

アスパラギン酸とセリンの濃度によるサルモネラ菌の集積度合の差異

鳥取大学 工学部 機械物理系学科
生体システム解析学研究室

研究背景・目的

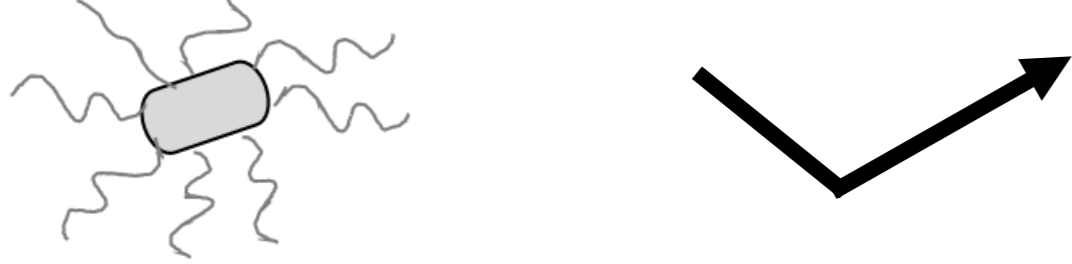
細菌の遊泳方法

周毛性細菌は、俵型の菌体の周りに螺旋型のべん毛を数本もつ

- **直進 (run)**
べん毛モーターを反時計回り



- **方向転換 (tumble)**
べん毛モーターを時計回り



細菌の走化性

誘引物質濃度

- **高い方へ進むと**

tumbleの頻度が下がりrunを続ける



次第に濃度が**高い方**へ移動
[1]川岸郁郎 生命誌ジャーナル 2007年

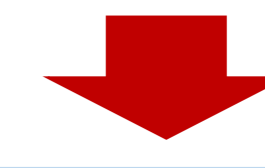
先行研究

サルモネラ菌の走化性

アスパラギン酸の方がセリンより早く集まる
[2]村岡将史 日本機械学会 (2018)

考えられる理由

- 遊泳速度 (速い→集まりやすい)
- 検知範囲 (濃度, 距離の差)
- 検知時の挙動 (tumble 頻度の減少) [3]GOTO, NAKAI JBSE (2016)

