

中央大学博士論文

微視的観察に基づく  
バクテリア秩序形成機構の研究

本田 良二郎

博士（理学）

中央大学大学院  
理工学研究科  
物理学専攻

令和元年度  
2019年7月

## 概要

生物の集団運動は科学者をはじめ多くの人々を魅了する。大空を舞う鳥の群れ、大海原を回遊する魚の群れ、大草原を横断する有蹄類の群れなど、野生に生きる多くの生物が群れを形成する。物理学として興味深いことは、生物が共生する中で群れがごく自然に生まれ、生物単体の行動からは思いもよらない集団的振る舞いを示すことである。そのような自発的に生じる協調的振る舞いは、統計物理学における協力現象の相転移を想起させる。それゆえ生物の集団運動に対して統計物理学的な視点からアプローチすることは、これまでになかった新しい知見を得るための、1つの有効な手段であると考えられる。

生物の集団運動を調べるための理想的な系の1つに、バクテリア・コロニーがある。バクテリアは単細胞生物であることから、単体として最も単純な振る舞いを示す生物のうちの1つであると考えられる。バクテリアを寒天培地上に接種し適切な環境下で培養すると、成長と分裂を繰り返して増殖することにより、2次元平面上を広がっていく。このようにして形成されるバクテリア・コロニーは、環境条件に応じて多様な形態を示すことが知られている。

本研究では、バクテリアを用いた最もシンプルな生物系において観察される、動的なパターン形成の理解を試みた。この実験系では、環境条件やスケールを変えて調べることにより、バクテリアという単細胞生物の単純さからは想像もつかないほど複雑で多様なパターンが形成される。我々は、バクテリア1匹1匹が動き回り、成長し、増殖するという性質をうまくコントロールすることにより、様々なパターンを作り出すことが出来る。すなわち、菌の運動性や増殖率を抑制すれば非生物系と共通のパターンが形成され、逆に、それら生物的特性の発現を促すことができれば、生物系固有のパターンが生じるのである。

第I部では、バクテリア・コロニーの形態形成に関する先行研究を紹介し、環境条件として与えられる2つのコントロールパラメーター  $C_a$  と  $C_n$  に依存して、バクテリア・コロニーが多様なパターンを示すことを説明する。そしてその微視的な観察からは、マイクロあるいはメソスケールで生じる構造が、マクロなコロニーのパターンを形づくる際に重要な役割を果たしていると考えられることを示す。第II部では、芽胞状態で単体で存在する菌細胞が紐状成長する様子を観察し、その空間構造がどのように変化していくかに焦点をあてた。成長のごく初期では、力学的なメカニズムに基づき折り畳み構造が生じていると思われた。フラクタル次元を見積もると、パターンが空間を占める次元が1次元から2次元へ遷移し、折り畳みが生じることで空間的に広



がりを持つ成長へ変化していることがわかった。また、紐が折り畳まれた部分の長さを測り、微分方程式系を用いて解析することにより、1重から2重、2重から4重への遷移率が非常に近い値であることがわかった。このことは、伸長する紐状構造の折り畳みの遷移が何らかの普遍性を有する可能性を示唆していると考えられた。第III部では、円形プール内におけるバクテリア集団運動が秩序状態を形成するメカニズムを調べた。この系の振る舞いは、換算菌体長  $\lambda$  と菌密度  $\rho$  という2つのコントロールパラメーターにより特徴づけられる。菌集団の系を調べることにより、集団の秩序が  $\lambda$  に依存して転移することを示すことができた。他方、菌単体の系では、菌細胞の運動が  $\lambda$  に依存して変化の様子は確認できなかった。しかし菌単体の系の結果は、菌細胞の振る舞いとその個体の平均の遊泳速度に依存していることを示していた。さらに菌単体の系の詳細な観察から、菌細胞の運動方向の切り替えが培地表面のノイズに起因し、速度分布がその方向転換の頻度を反映していると考えられることを示した。ゆえに、菌細胞の平均速度の大小は、その系にノイズが多く存在するかを測る指標とみなすことができた。その結果、菌単体の系の秩序が系に存在しているノイズの強さに依存することがわかった。このことは、菌集団の系においても系自体にノイズが含まれていることを示唆する。だがそのような環境下においても、菌集団の系では  $\lambda$  が増加すると集団の運動方向の秩序が高まる様子が確認されていたので、これはこの系の集団運動においては菌同士の相互作用がノイズに比べてより強い影響を与えることを意味していると考えられた。したがって、菌同士の相互作用こそが、この系の集団の秩序形成において主要な要因であると結論づけることができた。さらに、その菌同士の相互作用の強さの変化は、 $\lambda$  の増減によりもたらされる。微視的なスケールでの観察からは、 $\lambda$  の増加が隣り合う菌同士の配向を揃える効果を与える様子が確認できる。この意味で  $\lambda$  は相互作用半径に相当する量であるとみなすことができる。以上より、この系で観察される秩序状態の鋭い変化は、細菌集団の相互作用半径を変化させることにより引き起こされた転移であると結論付けることができた。

# 目次

<b>第 I 部 序論</b>	<b>8</b>
1 <b>細菌の基本的性質</b>	<b>8</b>
1.1 試料細菌 <i>Bacillus subtilis</i> について . . . . .	8
1.2 細胞分裂による個体数の増殖について . . . . .	9
2 <b>細菌・コロニーの形態形成に関する研究</b>	<b>11</b>
2.1 <i>Bacillus subtilis</i> (枯草菌) のモルフォロジー・ダイアグラム . . . . .	11
2.2 様々な菌種のモルフォロジー・ダイアグラムと細菌・コロニー . . . . .	17
2.3 特定の菌種や変異株を用いた場合に見られる特徴的な細菌・コロニー . . . . .	20
2.4 細菌・コロニーとランダムパターン形成 . . . . .	24
<b>第 II 部 折り畳みを伴う細菌紐状成長の研究</b>	<b>26</b>
1 <b>研究の背景</b>	<b>26</b>
2 <b>実験方法</b>	<b>27</b>
2.1 実験の流れ . . . . .	27
2.2 寒天培地の作成方法 . . . . .	27
3 <b>実験結果</b>	<b>29</b>
3.1 折り畳みを伴う紐状成長過程 . . . . .	29
3.2 初期成長過程のパターンによる分類 . . . . .	29
3.3 観察結果の定量化 . . . . .	29
4 <b>折り畳みが生じるパターン</b>	<b>34</b>
4.1 フラクタル次元の求め方 . . . . .	34
4.2 フラクタル次元の解析 . . . . .	37
5 <b>実験データの解析</b>	<b>40</b>
5.1 細菌の増殖を表すモデル . . . . .	40
5.2 微分方程式系とその解 . . . . .	40

5.3	非線形フィッティング . . . . .	44
6	<b>解析結果と考察</b>	46
6.1	遷移率の計算 . . . . .	46
6.2	$\beta \rightarrow \gamma$ での $l_1^{(1)}(t), l_2^{(1)}(t), l_{3+}^{(1)}(t)$ の振る舞い . . . . .	47
<b>第 III 部 円形プール内における バクテリア集団運動の研究</b>		50
1	<b>研究の背景と目的</b>	50
1.1	自己推進粒子系に関する研究 . . . . .	50
1.2	バクテリア集団運動に関する先行研究 . . . . .	56
1.3	本研究の目的 . . . . .	61
2	<b>実験方法</b>	62
2.1	実験の流れ . . . . .	62
2.2	寒天培地の作成方法 . . . . .	64
3	<b>実験結果</b>	65
3.1	<i>random motion</i> から <i>one-way rotational motion</i> への転移 . . . . .	65
3.2	cell-boundary interaction の効果と運動方向の揺らぎ . . . . .	69
4	<b>議論</b>	74
<b>第 IV 部 総括</b>		79
<b>付録 A 第 II 部に関する補足</b>		82
A.1	式 (21) の 0 次近似解 $l_2^{(0)}(t), l_{3+}^{(0)}(t)$ の $\gamma \rightarrow \beta$ の計算 . . . . .	82
A.2	式 (23) の重積分 $I^{(1)}(t; t_*, a_1), I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1), I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$ の $\gamma \rightarrow \beta$ の計算 . . . . .	83
A.3	$J^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1), J^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$ において $a_2 = -\alpha(\gamma - \beta)$ である 場合の $\gamma \rightarrow \beta$ の計算 . . . . .	89
<b>付録 B 第 III 部に関する補足</b>		92

B.1	円形プールの形状について . . . . .	92
B.2	動径方向の秩序状態について . . . . .	95
B.3	秩序変数 $Q$ の菌密度 $\rho$ 依存性について . . . . .	97
B.4	菌集団の系の速さ分布と平均遊泳速度について . . . . .	98
	<b>謝辞</b>	100
	<b>参考文献</b>	102

## はじめに

生物の集団運動は科学者をはじめ多くの人々を魅了する。大空を舞う鳥の群れ、大海原を回遊する魚の群れ、大草原を横断する有蹄類の群れなど、野生に生きる多くの生物が群れを形成する。物理学として興味深いことは、生物が共生する中で群れがごく自然に生まれ、生物単体の行動からは思いもよらない集団的振る舞いを示すことである [1-11]。そのような自発的に生じる協調的振る舞いは、統計物理学における協力現象の相転移を想起させる。それゆえ生物の集団運動に対して統計物理学的な視点からアプローチすることは、これまでになかった新しい知見を得るための、1つの有効な手段であると考えられる。

生物の集団運動を調べるための理想的な系の1つに、バクテリア・コロニーがある。バクテリアは単細胞生物であることから、単体として最も単純な振る舞いを示す生物のうちの1つであると考えられる。バクテリアを寒天培地上に接種し適切な環境下で培養すると、成長と分裂を繰り返して増殖し、2次元平面上を広がっていく。このようにして形成されるバクテリア・コロニーは、環境条件に応じて多様な形態を示すことが知られている。

本論文では、バクテリア・コロニー内部で観察される、微視的なスケールで生じる構造に焦点を当てた2つの研究成果を報告する。そのうちの1つは、芽胞単体から発芽後、自己伸長と折り畳みを繰り返して2次元平面上を覆い尽くしていくバクテリアの初期の成長過程である。この研究では、そのような折り畳み過程の空間構造が時間的にどのように変化していくのかを調べた。もう1つは、寒天平面上の窪みにトラップされたバクテリアがその内部で集団的に遊走する振る舞いである。普段個々独立に運動しているようにみえるバクテリアが、集まると集団的に秩序だった振る舞いを示す様子は協力現象の一種とみなすことが可能であるように思われる。この研究では菌集団の系と菌単体の系の振る舞いの比較および近体調を変化させることにより、菌同士の相互作用の有無や相互作用の仕方の違いが集団の秩序形成にどのように影響を与えるかについて調べた。本研究では、上記のような、バクテリアを用いた最もシンプルな生物系において観察される、動的なパターン形成の理解を試みた。菌1匹1匹が動き回り、成長し、増殖するという性質をうまくコントロールすることにより、集団として相互作用しあう場合に、パターンがどのように変化するかを詳しく調べることが出来た。そして個体の性質と集団の振る舞いを関連付けて議論する際には、統計物理学的アプローチが大変有効であった。

本論文の構成は以下に示す通りである。第I部では、本研究で用いたバクテリアの基本的性質と、バクテリア・コロニーに関する先行研究を導入として与えた。第II部では、バクテリア紐状成長の折り畳み成長過程の研究結果を示し、1次元構造から折り畳みが生じることで空間的に広がりをもつ2次元構造へ変化することを明らかにする。第III部

では, 円形プール内におけるバクテリア集団運動の研究成果を示し, 微視的なスケールにおける菌同士の相互作用の有無やその相互作用の仕方の違いが, 集団の秩序形成に大きな影響を与えることを明らかにする. そして最後の第四部を本論文の総括と展望に充てる.

# 第 I 部

## 序論

### 1 バクテリアの基本的性質

本研究を通して、実験には菌株 *B. subtilis* を用いた。ここでは、一般的に知られている、その基本的性質について説明する。

#### 1.1 試料バクテリア *Bacillus subtilis* について

本論文で行った実験では、研究室で培養している枯草菌 *Bacillus (B.) subtilis* の野生型 OG-01 株から分離培養した菌を用いた。一般に、*B. subtilis* は細長い棒状の菌体をしており、周毛性鞭毛を持つ。環境条件にも依るが、代表的な大きさは径がおおよそ  $0.5 \mu\text{m}$  で長さが  $2 \mu\text{m}$  程度である。このような棒状の細菌を桿菌と呼び、対して球形の丸い形をした細菌を球菌と呼ぶ。鞭毛とは細長い毛状の運動器官である。菌体の様々な場所から鞭毛が生えている構造を周毛と呼ぶ。その他に、鞭毛が一本しか無い場合を単毛、菌体の一端から鞭毛の房が生えている場合を叢毛、菌体の両端から 1 本ずつ鞭毛が生えている場合を両毛と表現して区別する。*B. subtilis* は、鞭毛を束ねて回転させる事により推進力を獲得していると考えられている。ただし、細菌のスケールではレイノルズ数が低く水の粘性が高いため、細菌にとっては水が蜂蜜のような粘度の高い流体に感じられていると思われる。ゆえに、水中を遊泳する際は、自らをねじ込むようにして前進していると考えられている。*B. subtilis* の特性として、栄養が少なく乾燥した厳しい環境下では、芽胞を形成する事が知られている。この芽胞状態では極めて高い耐久性を持つため、菌の完全な不活性化には専用の滅菌処理を必要とする。

生物学的には、グラム陽性菌に分類される。この分類はグラム染色という手法によるものであり、細菌類を染色することにより 2 種類に大別することができる。この手法では、紫色に染色された場合はグラム陽性、赤色に染色された場合はグラム陰性と識別される。この染色性の違いは細胞壁の構造の違いに起因する。細胞壁は細胞膜の外側に形成される層状組織であり、浸透圧に対する耐久性を有し、骨格として菌体の体を支える役割も担っている。グラム陽性菌の細胞壁の厚さは、グラム陰性菌に比べてはるかに厚みをもつことが知られている。

## 1.2 細胞分裂による個体数の増殖について

栄養の供給のされ方の違いにより、液体中か寒天培地平面上かでバクテリアが経る増殖過程は異なると考えられる。そこで、まず一般的な液体中での培養における増殖過程について説明し、その後本研究で対象としている寒天培地平面上での場合を説明する。

実験室での液体中の細菌培養においては、その増殖過程を表現するのに増殖曲線が用いられる。これは菌の個体数と培養時間の関係を模式的に表したもので、誘導期、対数期（指数増殖期）、定常期、死滅期により構成される。それぞれの期間の特徴は次の通りである。

- **誘導期 (lag phase)**

培地接種後のしばらくの間は、菌は細胞分裂の準備をするために培地上の個体数が変化しない期間を指す。

- **対数期 (log phase)**

指数増殖期とも呼ばれる。菌が細胞分裂を始め、個体数は指数関数的に急速に増加する。片対数プロットした場合に直線になる期間を指す。つまり、その直線の傾きで表される増殖率が一定である期間といえる。

- **定常期 (stationary phase)**

対数期で個体数が急激に増えると、栄養不足や過密のために死滅する個体が生じるようになる。すると、やがて増殖率と死滅率が平衡状態へ至り、生存個体数が一定値となる期間が存在する。この期間を定常期と呼ぶ。

- **死滅期 (death phase)**

定常期で一定時間経過すると、死滅率が増殖率を上回るようになり生存個体数が減少する方向へ向かう。これが最終的な段階であり、この期間を死滅期という。

他方、寒天培地平面上で培養する場合、コロニーには2次元的に栄養が供給されるため、そのほとんどがコロニー先端で消費され、内側への供給量は少なくなると考えられる。ゆえに細胞分裂の頻度はコロニーの界面近傍ほど高く、個体数の増殖率も高くなるはずである。よって、バクテリア・コロニーのような2次元平面上での菌細胞の増殖過程は、図1に示したような単一の増殖曲線では表すことができないと考えられる。ただし、コロニーが成長している間は、界面近傍においては個体数が指数関数的に増大していると思われる。図2には、寒天培地平面上で芽胞単体から発芽した *B. subtilis* が成長を始めたスナップショットを示した。これはちょうど、発芽後180分が経過したときの様子である。ここから数時間の間は、細胞分裂により指数関数に個体数を増やし続ける。この成長過程については第II部で扱う。



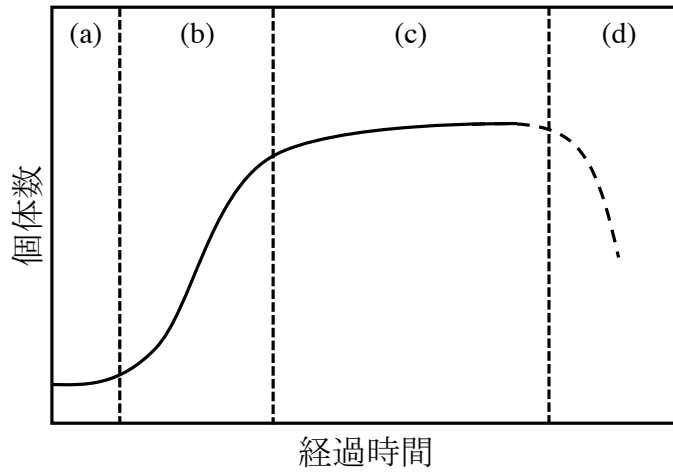


図1 液体中での細菌培養における増殖曲線の模式図. 細菌の増殖過程は (a) 誘導期, (b) 対数期, (c) 定常期, (d) 死滅期という4つの期間に分けられる.



図2 寒天培地平面上で芽胞単体で存在した *B. subtilis* が成長する様子. 発芽後180分が経過したときのスナップショットを示している.

## 2 バクテリア・コロニーの形態形成に関する研究

バクテリアを対象とした物理学的な研究は、マクロな視点からのバクテリア・コロニーの形態形成の研究が盛んに行われてきた。菌を培養する培地の固さを表す寒天濃度  $C_a$  と、栄養の高さを表す栄養濃度  $C_n$  という2つの環境条件をコントロールパラメーターとした時、これらのパラメーターの組み合わせに応じて様々な形のコロニーが形成されることが報告されている。形成されるコロニーのパターンをコントロールパラメーターと関連付けて整理するためには、モルフォロジー・ダイアグラムを用いるのが便利である。これにより、視覚的にそれらの関連性を把握することができるだけでなく、異なる菌種を用いた場合との比較が容易になる。ここではまず、*B. subtilis* のモルフォロジー・ダイアグラムを例に挙げて説明し、その後様々な菌種のバクテリア・コロニーの特徴を説明する。

### 2.1 *Bacillus subtilis* (枯草菌) のモルフォロジー・ダイアグラム

モルフォロジー・ダイアグラムは、横軸に寒天濃度  $C_a$  の逆数、縦軸に栄養濃度  $C_n$  を取り、各パラメーターに対応するバクテリア・コロニーのパターンを分類した相図である。この両軸は寒天培地作成時の初期条件としてのコントロールパラメーターの値を表し、相図右側ほど培地が柔らかく、相図上側ほど栄養が豊富であることを表している。相図両軸の値の大小をコロニーの広がり方と関連付けて解釈すると、横軸は菌の運動性、縦軸は細胞分裂による増殖の頻度を表す量であるとみなせる。すなわち、相図右側ほど菌の運動性が高く、相図上側ほど単位時間あたりの個体数の増加が激くなる環境条件であることを意味する。

*B. subtilis* を用いたバクテリア・コロニーの形態形成の研究では、5種類のパターンが発現することが報告されている。図3は *B. subtilis* のバクテリア・コロニーのモルフォロジー・ダイアグラムである [14]。コロニーのパターンはそれぞれ、DLA パターン (A 領域)、Eden パターン (B 領域)、同心円状パターン (C 領域)、ディスク状パターン (D 領域)、DBM パターン (E 領域) と分類されている。領域 A, B では培地が固いために菌の運動性が抑制されており、巨視的なコロニーの形成には数日から数週間が必要である。他方、領域 C, D, E のパターンは数時間から1日で巨視的なサイズにまで成長することから、これらの領域では菌の運動性が反映されていることがわかる。各領域で形成されるパターンの特徴は次の通りである。

- **DLA パターン (領域 A)**

拡散律速凝集 (Diffusion Limited Aggregation, DLA) モデルにより説明される。DLA モデルは低濃度のブラウン運動する粒子 (拡散粒子) が不可逆的にクラスターに付着・凝集して成長する過程を記述するために、1981 年に Witten と Sander により提唱された。成長規則は、核となる粒子に十分遠方から粒子をブラウン運動させ、次々と付着させるものである。このような拡散に支配された成長では、一度突出した構造が形成されると、その突起は益々成長しやすくなる。突起部分が成長して大きくなると、その表面に小さな突起が生じることにより、枝分かれを引き起こす。そして成長が遅れた箇所はより一層成長しにくくなり、やがて成長が止まる。このように、DLA は突起の形成とその不安定化による枝分かれを繰り返して成長する。ゆえに時間の経過とともに複雑な枝分かれ構造を伴うパターンが出現する。確認されている現象として、成長する枝同士が隣合う時、成長確率がわずかでも高い枝が成長し、もう一方の枝の成長は遮られるというものがある (遮蔽効果)。この成長確率は、クラスター界面上での拡散粒子の濃度勾配から定まる。また、初期条件として 2 つの核を設置すると、核から成長した 2 つのクラスターは互いに反発し合う様子が確認されている (反発効果)。 *B. subtilis* の実験では、DLA モデルにおいて見られる遮蔽効果、反発効果が確認されている。また、*B. subtilis* の DLA パターンのフラクタル次元の計測結果はおおよそ 1.7 であり、これは DLA モデルの数値シミュレーションで調べられたフラクタル次元 1.71... とほぼ一致している。DLA モデルにおける拡散粒子の濃度勾配は、バクテリア・コロニーにおいては栄養勾配に関係していると考えられている。

- **Eden パターン (領域 B)**

反応律速的成長の Eden モデルにより説明される。このモデルは癌細胞の増殖過程を説明するために 1961 年に Eden によって導入された。Eden モデルは、核となる 1 粒子のクラスターからスタートし、各時刻でクラスターの最近接サイト全てが等しい占有確率を持つという条件の下で、時々刻々とクラスターが拡大していくモデルである。したがって、界面の成長確率は、その形状によらず一様である。図 5 に示すように、コロニーの界面を観察すると、紐状に連結した菌の伸長と折り畳まれたような構造が確認できる。その界面は自己アフィン性を有しており、これを特徴づける荒さ指数はおおよそ 0.78 であることが報告されている [37]。

- **同心円状パターン (領域 C)**

菌の接種点を中心とした同心円状パターンが形成される。このコロニーを観察すると、lag-phase の後、2 つの成長状態を繰り返して広がる様子が確認できる。1 つ

は、細胞分裂による増殖を伴いつつも、菌集団が活発に前進し、コロニーの前線が進行する状態である。この成長状態が観察される期間を migration phase と呼ぶ。もう 1 つはコロニー成長界面の進行が停滞し、細胞分裂による増殖に集中する状態である。この期間を consolidation phase と呼ぶ。特に、lag phase 後の最初の migration phase を 1st migration phase と呼び、続く consolidation phase を 1st consolidation phase と呼ぶ。その後は成長段階毎に、2nd, 3rd... と分類する。ある成長段階における系の migration phase と consolidation phase への滞在時間をそれぞれ migration time と consolidation time と呼ぶことにすると、これらは  $C_a$  に依存し、 $C_n$  には依存しない。migration time は  $C_a$  の弱い減少関数であり、consolidation time は  $C_a$  の弱い増加関数である。しかしながら、migration time と consolidation time の総和時間は成長段階に依らず一定である [31]。同心円状パターンで観察される界面の進行と停止のサイクルには、クオラムセンシングと呼ばれる、菌が周囲の個体の密度を感知する機構が関連していると考えられている。この機構については文献 [52–54] 等で言及されている。

- **ディスク状パターン (領域 D)**

菌の接種点から等方的に広がる円形のパターンが形成される。領域 C の同心円状パターンと異なるのは、界面がほぼ一定速度で広がり、薄い円形のコロニーのみが観察される点である。これは微視的には、領域 C の consolidation phase においては菌が増殖すると 2 層、3 層と積層し、これが巨視的には濃い同心円状の模様に見えるのに対し、領域 D の場合は積層せず、1 層のままコロニーが広がり、空間的な密度がほぼ一様であることに起因する。ディスク状パターンの広がり方は、反応拡散方程式の 1 種であるフィッシャー方程式 (Fisher's equation) に従うことが確認されている。

- **DBM パターン (領域 E)**

菌の接種点から等方的に、ランダムに密に枝分かれしたパターンが形成される。枝の先端部の成長速度はほぼ等しく、先端部を繋いだ外周は、極めて円形に近い輪郭を描く。 $C_n = 0.5$  g/l,  $C_a = 5$  g/l の環境条件の下での枝幅はおよそ 160  $\mu$ m 程度であり、枝同士の間隔も同程度である [14]。一度分岐した枝同士は再び衝突することではなく、成長が遅れた枝は成長が止まる。これは DLA パターンでも見られた遮蔽効果と考えられる。DBM パターンに特有の現象として、枝の先端では菌が凝集し、あたかも爪のように見える構造が確認されている。コロニー全体が螺旋のように渦巻く場合もあり、この爪構造の運動がコロニーの旋回方向に影響する可能性がある。

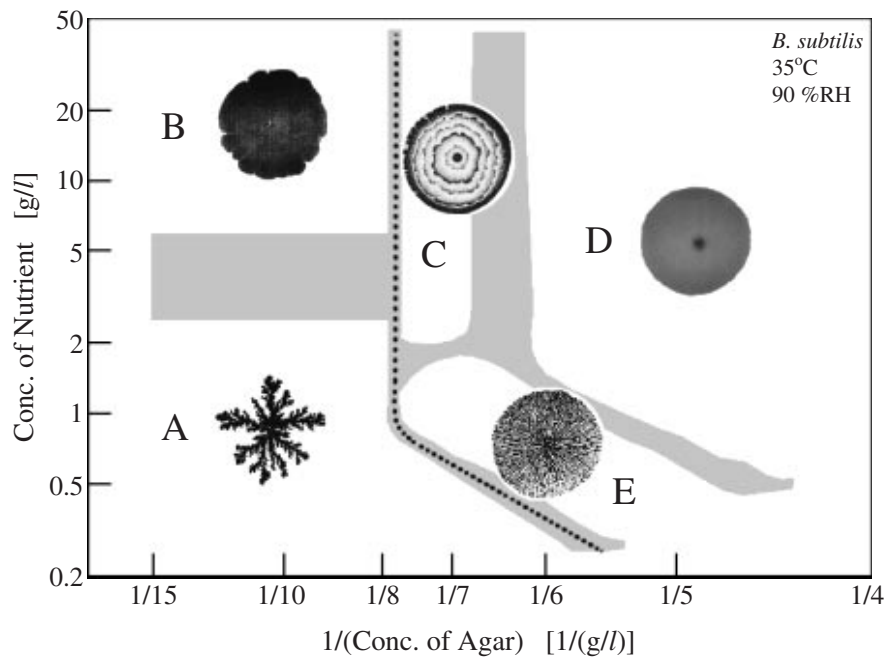


図3 *Bacillus subtilis* のモルフォロジーダイアグラム [14]. 中央を縦に横断する点線は、バクテリアの運動性の有無の境界を表し、右側では運動性がある. 文献 [14] の図を引用.

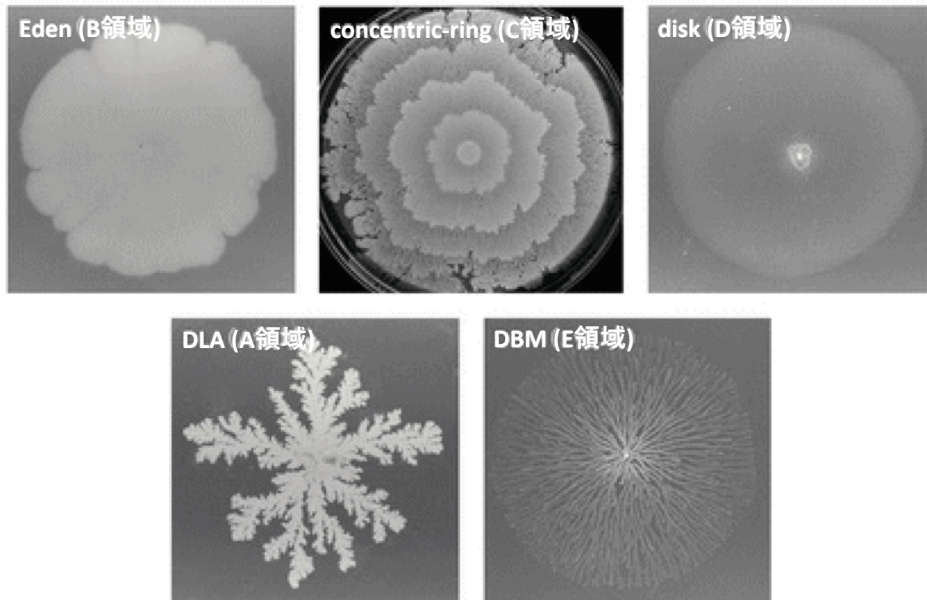


図4 *Bacillus subtilis* の5種類のバクテリア・コロニー [14]. 文献 [14] の図を一部修正して引用.

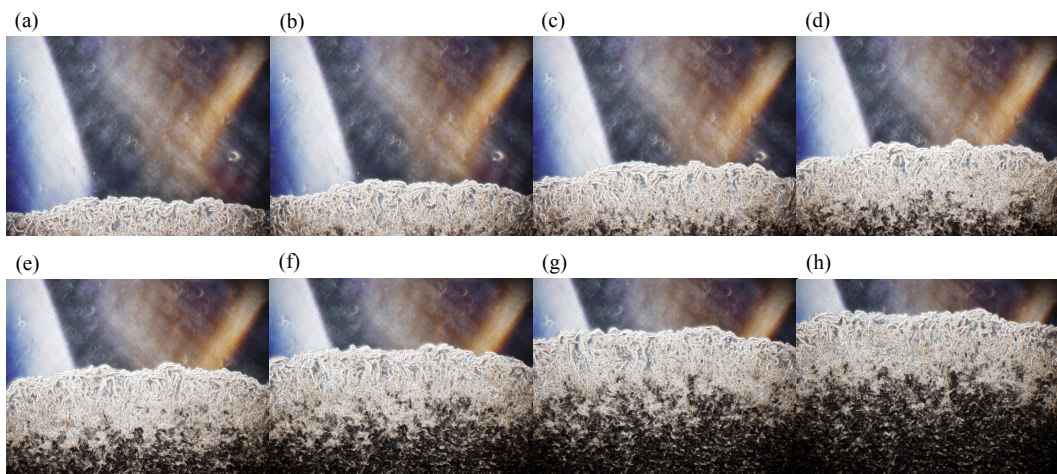


図5 領域Bで観察されるEden状コロニーの成長先端. 倍率1.25倍で20分毎の成長をタイムラプス撮影した. このEden状コロニーの成長先端では, 折り畳まれた菌の紐状構造が確認できる.



