

平成18年度「生物衛星利用重力生物学研究グループ」活動報告書

代表者所属 氏名 岡山大学大学院自然科学研究科
三枝誠行

1. 構成メンバー

氏 名	所属
小野文久	岡山大学大学院 自然科学研究科（教員）
松島康	岡山大学大学院 自然科学研究科（教員）
進藤明彦	岡山大学大学院 自然科学研究科（大学院生）
鈴木忠	慶應大学医学部 生物学教室（教員）
長沼毅	広島大学大学院 生物圏科学研究科（教員）
畠山正統	農業生物資源研究所 （主任研究員）
李載ミン	農業生物資源研究所 （研究員）
奥田隆	農業生物資源研究所 （主任研究員）
橋本博文	筑波大学大学院システム情 報工学研究科（教員）
山下雅道	JAXA（教員）
俵 裕子	高エネルギー加速器研究機 構

2. 本年度 WG 会合開催実績

第1回：平成18年12月2日
於：東京大学理学部2号館
（第1回クマムシ研究会終了後）

第2回：平成19年1月17日
於：日本学術会議 会議室

第3回：平成19年1月18日
於：つくば国際会議場 小会議室

3. 活動目的

地球上の生命は、地球が誕生してから10億年ほどして重爆撃期のおわりからそれほどの間をおかずに現れた。最初の生命がどのような環境で出現したのかはわかっていないが、生命活動は持

続し、その後の地球の環境変化に適応し、何度かの大量絶滅があったものの生命を継続させ、著しい多様性を示すに至っている。

多様な地球型生命の中には、超高压、超低温、真空、強力な放射線などに強い耐性を持つ種類（極限環境耐性生物）がいることが数多く報告されている。しかし、それらの生物が実際にどのぐらいの極限状態にどのぐらいの期間耐えられるものなのか、またどのような機構によって耐性が発現するのか、実験的な証拠は少ない。

一方、人類が宇宙に進出し、宇宙船内あるいは衛星や惑星上で生活するために必要な環境を模索する試みは益々重要になりつつある。圏外生命探査の対象となる天体を地球起源の生物で汚染させないかどうかの判定や、それと逆に、パンスペルミア仮説に関連する興味や、地球外天体の生物による環境改造が構想されている。極限環境耐性生物の耐性限界や耐性機構に関する研究は、宇宙科学の根本的な目的とふかく関係し、また人類が宇宙環境を利用するのに大いに貢献する。

極限環境耐性生物がどのような種類の極限環境にどの程度の耐性を示すかは、種類によって異なる。耐性限界は地球上でも人工極限環境を設けて研究することは可能である。今までは、極限環境耐性があるとされた生物でも、実際には短時間（20分から40分程度）置いただけで、どれだけ生存したかを調べるという研究が主体であったため、宇宙環境に匹敵するような人工極限環境に置かれて生存率や繁殖率の違いを見た研究はほとんどなかった。

果たして、宇宙空間に匹敵するような極限環境に長期間耐えられる地球型生命は存在するのか。もしいるとすれば、それは極限環境に対していかなる防衛機構を保持しているからなのか。私たちのワーキング・グループは、このような面での基礎的研究を推進する。

4. 活動内容

私たちワーキング・グループの目標は、地球型生命として獲得された極限環境耐性について、植物と動物の両方を選び、超高压、真空、過重力と微小重力、超低温や超高温、強力な放射線のそれぞれの因子、およびそれらの複合した因子に耐性があるかどうかを明らかにしている。

まず、動物ではオニクマムシ (*Milnesium tardigradum*) の「樽」を使った実験を行った。オニクマムシの成体は水分の多い場所に生活しているが、乾燥にさらして 30 分ほどすると乾眠状態 (樽) に移行し、真空、高温、低温、放射線等に対する耐性が飛躍的に高まる。再び水にひたすと 5 分~10 分ほどで肢を動かし始め、30 分もすれば正常な歩行が可能になる。

オニクマムシの樽の超高压耐性を調べるため、成体を乾燥させて樽を作り、7.5GPa の高压に、20 分、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間曝露してから水に戻し、蘇生率とその後の生存率を、高压を加えなかったグループと比較した。

