

宇宙植物科学研究の今後の課題

日出間 純

東北大学大学院・生命科学研究科
〒980-8577 仙台市青葉区片平 2-1-1

Future tasks for plant space radiation research area

Jun Hidema

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,
2-1-1 Katahira Aobaku, Sendai, Miyagi 980-8577, Japan

Key words: 3D Clinostat, International Space Station (ISS),
Microgravity, Space radiation, Ultraviolet radiation

DOI: 10.24480/bsj-review.11a8.00180

1. はじめに

月、そして火星に至る有人探査、「国際宇宙探査」計画が急速に現実味を帯び、いよいよ人類は宇宙という環境へと活動の場を広げようとしている。しかし、宇宙は地球とは異なり、微小重力環境に加え、低気圧環境、さらには高強度の紫外線・放射線という特殊な環境である。例えば、火星表面では、重力は $0.38g$ ($3/8g$) の低重力、電離放射線(宇宙放射線)レベルは 0.4 mGy day^{-1} 、非電離放射線(紫外線)は最も高い時で 20 W m^{-2} (地上のおよそ 10~20 倍)、また温度変化も激しく、 $-87\sim 20^\circ\text{C}$ と大きく変動する(Yamagishi *et al.* 2010, Ronto *et al.* 2003)。中でも宇宙放射線・紫外線環境は、動物のみならず全ての生物に変異誘発、オルガネラ障害、細胞死誘発といった様々な障害を引き起こすことが容易に想定されている。したがって、このような宇宙環境での長期活動において人体に及ぼす影響研究はもちろんのこと、植物科学分野では、ヒトを含む全生命体が必要とするエネルギーを供給し、また環境維持・浄化も担う「植物」の安定かつ効率的な育成技術の確立が急務な課題となっている。しかしながら、これまで動物を対象にした研究は精力的に実施されているものの、植物を対象にした“宇宙環境ストレス”という観点からの分子、細胞、生理学的解析、すなわち、宇宙環境で重力環境と同様に重視すべき環境である高強度の紫外線・放射線環境、そして高強度の紫外線・放射線と微小重力の複合環境が植物の生育に及ぼす影響に関する研究は著しく遅れている。よって、重力ストレス、微小重力環境下における高強度の紫外線・放射線による障害、そしてその修復に関する基礎データの蓄積は急務な課題と言える。

J. Hidema-1

2. 宇宙農業における課題

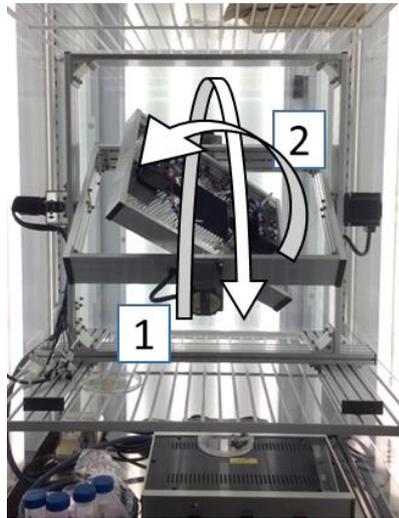
NASA, ESA, JAXA など世界の宇宙開発関連の機関では、月や火星で定住することを想定し、宇宙農業システムの概念検討を進めている。宇宙農業は、人工光を利用した完全閉鎖系で実施するのか？ または太陽光を利用した太陽光利用型閉鎖系で行うのか？ といった議論もまだ不十分であるが、技術的な面でのシステム構築のためには、①宇宙という厳しい環境の中で、植物栽培に適した環境を作り出す「高度な環境制御システムの開発」、②栽培、管理、収穫などすべての農作業の完全自動化技術の開発、③汚染水浄化や廃棄物の再利用化の技術開発なども急務な課題となっている。

一方、宇宙での植物栽培を考えた場合、基礎的な宇宙植物科学分野においても、理解・解明すべき課題は多く残されている。将来開発される宇宙植物栽培施設において、温度管理、気圧管理は出来ても、重力の制御は難しいであろう。また太陽光を利用したシステムの場合、高い可視光量、紫外線量に対する対策、さらには宇宙放射線に対する対策はどのように対処するのか？ したがって、微小重力影響解析のみならず、月 (0.17g, 1/6g), 火星 (0.38g, 3/8g) を想定した低重力応答、植物の重力依存的応答解析、さらには、低重力と高紫外線、高可視光、さらには高放射線との複合影響など、理解しなくてはならない。このような解析は、単に宇宙環境での植物栽培技術の確立のみならず、今後宇宙での植物栽培施設を建設するにあたっての機材、材料の開発にも重要な知見を提供することにもつながる。

