

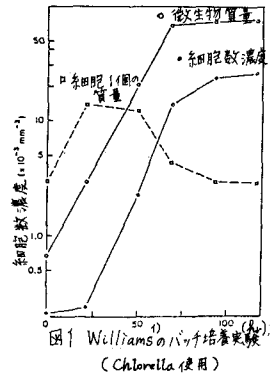
京都大学 正員 黒羽陽子, 京都大学 正員 古市徹, 京都大学 正員 井上頼輝

1. はじめに

単細胞微生物(以下微生物と略称)をバッチ実験系等において培養した場合、微生物の細胞数と質量は異なる経時変化のパターンを示すことが知られている¹⁾(図1)。これは、微生物細胞1個の質量が一定でなく、培養開始後の時間とともに変化するためである。

微生物細胞数は、各種実験系・フィールドにおいて微生物現存量としてしばしば実測される。一方、微生物質量は、対象とする系によっては実測しにくい、基質分解能等の微生物の活性との相関が高く、重要である。したがって、細胞数・質量の両者の推移の傾向の正しい把握は、たとえば土壌中で土壌細菌の細胞数と活性の関係を説明する上などで重要と考えられる。

本研究では、バッチ・連続培養系等で、実験的に観察される微生物の質量・細胞数の経時変化を定性的によくあらわさせる点で評価されているWilliamsのモデル²⁾を発展させた「WMFモデル」を新たに提案した。また、本モデルの数理解析を通じ本モデルがWilliamsモデルより優れた特性をいくつか持つことを明らかにした。



2. モデルについて

Williamsモデル²⁾は、「構造モデル(structured model)」に分類できるモデルである。

「構造モデル」は、「非構造モデル(unstructured model)」に対する語で、増殖・基質分解等の微生物活動を、微生物の細胞成分・内部機構の関数としてあらわすものである。非構造モデルは微生物の活動を微生物の内部構造を考慮せずにあらわすものである。

Williamsは微生物の細胞成分を「S成分」と「m成分」とに分け、S成分は「synthetic」な部分で主としてリボソームから、m成分は「structural-genetic」な部分で蛋白・DNA等のS成分以外の細胞成分から成り、微生物の増殖は基質・S成分・m成分のbimolecularな反応であらわされるとした(①~③式)。このようにして、微生物の質量の変化はS成分・m成分の質量の和の変化としてあらわされる。一方、微生物細胞数の経時変化は、経験的に微生物のm成分が細胞数に比例するとみなせる³⁾ことから、モデル式を解いてえられるm成分の経時変化の相似形としてあらわされる。Williamsはこのように構造モデルの性質を巧みに用いて、微生物の質量・細胞数の変化を同時に表現することを可能にした。実際、Williamsモデルは、バッチ及び連続培養実験等で観察される生物学的現象の特徴の多くをよく定性的にシミュレートする。Williamsモデルのモデル式を次に示す。

$$d\bar{c}/dt = -k_1\bar{c}(S + m) + D(\bar{c}_0 - \bar{c}) \dots ①, \quad dS/dt = k_1\bar{c}(S + m) - k_2Sm - D S \dots ②, \quad dm/dt = k_2Sm - D m \dots ③$$

ここに $\bar{c}$: 基質量[mg], S, m : S, m 成分の微生物群中の質量[mg], D : 連続培養装置の希釈率(バッチ培養系を考えると $D = 0$ とおく) [hr^{-1}], k_1 : 微生物増殖速度定数 [hr^{-1}], k_2 : S 成分 $\rightarrow$ m 成分移行速度定数 [$\text{hr}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{mole}$], $\bar{c}_0$: 連続培養装置(ケモスタット等)入力基質量[mg], t : 時間[hr] である。

なお、細胞数とm成分が比例することから、微生物質量 $S + m$ を m 成分量 m でわった $(S + m)/m$ は細胞1個当りの質量の指標となる。細胞の質量は $S = 0$ となる stationary phase で最小で、このとき $(S + m)/m = m/m = 1$ となるので $(S + m)/m$ は 最小時の細胞質量を基準とした倍率とみることもできる。 $(S + m)/m$ を細胞1個の大きさ、とよぶ。

本研究では Y, E_0, b 等のパラメータ(係数)を導入する他、主に次の点について Williams モデルの欠点を改めることを考えた。すなわち、

(1) 微生物の増殖・基質分解は Saturated 型 (Monod, あるいは Michaelis-Menten 型) の動力学であらわされるのが一

一般的であるが、Williamsモデルは指数型動力学を用いており 増殖・基質分解の速度に上限がない。

(2)Williamsは S, n 成分同士の反応を bimolecular と仮定してモデル化しているが実際には式の上で質量作用則にのっとった正しい定式化が行われていない(Fredricksonの指摘⁴⁾)。

の2点を考慮し、新たに④～⑥式のWilliams-Monod-Fredricksonモデル(以下「WMFモデル」と呼ぶ)を構成した。なおWilliamsモデルでは変数の単位は存在量で、濃度ではなかったが、WMFモデルでは基底変換を行なって、変数の単位は培養液体積当りの濃度にした。

$$\begin{aligned} \frac{dc}{dt} &= -Y_Y \cdot \mu_m C(S+n)(K_S+c) - E_o(S+n) + D(C_o - C) \cdots \text{④} \\ \frac{dS}{dt} &= \mu_m C(S+n)(K_S+c) - k_3 S n / (S+n) - (b+D)S \cdots \text{⑤} \\ \frac{dn}{dt} &= k_3 S n / (S+n) - (b+D)n \cdots \text{⑥} \end{aligned}$$

