

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25650147

研究課題名(和文)人工最小生態系の進化ダイナミクスを分子レベルで記述する

研究課題名(英文)Comprehensive analyses from molecular to ecological and evolutionary dynamics in a minimum experimental ecosystem

研究代表者

細田 一史 (Hosoda, Kazufumi)

大阪大学・未来戦略機構・准教授

研究者番号：30515565

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)：生態系変化を理解するためには、環境や生物の数の変化だけでなく生物の形質の変化(環境応答や進化等による)もとりいれる必要がある。生物の形質変化は生物内の分子機構に起因するため、生物内分子から生物間相互作用までの包括的解析を要する。本研究では、微生物を用いて極度に単純化した人工生態系を継代して実験室内で進化させることで、実世界におけるある一つの生態系での進化動態・個体群動態・生体内反応動態を再構成し、これらの実験結果を全て矛盾なく説明できる数理モデルを構築した。これにより生物間協力の維持や生物の適応機構など、生態系変化の理解に重要な知見を得た。

研究成果の概要(英文)：For understanding ecological dynamics, it is necessary to consider not only the changes in populations and environments but also the changes in phenotypes of organisms, which are due to changes in molecular-level chemical reactions inside organisms, such as by evolution or phenotypic plasticity. In this study, we constructed an extraordinary simple experimental ecosystem with microorganisms to gain the experimental data of evolutionary, population, and biochemical-reaction dynamics. We then constructed mathematical models that could explain those experimental data. By those comprehensive analyses from molecular to ecological and evolutionary dynamics, we found important insights into ecological dynamics such as for maintenance of biological cooperation and mechanisms of biological adaptations.

研究分野：システム生物学

キーワード：人工生態系 実験進化 分子機構 微生物実験 生化学反応 個体群動態 数理モデル ダイナミクス

1. 研究開始当初の背景

生態系の変化はなぜ難しいのか？単純な人工生態系ですら、その個体群動態を説明できるのは実験開始直後だけである。その主要因の一つとして、進化や表現型可塑性による生物の形質の変化がある。ここで、そもそも生物の形質変化は生物を構成する生化学反応などに起因する。よって個体群動態における生物の形質変化は分子機構で記述できるはずであり、これこそが突破口であると考えた。実際に近年の生態学は、遺伝子頻度検出による野外生態系の観測 (Davies 2012 Nature) や、表現型可塑性の分子機構解明 (Shimada 2010 PoplEcol) など、「分子の概念」の介入により急速に進んでいる。本研究では、表現型可塑性や進化を含むある一つの生態系について、その進化動態を含む個体群動態を、分子機構まで考慮した数理モデルによって説明することに挑戦した。

2. 研究の目的

研究の目的は、「ある一つの生態系について、生物間相互作用だけでなく、生体内の分子機構まで考慮した一つの数理モデルによって、進化や個体群動態を生物の表現型変化も含めて記述すること」である。

天然の生態系ではあまりに困難だが、極度に単純化した人工生態系ならば、挑戦的とはいえ可能である。私達はこれまでに、2種類の遺伝子組み換え大腸菌による人工生態系を構築した (Hosoda 2008 Bionetics, 図1)。これはイソロイシンとロイシンを相補し合う栄養共生であり、現存する最も単純な人工生態系のうちの一つである。これまで、個体群動態の数理モデル化に加え、表現型可塑性が共生成立に寄与することを示した (Hosoda 2011 PlosOne)。本研究では、表現型可塑性や進化を含むこの人工生態系の個体群動態について「個体内外の分子と個体群の動態」を測定し、分子機構まで考慮した数理モデルによって説明する。



図1. 本研究の人工生態系

3. 研究の方法

具体的には以下の三つの研究を行った。継代培養による人工生態系の実験室内進化。個体群動態と実験進化の実験的解析。数理モデルによる解析。これらそれぞれの方法

について説明する。

3 - 人工生態系の実験室内進化

図1にある、2種大腸菌による人工生態系を継代した。具体的には、様々な初期濃度にて培養を開始し、1日後に一定濃度以上になる、または1000倍以上の増殖が確認できた培養の中で、最も低い初期濃度の培養を継代し、これを90回ほど繰り返した。この実験は以前から試験的に行っていたが、反復実験や、この過程の解析などを行った。

3 - 表現型変化の実験的解析

実験進化の各過程における大腸菌を凍結保存した。また2種類の大腸菌を分離した。これら分離したものに、単独培養にてその表現型を測定した。また再度掛け合わせた共培養による人工生態系に関して、その個体群動態も調べた。

3 - 実験と数理モデルを用いた、生体内変化を含めた解析

実験進化における大腸菌の遺伝配列の変化を、次世代シーケンサにより同定した。また、進化前後、およびそれぞれについて様々な培養条件におけるトランスクリプトーム (Hosoda 2014 Methods Mol Biol) を解析した。

