

線虫国際共同実験 (ICE-First) の概要および成果について

JAXA 東端晃、岡山大・理 香川弘昭、都老人研 本田修二、東北大・生命科学 東谷篤志、
JAXA 石岡憲昭

Overview of ICE-First

Akira Higashibata¹, Hiroaki Kagawa², Shuji Honda³, Atsushi Higashitani⁴ and Noriaki Ishioka¹

¹Institute of Space and Astronautical Science, Japan Aerospace Exploration Agency, 2-1-1, Sengen, Tsukuba, Ibaraki, 305-8505

²Faculty of Science, Okayama University, Okayama, 700-8530

³Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, 173-0015

⁴ Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Sendai, 980-8577

E-Mail: higashibata.akira@jaxa.jp

Abstract: International *Caenorhabditis elegans* Experiment-1 (ICE-First) was carried out using Russian Soyuz from April 19 to 30, 2004. JAXA participated in this international cooperative experiment, and acquired the flight samples of *C. elegans*. JAXA organized the research team and focuses on the following investigations: 1) the role of signal transduction regarding small G protein, Rho, in a gravity sensing mechanism and neural development, 2) whether meiotic chromosomal dynamics and apoptosis in the germ cells are carried out under microgravity condition, 3) the effects of microgravity on cell migration and muscle development, 4) how microgravity affect the aging process. The post flight analyses of above investigations are in progress. In this manuscript, we would like to introduce the ICE-First mission.

Key words: *C. elegans*, Flight experiment

線虫国際共同実験 (ICE-First: International *C. elegans* Experiment-1) は、フランス国立宇宙研究センター (CNES: Centre National d'Etudes Spatiales) が中心となりオランダ宇宙研究機関 (SRON: Space Research Organization of the Netherlands) の支援の下、モデル生物である線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いた国際的な共同実験である。この共同実験は、ICE-First (International *Caenorhabditis elegans* Experiment-1) と名付けられ、DELTA mission (the Dutch Expedition for Life science Technology and Atmospheric research) の一環として行われた。DELTA missionは、現在建設が進められているISSへの物資輸送および搭乗員交代のために打ち上げられたロシアのソユーズに搭乗したオランダの宇宙飛行士が行った、生物学実験、医学実験、生理学実験、科学技術実験、地球観測実験の総称である。ICE-Firstはその生物学実験に含まれ、NASA、ESA、CENS、CSA、JAXAの各国宇宙機関がそれぞれの国内でテーマを募集し、日本からはJAXA石岡教授を中心とした4テーマが参加した。

これまでに線虫を用いた宇宙実験はすでに数件実施されているが、今回のような国際協力の下で大規模な実験を行うのは初めての試みであった。また、2003年のコロンビア号事故以来、宇宙環境を利用した実験は実施が困難な状況が続いていた中で、

久々の宇宙実験であった。

本共同実験に参加するにあたり、JAXAでは宇宙科学研究本部宇宙環境利用科学研究系の石岡憲昭教授を代表研究者として香川弘昭教授 (岡山大学) 本田修二主任研究員 (東京都老人総合研究所)、東谷篤志教授 (東北大学) に共同研究者としての参加を依頼し、研究グループを編成した。

本ミッションで使用した実験装置の概要について

線虫は通常のラボでは、寒天プレート (通常はNGMプレート) 上に餌となる大腸菌OP50を生育させ、その上で飼育する。ただし、この条件では、線虫の体には重力の数倍にあたる表面張力が加わっている状態であり、プレート上の線虫を微小重力環境に曝しても重力の変化を見ることができない。このことから、NASAが開発した線虫用の液体培地 (CeMM: *C. elegans* Maintenance Medium) を用いた¹。これは線虫が生育するのに必要な栄養素がすべて含まれた完全合成培地である。今回のミッションでは線虫はすべてこのCeMMで培養され、後述する培養バッグあるいは培養カートリッジに詰めて打ち上げられた。実験試料となる線虫は実験のプロトコールにあわせて凍結とホルマリンによる2種類の固定方法が用いられた。従って、培養カートリッ

ジも2種類用意された。

通常、線虫は20℃くらいが至的生育温度であるが、軌道上で生育温度を一定に保つためにインキュベーターが必要となる。今回のミッションではESAが開発したインキュベーターのKUBIK（ロシア語で立方体の意）を使用した。KUBIKは、ISS完成時に運用が始まる大型設備が利用できるようになるまで、現在の条件下で生物実験を行うためにESAによって開発された新型の装置である。一辺が390mmの立方体であり、ISS船内およびソユーズ宇宙船内のいずれでも運転が可能である。温度は、6℃から37℃まで1℃きざみの精度で制御可能で、装置内部は様々なタイプの器具が挿入できるように設計されている。KUBIKには2つのタイプが用意されている。ひとつはKUBIK Topazで、温度の制御ができる微小重力実験区のみを持つタイプであり、今回使用した線虫を入れたカートリッジ（EC-1: the biorack Experiment Container type 1）を35~40個収納可能である。もうひとつはKUBIK Amberで、温度の制御はもちろんであるが、微小重力実験区に加えて遠心器による軌道上1G対象実験区をも備えており、合計で24個のEC-1（微小重力区に16個、遠心器に8個）を収納できる。