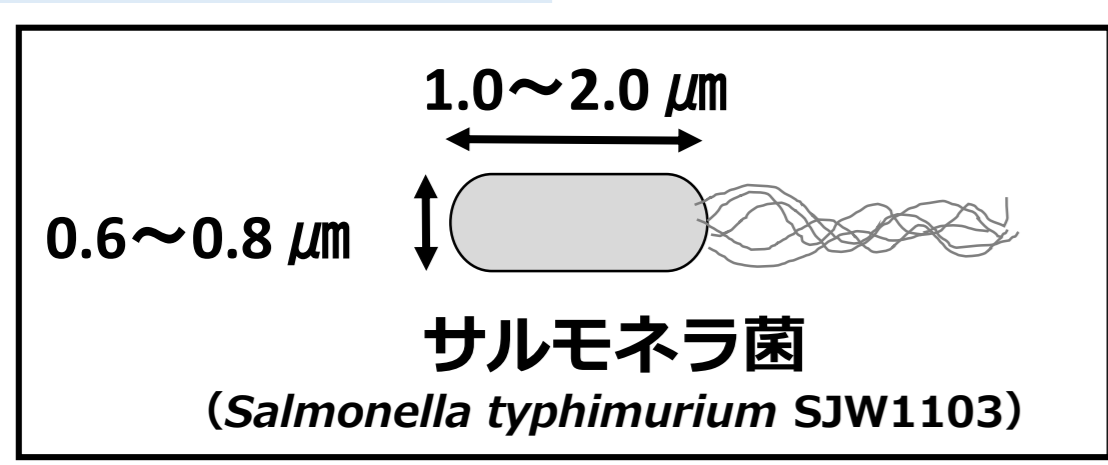


本研究

- 観察領域内の菌数変化
- 集積時の菌数密度分布

アスパラギン酸, セリンにおける細菌の集積度合の差異を調査する

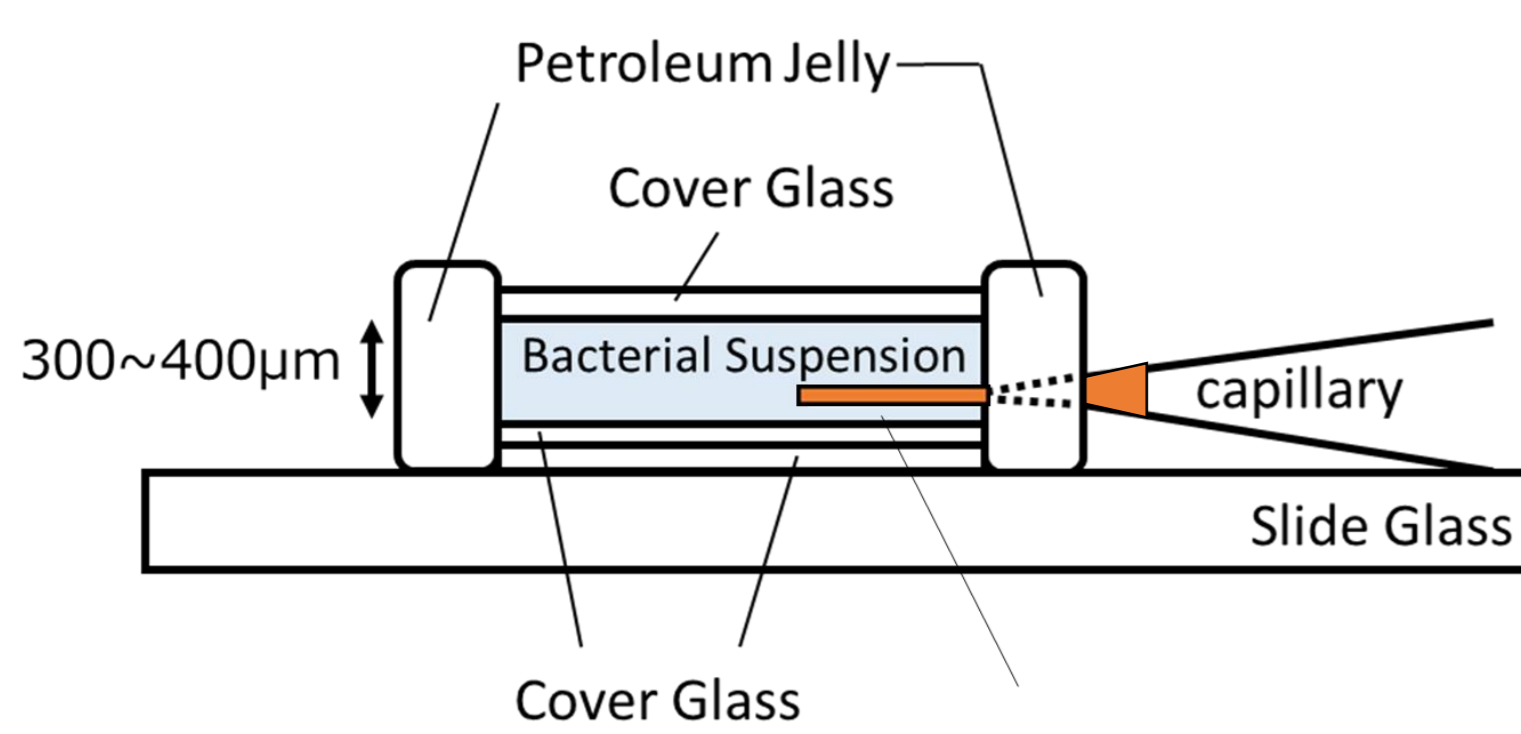
観察方法



サルモネラ菌
(*Salmonella typhimurium* SJW1103)

