

## たんぼぼ計画での陸棲藍藻の宇宙環境耐性実験

木村 駿太

“たんぼぼ計画”では、生物が宇宙で移動する可能性の検証をテーマの一つとしている。たんぼぼ計画の提案から約10年を経て、その結果が報告されつつある。陸棲藍藻 *Nostoc* sp. HK-01は、たんぼぼ計画の生物材料の一種に選ばれ、国際宇宙ステーション（ISS）の船外曝露実験に用いられた。筆者は、本藍藻の実験生物としての採択時に現在の研究室に在籍し、実際の宇宙実験準備と試料の作製に携わることができた。また、打ち上げ時と地球帰還、解析といった各過程に深く関わる機会に恵まれた。これらの経緯から本稿では、宇宙実験に向けた準備と、藍藻を1年間宇宙環境で曝露した結果の一部を紹介する。

## 陸棲藍藻

藍藻あるいはシアノバクテリアは、地球上で初めて酸素発生の光合成を行い、初期地球環境に多大な影響を与えたと考えられている原核生物である<sup>1)</sup>。水棲の藍藻がよく知られているが、陸に棲む藍藻も存在する。陸棲藍藻は、数十年から百年ほどの間乾燥に曝されても、加水することで蘇生する機能を備えている<sup>2)</sup>。陸棲藍藻は太古の地球において、光合成能と窒素固定能により有機物を陸地の表面に蓄積し、微生物および高等植物の繁栄に寄与したと考えられる<sup>3)</sup>。陸棲藍藻を宇宙で利用しようという試みも行われている。富田-横谷らを中心に、特に *Nostoc* sp. HK-01を研究対象として、火星レゴリス上での生育の可能性や、食資源としての有用性の検証と本株の宇宙環境耐性の検証が行われてきている<sup>4-6)</sup>。これらは、当藍藻を将来の人類の宇宙居住時に求められる物質循環の導入に利用しようとする研究である。

*Nostoc* sp. HK-01の地上研究

陸棲藍藻 *Nostoc* sp. HK-01は、兵庫県の土壌から採取された *Nostoc commune*の藻塊から、乾燥耐性を指標に Katohらにより単離された株である<sup>7)</sup>。 *Nostoc* sp. HK-01は、条件により代謝活性のきわめて低い休眠細胞 (akinetes) となる生活環をもつ (図1)。休眠細胞は発芽、伸長して光合成を行う数珠状の栄養細胞 (vegetative cell) となる。栄養細胞はさらに運動性の連鎖体 (hormogonia)、窒素固定を行う異型細胞 (heterocyst) および休眠細胞に分化する<sup>7,8)</sup>。 *Nostoc* sp. HK-01は、乾

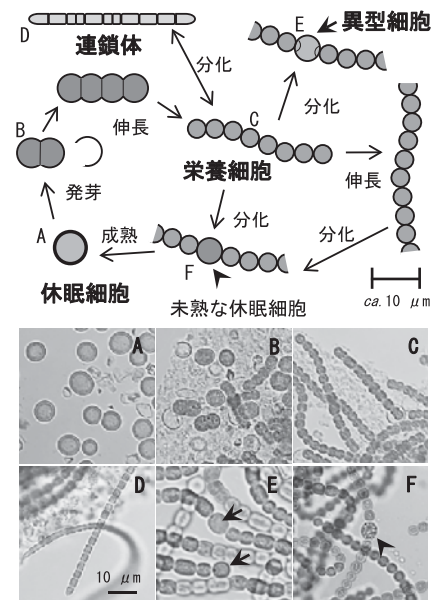


図1. *Nostoc* sp. HK-01の生活環と、対応する各細胞形態の顕微鏡写真（文献8を改変）。

燥状態において、100°C、10時間の乾熱、10<sup>-5</sup> Paの真空、重粒子線、ガンマ線、UVC (254 nm)、VUV (172 nm) および、-80-80°Cの温度サイクルに曝した後も休眠細胞から蘇生することが示されてきた<sup>4,5,9)</sup> (投稿準備中)。これらの耐性が評価され、たんぼぼ計画の実験生物の候補となった。

