

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：32641

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K13537

研究課題名(和文)2次元円形プール内における細菌集団運動

研究課題名(英文)Collective motion of bacterial cells in a two-dimensional circular pool

研究代表者

脇田 順一 (Wakita, Jun-ichi)

中央大学・理工学部・教授

研究者番号：30611404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：近年、微生物や昆虫、鳥、動物、人など、生物集団が示す多様な振る舞いが、物理学の分野においても注目されている。そこでは、構成要素である生物単体の振る舞いと系全体の振る舞いの関係を統計物理学的な視点から明らかにしようとする試みがなされている。本研究では、微生物の一種である枯草菌が、寒天培地上に作成した円形プールの中で、換算菌体長(プールの直径に対する菌体長比で定義される)と菌密度をパラメータとして6種類の特徴的な振る舞いを示すことを確認した。そして、それらの振る舞いを引き起こす因子として、“菌とプール壁の間の相互作用”と“菌同士の相互作用”、“菌単体の運動方向揺らぎ”が本質的であることを確認した。

研究成果の概要(英文)：Recently, various types of collective behavior observed in swarming micro-organisms, marching insects, flocking birds, and walking pedestrians have been studied in the field of physics. The relation between individual behavior and collective behavior has been investigated from the view point of statistical physics. In our studies, we found that *Bacillus subtilis* cells as a kind of micro-organisms showed six types of collective behavior depending on the reduced cell length (defined as the ratio of cell length to pool diameter) and the cell density in a circular pool which was made on an agar plate surface. Then, we have confirmed that the interaction of a cell with the brim of a pool, the interaction between cells, and the fluctuation in the moving direction of cells are essential to the collective behavior.

研究分野：統計力学, 生物物理

キーワード：集団運動 バクテリア 枯草菌 Vicsekモデル

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 1980年代以降、ランダムな成長パターンを伴う非線形非平衡現象の問題は、結晶成長やヴィスカスフィンガー、電析、パーコレーション、クラスター凝集、地形のフラクタル構造、生物集団、株価の変動など、様々な系で分野横断的に研究されてきた(T. Vicsek: Fractal Growth Phenomena (1992))。その結果、異なる系であってもよく似た共通のパターンが存在することが明らかになった。すなわち、系全体の振る舞いが構成要素の性質のみによって決まるのではなく、系が置かれている環境(場)の影響を強く受けて決まる場合が認識されるようになった。ラプラス場で形成される、複雑に枝分かれした自己相似的な構造のDLAパターンは、その一例である。構成要素の振る舞いと系全体の振る舞いの関係を明らかにすることは、統計物理学的に興味深い問題である。研究代表者はこれまで、寒天培地上で巨視的スケールに成長する細菌コロニーについて、菌単体の振る舞いとコロニー全体の振る舞いの関係を実験的アプローチにより探ってきた。そして、様々な環境条件下でコロニーが多様な振る舞いを示すことを確認している。(M. Matsushita, et al.: Biofilms (2004)1, 305-317)

(2) 生物集団の研究に目を向けると、微生物以外に昆虫や鳥、動物、人などの系を挙げることができる。そこでは、様々な実験とモデルが提案されている(Tamas Vicsek: Fluctuations and scaling in biology (2001))。Vicsekモデルは、自走する粒子が周囲と進行方向を揃えようとする効果とそれに対する揺らぎの競合のもとで、運動方向の秩序がある粒子密度を境に不連続的に相転移することを示している。このような背景のもと、研究代表者は、寒天培地上に作成した直径約40 $\mu\text{m}$ の円形プールの中で、枯草菌が多様な振る舞いを示すことを確認した。その振る舞いは、換算菌体長 $\lambda$ (プール直径に対する菌体長比で定義される)と菌密度 $\rho$ をパラメータとすると、6種類の特徴的なパターン、(a) *random motion*、(b) *turbulent motion*、(c) *one-way rotational motion*、(d) *two-way rotational motion*、(e) *random oscillatory motion*、(f) *ordered oscillatory motion*、に分類できそうであった。したがって、本研究では、さらに実験を繰り返すことで集団運動の全体像を明らかにし、その本質を理解したいと考えた。

