

A03 1個の接着蛋白質の特性から生み出される巨大スケールの バクテリア渦状運動

学習院大学 西坂崇之
学習院大学 中根大介
情報通信研究機構 大岩和弘

研究代表者の西坂はこれまでに、数々の分子モーター（ミオシン・キネシン・F₁-ATPase・新規のバクテリアモーター）を分子レベルで研究する新しい方法論を展開し、従来の多分子系の測定では分かり得なかった数々の謎を明らかにしてきた。本課題は、これまでに開発した技術をバクテリアの運動に応用し、分子レベルから集団レベルまでのマルチスケールにおいて多面的な研究を展開し、特徴的な生命現象の説明を試みようとするものである。

フラボバクテリウム・ジョンソニエ (*Flavobacterium johnsoniae*、以下ジョンソニエ) は、土中に普遍的に存在するバクテリアであり、単離した状況ではその形状に沿って行ったり来たり運動をする。近年になってこの動きは、細胞表面に突出した接着蛋白質である SprB のらせん上の流れによるものだということが、中根大介博士や中山浩次教授（長崎大学）らによって明らかになった (Nakane *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2013)。接着の対象となる基板の分子は未だ同定されていないものの、ジョンソニエの細胞表面にはらせん状のレールが用意されており、このレールに沿った接着蛋白質の流れが、バクテリア本体の滑走運動の原動力となるのである。

研究代表者の研究室に所属する小高祥子氏（博士前期課程）は、このバクテリアを高濃度で寒天にスポットした際、直径が 1–3 mm の渦状のパターンを形成するという事を見いだした（図 1）。この現象は、1匹の細胞の運動の特性、さらには、1個の接着蛋白質の性質によって実現されている可能性があり、非常に重要な生物学的課題となるポテンシャルを持っている。本課題では2年間の研究期間において、渦形成を生み出す分子レベルの起源と、衝突を繰り返す個体が巨大渦形成に至る過程を詳細に記述するシミュレーションを構築することを目標としている。

初年度は、①ジョンソニエが再現性良く渦形成を行う条件の徹底的な検討、および②個体が渦に至る集団運動を安定して記録する観測システムの開発の2点に挑戦し、満足すべき結果を得た。また③別の種のバクテリアである *Mycoplasma mobile* のゴーストの運動を詳細に解析し、科学史上初めて滑走バクテリアのステップ状運動を発見した。以下、これらの成果の詳細とこれからの方向性について述べる。

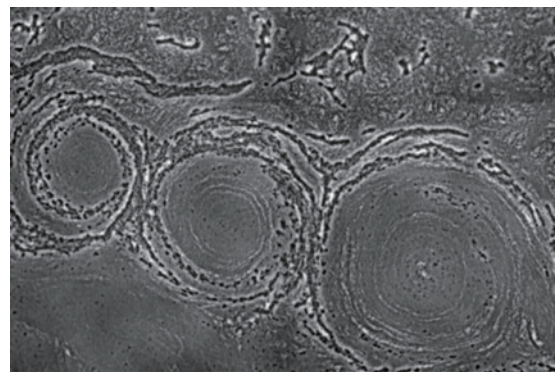


図 1: 西坂研究室の小高祥子氏が発見したバクテリア *F. johnsoniae* の集団の渦状運動. スポットした集団が広がる際に、境界面で自発的に回転渦を形成する。

【ジョンソニエ渦形成の条件検討】 栄養素を含まない寒天培地上において、数百万匹のジョンソニエが不規則に広がる際、特定の条件下において、一見すると方向性を持たないランダムな動きが（接触面をバクテリア側から見て）反時計回りの集団回転運動へと転移する。寒天濃度・湿度・温度といった基本的なパラメータを網羅的に調べることによって、渦形成の再現性にもっとも影響する条件が、バクテリアが広がる際の環境温度（わずか 1°C の温度差で渦が形成されなくなる）、および安定した湿度であることが見いだされた。寒天乾燥時の条件を変えることで土台の固さを変えることができるが、これは渦形成の可否を決定的には決めず、むしろ 1 個の渦の最終的なサイズに影響する。

【安定した記録システムの構築】 上述の安定した条件を維持した状態で、1 個体の運動がどういった過程を経て集団運動へと導かれるのか、それを同一視野で長時間観察することが次の課題となった。特に温度を維持するための恒温装置は生化学において一般的に市販されているものの、この性能を顕微鏡に実装するとなると合計で 10,000 千円近いシステムが新たに必要である。現有の温度コントローラー設備に、長時間観察用の新たな顕微鏡装置を組み合わせ（Nikon 社、パーフェクトフォーカスシステム）、低倍率の位相差顕微鏡用対物レンズと広視野の CMOS カメラによって記録システムを完成させた。調整をしながらシステムを動作させた結果、 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ の温度制御をおこないながら、 $4 \times 4 \text{ mm}$ の範囲を運動するバクテリアについて、36 時間安定してデータを取得することに成功した。

【*M. mobile* ゴーストモデルのステップ状運動】 同じ滑走運動を行う別種の細菌である *Mycoplasma mobile* (図 2) について、高精度に単一 1 バクテリア個体を追跡する技術を用いることによって、ステップ状の運動を観察することに成功した (図 3)。研究代表者の研究室に所属する木下佳昭氏 (博士課程後期) が中心になって行われた研究であり、この成果は原著論文として発表された (参考文献 (1))。

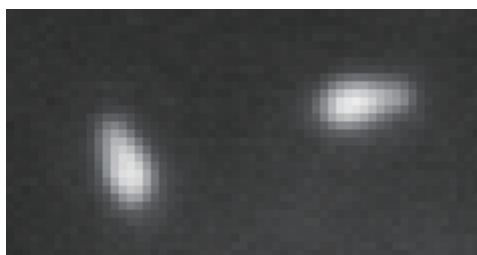


図 2: バクテリア *M. mobile* の暗視野顕微鏡写真。大きさは $\sim 1 \mu\text{m}$ 。フラスコ型であり、基板上的シアル酸を表面に持つタンパク質に結合・解離を繰り返しながら、突出した側に滑走すると考えられている。

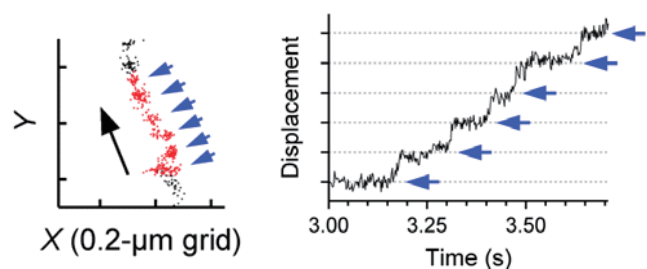


図 3: *M. mobile* のゴーストモデルの運動を詳細に解析した例。とびとびの運動をし (左)、時間と共に決まった距離をステップしていることが分かる (右、青矢印)。この例ではグリッドの大きさは 60 nm 。原著論文(1)において、ステップサイズの値は 70 nm と結論づけている。

参考文献:

- (1) “Unitary step of gliding machinery in *Mycoplasma mobile*.” Y. Kinosita, D. Nakane, M. Sugawa, T. Masaike, K. Mizutani, M. Miyata and T. Nishizaka *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **111**, 8601-8606 (2014)