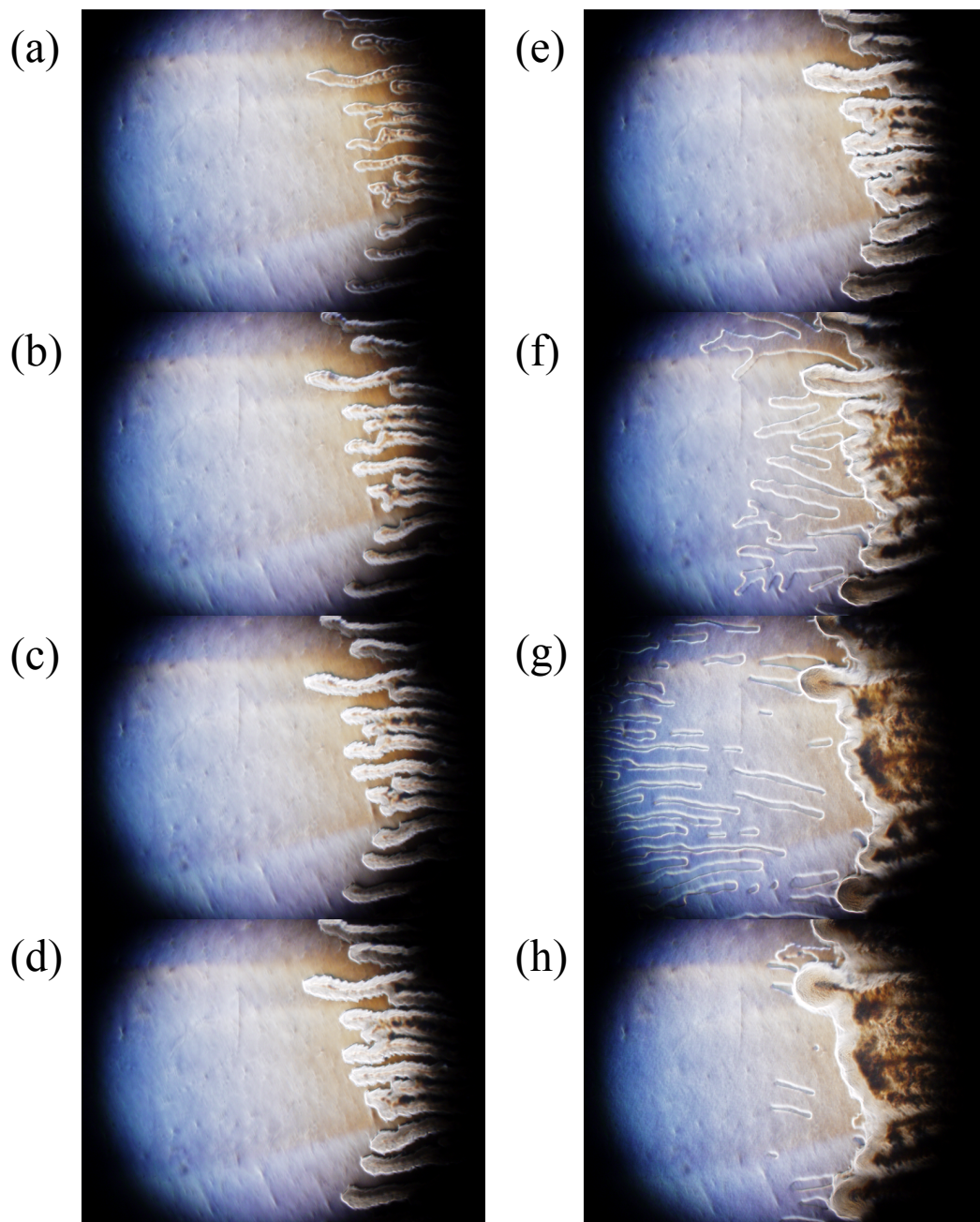


図6 領域Cで観察される同心円状コロニーの成長先端. 倍率1.25倍で20分毎の成長をタイムラプス撮影した. (a-e) 画面右側にコロニーが存在し, そこから枝が伸びた状態で界面の成長は停止している. 枝の内部では菌が増殖して密度が高まる様子が確認できるこの状態が consolidation phase である. (f-h) 十分に菌密度が高まると, 今度は界面が進行を始める. これが migration phase である. 同心円状コロニーは, このように consolidation phase と migration phase を交互に経ることにより, 界面の進行と停止を繰り返して成長する.

## 2.2 様々な菌種のもルフォロジー・ダイアグラムとバクテリア・コロニー

前節の *B. subtilis* 以外にも、様々な菌種を用いたバクテリア・コロニーのパターン形成の研究はなされている。この節では、その中でも特に系統的に調べられ、もルフォロジーダイアグラムとして形成されるコロニーの特徴がまとめられている、プロテウス菌、セラチア菌、大腸菌について紹介する。

### • *Proteus mirabilis* (プロテウス菌)

プロテウス属は動物の腸に常在する腸内細菌である。菌細胞の形状は周毛を持つ棒状の桿菌である。寒天培地平面上での *P. mirabilis* の培養では、直径 2  $\mu\text{m}$  程度で運動性があまりない swimmer cell と直径が数 10  $\mu\text{m}$  から 100  $\mu\text{m}$  程度にまで伸長し、強力な運動性をもつ swammer cell という 2つの形態の間で分化 (differentiation) –脱分化することが知られている。そしてこの分化–脱分化サイクルは、同心円状コロニーの成長周期と同期して変化することがわかっている。この swammer cell の特性から、コロニーが寒天培地状を広がりきった後にも環境条件に応じて異なるパターンが観察される。ゆえにそこで観察されるパターンの違いも含めて、*P. mirabilis* のコロニーのパターンはもルフォロジー・ダイアグラムに分類されている。図 7(a) に示すように、プロテウス菌 *Proteus (P.) mirabilis* を実験に用いた場合、形成されるコロニーのパターンは、大別して P, Q, R の 3つの領域へ分類される [15]。領域 P では周期的成長を示し、領域 Q では DLA 型の細かく枝分かれした成長、領域 R では寒天培地が柔らかいため、培地内部へと進行する 3次元的な成長を示す。領域 P はさらに同心円状パターンの  $P_r$ 、等方的パターンの  $P_h$ 、巨視的な時空パターンが観察される  $P_s$  の 3つのパターンに細分化できる。これらは、栄養が比較的乏しく培地もやや固めな、厳しい条件下にある  $P_r$  から、栄養を高め培地を柔らかくした快適な環境へ徐々に変化させていくことにより観察できる。すると菌の増殖と運動が最も活発になる領域  $P_s$  では、図 7(b) に示すような、肉眼でも観察可能な程に極めてマクロな時空パターンが観察できる。この領域では、同心円パターンの湧き出しと吸い込み、螺旋パターンの湧き出しと吸い込み、そしてストライプ状の波紋がマクロなスケールで観察できる。

### • *Serratia marcescens* (セラチア菌)

セラチア菌 *Serratia (S.) marcescens* は土壌や水中に生息する。棒状の桿菌で代表的な大きさは、径が約 0.5  $\mu\text{m}$ 、長さが約 1  $\mu\text{m}$  である。芽胞は形成しない。赤い色素を産生するため、コロニーも赤くなる。図 8(a) に示すように、*S. marcescens* の



モルフォロジー・ダイアグラムでは、5種類のパターンが確認されている [16]。領域 B の DBM パターンと領域 D の同心円状パターンに挟まれた領域 C では、図 8(b) に示すように成長先端が鋭く尖るパターンが出現し、セラチア菌の産生する赤い色素と合わせると、花のように見えることから花状パターンと呼ばれている。 *B. subtilis* と異なり、DLA パターンがダイアグラム右下の寒天が比較的柔らかい領域で観察される。また、DBM パターンがダイアグラム左上の B 相に位置しており、比較的寒天が固い条件下において観察される。

• ***Escherichia coli* (大腸菌)**

大腸菌 *Escherichia (E.) coli* は土壌や水中に生息する桿菌で、代表的な大きさは径が約 0.5  $\mu\text{m}$ 、長さが約 3  $\mu\text{m}$  である。図 9(a) に示すように、*E. coli* のコロニーの形態は 4 種類のパターンに分類できる [17]。領域 D では寒天濃度と栄養濃度が共に低く、培地のほとんどが水分であるため非常に柔らかい。ゆえに菌は運動しやすく、図 9(b) に示すような流れるようなパターンを描く。

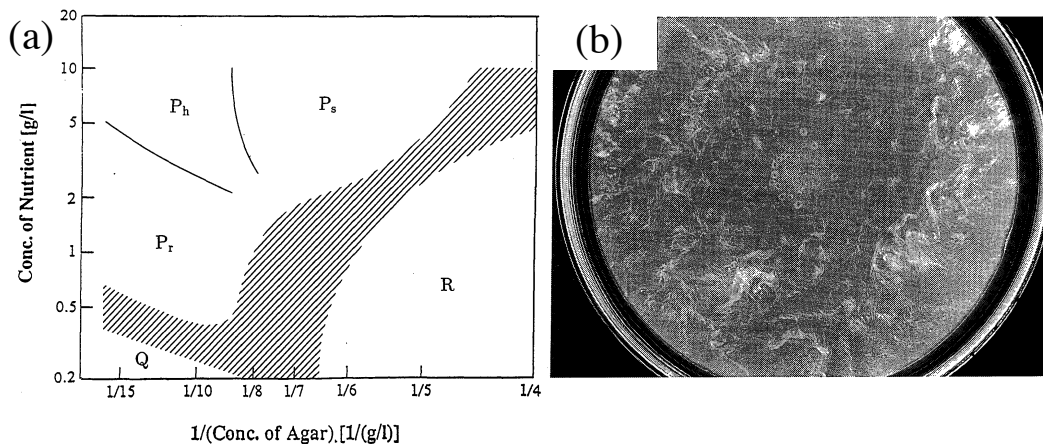


図 7 *Proteus (P.) mirabilis* (プロテウス菌) のモルフォロジー・ダイアグラムと特徴的なパターン [15]。 (a) *P. mirabilis* のモルフォロジー・ダイアグラム。コロニーの形態は、大別して P, Q, R の 3 つの領域に分類される。それぞれ、同心円状パターン (P 領域)、DLA-like パターン (Q 領域)、3 次元的なパターン (R 領域) として特徴づけられる。さらに領域 P に関しては、コロニーが培地表面を広がりきった後に観察されるパターンの構造の違いで、3 つのサブグループ P<sub>r</sub>, P<sub>h</sub>, P<sub>s</sub> に細分化している。これらはそれぞれ、同心円状パターンの P<sub>r</sub>、等方的パターンの P<sub>h</sub>、巨視的な時空パターンが観察される P<sub>s</sub> として特徴づけることができる。 (b) 領域 P<sub>s</sub> で観察される時空パターン。文献 [15] の図を一部修正して引用。

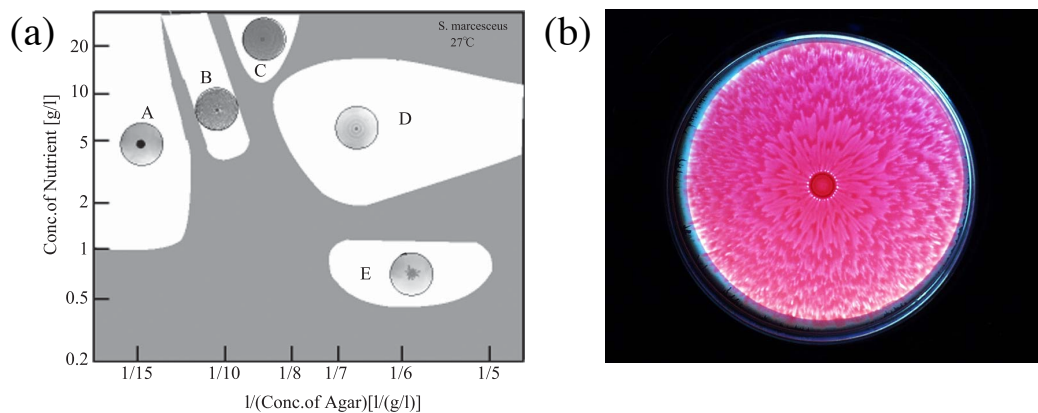


図8 *Serratia (S.) marcescens* (セラチア菌) のモルフォロジー・ダイアグラムと特徴的なパターン [16]. (a) *S. marcescens* のモルフォロジー・ダイアグラム. コロニーの形態は, Eden パターン (領域 A), DBM パターン (領域 B), 花状パターン (領域 C), 同心円状パターン (領域 D), DLA パターン (領域 E) の 5 種類のパターンに分類される. (b) 領域 C で観察される *S. marcescens* の特徴的な花状パターン. 文献 [16] の図を一部修正して引用.

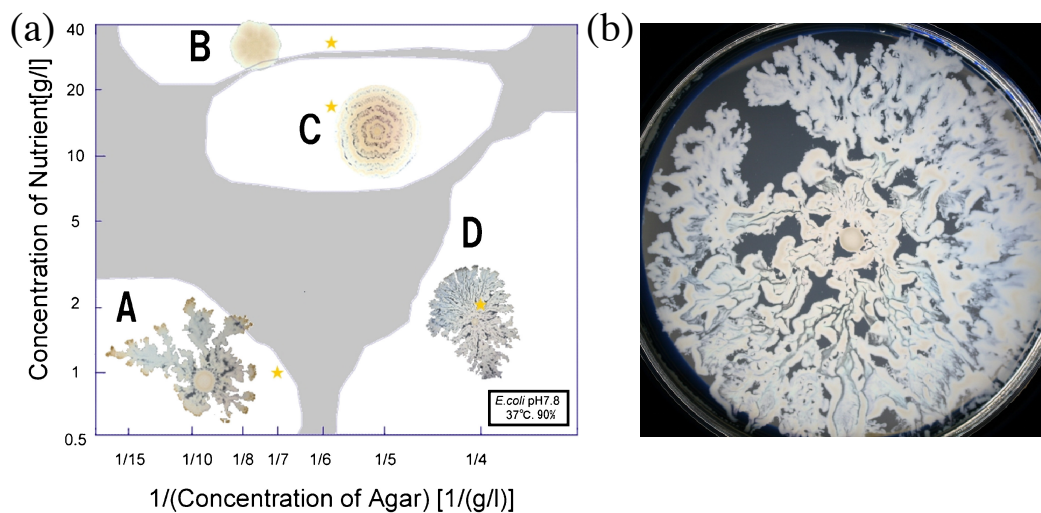


図9 *Escherichia (E.) coli* (大腸菌) のモルフォロジー・ダイアグラムと特徴的なパターン [17]. (a) *E. coli* のモルフォロジー・ダイアグラム. コロニーの形態は, DLA パターン (領域 A), Eden パターン (領域 B), 同心円状パターン (領域 C), 流動的パターン (領域 D) の 4 種類のパターンに分類できる. (b) 領域 D で観察される *E. coli* の特徴的な流動的パターン. 文献 [17] の図を一部修正して引用.

## 2.3 特定の菌種や変異株を用いた場合に見られる特徴的なバクテリア・コロニー

バクテリア・コロニーの実験では、これまで紹介した例以外にも、様々な菌種や変異株が用いられてきた。ここでは、Ben-Jacob らによる *Paenibacillus* 種と、松山・松下による *B. subtilis* と *S. marcescens* の変異株を用いた場合のバクテリア・コロニーの異方性について報告する。

Ben-Jacob らは、*Paenibacillus (P.) dendritiformis* および *Paenibacillus (P.) vortex* を用いてコロニーの形態形成の実験を行った。図 10(a) は *P. vortex* の系で観察される特徴的な螺旋型コロニーである。コロニーの成長とともに枝が回転し、螺旋軌道を描く。このコロニーが形成された環境条件は  $C_n \approx 5 \text{ g/L}$ ,  $C_a \approx 20 \text{ g/L}$  であり、比較的栄養が豊富で寒天が極めて固い環境条件である。他の多くの菌種の場合、これは菌の能動的な運動を完全に抑制してしまう環境条件である。そのような環境下においてもこの菌種固有のパターンが観察されることから、*P. vortex* は非常に強い運動性を有すると考えられる。いくつかの枝や成長先端に見られる黒い部分では菌密度が高く、枝の先端部分を拡大して観察すると図 10(b) のように菌がほぼ円形に凝集し、集団的に振る舞う様子が確認できる。サイズの大きい菌集団の塊の軌跡は太い枝を形成し、その枝の内部ではサイズの小さな菌集団の塊が新たに生まれる。その小さい塊が太い枝から枝分かれして成長することにより、側枝を形成しつつ太い枝の間の隙間を埋めていく。塊部分の速度場を計測すると、図 10(c) のようになる。この場合、成長先端で凝集した菌集団が時計回りに回転していることがわかる。ただし、菌集団の塊の回転方向は時計回り・反時計回りの両方が観察されており、螺旋型コロニーの旋回方向も時計回り・反時計回りの両方存在することが報告されている。また、このような枝の成長先端に菌が凝集する振る舞いは、*B. subtilis* の DBM パターンにおいて観察される爪構造とよく似ており、何らかの共通のメカニズムの下で出現しているように思われる。ただし、*B. subtilis* の場合は当に爪のような形状をしているのに対し、*P. vortex* の場合は極めて円形に近い。

図 11(a) に示すように、ある環境条件下では、*P. dendritiformis* のコロニーは枝が反時計回りに渦巻きながら成長するパターンを形成する [39]。 *P. vortex* のコロニーの特徴は、ある環境条件下において、菌がコロニー内部や成長先端で凝集し、集団で渦構造を形成しながらコロニーが樹枝状に成長するパターンを示す [40]。図 11(b) は枝の一部を拡大して観察したコロニー内部のスナップショットである。菌単体のスケールよりは大きく、しかしコロニー全体のスケールに比べ小さいスケールで、菌の配向が局所的に揃った秩序構造が形成されている様子が確認できる。

松山と松下は, *B. subtilis* や *S. marcescens* の変異体を用いて実験を行った [34]. 適切な環境下では, *B. subtilis* や *S. marcescens* はサーファクタントという界面活性物質を分泌し, 自分たちの成長により快適な環境を作り, その中で生きていくことが知られている. そのような環境はバイオフィームと呼ばれる. コロニーの形成において重要なのは, サーファクタントの有無がコロニーの広がり方に影響を与えることである. この実験では, サーファクタントを産生しない変異株を用いた場合に図 12 に示すように *B. subtilis* と *S. marcescens* のコロニーが共に時計回りのパターンを描く様子が確認されている. また, 脇田らは *B. subtilis* の wild type とサーファクタントを産生しない mutant を用いて Disk 状コロニーの界面を微視的に観察した際に, wild type の場合は界面が定義できないほどに菌細胞がまばらに分布しているのに対し, mutant の場合は界面がはっきりと定義できることを報告している [37].

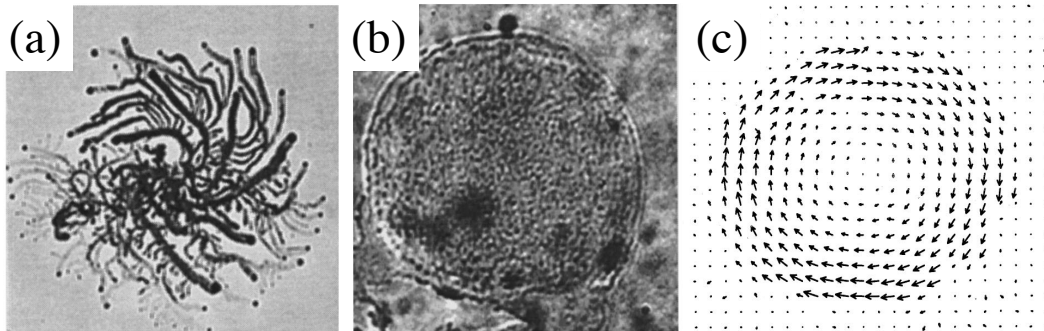


図 10 *Paenibacillus (P.) vortex* の螺旋型コロニーとその内部で観察される渦構造 [8]. (a) *P. vortex* の特徴的な螺旋型コロニー. 成長先端には円形に凝集した菌集団が存在し, その軌跡が枝状に伸びる. (b) 成長先端の渦構造. 環境条件や渦のサイズにも依存するが, 1つの渦の内部には数百から数千匹の菌が存在し, その構造は一層または多重層に積み重なった菌の層から構成される. 1つのコロニーにおいて, 時計回りの渦と反時計回りの渦のどちらも観察されることが報告されている. (c) 渦構造の速度場. 境界付近での典型的な速度は  $10 \mu\text{m/s}$  である. 文献 [8] の図を一部修正して引用.

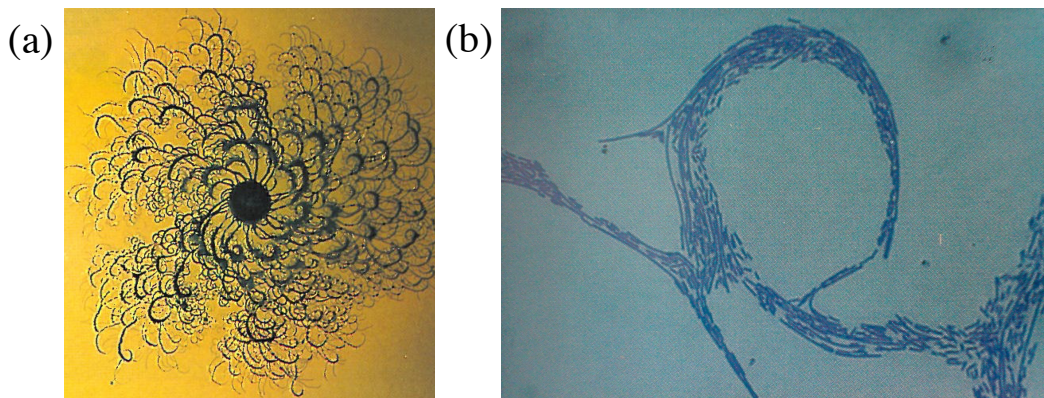


図 11 典型的な *Paenibacillus (P.) dendritiformis* の特徴的なコロニーとその内部構造 [33,39]. (a) *P. dendritiformis* の特徴的なコロニー. 枝は旋回しながら伸びていき, そこからさらに新しい枝が生まれる. (b) コロニーの内部構造. (ただし, (a) のコロニーとは異なる.) 文献 [33,39] の図を一部修正して引用.



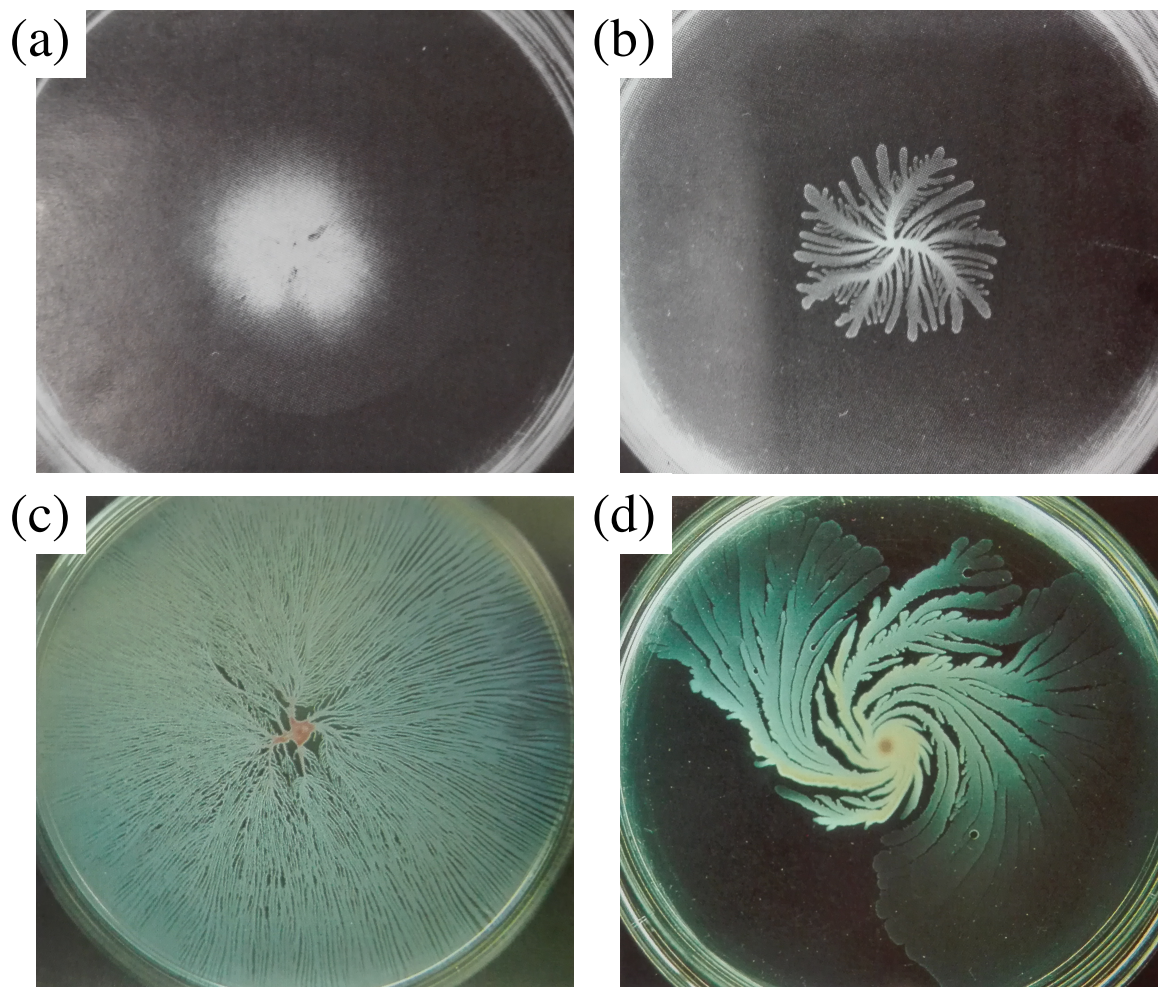


図12 *Bacillus subtilis* の野生株と変異株, *Serratia marcescens* の野生株と変異株のコロニー [34]. 上段: *B. subtilis* の野生株 (a) と変異株 (b). 下段: *S. marcescens* の野生株 (c) と変異株 (d). 左側の (a) と (c) の野生株の菌はサーファクタントを産生するが, 右側の (b) と (d) の変異株の菌は産生しない. 変異株の菌のコロニーは共に時計回りのパターンを描いている様子が確認できる. 文献 [34] の図を一部修正して引用.

## 2.4 バクテリア・コロニーとランダムパターン形成

バクテリア・コロニーが物理学の研究対象として活発に研究された背景には、他の様々な系でランダムなパターンを伴う現象が報告され、それらとの関連性が期待されたからである。 *B. subtilis* のコロニーを例に挙げると、図 4 の領域 A のパターンとして示される DLA コロニーは、金属様（電析）や誘電破壊、樹枝状結晶成長、ヴィスカスフィンガリング、しのぶ石などにみられるパターンと著しく似ていることが知られており、図 4 の領域 B のパターンとして示される Eden コロニーの成長界面は、癌細胞の成長、濡れた界面や燃焼する界面の時間発展、液晶電気対流系の界面成長などとも関連性が見出されている。ゆえにこれら現象の背後には、パターン形成の共通のメカニズムの存在が示唆される。実際に、DLA コロニーの実験において調べられたフラクタル次元は、DLA モデルの数値シミュレーション結果である 1.71... と近いことは本節で述べたとおりであり、その値がランダムパターンの形成において、何らかの普遍的なメカニズムによりもたらされている可能性が期待される。他方、Eden コロニーの成長界面で調べられた荒さ指数の値はおよそ 0.78 であり、界面成長のモデルである KPZ 方程式から予想された 0.5 という値よりも大きくなることが脇田らにより報告された [37]。これは Eden コロニーの成長界面が紐状の菌から構成されており、界面上のある地点の進行は隣接する地点の影響を受けるために、界面の揺らぎ方に相関があるからではないかと考えられた。また、モルフォロジー・ダイアグラム上で右上に位置する領域 D のディスク状コロニーは、その相図上の位置づけから最も生物的特性が活発であると考えられるが、その広がり方は Fisher's 方程式に従うことが確認されている。逆に、領域 C および E は領域 D に比べて菌の生物学的性質がやや制限される環境条件であり、それゆえ無生物系に近い振る舞いが期待される系であるが、これらの領域で観察される同心円状コロニーと DBM コロニーの成長機構はディスク状コロニーより明らかに複雑であり、その理解も未だ十分になされていない。よって、領域 D のような菌にとって快適な環境に比べ、領域 C や E のように適度に生存に厳しい環境の方が菌の生物学的性質が発揮される可能性が考えられる。あるいは、生物学的性質が抑制された結果、系に内在するノイズなどの影響を受けやすくなり、それが菌の振る舞いに影響を与えている可能性が考えられる。

その他に、数値シミュレーションを通してコロニーの形成機構を理解しようとする試みもなされており、これまでに多くのモデルが提案されてきた。その中でも反応拡散方程式をベースにした Lacasta モデル [41] および三村・坂口・松下モデル [42] は、*B. subtilis* の系で観察されるコロニーのパターンを 2 つのコントロールパラメーターを用いて再現することが可能である。ただし、実験系で示された、Eden コロニーの界面が相関を持ちながら

揺らぐ効果や同心円状パターンで consolidation phase と migration phase の周期が環境条件に依らず一定であることなどは対応しておらず、相図上でコントロールパラメーターの値に応じて出現するパターンが実験結果と逆になっているということもあり、いくつか課題は残っている。そのような巨視的なアプローチから得られた結果を用いてさらに理解を進めるためには、改めて、微視的な観察から手がかりを探る必要があると思われる。幸いにも、バクテリアの系では菌 1 匹 1 匹が識別できることから、菌細胞レベルでの振る舞いを詳しく調べることができる。続く第 II 部では、B 領域の環境条件において単体の芽胞から成長する場合の研究結果について報告し、その後の第 III 部では、C 領域の同心円状コロニーを用いて作成した円形プールの内部で、バクテリアが集団的に運動する場合の研究結果について報告する。



## 第 II 部

# 折り畳みを伴うバクテリア紐状成長の研究

## 1 研究の背景

第 I 部の序論では、寒天培地平面上の細菌集団が成長と増殖を繰り返す過程で、菌の運動性と増殖をコントロールすることにより、バクテリア・コロニーが多様な形態を示すことを説明した。その中で、B 領域の環境条件では、図 5 のスナップショットで見られるように、コロニーの成長界面において菌は紐状に伸長し、折り畳まれた形状をしている様子が確認できた。観察からは、この紐状構造は菌 1 匹が伸長した姿ではなく、細胞分裂後に隣接する菌同士が完全に分離できずに連なった状態であるようにみえた。そしてこの連なった状態で細胞分裂が行われ増殖するため、紐が伸長するように成長していた。紐状に連なる理由としては、培地が固いために菌が能動的な運動ができず、結果としてそのような形状になっている可能性が考えられた。

第 II 部では、そのような 1 次元的な紐の伸長がコロニーのような 2 次元的に広がりを持つ構造へ変化していく成長のごく初期の段階に焦点をあてる。この系の振る舞いの観察は、菌密度の低い希釈菌液を用いることにより、局所的に芽胞が単体で存在する系を構築することで調べることができた。観察からは、1 次元紐状構造が折り畳みを繰り返すことにより、2 次元的な広がりを持つ構造へ遷移していく様子がわかる。紐が伸長するのは細胞分裂による菌細胞の増殖であり、伸長時に受ける培地表面のノイズの効果と自身の排除体積効果との相互作用により紐状構造の空間的なパターンが変化しているように考えられる。そこで、そのような特異な構造が寒天培地平面上で成長する場合に、空間的なパターンがどのような性質を持つかについて調べた。パターン全体の大域的な空間構造が変化する様子の特徴づけるために、フラクタル次元を導入し、その時間発展を調べた。そして折り畳みを繰り返す成長過程の記述には、微分方程式系を導入して解析することを試みた。

第 II 部の構成は次のようにした。第 1 節で実験方法を説明し、第 2 節で紐状成長の観察結果を示す。第 3 節ではフラクタル次元の時間発展に焦点をあて、第 4 節を微分方程式系を用いた考察に充てる。第 5 節では課題と展望について述べる。

## 2 実験方法

紐状成長の観察実験は、培地が固く、栄養が豊富な条件で行った。この節では、紐状成長の観察に用いた寒天培地の作成方法について述べる。試料バクテリアには、第 I 部のはじめで説明した *B. subtilis* の wild type, OG-01 を用いた。

### 2.1 実験の流れ

本実験は、以下の手順で行った。

1. 実験用寒天培地の作成
2. 光学濃度 (Optical Density, OD) を  $OD_{600}=0.5$  に調整した菌液 3  $\mu\text{L}$  を寒天培地中央に接種し、恒温恒湿器付き光学顕微鏡 (Olympus IX71) に取り付けて 35  $^{\circ}\text{C}$  で培養する。ここで、 $OD_{600}$  というのは、600 nm の波長で OD を計測していることを表し、 $OD_{600}=0.5$  という測定結果は、菌液 1  $\mu\text{m}$  あたりに  $10^4$  匹程度の菌が存在することを意味する。
3. 約 2 時間後に芽胞状態の菌が発芽し、細胞分裂が始まるのを確認後、バイオイメージ分析ソフト (Mitani Lumina Vision) を用いて、タイムラプスモードで撮影を行う。このタイムラプスモードというのは、1 分間に 1 枚撮影する方法である。また、本実験での撮影倍率は 20 倍に固定した。

### 2.2 寒天培地の作成方法

バクテリアを培養するための寒天培地のコントロールパラメーターとして、寒天の固さを表す寒天濃度 ( $C_a$ ) と栄養の高さを表す栄養濃度 ( $C_n$ ) が指定できることを第 I 部で述べた。ここでは、紐状成長を観察するための寒天培地の作成方法について説明する。

1. 薬品はそれぞれ表 1 の分量で準備し、まずは純水に  $\text{NaCl}$  と  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、そして栄養分である Bacto-Peptone (Becton, Dickinson and Co.) を加えて攪拌した後、pH が 7.1 になるように  $\text{HCl}$  を滴下して調整した。この Bacto-Peptone の分量が  $C_n$  の値に対応する。
2. 出来た溶液を三角フラスコへ移し、Bacto-Agar (Becton, Dickinson and Co.) を加えた後にアルミホイルで蓋をして滅菌処理へ移る。この Bacto-Agar の分量が  $C_a$  の値に対応する。培地作成には空中雑菌等の混入を防ぐため、オートクレーブという専用の装置を用いた滅菌処理が必要である。この処理は 2 気圧の飽和水蒸気を

- 用いて温度を上昇させた上で 121 °Cの状態を 15 分間保つ高温高圧滅菌処理である.
- オートクレーブ処理後, 寒天溶液を 20 ml ずつ滅菌済シャーレに取り分け, 室温に 1 時間程置いて寒天培地を固める.
  - 寒天が固化し, 培地のシャーレへの固着を確認後, 培地表面の余分な水分を蒸発させるために乾燥機で 50 °C, 90 分の乾燥処理を行う.

