

報道機関 各位

国立大学法人 電気通信大学

## キャタピラのように動く細菌の運動メカニズムを解明

### 【ポイント】

- \* バクテロイデーテス門に属する細菌がマルチレール構造を菌体表面に持つことを発見
- \* 同構造によりキャタピラのように運動することが明らかになった
- \* 感染症の抑制や抗生剤の開発につながると期待される

### 【概要】

電気通信大学大学院情報理工学研究科基盤理工学専攻の中根大介助教らの研究グループは、ヒトの腸内などに数多く存在するバクテロイデーテス門<sup>[1]</sup>に属する細菌が、その表層に複数の滑走路を持つ「マルチレール構造」があり、それを使ってキャタピラのように運動することを明らかにしました。これらの細菌の中には、感染を引き起こす種も知られているため、この運動機構を標的にすることで感染症の抑制や抗生剤などの開発につながると期待されます。

バクテロイデーテス門細菌が滑走運動することは知られていましたが、環境中の固体に付着したバクテロイデーテス門細菌の菌体表面に存在する多数の付着繊維状タンパク質 (SprB)<sup>[2]</sup>がどのように動いてスムーズな滑走運動を生み出しているかというメカニズムや、その運動機構は分かっていませんでした。

今回、研究グループは、バクテロイデーテス門細菌の菌体表面の SprB 分子の動きを解析し、SprB が菌体表面を左巻きのらせんループに沿って動くことを発見しました。さらに、菌体は SprB の左巻きらせんループ状の動きを反映し、反時計回りに回転しながら滑走運動していることを明らかにしました。この運動は、ブルドーザーのようなキャタピラを装着した車両が、左右どちらかのキャタピラを止めてもう一方を回転させながら方向転換する信地旋回の動きに似ています。

細菌がどのような仕組みで運動しているのかが解明できれば、これを抑制することで感染症の抑制などが期待されます。また、細菌が持つ極小の運動機構は将来、ナノマシンとして応用できる可能性も考えられます。

本研究は鳥取大学の柴田敏史講師、長崎大学の中山浩次名誉教授らと共同で行いました。成果は国際学術誌である Communications Biology 誌に掲載されました。

### 【背景】

ヒトを含め、生物は動くことでより良い環境を見つけ出し、増殖してその生存範囲を広げていきます。顕微鏡でようやく見ることのできる数マイクロメートル（マイクロは100万分の1）サイズの細菌も、さまざまな運動機構を駆使して動作しています。病原性細菌においては、細菌の運動が感染の過程で重要な役割を果たします。

バクテロイデーテス門に属する細菌は、ヒトの細菌叢（さいきんそう）における主要な構成菌であり、その中で滑走運動する種は、ヒトの歯周病や犬猫の咬み傷を発端とする「カプノサイトファ

「一ガ感染症」の原因にもなります。また、魚に感染する種は水産業に甚大な被害を及ぼします。細菌がどのような仕組みで運動しているかを解明し、それを抑制できれば、感染症の阻止などにつながるほか、細菌が持つ極小の運動機構は将来ナノマシンとして応用できる可能性もあります。

バクテロイデーテス門細菌は組織やガラスなど環境中の固体に付着し、その表面で行ったり来たりしたり（スイッチバック）、立ち上がって向きを変えたりする（フリッピング、ピボットティング）動きを組み合わせ、約1～5 μm/秒の速さで滑走運動を行います（図1a）。一方、大腸菌などが得意とする液体中での遊泳運動はできません。

細菌の運動はべん毛による遊泳運動やIV型線毛によるトゥイッチング運動、マイコプラズマや粘液細菌が行う滑走運動などさまざまな機構が知られていますが、バクテロイデーテス門細菌の滑走運動は、遺伝学的解析からそれらと異なる独自の運動機構を持つことが知られています。

バクテロイデーテス門に属する *Flavobacterium johnsoniae*（ジョンソニエ菌）は、滑走運動の分子メカニズムを解明するためのモデル細菌としてよく研究され、滑走運動に関与する Gld タンパク質群や Spr タンパク質群が滑走運動に関わることが明らかになっています。このような滑走関連タンパク質がどのように機能して滑走運動装置を形成するのか、さらにどのように滑走運動装置が動き、菌体が滑走するのかといった滑走運動機構の解明に向けた研究が長年行われてきました。