## 2. 研究の目的

(1) 枯草菌が円形プール内で示す6種類の集団運動を、換算菌体長 $\lambda$ と菌密度 $\rho$ をパラメータとして、相図にまとめる。

(2) 換算菌体長 $\lambda$ と菌密度 $\rho$ を変えたときの菌集団の振る舞いの変化を定量的に表す。

(3) 菌集団の振る舞いに影響する因子として“菌とプール壁の間の相互作用”と“菌同士の相互作用”に着目し、これら2つの因子と菌集団の振る舞いの関係を明らかにする。

以上より、円形プール内における枯草菌の集団運動を理解することを目指す。

## 3. 研究の方法

(1) 2次元円形プール内における枯草菌集団運動の相図を作成する。具体的には、直径90mmのシャーレに厚さ3mm程度の寒天培地を用意する。培地上に少量の枯草菌を接種し、温度35 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度90%に保った状態で培養すると、培地表面に巨視的なコロニーが形成される。あらかじめ寒天濃度と栄養濃度を適当な値にセットしておくことにより、コロニーは、成長先端部が進行と停止を繰り返しながら、同心円状パターンへと成長する。その成長先端部近傍に直径50 $\mu\text{m}$ のガラスビーズをまき、取り去ることにより、培地表面上に直径約25~50 $\mu\text{m}$ 、深さ約2 $\mu\text{m}$ の円形プールが作成される。そのプール内に捉えられた菌の集団運動を観察する。コロニー成長先端部において菌体長が周期的に変動していることから、成長先端部近傍にガラスビーズをまくタイミングをずらすことによって、菌体長を大雑把にコントロールすることが可能になる。一方、培地上にまかれたガラスビーズの位置によって、低密度から高密度まで様々な菌密度の系が実現される。このようにして、菌体長と菌密度の異なる系の観察が可能になる。実験観察を多数回繰り返し、得られた結果が6種類の集団運動のどのパターンに属するかを判別し、換算菌体長 $\lambda$ (平均菌体長とプールの直径の比で定義する)と菌密度 $\rho$ を算出する。横軸を $\lambda$ 、縦軸を $\rho$ とした相図に観察結果を逐次プロットしていき、最終的に相図にまとめる。

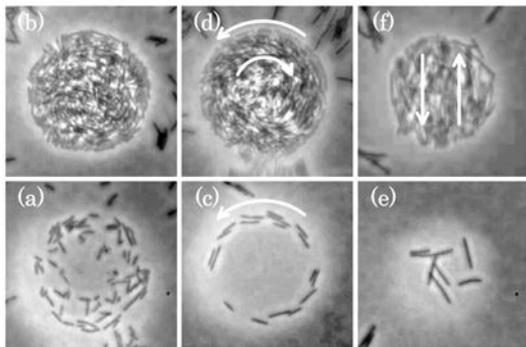
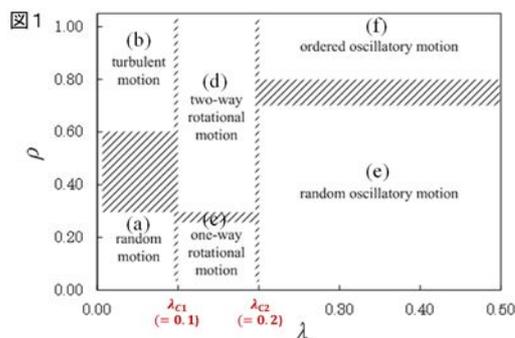
(2) 菌集団の運動方向の円周方向成分を表す量として秩序パラメータ $Q$ を定義する。 $Q$ の値は、0に近いほど運動の方向がランダムであり、1に近いほどプール壁に沿った反時計周りの回転運動であることを表すものとする。本研究では、換算菌体長 $\lambda$ が $0 < \lambda < 0.2$ の領域でみられる4種類の振る舞い、(b) *turbulent motion*、(d) *two-way rotational motion*、(a) *random motion*、(c) *one-way rotational motion*に着目する。菌密度 $\rho$ が高いときの(b) *turbulent motion*と(d) *two-way rotational motion*の境界と、菌密度 $\rho$ が低いときの(a) *random motion*と(c) *one-way rotational motion*の境界近傍で、 $Q$ が換算菌体長 $\lambda$ の変化に対してどのように振る舞うかを調べる。

