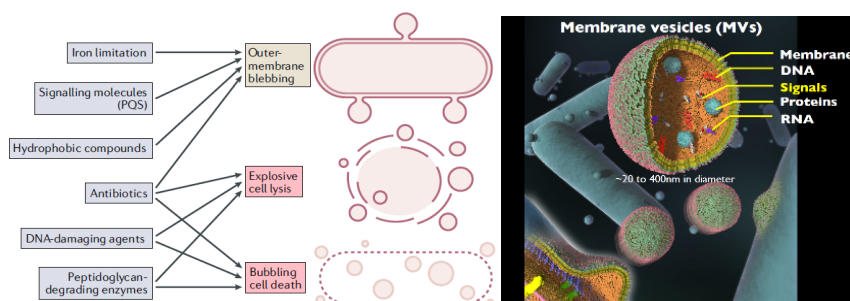


野村 暢彦研究グループ

微生物は、地球上のほぼすべての環境で見られます。ほとんどの微生物は“一匹オオカミ”ではなく、環境中でバイオフィルムを形成して多種生物と共生しています。その豊富さと遍在により、感染症の抑制、腸内細菌叢の調整、微生物による水処理、食品生産、化粧品、医薬品を含む多くの分野で、微生物の行動を「制御」(防止、抑制、調整)する技術が求められています。しかし、栄養、pH、酸素供給の改変など工学的アプローチのみに基づく微生物の制御は、急速に限界に達しつつあります。したがって、多種生物から成るバイオフィルムの新しい理論に基づく革新的な制御技術は非常に重要となります。バイオフィルム内では、細胞間相互作用と非常に大きな不均一性があり、それらの原因を解明することにより、独自の環境中における微生物叢の制御方法をより深く理解することができます。

Microorganisms are found in nearly every environment on earth. Contrary to the “lone wolf” idea, most microorganisms exist as multi-species biofilms in the environment. Due to their abundance and ubiquity, the ability to “control” (prevent, suppress, modulate) the behavior of microorganisms is important in many areas including suppression of infectious diseases, modulating intestinal flora, microbe-mediated water treatment, food production and handling, cosmetics, and pharmaceuticals. Biofilm control based solely on an engineering approach, such as changing the nutrient, pH, and/or oxygen supply, however, is rapidly reaching its limit. Therefore, innovative control technology based on a new theory for multi-species biofilms is of vital importance. Within biofilms, there is both intercellular interaction as well as tremendous heterogeneity. Clarification of the mechanisms of these interactions and the sources of this heterogeneity will lead to a greater understanding of microbial communities and how they may be controlled, within their own unique environments.



2023 年度 野村研究室集合写真

グループメンバー

生命環境系教授

野村 暢彦

生命環境学群生物資

源学類

准教授

Utada Andrew. S.

豊福 雅典

八幡 穰

沖 梨咲子

真鍋 悠

杉本 翠

清水 嶺

藤田 真愛

勇 陽太朗

湊 春香

芦名 琉

伊神 光恵

小清水 愛衣

杉山 夏月

樋口 佳那

助教

尾花 望

徳納 吉秀

永久保 利紀

博士研究員

山本 達也

生命地球科学研究群

博士後期課程

高橋 晃平

川本 大輝

八幡 志央美

Li Xiaojie

上原 礼佳

野村 佳祐

ZHAO SHUFENG

安東 剛

ZHANG HONGTAO

生命環境学群生物学

類

片岡 柁人

鈴木 悠世

Tao Wenzhi

小出 夏生

工学システム学類

坂元 伶音

短期研究者

サニ チョウカクト

生命地球科学研究群

博士前期課程

Thomas Savage

伊藤 碧美

武田 理久

原田 潤

福田 良亮

頓宮 弘将

鶴木 海緒

松下 未来

柏俣 青葉

館内 稟太郎

小松 詩温

城田 晃輝

星野 真生

財津 昂平

木暮 優汰

Zeng Chen 曾 晨

技術職員

尾花 悠

研究概要

【「樹状」の海洋細菌バイオフィルムが石油を素早く分解する】

海洋への原油流出事故は、海洋環境に大きな影響を与えるとともに、莫大な浄化費用が必要となる。ある種の海洋細菌は炭化水素を栄養源として消費することが可能であり、このような油分解活性を有する細菌は流出した原油に対するバイオレメディエーションへの利用が期待されている。細菌が油を分解する際には油と水の界面にバイオフィルムを形成すると考えられているが、油界面におけるバイオフィルム形成と油分解との関連についての詳細は不明であった。本研究では、バイオフィルムのライブセルイメージングによって海洋細菌が効率よく油を分解するメカニズムの一端を明らかにした。