3. 低重力応答

これまで地上における低重力影響の解析には、クリノスタット装置が主に用いられてきた。クリノスタットとは、試料を搭載した試料台を直交2軸により3次元に(3Dクリノスタット、図1)、または、1軸により2次元に(2Dクリノスタット)回転させ、搭載試料を作用する重力ベクトルの方向を変化させることにより、時間平均として重力を相殺し、疑似的な微小重力(μg)環境を作り出すことで、“微小重力”が生物に及ぼす影響を解析する装置である。しかし今後は、月 (0.17g) や火星 (0.38g) での居住を想定し、地上において、様々な疑似低重力環境で生物を育成できる装置を利用した解析が重要である。Manzano ら (2018) は、従来の 3D クリノスタットを改造し、地上においても低重力環境を模擬した環境を作り出す装置(低重力可変型 3D クリノスタット)を開発し、模擬低重力環境応答の解析を報告している。この装置は、3D クリノスタットの試料台を、これまでの直交2軸による3次元回転に加え、回転(遠心)させることで、試料に遠心力を加えて μg よりも高い重力環境を与えることができる。彼らは、この装置を利用して、地上 1g、疑似微小重力(μg)、および、月や火星表面の重力を模擬した 0.17g と 0.38g を作り出し、シロイヌナズナの根の成長に及ぼす影響を解析した。その結果、根の細胞は 1g 環境と比較して、0.17g では、 μg と同様に細胞の増殖速度は速くなるものの、細胞の大きさが小さくなることを報告している。なお、0.38g 環境では、根の細胞の増殖速度、大きさは 1g 環境と比較して有意な差異は認められなかった。このような植物生育の低重力応答、さらには低重力に依存した応答に関する知見はまだ少なく、今後精力的に実施し、知見を増やす必要があるであろう。

従来型 3Dクリノスタット



疑似低重力可変型 3Dクリノスタット

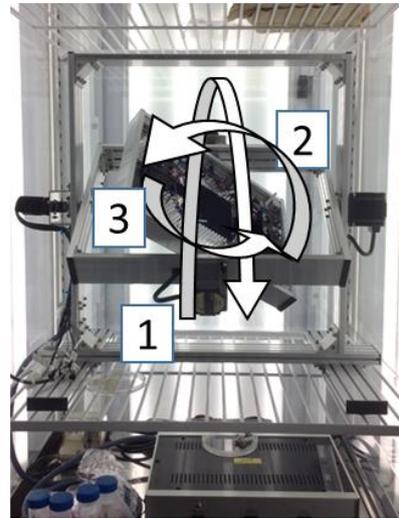


図1. 従来の3Dクリノスタット(左)は、図中1, 2の軸方向に回転させ、重力ベクトルの方向を変化させている。一方、疑似低重力可変型3Dクリノスタットは(右)は、1, 2の軸に加え、試料台を回転させ(3の軸方向)遠心力を加えることで、 $\mu\text{g}\sim 1\text{g}$ の重力を作出することが出来る装置である。

4. 微小重力環境ストレス

1g環境で進化適応してきた植物は、根や地上部の伸長方向を変えたり(重力屈性)、重力に対抗できる体をつくるなど(抗重力反応)、重力を感知し様々な応答を示し、生きてきている。微小重力環境では言うまでもなく植物は、重力方向を感知できないため、重力応答が出来ず、姿勢を維持することさえ難しくなる。また、微小重力環境は、単に姿勢制御のみならず、様々な障害を引き起こすことが動物細胞などを用いた解析から報告されている。例えば、クリノスタットにヒトのリンパ腫細胞(Hodgkin's lymphoma cells) (Jeong *et al.* 2018)やヒト精巣セミノーマ由来細胞株(TCam-2細胞) (Morabito *et al.* 2017)を搭載して培養したところ、細胞内に活性酸素(reactive oxygen species: ROS)の蓄積やミトコンドリアの不活化、さらには小胞体ストレスが引き起こされることが報告されている。さらには、宇宙実験によりフライトしたヒト細胞においても、ROSが誘導されることも確認されている(Tian *et al.* 2017)。一方、植物においても、"Mizuna"の宇宙フライトサンプルを解析したところ、細胞内には種々の酸化障害が認められ、さらには活性酸素に応答した遺伝子発現のネットワークが活性化されていたことが報告されている(Sugimoto *et al.* 2014)。これらの結果は、明らかに生物にとって微小重力環境も地上における放射線、紫外線、強光、高温などのストレスと同様に、環境ストレスの1つであることを示している。したがって、微小重力に対する応答を考える際には、ストレス応答反応という視点からの研究も必要であろう。

