

《まえがき》

粘性抵抗力が大きいほど高速で遊泳するスピロヘータの運動メカニズムの解明

Study on the Motion of Spirochete Whose Swimming Speed Increases with Viscosity

(日本生物物理学会推薦)

(独) 食品総合研究所 曲山幸生

National Food Research Institute Yukio Magariyama

《英文サマリー》

It is known that the swimming speed of spirochete increases with the viscosity. Such phenomena cannot be observed in the macroscopic world. Traditional theories have predicted that the swimming speed of a bacterial cell monotonously decreases with the viscosity. I have previously proposed a hypothesis that the motion efficiency increases with the viscosity because of a quasi-rigid network formed by the polymer molecules (skating-bacteria hypothesis). This hypothesis has successfully explained the motion property of externally flagellated bacteria in viscous environments. I consider that the skating-bacteria hypothesis is also valid for the motion of spirochete. Simultaneous measurement of the swimming speeds and rotation rates of spirochete cells is required for experimental examination of the hypothesis. I developed two-directional-illuminated

dark-field microscopy (2DDM). The image of a spirochete cell obtained by 2DDM was colored with green or red depending on the direction of its cell segment. That image allowed me to determine the center and rotational phase of the cell. In other words, I could simultaneously determine the swimming speed and rotation rate of a spirochete cell from the 2DDM movie. The preliminary result using *Brachyspira pilosicoli* suggested the validity of the hypothesis.

《本文》

研究目的

細菌を最小の自立走行ロボットとして見ると、エンジニアにとって興味深い現象やメカニズムが多くある。例えば、走行システムを構成する極微の生体分子機械、それらを協調的に動作させるための制御アルゴリズム、などである。この研究の対象である細菌運動に特有の力学現象もその中のひとつである。

スピロヘータはらせん状の菌体を持つ運動性細菌である。通常の運動性細菌は菌体外にべん毛が出ているが、スピロヘータは菌体内にある（ペリプラズムべん毛）。この特殊な形態のためか、スピロヘータは粘性が高い環境ほど運動性が向上するという信じがたい現象が知られている (Fig. 1; Kaiser & Doetsch, 1975, Nature)。この現象が引き起こされるメカニズムが明らかになれば、高粘性流体中での運動機械の設計に応用できるかもしれない。

私は、粘性を生み出す高分子の存在に着目し、線状高分子が形成するネットワークが細菌運動に及ぼす影響を定式化することに成功した (Fig. 2; Magariyama & Kudo, 2002, Biophys. J.)。ここでは、この仮説を「スケーティングバクテリア仮説」と呼ぶ。スケーティングバクテリア仮説は、高分子ネットワークの影響を受ける運動と無関係な運動に分けて考えることに特徴があ

る。物体の運動に対して高分子ネットワークの運動は十分に遅いと仮定すると、例えば球の回転運動はネットワークの影響を受けないので、高分子を含まない液体中の運動と同じである。一方、球の並進運動はネットワークの影響を受ける。そこで、それぞれに固有の見かけの粘度を設定し、ふたつの運動の重ねあわせとして粘性溶液中の細菌運動を定式化した。スケーティングバクテリア仮説を単べん毛細菌の運動モデルに適用すると、遊泳速度と粘度の関係をよく説明できた(Fig. 3)。また、高粘度になると、遊泳速度/べん毛回転数 (v - f ratio) が上昇すると予想された。 v - f ratio は、らせん形のべん毛が1回転する間に細胞が進む距離を表しているので、細菌運動システムの運動効率であると言ってもよい。

スケーティングバクテリア仮説が正しければスピロヘータでも高粘性環境で運動効率の上昇が見られると考えられる。この研究では、スピロヘータの遊泳速度と菌体回転数を同時に測定する計測システムを開発し、高粘性環境中のスピロヘータの運動効率を解析することを目的とした。

研究経過

1. 2方向照明暗視野顕微鏡法の開発

細長い微小物体に1方向から照明すると物体の向きによって散乱光の強さが変化する。この原理を利用したのがレーザー暗視野顕微鏡である(Kudo et al., 1990, Nature)。この研究では、波長の異なる2本の直交する照明光(例えば、緑色と赤色)を導入し、細胞が菌体波形の位相によって色分けされるようにした2方向照明暗視野顕微鏡法を開発した。両方の波長の画像から各細胞の重心位置が求められる。重心位置の情報がわかれば、重心位置の一方の波長に関する輝度から菌体らせんの位相を求め、これらの時間変化のデータ(遊泳軌跡、Fig. 4; 輝度変化、Fig. 5)から、遊泳速度と菌体らせん回転数を同時に測定することができる。この原理を実現するために、4分割光学フィルターを製作し、通常暗視野顕微鏡の暗視野コンデンサーの下にこのフィルターを設置した。