以上の工程により,  $C_n = 10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C_a = 10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  の寒天培地が作成できる.

薬品名	分量
純水	100 mL
NaCl	0.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
Bacto-Peptone	1.0 g
Bacto-Agar	1.0 g

表 1 寒天培地の材料と分量

## 3 実験結果

### 3.1 折り畳みを伴う紐状成長過程

局所的に単体で存在する芽胞状態の菌細胞の発芽後 140 分ごとの時系列スナップショットを図 13 に示す。図 13(a) は芽胞単体から発芽直後の菌細胞を表す。その後 140 分毎に撮影したスナップショットを順に図 13(b), (c), ..., (h) として示した。最後の図 13(h) は図 13(a) の状態から 980 分経過したときの様子である。時間の経過とともに、紐の成長が急激に進んでいる様子が確認できる。図 13(c) で初めて 2 重に折り畳まれた部分が生じる。この折り畳みは紐の中心部分に生じる。図 13(d) で新たな折り畳みが生じている。この段階で生じた折り畳み部分は、図 13(c) の折り畳みで 2 つに分断された部分のおよそ中心に生じているように見える。図 13(e) 以降ではパターンが複雑になると共に、紐の成長が 2 次元的な広がりを持つようになる。

### 3.2 初期成長過程のパターンによる分類

1 次元的な紐が折り畳みを繰り返して 2 次元的に広がりをみせ始める初期の成長過程を特徴付けるために、図 14 に描かれているような、4 つの基本となるパターンに分類することを試みた。

### 3.3 観察結果の定量化

バクテリアの成長過程はタイムラプスモード（1 分間に 1 枚撮影）で撮影しているため、1 回の実験で 6 時間観察すると、その観察記録は 360 枚のスナップショットから構成されることになる。ただし、1 分毎の成長の変化は僅かなものであるため、10 分毎の観察写真を解析対象とすることで効率化を図った。観察結果を定量化して調べるために次の処理を行った。

1. まず、観察記録のスナップショット 1 枚 1 枚を A4 サイズに拡大印刷し、紐状部分を手動で鉛筆でなぞりトレースすることにより、バクテリアの細胞鎖が確かに端から端までつながっていることを確認した。
2. 次に、図 15 に示したように、紐が折り畳まれている部分に印を付けた。図で数値  $k(=1, 2, 3, \dots)$  が注記されている区間は、 $k$  重に折り畳まれている事を表している。図 15 では  $k = 5$  まで記されており、これはこのスナップショットの状態まで成長した段階において、最大で 5 重に折り畳まれた部分を持つ事を意味している。また、

数字を伴わない区間は 1 重部分を表す.

3. その後, キルビメーターを用いて各  $k$  重部分毎に長さを測った. キルビメーターはアナログの計測器で, 本来はマップメジャーとして地図上で目的地までの距離を算出する道具であるが, 平面上の任意の曲線の長さを測定出来るので, この計測に用いた.
4. 1 重部分, 2 重部分, 3 重以上の部分の長さをそれぞれ  $l_1, l_2, l_{3+}$  と表記し, さらにそれらの総和である全長を  $L$  と記すことにする. このように表記を定めた上で, 観察記録の統一のため, 時刻  $t = 0 \text{ min}$  を初めて 2 重部分が形成された時刻と設定し, また, 3 重部分が初めて生成される時刻をしきい値  $t = t_* \text{ min}$  と表記し, 測定結果を整理した. その結果を表 2 に示し, この結果を実験データとして用いた.

表 2 には, バクテリアの成長先端が画面端に到達した時刻以降の長さは掲載していない. これは, この実験では顕微鏡の視野を固定して観察しているため, ある時刻でバクテリアの成長先端が画面端に到達すると, それ以降は画面外でも成長して折り畳み構造を形成する可能性があるからである. ただし, 画面外ですぐに高次の折り畳み構造が形成される可能性は低いので, 成長先端が画面端に到達した後も, その部分より高次の構造については, しばらくの間は画面内に映る範囲で長さの計測を続けた.

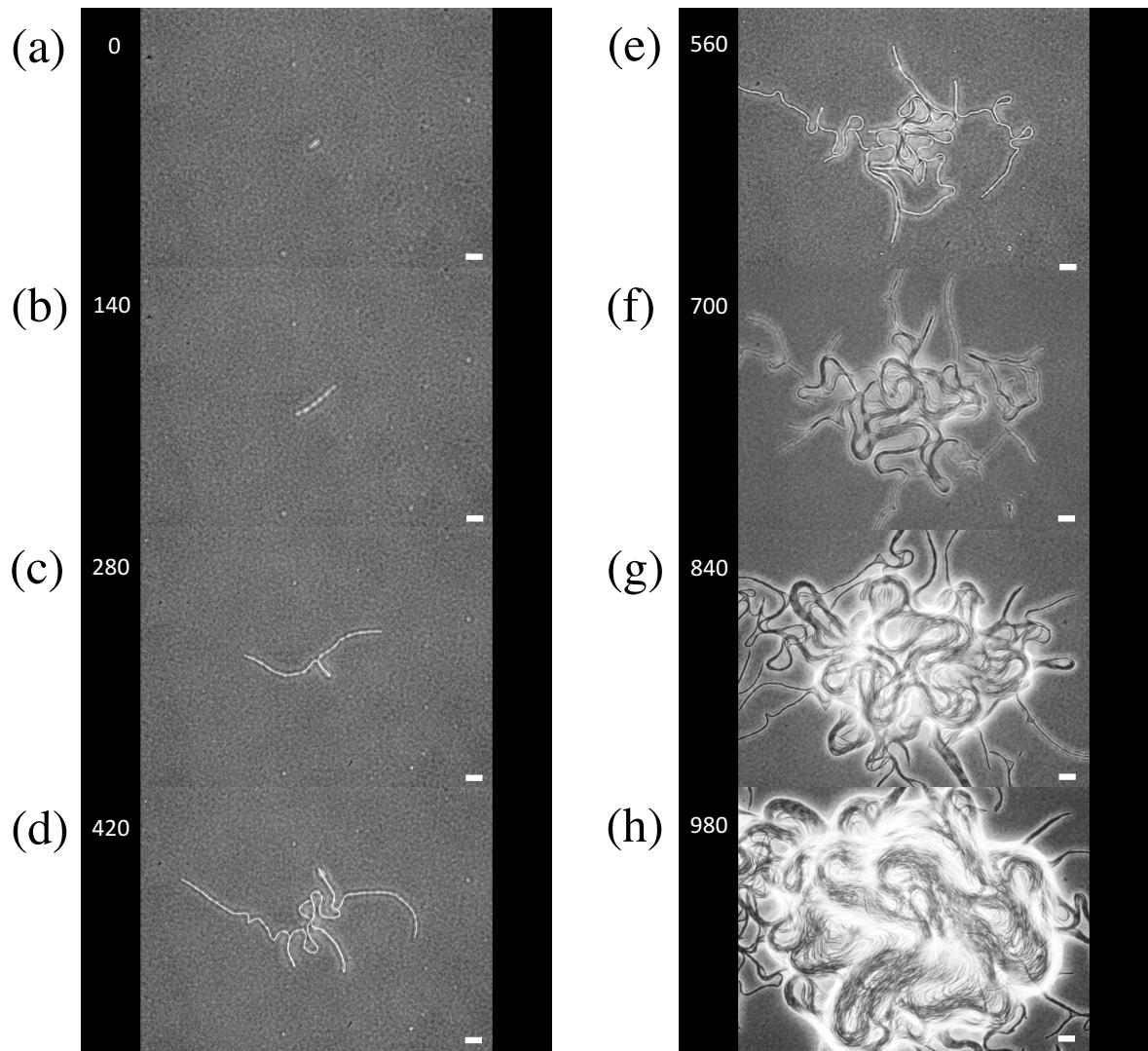


図 13 折り畳みを伴いながら紐状成長する菌細胞の時系列スナップショット. 左上の数字は成長開始からの経過時刻 (分). 右下に 20  $\mu\text{m}$  のスケールバーを示した. (a) 芽胞単体から発芽直後の菌細胞. (b)-(h) それぞれ前の時刻から, 140 分が経過する毎に撮影したスナップショット.

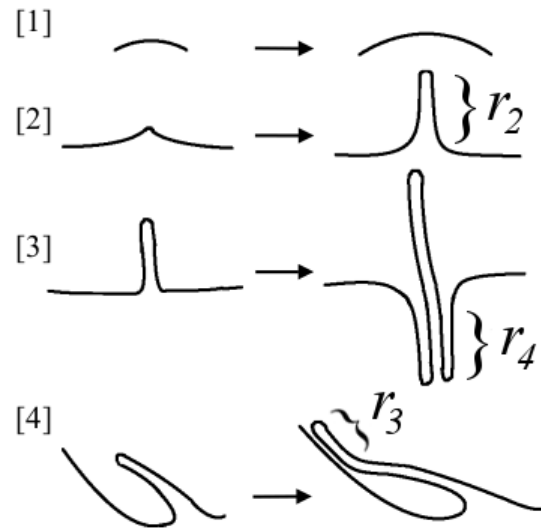


図 14 初期成長過程にみられるパターン. [1] 自己伸長する 1 重部分の紐状成長. [2] 1 重部分が折り畳まれて 2 重が生成する. [3] 2 重に折り畳まれた部分の根元が更に折り畳まれて 4 重を生成する. [4] 1 重部分と 2 重部分が接触し, 併合することで 3 重部分を生成する.

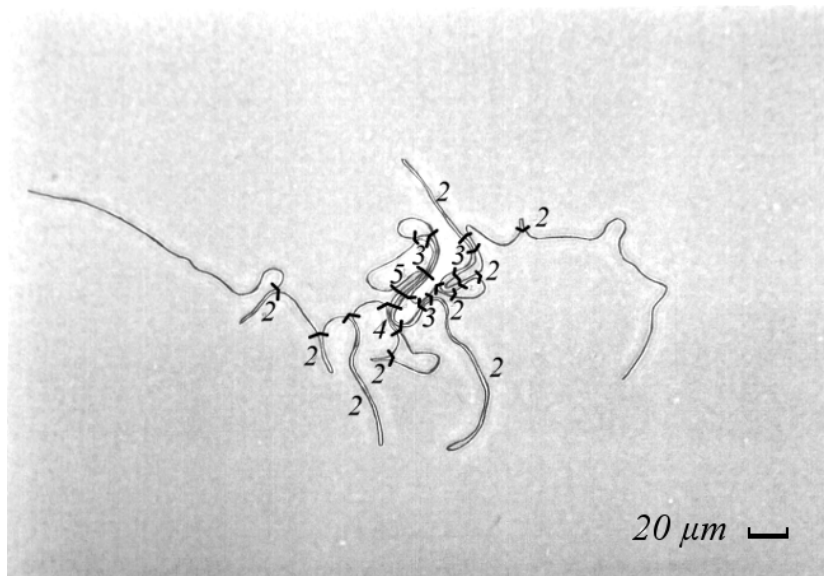


図 15 折り畳まれた部分を明示的に示したスナップショット.  $k$  ( $k = 1, 2, 3, \dots$ ) と数字が添えてある部分が  $k$  重に折り畳まれていることを示す.

$t$ [min]	$L$ [ $\mu\text{m}$ ]	$l_1$ [ $\mu\text{m}$ ]	$l_2$ [ $\mu\text{m}$ ]	$l_{3+}$ [ $\mu\text{m}$ ]
0	151	151	0	0
10	228	189	39	0
20	315	247	68	0
30	485	340	145	0
40	733	442	291	0
50	1070	620	362	90
60	1590	810	584	197
70	—	—	944	535
80	—	—	—	1260
90	—	—	—	2710

表 2 折り畳まれた部分と全長の時系列変化. この系では, 丁度  $t = 70$  min の手前で画面端に到達したため,  $t = 70$  min 以後は画面外で 2 重以上に折り畳まれた構造を形成する可能性がある. そのため,  $t = 70$  min 以後の  $L$ ,  $l_1$  の値と,  $t = 80$  min 以後の  $l_2$  の値はこの表には記載していない.



## 4 折り畳みが生じるパターン

第 I 部の図 5 と同様に菌単体から成長する場合においても、図 13 や図 15 に示されるように、領域 B の環境条件下では紐状に成長する様子が確認できた。前節で見たように、菌単体から成長する系における成長は、発芽直後は 1 次元的に紐状に伸長し、その後さらに成長が進むと紐の中心から折り畳が生じていた。そしてさらに成長が進むと折り畳まれた部分の中心から次の折り畳みが生じていくような特徴があった。つまり、パターンとしては折り畳みが生じる箇所はまるでコッホ曲線のイテレーションのように自己相似的であり、そこにランダム性が加わったようにもみえる。そして、そのような折り畳みを繰り返すことにより、1 次元的な紐状成長から 2 次元的に空間を埋め尽くす、広がりをもつ成長へと移行していたのである。Eden パターンに限らず、バクテリア・コロニーの研究においては、そのコロニーの特徴付にフラクタル次元を導入することが有効であった。例えば DLA コロニーでは、コロニーが描く空間的なパターンが、統計的に自己相似であるとみなされている。統計的に自己相似というのは、同一の対象に対して尺度を固定した上で対象の様々な部分を計測したときの統計的性質が同じ分布に従い、かつ、尺度を変えて計測したときに得られる統計的性質が尺度に対して相似である場合をいう。尺度には時間と空間があるが、幾何学的なパターンを調べる場合は空間の尺度を変えて調べることになる。統計的に自己相似とみなせる有名な例は海岸線である。各地の海岸線の形状は固有のものであるが、基準となる尺度を変えて調べることにより、その複雑性の指標の 1 つであるフラクタル次元を求めることが可能である。DLA の場合においても、フラクタル次元が 1.71... で与えられることは、その統計的自己相似性から得られた結果である。そしてフラクタル次元を調べるメリットは、異なる系の複雑性を、系の詳細を意識せずに比較可能になることである。これにより、そのパターンがもたらされる要因として、本質的に何が重要かを議論しやすくなると考える。菌単体から紐状成長する系においても、その特徴的なパターンは何らかの規則的なパターンを有する可能性があるように思われた。そこでまず、紐状成長するバクテリアの時系列パターンに対して、フラクタル次元を計測することを試みた。

### 4.1 フラクタル次元の求め方

パターンが細部にわたって複雑な場合、コンピューターを用いた画像処理が有効である。そこで解析では、ボックスカウント法と呼ばれる手法を用いてフラクタル次元を計測した。平面に描かれたパターンの場合、まずパターン全体を含む平面を一辺  $\epsilon$  のメッシュ (格子状) に分ける。これは一辺  $\epsilon$  の升目の方眼紙でパターンを覆うことに対応している。そし

て、パターンの一部が重なっているメッシュの数  $N(\epsilon)$  を数える. すると、面積  $\epsilon^2$  のメッシュ  $N(\epsilon)$  個分として、パターンの面積  $S$  を表す事ができる. すなわち、

$$S = N(\epsilon) \epsilon^2 \quad (1)$$

として  $S$  が与えられる. 式 (1) は、尺度  $\epsilon$  が適切な範囲であれば、 $\epsilon$  を変えて測っても、パターンの面積自体が変化しないことを表している. パターンが円盤のように内部が稠密な図形である場合を例に考えると、 $\epsilon \rightarrow \frac{1}{2}\epsilon$  というメッシュの尺度の変化で、パターン内部では 1 メッシュ分で覆っていた部分が  $\frac{\epsilon^2}{(\frac{1}{2}\epsilon)^2} = 4$  メッシュ分必要になり、同じ面積を覆うのに必要なメッシュの数が 4 倍になる. 他方、パターンの輪郭である円周上では、必ずしもスケール変換後に細かくなったメッシュ上にパターンが存在するとは限らないため、同じ  $\epsilon$  の変化でメッシュ数は 4 倍にはならない可能性がある. それでも、パターン全体としては領域内部のメッシュ数が輪郭付近に比べて圧倒的に多いので、上記  $\epsilon$  の変化により  $N(\epsilon)$  はおよそ 4 倍に増える. ゆえに、パターンの面積が尺度の取り方に依らないことがわかる. しかし、内部が稠密でなかったり、単純な形状をしていない図形の場合、 $\epsilon$  の変化に対する  $N(\epsilon)$  の応答の仕方は異なってくる. なぜなら、パターンの内部に多数の隙間があったり、隙間や輪郭の形状が複雑に入り組んだ構造では、境界近傍におけるメッシュ数の増減の影響が無視できない程に大きくなるか、むしろ支配的になるからである. しかし、そのような場合においても、パターンの面積自体が変化しないということに変わりはない. そこで、そのような図形においては、 $\epsilon^2$  という因子ではなく、 $\epsilon^D$  の形に対して  $N(\epsilon)$  が  $\epsilon$  の変化に応じると考えれば、そのパターンの面積  $S$  は、

$$S = N(\epsilon) \epsilon^D \quad (2)$$

として与えられる. この関係性を満たすのは、典型的には、自己相似フラクタルなパターンである. そして、 $\epsilon \rightarrow \frac{1}{2}\epsilon$  という変化で、パターンの面積  $S$  は変化しないのであるから、

$$S = N\left(\frac{1}{2}\epsilon\right) \left(\frac{1}{2}\epsilon\right)^D \quad (3)$$

とも表せる. ゆえに、(2), (3) より、

$$\frac{N(\epsilon)}{N\left(\frac{1}{2}\epsilon\right)} = \left(\frac{1}{2}\right)^D \quad (4)$$

を得る. すなわち、

$$D = \frac{\log \frac{N(\epsilon)}{N\left(\frac{1}{2}\epsilon\right)}}{\log \frac{1}{2}} \quad (5)$$

であり、これは、 $\epsilon \rightarrow \frac{1}{2}\epsilon$  としたときの  $N(\epsilon)$  の変化から見積もることのできるフラクタル次元を表す。より実用的には、メッシュサイズ  $\epsilon$  を様々に変化させて  $N(\epsilon)$  を数え上げたときに、 $N(\epsilon)$  が

$$N(\epsilon) \sim \epsilon^{-D} \quad (6)$$

の形にスケールされるならば、そのフラクタル次元は  $D$  であるとみなす場合が多い。式 (6) の関係式は、式 (2) の両辺を  $\epsilon^D$  で割ることにより導かれる。ゆえに、式 (6) を用いたフラクタル次元の見積もりにおいても、 $\epsilon$  の変化で、式 (2) により定義される面積  $S$  に変化が無いという状況（尺度の範囲）を前提にしている。ただし、着目するパターンが真に自己相似フラクタルであるかどうかは、実際のパターンを注意深く観察して確かめる必要がある。また、尺度を変えて図るという操作について解釈すると、 $\epsilon$  の値が大きいほどパターンの詳細な構造は無視されるため、 $\epsilon$  の値が大きいメッシュでパターンを覆うことは、パターンを粗視化して見ることに対応するといえる。

実験で見積もることができるフラクタル次元について、注意すべきことがある。自然界で見られるパターンは最小となる構成要素から成るため、その最小サイズが影響してくるスケール  $\epsilon_{\min}$  において、フラクタル次元  $D$  に変化があるはずである。同様に、そのパターンを認識できる最大のサイズも存在するため、それ以上の粗視化でパターンに変化が見られないとみなせるスケール  $\epsilon_{\max}$  においても、フラクタル次元  $D$  に変化が生じるはずである。そしてそのしきい値となる尺度を超えたスケールにおけるパターンは、フラクタル次元  $D$  として与えられる自己相似性からは外れた構造になるといえる。これらは式 (6) を両対数プロットして、傾き  $D$  が  $\epsilon = \epsilon_{\min}$  を境として  $D'$  へ、もしくは  $\epsilon = \epsilon_{\max}$  を境として  $D''$  へ変化する様子から確認出来る。このような変化のことを、あるフラクタル次元  $D$  から別のフラクタル次元  $D'$ （もしくは  $D''$ ）へクロスオーバーが生じているという。自然界で観察される自己相似フラクタルなパターンでは、そのパターンの構成要素が存在すると共にパターン全体のサイズも有限であるため、フラクタル次元を計測するとクロスオーバーが必ず生じる。ゆえに  $\epsilon \rightarrow 0$  あるいは  $\epsilon \rightarrow \infty$  へ向かう無限のフラクタル構造は自然界には存在しない。そこで、そのようなクロスオーバーが生じる部分をカットオフとし、両対数プロットで直線になる部分の傾きを読み取る。そして、この傾きの値をそのパターンのフラクタル次元とみなすのである。これは、 $\epsilon_{\min} < \epsilon < \epsilon_{\max}$  の範囲において、式 (6) の指数  $D$  を求めることに他ならない。

## 4.2 フラクタル次元の解析

バクテリアの紐状成長を観察したスナップショットに対して、ボックスカウント法を用いて時刻  $T$  におけるフラクタル次元  $D(T)$  を調べた結果について述べる。この解析では時刻  $T = 0$  min を計測を開始した時刻と定義した。この系のパターンは  $T = 0$  min のとき 1 次元的な構造を示していた。また、2 重部分が生じる時刻に着目すると、 $T \simeq t + 60$  min という関係を満たしていた。図 16 はの左上の写真は時刻  $T = 125$  min, 右上は  $T = 245$  min での紐状構造のスナップショットである。ボックスカウント法によるフラクタル次元の評価では、メッシュサイズ  $\epsilon$  を 1 pixel から 1536 pixel まで変化させて調べた。これは実際のスケールでは  $2.1 \times 10^1 \mu\text{m}$  から  $3.2 \times 10^2 \mu\text{m}$  に相当する。通常、バクテリア 1 匹の菌体長は  $2 \mu\text{m}$  程度から最大でも  $20 \mu\text{m}$  弱なので、この計測スケールの範囲は菌細胞単体のサイズに比べて十分大きい。図 16 の右上と右下はボックスカウント法の結果を両対数プロットした結果である。水色のガイドラインを示した部分に直線の領域が存在することが確認できる。この部分の傾きからフラクタル次元を見積もった。各時刻  $T = 125$ ,  $T = 245$  min でのフラクタル次元はそれぞれ、 $D(125) = 1.16$ ,  $D(245) = 1.96$  であった。

図 17 の各黒点は、時刻  $T = 45, 85, 125, 165, 205, 245, 285, 325, 365$  におけるフラクタル次元の計測結果である。この一連のフラクタル次元  $D(T)$  は、次の式で特徴づけられた。

$$D(T) = c_1 \tanh\{\sigma(T - T_0)\} + c_2. \quad (7)$$

ここで、フィッティングにより得られた各パラメータの値は、 $T_0 = 1.82 \times 10^2$  min,  $\sigma = 1.61 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$ ,  $c_1 = 5.1 \times 10^{-1}$ ,  $c_2 = 1.54$  であった。また、3 重部分が初めて生じる時刻  $T_*$  は、 $T_* = t_* + 60 = 105$  min であった。これはちょうど図 17 において、 $D(T)$  の傾きが急激に大きくなることに対応していた。

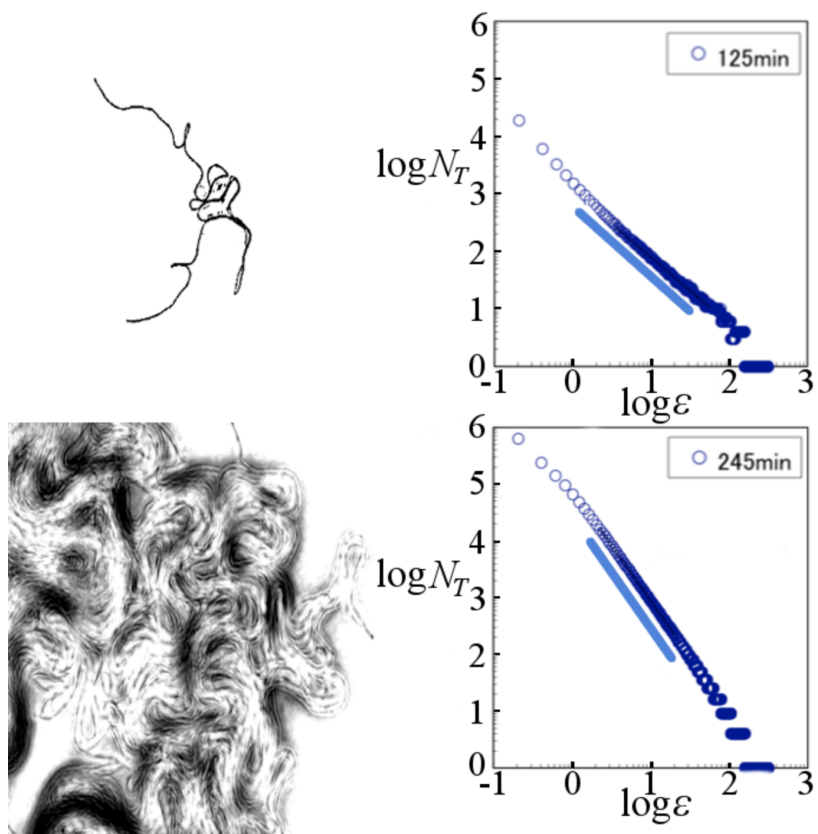


図 16 紐状成長のスナップショット（左側）とボックスカウント法によるフラクタル次元解析（右側）．左上と左下の写真はそれぞれ  $T = 125, 245 \text{ min}$  でのスナップショット．右側は各々の時刻における (6) 式の両対数プロットの結果であり，水色のガイドラインで示した部分の直線の傾きからフラクタル次元を評価すると，それぞれ  $D(125) = 1.16, D(245) = 1.96$  であった．

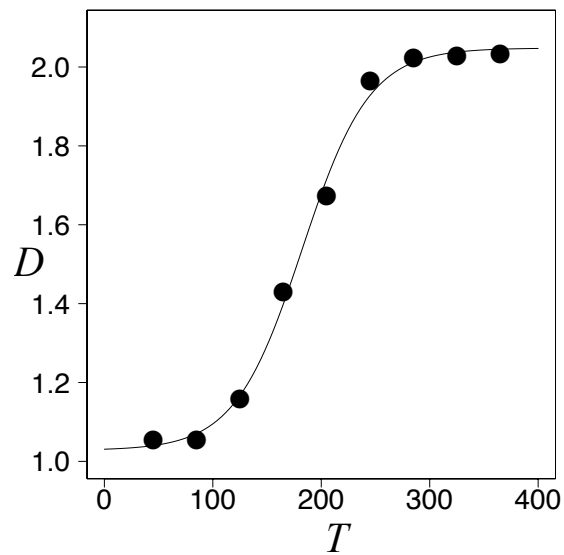


図 17 フラクタル次元  $D(T)$  の時間発展. 時刻  $T = 45, 85, 125, 165, 205, 245, 285, 325, 365$  min (40 分毎) におけるフラクタル次元  $D(T)$  の計測結果を黒点で示した. 曲線は, それら一連の黒点を式 (7) を用いてフィッティングした結果である.

## 5 実験データの解析

### 5.1 バクテリアの増殖を表すモデル

よく知られているように、個体数が 1, 2, 4, 8, 16, … と増加していくバクテリアの増殖過程は、全長  $L \mu\text{m}$ , 時刻  $t \text{ min}$  としたとき次の微分方程式で表せる.

$$\frac{d}{dt}L(t) = \alpha L(t). \quad (8)$$

ここで、 $\alpha \text{ min}^{-1}$  は増殖率と呼ばれる物理量を表し、単位時間あたりの全長  $L(t)$  の変化率を表す定数である. この方程式は、ある時刻  $t \text{ min}$  における成長率が、その時刻における自身の全長の長さ  $L \mu\text{m}$  に比例することを意味している. 式 (8) の解は次のように表される.

$$L(t) = Ae^{\alpha t}. \quad (9)$$

ただし、節 3.3 で 2 重部分が初めて生成される時刻を  $t = 0$  と定義したので、 $A = L(0) \mu\text{m}$  はそのときの全長の長さを表している. 全長  $L(t) \mu\text{m}$  の時間発展について、表 2 に示した  $0 \leq t \leq 60 \text{ min}$  の範囲における計測値を用いて式 (9) のフィッティングを行うと、図のようになり、次の値を見積もる事が出来た.

$$\alpha = 3.95 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}, \quad A = 1.50 \times 10^2 \mu\text{m}. \quad (10)$$

ここで、式 (9) の指数の底を 2 として次のように書き換える.

$$L(t) = A2^{\alpha t \log_2 e} = A2^{t/\mu} \quad (11)$$

ここで、 $\mu \text{ min}$  は菌細胞が細胞分裂する倍加周期を表し、 $\mu = 1/\alpha \log_2 e$  で与えられる. 式 (10) の  $\alpha$  の値を用いると、 $\mu = 17.6 \text{ min}$  という時間を得る. これは、本実験で用いたバクテリアの細胞分裂周期である、およそ 20 分と非常に近い値である.