5. 微小重力と高紫外線 UVB 複合環境ストレスが植物の生育・障害に及ぼす影響解析

これまでに著者らは、非電離放射線である太陽有害紫外線 (UVB: 280-315 nm) による植物への障害、ならびにその修復・耐性機構に関する一連の解析を、分子、細胞、個体レベルで行ってきた。これまでに、紫外線 UVB による植物の生育障害は、線量の高低によって異なるが、主には①紫外線による直接的な DNA 損傷 (Cyclobutane pyrimidine dimer [CPD]) の生成 (Hidema *et al.* 2000, 2005, Takahashi *et al.* 2011, 2014)、および②活性酸素誘発によるオルガネラ障害に起因することを示してきた (Izumi *et al.* 2017, Nakamura *et al.* 2018)。そしてこれらの障害に対する修復機構として、UVB 誘発 CPD を修復する DNA 修復酵素 (CPD 光回復酵素)、また障害オルガネラ除去に関わるオートファジー機能の重要性を報告してきた (Hidema *et al.* 2007, Izumi *et al.* 2017)。そこで現在我々は、これまでの研究成果を基盤に、宇宙環境での植物育成技術基盤を確立することを最終目標に、植物における微小重力環境が高強度の紫外線・放射線障害に及ぼす影響評価試験を、地上での紫外線を含む太陽光模擬人工光ユニットを 3D クリノスタットに搭載した装置、さらには ISS においての宇宙実験を実施するために必要なデバイスである UVB-LED 装着型の植物培養器を開発し、実施している。

これまでに ISS を利用して微小重力環境が植物の生育に及ぼす影響をはじめ、重力センシング、重力屈性、水分屈性、姿勢制御等、様々な植物応答研究が遂行されてきた (参照: <http://iss.jaxa.jp/kiboresults/plant/>)。これらの実験において ISS 内での植物培養は、ISS 内に搭載されている植物実験ユニット (Plant Experiment Unit: PEU) や、計測ユニット (Measurement Unit: MEU) が利用されてきた (参照: <http://iss.jaxa.jp/kibo/library/fact/data/pmhandbook.pdf>)。これらのユニットは基本、植物を明所 (白色、または赤と青の LED による可視光照射) または暗所で栽培が出来る。しかし我々は、微小重力が植物の紫外線障害とその修復機能に及ぼす影響を、宇宙環境を利用して解析することが目的であるため、既存の ISS に搭載されている機器では、本研究成果を検証することはできない。そこで、既存の PEU に搭載可能な植物培養器に UVB-LED 光源を装着した植物培養器を作製することにした。本装置の設計は、千代田化工建設と共同で考案し、試作品の作製は株式会社 AES の協力を得て実施した (図 2)。本装置では、単三乾電池 2 本を使用して、3 時間、UVB-LED を 20 W m^{-2} の強度で照射することが可能である。PEU 内には、6 か月分の給水バックが設置されているが、その給水バックの容積を減らして、単三乾電池を設置することを想定している。また、UVB-LED は、5 cm 角容器の上方隅に設置することで、栽培されている植物への照射強度はグラデーションがかかり、異なる照射強度での照射が可能な UVB-LED 光源装着植物培養器となっている。

図 2 には、株式会社 AES と共同で作製した UVB-LED 植物培養器の外観、および内部の構造を示した。容器は基本、これまでに神阪らにより ISS で実施された実験 (Space Seed) で使用された PEU に搭載可能な植物栽培容器をベースに作製した (図 2 a-b)。図 2 c には、実際この装置を用いて白色光の下で栽培した播種後 10 日目のシロイヌナズナに 2 W m^{-2} の UVB 光を 1 時間照射した後、再び白色光の下で 4 日間培養した (14 日目の) シロイヌナズナの様子を示した。UVB を照射した植物では、照射 UVB 強度に依存して UVB 障害が大きくなっていることがわかる。現在、本装置に改良を加え、本装置を用いた ISS での軌道実験 (FS 採択研究テ