(3) 換算菌体長 $\lambda$ が $0 < \lambda < 0.2$ の領域でみられる(a) *random motion*と(c) *one-way rotational motion*に着目する。特に、菌密度

$\rho$  を低密度の極限であるプール内に菌が 1 匹のみ存在する系としたときに、これらの振る舞いが維持されるかどうかを調べる。1 匹の系では“菌同士の相互作用”がないことから、菌とプール壁の間の相互作用”が集団運動に及ぼす影響が明らかになる。

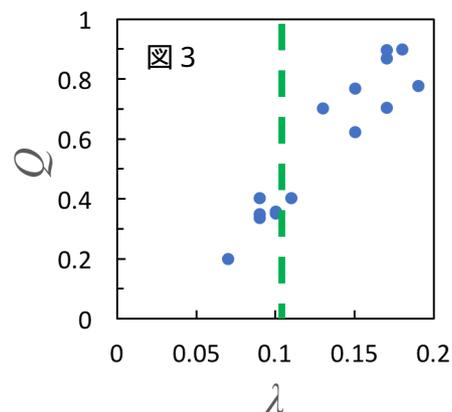
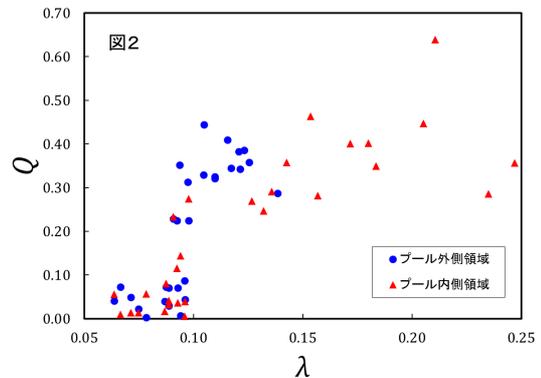
#### 4. 研究成果

(1) 枯草菌が円形プール内で示す 6 種類の集団運動について、換算菌体長  $\lambda$  と菌密度  $\rho$  をパラメータとして、相図を作成した(図 1)。その結果、菌集団の振る舞いには 6 種類の特徴的なパターンが存在することが明らかになった。それぞれ、菌集団の運動が個別的でランダムな(a) *random motion*、流体的で渦の生成と消滅が観察される(b) *turbulent motion*、プール壁に沿って反時計回りの(c) *one-way rotational motion*、プール外側領域で反時計回り、内側領域で時計回りの(d) *two-way rotational motion*、個別的で振動的な(e) *random oscillatory motion*、振動的で全体が間欠的に向きを揃える(f) *ordered oscillatory motion*、である。また、 $\lambda$  に関して、菌集団の振る舞いが急激に変化する 2 つの閾値  $\lambda_{c1} \approx 0.1$ 、 $\lambda_{c2} \approx 0.2$  が確認された。

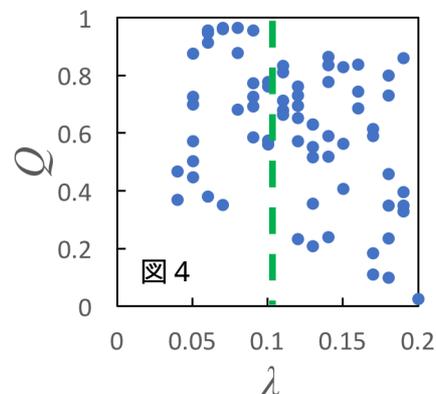


(2) 閾値の 1 つ  $\lambda_{c1}$  に着目する。最初に、菌密度  $\rho$  が高い条件下の(b) *turbulent motion* と (d) *two-way rotational motion* の境界付近で、秩序パラメータ  $Q$  がどのように振る舞うかを調べた。ここで、(d) *two-way rotational motion* はプールの外側領域と内側領域で回転方向が逆向きであることから、 $Q$  はそれぞれの領域で調べて絶対値をとることとした。その結果、プールの外側領域と内側領域ともに、 $Q$  は  $\lambda$  の増加に対して  $\lambda_{c1} \approx 0.1$  付近で急激に増大する様子が確認された(図

