

「スペース・モス」の活動報告：ISSにおける宇宙微小重力実験から地上過重力実験まで

藤田知道（北大），久米篤（九州大），蒲池浩之（富山大），半場祐子（京都工繊大），日渡祐二（宮城大），唐原一郎（富山大），小野田雄介（京都大），横井真希（北大），ヴィアチェスラヴォヴァ アリサ（北大），山下祐輝（北大），バイヤー マルセル（北大），安田柚里（京都工繊大），中澤誠（京都工繊大），新濱梨奈（富山大），佐々木智哉（富山大），達かおる（宮城大），平山桃菜（宮城大），笠原春夫（JAMSS），鈴木智美（JAXA），嶋津徹（JSF），鎌田源司（AES），矢野幸子（JAXA）

Report on Space Moss project: from microgravity experiments on the ISS to hyper-gravity experiments

Tomomichi Fujita^{*1}, Atsushi Kume², Hiroyuki Kamachi³, Yuko T. Hanba⁴, Yuji Hiwatashi⁵, Ichirou Karahara³, Yusuke Onoda⁶, Maki Yokoi¹, Vyacheslavova Alisa¹, Yuki Yamashita¹, Marcel Beier¹, Yuri Yasuda⁴, Makoto Nakazawa⁴, Rina Shinhama³, Tomoya Sasaki³, Kaoru Tsuji⁵, Momona Hirayama⁵, Haruo Kasahara⁷, Tomomi Suzuki⁸, Toru Shimazu⁹, Motoshi Kamada¹⁰, Sachiko Yano⁸

^{*1}Hokkaido University, Kita10 Nishi8 Sapporo, Hokkaido 060-0810, ²Kyushu University, ³University of Toyama, ⁴Kyoto Institute of Technology, ⁵Miyagi University, ⁶Kyoto University, ⁷Japan Manned Space Systems Corporation, ⁸Japan Aerospace Exploration Agency, ⁹Japan Space Forum, ¹⁰Advanced Engineering Services,

*E-Mail: tfujita@sci.hokudai.ac.jp

Abstract: Mosses in bryophytes are among the pioneer plants that grow in a variety of harsh environments on Earth. The small size of mosses makes them suitable for space experiments in the limited space on the International Space Station (ISS). We have focused on the model moss, *Physcomitrium patens* (previously named as *Physcomitrella patens*), which is easy to analyze gene function, and have conducted the moss cultivation experiments for about one month from microgravity environment on the ISS to hypergravity environment using the low-speed centrifugal device on the ground. In this report, we will report our analyses on how the growth, photosynthetic activity, mechanical properties of stems and gene expression of *P. patens* change between μg and 10 g.

Key words: hypergravity, International space station, microgravity, moss, *Physcomitrium patens*

1. はじめに

人類が実際の宇宙活動を実現する過程において、宇宙空間における生態系やその利用の仕組みを構築していくことは重要な課題である。特にヒトを含む地上のすべての生き物を支える生産者、植物の宇宙利用は最も重要な課題の1つである。

これまでにシロイヌナズナやいくつかの作物種を用いた宇宙実験が実施され、地上と宇宙環境での生育状況の違いが報告されている。しかし、宇宙環境での植物栽培実験の機会が極めて限られており、植物が宇宙環境でどのように発生し、成長するのか、その仕組みや生理応答の詳細はまだほとんどわかっていない。また地上の生態系では、被子植物以外にもさまざまな植物が相互に関わっており、宇宙空間でそれぞれの植物がどのように成長するのかを理解し、多様な植物資源を宇宙環境下で有効に活用することも重要になる。

我々は、宇宙実験を行うモデル植物としてコケ植物に

注目し、「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、2015年12月にフィジビリティスタディに選定され、JAXA側の支援を受け研究を進めた^{1, 2)}。そしてこれまでに2度コケサンプルを打ち上げ、国際宇宙ステーション（ISS）きぼう実験棟で約4週間にわたる栽培と顕微鏡ライブセル観察を実施した。そして栽培したコケサンプルやデータを地上に回収し、成長や生理応答、遺伝子発現解析などを進めた。またこれらISS実験と並行して地上における過重力栽培実験等も実施した。

2. 宇宙微小重力実験および地上過重力実験の概要

コケ植物は南極域から都市部、あるいは火山荒原など地球上の厳しい環境地域を含んだ陸上のあらゆるところに生育している重要なパイオニア植物である。約2万種あるコケ植物の中でもヒメツリガネゴケは、相同組換え率が高く、遺伝子ターゲティングによる遺伝子の機能解析

が可能なコケ植物としていち早く注目を浴び、全ゲノム解読が完了し、ゲノムワイドな研究が可能なモデルコケ植物である³⁾。またその大きさが最大でも 1cm 程度と小型であるため、ISS 与圧部内の限られた実験設備の中でも多検体の実験を1度に行うことができ、繰り返し実験に有利である。

