

## 第1章

# 細胞生物研究プロジェクト「線虫 *C. elegans* を用いた宇宙環境における RNAi とタンパク質リン酸化」平成18年度活動報告

東谷 篤志\*、東端 晃\*\*、石岡 憲昭\*\*

## Annual Report of “*Caenorhabditis elegans* RNA interference in space experiment (CERISE)” in FY18

By

Atsushi HIGASHITANI\*, Akira HIGASHIBATA\*\*, Noriaki ISHIOKA\*\*

**Abstract:** This study is a candidate experiment for International Space Station (ISS). On ground-based studies, RNA interference (RNAi) for specific gene silencing has been established in *Caenorhabditis elegans*. However, there is no evidence that RNAi works in a microgravity environment as same as in a normal gravity condition. We are investigating the effect of microgravity on phosphorylation processes, signal transduction and muscle declination. In this annual report, we mention the results of ground based studies in FY18; (1) the effect of radiation and magnetic fields, (2) the effects of hypergravity on RNAi, (3) adaptation to gravity changing, (4) detection of the stage that is the most sensitive to hypergravity.

**Key words:** *C. elegans*, RNAi, phosphorylation

### 概 要

本研究では、モデル生物の1つである線虫 *C. elegans* を用いて、微小重力や宇宙放射線をはじめとする複合的な宇宙環境ストレスが生物に及ぼす影響について調べることを目的としている。2004年にフライト候補テーマとして選定されて以来、線虫国際共同実験（ICE-First: International *C. elegans* Experiment-1、2004年4月実施）の結果を踏まえ実験計画の詳細化作業を行ってきた。この作業結果について実験計画のベースライン化審査会を開催し、開発フェーズへの移行が承認された。

また、地上予備実験として、擬似微小重力や過重力下における RNAi マシナリーへの影響評価や、過重力が受精直後の卵核の減数第1・第2分裂に最も影響を及ぼすことを実験的に証明した。さらに、各種突然変異体や RNA 干渉（RNA interference: RNAi）により特異的な遺伝子発現の抑制体を用いて、様々な環境ストレス（放射線や磁場など）の生物影響を DNA マイク

---

\* Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

\*\* JAXA

ロアレイによるゲノムワイドな分子モニターができることを確認した。

今後は、宇宙環境における RNA 干渉機構 (RNAi) の効果についてコントロールとなる、GFP を導入した線虫を用いた実験手法を検証するとともに、RNAi を用いた筋関連の分子群の遺伝子発現と表現系への影響、また、宇宙環境がシグナル伝達を含めたタンパク質リン酸化の変動に及ぼす影響について明らかにしたい。また、宇宙環境下で長期間、連続的な世代交代を通して生じる適応と変異・進化の方向性について明らかにすることを次なる研究課題として位置づけている。

## 1. はじめに

ISS の運用や月面基地、火星探索など、ヒトが長期間宇宙に滞在することがまさに現実となり、次なる宇宙ライフサイエンス分野の課題として、地上と大きく異なる宇宙環境がヒトをはじめとする多細胞生物の継世代に及ぼす影響と、その適応・進化の方向性を解明することがあげられる。モデル生物の線虫は、その世代交代に要する期間が5日間程度と比較的短く、また全ゲノム遺伝子の情報も既に解読され、その約4割はヒトに共通な遺伝子であること、様々な突然変異系統が分離されており、分子遺伝学的な解析が可能な実験材料である。このような特徴を活かして、線虫国際共同実験 ICE-First が企画され、実施された。また、ICE-First 以前にも何度か線虫を用いた実験が行われており、世代の交代や放射線の影響に関する研究が行われている。

現在我々が準備を進めているフライト実験候補テーマでは、近年その有効性が示されている RNAi の効果についての検証と、その技術を用いた宇宙環境が与える筋肉への影響の評価および生体内のイベントで重要な役割を担うリン酸化過程への影響を検証することを計画している。

今年度作業の大きな目標としては、実験計画の詳細化作業を踏まえた実験計画書（ベースライン版）を制定し、実験供試体の開発フェーズへの移行を掲げていた。この作業については、平成18年7月28日に開発フェーズへの移行前審査会を実施し承認された。この承認を受けて、フライト実験に用いる供試体の検証モデルの製作および適合性試験の計画作成に着手した。

