

微生物叢のゆらぎと安定性

—多種細菌群集の「代替状態」と制御可能性—

概要

京都大学生態学研究センター林息吹 修士課程学生と同生命科学研究科東樹宏和 教授らの研究グループは、多様な細菌種で構成される群集が微細な種組成の揺らぎや確率的な各個体の振る舞いに左右された結果、少数の代替的な群集に遷移し得る事を実証しました。

近年、医学・農学・工学にわたる広い分野で機能的な細菌叢の重要性が認知され、その制御に関心が集まっています。腸内細菌叢や農作物の収量に関わる細菌叢を制御することで、人の健康や持続的な作物栽培などを安定的に管理する事ができると考えられてきました。その一方で、多種の細菌で構成されるシステムの動態が、どの程度の再現性を持っているかを示す実証的な知見は限られており、その制御可能性は未知数でした。

本研究では、それぞれの栄養条件下で継続培養する細菌の群集を大量に準備し、各反群集内における細菌種の増減を、DNA メタバーコーディングと呼ばれる手法で分析しました。その結果、ある栄養条件下においては各反復がほとんど同一な群集に遷移した一方で、別の栄養条件下では各反復が少数の異なる群集（「代替的な群集」）に遷移していくことが示唆されました。加えて、異なる群集に遷移しているかどうかを判別する手法を確立し、特定の栄養成分を含む条件では各反復が代替的な群集に遷移していることを実証しました。

本成果は、細菌群集において、微細な揺らぎがその後の遷移に重要な影響を持つことを示しています。今後、このように群集を大量反復観察するアプローチが広がることで、多種細菌群集の制御可能性を決める条件を探索することや、その結果を活かした頑健な群集制御手法の開発が期待されます。

