

バクテリアのスウォーミング実験

Physics Lab. 2021 アクティブマター班

小宮山智浩、西村俊祐

2021 年 5 月 14 日

1 はじめに: この記事の概要と謝辞

この記事では、アクティブマター班で行った大腸菌のスウォーミング実験について解説します。大腸菌などの細長いバクテリアのスウォーミングは、アクティブマターの集団運動^{*1}として見ると、ある平面の上を自分で動く細長い形の粒子^{*2}の集まりであるとみなすことが出来ます。

バクテリアのスウォーミングを集団運動として捉えた研究は 2010 年に始まったばかり [1] で、まだまだ分かっていないことも多い新しい分野です。

私たちが行った実験では、大腸菌 (RP437 株) を用いて寒天の上を泳ぐ様子を顕微鏡によって観察しました。顕微鏡で動画を撮影し、particle image velocimetry (PIV) と呼ばれる画像処理手法を用いて速度場^{*3}を得ました。

さらにこの速度場を用いて相関関数というものを計算しました。これには空間的なものと時間的なものの二種類があり、前者では空間的に離れた点での向きの揃い具合が、後者では時間的に離れた点での向きの揃い具合がわかります。

今回の実験は東京大学理学系研究科物理学専攻の竹内研究室でさせて頂きました。竹内研究室の皆様、特に竹内研究室助教の西口大貴さんには班の活動全体を通じてお世話になりました。この場を借りて皆様に感謝申し上げます。

^{*1} 集団運動とは、自ら動く粒子が群れなどの集団で運動する事で生じるパターンなどを指します。例えば駅で人が乗換口に向かって皆一様に動く様子や、鳥の群れが編隊を組んだり、群れである方向に飛んだりする現象が挙げられます。[3]

^{*2} ここでは、着目する物理的な対象 (系と呼びます) を構成する一つ一つの要素を単に粒子と呼んでいます。

^{*3} 「場」とは、例えば高校で習う電場や磁場のように、各時刻に空間のそれぞれの点で、向きや大きさが定まった量のことを指します。

「速度場」の場合は、各時刻に各点を通過する粒子の速度を表しています。例えば、天気予報などで見かける風向きと風速が挙げられます。これは観測地点を通過する空気の分子の速度 (つまり風の速さと向き) を表していると考えられる事が出来ます。

2 スウォーミングとは

スウォーミング (swarming) は、細胞や微生物、昆虫、鳥、人間など様々な動物の集団が「集団運動」することを指します。[2] ここでは特に、べん毛を用いて泳ぐ細長い棒状のバクテリアの集団が一挙にコロニーを押し広げる現象であるバクテリアのスウォーミング (以下では単にスウォーミング) に注目します。

スウォーミングの特徴として、ただバクテリアが密集して泳ぐだけでなく、細胞の形態に変化が生じることが挙げられます。例えば、広い場所で泳いでいるバクテリアに比べ細胞の形状が細長くなったり、べん毛の数が増えたりと言った変化が起きていることが知られています。このような変化は、実際にどのような遺伝子が働いて細胞の形態が変化しているのかと言った分子レベルの研究から、スウォーミングが生存競争に有利であるのか否かと言った生態レベルの研究まで、生物学の様々な視点から研究が成されています。

さて、スウォーミングを物理学の視点から見ると、どのような事が言えるでしょうか。アクティブマター物理学^{*4}の視点から見ると、スウォーミングはアクティブマターの集団運動と見る事が出来ます。つまり、細長いバクテリアを棒状の自ら動く「自己駆動粒子」とみなして、その集団が成す運動を観察してみようという事です。

今回大腸菌で観察を行ったように、寒天培地の上を折り重なることなく泳いでいるバクテリアは、平面的に広がる寒天培地の上を運動しています。つまり、スウォーミングするバクテリアは縦、横のみで位置が定まる 2 次元の系 (物理学的に注目する対象) であると言えます。これはアクティブ乱流^{*5}や魚の群れ、鳥の群れなどの、縦、横、高さの方向を持った 3 次元空間を動く自己駆動粒子の群れとは一線を画す特徴です。そのため、スウォーミングは理論的研究の検証の対象としても注目されています。

