

## シアノバクテリアの運動

中根 大介\*・西坂 崇之

シアノバクテリアの生体運動は、ちょっと変わっている。というのも、バクテリアで一般的な運動装置である「べん毛」が細胞表面にもゲノムの中にも見つからないからである。では一体、この小さな生命体はどのような仕組みで動いているのだろうか。本稿の前半では、シアノバクテリアの生体運動について、大雑把に分類し、現在考えられている仕組みについて概説する。また、後半では、最近筆者らが明らかにした単細胞性シアノバクテリアの走光性とIV型線毛の制御機構について紹介する。

## べん毛がなくても動く

バクテリアの運動と言えば「べん毛」がモデルシステムである。つまり、らせん繊維構造を根元に存在するモーターで回転させることで3次元的な遊泳を達成している(図1A)<sup>1)</sup>(詳細については96巻4・5号の特集を参照)。しかし、シアノバクテリアはべん毛を持たないため、同様の遺伝的、構造的基盤から生体運動の仕組みを理解することはできない。では、シアノバクテリアは一体どのような仕組みで動いているのだろうか？

この20年の間に、この分野の研究は大きく進展した。本稿では、その歴史的背景を考慮し、シアノバクテリアの運動を以下の三つに分類し、概説する<sup>2)</sup>。1: 単細胞性のシアノバクテリアでみられる twitching motility, 2: 繊維状のシアノバクテリアでみられる gliding motility, 3: 一部の *Synechococcus* でみられる swimming motility。

**Twitching motility** *Synechocystis* sp. PCC6803 はシアノバクテリアのモデル生物の一つであり、大きさは1-2  $\mu\text{m}$  程度の単細胞性の球菌である。シアノバクテリアでは初めてゲノムが解読された種であり、遺伝学的手法も発達している。実は、この種には運動性がある<sup>3-6)</sup>。寒天やガラス表面にはりついて、ピクピクと短い距離の移動をさまざまな方向に繰り返すことで、ゆっくりとした動きを示す。実質の移動速度は0.1  $\mu\text{m/s}$  ほどなので、べん毛の遊泳に比べるとはるかに遅い。この特徴的な運動の仕組みは、“スパイダーマン”を彷彿とさせる「糸」の収縮だと考えられている<sup>7,8)</sup>。その「糸」は、IV型線毛と呼ばれており、細胞の膜表面にある超分子複合体と二つのATPaseモーターによって重合と脱重合が制御されている<sup>9,10)</sup>。このとき、IV型線毛繊維は伸長、固体表面への接着、繊維構造の収縮というサイクルを繰り返す

ことで細胞が移動する<sup>11)</sup>(図1B)。 *Synechocystis* sp. PCC6803では、線毛は1細胞当たり複数生えているので、それらが互いに引っ張り合うため、ピクピクという特徴的な動きを示すと考えられる<sup>12,13)</sup>。ただし、線毛繊維は細く、通常の明視野顕微鏡では直接観察することはできない。一般的に、IV型線毛による運動は twitching motility と呼ばれ、主に病原細菌でよく調べられている<sup>11)</sup>。ところが、IV型線毛装置が光という環境シグナルに応答して制御されるという点は、シアノバクテリアに特徴的な現象である<sup>14)</sup>。本稿の後半では、この情報処理機構と制御に関する筆者らの最近の結果について紹介したい<sup>13)</sup>。

**Gliding motility** 繊維状のシアノバクテリアの運動性は、今から150年ほど前にすでに記載がある<sup>2)</sup>。いわゆる滑走運動と呼ばれるもので、細胞が長軸方向に沿って移動する滑らかな動きを指す。こちらも遊泳ではなく滑走なので、ガラス表面や細胞表面などにくっついたときしか運動性を示さない。この動きは我々の身近にあり、水槽に生えてくる緑の塊を顕微鏡で見ると、簡単に(工夫すればスマートフォンでも)観察することができる。この運動の仕組みは、表面の波モデルや<sup>15,16)</sup>、多糖