たんぼぼ計画における *Nostoc* sp. HK-01曝露実験

**たんぼぼ計画とは** たんぼぼ計画はISS-JEM (国際宇宙ステーション・日本実験棟) 上での実験計画で、微生物と生命材料となり得る有機物の天体間の移動の可能性の検討と微小隕石の検出および解析実験として提案された<sup>10)</sup>。宇宙環境で想定されるそれぞれの環境因子を地上で個々に模倣して検証することは可能だが、宇宙環境と同様の複合環境に曝すことのできる実験設備は地球上にはない。宇宙環境が未知の影響を生物に与える可能性も想定される。たんぼぼ計画では、これらをISS-JEM曝露部で検証する。

**宇宙実験に向けて** 本藍藻が、“たんぼぼ計画”の生物材料として採択され、宇宙実験が開始されるまでに検討した事柄について、筆者が携わった点を紹介する。

(i) **耐性実験**：宇宙環境（ISS軌道上）で想定される環境に1年間本藍藻が曝された後の生存率を、前述の真空、放射線および温度耐性の試験結果を総合することから推定した。もっとも生存に影響を与えた環境因子は紫外線であったが、地上実験から1年間曝露した後でも本藍藻が僅かな生存率を残すと推定されたことから、遮光した試料に加え、遮光しないで曝露する試料を用意した。

(ii) **固定方法の決定**：たんぼぼ計画では「きぼう」日本実験棟曝露部で、簡易曝露実験装置ExHAMを用いた曝露実験を計画した<sup>11)</sup>。たんぼぼ計画において曝露実験を行う各チームには、 $2 \times 2.5 \times 2$  cmの曝露ユニットが必要数割り振られた。試料はφ18 mmの試料基盤に固定する必要があった。筆者らは、たんぼぼ計画の関係者らとの検討の後、円形に切り出したアルミ箔上に藍藻細胞を添加し、乾燥させて固着させる方法を用いた。アルミ箔ごと曝露ユニットに乾燥藍藻を固定した後、乾燥した細胞が宇宙への打ち上げ時や地球への帰還時に想定される振動に曝されても損傷しないことや、細胞が外部に飛散しないことを実験で確認した(図2)。2枚重ねた試料基盤の間に空間を作ることで、アルミ箔上に固定した遮光試料の場を確保した。曝露ユニットは遮光した試料も、温度変化、真空および各種放射線に曝される構造となっている。

(iii) **帰還試料での分析可能性の検証**：本実験で宇宙曝露できる試料の量は限られる。宇宙曝露後の分析項目として、蘇生能の検証、光合成能の検証、DNA・タンパク質・色素などの変化の分析を計画した。これらの分析を行うため、眼科用メスを用いてアルミ箔上の菌体をアルミ箔ごと1/16あるいは1/8量になるように放射状に裁断することとした。予定している実験が十分に遂行可能かつ保存用試料の確保も可能であることを確認した。

(iv) **輸送方法・スケジュールに関する要求**：宇宙で行う実験では、実際の宇宙曝露期間の他、曝露までの期間や曝露後に試料が地上に戻るまでの期間、与圧室内で保管される。この間に試料が劣化しないことを確認した。

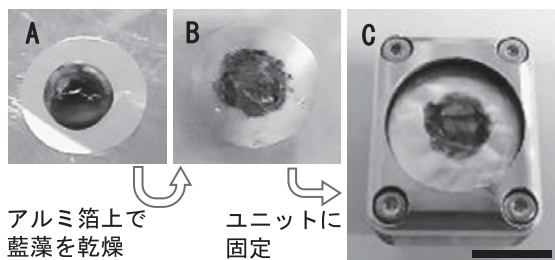


図2. 藍藻細胞の曝露ユニット。A：添加直後の湿潤藻体。B：乾燥後の藻体。C：曝露ユニット固定後の藻体。バーは1 cmを示す。

藍藻細胞は長期間の乾燥状態で生存率は低下しなかったが、わずかな湿潤で代謝が再開して生存率が低下することがわかったため、輸送過程に多量の乾燥剤の添付を行うこととした。輸送される際の梱包条件を想定した温度と湿度の再現実験の結果から、梱包時に必要な乾燥剤の添付量を決定した。

(v) **宇宙実験試料の作製**：以上の点を検討した後、試料の打ち上げ予定に合わせて宇宙実験試料を作製した。非常に神経を磨り減らす工程だった。宇宙実験用の試料は、宇宙曝露、ISS与圧室内対照および地上対照の3条件をそれぞれ1年曝露用、2年曝露用、3年曝露用の3通り用意した。予備1個を含めて合計10個の試料ユニットを作製した。それぞれのユニットに対して、非遮光部に1枚、遮光部に2枚の計3枚の菌体付きアルミ箔を固定した。

