

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25650111

研究課題名(和文)シアノバクテリアのマクロなコロニーパターンの構築原理

研究課題名(英文) Design Principle of Cyanobacterial Colony Pattern Formations

研究代表者

岩崎 秀雄 (IWASAKI, HIDEO)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：00324393

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：独自に池から分離した複数のシアノバクテリアが、寒天培地上で著しく複雑かつ興味深いコロニー・パターンを形成することを見出した。本研究では、とりわけGeitlerinemaとPseudanabaenaの二種類について、定量的な顕微鏡観測や、環境条件に対するコロニーパターンの変化を調べ、それぞれ定性的なコロニーパターン形成モデルを提案し、その一部はシミュレーションを併用することで検証した。また、それぞれの株についてコロニーパターンが変化する変異株を分離し、ゲノム配列の解読により、変異の同定を試みた。

研究成果の概要(英文)：Dynamic colony pattern formations in cyanobacteria, especially in Geitlerinema sp. and Pseudanabaena sp. were studied by combination of microscopic observations, quantitative analysis, mathematical simulations, and molecular genomics.

研究分野：微生物学

キーワード：シアノバクテリア コロニーパターン 形態形成

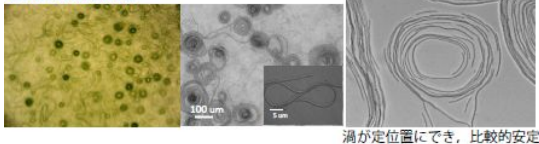
### 1. 研究開始当初の背景

微生物のコロニー・パターンは、比較的単純な自律駆動型素子としての細胞もしくは多細胞個体（フィラメント）が集団を形成する際に自律的に形成され、高等生物にも見られる高次の形態形成や群れ行動のモデルとして格好の対象である。シアノバクテリアは酸素発生型光合成を開始した生物群であり、極限環境を含む地球上に広く分布し、多様な形態・代謝・遺伝子構成を持つ。私たちは、複数のシアノバクテリアが、寒天培地上で著しく複雑かつ興味深いコロニー・パターンを形成することを見出した。シアノバクテリアの集団パターン形成は、バイオフィーム形成や、地球史的スケールで展開されてきたストロマトライト形成などに関係があると思われるが、従来ほとんど研究されてこなかった。

### 2. 研究の目的

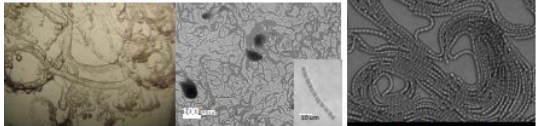
バクテリアのコロニーパターンについては、中央大学の松下貢教授やイスラエルの Eshel BenJacob 博士らによる実験・数理的解析が知られているが、*Bacillus* もしくは *Paenibacillus* を中心とする形態形成が中心であり、シアノバクテリアに見られる複雑なパターンには適用できない。

#### *Geitlerinema*



渦が定位置にでき、比較的安定

#### *Pseudanabaena*



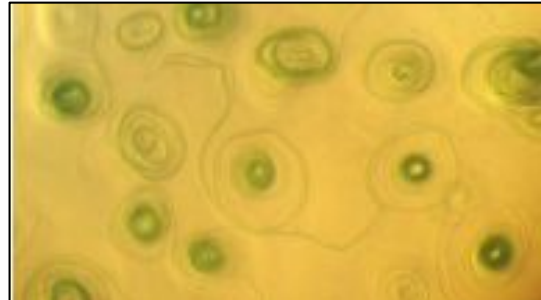
渦の位置は移動（より流動的）

私たちは、野外から様々なシアノバクテリアを分離し、寒天培地上あるいは液体培地中での集団形態を解析してきた。その結果、運動性・多細胞性（糸状性）のシアノバクテリアが渦状あるいは彗星状のコロニーを形成しながら、極めて活発に移動し、上図のようなパターンを呈することを確認した。rRNA 解析を行い、比較的安定な軌道および渦状パターンを示す *Geitlerinema* sp. と、流動的な渦状・彗星状・円盤状のパターンを呈する *Pseudanabaena* sp. をモデルに選び、ミクロな形態・運動を顕微鏡下で培養しながら定量的なタイムラプス観測を行い、フィラメントの異なる運動・フィラメント間相互作用形式の違いを確認し、それぞれの種のパターン形成の定性的な作業仮説を構築した。この仮説の妥当性を、実験的に検証するとともに、セルオートマトンや自走粒子に関する Vicsek モデルなどを援用したシミュレーション解析

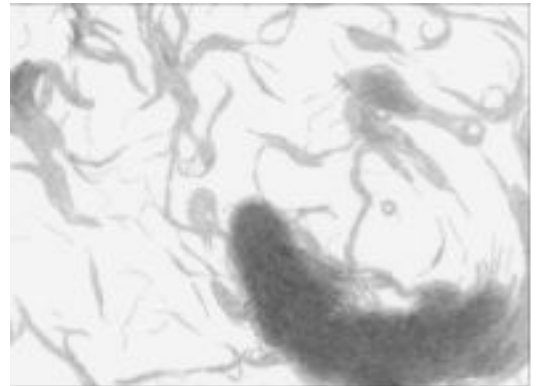
を進めている。ここでは、培地の栄養分、寒天濃度に加え、光強度の変化にともなう形態形成への影響が重要な意味を持つほか、個々のフィラメントの運動性の定量的な観測を行うこととした。また、軌道が不安定化する *Geitlerinema* など、既にいくつかのパターン形成変異体を分離しており、これらの野生株との違いを検討することも目的とした。

