

# メダカの宇宙における飼育と発生学実験の基礎実験

井尻憲一<sup>1)</sup> 江口星雄<sup>2)</sup> 田口泰子<sup>3)</sup> 黒谷明美<sup>4)</sup> 山下雅道<sup>4)</sup> 豊部 睦<sup>5)</sup> 長岡俊治<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学アイソトープ総合センター <sup>2)</sup>東京大学原子力研究総合センター <sup>3)</sup>放射線医学総合研究所  
<sup>4)</sup>宇宙科学研究所 宇宙基地利用研究センター <sup>5)</sup>東洋エンジニアリング株式会社 <sup>6)</sup>宇宙開発事業団

## Fundamental Studies for Fish Culture and Embryology in Space

Kenichi Ijiri,<sup>1)</sup> Hoshio Eguchi,<sup>2)</sup> Yasuko Hyodo-Taguchi,<sup>3)</sup> Akemi Izumi-Kurotani,<sup>4)</sup>  
Masamichi Yamashita,<sup>4)</sup> Mutsumu Toyobe<sup>5)</sup> and Shunji Nagaoka<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>Radioisotope Center, University of Tokyo, <sup>2)</sup>Research Center for Nuclear Science and Technology, University of Tokyo, <sup>3)</sup>National Institute of Radiological Sciences, <sup>4)</sup>Space Utilization Research Center, Institute of Space and Astronautical Science, <sup>5)</sup>Toyo Engineering Corporation, <sup>6)</sup>National Space Development Agency of Japan

### ABSTRACT

In the space station module JEM, multi-generation fish-culture experiments are expected. For these, the use of Medaka (*Oryzias latipes*) can be recommended by the authors, because of its short life-cycle and of existence of many strains. The present parabolic experiment aims to obtain the fundamental data for fish behavior and embryology in space, together for designing the aquarium used in JEM.

Behavior pattern of the adult fish of five inbred strains and one closed-colony strain of Medaka were observed under microgravity (microG) during the parabolic flight. As previously reported, a clear strain-difference was noted from the behavior analysis during the entire flight (i.e., total of about 6 to 10 times of 20 sec-microG). In the present experiment, the behavior of fish during the 1st parabolic flight (i.e., the first 20 sec-microG the fish experienced in life) was analyzed, and the similar results were noted. HNI-II strain showed no looping at all, while most HO5 fish exhibited looping pattern under microG. Most fish of ccT strain showed no looping at all. Three other strains came to the in-between position, i.e. some fish looped and others did not. Adult fish of the first filial generation (F1) between HNI-II female and other strain male was also examined for the behavior under microG. In the similar analysis (i.e., only in the 1st 20 sec-microG), the cross between HNI-II and HB12A did not show any looping behavior at all. The two other crosses were also checked, however, these F1 showed in-between type, i.e. some fish looped and others did not.

As reported previously, all the fish of all strains do loop under microG in a complete darkness. For the medaka to continue spawning, a light-and-dark cycle should be maintained. Feasibility of employing light-and-dim-light cycle for the posture control of fish was checked. For those fish strains tolerant to microG (i.e., swim normally under microG), light intensity as low as 2 to 8 lx was found enough for their posture control under microG.

## 1. 緒言

平成3年12・1月期（成果は本誌2巻3号にて報告）、平成4年5・6月期（本誌3巻1号にて報告）の航空機実験において、メダカの微小重力（ $\mu G$ ）下での挙動観察を行った結果、多くのメダカの系統（純系）は明視野（明条件）の $\mu G$ 下で、回転運動を示した。ただし、ある系統のメダカ（純系HNI-II）はこの様な回転運動を示さなかった。しかし、暗視野（暗条件）での $\mu G$ 状態ではHNI-IIを含む全てのメダカが回転運動をすることが判明した。このことより、 $\mu G$ 下でのメダカの姿勢制御には、視覚が大きく寄与していると考えた。