### 5.2 微分方程式系とその解

時刻  $0 \leq t \leq t_*$  においては、図 14 のパターン [1], [2] のみ観察される. そこで、増殖率  $\alpha$  を持つ自己伸長が、遷移率  $\beta/(1 - \beta)$ ,  $0 \leq \beta < 1$  で折り畳まれると仮定した. すると、

$l_1(t)$  と  $l_2(t)$  の時間発展は、次のような線形微分方程式系を用いて特徴付けられる。

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}l_1(t) &= \alpha(1 - \beta)l_1(t), \\ \frac{d}{dt}l_2(t) &= \alpha l_2(t) + \alpha\beta l_1(t), \quad 0 \leq t \leq t_*.\end{aligned}\tag{12}$$

式 (12) において、2 つ目の式の第 1 項は、2 重部分の自己伸長を表している。そして、時刻  $t = 0$  を、初めて折り畳みが生じる時刻と設定したので、次のような初期条件の下で、式 (12) を解く。

$$l_1(0) = L(0) = A, \quad l_2(0) = 0.\tag{13}$$

すると、式 (12) の解は、次のようになる。

$$\begin{aligned}l_1(t) &= Ae^{\alpha(1-\beta)t}, \\ l_2(t) &= Ae^{\alpha t}(1 - e^{-\alpha\beta t}), \quad 0 \leq t \leq t_*.\end{aligned}\tag{14}$$

$t > t_*$  については、図 14 のパターン [1], [2] に加えて、次のものも考慮しなければならない。図 14 のパターン [3] のように、2 重部分の自己伸長により、4 重部分が生じる。そこで、2 重から 4 重への遷移率を  $\gamma/(1 - \gamma)$ ,  $0 \leq \gamma < 1$  とした。

また、図 14 のパターン [4] の通り、3 重部分の生成は 2 重部分が 1 重部分に接触し、併合する事によってのみ生じる。それゆえ、3 重部分の生成は、 $l_1(t)$  と  $l_2(t)$  それぞれに比例するはずである。そこで、3 重部分の成長に比例して、1 重部分は  $\delta_1 l_1(t)l_2(t)$  で、2 重部分は  $\delta_2 l_1(t)l_2(t)$  でそれぞれの長さが減少すると仮定した。ここで、 $\delta_1 > 0, \delta_2 > 0$  はそれぞれ単位長さ当たりの遷移率である。

すると、3 重以上の部分の長さをまとめて、 $l_{3+}(t) = \sum_{k \geq 3} l_k(t) = l_3(t) + l_4(t) + \dots$  と表記する事により、次のような非線形微分方程式系を得る。

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}l_1(t) &= \alpha(1 - \beta)l_1(t) - \delta_1 l_1(t)l_2(t), \\ \frac{d}{dt}l_2(t) &= \alpha(1 - \gamma)l_2(t) + \alpha\beta l_1(t) - \delta_2 l_1(t)l_2(t), \\ \frac{d}{dt}l_{3+}(t) &= \alpha l_{3+}(t) + \alpha\gamma l_2(t) + (\delta_1 + \delta_2)l_1(t)l_2(t), \quad t \geq t_*.\end{aligned}\tag{15}$$

式 (15) に対して、 $\delta_1$  と  $\delta_2$  が十分に小さい値であると仮定する事で、摂動計算を用いて近似解を求めた。この仮定は後の第節で説明するデータフィッティングにより正当化される。



$k = 1, 2$ , と  $3_+$  に対して,  $l_k(t)$  を  $\delta_1$  と  $\delta_2$  で次のように冪級数展開する.

$$\begin{aligned} l_k(t) &= \sum_{m_1=0}^{\infty} \sum_{m_2=0}^{\infty} \delta_1^{m_1} \delta_2^{m_2} \tilde{l}_k^{(m_1, m_2)}(t) \\ &= \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{\substack{m_1 \geq 0, m_2 \geq 0, \\ m_1 + m_2 = n}} \delta_1^{m_1} \delta_2^{m_2} \tilde{l}_k^{(m_1, m_2)}(t), \end{aligned} \quad (16)$$

ここで,  $\tilde{l}_k^{(m_1, m_2)}(t)$  は時間に依存する展開係数である.  $N = 0, 1, 2, \dots$  として,  $N$  次近似解を次のように表記する.

$$l_k^{(N)}(t) = \sum_{n=0}^N \sum_{\substack{m_1 \geq 0, m_2 \geq 0, \\ m_1 + m_2 = n}} \delta_1^{m_1} \delta_2^{m_2} \tilde{l}_k^{(m_1, m_2)}(t), \quad k = 1, 2, 3_+. \quad (17)$$

このとき, 0 次近似解と 1 次近似解はそれぞれつぎのように表せる.

$$\begin{aligned} l_k^{(0)}(t) &= \tilde{l}_k^{(0,0)}(t), \\ l_k^{(1)}(t) &= l_k^{(0)}(t) + \delta_1 \tilde{l}_k^{(1,0)}(t) + \delta_2 \tilde{l}_k^{(0,1)}(t), \quad k = 1, 2, 3_+, \quad t \geq t_*. \end{aligned} \quad (18)$$

0 次近似解  $\{l_k^{(0)}(t) : k = 1, 2, 3_+\}$  は, 式 (15) で  $\delta_1 = \delta_2 = 0$  とおいた線形微分方程式系の解である. 初期条件は, (13) に対応した次のものとした.

$$l_1^{(0)}(0) = A, \quad l_2^{(0)}(0) = 0. \quad (19)$$

また, 臨界時刻  $t_*$  は, 次を満たす.

$$l_{3_+}^{(0)}(t_*) = 0. \quad (20)$$

これらの条件の下で, 次の 0 次近似解を得る.

$$\begin{aligned} l_1^{(0)}(t) &= Ae^{\alpha(1-\beta)t}, \\ l_2^{(0)}(t) &= \frac{\beta A}{\beta - \gamma} e^{\alpha(1-\gamma)t} (1 - e^{-\alpha(\beta-\gamma)t}), \\ l_{3_+}^{(0)}(t) &= \frac{A}{\beta - \gamma} e^{\alpha t} \left\{ -\beta(e^{-\alpha\gamma t} - e^{-\alpha\gamma t_*}) + \gamma(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) \right\}, \quad t \geq t_*. \end{aligned} \quad (21)$$

次に、1次近似解を計算するために、多重積分の表記として次のようなものを導入した。

$$\begin{aligned}
I^{(1)}(t; t_*, a_1) &= \int_{t_*}^t ds e^{-a_1 s} l_1^{(0)}(s) l_2^{(0)}(s), \\
I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1) &= \int_{t_*}^t ds e^{-a_2 s} I^{(1)}(s; t_*, a_1), \\
I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1) &= \int_{t_*}^t ds e^{-a_3 s} I^{(2)}(s; t_*, a_2, a_1), \tag{22}
\end{aligned}$$

ここで、 $a_i$ ,  $i = 1, 2, 3$  は定数であり、被積分関数  $l_1^{(0)}(t)$ ,  $l_2^{(0)}(t)$  は式 (21) を用いた。これらは次のように計算出来る。

$$\begin{aligned}
I^{(1)}(t; t_*, a_1) &= \frac{\beta A^2}{\beta - \gamma} \left\{ \frac{e^{(p-a_1)t} - e^{(p-a_1)t_*}}{p - a_1} - \frac{e^{(q-a_1)t} - e^{(q-a_1)t_*}}{q - a_1} \right\}, \\
I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1) &= \frac{\beta A^2}{\beta - \gamma} \left\{ \frac{e^{(p-a_1-a_2)t} - e^{(p-a_1-a_2)t_*}}{(p-a_1)(p-a_1-a_2)} - \frac{e^{(q-a_1-a_2)t} - e^{(q-a_1-a_2)t_*}}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \right. \\
&\quad \left. + \frac{e^{-a_2 t} - e^{-a_2 t_*}}{a_2} \left( \frac{e^{(p-a_1)t_*}}{p-a_1} - \frac{e^{(q-a_1)t_*}}{q-a_1} \right) \right\}, \\
I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1) &= \frac{\beta A^2}{\beta - \gamma} \left[ \left\{ \frac{e^{(p-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(p-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(p-a_1)(p-a_1-a_2)(p-a_1-a_2-a_3)} \right. \right. \\
&\quad \left. \left. - \frac{e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \right. \right. \\
&\quad \left. \left. - \frac{e^{-(a_2+a_3)t} - e^{-(a_2+a_3)t_*}}{a_2(a_2+a_3)} \left( \frac{e^{(p-a_1)t_*}}{p-a_1} - \frac{e^{(q-a_1)t_*}}{q-a_1} \right) \right\} \right. \\
&\quad \left. + \frac{e^{-a_3 t} - e^{-a_3 t_*}}{a_3} \left\{ \frac{e^{(p-a_1-a_2)t_*}}{(p-a_1)(p-a_1-a_2)} - \frac{e^{(q-a_1-a_2)t_*}}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \right. \right. \\
&\quad \left. \left. + \frac{e^{-a_2 t_*}}{a_2} \left( \frac{e^{(p-a_1)t_*}}{p-a_1} - \frac{e^{(q-a_1)t_*}}{q-a_1} \right) \right\} \right], \tag{23}
\end{aligned}$$

但し、 $p = \alpha(2 - \beta - \gamma)$ ,  $q = 2\alpha(1 - \beta)$  である。

式 (22) を用いる事で、1次近似解は次のように与えられる。

$$\begin{aligned}
l_1^{(1)}(t) &= l_1^{(0)}(t) - \delta_1 e^{\alpha(1-\beta)t} I^{(1)}(t; t_*, \alpha(1-\beta)), \\
l_2^{(1)}(t) &= l_2^{(0)}(t) - \delta_1 \alpha \beta e^{\alpha(1-\gamma)t} I^{(2)}(t; t_*, -\alpha(\gamma - \beta), \alpha(1-\beta)) \\
&\quad - \delta_2 e^{\alpha(1-\gamma)t} I^{(1)}(t; t_*, \alpha(1-\gamma)), \\
l_{3+}^{(1)}(t) &= l_{3+}^{(0)}(t) \\
&\quad + \delta_1 \left\{ -\alpha^2 \beta \gamma e^{\alpha t} I^{(3)}(t; t_*, \alpha \gamma, -\alpha(\gamma - \beta), \alpha(1-\beta)) + e^{\alpha t} I^{(1)}(t; t_*, \alpha) \right\} \\
&\quad + \delta_2 \left\{ -\alpha \gamma e^{\alpha t} I^{(2)}(t; t_*, \alpha, \alpha(1-\gamma)) + e^{\alpha t} I^{(1)}(t; t_*, \alpha) \right\}, \quad t \geq t_*. \tag{24}
\end{aligned}$$

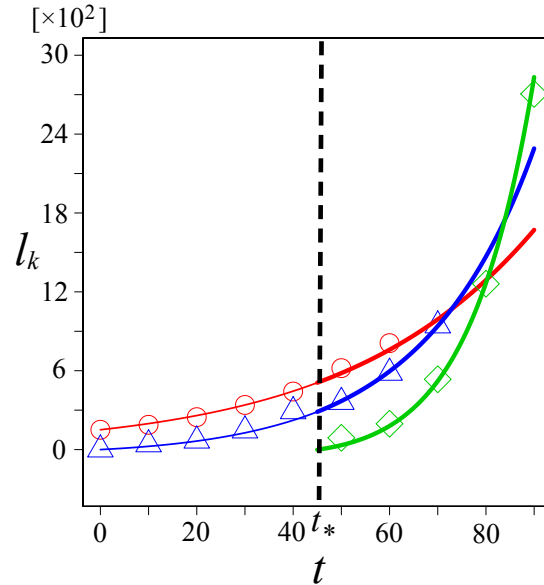


図 18  $l_1(t)$ ,  $l_2(t)$ ,  $l_{3+}(t)$  の実験データをそれぞれ,  $\circ$ ,  $\triangle$ ,  $\diamond$  でプロットした. 細い曲線は, 式 (10), (25) の値をパラメーターとして用いて, 式 (14) を,  $0 \leq t \leq t_*$  の範囲で描いたものである. 太い曲線は, 式 (26) のパラメーターを用いて, 式 (24) を,  $t \geq t_*$  で描いたものである. このフィッティングは上手くいっている.

但し, 初期条件は  $l_1^{(1)}(0) = l_1^{(0)}(0) = A$  であり, 式 (24) の第 1 行目の  $l_1^{(1)}(t)$  は  $\delta_2$  とは独立であるという事を記しておく.

### 5.3 非線形フィッティング

実験データのフィッティングには, まず, 表 2 の  $t_* = 45$  min 以前の  $t = 0, 10, \dots, 40$  min における  $(l_1(t), l_2(t))$  の 5 つのデータを用いた.  $\alpha$  と  $A$  については, 式 (10) の値を用いる.

$0 \leq t \leq t_*$  での線形微分方程式系 (12) の解 (14) のフィッティングにより, 遷移率  $\beta$  を次のように見積もった.

$$\beta = 0.317. \quad (25)$$

次に, 表 2 の  $t_* = 45$  min 以後の  $t = 50, 60, \dots, 90$  min における  $l_k(t)$ ,  $k = 1, 2, 3_+$  の実験データを用いて, 非線形微分方程式系 (15) の解である, 式 (24) へのフィッティングを行った. ここで,  $A, \alpha, \beta$  は, 式 (10) と (25) で既に見積もられた値を用いて,  $\gamma$  と

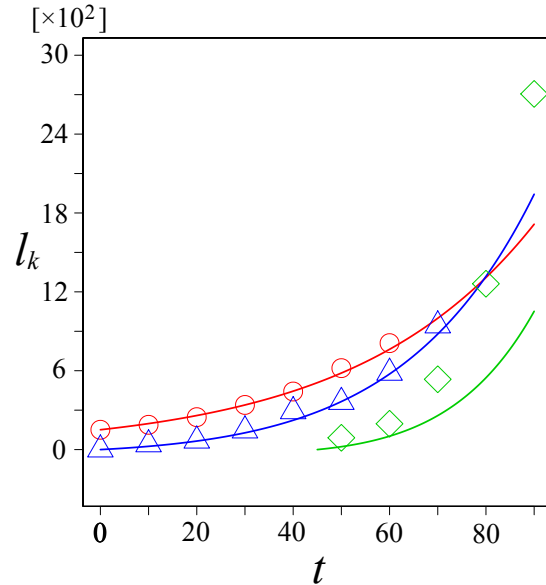


図 19  $l_1(t)$ ,  $l_2(t)$ ,  $l_{3+}(t)$  の実験データをそれぞれ  $\circ$ ,  $\triangle$ ,  $\diamond$  でプロットした. 曲線は, 式 (21) で与えられる 0 次近似解を用いており, 非線形項を無視したフィッティングである. この場合は実験データとのフィッティングが上手くいかない.

$\delta_1, \delta_2$  の値を次のように評価した.

$$\begin{aligned} \gamma &= 0.313, \\ \delta_1 &= 6.24 \times 10^{-7} \text{ min}^{-1} \cdot \mu\text{m}^{-1}, \quad \delta_2 = 3.75 \times 10^{-8} \text{ min}^{-1} \cdot \mu\text{m}^{-1}. \end{aligned} \quad (26)$$

ここまでで得られたパラメータを用いて, 再度実験データと微分方程式系をプロットした結果が図 18 である, フィッティングが上手くいっていることがわかる. また,  $\delta_i$ ,  $i = 1, 2$  については, 5.2 節の摂動計算で仮定した,  $|\delta_i| \ll 1, i = 1, 2$  を満たしていることが式 (26) で確かめられる.

ここで注意しておきたいのは, 非線形項は十分に小さいが, フィッティングには確かに影響があり, 重要な役割を果たしていることである. 比較のために非線形項を無視した場合の, 0 次近似解をフィッティングした結果を図 19 に示す. 図 19 のフィッティングでは,  $A, \alpha, \beta$  は図 18 と同じ値を用いているが,  $\delta_1 = \delta_2 = 0$  として非線形項の影響を無視している. このフィッティングでは,  $l_{3+}(t), t \geq t_*$  が上手く出来ていないことがわかる.

## 6 解析結果と考察

ここまで、紐のようなバクテリアの細胞鎖が折り畳みを繰り返して2次元平面上を広がって行くという、シンプルながらも複雑な現象について議論してきた。第5章で得られた結果で注目したいのは、2つのパラメーターが  $\beta = 0.317, \gamma = 0.313$  となりほぼ等しい値が見積もられたことである。この結果から以下の議論を行う事が出来る。

- 2つのパラメーター  $\beta$  と  $\gamma$  はそれぞれ、1重から2重、2重から4重への遷移率を与える物理量であった。このパラメーターを用いた計算から、遷移率を得ることができる。
- $\beta = 0.317$  と  $\gamma = 0.313$  という、異なりながらも非常に近いフィッティング結果が得られた。そこで、 $\beta = \gamma$  とした場合にフィッティング関数 (24) 式がどのように振る舞うかを調べた。しかしながら、単純に  $\beta = \gamma$  としようとする、フィッティング関数 (24) 式の、重積分 ( $I^{(1)}(t; t_*, a_1), I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1), I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$ ) の分母に  $\beta - \gamma$  があるため発散してしまう。そこで、まずは (24) の極限  $\gamma \rightarrow \beta$  を取れるか調べた。
- 式 (24) を用いた実験データのフィッティング結果では、 $\delta_1$  と  $\delta_2$  の値が異なる結果を得た。この  $\delta_1$  と  $\delta_2$  はどのような意味を持つのか。

### 6.1 遷移率の計算

5.2節で議論したように、1重から2重への遷移率は  $\beta/(1-\beta)$ ,  $0 \leq \beta \leq 1$  であり、2重から4重への遷移率は  $\gamma/(1-\gamma)$ ,  $0 < \gamma < 1$  で定義している。試しに  $\beta \simeq 1/3$  として1重から2重への遷移率を計算してみると、 $\beta/(1-\beta) \simeq 1/2$  となることがわかる。これは1重部分として伸長した紐のうち、およそ半分が2重に折り畳まれた構造の一部分を形成していることを意味している。同様の議論は  $\gamma$  についても適用できるので、2重部分として伸長した紐のうちの半分が4重部分を形成しているといえる。この結果は、紐が倍々に折り畳まれるプロセスにおいて、 $k$ 重に折り畳まれた部分が伸長する際に、そのおよそ半分が  $2k$ 重に折り畳まれるを可能性を示唆している。このように自己相似的な階層構造が空間を占有する様子は、ペアノ曲線などの空間充填曲線に似ているようにも思われる。

## 6.2 $\beta \rightarrow \gamma$ での $l_1^{(1)}(t)$ , $l_2^{(1)}(t)$ , $l_{3+}^{(1)}(t)$ の振る舞い

フィッティング関数 (24) が  $\beta \rightarrow \gamma$  の極限で発散しない形に書き直せるか調べた。まず考慮すべきなのは、式 (24) が発散するのは、重積分 (23) が、分母に  $\beta - \gamma$  を含んでいるためであり、極限  $\beta \rightarrow \gamma$  を取る過程で分母の  $\beta - \gamma$  が打ち消し合っただけで無くなる必要がある。また、(24) の  $l_2^{(1)}(t)$  と  $l_{3+}^{(1)}(t)$  の  $I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1)$ , 及び  $I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  について、 $a_2 = -\alpha(\beta - \gamma)$  のとき、重積分 (23) を考慮すると、 $a_2 \rightarrow 0$  とした時にも、極限がとれる必要がある。したがって、以上の 2 つの計算ができれば、 $\gamma \rightarrow \beta$  の極限が存在するといえる。そこでまず、(23) の重積分  $I^{(1)}(t; t_*, a_1)$ ,  $I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1)$ ,  $I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  が、 $\beta \rightarrow \gamma$  の極限をとれる事を確認した。その詳細な計算過程は付録 A に記した。すると、 $\gamma \rightarrow \beta$  での式 (22) の極限形を次のように表記することができる。

$$\begin{aligned}\lim_{\gamma \rightarrow \beta} I^{(1)}(t; t_*, a_1) &= J^{(1)}(t; t_*, a_1), \\ \lim_{\gamma \rightarrow \beta} I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1) &= J^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1), \\ \lim_{\gamma \rightarrow \beta} I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1) &= J^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1).\end{aligned}\quad (27)$$

このとき、 $\gamma \rightarrow \beta$  の極限では  $a_2 = -\alpha(\gamma - \beta) \xrightarrow{\gamma \rightarrow \beta} 0$  であることを考慮すると、式 (24) の 1 次近似解は次のように表せる。

$$\begin{aligned}\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_1^{(1)}(t) &= Ae^{\alpha(1-\beta)t} - \delta_1 e^{\alpha(1-\beta)t} J^{(1)}(t; t_*, \alpha(1-\beta)), \\ \lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_2^{(1)}(t) &= \alpha\beta Ate^{\alpha(1-\beta)t} \\ &\quad - \delta_1 \alpha\beta e^{\alpha(1-\beta)t} J^{(2)}(t; t_*, 0, \alpha(1-\beta)) \\ &\quad - \delta_2 e^{\alpha(1-\beta)t} J^{(1)}(t; t_*, \alpha(1-\beta)), \\ \lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_{3+}^{(1)}(t) &= -A\{(e^{\alpha(1-\beta)t} - e^{\alpha(1-\beta)t_*}) + \alpha\beta(te^{\alpha(1-\beta)t} - t_*e^{\alpha(1-\beta)t_*})\} \\ &\quad + \delta_1\{-\alpha^2\beta^2 e^{\alpha t} J^{(3)}(t; t_*, \alpha\beta, 0, \alpha(1-\beta)) + e^{\alpha t} J^{(1)}(t; t_*, \alpha)\} \\ &\quad + \delta_2\{-\alpha\beta e^{\alpha t} J^{(2)}(t; t_*, \alpha, \alpha(1-\beta)) + e^{\alpha t} J^{(1)}(t; t_*, \alpha)\}.\end{aligned}\quad (28)$$

式 (28) を実験データと比較した結果を図 20, 21, 22, 23 に示す。

まず、図 20 は、 $\delta_1$  の値を  $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-17}$  まで変化させて描いた式 (28) の  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_1^{(1)}(t)$  のグラフである。 $\delta_1 = 1 \times 10^{-7}$  のときは、 $t = t_* = 45$  min を縦断する形で急激な減少を見せるが、徐々に  $\delta_1$  の次数を下げていくと、実験データのような指数関数的増加の傾向を見せる。式 (28) の 1 行目の  $\delta_1$  を含む項を見ると、 $J^{(1)}(t; t_*, \alpha(1-\beta))$  は単調増加関数であるため、そこに負が掛かった第 2 項は単調減少となる。この式の中では、

$\delta_1$  はどのタイミングで  $l_1^{(1)}(t)$  の長さを急激に減少させるかを担うパラメーターとなっている。図 21 は図 20 と似た振る舞いをしていることがわかる。このグラフでは、図 20 の中で、最も実験データに近いと考えられる  $\delta_1 = 1 \times 10^{-7}$  を用いたときに、 $\delta_2$  の値を変化させた時の  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_2^{(1)}(t)$  の振る舞いを見ている。 $\delta_2$  は  $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-17}$  の範囲で変化させた。 $\delta_1$  の結果と同じく、 $\delta_2$  が小さい値の方が実験データの再現性が高いと考えられる。

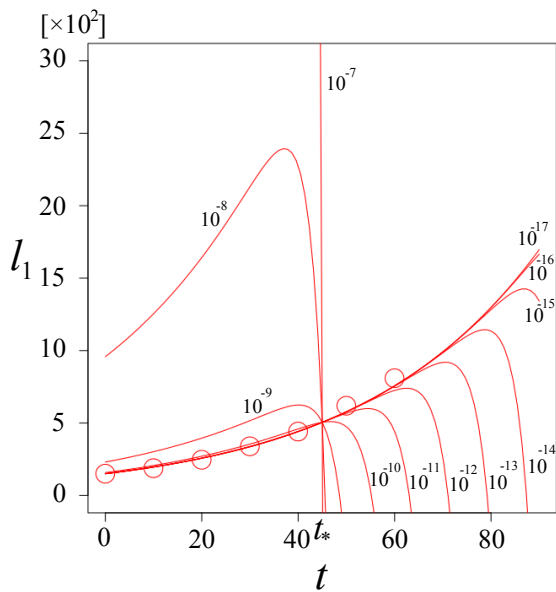


図 20  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_1^{(1)}(t)$  のグラフ:  $\delta_1$  の値を  $10^{-7} \sim 10^{-17}$  まで変化させて描いた。

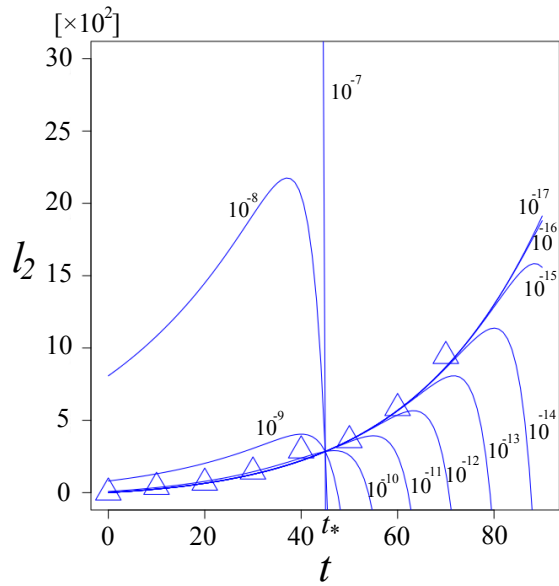


図 21  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_2^{(1)}(t)$  のグラフ: 図 20 の結果で、 $\delta_1 = 10^{-17}$  としたときに、 $\delta_2$  の値を  $10^{-7} \sim 10^{-17}$  まで変化させて描いた。

図 22 は、 $\delta_1 = 1 \times 10^{-11}$  で固定し、 $\delta_2$  の値を  $1 \times 10^{-11} \sim 10^{-5}$  まで変えたときの  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_{3+}^{(1)}(t)$  のグラフである。 $l_{3+}^{(1)}(t)$  が意味を持つのは、 $t \geq t_*$ 、 $l_{3+}^{(1)}(t) \geq 0$  の領域であるから、この場合は良い結果は得られなかった。また、図 23 は  $\delta_2 = 1 \times 10^{-11}$  で固定し、 $\delta_1$  の値を  $1 \times 10^{-6} \sim 3 \times 10^{-5}$  まで変えたときの  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_{3+}^{(1)}(t)$  のグラフである。この場合では、 $t \geq t_*$  で  $l_{3+}^{(1)}(t) \geq 0$  となっているが、実験データからは外れた値をとることがわかった。しかしながら、 $1 \times 10^{-6} \leq \delta_1 \leq 3 \times 10^{-5}$ 、 $\delta_2 = 1 \times 10^{-11}$  という値は、図 20, 21 では実験データからは外れているため、図 23 のグラフが実験データと良い一致を見せたとしても、適切な結果が得られたとは言えない。この点については、まだ課題が残っている。一方で、図 20, 21, 23 を見ると、 $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} I_1^{(1)}(t)$ 、 $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} I_2^{(1)}(t)$ 、 $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_{3+}^{(1)}(t)$  の関数形は、はじめは指数関数的な増加であるが、あるところで急激に減少する振る舞いを見せている。実験データの増加の勢いを見ると、おそらく初めに減少へと向かうのは

$\lim_{\gamma \rightarrow \beta} I_1^{(1)}(t)$  であり、次に急激な減少を迎えるのは  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} I_2^{(1)}(t)$  である。紐が自己伸長する時、その中心部分には外側よりも大きな応力が働き、折り畳みが生じる。一度折り畳まれると、よりしっかりとした構造になるが、その後さらに紐が成長して加わる力が大きくなると、耐えきれなくなり再び折り畳まれる。このプロセスを繰り返すと、高次に折り畳まれた部分が出現し、やがて空間を埋め尽くすようになる。この高次に折り畳まれた部分も指数関数的に成長し、周りを飲み込むように広がるため、単純な 1 重部分や 2 重部分は逆に急速になくなってしまふ。そして最終的には、稠密なバクテリア・コロニーが形成されるようになると思われる。

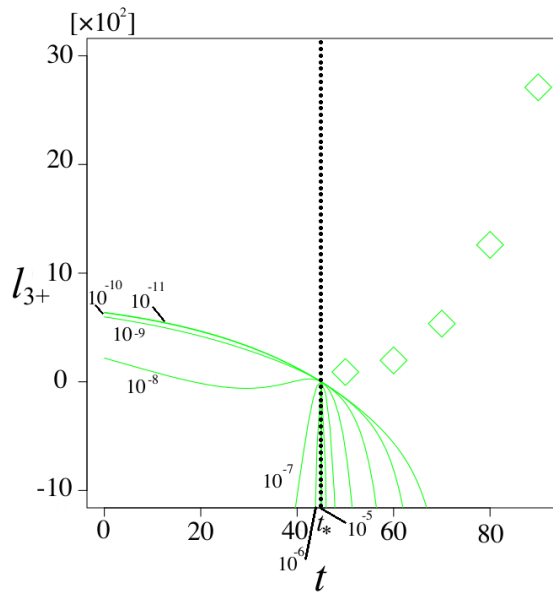


図 22  $\delta_1 = 10^{-11}$  で固定し、 $\delta_2$  の値を  $10^{-11} \sim 10^{-5}$  まで変えたときの  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_{3+}^{(1)}(t)$  のグラフ

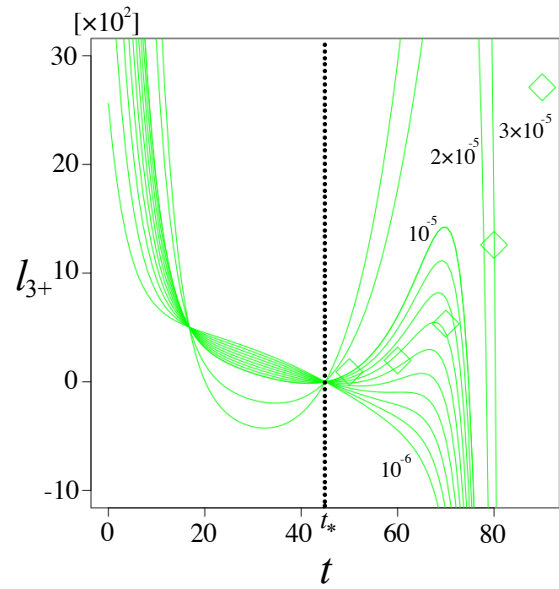


図 23  $\delta_2 = 10^{-11}$  で固定し、 $\delta_1$  の値を  $10^{-6} \sim 3 \times 10^{-5}$  まで変えたときの  $\lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_{3+}^{(1)}(t)$  のグラフ



## 第 III 部

# 円形プール内における バクテリア集団運動の研究

## 1 研究の背景と目的

第 I 部では、細菌集団は生物系で最も単純なシステムであると考えられながらも、環境条件に依存して、様々な形態のコロニーを作り出すことを説明した。特に、マクロなスケールで形成されるバクテリア・コロニーの内部や成長先端のミクロなスケールでは、菌が局所的に凝集して集団的に振る舞い、渦のような流体力学的構造を形成していることを示した。第 II 部では、領域 B の環境下で菌細胞が単体から成長する様子に焦点をあて、微視的なスケールにおける観察から得られた結果を報告した。領域 B のバクテリア・コロニーの成長界面と同様に、折り畳みを繰り返しながら成長する様子が確認できた。そして成長のごく初期においては、折り畳まれた回数に関わらず、菌細胞は指数関数的に成長していると考えられた。ゆえにコロニーの界面近傍における急激な個体数の増加が、折り畳み構造を形成しつつ界面を押し出す役割を果たしており、それが巨視的には複雑な界面形状として観測されているのではないかと考えられた。

第 III 部では、領域 C の環境下でミクロなスケールで観察される菌細胞の振る舞いについて報告する。領域 B に比べると、領域 C では培地が柔らかい分、微視的なスケールにおいて菌の運動が活発であることが確認できる。紐状成長と異なり、菌細胞は細胞分裂で完全に分離し、個々別々に、独立に動き回る。本研究では、そのような活発に運動する菌細胞を集めたときに観察される、集団的振る舞いについて調べた。生物の集団運動の発現についての統計物理学的な研究背景として、自己推進粒子系 Self-Propelled Particles (SPP) モデルがある。そこでこの節では、まず SPP モデルについて説明し、次にバクテリア集団運動に関する先行研究を紹介する。その後、本研究の目的を述べる。

### 1.1 自己推進粒子系に関する研究

この節では、SPP モデルについて説明する。このモデルは、動き回る粒子がその近傍の他の粒子と運動方向を揃える効果と、運動方向に与えられるゆらぎという 2 つの要因の競合により秩序・無秩序相転移を示す系として知られている。

### 1.1.1 Self-Propelled Particles (自己推進粒子系)

Vicsek らによって 1995 年に提案された自己推進粒子系 Self-Propelled Particles (SPP) は、統計物理学的な視点に基づいて構築された集団運動のモデルである。Self-Driven Particles (自己駆動粒子系) あるいは Vicsek モデルとも呼ばれる。

ここでは、最も標準的な 2 次元の SPP モデルについて説明する。これは他の条件の場合と明示的に区別するために Standard Vicsek Model (SVM) と呼ばれることがある。本論文もこの慣例に従うことにする。SVM は、周期的境界条件をもつ 2 次元平面上を運動する粒子からなる系である。粒子の総数を  $N$  とし、 $i$  番目の粒子の状態は非格子の実数値を座標として取りうる位置ベクトル  $\vec{x}_i$  と偏角  $\theta_i$  の角度をもつ速度ベクトル  $\vec{v}_i$  により特徴づけられる。粒子の状態は、次の規則に従って時間発展する。ある時刻  $t$  において、 $i$  番目の粒子は自身の近傍の領域  $S(i)$  内を見渡して、自身の運動方向を  $S(i)$  内の粒子の平均の運動方向  $\langle \theta(t) \rangle_{S(i)}$  に向ける。その際に、わずかなノイズ  $\xi$  を加える。領域  $S(i)$  には  $i$  番目の粒子の座標を中心とした半径  $R$  の円形領域が用いられる。以上の手順を定式化すると、 $i$  番目の粒子の進行方向の発展方程式は、次式のように表される。

$$\theta_i(t + \Delta t) = \langle \theta_j(t) \rangle_{j \in S(i)} + \xi. \quad (29)$$

ここで、ノイズ  $\xi$  には、区間  $[-\eta/2, \eta/2]$  の一様乱数が与えられる。 $i$  番目の粒子の座標は次式により更新される。

$$\vec{x}_i(t + \Delta t) = \vec{x}_i(t) + \vec{v}_i(t)\Delta t. \quad (30)$$

ここで、粒子の速さ  $|\vec{v}_i|$  は粒子に依らず一定値  $v_0$  とする。つまり、速度ベクトル  $\vec{v}_i$  には次の制限が課される。

$$|\vec{v}_i| = v_0 = (\text{一定}). \quad (31)$$

### 1.1.2 Standard Vicsek Model の秩序-無秩序相転移

SVM は、ある粒子が自身の進行方向を周りの粒子の進行方向に合わせるという効果と、粒子の進行方向に働く揺らぎの競合のもとで、系全体の振る舞いが相転移を示すミニマルモデルと考えられている。

ここでは、SVM の相転移について説明する。モデルを単純化した結果、SVM は 2 つのコントロールパラメーターに依存して系の振る舞いが変化すると考えることができる。1 つは粒子の密度  $\rho$  であり、もう 1 つはノイズの振幅  $\eta$  である。図 25 に示すように、これら

のパラメーターに依存して, SVM は集団的振る舞いを示す. 図 25(a) は高密度, 低ノイズの条件の場合であり, このとき, 系は大域的に運動方向が揃った秩序状態を示す. 図 25(b) は低密度, 低ノイズの条件の場合であり, このとき, 粒子は局所的に運動方向が揃ったクラスターを形成する.

系の振る舞いを特徴づけるために, 粒子の運動方向に着目した次のような秩序変数  $\phi$  を導入する.

$$\phi \equiv \frac{1}{N} \left| \sum_{i=1}^N \frac{\vec{v}_i}{|\vec{v}_i|} \right| = \frac{1}{Nv_0} \left| \sum_{i=1}^N \vec{v}_i \right|. \quad (32)$$

ここで, 等式の変形には条件式 (31) を用いた. 式 (32) の秩序変数  $\phi$  は粒子の運動方向の揃い具合を定量化した量であり, 粒子の運動方向がばらばらな無秩序状態であれば  $\phi \sim 0$  であり, 全体として運動方向が揃った秩序状態であれば  $\phi \sim 1$  となる.

図 26 は秩序変数  $\phi$  のコントロールパラメーター依存性を示している. 図 26(a) に示したのは, 粒子数密度一定の条件下での  $\phi$  の  $\eta$  依存性である. ノイズ振幅  $\eta$  を減少させると,  $\eta \sim 3.0$  の近傍で  $\phi$  が急激に立ち上がる様子が確認できる. また, システムサイズを  $\square \rightarrow + \rightarrow \times \rightarrow \triangle \rightarrow \diamond$  と大きくしていくと, 立ち上がり方が顕著になる様子が確認できる. 他方, 図 26(b) に示したのは, ノイズ振幅一定の条件下における  $\phi$  の  $\rho$  依存性である. 粒子数密度  $\rho$  を増加させると,  $\phi$  は急激に立ち上がる振る舞いを示すことがわかる.

