

宇宙環境における陸棲ラン藻
Nostoc sp. HK-01 の食資源としての検討

2015 年 1 月

木村 靖子

宇宙環境における陸棲ラン藻
Nostoc sp. HK-01 の食資源としての検討

筑波大学大学院
生命環境科学研究科
生物機能科学専攻
博士（学術）学位論文

木村 靖子

目次

第1章 緒論	1
1-1 有人宇宙活動の歴史	2
1-2 長期有人宇宙活動のための閉鎖生態系システム	3
1-3 火星における宇宙農業計画	6
1-4 宇宙農業におけるラン藻利用	8
1-5 陸棲ラン藻 <i>Nostoc</i> sp. HK-01	9
1-6 陸棲ラン藻 <i>Nostoc</i> sp. HK-01 における宇宙環境耐性	10
1-7 ラン藻の食料としての利用	11
1-8 食品の3機能	14
1-9 本研究の目的と研究内容	15
Figures and Tables	18
第2章 陸棲ラン藻 <i>Nostoc</i> sp. HK-01 の火星模擬レゴリス上で 8年後の生存と増殖機能の確認	22
2-1 序論	23
2-2 材料及び実験方法	
2-2-1 生物材料と培養培地	24
2-2-2 FDA 染色法による生存検定	24
2-2-3 寒天培地を用いた HK-01 増殖確認	25
2-3 結果および考察	26
Figures and Tables	29
第3章 陸棲ラン藻 <i>Nostoc</i> sp. HK-01 の増殖能の評価	38

3-1	序論	39
3-2	材料及び実験方法	
3-2-1	材料	39
3-2-2	液体培地を用いた培養と増殖能	40
3-2-3	寒天培地を用いた培養と増殖能	40
3-3	結果および考察	41
	Figures and Tables	44
第4章	陸棲ラン藻 <i>Nostoc</i> sp. HK-01 藻体の食品としての機能評価	51
4-1	序論	52
4-2	材料及び実験方法	
4-2-1	材料	54
4-2-2	HK-01 の水分定量	54
4-2-3	HK-01 のタンパク質の定量	54
4-2-4	HK-01 の脂質の定量	54
4-2-5	HK-01 の炭水化物・糖質の定量	55
4-2-6	ラジカル消去能を指標とした HK-01 の抗酸化活性	56
4-3	結果および考察	56
	Figures and Tables	63
	総合考察	79
	Figure and Tables	92
	謝辞	96
	参考文献	97

略語

A'MED	Arai's Mars Eco-systems Dome
BG-11	Medium for Blue Green Algae
DPPH	2- 2 diphenyl-1picrylyhydrazyl
FDA	Fluorescein diacetate
MDM	Modified Detmer's Medium
MDRS	Mars Desert Research Station
MRS	Martian Regolith Simulant

第 1 章

緒 論

1-1 有人宇宙活動の歴史

人類の有人宇宙活動のための計画は、第二次大戦後、1957年にソビエト共和国連邦（旧ソ連；現ロシア）がスプートニク計画の1号機として打ち上げた人工衛星から端を発し、すでに60年を経た（JAXA 宇宙情報センターa）。スプートニク計画の1号機が打ち上げられた後まもなくの1961年に、旧ソ連は、人類初の宇宙飛行士となるユーリ・ガガーリンによる地球1周起動飛行を成功させた（五家, 2006）。その後、1969年、米国がアポロ計画で2名の宇宙飛行士による初の月面着陸を成功させた後、月面短期滞在を成功させるなど、国際的に宇宙開発が高く注目される時期となった（JAXA 宇宙情報センターb, c）。宇宙開発はその後、地上より約400 km 離れた軌道上における宇宙環境利用へ移行し、ロシアや米国による軌道上を周回して行うことができる、トウモロコシ (*Zea mays*) やイネ (*Oryza sativa*) およびメダカ (*Oryzias latipes*) やカエル (*Hyla japonica*) などの植物や小動物などを用いた短期間滞在実験が行われた（黒谷・山下, 1990; 井尻, 1996; JAXA 宇宙情報センターd）。1998年から、米国を中心として、日本、イギリス、フランス、ドイツ、イタリア、スイス、スペイン、オランダ、ベルギー、デンマーク、ノルウェー、スウェーデン、カナダ、ロシアの15か国の国際協力により、国際宇宙ステーション（ISS : International Space Station）の建設が始まり、2011年に完了した（JAXA, ISS 組立情報）。ISSは、高度400 kmの地球周回軌道上を飛行する。ステーション内は微小重力、閉鎖環境および宇宙放射線など地球とは異なる環境である。ISSの運用開始当初は3名の乗組員であったが、現在は1ミッション6名が、6カ月の長期滞在中に、ISSのメンテナンスをはじめ、地球や天体の観測、無重力の生物応答や無重力環境における結晶に

