

地球生物の宇宙生存可能性検証のための 短期宇宙曝露実証実験システムの構築

横堀 伸一（東薬大），時下 進一（東薬大），志賀 靖弘（東薬大），鳴海 一成（東洋大），
杉本 学（岡山大），今井 栄一（長岡技大），三田 肇（福岡工大），橋本 博文（JAXA）

Development of short-term space exposure experiment for verification of survivability of terrestrial life in space

Shin-ichi Yokobori*, Shin-ichi Tokishita, Yasuhiro Shiga, Issay Narumi, Manabu Sugimoto,
Eiichi Imai, Hajime Mita, Hirofumi Hashimoto

*Tokyo Univ. Pharm. Life Sci., Horinouchi, Hachioji, Tokyo 192-0392

E-Mail: yokobori@toyaku.ac.jp

Abstract: Estimating survivability of terrestrial organisms in space is important to evaluate upper limit of microbe density in space probes to extraterrestrial bodies. However, in most microbe space exposure experiments, extremophiles have been used. We proposed short-term space exposure experiment of microbes to enable space exposure experiment with non-extremophiles in addition to extremophiles. In this experiment, exposure apparatus used in Tanpopo mission will be attached to the robotic arm of Japanese Exposure Module of International Space Station for few days to several weeks. To materialize this experiment, we selected sensing methods of environmental factors and candidate organisms for space exposure experiments (*Deinococcus radiodurans*, *Deinococcus aetherius*, *Saccharomyces cerevisiae*, and rice seeds). For the analyses of differences in gene expression pattern before and after space exposure, genome drafts of three strains of *D. radiodurans*, *D. aetherius*, and two strains of *S. cerevisiae* were determined.

Key words; Space exposure experiment of microbes, International space station, planetary protection,

1. はじめに

アストロバイオロジーは「宇宙における生命の起源、進化、伝搬、および未来」を包括する研究分野である。この研究分野において生命の宇宙空間や地球外天体での生存可能性の検証は重要な研究課題である。

火星起源隕石に見いだされた微生物様構造の発見の報告¹⁾は、惑星間の生命の移動の可能性を示唆した。また、上記の火星起源隕石に見いだされた微生物様構造の発見の報告以降、急速に火星での生命探査が進行している²⁾。隕石中の微生物様構造が実際に生物由来であるかについては否定的な意見が多い。しかし、過去の火星に地球に似た環境が存在したこと、現在でも生物生存が可能な環境が存在することが知られている。これらは、火星に生命が現存することを保証するわけではないが、その可能性を示している。また、地球から火星に生命が移動することも、その逆が可能であれば、その可能性が無いとは言えない。さらに、木星や土星の衛星であるエウロパやエンケラドスに液体の水が存在することが発見され^{3,4)}、これらの天体に生命の存在する可能性が考えられている。

これらの観点から火星における生命探査が推進されており、JAXAにおいても火星衛星サンプルリター

ン実験の準備が進行中である。また、木星や土星の衛星についても、将来の生命探査の構想が進められている。

2. 微生物宇宙曝露実験と惑星保護 (Planetary Protection)

このような地球外天体における探査を行う場合、惑星保護の観点から、地球からの生物の持ち込みをどのようにコントロールするのが問題となる。特に、地球外天体への探査に用いる探査機に、どの程度までの量の地球由来微生物の付着が許されるか、については、目的天体までの宇宙飛行の間の地球由来微生物の生存率によって、その上限が決定されると考えられる。目的天体到達時に微生物が増殖可能な密度以下であることが重要であり、そこから逆算して、十分な安全マージンをとって、探査機の滅菌条件は決定されることが必要であると考えられる。この点に於いて、宇宙環境に対して強靱な極限環境生物のみではなく、地球上の、人類が生活するような環境に生息する「非」極限環境生物についても、宇宙環境下における生存率、生存曲線を得ることは重要である。

宇宙空間における生物 A、B、C の半減期を各々 0.1 年、1 年、10 年と仮定すると、X 年後の生存率は 0.5^{10X} 、 0.5^X 、 $0.5^{(X/10)}$ である。1g の土壤に 10^{10} 細胞の生物 A、