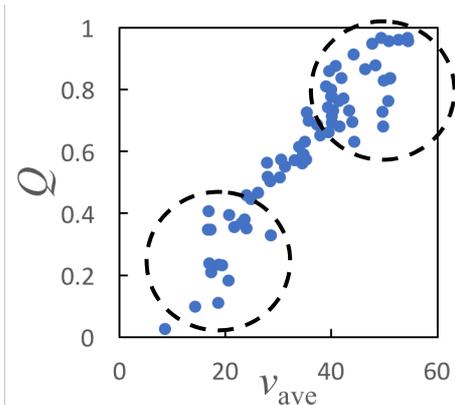
2)。次に、菌密度  $\rho$  が低い条件下の(a) *random motion* と (c) *one-way rotational motion* の境界付近について、同様の解析を行った。その結果、この場合も  $Q$  は  $\lambda_{c1} \approx 0.1$  付近で急激に増大する様子が確認された(図 3)。



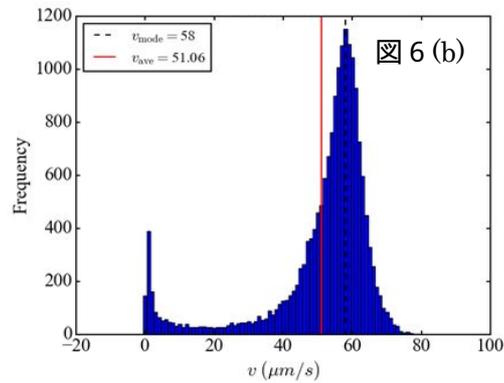
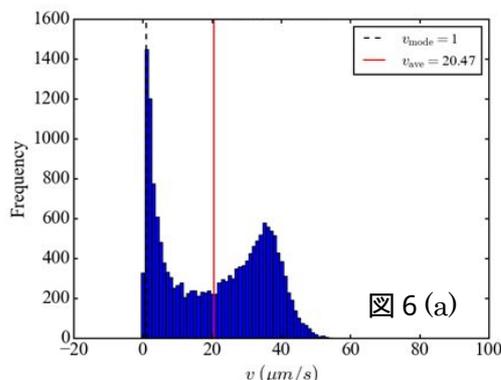
(3) 換算菌体長  $\lambda$  が  $0 < \lambda < 0.2$  の領域の(a) *random motion* と (c) *one-way rotational motion* に着目する。菌密度  $\rho$  が低密度極限のプール内に菌が 1 匹のみ存在する場合においても、閾値  $\lambda_{c1}$  を境界としたこれら菌集団の振る舞いの区別がみられるのかどうか、 $\lambda$  の増加に対して閾値  $\lambda_{c1}$  付近に  $Q$  の急激な増大がみられるのかどうかを調べた。その結果、閾値  $\lambda_{c1}$  を境界とした菌集団の振る舞いの区別はみられず、 $0 < \lambda < 0.2$  の範囲で(a) *random motion* と (c) *one-way rotational motion* が混在する様子が確認された。 $Q$  についても  $\lambda$  依存性は認められず、 $\lambda_{c1} \approx 0.1$  付近に  $Q$  の急激な増大は見られなかった(図 4)。



次に、菌の運動を追跡することによって得られた速度の時系列データから平均速度  $v_{av}$  を算出し、 $v_{av}$  に対する  $Q$  の振る舞いを調べた。その結果、 $Q$  は  $v_{av}$  に対して単調増加の関係にあることが確認された (図 5)。



