

氏 名	まがり 曲	やま 山	ゆき 幸	お 生
授 与 学 位	博 士 (工 学)			
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 12 月 11 日			
学 位 授 与 の 根 拠 法 規	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項			
最 終 学 歴	昭 和 56 年 3 月 筑波大学第一学群自然科学類物理学主専攻卒業			
学 位 論 文 題 目	細菌運動の力学に関する研究			
論 文 審 査 委 員	東北大学教授 江刺 正喜		東北大学教授 佐藤 正明	
	東北大学教授 矢野 雅文			

論 文 内 容 要 旨

[背景と目的]

半導体製造技術を応用した微小機械（マイクロマシン）の製造・実用化が近年現実となってきた。微小世界で作業する機械が、それに見合った大きさを持っていることは自然の成り行きである。しかしながら、私たちが今までに蓄積してきた機械設計に関する知識は、私たちが日常接している世界にしか適用できない場合が多い。現状の機械をそのまま小さくしただけでは、効率が極端に悪くなったり、まったく動かないということが起こりうる。私たちはまだ、マイクロマシン固有の問題に対処すべき設計指針は十分に持ち合わせていない。

生物の世界に目を転じてみると、その大きさに応じて運動様式に違いがあることに気づく。鯨やマグロ、大型の鳥は、その体は流線型をしていて、ひれや翼はふくらみを持ち細長い。彼らはひれや翼をあまり速く動かさなくとも、たいへん速く移動することができる。流体力学的に見ると、それらは揚力を利用して運動しているのである。同じように羽を持つものでも、昆虫となるとその動きはまったく異なる。常に羽をせわしなく動かし、体形もけっして流線形とは言えない。さらに小さな生物になると、もはや翼やひれではなく、線虫のように体をくねらせたり、精子や鞭毛虫、繊毛虫のように繊維の鞭打ちで運動をおこなっている。細菌はもっと小さく、運動様式も異なっており、らせん形のべん毛を回転させることによって移動する。このように大きさによって運動様式がきれいに分類されるのは偶然ではない。その大きさに合った運動様式が進化の過程で選択され、自然の厳しい審査を合格したものだけが今日私たちの目の前に存在しているのである。

マイクロメーターの大きさを持つ細菌の運動には、微小世界に適応した様式が採用されているに違いない。これを研究することによって、まだ私たちが気づいていない微小世界の力学的な特徴や、そこで働く機械のあるべき姿を明らかにしていけるのではないだろうか。このような研究の成果がマイクロマシンの設計指針にも反映されるのだろう。本研究の目的は、このような背景に基づき、細菌の運動について力学的な側面から解析し、その特徴を整理することである。

[べん毛回転数の測定法の開発]

細菌の運動を詳細に解析するためには、時々刻々のべん毛の回転数を高精度で測定することが必要である。しかし、これまで使われてきた方法には、高速回転に対応できない、あるいは時間分解能が低いなどといった欠点があり、適当なものなかった。そこで本研究では、べん毛回転数の測定法を開発することから始めた。