B、Cが生息し、これが宇宙曝露されたとする。この時、Aが死滅するのに約3.3年、Bが死滅するのに約33年、Cが死滅するのに約330年を要する。地球から探査機は1年以内で火星へ到達すること、また木星や土星の衛星をターゲットとした探査機であっても10年以内に到達する（土星探査機のカッシーニの場合7年）ことを考え合わせると、土壌などのありふれた地球環境に生息する「非」極限環境生物に関しても、宇宙空間における生存率が推定されていることは、極めて重要であると言える。

これまでの微生物宇宙曝露実験は、主として宇宙空間そのものの様々な環境因子（真空、放射線、紫外線を含む光）に対する生物の応答（生存率）を明らかにすることを目的として行われてきた。実際に宇宙曝露されてきた生物は、極限環境耐性生物（特に紫外線・放射線耐性生物）が大半である⁵⁾。

地球生命の宇宙空間における生存能力の検証実験は、1960年代のアポロ計画の段階まで遡る⁵⁾。1990年代までは、主として科学衛星を用いた生物宇宙曝露実験が主として行われた。スカイラブやスペースシャトル等を利用した時期を経て、国際宇宙ステーション（ISS）の建設を契機にISSを用いた生物宇宙曝露実験が行われるようになった。このような研究により、枯草菌（*Bacillus subtilis*）の内生孢子が遮光条件であれば、宇宙空間で6年間の生存が可能であることが示される⁶⁾など、地球起源の原核生物の中には長期（複数年）にわたって宇宙で生存可能な種類が存在することが明らかとなった。

日本に目を向けると、生物の宇宙生存可能性を検討する生物の宇宙曝露実験は2015年に宇宙実験を開始した「たんぽぽ」まで待たなければならない⁷⁾。「たんぽぽ」では、3つの異なる期間の微生物宇宙曝露実験を並行して行い、地球生物の宇宙における死滅曲線を推定し、地球由来微生物がどれほどの期間生存可能なのかを推定した（Kawaguchi et al.、投稿中）。これは、先行する多くの微生物宇宙曝露実験には無い観点である。

3. 「地球生物の宇宙生存可能性検証のための短期宇宙曝露実証実験システムの構築」の提案

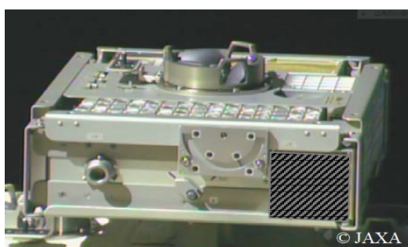


Fig. 1. Tanpopo apparatus on ExHAM.

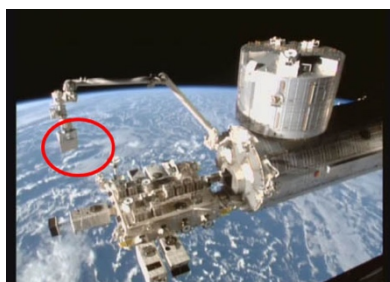


Fig. 2. Japanese robotic arm on Kibo of ISS. MPEP is pointed out with red circle.

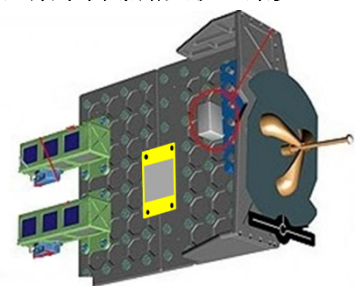


Fig. 3. Proposed plan how exposure apparatus (yellow) is attached on the MPEP.

極限環境生物のみを宇宙曝露実験の対象とすることは、必ずしも地球由来生物を代表とする生物の宇宙環境生存検証を行っていることを意味しない。その点、短期間（数日から1ヶ月程度）の宇宙曝露実験を行うことで、極限環境生物以外の生物も含めた曝露対象生物の選択が可能となると考えられる。

