

# Current status of Life Detection Microscope (LDM) for Mars surface exprolation

## 火星表面探査のための生命探査顕微鏡（LDM）開発の現状

○山岸 明彦<sup>1</sup>、佐藤 毅彦<sup>2</sup>、村野 由佳<sup>1</sup>、宮川 厚夫<sup>1</sup>、吉村 義隆<sup>3</sup>、佐々木 聡<sup>4</sup>、小林 憲正<sup>5</sup>、癸生川 陽子<sup>5</sup>、藪田 ひかる<sup>6</sup>、三田 肇<sup>7</sup>、今井 栄一<sup>8</sup>、長沼 毅<sup>9</sup>、出村 裕英<sup>10</sup>、藤田 和央<sup>11</sup>、臼井 寛裕<sup>12</sup>

1. 東薬大、 2. JAXA/ISAS、 3. 玉川大、4. 東京工科大、5. 横国大、6. 阪大、7. 福工大、8. 長岡技科大、
9. 広島大、10. 会津大、11. JAXA 、12. 東工大

### Abstract

火星で探査を続けるNASAのMSLは、大気中メタン、土壌中の還元型化合物（硫化鉄）、火星由来有機物の検出を報告した。Vikingの結果の見直しがすすみ、生命探査を今一度実施する必要性が高まっている。十分な体積の土壌を観察することからVikingの装置の二桁高い感度をもつ蛍光顕微鏡装置の開発を行っている。地下の水あるいは水蒸気が表面に噴出している可能性のある場所の候補が複数あり、現在もTGO、ALMA、地上望遠鏡でのメタンと水蒸気の遠隔探査が進んでいる。LDM開発の現状を報告する。

### Background 1

Viking 計画 (1976年)  
3つの生物学実験が行われた。  
クロロメタンとジクロロメタンが検出されたが地球由来の汚染物とされ、火星に生命はいないと結論づけられた。

Vikingの結果の再検討  
Vikingの微生物検出感度は、非常にかつたことが示された。

現在／過去の水の活動を示唆する証拠

大きな流出経路 (the Mars Global Surveyor mission)  
H<sub>2</sub>O アイス (the Mars Odyssey and the Phoenix mission)  
水和硫酸塩 とフィロシリケート (the Mars Express mission)  
堆積岩と赤鉄鉱 (the Mars Exploration Rover Opportunity)  
春と夏に現れる季節性の流出地形 RSL : Recurring Slope Lineae (Mars Reconnaissance orbiter)  
RSLに流れる液体は高塩濃度の水 (Mars Reconnaissanec orbiter )