また、フライト実験に向けた地上での予備実験として、宇宙で想定される放射線や磁場の影響検討、過重力への影響評価の結果と今後の線虫を用いた宇宙実験の提案概要についても本稿で報告する。

## 2. 成果の概要

### 2.1. 実験計画のベースライン化作業

本フライト実験候補テーマは、2004年にフライト候補テーマと選定されて以来、フライト実験に向けた実験計画の詳細化作業を行ってきた。この詳細化作業では、実験を行うにあたっての科学的技術課題の抽出とそれに伴う地上予備実験での確認、科学達成に必要な諸条件の設定、解析方法の検討確認、実験に必要な供試体の要素検討、実験コンフィギュレーションの設定など、宇宙実験を行うために必要な項目を実験計画書として設定するためのさまざまな検討が行われた。この作業結果を踏まえ実験計画書（ベースライン版）の案を作成し、実験供試体への開発フェーズへの移行に関して平成18年7月28日に審査会を開催した。

この審査会では、ISS 科学プロジェクト室長を中心とした宇宙環境利用科学委員会委員および外部専門家によって構成された審査委員が、詳細化作業で行った作業および次に挙げる (1) 科学的技術課題が克服されているか、(2) 科学的要求を満たす要素技術が確立されているか、(3) 運用性にクリティカルな課題がないか、(4) 安全性にクリティカルな問題はないか、という4点を踏まえて審査が行われた。

審査の結果、科学的・技術的実現性について十分検討されていると評価でき、問題なく開発フェーズに移行で

きることが確認された。

## 2.2. 地上予備実験の実施

フライトに向けた地上予備実験として、以下の項目について実施した。

### 2.2.1. 放射線および磁場による遺伝子発現への影響評価

宇宙環境はさまざまな環境因子の複合環境であるため、想定される放射線および磁場の影響について、地上での人工的な環境下で生育させた線虫の遺伝子発現の網羅的な変化を DNA マイクロアレイにより評価した。

#### 2.2.1.1. 試料および方法

大腸菌 OP-50 を餌として NGM 寒天培地上で同調的に成育させた野生型雌雄同体 N2 株の成虫に対して、<sup>60</sup>Co の  $\gamma$  線 100Gy を照射し、照射後 3 時間目、12 時間目、24 時間目でそれぞれサンプリングし、全 RNA を抽出精製した。また同じく成虫のサンプルに対して、東北大学金属材料研究所の 6TCSM 装置を用いて、3T ならびに 5T の直流強磁場を付与し、4 時間ならびに 24 時間の継続的な曝露後のサンプルに対して全 RNA を抽出精製した。これらそれぞれの全 RNA を鋳型に逆転写反応による cDNA プローブを作成し、Affymetrix *C. elegans* Genome Array (22,150 gene species, 22,500 element array, Affymetrix, Santa Clara, CA) を用いて、全ゲノム遺伝子の網羅的な発現解析を実施した。

#### 2.2.1.2. 結果

100Gy の  $\gamma$  線照射後、3 時間目で 353 個の遺伝子が有意に発現上昇することが観察された。これらの内、12 時間後、24 時間後まで通じて発現上昇が見られるものは 78 個で、*egl-1* や *ced-13* など放射線被曝に伴う DNA 損傷に依存したアポトーシスの誘導因子が含まれていることが明らかになった。一方、3T または 5T の直流強磁場を付与した後、4 時間目では 0T のコントロール区と比較して、両 T 区で共通に 958 個の遺伝子が有意に発現上昇することが観察されたが、それらの多くは一過的な発現上昇であり、24 時間継続して曝露を続けた場合はコント