2024年度でISSの運用が終了する予定であることを鑑みると、実験実現のために新規に開発する要素は最小限にすることが望ましい。そこで、我々は既に宇宙曝露実験に実績のある、ISS日本実験棟きぼう曝露部に設置するExHAMに搭載した「たんぽぽ」ミッションで使用したタイプの宇宙曝露用機器（曝露パネル）を採用する（Fig. 1）。しかし、ExHAMを利用した宇宙曝露実験は基本的に1年単位の実験サイクルとなるので、短期宇宙曝露実験のためにExHAMプラットフォームを利用する以外の方法を検討する必要がある。そこで、先行実験例（Free Space PADLES）のある、ロボットアーム（Fig. 2）への親アーム先端取付型実験プラットフォーム（MPEP）の取り付けによる短期宇宙曝露実験（1ヶ月以内）の実現可能性を検討する。MPEP上の小型衛星放出機構（J-SSOD）に干渉しないように曝露装置を取り付けることにより（Fig. 3）、J-SSOD運用中も相乗りが可能となり、さらに実験機会を広げると考えられる。

将来のGateway等での微生物宇宙曝露実験を検討する際、コンパクトな宇宙曝露装置の開発と、使用条件及び使用法の検討が重要である。たんぽぽ型宇宙曝露装置は個々の曝露ユニットが独立しており、曝露パネルの設計をフレキシブルに考えることができる。将来の様々な宇宙環境でのたんぽぽ型曝露装置利用の展開を視野に入れると、「たんぽぽ」ミッションで実績のある長期曝露から本提案での短期曝露まで、統一した曝露環境を確立することは重要である。

本提案における短期間の宇宙曝露実験に対して、適切な環境要因に関するセンサーを選ぶ必要がある。その上で、宇宙曝露候補生物の選定が行われなければならない。そのため、短期宇宙曝露実験の環境パラメータ測定法の確立と宇宙曝露実験の曝露対象の候補生物選定という2つの研究課題を設定した。

3-1. 研究課題（1）：「短期宇宙曝露実験の環境パラ

メータ測定法の確立

生物の宇宙生存において影響を与える環境要因としては、真空（乾燥）、光照射（紫外線）、放射線、温度が挙げられる。宇宙曝露時の生物は「乾燥」状態の「仮死」状態であり、ほぼ生命活動を停止している。よって、微小重力の生物影響はここでは考えない。短期間での宇宙曝露実験は、対照実験を含めた実験プラン全体のコントロールが容易であると考えられる。しかし、短時間で行われる実験に適した環境要因の計測法の検討が必要である。特に、光照射と放射線の照射積算量の計測が必須であると考えられるが、その感度と手法の選択が重要となる。

- ① **光（紫外線）**：紫外線（UV）は、特に地球生命の生存に大きく関わる。そのため、短期間であってもその照射量の測定が重要である。そこで、数日から1ヶ月程度の紫外線照射量の積算値を得るための紫外線照射量測定法を検討する。
- ② **放射線**：たんぼぼ実験では、一年目の放射線量の測定値は、約250 mGy/year（約0.7 mGy/day）と推定された⁷⁾。この線量は、*Deinococcus* 属放射線抵抗性細菌(*Deinococcus species*)の生存に与える影響は小さい。しかし、*Deinococcus sp.*以外の生物については、その影響を無視することができないと考えられる。そこで、簡便な放射線検出法を検討する。
- ③ **温度**：生物は生存可能上限よりも高温に曝露されると、細胞を構成する蛋白質等の不可逆的な変性・失活などにより、生物は死に至る。これは乾燥状態の *Deinococcus* 属細菌の細胞等でも同様であり、生物の宇宙曝露実験中の最高到達温度に関する記録を行う必要がある。その手法を検討する。

3-2. 研究課題（2）：宇宙曝露実験の曝露対象の候補生物の選定

本研究では、宇宙曝露生物の生存率を明らかにすることが最低条件である。よって、宇宙曝露生物試料として、曝露実験終了後に適切な範囲の生存率となる生物を、地上実験で選択することが必要である。短期の宇宙曝露実験とすることで、極限微生物の限定せずに、土壌や大気中などに常在する生物を宇宙曝露実験の対象とすることが可能であると考えられる。また、宇宙曝露実験の前後の生物の変化として、ゲノムDNAの損傷の他、発現遺伝子や発現蛋白質の変化が考えられる。これらに検討が可能な生物を地上実験で選択する。

