

大腸菌における集団密度並びに 遺伝子頻度の適応度に及ぼす影響

小須田 和 彦

集団遺伝学，特に理論面においては，集団における特定の遺伝子型がもつ適応度 (fitness) が，他の遺伝子型のそれと比較して一定 (constant) であると，従来，仮定されてきた。適応度が一定ではない，という明らかな証拠がない時に，まず適応度が一定であると仮定するのは，そうした方が数学的取扱いが簡単であるから当然な事である。しかしながら，相対適応度 (relative fitness) は原理的には環境要因によって左右される性質のものであろう。事実，いくつかの実験結果は，相対適応度が温度とか湿度のような物理的環境要因によって影響される事を示している (Dobzhansky and Spassky 1944, Birch 1953)。更に，適応度が，集団密度 (population density) とか，集団における遺伝子頻度 (gene frequency) あるいは遺伝子型頻度 (genotypic frequency) といった生物的要因に依存して変わるものであろう事を示唆する証拠が蓄積しつつある (Lewontin 1955, Birch 1955, Lewontin and Matsuo 1963)。近年，同一種内の集団の動態や自然集団における遺伝的変異の保有機構に関連して，適応度が，とりわけ集団中に存在する遺伝子型の数とその種類に依存している事に多大の注目が払われてきた (Kojima and Yarbrough 1967, Tobar and Kojima 1967, Ehrman 1968, Ehrman and Petit 1968, Kojima and Tobar 1969 a, 1969 b, Ayala 1971, Kojima 1971, Huang *et al.* 1971)。

この実験の目的は，炭素源に対して競争下におかれた大腸菌 (*Escherichia coli*) の2種の遺伝子型の相対適応度を推定する事，そして，適応度が集団密度，遺伝子頻度の関数であるかどうかをたしかめる事にある。半数性生物である大腸菌では，選択的な力としての超優性 (overdominance) を考慮しなくとも良い点等，二倍体生物がもつ遺伝的複雑さをさける事が出来る外，こうした問題を明らかにするのに種々の利点がある (Kosuda 1974)。

材 料 と 方 法

この実験に用いられた材料並びに方法は、Kosuda and Smouse (1973) におけるものと同じである。*Escherichia coli* K-12 株の野生型系統 ($F^- \lambda^- lac^+$) と lac^- 突然変異系統が用いられた。 lac^- 系統は紫外線照射によって欠失を誘発する事により、この野生型より直接得られた。従って lac^- は決して野生型 (lac^+) に戻らなかった。培養方法は Atwood *et al.* (1951 a) の serial transfer method が用いられた。

まず stationary phase における lac^+ と lac^- が、適度の希釈後、各々 0.1ml ずつ混合され、炭素源として3種の糖 (ラクトース, アラビノース, グルコース) を含む培養液 19.8ml 入りの 100 ml 三角フラスコに入れられ、48時間培養された。2種の遺伝子型を含む混合培養液は、48時間毎に、新しい培養液を含む三角フラスコに連続的に移し変えられた。その際、0.2ml の混合培養液が、19.8ml の培養液を含む新しいフラスコに移され、各回とも、同時にサンプルがとられた。この過程が大体2週間程繰返された。

液体培地は最少塩類 (2 g/l KH_2PO_4 , 7 g/l K_2HPO_4 , 0.5 g/l $Na_3C_5H_5O_7 \cdot 2(H_2O)$, 0.1 g/l $MgSO_4 \cdot 7(H_2O)$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$) と3種の糖 (ラクトース, アラビノース, グルコース) で作られた。今回の実験では、含まれる糖量は表1に示されるように 0.0625g/l, 0.125g/l, 0.250g/l, 0.500g/l の4種が用いられた。そして糖はラクトース, アラビノース, グルコースから成り、その比は常に 5:4:1 であった。含有糖量の異なる4種につき、各々3つの replicates (反覆) が作られた。本研究では含有糖量のみが各実験で異なり、他の条件は全く同じにされた。各培養液は $37.5^\circ C \pm 0.5^\circ C$, 毎分80回で往復振盪培養された。そして各 transfer 毎に 450m μ における optical density により集団密度が調べられた。

