

## コケ植物を用いた宇宙実験：スペース・モスの活動報告

久米篤（九大・院），藤田知道（北大・院），蒲池浩之（富山大・理），半場祐子（京都工繊大・応用生物），日渡祐二（宮城大・食産），唐原一郎（富山大・理），小野田雄介（京大・農），横井真希（北大・院），ヴィアチェスラヴォヴァ アリサ（北大・院），山下 祐輝（北大・学），安田柚里（京都工繊大・院），中澤誠（京都工繊大・学），新濱梨奈（富山大・院），浅野加杜己（富山大・学），達かおる（宮城大・院），平山桃菜（宮城大・学），笠原春夫（JAXA），鈴木智美（JAXA），島津徹（宇宙フォーラム），鎌田源司（AES）

### Space microgravity experiments in moss: The model land plant, *Physcomitrella patens* on International Space Station

Atsushi Kume<sup>\*1</sup>, Tomomich Fujita<sup>2</sup>, Hiroyuki Kamachi<sup>3</sup>, Yuko T. Hanba<sup>4</sup>, Yuji Hiwatashi<sup>5</sup>, Ichirou Karahara<sup>3</sup>, Yusuke Onoda<sup>6</sup>, Maki Yokoi<sup>2</sup>, Alisa Vyacheslavova<sup>2</sup>, Yuki Yamashita<sup>2</sup>, Yuri Yasuda<sup>4</sup>, Makoto Nakazawa<sup>4</sup>, Rina Shinhama<sup>3</sup>, Kazuki Asano<sup>3</sup>, Kaoru Tsuji<sup>5</sup>, Momona Hirayama<sup>5</sup>, Haruo Kasahara<sup>7</sup>, Tomomi Suzuki<sup>7</sup>, Toru Shimazu<sup>8</sup>, Motoshi Kamata<sup>9</sup>

<sup>\*1</sup>Faculty of Agriculture, Kyushu University, Motooka, Fukuoka 819-0395 JAPAN, <sup>2</sup>Hokkaido University, <sup>3</sup>University of Toyama, <sup>4</sup>Kyoto Institute of Technology, <sup>5</sup>Miyagi University, <sup>6</sup>Kyoto University, <sup>7</sup>Japan Aerospace Exploration Agency, <sup>8</sup>Japan Space Forum, <sup>9</sup>Advanced Engineering Service  
E-Mail: akume@agr.kyushu-u.ac.jp

Abstract: Mosses are plants adapted to various extreme environments on Earth and have several advantageous to cultivate in a limited space. The Space Moss research group has been studying the effects of gravity on the growth and physiological responses of plants using *Physcomitrella patens*. Moss samples were launched by SpX-18 (July 2019) and SpX-19 (December), and cultivated for about 4 weeks using the Cell Biology Experiment Facility (CBEF) in the Japanese Experiment Module (Kibo) of ISS. Microscopic live observation of rhizoids was also performed for a few days. The moss samples cultivated in the  $\mu g$  environment in space did not differ in the total biomass, the number of gametophore, and the mechanical strength of the stem compared with the control group. On the other hand, the elongation of the rhizoids was promoted, the shape of stems and cells tended to be elongated, the chloroplasts became smaller, and the photosynthetic activity decreased. We will perform detailed analyses including transcriptome analysis and electron microscope analysis in the future.

*Key words*; Astrobotany, Gravity response, International space station, Mosses, *Physcomitrella patens*, Space experiment

#### 1. はじめに

人類の宇宙における居住を考えた場合、光合成により CO<sub>2</sub> を吸収し O<sub>2</sub> を放出し、有機物合成を行う植物の利用は最も重要な課題の1つである。コケ植物は地球上の極域や高山、火山荒原から乾燥や汚染の激しい大都市の建物上に至るさまざまな極限環境にもよく適応し、生存、繁殖している植物群である。生産されたコケバイオマスは土壌を構成する有機物となり、水分や栄養塩類を保持すると同時に、様々な生物の生存基質となる。コケ植物の中でもヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. subsp. *Patens*) は相同組換え率が高く、遺伝子ターゲットによる遺伝子の機能解析が可能な新しいモデル植物として注目を浴びてきた<sup>1)</sup>。その結果、被子植物以外の陸上植物としては初めて全ゲノム解読が完了しており<sup>2)</sup>、ゲノムワイドな研究が可能になっている。また、コロニーレベルであれば