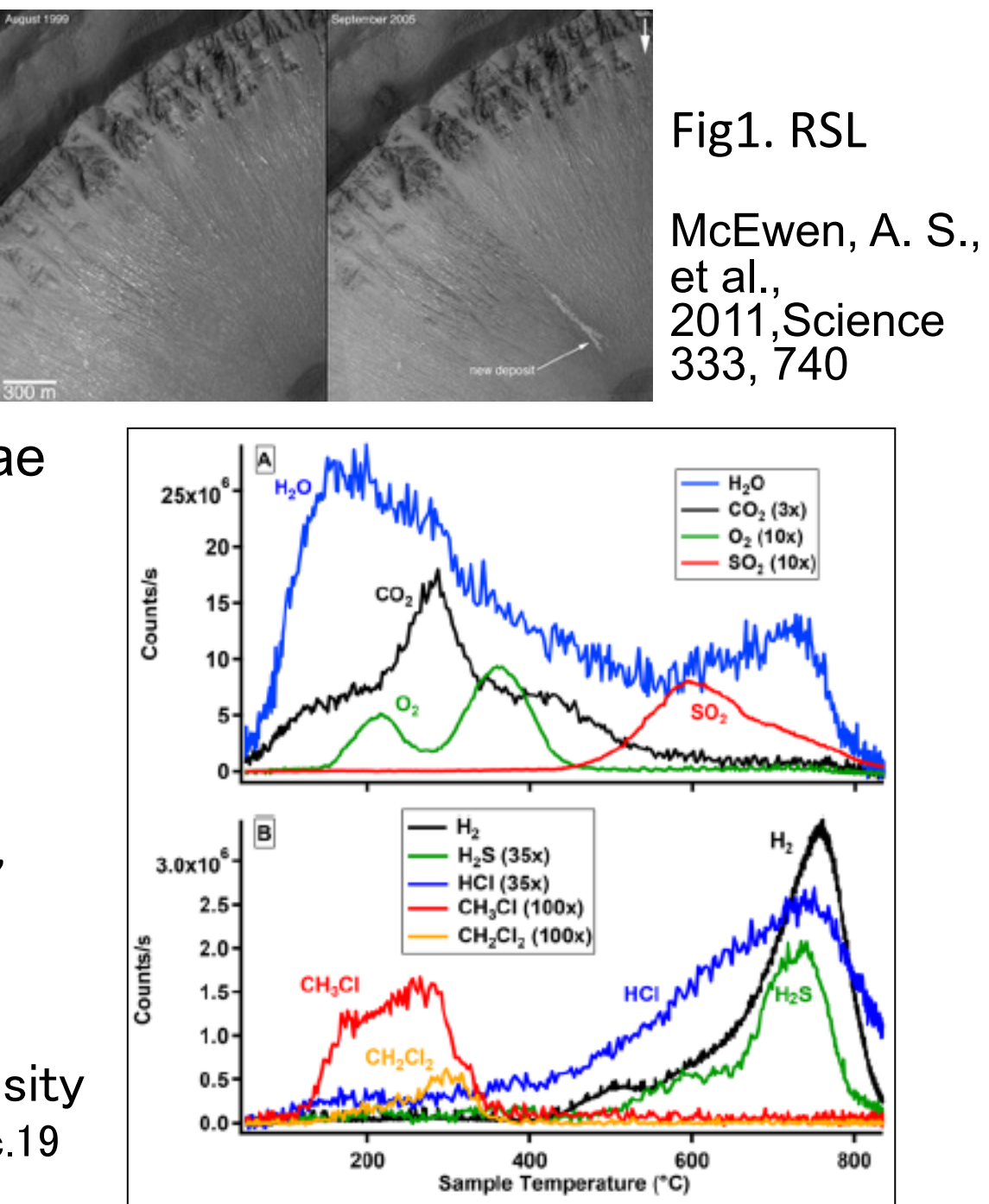