各 transfer の際、混合培養液からサンプルが抽出され、野生型 lac^+ と lac^- との相対頻度が、サンプルを適度の希釈後 EMB (Eosin Methylene Blue) 寒天培地上で培養する事により推定された。一つの集団の一定時間における遺伝的組成の推定値は、およそ 1000 前後の集落を数える事により得られた。2つの遺伝子型は EMB 寒天培地上の色により簡単に区別される。即ち、EMB 寒天は野生型集落を緑色に、 lac^- のそれを淡ピンクまたは白に染める。全ての混合集団の lac^+ 遺伝子の初期頻度は 10^{-2} のオーダーであり、その後の集団中における頻度変化が追求された。

実験モデル

まず、野生型 lac^+ と突然変異株 lac^- が、各々、初期頻度 $p_0, q_0 (=1-p_0)$ をもつとする。次に適応度が一定であるとして、両遺伝子型の適応度を、各々、 $1, 1-s$ とする。次代における lac^+ と lac^- の相対頻度 p_1, q_1 は、それぞれ、

$$p_1 = p_0 / (1 - sq_0) \quad (1)$$

$$q_1 = q_0 (1 - s) / (1 - sq_0) \quad (2)$$

式(1)と(2)から

$$\log p_1 - \log q_1 = -\log(1-s) + \log p_0 - \log q_0 \quad (3)$$

左辺の $\log p_1 - \log q_1$ は統計学でロジット p_1 ($\text{logit } p_1$) と呼ばれる量で、式(3)は、従って次のように書きかえられる。

$$\text{logit } p_1 = -\log(1-s) + \text{logit } p_0 \quad (4)$$

同様に

$$\begin{aligned} \log p_2 - \log q_2 &= -\log(1-s) + \log p_1 - \log q_1 \\ &= -2\log(1-s) + \log p_0 - \log q_0 \end{aligned} \quad (5)$$

従って

$$\text{logit } p_2 = -2\log(1-s) + \text{logit } p_0 \quad (6)$$

故に

$$\text{logit } p_t = -t \log(1-s) + \text{logit } p_0 \quad (7)$$

式(7)は constant fitness model では $\text{logit } p_t$ の世代に対する回帰が直線になる事、また、淘汰係数 (selection coefficient), s , が回帰直線の傾きから推定できる事を示している。

次に、簡単な頻度依存適応度モデル (frequency-dependent fitness model) を仮定して、 lac^+ と lac^- の適応度を、各々 $1, 1-s(q_t - \hat{q})$ とする (但し \hat{q} は lac^- の平衡頻度)。培養液中にラクトースが含まれる時、図1に明らかに示されるように、 lac^- は lac^+ との競争の結果、最終的には混合集団から除去される。従って、この場合、 lac^- の適応度は lac^- の平衡頻度、 \hat{q} , が0に等しいので、ただ単に $1 - sq_t$ と表わされる。

次代における両遺伝子の頻度は、各々、

$$p_1 = p_0 / (1 - sq_0^2) \quad (8)$$

$$q_1 = q_0 (1 - sq_0) / (1 - sq_0^2) \quad (9)$$

式(8)と(9)から

$$\text{logit } p_1 = \log p_1 - \log q_1 = -\log(1 - sq_0) + \log p_0 - \log q_0 \quad (10)$$

同様に,

$$\begin{aligned} \text{logit } p_2 = \log p_2 - \log q_2 &= -\log(1-sq_1) + \log p_1 - \log q_1 \\ &= -\log(1-sq_1) - \log(1-sq_0) + \log p_0 - \log q_0 \quad (11) \end{aligned}$$

従って

$$\text{logit } p_t = -\sum_{i=0}^{t-1} \log(1-sq_i) + \text{logit } p_0 \quad (12)$$

q_i が q_{i-1} より小さい故、 $-\sum_{i=0}^{t-1} \log(1-sq_i)$ は i が大きくなればなる程、その増加量が減ってくる量である。故に、このような frequency dependent fitness model では、logit p_t の世代に対する回帰は constant fitness model 下における直線とは対照的に曲線となる。そこで原理的には両遺伝子の相対頻度を世代を追って調べる事により、どちらのモデルがより適合するか判断できる。