表 1 ICE-First 宇宙フライト、100Gy の  $\gamma$  線照射、直流強磁場が線虫全ゲノム遺伝子の発現に及ぼす影響について一部データを抜粋

Probe ID	ICE-First		Magnetic Fields								Radiation							
	FIC Log Ratio	Change	3T 4hr		5T 4hr		3T 24hr		5T 24hr		100Gy 3hr (test1)		100Gy 3hr (test2)		100Gy 12hr		100Gy 24hr	
			ExpC Log Ratio	Change	ExpC Log Ratio	Change	ExpC Log Ratio	Change	ExpC Log Ratio	Change	ExpC Log Ratio	Change	ExpC Log Ratio	Change	ExpC Log Ratio	Change	ExpC Log Ratio	Change
CEG_00001	-0.2	NC	0.4	NC	0.7	NC	0.2	NC	0.4	NC	0.1	NC	-0.6	NC	-0.3	NC	-0.1	NC
CEG_00002	-0.3	NC	0.5	NC	0.5	NC	0.4	NC	0.1	NC	-0.1	NC	-0.3	NC	-0.3	NC	-0.1	NC
CEG_00003	0.1	NC	0.2	NC	0.3	NC	0.4	NC	0.3	NC	0	NC	-0.3	NC	-0.3	NC	-0.6	NC
CEG_00004	-0.1	NC	0.3	NC	0.2	NC	0	D	0.1	NC	0.2	NC	-0.2	I	-0.2	NC	-0.3	NC
CEG_00005	0.3	I	0.1	NC	0.3	NC	0.3	NC	0.4	NC	0	NC	-0.5	NC	-0.2	NC	-0.7	NC
CEG_00006	-0.4	D	-0.7	D	0.1	D	-0.4	D	0.2	NC	-0.8	D	-0.1	NC	0.5	I	-0.7	D
CEG_00007	-0.3	NC	0.6	NC	0.6	NC	0.2	NC	0.3	NC	0.3	NC	-0.7	NC	-0.1	NC	0.3	I
CEG_00008	-1.1	NC	3.8	I	2.6	I	1.3	NC	1.2	NC	2.6	NC	-2.2	D	-1.1	NC	1.3	I
CEG_00009	-0.2	NC	1.1	I	1	MI	0.5	NC	0.6	NC	0	NC	-1.7	D	-0.9	D	1.3	I
CEG_00010	0.1	NC	0.4	NC	0.6	NC	0.4	NC	0.3	NC	-0.2	NC	-0.6	NC	-0.2	NC	-0.3	NC
CEG_00011	-0.6	D	0.9	NC	0.8	NC	0.8	NC	-2.6	NC	0.8	NC	-0.1	NC	-2.2	NC	0.1	NC
CEG_00012	-0.1	NC	0.4	NC	0.4	NC	0.3	NC	0.3	NC	0.2	NC	-0.4	NC	-0.1	NC	0	NC
CEG_00013	0.4	I	0	D	0.2	MD	0.6	NC	0.5	NC	-0.2	NC	-0.4	NC	0	NC	0.2	NC
CEG_00014	-0.3	NC	0	D	0.2	NC	0.6	NC	0.2	NC	0.3	I	0.2	I	0.3	I	0.1	I
CEG_00015	0	NC	0.3	NC	0.3	NC	0.4	NC	0.2	NC	0	NC	-0.4	NC	-0.2	NC	-0.2	NC
CEG_00016	-0.4	D	-0.4	MD	0.3	NC	-0.1	NC	0	NC	-0.4	NC	-0.6	NC	-0.1	NC	-1.7	D
CEG_00017	-0.1	NC	0.2	NC	0.5	NC	0.2	NC	0.3	NC	-0.2	NC	-0.3	NC	0.2	I	-0.2	NC
CEG_00018	-0.1	NC	0.8	I	0.7	NC	0.9	I	0.2	NC	-0.1	NC	-0.9	D	-0.2	NC	0.1	I
CEG_00019	-0.2	NC	1.1	I	0.9	I	0.6	NC	0.2	NC	-0.3	NC	-1.4	D	-0.4	NC	0.5	I
CEG_00020	-0.2	NC	0.1	NC	0.6	NC	0.6	NC	0.1	NC	0.3	NC	-0.5	NC	-0.3	NC	0.9	I
CEG_00021	-0.9	D	0.5	NC	0.8	I	0.3	NC	0	NC	0.3	NC	-0.3	NC	0	NC	-0.4	NC
CEG_00022	0.1	NC	0.2	NC	0.3	NC	0.2	NC	0.2	NC	0	NC	-0.3	NC	-0.1	NC	-0.3	NC
