

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K03950

研究課題名(和文)細菌の個体運動特性に基づく数理モデルと集団運動観察の対比による走化性の定量化

研究課題名(英文)Quantification of bacterial chemotaxis by use of observation of collective motion of cells and mathematical model based on individual behavior

研究代表者

後藤 知伸 (GOTO, Tomonobu)

鳥取大学・工学研究科・教授

研究者番号：00260654

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：サルモネラ菌とビブリオ菌を対象に、種々のアミノ酸に対する集積具合と細菌単体の運動を調べた。1)サルモネラ菌は、セリンよりもアスパラギン酸に集積する。2)ビブリオ菌は、グリシン、ロイシン、アラニンよりもセリンに集積する。3)従来、走化性は、tumbleの抑制に起因すると考えられていたが、方向転換時の角度変化に起因していることもあることが新たに発見された。4)数理モデルを用いたシミュレーション結果との対比によって、細菌単体の運動様式の差異が誘引物質に集積する細菌分布の差異の原因となることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

誘引物質に対する細菌の集積速度や誘引物質まわり細菌分布を予測するためには、個々の細菌の運動から集団運動としての走化性の強さを同定する必要がある。このことは、狭い環境下では、細菌の増殖と合わせて生じるぬめりなどの形成の定量評価に寄与するであろうし、広い環境下では、食物連鎖の中の細菌の役割を明らかにすることに繋がる。また、有用細菌の培養条件の設定や、最近試みられている集団運動の制御にも寄与するものと考えられる。

ここで得られた研究成果は、走化性の強さを同定するための方法の開発の基礎となると同時に、走化性の強さを示すデータの一部となる。

研究成果の概要(英文)：Accumulation of bacterial cells around several amino acids and swimming motion of individual cell were observed. Two strains of cells were used: One of them is Salmonella typhimurium, SJW1103, which is peritrichous, and the other is Vibrio alginolyticus, YM4, monotrichous. 1) Salmonella cells accumulate more around aspartic acid than around L-serine. 2) Vibrio cells accumulate more around L-serine than around glycine, leucine, alanine. 3) Chemotaxis had been thought to be caused by suppression of tumbles. However, we found that biased reorientation is another cause of chemotaxis. In Salmonella cells, chemotaxis occurs mainly due to the biased reorientation. 4) Numerical simulation including mathematical model for individual behavior of each cell revealed that the difference in individual motion between Salmonella (peritrichous) and Vibrio (monotrichous) produces the difference in number density distribution of cells around an attractant chemical.

研究分野：流体力学

キーワード：走化性 細菌 集積 誘引物質 数理モデル

### 1. 研究開始当初の背景

細菌は誘因物質に集まる性質(走化性)があり、水環境では、石や土や落ち葉などの境界表面のぬめりの原因となったり、多くの微生物の集合体であるバイオフィルム形成に関与している。また、食物連鎖の中で、細菌は単なる分解者としての位置付けであったが、最近の研究により、動物プランクトンや植物プランクトンが細菌を直接捕食する微生物ループと呼ばれる連鎖があることが明らかになり、水環境における食物連鎖環境に細菌を考慮する必要があることが示されている。

多くの細菌は、遺伝情報を収めた菌体から突き出したべん毛と呼ばれるらせん形の細い繊維状の運動器官を用いて、液体中を運動することができる。真核微生物の鞭毛とは異なり、細菌べん毛はそれ自体が変形することはできず、菌体に埋め込まれたべん毛モータによって回転させられている。べん毛はらせん形をしているため、回転することによって推進力を生む。べん毛モータが反時計方向に回転するときには、複数の鞭毛が束になってスクリューのように働き、細菌はほぼ直線的に泳ぐ(run)。べん毛モータは時々回転方向を変える。時計方向に回転すると、べん毛の束がほどけ、べん毛繊維が受ける流体力によって、細菌全体の方向が変化する(tumble)。1秒程度継続するrunと非常に短い時間のtumbleを繰り返しながら、細菌はジグザグに泳いでおり、その運動はランダムである。

細菌の好む誘因物質の存在下では、泳ぐ細菌は2時刻における誘因物質の濃度を比較し、誘因物質の濃度が上昇している場合にはtumbleが抑制し、継続してrunを行う。これによって、細菌は誘因物質の濃度がより高い環境に向けて徐々に移動する。これが細菌の走化性である。