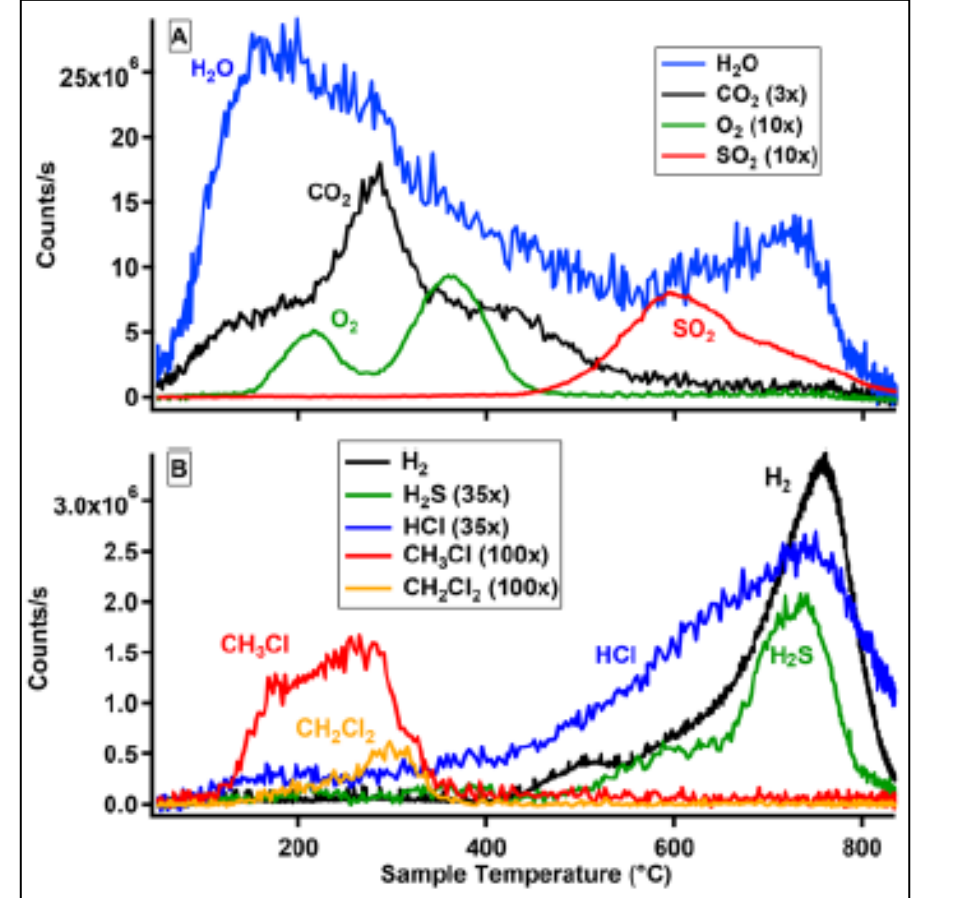