CEG_00023	0.4	NC	0	NC	0.2	NC	0.3	NC	0.1	NC	-0.2	NC	-0.1	I	0.1	I	-0.1	NC
CEG_00024	-0.3	NC	0.3	NC	0.4	NC	0.4	NC	0.3	NC	0	NC	-0.4	NC	-0.2	NC	-0.1	NC
CEG_00025	-0.1	NC	0.6	NC	0.7	NC	0.3	NC	0.2	NC	0.7	I	-0.5	NC	-0.5	NC	-0.9	NC
CEG_00026	-0.4	NC	1	NC	1.1	NC	-0.1	NC	0.2	NC	0.1	NC	-1.7	D	-1.6	D	-0.2	NC
CEG_00027	0	NC	0.9	I	0.4	NC	0.5	NC	0.1	NC	-0.5	MD	-1.5	D	-0.5	NC	0.6	I
CEG_00028	-2.4	NC	1.1	NC	1.2	NC	-0.1	NC	-2.4	NC	-0.5	NC	0.2	NC	0.5	NC	-0.5	NC
CEG_00029	-0.1	NC	0.2	NC	0.4	NC	0.1	NC	0.2	NC	0.1	NC	-0.4	NC	-0.1	NC	-0.2	NC
CEG_00030	0	NC	0.2	NC	0.4	NC	0.5	NC	0.4	NC	-0.5	NC	-1.1	D	-0.2	NC	0.1	NC
CEG_00031	-0.4	NC	0.9	NC	0.7	NC	0.5	NC	0.5	NC	0.4	NC	-0.9	D	-0.8	MD	0.7	I
CEG_00032	0.2	NC	0.4	NC	0.4	NC	0.4	NC	0.3	NC	-0.1	NC	-0.4	NC	-0.4	NC	-0.1	NC
CEG_00033	-0.1	NC	1.3	I	0.8	I	0.5	NC	0.3	NC	0.1	NC	-1.6	D	-0.9	D	0.5	I
CEG_00034	-0.2	NC	0.6	NC	0.7	I	0.6	NC	0.3	NC	-0.2	NC	-0.6	NC	-0.4	NC	-0.1	NC
CEG_00035	-0.3	NC	0.5	NC	0.4	NC	0.6	NC	0.2	NC	-0.2	NC	-0.9	D	-0.4	NC	0.3	I
CEG_00036	-0.1	NC	0.4	NC	0.6	NC	0.1	NC	0.2	NC	0.2	NC	-0.3	NC	-0.2	NC	0.4	I
CEG_00037	-0.5	D	-0.5	D	0.2	NC	-0.2	D	0	NC	-0.4	NC	-0.3	NC	0.1	NC	-0.6	NC
CEG_00038	-0.1	NC	0.4	NC	0.6	NC	0.4	NC	0.2	NC	0.1	NC	-0.2	NC	-0.1	NC	0.5	I
CEG_00039	-0.2	NC	0.3	NC	0.4	NC	0	NC	0.4	NC	1	I	-0.4	NC	-0.1	NC	-2.6	D
CEG_00040	0.1	NC	0.3	NC	0.4	NC	0.4	NC	0.4	NC	0	NC	-0.5	NC	-0.2	NC	-0.1	NC
CEG_00041	0.1	NC	0.3	NC	0.4	NC	0.2	NC	0.2	NC	0	NC	-0.5	NC	-0.2	NC	0	NC
CEG_00042	0	NC	0.1	NC	0.3	NC	0.4	NC	0.3	NC	-0.1	NC	-0.4	NC	0	NC	0.2	I
CEG_00043	0.6	I	0.2	NC	0.3	NC	0.5	NC	0.4	NC	0.1	NC	-0.1	NC	0	NC	0.1	NC
CEG_00044	-2.1	NC	3	NC	1.6	NC	0.6	NC	0	NC	2.4	NC	-0.6	NC	-0.8	NC	0.5	NC
CEG_00045	-0.6	D	0.2	NC	0.5	NC	0.7	I	0.1	NC	-0.2	NC	-0.2	NC	0.3	NC	-0.5	NC
CEG_00046	-0.2	NC	0.2	NC	0.3	NC	0.4	NC	0.1	NC	0.4	I	-0.2	NC	-0.4	NC	-1	D
CEG_00047	-0.2	NC	0.4	NC	0.5	NC	-0.6	D	0.1	NC	0.7	I	0	NC	-0.1	NC	-3	D
CEG_00048	-1	I	0.1	NC	0.1	NC	0.2	NC	0	NC	2.2	I	-0.2	NC	-0.4	NC	-0.5	NC
CEG_00049	-0.6	D	-0.1	D	0.4	NC	-0.2	D	0.2	NC	-0.6	NC	-0.6	NC	0	NC	-0.8	NC
CEG_00050	-0.2	NC	0.5	NC	0.4	NC	0.7	I	0.5	NC	-0.6	D	-1	D	0.2	I	-0.2	NC