光合成測定も可能であり、茎葉体の独立した形態構造から、環境に応じた成長量や形態変化の評価も行いやすい<sup>3,4,5)</sup>。

国際宇宙ステーション (ISS) 日本実験棟「きぼう」では、2009年にシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) を用いた宇宙実験「微小重力下における高等植物の生活環 (Space Seed)」が行われ、微小重力実験区 ( $\mu g$  区)、宇宙 1g 対照区、地上対照区における比較栽培実験が行われている<sup>6)</sup>。この実験系では、宇宙船内の  $\mu g$  下で栽培実験を行うだけでなく、遠心装置付き栽培装置 (CBEF) によって、宇宙 1g 対照区が設定された。この装置の導入によって、植物サンプルの打ち上げから回収までに生じるストレスや、宇宙船内の環境が植物の成長に及ぼす影響を 1g 対照区によってキャンセルし、 $\mu g$  の影響を適切に評価することが可能になっている。

そこで、宇宙栽培実験を行うモデル植物として新

たにヒメツリガネゴケを導入し、「宇宙におけるコケ植物の環境応答と宇宙利用（スペース・モス）」として研究提案を行い<sup>7)</sup>、2019年7月と12月にコケ培養サンプルを打ち上げ、ISS きぼう実験棟で約4週間にわたる栽培や顕微鏡観測を行い、宇宙で培養したサンプルを回収し、現在、解析を進めている。以下に、その概要と結果の速報について紹介する。

## 2. 実験計画及び実施状況

研究計画全体のデザインとしては、コケの重力応答を総合的に理解するため、ISS内では $\mu g$ 環境の評価を行い、地上においては10gまでの過重力環境下で培養実験を行っている。これにより $\mu g$ から過重力までの段階的なデータを得ることで重力の影響を総合的に評価しようとしている。今回の宇宙実験では、 $\mu g$ 環境が成長速度に及ぼす影響について、遺伝的な影響と $\mu g$ 環境そのものの物理的な影響に分けて評価することを意図している（Fig. 1）。

### ① 遺伝子発現依存的な効果

AP2/ERF転写因子やジャスモン酸類(JA)合成系、小胞輸送系等の遺伝子発現変動による器官分化や細胞分裂・細胞伸長速度の変化、(コケ特異的)機能未知遺伝子の発現変動による葉緑体サイズの変化に伴う光合成活性への影響。

### ② 物理的效果

葉緑体やオルガネラの運動、細胞質流動や拡散速度が変化し、細胞内や細胞間の物質輸送速度が変化する影響（過重力で増加、 $\mu g$ で減少）。

## 重力変化による成長速度変化の作業仮説

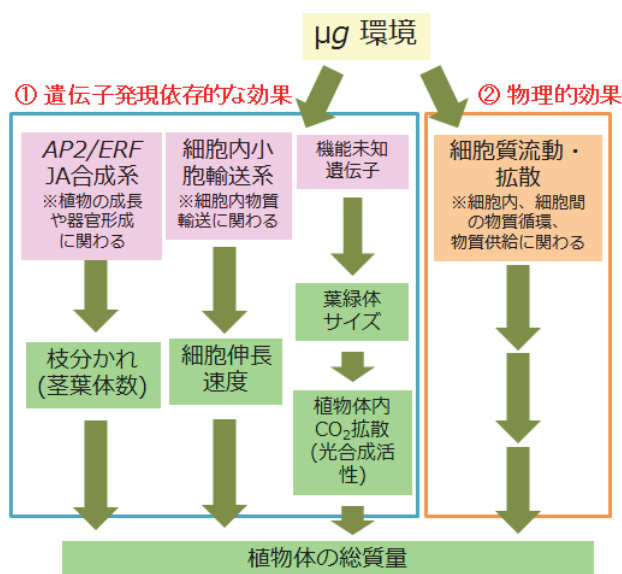


Fig. 1 スペース・モス宇宙実験の仮説構造

ISS内の培養実験としては、軌道上CBEFでヒメツリガネゴケを約25日間培養して回収し、地上にて成長測定、形態観察、光合成活性測定、遺伝子発現解析、光合成関連タンパク質解析を行う（Run1, Run2, 繰り返し実験）。また、軌道上の蛍光顕微鏡システムを利用し、ヒメツリガネゴケの細胞質流動（細胞小器官の動態変化）や細胞伸長速度をライブ観察する（Run3, 軌道上観察）。いずれも、地上の対照実験（地上1g対照区）を並行して行い、CO<sub>2</sub>濃度や温度・湿度環境についても、軌道上環境に合わせた実験系となっている。

