

バクテリアの走化性によるパターン形成のモデル

同志社大・理工研 川崎 廣吉 (Kohkichi Kawasaki)

京大・理 重定南奈子 (Nanako Shigesada)

1. はじめに

大腸菌やサルモネラ菌など多くのバクテリアが種々の物質に対して走化性を示すことはよく知られている. その中で, 最近, 自分自身の出す物質に対して走化性を示す大腸菌が複雑なコロニー・パターンを形成することが報告された (Budrene & Berg, 1991). すなわち, アスパラギン酸塩に走化性を示す大腸菌の変異株を寒天培地で培養すると条件によって複雑なコロニーのパターン (スポット状やストライプ状のコロニーが規則正しく同心円的に配列している) を形成する. そのメカニズムは大腸菌が自ら代謝物質として出すアスパラギン酸塩の類似物質に対して走化性を示して集まることと増殖とによっていると考えられている. ここでは, このようなパターンの形成のメカニズムをより詳しく数理モデルを用いて解析したので報告する.

Budrene and Berg (1991) の実験によると大腸菌が示すパターンは次のようにまとめることができる.

- (1) 大腸菌は寒天培地に接種された後 10 時間後に初めて同心円のバンド (大腸菌のコロニー) が現われ, 以後, 4 時間毎に外側に新たな

バンドが出来ていく.

- (2) バンドの間隔は 3mm ぐらいなので, 0.75 mm/h の速度で大腸菌がバンドを形成しながら広がっていくことになる.
- (3) 条件によっては, バンドは後にスポット状になっていく.
- (4) パターンの幾何学的な変化は主に培養物質の成分の違いで起こり, 大腸菌の変異株の違いでは起こりにくい.

さらに詳しく見ると

- (5) バンドの間隔はほぼ等間隔だが, よく見ると, 中心部より外側の方が狭い.
- (6) 走化性には化学物質を感知するための受容器官があるが, 受容器-受容物質の解離係数に近い濃度の受容物質を加えたとき, パターン形成は抑制される.
- (7) パターン形成の抑制が起こるとバンドが不鮮明になると共にバンド間隔が広くなる.

以上のようなパターンの特徴に対して, 数理モデルによる解析では, まず, 実験で示されたパターンが数理モデルで再現できるかどうかを中心に調べ, さらに, 寒天培地到大腸菌を接種してから最初のパターンが現われるまでの時間遅れやスポットとスポットの間隔の問題について検討した.

2. 数理モデル

基礎方程式

モデルには次のような仮定を用いた.

- (1) 大腸菌は走化性を示しつつ、ランダムな運動をしながら広がり、増殖する。
- (2) 大腸菌は自ら排出している物質に走化性を示す。
- (3) その物質は自然に分解する。
- (4) 走化性の強さは濃度とその勾配に関係する。

上の仮定のもとで、場所 x ，時間 t における、大腸菌の個体密度を $u(x, t)$ ，走化性を示す物質の濃度を $c(x, t)$ とすると、それらの時間変化は次のようになる。

$$\begin{aligned}\frac{\partial u}{\partial t} &= D_u \Delta u - \nabla(u V(c, \nabla c)) + (\varepsilon - \mu u)u \\ \frac{\partial c}{\partial t} &= D_c \Delta c + \alpha u - \beta c\end{aligned}\tag{1}$$

ここで D_u, D_c はそれぞれ大腸菌と走化性物質の拡散係数， ε は大腸菌の内的自然増加率， μ は大腸菌の種内競争係数， α は走化性物質の生産速度， β は走化性物質の分解速度であり， $V(c, \nabla c)$ は走化性の強さを現す関数である。

走化性の関数： $V(c, \nabla c)$

走化性についての数理モデルは今までも数多く提出されて、その関数形にはいろいろなものが使われている。Ford & Lauffenburger (1991) によれば、