ロール区のレベルまで低下がみられた。

また、 $\gamma$ 線照射後3時間目と3Tで4時間曝露とにおいて、共通に発現上昇が確認されたものは、36遺伝子あり、それらには様々なストレスに応答する低分子熱ショックタンパク質 *hsp-16* 遺伝子や *p450 monooxygenase cyp-35A* 遺伝子の他に、数種類の *oxidoreductase* 遺伝子が含まれていた。

ICE-First 実験において、宇宙フライトしたサンプルの全ゲノム遺伝子の網羅的な発現解析の結果と、今年度実施した放射線や直流強磁場の影響について比較解析した（表1に一部データを記す）。その結果、(1)放射線によるDNA損傷の修復やアポトーシスに関わる遺伝子群は、微小重力の宇宙環境下でも地上区と同様に発現していること、(2)ミオシン重鎖をはじめとする筋タンパク関連遺伝子群ならびにそれらの転写因子の発現が宇宙環境下で有意に低下すること、(3)放射線照射により特異的に発現誘導される遺伝子を見だし、(4)ICE-Firstの宇宙フライトサンプルではそれら遺伝子の有意な発現上昇は観察されず、ICE-FirstにおけるソユーズならびにISS船内での甚大な被曝はなかったこと、(5)宇宙環境と直流強磁場環境では共に、細胞の水チャネルアクアポリン遺伝子 *aqp-4* の発現が上昇すること、表皮コラーゲンに関与する3遺伝子の発現が低下することが明らかになった。

## 2.2.2. 過重力環境が及ぼす RNAi 効果への影響評価

RNAiの効果に対する重力変化の影響についての予備データを取得するため、過重力、擬似微小重力（3Dクリノローテーション）、宇宙環境（ICE-First）のそれぞれの環境下で生育させた線虫について、RNAiマシナリーに関する遺伝子の発現変動をDNAマイクロアレイによって解析した。

### 2.2.2.1. 材料および方法

本解析における線虫は野生株（Bristol N2）を用いて行われた。生育環境は、

過重力：10G 10日間

擬似微小重力：3Dクリノローテーション（回転速度 X軸：11rpm, Y軸：13rpm）

宇宙環境：10日間宇宙環境に曝露

とした。

各環境に曝露した後、ISOGEN（Nippon Gene）を用いてRNAを抽出し、処理をした後DNAマイクロアレイ（*C. elegans* whole genome array, Affymetrix）で発現解析を行った。

### 2.2.2.2. 結果

参考文献[1]をもとに、RNAiマシナリーに関連する遺伝子群を抽出し、各群の遺伝子発現変化を調べたところ、表2に示すように各群においてRNAiマシナリーに関する遺伝子群には、大きな発現変化は認められなかった。従って、重力が変化してもRNAiのマシナリーに関しては正常に機能し、宇宙環境でもRNAiが十分に機能することが予想される。

## 2.2.3 重力への適応と運動能力

宇宙環境（ICE-First）においては成育させた線虫は、地上対照区と比較して、筋タンパク関連遺伝子群の有意な発現低下が確認された。これらは、微小重力下で生じる宇宙飛行士の骨や筋の萎縮と同様に、微小重力下に適応した線虫においても、筋萎縮が生じていることを強く示唆するものであった[成果論文1]。つまり、恒常的な運動能力を発揮するために線虫の筋肉が、重力の影響により調整され、環境に適応する可能性が考察された。そこで、この可能性を検証するために、今年度はまず、緩衝液で薄く覆い浮力を生じさせた培地で成育成長させた線虫と、強い表面張力が存在する寒天培地上で成育成長させた線虫とを用いて、それぞれ成虫期に、新たな寒天培地上に移し培地上での運動性について、這行跡を比べる実験を行った。

