

鉱物、有機物、微生物の高速衝突による変性の研究

横堀 伸一 (東京薬大・生命)、山岸 明彦 (東京薬大・生命)、小林 憲正 (横浜国大・院工)、
矢野 創 (JAXA/ISAS)、田端 誠 (JAXA/ISAS、千葉大・院理)、山下 雅道 (JAXA/ISAS)、
橋本 博文 (JAXA/ISAS)、奥平 恭子 (会津大)、藪田 ひかる (大阪大・院理)、
今井 栄一 (長岡科技大・生物)、三田 肇 (福岡工大・工)、丸茂 克美 (富山大・理)、
河合 秀幸 (千葉大・院理)、河口 優子 (東京薬大・院生命科学)、
川本 幸徳 (横浜国大・院工)、Palash Kumar Sarker (横浜国大・院工)、
江藤 碧 (横浜国大・院工)、古川 天 (横浜国大・院工)

生物にとっての極限環境の一つとして、大気圏高層部が挙げられる。その環境の特徴として、低圧、強い紫外線照射、乾燥、等が挙げられる。1930年代から、大気球、飛行機あるいは観測用ロケットを用いて、微生物採集実験が行われ、高層大気（77 km以下の高度）でも微生物が存在することが報告されてきた^[1-3]。我々も航空機や大気球を用いて25 kmまでの大気を採集し、その中の微生物の単離とその解析を行った。これまで最も高い紫外線耐性を持つとされている *Deinococcus radiodurans* と同等あるいはそれ以上の紫外線耐性を示した2株に関して微生物学的な解析を進め、*Deinococcus aeri* と *Deinococcus aetherius* と命名した^[4-5]。また、*Bacillus* 属に代表される紫外線に対して高い耐性を示す胞子を形成する微生物の株を多数単離した^[6]。大気球では40~50kmの高度までは、同様の手法で微生物の直接採取が可能である。しかし、それ以上の高度における微生物の直接採取は、同様の手法で行うことは困難である。

一方、地球上の生命の起源に関して、生命が地球上で誕生したとする説の他に、地球外で誕生しその後地球に飛来したという説が古くから議論されてきた（パンスペルミア仮説）。Arrhenius によるパンスペルミア仮説は、胞子のような生物が地球に限らず様々な天体間を移動するという考えである^[7]。火星起源の隕石に生命の痕跡を見いだしたとする報告^[8]もあり、今日、地球外の太陽系天体（火星、そして木星や土星の衛星）において、生命の存在可能性が重要な科学的課題として検討されている^[9]。

しかし、パンスペルミア説は一つでは無く、様々な論者による異なる考えを含む^[9]。例えば、私たちが現在地球上で見るとような生命が天体間を移動したという考え方がある一方で、生命の出現に必要な有機物（アミノ酸や核酸塩基、糖などの生体高分子の構成成分またはそれらを構成成分として含む巨大分子）が天体間を移動したという説も唱えられている。これらの可能性を議論する上で最も直接的な検証実験は、実際に生物や生命の材料となり得る有機物の天体間で採取を試みることである。現在私たちがその存在を確認しているのは、地球上の生物のみである。まず、地球由来の生物の存在がどの高度まで確認できるのか、また、その生物が生きている（または蘇生可能）のか否か、についての検討が必要かつ現実的なアプローチである。

そこで、私たちは、国際宇宙ステーション(ISS)の日本実験棟「きぼう」の曝露部における微生物

物採取と微生物密度の推定のための実験の実現可能性を検討することとした^[10-11]。高度50kmを超えた高々度で、長期間の曝露部での微粒子採集実験を行うことのできる研究設備としては、現在では「きぼう」を使用する以外に選択肢はない。しかし、この高度は既に真空であり、大気の吸引による微生物・有機物の採取はできない。そこで、私たちは、既に宇宙空間での運用実績のあるエアロゲルを微生物・有機物の採取に使用することを検討することとした。

地球由来の微生物・有機物が軌道高度に存在すると想定すると、その速度はISS軌道速度と同程度であり、採集用エアロゲルに衝突する速度は微生物とISSの相対速度となる。従って、ISS進行方向前面では最高16km/s、側面で最高8km/s、背面で微生物の軌道に依存した軌道間差速度となる。このような高速で衝突する微粒子は、適切に設計された捕集装置を用いない限り、衝撃による蒸発、原形をとどめないほどの破壊が予想される。