- (a) 単に勾配に比例するもの：

$$V(c, \nabla c) = \gamma \nabla c\tag{2}$$

- (b) 刺激に対する反応についてのWeber's law の類推から対数の勾配に

比例するもの (Keller and Segel, 1971) :

$$V(c, \nabla c) = \gamma W \ln c = \frac{\gamma}{c} \nabla c \quad (3)$$

(c) 受容物質と結合している受容器の数の空間移動にともなう変化の勾配に比例するもの (Lapidus and Schiller, 1976) :

$$V(c, \nabla c) = \gamma W \left(\frac{c}{c+k} \right) = \frac{\gamma k}{(c+k)^2} \nabla c \quad (4)$$

(d) 上と同じだが, 受容物質と受容器の結合が単に 1 次の反応でない場合 (Segel, 1979) :

$$V(c, \nabla c) = \gamma W \left(\frac{c^n}{c^n + k^n} \right) = \frac{\gamma n k c^{n-1}}{(c^n + k^n)^2} \nabla c \quad (5)$$

(e) 何種類かの受容物質に関係する場合 (Boon and Herpigny, 1986) :

$$\begin{aligned} V(c, \nabla c) &= \gamma \sum_i \nabla \left(\frac{c_i^n}{c_i^n + k_i^n} \right) \\ &= \gamma \sum_i \left(\frac{n k c_i^{n-1}}{(c_i^n + k_i^n)^2} \nabla c_i \right) \end{aligned} \quad (6)$$

(f) 受容物質と受容器の結合数の空間移動にともなう時間的变化の大きさに比例するもの (Rivero *et al.*, 1989) :

$$\begin{aligned} V(c, \nabla c) &= s \tanh \left(\sigma s \frac{\partial}{\partial x} \left(\frac{c}{c+k} \right) \right) \\ &= s \tanh \left(\sigma s \frac{k}{(c+k)^2} \frac{\partial}{\partial x} c \right) \end{aligned} \quad (7)$$

などがある.