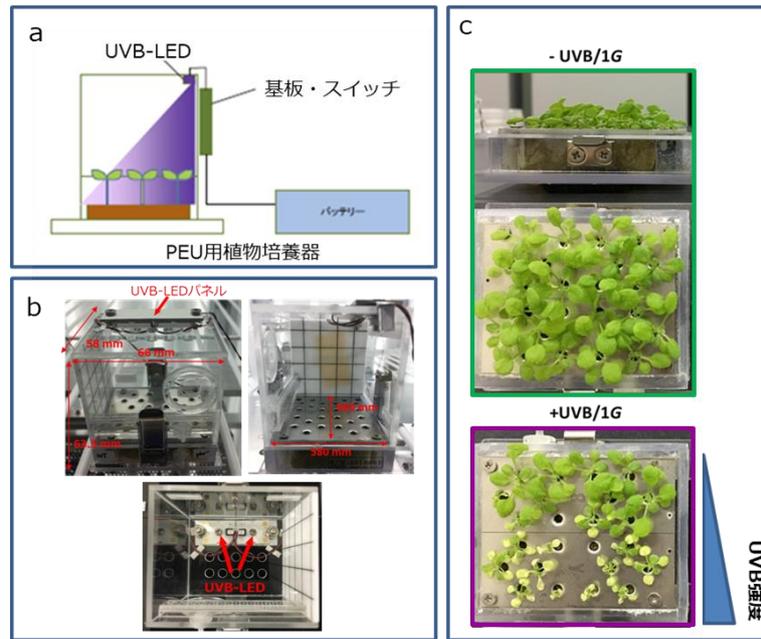


図2. UVB-LED 装着植物培養器内の概略

(a) 本装置のイメージ図，(b) 作製した UVB-LED 装着植物培養器の外観。UVB-LED は上面の端に2つ設置した。(c) 本培養器を用いて実際にシロイヌナズナを栽培した際の様子。上段は1gでUVB-LEDを点灯しないで栽培し，播種後14日目の写真。下段は，発芽後10日目にUVBを 2 W m^{-2} で1時間照射した植物の14日目の写真。

マ，宇宙微小重力・高放射線環境ストレスに対する植物の応答解析)の準備を行うと共に，UVB-LED光源装着植物培養器を3Dクリノスタットに搭載し，シロイヌナズナ，ゼニゴケのモデル植物を材料に，UVBがシロイヌナズナ，ゼニゴケ等に分子，細胞，個体レベルでの変化に及ぼす影響，そしてそれらUVB障害に微小重力が及ぼす影響に関する解析を実施している。

6. おわりに

紫外線や放射線は，生物のDNAに直接損傷を引き起こすだけでなく，細胞内に活性酸素を産生し，酸化障害を引き起こす。このような障害に対して，植物に限らず生物はDNA修復酵素やオートファジーの機能を利用して，障害を修復し，生命を維持している。一方，微小重力環境も細胞内に活性酸素を誘導し，酸化障害を引き起こす。したがって，我々ヒトを含む生物は，宇宙環境では様々なストレスによる障害を受けることになるであろう。その際，これら個々のストレスは，結果的に生物に対して相加的な障害として生物に影響を与えるのか？あるいは個々のストレス障害が相乗的に働き，想定以上の障害として生物に影響を与えるのか？月そして火星に至る有人探査計画が急速に現実味を帯びつつある今日，個々のストレス応答，抵抗性機構の理解・解明は勿論のこと，複合ストレスによる相加的・相乗的影響に関する理解・解明に関する研究も，今後精力的に実施し，知見を増やす必要があるであろう。

謝辞

本稿で紹介した装置開発は、Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) のフロントローディング研究、日本学術振興会・科学研究費補助金・新学術領域研究「宇宙に生きる」(15H05945) の支援を受けて実施されたものである。この場をお借りして衷心からの感謝の意を表す。

