

捕食から逃れる細菌の生存戦略

Bacterial Escaping Behavior from Predators

春田 伸*, 石見 嶺, 福島 俊一, 諸星 聖
SHIN HARUTA, TAKANE ISHIMI, SHUN-ICHI FUKUSHIMA and SHO MOROHOSHI

首都大学東京大学院理学研究科 〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1

* TEL: 042-677-2580 FAX: 042-677-2559

* E-mail: sharuta@tmu.ac.jp

Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University, 1-1 Minami-Osawa, Hachioji, Tokyo 192-0397

キーワード: 捕食-被食, 忌避行動, 細胞運動

Key words: prey-predator, repelling action, cellular motility

(原稿受付 2018年4月13日 / 原稿受理 2018年4月18日)

1. はじめに

細菌はさまざまな捕食圧にさらされている。ここでいう「捕食」とは、細菌細胞を生育のためのエネルギー源、栄養源としているものを指す。広義にはマクロファージによる食作用も含む。多細胞生物では、ホヤ、イガイなどの二枚貝、ミジンコが捕食者として挙げられる。その採餌行動については、組織学的、細胞生物学的に未解明の部分も多い。鞭毛虫、繊毛虫、アメーバ類などの原生生物による細菌捕食も古くから知られ^{1,15)}、近年では、細菌叢の変遷への原生生物の寄与が海洋を初めとしてさまざまな環境で研究されるようになっており^{1,12,30)}、摂食特異性にも注目が集まっている。

細菌にも、他種細菌を捕食するものが知られる。細菌による捕食作用は三つに大別される; (1) 細胞表面に付着し内容物を吸い取る, (2) 細胞内に侵入する, (3) 細菌細胞を溶かす^{8,14)}。捕食細菌は、*Proteobacteria* 門,

Chloroflexi 門, *Bacteroidetes* 門, *Actinobacteria* 門など多様な系統群に見られ、捕食アーキアも見つかっている¹⁴⁾。なかには、*Gamma-proteobacteria* の *Bdellovibrio* 属細菌や *Bacteriovorax* 属細菌のように、他の有機物を利用せず、もっぱら捕食をその栄養獲得形態とするものもある¹⁴⁾。捕食細菌は、水圏、土壌など広く環境中に分布しており、細菌だけでなく、カビ、酵母、微細藻類を捕食し、微生物叢の形成・維持に関わっていると予想される。

原生生物の捕食作用や捕食細菌の研究は50年以上の歴史を持つのに対して、捕食者からの細菌の逃避作用に関する研究はまだ少なく、解明されていないことも多い。高解像度顕微鏡観察装置および分子生物学的解析が導入されるようになり、細菌の捕食回避行動およびその機構についての研究が進展してきている。本稿では、捕食微生物からの細菌の回避戦略(図1)を紹介するとともに、捕食回避における細胞運動の役割について議論する。

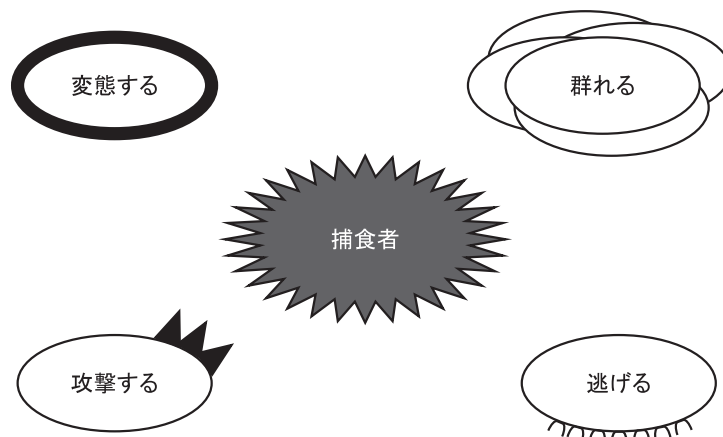


図1. 細菌の多様な捕食回避応答

2. 変態する

原生生物のエサは大きすぎても小さすぎても捕食効率が悪くなり、原生生物と被食細菌の細胞長比は、10:1になる傾向があると言われている¹⁾。実際に、湖水などの環境試料を原生生物存在下で培養すると、小さい細胞、長い細胞、らせん状の細胞、糸状性の細胞、などの特徴的な形態をもつ細菌が生き残り、細胞形態による選択性がみられる¹³⁾。いくつかの細菌では、原生生物からの捕食回避応答として形態変化が確認されている。*Flectobacillus* 属細菌では、原生生物との共培養によって細胞が糸状体に変化し、生存性が上昇することが観察されている⁵⁾。*Helicobacter pylori* などでは、細胞表面の変化によって捕食者からの認識を逃れる例もある⁴⁾。