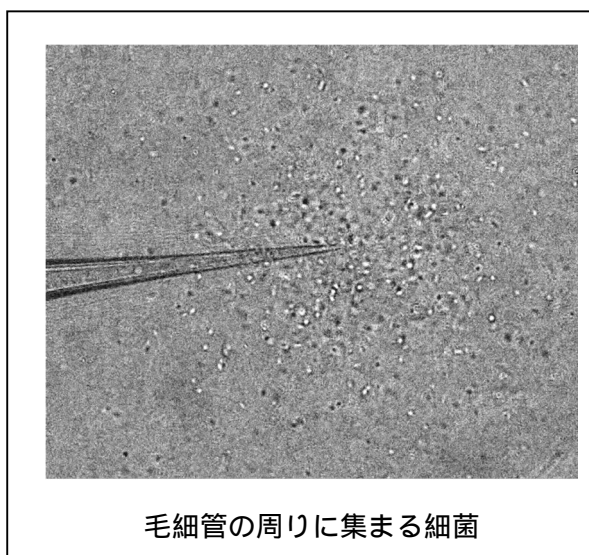
誘因物質に対する細菌の集積速度や誘因物質まわり細菌分布を予測するためには、個々の細菌の運動から集団運動としての走化性の強さを同定する必要がある。このことは、狭い環境下では、細菌の増殖と合わせて生じるぬめりなどの形成の定量評価に寄与するであろうし、広い環境下では、食物連鎖の中の細菌の役割を明らかにすることに繋がる。また、得られた成果は有用細菌の培養条件の設定や、最近試みられている集団運動の制御にも寄与するものと考えられる。

### 2. 研究の目的

走化性によって偏在する細菌の分布を明らかにする数理モデルを構築し、計測結果との対比によって、走化性の強さを提示することを目指す。微生物の中でも寸法が小さく、運動機能が限られる細菌の運動は他の微生物の走性を最も単純化したものだと考えることができる。

### 3. 研究の方法

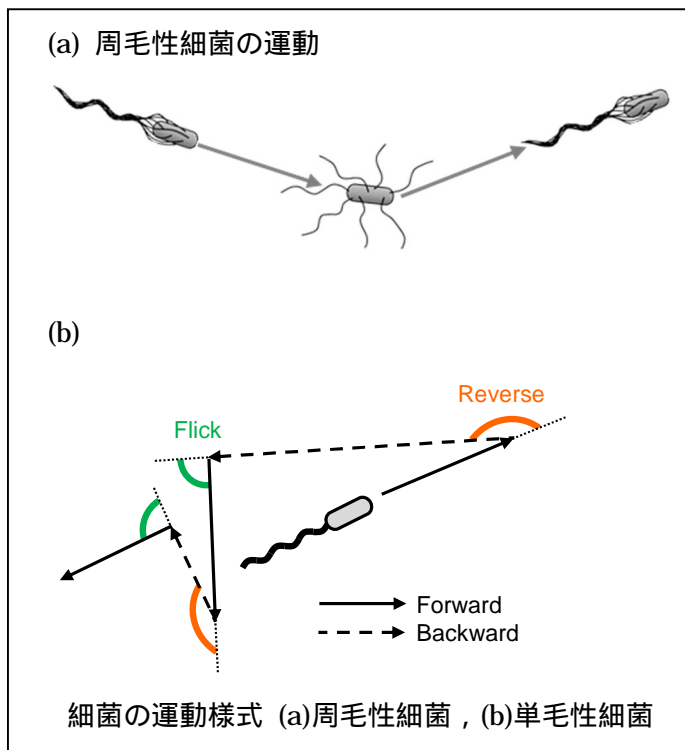
<方法> キャピラリーアッセイを用いて2種類の観察を行った。誘因物質としては、先行研究を参考に、アミノ酸であるセリン、アスパラギン酸、グリシン、アラニン、ロイシンを用いた。これらの水溶液に寒天を添加したものを毛細管に充填し、細菌懸濁液に挿入した。一つの観察は、細菌密度が高い状態で、毛細管先端に集まる細菌数と細菌分布の時間変化を求めるためのものである。もう一つの観察は、少数の細菌が毛細管先端近傍にいる状態で、個々の細菌の速度、軌跡、runの継続時間を求めるためのものである。後者の観察によって得られた情報を、数理モデルへの入力として用い、モデルによって得られた細菌分布を、前者の観察によって得られた細菌と対比することによって、走化性の強さの提示を行う。



毛細管の周りに集まる細菌

<対象> 周毛性細菌であるサルモネラ菌と単毛性細菌であるピブリオ菌を用いた。両者は運動様式が異なる。サルモネラ菌は複数本のべん毛をもち、全てのべん毛を束ねて頭部を先頭にほぼ直線的に運動するrunと、全部あるいは一部のべん毛を束から解きながら方向転換を行うtumbleを繰り返す。ピブリオ菌は極べん毛を一本もち、頭部を先頭にする前進とべん毛を先頭にする後退を繰り返す。前進から後退への方向