スウォーミングをはじめとする自己駆動粒子の集団運動の現象を、理論的に記述する試みも盛んにおこなわれています。Vicsek らによる 1995 年の先駆的な研究 [4] を皮切りに、「非平衡統計力学」や「流体力学」を初めとする様々な分野で培われてきた手法を組み合わせたモデルが数多く提案されています。

ここでは理論モデルの具体的な内容については立ち入りませんが、Vicsek モデルや Toner-Tu モデルといった重要なモデルについてはそれぞれ「[アクティブマターとは何か](#)」と「[アクティブマターと液晶の物理学](#)」で解説していますので、興味のある方はそちらもご覧ください。

^{*4} アクティブマター物理学がどのようなものかについては、解説記事「[アクティブマターとは](#)」をご覧ください。

^{*5} アクティブ乱流については、アクティブマター班の解説記事「[アクティブ乱流について](#)」をご覧ください。

3 実験方法

3.1 大腸菌を育てて観察する

今回行った実験では、RP437 株という大腸菌を寒天の上にまいてコロニーを形成させ (図 1)、そのコロニーの縁を泳ぎ回る大腸菌を顕微鏡によって観察しました。コロニーのもととなる大



図 1 寒天上に形成された大腸菌のコロニー。画面中央の白い円環がコロニーの一部で、円環の外側に見えるもやもやとした部分を今回は観察した。

腸菌を培養するところから泳ぐ様子を観察するまでに、4 日間を要しました。実験の手順は以下の通りです。

1. LB (トリプトン、酵母エキス、塩化ナトリウムを含む大腸菌のエサ) を純水に溶かした液^{*6}中に大腸菌を入れる。
2. 37°C で一晩置く。
3. 培養液を希釈し、ペトリ皿上の柔らかい寒天培地 (寒天、LB、グルコースを溶かし固めたもの) に少量まく。
4. 30°C の多湿な環境で 36 時間置く。
5. 顕微鏡を用いて観察する。対物レンズは 40 倍の物を使用した。

その結果、図 2 のようにバクテリアが泳ぐ様子を動画で得る事が出来ました。動画はこちらの [リンク \(YouTube に移動します\)](#) からご覧ください。

^{*6} LB は Luria Broth の頭文字をとったもので、broth はブイヨンのことです。カップラーメンのスープのような匂いがします。

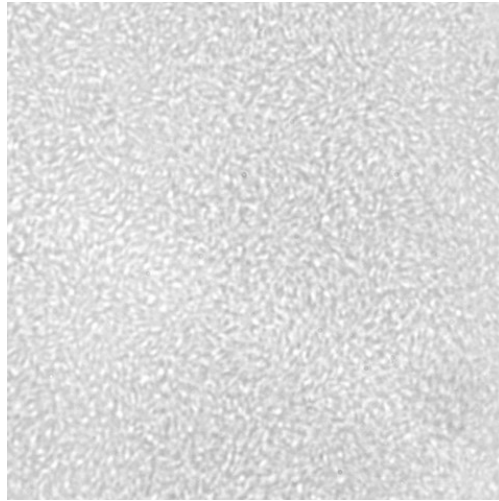


図2 顕微鏡によって撮影した大腸菌のスウォーミングの様子。画面の黒い棒状の点一つ一つが大腸菌である。

3.2 撮影した画像の解析

今回の実験では[リンク \(YouTube に移動します\)](#)のような動画を撮影することが出来ました。この動画を PIV と呼ばれる画像処理手法を用いて解析しました。^{*7}このソフトウェアを用いると、動画の隣り合うコマの画像の差から速度場、つまり各点を通り過ぎる粒子 (ここでは大腸菌) の速度を推定してくれます。

4 速度場の解析

4.1 解析の概要

実験データを PIVlab を用いて解析することにより、撮影した各フレーム上の点に対して速度場が定まりました。すなわち、 $v(x, y, t)$ という関数が得られました。ここで t は各フレームを、 x, y は各フレーム上での位置を表しています。

処理をした動画を見ると、渦を巻いて泳いでいる部分と集団で向きを揃えて泳いでいる部分 (以下ジェット [5] と呼びます) があることが確認できました。以下では得られた速度場を用いて大腸菌の活動に見られる秩序を調べていきます。そのためには、これを何らかの方法で定量的に述べる必要があります。

