

2次元円形プール内における枯草菌集団運動の動的転移  
 Dynamic transition of collective motion of bacterial cells in a circular pool

物理学専攻 梅田大  
 Umeda Sora

研究背景

集団運動は、自然界で見られる身近で普遍的な現象である。魚や鳥、哺乳類といった生物は、単一の個体ではランダムな振る舞いを見せる一方で、集団になると複雑で秩序立った振る舞いを示す。集団運動は上記のような生物から昆虫・微生物に至るまで様々なスケールで確認されているため、物理学においては各々の系の詳細に依らない普遍性があるとして多くの研究が行われている。

集団運動に関する実験的背景として、円形の境界を持つ系であるバクテリアの集団運動について紹介する。寒天培地上に接種した枯草菌(*B. subtilis*)は、培地の寒天濃度 $C_a$  (concentration of agar) と培地の栄養濃度 $C_n$  (concentration of nutrient) に依存して5種類のコロニーパターンを示す。そして5つのコロニーパターンの中の同心円状パターンについては、その成長界面近傍にガラスビーズを撒き、取り除いて円形のプールを作成することで、そこにトラップされた枯草菌が様々な振る舞いを示す。その振る舞いのパターンは、プール内の菌密度 $\rho$  と換算菌体長 $\lambda$  (プール内の平均菌体長/プール直径) の2つのパラメータによって6種類に分類される(図1)。まず $\rho$  と $\lambda$  が低い値の時には、それぞれの菌はランダムな方向へ動く(*random motion*)。次にその状態から $\rho$ が大きくなると、菌集団が乱流的な振る舞いを示す(*turbulent motion*)。 $\rho$  が低く $\lambda$  が中程度の値の時には、菌はプールの縁に沿って反時計回りに周回する(*one-way rotational motion*)。この状態で $\rho$ が高くなると、外側が反時計回り、内側が時計回りに周回する2層の流れが生じる(*two-way rotational motion*)。 $\rho$ が低く $\lambda$ が高い値の時には、菌はプールの中心付近を前後に振動する(*random oscillatory motion*)。この状態で $\rho$ が高くなると、それぞれの菌が間欠的に振動方向を揃えるようになる(*ordered oscillatory motion*)。以下にそれぞれの振る舞いを示す系のスナップショットを載せる。

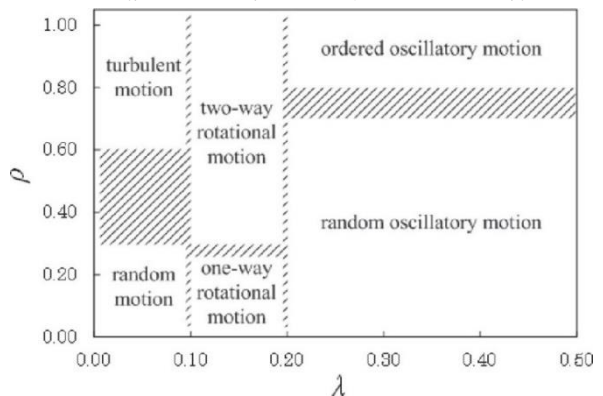
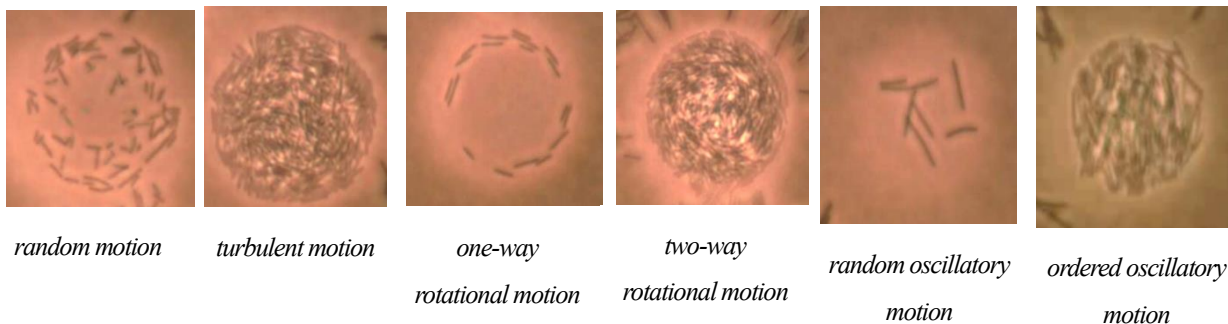


