

# 巨大重力下での微生物の挙動

出口 茂

## はじめに

122°Cの超高温環境, 強酸性環境, 強アルカリ性環境, 1300気圧の高圧環境など, 人間がとても住めない環境にも微生物は生息している<sup>1)</sup>. このような極限環境に生息する微生物(極限環境微生物)の研究から, 遺伝子増幅技術や酵素洗剤などの新たなバイオテクノロジーが生み出された. それと同時に, 従来は無生物環境だと信じられていた環境にも, 生命が存在しうることが示された. 極限環境微生物の研究で得られる(地球型)生命の存在限界に関する情報は, 地球以外の惑星での生命存在の可能性を判断する際には大変重要な指針となる.

加えて地球外惑星での生命の存在可能性を議論する際には, 地球環境の議論では考慮されない要素も検討対象となる. たとえば以前話題となったヒ素を利用する微生物に見られるように<sup>2,3)</sup>, 生物を構成する元素の種類はその一例である. また地球では場所によらず $1 \times g$ でほぼ一定の重力も, 他の天体では異なる値(たとえば火星では $0.38 \times g$ )をとる.

中性子星とは1930年代に理論的に予言され, 1967年に存在が確認された天体である. 中性子星の大きな特徴は想像を絶する極限的な物理環境であり, 密度は地球の約100兆倍, 重力は地球の約1000億倍にも達する. 1973年, Frank Drakeが一般向け天文学雑誌のインタビューに答えるかたちで, 中性子星での生命存在の可能性に言及した. それにヒントを得たRobert L. Forwardは, 重力が地球の67億倍にもなる中性子星に生息する知的生命体*Cheela*を主人公にしたSF小説「Dragon's Egg」を発表し, 大きな注目を集めた. その一方で, 巨大重力環境での生物の振る舞いに関する科学的知見はきわめて乏しい状態であった.

## 微小重力と微生物

重力と生物の研究は, 地球よりも小さな重力環境(微小重力環境)での研究と地球よりも大きな重力環境(過重力環境)での研究の二つに大別される. ただしこの区分はあくまで人間の都合によるものであり, 生物に対する重力影響を $1 \times g$ を境に区別する物理的な理由はない.

微小重力環境が生物に与える影響は, 長期の有人宇宙

飛行の際に, 宇宙飛行士が受ける健康影響の評価あるいは食料確保のための微小重力下での植物栽培などを考える上で大変重要であり, 多くの研究がなされている. その際, 取扱いの容易さ, 増殖速度の速さなどから微生物をモデルに用いた実験が数多く行われてきた.

スペースシャトルや国際宇宙ステーション, さらには地上で微小重力環境を擬似的に再現する装置(クライノスタット)を用いたこれまでの研究で, 微小重力下では微生物の増殖が地上よりも促進されとの報告が多数なされている. また微小重力に応答した遺伝子発現の制御因子に関する研究, さらには軌道上で培養した*Salmonella typhimurium*が地上で培養した対照群よりも高い病原性を示したとの興味深い結果も報告されている<sup>4)</sup>.

## 過重力と微生物

過重力環境での実験は, 遠心機で発生させた遠心力によって, 高重力環境と同等の状況を再現するのが唯一の方法である. ただしこの方法では, 実際の高重力場で時空が歪むことによって生み出される相対論的効果などは再現されないことには注意が必要である.

遠心機の中で*Escherichia coli*を培養した実験では,  $5 \times g$ では増殖に変化は見られないものの,  $50 \times g$ では増殖が抑制されとの報告がある. 重力がさらに大きくなって $1000 \times g$ を超えると, 細胞はすべて遠心管の底に沈降してペレットを形成する. このような状況下での微生物の振る舞いを調べた研究は, 生存率に焦点をあてたものが主流であった. たとえば*Bacillus subtilis*の胞子は,  $436,000 \times g$ で65時間遠心すると, 生存率が10%にまで低下する. また*E. coli*, *Thiobacillus intermedius*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*を $450,000 \times g$ で遠心処理した後の生存率に関する詳細な報告もなされている<sup>5)</sup>.

