるためには、非協力者による搾取を回避する仕組みが必要である。本研究では、個体の移動分散によって集団間の繋がりに強弱があること(「空間構造」があること)が協力関係の維持に貢献する可能性について検証した。細菌をモデルシステムとし、移動分散を考慮した理論モデルによって、協力関係が適度な移動分散によって維持される仕組みを明らかにした。今後は、この理論的予測が正しいことを自発的に非協力者が進化する緑膿菌を用いて、実験的に確認することを検討している。

研究成果の概要(英文)：What allows cooperators to persist in a population has been a central question in evolutionary ecology, since a game theoretical argument predicts that a population of cooperator can be easily invaded by defectors and may be exploited and eventually become extinct. With collaborators I theoretically and experimentally tested a model that attributes the maintenance of cooperator to spatial structure; an intermediate rate of dispersal could allow cooperators to exploit open patches as temporal refuges where defector populations already collapsed, allowing for coexistence of cooperators and defectors in the whole system.

研究分野：群集生態学

キーワード：協力関係 メタ個体群 空間構造 進化 移動分散

## 1. 研究開始当初の背景

生物間の共生や協力は、地球上の生命の繁栄と多様化を生み出す原動力である。協力関係は陸上・海洋生態系において普遍的である(例:植物の根に共生する菌根菌、サンゴに共生する渦鞭毛藻類、人間における個体間の協力)。しかし、単純な数理モデルによると、協力関係はそもそも不安定であり、常に崩壊の危険を伴う。すなわち、多数の協力者がいるなかで非協力者が一頭でも存在する場合、その非協力者は、協力者が生み出す共通の利益を享受しながら自らは全く犠牲を払わない。よって、非協力者は、協力者よりも多くの子孫を残すことができ、協力者を集団から駆逐する。このようにして、協力関係は非協力者による搾取によって破綻する。しかし、それにもかかわらず、自然界においてこれほど広く、かつ持続的に、協力関係が維持されている理由は未解決の問題として残されてきた。

近年、国内外において、個体の移動分散によって集団間の繋がりに強弱があること(「空間構造」があること)が協力関係の維持に貢献していることとして、理論的に示されている。すなわち、空間構造がある場合、それが無い場合と比べ、どの個体にとっても隣接個体との相互作用が多くなる。その結果として、協力者どうしが相互作用する機会が多くなり、非協力者の搾取を被りにくくなると予測されているのである。一方で、生物がどのような協力・非協力行動をとるかによって、必ずしも空間構造が協力維持に貢献するとは限らないという理論研究も存在する。このように、空間構造の重要性についての見解は、研究者間でも大きく意見が分かれており、その仮説を厳密に検証できる実験研究が求められている。

生態系の総面積や空間構造は、自然界において普遍的に重要な特徴であるが、野外ではそれらを直接操作することは難しい。よって、協力関係の進化と維持が空間構造に影響される可能性は理論的には指摘されているものの、実験的には検証されていない。本研究では、生物の移動分散を精緻に制御できるマイクロコズム実験をもちい、世界で初めて、空間構造が生物間における協力関係の維持にどのように寄与するのかを明らかにする。同時に、人間活動による生息地破壊が生物間の協力にどのように影響するのかを評価するため、マイクロコズム実験において生息地を部分的に破壊する実験を行い、協力関係の維持とその崩壊過程を検証する。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、以下の二つの仮説を検証す

ることである。

(1) 面積の広い生態系ほど協力関係は進化・維持されやすいかを明らかにする。

(2) 生態系における生物の分散率が高い場合ほど(空間ネットワーク構造の連結度が高い場合ほど)、協力関係は進化・維持されやすいのか。

それらを解明するため、空間構造の特徴である、面積と空間ネットワーク構造を独立に操作する直交要因実験において、メタ個体群における(a)生産性、(b)協力関係の存続時間(崩壊速度)、(c)協力者:非協力者の割合、の3つの要因を測定する。生息地パッチが空間ネットワーク上のどこに位置するのか(例えば、中央に位置するパッチなのか、もしくは、端に位置するパッチか)なのかに応じた(a)-(c)の変化を比較する。

