

## 第2章 目前にせまった「きぼう」利用とライフサイエンス実験

独立行政法人 宇宙航空研究開発機構

宇宙環境利用センター 矢野 幸子

千代田アドバンスド・ソリューションズ株式会社

宇宙・開発ソリューションユニット 永瀬 睦

### Upcoming "Kibo" utilization and the life science experiments on it

Japan Aerospace Exploration Agency

Space Environment Utilization Center, Sachiko Yano

Chiyoda Advanced Solutions Co.

R&D Solution Unit, Mutsumu Nagase

#### ABSTRACT

The Japanese Experiment Module "KIBO" is to be launched in 2008 with SAIBO Rack. The rack is equipped with Cell Biology Experiment Facility (CBEF) and Clean Bench (CB) for the life science experiment in space.

Also, several kind of Biological Experiment Unit (BEU) has been developed and under verification for the upcoming experiment. Each BEU have unique features and individualized sample chambers to answer the various requirements for the operation and the type of biological specimen used. In combination with SAIBO Rack and supporting tools, BEU plays the primary role for the life science experiment on Kibo.

#### 1. はじめに

2008年は、いよいよ「きぼう」構成モジュールの打上げ、組立が行われ、本格的且つ恒久的な宇宙環境利用実験の基盤が整う年である。2008年から2010年頃までの「きぼう」の運用・利用期間は第一期利用期間と定義され、この間の実験遂行に向けて、現在必要な技術、装置等の準備が着々と進められている。

本項では、この第一期利用期間における与圧部ライフサイエンス実験及びその関連装置を中心に準備の状況を報告するとともに、特に筆者等が開発に携わってきた実験供試体の開発・準備状況を紹介する。ライフサイエンス実験供試体は、繊細な生物試料操作に直接に関与する機器であり、実験の遂行、操作において重要な役割を果たす。これまでの実験供試体開発では、研究者の方々が地上の実験室で実施されている操作を、極力損なうことなく宇宙で遂行できることを目標として開発を行ってきたが、それでも重要な幾つかの点で宇宙特有の要件等を反映した仕様となっている。

#### 2. きぼうライフサイエンス実験装置の打上げ計画

与圧部ライフサイエンス実験装置を収納する「きぼう」与圧部モジュール(船内保管室、船内実

験室)は、2008年前半にスペースシャトル「1J/A」フライト、さらに続く「1J」フライトの2回に分けて打上げが行われる予定である(図-1)。

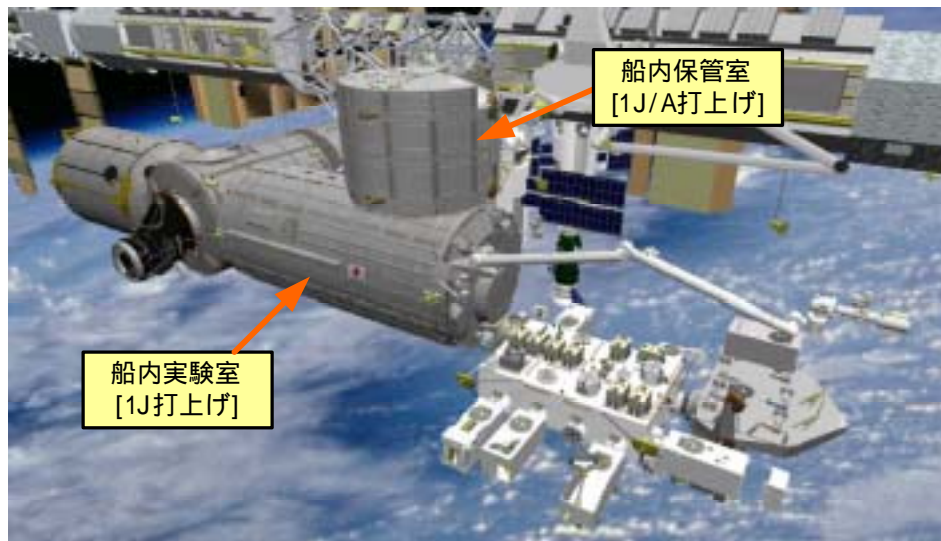


図-1 きぼうモジュール構成と打上げ計画

「きぼう」に搭載され、ライフサイエンス実験を支援する主要な装置・ラックは、以下のとおりである。

(1) 細胞培養装置 (Cell Biology Experiment Facility , CBEF)