今回の実験においては、空間的、時間的な相関関数により秩序を評価することにしました。以下でその定義について述べていきます。

^{*7} [PIVlab](#) という画像解析ソフトウェアを使用しました。

4.2 時間相関関数の定義

まず時間的な相関関数について考えてみましょう。これは速度の大きさや向きが時間と共に変化していく様子を調べるための関数で、以下のような形をしています。

$$I(\Delta t) := \frac{\langle \mathbf{v}(x, y, t) \cdot \mathbf{v}(x, y, t + \Delta t) \rangle}{\langle \mathbf{v}(x, y, t) \cdot \mathbf{v}(x, y, t) \rangle} \quad (1)$$

ここで分母分子にある $\langle \cdot \rangle$ は、考えている各点 (x, y, t) での物理量を均一な重みで足し合わせたものです。左辺の引数が Δt となっているのは、これが時間差についての関数であるためです。^{*8}

次に、この関数が時間的な秩序を特徴付けることは以下のようにしてわかります。まず、定義より直ちに $I(0) = 1$ であることがわかります。もしも速度場が時間と共に変化せず一定であるとすると、任意の時間差で $I(\Delta t) = 1$ となります。これは相関がずっと長続きしている状況を表しています。一方で、1 フレーム後の速度場が元のフレームとは無関係に定まる場合には、

$$\begin{aligned} I(\Delta t) &:= \frac{\langle \mathbf{v}(x, y, t) \cdot \mathbf{v}(x, y, t + \Delta t) \rangle}{\langle \mathbf{v}(x, y, t) \cdot \mathbf{v}(x, y, t) \rangle} \\ &= \frac{\langle \mathbf{v}(x, y, t) \rangle \cdot \langle \mathbf{v}(x, y, t + \Delta t) \rangle}{\langle \mathbf{v}(x, y, t) \cdot \mathbf{v}(x, y, t) \rangle} \end{aligned} \quad (2)$$

となります。^{*9} ここで、さらに

$$\langle \mathbf{v}(x, y, t) \rangle = \mathbf{0} \quad (3)$$

つまりバクテリア全体での動きがないと仮定すると、 $\Delta t \neq 0$ に対して

$$I(\Delta t) = 0 \quad (4)$$

となります。すなわち、1 フレームごとに速度が無関係に定まり、かつバクテリア全体での動きがない場合には時間相関関数はすぐに 0 に落ちることになります。

ただしこの定義では、速度場が任意の点で時間発展と共に向きを変えなかった場合でも、速度の大きさが減少していくならば相関関数の値は減少していくことに注意する必要があります。

4.3 空間相関関数の定義

空間相関関数についても、時間相関関数と考え方は同様です。すなわち、

$$C(\Delta x, \Delta y) := \frac{\langle \mathbf{v}(x, y, t) \cdot \mathbf{v}(x + \Delta x, y + \Delta y, t) \rangle}{\langle \mathbf{v}(x, y, t) \cdot \mathbf{v}(x, y, t) \rangle} \quad (5)$$

^{*8} 例えば 5 枚のフレームから $I(\Delta t)$ という量を計算するためには、1 フレーム目と 4 フレーム目、2 フレーム目と 5 フレーム目の相関をそれぞれ計算し、これらを平均することになります。

^{*9} $\langle \mathbf{v}(x, y, t) \cdot \mathbf{v}(x, y, t + \Delta t) \rangle = \langle \mathbf{v}(x, y, t) \rangle \cdot \langle \mathbf{v}(x, y, t + \Delta t) \rangle$ という書き換えを行う際には、 $\langle \cdot \rangle$ として実験データの平均ではなく確率変数としての平均を用いる必要がありますが、ここでは近似的に上のように変形することにします。