さらに、本研究では、前年度の内容を踏まえ、人間による生息地破壊を想定したパッチ破壊試験を行う。生態系の中央に位置するパッチ(中心性が最大)と端に位置するパッチ(中心性が最低)のどちらが破壊を受けた場合に、より協力関係が崩壊しやすいのかを比較検討する。また、その生息地破壊に応じ、メタ個体群の生態系機能(生産性など)がどのように変化するのかを明らかにする。

## 3. 研究の方法

細菌の1種 *Pseudomonas fluorescens* CHA0 は、自分と同種の菌の生息密度を感知し、それに応じて物質の産生を制御することができる。これをクオラム・センシング(quorum-sensing; 以下、QS と略する)と呼ぶ。細菌は、このQSによって、他の菌にとって共通の利益となるような酵素を分泌したり(協力)、分泌することをやめたりできる(非協力)。この細菌は、タンパク質の一種アルブミンをそのままの状態では吸収することができないため、細胞外プロテアーゼによって分解された産物を吸収している。そのため、この酵素がある細菌によって分泌されると、それは他者(周辺の細菌)にとっても利益となる。*Pseudomonas fluorescens* CHA0 の諸系統において、野生型(Wt 型)は、QSを行うことで、プロテアーゼを分泌する協力者である。一方で、突然変異型(GacS 型)は、QSを行わず、プロテアーゼを分泌しない非協力者である。このように、酵素活性によって協力の有無を判定できる細菌を用いた。

また、実験の効率化と手順の明確化を実現するため、さまざまな技術的工夫を凝らしている。第一に、協力関係の有無を判定するにあたり、細胞外プロテアーゼ活性を測定する作業をハイスループット化する。第二に、培地内にどれくらいの割合で協力者(Wt):非

協力者 (GacS) が存在するのかを調べるため、培地から抽出した細菌懸濁液を牛乳培地に塗布し、コロニーを染色することで協力者・非協力者を判別する方法を活用した。

#### 4. 研究成果

実験システム確立を視野に、LB 培地とアルブミン培地を用いた予備実験を行った結果、協力者集団からなる *Pseudomonas fluorescens* CHA0 の個体群の培養を行った結果、実験開始からおおよそ 48 時間後に非協力者である GacS が進化することが明らかとなった。本研究ではメタ個体群動態を扱うため、予備実験として、バッチ・カルチャー法による植え継ぎを行う最適な時間間隔を検証したところ、2 日もしくは 3 日間隔が適していることが分かった。それらの予備実験の結果を受け、本実験を行ったところ、おおよそ 1 か月にわたる実験であることもあり、恒温器の故障、振盪器の故障、植え継ぎの際に用いるマイクロプレートの遠心機の不具合に見舞われ、実験を 3 度にわたり中止することとなったため、以下、結果とその後の経過である。

一年度目の実験の再開に向け、*Pseudomonas fluorescens* CHA0 の祖先培地を一新し、さらなる予備試験を重ねていたところ、初回の予備実験とは異なる培養結果が得られることが分かった。最低限アルブミン添加培地において十分に成長していた CHA0 であるが、ある時点より生育が著しく減少するという結果が得られた。その原因究明のため、最近系統の確認、培地を全て作成しなおし、マイクロプレートを変更して培養する予備実験を繰り返した。3 か月間にわたって原因究明を続けたものの、実験システムとして用いた細菌と培地の組み合わせのうち、何が突然の成長停止の原因であるのかを特定することには至らなかった。

そこで、モデル・システムを変更することで同様の実験計画を遂行することが適切であると考えた。*Pseudomonas aeruginosa* PA01 系統とそれが利用する「鉄」を公共財とするモデル・システムを新しい研究系として確立し、分泌するシデロフォア（鉄分補給物質）を協力関係のモデル関数とする実験を行った。予備実験の結果、アポトランスフェリンの添加により協力者の密度が一時的に高まることが観察されたが、当初の実験が想定する協力者と非協力者の動態とは幾分異なる傾向が含まれていた。今後は、数理モデルを新しいシステムの特徴に合わせて調整を行う、もしくは、実験設定の詳細な調整を行うことで、協力関係の維持機を実証できると考えられる。

PA01 系統を活用した本実験は終了しているが、現在、結果のとりまとめを行っている

段階である。今後は、PA01 を活用することで、理論と実験のフィードバックを加速させ、中程度の分散率のもとで協力関係が最も維持されやすいという仮説を検証することになげたいと考えている。

