

バクテリアコロニー成長界面のダイナミクス

小澤 達哉 (Tatsuya Ozawa), 齋藤 和亮 (Kazuaki Saito)

小林奈央樹 (Naoki Kobayashi), 松山 東平¹ (Tohey Matsuyama)

松下 貢 (Mitsugu Matsushita)

中央大学 理工学研究科 物理学専攻 (Department of Physics, Chuo University)

¹ 新潟大学 医学部 細菌学教室 (Department of Bacteriology, Niigata University)

1 はじめに

粗い界面の成長という現象は、非平衡開放系における比較的単純かつ身近な現象である。そのため、近年様々なモデル、実験系での研究が盛んに行われてきた¹⁾。現実の系での例としては、紙への水の染み込み界面、燃焼界面、結晶成長界面などが挙げられる。今回はその中で、バクテリアが作るコロニーの成長界面を取り上げる。この系は生物系であるという特徴に加え、界面を構成する要素(菌)の挙動が観測可能であるという利点を持つ。また、純粹にパターン形成として見ても興味深いバクテリアのコロニー形成を考察する上でも、界面形成の機構は重要な示唆を与えると思われる。

2 Dynamic scaling

粗い界面の評価にはスケーリング解析が用いられてきた。1次元からの成長を考え、任意の横幅を L とすると L 内の界面のスタートラインからの高さの平均は $\bar{h} = \frac{1}{L} \sum_i^L h_i$ であり、高さ h の平均自乗偏差 w は

$$w(L, t) = \sqrt{\frac{1}{L} \sum_i^L (h_i - \bar{h})^2} \quad (1)$$

と表せる。このとき成長開始からの時間 t と w 、また L と w の間には次のような関係がある。

$$\begin{cases} w(L, t) \sim t^\beta & (t \ll t^*) \\ w(L, t) \sim L^\alpha & (t \gg t^*) \end{cases} \quad (2)$$

これは成長初期段階では w は横方向の相関を持たず、また十分時間が経った後では、もはや時間には依らないことを表し、直感的にも理解できる。この関係を踏まえ、1985年に Family と Vicsek は次のスケーリング仮説を提案した²⁾。ここで $z = \alpha/\beta$ である。

$$w(L, t) \sim L^\alpha \Psi\left(\frac{t}{L^z}\right), \quad \Psi(x) = \begin{cases} 1 & (x \gg 1) \\ x^\beta & (x \ll 1) \end{cases} \quad (3)$$

これまで粗い界面の解析にはこのスケーリング仮説が用いられてきたが、動的な性質、つまり β の評価は特に実験系においてほとんどされてこなかった。これは実験上の困難によるところが大きい。つまり短い時間間隔で、多数の観測時間 t

に対応する w を精度良く求めることは難しいということである。我々はこの困難を回避するため data collapse を用いた解析を行ってきた。そこで得られた結果は、

1. data collapse から得られる α の値が 1 を超える
2. 何らかの動的なスケーリング則は存在する

というものであり、少なくとも今の実験系を Family-Vicsek のスケーリング仮説では表しきれいていないのではないかと考え、再構成を行った³⁾。

$$\begin{cases} w(L, t) \sim t^\beta & (t \ll t^*) \\ w(L, t) \sim L^\alpha t^b & (t \gg t^*) \end{cases} \quad (4)$$

$$w(L, t) \sim t^p \Lambda\left(\frac{L}{t^z}\right), \quad \Lambda(x) = \begin{cases} 1 & (x \gg 1) \\ x^r & (x \ll 1) \end{cases} \quad (5)$$

これを用いた data collapse と下述の指数間の関係式からスケーリング指数を求め、バクテリアコロニーの界面成長を矛盾なく評価できるかを確認することが、本実験の目的である。

$$\alpha = r, \quad \beta = p, \quad b = p - \frac{1}{z} \quad (6)$$

3 実験系

バクテリアはものの表面に生育する際、単独で行動せずに集落を形成する。そのコロニーの形状は単一ではなく、菌種や環境条件によって様々なパターンを作ることが知られている。本実験で使用した *Bacillus subtilis*(OG-01) も培地となる寒天の栄養濃度と寒天濃度を変化させると、Fig.1 のように多様なコロニーを形成する⁴⁾。この中で、マクロに見たときに粗い界面を持ち、かつ中身がコンパクトである B 領域にここでは注目する。本実験においては培地条件を栄養濃度 20g/l、寒天濃度 15g/l とした。

