

二本鎖 DNA 分子の成層圏曝露実験(ExVISTA プロジェクト)

三木健司(京都大学), 望月智弘(神戸大学, 東京工業大学), 山谷昌大(宇宙航空研究開発機構), 水村好貴(宇宙航空研究開発機構), 萩原大輔((株)GOCCO.), 遠藤孝則((株)GOCCO.), 森誠之((株)GOCCO.), 佐原理(徳島大学)

Stratospheric exposure of double-stranded DNA molecules (ExVISTA project)

Kenji Miki (Kyoto University), Tomohiro Mochizuki (Kobe University, Tokyo Institute of Technology), Masahiro Yamatani (JAXA), Yoshitaka Mizumura (JAXA), Daisuke Hagiwara (GOCCO.), Takanori Endo (GOCCO.), Masayuki Mori (GOCCO.), Osamu Sahara (Tokushima University)

1. 研究概要 はじめに

成層圏に微生物が存在することは 1930 年代から報告¹⁾⁻⁴⁾されており、成層圏における微生物の動態解析のためのサンプリングが行われてきている⁵⁾。しかし、どのような微生物が成層圏で活性を保持して存在しているのかを網羅的に解明するには至っていない。そこで本研究では、宇宙空間に近い極限環境である成層圏に耐える微生物はどのようなものかを、ゲノム DNA の構造・活性特性に着目し、微生物を用いた成層圏曝露実験を行う。これにより、成層圏、さらには広範な宇宙空間における微生物ならびに遺伝性有機分子が、活性を保持した形で伝播する可能性の有無を、実験的に解明することを目的とする。

2. 実験方法

一部の微生物においては、そのゲノム分子である二本鎖 DNA 分子が、一般的な構造とは異なる立体構造を持つことが知られている⁶⁾。本研究では、二本鎖 DNA の構造的差異が、成層圏環境における微生物の耐性にどの程度寄与するかを解明したい。そこで、JAXA による B22-07 の大気球打ち上げに参画し、一般的な DNA を持つ 7 種類と特異な DNA 構造を持つ微生物 4 種類を高度 27,000m の成層圏に一定時間曝露させた。これにより成層圏での UV-C や宇宙線等に対し、DNA の立体構造の違いによる耐性の差異を比較した。また、

JAXA による B22-07 のフォローアップ試験としてゴム気球による同様の曝露試験を行い、研究の冗長性を確保することとした。打ち上げた微生物サンプルは回収後に、まずその生死を判定するために培養実験を行い、また DNA へのダメージを定量的に評価するため、回収した微生物から DNA を抽出し、電気泳動に供した。

3. 微生物格納モジュールの設計

成層圏環境に対する DNA の構造的・活性的耐性を解析のために、微生物の外気への曝露および最も影響の大きい紫外線照射を可能とする格納モジュールの設計を行った。格納モジュールは石英ガラスを格納容器として用い、ラテックス素材の蓋および耐水・通気性の高いフィルターを用いて微生物の大気曝露を可能とした。(図 1) また、格納モジュール内で微生物を付着させたガーゼの固定するためにアルミ素材の芯材をバネ状に整形し格納モジュール内に固定できるように設計を行った。着水時の衝撃耐性は 2.5 m 程度の高さ (~7 m/s) から、格納容器を上、下、横向きにして水面に落下させても破損しないことを確認した。また水没時を想定した水密試験においては格納モジュールを水中で 0.2 気圧まで減圧しモジュール内の空気を抜き 1 時間後に 1 気圧に戻しても浸水しないことを確認した。微生物格納モジュールは図 2 のような外郭フレームによって B22-07 のモジュール上部にタイラップによって固定を行った。