ライフサイエンス実験に重要な、実験温湿度環境を提供する恒温恒湿槽であり、さらに微小重力・1G重力対照実験を可能とするターンテーブルを備えた人工重力区を持つ。また内部に実験供試体を固定し、これに電力、通信、画像等各種リソースを提供するコネクタインタフェースを持つ。この内部に実験供試体に取り付けられ、ライフサイエンス実験が行われる。

(2) クリーンベンチ (Clean Bench , CB)

内部での無菌的な生物試料操作を可能とするグローブボックスである。また地上へ画像をダウンリンク可能な位相差・蛍光顕微鏡を備えており、軌道上でのその場試料観察を可能としている。

(3) 冷凍・冷蔵庫 (Minus Eighty degree celsius Laboratory Freezer for ISS , MELFI)

欧州宇宙機関(ESA)により開発された、4 から-80 まで設定可能な冷凍冷蔵庫である。それぞれの温度を個別に設定可能な保管室を4室持ち、試料・試薬の保存等に供される。

CBEFとCBは図-2に示すとおり「SAIBOラック」に収納され、船内保管室に搭載されて「1J/A」ミッションで軌道上へ輸送される。次いで「1J」ミッションで船内実験室が輸送・接続されるた後、クルー操作により船内実験室へ移動・据え付けられ、機能検証の後に実験へ利用される。一方MELFIは、船内実験室輸送の後に米国モジュールから移設され据え付けられる予定である。

これらの機器・装置が軌道上で待機し、各々の実験に先立って地上から打ち上げられてくる実験試料と実験供試体を待ち受けるわけである。

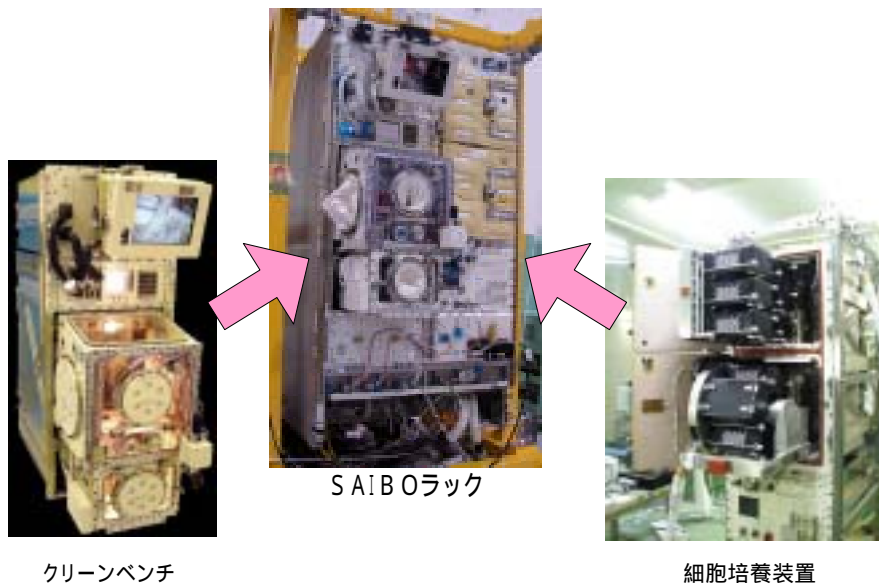


図-2 SAIBOラック内のCBEF (細胞培養装置)とCB(クリーンベンチ)

### 3. ライフサイエンス第一期利用テーマと実験供試体の概要

ライフサイエンス第一期利用が予定されているテーマを、それぞれが使用する実験供試体、付属器具とあわせて表-1に示す。これら実験テーマはその目的により、微小重力が生体に与える影響を分子・細胞のレベルで解析・研究する細胞生物研究、宇宙放射線環境が生体に及ぼすリスクの評価とその対策方法を確立する放射線生物研究、人類の地球外活動における食物生産などに繋がる植物生理研究に大きく分類され、宇宙生物学・宇宙利用のみならず生命現象の理解等、人類の科学技術の進展に大きな貢献が期待される。