**地上帰還後試料の分析** 宇宙実験のための各試料が筆者らの手から離れて約3か月後の2015年4月15日、試料はスペースX社のロケット、ドラゴンSpx-6により打ち上げられた。打ち上げ数日後に、たんぼぼ計画チーム内で速報メールが飛び交い、無事にISSに到着したことを皆で喜んだことを記憶している。試料はExHAM1へ取り付けられた後、2015年5月26日に宇宙船外曝露が開始された。1組の試料のそれぞれは1、2、3年の曝露後、ISSに回収され、地上へ持ち帰られた。NASAとJAXAを経て、曝露終了から約4か月の後に、やっと筆者らの元へ引き渡された。

1年目の試料の解析方法と実験結果の一部を記載する。試料ユニットをクリーンベンチ内で分解し、藻体付きアルミ箔を回収した。前述のように放射状に裁断して得た試料に加水した後、細胞の蘇生を、酵素活性を指標にして調べた。その結果、遮光して宇宙曝露した細胞から、酵素活性が示された。*Nostoc* sp. HK-01の休眠細胞は、ISS船外の真空、ISS軌道上の温度変化や各種放射線に約384日間曝されても蘇生することが明らかとなった。加水後に各細胞形態に分化する生活環も確認した。この結果は、宇宙曝露後も正常な増殖能・分化能が保持されていることを示している。陸棲藍藻*Nostoc* sp. HK-01は、光が遮られていた場合、少なくとも1年間宇宙空間で生存し、その後蘇生・増殖することが確かめられた(投稿準備中)。将来の人類の宇宙居住時に本藍藻を利用するための運搬を考えると、温度管理した与圧部を用意しなくとも、光さえ遮れば容易に目的地まで運搬可能であると考えられる。

**過去の宇宙曝露実験** ここで、たんぼぼ計画で得られる成果を、過去の宇宙曝露実験と比較したい。宇宙曝露実験はこれまでに微生物を中心に複数回行われている

が<sup>12,13</sup>、ここでは藍藻に限り簡単に述べる。Mancinelliらは、170 nm以下の紫外線を遮蔽して15日間宇宙曝露した藍藻細胞の生存を報告している<sup>14</sup>。生物種は未同定種ではあるが、*Synechococcus*を用いている。Olsson-Francisらおよびde la Torreらは、200 nm以下の紫外線を遮蔽して10日間宇宙曝露した後の*Anabaena cylindrica*の蘇生を報告している<sup>15,16</sup>。Olsson-Francisらは、290 nm以下の紫外線を遮蔽して10日間宇宙曝露した岩石試料から、岩上着生の藍藻OU\_20の蘇生を報告している<sup>17</sup>。Cockellらは、110 nm以下の紫外線を遮蔽して548日間宇宙曝露した岩石試料から*Chroococcidiopsis*の蘇生を報告している<sup>18</sup>。200 nm以下の紫外線を遮蔽し、かつ0.1%に減光した場合には、*A. cylindrica*の蘇生も報告されている<sup>18</sup>。なお、岩石による遮蔽効果の詳細は示されていない<sup>17,18</sup>。2014–2016年には欧州のグループを中心にEXPOSE-R2実験が行われており、その結果は近く公表されると推測される。

たんぼぼ計画で行われた3年間の*Nostoc* sp. HK-01の宇宙曝露実験は、光合成生物の宇宙曝露として最長である。1, 2, 3年と複数点の曝露を行うことで、より長期間曝露した際の生存予測が可能となる。年単位での宇宙環境耐性が明らかになることは、生命の惑星間移動や生物の宇宙利用において非常に重要である。宇宙利用が期待される*Nostoc*属の生存は、本実験で初めて見いだされた新規の情報である。たんぼぼ計画藍藻班は現在、更なる解析と、これらの結果の公表準備を進めている。

