

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）、
三田 肇（福岡工大）、今井 栄一（長岡技大）、杉本 学（岡山大）、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, Hajime Mita, Eiichi Imai, Manabu Sugimoto, Hirohumi Hashimoto

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

E-Mail: yokobori@ls.toyaku.ac.jp

Abstract: Estimating survivability of terrestrial organisms in space is important to evaluate upper limit of microbe density of the probes to the extraterrestrial bodies such as Mars. However, in most microbe exposure experiments in space, extremophiles have been used. We proposed a 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 Multi-Purpose Experiment Platform attached to the robotic arm of Japanese Exposure Module of International Space Station for several days. To materialize this experiment, we selected sensing methods of environmental factors and candidate organisms for exposing to space (*Deinococcus radiodurans*, *Deinococcus aerius*, *Deinococcus aetherius*, *Saccharomyces cerevisiae*, and rice seeds). For the analyses of gene expression pattern affected by space condition, genome drafts of three strains of *D. radiodurans*, *D. aetherius*, and *S. cerevisiae* were determined. Determination of the exposure condition of *S. cerevisiae* is under process.

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

1. はじめに

火星を起源とする隕石に微生物様構造が見いだされた¹⁾とする報告を契機として、急速に火星での生命探査が進行している²⁾。McKay et al. (1996) の報告による火星起源隕石中の微生物様構造が、生物由来であるかについては賛否両論あり、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知られている。さらに、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。火星が現在生命を育む惑星であることをこれらが保証するわけではないが、その可能性を示しているものでもある。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。少なくとも、月で採取された岩石中に地球由来のものが含まれていることが報告されている。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⁾、さらには金星にさえ生命の存在可能性が議論されるなど、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。

以上のような状況で、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（MMX）の準備が進行中である。アルテミス計画も、火星探査を目標に掲げている。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探査を進める上では、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、惑星保護の観点から問題となる。特に、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期間中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、十分な安全係数をかけて、探査機の滅菌条件が決定されることが必要である。

地球生命の宇宙空間における生存能力の検証実験はアポロ計画（1960 年代）段階まで遡る⁵⁾。その後は、科学衛星や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）の建設を契機として 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、*Bacillus subtilis* の芽胞（内生孢子）が遮光条件下では、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、地球起源の真正細菌の中には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「たんぽぽ」実験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かを推定した⁸⁾。乾燥、紫外線、放射線に対して高い耐性を示す *Deinococcus radiodurans* R1、遮光条件下では、 10^9 細胞からなる細胞塊から宇宙曝露を開始する時、48 年程度死滅しないことが推定されている⁹⁾。

D. radiodurans R1 と同等の宇宙耐性を持つ細菌の遮光下での生存率を $y = -0.2x$ [x は宇宙への曝露年数、 y は生存率の常用対数を取った物。 10^{10} 細胞 (土壌 1 g に存在する細胞数) からスタートすると、50 年で細胞数が 1 になる] とすると、その 1/10、1/100 の生存率では 10^{10} 細胞からスタートすると 5 年および 0.5 年で細胞数が 1 になると計算される。*D. radiodurans* のような乾燥、紫外線、放射線耐性菌ではない「非」極限環境生物であっても、宇宙耐性が *D. radiodurans* の 1/100 程度であれば、 10^{10} 細胞から始めれば地球から火星への最短到達期間程度でも生存する細胞が存在する可能性が示唆される。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。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。

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

我々は 2019 年度に、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) ロボットアーム

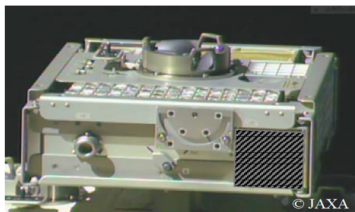


Fig. 1. Tanpopo apparatus on ExHAM.

(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) を提案した。MPEP を利用した

先行実験例として Free Space PADLES が挙げられる。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 運用と同時に実験が可能となり、さらに実験機会を広げると考えられる。

将来のアルテミス計画とその後の実験における月軌道周回ステーションや月面での微生物宇

宙曝露実験を検討する場合、省スペース・省コス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、個々の曝露ユニットの設計は自由度が高く、また曝露ユニットの個数を変えることで実験スケールの変更も容易である。また、「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、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考える上でも重要である。

以上を踏まえ、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

地球由来生物の宇宙生存に影響を与える環境因子として、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、ここでは微小重力の生物影響は考えない。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。

① 光 (紫外線) : 宇宙における光、特に紫外線 (UV)、の照射は地球生命の生存に最も強く影響を与えると考えられる。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。たんぽぽ実験⁸⁾における ISS 軌道上の UV 照射推定値は $42,000 \text{ mJ/cm}^2/\text{day}$ (MgF₂ 窓の時の中央値から) 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

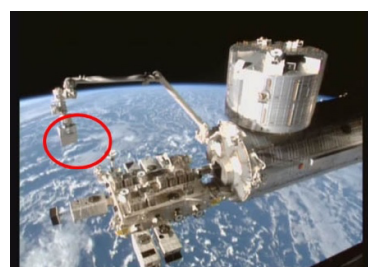


Fig. 2. Japanese robotic arm on Kibo of ISS. MPEP is pointed out with red circle.