関する研究など、数々の宇宙における特殊環境を利用した科学実験の任務を遂行してきている（五家, 2006; JAXA, きぼう利用の成果）。ISS およびそこで行われる観察や実験は、人類の活動領域を地球から離れた遠い宇宙空間にまで広げるための拠点や情報となる。Fig.1-1 に国際宇宙探査協働グループ（ISSG : International Space Exploration Coordination Group）に参加している 12 の宇宙機関により提案された国際宇宙探査ロードマップ（GER: Global Exploration Roadmap）を示す（国際宇宙探査協働グループ, 2013）。このロードマップによれば、2020年代は月周辺有人探査ミッションとして地球近傍小惑星探査、長期滞在有人ミッション、有人月面探査の実施が予定されている。さらに 2030 年代以降は、火星長期有人宇宙探査を実施することが計画されている。各国の宇宙探査活動の独自性と優先事項を尊重しつつ、宇宙探査の目的・目標を共有し、有人火星探査に向けて技術開発が行なわれる予定であることがわかる。今後、火星有人活動に向けて多くの人々が、長期間宇宙環境に滞在あるいは居住することになるだろうと予想される（Salotti and Heidmann, 2014）。有人宇宙活動が行われるとき、長期閉鎖環境の中でどのように酸素や二酸化炭素などの物質循環を行うのかや、食料をどう賄うかの問題は避けられない。

1-2 長期有人宇宙活動のための閉鎖生態系システム

ヒトが長期間宇宙環境で滞在するためには、酸素や水の確保と食料の供給などを含め、高度な生存環境整備技術の確立が、緊急に必要である。生命維持に関する研究は、水再生装置の開発や化学反応を利用した酸素発生および水再生技術など、多くの工学的検討がなされている（新田, 1986; 大西, 2015; 桜井, 2015;

多胡, 2015; 宮嶋, 2015)。地上から約 400 km に位置する ISS の場合、定期的に物質を地上から運び込み廃棄物を地上に持ち帰ることが現在の技術で十分可能で、現在我が国においても宇宙ステーション補給機「こうのとり」(H-II Transfer Vehicle: HTV) を 1 年に約 1 度運用し、与圧部最大約 4.5 トン、非与圧部最大約 1.5 トンの計最大約 6.0 トンの物資を ISS に補給・廃棄している (JAXA, 「こうのとり」(HTV) とは)。しかし、火星の有人活動を想定した場合、地球から火星までの距離は、軌道の違いにもよるが、地球から約 6000 万~2.2 億 km に位置し、地球から月までの距離である約 38 万 km と比較すると、はるかに遠く、人類が簡単に移動し帰還できる距離ではない (岩田, 1991)。惑星の公転速度を利用し、最小のエネルギーで目的の惑星に到達させる軌道であるホーマン軌道を用いた火星有人ミッションは、往路に 235 日、復路に 191 日の移動時間を要する上に、帰還する時期を待つために火星表面で 516 日の滞在時間を要することから、ミッションの全体の運用時間は、最短で計 942 日となる (西村, 1985; 宮嶋, 2015; JAXA 宇宙情報センターe)。必要な物資に関して、ISS 滞在時を例に挙げると、生命維持に必要な物資は、ヒト 1 人 1 日あたり、食料、水および酸素で 5.8 kg あることから (宮嶋, 2015)、火星有人ミッションにおいてヒト 1 人あたり、食料、水および酸素だけで 5.4 トンの物資が必要となると計算できる。すべての食料を地球から火星に運搬することは負担が極めて大きく、困難と予測されることから、地球からの物資輸送に頼らない、宇宙活動の場における自給自足型の生活環境を出先の宇宙環境で求めることが、長期有人宇宙活動を実現するために不可欠である (Perchonok *et al.*, 2012)。

閉鎖された環境内で安定した物質循環を図りながら、ヒトを含めた動物系と

植物系が共存していく生態系を人工的に作る技術—閉鎖生態系生命維持システム (Closed Ecological Life support System, CELSS) がその候補として考えられた。CELSS は、生物系と物理化学系を組み合わせ、循環物質のバランスを制御しながら、外部からの物資補給をせずに地球に似た環境を人工的に作り出す総合的なシステムで、空気再生系、熱制御系、水再生系、食料再生系および廃棄物処理系の5つのサブシステムから構成される (大西, 2015)。これらのシステムの中で、ヒトが快適に生活でき得る気体成分・圧力、温度・湿度などを維持するとともに、人体に必要な物質をシステム内で供給し、排泄物を処理する。火星環境で人類が長期滞在するには、CELSS 構築は不可欠で、閉鎖内の環境を長期安定して継続させるための、高い物質再生循環システム技術が、今後の有人宇宙活動の可能性を大きく左右すると考えられる (後藤, 2003)。