これまでの短期の宇宙実験と違って、JEM等では長期の魚類飼育実験、つまり魚類の継代飼育実験が可能である。このような継代飼育を行うことにより、宇宙での魚類養殖の可能性および採るべき方針が探れるわけだが、同時に宇宙環境（ $\mu G$ 、宇宙放射線など）に適応した魚の出現も期待できる。とくにメダカは一世代が3カ月と短いので、このような継代飼育には向いている。宇宙環境への適応魚の出現を期待する場合には、純系が必ずしも有効とは限らず、むしろ様々な遺伝子を持っているヘテロな集団の方が環境に適応した魚が出現しやすい。そこで今回からは、我々の研究室で飼育を続けているc c T系統についても、パラボリックフライトによる $\mu G$ 下での行動を調べることにした。

もちろん、遺伝子組成が均一である純系は学問的な解析には有用である。今回の実験でも、5系統の純系を用いて視覚と $\mu G$ 下での姿勢制御との相関について検討した。さらに遺伝的な解析を行う目的で、 $\mu G$ で回転しないHNI-II系統と他の系統とのかけ合わせによる子供、すなわち雑種第一代（F1）についても同様の実験を行った。JEM等で使用する水棲動物飼育装置には、明暗サイクルが設定される。これまでの結果から、魚の飼育に関しては暗期での回転が懸念される。暗期を完全な暗黒ではなく、微光を持たせることにより暗期での姿勢制御が可能になると考えた。どの程度の微光があれば、姿勢制御が可能であるかも検討した。以上の実験結果について報告する。

## 2. 実験方法

ダイヤモンドエアサービス社の小型ジェット機MU-300を用いた。1日1回約1時間の実験フライトで6～10回のパラボリックフライト（PF）を実施し、6日間続けた。

## 2. 1. 実験装置

共通ラックである3段ラック (W70cm x D45cm x H90cm) の上中2段を使って水槽 (約380ml) を各段5個、計10個設置した。各段においては、向かって左4個の水槽が明視用で、図1のように上部からの蛍光灯による約600ルクス (lx) の照明と、前方つまりビデオカメラ側からのビデオライト (ハロゲンランプ) による照明 (約550 lx) とが切り替えられるようになっている。ビデオカメラはハンディタイプのHi8ビデオカメラレコーダーを用いた。

