



2019年12月9日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

東京慈恵会医科大学

国立研究開発法人 科学技術振興機構(JST)

微生物が狭い空間でも集団を拡張する仕組み ～ナノ繊維の分泌により細胞フィラメントの伸長を制御し、環境に適応する～

研究成果のポイント

1. 微細加工技術を駆使して作製したマイクロ流路デバイス^{注1)}を用い、二次元空間における鉄酸化細菌^{注2)} *Leptothrix* 属の細胞フィラメント形成のリアルタイム観察に成功しました。
2. *Leptothrix* 属細菌の分泌ナノ繊維は、デバイス表面への接着に関与し、細胞フィラメントの伸長開始および伸長方向決定に重要であることが分かりました。
3. 細胞フィラメントの伸長プロセスのシミュレーションにより、分泌ナノ繊維が伸長を適切に制御し、それにより *Leptothrix* 属細菌は環境に適応していることが示唆されました。

国立大学法人筑波大学生命環境系 久能樹准教授、Utada S. Andrew准教授、野村暢彦教授らの研究グループは、東京慈恵会医科大学 杉本真也准教授、筑波大学生存ダイナミクス研究センター 岩崎憲治教授との共同研究により、鉄酸化細菌 *Leptothrix* 属が分泌するナノ繊維が、表面接着、および細胞フィラメントの伸長や方向を制御することを明らかにしました。

Leptothrix 属細菌は、ナノ繊維を分泌することで細胞フィラメントを覆うチューブ原基を形成します。これが酸化鉄粒子に覆われたチューブとなり、集団(バイオマツ)を構築して生息しています。しかしながら、なぜナノ繊維を分泌するかは、不明なままでした。本研究では、特殊なマイクロ流路デバイスを用いることで、細胞フィラメント形成初期段階のリアルタイム観察に成功し、分泌ナノ繊維の新たな機能を発見しました。これらは、細胞フィラメントや酸化鉄チューブ形成に対する重要な基礎的知見を提供するものであると同時に、顔料、電極、触媒、農業など、*Leptothrix* 属細菌のつくるチューブの応用利用に向けた、材料特性の向上に役立つと期待されます。

本研究の成果は、2019年12月5日付「ACS Nano」でオンライン公開されました。

* 本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)の戦略的創造研究推進事業 ERATO「野村集団微生物制御プロジェクト」およびCREST「元素戦略を基軸とする物質・材料の革新的機能の創出」の一環で行われました。また科学研究費補助金、筑波大学生存ダイナミクス研究センター共同利用・共同研究の助成を受けています。

研究の背景

鉄分の豊富な天然の湧き水や沼沢地には、鉄細菌の仲間がバイオマットを形成して生息しています。鉄酸化細菌 *Leptothrix* 属は、酸化鉄粒子で覆われたマイクロチューブから成るバイオマットを構築します。フィラメント状(細かい糸状)に分裂した *Leptothrix* 属細菌は、菌体表面から無数のナノ繊維を分泌し、これら繊維が絡まったチューブ原基の外側に酸化鉄粒子が沈着することで、マイクロチューブを形成します。しかしながら、ナノ繊維の分泌やチューブ原基を形成する生物学的意義は明らかになっておらず、細胞フィラメント形成過程におけるナノ繊維の分泌のダイナミクスをリアルタイムに観察する必要性がありました。

研究内容と成果

本研究では、細胞フィラメントが絡まり凝集するのを防ぎながら、各々の細胞分裂およびナノ繊維の分泌を観察するため、微細加工技術を駆使し、高さを $1.3 \mu\text{m}$ に制限したチャンバーを持つマイクロ流路デバイスを開発しました(図1)。このデバイスを用い、二次元空間における鉄酸化細菌の増殖のリアルタイム観察に成功しました。その様子を野生型株とナノ繊維非分泌株と比較したところ、野生型株は、デバイス表面に接着後に細胞フィラメント形成を開始する一方、ナノ繊維非分泌株は、表面接着ができずほとんど増殖しませんでした。このことから、ナノ繊維を介した表面接着が細胞フィラメントの伸長の鍵であることが分かりました。ナノ繊維の骨格である糖鎖のアミノ基を蛍光染色した結果、表面接着直後の菌体周囲の蛍光シグナルに偏りがあり、細胞フィラメントの伸長方向にはシグナルが検出されないことから、ナノ繊維の分泌が細胞フィラメントの伸長方向決定にも関わることが明らかとなりました(図2)。

分泌ナノ繊維をサブミクロンレベルで観察するには、電子顕微鏡が必要ですが、一般的なサンプル調製では、乾燥のプロセスでナノ繊維の分解や凝集が起きて、ノイズを観察してしまう問題がありました。そこで本研究では、サンプルを乾燥させず、溶液中で観察可能な大気圧走査電子顕微鏡^{注3)}を用いることで、分泌ナノ繊維の分布を観察することに成功しました。ここでも蛍光染色の場合と同様に、表面接着直後の細胞ではナノ繊維の分泌に偏りがありました(図3)。

