

## 2011年度宇宙微生物学研究班ワーキンググループ活動報告

(代表者) 帝京大・医 山崎 丘

(メンバー) 中央大・理工 大森正之, JAXA 石岡憲昭, 岐阜大・院・医 江崎孝行, 茨城大・農 太田寛行, 静岡大・理 加藤憲二, 京都府立医大・院・医 喜多正和, 明薬大・微生物 杉田 隆, 大阪大・院・薬 那須正夫, JAXA 東端 晃, JSF 福井啓二, JAXA 藤本信義, 帝京大・院・医 榎村浩一, 立命館大学・生命科学 森崎久雄

### Annual Report of Research Working Group "Microbiology in Space" FY2011

*Takashi Yamazaki<sup>1\*</sup>, Masayuki Ohmori<sup>2</sup>, Noriaki Ishioka<sup>3</sup>, Takayuki Ezaki<sup>4</sup>, Hiroyuki Ohta<sup>5</sup>, Kenji Kato<sup>6</sup>, Masakazu Kita<sup>7</sup>, Takashi Sugita<sup>8</sup>, Masao Nasu<sup>9</sup>, Akira Higashibata<sup>3</sup>, Keiji Fukui<sup>10</sup>, Nobuyoshi Fujimoto<sup>3</sup>, Koichi Makimura<sup>1</sup>, Hisao Morisaki<sup>11</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Medical Mycology, Teikyo University School of Medicine, <sup>2</sup>Faculty of Science and Engineering, Chuo University, <sup>3</sup>Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA), <sup>4</sup>Gifu University School of Medicine, <sup>5</sup>Faculty of Agriculture, Ibaraki University, <sup>6</sup>Faculty of Science, Shizuoka University, <sup>7</sup>Kyoto Prefectural University of Medicine, <sup>8</sup>Department of Microbiology, Meiji Pharmaceutical University, <sup>9</sup>Graduate School of Pharmaceutical Science, Osaka University, <sup>10</sup>Japan Space Forum, <sup>11</sup>College of Life Sciences, Ritsumeikan University

\* Corresponding to: Faculty of Medicine/Institute of Medical Mycology/Laboratory of Space and Environmental Medicine, Teikyo University, 359 Otsuka, Hachioji, Tokyo 192-0395 Japan

E-Mail: yamazaki@main.teikyo-u.ac.jp

**Abstract:** The purpose of the Research Working Group "Microbiology in Space" is to develop life support systems to protect astronauts from all of problems caused by microorganisms during long duration space expeditions. We are aware of the risk and strongly feel the need to take some countermeasures against microbial contamination in spacecrafts. It is well known that the living environment in the International Space Station (ISS) has been progressively contaminated by microorganisms from the beginning of construction. Various microorganisms have been isolated from ISS by NASA and Russian researchers, and also we could collect and analyze some bacterial and fungal samples from the Japanese Experiment Module (JEM) "KIBO" by ourselves. In our working group, we have developed the methods and procedures for periodic and long-term microbial sampling from not only the environment but also flight crew members. Environmental monitoring in JEM and body sample collection from flight crew members has been started and some samples have been analyzed. We are continuing to analyze these samples to perform the risk assessment and management during stays aboard the ISS. For the JEM second phase utilization, we will be developing the Automated On-Board Microbial Monitoring Systems to detect microorganisms directory in JEM without sample return to the ground. And also, we are promoting space flight experiments of microorganisms using recovery satellites and extending cooperation to international efforts to establish research communities of Microbiology in Space.

**Key words;** Life Support, Microbial contamination, Microbial monitoring, Spacecraft environment, Microbiology in Space

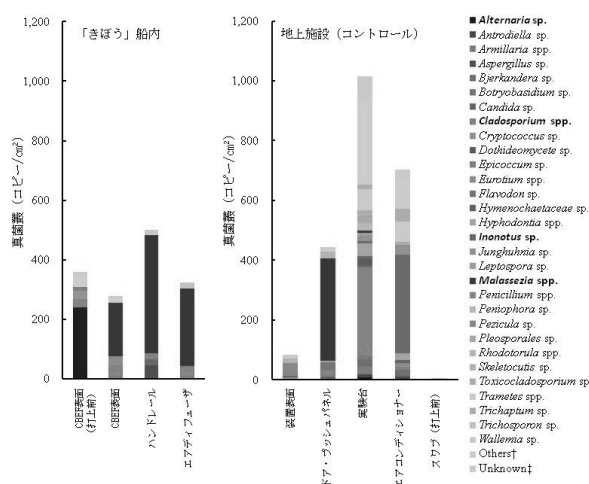
#### 国際宇宙ステーション「きぼう」日本実験棟船内実験室における微生物叢モニタリング