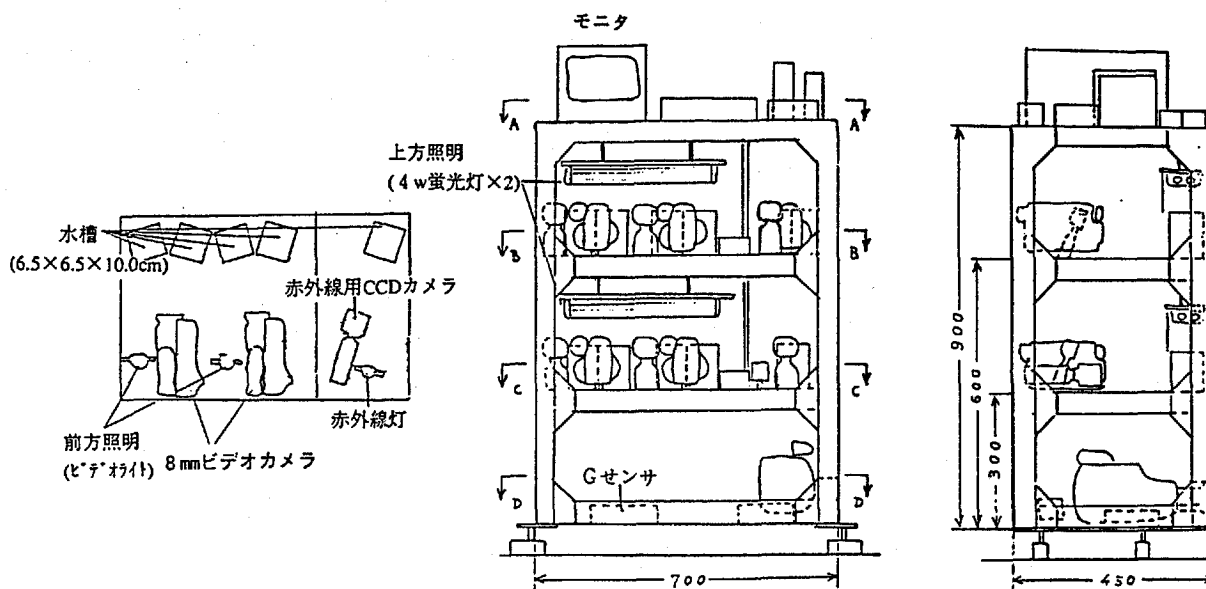


図1 航空機に搭載したラックと機器の配置

Fig.1 Rack installed in the airplane and setup of apparatus.

右側1個の水槽は微光および暗視用に水槽の天井部にELランプ (electro-luminescent lamp) による面光源を施し、照度を8, 6, 4, 2, 0 lxの5段階切り替えにした (図2)。切り替えは、実験者が手で行った。微光および暗視条件では赤外光を用い、赤外光用に改造したCCDカメラおよびその画像記録用にHi8ビデオレコーダーを用いた。

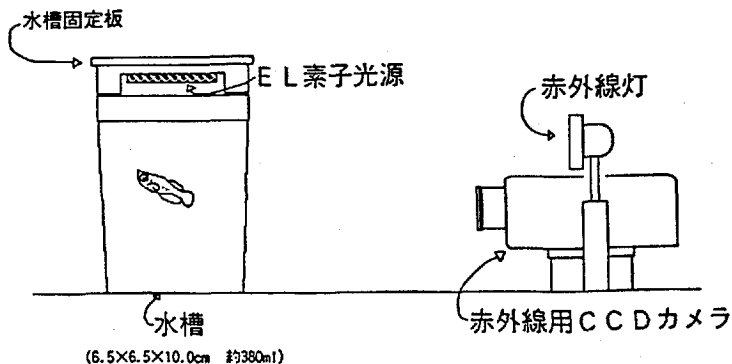


図2 微光用装置

Fig.2 Setup for the dim-light experiment.