Fig1. RSL  
McEwen, A. S., et al., 2011, Science 333, 740

Fig2. SAM(Sample analysis on Mars) on MSL: Curiosity  
D. W. Ming et al. 2013 science.1245267 Science express Dec.19

軽元素・還元型分子の発見

MSL (Curiosity)は、泥岩試料の熱分解によって、H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, HCl, CH<sub>3</sub>Cl, NO, その他の微量ガスを検出した。



### Background 2

有機物の発見

Curiosityは279日目目標的岩石である「Cumberland」(2013年5月19日)を掘削し、岩の内部から粉末状の試料を収集した。試料はSAMで分析された。

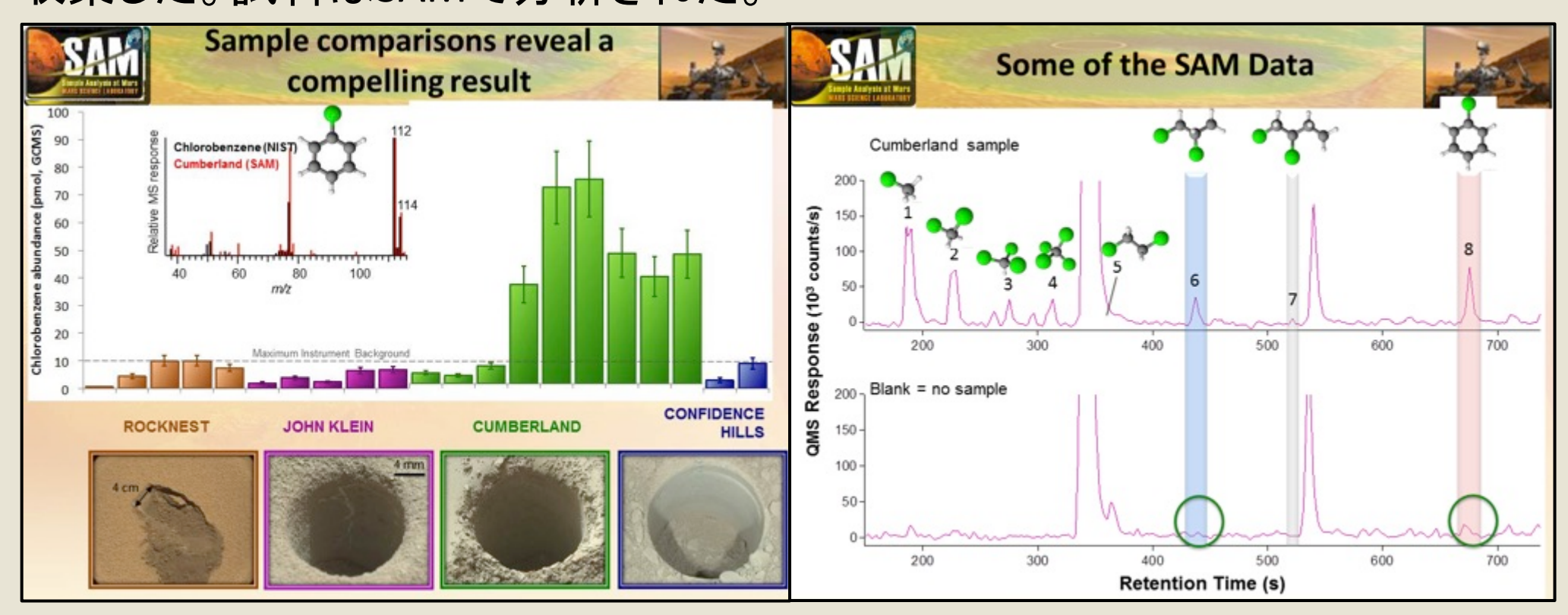


Fig.3 SAMの有機物分析

(左図) グラフ化されたデータは、Cumberland岩石試料から採取された粉末サンプル中のSAMの火星有機物の検出によるサンプル分析の例を示す。  
(右図) Cumberland岩石試料で検出されたクロロベンゼンの量と、Curiosityで分析された他の3つの火星表面ターゲットからのサンプル量の比較。

Credits: NASA/JPL-Caltech

2014年 火星大気から、メタン濃度の時間的な増加が検出された。(MSL Curiosity)