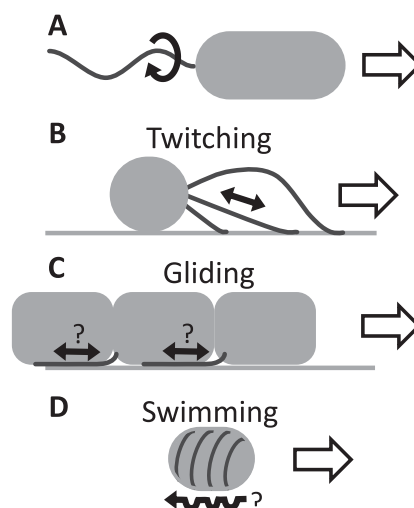


図1. シアノバクテリアの多様な運動様式。(A) べん毛運動。バクテリア運動研究のモデルシステムだが、シアノバクテリアはこの装置を持たない。(B) 単細胞性のシアノバクテリアの運動。(C) 繊維状シアノバクテリアの運動。(D) シネコッカスのSwimming motility。CDに関しては、議論の余地はあるが、現時点で筆者が気に入っているモデルを書いた。

の噴射モデルなど<sup>17)</sup>、いくつか提案されている。しかし、いずれも電子顕微鏡で観察された構造を基にしたものであり、遺伝学的な分子基盤や、運動装置のダイナミクスという点では詳細は分かっていないため、運動モデルについて議論する際には、注意が必要である。このような問題は、他のバクテリアの運動研究においても、歴史的に見受けられたことである。たとえば、*Myxococcus xanthus*というバクテリアは、1個体で動く際に滑走運動(A-motility)を示すのだが、20年前の時点ではその仕組みはよくわかっていなかった<sup>18)</sup>。15年ほど前、この運動は多糖の噴射によるという説が提案されたが<sup>19)</sup>、その後、まったく異なるアイデア(らせん軌道モデル)が提案されたという経緯がある<sup>20-22)</sup>。

ここ数年でシアノバクテリアの滑走運動についてはいくつかが進展があった。*Nostoc punctiforme*のホルモゴニアと呼ばれる比較的短い分化細胞が示す滑走運動は、IV型線毛依存的であるというデータが遺伝学的に示されつつある<sup>23-26)</sup>。もしかすると、シアノバクテリアの滑走運動はIV型線毛によって生じているのかもしれない(図1C)。ただし、線毛がどのように使われているのか、実際に線毛がどのように振る舞うのかについては、不明な点が多い<sup>27)</sup>。また、このような滑走運動とIV型線毛との関係が、*Oscillatoria*などの種でも同じかどうかについては、今後の重要な研究課題であると言える<sup>2)</sup>(本特集の福島らの稿<sup>28)</sup>も参照)。

**Swimming motility** シアノバクテリアの中には、泳ぐバクテリアもごくまれに存在する。現在のところ、カリブ海出身の*Synechococcus*の一部が、この動きを持つことが知られている<sup>29,30)</sup>。膜表面には「べん毛」やそれ以外の明らかな構造物を持たず、その細胞は1 μmほどの球体に近い。とてもではないが運動ができる「体型」には見えない。しかしながら、20 μm/s程度で軽やかに遊泳することが知られている。これらの運動の仕組みに関する研究は報告が少なく、現時点でも十分な理解は得られていない。*Synechococcus* sp. WH8102においては、1996年頃から遺伝学的な解析が始まり<sup>31,32)</sup>、ゲノムの中にはべん毛に関連する遺伝子は見つからないこと<sup>33)</sup>、SwmAというS-layer構成タンパク質と<sup>34)</sup>、SwmBという1 MDaを超える巨大分子量のタンパク質が運動に関与し<sup>35)</sup>、膜周辺に局在することが示されている。ただし、運動装置の全体像や、運動時にモーターとなるタンパク質などについては明らかになっていない。現時点で提案されている運動仮説の一つに、膜周辺をタンパク質が動き回り、波を伝搬させることで推進力を発生させているというモデルがある(図1D)<sup>36,37)</sup>。これは*Myxococcus*滑走運動のらせん軌道モデルにも拡張可能であるという点に興味を