その結果、20 分および 3 時間超高压に置かれた個体は、正常な蘇生が可能であったが、6 時間あるいは 12 時間曝露すると付属肢が痙攣を起こし、歩行が困難だった。これらの個体は、飼育を続けても歩行の回復は不可能であった。さらに、24 時間 7.5GPa においた場合には、全部死亡していた。これらの結果から、7.5GPa に対するオニクマムシの耐性限界は、せいぜい 3 時間程度であることが予想された。

もうひとつの実験は、オニクマムシを真空条件に曝露するものである。乾燥状態において生じた樽を、24 時間真空条件 (10^3 パスカル) に置いた場合には、すべて死亡していた。窒素置換によって 12 時間 1 気圧に曝露した場合にも、生存した個体はいなかった。これらの結果から、オニクマムシは、樽といえども極限環境には、言われているほどの耐性がないことが示唆された。特に、真空曝露実験では、12 時間も耐えられないことが判明し、樽状態といえども、呼吸をしなくては生きられないことが強く示唆された。

オニクマムシの樽に対する超高压曝露実験の詳細は、平成 19 年 1 月に東京で開催された「第 23 回宇宙利用シンポジウム」の講演要旨にまとめられている (添付資料)。

次に私たちが取り組んだのは、コケ植物の胞子と植物体の極限環境耐性である。チヂレゴケの胞子のう、および植物体をゼラチンカップに入れ、 10^3 パスカルで真空封入した。1 週間 20℃ に置いた後、封入した石英管を割り、カプセルに 500μl の滅菌水を入れ、攪拌後に寒天プレート培地にまいた。6 日間プレートで培養後、胞子の発芽率 (生存率) を調べた。

その結果、胞子の発芽率は、20℃ に 1 週間おいただけのコントロールでは 95.1% なのに対し、真空曝露された標本では、99.3% の発芽が認められた。窒素置換 (1 気圧 ; 99.5% 窒素) した標本においても、発芽率は 97.8% に達し、真空や無酸素状態に対する強い耐性があることがわかった。

さらに、コケ植物体でも 1 週間の真空状態 (10^3 パスカル) や窒素置換 (1 気圧) に置かれても、細胞は生存していることがわかった。

チヂレゴケは石や岩の上を好んで生え、乾燥状態には非常に強いことが予想される。さらに、土の上に生えるタチゴケ、さらに樹皮を好むヒナノハイゴケを使い、胞子や植物体が真空と窒素置換にどのぐらいの耐性を示すのかを知るため、2 週間、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月の曝露実験が進行中である。また、超高压 (7.5GPa) 耐性の実験も進行中である。コケ類の胞子や植物体は、超高压に対してもオニクマムシの樽よりはるかに強力な耐性を持つことが期待される。

これら 3 種類のコケ類の胞子や植物体が、6 ヶ月の真空や窒素置換に耐性を持つことがわかれば、1 年以上耐えられるかどうかを明らかにする実験を計画する。それと平行して、実際に宇宙環境に曝露させる研究を進めて行くことになる。

また乾燥耐性がしられるイシクラゲ (*Nostoc commune*) や植物種子についても真空耐性をしらべている。

宇宙環境の一番大きな特徴のひとつが、**真空状態**である。今まで地球型生命が、真空に耐性を持つかはほとんど研究されてこなかった。私たちの研究はまだ始まったばかりではあるが、真空耐性に対しては動物と植物で大きな違いがありそうだということは、今の段階でも言えそうである。これは、動物はクリプトビオシスに移行し、極限環境耐性を持つに至っても、生命を維持するためには少量の酸素を必要とするのかもしれないのに対し、植物では、真空あるいは無酸素状態では呼吸を止められる機構があるか、あるいは細胞内にあらかじめ少量の酸素を蓄えておくのかもしれないし、動物の休眠・蘇生とはことなるしくみをもつようである。

いずれにしても、コケ類を始めとして、どのような植物や細胞が真空や無酸素状態に長期間耐えることができるのかを知り、またそこにどのような生理的機構があるのかを明らかにすることは、人類が宇宙環境を利用する上で大きく貢献する。