結果と考察

表1に示されるように、450m μ における optical density によって測定された集団密度は、予想どおり培地中の含有糖量の増加関数となった。別の実験により、この実験で用いられた糖濃度の範囲内では、生細胞数の対数と optical density との間には直線関係が成立つ事が確かめられている (Smouse and Kosuda, in preparation)。比較のため、lac⁺ と lac⁻ の単一培養における集団密度も表1に示されている。もちろん lac⁺ と lac⁻ との間には著しい集団密度の差が存在するが、混合集団と lac⁺ 単一集団との間には明確な差はみられない。炭素源の一つとしてラクトースを含む培養液中で培養された時、lac⁻ は lac⁺ との競争にあたり選択的に不利である事が期待される。

事実 lac⁺ は一貫して lac⁻ を圧倒し、lac⁻ は最終的には混合集団から除去された(表2)。各混合集団の3つの replicates の間には、頻度変化のばらつきがあまりみられないので、平均値のみが図1に示されている。この結果は Kosuda and Smouse (1973) のそれとよく一致している。たとえこれら2つの遺伝子型がラクトースを含まない培養液で混合培養されても lac⁻ の頻

表1 450m μ における optical density によって示された集団密度

含有糖量 (g/l)	lac ⁺ と lac ⁻ の混合集団	lac ⁺	lac ⁻
.0625	.1121 \pm .0009	.1096 \pm .0007	.0541 \pm .0002
.125	.1892 \pm .0016	.2010 \pm .0017	.0948 \pm .0006
.250	.3333 \pm .0024	.3273 \pm .0042	.1799 \pm .0010
.500	.6092 \pm .0188	.6419 \pm .0113	.3648 \pm .0113

表2 各実験集団における野生型 lac⁺ の頻度変化

含有糖量 (gm/l)								
.0625								
.125								
No. of transfer	Ia	Ib	Ic	平均	IIa	IIb	IIc	平均
0	.010	.010	.010	.010	.010	.010	.010	.010
1	.412	.264	.290	.322	.521	.495	.509	.508
2	.701	.688	.727	.705	.695	.706	.689	.696
3	.877	.874	.864	.871	.810	.843	.839	.830
4	.941	.964	.942	.949	.925	.974	.935	.944
5	.980	.985	.988	.984	.962	.987	.973	.974
6	.997	.997	.998	.997	.996	.997	.987	.991
7	.999	.997	.998	.998	.995	.996	.997	.996
8	—	—	—	—	.999	1.000	1.000	1.000
9	—	—	—	—	—	—	—	—

含有糖量 (g/l)								
.250								
.500								
No. of transfer	IIIa	IIIb	IIIc	平均	IVa	IVb	IVc	平均
0	.020	.020	.020	.020	.020	.020	.020	.020
1	.467	.456	.417	.447	.415	.373	.355	.381
2	.661	.697	.628	.662	.607	.590	.608	.602
3	.803	.801	.767	.790	.782	.797	.721	.767
4	.875	.901	.857	.878	.849	.853	.848	.850
5	.913	.970	.916	.933	.891	.899	.884	.891
6	.964	.993	.969	.975	.925	.966	.936	.942
7	.994	.999	.992	.995	.978	.983	.976	.979
8	—	—	—	—	—	—	—	—
9	1.000	.998	.999	.999	.991	.999	.981	.990

度が徐々に減少し、置換の速度は本実験のそれより小さいけれど、最終的には lac⁺ と置きかえられる事が報告されている (Kosude and Smouse 1973)。いずれにせよ lac⁻ は lac⁺ に対して自然淘汰に関して不利である。図1は表2と共に、培養液中の糖量が増加するにつれ遺伝子の置換速度が減少する事を示している。従って、これは lac⁻ の相対適応度が集団密度に依存している事を意味している。

logit p_t 即ち log (p_t/1-p_t) の回帰が図2に示されている。logit p_t の回帰は、はっきりとした曲線とはならず大体直線のようにみえる。分散分析の結果、回帰の曲線性はいずれの集団においても有意水準に達しなかった。以上の結果から、本実験条件下では、適応度がはっきりと頻度