これらの関数形についてその具体的な違いを調べてみると Fig. 1 のようになる. (a) と (d) を除いて, 走化性物質の濃度 c の依存性は 2 桁の範

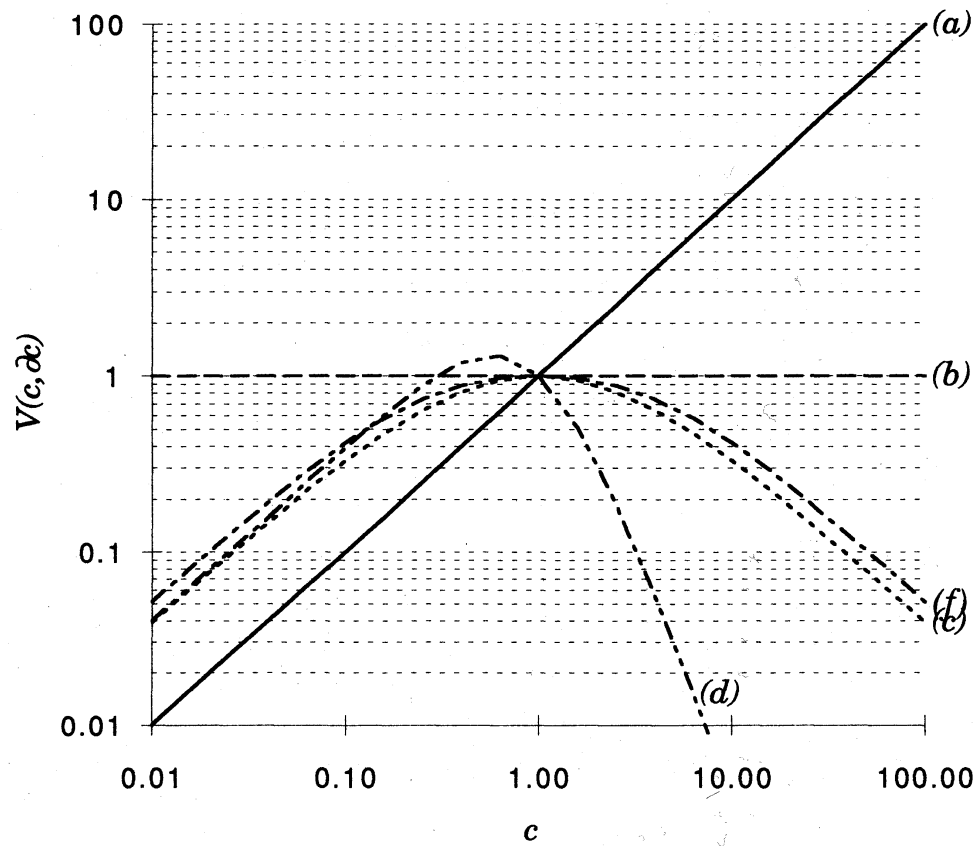


Fig. 1 走化性の関数形. パラメータの値は $k=1, n=2, s=\sigma=1$ とし, さらに濃度勾配を一定 ($\nabla c=1$) として c の値に対してグラフを描いた. γ は $c=1$ のときと $V=1$ なるように取った. (b), (c), (f) は濃度 c の 2 桁の範囲 (0.1~10) での違いはそう大きくない.

囲 (0.1~10) ではほぼ一致している. そこで, 我々は簡単な関数形である (4) 式を用いた.

これに対して, 次のように変数変換をし,

$$\begin{aligned} \frac{x}{\sqrt{D_c}} &\Rightarrow x', \quad t \Rightarrow t', \quad \frac{c}{k} \Rightarrow c', \quad \mu u \Rightarrow u', \\ \frac{D_u}{D_c} &\Rightarrow D, \quad \frac{\gamma}{D_c} \Rightarrow \gamma', \quad \frac{\alpha}{\gamma k} \Rightarrow \alpha', \quad \beta \Rightarrow \beta' \end{aligned}$$

さらに, 簡単のために「'」を省略すると

$$\begin{aligned}\frac{\partial u}{\partial t} &= D\Delta u - \gamma \nabla \left(u \frac{1}{(c+1)^2} \nabla c \right) + (\varepsilon - u)u \\ \frac{\partial c}{\partial t} &= \Delta c + \alpha u - \beta c\end{aligned}\quad (8)$$

を得る.

パラメータの推定

いくつかのパラメータの値は Budrene & Berg (1991) より次のように推定される.

大腸菌の拡散係数 Du は液中では $4.8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec}$ であり, 寒天上ではそれよりも小さくなる. 走化性の受容物質がアスパラギン酸塩と同じ程度の分子量とするとその拡散係数 Dc はおよそ $10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$ である. また, 増殖率 ε は大腸菌が 0.5~2 時間で 2 分裂するとすれば $0.35 \sim 1.39 \text{ /h}$ である. 種内競争係数 μ は最終密度 ε/μ をおよそ 10^8 cells/cm^3 とすれば $0.35 \sim 1.39 \times 10^{-8} \text{ cm}^3/(\text{cells h})$ となる. 走化性の強さの最大値は液中で $1.5 \sim 75 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$ であり, 寒天上ではそれよりも小さい. 以上をまとめると

$$Du : < 4.8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec} (\text{液中}) = 1.73 \text{ m m}^2/\text{h}$$

$$Dc : 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec} = 3.6 \text{ m m}^2/\text{h}$$

$$\varepsilon : 2\text{倍}/(0.5\text{h} \sim 2\text{h}) = 0.35 \sim 1.39 \text{ /h} \quad (2=e^{\varepsilon t} : t = 0.5 \sim 2)$$

$$\mu : 0.35 \sim 1.39 \times 10^{-8} \text{ cm}^3/(\text{cells h}) \quad (\varepsilon/\mu \sim 10^8 \text{ cells/cm}^3)$$

$$\gamma V \text{の最大値} : < 1.5 \sim 75 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec} (\text{液中}) = 5.4 \sim 270 \text{ m m}^2/\text{h}$$

残りのパラメータ k, α, β は全く未知である.