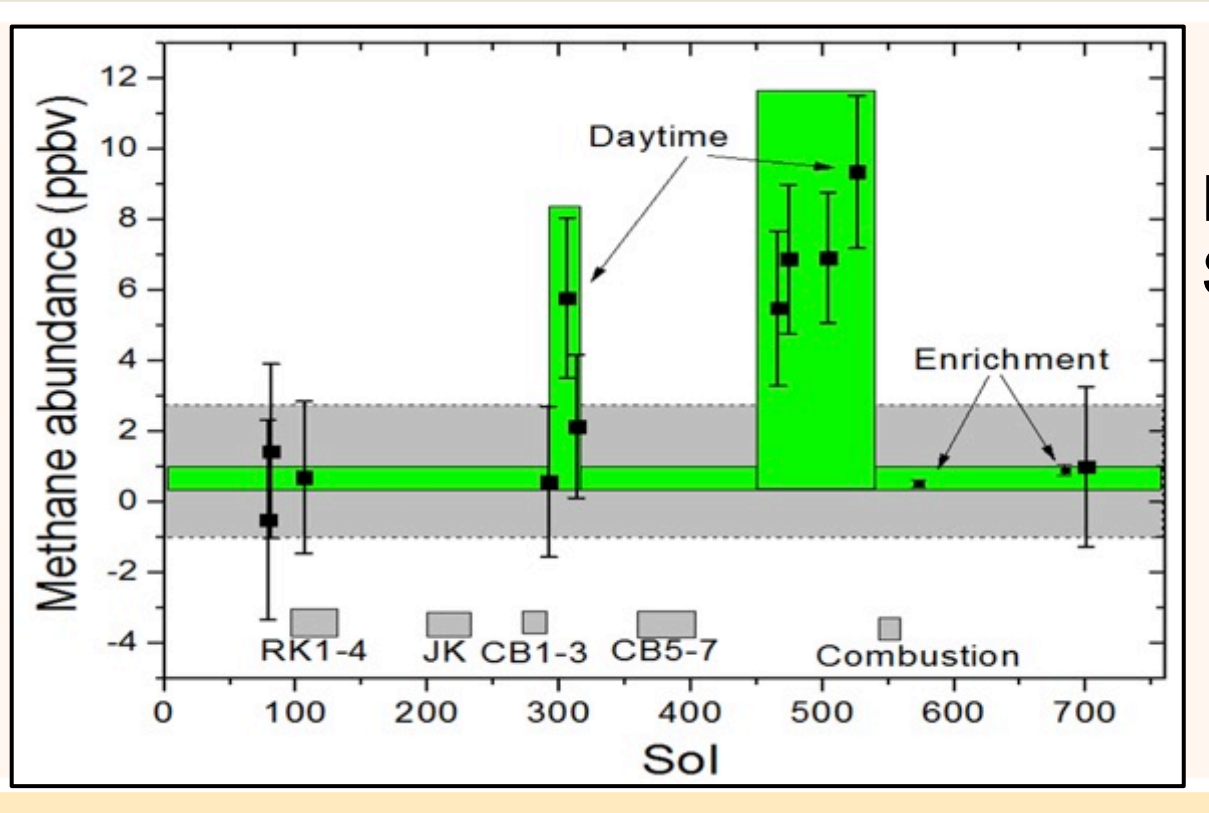



Fig.4 SAMIによる大気中メタン測定

メタンはよく知られているメタン菌とは異なるメタン酸化菌のエネルギー源になる。



2015年 MSLのSAMIはゲールクレーターにおいて岩石の分析を行い、泥岩からクロロベンゼンとC2からC4ジクロロアルカンを同定した。

Fig5. ゲールクレーターにおけるサンプル採集地点の一つであるCumberland

### LDM ( Life Detection Microscope )

火星土壌の蛍光顕微鏡観察により、有機物・微生物検出を試みる。

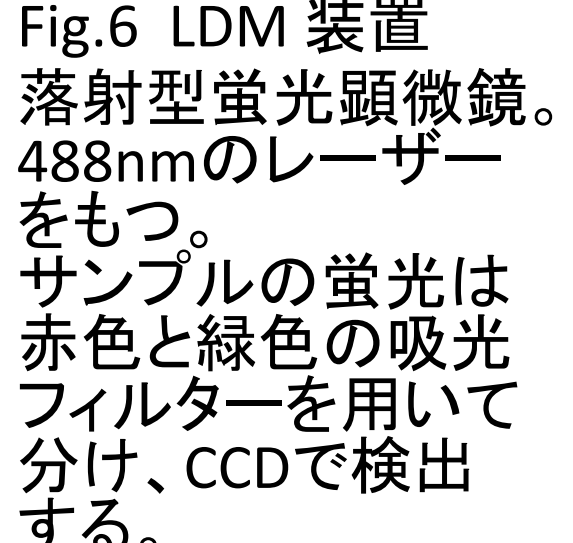


Fig.6 LDM 装置  
落射型蛍光顕微鏡。  
488nmのレーザーをもつ。  
サンプルの蛍光は赤色と緑色の吸光フィルターを用いて分け、CCDで検出する。