そそられる。もしこれが正しいとすると、*Synechococcus*の遊泳、*Myxococcus*の滑走、*Flavobacterium*の滑走<sup>38,39)</sup>という遺伝的に相同性のない三つの運動システムが、比較的よく似たメカニズムで説明が可能であることを示している(らせん軌道モデルについては、4号の中山らの稿<sup>40)</sup>を参照)。これは、生体運動が進化的にどのように生まれ、収斂していったのかという根源的な問いに対する一つの答えになるのかもしれない。ただし、*Synechococcus*においては、現時点では波伝搬モデルを示唆するような膜周辺での動きが直接検出されたという報告はなく、あくまで仮説であることに留意したい。また、*Synechococcus*の細胞表面構造には、種によって違いがあるため、議論の際には注意が必要である<sup>34,41)</sup>。ここでは運動の仕組みという点について概説したが、なぜ動くのか、つまり、*Synechococcus*の動きが実際の環境下でどのような役割を持つのかという視点も忘れてはならない。特に、この遊泳運動は、光ではなく、窒素源に応答することも重要な報告の一つであるといえる<sup>42)</sup>。

#### バクテリアの視覚とIV型線毛

**光の向きがわかるバクテリア** バクテリアの運動が光に応答することは古くからよく知られている<sup>43)</sup>。中でも、「光の向き認識」という現象は示唆的である。寒天上のコロニーに対して横から光を照射すると、細胞は光源に向かって動く、または逃げるように動くことができる<sup>6,44,45)</sup>。これは、単なる光の応答ではなく、バクテリアという最小の生命体が、光の向きを情報として処理し、運動装置を制御していることをあらわしている。一般に、真核生物における光の向き認識は、光を感じる受容体と、光を遮蔽する構造の組合せによって成り立っている。しかし、バクテリアには「眼点」のような構造器官は知られていないため、「最小の生命体もつ視覚」の仕組みはこれまでたくさんの研究者の関心を引いてきた。本稿で注目する*Synechocystis* sp. PCC6803においても、この現象は見つかっており、IV型線毛依存的であることが示されていた<sup>4-6,46,47)</sup>。しかし、実際に線毛がどのように動くのかはよくわかっていなかった。これは、IV型線毛がたった8 nmの細さしかなく、光学顕微鏡下での動態観察手法に乏しいことに由来する。

**IV型線毛繊維とその動態を可視化する** そこで、筆者らは、線毛の分布と動態を以下の二つの手法で定量化した<sup>13)</sup>。(i): アビジンによる線毛の蛍光標識(図2A)。生物工学用途でよく用いられるアビジンが、線毛に特異的に結合することを筆者らは偶然見いだした。この結合には、ビオチンは関与しておらず、アビジンが持つ糖鎖修飾領域による。方法は単純で、市販の蛍光標識

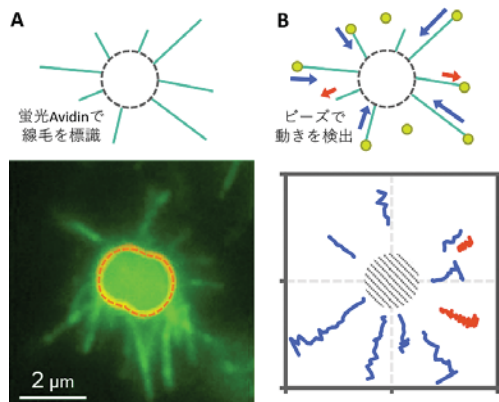


図2. IV型線毛繊維とどの動態の可視化。(A) アビジンによる蛍光標識。細胞1匹から多数の線毛が生えている。細胞の輪郭は点線で示している。(B) ビーズによる動き検出。200 nmの蛍光ビーズから検出された動きの軌跡を示している。グラフのグリッドは3 μm。 ※学会HPのPDFではカラーで表示されます。