しかしながら巨大重力環境での生命存在の可能性を探るために必要となるのは, 生存率ではなく増殖を調べることである. リン酸緩衝液や生理食塩水中, 4°Cにて行われたこれまでの研究では, 微生物が増殖する可能性は一切考慮されていなかった. 唯一, Montgomeryらが, 大腸菌をnutrient broth中, 35°Cにて24時間, 超遠心機の中で培養し,  $1000 \times g$ では増殖に変化がないが,

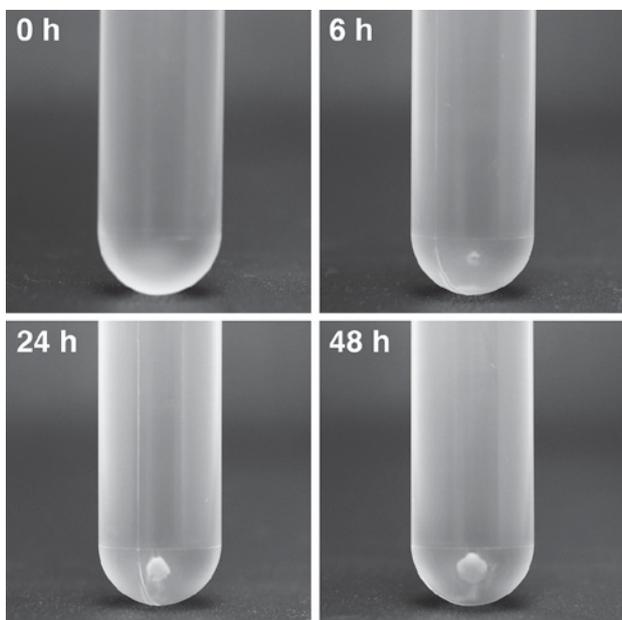


図1.  $403,627 \times g$ での*P. denitrificans*の増殖. 参考文献7より改変して転載.

$110,000 \times g$ では増殖が抑制されることを報告している<sup>6)</sup>. ところが残念なことに、1963年に発表されたこの先駆的な研究が注目を集めることはなく、巨大重力下における微生物の増殖挙動には、不明なところが多く残されていた.

### 巨大重力下での微生物増殖

我々は、微生物を植菌した栄養培地を超遠心機の中で至適培養温度にて遠心した<sup>7)</sup>.  $403,627 \times g$ ,  $30^\circ\text{C}$ で培養した*Paracoccus denitrificans*の培養液の外観を図1に示す. 培養時間6時間後に遠心チューブの底に小さなペレットが形成され、その後時間経過とともにサイズが大きくなったことから、*P. denitrificans*が $403,627 \times g$ という巨大重力環境下でも増殖できうることが明確に示された. ささまざまな重力下で培養を行ったところ、 $7500 \times g$ での増殖曲線と $1 \times g$ での増殖曲線に差異は見られなかったが、 $74,558 \times g$ ,  $134,425 \times g$ ,  $403,627 \times g$ では重力の増加とともに増殖が遅くなった(図2).

次に*E. coli*, *Shewanella amazonensis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*を用いて同様の実験を行った. 増殖曲線から得た世代時間の重力変化を図3に示す. いずれの微生物の生育も、 $10,000 \times g$ 程度の重力まではほとんど影響を受けなかったが、 $10,000 \times g$ を超えると、重力とともに生育速度が徐々に遅くなった. 用いた5種類の微生物のうち、実験に用いた超遠心機で達成できる最大遠心加速度の $403,627 \times g$ でも増殖が観

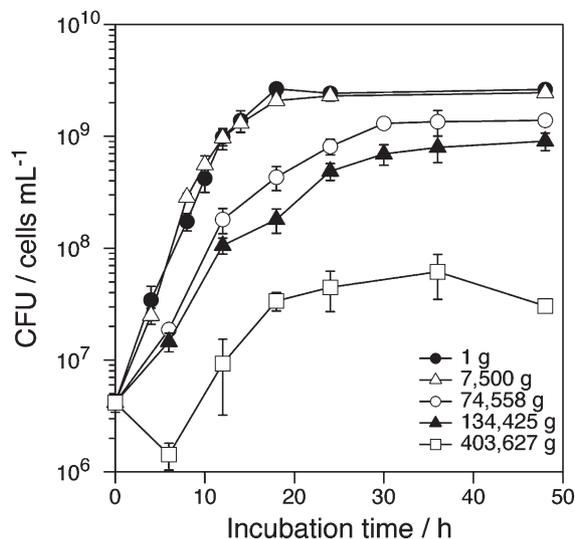


図2. 異なる重力環境における*P. denitrificans*の増殖曲線. 参考文献7より改変して転載.