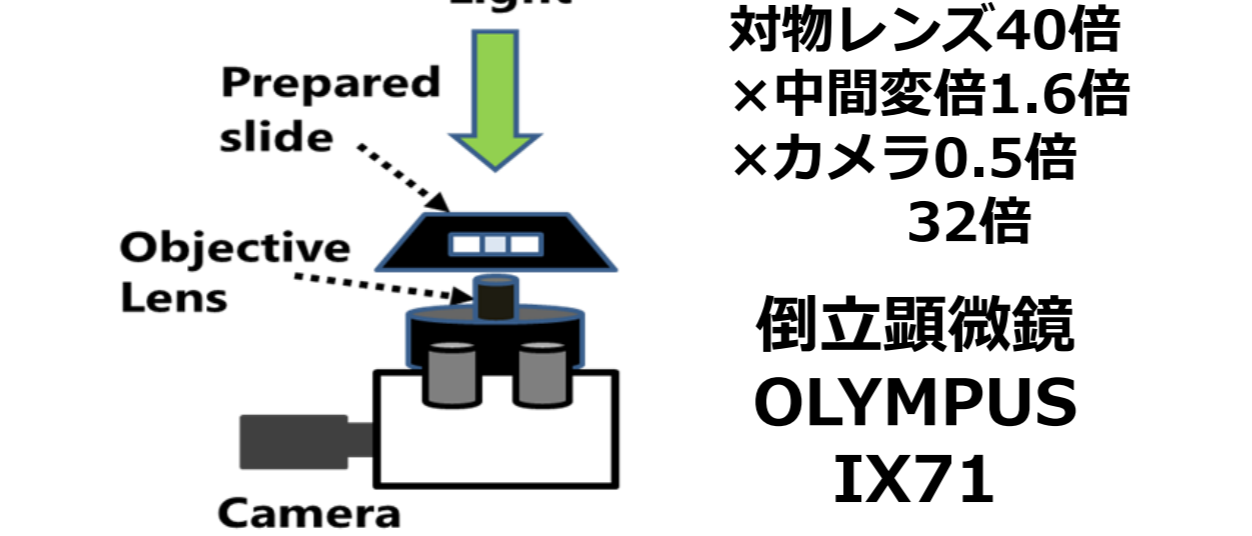
capillary assay

プレパラート側面図



capillaryの先端から誘引物質が球対称に拡散

実験装置



対物レンズ40倍
×中間変倍1.6倍
×カメラ0.5倍
32倍
倒立顕微鏡
OLYMPUS
IX71

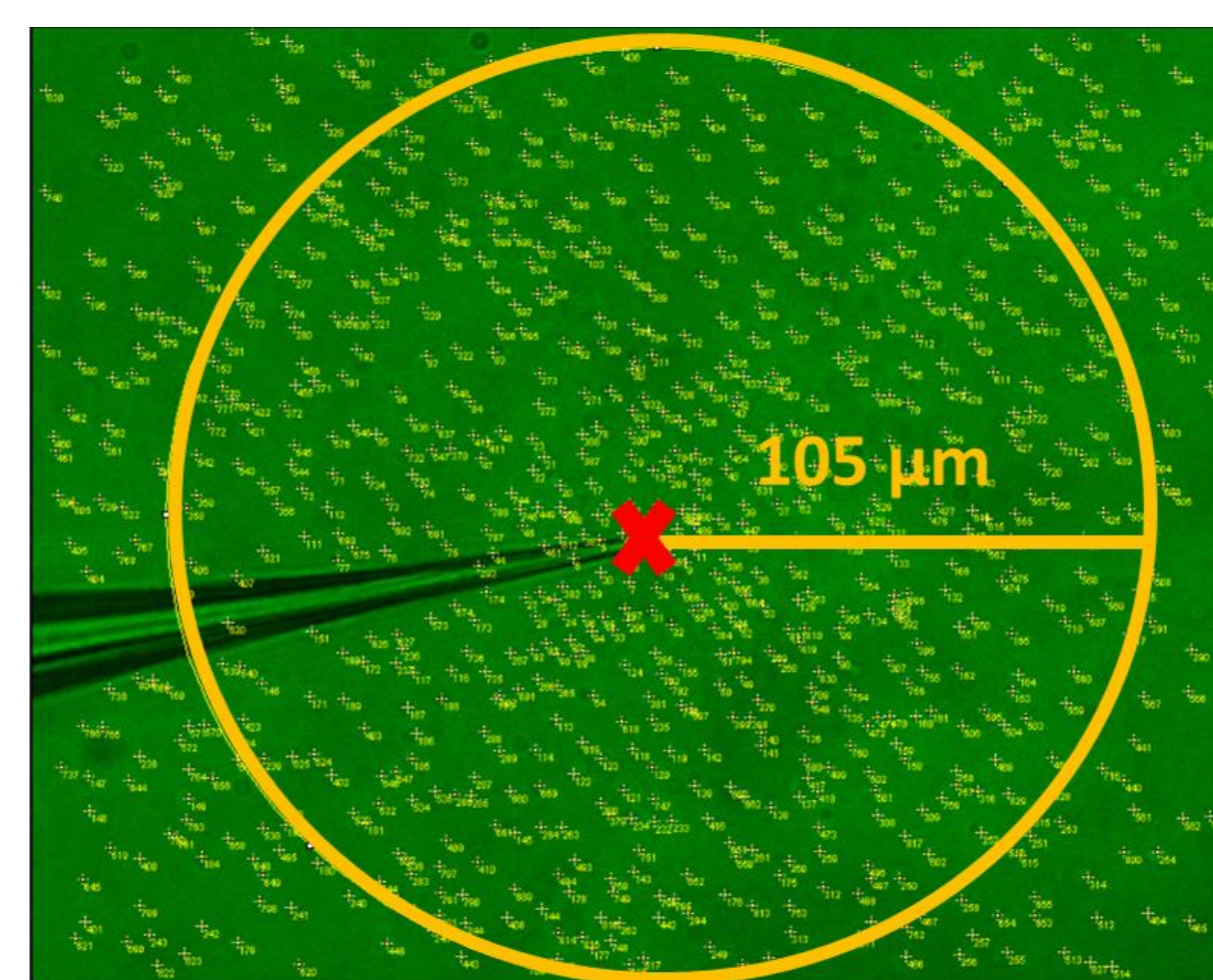
解析項目

- 観察領域内の菌数変化
- 集積時の菌数密度分布

誘引物質

- L-アスパラギン酸 分子量133
 - L-セリン 分子量105
- (濃度 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} M[mol/L])