#### Microbial Dynamics in International Space Station (Microbe-I, II & III)

長期滞在型有人宇宙施設について、打ち上げ・運用開始時から継続的に微生物叢モニタリングを行うことは、ゴミや埃が下に落ちることのない人工的

な完全閉鎖型施設という特殊環境における微生物叢形成ならびにその動態を知る上で、非常に重要である。2008年5月の1J/A(STS-123)フライトを皮切りに3回に分けて国際宇宙ステーションに向けて打ち上げられた日本初の有人宇宙施設「きぼう」日本実験棟は、2009年7月の2J/A(STS-127)フライトをもって建設が完了した。与圧モジュールである

船内保管室は 1J/A フライトにて、船内実験室は 2008 年 6 月に第 2 便 (1J/STS-124) にて打ち上げられ、運用が開始された。現在「きぼう」ではクルーが実験をはじめとする様々な作業を行い、また一部は生活するスペースになることもある。「きぼう」における最初の軌道上微生物モニタリング実験である Microbe-I は、2009 年 8 月から 9 月に掛けて実施され、一部の解析が完了した。その結果、軌道上で行われたサンプリングシートでの培養結果は、地上における継続培養の結果も含め陰性であった。また、回収されたサンプリングシート上に繊維くず等は認められたものの、ヒト毛髪、落屑、いかなる菌体も認められなかった。さらに定量 PCR 法による DNA 検出を行ったところ、*Malassezia restricta* を含むヒト常在菌、および一般的な環境真菌遺伝子の増幅が確認された。以上の結果から、運用開始後およそ 460 日時点における「きぼう」船内は、高い清浄度を保っていることが明らかとなった。本結果は、2011 年に Microbiology and Immunology 上で発表された。



Microbe-I における「きぼう」船内真菌叢の解析結果。人の皮膚常在菌である *Malassezia* 属が優勢であることがわかる。 Satoh, et al. *Microbiol Immunol.* 55(12):823-829. (2011)

2010 年 10 月から 2011 年 2 月にかけて実施された Microbe-II による回収試料の解析も一部始まっている。軌道上で培養された後、地上に回収されたサンプリングシートには、肉眼で十分確認することができる真菌のコロニーが複数個見受けられた。顕微鏡観察による所見では、これらは全て私たちの生活環境中に通常生育する真菌であることが示唆されており、現在詳細な解析が進行中である。Microbe 実験は今後 Microbe-III へと続き、検証項目やハードウェアを増やしなが、継続的に実施していくこととなっており、今後更なるデータの蓄積が期待されている。

## 国際宇宙ステーションに滞在する宇宙飛行士の身体真菌叢評価

### Mycological Evaluation of Crew Member Exposure to ISS Ambient Air (Myco)

ISS に滞在する宇宙飛行士の皮膚、鼻腔粘膜、咽頭粘膜の常在微生物叢変化を調査する Myco テーマについては、ISS 短期滞在クルー (シャトルクルー) 10 名、ISS 長期滞在クルー 10 名の軌道上における試料採取が完了し、試料の解析が進められている。

鼻腔、咽頭粘膜試料の培養試験においては、一部の軌道上採取試料から、ごく一般的な常在性真菌が少数ながら分離された。現在 DNA 解析による常在菌叢解析を進めているところである。また、医療用ドレッシングテープにて回収された皮膚試料の総 *Malassezia* 量を測定した結果、いずれのクルーも ISS 滞時に *Malassezia* 量が大きく上昇することがわかった。また、その変化は短期滞在型のシャトルクルーでも同じように示されたこと、シャトルクルーの試料採取は打上後 10 日前後であることから、宇宙飛行士の皮膚 *Malassezia* 量は、ISS 滞在後比較的早い時期に急激に増加していることが示唆された。

宇宙飛行士は宇宙滞在中、比較的脂性肌になることが経験的に知られている。スポンジバスなどで体を清拭してはいるものの充分とは言えず、好脂性真菌の増殖が原因で皮脂の分泌が亢進され、さらに増殖するという悪循環に陥っている可能性がある。また、脂性肌には船内を漂う塵や埃などが付着しやすくなることもあり、宇宙飛行士の皮膚の状態変化のデータは、感染症やアレルギーのような皮膚疾患の対策をする上でも必要不可欠であり、宇宙飛行士の効果的な除菌等を含めた菌叢管理法開発に繋がる成果が期待されている。

