

THE BIOPAUSE PROJECT: MICROBE SAMPLING IN THE STRATOSPHERE TO DETERMINE THE UPPER BOUNDARY OF THE BIOSPHERE

Sohsuke Ohno¹

Planetary Exploration Research Center, Chiba Institute of Technology,

2-17-1 Tsudanuma, Narashino, 275-0016 Chiba, Japan

FAX: 047-478-0372, e-mail: ohno@perc.it-chiba.ac.jp

(Received: March 05, 2018 Accepted: August 30, 2018)

Abstract

Determining the location of the “biopause” (i.e., the upper boundary of the biosphere of the Earth) and the biological flux across the biopause are the key to our understanding of the universality, distribution, origin, and evolution of life in the universe. It is widely accepted that the tropospheric atmosphere contains bioaerosol, although the flux of microbes from the troposphere to the stratosphere is small and dynamical and biological lifetime in the stratosphere are short. However, the presence of microbes in the stratosphere has been recorded in previous experiments using balloons, aircraft, and rockets. The most direct information available that can be used to investigate the biopause is the distribution and dynamicity of life in the middle atmosphere.

In this paper, we introduce the outline and the initial results of the Biopause project, which is the first observational study of stratospheric bioaerosols to include nonculturable species and to successfully constrain their number density. The initial results from the first balloon experiment of the Biopause project represent an important step towards the planning of future experiments that will improve our understanding of stratospheric life and assist with the identification and characterization of the biopause.

(Keywords) Biopause, Astrobiology, Biosphere, Microbe, Bioaerosol, Stratosphere, Balloon Experiment, Impactor, Aerosol, Panspermia, Aerobiology

成層圏微生物採取実験 Biopause

プロジェクト

大野宗祐¹

¹千葉工業大学惑星探査研究センター

ohno@perc.it-chiba.ac.jp

地球の表層付近には生命が存在している。一方、地球近傍の宇宙空間では生物は見つかっていない。ではその二つの領域間には何らかの境界面、即ち地球の生物圏の上端が存在するのであるか。生物圏の上端（我々は biopause:生物圏界面と呼ぶこととした）に着目した研究は少なく、明確な境界面の有無、その高度や境界面が決定されるメカニズムなど、未だよく分かっていない。しかし、biopause についての理解は、現在の地球生命圏が宇宙に向かい閉じているか開いているか、あるいは生物の宇宙からの流入・流出の有無を知るため

に不可欠である。我々地球型生命が存在しているのは地球だけなのか？という問いは、地球が何故宇宙の中で特別な場所なのか、という地球惑星科学の最も根源的な問いと直結したテーマであり、宇宙と地球と生命の関係性の根幹を成すものである。

では具体的に、biopause は地球のどこに存在すると考えられるであろうか。まず、地球大気的最下部である対流圏（大気の高さ約 10 km より下の部分）では、比較的温暖湿潤で生物の生存に適しており、鉛直方向の混合も活発なため地表や水中から巻き上げられる為、微生物に限らず生物が普遍的に存在していることが知られている[例えば 1]。さらに、対流圏のすぐ上に広がる成層圏（高さ約 10km から約 50km）でも、気球[例えば 2]や飛行機[例えば 3, 4]などを用い、生物検出を目的とした微粒子試料採取が行われてきている。数多くの実験において生物が採取・検出されていることから、成層圏、特に成層圏下部には生物が存在するであろうということが広く受け入れられている。一方、中間圏（高さ約 50km から約 80km）より上に関しては、確実に生命が居るという報告は無い。つまり、biopause はおそらく成層圏のどこかに存在すると考えられ、成層圏生物圏についての理解が、biopause の決定と理解のためには必要である。