解析方法



視野 横1216×縦960 pixel
横280×縦220 μm
横260×縦202 μm

画像解析ソフトImageJで計測領域 (105μm) 内の細菌の座標取得

座標をもとに

capillaryの先端からの細菌の距離を計測

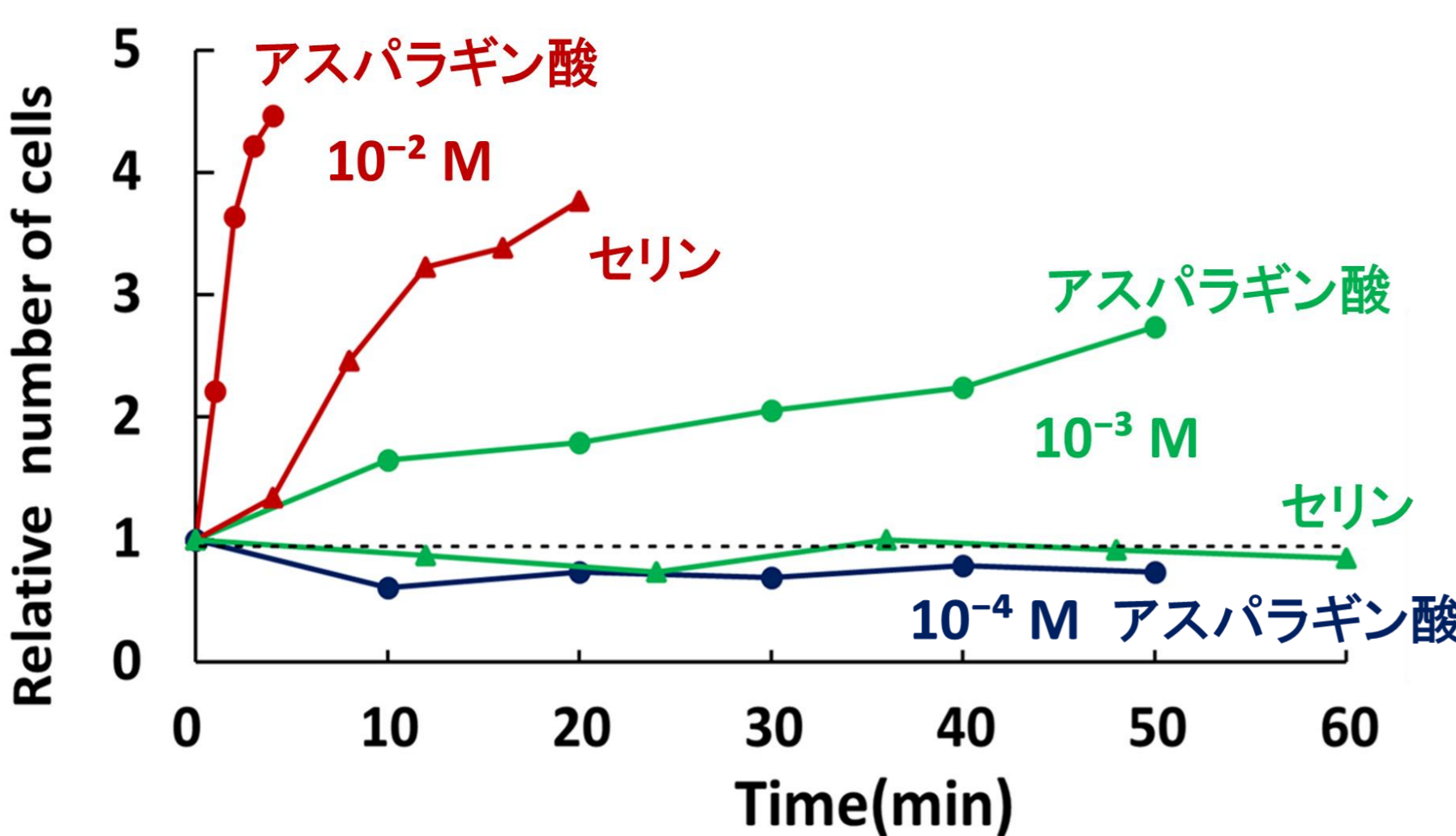
距離ごとの細菌数を計測する

撮影開始時刻0分から

アスパラギン酸 1分間隔

セリン 4分間隔

結果 capillaryの先端から半径105 μm内の菌数変化