図1：二次元円形プール内における枯草菌集団運動の相図。横軸が換算菌体長 $\lambda$  (プール内の平均菌体長/プール直径)、縦軸が菌密度 $\rho$ を示す。上記の2つのパラメータの値によって6種類の振る舞いを示す。



*random motion*

*turbulent motion*

*one-way rotational motion*

*two-way rotational motion*

*random oscillatory motion*

*ordered oscillatory motion*

*random oscillatory motion*、*ordered oscillatory motion* を除く他の 4 種類の振る舞いについては、さらに定量的な解析が行われている。その中でも *random motion*、*one-way rotational motion* については、菌集団の振る舞いを流体とみなした速度場解析と、トラッキングによる菌単体の系の解析が行われている [1]。菌単体の系では、菌同士の影響による相互作用が存在しないため、菌単体の系と菌集団の系を比較することにより菌集団の系における“菌同士の相互作用”の影響を評価することができる。この解析では、系の振る舞いを区別する秩序パラメータ  $Q_\theta$  を導入することで、それぞれの振る舞いの  $\lambda$  依存性を定量的に評価した。 $Q_\theta$  は、菌集団の系では各時刻、各場所における菌集団の速度ベクトルのプール周方向成分に着目し、各時刻において周方向の平均を取ったものに、さらに時間平均をとったものとして定義され、菌単体の系では、各時刻における菌体の速度ベクトルのプール周方向成分を時間平均したものとして定義される。この定義より、 $Q_\theta$  は菌の運動がランダムな時は  $Q_\theta = 0$ 、プール壁に沿って反時計回りに回転運動する時は  $Q_\theta = 1$  となる。

この解析において、菌集団の系では秩序パラメータ  $Q_\theta$  の  $\lambda$  依存性が確認された一方で(図 2(b))、菌単体の系では  $\tilde{Q}_\theta$  (菌単体の系の秩序パラメータを  $\tilde{Q}_\theta$  とする)が  $\lambda$  に依存する様子は確認されなかった(図 2(a))。そのため、*random motion* から *one-way rotational motion* への転移には“菌同士の相互作用”が不可欠であることが判明した。また、菌単体の系における  $\tilde{Q}_\theta$  は  $\lambda$  ではなく平均菌速度  $v_{ave}$  に対して、 $\tilde{Q}_\theta \propto v_{ave}$  の比例関係があることが確認された (図 3(a))。  $v_{ave}$  は菌の方向転換の頻度が高いほど小さい値となり、低いほど大きい値となる (図 3(b)、(c))。菌の方向転換はプール内の同じ場所で起こる事が顕微鏡観察で確認されていることから、菌が方向転換する場合には、その場所には何かしらの凹凸が存在することが示唆されている。菌単体の系では菌の運動はそのような凹凸の量によって特徴づけられると考えられる。特に、菌の方向転換がほとんどない場合は菌の運動はプール壁に沿ったきれいな円となり、その時の  $v_{ave}$  は菌とプール壁との相互作用で決まっていると考えられる。これらの結果より、二次元円形プール内における集団運動には、その振る舞いに影響を及ぼす要因として、“菌同士の相互作用”、“菌と壁との相互作用”、“菌と培地の相互作用”、この 3 種類が挙げられる。

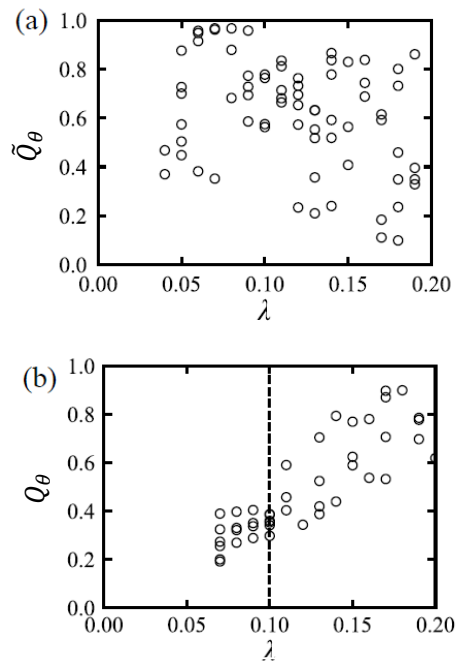


図 2 : *random motion*、*one-way rotational motion* における換算菌体長  $\lambda$  と秩序パラメータの関係のプロット (a) : 菌単体の系における秩序パラメータ  $\tilde{Q}_\theta$  の  $\lambda$  依存性。 (b) : 菌集団の系における秩序パラメータ  $Q_\theta$  の  $\lambda$  依存性。