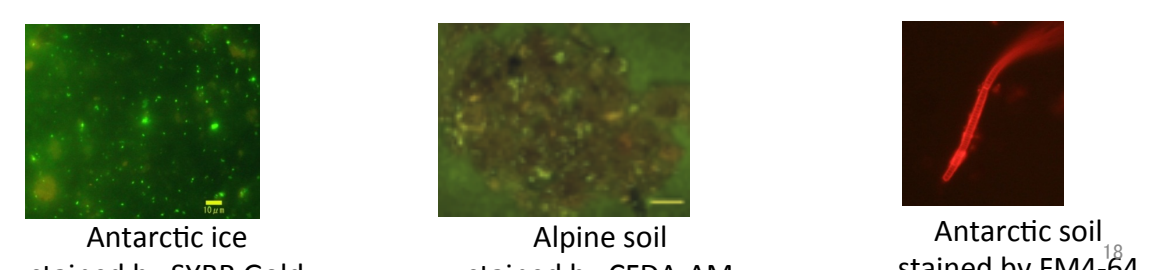
Table. 7 火星環境における地球微生物の生存可能性

Survivability of terrestrial life on Mars		
Factor	Limit for terrestrial life	Mars
Gravity	~ 0 to unknown higher g	0.376 g
Temperature	Active from -20°C to 122°C	-87°C to -5°C or 20 °C?
Pressure	Growth lowest: 0.6 kPa	Atmosphere 0.6 kPa (ca. 6/1000 of Earth)
Salinity (NaCl%)	0 to >30% (saturation)	Evaporates
Water activity	~ 0.6 (bio-activity)	Liquid water?
(Desiccation)	~ 0 (survival)	~ 0
Ionizing radiation	1440 Gy	150 mGy year <sup>-1</sup>
pH	-0.06 to 12.5	7.7±0.5
Redox potential	Limits undefined	Highly oxidizing
UV radiation	~ 5000 J m <sup>-2</sup>	~ 20 J m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
UV can be shielded by thin layer of soil Hyperchloride can be used for energy source.		

### 蛍光色素の選定

・バックグラウンドを染色しない  
・微生物や有機物に強く結合する  
・火星到達までの輸送中や、火星環境に耐えられる

Detectable Bio signatures		
Characteristics	Target bio signatures	Fluorescent probes
Genetic information	Nucleic acids	SYBR Green I and II, SYBR Gold, Acridine orange, DAPI, etc.
Metabolism	Enzyme-like catalysts	CFDA, CFDA-AM, SFDA, etc.
Discrimination of self from non-self	Membranes	ANS, FM1-43, FM4-64, etc.
Organic compounds including pre-biotic materials	Amino groups	Fluorescamine, etc.



Antarctic ice stained by SYBR Gold    Alpine soil stained by CFDA-AM    Antarctic soil stained by FM4-64

Fig. 8 検出可能な微生物の特徴と蛍光色素

### ① DNA, RNA をもたない微生物の検出

様々な蛍光色素を用いて、大腸菌、DNAをもたない大腸菌、大腸菌を加えた火星模擬土壌と粘土鉱物、タンパク質、プロテノイド、 PAH を染色後、観察した。

DNA染色色素はDNAもRNAも染色可能であった。  
また、核酸以外の有機物も染色可能であった。




Fig.9 蛍光色素の染色能を比較した。(左図) 各蛍光色素で大腸菌、DNAをもたない大腸菌、大腸菌を加えた火星模擬土壌と粘土鉱物を染色した。(右図) 各蛍光色素で BSA、プロテノイド、PAH、大腸菌を加えた火星模擬土壌を染色した。

### 蛍光色素溶液の組成

②低い大気圧 (地球の0.7%)  
色素溶液の蒸発を防ぐ。  
67%グリセロールにすることで、10分間蒸発しなかった。

③低気温 (平均 -56°C)  
色素溶液の凍結を防ぐ。  
67%グリセロールにすることで、±30°Cにおいて液体の状態を保てた。

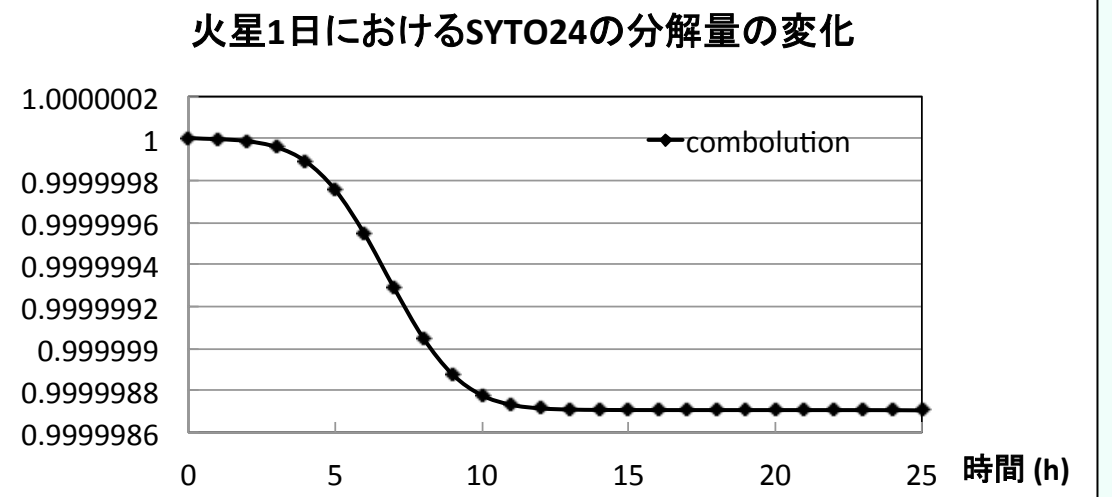
④過塩素酸耐性  
10mM アスコルビン酸を加えて、蛍光色素の酸化を防ぐことができた。