本成果は、2024年1月22日に国際学術誌「*ISME Communications*」にオンライン掲載されました。

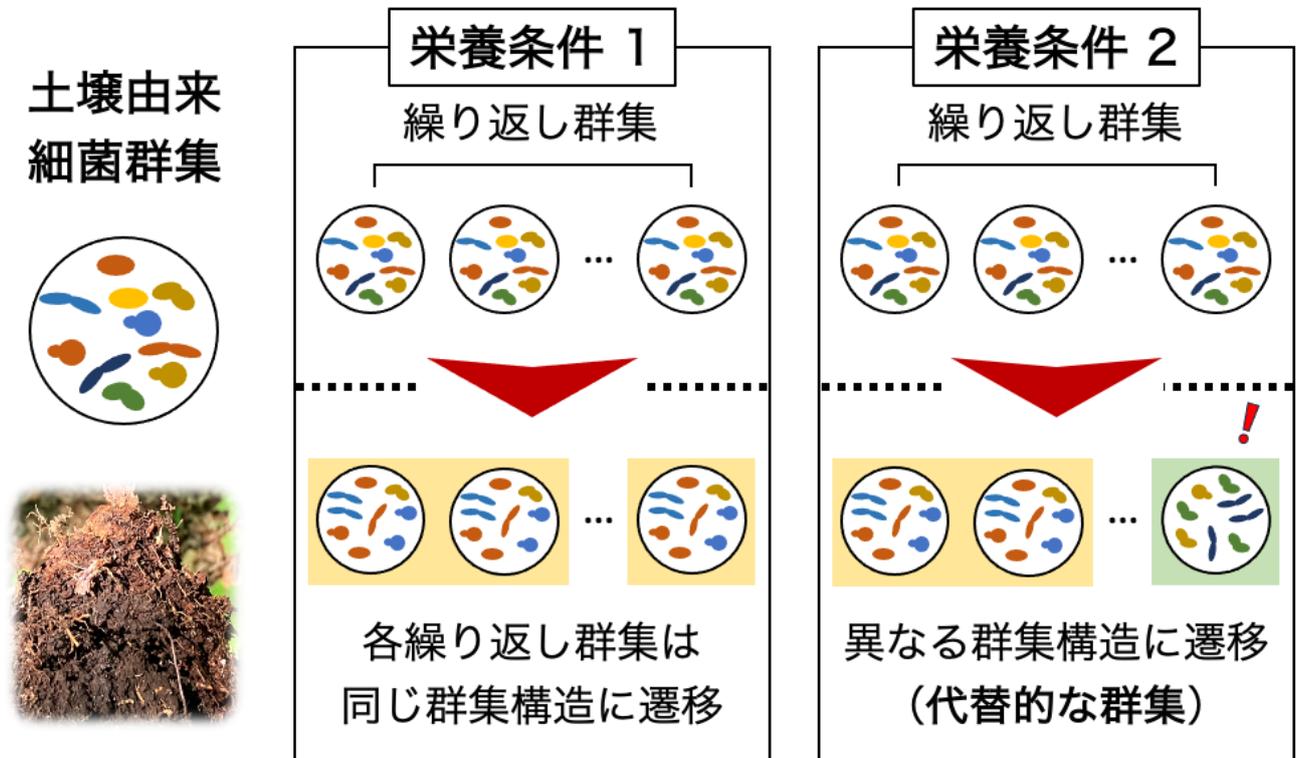


図. 研究の概要。多数の繰り返し観察から見た、反復群集が代替的な群集へ遷移していく過程を示す。

1. 背景

多様な細菌が、土壌・水圏・動物腸内などの様々な環境に生息しています。多種からなる細菌群集は、他種や環境と相互作用しながら遷移しているため、その動態は極めて複雑です。近年、腸内細菌叢と人の健康との関わりや、農作物の収量と根圏細菌叢との関係性など、細菌群集の機能的な側面に注目が集まっています。そのためこれまで数多くの研究が、数理モデルや統計モデルを使い、細菌群集の遷移を予測する方法の確立に取り組んできました。

その一方で、細菌群集の遷移にどの程度の再現性があるか、という点に関しての知見は限られています。全く同じ細菌種組成を持つ群集が複数あるとして、それらが同じ条件に置かれたとき、各群集がどの程度同じ群集に遷移していくのかが分からなければ、群集の遷移予測は不確かなものになると考えられます。各群集に働く確率的な要因がどのような役割を持つかがわかれば、細菌群集遷移の予測精度向上に大きく寄与できるはず

です。本研究では、ある細菌種組成の群集を大量に繰り返して培養し、培養した各反復における細菌種の頻度情報を DNA 解析によって取得し、各反復間にどのような差異が現れるかを分析することで、細菌群集の遷移が持つ再現性に関する知見を得ることを目的としました。

2. 研究手法・成果

本研究では、土壌に由来する多種細菌群集を人工的な 8 種類の培地に導入し、細菌種組成の変化を「DNA メタバーコーディング※1」という手法で、12 日間にわたり 2 日おきに分析しました。培地に導入する際に、各培地ごとに 48 の繰り返し（反復）群集を設け、それらの反復間に現れる違いを定量することで、細菌群集の遷移過程が持つ再現性を解析しました。培養の過程では、384 well プレート※2 と、それに対応する自動分注機を用いることで、反復間に生じるバラつきを極力小さくしています。

得られた 8 培地 x 48 反復 x 6 時点 = 2304 群集データを解析した結果、一部の培地下（図に示す栄養条件 1）では反復間でほとんど差がない遷移が観察されましたが、別の培地下（図に示す栄養条件 2）では、各 48 反復が少数の異なる群集（「代替的な群集※3」）に遷移するという傾向が見られました（図）。この結果は、30 属以上もの細菌からなる複雑な群集でも、決まった少数パターンの群集構造に遷移するというを示しています。

さらに本データを、中立モデルを応用したシミュレーションの結果と比較することで、各 48 反復が 1 種類の群集構造に遷移しているのか、複数の代替的な群集に遷移しているのかを解析しました。その結果、GLC 培地をはじめとする複数の栄養条件下では、各反復は遷移中期（6-8 日目）において代替的な群集に遷移していることが明らかになりました。

この結果は、初期組成の微細な差や導入後の各個体の振る舞いの差を含む、小さな反復間の違い（確率的な揺らぎ）が、その後の群集遷移に対してランダムなバラつきを生む以上の影響を持ちうることを意味しています。

3. 波及効果、今後の予定

本研究により、遷移初期群集が持つ確率的な揺らぎが、その後の群集遷移に対して重要な影響を持ちうる事に加えて、その影響の大きさは栄養成分の条件に依存することが明らかになりました。これは、同じ群集をスタート地点にして遷移をさせても、反復間に差が生じやすい条件とそうでない条件があることを示唆しています。近年、細菌群集の制御に対して応用上の関心が高まっていることを踏まえると、その制御可能性や操作の

再現性は今後大きな課題になっていくと考えられます。その中で本研究により得られた知見は、確率的な揺らぎに左右されづらい頑健な多種細菌群集を構築していくための足がかりになることが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、以下の資金の援助を受けて行われました。

