

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

ほぼすべての微生物は運動する機能を持ち、生存のため適した環境に移動する手段として、その機能を巧みに用いている。バクテリア（真正細菌、bacteria）とアーキア（古細菌あるいは始原菌、archaea）は、真核生物で知られている従来の分子モーターとは異なった多様な運動装置を有しており、生物学のみならず、それらの未知の動作原理は物理の視点からも注目すべき研究対象となっている。

我々のグループでは、広く知られているべん毛回転モーターとは異なり、ユニークな運動装置を持つ幾つもの種を培養して研究を進めている。独自に開発した先進的な光学顕微鏡を駆使し、モーターという観点から装置の動作メカニズムについて明らかにすることを目的としている。本課題では、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、微生物の様々な新しい運動様式を発見し、詳細に解析した。ステップ状の運動から集団運動に至るまで、この2年間の成果の概要について以下に記す。

1. *Mycoplasma mobile* のゴーストモデルによるステップ状運動

Mycoplasma mobile（以下 *M. mobile*）は遊泳能を持たず、基板の上を一方方向に滑走運動を行う。その滑走速度はバクテリアの中で最大であり、運動に関与するタンパク質は同定されているものの、基本的な動作原理は仮説の域を出ていない。

膜を部分的に透過性にしたゴーストモデルに、高精度の位置検出顕微鏡を応用することで、*M. mobile* の滑走装置は 70 nm の変位を行いながら運動を実現していることを明らかにした（参考文献 (1)）。バクテリアの運動装置におけるステップ状運動を観察したのは、べん毛回転モーターの報告に引き続き 2 例目である。

観測されたステップの大きさ自体は、「巨大な脚状タンパク質の屈曲による運動」に矛盾はしないものの、既に報告のあるタンパク質の柔軟性を考えると、繰り返し正確なステップを行う機構がまったく説明できないことになる。新しいモデルとして、膜内にある回転モーターが別のタンパク質の回転を誘起し、その運動が未知の機構により直線運動へと変換される「回転⇔並進 変換モデル」を提案している。

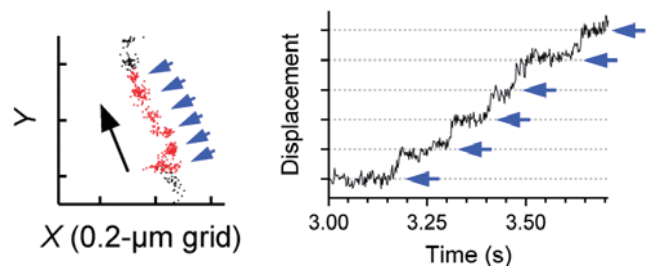


図 1: *M. mobile* のゴーストモデルの運動を詳細に解析した例. とびとびの運動をし (左)、時間と共に決まった距離をステップしていることが分かる (右、青矢印). この例ではグリッドの大きさは 60 nm. 原著論文(1)において、ステップサイズの値は 70 nm と結論づけている。

2. 超解像顕微鏡による *M. mobile* の詳細な運動の定量化

基板表面に可視光の波長より小さい金属のパターンを蒸着し、そこに全反射照明を行うことで、表面近傍に「異常光学透過 (EOT)」という特徴的な電磁波の分布を作ることができる。EOT の分布は、AFM や電子顕微鏡で決定したパターンの構造と、詳細なシミュレーションを組み合わせることにより推定できる。この分布を参照パターン (kernel) とし、一定速度で運動する蛍光バクテリアからのシグナルを kernel で再構成することによって、滑走中のバクテリア (*M. mobile*) の位置を 3 次元的に高精度で決定する新しい実験方法を提案した (参考文献(2))。

3. *Flavobacterium johnsoniae* の集団運動

桿菌である *Flavobacterium johnsoniae* (以下 *F. johnsoniae*) も *M. mobile* 同様、基板の上で滑走運動を行うが、その運動機構はまったく異なる仮説が提唱されている。細胞表面から突き出た接着タンパク質がらせん状に配置したレールの上を動き、この流れが細胞全体の一方方向の運動を生み出すと考えている (参考文献(3))。我々は *F. johnsoniae* が飢餓状態において、特徴的な渦運動を生み出すことを見出し、研究機関の初年度に基本的なデータの収集を終えた。次年度ではこの機構を解明するため、渦の形成過程を長時間にわたり安定して記録するシステムの構築に成功した。

4. アーキア回転モーターのステップ状回転

アーキアの遊泳運動の研究は、試料調製の難しさからバクテリアと比べ未踏の領域であると言える。我々は *Hanobacterium salinarum* を対象として、再現性良く運動を観察する実験系の構築に成功した。さらに ATP 駆動によるモーターのステップ状運動の計測にも成功した。この結果については生物物理学会のシンポジウム、および *Pacificchem 2015* において招待講演として発表し、まだ原著論文は発表されていないものの既に高い評価を得ている。

参考文献:

- (1) “Unitary step of gliding machinery in *Mycoplasma mobile*.” Y. Kinoshita, D. Nakane, M. Sugawa, T. Masaike, K. Mizutani, M. Miyata and T. Nishizaka, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **111**, 8601-8606 (2014).
- (2) “Three-Dimensional Superlocalization Imaging of Gliding *Mycoplasma mobile* by Extraordinary Light Transmission through Arrayed Nanoholes.” W. Lee, Y. Kinoshita, Y. Oh, N. Mikami, H. Yang, M. Miyata, T. Nishizaka and D. Kim, *PACS Nano* **9**, 10896-10908 (2015).
- (3) “Helical flow of surface protein required for bacterial gliding motility.” D. Nakane, K. Sato, H. Wada, M.J. McBride and K. Nakayama, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110**, 11145-50 (2013).