蛍光色素溶液の組成
67% グリセロール
50mM Tris- HCl pH 8.0
10mM アスコルビン酸Na
蛍光色素

⑥熱耐性

バイアル瓶に蛍光色素溶液を入れてN<sub>2</sub>置換後、アルミホイルを巻いた状態で50～90°C、5日間インキュベートした。

Fig.11 火星1日におけるSYTO24の熱分解量の変化



火星1日におけるSYTO24の分解量の変化

蛍光色素の熱分解量は火星一日 (最高温度50°C) で100万分の1程度であった。また、熱処理した蛍光色素で微生物は検出可能だった。

### 蛍光色素の火星環境への耐性

蛍光色素 SYTO24, PI, SYPRO Redについて放射線耐性と熱耐性を調べた。

⑤放射線の影響

バイアル瓶に蛍光色素溶液を入れてN<sub>2</sub>置換後、アルミホイルを巻いた上からγ線を照射した。

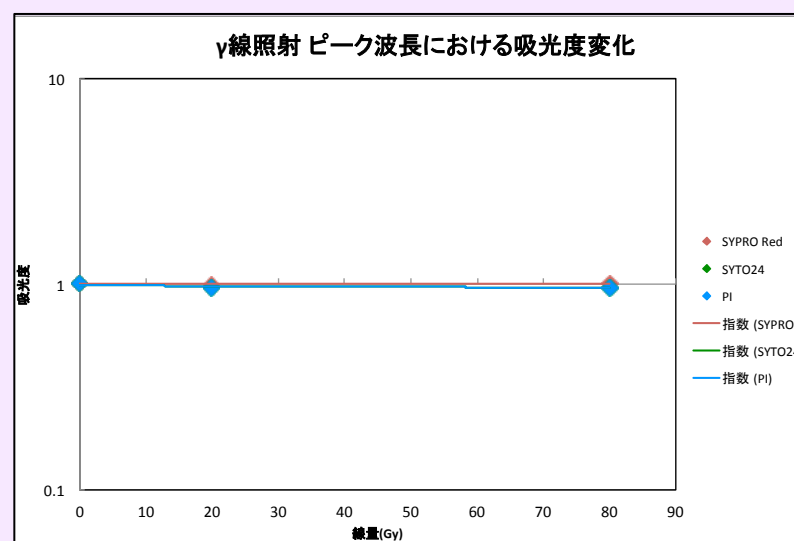
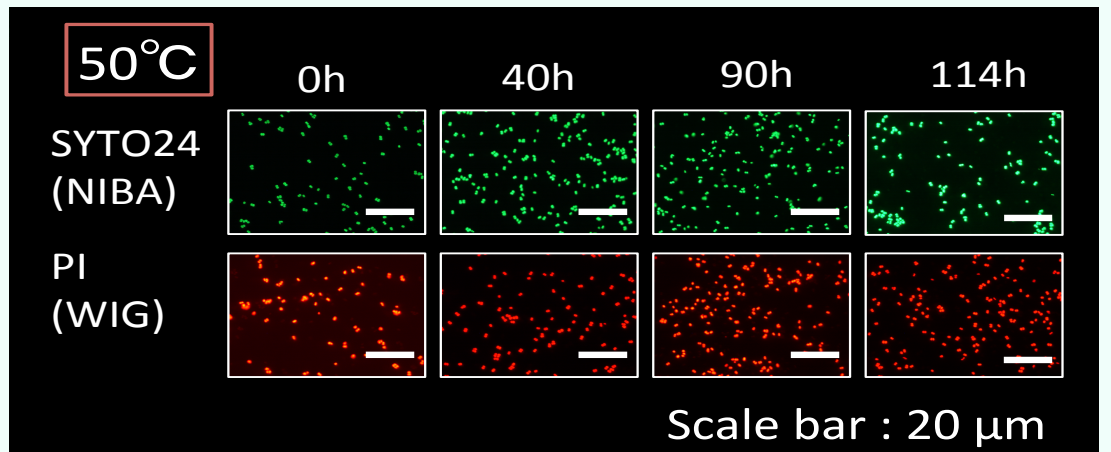