このように制限の多い宇宙実験にも有利な条件を多く持つと考えられるモデルコケ植物、ヒメツリガネゴケを用い、「スペース・モス」プロジェクトを実施した。宇宙栽培実験としては、ISS 日本実験棟「きぼう」で開発されてきた植物栽培技術を活用し、多数のヒメツリガネゴケを μg 環境下で育てた。一方、地上における過重力栽培実験では独自に開発した過重力遠心植物栽培装置を用いて、10 g までの過重力環境下で約 1 ヶ月間の栽培実験を行った⁴⁾。これらの実験により μg から過重力までの段階的なデータを得ることで重力のコケ植物の成長等に与える影響を包括的に調査している。

より具体的には、 μg 栽培実験として、ISS 軌道上の細胞培養装置 (CBEF) でヒメツリガネゴケを 27 日間培養したのち、サンプルを地上に回収し、その成長測定、形態観察、光合成活性測定、遺伝子発現解析等を行った (Run1, Run2, 繰り返し実験)。また軌道上の蛍光顕微鏡を利用し、ヒメツリガネゴケの細胞質流動や細胞小器官の動きや仮根の成長をライブ観察した (Run3, 軌道上観察)。宇宙栽培実験のコントロール (対照実験) としては ISS 内での 1 g 栽培実験 (宇宙 1 g) および地上での 1 g 対照実験 (地上 1 g) を行い、CO₂ 濃度や光、温度・湿度環境についても、可能な限り軌道上環境に合わせて実施した。

Run1, Run3 実験は SpX-18 により 2019 年 7 月に、Run2 実験は SpX-19 により同年 12 月に打ち上げられた。それぞれのサンプルについて、予定通り栽培・観察が実施され、必要なサンプルは地上に無事回収された。

3. 宇宙実験の解析結果と今後の見通し

地上において、2 g から 10 g の過重力環境でヒメツリガネゴケを 1 ヶ月間栽培した。その結果、ヒメツリガネゴケの成長速度が亢進することを見出した (図 1)。その原因は、葉緑体サイズと茎葉体数の増加にあり、結果として光合成速度が高まるため成長が促進したのではないかと考えられた^{5,6)}。一方でこのような結果から、 μg 環境である ISS や月や火星の低重力環境では、植物の光合成速度は低下し、結果として成長速度も低下するのではないかと予想された。

そこで、ISS で実施した Run1, Run2 の地上回収サンプルについて、栽培処理区ごとの成長量、茎葉体数、茎長、茎直径、茎葉体ごとの葉の枚数、仮根長等を測定した。また光合成速度の測定、葉緑体数や

大きさの測定、茎葉体から葉を取り除いた茎に対する曲げ試験も行い、茎の機械的特性の変化なども調査した。

Run1, Run2 の実験結果をまとめると、 μg と 1 g 対照区の間で、茎葉体数、仮根長などには有意な差は検出されなかった。一方、 μg では 1 g に比べて茎の長さが長く細くなる傾向があった。また μg で栽培したコケの光合成を地上で測定すると、 μg のコロニーでは 1 g 区と比較して有意に光合成速度が低く、葉緑体の大きさも有意に小さかった。このようにヒメツリガネゴケにおける光合成の重力応答は、 μg から 10 g の間で葉緑体サイズの変化が鍵となり、光合成活性に影響を与えている可能性があることが確認できた⁷⁾。

また茎葉体の茎の曲げ試験により茎の弾性係数と曲げ剛性の測定を行なった。その結果、茎は重力の増加に伴い断面形状を大きくさせることにより構造的な強度が増加し、またそれと同時に材質は重力の増加に伴い柔らかくなっていった (弾性係数は小さくなった)。このため、結果として茎の曲げに対する強度 (曲げ剛性) は重力環境によらずほぼ一定に保たれていると考えられた。この結果は被子植物では、重力が大きくなるにつれて茎が太くなり構造的な強度が増加するとともに、茎を構成する細胞の細胞壁が硬くなり、結果として弾性係数も大きくなることは異なった応答であった⁸⁾。コケ植物から被子植物へと進化する過程で、茎の弾性の調節機構がどのように変化し、陸上植物の大型化にどのように寄与してきたのか今後さらに理解を深めたい。

また重力の変化と遺伝子発現の変化の関係を調べるため、 μg から 2 g、10 g の各条件で発現変動する遺伝子群を RNA-seq 解析により網羅的に調査した。その結果、1 g と 10 g の遺伝子発現を比較することにより、転写因子やタンパク質のリン酸化に関わる酵素が有意に変動していることが明らかになった。転写因子は植物の成長や環境応答に重要な働きをするものが多く知られていることから注目して解析を進めた。その結果、転写因子の中でも AP2/ERF グループの転写因子が重力の変化に伴う成長の変化に重要