上述したように細菌を捕食する生物は、原生生物だけではなく、捕食細菌も知られる。細胞内侵入型の捕食細菌として古くから知られる *Bdellovibrio* 属細菌からの捕食回避において、孢子形成や S レイヤーの形成が効果的であることが示されている^{9,17)}。*Myxococcus xanthus* は、抗菌物質を生産することに加え、各種高分子化合物分解酵素（プロテアーゼ、リゾチーム、アミダーゼ、エンドペプチダーゼ）を生産し、他種細胞を溶菌する溶菌酵素生産型の捕食細菌であるが、被食者である *Sinorhizobium* 属細菌では特殊な細胞外多糖を合成し、抵抗することが見つかっている²⁹⁾。*Bacillus* 属細菌では、孢子形成することで溶菌酵素に耐えられるようになるばかりではなく、*Myxococcus* 属細菌を感知して、細胞外マトリックスに覆われた孢子集塊を形成することで捕食に耐え抜くものも見つかってきている^{24,25)}。

3. 群れる

バイオフィームのように細胞凝集体の形成は、捕食者から細菌集団を守る防御形態のひとつである。原生生物の存在環境で、細胞表面構造が変化し凝集体を形成する様子が、*Vibrio cholerae* などいくつかの細菌で観察されている^{11,21)}。

これらの例のような細胞外多糖などによる細胞付着ではなく、細胞運動による細胞集塊の形成も知られる。筆者らが研究対象としてきた糸状性滑走運動細菌 *Chloroflexus aggregans* はその代表例の一つである⁶⁾。*C. aggregans* は好熱性の酸素非発生型光合成細菌で、陸上温泉環境に広く分布している。本菌は、長さ数マイクロメートルの桿状細胞が数百個、一列に連なった糸状体を形成しており、固体表面上を這うような運動を行う（滑走運動）。その滑走運動では、糸状体の長軸方向に沿って直線的に運動し、時折その運動方向を反転させる。溶液中で本菌は、糸状体が絡まった細胞集塊を形成するが、この集塊形成は糸状体同士の接着ではなく可逆的であり、糸状体同士が互いの細胞表面を滑走運動することで起こると考えられている^{7,18)}。筆者らは、*C. aggregans* が、他菌の生産するプロテアーゼを感知して集塊形成速度を加速し、急速に集合体を形成することを見出している²³⁾。これは溶液系において、プロテアーゼによる溶菌作用から細胞集団を守る防御応答だと考えられる。その応答機構には、プロテアーゼを感知して生成する糸状体

の細胞間シグナル伝達物質が関与していると予想している。

4. 攻撃する

捕食回避応答のより積極的な戦略として、捕食者に対する毒素生産による攻撃がある^{10,31)}。*Pseudomonas* 属細菌には、アメーバ類に対してペプチド性の毒素で抵抗するものが知られる¹⁰⁾。また、violacein は、細菌がつくる紫色の色素としてよく知られるが、鞭毛虫に対して毒性を示し、*Chromobacterium violaceum* などの violacein 産生菌が捕食を逃れる報告がある²⁰⁾。*Vibrio cholerae* では、コレラ毒素以外に抗鞭毛虫毒素を生産することが見つかっている²¹⁾。

抗生物質生産や有機酸生産は、捕食細菌からの回避に有効であると考えられる。*Bacillus* 属細菌では、タンパク質合成阻害剤である bacillaene を生産し、捕食細菌 *Myxococcus xanthus* の活動を弱める例が報告されている²⁴⁾。

5. 逃げる

捕食者である鞭毛虫の存在によって、*Pseudomonas* 属細菌などの遊泳運動の速度が上昇するという報告がある²²⁾。運動速度の上昇によって、被食率が低下し、生存率が高まるようである。ただし、方向性をもった逃避運動ではない。一方、忌避物質からの負の走化性は古くから多様な細菌で知られている¹⁶⁾。酢酸などの有機酸、トルエンなどの芳香族化合物、重金属、高濃度の酸素など、細菌にとって有害な物質からの逃れる術として解釈されているが、捕食者からの逃避運動として示された例はない。