中根助教らの研究グループは、これまで滑走運動関連タンパク質がタンパク質を分泌する IX 型分泌機構（T9SS）を兼ねることを突き止めたほか、ジョンソニエ菌の菌体表面の付着性分子である 6,497 個のアミノ酸からなる付着性繊維状タンパク質 SprB（図1b）が、細菌の滑走運動の速度と同程度の速さでキャタピラのように菌体表面を旋回運動し、菌体を押し出して滑走する「らせんループ軌道」のモデルなどを提案してきました。しかしながら、数百分子にわたる多数の SprB が菌体上で滞りなく動き、スムーズで多様な滑走運動パターンを生み出すその滑走運動装置の構造やメカニズムは明らかになっていませんでした。

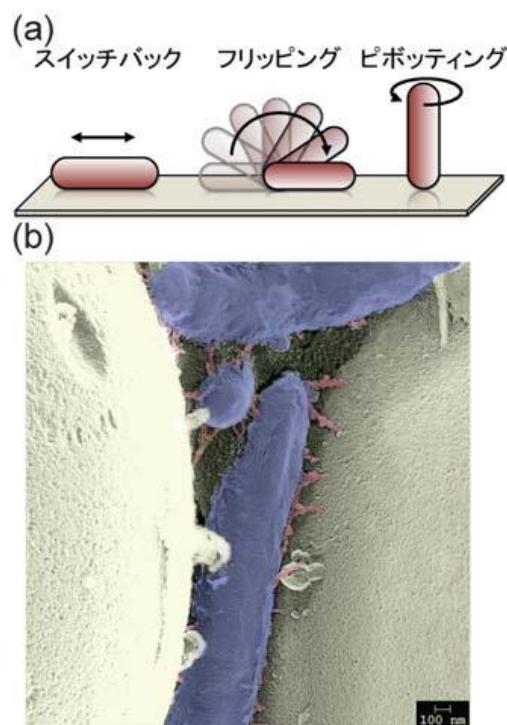


図1 バクテロイデーテス細菌の滑走運動様式とキャタピラとして機能する SprB

(a) 固体表面を滑走する菌体は多様な動きを組み合わせ方向を変えながら移動する

(b) 菌体表面の繊維状 SprB（赤）と菌体表面を動く SprB が固体表面に付着すると、菌体（紫）を押し出して滑走する。電子顕微鏡写真を擬似的に着色した

## 【手法】

今回の研究では、まず菌体表面の SprB 分子の動きと、それによって推進され滑走する菌体の動きを解析しました。SprB 分子は菌体表面に多数存在するため、その中で 1、2 個の分子を限定的に免疫蛍光染色して長時間追跡したり、菌体表面に露出して固定された膜タンパク質 (Fjoh\_0697) を免疫蛍光染色してその動きを追跡し、菌体の動きを解析したりといった工夫を凝らしました (図 2)。

解析の結果、SprB はらせんループ軌道モデルと一致し、菌体表面を左巻きらせんループに沿って動くことが分かりました。さらに、SprB の中には、途中でスピードが変化するもの、遅い速度で動く SprB を追い抜くもの、ループの途中で U ターンするものなどが観察できました。

一方、菌体は SprB の左巻きらせんループ状の動きを反映し、進行方向に向かって反時計回りに回転しながら滑走運動していることが分かりました。滑走する菌体の動きと SprB の動きの関係性をみると、それらは相関性が弱く、固体面に接着した一部の SprB が菌体を推進させていることも判明しました。これらのことから、SprB は菌体表面で回転寿司の皿のような単純な周回運動はしていないことが明らかになりました。

そこで、らせんループ軌道に複数のレールが存在すれば、複雑な SprB の動きが説明できるかもしれないと考え、そのような動きを生み出す滑走装置が菌体内に存在するかどうかを確認するために滑走装置の可視化を試みました。

