

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K04193

研究課題名（和文）細菌のべん毛運動の観察による走化性モデルの再構築と集団運動の予測

研究課題名（英文）Reconstruction of chemotaxis model of bacteria by observing the flagellar movement and prediction of the collective movement

研究代表者

中井 唱（NAKAI, Tonau）

鳥取大学・工学研究科・准教授

研究者番号：80452548

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）：細菌の誘引物質への集積現象を正確に予測するため、誘引物質の濃度勾配存在下において、細菌単体の遊泳運動を計測した。A) 周毛性細菌であるサルモネラ菌の方向転換角度は、誘引物質に近づく場合の方が遠ざかる場合に比べて小さくなることが分かった。バイアス付きランダムウォークモデルによる解析を行い、この方向転換角度の違いが集積現象に大きく影響することを明らかにした。B) ピエゾ素子を用いて対物レンズを高速スキャンすることで、細菌の遊泳軌跡の3次元計測を行い、方向転換角度や遊泳速度を精密に計測した。C) 単毛性細菌と周毛性細菌の遊泳様式の違いによる誘引物質への集積度合の差異を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義：誘引物質に応答する細菌の遊泳方向転換角度変化については、これまでに予測されていたが、実際に観測したのは本研究が初めてである。またこの変化が集積現象に大きく影響することから、国内外の細菌走化性の研究における大きな進歩であると言える。

社会的意義：細菌や誘引物質の種類による集積度合の差異が定量化できることで、混合された細菌群から目的の細菌を分離するなど、細菌群をコントロールする実用化への道が開ける。また自然界に見られるバイオフィルムの理解にもつながると言える。

研究成果の概要（英文）：In order to accurately predict the bacterial accumulation toward the attractant, the swimming movement of the single bacterial cell was measured in the presence of the concentration gradient of the attractant. A) It was found that the turning angle of Salmonella, which is a peritrichous bacterium, is smaller when approaching the attractant than when moving away. Analysis using a biased random walk model revealed that this difference in turning angle greatly contributes to the accumulation. B) By scanning the objective lens at high speed using a piezo element, three-dimensional measurement of the swimming trajectory of bacteria was performed, and the turning angle and swimming speed were accurately measured. C) We clarified the difference in the degree of accumulation in attractants due to the difference in swimming manner between monotrichous and peritrichous bacteria.

研究分野：生物流体力学

キーワード：細菌 べん毛 遊泳 方向転換 走化性 ランダムウォーク

1. 研究開始当初の背景

自然界において、細菌は栄養分の周りに集積してバイオフィームと呼ばれる集合体を形成する。バイオフィームは身近には流しのヌメリなどに見られるが、人体内では抗生物質耐性や歯周病の原因になることが明らかになっており、医療・環境・衛生などの分野でその形成メカニズムに注目が集まっている。

水環境における遊泳細菌の各個体は、アミノ酸など好ましい物質の濃度勾配を検知し、より高濃度の場所に集まる性質（走化性）をもつ。バイオフィームの形成過程においては「走化性による細菌の集積」が起きると考えられ、「どのような細菌が、どれくらいの時間で、どれくらい集まるか」を明らかにする事は、環境予測のうえで重要である。この問いに答えることで、集積した細菌群の成長過程の予測が可能になり、将来的には「有害細菌を走化性により集めて廃棄」「有用細菌（環境浄化・発酵食品など）を必要とする箇所に誘導」など新たな技術の創出につながるものとする。

現状の課題として、従来の走化性モデルの再構築が挙げられる。これまで走化性は、「遊泳細菌が数秒に1度ランダムに行う方向転換の頻度が、誘引物質に向かう時は減少する」ことで起きるとされていた。この知見を基に我々は、方向転換の頻度が遊泳方向に依存した（バイアス付きランダムウォーク）数理モデルを考案し、観察との比較を試みた。ところが誘引物質周囲に長時間滞在する細菌単体の動きを解析すると、走化性は方向転換頻度の変化のみで説明できるわけではなく、方向転換の角度分布や、濃度勾配の（正負でなく）大小も考慮する必要のあることが分かってきた。