図1 野生型 (lac⁺) の頻度変化

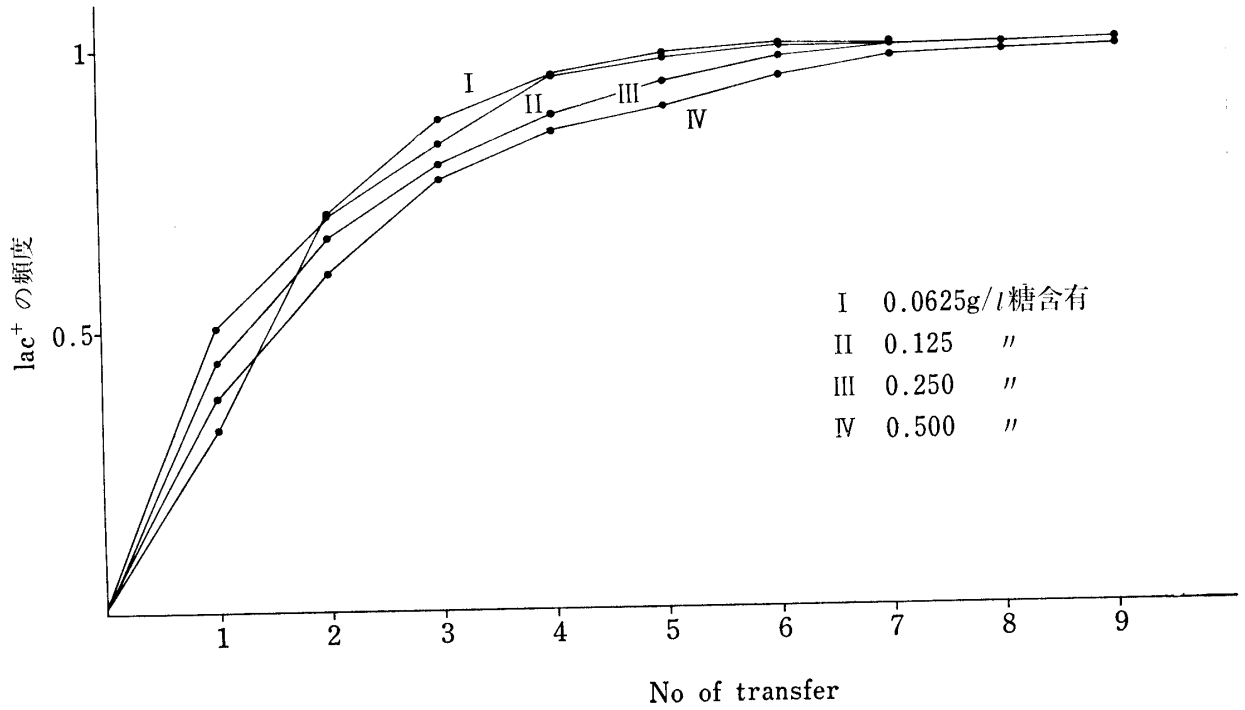


図2 logit p_t の変化

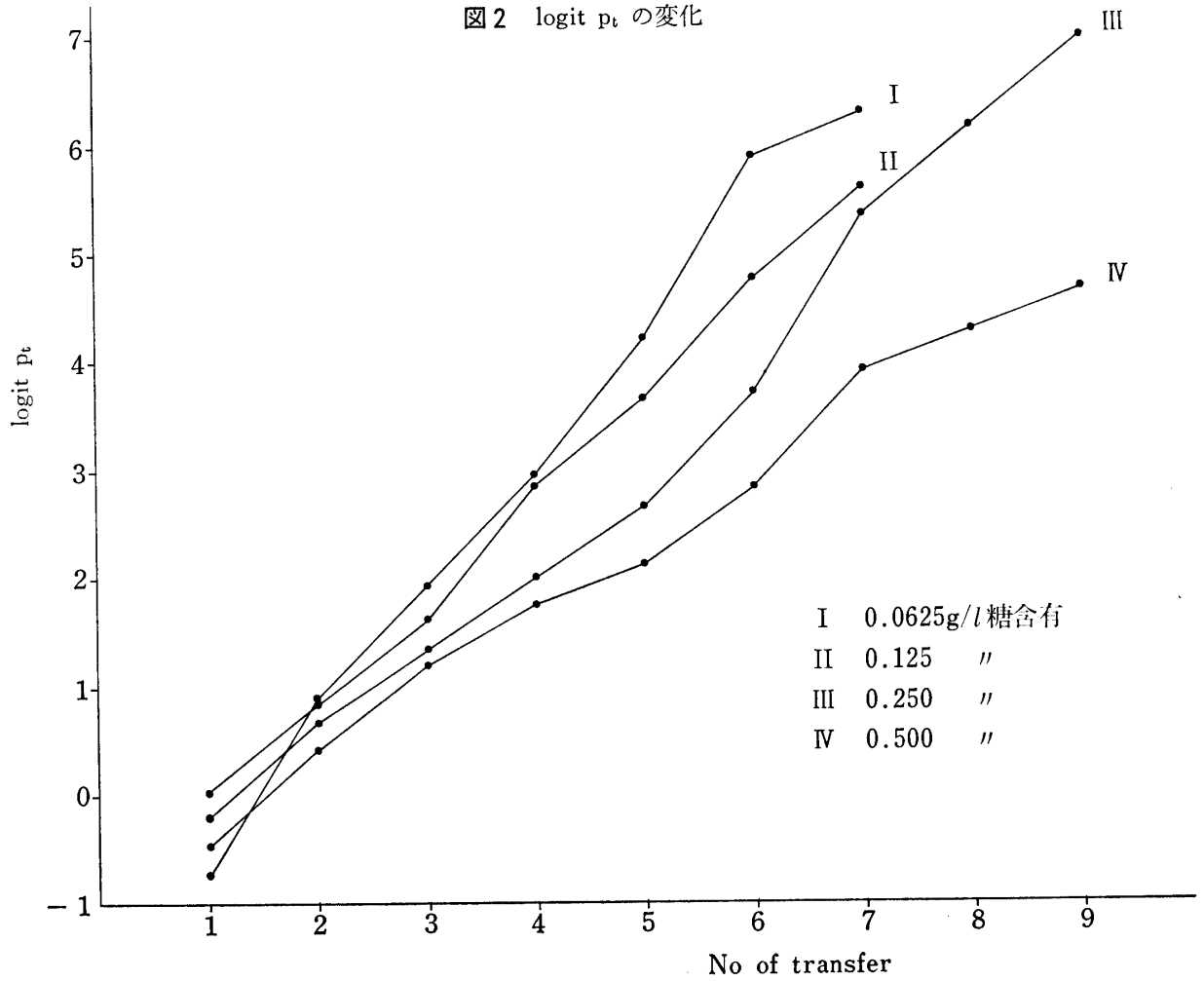


表3 lac^- の淘汰係数の推定値

集団	含有糖量(g/l)	回帰係数	淘汰係数	n
I	.0625	1.1995 ± .0414	.1652 ± .0062	21
II	.125	.9680 ± .0407	.1356 ± .0061	22
III	.250	.8869 ± .0541	.1250 ± .0081	23
IV	.500	.6854 ± .0424	.0980 ± .0064	24

に依存している証拠は見出されなかった。

含有糖量が減少するにつれ回帰直線が急傾斜となるので、図2からも適応度が集団密度に依存している事が判る。ちなみに constant fitness model にあてはめ、 lac^+ の適応度を1として lac^- の淘汰関数, s , が回帰直線の勾配から推定された。推定にあたり、各培養期間は各 transfer における希釈率が 1/100 なので大体 6,658 世代に相当すると仮定された。この仮定は世代数を過小評価し、従って、淘汰係数を過大評価する事になる。何故なら、細胞増殖は transfer 後の最初の12時間で殆んど終わっている (Smouse and Kosuda, in preparation)。しかしながら、世代数が全ての淘汰係数の推定値に等しく影響を与えるので、当面の目的に対して、正確な世代数値を求める事は特別不可欠なものではない。

表3に与えられている淘汰係数の推定結果は、大腸菌の野生型 lac^+ と lac^- の適応度の差が培養液中の含有糖量が減少するにつれ増加する事を示している。即ち、 lac^- の淘汰係数は集団密度が大になるほど減少する。いいかえれば、この結果は lac^- の相対適応度が集団密度の増加関数である事を意味している。

集団密度と、集団における個体数増加あるいは適応度との間に負のフィードバックが存在する事は一般的な現象であり、多くの生物種の単一培養においてみられ、これが自然界において集団の個体数を一定に保つ重要な機構であると考えられる。しかしながら、集団の動態とか競争といった問題を分析する際、共存する2種の遺伝子型の相対的效果に、より興味をもたれる。実際、競争の結果は、個々の遺伝子型あるいは生物種の単一培養の結果からは、必ずしも予想されない (Lewontin and Matsuo 1963, Dawood and Strickberger 1969)。

