

## モデル生物線虫を利用した宇宙実験とバイオドシメータ

1) 東北大 生命科学、2) 北里大 獣医、3) 原子力機構、4) JAXA、5) JSF、  
東谷篤志<sup>1</sup>、森ちひろ<sup>1</sup>、和田成一<sup>2</sup>、坂下哲哉<sup>3</sup>、小林泰彦<sup>3</sup>、杉本朋子<sup>4</sup>、山崎丘<sup>4</sup>、福井啓二<sup>5</sup>、  
東端晃<sup>4</sup>、石岡憲昭<sup>4</sup>

### Space flight experiment using *C. elegans* and composition of biosimulator.

Atsushi Higashitani<sup>1</sup>, Chihiro Mori<sup>1</sup>, Seiichi Wada<sup>2</sup>, Tetsuya Sakashita<sup>3</sup>, Yasuhiko Kobayashi<sup>3</sup>,  
Tomoko Sugimoto<sup>4</sup>, Takashi Yamazaki<sup>4</sup>, Keiji Fuku<sup>5</sup>, Akira Higashibata<sup>4</sup>, and Noriaki Ishioka<sup>4</sup>

1) Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Sendai, 980-8577. 2) Kitasato Univ.

3) JAEA, 4) JAXA, 5) JSF

E-Mail: ahigashi@ige.tohoku.ac.jp

Abstract: We have planned CERISE (*C. elegans* RNAi space experiment) on STS-129 spaceflight (2009 Nov. 12+) using a model organism *Caenorhabditis elegans*. In this experiment, our purposes are (1) evaluation of whether RNA interference (RNAi) occurs under space environment as the same manner as on the earth, and (2) to investigate the effects of microgravity on entire gene and protein expressions, protein phosphorylation, and muscle alterations in *C. elegans* beyond generations. We have also performed to construct biosimulator to monitor the cosmic radiation on ISS and spacecrafts. Here we introduce the progress of CERISE experiment and the performance of the biosimulator.

Key words: RNAi, protein phosphorylation, biosimulator, cosmic radiation

私たちはこれまでに、モデル生物線虫 *C. elegans* を用いた ICE-First (線虫国際共同実験 2004 April) に参画し、宇宙環境が線虫に及ぼす様々な影響について解析を行ってきた。その結果、生殖腺内にみられるチェックポイント制御下のアポトーシスならびに卵母細胞の成熟過程に伴う生理的なアポトーシスのいずれも微小重力下では正常に進行することを示してきた<sup>1)</sup>。一方で、線虫の体壁筋ならびに咽頭筋のミオシン重鎖の遺伝子発現が宇宙フライトサンプルでは低下することを見出した。さらに、それらの発現制御に関わる転写因子 HLH-1 (*CeMyoD*)ならびに PEB-、CEH-22、PHA-4 のいずれの発現もフライトサンプルでは低下していることを確認してきた<sup>2)</sup>。一方で、この実験では、完全な合成培地を用いた培養条件であったこと、ならびに解析集団はミックスステージであったこと、軌道上での 1G コントロールは機械的な故障により実験データを得ることができなかったことなどが次の改善課題としてあげられた。

そこで、今回、計画する宇宙実験では、線虫を大腸菌を餌として同調的に培養すること、ならびに第二以降の世代として宇宙で完全に受精から初期発生、成虫に至るまで生育した世代と、幼虫から成虫までの期間を宇宙で生育した第一世代とを比較すること、また、軌道上での 1G コントロール区を設けることができることなど方法論的にも先の

ICE-First と比較して大きなゲインがなされている。使用する予定の実験システムについて Fig 1 に示した。

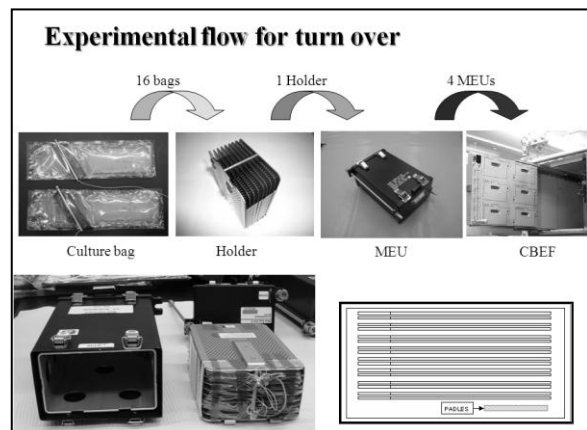


Fig. 1 次期宇宙実験 CERISE において使用する予定の実験機材。

さらに、RNA interference 法は 1998 年に線虫を用いて Fire と Mello により dsRNA が遺伝子発現のサイレンシングに関わることを証明し<sup>3)</sup>、後に、この dsRNA によるサイレンシング機構は、種を越えて、植物からヒトに至る高等生物に広く保存された普遍的な機構であること、そして逆遺伝学的手法として今や多くの研究に使用されていること、また、近年は、ある種のヒト疾病の治療に関して治験段階