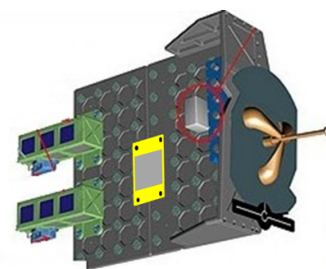


Fig. 3. Proposed plan how exposure apparatus (yellow) is attached on the MPEP.

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、1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**：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、生物は生存可能上限よりも高温に曝露されると死に至る。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。

2019 年度に、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. (*D. radiodurans* の野生株と DNA 損傷修復系遺伝子変異株等) を第 1 に選択した。*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ている⁷⁾。本提案における短期曝露実験の実験結果に関する評価は、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によって可能になると言える。また、極限環境生物の代表として *D. radiodurans* は広く極限環境に対する対応が研究されており、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有利である。

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⁸⁾。野生型 *D. radiodurans* (R1 株) のゲノム配列は報告されている⁸⁾。2019 年度に、我々はたんぼぼ実験で用いた *D. radiodurans* DNA 損傷修復系遺伝子変異株(凝集核様体依存的末端結合関連遺伝子 *pprA* の変異株 *D. radiodurans* KH311、相同組換え関連遺伝子 *recA* の変異株 *D. radiodurans* rec30、ヌクレオチド除去修復並びに UV 損傷除去修復関連遺伝子 *uvrA* と *uvrE* の変異株 *D. radiodurans* UVS78) のゲノム解析を開始した。*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図り、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 ISS 運用に関わるきぼう利用センターに提案し、議論してきた。

2019 年に

4-2. 短期宇宙曝露実験の環境パラメータ測定法の検討

紫外線計測法の検討について報告する。

紫外線計測法として、紫外線光量分布測定フィルム(UV スケール。富士フィルム)の利用を最初の検証対象とした。本年度は、まず、UV スケールは真空下での使用が想定されていないため、真空に対する耐性があるか、検討した。UV スケールを常温常圧で UV 照射し(対照として遮光条件下でのサンプルあり)、その後遮光条件下で真空に 1 週間曝露した。常圧に戻した後、真空曝露前と比較を行うと、多少露光による発色が濃くなっているように観察されたが、ほぼ真空曝露前後では同様の呈色であると結論された。また、遮光していた UV スケールに対して UV 照射すると、真空曝露前と同様の呈色を示した。これらの実験から、UV スケールは真空曝露を伴う宇宙実験で使用可能であることが示唆された。今後、真空下での UV 曝露時の挙動を確認することが必要であると考えられる。

また、たんぼぼ実験⁷⁾における ISS 軌道上の UV 照射推定値は 42,000 mJ/cm²/day (MgF₂ 窓の時の中央値から)である。これは、UV スケールの測定上限(カ

タログ値：～100,000 mJ/cm²) にたいして数日分に相当する。UV スケールの宇宙での使用に当たっては、UV スケールに対して紫外線透過・可視光フィルタを使用した場合の併用や、他の測定法〔アラニン蒸着膜（たんぽぽ実験等で実績）〕の検討も考慮すべきであると結論した。

現在、上記 UV スケールに加え、放射線測定法としての小型のガラス線量計素子（GD-300 シリーズ。千代田テクノル）を使用したラジオホトルミネセンス（RPL）法、並びに最高到達温度記録法としての真空対応のサーモラベル（日油技研工業）の利用について、引き続き環境試験等の検討を行っている。

4-3. 宇宙曝露実験の曝露対象の候補生物の検討

① *Deinococcus* sp. : 2019 年度に、*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スによって得た。White et al.⁸⁾で報告された *D. radiodurans* R1 のゲノム配列をレファレンスゲノム配列として解析を進めていたが、その配列には多くの間違いがあることが知られていた。これに対して、鳴海らが新たに *D. radiodurans* R1 のゲノム配列を解読した。現在は、この配列をレファレンス配列として、rec30、UVS78、KH311 株の配列を再解析している。また、*D. aetherius* のゲノムの de novo 解析についても、再解析を進め、6 種のレプリコン（染色体、プラスミドなど）にゲノム配列が纏められた。*D. aetherius* ゲノムのコードするタンパク質遺伝子の数は、*D. radiodurans* R1 のタンパク質遺伝子数の 1.5 倍に上る（約 4,700）。これは、ゲノムドラフトの報告されている *D. aerius* ゲノムのコードするタンパク質遺伝子数（約 4,400）よりも多い。

これらのゲノム情報を元に、宇宙環境の生物生存に関わる因子（真空、紫外線、放射線等）への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。その際には、*D. aerius* 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。

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。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。ま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。現在は酵母の生存率に影響を及ぼし得る環境因子（乾燥や真空）に対する耐性、および酵母の生存率を最も高めるための実験法（菌液の濃

縮・乾燥・乾燥菌体の懸濁および希釈・曝露基板のサンプル孔への注入法など）を検討している。

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。

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 aerius* TR0125, isolated from the high atmosphere above Japan. *Genome Announcements* 6: e00080-18 (2018)