図1 JAXA B22-07 における微生物格納モジュール

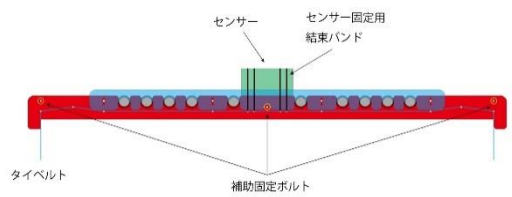


図2 微生物格納モジュールの固定外郭フレーム

また、宮古島での成層圏曝露実験においては、同様の仕様の格納モジュールを小型化し結束バンド等で簡易に打ち上げモジュールに固定できるように設計をした。小型の石英管の中にバネ状線材で微生物を付着させたガーゼを固定し、耐水・通気性の高いフィルターにて蓋をし、全体をシリコンチューブで覆い切り込みを入れることで石英管を剥き出しにしている(図3)。耐衝撃・水密試験結果も良好で実験の衝撃に十分対応できることを確認した。



図3 宮古島放球試験での微生物格納モジュール

4. 成層圏暴試験の行程

2022年6月6日に行われたJAXAによる大気球B22-07プログラムは北海道大樹町の大樹航空宇宙実験場から概ね5m/sec程

度で上昇し、大気密度が比較的薄くなってくる20,000m付近では7m/secまで上昇速度を上げ、打ち上げ後77分で北北東約103°の方角に62km程度まで飛翔し、高度27150mを保ち東北東283°の方角で水平飛行に入った。打ち上げ後155分でバーストし東北東103°に20km程度移動した後、打ち上げ後186分で着水した(図4)。

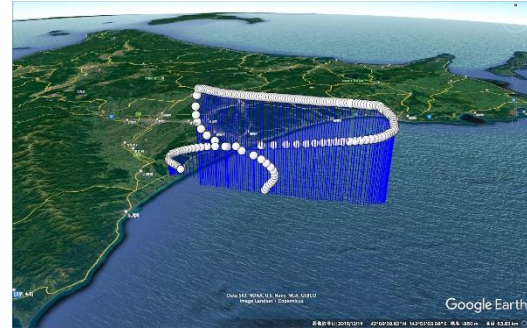


図4 JAXAの大気球B22-07プログラムの飛行:
Data SIO, NOAA, U.S Navy, NGA, GEBCO Image Landsat / Copernicus

その後、2022年6月10日に行われた沖縄県宮古島での放球試験ではゴム気球を用い池間中学校より概ね5m/sec程度で上昇させた。大気密度が比較的薄くなってくる20,000m付近では7m/secまで上昇速度を上げ、打ち上げ後62分で東南東約100°の方角に32.8km、19,600m程度まで飛翔し、打ち上げ後81分には偏東風に乗り西北西274°の方角に22.1km、29,939mまで上昇しバーストした。その後東北東約76°で下降しながら移動し、打ち上げ後97分で着水した(図5)。

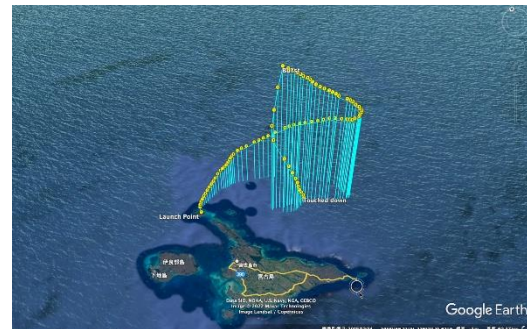


図5 沖縄県宮古島でのフォローアップ放球試験における飛行軌跡: Data SIO, NOAA, U.S Navy, NGA, GEBCO Image ©Maxar Technologies

5. 成層圏環境曝露によるストレス因子計算

JAXAによる大気球B22-07プログラムでは、微生物が成層圏において受けたストレスを評価し、成層圏環境と微生物生態

の関係を定量的に評価することを目的としている。成層圏環境の中でも、特に宇宙放射線や紫外線環境は計測が難しく、現在は成層圏において微生物が受けたUV-C量を計測したデータはない。そこで、本研究ではいくつかの仮定を設けることにより、北海道におけるデータを基に、微生物が受ける宇宙放射線や紫外線環境を簡易的に求める手法を考察する。Miki (2020)より、高度Zにおける太陽からの放射照度は近似的に以下の式で表される。

$$S = S_0 \exp\left(-\frac{kM}{R} P_0 \int_Z^{Z_2} \frac{1}{T} \exp\left(-\frac{h}{H}\right) dh\right) \quad (1)$$