一方バンドが広がる速さ $v = 0.75 \text{ mm/h}$ より大腸菌の拡散係数 Du は

0.10~0.40 mm²/h と推定される．なぜなら，増殖と拡散によって生物が広がる速さは Fisher (1937) より $v = 2\sqrt{\epsilon D u}$ で与えられると考えられるからである．

以上より変数変換後のパラメータに対しては

$$D : 0.028 \sim 0.111$$

$$\epsilon : 0.35 \sim 1.39$$

$$\gamma : 3 \sim 156 D$$

と推定される．ここで， γ については，拡散係数の値が変わっても γ/Du の比は余り変わらないとした．また，変数変換後のバンドの間隔は 1.58，広がる速さ v は 0.4 である．

4. 計算機シミュレーションとその結果

数値計算の方法

計算機シミュレーションは，式 (8) について 2 次元平面で円対称の場合を取り扱った．また，初期条件は中心部にある量の大腸菌を接種した場合を想定し，境界条件は大腸菌や走化性の物質が漏れない反射壁とした．式は次のようになる．ただし， R はシャーレの半径である．

$$\begin{aligned} \frac{\partial u}{\partial t} &= \frac{D}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial u}{\partial r} \right) - \frac{\gamma}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(\frac{ru}{(c+1)^2} \frac{\partial c}{\partial r} \right) + (\epsilon - u)u \\ \frac{\partial c}{\partial t} &= \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial c}{\partial r} \right) + \alpha u - \beta c \end{aligned} \quad (9)$$

$$\frac{\partial u}{\partial r}(0, t) = \frac{\partial u}{\partial r}(R, t) = 0$$

$$u(x, 0) = u_0(x)$$

数値計算上において、時間微分に対しては拡散項のみ後の時間での値とした陰的方法で差分化し、空間微分に対しては中心差分を用いた。また、境界では、中心 ($r = 0$) で微分が 0 を満たす 2 次式で解を近似した (Crank (1975) 参照)。

計算機シミュレーションの結果

くつかのパラメータの組に対してシステム (9) の数値計算を行った結果を Fig. 2 (A)~(E) に示す。まず、どのパラメータについても共通に次のことが言える。

- (1) 最初のバンドが現われるまでに 10 数時間かかり、ほぼ 20 時間後に明瞭なバンドになる。
- (2) バンドの広がる速さは $v = 2\sqrt{\epsilon D}$ を反映してほぼ 0.4 である。
- (3) バンドが現われるときはほぼ等間隔であるが、時間がたつと位置が動く。特に、中心に最も近いバンドは動いて中心に吸収され融合する。

また、Fig. 2 において、(A) を基準に次のことが言える。

- (4) (B) では拡散係数を小さく増殖率を大きくしてあるが、バンド幅がかなり狭くなる。ただし、2つのバンドが融合することがあり、結果的に間隔は広くなることもある。
- (5) (C) では α と β の比は一定にそれぞれの値を大きくしてあるが、バンド幅が少し狭くなる。
- (6) (D) では α のみ値を大きくし、(E) では γ のみ値を大きくしてあるが、パターンは変わらず、ほとんど影響しないと言える。