転換時にはほぼ来た道を引き返すような方向転換を行うが、後退から前進への方向転換時には flick と呼ばれる全く異なる方向への方向転換を行う。



#### 4. 研究成果

##### (1) マイクロインジェクションと組み合わせた細菌単体の挙動計測法の開発

細菌単体の挙動を計測する際、対象とする細菌単体と他の細菌との重なりなどによって、通常のキャピラリーアッセイに用いられるような高い細菌懸濁液密度での観察は難しい。そこで、マイクロインジェクションを用いて、極微量の細菌懸濁液を吐出することにより、細菌単体を見失うことなく長時間観察（数分間程度）を実現した。

##### (2) アスパラギン酸とセリンに対するサルモネラ菌の細菌分布

毛細管に充填する誘引物質の濃度が下がるにつれて、細菌の集積する範囲が狭くなる。また、一定の濃度以下では、細菌は集積しない。

同濃度ではセリンよりアスパラギン酸の方が集積する範囲が広く、細菌数密度がほぼ一定となる毛細管先端からの距離はアスパラギン酸の方が大きい。毛細管先端からの距離と細菌数密度の関係では、アスパラギン酸の方が毛細管先端近くに集中する。また、アスパラギン酸にはセリンの1/5の時間で細菌が集積する。すなわち、サルモネラ菌は、セリンよりもアスパラギン酸に対しての方が、集積しやすい。

##### (3) アスパラギン酸とセリンに対するサルモネラ菌の単体挙動

従来、大腸菌の走化性について、誘引物質の濃度が高い方向に泳ぐ時に tumble の頻度が下がることで走化性を示すとされていたが、セリンに対するサルモネラ菌の走化性に寄与する要因の一つとして、新たに、高濃度方向に泳ぐ時に大きな角度の tumble が抑制されることを発見した。

アスパラギン酸とセリンに対する単体挙動の有意な差は見られなかった。(2)に挙げたように、集積具合には明らかな差異が現れる。現時点での推測としては、アスパラギン酸とセリンに対するサルモネラ菌の検知限界濃度が異なるものと考えている。

##### (4) 種々のアミノ酸に対するビブリオ菌の細菌分布

セリン、グリシン、ロイシン、アラニンを用いた。

濃度を下げたときに細菌が集積しなくなる濃度は、グリシン、ロイシン、アラニンよりもセリンの方が1桁程度小さい。

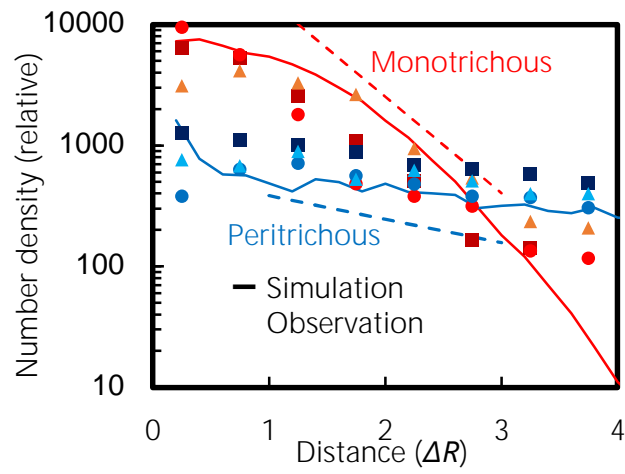
同濃度で、細菌が集積する範囲は、セリンの方が他の3種類のアミノ酸に比べて広く、細菌数密度がほぼ一定となる毛細管先端からの距離がセリンの方が大きい。毛細管先端からの距離と細菌数密度の関係では、セリンの場合に毛細管先端近くの集積度が高く定量的な計測ができていないが、セリンの方が毛細管先端近くに集中する傾向は明らかである。また、他の3種類のアミノ酸に比べて、セリンに集積する時間は1-2桁程度短い。

##### (5) セリンに対するサルモネラ菌とビブリオ菌の細菌分布の差異

サルモネラ菌とビブリオ菌のそれぞれについて、方向転換の様式が異なるという単体挙動特性を数理モデルに入力して、誘引物質に集積する細菌分布のシミュレーションを行った。

毛細管先端からの距離と細菌数密度の関係として、サルモネラ菌に比べてビブリオ菌の方が毛

細管先端近くに集中するという傾向が、キャピラリーアッセイによって得られている。この観察された傾向と同様の傾向をシミュレーション結果は再現しており、細菌の運動様式が集積に関係していることが示された。



