

氏名	フクシマ シュンイチ 福島 俊一
所属	理工学研究科 生命科学専攻
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	理工博 第199号
学位授与の日付	平成28年3月25日
課程・論文の別	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	糸状性滑走運動細菌 <i>Chloroflexus aggregans</i> の運動様式の解明 (英文)
論文審査委員	主査 准教授 春田 伸 委員 教授 松浦 克美 委員 教授 花田 智 委員 准教授 得平 茂樹

### 【論文の内容の要旨】

#### 本文

細菌は様々な外的環境の変化に応答して生残している。応答反応の代表的な例が運動である。好熱性酸素非発生型光合成細菌 *Chloroflexus aggregans* は、長さ  $3\mu\text{m}$  程度の桿状細胞が直列に連なった数十～数百  $\mu\text{m}$  の糸状性細菌で、固体表面を直線的に動く滑走運動を行う。本菌は進化的に古い *Chloroflexi* 門に属し、滑走運動速度は  $3\mu\text{m}/\text{sec}$  と、滑走細菌のなかでも速い細菌である。滑走運動は細菌界に広く見られるが、*Chloroflexi* 門に属する糸状性細菌の運動機構に関する研究はなく、運動器官だけでなく、糸状体が直線的に動く機構や運動方向を決定する因子もわかっていない。本研究では、*C. aggregans* の滑走運動様式を明らかにすることを目的とした。

*C. aggregans* は光合成だけでなく好気呼吸でも生育できる。そこで本菌の酸素への運動性を評価した。本菌の細胞を酸化還元指示薬入りの軟寒天培地に混釈し、大気気相、 $55^{\circ}\text{C}$ 、暗条件で培養した。培養後すぐに、培地の上下が明確な境界を伴って好気領域と嫌気領域に分かれた。培地の深さごとに吸光度を経時的に測定し、菌体量の変化を観察した。結果、嫌気と好気の境界付近において、嫌気領域の菌体量の減少とそれに伴う好気領域の菌体量の増加が観察された。以上の結果から、本菌は酸素濃度に応答し、嫌気環境から好気環境へ移動する性質（正の走気性）を持つことが明らかになった。

*C. aggregans* の細胞運動に関わる表面構造を同定するため、高速原子間力顕微鏡を用いて細胞表面を観察したところ、糸状体の長軸に沿った複数の筋状構造があり、さらに直径

約 10 nm の可動性の粒子様構造を見出すことができた。滑走運動に関与しうる細胞表面の動きを捉えるため、細胞懸濁液にガラスビーズ（直径約  $1\mu\text{m}$ ）を添加し、細胞表面に付着したガラスビーズの動きを顕微鏡観察した。付着したガラスビーズが、糸状体の滑走運動と同程度の速さで、細胞に沿って動く様子が再現的に観察できた。付着したガラスビーズは、 $3\mu\text{m}$  程度進んでは、その進行方向を反転させることを繰り返した。また同一糸状体中に付着した異なるガラスビーズが、同時に別の方向に移動する様子も観察された。

*C. aggregans* は滑走運動中に、移動方向を反転させる。55°C、光照射条件で、様々な長さの糸状体の運動を顕微鏡観察し、方向反転頻度と糸状体長の関係を調べた。長さ  $100\mu\text{m}$  以上の糸状体では、10 分間あたりの方向転換回数が 0-5 回であったのに対し、 $100\mu\text{m}$  以下の糸状体では回数に幅があり、1 回のものから多いものでは 16 回であった。

これら観察結果から、細胞表面の動きを 1 次元で考えた時に正方向運動、負方向運動、停止という 3 つの状態を持つとし、各状態にいる確率を状態遷移確率を用いて記述した。糸状体中の各細胞表面の動きと糸状体全体の運動方向との関係について、次の二つの仮説を立て状態遷移モデル化した。仮説 A、細胞表面の運動方向の総和が糸状体の運動方向となる；仮説 B、細胞表面の運動方向の総和が糸状体の運動方向となるが、滑走方向と逆向きの細胞運動は滑走に影響しない。モンテカルロ法を用いたシミュレーションの結果、糸状体長と方向転換頻度の関係が上述した観察結果と合致するのは仮説 B であった。またシミュレーション解析により、仮説 B のもとでは、同一長の糸状体において、各細胞運動の状態遷移確率に依存して糸状体の方向転換頻度が変化した。

本研究によって、糸状体の長軸方向に動く約  $3\mu\text{m}$  単位の表面運動あることが明らかになり、この個々の動きは糸状体の滑走速度と同程度であり、直線的な滑走運動を可能にしていると考えられた。シミュレーション結果より、糸状体の運動方向は、各細胞の運動状態の切り替えによって制御されている可能性が示唆された。本研究で明らかにした *C. aggregans* の正の走気性は、各細胞が酸素濃度に応答することで糸状体全体の運動を制御することで行われている可能性が考えられる。

本研究は、これまで全く不明であった糸状性細菌の滑走運動の運動器官と方向決定機構を提案した最初の報告であり、個々の独立した細胞運動によって説明されるこれらの機構は、他の多くの糸状性細菌にも広く保存されている可能性が考えられる。