大西 (2006) は、宇宙利用を想定した CELSS 技術開発は、日本と比較して、米国やロシアのほうが早く進んでいる、との認識を示している。日本は、空気循環と温湿度制御について、「きぼう」の開発・運用で実績があるが、空気再生技術の実績は現時点ではない。一方で、米国、ロシアは、活性炭や触媒による空気の清浄化を実施し、豊富な運用実績を示している (桜井・木部, 2015)。地上研究として、日本は、青森県六ヶ所村にある財団法人環境科学技術研究所の閉鎖型生態系実験施設 (Closed Ecology Experiment Facilities, CEEF) で、2名のエコノート (閉鎖システム内の作業員) が、宇宙を想定した生命維持システムの実証的な研究を活発に行った (Nitta, 2005; 大西, 2006; 多胡, 2015)。CEEF システム内で行われた研究成果は、将来の長期有人宇宙活動に応用可能である。このとき、エコノートは、システム内で生産されたイネ、ダイズ (*Glycine max*)、

ラッカセイ (*Arachis hypogaea*)、サトウダイコン (*Beta vulgaris var. rapa*) を含む 23 種類の作物を食材として自身で調理して食した (多胡, 2015)。

1-3 火星における宇宙農業計画

火星表面やレゴリス分析および地形の観察を総合して、46 億年前の火星は地球と同様に、大気と海が存在する惑星であったと考えられている (小林, 1997; 臼井・宮本, 2014)。現在、地球以外で、ヒトが長期間滞在可能な惑星は、大気が存在しない月よりも大気に覆われる火星と考えられ、これまでに 1975 年の Viking 計画による大気組成分析や岩石組成分析、2007 年の Phoenix 計画 による火星レゴリス中からの炭酸塩や過塩素酸の検出の成功など、無人火星探査による調査が行われてきている (Burke, 1994; 臼井・宮本, 2014)。さらに、2030 年以降に、火星有人探査計画がなされている (1-1)。2005 年より、宇宙航空研究開発機構の山下雅道ら (2005, 2006, 2008) は、宇宙における生命の起源・進化・文化および未来を研究する学問と定義されているアストロバイオロジー (山岸ら, 2010) を目的とした火星有人探査として、ヒトが火星で生命活動するために必要な、生物・生態学的要素と機能を踏まえた宇宙農業構想を提案している (山下ら, 2005; Yamashita *et al.*, 2006, 2008, 2009; Kanazawa *et al.*, 2008; Katayama *et al.*, 2008)。山下らの宇宙農業構想は、火星上で 100 人が 20 年の規模で居住可能な物質循環システムを構築するために、まず火星表面に与圧した温室ドームを建設し、そのドーム内に人間と生物が共存できる閉鎖生態系の空間を人工的につくと提案している。作物生産が可能な環境の構築は、結果的にヒトの生命活動に必要な水や空気および食料などの物質を供給することが可能となり、ヒト

の快適な生活環境を作り出すことも可能と考えられ、100人が20年間活動を実現できることを目標としている (Arai *et al.*, 2008)。

火星は、大気、水、重力、日射、土壌 (レゴリス) などの無機環境が、地球のそれとは著しく異なることから、宇宙農業には、2つの段階を経る必要があると予想される (和田, 2007)。初期段階は、火星の無機環境のもと生物を生産するだけでなく、水、空気、元素などの物質循環を維持し、農業が可能な空間に整備することであり、その後、第二段階として、火星に移住した人間の生活を保障しつつ持続的農業を維持することである。

和田 (2007) が指摘する第一段階で重要な、火星の無機環境に関する情報は現在も蓄積され続けているが、火星環境の確実な情報として、重力は地球の 37%、日射は地球の 43% である。自転周期がほぼ地球と同じため、太陽光を利用して光合成生物は生育することが可能である。しかし、地球より強い紫外線や宇宙線が、火星の表面に達している (五家, 2006)。火星の大気は、二酸化炭素 (CO₂) が 95%、窒素 (N) 3%、アルゴン (Ar) 1.6%、酸素 (O) 0.1% および水 (H₂O) 0.02% (Wulliams, 2007) で、大気圧は 0.7 kPa である。水は凍土として氷の形で火星の表層やその直下に存在することが明らかにされているが、塩化物が多量に含まれる可能性が示唆されている (石川, 1997; 和田, 2007)。火星に土壌はなく、レゴリスのみである。NASA の火星探査機 **Viking** による火星レゴリスの成分分析で、火星レゴリスは、ケイ素 (Si)、鉄 (Fe)、マグネシウム (Mg)、カルシウム (Ca) などの無機元素成分から構成されることが報告されている (Kieffer *et al.*, 1992)。また pH は、諸説存在しているが、火星探査機 **Phoenix** が着陸した地点は、pH 8-9 のアルカリ性であることが確認されている (Kerr, 2004)。宇宙農