Alcaniborax borkumensis は炭化水素分解活性を有する海洋細菌であり、原油によって汚染された海水中で一過的に優勢になる。我々は、マイクロ流体デバイスを利用して、本細菌と微小な油滴との相互作用を高い時空間分解能で可視化することに成功した。このマイクロ流体デバイスは、直径 10~200 μm 以下の油滴をトラップし、油滴上の油分解性細菌の挙動を 1 週間以上観察し続けることが可能である(図 1A)。観察の結果より、*A. borkumensis* が油滴上に 2 つの異なるタイプのバイオフィルムを形成することが明らかとなり、この 2 つのタイプを、球状バイオフィルム(spherical biofilm: SB)と樹状バイオフィルム(dendritic biofilm: DB)と名付けた(図 1B, C)。マイクロ流体デバイス中に保持した油滴は人工海水中で球状の構造を保ち、界面に SB が形成されても形は変化しなかった(図 1B)。しかし、界面に DB が形成されると界面の構造が崩れ、油滴は樹状様構造に変化した。これによって界面の面積が指数関数的に拡大し、より多くの細菌が油に接触できるようになった(図 1C, D)。SB は油滴体積の 90%以上を消費するのに約 72 時間を必要とする一方で、DB は同等の消費を約 20 時間で達成する(図 1E)。2 種のバイオフィルム中の一細胞当たりの油消費速度はほぼ同じであるが、DB は油界面の面積を広げることによって、SB よりもはるかに効率よく油滴を分解することを可能にしていることが明らかとなった。