### 3. 研究の方法

A. 運動軌道と渦状構造が顕著に安定な *Geitlerinema* sp. のコロニーパターン形成ダイナミクス



B. より流動的なコロニー形態を示す *Pseudanabaena* sp. のコロニーパターン形成ダイナミクス

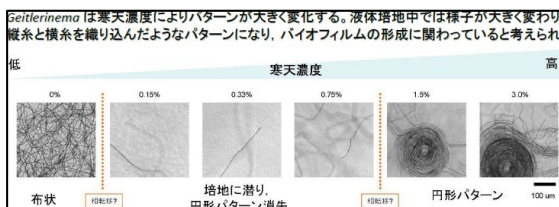
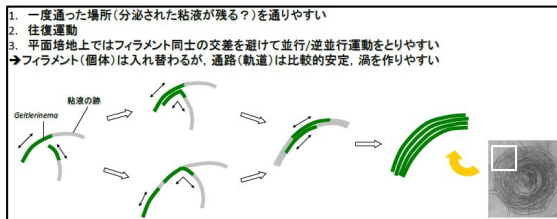


これらの両者について、ともに環境要因を制御した環境下でどのようなパターンへの影響が出るのかを調べるとともに、ミクロレベルもしくはマクロレベルでの定量的タイムラプス観測を行い、細胞移動・細胞増殖と形態形成の関連性を解析した。また、A については既にパターン形成変異株が得られ、B についても個体長とコロニーパターンが変化する変異体を取得しており、全ゲノム解読解析を試みた。

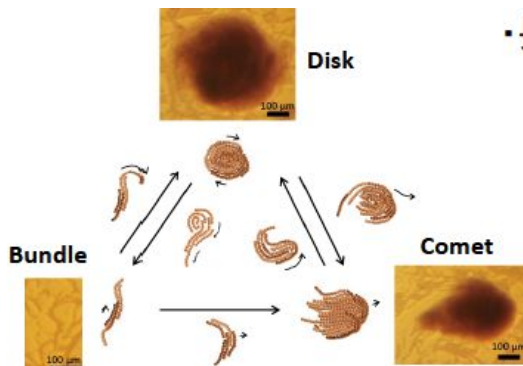
### 4. 研究成果

*Geitlerinema* のコロニーパターンダイナミクスの解析：*Geitlerinema* sp. に特有な、安定な軌道を伴う渦状コロニーパターン形成に関して、詳細な観察を通じて得られた運動ダイナミクスをもとに定性的な作業仮説の提案を行い、それに基づいてシミュレ

ーションによる解析と、ゲノム DNA 解析を行った。前者については、セルオートマトンを用い、Vicsek モデルを改変したシミュレーションにより、以前から提案した軌道安定性を伴うコロニーパターン形成モデルを用いて現実のパターンの一部が再現できることを示した。また、共同研究により、次世代シーケンサーを用いた de novo シーケンシングを行った。その際、既に分離していた、コロニーパターン形成変異株のゲノム DNA も解読し、変異箇所の同定を試みた。その結果、いくつかの遺伝子の塩基配列に変異が見つかった。



*Pseudanabaena* のコロニーパターンダイナミクスの解析：*Pseudanabaena* は円盤状および彗星状の特徴的なコロニーを呈する。定量的な顕微鏡観察から得られたパラメータをもとに、数理モデルを作成し、基本的な三つのコロニーパターン（束状、円盤状、彗星状）の形成と遷移のダイナミクスの一部を表現することに成功した（高松早大教授との共同研究）。また、世代シーケンサーを用いた de novo シーケンシングを行った。また、いくつかのギャップ配列があり、完全長決定には至っていない。こちらについても、*Pseudanabaena* の個体長変異株のゲノム DNA も解読し、変異箇所を明らかにした。



5. 主な発表論文等  
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Ishihara J, Tachikawa M, Iwasaki H, Mochizuki A. (2015) J Theor Biol. 2015 371:9-23 "Mathematical study of pattern formation accompanied by heterocyst differentiation in multicellular cyanobacterium." (査読有)

〔学会発表〕(計4件)

石井正人・深澤有貴・瀧口雅也・柳佳音・岩崎秀雄 "Analysis on colony formation in a filamentous cyanobacterium with an extended self-driven particle model with a cellular automaton method" (2014.9.25, 北大)

東海林祐・山本宏輝・深澤有貴・岩崎秀雄 「運動性シアノバクテリア *Pseudanabaena* sp. ILC 545 の「彗星状コロニー」の形成ダイナミクス」生物物理学学会(2014.9.25, 北大)

岩崎秀雄 「シアノバクテリアの時空間パターン形成」ラン藻の分子生物学 2013(かずさ DNA 研究所, 2013.11.22-23)

岩崎秀雄 「シアノバクテリアの概日リズムとパターン形成」微細藻類研究会(岡崎・基礎生物学研究所, 2013.6.13-6.14)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.f.waseda.jp/hideo-iwasaki/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩崎 秀雄 (IWASAKI, Hideo)  
早稲田大学・理工学術院・教授  
研究者番号：00324393

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：