装置の系統図を図3に示す。

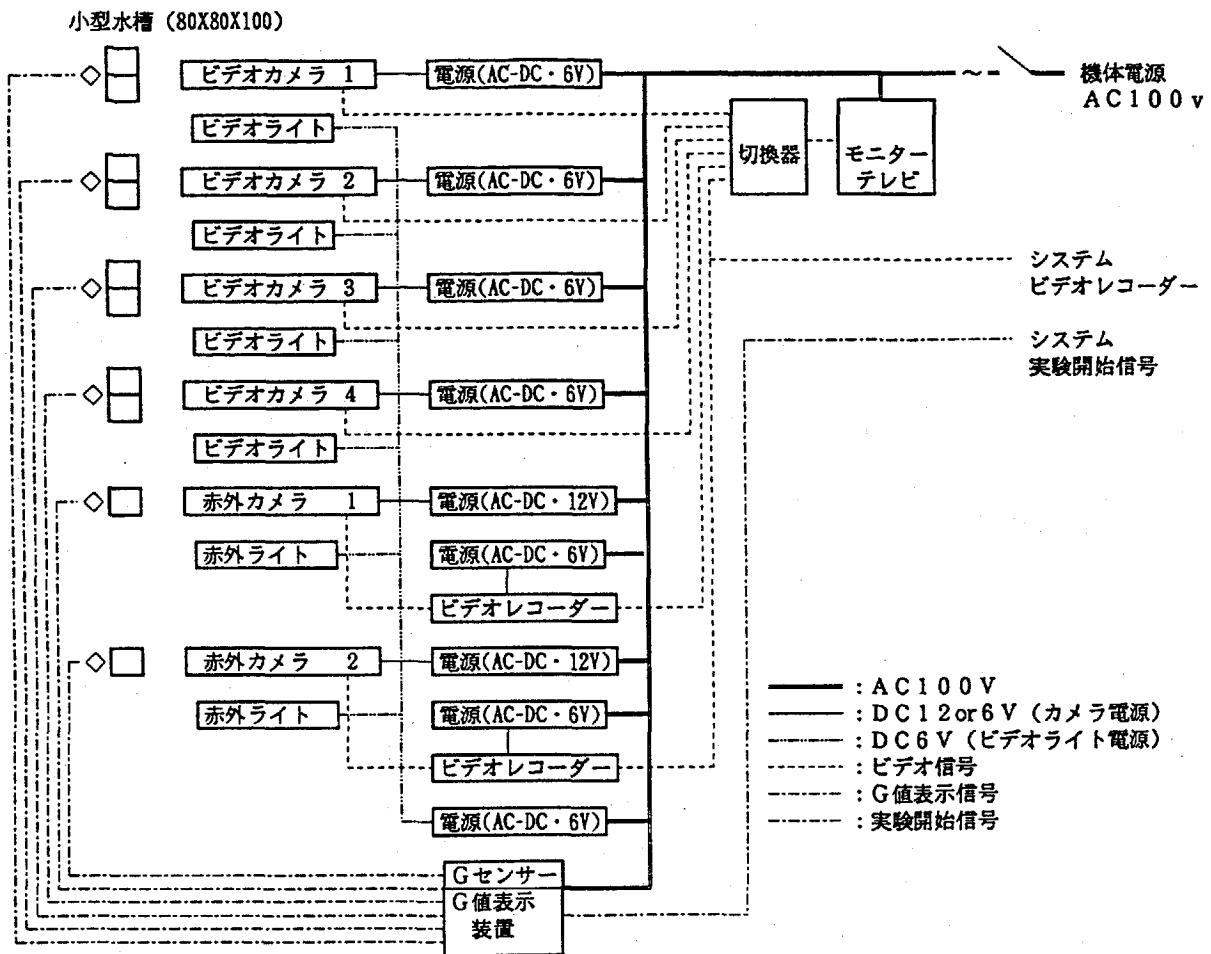


図3 実験装置の系統図

Fig. 3 System illustration for experimental apparatus.

## 2. 2. 実験試料

メダカとしては、純系5系統 (HNI-II, HB12A, HB32C, HO4C, HO5) と、クローズドコロニーのccT系統、そしてHNI-IIの雌と他の純系の雄とを掛け合わせた雑種第一代 (F1) として3種類 (雄としてHB12A, HB32C, HO4Cを用いた場合のF1を、それぞれN12F1, N32F1, N4F1と表記) の計9種類である。

### 2. 3. 実験操作

それぞれの実験フライトでは、明視水槽は上方照明と前方照明とを3回のPFごとに切り替えた。微光水槽は、8 lxから始め、毎PFごとに6, 4, 2, 0 lxと照度を下げ、さらに逆に照度を上げていった。

### 3. 結果および考察

#### 3. 1. 明条件における系統差

今回のパラボリックフライトによる明条件・ $\mu G$ 下でのメダカの挙動実験の結果を系統別に示したのが図4である。縦軸は回転しないメダカの割合（非回転率，%）である。実験フライト内の最初のPF、すなわちメダカが生まれて初めて経験した20秒間（ $\mu G$ ）でのデータである。照明方向としては、上方照明と前方照明に分けてみたが、それほど差はない。