まず、宇宙曝露実験の候補生物として、たんぼぼ計画でも用いた *Deinococcus sp.*（*Deinococcus radiodurans* の野生株とDNA損傷修復系遺伝子変異株等）を第一に挙げる。*Deinococcus sp.*が宇宙曝露実験に適した生物であることは、たんぼぼ実験でも示された⁷⁾。本提案における短期曝露実験の実験結果の評価には、最終的には他の先行する宇宙曝露実験で解析された生物と共通の生物を対象とすることが望

ましい。この点において、*Deinococcus sp.*を本提案における宇宙曝露対象候補として選定する。

Deinococcus radiodurans では野生株とDNA損傷修復系遺伝子変異株の間で宇宙生存に差が見られた（Kawaguchi et al. 投稿中）。野生型 *D. radiodurans* (R1株)のゲノム配列は報告されている⁸⁾が、たんぼぼ実験で用いた *D. radiodurans* DNA損傷修復系遺伝子変異株のゲノム解析は成されていない。*D. radiodurans* DNA損傷修復系遺伝子変異株のゲノム配列を明らかにし、その情報に基づいて宇宙環境要因（乾燥、真空、紫外線、放射線）、最終的には宇宙環境への曝露前後の遺伝子発現動態の比較を行う。それにより、*Deinococcus sp.*の宇宙環境に対する耐性に関わる遺伝子や代謝系を明らかにする。

また、*Deinococcus sp.*以外に、真核生物をターゲットとして宇宙曝露実験の選定を行う。対象としては真菌である出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* とイネ *Oryza sativa* 種子を検討する。*S. cerevisiae* はこれまでに宇宙曝露実験に用いられた種だが、その実験はゲノム解析が可能になる前に行われている。しかも、宇宙環境における生存率の推定もされていない。また、*O. sativa* 種子についてもゲノム解析や宇宙曝露実験は行われている。しかし、植物種子は微生物の比べてサイズが大きく、宇宙環境における正確な生存率を明らかにするためには、多くの実験機会を必要とする。これらについて、乾燥、真空、紫外線、放射線について曝露実験を地上で行い、宇宙曝露実験にこれらの種が適しているかを検討する。さらに、*Deinococcus sp.*同様に既存または新規に解析したゲノムドラフトを利用し、その情報に基づいて宇宙環境要因（乾燥、真空、紫外線、放射線）への曝露前後の遺伝子発現動態の比較解析を行う。

宇宙曝露実験対象の生物は上の種に限らず、アストロバイオロジーコミュニティに囚り、対象生物の選択を進める。その際には、それぞれの生物の専門家の計画への参画を求める。

4. 本提案の進捗状況

4-1. 短期宇宙曝露実験の検討

上記の様に、既に先行実験例のあるロボットアームへの親アーム先端取付型実験プラットフォーム（MPEP）の取り付けによって、たんぼぼ型宇宙曝露装置を用いた短期宇宙曝露実験（1ヶ月以内）が実現可能であるか、JAXAのきぼう利用センターに提案し、議論している。

4-2. 短期宇宙曝露実験の環境パラメータ測定法の検討

- ① **光（紫外線）**：紫外線光量分布測定フィルム（UVスケール。富士フィルム）を最初の検証対象とした。今後、特に真空環境下で、UVスケールが使用可能か、またその検出感度と測定可能範囲が本提案に

における宇宙曝露実験に適切か検討した。

② **放射線**:放射線測定法として、小型のガラス線量計素子 (GD-300 シリーズ、千代田テクノ) を使用したラジオホトルミネセンス (RPL) 法を最初の検討対象とした。たんぼぼ実験における宇宙曝露環境下での放射線量の測定値は、約 0.7 mGy/day である (Yamagishi et al. 2018)。本ガラス線量計素子の測定線量範囲はカタログ値で 0.01mGy~10Gy であり、数日から 1 ヶ月程度を考える短期宇宙曝露実験に適している。本ガラス線量計素子が、特に真空環境下で使用可能か、を検討した。

③ **温度**:真空対応のサーモラベル (日油技研工業) を最初の検討対象として選択した。

また、これらのセンサーをどのように実験装置に組み込むかについても検討した。上記ガラス線量計素子はホルダーを含めての直径 4.3 mm × 長さ 14.5 mm の円筒形と小型あり、たんぼぼ型曝露装置の曝露ユニットに収まるサイズである。そのため、センサーは、窓側から紫外線ラベル、温度ラベル、ガラス線量計素子の順にまとめることにした。