誘引物質に集積する周毛性細菌と単毛性細菌の分布の差異

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nakai Tonau, Yoshino Junpei, Goto Tomonobu	4. 巻 8
2. 論文標題 Estimation of chemotaxis intensity of <i>Salmonella</i> cells by the capillary assay and biased random walk simulation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Aero Aqua Bio-mechanisms	6. 最初と最後の頁 63~68
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5226/jabmech.8.63	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 NAKAI Tonau, HIGASHIDA Yasutoshi, NAKAMURA Fumiya, GOTO Tomonobu	4. 巻 16
2. 論文標題 Difference in chemotaxis of <i>Salmonella</i> cells between serine and aspartic acid	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biomechanical Science and Engineering	6. 最初と最後の頁 21-00074
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1299/jbse.21-00074	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakai Tonau, Ando Taishi, Goto Tomonobu	4. 巻 120
2. 論文標題 Biased reorientation in the chemotaxis of peritrichous bacteria <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2623-2630
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bpj.2021.04.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 2件/うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Tonau Nakai, Tomonobu Goto
2. 発表標題 BIASED REORIENTATION IN THE CHEMOTAXIS OF PERITRICHIOUS BACTERIA
3. 学会等名 Biological fluids & flows - A conference to 80th birthday of Prof. Tim Pedley, FRS (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuta Kunimasa, Tonau Nakai, Tomonobu Goto
2. 発表標題 Difference in the chemotaxis between monotrichous and peritrichous bacteria by a numerical simulation and observation
3. 学会等名 The 11th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (AP Biomech 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tonau Nakai, Taishi Ando, Tomonobu Goto
2. 発表標題 Biased Re-orientation in chemotaxis of peritrichous bacteria
3. 学会等名 25th International Congress of Theoretical and Applied Mechanics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中井 唱, 國政 裕太, 後藤 知伸
2. 発表標題 細菌の走化性強さの観測と数理モデルによる評価
3. 学会等名 第60回 日本生体医工学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中嶋 貴也, 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 ピエゾ駆動レンズで取得した映像のOpenCVを用いた画像処理による細菌の三次元遊泳計測
3. 学会等名 日本機械学会 ロボティクス・メカトロニクス講演会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 数理モデルを用いた細菌の走化性強さの推定
3. 学会等名 日本生物物理学会 第58回年会 シンポジウム 「もっと面白くなる細菌べん毛研究～残された宿題への挑戦～」
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 國政裕太, 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 観察に基づくバイアス付きランダムウォークモデルによる単毛性細菌及び周毛性細菌の走化性シミュレーション
3. 学会等名 日本機械学会 第31回バイオフロンティア講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tonau Nakai, Taishi Ando, Fumiya Nakamura, Yasutoshi Higashida, Tomonobu Goto
2. 発表標題 Difference in Chemotaxis of Salmonella Cells between Different Amino Acids
3. 学会等名 The 10th Asian-Pacific Conference on Biomechanics, Taipei (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tonau Nakai, Yasutoshi Higashida, Fumiya Nakamura, Taishi Ando, Tomonobu Goto
2. 発表標題 Estimation of Chemotaxis Intensity in Bacteria by Using a Mathematical Model
3. 学会等名 Mathematical Methods in Biofluid Mechanics (a RIMS Satellite Seminar in 2019), Awaji (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 サルモネラ菌の走化性の誘引物質による差異
3. 学会等名 第40回エアロ・アクアバイオメカニズム学会定例講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村 文哉, 東田 康稔, 安藤 大師, 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 サルモネラ菌の走化性の誘引物質による差異
3. 学会等名 日本機械学会第30回バイオフィロンティア講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中井唱, 東田康稔, 中村文哉, 安藤大師, 後藤知伸
2. 発表標題 セリンとアスパラギン酸に対するサルモネラ菌の走化性の差異
3. 学会等名 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中井唱, 吉野純平, 安藤大師, 後藤知伸
2. 発表標題 サルモネラ菌の走化性強さの観察と数理モデルによる推定
3. 学会等名 日本機械学会 ロボティクス・メカトロニクス講演会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Tomonobu Goto, Mami Kajitani, Junpei Yoshino, Tonau Nakai
2. 発表標題 A scale for quantitative measure on strength of bacterial chemotaxis
3. 学会等名 8th World Congress of Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tonau Nakai, Junpei Yoshino, Taishi Ando, Tomonobu Goto
2. 発表標題 Chemotaxis measurement for a single bacterial cell and cell group
3. 学会等名 The Seventh International Symposium on Aero Aqua Bio-mechanisms (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安藤大師, 中井唱, 後藤知伸
2. 発表標題 誘引物質まわりの細菌単体の挙動計測
3. 学会等名 日本機械学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安藤大師, 中井唱, 後藤知伸
2. 発表標題 細菌単体の挙動計測に基づく走化性効果の再考
3. 学会等名 第39回エアロ・アクアバイオメカニズム学会定例講演会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	中井 唱  (NAKAI Tonau)  (80452548)	鳥取大学・工学研究科・准教授   (15101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------