JST 創発的研究支援事業「生態系レベルの生物機能最適化を実現する越境科学フロンティア」

NEDO ムーンショット型研究開発事業「資源循環の最適化による農地由来の温室効果ガスの排出削減」

<用語解説>

※1 DNA メタバーコーディング

大規模 DNA 配列解読装置（次世代シーケンサー）を用いて生物多様性を網羅的に分析する DNA メタバーコーディングという手法を発展させ、各生物種の存在量を DNA 濃度の尺度で推定可能にした分析技術。定量的なアンプリコン・シーケンシングとも呼ぶ。

※2 384 well プレート

細胞の培養に用いられる 24 x 16 の格子状のプレート。各格子（本研究で用いたものの容量は 200 ul）内で細菌群集を培養することで、手のひらサイズのプレート 1 枚につき、384 もの群集を扱うことが可能になる。

※3 代替的な群集

生物種の組み合わせ（組成）には、類似した他の組み合わせよりも安定なものが存在する。こうした安定状態が複数あり得る場合、それらを代替安定状態と呼ぶ。

<研究者のコメント>

細菌群集は多種・多個体を含んだ複雑なシステムです。更にその群集自体は進化がもたらす適応の帰結ではなく、それぞれの文脈で進化した各種が集合してできた、ある種の現象のようなものだと考えられます。それにも関わらず、その遷移を多数回繰り返し観察してもある程度再現性を持った動態が観察されるという事実は、非常に興味深いと感じています。

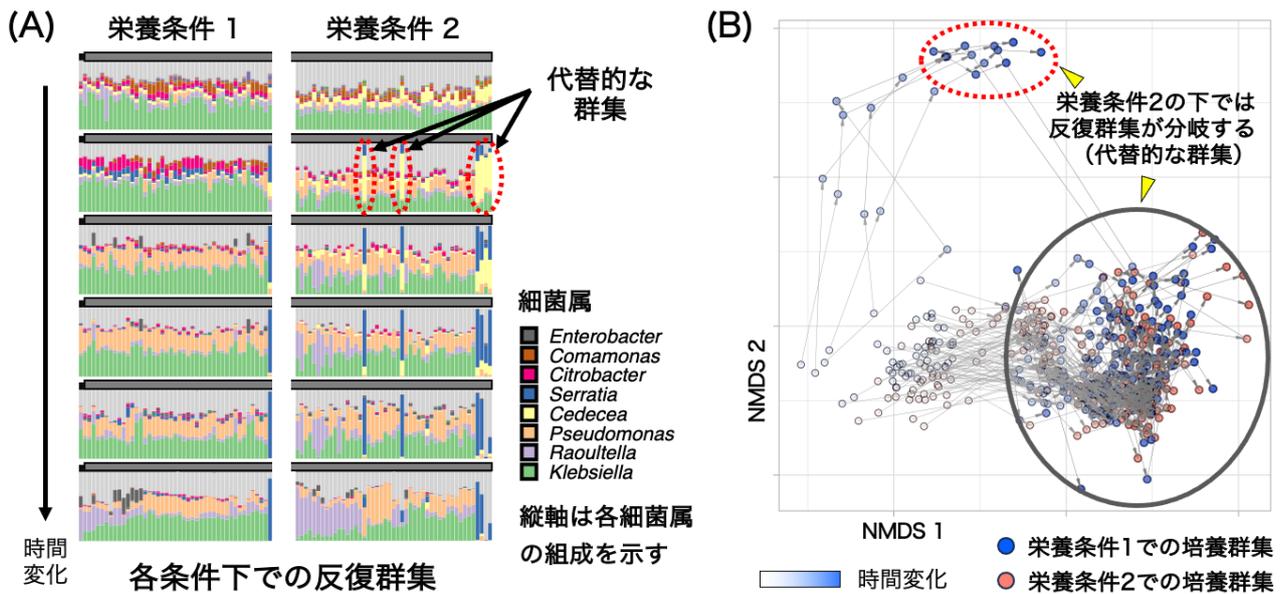


図. (A) 2つの栄養条件における、各反復群集の細菌属組成。(B) 2つの栄養条件における、各反復群集組成の時間変化。群集データを2次元にプロットするために、各群集の細菌組成情報をNMDS法により次元圧縮している。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Deterministic and stochastic processes generating alternative states of microbiomes（決定論的過程と確率論的過程によって創発される代替的な細菌群集）

著者：Ibuki Hayashi, Hiroaki Fujita, and Hirokazu Toju

掲載誌：ISME Communications

DOI：10.1093/ismeco/ycae007

URL：<https://doi.org/10.1093/ismeco/ycae007>