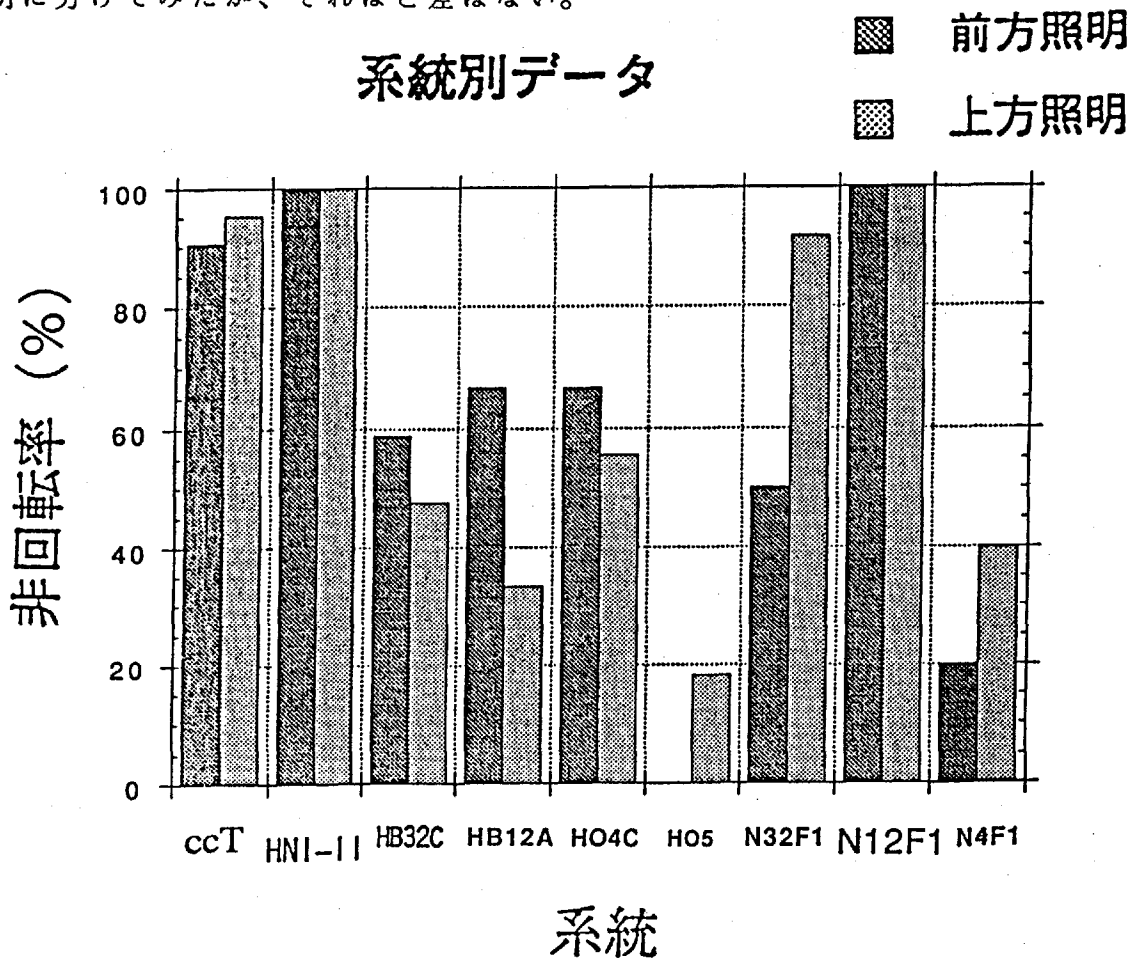


図4 メダカの系統と $\mu G$ 下で回転しなかったメダカの割合 (%)

Fig.4 Strain names and % of fish which did not loop under  $\mu G$ .