単一培養における集団密度効果が2つの遺伝子型で同じでなければ、両遺伝子型の混合集団における適応度は密度に依存する事が期待される。混合集団における2つの遺伝子型が集団密度に依存しない適応度をもつためには、2つの条件が必要である。第一は、2種の遺伝子型あるいは生物種で最大の適応度を示す集団密度が同一である事、第二は、両者において適応度を0にする最大集団密度と最小集団密度が同じ事である。

餌の量あるいは空間が一定に保たれている殆んど全てのこの種の実験では、2つの生物種あるいは2遺伝子型間の競争が、集団密度が増加するにつれ厳しくなる事、即ち淘汰係数が増大する事が示されている。種々の集団密度を得るために含有糖量を変えられた本実験では、反対に、集

団密度が減少するにつれ、大腸菌の2つの遺伝子型間の淘汰係数が大きくなった。したがって、野生型 lac^+ と lac^- との競争は液体培地中の糖濃度が減少するにつれ、よりはげしくなると考えられる。2 遺伝子型間あるいは2 種間の淘汰係数は、一般に集団密度には直接関係するのではなく、競争がはげしくなるほど増大するものと考えられる。

要 約

大腸菌の2つの遺伝子型、 lac^+ と lac^- との間で含有糖量の異なる4種類の培養液を用いて淘汰実験が行なわれた。両遺伝子の頻度変化が世代と共に追われ、両遺伝子型の相対適応度が推定された。本実験で用いられた条件下では、適応度が遺伝子頻度に依存するというはっきりした証拠は得られなかったが、適応度が集団密度に依存する事が明らかにされた。

引用文献

- Atwood, K. C., L. K. Schneider, and F. J. Ryan 1951 Periodic selection in *E. coli*. Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S.) 37 : 146-155.
- Ayala, F. 1971 Competition between species : Frequency dependent. Science 171 : 820-824.
- Birch, L. C. 1953 Experimental background to the study of the distribution and abundance of insects. I. The influence of temperature, moisture and food on the innate capacity for increase of three grain beetles. Ecology 34 : 698-711.
- Birch, L. C. 1955 Selection in *Drosophila pseudoobscura* in relation to crowding. Evolution 9 : 389-399.
- Dawood, M. M. and M. W. Strickberger 1969 The effect of larval interaction on viability in *Drosophila melanogaster*. II. Changes in age structure. Genetics 63 : 201-211.
- Dobzhansky, Th. and N. Spassky 1944 Environmental modification of heterosis in *Drosophila pseudoobscura*. Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S.) 40 : 407-415.
- Ehrman, L. 1966 Mating success and genotype frequency in *Drosophila*. Anim. Behav. 14 : 332-339.
- Ehrman, L. and C. Petit 1968 Frequency-dependent mating success in the *willistoni* species group of *Drosophila*. Evolution 22 : 649-658.
- Huang, S. L., M. Singh, and K. Kojima 1971 A study of frequency-dependent selection observed in the esterase 6 locus of *Drosophila melanogaster* using a conditioned media method. Genetics 68 : 97-104.
- Kosuda, K. 1974 Effects of population density on fitness in *E. coli*. Jap. J. Genetics 49 : 304.
- Kosuda, K. and P. Smouse 1973 On the mode of selection in *Escherichia coli*. Jap. J. Genetics 48 : 427.
- Kojima, K. 1971 Is there a constant fitness value for a given genotype? No ! Evolution 25 : 281-285.
- Kojima, K. and Y. N. Tobar 1969 a The pattern of viability changes associated with genotype frequency at the alcohol dehydrogenase locus in a population of *Drosophila melanogaster*.

- Genetics 61 : 201-209.
- Kojima, K. and Y. N. Tobari 1969 b Selective modes associated with karyotypes in *Drosophila ananassae*. II. Heterosis and frequency-dependent selection. Genetics 63 : 639-651.
- Kojima, K. and K. M. Yarbrough 1967 Frequency-dependent selection at the Esterase 6 locus in *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S.) 57 : 645-649.
- Lewontin, R. C. 1955 The effects of the population density and competition on viability of *Drosophila melanogaster*. Evolution 9 : 27-41.
- Lewontin, R. C. and Y. Matsuo 1963 Interaction of genotypes determining the viability in *Drosophila busckii*. Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S.) 49 : 182-190.
- Tobari, Y. N. and K. Kojima 1967 Selective modes associated with inversion karyotypes in *Drosophila ananassae*. I. Frequency-dependent selection. Genetics 57 : 179-188.