アビジンを加えると、たった数分の間に線毛繊維を光学顕微鏡下で観察することが可能になる。ただし、この標識は、線毛の活性自体を阻害するため、ライブイメージングには向かず、細胞を化学固定する必要がある。(ii): ビーズによる線毛の動きを検出(図2B)。筆者らは、微小ビーズが線毛に特異的に吸着し、それらが一定の速さで細胞の中心に向かって動く(0.8 μm/s)、または離れるように動く(0.3 μm/s) ことを見いだした。これはIV型線毛の収縮と伸長を反映している。このようなIV型線毛へのビーズの吸着はsulfate修飾されたビーズに特異的で、それ以外のビーズだと検出できないため、細胞は何らかの仕組みで、好みを見分けていることを示している。次に、これらの二つの手法を用いて、光に応答して、IV型線毛がどのように振る舞うかを可視化した。

**光でIV型線毛を制御する** 筆者らは光学顕微鏡下で横から青色光を照射する実験系を構築した<sup>13)</sup>。この系では、1個体レベルでの負の走光性、つまり、細胞が光源とは逆の方向に動く様子を確認できる。このとき、細胞内には何らかの極性が生じていると予想される。そこで上記の二つの手法でIV型線毛繊維と動態を検出した。すると実際に細胞には極性があり、光源と反対側からのみ線毛が分布し、動いていることが確認できた。つまり、横からの光がトリガーとなり、IV型線毛の非対称化が誘導されることが示している(図3A)。では、一体、細胞はどのように横からの光を認識しているのだろうか。実は、ここには光の強度差が関係している。細胞の屈折率は周辺の水のそれより高いため<sup>48)</sup>、細胞周辺の光強度は均一ではない<sup>49,50)</sup>。左側から光が照射されたとき、細胞形状が光学素子のようにはたらくことで、光軸に沿っ

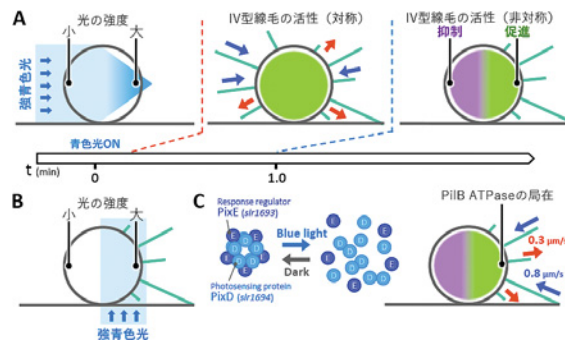


図3. 光刺激によるIV型線毛の非対称化制御。(A) 刺激から応答までの過程の模式図。(B) 局所的な光によるIV型線毛の非対称化。(C) 予想される細胞内の分子メカニズム。PixD-PixE複合体が解離することで、PiIBタンパク質の“三日月”局在が維持される。 ※学会HPのPDFではカラーで表示されます。

て右側の光強度が少しだけ高くなる。実際に筆者らは、右側にのみ光を照射してみると、その部位のみのIV型線毛が活性化される非対称化を観察することに成功した<sup>13)</sup>。これらの結果から、意外なことに、細胞の非対称化を誘導するのは非対称な光強度であることが示された(図3B)。このモデルは、海外のグループが一步先に論文として報告している<sup>51)</sup>。ただし、筆者らの結果は、これをIV型線毛の直接の可視化、および動態計測というアプローチで拡張したものであると言える<sup>13)</sup>。よく似た効果がクラミドモナスでも報告されており<sup>52)</sup>、光の強度差を利用した情報処理機構は、小さな細胞サイズで普遍的に生じている現象なのかもしれない(クラミドモナスの光行動については、本特集の若林らの稿を参照<sup>53)</sup>)。

