

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成30年6月18日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03712

研究課題名(和文)細菌のダイナミックな細胞骨格：その動作原理を求めて

研究課題名(英文)Dynamic bacterial cytoskeleton in Spiroplasma

研究代表者

和田 浩史(Wada, Hirofumi)

立命館大学・理工学部・教授

研究者番号：50456753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,500,000円

研究成果の概要(和文)：本課題研究では、細菌スピロプラズマのユニークな遊泳運動を生み出す細胞変形の仕組みについて、いくつかの理論的成果を得た。特にリボン状の細胞骨格に関する構造生物学的データを元に連続体力学的モデルを構築し、細胞のらせん形状が生まれる仕組みとその形状を理論的に明らかにした。また、一細胞計測データをもとに細胞の剛性を決定した。さらに、弾性リボンのもつ新しい幾何力学的な性質をマクロ模型による実験と理論を組み合わせることで明らかにし、細胞力学の観点からそれらの結果を議論した。本研究の成果は、細胞スケールにおいて運動性が創発するために力学がどのような役割を果たすか、というより基本的な問題に新しい知見をもたらす。

研究成果の概要(英文)：We have revealed some new aspects on the mechanics of unique swimming motility of bacterium Spiroplasma. In particular, we have constructed the minimal mechanistic model that may explain helical morphologies of Spiroplasma based on the structural biological data on the ribbon-like cytoskeleton. We have also determined the elastic rigidities of Spiroplasma cell by combining theoretical and numerical analysis with the data from the micromanipulation experiments. In addition to these, we have studied fundamental geometric mechanical properties of macro-scale elastic ribbons by combining theory and experiment, and discussed our new findings in relation to cellular mechanics of bacteria. To summarize, our achievement during the period of this project will significantly contribute to the understanding of yet mysterious mechanism of Spiroplasma swimming dynamics.

研究分野：生物物理学

キーワード：細胞力学 細菌の細胞骨格 幾何力学 バイオメカニクス 運動マシナリー

1. 研究開始当初の背景

「うごき」は生物を特徴づけるもっとも重要なキーワードのひとつである。微生物の運動マシナリーの解明は、生物学における中心的課題であり長い研究の歴史を持つ。しかし、計測と可視化技術、コンピュータによるデータ処理能力の飛躍的向上が原動力となり、この研究分野には目覚ましい新展開が起きていた。とくに物理学的なアプローチや数理的なモデリングと従来の生物学的なアプローチが融合し、新しい生物物理学の方法論が次々と提案されていた。これが研究開始当初の背景である。

主要なモデル(大腸菌や真核細胞)にたいして詳細な研究がすすむなか、いくつかのクラスの細菌の運動性はそれらとは類似性に乏しく、非常に興味深いながらそのメカニズムの多くが謎に包まれたままであった。なかでも我々は、スピロプラズマというらせん形の細菌に注目してきた。スピロプラズマは運動性を持つ細菌の中でも際立って興味深い性質を持つ。この細菌は流体中を力強くかつ滑らかに遊泳するが、べん毛などの従来型の遊泳装置に頼らず、独自の運動メカニクスを進化させてきた。その運動フォームは極めて特異的であり、右巻きと左巻きのらせんを交互に切り替えることにより細胞全体の構造変化を生み出し、自らの体を流体中にねじ込むようにして推進する。さらに、スピロプラズマは「細胞壁を持たない」細菌である。細胞壁の欠損がもたらす構造的な柔らかさが、細胞のダイナミックな変動を可能にしている。しかし、研究開始当初、そのメカニカルな動作原理は大部分が未解明であり、さらなる研究の余地を大きく残していた。

2. 研究の目的

バクテリアの細胞骨格は、細胞の形態を定義し維持するだけでなく、細胞に運動性をもたらす、細胞分裂や代謝においても中心的な役割を果たす。まさに生命をかたちづくり、多様な動的プロセスを下支えするグランドフォームである。その発見以来、バクテリアの細胞骨格に関しては過去20年にわたり膨大な数の研究成果が急速に積み上げられてきた。また、それらの知見を秩序立てて体系化するための理論的作業も始まりつつある。しかし、それらの研究例は頑丈な細胞壁を有するバクテリアを対象としており、その知見は「凍結した」かたちの理解に限定されてきた。

我々が注目するスピロプラズマでは、事情がまったく異なる。細胞壁を欠損するスピロプラズマでは、その形状は細胞骨格と脂質膜との結合によって出現する。さらに、左右のらせんを動的に切り替える仕組みを備えている。これほど劇的で大規模な変動は、他のどのような細菌細胞においてもみられない。そのため、本質的に全く新しいマシナリーを備えた細菌であると考えられてきた。本研究