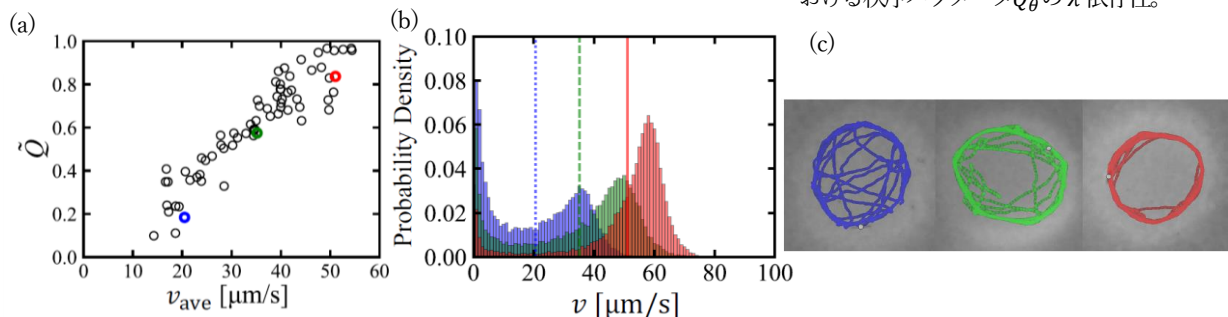


図 3 : 菌単体の系に関する図(a)における色付けされたデータ点はそれぞれ(b)、(c)に対応している。(a)菌単体の系における、平均菌速度  $v_{ave}$  に対する秩序パラメータ  $\tilde{Q}_\theta$  のプロット。(b)10 分間の計測における菌速度分布。縦線はそれぞれの色で表された系の平均速度を示す。 $v = 0$  の頻度は菌の方向転換の頻度に対応しており、頻度が高いデータ程、分布のピーク位置、平均速度が小さくなっている。(c)それぞれの系における 1 分間の菌の軌跡。(b)の分布より、 $v_{ave}$  が低い系では菌は複雑な軌道を描いており、方向転換の頻度が高いことを示している。

## 研究目的

先行研究の結果より、本研究では2次元円形プール内における菌の集団運動、その中でも *one-way rotational motion* と未だ解析が行われていない *random oscillatory motion* に着目した。先行研究の結果は *random motion* と *one-way rotational motion* の振る舞いについてのみ、つまり、 $\lambda < 0.2$  の領域においてのみ着目したものであり *one-way rotational motion* から *random oscillatory motion* への転移、つまり、 $\lambda = 0.2$  を境とする回転運動から振動運動への転移については、その転移を引き起こす主要因は明らかとされていない。したがって、本研究では  $\lambda = 0.1$  における転移の解析と同様に、菌集団の系と菌単体の系における振る舞いを比較することで、*one-way rotational motion* から *random oscillatory motion* への転移に及ぼす、各種相互作用の影響を評価することを目的とする。

## 解析手法・結果

本研究では、先行研究と同様に菌集団の系に対してはPIV解析により速度場を求め、菌単体の系に対してはトラッキング解析により、菌体の速度ベクトルを抽出する。その後、菌の運動の周方向への度合いを示す周方向秩序パラメータ  $Q_\theta$  を導入し、その  $\lambda$  依存性を調べる。また、*random oscillatory motion* はプール中心付近を振動する振る舞いであるため、菌の動径方向への運動の度合いを示す動径方向秩序パラメータ  $Q_r$  も導入し解析を行った。菌単体の系の  $Q_\theta$ 、 $Q_r$  の定義は以下の通りである（菌集団の系については先行研究に示した方法と同じ）。まず各時刻における速度ベクトル  $\mathbf{v}(r(t), \theta(t))$  に対してそのプール周方向成分  $q_\theta(t)$ 、動径方向成分  $q_r(t)$  を求め規格化する。

$$q_\theta(t) = \frac{\mathbf{v}(r(t), \theta(t))}{|\mathbf{v}(r(t), \theta(t))|} \cdot \mathbf{s}(r(t), \theta(t)), \quad q_r(t) = \left| \frac{\mathbf{v}(r(t), \theta(t))}{|\mathbf{v}(r(t), \theta(t))|} \cdot \mathbf{t}(r(t), \theta(t)) \right|$$