2. 測定結果

現在、運動性が高く大型なブタ腸管スピロヘータ *Brachyspira pilosicoli* を使用し、2方向照明暗視野顕微鏡法で測定をおこなっている。Fig. 6は線状高分

子 polyvinylpyrrolidone (PVP) 溶液中の *B. pilosicoli* の運動を測定し、 v - f ratio を求めた結果である。スケーティングバクテリア仮説が予想しているように、粘度が上がると運動効率 (v - f ratio) も上昇する傾向が見られた。

考察

今後、高分子濃度と粘度の関係を測定し、各濃度間で運動効率に有意な差があるかどうかを統計的に検討する。さらに、形状の異なる他のスピロヘータ、別の種類の高分子を用いた測定をおこない、スケーティングバクテリア仮説の妥当性を検証し、理論の厳密化・拡張に取り組む予定である。

研究発表

口頭発表

1. 曲山幸生、中村修一、足立吉数 ; 「スピロヘータの遊泳速度と菌体らせん回転数の同時測定法の開発」、日本生物物理学会 (京都、2004)

《図》

*このままの寸法で掲載することを希望します。

*場所はどこでも結構です。

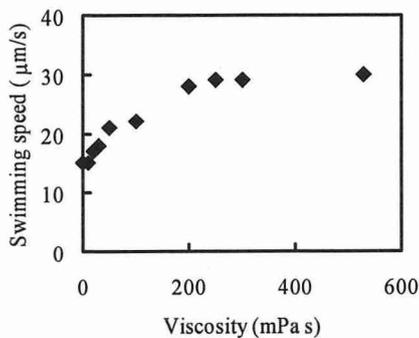


Fig. 1 Swimming speed of *Leptospira interrogans* in methylcellulose solutions.

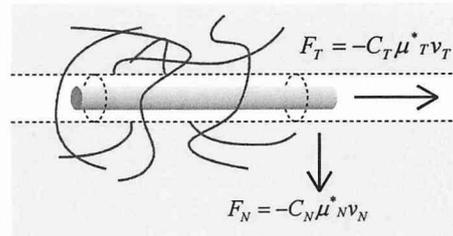


Fig. 2 Schematic drawing illustrating the concept of the skating-bacteria hypothesis.

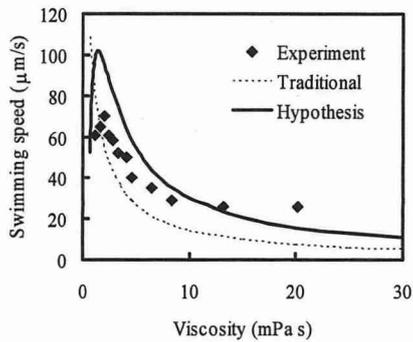


Fig. 3 Swimming speeds of a externally flagellated bacterial cell in viscous environments. "Experiment," "Traditional," and "Hypothesis" refer to an experimental result (Schneider & Doetsch, 1974, J. Bacteriol.), a prediction by a traditional theory (resistive force theory), and a prediction by the skating-bacteria hypothesis, respectively.

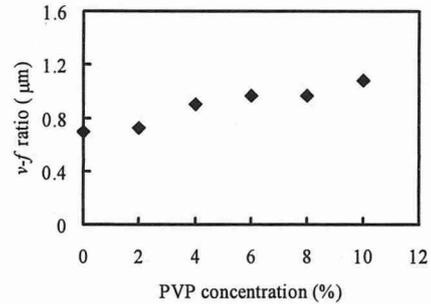


Fig. 6 v - f ratios of of *B. pilosicoli* in PVP solutions.

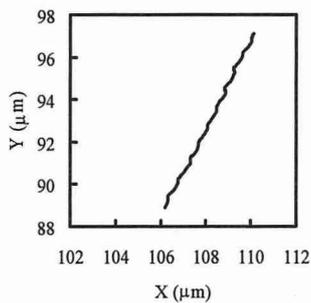


Fig. 4 A swimming trajectory of *B. pilosicoli* obtained by two-directional-illuminated dark-field microscopy.

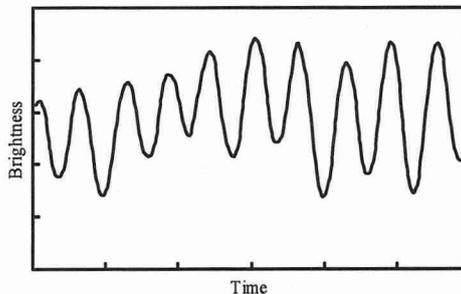


Fig. 5 A change in rotational phase of *B. pilosicoli* obtained by two-directional-illuminated dark-field microscopy.