

宇宙環境における線虫の老化 —WG 平成 23 年度活動報告—

本田陽子¹, 東端 晃², 石岡憲昭², 東谷篤志³, 福井啓二⁴, 田中雅嗣¹, 本田修二¹

¹ 東京都健康長寿医療センター研究所, ² ISAS/JAXA, ³ 東北大・生命科学, ⁴ JSF

Abstract : To clarify the effects of the space environment on the aging rate of organisms, we are preparing the study of nematode *Caenorhabditis elegans* in space as a model. We are making a system for automatically measuring aging rate and viability in space. In this year, we made compact camera systems that have one or two lenses with very short focal distance. One minute movies with the camera systems were analyzed with the special image analysis software which is currently under development. These systems will help for measurement of aging rate and viability of nematode in space and give some hints for aging in space.

1. はじめに

生物の老化速度は遺伝因子とともに環境因子の影響を大きく受けることが知られている。一方、生物が宇宙環境に長期間置かれた場合には、筋肉の退縮など種々の影響を受けることも報告されている。宇宙環境により老化の基本的過程がどのような影響を受けるかについては、ショウジョウバエでの宇宙飛行帰還後の寿命の報告 (Benguria et al. 1996) やゾウリムシのクローン寿命の報告 (Mogami et al. 1999) 等がある。しかしまだ未解明な点も多い。将来、人類においても惑星探索や月での生活等長期間宇宙で生活する可能性がある。モデル動物で宇宙環境の老化速度に及ぼす影響を研究することは、長期間の宇宙滞在がヒトの老化に与える影響を考える上で必要な情報を与えるものと考えられる。

2. これまでの経緯

われわれは2004年国際宇宙実験線虫プロジェクト (ICE-1st) に参加し、ポリグルタミン遺伝子 ((CAG)₃₅) を導入した線虫 *C. elegans* (Morley et al. 2002) を用いて、加齢の指標となるポリグルタミン凝集体形成の10日間宇宙滞在による影響を観察した。その結果、宇宙滞在によりポリグルタミン凝集体形成が有意に低下することが認められ、宇宙環境では老化速度が遅いことを示唆すると考えられた。原因として宇宙環境における微小重力と宇宙放射線の影響

が考えられるが、線虫は放射線に強い耐性を示すことから、ポリグルタミン凝集体形成の低下は微小重力の影響である可能性が高い。この結果を検証するため、国際宇宙ステーションのきぼう船内実験室において線虫の寿命と老化速度を長期に渡って計測する宇宙実験を提案し、2008年度に本研究班を立ち上げ、2010年にはきぼう船内実験室第二期利用生命科学分野の候補テーマとして採択された。

3. 宇宙実験の計画と準備状況

地上実験室にて線虫の野生体 (N2) と *daf-16* (FOXO転写因子) 変異体をDCC容器中で線虫用液体培地CeMMを用いて同調培養し、L4幼虫後期に産卵抑制剤を加える。*daf-16*変異体は線虫の老化を制御するシグナル伝達系のひとつであるインスリン様シグナル伝達経路の下流で遺伝子発現を制御している転写因子が変異しており、短寿命であることが知られている。この変異体の寿命が変化すればインスリンシグナル伝達系とは無関係の経路が関わっていることになり、宇宙環境における線虫の老化機構を考える上での手がかりとなると期待される。実験には軌道上実験群、軌道上1G過重力対照群および地上対照群の3群を用意する。実験群と1G過重力対照群を「きぼう」に運び、カメラ付き計測ユニット (V-MEU) に入れて細胞培養装置 (CBEF) に装着する。V-MEUは線虫観察用に改造する必要がある。