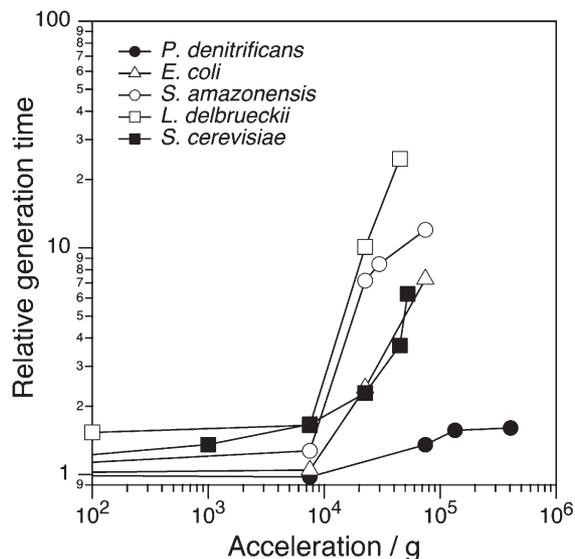


図3. 異なる重力環境での微生物の増殖. 参考文献7より改変して転載.

察されたのは*P. denitrificans*と*E. coli*のみであった. *E. coli*の場合、遠心管の底でのペレット形成によって増殖は確認できたものの、ペレットが再分散できなかったために増殖曲線を得ることはできなかった.

### 巨大重力の物理的影響

高重力環境は微生物細胞にどのような物理的影響を与えるのであろうか? 1) 細胞の力学変形, 2) 細胞内での分子の沈降, 3) 圧力, の3点について、より詳細な検討を行ったところ、サイズが小さく内部構造が単純

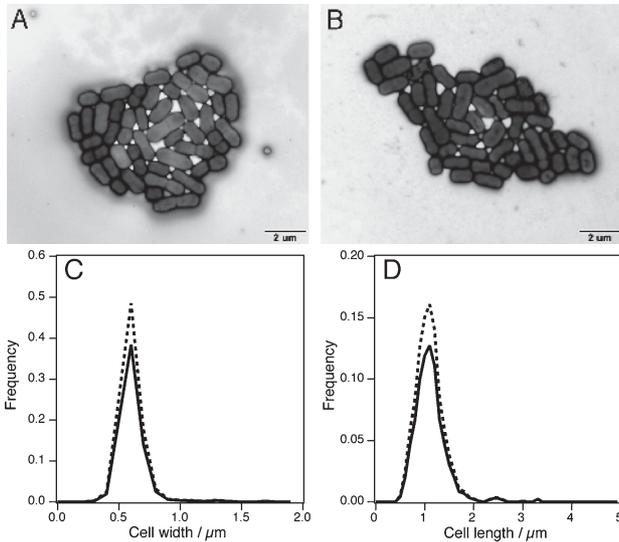


図4.  $1 \times g$  (A) および  $134,425 \times g$  (B) で培養後の *P. denitrificans* 細胞の電子顕微鏡写真と細胞の幅 (C) と長さ (D) の分布. 実線は  $1 \times g$  で培養した細胞, 点線は  $134,425 \times g$  で培養した細胞の結果を表す. 参考文献7より改変して転載.

