

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。本研究課題では、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きた。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に成功した。以下では4年間にわたり本領域に関連して原著論文として発表した成果と、今後の1年間で学術誌に投稿する研究の成果についてまとめる。

【I モーターの駆動メカニズム】 本課題で注目したのは5つのモーターであり、どれも研究対象として国際的に見ても独自性が極めて高い。3つの回転モーター、形状転移伝搬モーター、そして伸長モーターである。真核生物で広く研究対象となってきたリニアモーター（ミオシンやキネシン等）と比べ、モーターの動作原理は未解明な部分が多く、特に形状転移伝搬モーターについては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) F1-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、1 分子レベルでの構造変化を蛍光エネルギー共鳴移動で捉えることに成功した<sup>1</sup>。

(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<sup>2</sup>。

(I-3) バクテリアべん毛の新しい形態. バクテリアべん毛はプロトンで駆動し、細胞本体から突き出たスクリュー様の構造であるべん毛を回転させて推進力を発生する。害虫カメムシの共生細菌において、べん毛繊維を菌体に巻き付けて遊泳するというべん毛運動を発見した<sup>3</sup>。この特異なべん毛運動を示す細菌は、ガラス表面に捕らわれることがなかったことから、基質表面上での効果的な運動であることが推察される。

(I-4) 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く、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運動メカニズムが提案され

ている。2つのらせんの連結点（キルク）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、キルクの前後で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可能性がある。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-5) 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<sup>4</sup>。この成果は報道でも大きく紹介された（朝日新聞など）。

**【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、棹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>5</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方向に研究を発展させる。

#### 参考文献：

1. Sugawa, M., K. Okazaki, M. Kobayashi, T. Matsui, G. Hummer, T. Masaike, and T. Nishizaka. *Proc Natl Acad Sci USA* 113, E2916-24 (2016)
2. Kinoshita, Y., N. Uchida, D. Nakane, and T. Nishizaka. *Nat. Microbiol.* 1, 16148 (2016)
3. Kinoshita, Y., Y. Kikuchi, N. Mikami, D. Nakane, and T. Nishizaka. *ISME J* 12, 838-48 (2018)
4. Nakane, D., and T. Nishizaka. *Proc Natl Acad Sci USA* 114, 6593-98 (2017)
5. Kinoshita, Y., D. Nakane, M. Sugawa, T. Masaike, K. Mizutani, M. Miyata, and T. Nishizaka. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 8601-6 (2014)