ここで  $\mathbf{s}(r(t), \theta(t))$  は位置  $(r(t), \theta(t))$  におけるプール接線方向単位ベクトル、 $\mathbf{t}(r(t), \theta(t))$  は位置  $(r(t), \theta(t))$  におけるプール法線方向単位ベクトルである。その後時間平均を取ったものを  $Q_\theta$ 、 $Q_r$  とする。

$$Q_\theta = \frac{1}{T} \sum_{t=0}^T q_\theta(t), \quad Q_r = \frac{1}{T} \sum_{t=0}^T q_r(t)$$

$Q_r$  はその定義より、菌がプールの縁に沿って周回する場合は  $Q_r \approx 0$ 、プール中心付近を振動する場合は  $Q_r \approx 1$  となる。この  $Q_\theta$ 、 $Q_r$  に対する  $\lambda$  依存性を以下に示す。

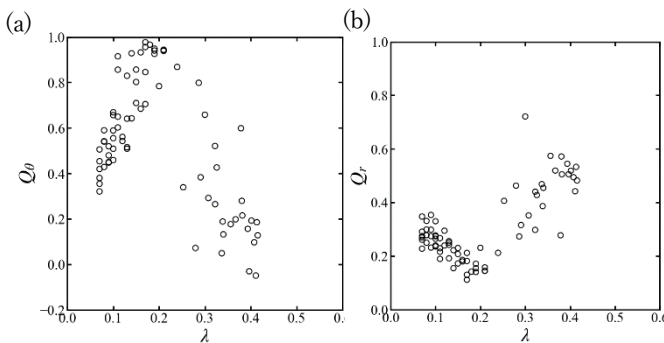


図4：菌集団の系における、換算菌体長  $\lambda$  に対する秩序パラメータ  $Q_\theta$ 、 $Q_r$  の振る舞い (a) プール周方向の秩序パラメータ  $Q_\theta$  の振る舞いを表している。(b) プール動径方向の秩序パラメータ  $Q_r$  の振る舞いを表している。菌集団の振る舞いが *one-way rotational motion* から *random oscillatory motion* へと変化する  $\lambda = 0.2$  を境に、 $Q_\theta$  は値が減少、 $Q_r$  は値が増加している。なお、データは菌密度が十分に高い  $\rho > 0.11$  のみを対象としている。

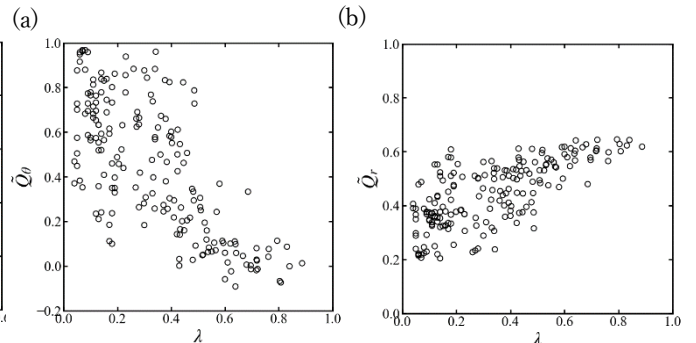


図5：菌単体の系における、換算菌体長  $\lambda$  に対する秩序パラメータ  $Q_\theta$ 、 $Q_r$  の振る舞い (a) プール周方向の秩序パラメータ  $Q_\theta$  の振る舞いを表している。(b) プール動径方向の秩序パラメータ  $Q_r$  の振る舞いを表している。菌単体の振る舞いが *one-way rotational motion* から *random oscillatory motion* へと変化する  $\lambda = 0.2$  を境に、 $Q_\theta$ 、 $Q_r$  のばらつきが  $\lambda$  の増加と共に収束している。