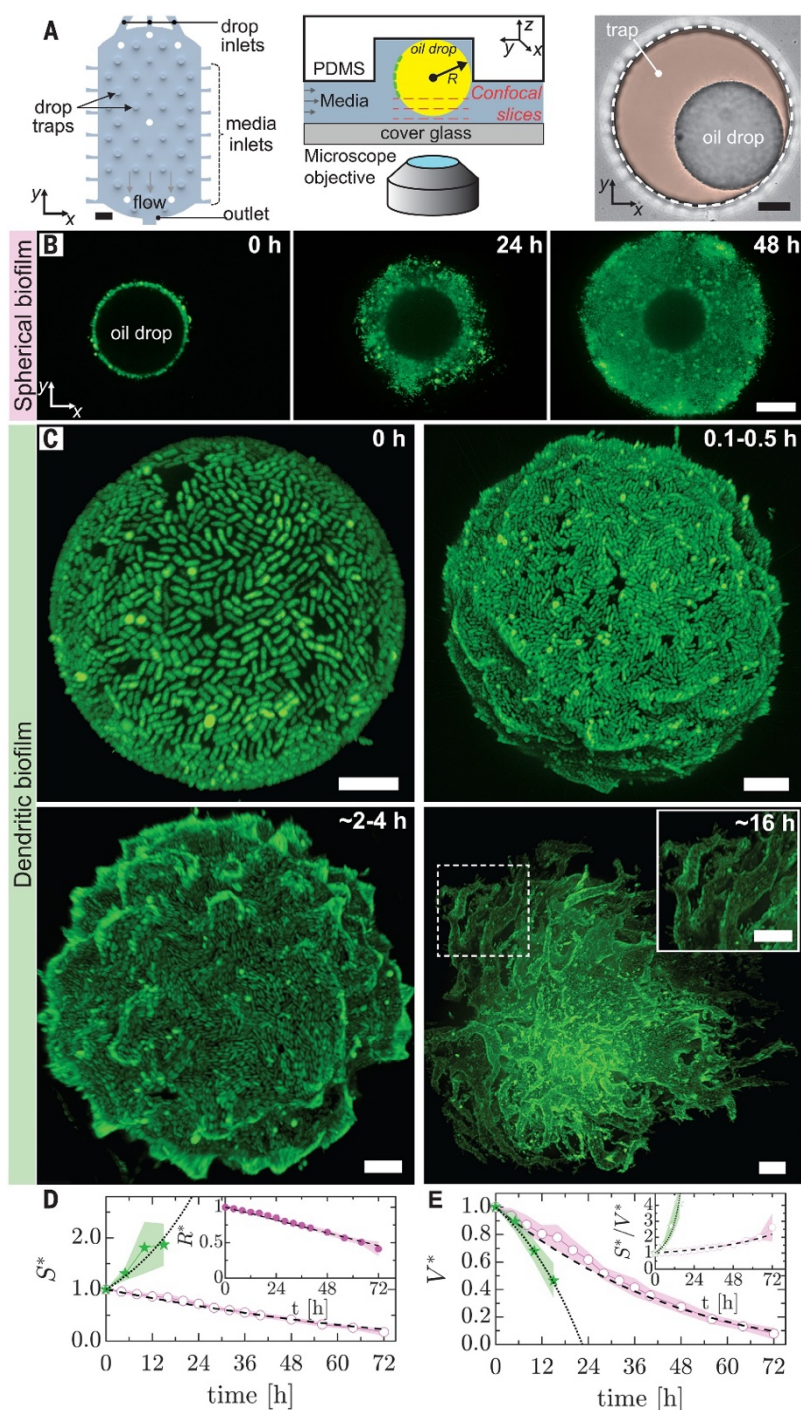
それぞれのバイオフィルムの細胞表面の特性を調べたところ、DB 細胞の表面は疎水性が高く、SB 細胞よりも油に強く付着することが明らかとなった。さらに、*A. borkumensis* はバイオサーファクタントを分泌して表面張力を低下させ、油との界面の変形を可能としていると考えられた。また、1 細胞レベルの顕微鏡観察結果より、細菌の細胞は油滴表面を隙間なく覆っており、その配置は液晶のネマチック相(分子は一方向に配向するが、重心はランダム)と類似していることを発見した。また、油滴の形状変化は、トポロジカル欠陥と呼ばれる細胞の向きが揃っていない箇所から始まることが示された。細胞が成長し、密集することによってバイオフィルム内の細胞が互いに押し合い、中心が隆起し、樹状突起様構造の形成が開始される。その結果、油界面の隆起が起こり、細胞に覆われた油のチューブが形成される。

本研究の結果から、細菌はバイオフィルムを形成し、互いに協力することによって、油滴の表面形状を変化させ、効率よく油を消費していることが示された。本知見は、細菌を用いたバイオレメディエーションの効率化に貢献すると考えられる。

図 1. 油滴上における球状バイオフィーム(SB)と樹状バイオフィーム(DB)の画像

(A) (左) 本研究で用いたマイクロ流体デバイスの概略図。Bar = 200 μm 。(右) 油滴トラップ内の油滴の明視野画像。Bar = 20 μm 。(B, C) 油滴上のバイオフィームの共焦点レーザー顕微鏡像。緑色

は細胞を示す。Bar = 10 μm 。(B) SB では油滴(中央の空洞)は球状を保ちながら、縮小している。(C) DB は時間経過とともに樹状突起のような形状に変化し、チューブ状に伸びている。(D, E) SB (丸)とDB (星)における正規化した油滴の表面積(S^*)と体積(V^*)の経時変化を示す。これらは画像解析により算出した。(D)挿入図は油滴の半径(R^*)を示す。文献(1)より転載。



論文: Prasad M, Obana N, Lin SZ, Sakai K, Blanch-Mercader C, Prost J, Nomura N, Rupprecht JF, Fattaccioli J, Utada AS. (2023) *Alcanivorax borkumensis* Biofilms Enhance Oil Degradation By Interfacial Tubulation. Science, 381(6659), 748–753: doi: 10.1126/science.adf3345.