ここに、 C :制限基質濃度[mg/l], n, S : n, S 成分濃度[mg/l], K_S :半飽和定数[mg/l], μ_m :最大比増殖速度[h^{-1}], Y_Y :増殖収率[無次元量], E_o :維持エネルギー[h^{-1}], D :連続培養装置の希釈率[h^{-1}], C_o :連続培養装置入力基質濃度[mg/l], k_3 : S 成分 $\rightarrow n$ 成分移行速度定数[h^{-1}], b :死滅率[h^{-1}], t :時間[h], である。

④～⑥式を常微分方程式の初期値問題に関するGearの方法⁵⁾を用いて数値的に解き、解の挙動を調べた。その結果、WMFモデルは以下の点で現実に観察されるバッチ・連続培養系の微生物増殖曲線の特徴をよくシミュレートした⁶⁾。すなわち、

- ① lag-phase の存在、② exponential growth の存在、③ 比増殖速度の大きい時、細胞中のリボソーム量(S 成分)が増え、細胞1個の大きさが大きくなること、④ stationary phase の存在 ⑤ 既に活発に増殖している微生物を培地に接種したときは lag-phase が認められないこと、⑥ 栄養のない培地に、それまで増殖していた微生物を接種すると細胞数のみは暫く増加し続けること、⑦ 栄養条件の変化(例: 連続培養装置の希釈率)に対する応答が細胞成分により異なること ⑧ 細胞1個の大きさは exponential growth の際に最大となること ⑨ 細胞1個の大きさは最大時で最小時の6倍ないしその前後になること ⑩ 基質摂取速度が飽和値をもつこと、⑪ ケモスタット等の連続培養装置で微生物数・質量の定常値は希釈率に関し曲線となること、などである。以上のように列挙した特徴のあらわれているWMFモデルの解の例を、主なもののみ図2, 3に示す。計算条件は表1に示す。

3. まとめ

本研究で提案したWMFモデルは、Williamsモデルに比べ、より多くの生物学的現象の特徴をシミュレートできた。すなわち Saturate(Monod)型動力学の導入により⑨、⑩が、Saturate型動力学とFredricksonの指摘の導入により⑪が、新たに表現できるようになった。

WMFモデルを、複数種の微生物が共存する実験的な微生物生態系や、基質の移動等のある分布系(例: 基質の移流・分散のある土壌カラム系)に適用していくことの可能性については現在検討している。

(参考文献) 1) Patten, B.C.: Systems Analysis and Simulation in Ecology, Academic Press, 1971 2) Williams, F.M.: Model of Cell Growth Dynamics, J. of Theoretical Biology, Vol.15, p.190-207, 1967 3) Maaloe, O. et al.: Control of Macromolecular Synthesis, Benjamin, Inc., 1966 4) Fredrickson, A.G.: Formulation of Structured Growth Models, Biotechnology and Bioengineering, Vol.18, p.1481-1486, 1976 5) Gear, C.W.: Numerical Initial Value Problems in Ordinary Differential Equations, Prentice Hall, 1971 6) 黒川: 微生物増殖の構造モデルの土壌環境における数値シミュレーション, 京都大学工学部衛生工学科修士論文, 1985

表1 図2, 3の計算条件

記号	値	関係する図
C_o	1.0 [mg/l]	図3
μ_m	1.026 [h^{-1}]	図2, 3
k_3	0.855 [h^{-1}]	図2, 3
K_S	0.0864 [mg/l]	図2, 3
b	0.0 [h^{-1}]	図2, 3
Y_Y	1.0 [無次元]	図2, 3
E_o	0.0 [h^{-1}]	図2, 3

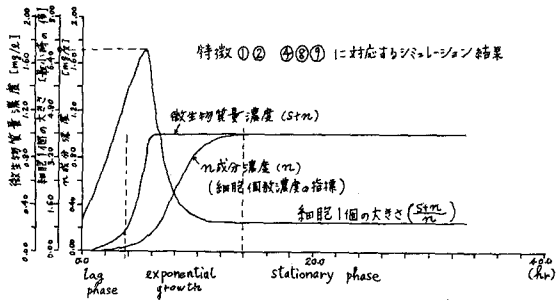


図2 バッチ培養系における微生物の増殖 WMFモデルのシミュレーション 初期の(基質濃度, S, n) = (1.0, 0.0, 0.005)

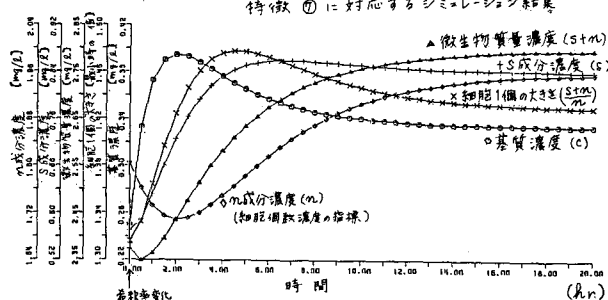


図3 ケモスタットにおける希釈率変化に対する微生物の応答 (希釈率 0.1026 $\rightarrow$ 0.1539 [h^{-1}]) WMFモデルのシミュレーション