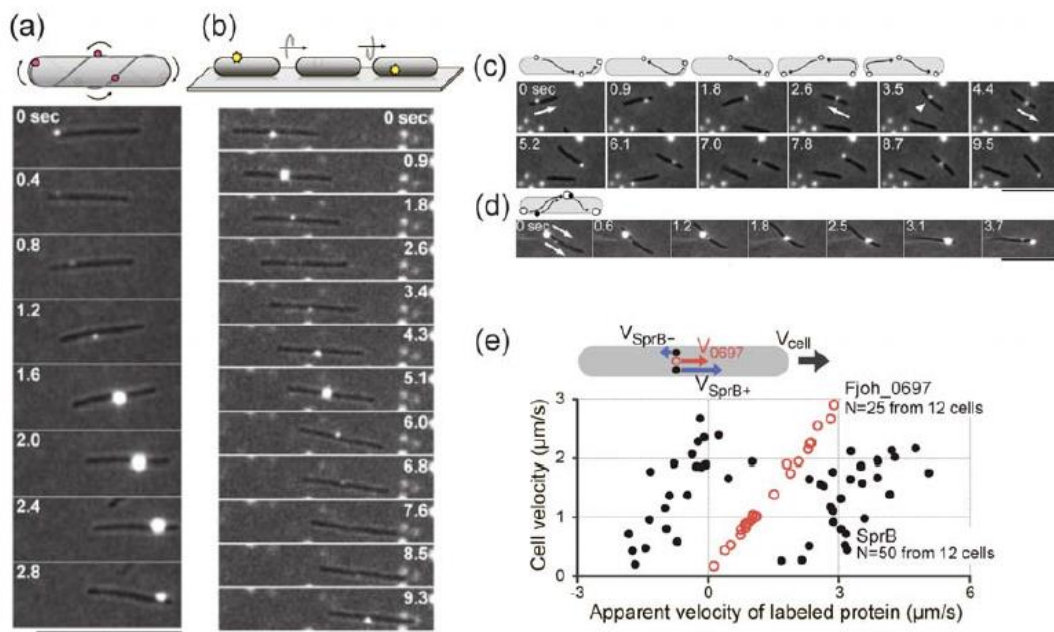


図 2 菌体表面の SprB と滑走する菌体の動き

(a) SprB は菌体表面上を左巻きらせんループに沿って循環している

(b) 菌体表面で固定された Fjoh\_0697 を蛍光標識して観察すると、菌体上で輝点の位置は変化しないまま、進行方向に向かって反時計回りに回転することが観察できた。つまり菌体は回転しながら滑走していることが判明した

(c) 循環の途中で U ターンする 2.6 秒後と 4.4 秒後で SprB の進行方向が変わる (矢印)

(d) SprB の追い越し。早く動く大きい SprB 輝点が、ゆっくり動く小さい SprB 輝点を追い越す。全反射照明蛍光顕微鏡を用いると“らせん”の巻き方向や回転の向きが判別できる

(e) 滑走する菌体と SprB の動きとの関係。SprB (黒丸) と Fjho\_0697 (赤丸) の見た目の移動速度 (横軸) と菌体の滑走速度 (縦軸) の関係性を示した。Fjho\_0697 の見た目の速度は菌体の滑走速度と相関している。一方、SprB は動く速度にばらつきがあるためか、滑走速度との相関性が弱い (点が散在する)。ガラス面に付着して推進力を生み出している SprB は止まって見える。スケールバーの長さは10マイクロメートルを示す

滑走装置の可視化に向けて、浸透圧ショック法や急速凍結活断レプリカ法、クライオ電子線トモグラフィーなどさまざまな電子顕微鏡解析法<sup>[3]</sup>でジョンソニエ菌を観察すると、予想したように、菌体内にマルチレール構造の存在が明らかになりました。また、急速凍結活断レプリカ法で菌体を割って外膜の内側を見ると、複数のレールや、レールの合流点のような構造が観察できました (図3)。

また、菌体をそのままを立体的に観察できるクライオ電子線トモグラフィーにより、マルチレール構造が左巻きのらせん構造であることも判明しました。加えて、マルチレール構造は Gld タンパク質の欠損株で消失し、膜タンパク質 (GldJ) を認識する抗体が構造に反応することから、GldJ タンパク質から構成された構造であることも明らかになりました。マルチレール構造はジョンソニエ菌だけでなく、遠縁の海洋性バクテロイデーテス門細菌である *Saprospira grandis* (グランディイス菌) にも存在するため、バクテロイデーテス門細菌の滑走運動に関わる共通の構造であるといえます。