理論面での研究成果としては、龍谷大学の近藤倫生教授とともに、競争能力と分散能力のトレードオフを背景とするメタ個体群モデルを構築し、協力関係が適度な移動分散によって維持される仕組みを理論的に解明した。今後はこのモデルの想定する状況を実験的に作り出すことで、理論モデルの検証を行うことができると考えられる。

本研究は、実験にかかわる想定外の問題により、当初の計画通りには進めることはできなかったが、協力者と非協力者の相互作用の変異性や条件依存性に富むことについては明らかにできた。今後は、本研究課題をもとに、理論モデルを用い、協力関係の維持機構として空間的な移入と絶滅の動態が重要な役割を果たしうることを掘り下げる必要があると考える。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

- (1) Kadowaki K, Barbera CG, Godsoe W, Delsuc F, Mouquet N (2016) Predicting biotic interactions and their variability in a changing environment. *Biology Letters*. in press
- (2) Hosoda K, Tsuda S, Kadowaki K, Nakamura N, Nakano T, Ishii K (2016) Population-reaction model and microbial experimental ecosystems for understanding hierarchical dynamics of ecosystems. *BioSystems*, 140:28-34.
- (3) Kadowaki K (2016) The mechanisms of maintenance of biodiversity in patchy environments. *Japanese Journal of Ecology* (Suzuki Award invited review article), 66:1-24

[学会発表](計 8 件)

- (1) 門脇浩明 ほか. 細菌をモデル生物とした環境変化に対する生態系応答予測理論の実証. 龍谷エコロジーセミナー、龍谷大学、2014 年 5 月 26 日.
- (2) 門脇浩明、山道真人(主催). 進化群集生態学シンポジウム 2014、京都大学理学部セミナーハウス、2014 年 9 月 2 日. 日本生態学会近畿地区会共催.
- (3) Kadowaki K, Barbera CG, Godsoe W, Delsuc F, Mouquet N. 環境変化から学ぶ

- 多種共存機構：細菌を用いたマイクロコズム実験。第 62 回日本生態学会、シンポジウム『多種共存機構とニッチ』、鹿児島、2015 年 3 月。
- (4) 門脇浩明、金尾太輔（主催）. 進化群集生態学シンポジウム 2015、京都大学理学部セミナーハウス、2015 年 9 月 25 日。日本生態学会近畿地区会共催。
  - (5) 門脇浩明. パッチ状環境における生物多様性維持機構。進化群集生態学シンポジウム 2015、京都大学理学部セミナーハウス、2015 年 9 月 25 日
  - (6) 門脇浩明. 環境変化に伴う微生物群集の環境応答予測：生態学からの展望。細胞を創る研究会 8.0 (Session 4 Synthetic ecosystems). 大阪大学吹田キャンパス 銀杏会館。2015 年 11 月 12～13 日（招待講演）
  - (7) 門脇浩明. 生物間相互作用の 3 つの役割を考える。シンポジウム 進化と生態の階層間相互作用ダイナミクス：生態学のリストラ 2。京都大学生態学研究センター。2015 年 12 月 19 日（招待講演）
  - (8) 門脇浩明. メタゲノムデータを用いた群集統計解析法：レアファクションから仮説検定まで、メタバーコーディング・環境 DNA バーコーディング解析の技法（企画：田辺晶史）W31。日本生態学会第 63 回年次大会、仙台。2016 年 3 月 24 日（招待講演）

〔図書〕（計 0 件）  
なし

〔産業財産権〕  
出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

進化群集生態学シンポジウム 2014  
<https://evolcommecol2014kyoto.wordpress.com/>  
進化群集生態学シンポジウム 2015  
<https://evolcommecol2015kyoto.wordpress.com/>  
Kohmei Kadowaki (個人ホームページ)  
<https://kinokomushi.wordpress.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

門脇 浩明 (KADOWAKI, Kohmei)  
京都大学・大学院人間・環境学研究科・特別研究員 PD

研究者番号：30643548

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

近藤 倫生 (KONDOH, Michio)  
龍谷大学・理工学部・教授  
研究者番号:30388160

(4) 研究協力者

Nicolas Mouquet 博士  
フランス・モンペリエ大学 ISEM (進化学研究所)

Alexandre Jousset 博士  
オランダ・ユトレヒト大学生物学部