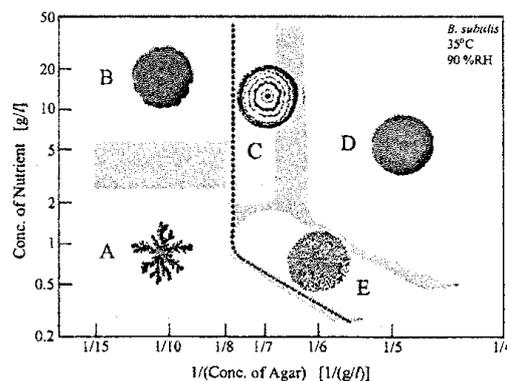


Figure 1: *Bacillus subtilis* のモルフォロジーダイアグラム、縦軸は栄養濃度の対数、横軸は寒天濃度の逆数

この条件では培地となる寒天が比較的固いため、コロニーを形成する個々の菌は自発的には動けない。また通常的环境下では *Bacillus subtilis* は長さ数 μm の棒状の菌であるが、B 領域の界面では菌は長く連なったスパゲッティ状になっ

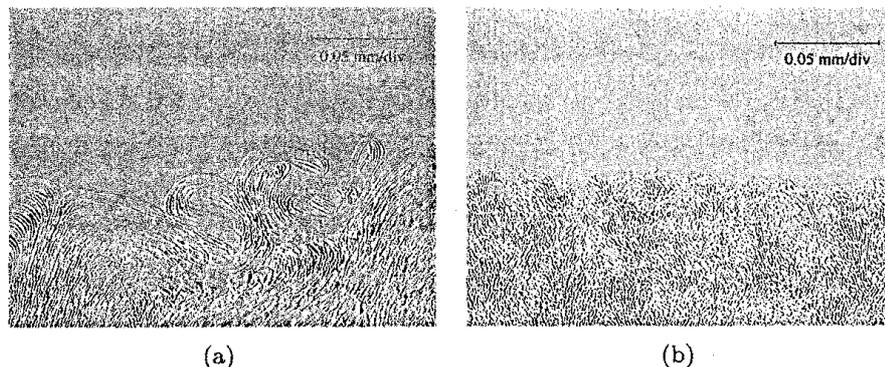


Figure 2: 界面付近の菌の様子、(a) 寒天濃度 15g/l、栄養濃度 20g/l、(b) 寒天濃度 5g/l、栄養濃度 20g/l

ている。より柔らかい培地での様子と比較すると、違いがよくわかる (Fig.2)。このためコロニー内部の菌の増殖により、この長い菌が押し出されるようにして界面は進んで行く。また曲率の効果を除くため、菌を点状ではなく線上に接種し、そこからの時間毎の成長を追う。画像の取り込みには Digital HF microscope VH-8000(KEYENCE) を用いた。

4 結果

コロニー全体と界面の様子は Fig.3、Fig.4 のようになっている。界面付近でコロニーはほぼ monolayer であるが、内部は菌が重なり合った多層構造になっている。また菌を寒天上に接種してすぐコロニーが広がるのではなく、ある程度まで菌が増殖した後に界面は進行を始める。Time lag は約7時間で、ここでは界面の進行開始時刻を $t=0$ としている。

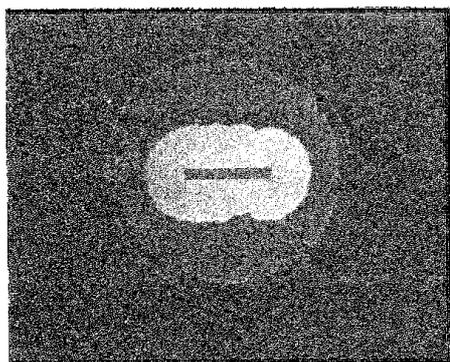


Figure 3: コロニー全体の様子、接種 48 時間後、シャーレ内径 88mm

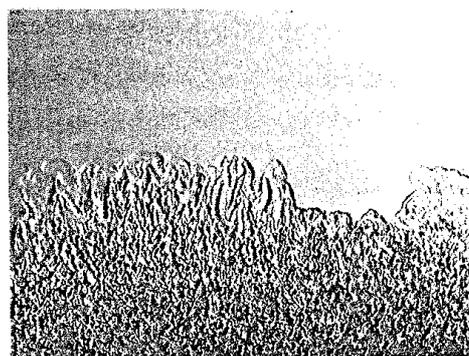


Figure 4: 界面の様子、 $t=30$ hour、横幅 2.8mm

同じ条件の実験を 15 回繰り返して、画像を数値化して解析した結果が Fig.5 である。ある範囲において w は L でスケールされることがわかる。この結果より、界面の粗さを定義づける指数 $\alpha \simeq 0.81$ が求まる。界面を形成しているスパゲッティ状の菌体の長さは数 $10\mu\text{m}$ であり、この長さが界面の粗さに大きく寄与していると思われるが、べきをとっている範囲は菌間の相互作用のスケールと対応している。