そこで、図 5 の  $v_{av}$  が小さい領域と大きい領域について、それぞれ速度分布を調べた。図 6 (a) は  $v_{av}$  が小さい領域の典型的な分布を表しており、運動速度  $v$  が  $0 \mu\text{m/s}$  付近に鋭いピークがみられる。観察結果からこのピークは菌が運動の方向を変えるときの一瞬の停止を捉えたものと考えられる。一方、図 6 (b) は  $v_{av}$  が大きい領域の典型的な分布を表しており、こちらは運動速度  $v$  が  $60 \mu\text{m/s}$  付近に鋭いピークがみられる。観察結果からこのピークは菌がプール壁に沿って回転運動するときの特徴的な速さを表していると考えられる。先ほどの結果と合わせると、菌が運動の方向を頻繁に変えるときは、速度分布の  $v \approx 0 \mu\text{m/s}$  付近に鋭いピークが現れ、平均速度  $v_{av}$  は小さくなり、 $Q$  は 0 に近い値となっている。一方、菌がプール壁に沿って反時計回りに回転運動するとき、速度分布の  $v \approx 60 \mu\text{m/s}$  付近に鋭いピークが現れ、平均速度  $v_{av}$  は大きくなり、 $Q$  は 1 に近い値となっている。速度分布の  $v \approx 0 \mu\text{m/s}$  付近にみられる鋭いピークは菌が運動方向を変える頻度が大きいことを表していると考えられることから、枯草菌は単体でプール壁に沿って反時計回りに回転運動する性質をもつものの、運動方向を頻繁に変える何らかの影響を受けているといえる。その理由としては、培地表面の凹凸等による影響が考えられる。



(4) 円形プール内で枯草菌の集団運動に影響を与える因子として、当初着目していた“菌とプール壁の間の相互作用”と“菌同士の相互作用”の他に、1匹の系に着目することにより“菌の運動方向揺らぎ”の存在が明らかになった。菌の速度分布の  $v \approx 0 \mu\text{m/s}$  付近にみられる鋭いピークから、菌の運動方向が培地の凹凸等による影響を受けていることが示唆された。

まとめると、菌密度  $\rho$  が低密度の極限であるプール内に菌が 1 匹のみ存在する場合は、 $0 < \lambda < 0.2$  の範囲に (a) *random motion* と (c) *one-way rotational motion* が混在し、換算菌体長  $\lambda$  の  $\lambda = \lambda_{c1} (\approx 0.1)$  付近に閾値がみられなかったのに対して、菌密度  $\rho$  がある程度高くなると、 $\lambda = \lambda_{c1} (\approx 0.1)$  付近に閾値が現れることが確認された。これらの結果から、プール内に菌が 1 匹のみ存在する場合は“菌とプール壁の間の相互作用”と“菌の運動方向揺らぎ”が系の振る舞いに対して支配的であり、菌密度  $\rho$  がある程度高くなると、“菌とプール壁の間の相互作用”と“菌同士の相互作用”が支配的になることが考察される。これらは、今後、数値モデルにより確認する必要がある。

(5) 本研究で、円形プール内における枯草菌の集団運動のメカニズムを明らかにすれば、人などの集団をふくめた様々な集団の挙動まで理解が深まると考えられる。そして、統計物理学の分野における Vicsek モデルなどの理論モデルによる集団運動の研究にも貢献できるものと考えている。そのためには、今後、相図の中でまだ着手していない他の領域のパターンにも注目していく必要があると考えている。

## 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 3 件)

J. Wakita, S. Tsukamoto, K. Yamamoto, M. Katori, and Y. Yamada, Phase Diagram of Collective Motion of Bacterial Cells in a Shallow Circular Pool, J. Phys. Soc. Jpn., 査読有, 84 巻, 2015, 124001.