### 1.1.3 境界を伴う系における Self-Propelled Particles

Czirók らは円形境界の反射壁と粒子の凝集を防ぐ排除体積効果を実装することにより, 自己推進粒子系を用いて境界を伴う系の集団運動を研究した. これは, 各粒子が自身から相互作用半径  $R$  内の粒子と運動方向を揃える効果に加えて反発半径  $r$  の体積を持ち, この内部に他の粒子が侵入すると強い反発力が生じるとしたモデルである. このモデルの粒子系の時間発展には, 通常 SVM の発展方程式 (29) と式 (30) が用いられる. ただし, 他の粒子との距離が  $r$  未満になった場合は, 粒子の運動方向の更新として式 (29) の代わりに次の発展方程式が適用される.

$$\theta_i(t + \Delta t) = \Phi \left( - \sum_{\substack{j \neq i \\ |\vec{x}_j(t) - \vec{x}_i(t)| < r}} \frac{\vec{x}_j(t) - \vec{x}_i(t)}{|\vec{x}_j(t) - \vec{x}_i(t)|} \right) \quad (33)$$

ここで,  $\Phi(\cdot)$  は引数としてベクトルをとり, そのベクトルが基準軸 ( $x$  軸の正の部分) となす角を取り出す関数である. 式 (33) は  $i$  番目の粒子の角度の更新についての発展方程

式である。これは  $i$  番目の粒子を基準として相互作用半径  $r$  内に存在する  $j$  番目の粒子を調べて、 $i$  番目の粒子から  $j$  番目の粒子へと向かうベクトルの総和を算出し、その方向とは逆方向の角度を  $i$  番目の粒子の新たな角度として設定するものである。つまり近傍の密度が高くなると、粒子はそれを避けるように反対方向へ方向転換するようになる。よって、式 (33) は粒子同士の凝集を避ける反発効果を与える。図 27 に示されているように、この条件下では、時計回りあるいは反時計回りの大域的に秩序だった回転運動が自発的に生じることが報告されている。

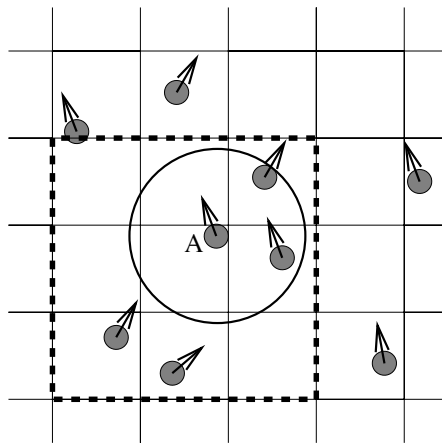


図 24 Standard Vicsek Model の模式図 [1]. 粒子は近傍の粒子と相互作用しながら非格子の平面上を運動する。粒子 A の相互作用領域  $S(A)$  は実線円で示されている。この場合、粒子 A には  $S(A)$  内の右側の 2 粒子と相互作用し、自身を含めた 3 粒子の平均の運動方向に自身の運動方向を揃える効果が働く。  $S(A)$  として、点線で示された正方領域を用いる場合もある。この場合、粒子 A は近傍の正方領域に存在する他の 4 つの粒子と相互作用する。文献 [1] の図を引用。

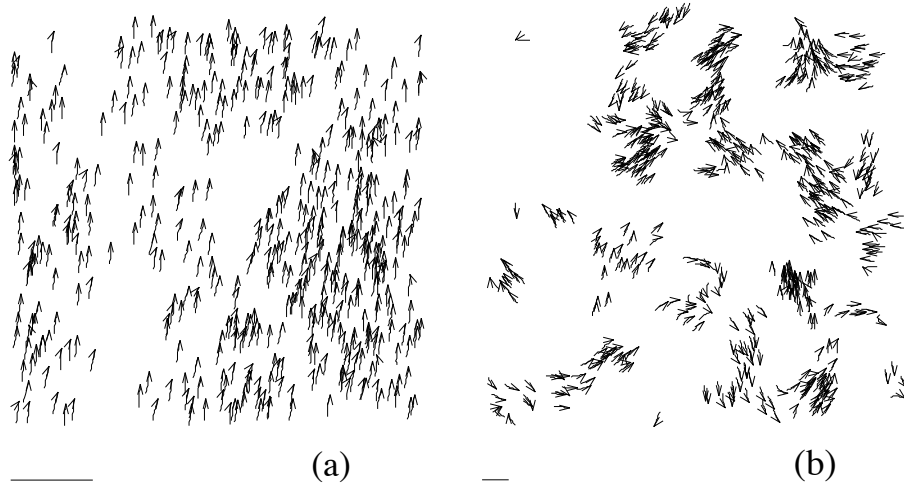


図 25 異なる条件下における Standard Vicsek Model の典型的な振る舞いのスナップショット. 粒子数  $N = 300$ , 粒子の速さ  $v_0 = 0.03$ , およびノイズ振幅  $\eta = 0.1$  (低ノイズ) と設定された場合の振る舞いを表す. 粒子の速さは山型の矢印で示されている. 直前の 20 ステップの粒子の軌道を矢印に続く折れ線で表している. 左下のスケールバーは相互作用半径の大きさを表す. (a) システムサイズ  $L = 5$  (粒子密度  $\rho = 12$ ) の高密度, 低ノイズの条件. (b)  $L = 25$  ( $\rho = 2.4$ ) の低密度, 低ノイズの条件. 文献 [19] の図を一部修正して引用.

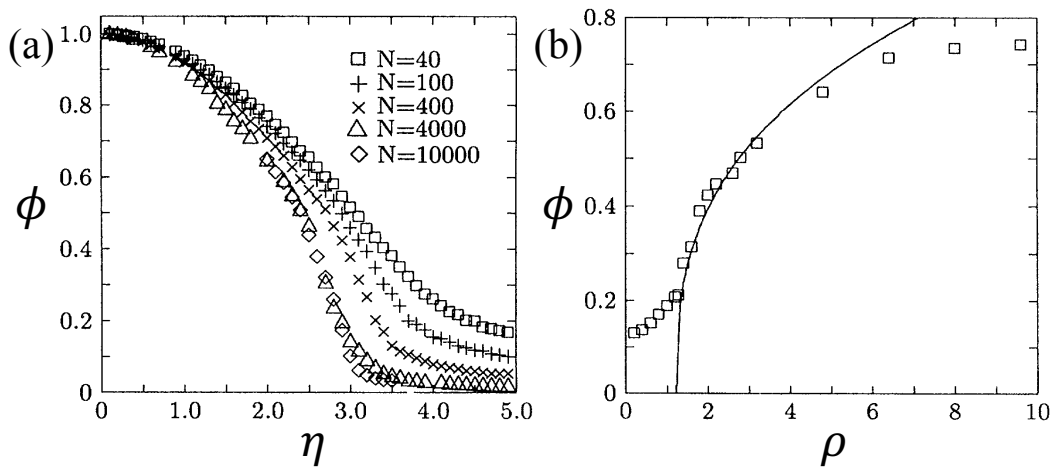


図 26 秩序変数  $\phi$  とコントロールパラメータの関係. (a) 粒子密度  $\rho$  をおよそ  $\rho \sim 4$  に固定した条件下におけるノイズ振幅  $\eta$  と  $\phi$  の関係. ノイズ  $\xi$  の一様乱数の範囲が  $[-\eta/2, \eta/2]$  で与えられていることに注意.  $\square$ : 粒子数  $N = 40$ , システムサイズ  $L = 3.1$  ( $\rho = 4.16$ ),  $+$ :  $N = 100, L = 5$  ( $\rho = 4$ ),  $\times$ :  $N = 400, L = 10$  ( $\rho = 4$ ),  $\triangle$ :  $N = 4000, L = 31.6$  ( $\rho = 4.01$ ),  $\diamond$ :  $N = 10000, L = 50$  ( $\rho = 4$ ). (b)  $\eta$  を固定した条件下における  $\rho$  と  $\phi$  の関係. 縦軸の最大値は 0.8 であることに注意. 文献 [19] の図を一部修正して引用.

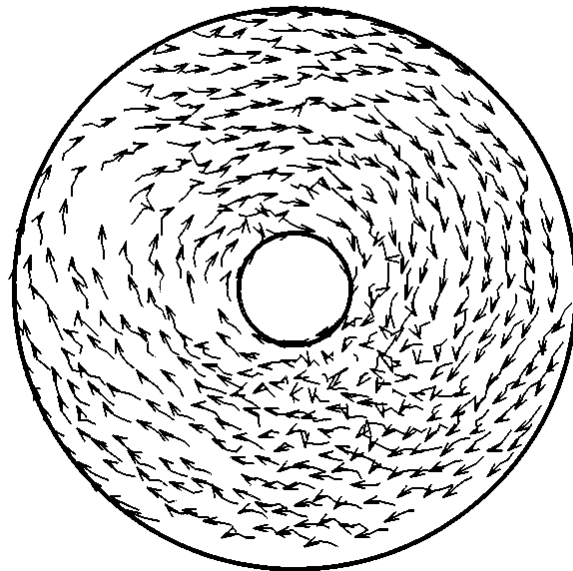


図 27 円形の境界条件と反発効果を実装した場合の自己駆動粒子系の高密度・低ノイズの条件下での振る舞い. 文献 [1] の図を引用.

## 1.2 バクテリア集団運動に関する先行研究

前節では自己駆動粒子系に焦点をあて、粒子間に働く運動方向を揃える効果とその協調的振る舞いを妨げるノイズ効果の競合により、系が秩序・無秩序相転移を示すことを説明した。この節では、境界を伴う系の内部で観察される、円形プール内のバクテリア集団運動の研究 [30] について説明する。

### 1.2.1 円形プール内におけるバクテリア集団運動

第 I 部の領域 C の説明において、この環境条件で形成される同心円状コロニーが周期的な成長を示すことを述べた。ここでは、コロニーの成長段階に同期するように、コロニー内部の菌細胞のサイズも変化している。そこで、異なるコロニーの成長段階に対してその成長先端近傍に円形の窪みをつくり、そこに菌をトラップすることにより、菌のサイズを変化させることができるバクテリア集団運動の系を実現している。この寒天培地平面上に作成した窪みにバクテリアを閉じ込めた系を円形プールと呼ぶことにする。*B. subtilis* を用いたバクテリア集団運動の実験では、円形プール内での細菌集団の振る舞いは、菌密度  $\rho$  と換算菌体長  $\lambda$  という 2 つの特徴量を用いて分類可能である。ここで、 $\rho$  はプールの面積に対する菌がプールを占有する面積であり、 $\lambda$  はプール直径に対するプール内の菌の平均の長さとして定義される。このとき、円形プール内におけるバクテリア集団運動は、図 28 に示すような 6 種類の相に分類可能であることがわかった。それぞれの相の特徴は次のように説明される。

- ***random motion***

$\lambda \lesssim 0.1, \rho \lesssim 0.3$  という換算菌体長が十分に小さく、菌密度も低い場合に観察される。菌はプールの縁に沿って運動する傾向を持ちながらも、自由に運動方向を変え、頻繁にプールの中央部を横切る。その運動はほぼ無秩序のように見える。

- ***turbulent motion***

*random motion* の相から  $\rho$  を上昇させると観察される。短い菌細胞がプール内を埋め尽くし、2 次元的に運動する。この密度が高い状況下では、プールの縁に沿った運動はもはや認識できず、菌集団の振る舞いは乱流的になる。渦の生成と消滅が観察される。

- ***one-way rotational motion***

$0.1 \lesssim \lambda \lesssim 0.2$  の場合に観察される。その振る舞いは *random motion* から劇的に変化する。プール中心を横切る菌はほとんどおらず、プールの縁に沿って 1 次元的

に運動するようになる。プールの上側から見た場合、プールの縁に沿って反時計回りに菌は運動する。しばしば時計回りを始める菌が観察されるが、それらはすぐに反時計回りをするようになる。この異方的な振る舞いの原因は解明されていないが、菌の鞭毛の回転方向が決まっているなどの生物学的な要因が関係していると思われる。

- ***two-way rotational motion***

*one-way rotational motion* の相から  $\rho$  が増大する場合、プールは外側領域から内側領域へと菌で満たされていく。菌密度がおよそ  $\rho \sim 0.3$  程度になると、*two-way rotational motion* が観察されるようになる。この相では、プール外側領域の菌はプールの縁に沿って反時計回りに運動し、プール内側領域の菌は時計回りに運動する。したがって、*one-way rotational motion* と同様に、この相においても菌の運動は 1 次元的であるといえる。プール外側領域で時計回り、もしくはプール内側領域で反時計回りと、周りの菌と逆方向に菌が運動しても、しばらくすると回転方向を反転させて、周りと同じ向きに回転するようになる。菌は内側領域と外側領域を自由に行き来している様子が観察されるが、内側領域と外側領域の境界の位置はほとんど変化しないように見える。

- ***random oscillatory motion***

*one-way rotational motion* よりも更に  $\lambda$  が大きくなると、菌集団の振る舞いは再び変化する。菌はプールの縁に沿った運動は出来なくなり、前進と後退を繰り返す前後振動をするようになる。この相では、菌は独立にランダムな前後振動を繰り返しているように見える。

- ***ordered oscillatory motion***

*random oscillatory motion* の相から  $\rho$  が十分に高くなると、菌集団の軸方向の振動的な振る舞いは、振動方向が間欠的に揃う準周期的な振る舞いを示す。その周期のうち長時間の間は、互いに独立に軸方向の前後振動をしているが、一度だけ、菌の軸方向が全体的に揃う秩序状態が実現する。このとき、菌集団はその秩序状態を保持したまま反時計回りに回転する様子が観察される。しかしながら、秩序状態が実現する周期は不規則であるように思われる。

図 28 は横軸を換算菌体長  $\lambda$ 、縦軸を菌密度  $\rho$  とした場合のバクテリア集団運動の相図である。垂直な 2 つの破線は  $\lambda$  に関する 2 つのしきい値を表す。すなわち、 $\lambda_{C1} \cong 0.1$  と  $\lambda_{C2} \cong 0.2$  を境として、上述した細菌集団の劇的な振る舞いの変化が観察される。



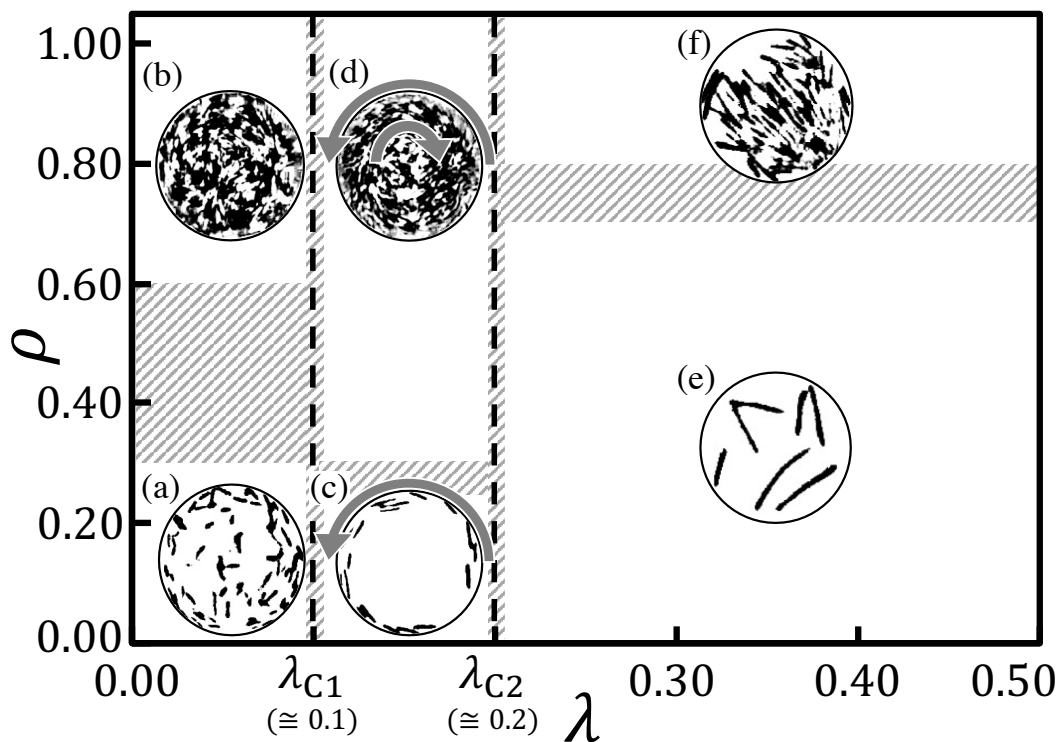


図 28 円形プール内におけるバクテリア集団運動の相図 [30, 32]. 横軸は換算菌体長  $\lambda$ , 縦軸は菌密度  $\rho$  を表す. (a) *random motion phase*, (b) *turbulent motion phase*, (c) *one-way rotational motion phase*, (d) *two-way rotational motion phase*, (e) *random oscillatory motion phase*, (f) *ordered oscillatory motion phase*. (c) と (d) の相の矢印は運動の回転方向を表す.  $\lambda_{C1} \cong 0.1$  と  $\lambda_{C2} \cong 0.2$  に位置する 2 本の垂直な点線は, その線を横切るようにコントロールパラメーターが変化すると, 集団の運動状態が著しく変化することを示している.

### 1.2.2 境界を伴う系内部で観察される集団運動

寒天培地上に作成した円形プールの系は、深さが  $1\ \mu\text{m}$  であり、これは菌の径およそ  $0.5\ \mu\text{m}$  と同程度のスケールである。したがって、この系で観察される細菌集団の運動は 2 次元平面上の振る舞いであるとみなすことができる。他方、菌をトラップする溶液に、菌の径に比べて十分な高さがある系も調べられている。ここでは、そのような系のいくつかについて紹介する。

Wioland らは、スライドガラスに挟んだ液滴内部で、高密度の菌集団が系全域におよぼ単一の渦構造を形成することを示した [23]。この液滴の系の中央付近では、時計回りもしくは反時計回りの流れを菌集団が形成し、液滴の境界付近では中央部と逆回りの流れが生じている様子が報告されている。また、この回転は長時間持続し定常的である。内側と外側の回転が逆回りである原因としては、境界付近で菌が外側に向かって泳ぎながら境界に対して立ち上がったことにより、菌の遊泳の反作用として内向きのバックフローを生じているためであるという考察がなされている。彼らの実験では、菌の大きさは変えずに液滴の径を変えてシステムを構築している。液滴の深さはおよそ  $15\ \mu\text{m}$  と  $25\ \mu\text{m}$  であり、液滴内の菌の平均の長さはおおよそ  $5\ \mu\text{m}$  である。液滴の径を増加させたとき、液滴の径の長さがおよそ  $30\ \mu\text{m}$  を超えたあたりから菌集団の運動方向が揃い始め、渦を形成するようになる結果が示されている。液滴の深さが  $25\ \mu\text{m}$  の場合、秩序状態が実現する液滴の系の範囲は、 $30\ \mu\text{m}$  から  $70\ \mu\text{m}$  のあたりであった。換算菌体長  $\lambda$  の考え方に従って、その液滴の径と液滴内の平均の菌の長さのスケール比の範囲を求めると、 $0.07 \lesssim \lambda \lesssim 0.17$  となる。これは円形プールの系の *one-way rotational motion* および *two-way rotational motion* の相が観察される  $0.1 \lesssim \lambda \lesssim 0.2$  という  $\lambda$  の範囲に非常に近いことがわかる。彼らはまた、円形境界の縁近傍での粒子の角度を調べ、密度が低いと粒子は縁と並行になり、密度が高いと縁と垂直になる傾向があることを示した。そしてその中間の密度では、径の増大とともに菌が縁となす角度が減少することを報告している。ゆえに境界の曲率が增大すると、菌が縁に対して立ち上がるようになり、それが系内向きのバックフローを生じて渦が形成されるというメカニズムの可能性を示している。彼らの結果は、幾何学的な制約が安定な渦構造の実現に重要な役割を果たしていることを示唆している。

幾何学的な制約が渦構造を実現することを支持する研究成果は、別府らによっても報告されている [25]。彼らは 1 つの円形境界の内側で形成される渦構造だけでなく、2 つの円を結合させた 8 の字型の境界の系の内部で、大腸菌 *E. coli* の集団の流れがどのようなパターンを形成するかを調べた。この実験で用いられた菌は、通常は長さが  $8.3\ \mu\text{m}$  であるが、薬品を用いて伸長させた菌体は  $14.5\ \mu\text{m}$  にまで達する。この系では、片側の円の境界に沿った流れが系の中心の 2 つの円の結合部分で衝突し、その結果どのような流れが全体

として実現するかが問題である。この系の菌集団の流れは、回転方向の揃った渦や逆回転の2つの渦構造を生成することが実験的に確認されている。そしてこの回転方向は、2つの円の中心間の距離に依存して劇的に変化することが報告されている。彼らは更に、4つの円を結合させた系内部においても渦構造の衝突が現れることを示し、その渦の回転方向も幾何学的な境界条件で定まることを議論している。この研究成果は、系の幾何学的な制約が、その内部で形成されるパターンに著しく影響していることを支持するものである。

### 1.3 本研究の目的

前節では、SPP モデルの秩序・無秩序相転移を説明し、統計物理学的な視点から集団運動の発現にアプローチすることの有効性を示した。同時に、バクテリア集団運動に関する先行研究を紹介し、実際の系においてもコントロールパラメーターに依存して、集団的振る舞いの変化が観察されることを示した。

以降の節では、*B. subtilis* の円形プール内における 2 つの領域の集団運動に焦点を当てる。その 1 つは *random motion* で、もう 1 つは *one-way rotational motion* である。先述したように、この 2 つの領域の細菌集団の振る舞いは、換算菌体長  $\lambda$  の閾値  $\lambda_{C1}$  を境に鋭く変化することが報告されている。これら 2 つの領域の細菌集団の振る舞いの変化を定量化するために、秩序変数を導入して転移近傍の振る舞いを調べた [32]。この秩序変数は円形プールの縁に沿って反時計周りの運動成分を抽出するものであり、時空間平均として計測した、細菌集団の運動方向の揃い具合を定量化した量と考えることができる。 $\lambda$  の異なる様々な系についてこの秩序変数を調べることにより、反時計回りに運動方向が揃った秩序状態の  $\lambda$  依存性を調べた。更に、実際に  $\lambda$  の増加に対して細菌集団の振る舞いが秩序化するのであれば、ここでは細菌同士の相互作用が重要であると考えられる。ここでいう細菌同士の相互作用というのは、細菌同士の接触や衝突時に、*B. subtilis* の棒状の形状に由来して菌の運動方向が揃うという力学的な相互作用である。そのような物理的相互作用の有無が菌の運動に与える影響を調べるために、円形プール内に細菌が単体で存在する系を用意し、時間平均として計測した反時計回りの運動成分の強さの  $\lambda$  依存性を調べた。その上で、菌集団の系と菌単体の系の振る舞いを比較することにより、菌同士の相互作用が菌の振る舞いに与える影響を評価することを試みた。これらの結果を第 3 節で述べる。また、第 3 節の結果を補足する参考資料を付録 B に記した。第 4 節では、第 3 節で得られた結果について議論する。中心となるのは細菌集団の秩序変数の  $\lambda$  依存性であり、この結果と菌単体の系の秩序変数の振る舞いを比較することで、菌同士の相互作用の重要性を議論した。さらに、菌単体の系を詳細に調べることにより、菌の運動に影響のある他の要因についても考察を行った。

## 2 実験方法

円形プールの作成は、領域 C の環境条件の下、培地の固さが中程度で、栄養が豊富な条件下で作成した寒天培地を用いて行った。観察対象として、*random motion* と *one-way rotational motion* の系に焦点をあてた。この節では、実験に用いた寒天培地の作成方法およびバクテリア集団運動の計測手順を説明する。

### 2.1 実験の流れ

本実験は、次の手順で行った。基本的には、バクテリア・コロニー作成の手順までは第 II 部の方法と同じである。ただし、集団運動の振る舞いが変わるためには菌のサイズが変わることが重要であると考えられるため、菌体の長さが周期的に変化する性質を持つ同心円状コロニーを利用して実験系を構築した。

#### 1. 実験用寒天培地の作成

環境条件として、寒天濃度  $C_a$  および栄養濃度  $C_n$  を領域 C の範囲に設定し、同心円状コロニーの作成を目指す。培地作成の詳細な手順は次節 2.2 に記した。

#### 2. 寒天培地への菌液の接種

寒天培地表面中央に菌液を 3  $\mu\text{L}$  接種する。菌液は波長 600 nm での光学密度 (Optical Density, OD) を 0.5 に調整したものをを用いた。これは、菌液 1  $\mu\text{L}$  あたりに  $10^4$  匹の菌細胞が含まれていることを意味する。菌液接種後、培地表面上の液滴が乾くまで、およそ 1 時間室温で乾かす。

#### 3. 同心円状コロニーの作成

35°C, 90% RH の条件下で恒温恒湿器にて培養する。領域 C の環境条件の場合、菌液接種後のおよそ 7 時間程度の lag phase の間は、菌細胞は成長と細胞分裂を繰り返すことにより増殖する。この段階では、コロニーの界面が広がる様子はまだ観察されない。この状態の後に 1st migration phase へ移行する。この段階で初めて、バクテリア・コロニーが 2 次元的に広がる様子が観察される。その後、コロニーは consolidation phase と migration phase を繰り返し、周期的な同心円状パターンを形成する。

#### 4. 円形プールの作成

菌液接種から約 20 時間経過後、3rd migration phase へ移行する直前の、第 I 部の図 6(a-e) に示されるような枝が伸び始めた段階を狙って、コロニーの成長先端近傍にガラスビーズ (Unikita SPM-50) をばら撒き 1 分程ビーズの重さで培地表面を

窪ませる。すると、培地から窪みへ水分が染み出し、そこに菌が流入する。その後、粘着テープを用いてビーズを回収することにより、培地表面に円形に窪んだプールが形成され、その内部に菌がトラップされる。X線を用いて計測した円形プールの形状の典型的な例を付録 B.1 に記した。

#### 5. バクテリア集団運動の観察

光学顕微鏡 (Nikon DIAPHOT-TMD) にシャーレを取り付けた後に、観察対象とする系を探し、ハイスピードカメラ (Keyence VW-9000) を用いて 30 Hz で 10 分間の計測を行う。撮影倍率は 40 倍で観察した。

#### 6. 系の特徴量と速度場の計測

円形プールの面積は、10 分間の間に、菌細胞をトレースした軌跡が覆い尽くした面積として定義した。このプールの面積の差渡しの長さとして、プールの直径を見積もった。菌密度は、プールの面積に対する、観察開始時刻における菌のプール内占有面積として定義した。この解析においては、画像処理ライブラリ (OpenCV) を用いた。他方、菌体長に関しては、観察動画のスナップショットを A4 に拡大コピーし、定規を用いてそれぞれの菌の長さを手作業で測った。また、菌集団の速度場の計測には流体計測ソフト (Library Flow-PIV) を用いた。

## 2.2 寒天培地の作成方法

バクテリアの運動性と増殖の頻度を制御してコロニーのパターン形成を議論するために、寒天培地のコントロールパラメーターとして寒天濃度 ( $C_a$ ) と栄養濃度 ( $C_n$ ) という2つの環境条件を設定できることは第I部で説明した通りである。基本的な手順は第II部と同じであり説明が重複する部分もあるが、以下では、バクテリア集団運動の系を観察するための寒天培地の作成方法について説明する。

1. 薬品を表1の分量で準備し、まずは純粋に NaCl と  $K_2HPO_4$ 、そして栄養分である Bacto-Peptide (Becton, Dickinson and Co.) を加えて攪拌後、pH が 7.1 になるように HCl を滴下して調整する。
2. 混合溶液を三角フラスコへ移し、Bacto-Agar (Becton, Dickinson and Co.) を加えた後にアルミホイルで蓋をして滅菌処理へ移る。培地作成には空中雑菌等の混入を防ぐため、完全な滅菌環境を準備する必要がある、専用機器を用いたオートクレーブ処理を行う。これは温度を上昇させて  $121^\circ\text{C}$  の状態を 15 分間保つ、高温高圧滅菌処理である。
3. オートクレーブ処理後、寒天溶液を 20ml ずつ滅菌済みシャーレに取り分けて、室温で 1 時間程寒天培地が固まるのを待つ。
4. 寒天が固化し、培地のシャーレへの固着を確認後、培地表面の余分な水分を蒸発させるために乾燥機で  $50^\circ\text{C}$ 、90 分間の乾燥処理を行う。

以上の工程により、 $C_a = 10\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  の寒天培地が作成できる。

薬品名	分量
純水	100 mL
NaCl	0.50 g
$K_2HPO_4$	0.50 g
Bacto-Peptide	3.00 g
Bacto-Agar	0.83 g

表3 寒天培地の材料と分量

### 3 実験結果

#### 3.1 *random motion* から *one-way rotational motion* への転移

##### 3.1.1 円形プール内における細菌集団の秩序状態の特徴づけ

*random motion* phase と *one-way rotational motion* phase における細菌集団の運動状態の違いを明確にするために、細菌集団の速度場のプールの周方向の成分に着目した。

$0.05 < \lambda < 0.20$  の範囲の系を対象に、各々の系に対して 1/30 秒のサンプリング間隔で細菌集団の速度場の時系列計測を 60 秒間行った。ゆえに 1 つの系の計測結果は 1,800 枚の離散的な時刻における速度場の情報として得られる。*random motion* phase と *one-way rotational motion* phase における典型的な速度場を各々のスナップショットに重ねて描いたものを図 29(a) と (b) にそれぞれ示す。

速度場の解析のために、極座標で指定される 2 次元正方格子を導入する。極座標の原点を円形プールの中心に合わせ、極座標の動径と極角には  $r$  と  $\theta$  を用いる。これにより、座標  $(r, \theta)$  を用いて円形プール上の座標を指定することができる。正方格子の格子間隔のスケールは  $1.88 \mu\text{m}$  に設定した。各々の格子点に対して、 $\hat{S}(r, \theta)$  をプールの周方向の単位接ベクトルと定義する。 $\hat{S}(r, \theta)$  の正の方向は反時計回りと定義した。

各時刻  $t$  に対して、速度場  $\mathbf{V}(t; r, \theta)$  を計測した後、各々の格子点  $(r, \theta)$  で  $\mathbf{V}(t; r, \theta)$  を規格化することにより、単位速度ベクトル場 (配向場)  $\hat{\mathbf{V}}(t; r, \theta)$  を得た。すなわち、各格子点  $(r, \theta)$  毎に、 $\hat{\mathbf{V}}(t; r, \theta) = \mathbf{V}(t; r, \theta) / |\mathbf{V}(t; r, \theta)|$  を見積もった。配向場  $\hat{\mathbf{V}}(t; r, \theta)$  と単位接ベクトル場  $\hat{S}$  の内積をとることで、各格子点上における局所的な秩序変数  $q(t; r, \theta)$  を定義することができる。すなわち、

$$q(t; r, \theta) = \hat{\mathbf{V}}(t; r, \theta) \cdot \hat{S}(t; r, \theta), \quad (34)$$

で  $q(t; r, \theta)$  は与えられる。各々の  $r$  に対して、計測時間  $T = 60 \text{ s}$  (=1,800 枚の異なる時刻における速度場) に渡り  $q(t; r, \theta)$  の時間平均を計算し、さらに  $[0, 2\pi)$  の範囲で角度成分  $\theta$  について空間平均した。したがって、 $q(t; r, \theta)$  の時空間平均

$$q(r) = \frac{1}{T} \int_0^T dt \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} d\theta q(t; r, \theta), \quad (35)$$

の格子上での離散近似を得ることができた。プールの半径  $a$  は系毎にばらついているので、規格化半径  $R (= r/a)$  を導入した。すると、 $R$  に依存する秩序変数は

$$Q(R) = q(aR), \quad (36)$$



として定義される。プール内のどの場所においても、細菌集団が反時計回りの周方向の運動をするとき、 $R \in (0,1)$  に対して、 $Q(R) = 1$  である。逆に、細菌集団の運動が完全にランダムであれば、 $R \in (0,1)$  に対して、 $Q(R) = 0$  である。ゆえに、 $Q(R)$  は *one-way rotational motion* の相への秩序変数の役割を果たすと考えられる。図 30(a) は  $\lambda = 0.07 < \lambda_{C1}$  と  $\lambda = 0.17 > \lambda_{C1}$  に対する  $Q(R)$  の解析結果である。このグラフは  $R \simeq 0.8$  で最大値を持ち、 $R \lesssim 0.5$  では  $Q(R) \simeq 0$  を示した。これ以後では、この  $Q(R)$  の最大値に焦点をあて、*one-way rotational motion* の秩序変数を

$$Q = \max_R Q(R), \quad (37)$$

と定義する。

### 3.1.2 秩序変数 $Q$ の振る舞い

図 29(b) に  $\lambda = \lambda_{C1}$  近傍の秩序変数  $Q$  の  $\lambda$  依存性を示す。この図では、菌密度が  $0.11 \leq \rho \leq 0.30$  の範囲に含まれる系の計測結果を用いた。この  $\rho$  の範囲は次の理由により選ばれた。上限  $\rho \simeq 0.30$  は 2 つの相 *one-way rotational motion* と *two-way rotational motion* の境界である。*one-way rotational motion* では、細菌集団はプールの縁近くに局在する傾向があるため、プール外側領域の菌密度はその系に定義された菌密度  $\rho$  よりも実質的には高い値を取り得る。 $\rho \geq 0.11$  のとき、プールの外側領域は菌細胞により満たされる。したがって  $\rho \simeq 0.11$  を計測対象とする細菌集団の系の下限の密度に選んだ。

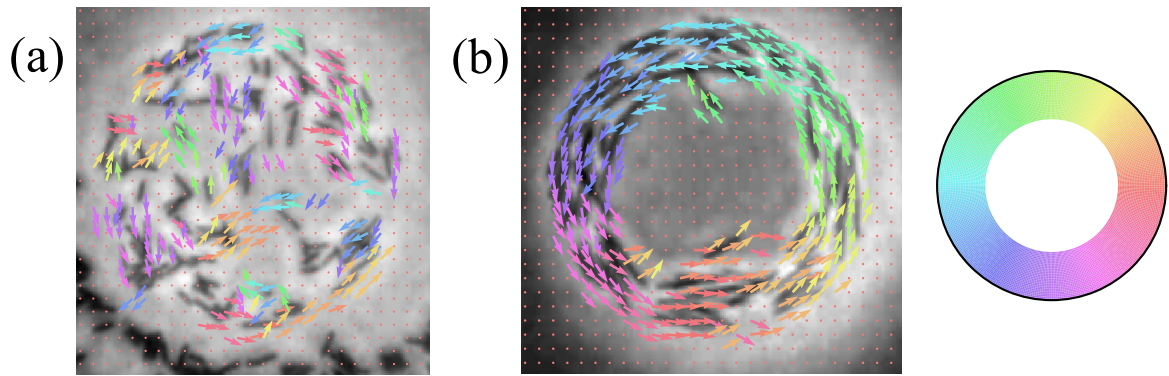


図 29 円形プール内を遊泳する菌集団の系の典型的な速度場. (a)  $\lambda = 0.07$  の *random motin* phase. (b)  $\lambda = 0.17$  の *one-way rotational motion* phase. それぞれの速度場をプール内を遊泳する細菌集団のスナップショットに重ねて描いた. 速度ベクトルの配向はカラーリングの色と対応している.