## 考察

まず、菌集団の系については、 $Q_\theta$  は  $\lambda > 0.2$  において、 $\lambda$  の増加と共に値が減少していく一方で、 $Q_r$  は値が増加する傾向を示した。このことから、菌集団の系における  $Q_\theta$  と  $Q_r$  の振る舞いは、菌集団の振る舞いが  $\lambda = 0.2$  を境に回転から振動へと変化する様子を表していることが分かる。次に菌単体の系については、 $Q_\theta$ 、 $Q_r$  は  $\lambda < 0.2$  の領域ではばらついている一方で、 $\lambda > 0.2$  の領域ではばらつきが  $\lambda$  の増加と共に収束していく様子が確認された。この結果は、*one-way rotational motion* から *random oscillatory motion* への移行が、“菌と壁との相互作用”の変化によって引き起こされるという事を示唆している。これは、菌単体の系の運動を決める要因が“菌と壁との相互作用”と“菌と培地との相互作用”の2種類であり、“菌と培地との相互作用の影響”による  $Q_\theta$ 、 $Q_r$  のばらつきが  $\lambda = 0.2$  を境に収束していることから考えられる。また、 $\lambda$  の増加に伴う  $Q_\theta$ 、 $Q_r$  のばらつきの収束は、 $\lambda$  の増加と共に“菌と壁との相互作用”が支配的になっていることを示唆している。さらに、収束後  $Q_r$  のみが有限の値を持っていることから“菌と壁との相互作用”は菌を振動させる作用であると考えられ、これらの結果よりこの系における“菌と壁との相互作用”は  $\lambda < 0.2$  の領域では菌をプール壁に沿って運動させる作用、 $\lambda > 0.2$  の領域では菌がプール壁に衝突し振動する作用と、 $\lambda = 0.2$  を境に相互作用の内容が変化していると考えられる。

上記が本研究の主な成果であるが、補足として  $\lambda > 0.2$  の領域においても菌単体の系の振る舞いが“菌と壁との相互作用”と“菌と培地との相互作用”の競合によって決まるのかを調査した。具体的には、菌の速度分布における速度0の頻度と山型の頂点の頻度の和に対する速度0の頻度の比  $\eta$  を導入し、 $\eta$  に対する  $Q_\theta$  の振る舞いを見た。 $\eta$  は定義より菌の方向転換の頻度を表す量であり、先述の先行研究の議論より“菌と培地との相互作用”の大きさを表す指標と考えることができる。したがって  $\eta$  が  $Q_\theta$  でスケールされれば、 $\lambda > 0.2$  の領域においても菌単体の系の振る舞いが“菌と壁との相互作用”と“菌と培地との相互作用”の競合によって決まると考えられる。

$$\eta = \frac{N_0}{N_0 + N_{peak}}$$

( $N_0$  : 速度分布における速度0の頻度)

( $N_{peak}$  : 速度分布における右側の山型の分布の頂点の頻度。山型の分布が現れていない場合には  $N_{peak} = 0$  とする。)

プロットの結果、 $Q_\theta$  は  $\eta$  でスケールされることが確認された(図6)。したがって、上記の議論より、 $\lambda > 0.2$  の領域においても、菌単体の系の振る舞いが“菌と壁との相互作用”と“菌と培地との相互作用”の競合によって決まると考えられる。よって本研究

の主な成果である、*one-way rotational motion* から *random oscillatory motion* への転移が、“菌と壁との相互作用”の内容の変化によって引き起こされるという主張は、より確実性を持った考察となった。

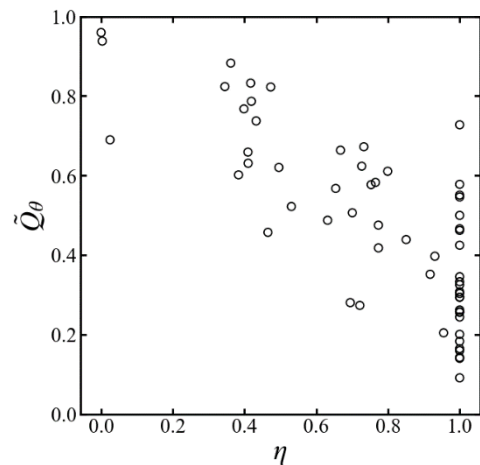


図6：速度分布における速度0の頻度と山型の分布の頂点の頻度の和に対する速度0の頻度の比  $\eta$  を横軸に、 $\tilde{Q}_\theta$  を縦軸にとったプロット  $\eta$  の増加に伴って  $\tilde{Q}_\theta$  が減少していることが分かる。

## 参考文献

- [1] R. Honda, S. Umeda, J. Wakita, J. Phys. Soc. Jpn. **88**, 054005, (2019).
- [2] 原田 翔平：円形プール内で運動するバクテリアの速度場解析 (2016年度修士論文)