本研究班では、極限環境耐性生物の宇宙曝露実験を計画し、その準備をすすめている。ひとつは、ロシアの生物医学研究所と共同した研究である。ロシア、ESA により生物曝露実験がこれまでにこなされているが、曝露環境のモニター記録、とくに温度の記録が得られていないために、曝露実験の科学的な質の確保に問題があることが認識されている。宇宙環境の具体的なデータの不足もあって、地上での対照実験や準備的な研究をおこなうのに支障をきたしている。そこで、長期にわたる温度などの測定記録を可能にするため、真空、

宇宙放射線、低温高温の熱サイクルを経験する苛烈な宇宙環境下で動作可能な電池内蔵式小型ロガーを開発している。このロガーは我々の計画する実験ばかりでなく、ひろく宇宙環境曝露実験に応用することが出来る。

すでに Bread Board Model 開発を完了し、現在 Engineering Model の製作にすすんでいる。温度ロガー搭載のために要求される各種の開発試験を準備しているが、そのためにつくられた真空熱サイクル試験装置は、生物試料を模擬的宇宙環境に曝露する実験にも用いることができる。

宇宙実験の準備ということでは、曝露生物試料を地上に回収できない条件にも対応することとして、軌道上で生死やそのほか生理的な指標を解析するという実験概念を提唱して、そのための基礎的な実験をおこなうなど宇宙実験の科学設計をすすめている。

<WG 会合の議論内容>

1) 第1回 (平成 18 年 12 月 2 日)

東京大学理学部において、第1回クマムシ研究会が開催され、研究会終了後に研究会に出席したメンバーが集まって、クマムシの樽の極限環境耐性を廻って、いろいろな分野からのアプローチを議論した。

2) 第2回 (平成 19 年 1 月 17 日)

日本学術会議会館で開催された宇宙利用シンポジウム (第 23 回) の際に、長沼、橋本、三枝が WG 会合を行い、宇宙科学の現状や ISS の申請について議論した。

3) 第3回 (平成 19 年 1 月 18 日)

筑波国際会議場小会議室において、宇宙生物学に関する下記の実験シンポジウムを開いた。

日時: 平成 19 年 1 月 18 日 (木) 9:00~12:00

場所: つくば国際会議・エポカル小会議室 (301)

1. 研究発表会

司会: 畠山正統 (農業生物資源研究所)

1) 李ジェミン (農業生物資源研究所) 他: ミミズの自切と再生.

2) 姜奉廷 (岡山大学大学院) 他: アナジャコ精巣における卵形成とピテロジェニン遺伝子の発現.

3) 奥田隆 (農業生物資源研究所): ネムリユスリカの極限環境耐性の発現機構.

4) オレグ・グセフ (岡山大学・院): オニクマムシのストレスタンパクとその遺伝子発現.

5) 鈴木忠 (慶應大学): クマムシの生活史.

2. 「きぼう」日本実験棟船外実験プラットフォーム、第2期利用に向けた候補ミッション」への応募.

3. その他: 日ロ共同研究の今後の対応について.

5. 成果

<学会発表>

1) 三枝誠行 (2006) オニクマムシの超高压への耐性実験. 第1回クマムシ研究会. 東京大学理学部. 12月2日.

2) 三枝誠行・魚住太郎・小野文久・松島康・山下雅道・鈴木忠・長沼毅 (2007) オニクマムシ (*Milnesium tardigradum*) の超高压耐性. *Space Utiliz. Res.*, **23**, 402-405.

3) Suzuki, A.C. and Kristensen, R.M. (2006) Ultrastructural study on oogenesis of *Actinartus doryphorus* (Arthrotardigrada: Halechiniscidae). Tenth International Symposium on Tardigrada 18-23 June 2006 - Catania, Italy.

4) 小野文久・松島康・三枝誠行・魚住太郎・池田英樹 (2006) オニクマムシの極限的高圧に対する耐性. 日本宇宙生物学会第20回大会. 大阪市立大学. 9月28日~30日.