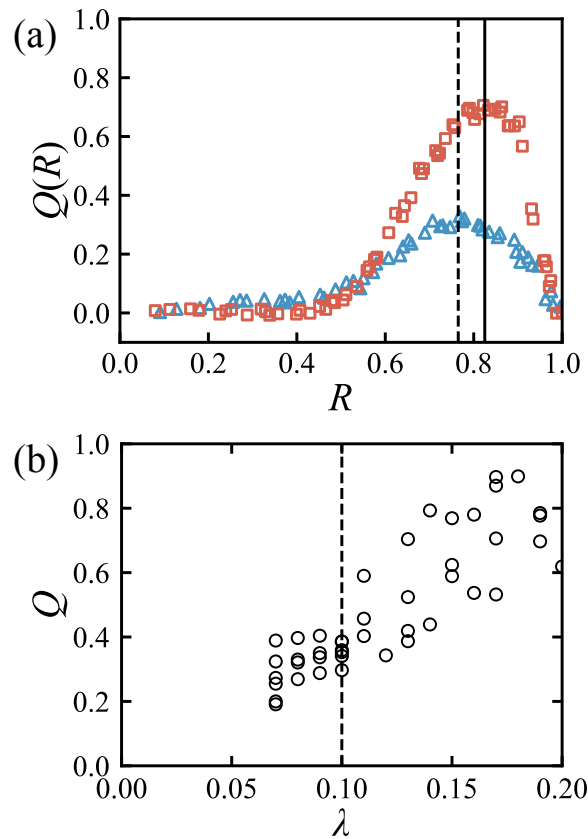


図 30 秩序変数  $Q$  の計測結果. (a)  $Q(R)$  の解析結果.  $\lambda = 0.07 < \lambda_{c1}$  (赤,  $\square$ ) と  $\lambda = 0.17 > \lambda_{c1}$  (青,  $\triangle$ ) の系の計測結果を示した. ただし,  $\lambda_{c1} \cong 0.1$  である. これら 2 つの  $Q(R)$  はともに  $R \simeq 0.8$  で最大値を持ち,  $R \lesssim 0.5$  では  $Q(R) \simeq 0$  である. (b)  $Q$  と  $\lambda$  の関係. この解析には,  $0.11 \leq \rho \leq 0.30$  の系の結果を用いた.  $\lambda \leq \lambda_{c1} \cong 0.10$  では,  $Q$  は小さい値 ( $\simeq 0.3$ ) を保つ. 他方,  $\lambda \geq \lambda_{c1}$  では  $Q$  が増加する様子が確認できる.

## 3.2 cell-boundary interaction の効果と運動方向の揺らぎ

### 3.2.1 菌単体の系における菌細胞の運動の特徴づけ

*random motion phase* と *one-way rotational motion phase* における cell-boundary interaction と cell-noise interaction の効果を調べるために、プール内を菌細胞が単体で遊泳している菌単体の系を調べた。多くの菌細胞が存在した菌集団の系では菌同士の運動方向を揃えさせる効果と反発効果が働く。このような菌同士の相互作用を cell-cell interaction と呼ぶ。当然ながら、cell-cell interaction は菌単体の系では存在しない。

解析では菌集団の系と同様に、極座標系の原点をプール中心に合わせた 2 次元極座標を用いる。まず、サンプリング周期  $1/30$  s で 600 秒間 (=10 分間)、菌単体の系を観察し、その菌細胞のトラッキングを行った。これにより、菌細胞の重心の時系列データとして、18,000 時刻分の一連の座標  $(r(t), \theta(t))$  を得た。図 31(a) はある菌細胞の 1 秒間の軌跡を描いたものである。

次に、連続する時刻の座標  $(r(t), \theta(t))$  の差分から、時系列データとして速度ベクトル  $v(r(t), \theta(t))$  を見積もった。ここで、時刻  $t$  の速度ベクトルは、時刻  $t$  [s] の座標と時刻  $t + 0.2$  [s] の座標の差分から算出した。各時刻に対して、規格化した速度ベクトル  $\hat{v}(r(t), \theta(t))$  と単位接ベクトル  $\hat{s}(r(t), \theta(t))$  を求め、その内積を計算した。ここで、 $\hat{v}(r(t), \theta(t))$  は  $\hat{v}(r(t), \theta(t))/|\hat{v}(r(t), \theta(t))|$  として定義され、 $\hat{s}(r(t), \theta(t))$  は時刻  $t$  で菌細胞が位置する座標  $(r(t), \theta(t))$  におけるプールの周方向を向いた単位ベクトルを表す。 $\hat{s}(r(t), \theta(t))$  の正の向きは反時計回りとした。以上の手順により、各時刻での速度ベクトルの周方向成分を抽出した。その時間平均を

$$\tilde{Q}(T) = \frac{1}{T} \sum_{t=0}^T \hat{v}(r(t), \theta(t)) \cdot \hat{s}(r(t), \theta(t)), \quad (38)$$

と定義し、平均時間  $T$  を変えて  $\tilde{Q}(T)$  の振る舞いを調べた。図 31(b) に  $T$  の関数として描いた  $\tilde{Q}(T)$  を示す。およそ  $T = 600$  s で漸近的にある値へ近づく様子がわかる。その値を点線で示した。そして菌単体の系における秩序変数  $\tilde{Q}$  を  $\tilde{Q} = \tilde{Q}(600)$  として定義した。

### 3.2.2 秩序変数 $\tilde{Q}$ の振る舞い

図 32(a) は  $0 < \lambda < 0.20$  の範囲での、 $\tilde{Q}$  の  $\lambda$  に対するプロットを示す。ここで、 $\tilde{Q}$  は常に正であることから、これは菌細胞がプールの縁に沿って反時計回りに運動する傾向があることがわかる。微視的な観察では、反時計回りに運動する時、菌細胞は軸方向をプールの縁に平行にしなから、滑らかに遊泳している。しかし、しばしば観察される時計回りの運動

の際は、軸と縁との間にある角度を保持し、突っかかるようにしながら遊泳している。つまり、菌細胞は時計回りにスムーズな運動が出来ないようである。この運動方向の反転に伴う、菌細胞の縁に対する配向の違いは、何らかの生物学的要因に起因している。そのため、菌細胞と縁との相互作用がこの系の運動状態を決める重要な要因であると考え、以降では cell-boundary interaction と呼ぶことにする。 $\tilde{Q}$  の値は 0 から 1 まで幅広く分布し、それゆえ  $\tilde{Q}$  は系統的な  $\lambda$  依存性は持たないように思われた。よって、菌集団の系で確認されたしきい値  $\lambda_{C1}$  は菌単体の系では意味を持たない。

### 3.2.3 菌の速さ $v$ の分布

菌単体の系において、菌細胞の遊泳速度の時間平均値  $v_{ave}$  がどのような要因により決まるかを調べるために、異なる平均速度  $v_{ave}$  を持つ菌の速さ分布を比較した。その結果を図 33(a) に示す。各々のヒストグラムは 18,000 の時刻分の速さ  $v$  の計測値から成る。ヒストグラムのビンの範囲は 0 から 100  $\mu\text{m/s}$  とし、1 つのビン幅を 1  $\mu\text{m/s}$  とした。ヒストグラムの全面積を 1 になるように規格化し、ビンの高さが確率密度を表すようにした。3 本の垂直線はそれぞれのヒストグラムの  $v_{ave}$  の値を表しており、それらの値は左から、20.5  $\mu\text{m/s}$ , 35.2  $\mu\text{m/s}$ , 51.1  $\mu\text{m/s}$  であった。この  $v_{ave}$  の値は図 32(b) の色のついたシンボルと一致し、これらが同じ系の計測値であることを意味している。速さの確率密度分布は 2 つのピークを持ち、そのうちの 1 つはほぼ  $v \cong 0$  にあり、もう一つは  $v \gtrsim 30$  にあった。 $v_{ave}$  の値は、2 つのピークの大小関係に依存して変動するようには見えた。図 33(b) に、それぞれの系の 60 秒間の菌細胞の重心の軌跡を描いた。よって、図 33(b) の軌跡を描いた菌細胞の平均速度は、図 33(a) と同様に、左から 20.5  $\mu\text{m/s}$ , 35.2  $\mu\text{m/s}$ , 51.1  $\mu\text{m/s}$  の  $v$  である。その軌道は、 $v_{ave}$  が増すほど単純になっているように見える。

ここで、 $v_{ave}$  の  $\lambda$  依存性を確認した。図 33(c) は、 $v_{ave}$  の値が 10  $\mu\text{m/s}$  から 60  $\mu\text{m/s}$  の間に幅広く分布していることを示す。この結果から、 $v_{ave}$  の値が  $\lambda$  に対して系統的に依存していないことがわかる。

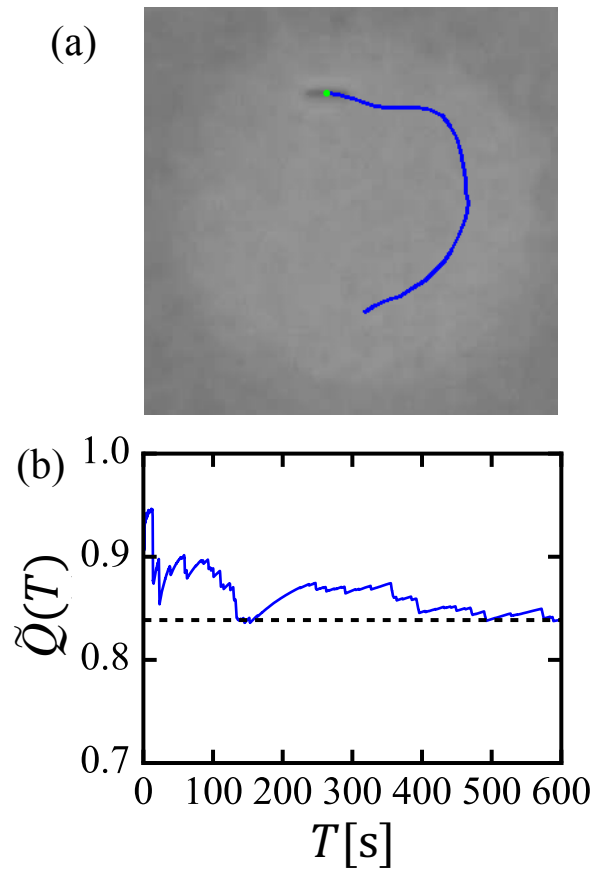


図 31 菌単体の系の菌細胞のトラッキング. (a) 1 秒間の菌細胞の重心の軌跡. (b) 式 (38) で定義される  $\tilde{Q}(T)$  の時間平均. 平均する時間  $T$  の関数として描いた.

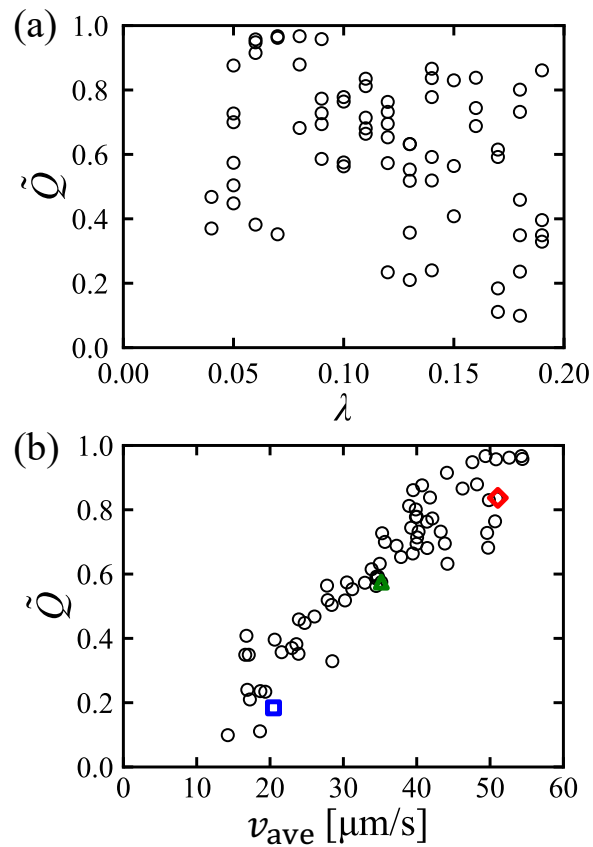


図 32 菌単体の系における, *one-way rotational motion phase* に対して定義した秩序変数  $\tilde{Q}$  の振る舞い. (a) 秩序変数  $\tilde{Q}$  の  $\lambda$  ( $0 < \lambda < 0.20$ ) に対するプロット.  $\tilde{Q}$  は  $\lambda$  依存性を示さなかった. (b) 秩序変数  $\tilde{Q}$  の  $v_{\text{ave}}$  に対するプロット.  $\tilde{Q}$  は  $v_{\text{ave}}$  に比例して増大するよう見える. カラーシンボル ( $\square$ ,  $\triangle$ ,  $\diamond$ ) の座標 ( $v_{\text{ave}}$  [ $\mu\text{m/s}$ ],  $Q$ ) はそれぞれ,  $(20.5, 0.18)$ ,  $(35.2, 0.58)$ ,  $(51.1, 0.84)$  であった. これらの系の菌細胞の速さ分布と軌跡を図 33 に示す.

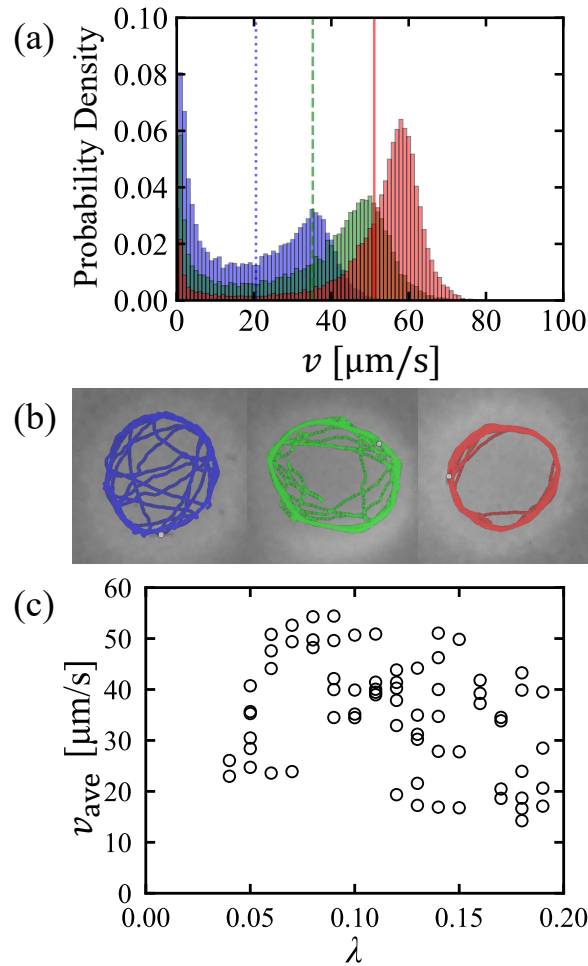


図 33 菌の速さ  $v$  と軌跡の比較. (a) 異なる平均速度  $v_{\text{ave}}$  を示した 3 つの系の 600 秒間の速さ  $v$  の確率密度.  $v_{\text{ave}}$  の値はそれぞれ, 20.5  $\mu\text{m/s}$  (青, 点線), 35.2  $\mu\text{m/s}$  (緑, 破線), 51.1  $\mu\text{m/s}$  (赤, 実線) である. これらの値は図 32(b) のカラーシンボルの系 ( $\square$ ,  $\triangle$ ,  $\diamond$ ) と対応している. それぞれの確率密度は, 18,000 時刻 (=10 分間) で規格化された. (b) 菌細胞の 60 秒間の軌跡. 左から,  $v_{\text{ave}} = 20.5, 35.2, 51.1 \mu\text{m/s}$  の系に対応する. (c) 平均速度  $v_{\text{ave}}$  と  $\lambda$  の関係.  $v_{\text{ave}}$  と  $\lambda$  の間に系統的な関係性は確認できなかった.



## 4 議論

3.1.2 節では,  $\lambda$  を変化させることにより, 円形プール内のバクテリア集団運動の系の *random motion phase* と *one-way rotational motion phase* の間の転移を調べた. 図 30(b) の  $Q$  に示した  $\lambda$  依存性から,  $Q$  の振る舞いの変化は  $\lambda = \lambda_{C1}$  で生じることが確認できた.  $\lambda \geq \lambda_{C1}$  の *one-way rotational motion phase* の系の微視的な観察からは, 菌集団がプールの外側領域に局在し, プールの縁に沿って集団的に反時計回りに運動する様子が確認できた. (図 30(a) の  $Q(R)$  のプロファイルから, プールの外側領域は  $0.6 \leq R \leq 1.0$  と定義される.) 図 30(a) に示すように,  $Q(R)$  が最大値を獲得する  $R$  の値は, およそ  $R \simeq 0.8$  である. ゆえに秩序変数  $Q$  は  $\max_R Q(R)$  として定義され, 細菌集団の運動を定量化した  $Q(R)$  の典型的な値を示している. 他方, 微視的な観察からは,  $\lambda \leq \lambda_{C1}$  の *random motion phase* にある系においても, 菌集団がプールの縁に沿って反時計回りに運動する傾向を持つことを確認した. この傾向は cell-boundary interaction に起因すると思われる. その結果, 図 30(b) に示したように,  $\lambda \leq \lambda_{C1}$  の系においても  $Q$  の値は  $0.2 \leq Q \leq 0.4$  の範囲に分布することになった. しかし, cell-boundary interaction に起因した菌集団の反時計回りの運動は *one-way rotational motion phase* の特徴であると考えられることから,  $\lambda \leq \lambda_{C1}$  の *random motion phase* の菌集団の運動は, cell-boundary interaction の効果を排除して特徴づけられるべきであると考えられる. そこで,  $\lambda \leq \lambda_{C1}$  の *random motion phase* の秩序変数  $Q$  として, プールの内側領域の中心である  $R = 0.3$  位置で  $Q(R)$  の値を調べた. この cell-boundary interaction の影響を抑えるように再定義した秩序変数  $Q$  を用いて,  $Q$  の  $\lambda$  依存性調べた結果を図 34 に示す. この図からは,  $\lambda \leq \lambda_{C1}$  では  $Q$  の値がほとんど 0 になることがわかる. したがって,  $\lambda \leq \lambda_{C1}$  の系では, cell-boundary interaction の働かないプール中心付近における菌の運動は確かにランダムであるということがいえる.

図 34 の  $Q$  の振る舞いは, SPP model における動的相転移を想起させる. SPP model においては, 自己駆動粒子の集団運動の転移は, 2 つの競合する効果により引き起こされる. その 1 つは個々の粒子の運動方向が近傍の粒子の平均の運動方向へと揃わされる整列効果であり, もう 1 つはその整列を妨げるようなノイズの効果である. より詳しく述べれば, 各々の粒子は自身を中心とする相互作用領域を持ち, その領域内に存在する他の粒子と整列するように相互作用し合う. 整列を妨げるように働くノイズの影響 (ノイズ振幅) が小さければ, 近傍の粒子との運動方向が揃いやすくなる. あるいは, 近傍に相互作用する粒子が多いほど, ある特定の方向へ指向しやすくなるため, 粒子間の整列が促される. これは, 粒子密度が重要であることを意味する. このように, SPP model においてはノイズ振

幅と粒子密度が重要であり、その転移は臨界ノイズ振幅か臨界密度で生じることがわかっている。他方、我々の実験では、秩序状態の転移は換算菌体長  $\lambda$  の変化で生じており、そのしきい値  $\lambda_{C1}$  で鋭い立ち上がりが見られた。本実験で用いた棒状のバクテリアの運動を観察すると、菌同士の接触により、整列が促されるようにみえた。そしてその範囲は、菌の長さの増大に伴い、単調に増加するように思われた。この意味で  $\lambda$  は、SPP model における相互作用半径に対応する量として機能していた。したがって、本研究で報告したバクテリア集団運動の秩序状態への転移は、相互作用半径の変化により引き起こされたものと言えるのではないかと考えられる。

Cell-noise interaction について議論するために、秩序変数  $\tilde{Q}$  を定義して菌単体の系の *one-way rotational motion phase* を調べた。図 32(a) は  $\tilde{Q}$  の  $\lambda$  に対するプロットである。 $\tilde{Q}$  の値は常に正であり、 $\lambda$  に依存しなかった。これは、*cell-boundary interactions* の効果であると考えられる。cell-cell interaction の無い菌単体の系では、 $\lambda$  と  $\tilde{Q}$  の関係において、しきい値  $\lambda_{C1}$  は確認できなかった。この結果は、菌集団の系における *random motion phase* と *one-way rotational motion phase* の境界でみられる転移が cell-cell interaction に起因することを示唆している。

3.2.3 節では、 $\tilde{Q}$  の平均遊泳速度  $v_{ave}$  依存性を調べた。 $\tilde{Q}$  は  $v_{ave}$  に比例して増加するようにみえた。 $v_{ave}$  が十分に高いとき、菌細胞はプールの縁に沿って反時計回りに運動する強い傾向を持っていた。その結果、 $\tilde{Q}$  の値は大きくなった。逆に  $v_{ave}$  が低いとき、図 32(b) に示したように、 $\tilde{Q}$  の値は小さくなった。異なる平均速度  $v_{ave}$  を示した系について速さ  $v$  の分布を調べると、図 33(a) に示したように、速さ分布は  $v \cong 0 \mu\text{m/s}$  と  $v > 30 \mu\text{m/s}$  において2つのピークを持つことがわかった。全計測数が 18,000 で一定である  $v$  の下では、 $v \cong 0 \mu\text{m/s}$  の確率密度が低いとき、 $v > 30 \mu\text{m/s}$  の確率密度が高くなり、それに伴って  $v_{ave}$  の値は大きくなった。逆に、 $v \cong 0 \mu\text{m/s}$  の確率密度が高いとき、 $v > 30 \mu\text{m/s}$  の確率密度が低くなり、その結果  $v_{ave}$  の値が小さくなっていった。これらの傾向は、 $v_{ave}$  が2つのピークの関係に強く依存していることを示唆する。それを確認するために、時間平均の速さ  $v_{ave}$  の計算の単純化を行った。すなわち、次のように定義した単純平均  $v'_{ave}$  を導入した。

$$v'_{ave} = \frac{v_s p_s + v_l p_l}{p_s + p_l}. \quad (39)$$

ここで、 $v_s$  と  $v_l$  はそれぞれ、速さ分布のピークの小さい方の速さと大きい方の速さの値を表す。 $p_s$  は  $v = v_s$  における確率密度であり、 $p_l$  は  $v = v_l$  における確率密度である。これらの模式図を図 35 の内挿図に示す。図 35 は  $v_{ave}$  と  $v'_{ave}$  の関係を示す。 $v_{ave}$  と  $v'_{ave}$

は線形関係のように見えるので、 $v'_{\text{ave}}$  を  $v_{\text{ave}}$  に置き換えて考えることが出来る。すると、 $v_{\text{ave}}$  が速度分布の2つのピークの大小関係でほぼ決まると考えることが可能である。微視的な観察では、運動している菌細胞がその運動方向を転換する際に、一瞬停止する様子が観察される。ゆえに確率密度  $p_s$  は方向転換の頻度を表すと考えることが可能である。言い換えれば、 $v_{\text{ave}}$  は方向転換の頻度に対して単調減少する関数である。図 33(b) は異なる  $v_{\text{ave}}$  の系の菌細胞のトラッキングの結果を示しており、 $v_{\text{ave}}$  が増大すれば菌細胞の軌跡が複雑になることを示唆している。 $v_{\text{ave}} = 54.3 \mu\text{m/s}$  のとき、軌跡はほとんど円形であり、 $\tilde{Q} = 0.97$  であった。加えて、速度分布と合わせると、急激な方向転換の頻度はほぼ0であり、確率分布も  $v \cong 60 \mu\text{m/s}$  に1つのピークを持つ形状であり、 $v = v_s$  のピークは消失していた。このことから、 $v_l$  の速度の値が、円形プール内における菌細胞の特徴的な速度であることが出来る。また、観察では菌細胞がプール内の同じ位置で方向転換する様子が確認できた。これは、プール表面上に凹凸があり、それが菌の運動に影響を与えている可能性を示唆する。ここで、プールの深さはほぼおよそ  $1 \mu\text{m}$  であり、これはバクテリアの厚みとほぼ同じスケールであることを注記しておく ([30], 付録 B.1)。それゆえ、菌の方向転換の原因が、菌とそのような培地表面のノイズとの相互作用に起因していると考えた。よって、以降ではこの相互作用を cell-noise interaction と呼ぶことにする。このような考察により、菌単体の系のバクテリアの運動が、cell-boundary interaction(3.2.2 節) と cell-noise interaction の競合により実現していると考えた。

これまでの考察から、次のように結論づけた。この実験系は、 $\lambda$  を変化させることにより、菌同士の相互作用をコントロールできた。そのときの運動状態の変化は、図 30(b) と図 34 の  $\lambda$  依存性を持つ秩序変数  $Q$  を示すことにより特徴づけることが出来た。 $Q$  のプロットの縦方向のばらつきは、菌集団の系にも存在するであろう cell-noise interaction の影響により生じているのではないかと考えられる。このノイズの影響は、本実験系ではコントロールすることが出来なかった。しかしそれにもかかわらず、 $\lambda_{C1}$  を堺にはつきりと  $Q$  の振る舞いは変化し、 $\lambda$  は転移を特徴づける有意な変数として機能していることが確認できた。すなわち、 $\lambda_{C1}$  は  $\lambda \cong 0.1$  の位置から動かないことに加え、 $\lambda > \lambda_{C1}$  で  $Q$  が  $\lambda$  の増加とともに増大する一方で、 $\lambda \leq \lambda_{C1}$  では  $Q$  は  $\lambda$  依存性を持たないことがわかった。そして、この  $\lambda = \lambda_{C1}$  でみられたような鋭い転移は、菌単体の系では確認できなかった。それゆえ、*random motion phase* と *one-way rotational motion phase* 間の転移において、cell-cell interaction が最も重要な役割を果たしていると考えられる。

cell-noise interaction と cell-boundary interaction については、今後より詳しく調べていく必要がある。今回、菌密度  $\rho$  が低い系の  $\lambda_{C1}$  近傍での転移について報告したが、 $\rho$  が高い系 (*turbulent motion phase* と *two-way rotational motion phase*) や  $\lambda_{C2}$  近傍の

転移についても調べる必要がある。また、本実験結果と対応するように SPP モデルを拡張して調べることも重要であると考える。

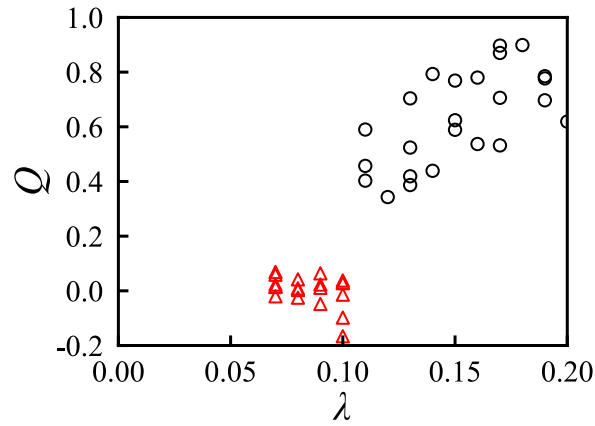


図 34  $\lambda \leq \lambda_{C1}$  の範囲を再定義した場合の秩序変数  $Q$  の  $\lambda$  依存性.

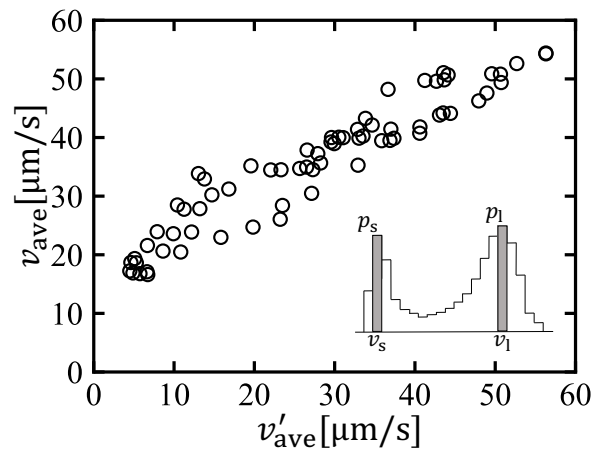


図 35 速さの単純平均  $v'_{ave}$  と速さの時間平均  $v_{ave}$  の関係. これらは線形関係に見える. 内挿図は菌単体の系の 2 つのピークを持つ速さ分布の模式図を表す. その 2 つのピーク  $v_s (\cong 0 \text{ } \mu\text{m/s})$  と  $v_1 (> 30 \text{ } \mu\text{m/s})$  に着目した.  $p_s$  は  $v = v_s$  における確率密度の高さを表し,  $p_1$  は  $v = v_1$  における確率密度の高さを表す. 速さの単純平均  $v_s$  はこれらの量を用いて式 (39) により計算される.

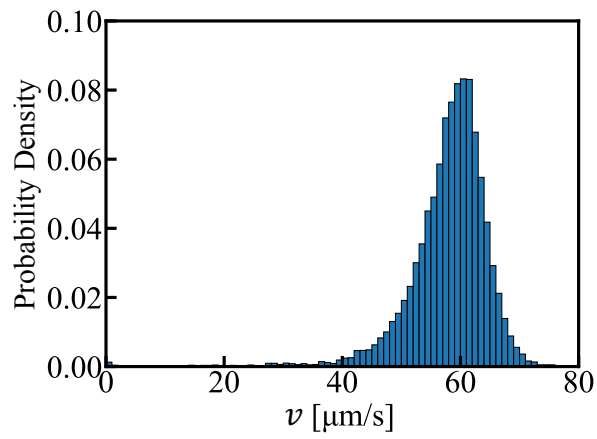


図 36  $v_{\text{ave}} = 54.3 \mu\text{m/s}$  の系の, ピークを 1 つだけもつ菌の速さ  $v$  のヒストグラム.  
この確率密度は 18,000 時刻 (=10 分間) で規格化されている.

