

細菌集団のライフサイクル

田崎 創平

京都大学高等研究院／理化学研究所生命機能科学研究センター

ヒトを含む生き物の個体は、多くのイベントを経て一生を終え、またどこかで新しい個体が生まれる。この過程を円環になぞらえて、ライフサイクルという¹。今回扱う真正細菌についても他の生き物と多少異なる点はあれど、大枠は同様である。様々なプロセスを経て、細胞が死を遂げたり、休眠したり、またあるときは栄養を摂取して細胞が成長し、細胞分裂により細胞数が増えたりするのである。

さて、これらは個体のライフサイクルであるが、その一方で、集団のライフサイクルというものがある²。その中で、真正細菌の細胞集団（以下、細菌集団）のライフサイクル、特に「バイオフィルムのライフサイクル」とよばれているものがある。一細胞にヒトの一個人を当てはめるならば、このサイクルとは繰り返されてきたヒトの移動の歴史である。ある好ましい環境に辿り着いた集団は、そこに住み着き、社会を形成する。その社会は成長・成熟していく（しなかつたりもする）。そして何らかの条件で、集団の一部が新天地に向けて移動を開始する。移民は再び何らかの（別の）条件が満たされたとき、移動をやめて新しい環境に住み着くことになる。このサイクルの繰り返しがヒトの移動の歴史である。細菌集団においてこれに対応するものがバイオフィルムのライフサイクルとよばれているものである。

数多の細菌種において、異なる細胞状態・細胞タイプが存在する。細菌バイオフィルムのライフサイクルとは、運動タイプを主とする細胞群による「移動」のフェーズと、非運動タイプで環境に定着・成長する「成長・成熟」のフェーズの繰り返しのひと回りのことをいう。すなわち、運動タイプの細胞が「移動」のフェーズを経て、ある条件の環境に至ると、非運動タイプに切り替わり、定着する。この非運動タイプの中で最も影響力があるのは基質産生タイプで、細胞分裂により細菌集団は成長し、また細胞外基質により堅牢な構造（バイオフィルム）を作り出す。このとき、細胞密度は上昇していくが、細胞密度の閾値と関連するような何らかの条件を満たすと、再び細菌集団の中から運動タイプの部分集団が現れる。そして他の細胞タイプの力を借りたりもしながら、コロニーの壁を破って出てくる。この移動形態の細胞集団は新しい環境を求めて旅立っていく。本講演では、このような細菌集団のライフサイクルの生成機構を考える。

¹近年は「ライフ」サイクルといえど、生物以外の類似の概念にも用いる。例えばウイルスの増殖サイクルをライフサイクルといたり、あるいは製品が市場にいる期間を製品ライフサイクルといたりする。

²集団をひとまとめにして個体と思えば大まかには同様である。

この特別実験講座の構成は以下の通りである。実験1では、手形寒天培地を用いた実験を通じて、微生物コロニーとは一体どんなものか、どのような大きさ(空間スケール)の細菌集団がどのような時間スケールで現れるのか、そしてそのコロニーを構成している細胞はどんな大きさで、どれくらいの数があるのか、参加者が体感することを狙いとしている。実験2では、遺伝的には同一の枯草菌について、異なる細胞タイプ(Lopez et al., 2009)を実際に顕微鏡で観察する。これにより、細菌集団のライフサイクルにおいて、異なるフェーズの存在と、各々のフェーズで活躍する細胞タイプとその細胞集団のあり方を、身近に感じてもらえれば幸いである。そして最後に、枯草菌をモデルにした細菌集団のライフサイクルの研究を紹介する(Tasaki et al., 2017)。細胞タイプを制御する遺伝子制御ネットワークとその数理モデルを考え、遺伝子発現解析とコロニー周期成長実験を組み合わせることで、細菌集団のライフサイクルの生成と環境応答のメカニズムを示す。

実験1：手形寒天培地で衛生チェック～手のどこに菌がいるか予想してみよう

研究集会の出席者の皆様に任意でご参加いただきます(先着)。手形寒天培地を使用して、どのような微生物が手に付着しているのか調べます。直前にしっかり手洗いをして挑んでいただいてもよし、ありのままの自分を曝け出してもよし、です³。培地に手をついた後は、手作り感あふれる培養観察装置⁴で1日培養します。培養前に、手のどこに菌がいて、培養するとどんなコロニーができるか、予想してみましよう。コロニーはある種の高性能スキャナを用いると定量的なデータを取得できます。

実験2：細菌集団のライフサイクル～枯草菌の異なる細胞タイプを見てみよう

枯草菌を時間をずらしながら培養したものを小型のデジタル顕微鏡で観察します。運動タイプと基質産生タイプ、そして休眠状態である芽胞を見つけます。環境条件や培養時間に対応する細胞タイプをまとめてみましょう。

参考文献

Lopez, D., Vlamakis, H., Kolter, R., 2009. Generation of multiple cell types in *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiol. Rev.* **33** (1), 152–63. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00148.x.

Tasaki, S., Nakayama, M., Shoji, W., 2017. Morphologies of *Bacillus subtilis* communities responding to environmental variation. *Develop. Growth Differ.* **59** (5), 369–378. doi: 10.1111/dgd.12383.

³今回使用するのは SCDLP 寒天培地というもので、多くの菌が育つよう工夫がされているタイプですので、いずれの目的にも合いそうです。栄研化学「ハンドべたんチェック II SCDLP 培地」商品コード 8240

⁴基本的には宅急便の段ボール箱です。温度調節器、温度センサー、ヒーターを組み合わせます。ヒーターと温度センサーを段ボール箱内に入れ、箱内温度を摂氏 37 度程度に調整します。箱内にスキャナーを入れ、コンピュータで制御することで、箱を開けることなく途中経過を観察できます。インターバル撮影も可能です。