引用文献

- Hidema, J., Kumagai, T. & Sutherland, B.M. 2000. UV-sensitive Norin 1 rice contains defective cyclobutane pyrimidine dimer photolyase. *Plant Cell* 12: 1569-1578.
- Hidema, J., Teranishi, M., Iwamatsu, Y., Hirouchi, T., Ueda, T., Sato, T., Burr, B., Sutherland, B.M., Yamamoto, K. & Kumagai, T. 2005. Spontaneously occurring mutations in the cyclobutane pyrimidine dimer photolyase gene cause different sensitivities to ultraviolet-B in rice. *Plant J.* 43: 57-67.
- Hidema, J., Taguchi, T., Ono, T., Teranishi, M., Yamamoto, T. & Kumagai, T. 2007. Increase in CPD photolyase activity functions effectively for preventing ultraviolet-B-caused growth inhibition in rice plant. *Plant J.* 50: 70-79.
- Izumi, M., Ishida, H., Nakamura, S. & Hidema, J. 2017. Entire photodamaged chloroplasts are transported to the central vacuole by autophagy. *Plant Cell*, 29: 377-394.
- Jeong, A.J., Kim, Y.J., Lim, M.H., Lee, H., Noh, K., Kim, B-H., Chung, J.W., Cho, C-H., Kim, S. & Ye, S-K. 2018. Microgravity induces autophagy via mitochondrial dysfunction in human Hodgkin's lymphoma cells. *Sci. Rep.* 8: 14646.
- Manzano, A., Herranz, R., den Toom, L.A., te Slaa, S., Borst, G., Visser, M., Javier Medina, F. & von Loon, J.J.W.A. 2018. Novel, Moon and Mars, partial gravity simulation paradigms and their effects on the balance between cell growth and cell proliferation during early plant development. *npj Microgravity* 9: 1-11.
- Morabito, C., Guarnieri, S., Catizone, A., Schiraldi, C., Ricci, G. & Mariggio, M.A. 2017. Transient increases in intracellular calcium and reactive oxygen species levels in TCam-2 cells exposed to microgravity. *Sci. Rep.* 7: 15648.
- Nakamura, S., Hidema, J., Sakamoto, W., Ishida, H. & Izumi, M. 2018. Selective elimination of membrane-damaged chloroplasts via Microautophagy. *Plant Physiol.* 177: 1007-1026.
- Ronto, G., Berces, A., Iamer, H., Cockell, C.S., Molina-Cuberos, G.J., Patel, M.R. & Selsis, F. 2003. Solar UV irradiation conditions on the surface of Mars. *Photochem. Photobiol.* 77: 34-40.
- Sugimoto, M., Oono, Y., Gusev, O., Matsumoto, T., Yazawa, T., Levinskikh, M.A., Sychev, V.N., Bingham, G., Wheeler, R. & Hummerick, M. 2014. Genome-wide expression analysis of reactive oxygen species gene network in Mizuna plants grown in long-term spaceflight. *BMC Plant Biol.* 14:4.

- Takahashi, M., Teranishi, M., Ishida, H., Kawasaki, J., Takeuchi, A., Yamaya, T., Watanabe, M., Makino, A. & Hidema, J. 2011. CPD photolyase repairs ultraviolet-B-induced CPDs in all DNA-containing organelles in rice. *Plant J.* 66: 433-442.
- Takahashi, S., Teranishi, M., Izumi, M., Takahashi, M., Takahashi, F. & Hidema, J. 2014. Transport of rice cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) photolyase into mitochondria relies on a targeting sequence located in its C-terminal internal region. *Plant J.* 79: 951-963.
- Tian, Y., Ma, X., Yang, C., Su, P., Yin, C. & Qian, A-R. 2017. The impact of oxidative stress on the bone system in response to the space special environment. *Int. J. Mol. Sci.* 18: 2132.
- Yamagishi, A., Yokobori, S., Yoshimura, Y., Yamashita, M., Hashimoto, H., Kubota, T, Yano, H., Haruyama, J., Tabata, M., Kobayashi, K., Honda, H., Utsumi Y., Saiki, T., Itoh, T., Miyakawa, A., Hamase, K., Nagamura, T., Mita, H., Tonokura, K., Sasaki, S. & Miyamoto, H. 2010. Japan Astrobiology Mars Project (JAMP): Search for microbes on the Mars surface with special interest in methane-oxidizing bacteria. *Biol. Sci. in Space* 24: 67-82.