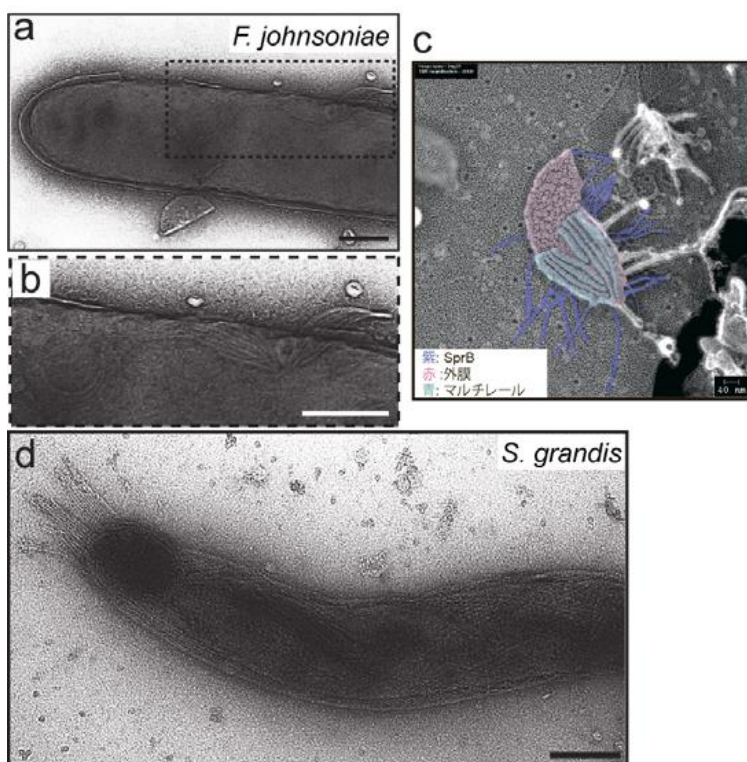


図3 電子顕微鏡で可視化された滑走運動装置

(a)ジョンソニエ菌の膜内で観察されたマルチレール構造。浸透圧ショック法により、細胞質を菌体から放出させると、菌体が透けて見える

(b) a の拡大像

(c)急速凍結活断レプリカ像。固体表面に付着した菌を急速凍結してナイフで割り、外膜の内側に存在するマルチレール構造と付随する SprB を観察した。マルチレール構造内のレールの合流点を見ることができた。色は擬似色

(d)グランディス菌のマルチレール構造。ジョンソニエと違い、菌体全面にマルチレール構造が見られる。a、b、d 内のスケールバーは 200 ナノメートル(ナノは10億分の1)を示す

### 【成果】

今回の研究で、さまざま速度で動く SprB を渋滞させずに循環させるだけでなく、レールチェンジなどにより SprB の軌道を変化させられる巧妙な構造を持つマルチレール構造が菌体内部に存在することが明らかになりました。このような滑走装置によって推進された菌体はさまざまな動きを伴って滑走し、より遠くへ移動できると考えられます(図4)。

細菌が動く様子は、動画で撮影することにも成功しています。

(<https://youtu.be/K-dQBUYJ5Bo?list=PLn2fsEo3erzzNm2dfi2yqWB13GvILjHzh>)