のようにして定義します。時間相関関数の場合と異なり引数が2つあることに注意してください。右辺の分子は同時刻の異なる位置で計算されています。

4.4 時間相関関数の計算

実際に時間相関関数を計算した結果を見てみましょう。

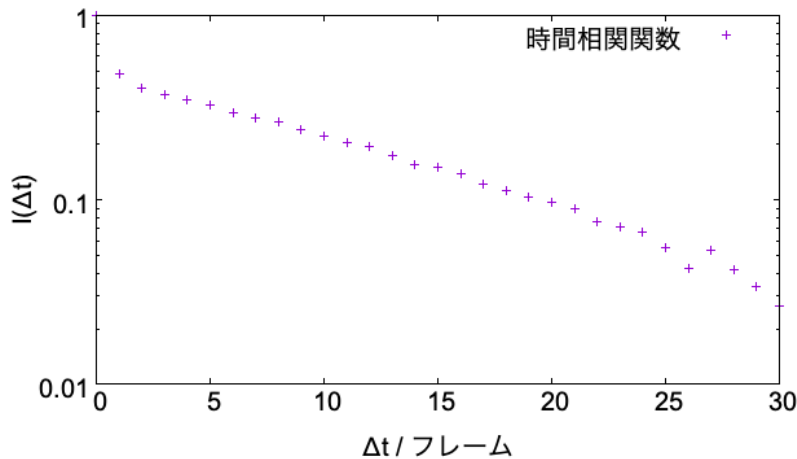


図 3 時間相関関数の計算結果

この図 3 における縦軸は対数目盛りになっています。このような目盛りでほぼ直線的に値が減少していくことから、おおよそ時間に対して指数関数的に相関がなくなっていくことがわかります。

4.5 空間相関関数の計算

まず渦の周りで空間相関関数を計算したグラフを見てみましょう。まずは計算に使用した渦を図 4 に示します。

図 5 および図 6 を見ると、原点では高さ 1 の山を作っていますが、原点から離れたところではマイナスの値に落ちていることがわかります。このことは以下のように考えてみると納得することができます。渦において、ある点と原点を挟んだ向かい側の点では速度は反対向きになっているはずで、それゆえ、二点における速度の内積によって計算される空間相関関数は負の値になります。

続いてジェットができている場所での空間相関関数を見てみましょう。図 7 にできているジェットを用いて計算します。

図 8 に示す通り、結果は Δy 軸方向に相関が長く続き、 Δx 軸方向では相関がすぐに消えています。これはジェットが y 軸に沿って進んでいくことを考えると納得できます。さらに、 Δx 方