## 第 IV 部

# 総括

第 I 部のバクテリア・コロニーの形態形成に関する先行研究では、環境条件として与えられる 2 つのコントロールパラメーターである寒天濃度  $C_a$  と栄養濃度  $C_n$  に依存して、バクテリア・コロニーが多様な形態を示すことを説明した。環境条件を変えてコロニーの成長先端を観察すると、領域 B の Eden コロニーのように、菌細胞同士が分離せずに紐状に連なる形を維持して増殖し、界面の内側から押し出されるような効果で広がる力学的なメカニズムや、領域 C のように緊密度が低い時は成長・分裂に集中し、菌密度が高くなると活発に動き回るようになるという生物的な性質が確認でき、バクテリア・コロニーのパターンの多様性の背後に、様々な要因が存在することがわかる。特に領域 C の同心円パターンの成長では、菌が周囲の菌密度を感知する「クオラムセンシング」と呼ばれる生物学的機構との関連性が認識されており、バクテリア・コロニーが本質的に生物学的性質を備えた系でありながらも物理現象として扱うことが可能な点は大変興味深いといえる。環境条件を菌の状態と関連付けて考えると、 $C_a$  は菌の運動性、 $C_n$  は菌の増殖率に対応付けられると考えることが出来る。 $C_a$  が高い条件下では、菌の能動的な運動が抑制されており、無生物系で観察される DLA パターンや Eden パターンが形成される。この 2 つのパターンが生じる違いは  $C_n$  の大小であり、 $C_n$  が大きいほど、菌の増殖が活発である様子が確認できる。他方、 $C_a$  が低く、筋細胞が能動的に動き回ることが可能な条件下、あるいは菌が強い運動性を有する菌種では、*B. subtilis* の DBM コロニーや *P. vortex* の螺旋型コロニー、そして *P. dendritiformis* の異方的コロニーで観察されるように、菌固有の特性が顕著に現れる。興味深いのは、菌細胞が能動的に動き回る動的な系においても、菌が凝集して集団的に渦構造を形成したり、菌同士が局所的に配向を揃えてメソスケールの秩序だった振る舞いを示す様子が観察されることである。ゆえに本研究では、バクテリアの成長や運動の中で生じる秩序構造を調べ、物理的なアプローチにより理解することを試みた。

第 II 部では、領域 B の環境条件の下、芽胞状態で単体で存在する菌細胞が紐状成長する様子を観察した。よく観察すると、この紐状構造は菌細胞が連なっており、これは一匹の菌が伸長して長くなったものとは別物であるといえる。この紐状に連なる形態は、一般的に想像されるような、菌細胞が個々独立に動き回る振る舞いからはかけ離れている。菌がこのような形態を示すようになる理由について考えると、少なくとも、クオラムセンシングに起因したものではないということがいえる。これは図 13 に示したように、単体で存在する環境下においても、菌細胞が発芽直後から紐状に成長する様子が観察されたからであ

る。よって、紐状の形態の原因は菌密度がトリガーではないと考えられる。この紐状構造は、菌が能動的に動けないために細胞分裂後に菌同士が単純に分離できずにいる結果生じたものだと考えると、現状 *B. subtilis* だけでしか確認されていない振る舞いだが、寒天濃度が高く固い培地環境を準備すれば他の菌種においても観察される可能性がある。紐状に伸長して折り畳みを伴いながら成長する構造自体に関しては、生物学的な要因というよりは力学的なメカニズムに従って変化する成長であるように思われた。ゆえに解析では、その構造を単純なパターンとして捉えることで、パターンの空間構造がどのように変化していくかに焦点をあてた。成長のごく初期では、規則的なメカニズムに基づき折り畳みが生じているようにも見え、フラクタルを用いたアプローチが有効であると思われた。フラクタル次元を見積もると、パターンが空間を占める次元が1次元から2次元へ遷移し、空間構造が変化していることが定量的に確認できた。さらにその変化の様子はシグモイド関数により特徴づけられ、3重に折り畳まれた部分が生じた直後から、急激にフラクタル次元が増大することがわかった。これは3重以上の折り畳みが生じると、パターンの成長が1次元的な伸長から2次元的な広がりを持つ構造へ変化することを示唆していると考えられた。また、紐が折り畳まれた部分の長さを測り、微分方程式系を用いて解析することにより、1重から2重、2重から4重への遷移率が非常に近い値であることがわかった。もし、このように倍々に折り畳まれる遷移率が一定値  $\beta$  であるならば、1重部分の長さ  $l_1$  に対して、2重部分の長さは  $\beta l_1$  として表される。すると2重部分から生成される4重部分の長さは  $\beta^2 l_1$  として表されることになる。現実の系では折り畳みを繰り返すごとに、力学的な制約から、折り畳まれにくい構造になると考えられるが、そのような乗算的な割合で各折り畳み部分が存在するかどうかを調べることは今後の課題である。また、フラクタル次元の解析では、パターンが空間的に占める面積の次元を計測したが、パターンの輪郭の次元を調べることもアプローチの1つとして有効であると考えられる。なぜなら、紐状成長のパターンの輪郭はやがて Eden コロニーの界面となり、それは自己アフィン・フラクタルとして知られているからである。したがって、紐状成長の輪郭のパターンの特徴の長時間極限として、Eden コロニーの界面と同じ自己アフィン性が得られることを確認することは今後の課題である。その上で、その過渡的過程のどの段階において、界面が自己アフィン性を有するようになるのかを調べることは大変興味深い問題であると思われる。

第 III 部では、領域 C の環境条件下で円形プールを構築し、*random motion* と *one-way rotational motion* の系で観察されるバクテリア集団運動の秩序形成のメカニズムを調べた。菌集団の系では、秩序変数  $Q$  を導入し、換算菌体長  $\lambda$  を変化させて調べることにより、 $\lambda$  の増加に対して  $\lambda = \lambda_{C1} (\cong 0.1)$  で  $Q$  が鋭く変化することを示した。同時に、この  $\lambda_{C1}$  の値が先行研究で得られていた集団運動の相を隔てるしきい値と一致することも確かめら

れた。他方、菌単体の系では、菌が一匹しか存在しないため、菌同士が衝突して運動方向を揃えるなどの効果は存在しない。ゆえに菌細胞はそのような菌同士の相互作用の影響を受けずに運動する。菌細胞の速さ分布と重心の軌跡の観察結果から、ノイズが強いほど軌跡が不規則になることがわかり、菌単体の系の振る舞いが培地表面に存在するノイズの影響で決まると考えられることを示した。このことはまた、菌集団の系においても系自体にノイズが存在することを示唆していた。また、菌単体の系のために適切に定義を修正した秩序変数  $\tilde{Q}$  を用いると、 $\tilde{Q}$  は  $\lambda$  依存性を示さないことがわかった。ゆえに菌単体の系では  $\lambda_{C1}$  の存在も確認できなかった。 $Q$  と  $\tilde{Q}$  の  $\lambda$  依存性の比較からは、ノイズが存在する環境でありながらも菌集団の系で  $\lambda_{C1}$  以上で秩序が高まる振る舞いを示したので、細菌集団の振る舞いには菌同士の相互作用がノイズの効果に比べてより強い影響を与えていると考えることができる。よって、この系における集団運動の秩序形成に主要な役割を果たしているのは菌同士の相互作用であると結論づけた。また、観察からは、 $\lambda$  の増大は菌同士の運動方向を揃える効果をもたらすと考えられたことから、 $\lambda$  は相互作用半径に対応する量であると考えられる。このとき、菌集団の系で観察された  $Q$  の転移は、 $\lambda$  を通して相互作用半径をコントロールすることにより得られた、集団運動の秩序状態への転移であるとみなすことができる。したがって、SPP モデルでは密度あるいはノイズ振幅をコントロールすることにより集団運動の相転移が生じるが、この実験系で観察された秩序構造の転移は相互作用半径を変化させることにより引き起こされたものであると結論付けることができた。ただし、 $\lambda_{C1} \cong 0.1$  というしきい値の出現が、自発的に動き回る菌（あるいは自走粒子）集団という動的な系の性質に起因するものであるかは不明である。これを調べるには、液晶のような棒状の粒子を用いて、粒子の長さを変えたときの転移点を調べるのが有効なアプローチであると考えられる。今後の課題として、密度の増加に対する秩序変化を調べることは重要である。また、*turbulent motion* と *two-way rotational motion* の間の転移と、 $\lambda_{C2}$  で観察される転移を調べることも今後の課題である。本実験で調べた、円形プール内における菌集団の振る舞いは、第 I 部の図 10(b) や図 11(b) に示した渦や秩序構造、あるいは DBM コロニーの爪状構造など、コロニーの内部や成長先端で観察されるメソスケールの構造形成とも関連性があると思われる。本研究成果が、バクテリア・コロニーを始めとした非平衡系において観察される動的な構造形成の理解に貢献できることを期待する。



## 付録 A 第 II 部に関する補足

第 II 部第 6 節の考察で,  $\gamma = \beta$  の可能性が示唆された. ここでは, 1 次近似解 (24) についての  $\gamma \rightarrow \beta$  の極限形の計算について補足する.

### A.1 式 (21) の 0 次近似解 $l_2^{(0)}(t)$ , $l_{3+}^{(0)}(t)$ の $\gamma \rightarrow \beta$ の計算

はじめに, 式 (21) の  $l_2^{(0)}(t)$ ,  $l_{3+}^{(0)}(t)$  について見てみると, 単純に  $\beta \rightarrow \gamma$  としただけでは不定形になる. そこで, 以下のように  $\beta - \gamma$  の 1 次まで残るように展開し計算する.

$$\begin{aligned}
 l_2^{(0)}(t) &= \frac{\beta A}{\beta - \gamma} e^{\alpha(1-\gamma)t} (1 - e^{-\alpha(\beta-\gamma)t}) \\
 &= \frac{\beta A}{\beta - \gamma} e^{\alpha(1-\gamma)t} \{1 - (1 - \alpha(\beta - \gamma)t + O((\beta - \gamma)^2))\} \\
 &= \alpha \beta A t e^{\alpha(1-\gamma)t} + O(\beta - \gamma), \\
 l_{3+}^{(0)}(t) &= \frac{A}{\beta - \gamma} e^{\alpha t} \left[ -\beta(e^{-\alpha\beta t} e^{\alpha(\beta-\gamma)t} - e^{-\alpha\beta t_*} e^{\alpha(\beta-\gamma)t_*}) \right. \\
 &\quad \left. + \{\beta - (\beta - \gamma)\}(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) \right] \\
 &= \frac{A}{\beta - \gamma} e^{\alpha t} \left[ -\beta e^{-\alpha\beta t} (1 + \alpha(\beta - \gamma)t + O((\beta - \gamma)^2)) \right. \\
 &\quad \left. + \beta e^{-\alpha\beta t_*} (1 + \alpha(\beta - \gamma)t_* + O((\beta - \gamma)^2)) \right. \\
 &\quad \left. + \beta(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) - (\beta - \gamma)(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) \right] \\
 &= \frac{A}{\beta - \gamma} e^{\alpha t} \left[ -\beta(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) \right. \\
 &\quad \left. - \alpha\beta(\beta - \gamma)(te^{-\alpha\beta t} - t_*e^{-\alpha\beta t_*}) \right. \\
 &\quad \left. + \beta(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) \right. \\
 &\quad \left. - (\beta - \gamma)(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) + O((\beta - \gamma)^2) \right] \\
 &= -Ae^{\alpha t} \{(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) \\
 &\quad + \alpha\beta(te^{-\alpha\beta t} - t_*e^{-\alpha\beta t_*}) + O((\beta - \gamma))\}. \tag{40}
 \end{aligned}$$

$\gamma \rightarrow \beta$  の極限では  $O(\beta - \gamma) \rightarrow 0$  になるので,  $l_2^{(0)}(t)$ ,  $l_{3+}^{(0)}(t)$  の極限は次のように表せる.

$$\begin{aligned}
 \lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_2^{(0)}(t) &= \alpha \beta A t e^{\alpha(1-\beta)t}, \\
 \lim_{\gamma \rightarrow \beta} l_{3+}^{(0)}(t) &= -Ae^{\alpha t} \{(e^{-\alpha\beta t} - e^{-\alpha\beta t_*}) + \alpha\beta(te^{-\alpha\beta t} - t_*e^{-\alpha\beta t_*})\} \\
 &= -A\{(e^{\alpha(1-\beta)t} - e^{\alpha(1-\beta)t_*}) + \alpha\beta(te^{\alpha(1-\beta)t} - t_*e^{\alpha(1-\beta)t_*})\}. \tag{41}
 \end{aligned}$$

## A.2 式 (23) の重積分 $I^{(1)}(t; t_*, a_1)$ , $I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1)$ , $I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$ の $\gamma \rightarrow \beta$ の計算

重積分  $I^{(1)}(t; t_*, a_1)$ ,  $I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1)$ ,  $I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  には,  $p = \alpha(2 - \beta - \gamma)$  と  $q = 2\alpha(1 - \beta)$  が含まれている. そこで  $\beta - \gamma = \epsilon$  とおくと,  $\gamma = \beta - \epsilon$  であるから  $p = \alpha(2 - \beta - \gamma) = 2\alpha(1 - \beta) + \alpha\epsilon = q + \alpha\epsilon$  と表せる. これは  $\gamma \rightarrow \beta$  の極限, すなわち  $\epsilon \rightarrow 0$  では  $p \rightarrow q$  となる.

はじめに,  $I^{(1)}(t; t_*, a_1)$  の  $\beta \rightarrow \gamma$  の極限形を求める.  $I^{(1)}(t; t_*, a_1)$  は (23) 式により与えられるが,  $\beta \rightarrow \gamma$  の時  $p \rightarrow q$  であるので, そのままでは不定形となる. そこで, 次のように第 1 項の分母と分子をそれぞれ  $\epsilon$  の 1 次まで残して展開する.

$$\begin{aligned} \frac{1}{p - a_1} &= \frac{1}{(q - a_1) + \alpha\epsilon} \\ &= \frac{1}{q - a_1} \left( 1 - \frac{\alpha}{q - a_1} \epsilon + O(\epsilon^2) \right). \end{aligned} \quad (42)$$

$$\begin{aligned} e^{(p-a_1)t} - e^{(p-a_1)t_*} &= e^{(q-a_1)t} e^{\alpha\epsilon t} - e^{(q-a_1)t_*} e^{\alpha\epsilon t} \\ &= e^{(q-a_1)t} (1 + \alpha t \epsilon + O(\epsilon^2)) - e^{(q-a_1)t_*} (1 + \alpha t_* \epsilon + O(\epsilon^2)) \\ &= \left( e^{(q-a_1)t} - e^{(q-a_1)t_*} \right) \\ &\quad + \alpha \left( t e^{(q-a_1)t} - t_* e^{(q-a_1)t_*} \right) \epsilon + O(\epsilon^2). \end{aligned} \quad (43)$$

すると式 (23) の  $I^{(1)}(t; t_*, a_1)$  の第 1 項は,

$$\begin{aligned} \frac{e^{(p-a_1)t} - e^{(p-a_1)t_*}}{p - a_1} &= \left\{ \frac{1}{q - a_1} - \frac{\alpha}{(q - a_1)^2} \epsilon + O(\epsilon^2) \right\} \\ &\quad \times \left\{ \left( e^{(q-a_1)t} - e^{(q-a_1)t_*} \right) + \alpha \left( t e^{(q-a_1)t} - t_* e^{(q-a_1)t_*} \right) \epsilon + O(\epsilon^2) \right\} \\ &= \frac{e^{(p-a_1)t} - e^{(p-a_1)t_*}}{p - a_1} + \left\{ \frac{\alpha}{q - a_1} \left( t e^{(q-a_1)t} - t_* e^{(q-a_1)t_*} \right) \right. \\ &\quad \left. - \frac{1}{(q - a_1)^2} \left( e^{(q-a_1)t} - e^{(q-a_1)t_*} \right) \right\} \epsilon + O(\epsilon^2). \end{aligned} \quad (44)$$

となる.  $\epsilon$  の 1 次以上の項を整理してまとめると次のようになる.

$$\begin{aligned} I^{(1)}(t; t_*, a_1) &= \beta A^2 \alpha \left\{ \frac{1}{q - a_1} \left( t e^{(q-a_1)t} - t_* e^{(q-a_1)t_*} \right) \right. \\ &\quad \left. - \frac{1}{(q - a_1)^2} \left( e^{(q-a_1)t} - e^{(q-a_1)t_*} \right) \right\} + O(\epsilon). \end{aligned} \quad (45)$$

$\gamma \rightarrow \beta$  の極限では、 $O(\epsilon) \rightarrow 0$  となるので次の計算結果を得る.

$$\begin{aligned} \lim_{\gamma \rightarrow \beta} I^{(1)}(t; t_*, a_1) &= \beta A^2 \alpha \left\{ \frac{1}{2\alpha(1-\beta) - a_1} \left( te^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t} - t_* e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*} \right) \right. \\ &\quad \left. - \frac{1}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^2} \left( e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t} - e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*} \right) \right\} \\ &\equiv J^{(1)}(t; t_*, a_1). \end{aligned} \quad (46)$$

但し、 $J^{(1)}(t; t_*, a_1)$  は  $I^{(1)}(t; t_*, a_1)$  の  $\beta \rightarrow \gamma$  の極限形とする.

次に  $I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1)$  についても同様に、 $\epsilon$  について展開することで、 $\gamma \rightarrow \beta$  の極限の計算を行う.

$$\begin{aligned} \frac{1}{(p-a_1)(p-a_1-a_2)} &= \frac{1}{(q-a_1+\alpha\epsilon)(q-a_1-a_2+\alpha\epsilon)} \\ &= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \left( 1 - \frac{\alpha}{q-a_1}\epsilon + O(\epsilon^2) \right) \\ &\quad \times \left( 1 - \frac{\alpha}{q-a_1-a_2}\epsilon + O(\epsilon^2) \right) \\ &= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} - \alpha \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \\ &\quad \times \frac{2q-2a_1-a_2}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)}\epsilon + O(\epsilon^2) \\ &= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \\ &\quad - \alpha \frac{2q-2a_1-a_2}{(q-a_1)^2(q-a_1-a_2)^2}\epsilon + O(\epsilon^2). \end{aligned} \quad (47)$$

$$\begin{aligned} e^{(p-a_1-a_2)t} - e^{(p-a_1-a_2)t_*} &= e^{(q-a_1-a_2)t} - e^{(q-a_1-a_2)t_*} \\ &\quad + \alpha \left( te^{(q-a_1-a_2)t} - t_* e^{(q-a_1-a_2)t_*} \right) \epsilon \\ &\quad + O(\epsilon^2). \end{aligned} \quad (48)$$

よって、

$$\begin{aligned} \frac{e^{(p-a_1-a_2)t} - e^{(p-a_1-a_2)t_*}}{(p-a_1)(p-a_1-a_2)} - \frac{e^{(q-a_1-a_2)t} - e^{(q-a_1-a_2)t_*}}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \\ &= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \alpha \left( te^{(q-a_1-a_2)t} - t_* e^{(q-a_1-a_2)t_*} \right) \epsilon \\ &\quad - \alpha \frac{2q-2a_1-a_2}{(q-a_1)^2(q-a_1-a_2)^2} \left( e^{(q-a_1-a_2)t} - e^{(q-a_1-a_2)t_*} \right) \epsilon \\ &\quad + O(\epsilon^2). \end{aligned} \quad (49)$$

$$\begin{aligned}
& \frac{e^{(p-a_1)t_*}}{p-a_1} - \frac{e^{(q-a_1)t_*}}{q-a_1} \\
&= \frac{1}{q-a_1} \alpha t_* e^{(q-a_1)t_*} \epsilon - \frac{\alpha}{(q-a_1)^2} e^{(q-a_1)t_*} \epsilon + O(\epsilon^2). \tag{50}
\end{aligned}$$

ゆえに,

$$\begin{aligned}
& \lim_{\gamma \rightarrow \beta} I^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1) \\
&= \beta A^2 \alpha \left\{ \frac{te^{(q-a_1-a_2)t} - t_* e^{(q-a_1-a_2)t_*}}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \right. \\
&\quad - \frac{2q-2a_1-a_2}{(q-a_1)^2(q-a_1-a_2)^2} \left( e^{(q-a_1-a_2)t} - e^{(q-a_1-a_2)t_*} \right) \\
&\quad \left. + \frac{e^{-a_2t} - e^{-a_2t_*}}{a_2} \left( \frac{t_* e^{(q-a_1)t_*}}{q-a_1} - \frac{e^{(q-a_1)t_*}}{(q-a_1)^2} \right) \right\} \\
&= \beta A^2 \alpha \left\{ \frac{te^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)t} - t_* e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)t_*}}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)} \right. \\
&\quad - \frac{4\alpha(1-\beta)-2a_1-a_2}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)^2(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)^2} \\
&\quad \times \left( e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)t} - e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)t_*} \right) \\
&\quad \left. + \frac{e^{-a_2t} - e^{-a_2t_*}}{a_2} \left( \frac{t_* e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{2\alpha(1-\beta)-a_1} - \frac{e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)^2} \right) \right\} \\
&\equiv J^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1). \tag{51}
\end{aligned}$$

また,  $I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  についても計算すると,

$$\begin{aligned}
& \frac{1}{(p-a_1)(p-a_1-a_2)(p-a_1-a_2-a_3)} \\
&= \frac{1}{(q-a_1)+\alpha\epsilon} \times \frac{1}{(q-a_1-a_2)+\alpha\epsilon} \times \frac{1}{(q-a_1-a_2-a_3)+\alpha\epsilon} \\
&= \frac{1}{(q-a_1)(1+\frac{\alpha\epsilon}{q-a_1})} \times \frac{1}{(q-a_1-a_2)(1+\frac{\alpha\epsilon}{q-a_1-a_2})} \\
&\quad \times \frac{1}{(q-a_1-a_2-a_3)(1+\frac{\alpha\epsilon}{q-a_1-a_2-a_3})} \\
&= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \\
&\quad \times \left\{ 1 - \left( \frac{\alpha}{q-a_1} + \frac{\alpha}{q-a_1-a_2} + \frac{\alpha}{q-a_1-a_2-a_3} \right) \epsilon + O(\epsilon^2) \right\} \\
&= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \\
&\quad - \frac{\alpha}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \\
&\quad \times \left( \frac{1}{q-a_1} + \frac{1}{q-a_1-a_2} + \frac{1}{q-a_1-a_2-a_3} \right) \epsilon + O(\epsilon^2). \tag{52}
\end{aligned}$$

ここで

$$\begin{aligned}
& \frac{1}{q-a_1} + \frac{1}{q-a_1-a_2} + \frac{1}{q-a_1-a_2-a_3} \\
&= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \\
&\quad \times \{ (q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3) \\
&\quad + (q-a_1)(q-a_1-a_2-a_3) + (q-a_1)(q-a_1-a_2) \} \\
&= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \\
&\quad \times \{ q^2 - (a_1+a_2+a_3)q - (a_1+a_2)q + (a_1+a_2)(a_1+a_2+a_3) \\
&\quad + q^2 - (a_1+a_2+a_3)q - a_1q + a_1(a_1+a_2+a_3) \\
&\quad + q^2 - (a_1+a_2)q - a_1q + a_1(a_1+a_2) \} \\
&= \frac{1}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \\
&\quad \times \{ 3q^2 - 2(3a_1+2a_2+a_3)q \\
&\quad + (3a_1^2+a_2^2+4a_1a_2+2a_1a_3+a_2a_3) \} \epsilon. \tag{53}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& e^{(p-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(p-a_1-a_2-a_3)t_*} \\
&= e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} e^{\alpha\epsilon t} - e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*} e^{\alpha\epsilon t_*} \\
&= e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} (1 + \alpha t \epsilon + O(\epsilon^2)) - e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*} (1 + \alpha t_* \epsilon + O(\epsilon^2)) \\
&= e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*} \\
&\quad + \alpha \left( t e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} - t_* e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*} \right) \epsilon + O(\epsilon^2). \tag{54}
\end{aligned}$$

よつて,

$$\begin{aligned}
& \frac{e^{(p-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(p-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(p-a_1)(p-a_1-a_2)(p-a_1-a_2-a_3)} - \frac{e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \\
&= \alpha \frac{t e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} - t_* e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(q-a_1)(q-a_2-a_3)(q-a_1-a_2-a_3)} \epsilon \\
&\quad - \alpha \frac{e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(q-a_1)^2(q-a_1-a_2)^2(q-a_1-a_2-a_3)^2} \\
&\quad \times \{3q^2 - 2(3a_1 + 2a_2 + a_3)q \\
&\quad + (3a_1^2 + a_2^2 + 4a_1a_2 + 2a_1a_3 + a_2a_3)\} \epsilon + O(\epsilon^2). \tag{55}
\end{aligned}$$

また,

$$\begin{aligned}
& e^{(p-a_1-a_2)t_*} = e^{(q-a_1-a_2)t_*} e^{\alpha\epsilon t_*} \\
&= e^{(q-a_1-a_2)t_*} (1 + \alpha t_* \epsilon + O(\epsilon^2)) \\
&= e^{(q-a_1-a_2)t_*} + \alpha t_* e^{(q-a_1-a_2)t_*} \epsilon + O(\epsilon^2). \tag{56}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& \frac{e^{(p-a_1-a_2)t_*}}{(p-a_1)(p-a_1-a_2)} - \frac{(q-a_1-a_2)t_*}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \\
&= \frac{\alpha t_* e^{q-a_1-a_2} t_*}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} \epsilon \\
&\quad - \alpha \frac{2q - 2a_1 - a_2}{(q-a_1)^2(q-a_1-a_2)^2} e^{(q-a_1-a_2)t_*} \epsilon + O(\epsilon^2). \tag{57}
\end{aligned}$$

よつて,  $I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  について  $\gamma \rightarrow \beta$  の極限をとると,

$$\begin{aligned}
& \lim_{\gamma \rightarrow \beta} I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1) \\
&= \beta A^2 \alpha \left[ \frac{te^{(q-a_1-a_2-a_3)t} - t_*e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)(q-a_1-a_2-a_3)} \right. \\
&\quad \frac{e^{(q-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(q-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(q-a_1)^2(q-a_1-a_2)^2(q-a_1-a_2-a_3)^2} \\
&\quad \times \{3q^2 - 2(3a_1 + 2a_2 + a_3)q + (3a_1^2 + a_2^2 + 4a_1a_2 + 2a_1a_3 + a_2a_3)\} \\
&\quad \frac{e^{-(a_2+a_3)t} - e^{-(a_2+a_3)t_*}}{a_2(a_2+a_3)} \\
&\quad \times \left( \frac{t_*e^{(q-a_1)t_*}}{q-a_1} - \frac{e^{(q-a_1)t_*}}{(q-a_1)^2} \right) \\
&\quad \left. + \frac{e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}}{a_3} \right. \\
&\quad \times \left\{ \left( \frac{t_*e^{(q-a_1-a_2)t_*}}{(q-a_1)(q-a_1-a_2)} - \frac{(2q-2a_1-a_2)e^{(q-a_1-a_2)t_*}}{(q-a_1)^2(q-a_1-a_2)^2} \right) \right. \\
&\quad \left. + \frac{e^{-a_2t_*}}{a_2} \left( \frac{t_*e^{(q-a_1)t_*}}{q-a_1} - \frac{e^{(q-a_1)t_*}}{(q-a_1)^2} \right) \right\} \left. \right] \\
&= \beta A^2 \alpha \left[ \frac{te^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2-a_3)t} - t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2-a_3)} \right. \\
&\quad \frac{e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2-a_3)t} - e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2-a_3)t_*}}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)^2(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)^2(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2-a_3)^2} \\
&\quad \times \{3\{2\alpha(1-\beta)\}^2 - 2(3a_1 + 2a_2 + a_3) \cdot 2\alpha(1-\beta) \\
&\quad + (3a_1^2 + a_2^2 + 4a_1a_2 + 2a_1a_3 + a_2a_3)\} \\
&\quad \frac{e^{-(a_2+a_3)t} - e^{-(a_2+a_3)t_*}}{a_2(a_2+a_3)} \\
&\quad \times \left( \frac{t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{2\alpha(1-\beta)-a_1} - \frac{e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)^2} \right) \\
&\quad \left. + \frac{e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}}{a_3} \right. \\
&\quad \times \left\{ \left( \frac{t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)t_*}}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)} \right. \right. \\
&\quad \left. \left. - \frac{(2 \cdot \{2\alpha(1-\beta)\} - 2a_1 - a_2)e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)t_*}}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)^2(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_2)^2} \right) \right. \\
&\quad \left. + \frac{e^{-a_2t_*}}{a_2} \left( \frac{t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{2\alpha(1-\beta)-a_1} - \frac{e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta)-a_1)^2} \right) \right\} \left. \right] \\
&\equiv J^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1). \tag{58}
\end{aligned}$$

但し,  $J^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  は  $I^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  の  $\beta \rightarrow \gamma$  の極限形とする.

### A.3 $J^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1)$ , $J^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$ において $a_2 = -\alpha(\gamma - \beta)$ である場合の $\gamma \rightarrow \beta$ の計算

まず, 式 (51) の  $J^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1)$  で,  $a_2 = -\alpha(\gamma - \beta)$  である場合の  $\gamma \rightarrow \beta$  の極限形  $J^{(2)}(t; t_*, 0, a_1)$  を考えたい. 式 (51) で  $a_2 \rightarrow 0$  の極限を取った時に, 不定形となってしまう第 3 項について次のように計算する.

$$\begin{aligned} \frac{e^{-a_2 t} - e^{-a_2 t_*}}{a_2} &= \frac{1}{a_2} \{1 - a_2 t + O(a_2^2) - (1 - a_2 t_* + O(a_2^2))\} \\ &= \frac{1}{a_2} (1 - a_2 t - 1 + a_2 t_* + O(a_2^2)) = -(t - t_*) + O(a_2) \\ &\xrightarrow{a_2 \rightarrow 0} -(t - t_*). \end{aligned} \tag{59}$$

すると,

$$\begin{aligned} &J^{(2)}(t; t_*, a_2, a_1) \\ &\xrightarrow{a_2 \rightarrow 0} \beta A^2 \alpha \left\{ \frac{te^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t} - t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^2} \right. \\ &\quad - \frac{2(2\alpha(1-\beta) - a_1)}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^4} \\ &\quad \times (e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t} - e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}) \\ &\quad \left. - (t - t_*) \left( \frac{t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{2\alpha(1-\beta) - a_1} - \frac{e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^2} \right) \right\} \\ &= \beta A^2 \alpha \left\{ \frac{te^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t} - t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^2} \right. \\ &\quad - \frac{2}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^3} \\ &\quad \times (e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t} - e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}) \\ &\quad \left. - (t - t_*) \left( \frac{t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{2\alpha(1-\beta) - a_1} - \frac{e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^2} \right) \right\} \\ &\equiv J^{(2)}(t; t_*, 0, a_1). \end{aligned} \tag{60}$$

$J^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  についても,  $a_2 = -\alpha(\gamma - \beta) \rightarrow 0$  とした場合について計算する.



式 (62) について,  $a_2 \rightarrow 0$  とした時に不定形となる第 4 項について以下のように計算する.

$$\begin{aligned}
& -\frac{e^{-(a_2+a_3)t} - e^{-(a_2+a_3)t_*}}{a_2(a_2+a_3)} + \frac{(e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*})}{a_2a_3}e^{-a_2t_*} \\
& = -\frac{e^{-a_3t}e^{-a_2t} - e^{-a_3t_*}e^{-a_2t_*}}{a_2a_3(1+\frac{a_2}{a_3})} + \frac{e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}}{a_2a_3}e^{-a_2t_*} \\
& = -\frac{1}{a_2a_3} \left( 1 - \frac{a_2}{a_3} + O(a_2^2) \right) \\
& \quad \times \{ e^{-a_3t}(1 - a_2t + O(a_2^2)) - e^{-a_3t_*}(1 - a_2t_* + O(a_2^2)) \} \\
& \quad + \frac{1}{a_2a_3} (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*})(1 - a_2t_* + O(a_2^2)) \\
& = -\frac{1}{a_2a_3} \left( 1 - \frac{a_2}{a_3} + O(a_2^2) \right) \\
& \quad \times \{ (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}) - a_2(te^{-a_3t} - t_*e^{-a_3t_*}) + O(a_2^2) \} \\
& \quad + \frac{1}{a_2a_3} (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}) \\
& \quad - \frac{1}{a_3} (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*})t_* + O(a_2) \\
& = -\frac{1}{a_2a_3} (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}) \\
& \quad + \frac{1}{a_3} (te^{-a_3t} - t_*e^{-a_3t_*}) \\
& \quad + \frac{1}{a_3^2} (e^{-a_3t} - t_*e^{-a_3t_*}) \\
& \quad + \frac{1}{a_2a_3} (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}) \\
& \quad - \frac{1}{a_3} (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*})t_* + O(a_2) \\
& = \frac{1}{a_3} (te^{-a_3t} - t_*e^{-a_3t_*} - t_*e^{-a_3t} + t_*e^{-a_3t_*}) \\
& \quad + \frac{1}{a_3^2} (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}) \\
& = \frac{t-t_*}{a_3} e^{-a_3t} + \frac{1}{a_3^2} (e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}). \tag{61}
\end{aligned}$$

このとき,

$$\begin{aligned}
& J^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1) \\
& \xrightarrow{a_2 \rightarrow 0} \beta A^2 \alpha \left[ \frac{te^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_3)t} - t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_3)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^2(2\alpha(1-\beta) - a_1 - a_3)} \right. \\
& \quad \left. - \frac{e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_3)t} - e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1-a_3)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^4(2\alpha(1-\beta) - a_1 - a_3)^2} \right. \\
& \quad \times \{3\{2\alpha(1-\beta)\}^2 - 2(3a_1 + a_3) \cdot 2\alpha(1-\beta) \\
& \quad \left. + (3a_1^2 + 2a_1a_3)\} \right. \\
& \quad + \frac{1}{a_3} \left\{ (t - t_*)e^{-a_3t} + \frac{e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}}{a_3} \right\} \\
& \quad \times \left( \frac{t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{2\alpha(1-\beta) - a_1} - \frac{e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^2} \right) \\
& \quad + \frac{e^{-a_3t} - e^{-a_3t_*}}{a_3} \\
& \quad \times \left( \frac{t_*e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^2} \right. \\
& \quad \left. - \frac{2(2\alpha(1-\beta) - a_1)e^{(2\alpha(1-\beta)-a_1)t_*}}{(2\alpha(1-\beta) - a_1)^4} \right) \Big] \\
& \equiv J^{(3)}(t; t_*, a_3, 0, a_1). \tag{62}
\end{aligned}$$

式 (62) は  $J^{(3)}(t; t, a_3, a_2, a_1)$  が  $a_2 = -\alpha(\gamma - \beta) \xrightarrow{\gamma \rightarrow \beta} 0$  の極限で  $a_2$  を含まず発散しない形に書き直している. すなわち,  $J^{(3)}(t; t_*, a_3, a_2, a_1)$  は  $a_2 = -(\gamma - \beta) \xrightarrow{\gamma \rightarrow \beta} 0$  の極限を取ることができ, 極限形  $J^{(3)}(t; t_*, a_3, 0, a_1)$  が存在することが確かめられた.