### おわりに

たんぼぼ計画藍藻班は、富田－横谷香織（筑波大）、木村駿太（筑波大/学振）、加藤浩（三重大）、安部智子（東京電機大）、園池公毅（早稲田大）、大森正之（中央大）を中心に進められた。現在も、加藤によるDNAの解析、安部によるタンパク質の解析、園池による光合成能の解析など詳細な解析が進められている。10年もの間に、筑波大学分子生態生理学研究室（富田－横谷研究室）の多くの学生も準備や解析に深く関わった。筆者が実際の宇宙実験試料の取り扱いに関わったことは幸運だった。筆者はたんぼぼ計画に関わる過程で、本藍藻の耐性機能のしくみに興味を抱き、乾燥および乾熱に対する耐性が休眠細胞のみ備えていることや、休眠細胞に特異的に蓄積されている低分子化合物を調べ、タンパク質保護活性や蓄積量との関係から、主な機能分子の候補を示してきた<sup>8,9,19</sup>。今後、たんぼぼ計画で得られる成果も踏まえ、本藍藻の耐性機能のより詳細な解明につなげたい。

宇宙実験の実施にあたり、筆者が参加する前から非常

に長い期間の準備があった。しかし、宇宙実験用微量試料の準備は一回限りである。地上実験結果から1年の曝露試料の全細胞の死滅は考えにくかったが、何らかの状態の悪い試料を打ち上げてはいないかなどの心配が続いた。初めて宇宙帰還試料の分析をし、生存が確認できたときの嬉しさと、安堵の気持ちは忘れられない。たんぼぼ計画の全試料はすでに地球に帰還した。たんぼぼ計画を遂行する過程で得られた設備や知識を活かして、次期宇宙実験の準備が進められている。新規の宇宙実験に関しても、提案から審査を経て実験開始までの期間は短縮されつつある<sup>20</sup>。本稿が宇宙実験を志す研究者の助けとなれば幸いである。

### 謝 辞

重粒子線曝露は、東京薬科大学/横堀伸一先生および放射線医学総合研究所/吉田聡先生のご協力を得た。真空紫外線曝露は福岡工業大学/三田肇先生のご協力を得た。温度サイクル試験は宇宙科学研究所/橋本博文先生のご協力を得た。試料基盤の作成は筑波大学工作部門/堀三計先生および吉住昭治先生のご協力を得た。宇宙実験の準備は、たんぼぼWGの皆様にご協力・アドバイス頂きながら行った。ここに深く感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) 園池公毅：生物工学，**96**, 626 (2018).
- 2) Cameron, R. E.: *Trans. Am. Microsc. Soc.*, **81**, 379 (1962).
- 3) 大森正之：光合成と呼吸30講，p. 31, 朝倉書店 (2009).
- 4) Arai, M. *et al.*: *Biol. Sci. Space*, **22**, 8 (2008).
- 5) Tomita-Yokotani, K. *et al.*: *Int. Astrobiol. Workshop 2013*, p. 1033 (2013).
- 6) 木村靖子ら：Eco-Engineering, **28**, 43 (2016).
- 7) Katoh, H. *et al.*: *Microbes Environ.*, **18**, 82 (2003).
- 8) Kimura, S. *et al.*: *Biol. Sci. Space*, **31**, 1 (2017).
- 9) Kimura, S. *et al.*: *Biol. Sci. Space*, **29**, 12 (2015).
- 10) 山岸明彦ら：日本航空宇宙学会誌，**66**, 6 (2018)
- 11) 宇宙航空研究開発機構 簡易曝露実験装置 (ExHAM) : <http://iss.jaxa.jp/kiboexp/equipment/ef/exham/> (2018/03/12).
- 12) Cottin, H. *et al.*: *Space Sci. Rev.*, **209**, 83 (2017).
- 13) Rabbow, E. *et al.*: *Front. Microbiol.*, **8**, 1533 (2017).
- 14) Mancinelli, R. L. *et al.*: *Adv. Space Res.*, **22**, 327 (1998).
- 15) Olsson-Francis, K. *et al.*: *Orig. Life Evol. Biospheres*, **39**, 565 (2009).
- 16) de La Torre, R. *et al.*: *Icarus*, **208**, 735 (2010).
- 17) Olsson-Francis, K. *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**, 2115 (2010).
- 18) Cockell, C. S. *et al.*: *ISME J.*, **5**, 1671 (2011).
- 19) Kimura, S. *et al.*: *Am. J. Plant Sci.*, **8**, 2695 (2017).
- 20) 矢野幸子：生物工学，**96**, 644 (2018).