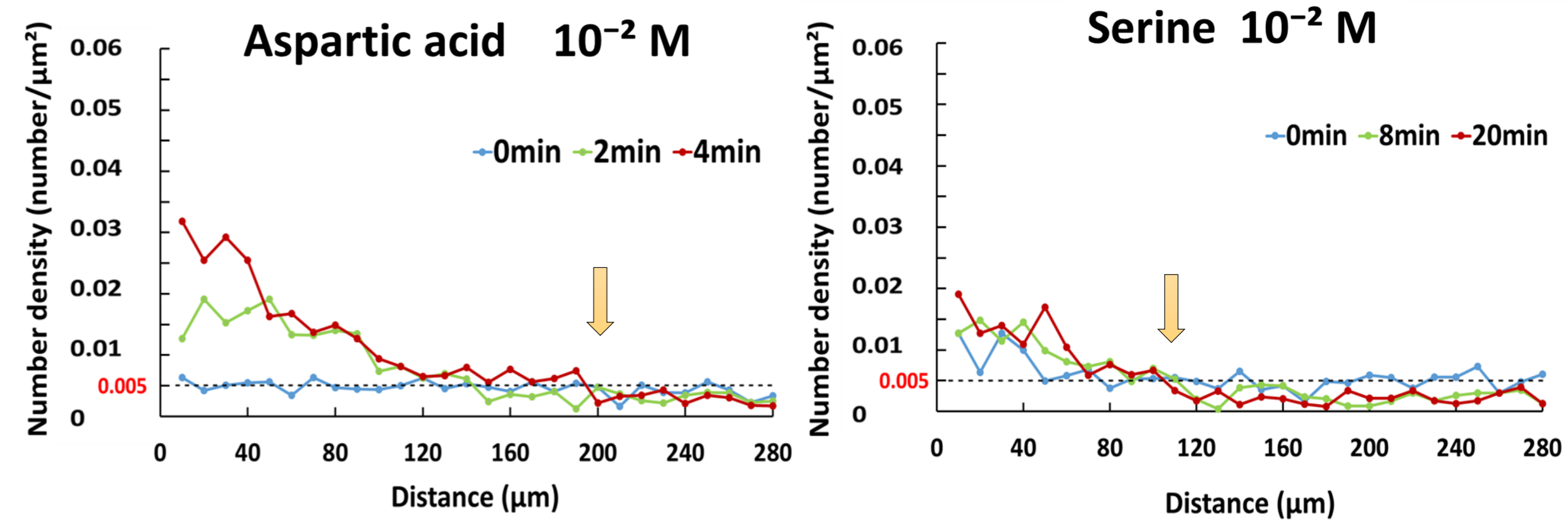


細菌の遊泳速度はほぼ同じ
アスパラギン酸 24±7 μm/s
セリン 20±6 μm/s

誘引物質により, 遊泳速度が変化し, 集積度合に差が生じるわけではない

- 濃度 10^{-2} Mでは, アスパラギン酸の方がセリンより**5分の1短い時間で集まる**
 - アスパラギン酸では **10^{-4} M**以下, セリンでは **10^{-3} M**以下だと集まらなくなる
- ➡ 検知できる濃度に違いがある