表-1 きぼう第一期利用 ライフサイエンス実験テーマ

| 分類      | テーマ名称  | 代表研究者            | 対象試料種別         | 実験供試体・付属器具    |
|---------|--|------------------|----------------|---------------|
| 細胞生物研究  | 両生類培養細胞による細胞分化と形態形成の調節 (DomeGene)              | 東京大学<br>浅島誠      | 培養細胞           | CEU, PFK, CFK |
|         | 蛋白質ユビキチンリガーゼCblを介した筋萎縮の新規メカニズム (MyoLab)        | 徳島大学<br>二川健      | 培養細胞           | MEU, PFK-II   |
|         | 線虫C.elegansを用いた宇宙環境におけるRNAiとタンパク質リン酸化 (CERISE) | 東北大学<br>東谷篤志     | 小型生物<br>(線虫)   | MEU           |
|         | 宇宙放射線と微小重力の哺乳類細胞への影響(NeuroRad)                 | 鹿児島大学<br>馬嶋秀行    | 培養細胞           | MEU           |
| 放射線生物研究 | 哺乳動物培養細胞における宇宙環境曝露後のp53調節遺伝子群の遺伝子発現 (RadGene)  | 奈良県立医大<br>大西武雄   | 培養細胞           | MEU           |
|         | カイコ生体反応による長期宇宙放射線曝露の総合的影響評価 (RadSilk)          | 京都工業繊維大学<br>古澤壽治 | 小型生物<br>(カイコ卵) | MEU           |
|         | ヒト培養細胞におけるTK変異体のLOHパターン変化の検出 (LOH)             | 理化学研究所<br>谷田貝文夫  | 培養細胞           | MEU           |
| 植物生理研究  | 微小重力環境における高等植物の生活環 (SpaceSeed)                 | 富山大学<br>神阪盛一郎    | 植物個体           | PEU, KFT      |
|         | 重力による穀類芽生え細胞壁のフェルラ酸形成の制御機構 (Ferulate)          | 大阪市立大学<br>若林和幸   | 植物種子           | MEU           |
|         | 微小重力下における根の水分屈性とオーキシン制御遺伝子の発現 (HydroTropi)     | 東北大学<br>高橋秀幸     | 植物種子           | V-MEU         |

これら各実験テーマにおいてそれぞれの研究目的に応じて、培養細胞、小型生物、植物個体等を用いた特徴的な実験試料・実験系が検討・構築されている。図-3に示す計画に従い、これら実験試料は、実験実施の都度順次軌道上に輸送され実験を遂行し、数週間程度の実験実施の後、次の帰還フライトの機会を利用して試料が回収される。この一連の実験操作の実現を目指して、実験供試体とその付属器具は開発されてきた。

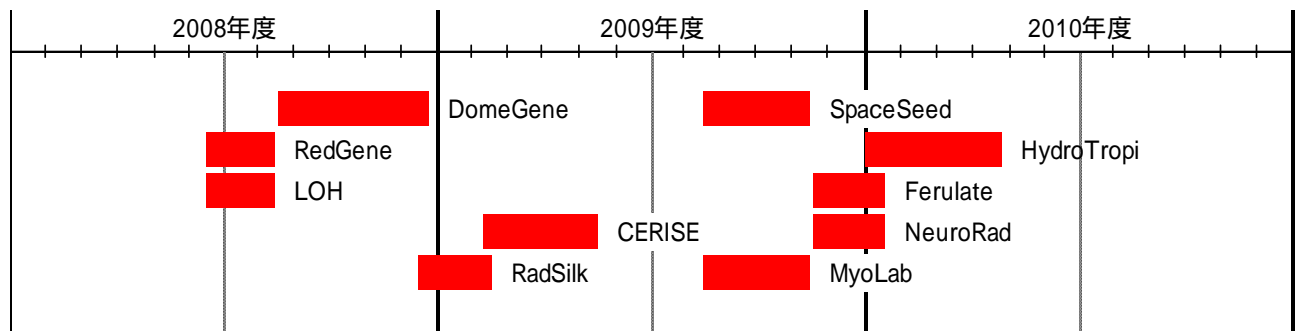


図-3 第一期ライフサイエンス実験遂行スケジュール  
(図中の実験略称は表-1参照)