一方、そのような高度では、生物のゲノムDNAの切断など生物に致命的な影響を与える地球上には到達しない強度の紫外線や放射線の照射を受けることを想定しなければならないので、生存し得る微生物の存在形態として微生物単独で浮遊していることを考えるのは困難である。蘇生可能な微生物がISS高度ならびにより高々度で存在する状態として、(1) 微生物がある程度のサイズの細胞塊のような形で存在し、その内部の微生物細胞が蘇生可能な状態で保護されている場合と、(2) 微生物が粘土鉱物などの粒子内部に埋め込まれた形で存在し保護されている場合、の2つのケースを考えることができる。有機物も、直接紫外線などを照射されることで変成、分解することが考えられ、上記の2つのケースを考えることで、それらの変成、分解から保護されることが想定される。

これらの検証のために、2段式軽ガス銃で4km/sに微生物や有機物粒子を加速し、エアロゲルをターゲットとして打ち込み、エアロゲルに作られたトラック中に微生物や有機物が検出できるか検討を行った。(シリカ)エアロゲルは、シリカから作られる非常に低密度の固体である。そのため、高速で衝突した微生物・有機物に対する衝撃を小さくして減速することが期待できる。上記の2つのケースを想定すると、衝突時に微生物の細胞塊や粘土鉱物の表層は衝撃に伴う高温に曝されると考えられるが、内部にはその高い温度が到達せず、微生物や有機物が原形を失わずに回収することができることが期待される。

これまでに、衝突粒子中の微生物の検出について、下記の様な結果を得ている。まず、*Deinococcus radiodurans*細胞を粘土鉱物（人工スクメタイト。商品名ルーセントタイト）に吸着させ、乾燥してサンプルとした。また、粘土鉱物のみを乾燥したブランクも作製した。ついで、2段式軽ガス銃によって秒速4 kmまでサンプルを加速し、シリカエアロゲルで微生物を吸着させた微粒子を捕獲した。蛍光顕微鏡でエアロゲルを観察し、微生物の存在を確認する。SYBR Green Iで衝突トラックと捕獲微粒子を含むエアロゲルサンプルを検鏡前に染色し、観察を行った。

エアロゲルにルーセントタイトを衝突させ、蛍光顕微鏡で観察すると、微粒子表面がアモルファス化し、非特異的に幅広い波長域での蛍光が観察された。また、蛍光の減衰速度も遅い。一方、微生物を染色して蛍光顕微鏡観察する場合、緑色蛍光のみを発し、減衰速度が早いことが非衝突

サンプルによる予備実験で示唆され、上記の衝突粘土鉱物微粒子サンプルの蛍光観察結果との比較から、衝突サンプル内の微生物を、蛍光の波長域と減衰速度から、微生物以外のものと区別できることが示唆された。実際に、非染色微生物を含む粘土鉱物の衝突サンプルを、衝突後取り出し、SYBR Green Iで染色して蛍光顕微鏡観察を行った。ところ、上記の2つの指標から見て微生物とそれ以外を区別可能であった。

また、有機物（アミノ酸）を含む微粒子（粘土または多孔質シリカゲル）にしみこませたもの、および炭素質隕石（マーチソン隕石）粉末(30-100 $\mu\text{m}\phi$)を二段式軽ガス銃で約4 km/sで射出した。

まず、アミノ酸を含む微粒子をエアロゲルで捕集したものの分析法を検討した。有機物はトラック末端で捕集された粒子のみならず、トラックにも含まれると考えられるため、微粒子を含むトラックをエアロゲルごと取り出し、フッ酸分解・酸加水分解し、MonoSpin SCXで固相抽出して脱塩した後、アミノ酸分析を行った。また、エアロゲル中に含まれるアミノ酸を低減するため、エアロゲル製造に用いるアルコールを高純度のものに切り替えた。現在、捕集したアミノ酸を解析中である。

炭素質隕石粉末を用いた実験については、トラック末端まで貫入した隕石微粒子をタングステン針と細筆で取り出し、2枚のアルミ板でプレス後、顕微赤外分光・顕微ラマン分光分析を用いて測定を行った。

炭素質隕石粉末の衝突実験の結果、衝突後の隕石粉末の顕微赤外分光スペクトルにおいて脂肪族炭素の吸収（ CH_3 の伸縮振動（2960 cm^{-1} ）、 CH_2 の伸縮振動（2920, 2820 cm^{-1} ））が観測されたことから、隕石中の有機物が高速衝突後も残存することが確認された。ただし、それらのピーク強度は衝突前に比べて低かった。衝突後の隕石粉末の顕微赤外マッピングを行ったところ、脂肪族炭素と層状ケイ酸塩の分布がほぼ同じであった。この結果は、衝突前の隕石中の有機物と鉱物の化学状態^[12]と類似しており、衝突による成分分別は起こっていないことを示すものである。さらに、衝突前の CH_2/CH_3 比は1.3~2であったのに対し、衝突後の CH_2/CH_3 比は0.3~3であった。以上から、隕石有機物の脂肪族炭素の一部は衝撃によって消失または変化した可能性が考えられる。また、衝突後の隕石粉末のラマンスペクトルでは、炭素質物質に由来するD, Gバンド（それぞれ~1350, 1580 cm^{-1} ）が検出され、それらのピーク位置と半値幅は衝突前のものの不均一性の範囲に収まったことから、4 km/sの衝突では、隕石有機物の芳香族炭素構造および結晶状態はほとんど変成していないことが考えられる。

