

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

三枝誠行¹⁾、池田英樹¹⁾、オレグ・グセフ¹⁾、伊吹正史¹⁾、鈴木忠²⁾、阿部渉³⁾

Studies on resistance to excess environmental-stress (space) in cryptobiotic stages of invertebrates: physiological and molecular mechanism

Masayuki Saigusa¹⁾, Hideki Ikeda¹⁾, Oleg Gusev¹⁾, Masafumi Ibuki¹⁾, Atsushi C. Suzuki²⁾, Wataru Abe³⁾

1) Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, 3-1-1, Tsushima, Okayama 700-8530 Japan

2) Department of Biology, Keio University School of Medicine, Yokohama Kanagawa 223-8521 Japan

3) Faculty of Horticulture, Chiba University, 648 Matsudo 271-8510 JAPAN

Abstract. Several animals show resistance to excess environmental stresses such as desiccation for a long time, tremendous level of pressure and temperature, in cryptobiotic stages. *Milnesium tardigradum* (Phylum Tardigrada) is one of these animals. When the specimens encounters desiccation, their body soon changes into a cryptobiotic condition called 'tun'. The body weight of 'tun' decreases to 3% in comparison with normal condition, and the metabolism decreases to 0.01%. The cryptobiotic stage of this animals shows a tremendous resistance to excess environmental conditions. For example, it is tolerant to -253°C to 50°C , vacuum to 600 MP, up to 5700 gray, and a number of chemicals. We have focused on physiological and molecular mechanisms of the cryptobiotic stage of *M. tardigradum*. We have reported life cycle of this species in this symposium, and proposed a research project on this phenomenon. Furthermore, we have discussed utilization of this animal for investigation of space research. We are organizing a joint study between Japan and Russia. The outline of this project has also been explained.

研究の概要 地球上には、生物の生活や生殖に不都合な時期がある。それを乗り切るために、休眠現象を発達させた生物もいれば、移動や渡りを行って、より好適な環境を確保する生物もいる。しかしながら、地球上には不都合という程度をはるかに超えた「極限環境」が存在する。極地や高山の気象条件、砂漠、深海の高水圧などがそれである。こうした極限環境の中でもやはり生きている生物がいる。極限環境に生きる生物たちの研究が進むにつれ、生物たちの驚くべき環境耐性能力が明らかになりつつある。最近では宇宙利用に関する研究が進んでいるが、宇宙もまた極限環境のひとつである。現在日本における宇宙環境利用のために推進を期待されている研究項目は、1) 宇宙環境暴露時の生物への影響の検討、および2) 宇宙環境でのライフサイクル観察の2点である(宇宙環境利用研究委員会、ライフサイエンス専門委員会)。これらの要請にこたえるためには、宇宙環境暴露の影響をより正確にモニターできる生物系に注目すること、ならびに宇宙環境でライフサイクルの観察可能な生物を選定し、それら

を実際に宇宙に送り込んで宇宙環境に暴露させることが必要である。

今まで極限環境耐性生物に関しては、海底熱水孔にすむ化学合成細菌とそれを利用して生活する動物群集¹⁾、西アフリカのサバンナに住むネムリユスリカなどの研究が進んでいる²⁾。これらの生物と並んで挙げられるのがクマムシである。クマムシは、緩歩動物門(Phylum Tardigrada)に属する体長0.5mmから1mmのごく小さな生物であり、地球のさまざまな場所に生息している。例えば陸上のコケの中や海岸の砂の中からも見られるが、極地、深海、硫黄の噴出をともなった熱水孔のような過酷な環境にまで生息することが知られている³⁾。それらのうち陸生のクマムシは乾燥など生育に適さない状態が続くと、「樽(tun)」と呼ばれる状態になり、通常の生物が到底耐えられない超低温(-250°C)や超高压

(600MPa)にも耐えることができる⁴⁾、⁵⁾。現在、極限環境への耐性発現のメカニズムの研究はネムリユスリカで最も進んでいるが²⁾、⁶⁾、生息地が西アフリカであるため、輸入に複雑な手続きが必要になっていると

聞いている。研究が進むと、さらに輸入が困難になる可能性が十分に予想され、このような問題を考えると、日本に生息する極限環境耐性生物であるクマムシの研究を推進することは、きわめて有意義であると思われる。

飼育システムが確立すれば、クマムシは極限環境耐性を研究するための優れたモデル生物になるだろう。生活史については、鈴木⁷⁾によってオニクマムシの成長過程や、産卵から孵化までの日数などが明らかにされている。しかしながら、オニクマムシは飼育がかなり困難で、個体数がなかなか増えない。極限環境耐性の発現と解除に関係する遺伝子の探索のためには、オニクマムシを使うことは、少なくとも今の段階では難しい。この問題をクリアするために、オニクマムシの飼育方法を改良することに加え、飼育も比較的容易で、増殖が早く、なおかつ「樽」を作るクマムシを探す努力を始めている。また、三枝と鈴木は、奥田（独法、農業生物資源研究所・生体機能研究グループ）の協力を得て、宇宙環境利用委員会研究班WG（名称は「生物衛星利用重力生物学」）を組織し、クマムシの「樽」を宇宙の放射線や無重力へ暴露することを計画している。