集積時における capillaryの先端からの菌数密度分布



- 細菌数密度は, アスパラギン酸は4分, セリンは20分以降でほぼ増加しない
- ある距離より遠方では時間が経過しても細菌数密度が増加せず, 誘引物質の検知が不可能である
- ➡ 遠方での細菌数密度が減少し, 初期(0分)の数密度(0.005)と等しくなる場所までを検知領域とする
- 5サンプルの平均を取ると, アスパラギン酸は**180±24 μm**, セリンは**120±12 μm**が検知可能な領域である
- 検知領域の広いアスパラギン酸の方が, 遠方でのより低い濃度を細菌が検知できる

結言

アスパラギン酸とセリンにおける細菌の走化性の差異

濃度 10^{-2} Mにおいて, capillary 近傍に集積する時間は, アスパラギン酸ではセリンの**5分の1**

- ◆ 誘引物質を検知可能な領域が, **アスパラギン酸の方が広範囲**である
- ◆ 検知可能な領域における挙動(走化性の強さ)については, 違いはない

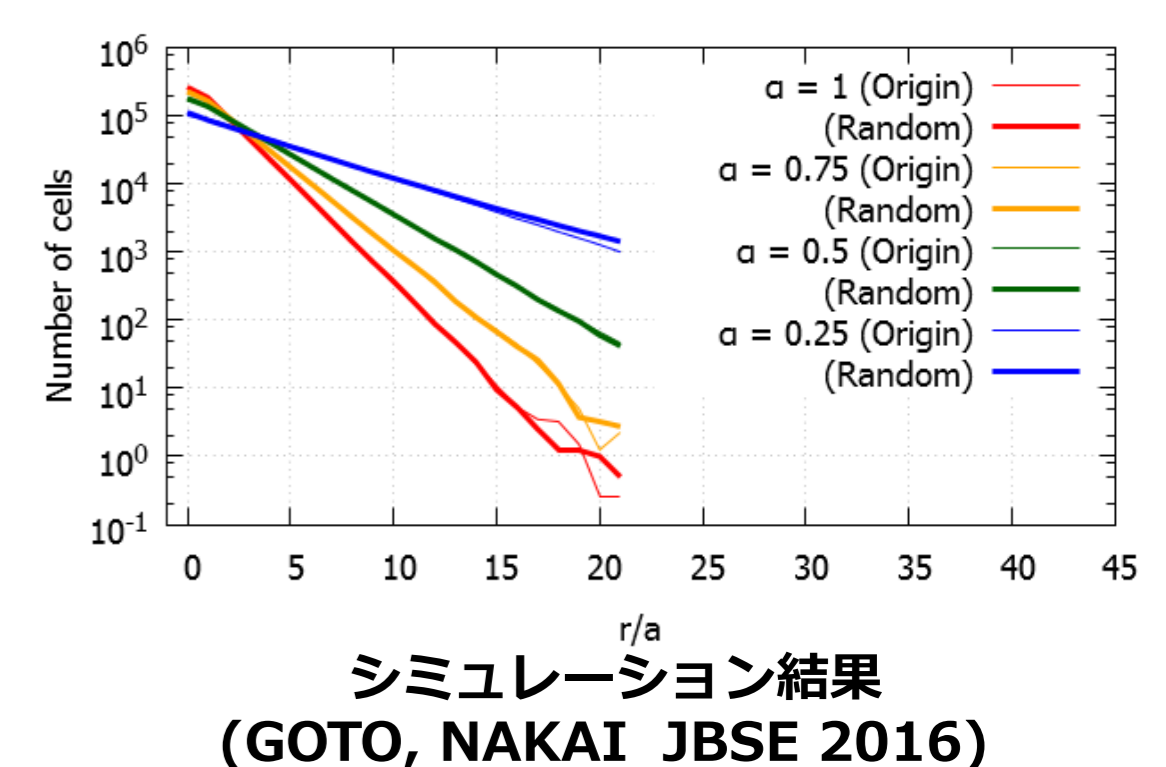
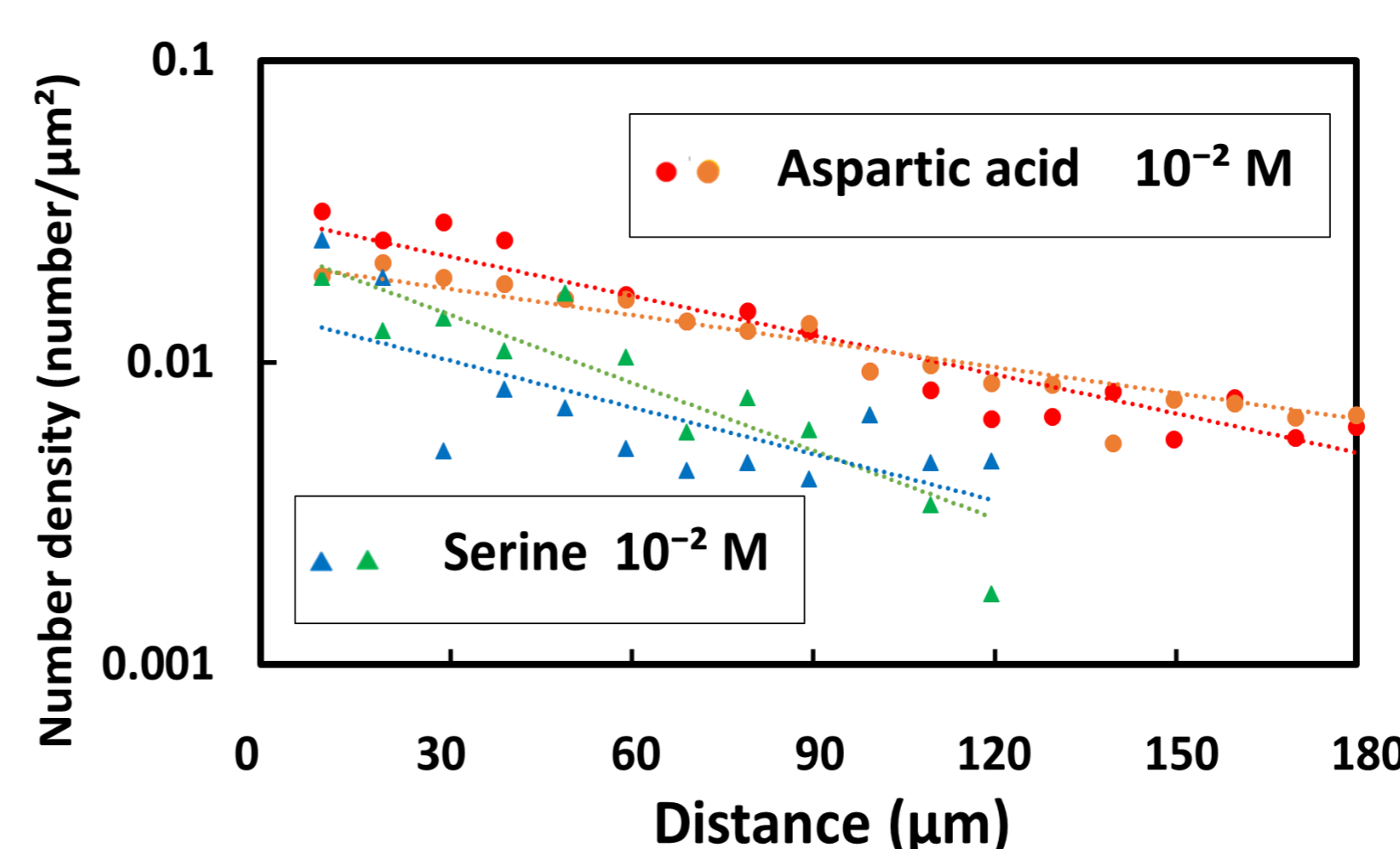
経過時間と細菌数の関係

capillary assay法における充填する誘引物質がアスパラギン酸は **10^{-4} M**以下, セリンは **10^{-3} M**以下だと集まらない

capillaryの先端からの距離と数密度の関係

濃度 10^{-2} Mにおいて, アスパラギン酸は**180±24 μm**, セリンは**120±12 μm**の範囲まで集まる

走化性強さの検討



指数分布となっておりシミュレーション結果と一致 [3]

- 今回の観察では近似直線の傾きには大差がない
- 同濃度の, アスパラギン酸とセリンでは, **検知可能な領域における走化性の強さは, ほぼ同じ**