という原核微生物の二つの特徴が、巨大重力下での増殖に有利に働いていることが明らかとなった。

$134,425 \times g$  および  $1 \times g$  で48時間培養した *P. denitrificans* 細胞のサイズ分布を図4に示す。両者の間に一切の差異が見られなかったことから、微生物細胞のサイズが十分に小さく、巨大重力の下でも(不可逆な)力学変形を起こさないことが分かった。

通常、微生物細胞内にはさまざまな大きさの物質がほぼ均一に分布している。ところが巨大重力下では、細胞内部で遠心分離が起り、分子の分布が偏る可能性が考えられる(図5)<sup>7,8)</sup>。そこで  $500,000 \times g$  の過重力環境において、分子量1 kDa, 10 kDa, 100 kDa, 1 MDaの4つの仮想的なタンパク質が、原核生物のサイズに相当する  $1 \mu\text{m}$  の範囲で形成する濃度勾配を計算した。

数値計算の結果、もっとも分子量の大きな1 MDaのタンパク質のみ、沈降によって細胞内で濃度勾配を形成しうることが分かった。これはリボソーム(分子量約2.5 MDa)のような巨大な超分子集合体は、 $500,000 \times g$  の重力の下では沈降の影響を受け、細胞の底に沈みやすくなることを意味する。また真核細胞の大きさに相当する  $10 \mu\text{m}$  で行った計算では、100 kDaのタンパク質でも沈降の効果が認められた。つまり巨大重力下では、細胞サイズが大きいほど、細胞内での物質分布が偏りやすことが分かった。加えて真核細胞の場合には、核などの巨大なオルガネラの沈降も、増殖に影響すると予想される。

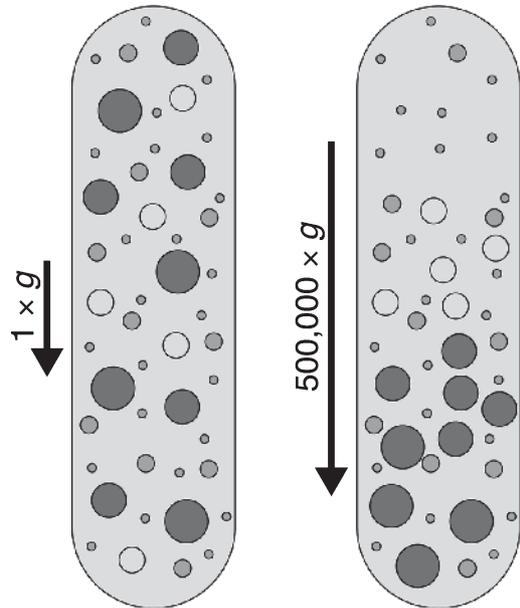


図5.  $1 \times g$  (左) および  $500,000 \times g$  (右) における微生物細胞内での物質分布の模式図. 参考文献8より転載.

実験に用いた4種の原核生物は、培養重力が  $10,000 \times g$  を超えると急激に増殖が遅くなった(図3)。分子量1 MDaのタンパク質の沈降が  $10,000 \times g$  を超えると顕著になることを考慮すると、リボソームなどの巨大分子の沈降が、高重力下での微生物の増殖抑制の一因だと推察される。一方、真核生物である *S. cerevisiae* では、そのような閾値は見られず、むしろ遠心加速度の増加とともに増殖が徐々に遅くなる傾向が見られた。この違いは、原核生物と真核生物の細胞内部の構造の複雑さの違いを反映しているのかもしれない。

最後に培養中の圧力の影響を評価した。 $403,627 \times g$  での遠心中には、遠心管の底のペレットには126.5 MPaもの静水圧がかかっている。すなわち遠心中の微生物は、高重力と高圧力が組み合わさった複合的な極限環境で生育している。興味深いことに、 $1 \times g$  で、*P. denitrificans* の増殖に対する静水圧の効果を調べたところ、 $134,425 \times g$  で遠心した際の静水圧に相当する40 MPaで、増殖が完全に阻害された。すなわち微生物増殖に対する圧力の影響が、 $1 \times g$  と巨大重力下では大きく異なることが分かった。現時点でこの違いの理由は明確ではないが、増殖時の細胞密度の違い(巨大重力下では微生物はペレットを形成し、細胞密度が高い状態で増殖する)がその一因だと考えている。

#### 宇宙空間に存在する重力環境

宇宙にはさまざまな重力環境が存在している。そのバ

リエーションと数十万×g程度の巨大重力環境でも微生物が生育できるという我々の研究結果を合わせると、重力が(地球型)生命の存在を制限する要因には決してないことがわかる。