5) 魚住太郎・三枝誠行・小野文久 (2006) オニクマムシの生活史と極限環境耐性 - 超高压の実験. 比較生理生化学シンポジウム. 中国四国地区大山共同研修所. 8月26日~27日.

6) 三枝誠行・池田英樹・グセフオレグ・鈴木忠・進藤明彦・山崎美穂 (2006) クマムシにおける極限環境耐性発現の分子・生理機構と宇宙生物学への利用. 日本動物学会中国四国支部大会. 平成 18 年 5 月 21 日. 愛媛大学.

7) F. Ono, M. Saigusa, T. Uozumi, Y. Matsushima, H. Ikeda (2007) Effect of high hydrostatic pressure on a life of a tiny animal, tardigrade. Study of Matter at Extreme Conditions (SMEC 2007), Miami Beach, 2007. April 15-20.

<競争的資金獲得・応募状況>

1) JAXA 宇宙科学研究本部 国際共同ミッション推進研究(2006)「極限環境耐性と惑星起源物質から探る地球生命系の起源」(採択)

2) 「極限環境耐性と宇宙環境から探る地球型生命の生存戦略」(ISS 応募中)

Biological Satellite for Gravitational Biology

PI: Masayuki Saigusa (Okayama University)

Perspective

Certain terrestrial organisms show their resistivity against extreme environment. Such capability has been acquired through their evolutionary history on Earth. We select plants, animals and microorganisms for our test organism, and examine effects of extreme environmental factors, such as high hydrostatic pressure, vacuum, hyper- and micro-gravity, cryogenic and high temperature, cosmic radiation, and synergetic effects of those. The responsible physiology is studied of their resistivity and restoration capability after cryptobiosis. Our research objectives are closely related to the core scientific question for the origin of life and the fundamental concept of living creature, the panspermia hypothesis, planetary protection and ecopoiesis on extraterrestrial planetary bodies.

Materials

- 1) Water bear (*Milnesium tardigradum*)
- 2) Spore and plant body of moss; species living on stone and rock, soil surface, and tree stem.
- 3) Plant seeds
- 4) Cyanobacteria (*Nostoc*)

1 cm



Findings in FY2006

Water bear: Survival and restoration was seen after exposure to high pressure (7.5 GPa) for 3 hours. Convulsion of appendage limbs was observed after 6 hours of exposure. Lethal effects of 24 hours exposure. After exposure against vacuum (10^{-3} Pa), it was shown partial survival and convulsion of appendage limbs.

Moss: Exposure of spore and plant body under vacuum (10^{-3} Pa) or nitrogen for 2 weeks resulted no damage.

Plant seeds: Vacuum (10^{-5} Pa) gave no damage.

Cyanobacteria: Vacuum (10^{-3} Pa) for 2 weeks resulted in no damage.

Development of temperature logger for space exposure experiment

Bread Board Model of a stand-alone small sized logger has been developed and tested. It will enable to log thermal environment through an exposure period for securing scientific quality of experiment.

オニクマムシ (*Milnesium tardigradum*) の超高压耐性

三枝誠行¹、魚住太郎¹、小野文久²、松島康²、鈴木忠³、長沼毅⁴、橋本博文⁵、山下雅道⁶
(1: 岡山大・院・自然科学 (生物)、2: 岡山大・院・自然科学 (物理)、3: 慶應大・医・生物、5: 広島大・院・生物圏科学、5: 筑波大学・院・システム情報工学、6: Jaxa)

Resistibility of *Milnesium tardigradum* against the ultrahigh pressure in criptobiotic condition

M. Saigusa¹, T. Uozumi¹, F. Ono², Y. Matsushima², A. Suzuki³, T. Naganuma⁴, H. Hashimoto⁵, M. Yamashita⁶ [Faculty of Science, Okayama University (1: Biology, 2: Physics), 3: Keio University, 4: Hiroshima University, 5: University of Tsukuba, 6: JAXA]