では、この驚異の細胞運動を引き起こす「膜--細胞骨格系」の動作原理を、物理学的アプローチを駆使して解明する。構造に関する最新の実験データをヒントに幾何力学モデルを構築し、その安定性と動的ふるまいを計算によって明らかにする。微小空間において多様な動きを生成する力学機構の一例を探求することを通じて、「生存機械」としての生物の設計原理に光を当てる。

3. 研究の方法

通常、バクテリア細胞の弾性を担うのは細胞壁であり、細胞骨格ではない。しかしスピロプラズマの場合、細胞の形状は流動性が高くソフトな脂質膜によって定義されており、その力学的な剛性はもっぱら細胞骨格によって担われる。つまり全体としてきわめて柔軟である。生物学的な構造解析によると、Fibと呼ばれる固有のタンパク質からなる(少なくとも)一枚のリボン状の細胞骨格が、らせんの最小経路を通過するように脂質膜チューブの内側に強く定着している。以上の事実を念頭におき、以下のアプローチを計画した:

(1) らせん細胞の非線形力学特性を調べ、細胞骨格の弾性定数を定量的に評価する。: 細胞を「バネ」とみたときの力学特性をモデル計算から予測する。光ピンセットを用いて張力曲線を実験的に決定することができるので、実験データと理論曲線との比較を通じて骨格構造の弾性定数や他のパラメータを決定する。つぎに

(2) 双安定ならせん構造を生み出す「細胞骨格と膜の幾何学的力学」はなにか? を解明する: 可能な幾何学的構造を想定し、その力学的安定性を理論モデルにもとづく計算によって検証する。実験的な示唆(発現するタンパク量や電子顕微鏡による構造の情報)との整合性を厳しく検証し、モデルをブラッシュアップする。そして最後のステップとして

(3) らせんの左右が動的にスイッチする力学的な動作原理はなにか? を解明する: (2)の静的なモデルに集団的モーターシステムのふるまいを取り入れた動的な力学モデルを提案する。

(4) これらと並行して、リボンそれ自体のもつユニークな力学特性を解明することも進める。リボンの幾何力学は近年注目を集める研究分野であるが、そのメカニカルな特性は、細菌のようなミクロンスケールから巨大な建築物のスケールまで、普遍的にあてはまるものであり、細菌の形態を理解するためにも重要な知見をもたらす。そこで弾性リボンの基礎的な物理性質をマクロスケールの実験、シミュレーション、理論を組み合わせて調べる。

4. 研究成果

(1) 連携研究グループにおいて、光トラップ法をもちいて生きたスピロプラズマ細胞の引張り試験を行い、その張力特性を計測した。我々はこれに対応する弾性モデルの数値シミュレーションを実施し、実験結果との詳細な比較を行った。その結果、これまでの弾性率測定の精度を改善し、スピロプラズマの細胞弾性がほぼその細胞骨格に担われること、それがアクチンフィラメント様のプロトフィラメントのバンドルの示す弾性によると考えたときの弾性率とうまく一致することを見出した。これらの結果は、過去に間接的に測定され部分的に報告されてきた弾性率の値が妥当なものであることを高い信頼性で確かめると同時に、細胞の構造を理解する上で重要なヒントをもたらすものである。

(2) スピロプラズマ細胞のらせん形を特徴づける膜-細胞骨格系のモデルとして、やわらかいチューブの内壁に、弾性リボンが固く張りついた複合構造を考え、リボンのねじれや収縮といった変化に対して、複合材全体の構造がどのように変化するかを、構造力学的な視点から理論的、数值的に解析した。この複合材はさまざまならせん形状をとるが、そのピッチ角がリボンの収縮率やねじれ率にどのように依存するかを明らかにした。さらに、この複合材モデルは、スピロプラズマにみられる特徴的なキंक形状を再現できることも示した。実際の菌体が示すらせん形状を実験的に定量化（ピッチ角や半径など）すれば、そこからリボンの収縮率やねじれの周期などを、このモデルにもとづいて算出することができる。細胞骨格をなすリボンがどのようにしてねじりを生み出し収縮するのか、という中心的な問題は未解明であり、今後の研究課題である。