2. 研究の目的

細菌が誘引物質周りに集積する現象が、細菌個々のどのような遊泳運動によって引き起こされるかを明らかにする。具体的には

細菌ごとに、遊泳速度や方向転換の頻度・角度分布を計測

をもとに走化性を表す数理モデルを再構築

を目的とする。

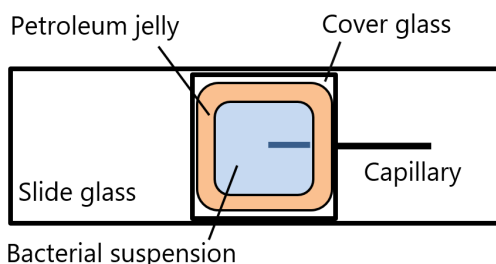


図1 細菌の走化性の観察に用いたプレパラートの模式図。

3. 研究の方法

顕微鏡観察により、誘引物質存在下での細菌の方向転換頻度・角度を計測した。図1にプレパラートの模式図を示す。ガラス管を加熱し引き伸ばして作成した毛細管に誘引物質（L-セリン）を充填し、細菌懸濁液とともにガラスで挟み、ワセリンで封をする。細菌は、周毛性細菌であるサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium* SJW1103) および大腸菌 (*Escherichia coli* K12) または単毛性細菌であるビブリオ菌 (*Vibrio alginolyticus* YM4) を用いた。

走化性の数理モデルにおいては、単位時間ステップごとに直進/方向転換の判断を行い遊泳方向に応じて方向転換を行う確率や方向転換角度が変化するものとした。

4. 研究成果

A. 周毛性細菌の走化性における方向転換角度分布

周毛性細菌は細胞の周りに複数あるべん毛を束ねて直進遊泳するが、方向転換時は、束ねられたべん毛が解かれる。誘引物質の濃度勾配が存在する環境下において、

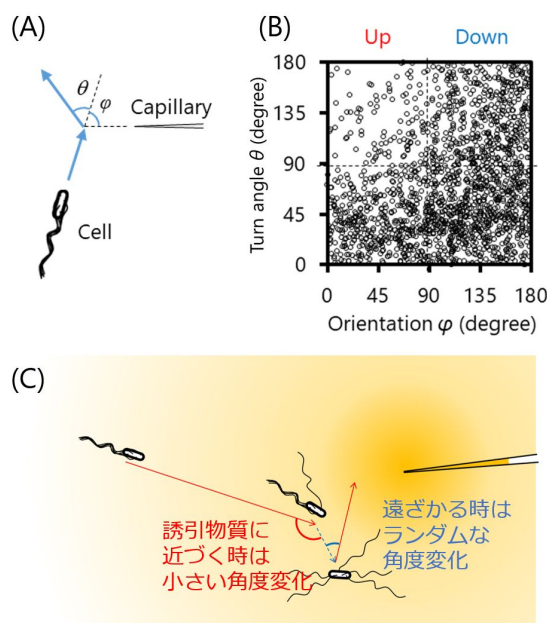


図2 誘引物質周りでの周毛性細菌の方向転換角度。(A) 方向転換角度と誘引物質の湧出点（毛細管先端）に対する姿勢角度 ϕ の定義。(B) と ϕ の分布。(C) グラフ(B)の解釈。

サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium* SJW1103) の方向転換角度が遊泳方向に応じて変化することを明らかにした。誘引物質に近づく場合の方が遠ざかる場合に比べて方向転換角度は小さくなることが分かった。さらに、この方向転換角度の違いが走化性にどれくらい影響するかについて、バイアス付きランダムウォークモデルにより数値解析した。細菌の走化性についてこれまでの知見では、誘引物質に近づく場合に方向転換の頻度が下がることで起こるとされていたが、方向転換の頻度を変えずに本研究で観測された方向転換角度分布を考慮するだけで、細菌は誘引物質周りに留まり続けられることが分かった。

この角度分布の変化について、誘引物質の種類や濃度を変えて調査を行い、この現象が *Salmonella typhimurium* の走化性に見られる普遍的な現象であることを確認した。

また、異なる周毛性細菌 *Escherichia coli* K12 株を用いた観察を行った。方向転換角度は、誘引物質に近づく時にわずかに小さくなったが、サルモネラ菌ほど顕著に表れなかった。一方で遊泳継続時間は遊泳方向により大きく異なり、誘引物質に近づく時に長くなることが分かった。

B. ピエゾ駆動対物レンズを用いた走化性の3次元計測

ピエゾ素子により対物レンズを鉛直方向に振動させ、誘引物質存在下における単毛性細菌 *Vibrio alginolyticus* の遊泳軌跡の3次元計測を行った。ピエゾ素子の位置情報信号とカメラ映像を同期取込し、OpenCVを用いた画像処理によりピントの合った画像の抽出を行い、数マイクロメートル程度の精度で奥行方向の菌体位置を求められた。