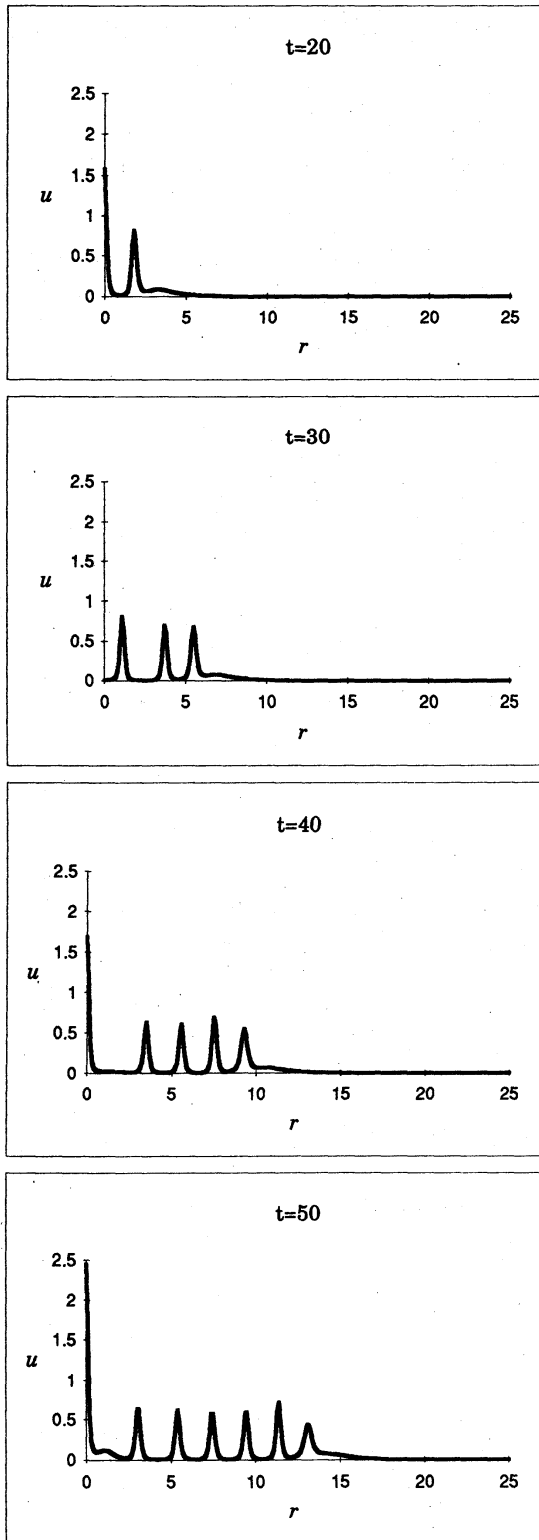


Fig. 2(A) シミュレーションの結果
 パラメータは $D = 0.1$, $\gamma = 2.0$,
 $\varepsilon = 0.39$, $\alpha = 20$, $\beta = 10$.