You Tube: <https://www.youtube.com/watch?v=UwPVeiMYi-M>

2023 年度研究業績

原著論文(全て査読あり)

1. Prasad M, Obana N, Lin SZ, Sakai K, Blanch-Mercader C, Prost J, Nomura N, Rupprecht JF, Fattaccioli J, Utada AS. (2023) *Alcanivorax borkumensis* Biofilms Enhance Oil Degradation By Interfacial Tubulation. *Science*, 381(6659), 748-753: doi: 10.1126/science.adf3345.
2. Obana N, Takada H, Crowe-McAuliffe C, Iwamoto M, Egorov AA, Wu KJY, Chiba S, Murina V, Paternoga H, Tresco BIC, Nomura N, Myers AG, Atkinson GC, Wilson DN, Hauryliuk V.(2023) Genome-encoded ABCF factors implicated in intrinsic antibiotic resistance in Gram-positive bacteria: VmlR2, Ard1 and CplR, *Nucleic Acids Res*, 51(9),4536–4554:doi:10.1093/nar/gkad193.
3. Kunoh T, Yamamoto T, Ono E, Sugimoto S, Takabe K, Takeda M, Utada AS, Nomura N. (2023) Identification of LthB, a gene encoding a putative glycosyltransferase family 8 protein required for *Leptothrix* sheath formation, *Environ. Microbiol*, 89(4):doi:10.1128/aem.01919-22.
4. Nagakubo T, Asamizu S, Yamamoto T, Kato M, Nishiyama T, Toyofuku M, Nomura N, Onaka H.(2023) Intracellular Phage tail-like nanostructures affect susceptibility of *Streptomyces lividans* to osmotic stress, *mSphere*, e0011423:doi:10.1128/msphere.00114-23.
5. Kawashima K, Nagakubo T, Nomura N, Toyofuku M.(2023) Iron delivery through membrane vesicles in *Corynebacterium glutamicum*, *Microbiol Spectr*, e0011423:doi.org/10.1128/spectrum.01222-23.

総説・書籍

1. 監修 野村暢彦、尾花望、豊福雅豊、久能樹
執筆 野村暢彦、尾花望、豊福雅豊、山本達也、Andrew S. Utada 他
『バイオフィルム 革新的制御技術』エヌ・ティー・エス出版
(2023 年 6 月 30 日発刊)

学会発表等

1. 酸素終端型細胞外電子伝達による バイオフィルム内代謝の空間的な制御機構の解析

- 頓宮弘将; 豊福雅典; 野村暢彦; 徳納 吉秀
環境バイオテクノロジー学会 2023 年度大会/2023-06--2023-06
2. 膜小胞に内包された膜酵素の電気化学的解析
Savege Thomas; 野村暢彦; 豊福雅典; 徳納 吉秀
環境バイオテクノロジー学会 2023 年度大会/2023-06--2023-06
3. バイオフィルム内電子伝達による空間的な代謝分布の変化
頓宮 弘将; 徳納 吉秀; 豊福 雅典; 野村 暢彦
第 55 回ビブリオシンポジウム/2023-10
4. Diverging risk preference of marine bacterial foragers
八幡 穰; 原 克樹; 張 譯云; 平山 智弘; 岩井 由香; 福田 良亮; 高部 響介;
尾花 ...
農芸化学会関東支部例会 トピックス賞受賞者講演/2023-11-10
5. *Shewanella oneidensis* MR-1 由来のメンブレンベシクルによる *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 の呼吸促進
武田 理久; 徳納 吉秀; 豊福 雅典; 野村 暢彦
微生物生態学会第 36 回浜松大会/2023-11
6. Electron conduction conserves energy in bacterial assemblages
徳納 吉秀; 頓宮 弘将; 豊福 雅典; 野村 暢彦
第 61 回日本生物物理学会年会/2023-11
7. 発電菌が作る『小包』も発電する
Savege Thomas; 徳納 吉秀; 豊福 雅典; 野村 暢彦
発電菌の研究:未来に向けて/2024-01
8. 細菌由来膜小胞の電極触媒能の検証
Savege Thomas; 徳納 吉秀; 豊福 雅典; 野村 暢彦
第 13 回日本生物物理学会関東支部会/2024-03
9. 細胞外電子伝達を用いた乳酸菌の代謝の制御
財津 昂平; 徳納 吉秀; 豊福 雅典; 野村 暢彦
第 13 回日本生物物理学会関東支部会/2024-03
10. 乱流が作り出す複雑な攪拌が微生物生産に与える影響の実測
八幡 穰; Kyosuke Abe; Katsuki Hara; Nozomu Obana; Nobuhi...
日本農芸化学会 2024 年度大会/2024-03-26