狭いチャンバー空間で伸長する細胞フィラメントは、チャンバー壁に衝突しても「屈曲」または「反転」して伸長を継続しました。分泌ナノ繊維による表面接着力と衝突による反発力を考慮した数式を作成し、シミュレーションすることで、低角度の衝突では「屈曲」、逆に高角度の衝突では「反転」する頻度が高くなることを証明しました(図4)。これらの結果は、狭い空間内でも継続的にフィラメントを形成する能力を示しています。以上の結果より、*Leptothrix* 属細菌は、分泌ナノ繊維を介して細胞フィラメントの伸長を適切に制御することで、環境に適応し、流れのある環境水中で優位にバイオマットを形成する戦略を持つと考えられます。

今後の展開

Leptothrix 属細菌のつくるチューブ原基は、鉄、マンガンを始めとするさまざまな金属イオンを吸着するため、水処理施設で低コストな金属除去システムとして利用されています。また、鉄を吸着したチューブは、顔料、電極、触媒、農薬など多くの利用方法が研究されています。本研究の成果は、これらの応用にフィードバック可能であり、水処理能力の向上やチューブの材料特性の改良に貢献することが期待されます。

参考図

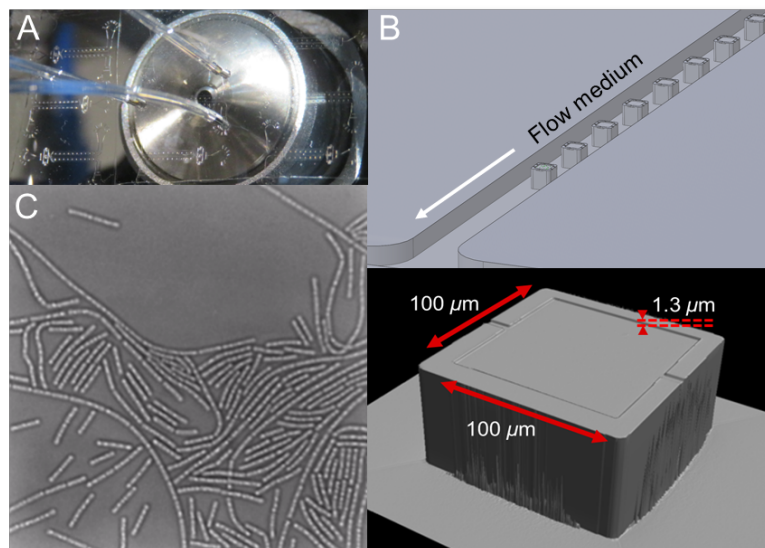


図1. 高さを $1.3 \mu\text{m}$ に制限したチャンバーを持つマイクロ流路デバイス。(A) 顕微鏡に設置した様子。(B) 流路に並ぶチャンバー(上)は、縦 x 横 x 高さがそれぞれ $100 \times 100 \times 1.3 \mu\text{m}$ の空間である(下)。(C) 鉄酸化細菌を培養した様子。スケールバー = $5 \mu\text{m}$

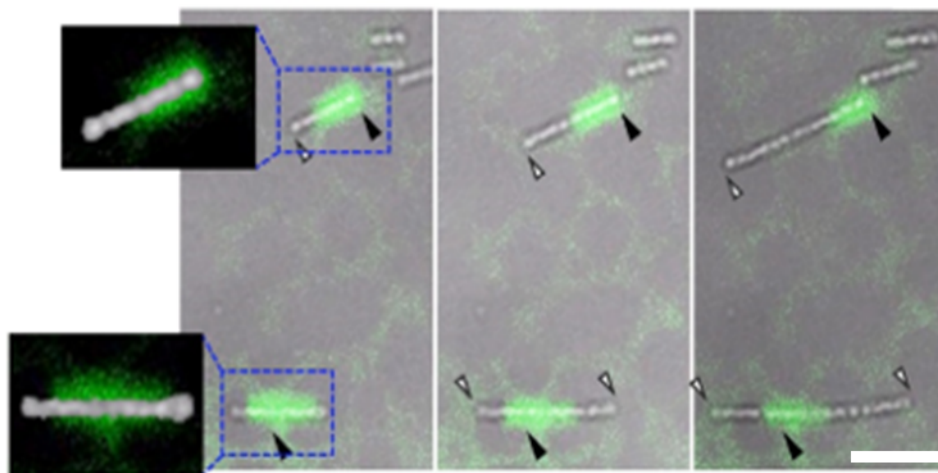


図2. 鉄酸化細菌が表面接着後、細胞フィラメント伸長を開始した時点で分泌ナノ繊維を蛍光ラベルした結果、片側・両側に伸長する場合に異なる分泌ナノ繊維の分布を示す。矢印は伸長端(白)、固定部分(黒)を示す。スケールバー = $5 \mu\text{m}$