### 2.2.3.1. 材料および方法

6cmのシャーレに大腸菌 OP-50 を塗布した NGM 寒天培地上に、1.5 ml の M9 緩衝液で薄く覆った培地と、緩衝液を加えない NGM 寒天培地のそれぞれに、野生型 N2 線虫の成虫を 3 匹ずつのせ、2 時間培養することで

Gene Name	Flight	Clino	HyperG	Hyper Flag
<i>adr-1</i>	0	-0.2	0.1	NC
<i>adr-2</i>	0.1	-0.2	0.2	NC
<i>alg-1</i>	-0.2	-0.1	0	NC
<i>alg-2</i>	0	0.3	0.4	MI
<i>dcr-1</i>	0.2	0	0	NC
<i>drr-1</i>	-0.1	-0.2	-0.1	NC
<i>ego-1</i>	0	0	0.1	NC
<i>egl-13</i>	0.6	-0.1	0.2	NC
	0.3	0.1	0.2	NC
<i>eri-1</i>	0.3	0	0.1	NC
	0.3	0	0.1	NC
<i>hpt-2</i>	-0.1	-0.2	0	NC
	0.1	0.1	0.2	NC
	0.3	0.2	0.1	NC
	0.1	0	0.1	NC
<i>mes-2</i>	0.3	-0.2	0.1	NC
<i>mes-3</i>	0.1	0.1	0	NC
<i>mes-4</i>	0.2	-0.3	0.1	NC
<i>mes-6</i>	0	-0.2	0.1	NC
<i>mut-7</i>	0.1	-0.2	0.3	NC
	0.2	0	0.3	NC
<i>mut-8/rde-2</i>	0.3	-0.1	0	NC
	0.2	0.1	0	NC
<i>mut-14</i>	0.1	-0.2	0.2	NC
<i>mut-16/rde-6</i>	0	-0.1	0.3	NC
<i>pgl-1</i>	0.1	-0.3	0.1	NC
<i>ppw-2</i>	0.1	-0.3	0.2	NC
<i>rde-1</i>	0.2	0.1	-0.2	NC
	0.1	0.1	-0.1	NC
<i>rde-3</i>	0.3	-0.1	0	NC
<i>rde-4</i>	0.1	-0.2	-0.2	NC
<i>rha-1</i>	0	0.1	-0.2	NC
	-0.1	0.1	0.2	NC
<i>rsd-2</i>	0.1	-0.2	-0.1	NC
	-0.2	-0.1	-0.1	NC
<i>rsd-3</i>	0	-0.1	-0.2	NC
<i>rsd-6</i>	0.2	0	0.1	NC
<i>rrf-1</i>	0.4	0.2	0.4	MI
	0	0	0.1	NC
<i>rrf-3</i>	0	-0.1	0	NC
<i>sid-1/rsd-8</i>	0.4	-0.3	0.2	NC
<i>tsn-1</i>	0.1	-0.1	0.3	NC
<i>vig-1</i>	0.2	0	0	NC
	-0.1	0	-0.1	NC

表2 過重力下における RNAi マシナリー関連遺伝子の発現変化  
RNAi 関連遺伝子群の転写量は、これまでの ICE-First 宇宙実験、過重力、クリノスタットなどの条件下でも、ほとんど変動しない。

数十個の卵を産卵させた。その後、親虫を除去し、20℃で4日間、成虫になるまで成育を続けた。これら成虫を再び、OP-50 を塗布した新しい NGM 寒天培地上に移し、線虫の波形の這行パターンを観察した。

### 2.2.3.2. 結果

その結果、緩衝液で薄く覆った培地上で成育成長させた成虫は、NGM 寒天培地に移した場合、寒天培地上における表面張力の影響を受け、線虫の S 字型体形が対照区に比べてより強く曲がること、さらに、這行した跡の波形の振幅も顕著に増加することを確認した (図1)。すなわち、浮力により線虫にかかる重力ならびに表面張力を低減させた状況で成育成長させた場合、筋肉量が低下し、再び表面張力の強い寒天培地上に移した際、体形ならびに運動を維持するために、より強い振幅の S 字波形をとらざるを得ないことが示唆された。この結果