実験で得られたデータを、簡単な数理モデルによって解析した。具体的には以下の二つである。一つ目は、個体群動態において迅速に変化する表現型変化を含めて記述するための、生体内の生化学反応と個体群動態を繋ぐ数理モデルである。もう一つは、進化による変化を記述するもの (Hosoda 2014 PlosOne) であり、どれだけ継代培養により、何個の変異が入り、それぞれの変異によってどれだけ表現型が変化するかを説明する簡単な数理モデルである。

4. 研究成果

4 - 人工生態系の実験室内進化

まず注目すべきは、これが継代可能か否か、という事であった。なぜなら、この系は2種大腸菌間の相互の協力によりなりたっており、進化的に不安定であるからである。一般的に、協力的な行為は自身にとって直接の利益ではない (間接の利益) ため、進化によってより競争的で協力をしないように変化しやすい (Nowak 2006 Science)。そうなるこの系は崩壊するようになっている。

実験結果から、すくなくとも800世代以上は崩壊しないことが分かった (図2)。さら

に、崩壊しないだけでなく、次第に低い初期濃度でも増殖可能になっていた。この系は相互作用により成り立っているため、より濃度が低いところで増殖可能という事は、より相互作用が強く、関係が強固になっていることを意味する。また、各世代の凍結サンプルを解凍して同条件で増殖を比較すると、次第に増殖能が高くなっていることが分かった（測定した条件では進化前後で 1000 倍以上も増殖率が上がった）。このように、大腸菌は実験進化により表現型が変化していること、また協力系であるにもかかわらず崩壊せず、さらに増殖が向上したことが分かった。単純な協力の進化を考えると、次第に協力的ではなくなっていく予想であったため、この人工生態系にはそうならない理由が存在することが示唆された。

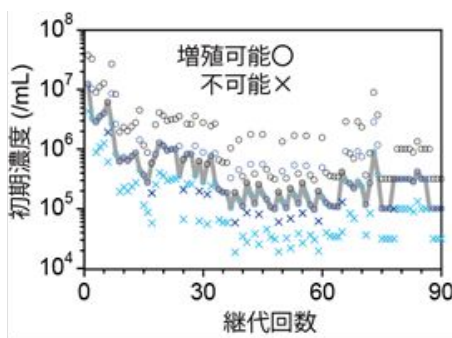


図 2 . 実験進化の結果

4 - 表現型変化の実験的解析

進化によってそれぞれの大腸菌はどのように変化したのかを実験的に調べた。その結果、どちらの大腸菌も、自身が要求する栄養との親和性が大きく向上していることが分かった（図 3、 K_A ）。また協力に関しては、一方の大腸菌（I）の協力能（ここでは一個体当たりどれだけ相手の要求する栄養を供給するか）が落ちていることが分かった（図 3、 a ）。このように協力能が落ちるとこの系の維持は難しくなるはずだが、実際にはそうならない。その理由として、I は同時に、一定量の栄養量により増殖する個体数（図 3、 γ ）が向上していることが分かった。つまり、一個体あたりに相手に供給する量は減ったが、相手から供給される栄養素により増殖できる個体数が増えたために、相手から供給される栄養量を元にして、相手に返す栄養量は変化がないという事がわかった（図 3、 $a\gamma$ ）。個体あたりは非協力的に見えるが、集団としての協力は下がっていないのである。なお、 a や γ の変化の物理的な要因を調べたところ、単純に細胞サイズが小さくなっただけであることが分かった。すなわち、内部の生化学反応ネットワークとしては、非協力的にはならず、この人工生態系は進化的に維持されたとと言える。

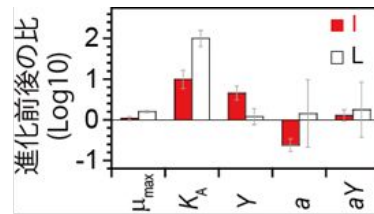


図 3 . 進化による表現型の変化

4 - 実験と数理モデルを用いた、生体内変化を含めた解析

上記のように実験で観測された表現型変化により、人工生態系の個体群動態の変化を定量的に説明できるかどうかを調べるために、個体群動態を記述する数理モデルを作成した。結果、図 3 で求めた進化前後の I と L の表現型の変化を用いると、進化前後のそれぞれの大腸菌を掛け合わせて再構築した人工生態系の個体群動態を説明できる簡易な数理モデルを作成することができた。さらに、個体群動態の中での表現型の迅速な変化を含めて、個体群動態を説明できる、生体内と個体群動態を繋ぐ数理モデルを構築した（図 4 A ; Hosoda 2016 Blosystems）。これにより、この人工生態系では、単独で培養しているときと比較して、L の栄養供給量が 10 倍以上に向上していることを説明すると同時に、個体群動態を説明できるモデルができた（図 4 B）。