<Space Utiliz. Res, 23, 402-405>

Abstract: Criptobiosis is a feature of *Milnesium tardigradum* (Phylum Tardigrata). When this animal is exposed to environmental conditions that are not good for their activity, they are transferred to a special shape called 'tun'. We have investigated the resistibility of the tun against super high pressure. Twenty specimens of *M. tardigradum* were transferred to tun in dry conditions, and were kept in desiccator for a week. Tuns were placed in 7.5 GPa for 20 min, 3hrs, 6hrs, 12hrs, and 24hrs, respectively. While almost of tuns exposed up to 6 hrs recovered, but all of the no specimens exposed for 24 hrs did recover. Twenty-five percent of the specimens exposed to 12 hrs were alive, but no specimens couldn't walk and died within a week. We supposed that resistibility of *M. tardigradum* should be further enhanced if their tun is formed in complete vacuum and low temperature.

オニクマムシ (緩歩動物門) は、道端のコケの中に普通に見られる体長 600-700 ミクロンの小型動物である。系統学的には、節足動物や有爪 (ゆうそう) 動物門と比較的近縁のようであるが、起源はよくわかっていない。

オニクマムシ (*Milnesium tardigradum*) を含めて、陸上のクマムシ類は、乾燥状態に置かれると、体内の水分が抜け、「樽」に移行する。クマムシ類の樽は、極端に厳しい環境にも耐えられることが知られ、今まで行われた実験の結果では、マイナス 273 度から上はプラス 151 度まで、圧力は真空から 1.2GPa まで、X 線やγ線に対しては 5700 グレイまで耐性があることが報告されている。その他、エーテルや無水アルコールに対する耐性も持つ。

このように陸生のクマムシの樽は、極限的環境に耐性能力を持つことが知られているが、さらに強力な極限環境にも耐えられるのか。あるいは、今まで報告されている例は多くの中のごく一部の個体で得られたもので、実際には極限環境では生存率は極めて低いのではないかと、という疑問には答えられなかった。

この疑問に答えるためには、クマムシの樽が、見かけは同一の状態でも、条件によっては耐性の程度がかなり異なるかどうかを明らかにする必要があるだろう。

私たちは、オニクマムシの樽に強力な極限環境耐性を発現させるための環境条件を明らかにするために、7.5GPa の高压下にどれだけ長く置いても蘇生する能力が失われないかを調べた。

今までアルテミアの卵や線虫を用いて、極限環境耐性が発現するためには、トレハロースの合成必須であるとされてきた。これらの生物は、乾眠 (クリプトビオシス) に入るには、かなり長い時間を必要とする。一方、オニクマムシは 1~2 分もすれば少なくとも見かけ上は、乾眠状態に移行し、樽を水にひたすと 5 分~10 分ほどで肢を動かし始め、30 分もすれば正常な歩行が可能になる (Fig. 1)。

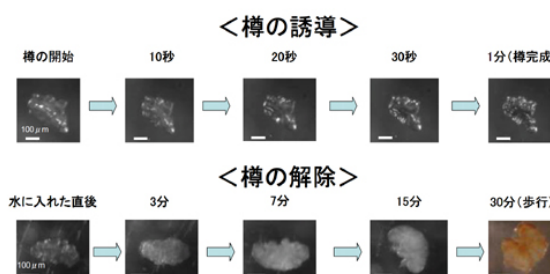


Figure 1. *M. tardigradum*: induction of tun, and release from tun.

材料と方法

アルテミアや線虫では乾眼前になるとトレハロースの合成が盛んになり、体内の細胞や組織がトレハロースによって保護される結果、乾燥耐性が現れることが知られているが、オニクマムシでは樽への誘導、樽からの解除が迅速に起こることから、これらの生物とは別な耐性発現機構があることが予想される。

オニクマムシの乾眠誘導に続く極限環境耐性の発現は、体内からどれほど完全に水分を抜くかということにあるように思えたので、樽を誘導してから1週間デシケータの中に置いた。

このような樽を7.5GPaの高圧にどれほどの時間おいた個体まで蘇生するかどうか、また蘇生した個体が超高压に置かれなかった個体と比べて死亡率に変化があるかを調べた。