筆者らは、温泉流水中に発達する微生物群集（厚さ 0.5–1 cm になる微生物集塊、バイオマットとも呼称される）にみられる微生物間相互作用および物質循環機能に注目してきた。弱アルカリ性硫化水素泉である長野県中房温泉の 55–65°C 域には、上述の光合成滑走運動細菌 *Chloroflexus aggregans* を主要一次生産者とする微生物群集が発達している^{19,28)}。*C. aggregans* は固体平板培地上で生育すると、滑走運動によって樹上に広がったコロニーをつくる。そこで、*C. aggregans* が優占化する微生物群集から細菌を分離培養し、それら細菌が *C. aggregans* の運動方向に与える影響を平板培地を用いて評価した。図 2 に示したように二菌を平行に画線塗布して培養したところ、ある細菌との組み合わせで、その細菌の塗布部とは反対方向に *C. aggregans* のコロニーが広がる様子が観察されている (Ishimi et al., unpublished)。これは *C. aggregans* の他菌からの逃避運動によるものと考えられる。

中房温泉の温泉微生物群集からは、高頻度にプロテアーゼ生産菌が分離される。筆者らは、それらプロテアーゼ生産菌が *C. aggregans* を溶菌・捕食することを見出した (Morohoshi et al., in preparation)。プロテアーゼ生産菌からの逃避運動を測定するため、ガラスキューベットを用いる系を考案した。図 3a に示したように、ガラスキューベットの底から、寒天溶液、*C. aggregans* の細胞を懸濁した寒天溶液、プロテアーゼを含む寒天溶液、を

順に注いでは固定させるのを繰り返し、三層構造を作る。培養後の写真(図3a右)をみると、*C. aggregans*の細胞がプロテアーゼを含まない下層に移動している様子が見て取れる。さらに、*C. aggregans*の細胞密度分布を定量的に測定するため、上下に可動式のキュベットホルダーを制作して、市販の分光光度計に設置した(図3b)。培養過程での吸収度変化をキュベットを上下させ、1 mm 間隔で測定すると、培養開始1時間で、プロテアーゼを含む上層と接する付近で*C. aggregans*細胞の色素組成の変化が検出され、細胞の一部が溶菌していると考えられた。しかし全体的には、*C. aggregans*細胞の下方への顕著な分布移動が確認された(Morohoshi et al., in preparation)。これは、溶菌酵素からの方向性を持った細菌集団の移動を示した初めての例である。

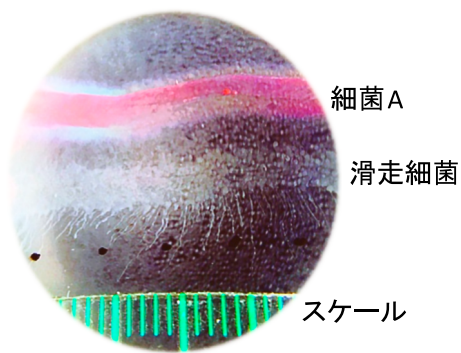


図2. 固体平板培地上での滑走細菌の逃避運動の様子
固体平板培地(ゲランガム0.5%)に滑走細菌(*Chloroflexus aggregans*)と細菌Aを平行に画線塗布し、12時間培養後、実体顕微鏡を用いて観察。滑走細菌が塗布部から、細菌Aのいない写真の下方方向に広がっている。スケールは1 mm 間隔の定規。

*C. aggregans*の細胞運動をステージインキュベーター付きの顕微鏡で観察したところ、プロテアーゼは糸状体の運動速度には影響せず、方向反転頻度が高くなることが明らかになった(Morohoshi et al., in preparation)。このことは、*C. aggregans*がプロテアーゼに遭遇した時に、運動方向を反転することを示している。「3. 群れる」で紹介した、溶液中で*C. aggregans*の集塊形成速度がプロテアーゼによって促進されることも関連していると考えられる。*C. aggregans*の多くの細胞が連なる糸状体の統制ある運動は、最近、数理シミュレーションと表面運動の観察実験から明らかになってきたが²³⁾、その運動方向を決定している機構は未解明である。