ライフサイエンス実験供試体は、BEU (Biological Experiment Unit) シリーズと称され、CEU、PEU、MEU、V-MEUの四種類が開発されている。(CEU; Cell Experiment Unit, PEU; Plant Experiment Unit, MEU; Measurement Unit, V-MEU; Video-Measurement Unit) これらBEUは、外形は全て約210mm × 80mm × 130mmのほぼ共通エンベロープを持ち、CBEF微小重力区に最大6台、人工重力区に最大4台を搭載可能である。各BEUは、着脱可能な生物試料収納容器(培養容器、試料容器等)を備え、この容器単独での輸送・回収も可能な構成となっている。

これらBEUシリーズと、適宜PFK(固定前処理工具, Pre Fixation Kit)、CFK(細胞固定器具, Cell Fixation Kit)、KFT(Kennedy Fixation Tube)等の付属器具を組合わせて軌道上実験が遂行される。以下に、各BEU及び主要付属器具の概要と実験遂行上の特徴を説明する。なお詳細な装置仕様等については項末に紹介したホームページを参照されたい。

### 3.1 CEUとPFK, CFK

CEUは、DomeGene実験に供される、付着性細胞培養実験用のBEUである。DomeGene実験については本書第3章に詳述されているのでそちらを参照されたい。CEUの外観を図-4に示す。

DomeGene実験をはじめ、一般にライフサイエンス実験ではRNA抽出用や化学固定用等、有機溶媒や毒性の高い試薬を用いることが多い。これら試薬を「きぼう」圧部で使用することは、容積が限られた閉鎖空間で且つ微小重力環境であることから、万一試薬が漏洩した場合にクルーや搭載機器に甚大な被害を及ぼすこととなりかねない。CEUはこの要求に応じて軌道上細胞培養実験を実現するために開発された実験供試体であり、温度や圧力変動、外部からの荷重に耐える構造強度を持ち、且つ腐食性試薬に対しても安定性が高い材料で培養容器を構成している。またこの



培養容器は細胞附着板を研究者要求により変更可能であり、標準のプラズマ処理タイプに加えてコーゲンコート等の表面処理を行うことも可能である。これまで複数の細胞種について、一般に地上の細胞実験で使用されるT-25型フラスコと同等の培養性(細胞増殖率、形態等)を示すことを確認している。

CEU一台あたり、図-4に示す培養容器(大)、(小)各1個が収納され、軌道上での培地交換、培養環境(温度・湿度)モニタリングを行いながら、自動細胞培養実験を行う。

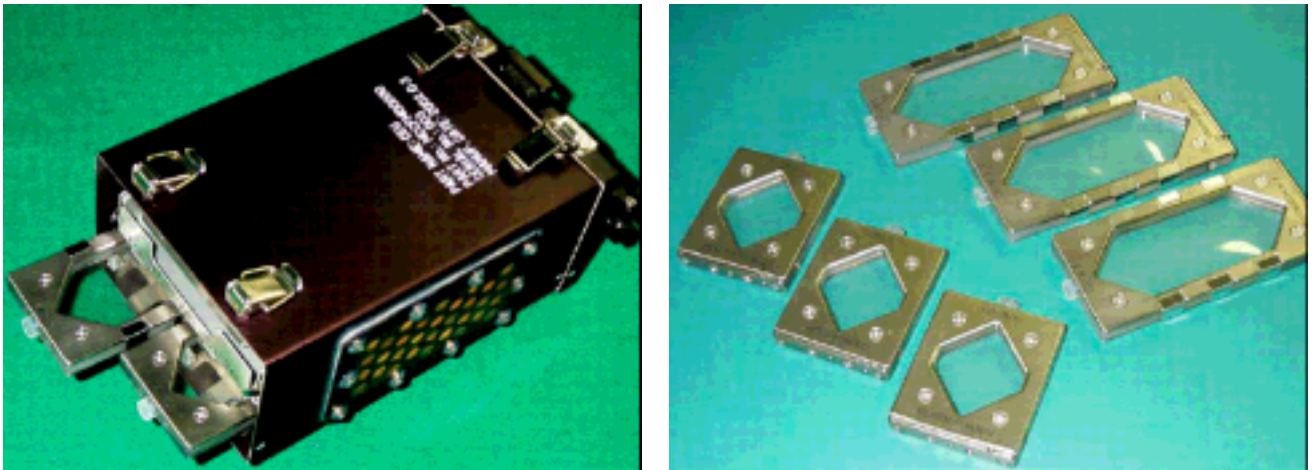


図-4 CEU本体[左]と培養容器(大)及び(小)[右]