(3) らせんの状態（右巻きと左巻き）を双安定な内部状態としてもつ弾性フィラメントのモデルを構築し、その数値シミュレーションとスケーリング解析をつうじて、菌体を伝わるキंकの伝搬速度に対するスケーリング関係式を提案した。これらの結果は、しかし、連携研究グループが測定したデータの示す傾向とはあまりうまく整合しなかった。このため、実際の細菌細胞では、粘性環境に応じてトルクが変動するなどのより複雑な仕組みが関与していると予測される。

(4) リボンの力学的性質をマクロ実験とモデル計算を組み合わせることで明らかにする研究を実施し、重要な成果を得ることができた。弾性リボンでループをつくり、両端の「ずれ」の幅を固定したまま、両端を引っ張って遠ざけていくと、ループは徐々に小さく絞られていく。固定した幅が十分狭ければ、ついにループは折り目に転移し、さらに引っ張るとリ

ボンは破断または塑性変形する。一方、幅がある程度より広い場合には、小さく絞られたループはほどけ、リボンが飛び上がると同時にねじれはリボン全体に再分配されてヘリコイドの形状をとる。この分岐現象の詳細な相図を実験的に作成し、転移のいくつかの性質を理論、シミュレーションをもちいて明らかにした。これによりリボンをどのような条件で1次元的な弾性体として記述でき、どのような条件下で2次元的（シート状）の物体とみなして調べるべきかという基本的な問題に重要な知見を与えることができた。これらの性質はミクロからマクロまでスケールによらず形状のみによって決まるため、細胞の力学モデルを考察するさいにも有益な結果であるといえる。

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6件)(すべて査読有)

(1) Keigo Nakamura, Tetsuya Hisanaga, Koichi Fujimoto, Keiji Nakajima and Hirofumi Wada, "Plant-inspired pipettes", *Journal of the Royal Society Interface*, 15, 20170868 (2018).
DOI: <https://doi.org/10.1098/rsif.2017.0868>

(2) Tomohiko G. Sano and Hirofumi Wada, "Snap-buckling in asymmetrically constrained elastic strips", *Physical Review E*, 97, 013002 (2018).
DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.97.013002>

(3) Tomohiko G. Sano, Tetsuo Yamaguchi and Hirofumi Wada, "Slip morphology of elastic strips on frictional rigid substrates", *Physical Review Letters*, 118, 178001 (2017).
DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.118.178001>

(4) Yasuaki Morigaki, Hirofumi Wada and Yoshimi Tanaka, "Stretching an elastic loop: Crease, helicoid, and pop-out", *Physical Review Letters*, 117, 198003 (2016).
DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.117.198003>

(5) Daichi Matsumoto, Koji Fukudome and Hirofumi Wada, "Two-dimensional fluid dynamics in a sharply bent channel: Laminar flow, separation bubble and vortex dynamics", *Physics of Fluids*, 28, 103602 (2016).

DOI: <https://doi.org/10.1063/1.4963864>

(6) Hirofumi Wada, "Structural mechanics and helical geometry of thin elastic composites", *Soft Matter*, 12, 7386-7397, (2016).

DOI: 10.1039/C6SM01090C

〔学会発表〕(計6件)

(1) 和田 浩史, "曲率と自由境界が生み出す弾性シェルの幾何学的な力学構造", 第7回ソフトマター研究会(基調講演), 2017年

(2) Hirofumi Wada, "Structure, mechanics, and dynamics of Spiroplasma", 第55回日本生物物理学会 年会 シンポジウム講演, 2017年

(3) 和田 浩史, "生物のかたちがインスパイアするソフトマターの機能", 日本物理学会第72回年次大会 シンポジウム講演, 2017年

(4) Hirofumi Wada, "Shape transitions of a looped elastic ribbon under tension", Avalanches, plasticity, and nonlinear response in nonequilibrium solids, 2016

(5) Hirofumi Wada, "Structural mechanics and helical geometry of thin elastic composites", iCeMS International Symposium: Hierarchical Dynamics in Soft Materials and Biological Matter, 2015

(6) Hirofumi Wada, "Shapes of a looped elastic ribbon under tension", The 3rd East Asia Joint Seminar on Statistical Physics, 2015

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 浩史 (WADA, Hirofumi)

立命館大学・理工学部・教授

研究者番号: 50456753

(2) 研究分担者

田中 良巳 (TANAKA, Yoshimi)

横浜国立大学・大学院環境情報研究院・准教授

研究者番号: 10315830

(3) 連携研究者

宮田 真人 (MIYATA, Makoto)

大阪市立大学・理学部・教授

研究者番号: 50209912

中根 大介 (NAKANE, Daisuke)

学習院大学・理学部・助教

研究者番号: 40708997