ここで S_0 は太陽定数、 Z_2 は対象とする大気の上限、 k は定数、 M は大気モル質量、 R は気体定数、 P_0 は地上における大気圧、 H は地球のスケールハイトである。本式の280nm以下の波長について考察する。アメリカ国立再生可能エネルギー研究所では280nm以上の波長を観測しており(<https://www.nrel.gov/grid/solar-resource/spectra-am1.5.html> 2022/11/02, 図6)、太陽定数から280nm以上の波長の放射照度の総量(S_{obs})を引くと、大気圏外における280nm以下の波長の太陽放射照度の合計値($S_{0,UV}$)を以下のように近似的に求めることが出来る。

$$S_{0,UV} = S_{co} - S_{obs} = 22.07 \text{ (Wm}^{-2}\text{)} \quad (2)$$

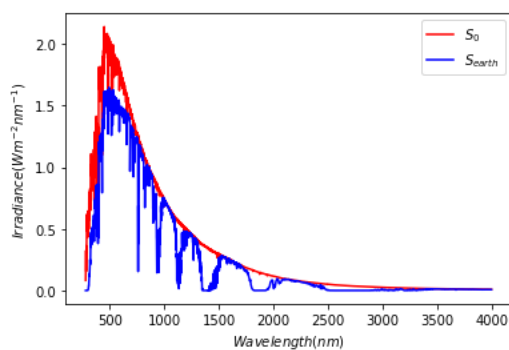


図6 NRELにより計測された大気圏外における太陽放射強度

Miki (2020)より、上空80km程度までは近似的近似でき、放球日時に最も近い時間で利用可能な最も近いラジオゾンデの

データであった、北海道札幌市の朝9時の時点でのラジオゾンデのデータ(図7)から、地上から成層圏までの気温を最小二乗法により以下の連続式で近似した。

$$T \approx 89.20 \times \sin\left(\frac{h - 41516.75}{44101.49} \pi\right) + 301.35 \quad (3)$$

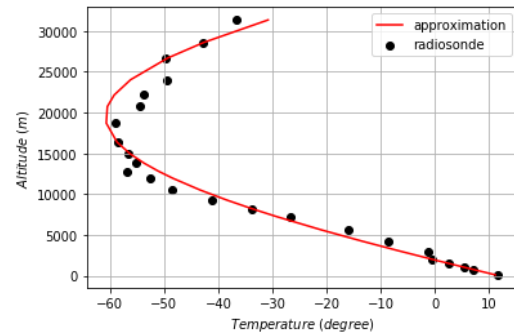


図7 札幌市における放球日当日の朝9時の各高度における気温と連続関数への近似

ここで、

$$\int_{15000}^{80000} \frac{1}{T} \exp\left(-\frac{h}{H}\right) dh \approx 6.35 \quad (4)$$

より、対流圏界面では大気圏外部に比べて該当する波長の強度が十分弱くなった値として e^{-10} 倍を与えると、以下の関係式が得られる。

$$S_{0,UV} \exp\left(-6.35 \times \frac{kM}{R} P_0\right) = e^{-10} S_0 \quad (5)$$

これより、定数 k は

$$k = 4.46 \times 10^{-3}$$

と求められる。

以上より、高度ZにおけるおおよそのUV照度は以下の式で求められる。

$$S_{UV} = S_{0,UV} \exp\left(\frac{4.46 \times 10^{-3} M}{R} P_0 \int_Z^{Z_2} \frac{1}{T} \exp\left(-\frac{h}{H}\right) dh\right) \quad (6)$$

ここから、微生物が成層圏に突入後、フライトパス上で受ける積算照度 $J_{total,UV}$ は、各高度における滞在時間を $t(z)$ と置くと以下の式で求められる。

$$J_{total,UV} = \int_{15000}^{Z_{top}} 22.07 \times \exp\left(\frac{4.46 \times 10^{-3} M}{R} P_0 \int_Z^{Z_2} \frac{1}{T} \exp\left(-\frac{h}{H}\right) dh\right) t(z) dz$$