PFK、CFKは、前述のCEU培養容器内への試薬注入・細胞固定・処理操作を行う付属器具である。(図-5) 即ちPFKは、クレー操作により取り付けられた培養容器に対して、内部の培地除去、バッファによる洗浄操作を行う。この時、浮力が働かず気液が容易に混ざり合う微小重力環境で培養容器内の培地等が効率よく空気と置換して排出できるよう、PFKには培養容器上面を軽く押さえることで容器内部の流路形状を制御する機構が設けられている。

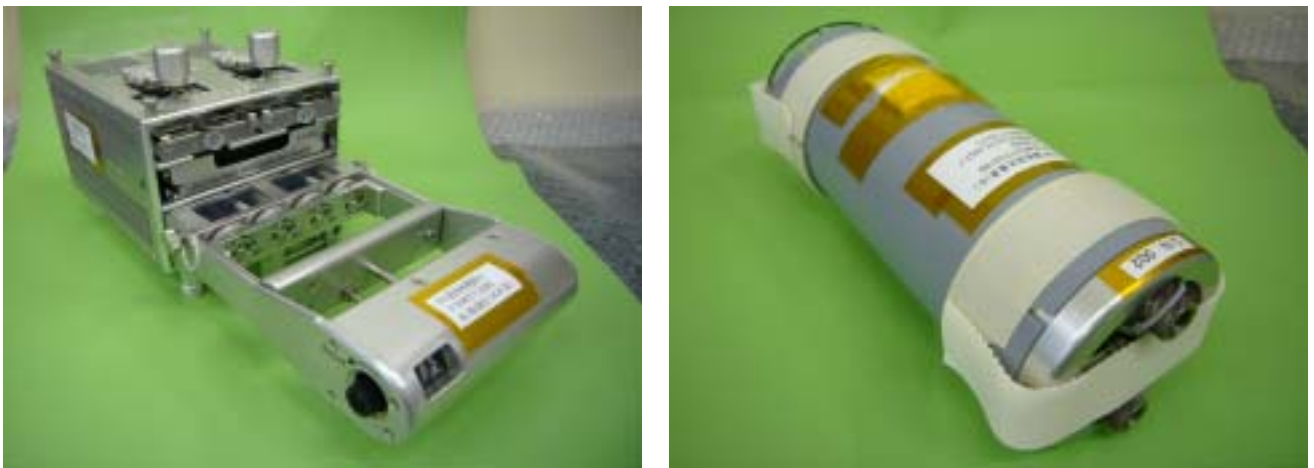


図-5 PFK(固定前処理工具)[左]とCFK(細胞固定器具)[右]

CFKは、PFKで培地除去・洗浄が完了した培養容器内に、毒性レベルの高い試薬を注入するキットである。培養容器取り付け、試薬注入、保管の全ての工程は、外部に対して試薬を三重シール構造内に保持したまま安全に遂行可能で、且つ-80 での冷凍保管温度、輸送の振動や真空を

含む気圧変動等の各種環境条件に耐えて内部の試料と試薬は安全に保持される。特に接液部は、腐食性試薬(フェノール系等)も使用可能なよう、チタン合金やフッ素樹脂等で構成されている。

これら実験供試体とCBEF、CB内顕微鏡を組み合わせることで、研究者は地上における実験操作とほぼ同様に、軌道上での細胞培養、顕微鏡観察、試料回収・固定・分子生物学的解析を行うことが可能となる。これらCEU、PFK、CFKは、2007年7月にフライト用装置の製造を完了し、現在2008年秋頃の軌道上実験に向けて最後の確認作業を実施中である。