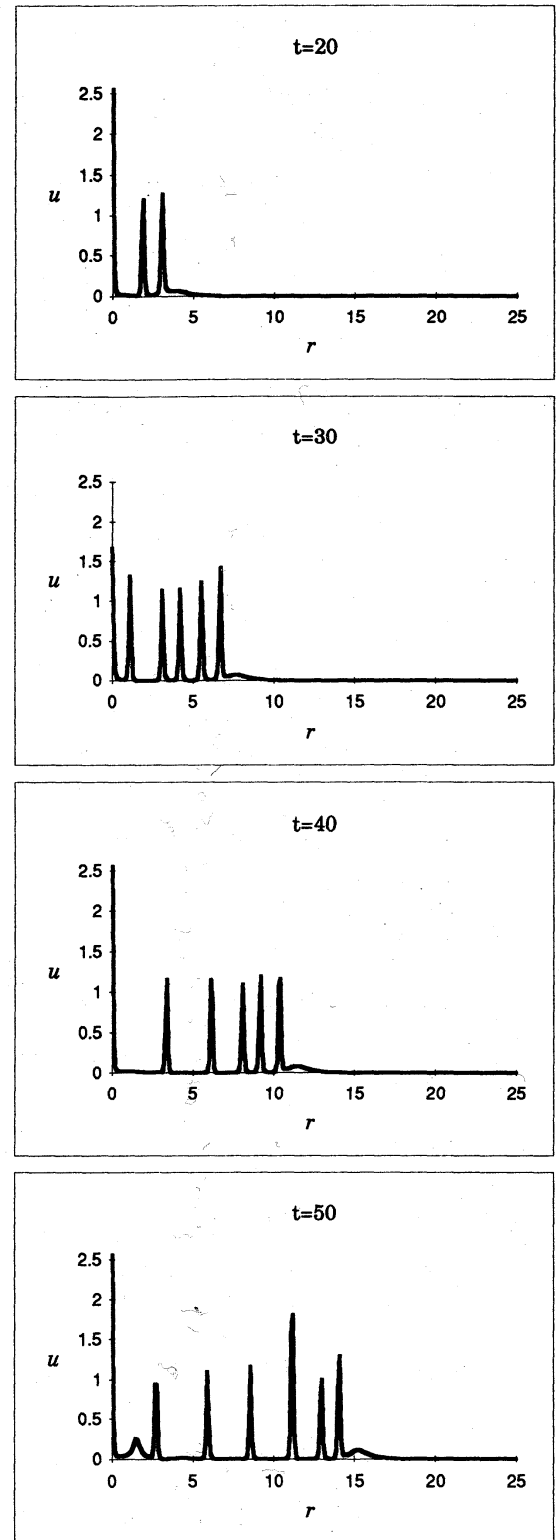


Fig. 2(B) シミュレーションの結果
 パラメータは $D = 0.05$, $\gamma = 2.0$,
 $\varepsilon = 0.78$, $\alpha = 20$, $\beta = 10$.

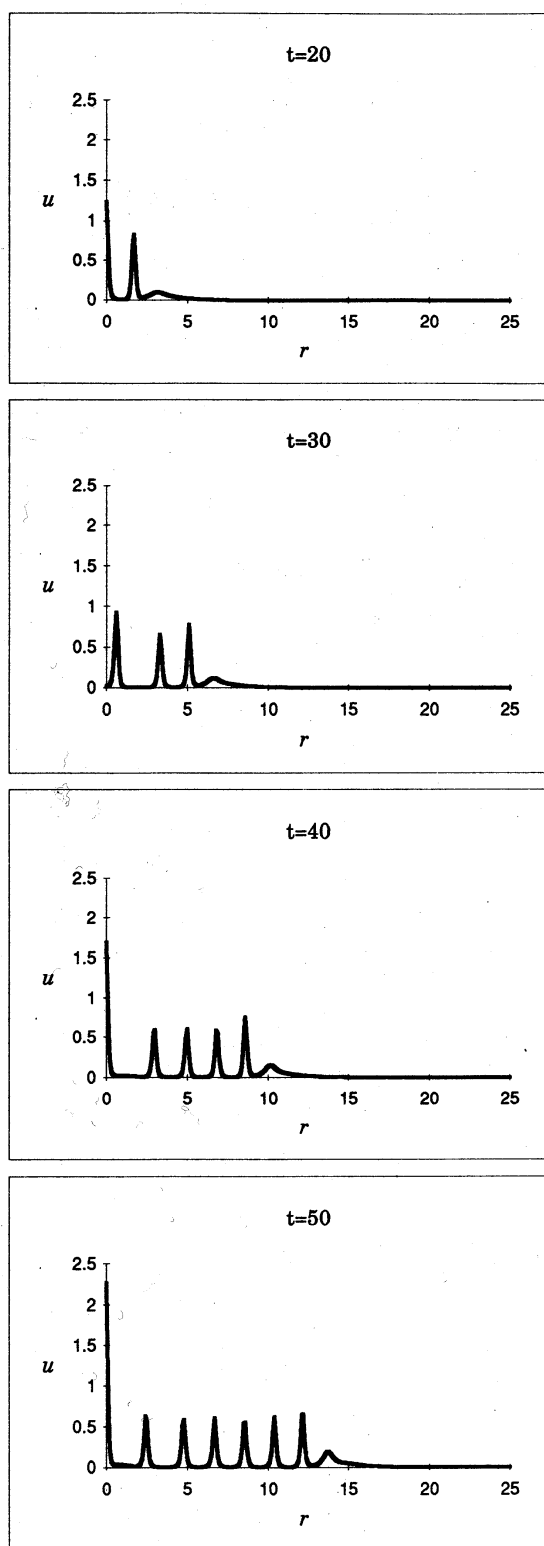


Fig. 2(C) シミュレーションの結果
 パラメータは $D = 0.1$, $\gamma = 2.0$,
 $\varepsilon = 0.39$, $\alpha = 30$, $\beta = 15$.