暗視野顕微鏡を使うと、細菌が生きている状態でべん毛を観察できる（図1左上）。ただし、べん毛の回転数は100

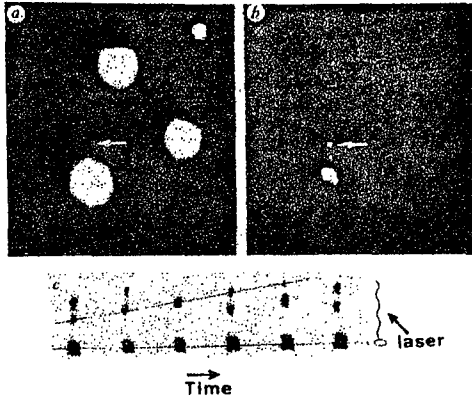


図1 レーザー暗視野顕微鏡の原理

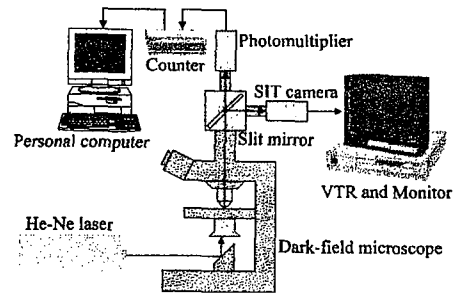


図2 レーザー暗視野顕微鏡の構成

rpsを超えるので、ビデオ記録（標準で秒30コマ）による解析はできない。レーザー光を細いビームのまま暗視野コンデンサーに入射すると、試料面では数 μm の幅の一方照明を実現できる。この照明法でべん毛を観察すると、べん毛らせんのピッチに対応した明るい点列からなる像が得られた（図1右上）。らせん形のべん毛繊維のうち、レーザー光に対して垂直に近い部分がよく光を散乱するために、このようなコントラストができると考えられる。べん毛が回転すると、レーザー光に対するべん毛繊維の向きが変化するので、この照明によって得られる輝点の列もらせん軸に沿って移動する（図1下）。この原理を使ってべん毛回転数を測定するために、べん毛の決まった位置から散乱される光量を検出する装置（レーザー暗視野顕微鏡）を作製した（図2）。

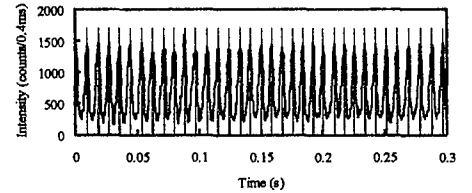


図3 レーザー暗視野顕微鏡のデータ例

菌体がガラスに固定されたスタックセルのべん毛の回転を、レーザー暗視野顕微鏡によって測定すると、図3のように、べん毛の回転に応じた周期的な光量変化のデータ（図3曲線）が得られる。光量のピーク位置（図3縦線）を決定することにより、べん毛1回転の周期を0.4ms（サンプリング時間）の時間分解能で測定できる。

[単べん毛細菌の運動の解析]

流体力学の基本方程式がすでに確立されているとはいっても、実際には厳密に解を求めることはきわめて困難である。したがって、細菌の運動の解析の方法は、実際の細菌運動の測定結果を、どのような近似や仮定を前提としたモデルによって説明できるかを検証することになる。モデルの妥当性を検証するためには、考慮する運動のパラメーターがひとつだけでは不十分である。本研究では、細菌の遊泳速度のほかにべん毛の回転数を選んだ。前述したように、べん毛回転数はレーザー暗視野顕微鏡によって高精度で測定できるからである。さらに、細菌試料として、解析の容易な単べん毛細菌を選んだ。

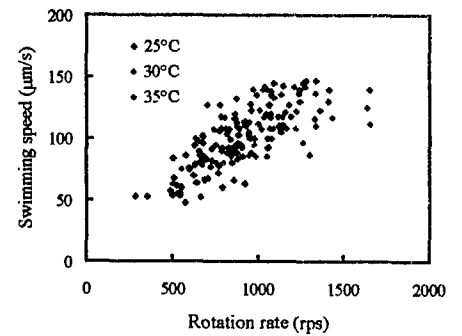


図4 単べん毛細菌の遊泳速度とべん毛回転数の測定結果

測定結果は、温度が高いほど遊泳速度もべん毛回転数も大きくなり、両者は大まかには比例していた（図4）。しかし、個々の細菌に対するデータ点のばらつきは大きかった。また、同一温度のデータだけを見ると、べん毛回転数が大きい領域で遊泳速度があまり大きくならないという見かけの飽和現象が観察された。