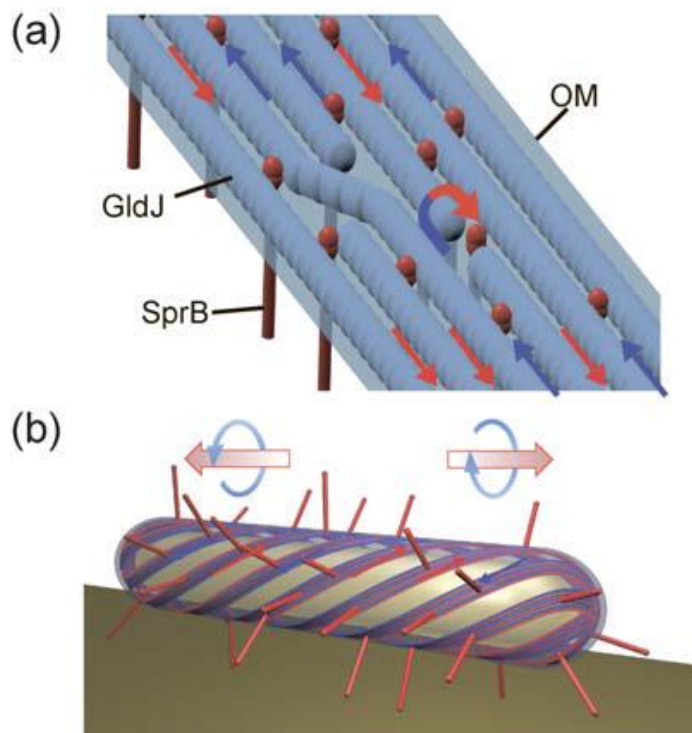


図4 マルチレール構造のモデル

(a)外膜(OM)内側にはGldJから構成されるマルチレール構造があり、それに沿ってSprBが動く。各レールでSprBが進む向きは決まっているが、レールの切れ目で車線変更やUターンすることができると考えられる

(b)菌体外膜内に左巻きらせんループ状のマルチレール構造が複数配置されているモデルを提案する。構造に沿って動くSprBが固体表面に付着すると、菌体を回転させながら押し出して滑走運動する。双方向に進むSprBがあるため、前後どちらへも滑走できる

### 【今後の期待】

バクテロイデーテス門細菌の中には、ヒトの歯周病や犬猫の咬み傷を発端とする「カプノサイトファーガ感染症」など、種々の感染を引き起こす種が知られています。魚に感染する種は水産業に甚大な被害を及ぼします。細菌がどのような仕組みで運動しているのかが解明できれば、これを抑

制することで感染症のまん延防止や抗生剤の開発などにつながるほか、細菌が持つ極小の運動機構は将来、ナノマシンとして応用できる可能性も期待されています。

#### (論文情報)

雑誌名：「Communications Biology」

論文タイトル：Filamentous Structures in the Cell Envelope are Associated with the Bacteroidetes Gliding Machinery

著者： Satoshi Shibata, Yuhei O. Tahara, Eisaku Katayama, Akihiro Kawamoto, Takayuki Kato, Yongtao Zhu, Daisuke Nakane, Keiichi Namba, Makoto Miyata, Mark J. McBride, and Koji Nakayama

DOI 番号：10.1038/s42003-023-04472-3

論文閲覧用 URL：https://doi.org/10.1038/s42003-023-04472-3

#### (外部資金情報)

本研究は日本学術振興会の新学術領域研究「運動超分子マシナリーが織りなす調和と多様性」JP24117006（平成24～28年度）および、JSPS 科研費 JP25293375、JP17K17085 の支援を受けて行いました。

#### (用語説明)

[1]バクテロイデーテス門：グラム陰性の細菌グループで、細菌の分類階級の1つ。腸内細菌叢の主要な構成菌であるが、海洋や土壌中にも存在する

[2]付着繊維状タンパク質 (SprB)：ジョンソニエ菌の表層に存在する巨大タンパク質で、150 ナノメートルほどの繊維構造をとる。組織やガラスなどの固体への付着を担う

[3]電子顕微鏡解析法：生体試料を観察する電子顕微鏡解析法には、浸透圧ショック法や急速凍結活断レプリカ法、クライオ電子線トモグラフィーなどさまざまな方法がある。浸透圧ショック法とは、細胞周囲の溶液濃度を急激に変化させることで細胞を膨張・破裂させ、内部構造を観察する方法である。急速凍結活断レプリカ法は、細胞などの試料を液体ヘリウムなどの冷媒で急速に冷却させ、その試料をナイフなどで削り、白金を吹き付けることで、露出した内部構造の複製（レプリカ）を取って観察する方法。クライオ電子線トモグラフィーは、試料を染色せずに凍結して観察することで、生体に近い状態で試料の構造を観察するクライオ電子顕微鏡法の応用方法の一つ。試料を傾けながら一連の二次元画像を取得し、それを組み合わせて三次元の再構成を行うCTスキャンと似た手法である

#### 【連絡先】

<研究内容に関すること>

電気通信大学 大学院情報理工学研究科 基盤理工学専攻

【職名】助教

【氏名】中根大介

Tel：042-443-5146 E-Mail：dice-k@uec.ac.jp

<報道に関すること>

電気通信大学 総務企画課 広報係

Tel：042-443-5019 Fax：042-443-5887

E-Mail：kouhou-k@office.uec.ac.jp