線虫を軌道上で長期間飼育して低倍率で定期的に動画撮影を行い、寿命と老化マーカーを測定する。老化マーカーとしては線虫の動きの頻度を用いる。宇宙滞在10、20、40、60日程度に1度、1分程度動画撮影する。動画データは地上へ送り、単位時間当たりの蛇行運動頻度を画像解析ソフトウェアを使って測定する。このソフトウェアは線虫の動きの解析に特化したもので、現在開発中である。画像の連続性を時間軸としてImage(O)とImage(N)との差分を取り、変化量を移動変化として変化画素量動きとして定量化する。線虫が老化してほとんど動かなくなる培養50日以降、毎5日に1度程度の頻度で1分程度動画を撮影する。動画データを地上実験室にて解析し、何らかの動きが認められた個体を生存、変化のないものを死亡個体として計測して生存率を求める。

本年度は主として線虫培養系の検討と線虫観察機(図2)の作製を行なった。野生体線虫をDCC培養容器内で線虫用液体培地(CeMM)を用いて培養したところ、期間60日程度で生存率50%程度 90日で生存率10%以下であることがわかった(図1)。線虫観察機はカメラモジュール(STC-N632, センサーテクノロジー)とレンズ(VS-LD10, 同)を用いた試作機を2機作成した。この試作機を用いて動画を撮影し、開発中の画像解析ソフトウェアを用いて視野中の線虫全体の動きを定量化することができた。

これらの測定システムにより、宇宙環境における線虫の寿命と老化速度の測定がほぼ自動化され、軌道上の実験群、および1G過重力対照群の寿命と老化速度が地上対照群のそれらと比較して変わるかどうか明らかになると期待される。

4. 今後の課題

- 1) 動画撮影の際に、線虫の分布が偏ることによる観察個体数の不足をどう防ぐか ~DCCの改良(シリコン等の注入により溶液部分を少なくするなど)、広視野レンズの利用
- 2) 線虫用運動解析ソフトウェアの改良 ~個体毎の動きの検出を可能にする
- 3) データ転送方法の確立 ~動画データの保存場

所、地上への転送のタイミング等を検討

- 4) 帰還サンプルの保存方法を検討 ~保存方法の改良、運搬方法の簡便化
- 5) 線虫培養方法の再検討 ~CeMM新ロット作製、同調培養方法の検討

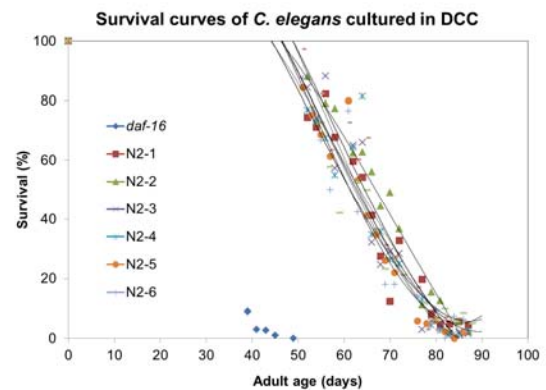


図1

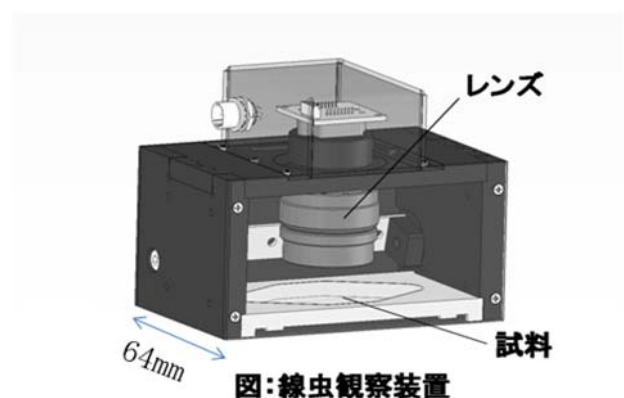


図2

参考文献

Benguria A, Grande E, de Juan E, Ugalde C, Miquel J, Garesse R, Marco R, J Biotechnol 47:191-201, 1996

Mogami Y, Tokunaga N, Baba SA, Adv Space Res 23:2087-2090, 1999

Morley JF, Brignull HR, Weyers JJ, Morimoto RI, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:10417-10422, 2002