ここで Z_{top} はフライトパスの最高到達点である。本式により近似的に得られた微生物への影響が、実測データと整合するのかを確認するため、今後は既知の UV-C 照度環境における微生物活性評価と成層圏における *in situ* な紫外線強度観測が必要となる。

6. DNA 構造特性によるダメージ評価

一般的な DNA を持つ微生物 7 種類と特異な DNA 構造を持つ微生物 4 種類、計 11 サンプルを打上げ、培養法による生死判定と、定量的な DNA の分解判定を試みた。残念ながら大気球 B22-07 では降下中にイリジウムブイが振られ、固定外郭フレームに衝突したことにより、微生物格納モジュールが流出し、特異的 DNA サンプルの全てを含む大部分のサンプルが失われた。失われたサンプルは海洋を含む自然界で採取されたものであり、海洋環境に流出しても問題となることはない。そこで、本発表においては、ゴム気球による試験結果も含めた暫定的な結果を発表する。培養法による微生物の生死判定においては、通常の DNA 型の微生物は 6 種類中 3 種(うち、大気球サンプルは 4 種中 1 種)が、異形 DNA 型の微生物は 4 種中 3 種(大気球サンプル無し)の生存が確認された。一方、DNA 分子への影響を定量的に評価した結果では、一般的な DNA 型では 2 サンプル中少なくとも 1 種(大気球サンプル)はほぼ完全に分子鎖が分解され、特異な DNA 型では 3 サンプル(大気球サンプルなし)中少なくとも 1 種はほぼ完全に分子鎖が保存されていた。

7. おわりに

現時点では、大気球により打ち上げたサンプルの回収率が悪く、特に本研究において主眼に置いた特異的 DNA 型のサンプルの全てを損失したこともあり、断定的な結論を得るには至っていない。しかしながら、大気球の前後に行ったゴム気球による試験結果も加味すると、生物ゲノムである二本鎖 DNA 分子はその構造の差異により、高濃度の紫外線照射を受ける成層圏環境における安定性に差が生じ

ることを示唆する結果が得られている。従来の成層圏における微生物耐性の研究は、微生物の DNA 修復機構をはじめとした細胞生理学的観点からのアプローチが主であった。本研究は DNA の高次構造の差異に着目している点で新規性が高い。

本研究結果は、成層圏においてどのような生態系が存在しているのかを明らかにすると同時に、成層圏環境に類似した火星環境探査機が送られた場合の惑星保護に関する生物の生存可能性の解析や、成層圏を通した地球規模での微生物大陸移動、地球起源の微生物が惑星間移動を行う逆パンスペルミア説の検証にも応用可能なデータである。

(参照文献)

- 1 Meier, F. C.: Collecting micro-organisms from the Arctic atmosphere. With field notes and material by Charles A. Lindberg, *The Scientific Monthly*, 40, 5–20
- 2 Rogers, L. A. and Meier, F. C.: The collection of micro-organisms above 36 000 feet, National Geographic Society, Technical Papers, 146–151, 1936.
- 3 Timmons, D., Fulton, J., and Mitchell, R.: Microorganisms of the upper atmosphere I. Instrumentation for isokinetic air sampling at altitude, *Appl. Environ. Microb.* 1, 4, 229–231, 1966.
- 4 Imshenetsky, A., Lysenko, S., and Kazakov, G.: Upper boundary of the biosphere, *Appl. Environ. Microb.*, 35, 1–5, 1978.
- 5 Bryan NC, Christner BC, Guzik TG, et al. Abundance and survival of microbial aerosols in the troposphere and stratosphere. *ISME J.* 2019;13:2789-2799. doi: 10.1038/s41396-019-0474-0
- 6 Ghosh A, Bansal M. A glossary of DNA structures from A to Z. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 2003;59:620-6. doi: 10.1107/s0907444903003251.
- 7 Miki K. Preliminary analysis of aerosol particle deposition in the middle atmosphere. *Eurozoru Kenkyu.* 2020; 35:273-278. doi: 10.11203/jar.35.273