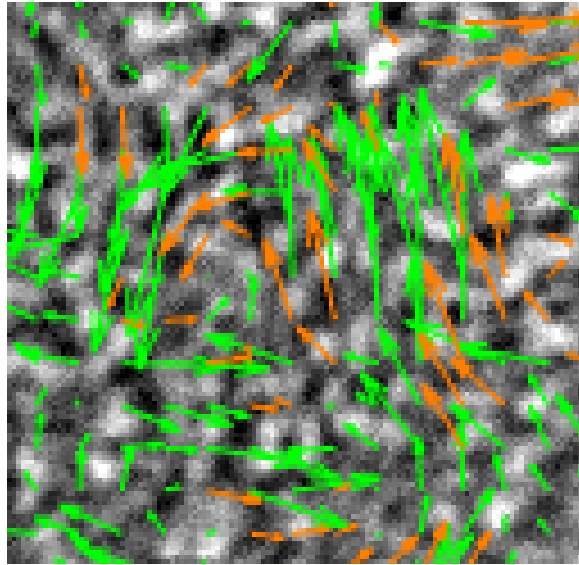


図4 計算に用いた渦

渦周辺での空間相関関数 +

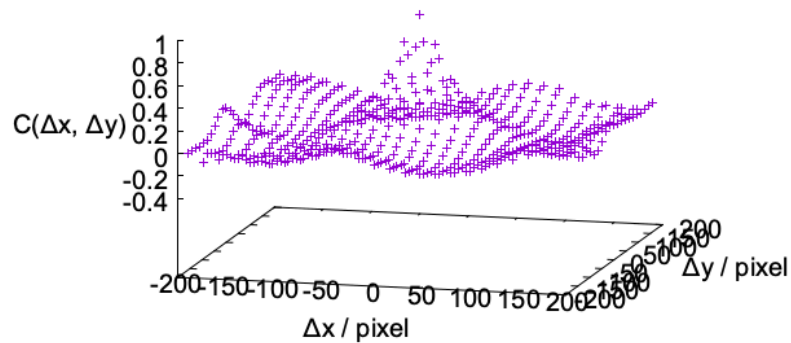


図5 渦周辺での空間相関関数の計算結果

向に進んでいくと値が大きく負に落ち込んでいる箇所がありますが、これは異なるジェット同士のすれ違いによるものだと考えられます。

続いて渦もジェットもできていない箇所での空間相関関数を計算したグラフを見てみましょう。

図9および図10を見ると、やはり山形で相関が小さくなっていくことがわかります。ただし今回の場合は負の値にまで落ちている箇所はほとんどありません。

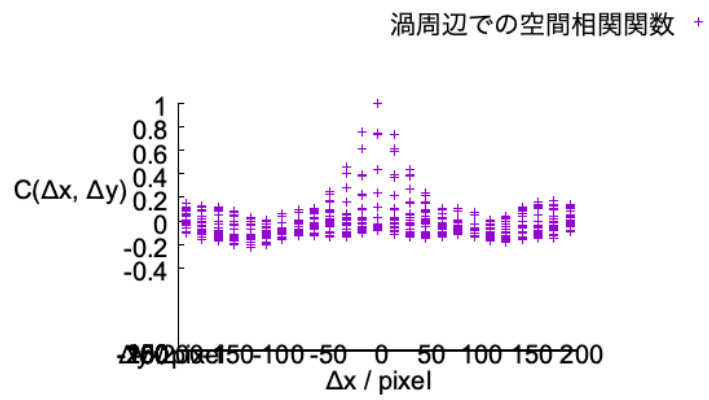


図 6 渦周辺での空間相関関数の計算結果を Δy 軸負方向から見た図

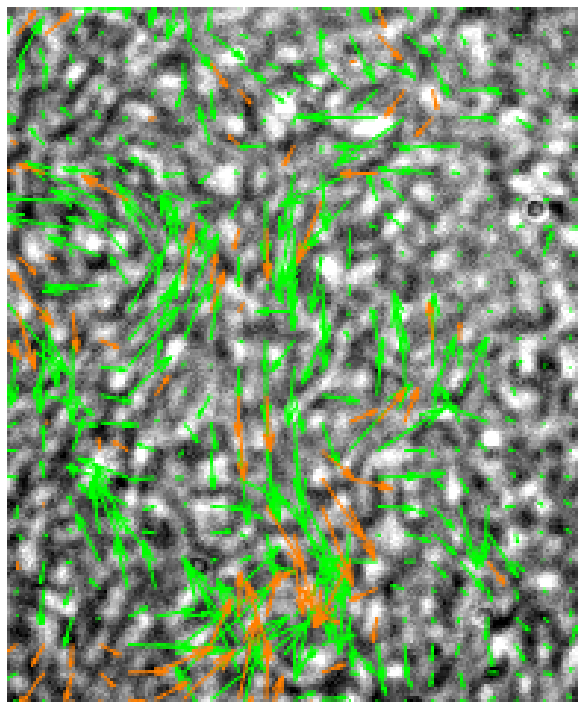


図 7 計算に用いたジェット

空間相関関数 +

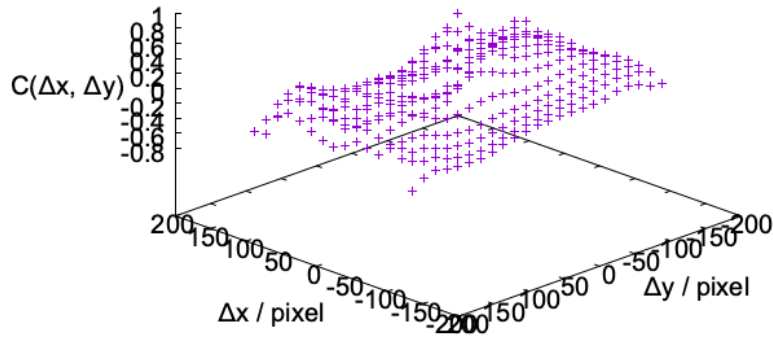


図 8 ジェット周辺での空間相関関数の計算結果

空間相関関数 +

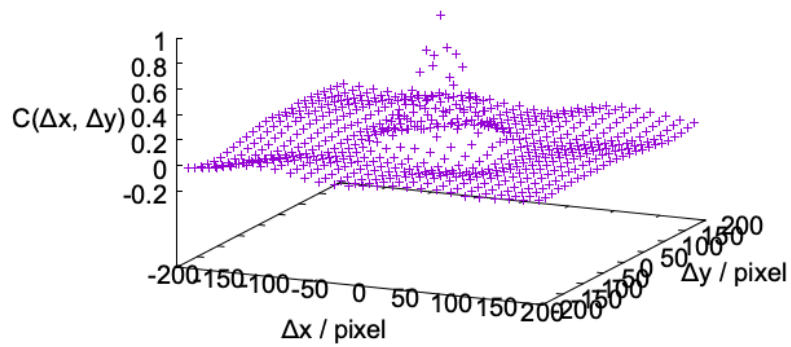


図 9 空間相関関数の計算結果

5 終わりに

5.1 実験のまとめ

今回私達が行ったスウォーミング実験では、大腸菌 RP437 株を寒天培地にまくことで大腸菌がひしめき合って泳ぐスウォーミングを観察することが出来ました。観察した映像を PIV と呼ばれる手法で解析して速度場を得ました。さらに速度場を利用して相関関数を計算し、渦やジェットの振る舞いについて考えました。空間相関関数と時間相関関数により、それぞれ空間的に離れた点と時間的に離れた点での向きの秩序について調べました。

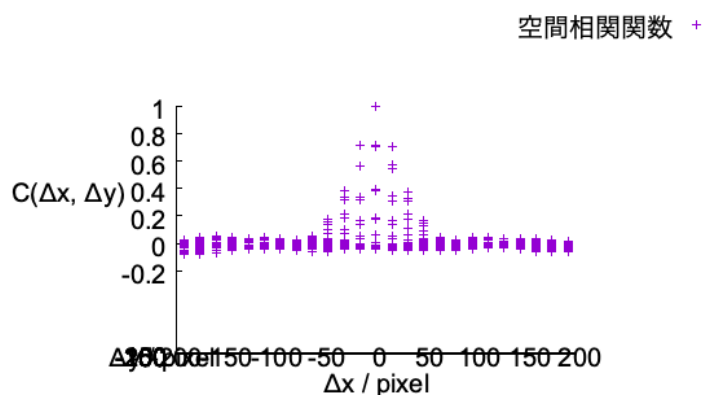


図 10 空間相関関数の計算結果を Δy 軸負方向から見た図

5.2 興味を持った人への文献案内

アクティブマター班の発表を見て興味を持っていた方に向けて、アクティブマター物理学にかかわる資料をいくつか紹介します。

まず、入門的な動画として、YouTube で話題の [ヨビノリたくみさんのチャンネル](#) を紹介します。統計力学や流体力学の入門的な内容が取り上げられています。その他の分野の動画も多数あるようですので、気になった方は見てみると良いでしょう。また、このチャンネルの学術対談企画で竹内研究室助教の西口大貴さんがアクティブマターについて紹介した動画がありますので、アクティブマターについてもっと知りたい方はまずはこちらをご覧くださいと思います。([学術対談その 1](#)、[学術対談その 2](#))