試料の準備

今回我々が実験試料として使用した線虫は、野生株（N2）と数種類の変異株である。フライト作業には、石岡教授、東谷教授、本田主任研究員、栗山開発員が現地へ赴き、サンプル調整などの準備を行った。ツールーズでサンプル調整を終えた試料は、ICE-Firstのメンバーによりモスクワを経由してソユーズの射場があるカザフスタンのバイコヌールへ運搬された。運搬は安全性を考慮し、すべてハンドキャリアで行われた。

フライト実験本番

今回のミッションではロシアのソユーズTM4が打ち上げビークルとして使用され、カザフスタンのバイコヌールにある発射場から打ち上げられた。このミッションでは先に述べたようにオランダの搭乗員によるさまざまな生物医学系および地球観測実験が含まれていたが、ISSの搭乗員交代という大きな目的がもう一つあった。

試料の準備は打ち上げ日の5日前にツールーズで行い、その後試料をモスクワに運んだ後、発射場まで空輸した。フライトは以下のとおり順調に進んだ（時刻はGMT）。

2004年4月19日 03:19 ソユーズ打上げ

バイコヌール射場（カザフスタン）

2004年4月21日 05:03 ソユーズがISSヘドッキング

実験試料をソユーズからISSに搭載されたKUBIKに移し、培養開始。

搭載後7日目に化学固定用の試料をホルマリン固定

2004年4月29日 18:52 ソユーズがISSから離脱（アンドック）

2004年4月30日 00:11 ソユーズが地上へ帰還（着陸）

着陸地点で凍結固定用の試料を凍結

生命科学系の実験では実験群に対して比較対照となるコントロール群の設定が重要であり、今回のミッションにおいても微小重力区に設置した実験群のほかにKUBIK Amberに設定された軌道上1Gコントロール群と地上1Gコントロール群を準備したが、残念ながらKUBIK Amberの遠心器が故障し、軌道上1Gコントロールを取ることができなくなってしまった。従って、各実験は地上1Gコントロール群との比較となった。この故障は2005年4月現在KUBIKがまだISS内に設置されており、故障原因を明らかにするのは地上に帰還してからとなる予定である。

フライト試料の解析

軌道上1Gコントロールの取得ができなかったが、微小重力区の試料は着陸後15分以内に凍結固定する試料は凍結し、無事に回収することができた。試料は一度モスクワを経由し、再びツールーズに運び込まれ、各国の研究チームに引き渡された。

現在、まだ解析を進めているところであるが、その一部について紹介したいと思う。

石岡教授を中心としたグループでは、生物における重力感受応答のメカニズムについて、細胞レベルでの影響に注目し解析を進めている。特に今回の実験では、DNAマイクロアレイや2次元電気泳動などの手法を用いて、遺伝子発現変化やタンパク質発現変化を網羅的に調べたところ、筋肉を構成する分子が影響を受けていることが分かった。特に線虫に存在する2種類の筋線維（体壁筋と咽頭筋）におけるミオシン重鎖（MHC: myosin heavy chain）の発現がフライト群では減少し、その転写因子群の発現も減少していた。従って、これまでの宇宙実験で指摘されていた微小重力環境での筋萎縮には、MHCの転写レベルでの発現調節の影響が関与していることが示された。

東谷教授のグループでは、線虫の減数分裂チェックポイントならびに卵母細胞の発生過程におけるアポトーシスが、宇宙空間においてどのような影響を受けるかについて検証した。雌雄同体の線虫では、作られた多数の卵母細胞が成熟卵になる過程で、上記2種類のアポトーシスによって選択を受ける。特に前者は相同染色体間での遺伝子組換えが損なわれた際のDNA損傷に依存したもので、宇宙放射線などにより、ヒト細胞がDNA損傷を受けた際のアポトーシスの実行性に関する1つのモデル系としても位置づけられる。今回のミッションで、これら線虫における生殖過程のアポトーシスは、宇宙環境下においてもいずれも正常に進行することが確認できた²。

これまで、各グループが解析データをまとめ、国内外の学術雑誌や学会でその成果を発表しており、現在も追加解析などを継続して実施している。

宇宙実験の課題と今後

今回のICE-Firstは、生命科学分野ではコロンビア事故以来の初めてのフライト実験であり、JAXA設立後最初のフライト実験でもあった。スペースシャトルを利用するときほどの大きな規模の実験ではなかったが、今回のフライト実験に携わった我々は、さまざまな教訓を得ることができた。

また、今後の宇宙実験は数年後にISSの打ち上げが控えているものの、シャトルの退役などもあり、これまでのような比較的大掛かりな規模での実験を実施することはなかなか難しくなるだろう。従って、今後は実験のダウンサイジング化が必須となっていく。今回実験試料として使用した線虫は、ゲノム解析が進められ、モデル生物として地上においても研究材料として広く利用されており、しかも小さい。このアドバンテージを利用し、今後様々な視点から宇宙実験をデザインし、小規模ながらも活発な実験の実施が期待される。

参考文献

- 1) Szewczyk, N. J., Kozak, E., Conley, C. A., *BMC Biotech.*, **3**, 19 (2003).
- 2) Higashitani, A., Higashibata, A., *et al.*, *Apoptosis*, **10**, 949-954 (2005).
- 3) Higashibata, A., Fujimoto, N., Kuriyama, K., Ishioka, N., *Jpn. Soc. Microgravity Appl.*, **22**, 145-150 (2005).