なお、現在、これらのセンサーの環境試験を行っており、今年度中に真空試験を完了する予定である。

4-3. 宇宙曝露実験の曝露対象の候補生物の検討

① ***Deinococcus sp.***: *D. radiodurans* の DNA 損傷修復系遺伝子変異株である UVS78 株、rec30 株、KH311 株のゲノム配列を Illumina の short read 法による次世代シーケンシングによって得た。今後これを、野生型 R1 株のゲノムと比較し、機能し得る遺伝子の差異を今後明確化する。また、*Deinococcus aetherius* については、Illumina の short read 法による次世代シーケンシングと Oxford Nanopore Technology による 1 分子シーケンシングで得られた配列情報を解析し、約 3.1 Mbp の主染色体と、その他のプラスミドのアセンブリに成功した。今後、更にアセンブリの精度を高める。

今後は、ゲノムドラフトは公開されているが完全なゲノム配列が得られていない *Deinococcus aetherius*⁸⁾についても *D. aetherius* と同様の解析を行い、完全ゲノム配列の取得を目指す。これらのゲノム情報を元に、宇宙環境因子 (真空、紫外線、放射線等) 曝露前後の遺伝子発現動態の変化を RNA-Seq などの手法を用いて解析し、将来の宇宙曝露実験の基礎データとする。

② **出芽酵母 (*S. cerevisiae*)**:東京薬科大キャンパス内で単離した出芽酵母 2 株 (東薬株 A と B) について、標準的なパン酵母と共に宇宙曝露実験に用いる検討を始めた。出芽酵母は栄養細胞を乾燥した状態で長期に保存できる (ドライイースト) ので、この状態で宇宙曝露実験を行うために、地上予備実験を行うこととした。また、東薬株 A と B については、Illumina の short read 法による次世代シーケ

ンスにより、ゲノムドラフト作製を進めている。

③ **イネ (*O. sativa*) 種子**:イネ種子については、172 nm の真空紫外線の照射実験を行った。今後、照射前後の RNA-Seq 解析 (トランスクリプトーム解析) を行う予定である。

5. まとめ

本研究で提案している MPEP 利用の短期宇宙曝露実験の手法が確立すれば、「非」極限環境生物についても、宇宙曝露実験による宇宙における生存率の推定や、宇宙環境に対する生物応答研究の機会を増大させることができると考えられる。これらの研究は、今後の惑星保護の観点から、他天体の探査機に対して、地球生物の混入がどこまで許されるのか、その上限を検討するための重要な基礎データを与えると考えられる。本宇宙曝露実験は、2021 年の実現を目標に準備を進めている。また、本年度設定した課題は年度内にほぼ完了する見込みである。

謝辞

本研究は、JAXA 宇宙科学研究所の宇宙環境利用専門委員会のフロントローディング研究の一つとして進められた。関係各位に謝意を表したい。

参考文献

- 1) McKay, D. S., et al.; Search for past life on Mars: possible relic biogenic activity in Martian meteorite ALH84001. *Science* 273: 924–930 (1996)
- 2) 吉村義隆; 火星生命探査. *生物工学* 96: 634–638 (2019)
- 3) Porco, C. C., et al.; Cassini observes the active South Pole of Enceladus. *Science* 311: 1393–1401 (2006)
- 4) Roth, L., et al.; Transient water vapor at Europa's South Pole. *Science* 343: 171–174 (2014)
- 5) Cottin, H., et al.; Space as a tool for astrobiology: review and recommendations for experimentations in Earth orbit and beyond. *Space Sci. Rev.* 209: 83–181 (2017)
- 6) Horneck, G., et al.; Long-term survival of bacterial spores in space. *Adv. Space Res.* 14: 41–44 (1994)
- 7) Yamagishi, A., et al.; Environmental data and survival data of *Deinococcus aetherius* from the Exposure Facility of the Japan Experimental Module of the International Space Station obtained by the Tanpopo Mission. *Astrobiology* 18: 1369–1374 (2018)
- 8) White, O., et al.; Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. *Science* 286: 1571–1577 (1999)
- 9) Satoh, K., et al.; Draft genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus aetherius* TR0125, isolated from the high atmosphere above Japan. *Genome Announc.* 6: e00080-18 (2018)