

学習院大学理学部

西坂 崇之

学習院大学理学部

中根 大介

情報通信研究機構未来 ICT 研究所

大岩 和弘

多くの微小生物は、自身の生存に最適な環境を探すために、水中もしくは基板上を移動する能力を有する。移動を実現するための運動装置や様式は多岐にわたり、生体運動の研究は生物学のみならず物理学や進化の視点からも重要なトピックとなっている。本課題では、①分子レベルでのモーターの駆動メカニズムと、②バクテリアの集団が生み出す特徴的な振舞いについて、生物物理学の技術を駆使して明らかにしていく。研究の特徴的なアプローチは、本グループで開発した独自の光学顕微鏡技術を応用するという点であり、これまでに画像化が困難であった単一モーターの機能の可視化や、微細な運動の定量的な検出を試みる。

【I モーターの駆動メカニズム】 本課題で注目しているのは4つのモーターであり、どれも研究対象として独自性が極めて高い。以下に上げる2つの回転モーター、形状転移伝搬モーター、伸長モーターである。真核生物で広く研究対象となっているリニアモーター（ミオシンやキネシン等）と比べ、その動作原理は未解明であり、エネルギー源そのものについてもまだ謎の部分が残されている。

(I-1) F<sub>1</sub>-ATPase. ほとんどすべての生物に共通する蛋白質である ATP 合成酵素の一部分であり、分子量 35 万のタンパク質複合体が高効率の回転モーターとして機能するという点で注目されている研究対象である。一方向の回転を生み出すのは、ATP の加水分解によって生み出されるエンジン部分の特徴的な構造変化だと理解されており、当グループでは、この構造変化をヘリックス（アミノ酸の特徴的な連なり）レベルで理解する研究を進めている。2008 年に報告した構造変化に加え、新しい構造変化の様相が検出され、学会で報告した（第 54 回 日本生物物理学会年会）。

(I-2) アーキアモーター. アーキアは古細菌あるいは始原菌とも呼ばれ、細菌・真核生物とは異なる第 3 の生物として分類されている。火山や温泉などの極限環境で発見され、運動能を維持したままの生育の難しさからモーターの研究はほとんど進んでいなかった。当グループは、高度高塩菌ハロバクテリウムサリナラムをモデル生物とし、アーキアのべん毛（アーキアラ）の形状とらせん構造、その回転数、さらにはアーキアモーターの性質を顕微鏡下で徹底的に精査し、その性質を明らかにすることに成功した。バクテリアのべん毛とは異なり、アーキアラは ATP で駆動するモーターだということが他のグループの最新の研究から提唱されている。この特徴的なモーターのステップ状回転から、エネルギー効率を見積もることに世界で初めて成功した。原著論文として報告し<sup>1</sup>、報道でも紹介された。またこの研究を中心になって進めた木下佳昭氏（博士課程）は『第 7 回 日本学術振興会 育志賞』を受賞した。

(I-3) Spiroplasma モーター. *Spiroplasma* は昆虫や植物に寄生するバクテリアであり、細胞全体がらせん形状を取る。驚くべきことに、この形状は一定ではない。そのらせんの向きをダ

イナミックに変化させることで推進力を生み出すという、興味深い戦略を *Spiroplasma* は取っていると考えられている。2つのらせんの連結点（キック）が細胞上で伝搬すると、ねじれからくる形状のエネルギーを回転によって解消しようと、キックの前後で2つのらせんは逆方向に回転する。らせん構造の回転は安定した推進力を生み出し、これによって *Spiroplasma* は一方向に遊泳するというモデルが提唱されている。本グループでは、まず細胞のらせんの向きを決定する実験条件を確立し、さらに運動を阻害してらせんを細胞全長にわたって固定する方法を編み出した。これらの系を組み合わせることで、*Spiroplasma* モーターの役割は単純な形状転移の伝搬の誘発のみで十分であり、伝搬そのものは行わないこと、また誘発にはおそらくエネルギーを必要としない事を示すことができた（第54回 日本生物物理学会年会で報告）。

**(I-4) シアノバクテリアの線毛伸長モーター.** 一部の細菌は線毛と呼ばれる突起物を持ち、これを伸長させて基板に吸着、さらに手繰り寄せることで前進する。複数の線毛の出す力や構造については詳細な研究がなされてきたが、一方向に伸長させる制御機構や光応答のメカニズムについてはまったく分かっていなかった。我々のグループは、局所的な光照射と精密な細胞のトラッキング技術によって、モデル生物 *Synechocystis* sp. PCC6803 の走化性の本質を明らかにすることに成功した（第54回 日本生物物理学会年会で報告）。

**【II バクテリアの集団運動の解明】** フラボバクテリウム・ジョンソニエという細菌は、集団で運動する際、ミリスケールの渦を自発的に形成することを我々は見出している。マイクロオーダーの大きさの個体が集団として動き、しかも渦は「例外なく」左回りに回転する。この現象の本質を解明すべく、制限のない一個体の運動にどのような特徴があるのかを定量的に明らかにする方法論の構築を目指した。

**(I-1) 細胞個体の画像処理方法の確立.** 滑走運動を記録した画像に対し、棒状の細胞の位相差像の位置と角度を精度良く決定する方法を検討し、確立した。従来の高精度トラッキング技術では、粒子や細胞の蛍光像を2次元のガウス関数で近似するというアプローチ<sup>2</sup>が取られていたが、長軸に沿った複数のシグモイド関数を組み合わせ、細長い形状を表現することに成功した。長さや両端の位置を恣意的な解釈を入れずに短時間で決定でき、定量的な解析が可能となった。

**(I-2) 個体トラッキングのアルゴリズム.** 連続する記録画像に対し、細胞の位置と角度の時間発展を低コストで解析できるアルゴリズムを作成した。位置の平均と二乗変位の時間発展について、飢餓状態と富栄養状態で比較し、飢餓状態の方が優位に高い運動能を示すことが明らかになった。今後は角度変化のバイアスについて検討し、左回り回転の基礎となる仕組みを個体レベルの運動から明らかにする。

- (1) Y. Kinoshita, N. Uchida, D. Nakane, T. Nishizaka, *Nat. Microbiol.* **1**, 16148 (2016).
- (2) Y. Kinoshita, D. Nakane, M. Sugawa, T. Masaike, K. Mizutani, M. Miyata, T. Nishizaka, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **111**, 8601-8606 (2014).