クマムシにおける極限環境耐性の発現や解除の機構に関しては、特にそれらの現象に関わる遺伝子の探索に大きな関心が集まり始めており、樽になる際に発現するHSP70などが明らかにされている⁸⁾。動物学会76回大会（2005年、筑波）では、國枝ら⁹⁾が、トレハロースの合成を誘導するトレハラゼ遺伝子の部分的解析結果を報告し、分子レベルでの研究もだんだんと加速されてきているようである。

このような状況を踏まえて、本研究では、1) 「樽」になり、かつ分子生物学的研究のために利用できるクマムシ飼育システムの開発、2) オニクマムシでは明らかになっているが、オニクマムシ以外で研究を進める場合には、「樽」がどんな種類の厳しい条件に耐えられるかの試験、3) 「樽」を誘導および解除する遺伝子の探索とその発現、および4) 「樽」を宇宙に持ってゆき、宇宙線や無重力（あるいは過重力）に暴露する実験を行い、どのような機構が強力な宇宙線や無重力から体を保護している

のかの解明を行う。「樽」の形成や解除に関わる遺伝子の特定を行い、さらに、樽を作る前後で、クマムシの体内に起こる変化を追ってゆけば、どのような物質が合成される結果、体を構成する細胞が極限環境に耐えうるようになるかも明らかになると期待される。その上で、樽を無重力や宇宙線に暴露することにより、発現する遺伝子の探索や、樽が宇宙空間に十分耐えうるかどうかも知ることができるだろう。

日ロ共同研究 平成17年9月から開始された日ロ共同研究（JSPS二国間交流事業）では、ロシア科学アカデミーのウラジミール・シチェフ氏を責任者としたグループとの間で、休眠時における極限環境への耐性獲得の機構についての共同研究が進行中である。日ロ共同研究では、1) 極限状態に耐性のあることが実証されているネムリユスリカの「休眠幼虫」、オニクマムシやチョウメイムシの「樽 (tun)」、ミジンコやアルテミアの「休眠卵」を用い、宇宙環境への耐性機構を解明すること、2) 宇宙環境におけるクマムシや栽培植物のライフサイクルの観察に向けた準備を行うこと、を目的としている。三枝は平成17年6月下旬から7月上旬にモスクワとサンクトペテルスブルグを訪問し、シチェフ氏やアレクセイエフ氏、およびロシア側の研究協力者と会い、今後の研究計画について議論した。ネムリユスリカの休眠幼虫は、平成17年度に宇宙ステーションにおける実験が行われた。平成18年度には、オニクマムシの「樽」を国際宇宙ステーションに運び、宇宙空間で実験を行う計画が進行中であり、「樽」を宇宙船外において無重力、あるいは宇宙線に暴露し、回収後、どのような遺伝子の発現が見られるかを調べる予定である。このような進捗状況の中で、宇宙研究を主体とした本プロジェクトの採択は、日ロ共同研究の一層推進させるであろう。

参考文献：

- 1) Naganuma, T., Elsaied, H. E., Hoshi, D. & Kimura, H. (2005) Bacterial endosymbioses of gutless tube-dwelling worms in nonhydrothermal vent habitats. *Mar. Biotechnol.* 7:416-428.
- 2) Watanabe, M., Kikawada, T. & Okuda, T. (2003) Increase of internal ion

- concentration triggers trehalose synthesis associated with cryptobiosis in larvae of *Polypedilum vanderplanki*. *J. Exp. Biol.* 206: 2281-2286.
- 3) Barnes, R. D. (1980) Invertebrate zoology fourth edition. Saunders College, Philadelphia, US. pp 662-803.
 - 4) Ramløv, H. & Westh, P.(1992) Survival of the cryptobiotic eutardigrade adorybiotus coronifer during cooling to -196 °C: effect of cooling rate, trehalose level, and short-term acclimation. *Cryobiol.* 29: 125-130.
 - 5) Seki, K. & Toyoshima, M. (1998) Preserving tardigrades under pressure. *Nature* 395:853-854.
 - 6) Watanabe, M., Kikawada, T., Yukuhiro, F. & Okuda, T. (2002) Mechanism allowing an insect to survive complete dehydration and extreme temperatures. *J. Exp. Biol.* 205: 2799-2802.
 - 7) Suzuki, A. C. (2003) Life history of *Milnesium tardigradum* Doyère (Tardigrada) under a rearing environment. *Zool. Sci.* 20: 49-57.
 - 8) Schill, R. O., Steibrück & Köhler H.-R. (2004) Stress (hsp70) sequences and quantitative expression in *Milnesium tardigradum* (Tardigrada) during active and cryptobiotic stages. *J. Exp. Biol.* 207: 1607-1613.
 - 9) 國枝武和、久保健雄 (2005) オニクマムシ *Milnesium tardigradum* のトレハラーゼ遺伝子の同定と解析. 日本動物学会第 76 回大会 (筑波) ポスターセッション.