なお、本研究は JAXA 宇宙医学生物学研究室および宇宙科学研究所 ISS 科学プロジェクト室が中心となり実施される医学研究プロジェクトである。

## 宇宙船内環境微生物のオンボードモニタリング技術の開発と利用

### On-Board Microorganism Monitoring in Spacecrafts

宇宙飛行士や宇宙施設を微生物災害から守るためには、船内の微生物叢が今どのような状態にあるのか、即時に正確に把握することが必要不可欠である。現在の技術では、軌道上で採取した試料を地上に回収することなく微生物叢を分析することはできない。つまり、地上での解析が完了するまでに大きなタイムラグが生じるため、搭乗員が生活環境の

状態を即座に把握することは事実上不可能である。

本研究チームでは、これまで軌道上で搭乗員が簡単に扱うことができる高精度な微生物試料採取法や、軌道上で実施可能な多種類の微生物を網羅的にスクリーニングする手法、マイクロ流路システムや化学発光・遺伝子増幅法によるオンボード微生物検出デバイスの検討を進めてきた。「きぼう」船内実験室第2期利用後半期間に向けた候補テーマに採択された本研究では、搭乗員自身により船内で実施が可能であり、即座に結果を判読することができる優れた簡易DNA分析手法であるLAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification)法を採用し、宇宙船内において世界に先駆けて実用化すると共に、ISS内の衛生微生物学的な安全・安心確保のために重要な知見を蓄積し、今後の有人宇宙活動の安全な運用と更なる宇宙開発の推進に貢献することを目指す。

#### 回収衛星を利用した藍藻実験と装置開発

##### The India-Japan Cooperative Space Experiment Using the Indian Recovery Satellite

本研究チームでは、「生物学系スモールペイロード宇宙実験研究チーム(代表:東端 晃, JAXA)」 「宇宙ストレス生物学研究チーム(代表:石岡憲昭, JAXA)」と共同で、小型の宇宙実験装置開発を進めてきた。軌道上で自動的に実験を開始し、培養後の試料を化学固定した後、地上に回収するというパターンを基本とし、小型ポンプ、バルブ、培養用チャンバー、化学固定用チャンバー、温度制御部、光合成生物の培養に必要な光制御部などを組み合わせた実験系および装置の開発が完了している。今年度は、今回開発した藍藻用小型培養実験装置のフライトモデルを用い、実際のフライトシーケンスに合わせた運用試験を実施した。藍藻(シアノバクテリア、*Spirulina platensis*)を、安定同位体<sup>18</sup>O水を含む培地に入れ、打上げまでの待機時間、培養時間を完全にシミュレートして地上試験を行ったところ、藍藻は概ね順調に生育することが分かった。また、光合成により発生した<sup>18</sup>Oを含む酸素を検出することに成功し、宇宙実験実施に必要な条件を満たしていることが確認できた。

この小型微生物実験装置は、インドの回収型科学衛星SRE-2へ搭載し、国際共同実験を実施する予定である。本装置は、2012年中にインド・スリハリコタ射場から打ち上がる予定である。

(参考)

- 1) Satoh K, Nishiyama Y, Yamazaki T, Sugita T, Tsukii Y, Takatori K, Benno Y, Makimura K. Microbe-I: fungal biota analyses of the Japanese experimental module KIBO of the International Space Station before launch and after being in orbit for about 460 days. *Microbiol Immunol.* Dec;55(12):823-829. (2011)
- 2) 2011年度生物学系スモールペイロード宇宙実験研究チーム活動報告 宇宙利用シンポジウム(第28回) L23
- 3) 粘着集菌シートを用いた宇宙居住環境中の細菌モニタリング 宇宙利用シンポジウム(第28回) L25
- 4) 国際宇宙ステーションに滞在する宇宙飛行士の身体真菌叢評価研究: Myco 中間報告 第55回 日本医真菌学会学術集会 P-113
- 5) 国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物研究: Microbe-II 中間報告 第55回 日本医真菌学会学術集会 P-114
- 6) 国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物研究: Microbe-II 中間報告 第57回 日本宇宙航空環境医学会大会
- 7) 国際宇宙ステーションに滞在する宇宙飛行士の身体真菌叢評価研究: Myco 中間報告 第57回 日本宇宙航空環境医学会大会
- 8) 帝京大学大学院公開講座・宇宙環境医学 (2011/7/9、2011/9/3、2011/11/26)