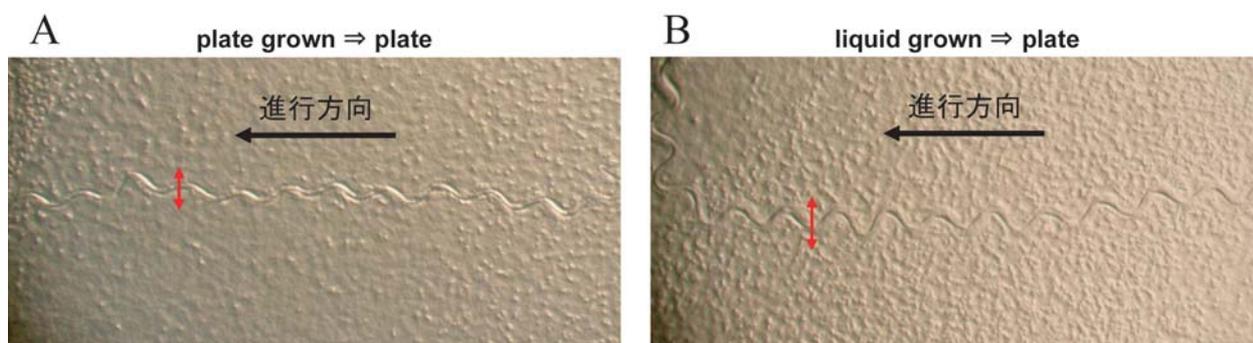


図1 液体培地で成育させた線虫を寒天培地上に移した際、前進するための振幅行動が大きくなる。液体培地で成育させた線虫は、より低い重力下で適応しており、寒天培地上での過重力 (表面張力) 下での行動が変化する。

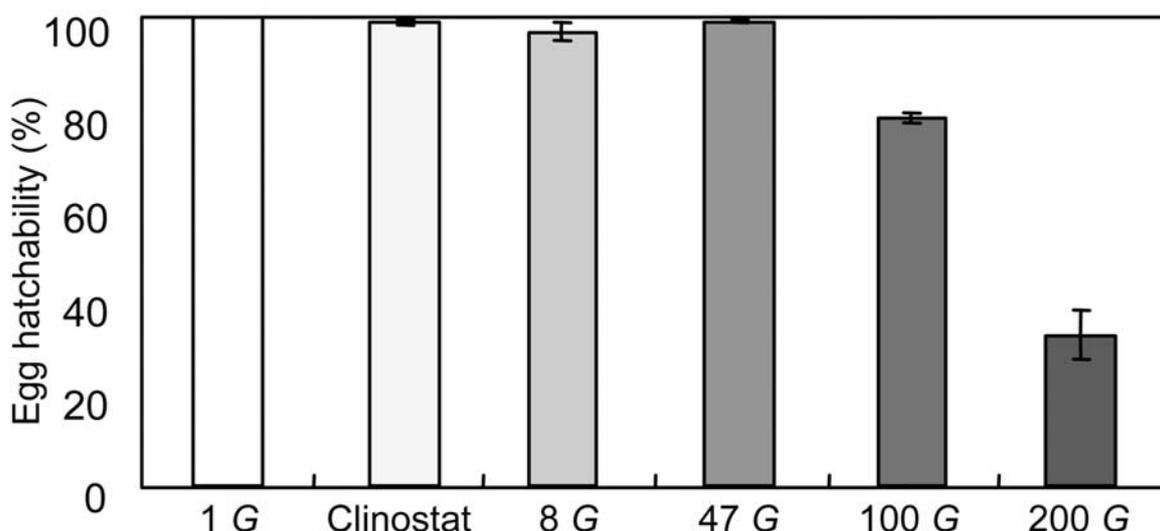


図2 野生型線虫を過重力下で育成、産卵させ、その卵の孵化率を示した。

は、ICE-First 実験ではじめて確認された線虫の筋が微小重力下で遺伝子発現のレベルで抑制を受けることを、強く裏付ける結果であり、また、今回計画の宇宙実験が真に意義深いことにつながることを予感させるものといえる。