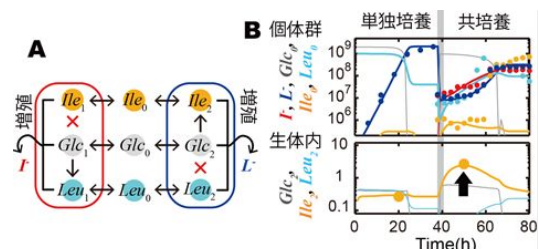


図 4 . 生体内の分子反応を含めた数理モデル

なぜ非協力的に進化しなかったのかを知るために、進化の過程を解析した。具体的には、上記のように構築した数理モデルを用いると、全体の増殖の向上は、おおよそ L における栄養素との親和性 K_{AL} の向上で記述できることが分かり、これが集団内での適応度と相関する物であったため、進化におけるこの K_{AL} の変化を求めた。結果、これが世代数に対しておおよそ線形に増加していることが分かった（図 5 A、点が実験データ。赤の点線が線形フィット）。

さらに、この適応度の向上から、実験進化によっていくつの変異が入り、各変異によってどの程度の適応度の変化があるかを推定

できる、進化過程の数理モデルを作成した。このモデルはフィットパラメタが無いが、進化によってゲノムに入った変異数をよく説明でき（図5 B、黒点が実験データ、赤線が数理モデル）、各変異による適応度の向上を推定できる（図5 A、赤実線）。

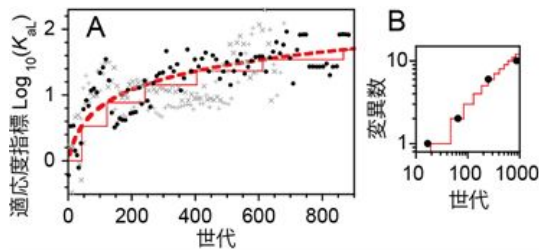


図5．進化による適応度向上とゲノム変異

これらの結果から、「なぜ非協力的に進化しなかったのか」に対する以下の考察が可能である。まず、本研究の実験系において非協力的になった時に得られる適応度の向上は、他の研究により知られており、大きくてもおおよそ5~7%である（Pande 2014 ISME）。結果から得られた、各変異によって得られる適応度の向上は、全てがこの値を超えている。すなわち、非協力的になるよりも、もっと適応度を向上させる変異が連続的に入ることにより、仮に非協力的になる変異体が現れたとしても、これが個体群を占拠することができない状況であることが分かった。

さらに、進化によるゲノムおよびトランスクリプトームの変化を調べた。ゲノム変化の結果として、親和性との関係が示唆される、膜たんぱく質遺伝子への変異や、大きな適応度の変化を示唆するグローバルレギュレータへの変異などが観察された（図6 A）。また、トランスクリプトームの変化では、栄養要求性のある栄養素に対する細胞膜トランスポーターの発現量の有意な向上が検出された（図6 B）。さらに、表現型解析と同様に、栄養供給が落ちることを示唆するような遺伝子発現量の減少は観察されなかった（むしろ向上していた図6 B）。以上から、生体内の変化は、上記の解析結果と矛盾せず、サポートするようなものであった。

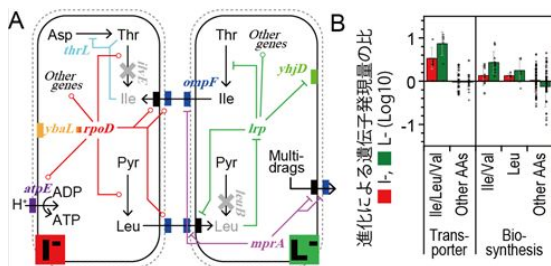


図6．進化による遺伝子配列と発現量の変化

4 - 成果のまとめ

以上のように、ある一つの生態系について、生物間相互作用だけでなく、生体内の分子機構まで考慮した数理モデルによって、進化や個体群動態を生物の表現型変化も含めて記述することができ、重要な成果が得られた。一方で、「一つの数理モデル」ではなく、どちらも生体内を考慮しているとはいえ個体群動態と進化の二つの数理モデルになっており、個体群動態に進化を組み込むには至っていない。これが今後の課題であり、これまでの成果があれば達成できると考えている。