しかし、成層圏は、低圧（約 1/1000 気圧から約 1/10 気圧）、低温（最低で約マイナス 60℃）、乾燥、強い紫外線など、生物が生存するには非常に厳しい環境である。先行研究で採取された成層圏環境への耐性を持つ微生物であっても、成層圏で増殖することは困難である。また、成層圏は、たとえサイズの小さな微生物であっても、生物がエアロゾルとして長期間浮遊することが難しい。そもそも、成層圏で採取された微生物は紫外線等の耐性が高いとはいえ、一個体が単独で浮遊している場合には短時間で死滅してしまうはずである。そのため、微生物の生存の観点からは、成層圏の微生物は数個体以上が凝集体として集まっている、もしくは数ミクロン以上のサイズの岩石の塵の内部に付着している等、紫外線から何らかの形で遮蔽されているはずである。しかしながら、成層圏は大気密度が小さい為、浮遊粒子の沈降速度が大きく、微生物を含む浮遊粒子のサイズが大きい場合には短時間で落下してしまう。微生物の凝集体、岩石の塵とも大きさが数ミクロン以上の粒子はストークス沈降を考えると終端速度が大きいため、

成層圏にとどまることが出来るのは短時間に限られてしまう。さらに、成層圏では気温が高高度になるほど上昇する為、対流圏と比較して鉛直方向の混合が活発ではなく、浮遊粒子が下から上に巻き上げられにくい。長期間の紫外線暴露に対して十分な遮蔽を持ちうる数ミクロン以上の粒子が中層大気中にとどまるためには、その粒子を上空へ持ち上げる何らかのメカニズムが働く必要があるが、これは未だ確認されていない。以上述べた事項を考慮すると、成層圏は生物がほぼ存在しないのではないかと考えられる環境であり、逆に成層圏に広く微生物が存在するという観測結果を説明することは非常に難しい。

この矛盾を解き、成層圏にも生物が存在しうる理由を理解するためには、成層圏生物圏の動態と全体像を把握する必要がある。そのために最も重要な観測データは、成層圏浮遊微生物のエアロゾルとしての物理特性（サイズ、組成等）である。ところが、これまで行われてきた成層圏微生物採取実験では、分析する際まず培養するという手順が採用されてきた。そのため、微生物が単独で浮遊しているのか、細胞の塊や塵に付着した状態など紫外線に対する遮蔽を持った状態で浮遊しているのか、知る術が無かった。それに加え培養法には、環境中の微生物のほとんどを占める難培養の微生物を検出・分析できない、死んだ微生物を検出できないため成層圏での微生物の寿命の推定が難しい等、成層圏生物圏の全体像を把握することを難しくする要因がある。言うまでもなく培養が非常に有用な研究テーマも多くあるが、分析を培養のみに依存することは *biopause* の研究を行う上では大きな障壁となってしまう。

上記の状況を踏まえ、著者を含む研究グループでは *Biopause* プロジェクトという成層圏微生物採取実験を行い、生物圏の上端 *biopause* を観測に基づき決定することを目指している[5]。 *Biopause* プロジェクトでは、宇宙航空研究開発機構(JAXA)の大気球を用い成層圏の微生物を採取し、培養法だけでなく蛍光顕微鏡や電子顕微鏡などを用い多角的な分析を行っている。また、気球や採取装置等の外壁に付着した地上微生物の混入を劇的に低減することが出来る降下式インパクター型の試料採取装置を新規開発し、パラシュートによる降下中に試料を採取することとした[5]。この手法では、成層圏まで一旦気球で上昇した後パラシュートで降下させる途中にバルブを開け、管内部を通り抜ける空気中の微生物を試料採取板に衝突させ、捕獲する。成層圏での生物採取は様々な手法で行われているものの、大気球と降下式インパクターを用いた手法は *biopause* の観測するために特に適し

ている。気球でなく飛行機を用いた実験では到達可能高度が不十分である。また、降下式インパクター型以外の採取装置を用いた気球実験では、地上微生物の混入の可能性を十分に排除できない。降下式インパクター型の試料採取装置を用いることで、試料採取時の地上微生物の混入の危険性が大きく減ずるため、気球を用いた微生物採取実験、特に微生物高度分布測定には非常に適している。