#### 2.2.4. 線虫において過重力の影響を最も受けやすい時期の特定

##### 2.2.4.1. 材料および方法

宇宙への打ち上げ等においては、過重力負荷が生じることが知られている。そこで、線虫の過重力に対する影響を調べる目的で、遠心機（バックマン Allegra 25R TJ25 スィングロータ）を用いて、8 G、47G、100G、200G の各過重力での発生ならびに成長についての解析を行った。

##### 2.2.4.2. 結果

雌雄同体野生型を47G 以下の過重力下で育成させた場合、育成・発生、次世代への影響も見られず、宇宙実験で想定される過重力の範囲内では、全く影響がないことが確認された。また、100G 以上の過重力下で成虫にまで育成させた場合、その卵の孵化率が顕著に低下することが確認された（図2）。一方で、1 G 下で受精し数細胞期にまで発生した初期胚に対して、その後、200G の過重力を加えても正常に胚発生が完了し全てが孵化することが示された。以上の結果から、成虫における次世代の生殖細胞形成から受精までの時期が過重力により感受性であることが示唆された。

そこで、次に、100G 下で育成させた成虫（histone H2B::GFP 株）の生殖腺卵母細胞の成熟過程について、核染色体像と MAPK の卵成熟にともなう活性化について調べた。その結果、100G 下でも正常に卵母細胞形成が行われていることが確認された。一方で、100G 下では受精後に生じる母方染色体の減数第1分裂、第2分裂に異常を来し、正常な極体が放出されないこと、その結果、初期胚では高頻度に染色体異常が生じることが確認された。

### 3. まとめ

本フライト実験候補テーマは、2009年初頭のフライト実験実施を目指して準備を進めており、今年度は実験計画のベースライン化が承認され、開発フェーズに移行した。また、地上実験で得られた結果も、フライト実験の価値を高めるための予備データとして蓄積されてきている。

平成19年度は、今年度制作した実験供試体の検証モデルを用いて各種適合性試験（試料の凍結および融解、機能性の確認）や実験手順の詳細化作業を行う予定である。また、地上予備実験として、(1) 重力の変化による運動性の変化を確認するための航空機を用いた運動観察、(2) 軌道上での実験アクティベーションの詳細化、(3) 軌道上での観察系に関する技術検討を行う予定である。

#### 4. 成果発表

- [1] Higashibata A., Szewczyk N. J., Conley C. A., Imamizo-Sato M., Higashitani A., Ishioka N., “Decreased expression of myogenic transcription factors and myosin heavy chains in *Caenorhabditis elegans* muscles developed during spaceflight”, *J. Exp. Biol.*, **209**, 3209–3218, 2006.
- [2] Selch F., Higashibata A., Imamizo-Sato M., Higashitani A., Ishioka N., Szewczyk N. J., Conley C. A., “Genomic response of the nematode *Caenorhabditis elegans* to spaceflight”, *Adv. Space Res.*, in press.
- [3] Higashibata A., Higashitani A., Adachi R., Kagawa H., Honda S., Honda Y., Higashitani N., Sasagawa Y., Miyazawa Y., Szewczyk N. J., Connley C. A., Fujimoto N., Fukui K., Shimazu T., Kuriyama K., Ishioka N., “Biochemical and Molecular Biological Analyses of space-flown nematodes in Japan, the First International *Caenorhabditis elegans* Experiment (ICE-First)”, *Microgravity Sci. Technol.*, in press.
- [4] Higashitani A., Higashibata, A., Sasagawa, Y., Sugimoto, T., Miyazawa, Y., Szewczyk, N. J., Viso, M., Gasset, G., Eche, B., Fukui, K., Shimazu, T., Fujimoto, N., Kuriyama, K., Ishioka, N. “Checkpoint and Physiological Apoptosis in Space-flown *C. elegans*”, *Science on European Soyuz Missions to the International Space Station (2001–2005)*, June 2006, Toledo, Spain
- [5] 東谷篤志、東端晃、森ちひろ、鈴木蓉子、東谷なほ子、山崎丘、福井啓二、石岡憲昭、“モデル生物 *C. elegans* を用いた宇宙実験”、第23回宇宙利用シンポジウム、1月2007、東京

#### 5. 参考文献

- [1] Grishok A., “RNAi mechanisms in *Caenorhabditis elegans*”, *FEBS Lett.*, **579**, 5932–5939, 2005.