これらの成果は、既に発表されている関連論文に加えて、現在2報の学術論文を執筆中である（うち1報は修正中）。また、多くの招待講演を依頼していただいた。

本研究によって得られた成果の波及効果として、現在すでに発表されている論文の一つ（Hosoda 2016 Biosystems；これは Most Downloaded Articles に入っている）を発表後には、まだ数か月という短い期間ながら、既に微生物生態系だけでなく、生態系保全などの分野からも、国際的な書籍やレビューチャプターの執筆、招待講演の依頼などが5件以上も来ており、広い部分で反響がある。また、執筆中の論文のうち的一方は、上記のように具体的な一つの人工生態系を、実験結果とともに数理モデルにより記述したものであり、先駆的なものである。実際に、途中結果での報告をもとに、国際的に重要な会議に招待された。さらにもう一報は、これらから一般的な性質を抽出した、本研究からの発展である理論研究であり、より一般性の高い知見が得られているものである。

本研究の進行には反省があった。研究期間内に、研究の進行を著しく妨げる出来事があった。これは私や研究とは無関係であるが、実際に研究の進行が明らかに止まった時期があったため、これに対応できなかったことは強く反省している。今後は、研究のトラブルだけでなく、その他の多彩なトラブルにも柔軟に対応できるよう一層の努力を行う。

以上のように、生体内反応動態・個体群動態・進化動態の三つを取り入れて、一つの生態系の実験結果を説明することができた。さらに各種動態の関連性や協力の進化に関する知見が得られるなど、大きな成果が得られた。本研究は挑戦的であるテーマであり、「一つの」数理モデルにより記述するには至らなかったが、二つの数理モデルによって記述できているため、今後の課題として、これらをマージして一般化することで、生態系変化の根本的理解につながるだろう。

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 2 件)

1. "Population-reaction model and microbial experimental ecosystems for understanding hierarchical dynamics of ecosystems", Hosoda K, Tsuda S, Kadowaki K, Nakamura Y, Nakano T, Ishii K, Biosystems, 140 28-34, 2016 年 02 月 (査読有)
2. "Adaptation of a Cyanobacterium to a Biochemically Rich Environment in Experimental Evolution as an Initial Step toward a Chloroplast-Like State", Hosoda K, Habuchi M, Suzuki S, Miyazaki M, Takikawa G, Sakurai T, Kashiwagi A, Sueyoshi M, Matsumoto Y, Kiuchi A, Mori K, Yomo T, Plos One, 9(5) e98337, 2014 年 05 月 (査読有)

[学会発表](計 招待講演 10 件)

・招待講演 国際会議

1. "Introduction: Microbes go to work", Gordon Research Conference (Microbial Population Biology), Proctor Academy (Andover, NH), July 19-24, 2015

・招待講演 国内会議

2. "複数の微生物を混ぜると現実の多対多を教えてくれる", 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪国際交流センター, 2016 年 3 月 23 日
3. "Synthetic ecosystems", 「細胞を創る」研究会 8.0, 大阪大学, 2015 年 11 月 13 日
4. "微生物の実験室内進化をつかってコミュニティの進化を見て考える", 第 8 回 Evo-devo 青年の会, 名古屋大学, 2015 年 6 月 27 日
5. "ニッチとは何か", 第 62 回日本生態学会大会 (シンポジウム・多種共存機構とニッチ), 鹿児島大学, 2015 年 3 月 18-22 日
6. "結局その○○学で何がしたいのか", 生命情報科学若手の会・第 6 回年回, 理研

CDB (神戸), 2014 年 10 月 29-30 日

7. "共生の進化原理とは何か?", 第 3 回マトリョーシカ型生物学研究会, 神戸大学, 2014 年 7 月 11 日
8. "微生物実験系に「生物群集はどのように変化するのか」を聞く", 龍谷大セミナー, 龍谷大学, 2014 年 5 月 26 日
9. "微生物による実験生態系の進化", 第 45 回 種生物学シンポジウム, 別府市ふれあい広場サザンクロス, 2013 年 11 月 29-12 月 1 日
10. "Toward a paradigm shift having fun with complex living systems.", 第 10 回 生命科学リトリート, 静岡県掛川市 ヤマハリゾートつま恋, 2013 年 10 月 31 日 (木)

[図書](計 1 件)

1. Hosoda K, Ono, N., Suzuki, S., and Yomo, T., (2014), "Transcriptome Analysis of a Microbial Coculture in which the Cell Populations Are Separated by a Membrane". In "Engineering and Analyzing Multicellular Systems (Methods in Molecular Biology, vol. 1151)", L. Sun, and W. Shou, eds., (Springer New York), pp. 151-164.

[その他]

ホームページ等

1. 大阪大学研究者総覧
<http://www.dma.jim.osaka-u.ac.jp/view?u=2939>
2. 個人的なホームページ
http://www.geocities.jp/hosodakazufumi/index_J.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

細田 一史 (Kazufumi Hosoda)
大阪大学未来戦略機構、特任准教授
研究者番号: 30515565