DOI: 10.7566/JPSJ.84.124001

R. Honda, J. Wakita, and M. Katori, Self-Elongation with Sequential Folding of a Filament of Bacterial Cells, J. Phys. Soc. Jpn., 査読有, 84 巻, 2015, 114002.  
DOI: 10.7566/JPSJ.84.114002

K. Yamamoto and J. Wakita, Analysis of a Stochastic Model for Bacterial Growth and the Lognormality in the Cell-Size Distribution, J. Phys. Soc. Jpn., 査読有, 85 巻, 2016, 74004.  
DOI: 10.7566/JPSJ.85.074004

〔学会発表〕(計 12 件)

脇田 順一、塚本 翔太、山本 健、香取 眞理、円形プール内におけるバクテリア集団運動の相図、日本物理学会 2015 年秋季大会、2015 年 9 月関西大学千里山キャンパス、19pCW-8

本田 良二郎、脇田 順一、香取 眞理、非線形微分方程式系によるバクテリアの初期成長過程の解析、日本物理学会 2015 年秋季大会、2015 年 9 月関西大学千里山キャンパス、19pCW-7

竹内 光、山本 健、脇田 順一、大腸菌の同心円状コロニーにおける菌体長分布、日本物理学会第 71 回年次大会、2016 年 3 月東北学院大学泉キャンパス、22pBS-12

脇田 順一、本田 良二郎、香取 眞理、バクテリアの紐状成長における複雑な折り畳み過程の定量化、日本物理学会 第 71 回年次大会、2016 年 3 月東北学院大学泉キャンパス、JPSJ フレンドシップ・ミーティング

J. Wakita, K. Yamamoto, R. Honda, and M. Katori, Phase Diagram of Collective Motion of Bacterial Cells, STATPHYS 26, 18-22 July 2016, Centre de Congrès de Lyon, France. SESSION 13, TOPIC 8.

R. Honda, J. Wakita, and M. Katori, Self-Elongation with Sequential Folding of a Filament of Bacterial Cells, STATPHYS 26, 18-22 July 2016, Centre de Congrès de Lyon, France. P-8-32.

山本 健、脇田 順一、バクテリア成長の現象論モデルの解析と菌体長の対数正規性の検証、日本物理学会 2016 年秋季大会、2016 年 9 月金沢大学角間キャンパス、14pAQ-9

本田 良二郎、脇田 順一、円形プール内における換算菌体長の異なるバクテリア細胞の運動の解析、日本物理学会第 72 回年次大会、2017 年 3 月大阪大学豊中キャンパス、

17pL41-8

原田 翔平、本田 良二郎、山本 健、脇田 順一、円形プール内で集団運動するバクテリアの速度場解析、日本物理学会第 72 回年次大会、2017 年 3 月大阪大学豊中キャンパス、17pL41-9

本田 良二郎、脇田 順一、円形プール内におけるバクテリア細胞の運動の解析、日本物理学会 2017 年秋季大会、2017 年 9 月岩手大学上田キャンパス、23pN23-4

脇田 順一、本田 良二郎、成塚 拓真、円形プール内におけるバクテリア集団運動の時系列解析、日本物理学会 2017 年秋季大会、2017 年 9 月岩手大学上田キャンパス、23pN23-5

本田 良二郎、脇田 順一、円形プール内における低密度での細菌集団の速度場の解析、日本物理学会第 73 回年次大会、2018 年 3 月東京理科大学野田キャンパス、25aK610-14

〔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：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.phys.chuo-u.ac.jp/labs/wakita/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

脇田 順一 (WAKITA, Jun-ichi)

中央大学・理工学部・教授

研究者番号：30611404

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：

(4)研究協力者

香取 眞理 (KATORI Makoto)  
中央大学・理工学部・教授

松下 貢 (MATSUSHITA Mitsugu)  
中央大学・理工学部・名誉教授

山本 健 (YAMAMOTO Ken)  
琉球大学・物質地球科学科・講師

成塚 拓真 (NARIZUKA Takuma)  
中央大学・理工学部・助教

本田 良二郎 (HONDA Ryojiro)  
中央大学大学院・理工学研究科

塚本 翔太 (TSUKAMOTO Shota)  
中央大学大学院・理工学研究科

原田 翔平 (HARADA Shohei)  
中央大学大学院・理工学研究科

梅田 大 (UMEDA Sora)  
中央大学大学院・理工学研究科

西岡 瑞穂 (NISHIOKA Mizuho)  
中央大学大学院・理工学研究科