まったく回転しない系統としてHNI-IIがある（非回転率100%）。ccT系統では、その9割の魚が回転しなかった。HO5系統はほとんどの魚が回転した。HB32C, HB12A, HO4Cの3系統では約半数のメダカは回転せず、残り半数は回転した。回転の有無からは、この3系統はHNI-IIやccTのグループとHO5との中間に位置することになる。雑種第一代（F1）においては、HNI-IIとHB12AとのF1（N12F1）が100%回転しなかった。他の2つのF1（N32F1, N4F1）はむしろ中間型に属すると考えてよい。

回転する、回転しないについては今回は最初のPFの解析しか行っていない。前回の報告では、1実験フライト内の6~10回のPFすべてのビデオ観察から各個体別に追跡し、1回でも回転した場合は、その個体を回転したとスコアした。今回は実験数が多く、このような解析を行う時間的余裕がなかったため、最初のPFだけに限ってデータを出してみた。

今回の実験から言えることは、HNI-IIとccTの両系統は $\mu$ G下で回転しない系統であり、宇宙実験に適している。純系（HNI-II）とクローズド・コロニー（ccT）ではそれぞれにメリットがあるので、飼育条件や実験目的に応じて使い分けることになろう。

### 3. 2. 微光条件における $\mu$ G下での挙動

図5に微光条件における回転の結果をまとめておく。縦軸は回転したメダカの割合であり、横軸は照度（lx, ルクス）である。ここでの照明は2~8 lxと非常に暗い状態であるが、HNI-IIはかなりの割合で回転しなかった。つまり、この系統では微光状態でも姿勢制御が可能である。ccTとしては2水槽で実験を行ったが、一つの水槽（6匹）のメダカは非常に成績が良く、4および6 lxでは全く回転しなかった。他の水槽（6匹）のccTメダカは回転したメダカの割合の方が多かった。ccTの微光状態での挙動にはバラツキのあることを示している。 $\mu$ Gで回転しないメダカだけを選ぶための地上での選抜方法（たとえば背光反射や視覚実験で可能か、現在研究中）が確立した時点には、このことはあまり問題ではない。暗黒下（0 lx）ではどの系統のメダカも全て回転した。

JEMでの飼育には、（卵の成熟を起こし）産卵を起こすことも目的となるため、明暗サイクルが要求される。今回のデータから、明期としては全く暗黒ではなく、10 lx程度の微光状態を採用すればよいことがわかる。純系を用いる場合にはHNI-IIが、クローズド・コロニーccTでもある程度の選抜を行えば、この

条件（つまり明と微光の照明サイクル）で回転しない。もちろん、他の系統についても JEM での使用は可能であろう。この場合、 $\mu G$  に対してどのくらいの時間（あるいは日数）で順応するかが使用の目安になろう。これについての研究は 20 秒のパラボリックフライトでは無理であり、スペースシャトルなどの手段を用いて研究しておく必要がある。