6. 微生物群集における捕食・被食相互作用と生存戦略としての細胞運動

細菌の多様な捕食回避応答を紹介してきたが、原生生物をはじめとする捕食者を感知する機構は充分には解明されていない。捕食者感知機構として、捕食者によって栄養塩濃度や組成が変化し、生育環境が変化したことが引き金となる、または、捕食者の何らかの二次代謝物が細胞間シグナル伝達物質として働く、などが考えられている¹³⁾。また、複数の捕食回避戦略を複合的に利用するものもあり、応答反応は複雑である。例えば、*Bacillus*属細菌は、捕食者を感知して毒素を生産することで捕食者の活動を抑えて、捕食されるまでの時間を稼ぎ、その間に形態変化を誘導し、胞子を形成して耐性化するようである²⁵⁾。

捕食者である*Myxococcus*属細菌は、被食者に対して正の走性を示し捕食行動をとることが報告されており²⁶⁾、捕食者の被食者応答も広く存在するのではないだろうか。また動植物の生態系で知られているように、細菌界

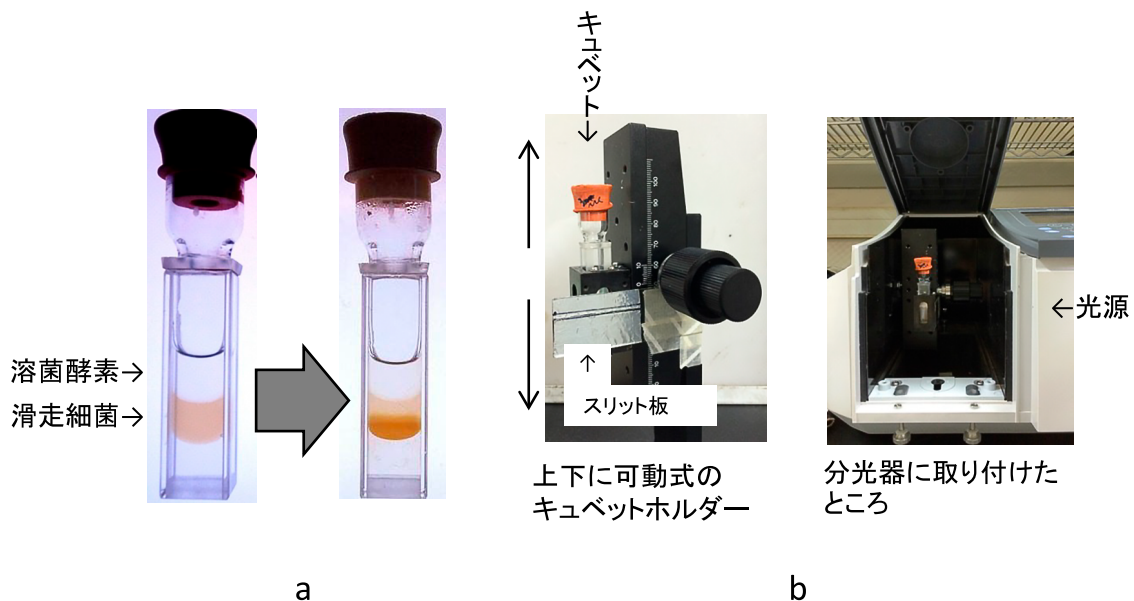


図3. 分光光度計を使ったキュベット内での逃避運動の観察

a, (左) 寒天培地を三層に重層したキュベット。(右) 30時間培養後のキュベット。中層の細菌(オレンジ色)が、上層の溶菌酵素とは反対側(下層)に移動している。
b, キュベットの位置を上下に調整できるキュベットホルダー。光路には1 mm 幅のスリットを設けている。キュベット内の細胞密度分布を定量的に測定できる。

でも、第三者の存在によって捕食-被食相互作用が影響を受けることが観察されており、微生物群集において複雑な生物間相互作用を生み出している。例えば、*Bdellovibrio* 属細菌に対して捕食耐性のある細菌が「おとり」として働き、被食者を保護する例がある⁹⁾。また、他菌によって細胞外マトリックスの生産を誘導してもらって捕食抵抗性を上げる細菌間相互作用³²⁾や、他菌に取り囲んでもらって難を逃れる細菌間相互作用もある²⁷⁾。逆に、被食細菌が他菌の孢子形成を阻害して、「いけにえ」として差し出し、捕食圧を抑える例もみつかっている³³⁾。

細胞運動は、捕食者の感知に対する迅速な応答として、捕食者から逃れる有効な戦略に思える。ただし、物質の拡散速度が速い分散・溶液状態では逃避に成功するとは限らない。バイオフィームやバイオマット、土壌、動物腸内のような環境では、効果的であると考えられ、これらの環境では、足場が多く、遊泳運動よりも、滑走運動が有利に働くだろう。滑走運動は細菌界の多様な系統に見つかっており、捕食者のいない安全な環境に移動する手段として、広く利用されているのではないだろうか。