1992年に太陽から約2000光年離れた惑星が発見されて以来、これまでに1500を超える太陽系外惑星が見つかっている。また太陽系外惑星の探査を目的として2009年より運用されているKeplerの観測結果からは、3000を超える太陽系外惑星の候補が見いだされている。ところが質量の大きな惑星であっても、その表面重力は地球の数倍に過ぎない。また天体観測技術の進歩によって、褐色矮星と呼ばれるきわめて暗い恒星の存在が知られるようになってきた。2011年に発見され、CFBDSIR J1458+1013Bと名づけられた褐色矮星の表面温度は100°C以下であり、恒星でありながらも液体の水が存在できる。褐色矮星の表面重力は数十×gのオーダーであり、十分に(地球型)生命が生息可能である。十万×gを超える巨大重力環境は、白色矮星と呼ばれるきわめて明るい恒星の表面に存在するが、そこでの生命の存在を制限するのは、むしろ数万°Cにも達する表面温度であろう。

数十万×gの巨大重力下での微生物の挙動を、惑星間の微生物の移動(パンスペルミア)と関連づけた議論もある<sup>9)</sup>。これまでに主に考慮されてきたのは、惑星に隕石が落下した際に微生物を含んだ岩石が宇宙空間へとはじき飛ばされるプロセスである。たとえば火星表面での同様のプロセスでは、はじき出された岩石は0.5秒というきわめて短い時間の間に $3 \times 10^5 \times g$ の強烈な加速度を受けるとの数値シミュレーション結果がある。冒頭で紹介した $436,000 \times g$ で遠心した後の*B. subtilis*の孢子生存率を調べた研究のように、従来はこのような過酷なプロセスを微生物が耐え忍ぶ可能性のみに焦点が当てられていた。ところが我々の結果は数十万×gでも微生物が増殖しうることを示すもので、従来とはまったく異なる可能性を示している。

## 重力を積極利用したバイオテクノロジー

最後に、バイオテクノロジー分野での重力利用の可能性について少し触れておきたい。重力の影響を受けて、微生物による2次代謝物の生産が変化することが報告されている<sup>10)</sup>。さらに興味深いことに、通常は細胞内に蓄積される抗生物質が、重力変化によって細胞外に放出されるようになるとの報告もある。たとえば*Streptomyces clavuligerus*によるβ-lactam抗生物質の生産、*Streptomyces hygroscopicus*によるrapamycinの生産、大腸菌によるmicrocin B17の生産はいずれも微小重力下で抑制される<sup>11)</sup>。逆の見方をすると、高重力環境を積極的に利用することでこれらの物質生産を促進できる可能性がある。

微小重力の研究では $1 \times g$ と $\sim 0 \times g$ というきわめて狭い範囲でしか重力を変化させられない。一方、 $10,000 \times g$ まで重力をあげても微生物の増殖に影響は見られないことから、過重力を利用すればきわめて広い範囲で重力を変化させることも可能になる。このような特性をうまく利用できれば、重力を制御因子に用いたバイオリアクターの制御といった新しいバイオテクノロジーの開発につながるかもしれない。

## 文 献

- 1) Rothschild, L. J. and Mancinelli, R. L.: *Nature*, **409**, 1092 (2001).
- 2) Wolfe-Simon, F. *et al.*: *Science*, **332**, 1163 (2011).
- 3) Alberts, B.: *Science*, **332**, 1149 (2011).
- 4) Wilson, J. W. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 16299 (2007).
- 5) Yoshida, N. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **88**, 342 (1999).
- 6) Montgomery, P. O. *et al.*: *Aerosp. Med.*, **34**, 352 (1963).
- 7) Deguchi, S. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 7997 (2011).
- 8) Deguchi, S. and Horikoshi, K.: *Polyextremophiles*, p. 467, Springer (2013).
- 9) Fajardo-Cavazos, P. *et al.*: *Acta Astronaut.*, **60**, 534 (2007).
- 10) Klaus, D.: *Trends Biotechnol.*, **16**, 369 (1998).
- 11) Demain, A. L. and Fang, A.: *Chem. Rec.*, **1**, 333 (2001).