なお近年の細胞研究の進展により、地上における再生医療等の医療分野において産業規模で積極的に付着性細胞を培養・調製し、医療行為に使用する可能性が高まりつつあり、この分野で熟練者によらず安定的且つ安全に規格化された細胞製品を提供可能な自動細胞培養技術の確立が求められてきている。こうした潮流にあって、CEUは宇宙実験用として密閉系内で自動細胞培養が可能な装置として開発されてきたことから、試料部が外部から隔離されており安全、且つカセット型培養容器の簡便な操作のため熟練者によらず容易に細胞培養操作が可能という優れた特徴を有している。このCEUの技術を活かした、民生医療分野で利用可能な自動細胞培養装置の開発が進められており、現在はプロトタイプが完成、今後の臨床前研究等での検証と適用拡大が期待される。(図-6)



図-6 再生医療・細胞療法向け自動培養装置  
(プロトタイプ)[左]及び同培養容器[上]  
(文科省委託研究成果)

### 3.2 PEUとKFT

PEUはSpaceSeed実験に供される、小型植物生育実験用のBEUである。SpaceSeed実験では植物研究の標準モデルであるシロイヌナズナを用いて、軌道上で発芽、成長、花芽形成、開花、結実等の生活環の各過程を観察、分析し、さらに、地上に回収した種子を発芽、生育させ、宇宙環境が植物の生活環に与える影響を総合的に解析をする。(図-7)

PEUは、この発芽から結実に至る約60日間、CBEF内でほぼ自動的に植物生育実験を遂行する。

即ち、植物生育に必要な光合成用光、給水、換気等による温湿度制御等環境制御を自動的に制御・モニタリング可能であり、さらに植物生育状態を観察し地上にダウンリンクする観察用CCDカメラ等を備えている。また特に給水制御においては、微小重力のため容易に生育水が飛散する環境で安定的に植物栽培床部に水供給を行うため、赤外線反射方式の水分センサを備えている。



図-7 PEU本体(試料容器へアクセスする上面蓋を開けた状態)

PEUの試料部は、試料容器と呼ばれる、透明プラスチック製の角型容器である。試料部高は約50mmと非常に小さな空間であるが、この狭い空間内でシロイヌナズナが支障なく発芽から開花、結実までする様子が地上実験において確認されている。(図-8)



図-8 PEU試料容器[左]とシロイヌナズナ生育地上実験画像[右]

PEUで生育した植物試料は、NASAで開発されたKFT(Kennedy Fixation Tube)という付属器具を用いて試薬浸漬操作が可能である。KFTはCFKと同様に、三重シール構造内に保持して、10mm × 50mmL程度の試料の浸漬操作を可能にするプラスチック製チューブであり、プラスチック材料に対して腐食性のない試薬の利用が可能である。

PEUは、2009年ごろのSpaceSeed実験利用を目指し、現在フライト用装置の開発が進行中である。さらに今後、その環境制御された空間を提供できるという特徴を活かし、植物生育実験に留まらない小型生物飼育実験等への活用が期待される。





図-9 KFT(Kennedy Fixation Tube)

### 3.3 MEU

MEUは、内部に試料部固定用のラックと温度センサのみを備える、シンプルな機能のBEUである。内部の試料部を交換することで、自動操作を要しない比較的簡易なライフサイエンス実験に利用可能であり、多くの研究者が、収納する試料部をそれぞれに工夫して活用している。(図-10)



図-10 MEU外観[左]及び内部[右]

RadGene, LOH, CERISE各実験では液体培地中に浮遊する試料を用いることからプラスチックバッグ型の試料容器が、またMyoLab, NeroRad各実験では付着性細胞試料を用いることからプラスチック製密閉型培養容器がそれぞれ用いられる。これら容器は、それぞれその形状に適合したサンプルホルダと呼ばれる金属製の棚に収納されて軌道上へ輸送され、MEUへの収納の後に生育実験、回収操作が行われる。またこのサンプルホルダはMELFIへ収納可能な寸法であり、冷凍・冷蔵状態での輸送、軌道上でCBEFへ収納しての解凍・昇温による実験開始等を可能としている。

MyoLab, NeroRad各実験では、3.1項で紹介した民生用自動培養装置の培養容器部を転用し



ている。この容器はCEUのものに比べて汎用的な材料を使用しており、腐食性の高い試料操作には使用できないが、細胞培養と簡易な固定操作には十分に可能な仕様である。また本容器専用のPFK-IIを用いて、クレー操作による軌道上での培地交換や試薬注入操作が可能である。