であるなど実用化への進展も著しく進展し、両氏は2006年の医学生理学分野のノーベル賞を獲得している。本研究では、これら応用性が高く見込まれたRNAiが微小重力をはじめとし、地上と大きく異なる環境下でも生物は正常に機能させるのかを検証するものであり、将来、宇宙環境で様々なRNAi法を利用した実験計画がなされる際の基礎的データを与えるものと考えている。また、同方法を用いて特定の遺伝子発現を抑制した個体を作成し、宇宙環境ストレスに対する感受性の差異をモニタすることも計画している。

また、次期宇宙実験CERISEにおいては宇宙環境におけるRNAiの効果を検証するとともに、宇宙環境で見出されている微小重力下での筋萎縮について、筋繊維を構成するミオシン重鎖の転写制御とアクチン繊維の重合への影響についても調べることを研究目的にしている。また、これらを含め様々な生体内反応に深く関わるリン酸化反応について、2次元電気泳動を中心としたプロテオーム解析を実施する予定である。

また、私たちは、今回、第9回宇宙利用に関する公募地上研究 宇宙利用先駆研究の研究支援を受けて、線虫をはじめ精製したDNAを用いた宇宙放射線の生物影響をモニタするためのバイオドシメータの開発を行った。国際宇宙ステーションでの滞在、新たな惑星探査、宇宙旅行など人類が長期に渡って宇宙に滞在する機会が益々増えることが想定されているため、重イオン線をはじめとする様々な宇宙放射線や紫外線に被曝するリスクが増えることも懸念されている。また、これら宇宙放射線の影響が微小重力という特殊な宇宙環境下で複合的に作用した際、人体に及ぼす影響に関しては、依然、未知な部分が多く、まさに宇宙放射線領域の研究課題の1つといえる。

そこで、本公募研究において開発する宇宙環境バイオドシメータは、生物試料を用いて、その宇宙放射線による被曝状況を宇宙飛行士が船内で簡便にモニタできるようにするものである。従って、微小重力など複合的な環境要素も含めて、ほぼリアルタイムに生物のDNA、細胞・組織に対する宇宙放射線影響やストレス状況を調べるシステムの構築を究極の目標として研究を進めてきた。

はじめに、モデル生物の1つである線虫Cエレガンスを用いて、各種放射線、磁場、ミトコンドリアストレス、宇宙フライト時などで発現変動する遺伝子群の特定を行った<sup>4),5),6)</sup>。その結果、放射線照射により有意にかつ2倍以上発現が上昇した遺伝子が136(照射3時間後)と302(照射24時間後)、

低下した遺伝子が127(照射3時間後)と734(照射24時間後)、それぞれ変動することを明らかにした<sup>4)</sup>。また、放射線照射により顕著に遺伝子発現が誘導されるF49F1.6遺伝子の発現誘導に、p38 MAP kinaseによるシグナル伝達系が不可欠であることも見出した。

さらに、日本原子力機構TIARAのマイクロビーム照射装置を用いて、線虫の体中央部ならびに尾部に対して放射線照射を行い、低分子heat shock protein遺伝子hsp-16::lacZ融合体等の発現をモニタすることで、放射線照射の生物影響を個体レベルで可視化することを行った。その結果、hsp-16::lacZの系では放射線照射部位に応じた特徴的な遺伝子発現の誘導を確認することができた(Fig 2)。

また、精製DNAをアガロースゲルに包埋した平板プラスミド-アガロースゲルによる方法は、重イオン線1 particleの透過によるDNA損傷部位を酵素反応とFITC標識抗体を用いて可視化できることを実証した。以上、宇宙環境下で飛来する宇宙放射線を効率よくモニタするためのバイオドシメータのコアとなる基本的要素を検証し、それらの有効性について確認することができた。

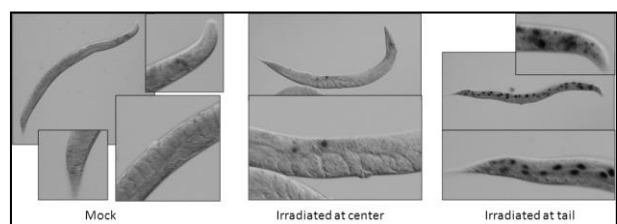


Fig. 2 PC72 hsp-16::lacZ 融合体に 220MeV/u C5+ イオン線 2100 パーティクルを、直径 20 $\mu$ m のマイクロビーム照射装置を用いて体中央部、尾部にそれぞれ照射した際に発現誘導される LacZ 活性

#### (参考文献)

- 1) Higashitani A. et al. *Apoptosis* (2005) **10**, 949-954.
- 2) Higashibata A. et al. *J. Exp. Biol.* (2006) **209**, 3209-3218.
- 3) Fire A. et al. *Nature* (1998) **391**, 806-811.
- 4) Kimura T. et al. *Bioelectromagnetics* (2008) **29**, 605-614.
- 5) Sugimoto T. et al. *Exp. Cell Res.* (2008) **314**, 103-114.
- 6) Selch F. et al. *Adv Space Res.* (2008) **41**, 807-815