細菌の生存戦略として、あるストレスにさらされると、別のストレスにも抵抗性を上昇させる cross-protection が古くから見つかっている³⁴⁻³⁶⁾。捕食者を感知する機構は不明な点も多いが、捕食圧にさらされることは、さまざまなストレス応答を引き起こしていると同時に、飢餓や紫外線ストレスによって捕食者に対する抵抗性が上昇することもあると予想される。

謝 辞

本研究の一部は、JSPS 科研費 JP25117518 の助成を受けたものです。

文 献

- 1) 福田秀樹. 2015. 微生物の捕食者, pp. 149-167. 濱崎恒二, 木暮一啓編, 水圏微生物学の基礎. 恒星社厚生閣.
- 2) 福島俊一, 春田 伸. 2018. 糸状性細菌の滑走運動. 生物工学. 96(5): 240-243.
- 3) Fukushima, S., S. Morohoshi, S. Hanada, K. Matsuura, and S. Haruta. 2016. Gliding motility driven by individual cell-surface movements in a multicellular filamentous bacterium *Chloroflexus aggregans*. FEMS Microbiol. Lett. 363: fnw056.
- 4) Galkin, V.E., X. Yu, J. Bielnicki, J. Heuser, C.P. Ewing, P. Guerry, and E.H. Egelman. 2008. Divergence of quaternary structures among bacterial flagellar filaments. Science 320: 382-385.
- 5) Hahn, M.W., E.R.B. Moore, and M.G. Höfle. 1999. Bacterial filament formation, a defense mechanism against flagellate grazing, is growth rate controlled in bacteria of different phyla. Appl. Environ. Microbiol. 65: 25-35.
- 6) Hanada, S., A. Hiraishi, K. Shimada, and K. Matsuura. 1995. *Chloroflexus aggregans* sp. nov., a filamentous phototrophic bacterium which forms dense cell aggregates by active gliding movement. Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 676-681.
- 7) Hanada, S., K. Shimada, and K. Matsuura. 2002. Active and energy-dependent rapid formation of cell aggregates in the thermophilic photosynthetic bacterium *Chloroflexus aggregans*. FEMS Microbiol. Lett. 208: 275-279.
- 8) 春田 伸. 2014. 細菌を食べる細菌, p. 71. 日本微生物生態学会編, 環境と微生物の事典. 朝倉書店.
- 9) Hobely, L., J.R. King, and R.E. Sockett. 2006. *Bdellovibrio* predation in the presence of decoys: Three-way bacterial interactions revealed by mathematical and experimental analyses. Appl. Environ. Microbiol. 72: 6757-6765.
- 10) Jousset, A. 2012. Ecological and evolutive implications of bacterial defences against predators. Environ. Microbiol. 14: 1830-1843.
- 11) Jürgens, K., H. Arndt, and H. Zimmermann. 1997. Impact of metazoan and protozoan grazers on bacterial biomass distribution in microcosm experiments. Aquat. Microb. Ecol. 12: 131-138.
- 12) Jürgens, K. and H. Güde. 1994. The potential importance of grazing-resistant bacteria in planktonic systems. Mar. Ecol. Prog. Ser. 112: 169-188.
- 13) Jürgens, K. and C. Matz. 2002. Predation as a shaping force for the phenotypic and genotypic composition of planktonic bacteria. Antonie van Leeuwenhoek. 81: 413-434.
- 14) Jurkevitch, E. (ed.). 2007. Predatory prokaryotes: Biology, ecology and evolution. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- 15) 仮想博物館: <http://al-museum.com/>
- 16) 加藤純一. 2014. 微生物の集積・逃避運動, pp. 76-77. 日本微生物生態学会編, 環境と微生物の事典. 朝倉書店.
- 17) Koval, S.F. and S.H. Hynes. 1991. Effect of paracrystalline protein surface layers on predation by *Bdellovibrio bacteriovorus*. J. Bacteriol. 173: 2244-2249.
- 18) 光合成細菌クロコフレックス アグリガンスの細胞凝集: <https://www.youtube.com/watch?v=S4YPXu2Xzdc>
- 19) Kubo, K., K. Knittel, R. Amann, M. Fukui, and K. Matsuura. 2011. Sulfur-metabolizing bacterial populations in microbial mats of the Nakabusa hot spring, Japan. Syst. Appl. Microbiol. 34: 293-302.
- 20) Matz, C., P. Deines, J. Boenigk, H. Arndt, L. Eberl, S. Kjelleberg, and K. Jürgens. 2004. Impact of violacein-producing bacteria on survival and feeding of bacterivorous nano-fragellates. Appl. Environ. Microbiol. 70: 1593-1599.
- 21) Matz, C., D. McDougald, A.M. Moreno, P.Y. Yung, F.H. Yildiz, and S. Kjelleberg. 2005. Biofilm formation and phenotypic variation enhance predation-driven persistence of *Vibrio cholerae*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 102: 16819-16824.
- 22) Matz, C. and K. Jürgens. 2005. High motility reduces grazing mortality of planktonic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 71: 921-929.
- 23) Morohoshi, S., K. Matsuura, and S. Haruta. 2015. Secreted protease mediates interspecies interaction and promotes cell aggregation of the photosynthetic bacterium *Chloroflexus aggregans*. FEMS Microbiol. Lett. 362: 1-5.
- 24) Müller, S., S.N. Strack, B. Christopher Hoefler, P.D. Straight, D.B. Kearns, and J.R. Kirby. 2014. Bacillaene and sporulation protect *Bacillus subtilis* from predation by *Myxococcus xanthus*. Appl. Environ. Microbiol. 80: 5603-5610.
- 25) Müller, S., S.N. Strack, S.E. Ryan, D.B. Kearns, and J.R. Kirby. 2015. Predation by *Myxococcus xanthus* induces *Bacillus subtilis* to form spore-filled megastructures. Appl. Environ. Microbiol. 81: 203-210.
- 26) Müller, S., S.N. Strack, S.E. Ryan, M. Shawgo, A. Walling, S. Harris, C. Chambers, J. Boddicker, and J.R. Kirby. 2016. Identification of functions affecting predator-prey interactions between *Myxococcus xanthus* and *Bacillus subtilis*. J. Bacteriol. 198: 3335-3344.
- 27) Narisawa, N., S. Haruta, H. Arai, M. Ishii, and Y. Igarashi. 2008. Coexistence of antibiotic-producing and antibiotic-sensitive bacteria in biofilms is mediated by resistant bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 74: 3887-3894.
- 28) Otaki, H., C.R. Everroad, K. Matsuura, and S. Haruta. 2012. Production and consumption of hydrogen in hot spring microbial mats dominated by a filamentous anoxygenic photosynthetic bacterium. Microb. Environ. 27: 293-299.
- 29) Perez, J., J.I. Jimenez-Zurdo, F. Martinez-Abarca, V. Millan, I.J. Shimkets, and J. Munoz-Dorado. 2014. Rhizobial galactoglucan