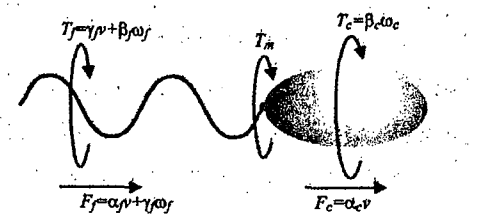


図5 細菌運動のモデル

この実験結果を説明するために、図5のような簡単なモデルを考えた。このモデルにおいては、べん毛としてらせん形の繊維、菌体とし

て回転楕円体を考え、それぞれ流体中に単独で存在するときの粘性抵抗抗力が、運動している状態の菌体とべん毛に働くと近似している。つまり、菌体とべん毛の間に働く流体力学的な相互作用を無視することによって、きわめて解析を容易にした。このモデルによれば、べん毛回転数と遊泳速度が比例することが簡単に示される。実際にべん毛と菌体の形態を測定した結果を基に、べん毛回転数に対する遊泳速度の比 (v/f 値) を計算してみると、その平均値だけでなく、ばらつきも、実験結果とよく一致した。実験結果の v/f 値の大きなばらつきは、べん毛の長さや菌体の長さの個体差によるものである。さらに、べん毛モーターの発生トルクを仮定することによって、同一温度における見かけの飽和現象もよく説明できた。

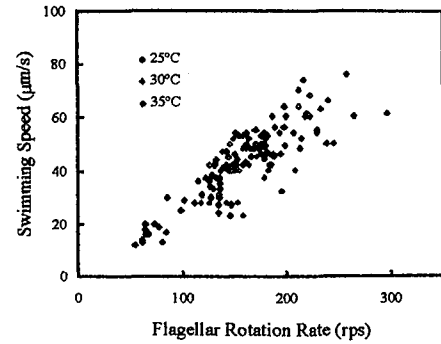


図6 周べん毛細菌の遊泳速度とべん毛回転数の測定結果

[周べん毛細菌の運動の解析]

周べん毛細菌は、複数のべん毛を菌体のランダムな位置から生やしている。周べん毛細菌が遊泳しているとき、複数のべん毛は一束になって回転している。単べん毛細菌と同じように、周べん毛細菌のべん毛回転数と遊泳速度をレーザー暗視野顕微鏡を使って測定した結果 (図6) は、一見単べん毛細菌の場合 (図4) とよく似ていた。つまり、大まかにはべん毛回転数と遊泳速度は比例しているが、ばらつきはかなり大きい (図6, v/f 0.15-0.36 μm)。見た目にも、また流体力学的にも、束の中のべん毛間の相互作用はたいへん強いと考えられる。したがって、束の実効的な太さを見積もることができれば、単べん毛細菌と同じモデルで運動の解析ができると思われた。ところが、

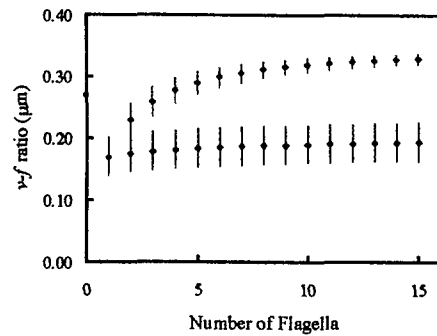


図7 v/f 値の計算結果

実際に v/f 値に関して解析すると、太い単べん毛を仮定したモデルではうまく説明できなかった。このモデルから予想される v/f 値の平均値が実験値よりも小さかっただけでなく、実験値の大きなばらつきの要因が見いだせなかったのである (図7下)。つまり、細菌ごとのべん毛長さや菌体長さの違いを考慮しても、実験から得られた v/f 値のばらつき (0.15-0.36 μm) の1/3程度にしか達しなかった。かえって、流体力学的にも顕微鏡観察の結果からも承認しがたい仮定、つまり、束の中のべん毛が独立に作用するという仮定のほうが、実験結果に合っていた (図7上)。