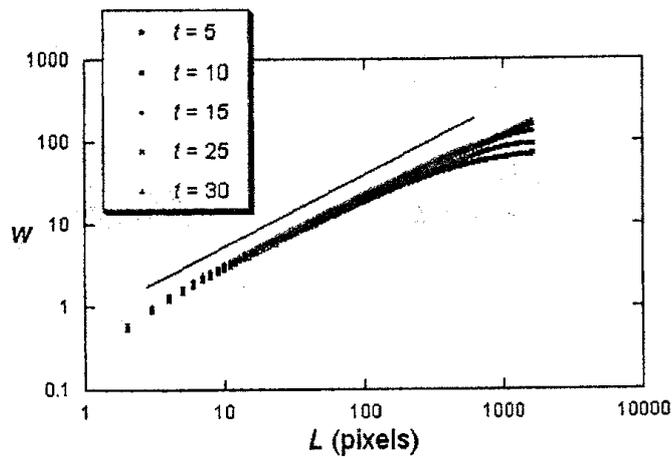


Figure 5: L に対する高さの平均自乗偏差の時間発展、 $\text{guide}=0.81$ 、 $1\text{pixel}\simeq 1.7\mu\text{m}$

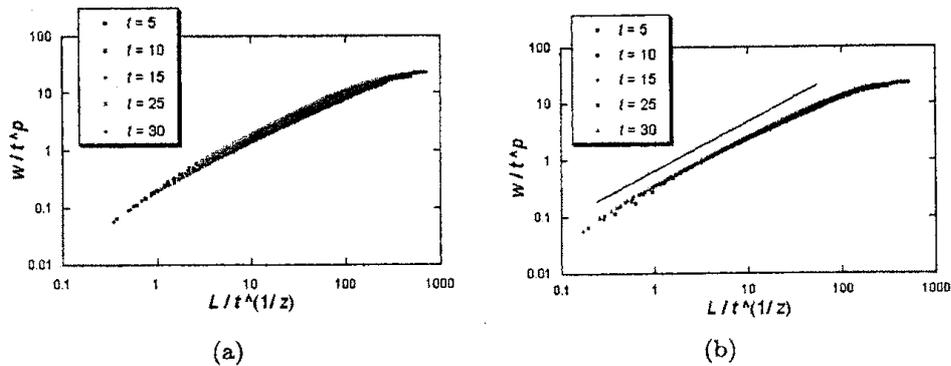


Figure 6: data collapse の結果、(a) $p=0.69$, $1/z=0.52$ 、(b) $p=0.69$, $1/z=0.72$ 、 $\text{guide}=0.81$

このデータセットを使用し、拡張したスケーリング則を用いた data collapse を行う。その結果 $p=0.69$, $1/z=0.72$ の時に単一の曲線にデータセットが乗ることが確かめられた (Fig.6)。指数を適当に選んだ場合と比べると、fitting の良さがわかる。指数間の関係式 (6) を用いて、

$$\alpha \simeq 0.81, \beta \simeq 0.69, b \simeq 0.11$$

という値が得られた。この α は $L-w$ プロットから得られる値と一致し、拡張したスケーリング則を採用することで、バクテリアコロニーの界面成長を矛盾なく評価できることが確認できた。

5 考察

元の関係式 (2) は初期の段階においては L に依存せず、十分時間が経過した後は t に依存しないとしていたが、これは物理的には正しいと考えられる。今回の実験系において強調すべきことは、有限サイズの中で有限時間内の観測をしているという点であり、極限的な振る舞いは見ていない可能性が高い。これは他のほとんどの実験系についても当てはまることであり、それらの系では今回用いたスケーリング則が有効であると思われる。また本来の β は、ごく初期の段階での動的性

質を特徴付けるもので、本実験で求めた β がそれと一致するとは限らない。ただし、ある時間範囲内の観測により、その範囲内での動的な指数を評価できると考えれば、拡張したスケーリングを用いての解析は有用であると思われる。また今回求めた指数の値は、並行して行っている別の実験系での値とかなり近いものだった⁵⁾。現象としては全く別のものであり、形成過程も大きく異なることを考えると、これは興味深い結果である。物理的観点からの現象の性質と、指数の値をどう対応して考えるかということと併せ、今後の課題である。

Reference

- 1) A.-L. Barabasi and H.E. Stanley, *Fractal Concepts in Surface Growth* (Cambridge University Press, New York, 1995)
- 2) F. Family and T. Vicsek: *J. Phys. A* **18**(1985)75
- 3) N. Kobayashi, K. Saito, T. Ozawa, Y. Yamazaki, K. Honda and M. Matsushita: *J. Phys. Soc. Jpn.* **74**(2005)2712
- 4) M. Ohgiwari, M. Matsushita and T. Matsuyama: *J. Phys. Soc. Jpn.* **61**(1992)816
- 5) 齋藤和亮, 小林奈央樹, 小澤達哉, 山崎義弘, 松下貢: 数理解析研究所講究録, 「紙の染み込み界面のダイナミクス」(2006)