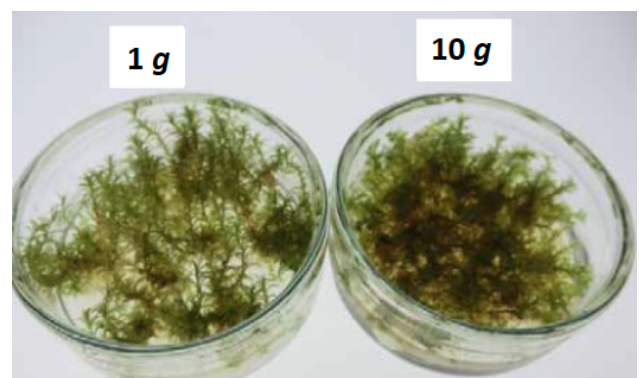


図 1 過重力(10 g)栽培による成長の亢進

な役割を担っている可能性を見出した。そこでこのうちの1つの転写因子を過剰発現するヒメツリガネゴケを作成したところ、10 g 環境下で育てた場合と同様な成長や光合成速度の変化を1 g 環境下でも示すことがわかってきた。

さらに μg と宇宙 1 g の遺伝子発現を比較したところ、やはり AP2/ERF 転写因子群が有意に発現変動している可能性を見出した。従って AP2/ERF 転写因子は重力の変化に応じた形態や成長の制御に重要である可能性が高く、今後この遺伝子群の発現を人為的に制御することで、地上におけるコケ植物の成長促進効果が期待でき、さらに微小重力や低重力下で予想される成長速度の低下を抑えられる可能性も考えられた。

本研究では、重力変化に伴う細胞の成長や細胞小器官、細胞質流動の変化も調査するため、ISS 与圧部内での Run3 実験に加え、地上で遠心顕微鏡を用いた過重力環境下での細胞観察やパラボリックフライトを利用した実験も実施した。その結果、重力の変化に伴い、細胞小器官の動きや細胞質流動が変化し、結果として光合成速度や細胞の成長速度に影響している可能性が考えられた。現在この点についてさらに解析を進めている。

以上の結果より、重力が変化するときのコケ植物の成長は、ある特定の転写因子の発現変動が重要な鍵を担っており、さらに細胞内の物理的状態の変化、すなわち細胞質流動の変化も、重要な役割を果たしていると考えられた。今後はこれらの仮説をさらに検証することで、宇宙におけるコケ植物の成長過程の包括的な理解につなげたい^{9,10)}。そして本成果が他の植物の宇宙空間での成長制御の理解にも役立つことを期待している。

参考文献

- 1) 藤田知道, 蒲池浩之, 唐原一郎, 久米篤, 坂田洋一, 高林厚史, 田中歩, 長嶋寿江, 西山智明, 橋本博文, 長谷部光泰, 半場祐子, 日渡祐二, 松田修, 本村泰三, 矢野幸子, コケ植物を用いた宇宙実験に向けて: スペース・モスの活動報告, *Space Utiliz. Res.* 29: 19–20 (2015).
- 2) 久米篤, 藤田知道, 蒲池裕之, 半場祐子, 日渡祐二, 唐原一郎, 小野田雄介, 横井真希, ヴィアチェスラヴォヴァ アリサ, 山下祐輝, 安田柚里, 中澤誠, 新濱梨奈, 浅野加杜己, 遠かおる, 平山桃菜, 笠原春夫, 鈴木智美, 島津徹, 鎌田源司, コケ植物を用いた宇宙実験 スペース・モスの活動報告, *Space Utiliz. Res.* 34: (2020), SA6000145014.
- 3) Rensing, S.A., Goffinet, B., Meyberg, R., Wu, S.Z., Bezanilla, M.; The Moss *Physcomitrium* (*Physcomitrella*) *patens*: a model organism for non-seed plants. *Plant Cell* 32:1361–1376 (2020).
- 4) 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).
- 5) 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).
- 6) 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).
- 7) 半場祐子, 安田柚里, 中澤誠, 蒲池浩之, 小野田雄介, 唐原一郎, 久米篤, 笠原春夫, 鎌田源司, 嶋津徹, 鈴木智美, 矢野幸子, 藤田知道, 国際宇宙ステーション(ISS)で生育したヒメツリガネゴケ茎葉体の光合成・成長特性, *Space Utiliz. Res.* 35: (2021), SA6000156011.
- 8) 蒲池浩之, 小野田雄介, 新濱梨奈, 浅野加杜己, 森耀久, 佐々木智哉, 唐原一郎, 久米篤, 半場祐子, 笠原春夫, 鎌田源司, 嶋津徹, 鈴木智美, 矢野幸子, 藤田知道, 国際宇宙ステーションで生育したヒメツリガネゴケ茎葉体の機械的特性, *Space Utiliz. Res.* 35: (2021), SA6000156012.
- 9) 藤田知道, 久米篤, 蒲池浩之, 小野田雄介, 半場祐子, 日渡祐二, 唐原一郎; 1g とは異なる重力環境で植物はどのように育つのだろうか -コケ植物を用いた宇宙実験(スペース・モス)から期待できること-, 植物科学最前線 (BSJ-Review), 11: 60-74 (2020).
- 10) Kume, A., Kamachi, H., Onoda, Y., Hanba, Y.T., Hiwatashi, Y., Karahara, I., Fujita, T.; How plants grow under gravity conditions besides 1 g: perspectives from hypergravity and space experiments that employ bryophytes as a model organism, *Plant Mol. Biol.* 107: 279–291 (2021).