まず超高压にかける際には、微小カプセルの形態維持のためフロリナート (C_8F_{18}) を注入する。フロリナートに24時間漬けた個体は蘇生率100%であったので、これをコントロールとして使用した。

本研究では、超高压として7.5GPaを用いているが、これはクマムシ20匹をカプセルに入れて暴露できる限界の圧力である。

実験条件	個体数	生存数	死亡数	生存率
C_8F_{18} (24 hrs)	20	20	0	100%
7.5 GPa (20 min)	20	18	2	90%
7.5 GPa (3 hrs)	20	20	0	100%
7.5 GPa (6 hrs)	20	20	0	100%
7.5 GPa (12 hrs)	20	5	15	25%
7.5 GPa (24 hrs)	20	0	20	0%

Table 1. Resistibility of *M. tardigradum* against 7.5 GPa exposed in different times.

結果

まず7.5GPaに20分間、3時間、6時間暴露された場合には、蘇生率は90~100%であった (Table 1)。20分間の超高压暴露実験では、蘇生してからの生残率の経過は、コントロールと暴露個体の間で差がなかった (Fig. 2)。

しかし、3時間暴露実験では、蘇生してからの生残率に明らかに違いが見られた (Fig. 3)。

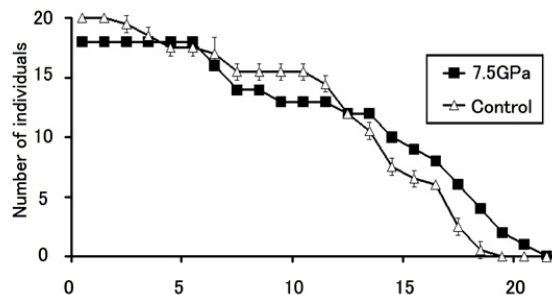


Figure 2. Survival ratio of *M. tardigradum* exposed to ultrahigh pressure for 20 min.

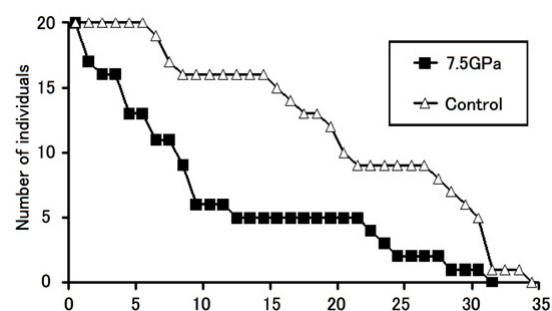


Figure 3. Survival ratio of *M. tardigradum* exposed to ultrahigh pressure for 3 hrs.

6時間暴露した実験では、すべての個体は生きていた (蘇生した) が、すべて付属肢が痙攣を起こしており、歩行は困難であった (Table 2)。また歩行が回復することはなかった。生残率もコントロール・グループに比べて明らかに違っており、コントロールでは25日間生存した個体がいたのに対し、暴露グループでは5日で全部死亡した (Fig. 4)。

12時間暴露になると生存は25%になり、痙攣を起こしながら生存した5匹も8日目にはすべて死亡した (Table 2, Fig. 5)。24時間暴露されたグループでは取り出したときにはすべて死亡していた (Table 1)。

この実験では、樽をフロリナート (C_8F_{18}) に漬けた状態で高圧に暴露する。24時間暴露される樽はその間にずっとフロリナートにひたされたままである。さらに高圧によりフロリナートが体内にしみ込んで組織や細胞に悪影響を与え、それで長時間置くと生残率が低下する可能性も考えられた (Fig. 6)。

実験条件	個体数	正常歩行	けいれん	死亡
7.5 GPa (20 min)	20	18	0	2
7.5 GPa (3 hrs)	20	20	0	0
7.5 GPa (6 hrs)	20	0	20	0
7.5 GPa (12 hrs)	20	0	5	15

Table 2. Influence of ultrahigh pressure on *M. tardigradum*.