## 付録 B 第 III 部に関する補足

### B.1 円形プールの形状について

円形プールの形状に関して補足する。寒天培地平面上に作成した円形プールの実際の形状を X 線を用いて調べた。X 線計測は、Keyence VK-9710 を用いて行った。

図 37(a) は菌集団の系の可視光観察での様子である。この系の作成には 50  $\mu\text{m}$  のビーズを用いた。図 37(b) は同じ系を X 線を用いて撮影した様子である。(a) と比較すると、プール内の白い斑点模様が菌集団であることがわかる。図 37(c) は X 線計測による、プール周辺の高さプロファイルである。中心のプールが窪んでいる様子がわかる。

図 38 はプール断面の高さプロファイルである。図 38(a) のようにプールを縦断する計測線を上から下に引いたとき、図 38(b) のように左から右へ向かう高さプロファイルを得ることができる。図 38(c) の計測線上につけた印は、図 38(d) の矢印で示した計測区間に対応している。図 38(d) の黄色で示した区間はプール周辺の明度から判別できるプールのおおよその大きさである。実質的に菌が遊泳する区間は赤で示された区間である。それぞれの区間の幅と高低差の計測値を表 4 に示した。これらの値を計測する際は、培地表面のノイズの影響を低くするために図 38(b) の水色の線で示される高さプロファイルの線にスムージング処理を施し、図 38(d) の水色の線のようにした上で計測を行った。

表 4 の赤の区間の結果から、この系の直径が 42  $\mu\text{m}$  程度であることがわかる。同様に、表 4 の緑および青の区間の結果から、この系の深さが 1  $\mu\text{m}$  から 1.3  $\mu\text{m}$  程度であることがわかる。

区間	水平距離 [ $\mu\text{m}$ ]	高度差 [ $\mu\text{m}$ ]
黄	51.5	—
赤	42.3	—
緑	21.7	1.00
青	19.9	1.30

表 4 各区間の高さプロファイルの計測結果。高度差の項目は区間の両端の高さの差を表し、ここでは深さに着目したいので、黄色と赤の区間の値は記載していない。

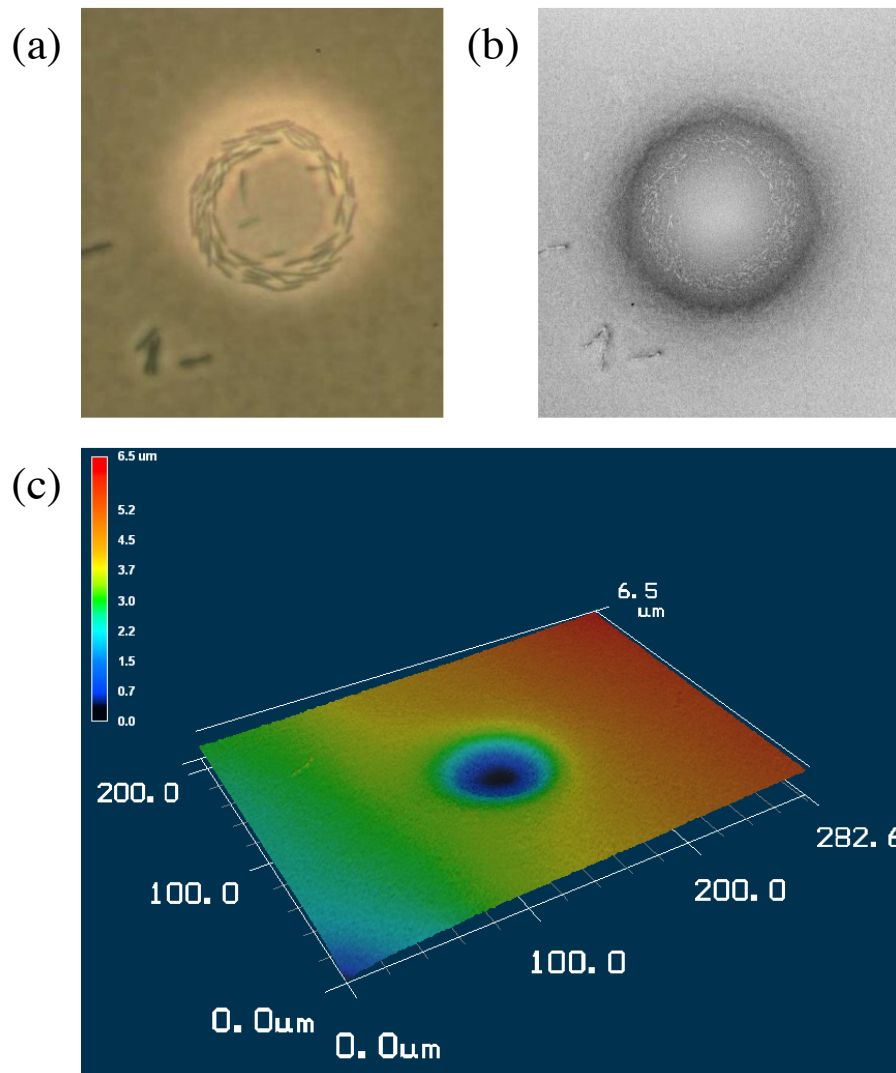


図 37 X 線による円形プール周辺の高さプロファイルの計測. (a) 可視光観察のスナップショット. (b) X 線計測でのスナップショット. X 線でもプールの内側で縁に沿った菌が存在する様子がわかる. 菌が存在する様子がわかるように計測結果のグレースケール画像のコントラストを調節した. (c) プール周辺の X 線計測の結果. プールが窪んでいることがわかる.

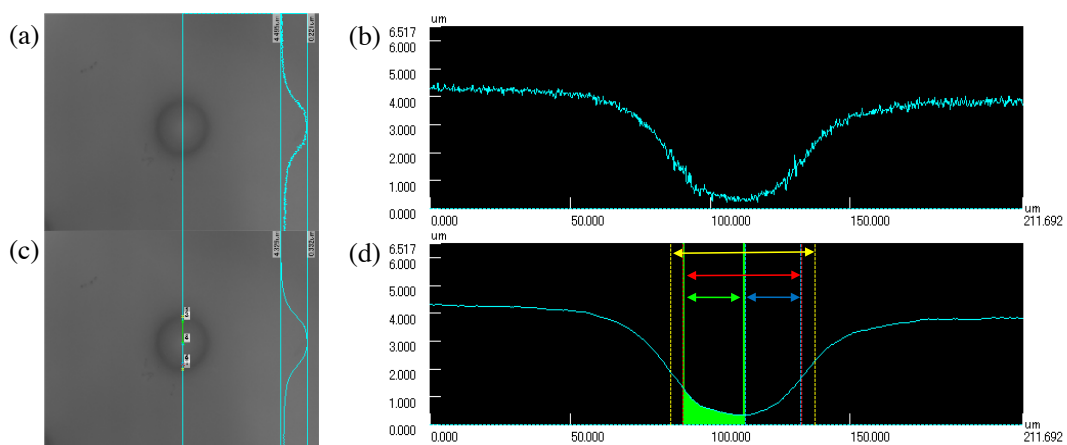


図 38 X 線による円形プール断面の高さプロファイルの計測. (a) 円形プールを縦断する計測線 (水色). (b) (a) の計測線上の円形プール断面の高さプロファイル. (c) 円形プールを縦断する計測線と計測区間. (d) (b) の高さプロファイルの曲線にスムージング処理を行った上で, 4 つの各区間の距離・高低差を調べたプロファイル. 黄: プールの明度が急激に変わり, 円形のプールの形になる区間. 赤: 実質的に菌が遊泳している区間. 緑: (c) のスナップショットでプール中心から上側のプール半径に相当する区間. 青: (c) のスナップショットでプール中心から下側のプール半径に相当する区間. それぞれの計測値を表 4 に示す.

## B.2 動径方向の秩序状態について

本文では、バクテリア集団運動の秩序状態を特徴づけるために、速度ベクトルの周方向成分に着目した秩序変数  $Q$  を導入して調べた。ランダムな運動を示す *random motion* の相からプールの縁に沿って反時計回りの運動を示す *one-way rotational motion* の相へ向かうように  $\lambda$  を増加させて  $Q$  を見積もると、 $\lambda_{C1}$  を堺に  $Q$  が増加し、菌集団の運動が周方向に揃い始めることがわかった。この結果を受けて、周方向の運動成分が増加するのならば、逆に動径方向の運動成分は減少するのではないかという可能性が予想された。そこで動径方向成分の秩序変数  $Q_r$  を導入し、 $Q$  の計測対象とした同じ系に対して、 $Q_r$  を計測した。ここで  $Q_r$  の添字  $r$  は動径方向 (radial direction) の頭文字を意味している。 $Q_r$  の定義は、 $Q$  の定義で用いた単位接ベクトル場  $\hat{S}$  を法線ベクトル場  $\hat{N}$  の絶対値に置き換えたものとした。ここで、この解析で着目しているのは動径方向の運動成分であり、動径方向内向きか外向きかの違いは区別していないので、 $\hat{N}$  の絶対値を用いた。すなわち、各格子点  $(r, \theta)$  上における動径方向の局所的な秩序変数  $q_r(t; r, \theta)$  は、式 (34) の代わりに次のように定義される。

$$q_r(t; r, \theta) = \hat{V}(t; r, \theta) \cdot |\hat{N}(t; r, \theta)|. \quad (63)$$

その後の手順は、式 (35) 以降の流れと基本的に同じであるが、 $Q$  の計測結果と比較するために、 $Q_r$  の定義においては  $R \sim 0.8$  の値を用いることにした。その理由は、 $Q(R)$  が  $R \sim 0.8$  のあたりにピークを示したからである。

また、菌集団の系の  $Q_r$  の計測結果と比較するために、菌単体の系においても動径方向の秩序変数  $\tilde{Q}_r$  を導入し、見積もった  $\tilde{Q}_r$  は、式 (38) で用いた単位接ベクトル  $\hat{s}$  の代わりに単位法線ベクトル  $\hat{n}$  を用いて、10 分間 ( $T = 600$  s) の平均値として定義した。

$Q_r$  および  $\tilde{Q}_r$  の計測結果を図 39(a) および (b) にそれぞれ示す。予想に反して、菌集団の系と菌単体の系で、共に  $\lambda$  依存性はみられなかった。

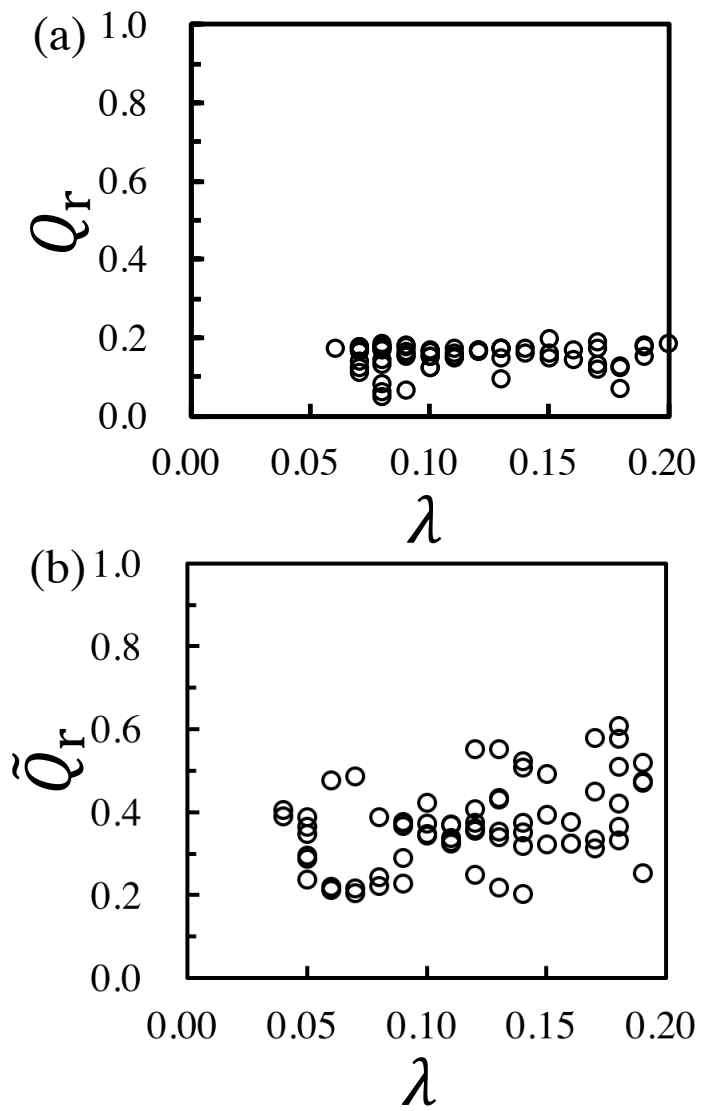


図 39 動径方向の秩序変数の計測結果. (a) 菌集団の系に対して計測した  $Q_r$ . (b) 菌単体の系に対して計測した  $\tilde{Q}_r$ .

### B.3 秩序変数 $Q$ の菌密度 $\rho$ 依存性について

本文では換算菌体長  $\lambda$  に焦点をあて、 $\lambda$  の変化により引き起こされる秩序状態への転移を示した。そこで  $\lambda$  は、菌の相互作用半径に相当する量であると結論づけることが出来た。

他方、菌密度  $\rho$  の変化に伴う秩序構造の変化も考えられる。なぜなら、 $\rho$  が増大することは菌同士の相互作用の頻度が高まることを意味し、本研究で用いたような棒状のバクテリアであれば、菌同士の相互作用により隣り合う菌同士の配向が揃うことは本研究で示した通りだからである。

本研究で実験データとして用いた本文と同一の系に対して、 $\rho$  を変化させたときの  $Q$  依存性を図 40 に示す。赤 (○) は  $\rho > 0.1$  の系、青 (△) は  $\lambda \leq 0.1$  の系の計測結果を表す。 $\lambda = 0.1$  を境として、 $Q$  の取りうる範囲に違いが現れている様子がわかる。 $\lambda > 0.1$  の系では  $\rho$  の増加に伴って  $Q$  の値も高まるようにも見える。しかし、 $\lambda$  をパラメーターとした場合の  $\lambda = \lambda_{C1}$  における  $Q$  の転移と異なり、 $\rho_C > 0$  であるようなしきい値  $\rho_C$  の存在は確認できなかった。

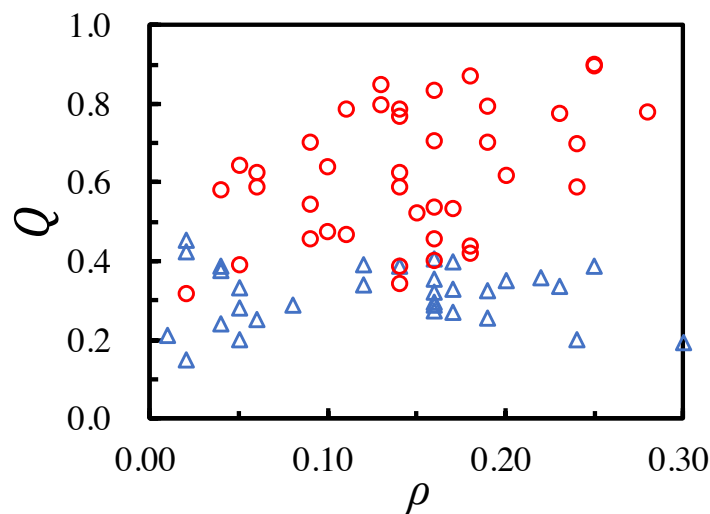


図 40 秩序変数  $Q$  の菌密度  $\rho$  依存性.  $\lambda > 0.1$  (赤) と  $\lambda \leq 0.1$  (青) を区別してプロットした.  $\lambda = 0.1$  を境として  $Q$  の取りうる範囲に違いが現れている.  $\lambda > 0.1$  の系では、 $\rho$  の増大とともに  $Q$  が高まるように見える。しかし、 $\rho_C > 0$  であるような  $\rho_C$  は確認できなかった。



## B.4 菌集団の系の速さ分布と平均遊泳速度について

本文では、菌単体の系の速さ分布が2つのピークを持つことを示し、その大きい方のピークは菌毎に異なる菌固有の遊泳速度であり、小さい方のピークは方向転換する頻度に対応すると考えられることを示した。その比較のために、図 41(a) に菌集団の系の速度場の中から計算した、速さのヒストグラムの典型的な例を示す。そして、そのヒストグラムの平均値として計算された、各系の平均速度  $v_{\text{ave}}$  の  $\lambda$  依存性を図 41(b) に示す。図 41(a) からは、菌集団の系の速さ分布が、菌単体の系の速さ分布と異なり、ピークが1つであることを示唆している。また、図 41(b) は、*random motion phase* から *one-way rotational motion phase* へ系の状態が変化しても、菌集団の平均遊泳速度は変化せず、ほとんど一定値に保たれていることを示唆している。しかしながら、微視的な観察からは *random motion phase* の菌集団は頻繁に方向転換をしており、しばしば立ち止まる様子もみられることから、菌集団の系の速さ分布においても本来は2つのピークが存在するはずである。したがって、図 41(a), (b) の結果については、より注意深く調べる必要があると考える。

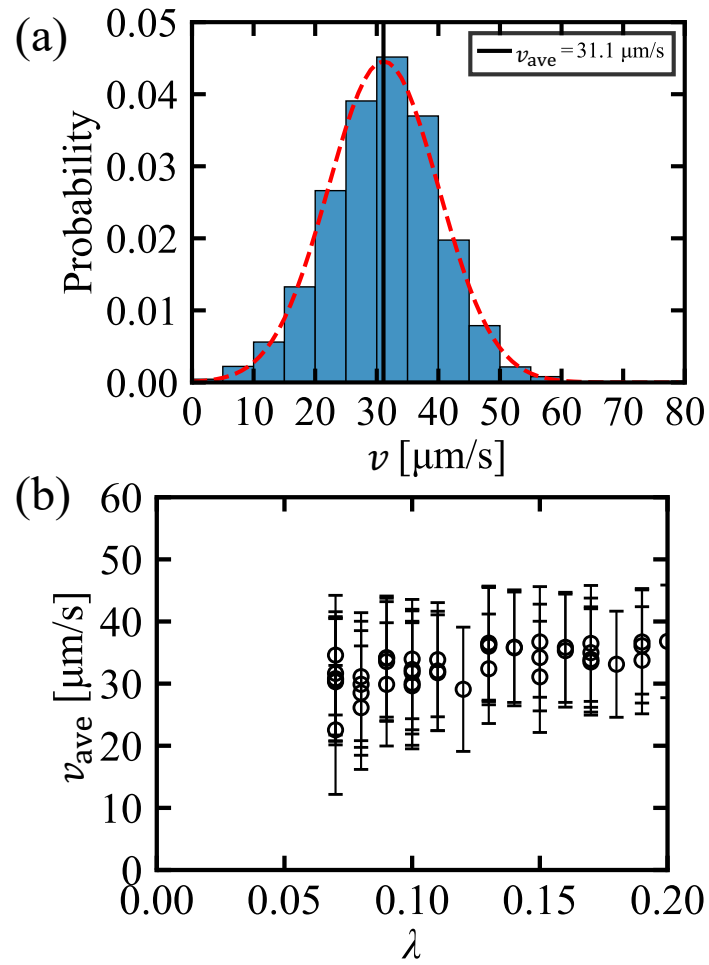


図 41 菌集団の系の遊泳速度の特性. (a) 典型的な菌集団の系の速さ分布. 速さ分布は1つのピークを持つ. 赤い点線はガウシアンフィッティングを示す. (b) 平均遊泳速度  $v_{\text{ave}}$  と換算菌体調  $\lambda$  の関係.  $\lambda \leq \lambda_{C1}$  の *ranodm motion* phase から  $\lambda > \lambda_{C1}$  の *one-way rotational motion* phase へ変化しても, 平均遊泳速度に変化はなく, ほぼ一定値に保たれている.

## 謝辞

最後になりますが、本博士論文の執筆と大学院での研究生生活を支えていただいた方々へ、感謝の意を表します。

指導教官である脇田順一教授には、博士課程の研究テーマを与えていただき、3年間、真摯にご指導いただきました。特に、実験で目指す研究の方向性とその目的を果たすためのアプローチの仕方、そして学術論文の執筆にあたり何度も相談に乗っていただきました。限られた時間の中で実験的な研究成果が出せたのは、ひとえに脇田先生の丁寧なご指導のおかげだと感じております。心より感謝申し上げます。

学部4年次と修士課程の指導教官であった香取眞理教授には、博士課程の間にも研究発表の機会や研究会の案内をいただき、研究コミュニティの輪を広げ、より広い世界へ視野を向ける機会を与えてくださいました。また、学術論文執筆に当たり、多大なるご支援をいただきました。心底から感謝申し上げます。

宗行英朗教授には、機会があれば気さくに声を掛けていただきました。特に、研究者になった経緯や研究のスタンスのお話は参考になりました。お忙しい中、副査を引き受けていただきました。感謝申し上げます。

立命館大学の和田浩史教授には、国際会議や集中講義、講演など、機会がある度にお世話になりました。そしてユニークな視点から始まる本質的な議論に大変良い刺激を受けました。精力的で活発な研究生生活を送られる中で、快く副査を引き受けていただきました。心より感謝申し上げます。

鈴木宏明教授、石塚盛雄教授には、お忙しい中、副査を引き受けていただくとともに、大変有益なコメントを賜りました。深く感謝申し上げます。

脇田研助教の成塚拓真博士には、対戦型スポーツの解析手法について教えていただきました。そこでの会話がきっかけとなり、画像処理を用いて集団運動を解析するアイデアが生まれました。また、SPPモデルに関するプログラムを提供していただきました。厚く御礼申し上げます。

脇田研元助教の山本健博士には、対数正規分布を始め、様々な確率分布がどのような現象で現れるのかについて興味深く教えていただきました。深く感謝申し上げます。

松下貢名誉教授には、バクテリア・コロニーの研究背景や、フラクタルの物理黎明期の研究エピソードなどを教えていただきました。また、研究で目指すべき方向性についてもアドバイスをいただきました。心より感謝申し上げます。

山崎義弘教授には、定期的に研究室合同セミナーで研究発表を聞いていただき、有益なコメントをいただきました。また、両研究室間で交流する多くの機会を作ってくださいま

した。特に、非線形ダイナミクスに関する研究は大変興味深く、視野が大きく広がりました。深く感謝申し上げます。

九州大学の前多裕介准教授には、バクテリア集団運動に関する最新の研究成果や、実験系の構築について丁寧に教えていただき、大変勉強になりました。心より感謝申し上げます。

九州大学の別府航早さんには、国際会議や学会等、機会があればバクテリア集団運動の最新の研究成果について情報交換していただき、大変お世話になりました。似た研究をしていると、自然と本質をついたコメントになることが非常に面白く、頼もしかったです。心より感謝申し上げます。

脇田研院生の梅田大くん、白尾陸くん、西岡瑞穂さん、千明宥登くんとは、毎週の研究室セミナーで議論し、研究発表で気軽に意見交換したことにより、日々の研究生活が充実したものになりました。特に梅田くんには、共にバクテリア集団運動の実験に取り組み、得られた結果について議論できたこと、そして解析プログラムの改善案を考え、解析の精度が向上したことについて、心より感謝いたします。

最後に、日々の勉学を支え、いつも励ましてくれる両親に深く感謝いたします。

## 参考文献

- [1] T. Vicsek and A. Zafeiris, *Physics Reports* **517**, 71 (2012).
- [2] M. Ballerini, N. Cabibbo, R. Candelier, A. Cavagna, E. Cisbani, I. Giardina, V. Lecomte, A. Orlandi, G. Parisi, A. Procaccini, M. Viale, and V. Zdravkovic, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 1232 (2008).
- [3] A. Cavagna, A. Cimarelli, I. Giardina, G. Parisi, R. Santagati, F. Stefanini, and M. Viale, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107** 11865 (2010).
- [4] Y. Hayakawa, *Europhys. Lett.* **89**, 48004 (2010).
- [5] Y. Hayakawa and S. Furuhashi, *Phys. Rev. E* **86**, 031924 (2012).
- [6] C. K. Hemelrijk, H. Hildenbrandt, J. Reinders, and E. J. Stamhuis, *Ethology* **116**, 1099 (2010).
- [7] C. Becco, N. Vandewalle, J. Delcourt, and P. Poncin, *Physica A* **367**, 487 (2006).
- [8] A. Czirók, E. Ben-Jacob, I. Cohen, and T. Vicsek, *Phys. Rev. Lett.* **54**, 1791 (1996).
- [9] J. Wakita, I. Ràfols, H. Itoh, T. Matsuyama, and M. Matsushita, *J. Phys. Soc. Jpn.* **67**, 3630 (1998).
- [10] A. Sokolov and I. S. Aranson, *Phys. Rev. Lett.* **109**, 248109 (2012).
- [11] H. H. Wensink, J. Dunkel, S. Heidenreich, K. Drescher, R. E. Goldstein, H. Löwen, and J. M. Yeomans, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 14308 (2012).
- [12] R. Honda, J. Wakita, and M. Katori, *J. Phys. Soc. Jpn.* **84**, 114002 (2015).
- [13] G. Mamou, G. B. M. Mohan, A. Rouvinski, A. Rosenberg, and S. Ben-Yehuda, *Cell Reports* **14** 1850 (2016).
- [14] M. Matsushita, F. Hiramatsu, N. Kobayashi, T. Ozawa, Y. Yamazaki, and T. Matsuyama, *Biofilms* **1**, 305 (2004).
- [15] A. Nakahara, Y. Shimada, J. Wakita, M. Matsushita, and T. Matsuyama, *J. Phys. Soc. Jpn.* **65**, 2700 (1996).
- [16] F. Hiramatsu, J. Wakita, N. Kobayashi, Y. Yamazaki, M. Matsushita, and T. Matsuyama, *Microbes Environ.* **20**, 120 (2005).
- [17] R. Tokita, T. Katoh, Y. Maeda, J. Wakita, M. Sano, T. Matsuyama, and M. Matsushita, *J. Phys. Soc. Jpn.* **78**, 074005 (2009).
- [18] T. Vicsek, *Fluctuations and Scaling in Biology* (Oxford University Press, New York, 2001).

- [19] T. Vicsek, A. Czirók, E. Ben-Jacob, I. Cohen, and O. Shochet, *Phys. Rev. Lett.* **75**, 1226 (1995).
- [20] A. Czirók, H. E. Stanley, and T. Vicsek, *J. Phys. A* **30**, 1375 (1997).
- [21] H. Chaté, F. Ginelli, G. Grégoire, and F. Raynaud, *Phys. Rev. E* **77**, 046113 (2008).
- [22] G. Baglietto, E. V. Albano, and J. Candia, *Interface Focus* **2**, 708 (2012).
- [23] H. Wioland, F. G. Woodhouse, J. Dunkel, J. O. Kessler, and R. E. Goldstein, *Phys. Rev. Lett.* **110**, 268102 (2013).
- [24] H. Wioland, F. G. Woodhouse, J. Dunkel, and R. E. Goldstein, *Nat. Phys.* **12**, 341 (2016).
- [25] K. Beppu, Z. Izri, J. Gohya, K. Eto, M. Ichikawa, and Y. T. Maeda, *Soft Matter* **13**, 5038 (2017).
- [26] D. Nishiguchi, I. S. Aranson, A. Snezhko, and A. Sokolov, *Nat. Commun.* **9**, 4486 (2018).
- [27] K. T. Wu and J. B. Hishamunda, *Science* **355**, 6331 (2017).
- [28] A. Bricard, J.-B. Caussin, D. Das, C. Savoie, V. Chikkadi, K. Shitara, O. Chepizhko, F. Peruani, D. Saintillan, and D. Bartolo, *Nat. Commun.* **6**, 7470 (2015).
- [29] A. Deblais, T. Barois, T. Guerin, P. H. Delville, R. Vaudaine, J. S. Lintuvuori, J. F. Boudet, J. C. Baret, and H. Kellay *Phys. Rev. Lett.* **120**, 188002 (2018).
- [30] J. Wakita, S. Tsukamoto, K. Yamamoto, M. Katori, and Y. Yamada, *J. Phys. Soc. Jpn.* **84**, 124001 (2015).
- [31] J. Wakita, H. Shimada, H. Itoh, T. Matsuyama, and M. Matsushita, *J. Phys. Soc. Jpn.* **70**, 911 (2001).
- [32] R. Honda, S. Umeda, J. Wakita, *J. Phys. Soc. Jpn.* **88**, 054005, (2019).
- [33] E. Ben-Jacob, O. Shochet, A. Tenenbaum, and I. Cohen, *Fractals* **2**, 15 (1994).
- [34] T. Matsuyama, R. M. Harshey, and M. Matsushita, *Fractals* **1**, 302 (1993).
- [35] T. Vicsek, M. Shleshinger, and M. Matsushita, *Fractals in Natural Sciences*, (World Scientific, Singapore, 1994).
- [36] E. Ben-Jacob, I. Cohen, and D. L. Gutnick, *Annual Review of Microbiology* **52**, 779 (1998).
- [37] J. Wakita, H. Itoh, T. Matsuyama, and M. Matsushita, *J. Phys. Soc. Jpn.* **66**, 67 (1997).
- [38] H. Shimada, T. Ikeda, J. Wakita, H. Itoh, S. Kurosu, F. Hiramatsu, M. Nakat-

- suchi, Y. Yamazaki, T. Matsuyama, and M. Matsushita, *J. Phys. Soc. Jpn.* **73**, 1082 (2004).
- [39] E. Ben-Jacob, O. Shochet, I. Cohen, A. Tenenbaum, A. Czirók, and T. Vicsek, *Fractals* **3**, 849 (1995).
- [40] C. J. Ingham and E. Ben-Jacob, *BMC Microbiology* **8**, 36 (2008).
- [41] A. M. Lacasta, I. R. Cantalapiedra, C. E. Auguet, A. Penaranda, and L. Ramirez-Piscina, *Phys. Rev. E* **59**, 7036 (1999).
- [42] M. Mimura, H. Sakaguchi, and M. Matsushita, *Physica A* **282**, 283 (2000).
- [43] N. H. Mendelson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**, 1740 (1976).
- [44] N. H. Mendelson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**, 2478 (1978).
- [45] N. H. Mendelson, J. J. Thwaites, J. O. Kessler, and C. Li, *J. Bacteriol.* **177**, 7060 (1995).
- [46] N. H. Mendelson, B. Salhi, and C. Li, in *Bacteria as Multicellular Organisms*, ed. J. A. Shapiro and M. Dworkin (Oxford University Press, New York, 1997) p. 339.
- [47] N. H. Mendelson, *Environ. Microbiol.* **1**, 471 (1999).
- [48] N. H. Mendelson, J. E. Sarlls, and C. W. Wolgemuth, and R. E. Goldstein, *Phys. Rev. Lett.* **84**, 1627 (2000).
- [49] N. H. Mendelson, J. E. Sarlls, and J. J. Thwaites, *Microbiology* **147**, 929 (2001).
- [50] N. H. Mendelson, D. Morales, and J. J. Thwaites, *BMC Microbiol.* **2**, 1 (2002).
- [51] N. H. Mendelson, P. Shipman, D. Roy, L. Chen, and J. J. Thwaites, *BMC Microbiol.* **3**, 18 (2003).
- [52] 松山東平・松下貢 (2008). バイオフィルムの形成に見られる多細胞的振る舞い バイオフィルムの基礎と制御：特性・解析事例から形成防止・有効利用まで ブッカーズ (編) エヌ・ティー・エス pp.16-20.
- [53] 諸星知広・加藤紀弘・池田宰 (2008). 微生物間コミュニケーション (クオラムセンシング) バイオフィルムの基礎と制御：特性・解析事例から形成防止・有効利用まで ブッカーズ (編) エヌ・ティー・エス pp.38-45.
- [54] 中山二郎 (2011) 細菌の世界における細胞間ケミカルコミュニケーションとその分子メカニズム 腸内細菌学雑誌 **25** 221 (2011).
- [55] 熊田薫, 岩間明文, 高橋泰二, *日本微生物生態学会報* **1**, 1 (1996).