Fig.10 γ線照射した蛍光色素溶液のピーク波長における吸光度変化。  
80Gy でもほぼ影響がないことが分かった。

推定される曝露放射線量は火星までの輸送中で170mGy/year, 火星表面で150mGy/year。  
3種の蛍光色素は十分な放射線耐性をもつ。

Fig. 12 50°Cで熱処理した蛍光色素で微生物を染色すると、微生物検出可能であった。微生物は Deinococcus radiodurans R1 の死細胞。



50°C  
SYTO24 (NIBA)  
PI (WIG)  
0h 40h 90h 114h  
Scale bar : 20 μm

### 火星生命探査用と同等の光学系をもつ蛍光顕微鏡を用いた観察

1. 鉱物、隕石、微生物の検出

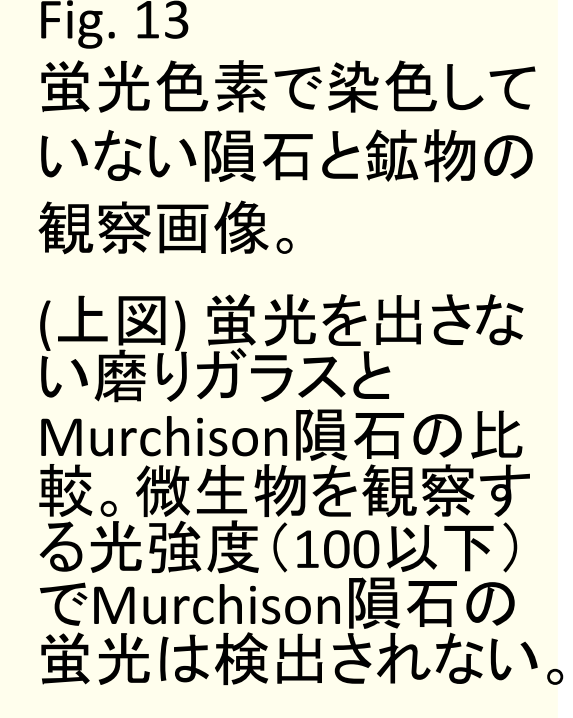


Fig. 13 蛍光色素で染色していない隕石と鉱物の観察画像。  
(上図) 蛍光を出さない磨りガラスとMurchison隕石の比較。微生物を観察する光強度(100以下)でMurchison隕石の蛍光は検出されない。  
(下図)。微生物を観察する光強度(100以下)では粘土鉱物蛍光は検出されない。

2. 蛍光色素濃度の検討




Fig. 15 SYTO24 を4μM, PIの濃度を変化し、微生物検出に最適な濃度の組み合わせを検討した。SYTO24 4μM とPI 7.5μM の組み合わせが微生物検出に最適である。(上図)微生物 (Deinococcus radiodurans R1 の死細胞) の観察画像。(下図) 各画像の輝度をImage Jにより測定し、そのSN (Signal to noise ratio) を算出した。SNは画像内の最高輝度値一画像の輝度の平均値で求めた。

この蛍光顕微鏡で微生物は検出可能であった。  
微生物検出に適当な蛍光色素濃度の組み合わせはSYTO24 4μM とPI 7.5μM である。