フロリナートの影響を調べるために、樽をフロリナートに 24 時間漬けておいたグループと乾燥状態に置いたままのグループ（コントロール）で、水に戻してから生存率を比較した（Fig. 7）。

コントロール・グループでは、最長 25 日間生きた個体があったが、フロリナートに 24 時間漬けたグループでは 17 日間ですべて死亡した。一方、生存率のパターンは 12 日目まではほとんど変わらない。フロリナートの影響は全く無いとは言い切れないが、Fig. 7 から見る限りそれほど重大な影響ではないようである。

議論

オニクマムシ *Milnesium tardigradum* の超高压耐性を調べるために、生体を乾燥させて樽を作り、7.5 GPa の圧にいろいろな時間暴露してから水に戻し、蘇生率とその後の生存率を高压を加えなかったグループと比較した。

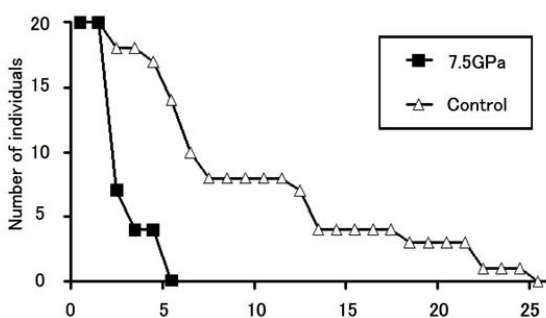


Figure 4. Survival ratio of *M. tardigradum* exposed to ultrahigh pressure for 6 hrs.

私たちの実験からは、オニクマムシの樽は 7.5 GPa におかれた場合には、正常に蘇生するための限度は 3 時間ぐらいと予想される（Table 2, Fig. 3）。それ以上、6 時間あるいは 12 時間暴露すると付属肢が痙攣を起こ

し、歩行が困難になり、回復不可能になる（Table 2, Figs. 4 and 5）。しかし、7.5 GPa で 3 時間という値がオニクマムシの樽の超高压耐性の限界なのかどうかという疑問が残る。

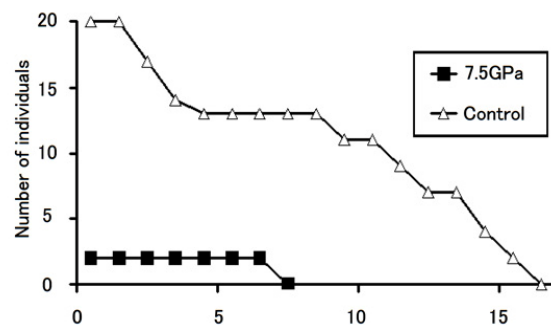


Figure 5. Survival ratio of *M. tardigradum* exposed to ultrahigh pressure for 12 hrs.

カプセル(左)とハイロフィライト(右)

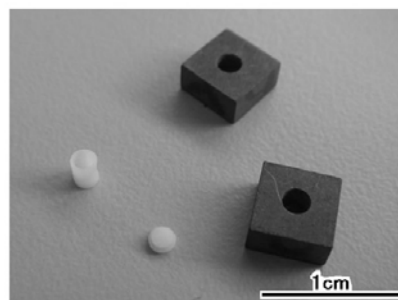


Figure 6. Chamber (left) where tuns are placed with C_8F_{18} .

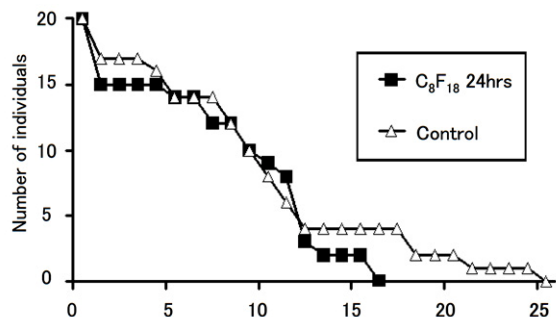


Figure 7. Survival ratio of *M. Tardigradum* soaked in C_8F_{18} for 24 hrs. Control: specimens not soaked.