さらにRadSilk実験ではカイコ卵収納容器を、Ferulate実験ではイネ種子発芽用容器等、MEUと組合わせて利用する各種試料部が研究者発案のもと開発されている。

MEUは、すでにフライト用装置が完成、2008年秋頃に打ち上げられ、順次各実験テーマに供されていく予定である。比較的簡素な構成でありながら、高い汎用性という長所を有しており、今後も広範なテーマに活用されることが期待される。



図-11 MEU収納用サンプルホルダ例(プラスチックバッグ型試料容器用)

### 3.4 V-MEUと起動検証

V-MEUは、観察用CCDカメラ及び照明を収納したMEUのバリエーションである。CCDカメラを収納したため、収納可能な試料部寸法はMEUに比べて小さいものの、CBEFと組合わせて内部の試料画像を自動的に取得、地上へダウンリンクすることが可能である。HydroTropi実験での植物試料観察実験に供される。(図-12)



図-12 V-MEU内部CCDカメラ[左]及び動物試料容器[右]

またV-MEUは、1J後の「SAIBOラック」起動時に、CBEFと合わせて装置機能を検証する目的で使用される。この目的達成のため、V-MEUに取り付け可能な動物試料容器及び植物試料容器が準備されている。動物試料容器は乾燥状態のカプトエビ卵に、植物試料容器はシロイヌナズナ種子を収納し、それぞれ軌道上で給水、生育を行い、V-MEUに収納して温度信号及び画像信号の取得とダウンリンクやCBEFと連携したコマンド操作が支障なく行われることの検証に用いられる。

V-MEUもすでにフライト品は完成、装置初期検証を兼ね、2008年前半に「きぼう」船内保管室とともに軌道上へ輸送される見通しである。

#### 4. 実験準備の状況

これまで、装置及び実験供試体の開発・整備状況等を中心に紹介してきたが、これら装置等を適切に運用し実験を成功させるための実験操作・運用リハーサルや検証試験も着々と遂行されている。

例として、2007年11月前半にDome Gene実験を対象とした一連の操作に対する地上操作リハーサルが実施された。本リハーサルでは、研究者や関連支援機関のメンバーも参画し、細胞試料準備から射場(米国 Kennedy Space Center)への航空輸送、射場での試料及び実験供試体の調製及び梱包と打上げを所掌するNASAへの引渡しまでの一連の操作を実試料及び供試体等を用いて実施した。「きぼう」利用実験の特徴として、米国射場にて試料を引き渡す必要があること、またスペースシャトルの打上げ日程変更(遅延等)においてもタイムリーに最良の状態の試料を引き渡す必要がある等、いくつか考慮すべき制約があるが、リハーサルではこれら制約条件にも的確に対応できるよう、様々なケースを想定しながら、対応手順を一つ一つ確認、遂行した。



図-13 Dome Gene実験 射場リハーサルの状況

また一方で、軌道上で実験操作を行うクルーの手順書整備及び訓練が、さらに実験適合性確認試験として実験供試体等での試料生育状態が支障なく研究目的に適ったものであることの検証が実装置及び実試料を用いて順次遂行されている。

## 5. 結言

これまで述べてきたように、「きぼう」ライフサイエンス実験環境の立上げと円滑な実験遂行を目指し、装置等の準備や操作リハーサル等、万全を期すべく着々と準備が進められている。これらの成果が第一期利用における実験の成功と貴重な研究成果に繋がることを念じてやまない。さらにこれまでに得られた知見や確立された実験環境が、第二期以降の「きぼう」ライフサイエンス実験研究の貴重な基盤となり、将来の宇宙実験利用者の一助となることを期待する。

最後に、実験供試体の開発を含め「きぼう」ライフサイエンス実験の実現に向け、関係する研究者、(財)日本宇宙フォーラム、有人宇宙システム(株)他多くの方々のご協力をいただいていることに対して感謝の意を添えてご報告する。

実験装置・利用準備に関する情報 ・ 参考資料

- ・ <http://kibo.jaxa.jp/experiment/>
- ・ <http://kibo.jaxa.jp/experiment/theme/jpm02/pmhandbook.pdf>
- ・ <http://kibo.jaxa.jp/library/press/>

第4回：「きぼう」利用の準備状況（2007年07月30日）

その他文中の図、写真はJAXA提供による。