11. Electron transfer spatially controls metabolic dynamics in biofilms
Tongu Hiromasa; Tokunou Yoshihide; Toyofuku Masanori; ...
13rd Asian Symposium on Microbial Ecology/2023-11
12. Electrochemical observation on membrane vesicles of *Shewanella oneidensis* MR-1
Tokunou Yoshihide; Thomas Savege; Toyofuku Masanori; N...
13rd Asian Symposium on Microbial Ecology/2023-11
13. Energy conservation mechanisms in multicellular assemblages of *Shewanella oneidensis*
Tokunou Yoshihide; Tongu Hiromasa; Toyofuku Masanori; ...
16th IEEE International Conference on Nano/Molecular Medicine & Engineering (IEEE-NANOMED 2023)/2023-12
14. Energy conservation strategies of *Shewanella oneidensis* biofilms
Tokunou Yoshihide; Tongu Hiromasa; Toyofuku Masanori; ...
The 20th Young Scientist Seminar YSS2023/2023-11
15. Visualization of bacterial communication network
八幡 穰; Yuka Iwai; Chikaho Sano; Kyosuke Takabe; Masano...
FEMS/2023-07-12
16. Diverging risk preference of marine bacterial foragers
八幡 穰; Katsuki Hara; Yiyun Zhang; Yuka Iwai; Azumi Ku...
FEMS2023/2023-07-12
17. Filamentous fungi release extracellular vesicles at log- and stationary phases
Urayama Shunichi; Saito Mio; Iwahashi Yuka; Itani Aya...
32nd Fungal Genetics Conference/2024-03-12--2024-03-17
18. Microfluidic platform using focused ultrasound passing through hydrophobic meshes towards automatic biological experiment
Koroyasu Yusuke; Gupta Ruchi; Yamamoto Tatsuya; Yoichi...
Acoustics 2023 Sydney/2023-12-04--2023-12-08

受賞

1. 原田潤 ASM Future Leadership Program 2023 年度米国微生物学会

2. 上原礼佳 最優秀発表賞 第10回ファージ研究会
3. 原田潤, 福田良亮, 伊藤碧美 若手優秀発表賞 第37回日本バイオフィルム学会
4. 伊藤碧美 トラベルアワード 第37回日本バイオフィルム学会
5. 勇陽太朗 Best Poster Award The BACELL 2023
6. 野村佳祐, サヴィジトーマス Excellent Poster Award The 36th JSME & The 13th ASME
7. 原田潤 緑膿菌みのるメモリアル賞 第58回緑膿菌感染症研究会学術集会

特許

アウトリーチ活動

学会および社会的活動

野村 暢彦

ACT-X 環境とバイオテクノロジー, 研究総括

環境バイオテクノロジー学会, 理事

日本バイオフィルム学会, 理事長

日本バイオベンチャー推進協会(JBDA), 理事

緑膿菌感染症研究会, 運営委員

マクロライド新作用研究会, 世話人

日本細菌学会, 評議員

日本微生物生態学会, 評議員

公益財団法人発酵研究所, 選考委員

Microbes and Environments, Editor

Applied Environmental Microbiology (ASM), Editorial Board Member

Journal of Bioscience and Bioengineering, Editor

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

野村暢彦

研究種目名：日本学術振興会/科学研究費 基盤研究(S)

研究課題名：細菌シグナル及び細胞外膜小胞によるバイオフィルムへのシグナル伝達の解明

研究期間：2023 年度～2027 年度

研究種目名：JST/革新的 GX 技術創出事業(GteX)

研究課題名：GX を駆動する微生物・植物「相互作用育種」の基盤構築

研究期間：2023 年度～2028 年度

研究種目名：国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構/研究開発と Society 5.0 との橋渡しプログラム(BRIDGE)量子光センシングによる超低侵襲量子生命技術

研究課題名：光量子顕微鏡によるバイオサンプル観察

研究期間：2023 年度～2028 年度