この疑問に対して十分な答えはまだできないが、7.5 GPa のもとで 3 時間という値は、限界値ではないと思われる。私たちの行った実験では樽からできるだけ水分を抜くために、

樽にしてから乾燥機に一週間置いた。それでも完全に体内から水分が抜け切っていないだろう。乾燥条件をもっと改善して、体内からさらに完全に水を抜くことができれば、さらに強力な耐性能力が発現すると予想している。

さらに、温度の影響も考えられる。この実験はかなり的高温下で行われている。樽にしてから一週間デシケータに置かれたが、周囲の温度は20〜30度（室温）であった。また高圧も室温でかけられた。さらに蘇生してからも25±1℃（恒温器）に置かれて死亡率を調べた。Fig. 3、Fig. 4、Fig. 7の結果を比較するとわかるように、同じ条件で調べたにもかかわらず、コントロール自体の生残率のパターンが実験ごとによりかなり大きく違っている。これはオニクマムシの樽になる前の生理的な状態に違いがあり、それが水に戻してからが生残率の違いに結びついている可能性と同時に、樽への移行時に水分の拡散がうまく行われたかの違いが影響を及ぼしている可能性も否定できない。

オニクマムシの樽の耐性を低下させる環境要因としては、水分含有量に加えて酸素や温度が重要であると思われる。体内の水分はデシケータで一週間抜いたとしても、体内から完全に消えているかどうかかわからない。また、酸素は生物の生存には必要であるが、樽になった状態ではむしろ生存には不利に働くであろう。温度も高い状態では、酸素による影響を促進する効果があると考えられる。

以上のことから、私たちはオニクマムシの樽はさらに厳密な条件設定をすることにより、7.5GPaの超高圧にさらに長時間耐えられるようになるかと予想している。

〈今後の実験計画〉

1) 樽の極限環境耐性能力の違いが、樽に移行する過程で体内の組織や細胞の水分が抜ける程度と強い相関があるのならば、デシケータの中に樽を置く時間や日数によって、蘇生率や生残率に大きな違いが現れるだろう。例えば、デシケータに入れなかったグループと、デシケータに1日、および7日置いたグループで、それぞれ7.5GPaに3時間おき、蘇生率や生残率のパターンを調べることができる。

2) 本実験で使用したデシケータは、湿度は20%程度のものだった。これでは、デシケータの中に1週間樽を置いても体内から完全に水分を除去することは不可能である。超高圧下では、ごく微量の水分でも残っていれば、細胞に大きなダメージをもたらす可能性は大きい。樽の体内からより完全に水分を除去する手段として樽を真空中に置くことが考えられる。

3) クマムシの樽の蘇生率は、樽に置かれたときの温度に大きな影響を受けるかも知れない。温度が高ければ、それだけ呼吸量が増え、物質代謝が進行する。しかし、体内の水分が極端に減少している条件では、物質代謝に大きな支障が出て、その結果細胞内や組織に回復不能な障害が発生する可能性が高くなるだろう。たとえば、室温、4℃、-20℃に樽を一週間置いて、蘇生率と生残率を比較することにより、温度の影響を調べることができる。

4) 酸素の有無もまた樽の蘇生率、生残率に大きな影響があると予想される。酸素があれば、呼吸に使われCO₂と水が発生し、水が有害な作用を及ぼす可能性がある。

5) 温度サイクルへの耐性能力は？クマムシの樽宇宙に持ってゆくには、輸送途中や宇宙空間で激しい温度変化にさらされる。温度変化に耐性があるかどうかを見てみたい。

6) 樽からの回復は障害の修復、それとも障害の軽減か？樽になることで極限環境耐性が発現するのは、障害の軽減と深く関係があるように思える。他の生物でわかっている修復遺伝子を使い、樽でも発現するのか、それに続く細胞内過程の研究も可能であろう。

7) 樽は放射線耐性も知られているので、完全に水分を除去したサンプルで、放射線耐性の限界を調べることができるだろう。

（謝辞）本研究はJSPS 二国間共同研究（日ロ共同研究）の支援を受けた。また、本研究の成果は、JAXA 研究班（生物衛星利用重力生物学研究グループ）の活動報告として宇宙環境利用シンポジウム（H19・1・17）で発表された。