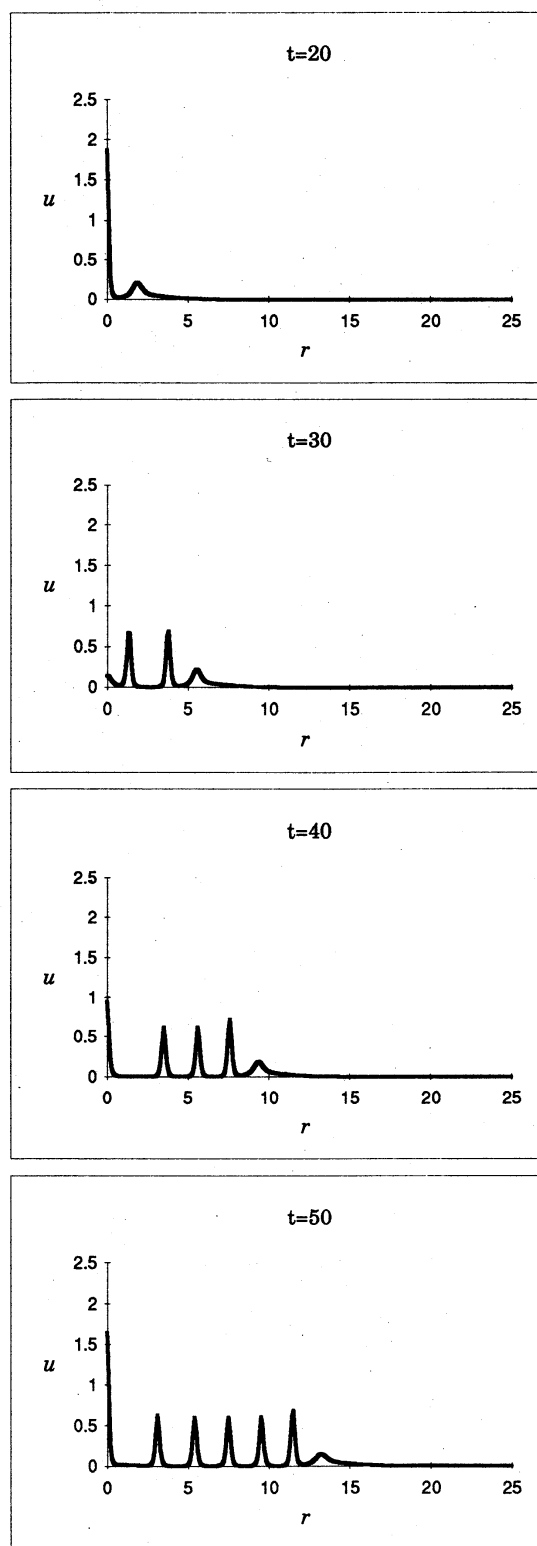


Fig. 2(D) シミュレーションの結果
 パラメータは $D = 0.1$, $\gamma = 2.0$,
 $\varepsilon = 0.39$, $\alpha = 30$, $\beta = 10$.