5.2.1 アクティブマター物理学の文献

アクティブマター物理学は新しい研究分野でいわゆる教科書はまだありませんが、日本語の解説文や講義スライドとして例えば

- 西口大貴, 佐野雅紀. (2016). [自己駆動粒子の集団運動](#). 数理科学 54(1), pp. 39-45.
- 石本健太. (2020). [微生物流体力学：基礎理論からの展開](#). 第 18 回関東非線形非平衡バイオソフトマターセミナー.

が挙げられます。前者はアクティブマター班で取り扱った集団運動を取り上げています。後者は微生物の一匹の泳ぎ方に着目した内容になっています。その他にも文献が多数公開されていますので、検索してみてください。

参考文献

- [1] Darnton, N., et al. (2010). Dynamics of Bacterial Swarming. *Biophysical Journal* 98(10). pp. 2082-2090. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.01.053>.
- [2] Be'er, A. & Ariel, G. (2019). A statistical physics view of swarming bacteria. *Mov Ecol* 7, 9. <https://doi.org/10.1186/s40462-019-0153-9>
- [3] 西口大貴, 佐野雅紀. (2016). 自己駆動粒子の集団運動. *数理科学* 54(1), pp. 39-45.
- [4] Vicsek, T., et al. (1995). Novel Type of Phase Transition in a System of Self-Driven Particles. *Phys, Rev. Lett.* 75, 1226. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.75.1226>
- [5] Zhang,H.P., et al.(2009). Swarming dynamics in bacterial colonies. *EPL* 87, 48011.