この結果は、単べん毛細菌で成功したモデルにおいて無視したさまざまな因子の影響が、周べん毛細菌の運動の場合にはかなり大きいことを意味している。特に、水を一樣な流体であるとした流体力学上の取り扱いの可否を、べん毛束では考えなければならないのかもしれない。べん毛束の中では、べん毛どうしの間隔が10nm程度で、その配置は常に変動している。このような環境では、水分子の運動を考慮しなければならないのかもしれないし、さらに水の構造 (例えば、固体表面近傍 (1nm程度) の水はほとんど固定され構造化されている) も影響しているのかもしれない。これらの因子をどのようにして細菌運動のような微小世界の力学に関連づけるかが、今後の新しい課題として明らかになった。

[まとめ]

私たちは人間の大きさの物理現象にはよくなじんでいるので、それを十分に利用する術もかなり身につけている。しかし、それだけではすまない分野にも進出していかなければならない場合が次第に増えつつある。そのひとつが微小世界で、マイクロエレクトロニクスからより大きな広がりを持つマイクロエンジニアリング (微小世界の工学) に発展してきている。そこで必要となるが、マイクロ理工学である。まず微小世界の物理現象をきちんと理解し、体系化していかなければならないが、このとき生物に多くのことを学ぶことができそうである。本研究のテーマである細菌運動の解析もそのひとつであり、その成果は生物に学ぶことは確かに存在すると確認した点にある。単純そうに見える細菌の運動の中にさえ、まだ説明が困難な現象が残されていることを示すことができた。

本論文では、ほかに、細菌運動の要であるべん毛モーターの、回転方向切り替えスイッチに関する遺伝学的行動学的な研究についても述べた。

微小世界で動作する生体分子機械は、私たち人間よりも微小世界をより深く理解している生物が時間をかけて設計したものであると考えられる。その生体分子機械の性質を調べ、設計原理を明らかにすることが、微小世界をより深く理解することになり、結局はマイクロマシンの最適な設計へとつながる。

審査結果の要旨

マイクロマシンの本格的な実用化には、マイクロ理工学の進歩が不可欠である。本論文は、細菌の運動を解析することによって、微小世界の力学の特徴を明らかにすることを目的としている。具体的には、細菌のべん毛回転の測定手法を開発し、これを用いてべん毛回転数と遊泳速度を解析して微小世界に特有な現象を明らかにしている。本論文はこれらの研究成果をまとめたもので、全編7章よりなる。

第1章では、本論文の目的及び論文の構成について記述している。

第2章では、細菌運動と低レイノルズ数での流体力学、ブラウン運動について基礎的事項を整理している。

第3章では、細菌べん毛の回転を自然な状態で測定できる手法として開発した「レーザー暗視野顕微鏡」について述べている。なおべん毛回転の急激な変化は、この方法ではじめて発見された現象である。

第4章では、レーザー暗視野顕微鏡を用いて、単べん毛細菌の運動解析をおこなっている。つまり、遊泳速度とべん毛回転数を同時に測定し理論的な解析と比較した。その結果は従来の考え方で説明できるものであった。

第5章では、複数のべん毛を持つ周べん毛細菌で同様の解析をおこなった結果について述べている。実験と理論が一致しなかったが、この不一致は理論解析で用いたモデルに問題があったことを示しており、べん毛束の運動は微小世界特有の現象であることを示唆するものであった。

第6章では、べん毛を駆動するべん毛モーターの回転方向切り替えスイッチについて、遺伝学的・行動学的に解析をおこなっている。この結果は、人工の機械とは異なりべん毛モーターが確率的な動作を基本とすることを示している。

第7章は総括であり、本研究の成果をまとめ展望を述べている。

以上要するに本論文は、細菌運動の解析に不可欠なべん毛回転測定法を開発し、これを用いて細菌の運動を力学的な側面から解析したものであり、機械電子工学およびマイクロ理工学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士（工学）の学位論文として合格と認める。