- determines the predation pattern of *Myxococcus xanthus* and protects *Sinorhizobium meliloti* from predation. Environ. Microbiol. 16: 2341–2350.
- 30) Pernthaler, J. 2005. Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. Nat. Rev. Microbiol. 3: 537–546.
- 31) Roberts, E.C., C. Legrand, M. Steinke, and E.C. Wootton. 2011. Mechanisms underlying chemical interactions between predatory planktonic protists and their prey. J. Plankton Res. 23: 833–841.
- 32) Shank, E.A., V. Klepac-Ceraj, L. Collado-Torres, G.E. Powers, R. Losick, and R. Kolter. 2011. Interspecies interactions that result in *Bacillus subtilis* forming biofilms are mediated mainly by members of its own genus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 108: E1236–E1243.
- 33) Straight, P.D., J.M. Willey, and R. Kolter. 2006. Interactions between *Streptomyces coelicolor* and *Bacillus subtilis*: role of surfactants in raising aerial structures. J. Bacteriol. 188: 4918–4925.
- 34) Storz, G. and R. Hengge. 2010. Bacterial stress responses. ASM Press, Washington, DC, USA.
- 35) Thorne, S.H. and H.D. Williams. 1997. Adaptation to nutrient starvation in *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli: analysis of survival stress resistance, and changes in macromolecular synthesis during entry to and exit from stationary phase. J. Bacteriol. 179: 6894–6901.
- 36) Wasai, S., N. Kanno, K. Matsuura, and S. Haruta. 2018. Increase of salt tolerance in carbon-starved cells of *Rhodospseudomonas palustris* depending on photosynthesis or respiration. Microorganisms 6: 4.