**細胞の光情報処理** ここでは、IV型線毛の非対称化までの制御プロセスについて少し詳しく議論したい。光源から逃げる応答(負の走光性)はPixDという青色光受容タンパク質によって仲介されている<sup>13,54,55)</sup>。In vitroではPixDはPixEと複合体を形成しており、照射後にPixD-PixE複合体は解離することが明らかになっている<sup>56)</sup>。ここで、PixEがシグナル伝達に関わる分子であること<sup>57)</sup>、PiIBという線毛の重合のATPaseが“三日月”の局在をとることを考慮すると<sup>58)</sup>、解離したPixEがPiIBの局在を制御し、IV型線毛の非対称化を維持している可能性が高い(図3C)。ところが不思議なことに、ここには時間的に大きな隔りがある。照射後に起こるPixD-PixEの解離には1秒もかからないのに対し、細胞の光応答は遅く、非対称化が生まれるまでに1分もの時間を要している<sup>13)</sup>。現時点ではこの理由は分かっていない。この問題に答えるためには、青色光の入力によって細胞内での関連タンパク質の局在と活性がどのように応答するのか、一連のプロセスを可視化する必要がある。加えて、PixD以外の光受容タンパク質のシ

グナル伝達経路とのクロストークという観点も忘れてはならない<sup>4,59)</sup>。実際、PixDがなくとも細胞は光刺激に応答し、対称的な線毛の分布を誘導するため、線毛の伸長を正に制御する経路は別に存在していると考えられる<sup>13,55)</sup>。光照射前(暗条件)ではIV型線毛はほとんど生えていないこと、光照射後10秒には細胞は移動を開始していること、線毛の伸長速度は0.3 μm/sで長さの平均値は3 μmであることを考慮すると、PixD非依存的な細胞応答は光照射後ごく短時間の間に行われているように見える。

**IV型線毛と多様な生命現象** IV型線毛装置は、コレラ菌の毒素分泌装置、枯草菌のDNA取り込み装置、アーキアの運動装置なども相同性があることが知られており、原核生物の多様な生命現象を担っている<sup>60)</sup>。いずれの現象も、その構造基盤に比べ、装置や繊維そのものの動態計測に基づく情報に乏しいため、光学顕微鏡下におけるナノスケールでの観察は重要なアプローチの一つであると言える<sup>61)</sup>。このような可視化技術の展開により、単に運動機構の解明だけでなく、表面認識や、環境下での微粒子の捕捉、細胞間コミュニケーションなど、小さな生命体が独自に発達させた分子機械の作動原理に潜む普遍性に光を当てることができると期待している。