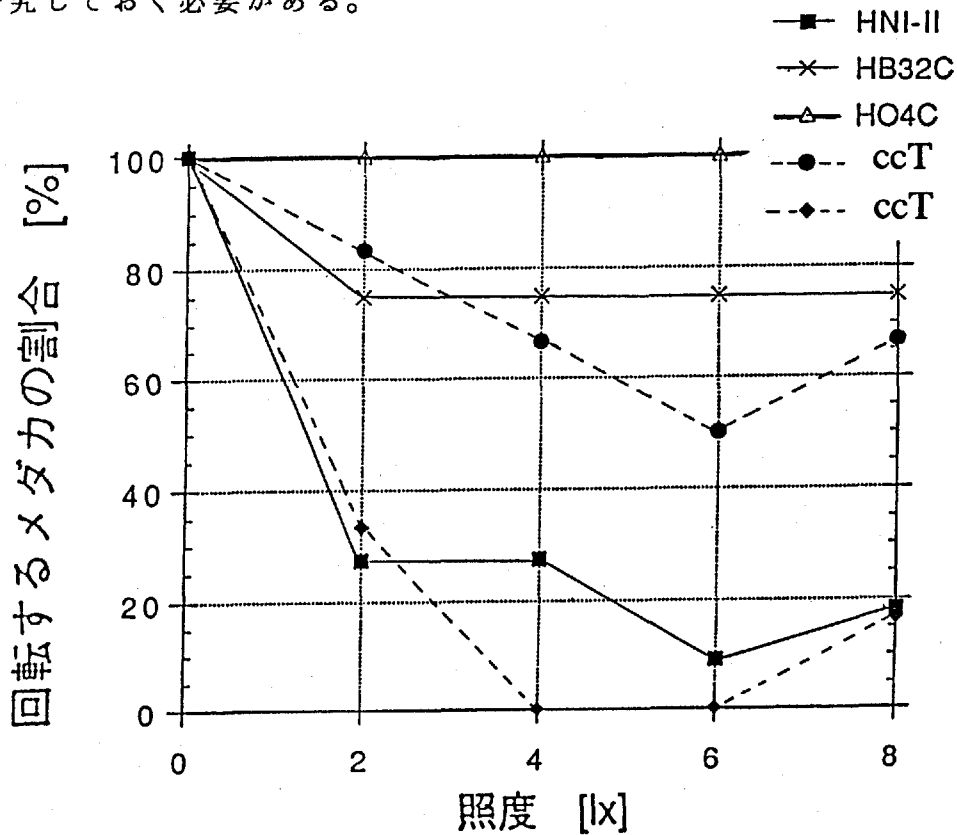


図5 微光時の照度と $\mu G$ 下で回転するメダカの割合（％）

Fig.5 Intensity of illumination (lx) and % of fish looped under  $\mu G$ .

#### 4. 結言

パラボリックフライトによる微小重力 ( $\mu G$ ) 下での挙動をみると、メダカの系統は、 $\mu G$  で回転する系統、回転しない系統、および一部の魚は回転する系統の3つに分けられる。 $\mu G$  で回転しない系統には HNI-II と ccT 系統があり、すべてのメダカが回転するのが HO5 系統である。HNI-II と他の系統との掛け合わせによる雑種第一代 (F1) を3種類調べたところ、HNI-II と HB12A との F1 は全く回転しなかった。暗黒下では全てのメダカは回転するが、HNI-II と ccT 系統においては、極端に照度の低い状態でも姿勢制御ができることがわかった。

## 謝辞

本実験を行うにあたり、地上支援グループとして参加していただいた横川滋子さん、実験操作要員として航空機に搭乗していただいた仙頭宣幸さん、中谷祐一さんに感謝いたします。

## 参考文献

- 1)井尻憲一：宇宙での魚類養殖に関する基礎的研究，生物衛星シンポジウム Summary Report, pp.44-50, 1991.
- 2)井尻憲一，江口星雄，田口泰子，鈴木靖，武井誠，中谷祐一，水野利恵，小池元，黒谷明美，山下雅道，長岡俊治：メダカの微小重力下での挙動と系統差，第9回宇宙利用シンポジウムプロシーディング，pp.115-118, 1992.
- 3)井尻憲一，江口星雄，黒谷明美，山下雅道，長岡俊治：イモリ・メダカの微小重力下での行動（その1），パラボリックフライト，2(3): 46-60, 1992.
- 4)井尻憲一，江口星雄，Wiederhold, M.L., 黒谷明美，山下雅道，Wassersug, R.J., 内藤富夫，長岡俊治：イモリ・メダカの微小重力下での行動（その2），パラボリックフライト，3(1): 1-14, 1993.
- 5)井尻憲一，江口星雄，田口泰子，長岡俊治，山下雅道，黒谷明美：微小重力下におけるメダカの挙動と視覚による制御，MERSS Report, No.8, 特集「パラボリックフライトにおける医学・生物学実験」，pp.19-25, 1993.
- 6)井尻憲一：無重力に強いメダカと弱いメダカ，日本マイクログラビティ応用学会誌，10: 158-166, 1993.