Run1, Run3はSpX-18によって7月に打ち上げられ、Run2はSpX-19によって12月に打ち上げられたサンプルについて実験が行われ、順調に培養・観察が実施され、培養後のサンプルは予定通りに地上に回収された（Fig. 2）。

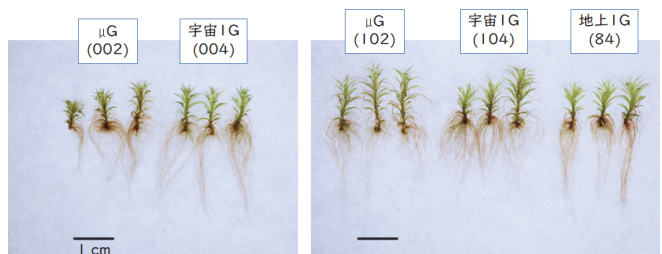


Fig. 2 宇宙栽培実験後のコケ茎葉体・仮根の比較。カッコ内数字は培養チャンバー番号。

## 3. 実験結果

Run1の地上回収サンプルについては、栽培処理区ごとのバイオマス量（成長速度）、茎葉体数、茎長、茎基部直径、茎葉体ごとの葉の枚数、仮根長、地上部・地下部の乾燥質量の測定が完了し、茎葉体から葉を取り除いた茎に対する曲げ試験、光合成速度の測定、葉緑体数や大きさの測定も終わっている。

これらの結果をまとめると、 $\mu g$ 区と対照1g区の間で、成長速度や茎葉体数、茎の機械的性質には有意な差は検出されなかった。一方、 $\mu g$ 区では仮根の伸長が促進され、茎の長さが細長くなる傾向があった。宇宙で栽培したコケの光合成を地上で測定すると、 $\mu g$ 区のコロニーでは対照区と比較して有意に光合成速度が低く、また、葉緑体の大きさも有意に小さかった。

Run2についてはRun1と同様の実験内容であり、今後、解析結果が得られることで、より高感度で頑強な $\mu g$ 区の栽培影響が検出できる予定である。

Run3の軌道上観察の結果については、現在、画像情報の解析中であるが、仮根次頂端細胞の長軸方向の長さが長く、短軸方向の長さが短い、すなわち、全体として細長くなる傾向があった。細胞伸長速度や細胞質流動の解析、細胞骨格の状況については、現在、画像解析を進めている。

今後、トランスクリプトーム解析による遺伝子発現状況の確認を行い、高圧凍結固定による葉緑体やミトコンドリアの電子顕微鏡観察を行う準備も進めている。これらの結果を総合することで、宇宙におけるコケ植物の成長過程が包括的に理解されることが期待される。

## 参考文献

- 1) Cove, D., Bezanilla, M., Harries, P., Quatrano R.; Mosses as model systems for the study of metabolism and development, *Annu. Rev. Plant Biol.* 57: 497–520 (2006).
- 2) Rensing, S.A., Lang, D., Zimmer, A.D. *et al.*; The *Physcomitrella* genome reveals insights into the conquest of land by plants, *Science*, 319: 64–69 (2008).
- 3) Takemura, K., Kamachi, H., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I., Hanba, Y.T.; Hypergravity environment increases chloroplast sizes, photosynthesis and plant growth of the moss *Physcomitrella patens*, *J. Plant Res.* 130: 181–192 (2017).
- 4) Takemura, K., Watanabe, R., Kameishi, R., Sakaguchi, N., Kamachi, H., Kume, A., Karahara, I., Hanba, Y.T., Fujita, T.; Hypergravity of 10g changes plant growth, anatomy, chloroplast size, and photosynthesis in the Moss *Physcomitrella patens*, *Microgravity Sci. Technol.* 29: 467–473 (2017).
- 5) Mori, A., Kamachi, H., Karahara, I., Kume, A., Hanba, Y.T., Takemura, K., Fujita, T.; Comparisons of the effects of vibration of two centrifugal systems on the growth and morphological parameters of the moss *Physcomitrella patens*. *Biol. Sci. Space*, 31: 9–13 (2017).
- 6) 神阪盛一郎; 国際宇宙ステーション国際宇宙ステーション/「きぼう」利用科学実験テーマ実験成果報告書. 宇宙航空研究開発機構 (2011).
- 7) Fujita, T., Kamachi, H., Karahara, I., Kume, A., Sakata, Y.; Toward microgravity experiments in Moss: the emerging model Land Plant, *Physcomitrella Patens* on International Space Station and More. *Space Utiliz. Res.* 29: 19–20 (2015).