2016年6月に行われた *Biopause* プロジェクトの第1回目の大気球実験では、新規開発した降下式インパクター型試料採取装置で、成層圏微粒子を採取することに成功した[6]。エアロゾルをインパクター型採取装置で採取した場合に特有の「サテライト構造」を持つエアロゾル粒子が採取試料中に多数確認され、確かに成層圏にて微生物試料の採取に成功したことが示された。気球実験用の降下式インパクター型の微粒子採取装置による実験は前例がなく、技術実証として重要であるとともに、今後成層圏微生物採取実験を継続していく上での基盤となるものである。また、本実験の結果より、難培養性微生物も含めた成層圏微生物数密度の上限値を推定した。難培養性微生物は自然界の微生物の大半を占めるだけでなく、成層圏微生物の寿命や動態など生物圏界面 *biopause* の検出と理解へ向けて不可欠な情報を有しており、成層圏の難培養性微生物に関する世界初の観測結果となった[5]。

今後 *biopause* を観測的に決定するには、まずは成層圏微生物の高度分布の観測が重要である。同時同地点異高度における成層圏微生物の形状と難培養微生物を含む数密度を観測できれば、成層圏の微生物エアロゾル粒子のサイズと鉛直分布を把握することが可能になる。さらに、異なる緯度、特に低緯度での成層圏微生物の数密度や生死比率の高度分布を観測できれば、成層圏生物圏の全体像の理解が飛躍的に進むと考えられる。先行研究には、異なる緯度での系統的な観測や、同一地点で微生物の高度分布を調べた例は存在しないため、成層圏での輸送メカニズムや滞留時間、寿命等を定量的に評価出来ない。例えば低緯度において対流圏から成層圏への大気の大規模な流入が知られており、これが成層圏微生物の重要な供給源である可能性が高いが、そのような全地球的な成層圏生物圏の全体像・動態については全く判っていない。成層圏生物圏の全体像を把握できるような観測が行われるようになれば、これまでの“見つかった物を記載し報告する”という議論から、生きた微生物が成層圏で存在しうるのは何故か、そのメカニズムに世界ではじめて切り込むことができる。これは、*biopause* について理解し、将来的に

地球／地球外間の生命の流入／脱出の有無について観測に基づいた議論を行う為に不可欠なステップである。

Reference

1. Maki, T., Aoki, K., Kobayashi F., Kakikawa M., Tobo Y., Matsuki A., Hasegawa H. and Iwasaka Y. Characterization of halotolerant and oligotrophic bacterial communities in Asian desert dust (KOSA) bioaerosol accumulated in layers of snow on Mount Tateyama, Central Japan, *Aerobiologia*, 27: 277-290. (2011)
2. Yang, Y., Itoh, T., Yokobori, S., Shimada, H., Itahashi, S., Satoh, K., Ohba, H., Narumi, I. and Yamagishi, A. *Deinococcus aetherius* sp. nov., isolated from the stratosphere, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, DOI 10.1099/ijss.0.010876-0. (2009)
3. Yang, Y., Itahashi, S., Yokobori, S. and Yamagishi, A. UV-resistant bacteria isolated from upper troposphere and lower stratosphere, *Biol. Sci. Space*, 22, 18-25. (2008)
4. Griffin, D.W. Terrestrial microorganisms at an altitude of 20,000 m in Earth's atmosphere, *Aerobiologia*, 20, 135-140. (2005)
5. Ohno, S., Ishibashi, K., Miyake, N., Kawaguchi, Y., Kakehashi, Y., Okudaira, O., Yamada, M., Yamada, K., Takahashi, Y., Harada, D., Yamagishi, A., Segawa, T., Nonaka, S., Ishikawa, Y., Tokoro, G., Yamanouchi, K., Kobayashi, M., Fuke, H., Yoshida and T., Matsui, T., A report on the B16-02 balloon experiment: Biopause—bioaerosol sampling at the stratosphere, JAXA-RR, in press.
6. Ohno, S., Ishibashi, K., Miyake, N., Kawaguchi, Y., Kakehashi, Y., Okudaira, O., Yamada, M., Yamada, K., Takahashi, Y., Harada, D., Yamagishi, A., Segawa, T., Nonaka, S., Ishikawa, Y., Tokoro, G., Yamanouchi, K., Kobayashi, M., Fuke, H., Yoshida and T., Matsui, T., THE BIOPAUSE PROJECT: BALLOON EXPERIMENTS FOR SAMPLING STRATOSPHERIC BIOAEROSOL, *Lunar and Planetary Science XLVIII*, 1890 (2017)