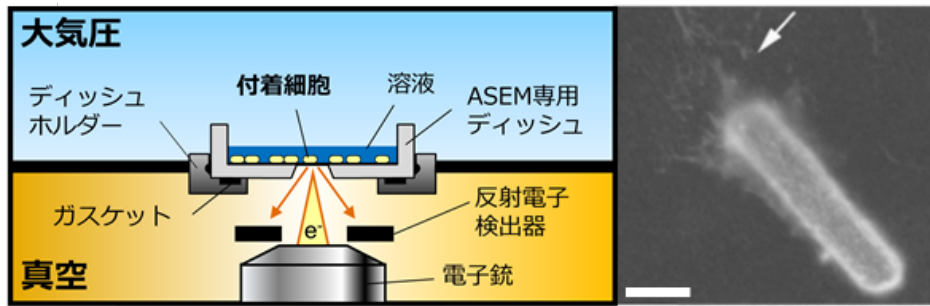


図3. 大気圧走査型電子顕微鏡のイメージ図(左)と鉄酸化細菌の細胞の電子顕微鏡像(右)。矢印は金コロイドでラベルした分泌ナノ繊維を示す。スケールバー = $1\mu\text{m}$

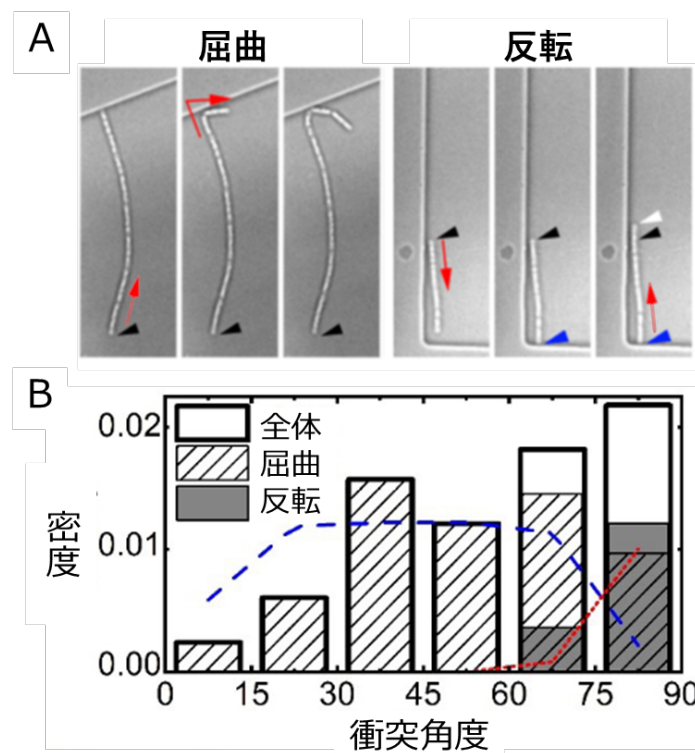


図4. (A)チャンバー壁に衝突後「屈曲」(左)または「反転」(右)して伸長する細胞フィラメントを示す。矢印は固定端(黒)、衝突後の固定端(青)、伸長端(白)を示す。スケールバー = $5\mu\text{m}$ (B) 実際の出現頻度(斜線: 屈曲、グレー: 反転)とシミュレーションによる出現頻度(青線: 屈曲、赤線: 反転)のグラフ。

用語解説

注1) マイクロ流路デバイス

基板にエッチング、微細切削加工、成形などの方法で作製した流路を形成した持つデバイス。

注2) 鉄酸化細菌

水溶性の二価の鉄イオンや二価のマンガンイオンを酸化する細菌の仲間。

注3) 大気圧走査電子顕微鏡

細胞を乾燥させることなく、大気圧で直接観察できる倒立型走査電子顕微鏡。

掲載論文

【題名】Polyfunctional Nanofibril Appendages Mediate Attachment, Filamentation, and Filament Adaptability in *Leptothrix cholodnii*.

(鉄酸化細菌 *Leptothrix cholodnii* の多機能性分泌ナノ繊維は、接着、フィラメント化、フィラメント適応性を仲介する)

【著者名】 Tatsuki Kunoh, Kana Morinaga, Shinya Sugimoto, Shun Miyazaki, Masanori Toyofuku, Kenji Iwasaki, Nobuhiko Nomura, Andrew S. Utada.

【掲載誌】 ACS Nano (DOI:10.1021/acsnano.9b04663)

問い合わせ先

<研究に関すること>

久能 樹 (クノウ タツキ)

筑波大学 生命環境系 准教授

Utada S. Andrew (ウタダ アンドリュウ)

筑波大学 生命環境系 准教授

野村 暢彦 (ノムラ ノブヒコ)

筑波大学 生命環境系 教授

杉本 真也 (スギモト シンヤ)

東京慈恵会医科大学 医学科 細菌学講座 准教授

<JSTの事業に関すること>

内田 信裕 (ウチダ ノブヒコ)

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部