## 謝 辞

本研究の一部は、科研費JP16H06230, JP15H04364, および、光科学技術研究振興財団の助成を受けたものである。

## 文 献

- Berg, H. C.: *Annu. Rev. Biochem.*, **72**, 19 (2003).
- Brahamsha, B. and Bhaya, D.: *The Cell Biology of Cyanobacteria*, p. 233, Caister Academic Press (2014).
- Kanesaki, Y. et al.: *DNA Res.*, **19**, 67 (2012).
- Yoshihara, S. et al.: *Plant Cell Physiol.*, **41**, 1299 (2000).
- Bhaya, D. et al.: *Mol. Microbiol.*, **37**, 941 (2000).
- Choi, J.-S. et al.: *Photochem. Photobiol.*, **70**, 95 (1999).
- Skerker, J. M. and Berg, H. C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 6901 (2001).
- Merz, A. J. et al.: *Nature*, **407**, 98 (2000).
- McCallum, M. et al.: *Nat. Commun.*, **8**, 15091 (2017).
- Chang, Y. W. et al.: *Science*, **351**, aad2001 (2016).
- Maier, B. and Wong, G. C. L.: *Trends Microbiol.*, **23**, 775 (2015).
- Marathe, R. et al.: *Nat. Commun.*, **5**, 3759 (2014).
- Nakane, D. and Nishizaka, T.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 6593 (2017).
- Bhaya, D.: *Mol. Microbiol.*, **53**, 745 (2004).
- Halfen, L. N. and Castenholz, R. W.: *J. Phycol.*, **7**, 133 (1971).
- Halfen, L. N. and Castenholz, R. W.: *Nature*, **225**, 1163 (1970).
- Hoiczkyk, E. and Baumeister, W.: *Curr. Biol.*, **8**, 1161 (1998).
- McBride, M. J.: *Annu. Rev. Microbiol.*, **55**, 49 (2001).
- Wolgemuth, C. et al.: *Curr. Biol.*, **12**, 369 (2002).
- Faure, L. M. et al.: *Nature*, **539**, 530 (2016).
- Nan, B. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 2498 (2011).
- Mignot, T. et al.: *Science*, **315**, 853 (2007).
- Cho, Y. W. et al.: *Mol. Microbiol.*, n/a (2017).
- Khayatan, B. et al.: *Mol. Microbiol.*, **98**, 1021 (2015).
- Risser, D. D. et al.: *Mol. Microbiol.*, **92**, 222 (2014).
- Duggan, P. S. et al.: *J. Bacteriol.*, **189**, 4547 (2007).
- Wilde, A. and Mullineaux, C. W.: *Mol. Microbiol.*, **98**, 998 (2015).
- 福島俊一, 春田 伸: *生物工学*, **96**, 240 (2018).
- Waterbury, J. B. et al.: *Science*, **230**, 74 (1985).
- Rocap, G. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 1180 (2002).
- Brahamsha, B.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 1747 (1996).
- Brahamsha, B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 6504 (1996).
- Palenik, B. et al.: *Nature*, **424**, 1037 (2003).
- McCarren, J. et al.: *J. Bacteriol.*, **187**, 224 (2005).
- McCarren, J. and Brahamsha, B.: *J. Bacteriol.*, **189**, 1158 (2007).
- Ehlers, K. M. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 8340 (1996).
- Ehlers, K. and Oster, G.: *PLoS ONE*, **7**, e36081 (2012).
- Wada, H. et al.: *Phys. Rev. Lett.*, **111**, 248102 (2013).
- Nakane, D. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 11145 (2013).
- 柴田敏史, 中山浩次: *生物工学*, **96**, 204 (2018).
- Samuel, A. D. et al.: *BMC Microbiol.*, **1**, 4 (2001).
- Willey, J. M. and Waterbury, J. B.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1888 (1989).
- Hader, D. P.: *Microbiol. Rev.*, **51**, 1 (1987).
- Armitage, J. P. and Hellingwerf, K. J.: *Photosynth. Res.*, **76**, 145 (2003).
- Ragatz, L. et al.: *Nature*, **370**, 104 (1994).
- Bhaya, D. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 7540 (2001).
- Bhaya, D. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 3188 (1999).
- Aas, E.: *J. Plankton Res.*, **18**, 2223 (1996).
- Wang, Z. et al.: *Nat. Commun.*, **2**, 218 (2011).
- Ferrand, P. et al.: *Opt. Express*, **16**, 6930 (2008).
- Schuerger, N. et al.: *Elife*, **5**, e12620 (2016).
- Ueki, N. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 5299 (2016).
- 若林憲一ら: *生物工学*, **96**, 261 (2018).
- Sugimoto, Y. et al.: *Plant Cell Physiol.*, (2016).
- Okajima, K. et al.: *J. Biochem.*, **137**, 741 (2005).
- Tanaka, K. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 8336 (2012).
- Wadhams, G. H. and Armitage, J. P.: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **5**, 1024 (2004).
- Schuerger, N. et al.: *Microbiology*, **161**, 960 (2015).
- Ng, W. O. et al.: *J. Bacteriol.*, **185**, 1599 (2003).
- Korotkov, K. V. et al.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **10**, 336 (2012).
- Kinosita, Y. et al.: *Nat. Microbiol.*, **1**, 16148 (2016).