本年度は、2012年12月に、全7回の衝突実験を行った。そのうち3回は、本衝突実験の完全なコントロール実験として、射出するサボに微粒子を詰めないものを射出体とした。また、残りの4回については、微生物（*Deinococcus radiocurans*）細胞を含むまたは含まないルーセントタイト微粒子（粒径約60 μm ）をサボに詰め、射出体とした。射出速度は4 km/sないし6 km/sであった。現在、有機物（特にアミノ酸）の検出、衝突粒子ならびに衝突トラックの形状の観察等を進めている。今後、実験環境の整備が完了次第、PCRによる衝突微粒子からの微生物DNAの検出の検討、等を進める計画である。

謝辞

ガス銃実験全般をサポートして頂いたJAXA/ISASスペースプラズマ実験施設の長谷川直氏に深く感謝致します。

参考文献

- [1] Rogers, L. A., and Meier, F. C. (1936) The collection of microorganisms above 36,000 feet. *Natio. Geographic Soc. Stratosphere Series*. 2, 146.
- [2] Bruch, C. W. (1967) Microbes in the upper atmosphere and beyond. In: *Airborne microbes: symposium of the society of general microbiology* (Gregory, P. A. and Monteith, J. L. Eds.), Vol. 17, pp. 385. Cambridge University Press.
- [3] Imshenetsky, A. A., Lysenko, S. V., Kazakov, G. A. and Ramkova, N. V. (1976) On microorganisms of the stratosphere. *Life Scie. Space Res.* 14, 359-362.
- [4] Yang, Y., Itoh, T., Yokobori, S., Itahashi, S., Shimada, H., Satoh, K., Ohba, H., Narumi, I., and Yamagishi, A. (2009) *Deinococcus aeri* sp. nov., isolated from the high atmosphere. *Internatl. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59, 1862-1866
- [5] Yang, Y., Itoh, T., Yokobori, S., Itahashi, S., Shimada, H., Satoh, K., Ohba, H., Narumi, I., and Yamagishi, A. (2010) *Deinococcus aetherius* sp. nov., isolated from the stratosphere. *Internatl. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 776-779
- [6] Yang, Y., Itahashi, S., Yokobori, S., and Yamagishi, A. (2008) UV-resistant Bacteria isolated at high altitude. *Biol. Sci. Space* 22, 18-25
- [7] Arrhenius, S., *Worlds in the Making-the Evolution of the Universe (translation to English by H. Borns)*, Harper and Brothers Publishers, New York (1908)
- [8] McKay, D. S., E. K. Gibson Jr., K. L. Thomas-Keptra, H. Vali, C. S. Romanek, S. J. Clemett, X. D. F. Chillier, C. R. Maechling, and R. N. Zare (1996) Search for past life on Mars: Possible relic biogenic activity in Martian meteorite. *Science* 273: 924-930
- [9] 山岸明彦（編）(2013) アストロバイオロジー：宇宙に生命の起源を求めて (DOJIN BIOSCIENCE SERIES)。化学同人
- [10] 山岸明彦、矢野創、奥平恭子、小林憲正、横堀伸一、田端誠、河合秀幸 (2007) TANPOPO：有機物と微生物の宇宙空間曝露と微隕石及び微生物の捕集実験。 *Biol. Sci. Space* 21: 67-75
- [11] Yamagishi, A., H. Yano, K. Kobayashi, S. Yokobori, M. Yamashita, H. Hashimoto, M. Tabata, & H. Kawai (2008) Tanpopo: Astrobiology exposure and micrometeoroid-capture experiments. *Viva Origino* 36: 72-76. (和文)
- [12] Kebukawa, Y., S. Nakashima, M. Ishikawa, K. Aizawa, T. Inoue, K. Nakamura-Messenger, and M. E. Zolensky (2010) Spatial distribution of organic matter in the Bells CM2 chondrite using near-field infrared microspectroscopy. *Meteorit. Planet. Sci.* 45: 394-405