C. 細菌の遊泳様式による誘引物質への集積度合の違い

べん毛を1本のみ持つ単毛性細菌 *Vibrio alginolyticus* を用いて、誘引物質セリンへ集まる挙動を計測した。周毛性細菌 (*Salmonella typhimurium*) は様々な方向転換角度をとるのに対して、単毛性細菌の方向転換は前進・後退の切り替えにより起きるため方向転換角度分布が異なる。誘引物質への集積を比較すると、*Vibrio alginolyticus* の方が誘引物質周りでの細菌数密度が数倍大きいことが分かった。

この集積度合の違いが、細菌単体の遊泳の何に起因するかを調査した。*Vibrio alginolyticus* の方向転換は図3に示すように、真後ろへの方向転換 (Reverse, 前進→後退) と、ランダムな方向転換 (Flick, 後退→前進) の繰り返しであることが分かった。

この方向転換角度の違いを考慮し細菌の集積度合を数値解析した所、計測で見られた差がほぼ再現できた。単毛性細菌の方向転換はほぼ真後ろに起きるため、誘引物質から離れる際の方向転換により高濃度領域に留まりやすくなるものと考えられる。

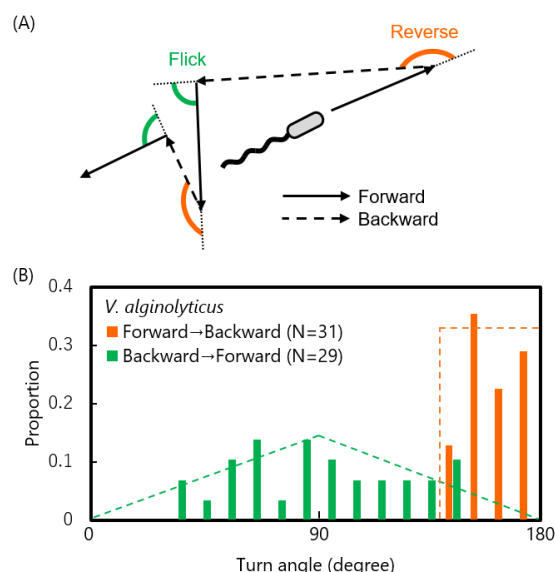


図3 単毛性細菌 *V. alginolyticus* の方向転換。(A) 方向転換の模式図。(B) 方向転換分布。

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 Tonau Nakai, Yasutoshi Higashida, Fumiya Nakamura, Tomonobu Goto	4. 巻 16
2. 論文標題 Difference in chemotaxis of Salmonella 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 1-10
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 Tonau Nakai, Taishi Ando, Tomonobu Goto	4. 巻 120
2. 論文標題 Biased reorientation in the chemotaxis of peritrichous bacteria Salmonella enterica 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 -

1. 著者名 Tonau Nakai, Junpei Yoshino, Tomonobu Goto	4. 巻 8
2. 論文標題 Estimation of chemotaxis intensity of Salmonella 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 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 3件/うち国際学会 6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 富永 拓明, 和田 弘明, 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 誘引物質の種類による単毛性細菌の遊泳軌跡の差異
3. 学会等名 日本機械学会 中国四国学生会第52回学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 和田 弘明, 富永 拓明, 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 単毛性細菌の誘引物質の種類による集積度合の差異
3. 学会等名 日本機械学会 中国四国学生会第52回学生員卒業研究発表講演会
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 中嶋 貴也, 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 ピエゾ駆動レンズによるビブリオ菌の三次元遊泳計測のOpenCVを用いた自動化
3. 学会等名 日本機械学会 中国四国学生会第51回学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2021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回バイオフィロンティア講演会
4. 発表年 2020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(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 落合 康太, 中井 唱, 後藤 知伸
2. 発表標題 ピエゾ駆動レンズによるピブリオ菌の走化性の三次元計測
3. 学会等名 日本機械学会 中国四国学生会第50回学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2019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 (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) (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤 大師, 中村 文哉, 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方向転換角度分布
3. 学会等名 日本機械学会第30回バイオフロンティア講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

生体システム解析学研究室 http://www.damp.tottori-u.ac.jp/~lab5/index.html

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	後藤 知伸 (GOTO Tomonobu) (00260654)	鳥取大学・工学研究科・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
---------	---------