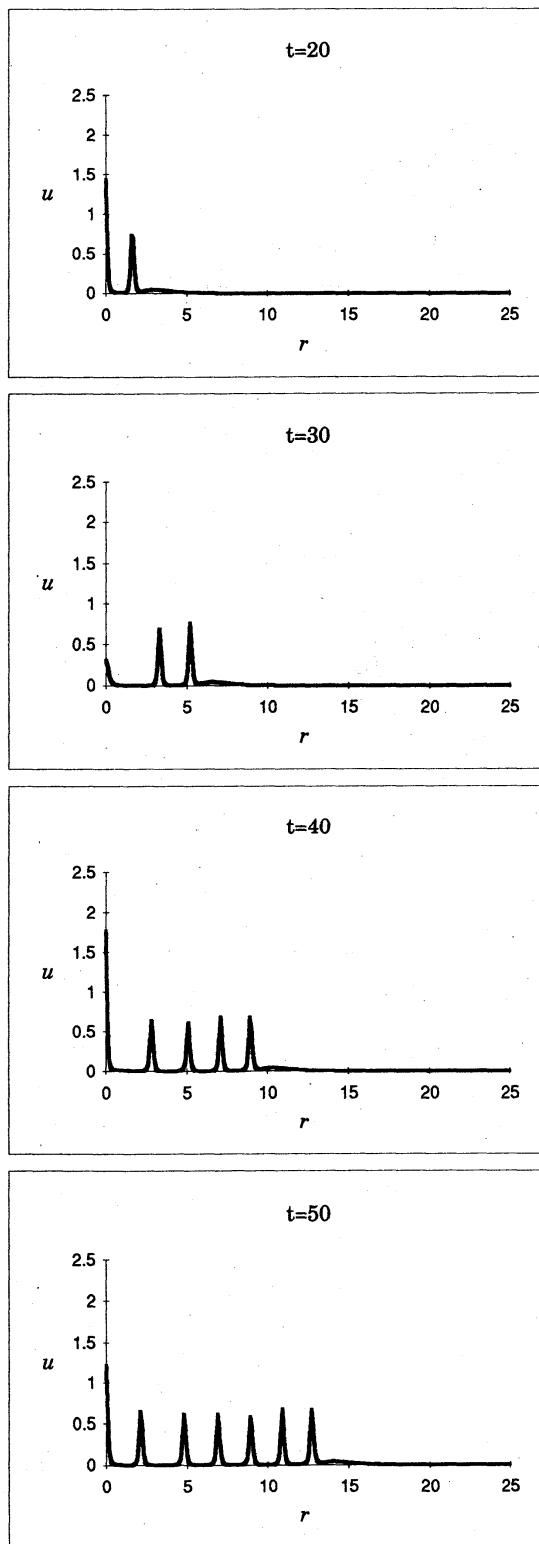


Fig. 2 (E) シミュレーションの結果
 パラメータは $D = 0.1$, $\gamma = 3.0$,
 $\varepsilon = 0.39$, $\alpha = 20$, $\beta = 10$.

5. まとめ

計算機シミュレーションの結果、最初のバンドが現われるまでの時間、バンドができて広がる速さ、バンドの間隔などはほぼ Budrene & Berg (1991)の実験結果を再現している。しかし、詳細に見ると異なるところも多い。

まず、最初のバンドが現われるまでの時間はおおむね一致しているが、シミュレーションの結果の方が少し大きく、出現までに時間がかかっている。

また、実験でもバンドの位置が少しシフトすることもあるが、シミュレーションのように大きく動くことはないし、2つのバンドが融合することはない。

以上のような問題点を含めて、ここで取り上げたモデルには一部問題がある。それは増殖項がロジスチック増殖であることによる。ロジスチック増殖では平衡値 ε/μ

を越えて個体密度が大きくなった場合、増殖率が負の値になる。これは、大腸菌の死亡を意味し、バンドになっている部分ではどんどん死亡して消えていくことになり、現実には合いにくい。この点についてはモデルの変更が必要であろう。しかし、適当な増殖項を用いればこの点は解決されられると思われる。

モデルの数値計算は円対称の解についてであったが、2次元平面での数値計算は今なされつつある。

引用文献

- Boon, J. -P. and B. Herpigny: *Bull. math. Biol.* **48**, 1-49 (1986).
 Budrene and Berg: *Nature* **349**, 630-633 (1991).
 Crank, J.: *The Mathematics of Diffusion*. Oxford: Clarendon Press (1975).
 Ford, R. M. and D. A. Lauffenburger: *Bull. math. Biol.* **53**, 721-749 (1991).
 Fisher, R. A.: *Ann. Eugenics* **7**, 353-369 (1937).
 Keller, E. F. and L. A. Segel: *J. theor. Biol.* **30**, 235-248 (1971).
 Lapidus, I. R. and R. Schiller: *Biophys. J.* **16**, 779-789 (1976).
 Rivero, M. A., R. T. Tranquillo, H. M. Buettner and D. A. Lauffenburger: *Chem. Engng Sci.* **44**, 2881-2897 (1989).
 Segel, L. A.: In: *Physical Chemical Aspects of Cell Surface Events in Cellular Regulation*, C. DeLisi and R. Blumenthal (Eds), pp. 293-302. New York: Elsevier (1979).