業を行う初期段階には、有機物が含まれる土壌の改良が、まず必要である（和田, 2007）。

1-4 宇宙農業におけるラン藻利用

宇宙農業の初期段階として、大気の酸化とレゴリスが含む元素循環による、火星レゴリスの土壌化が必要である。新井らはレゴリスの土壌化に有用な生物候補として、ラン藻に着目した（Arai *et al.*, 2008）。ラン藻は、シアノバクテリア（cyanobacteria）とも呼ばれる原核生物で、光合成により酸素を発生させる機能や無機的な環境で大気中の窒素を固定する機能を持つ光合成微生物である（Fig.1-2）。西オーストラリアでラン藻の化石が発見されたことから、ラン藻は少なくとも 28 億年前に誕生したと推察されている（池内, 2007）。当時の地球環境は、火山ガスや隕石により供給された、二酸化炭素（CO₂）や二酸化イオウ（SO₂）が、大気中に充満していたと考えられている。真核生物はまだ存在せず、二酸化炭素（CO₂）や二酸化イオウ（SO₂）を利用可能なバクテリアが繁茂していたと予測されている（Levine, 1982）。

太陽エネルギーを利用して地球に存在する水を分解し、水素イオンと電子を取り出すことに成功した生物種がラン藻であると考えられている（大森, 2009）。ラン藻の出現により、現在の地球の酸素濃度 21%の環境が生み出されたと推測され、地球での有機物を燃焼して呼吸する多様な生物の生存を可能にしてきた。ラン藻の光合成による酸素発生はオゾン層を生み出し、有害な宇宙線と紫外線を遮断することで生物の陸上への進出を可能にした。ラン藻も水中から陸上に進出し、陸棲ラン藻が出現したと考えられる（池内, 2007; 大森, 2009）。地球誕

生初期に無機的土壌を有機土壌に変化させた生物は、大気中の窒素固定能を具備した陸棲ラン藻と推測されている（宮川, 2004; 池内, 2007; 大森, 2009）。ラン藻は、原始地球のような過酷な環境下で岩石や溶岩の風化物より有機的土壌の生成を促進した生物と考ええると、過酷な原始大気的环境下でも生育可能な機能を備えていると推測される。従ってラン藻は地球と異なる火星環境において、大気の酸化や火星レゴリスの有機土壌化を促進する初期導入生物の候補として期待できる。

1-5 陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01

有人火星活動のための初期導入生物の候補とされるラン藻は、水中に生息する水棲ラン藻と、一定期間乾燥に曝される地上に生息する陸棲ラン藻に分類できる。宇宙農業における利用を考えると、乾燥耐性があり、少量の水でも生育可能な陸棲ラン藻が候補となる。事実、陸棲ラン藻の1種のイシクラゲ (*Nostoc commune*) は、乾燥状態で100年保存された後に加水しても増殖したことを証拠として、乾燥耐性を有することが示されている (Cameron, 1962)。この乾燥耐性はラン藻の細胞外多糖が関わりと報告されている (Tamaru *et al.*, 2005)。Katohら (2003) は、兵庫県立大学構内の土壌から採取された *Nostoc commune* の藻塊から、乾燥耐性を指標として *Nostoc* sp. HK-01 を単離した。16S rRNA 遺伝子の塩基配列から、2001年にかずさDNA研究所が全ゲノムシーケンスを解析した水棲ラン藻 *Anabaena* sp. PCC 7120 の塩基配列と高い類似性を示すことから、両者は近縁種であると考えられている (Kaneko *et al.*, 2001; Katoh *et al.*, 2003)。陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 は、乾燥耐性が高く、光合成能、窒素固定能を備えてい

ることから、火星環境を想定した閉鎖生態系への導入生物の候補として提案されている (Katoh *et al.*, 2003, 2012; Yoshimura *et al.*, 2006; 大森, 2006; Arai *et al.*, 2008, 2009; Kimura *et al.*, 2014, 2015)。HK-01 の火星導入の可能性について、Arai ら (2008) は、Kieffer ら (1992) が分析した 1976 年の NASA の火星探査機 Viking での X 線蛍光分析装置による土壌および火星隕石の化学成分データをもとに調製した火星模擬レゴリスを用いて、本ラン藻を生育させた。アルカリ性が高く極めて貧栄養状態の火星模擬レゴリス上で、野生株の *Nostoc commune* は 75 日以内に白化し、生存を維持できなかつたのに対して、*Nostoc sp.* HK-01 は、培地成分の付加なしで、火星模擬レゴリス上で実験期間内の長期にわたって生存増殖 (140 日) することを明らかにした。栄養成分は外から与えられていなかったことから、*Nostoc sp.* HK-01 が、レゴリスの無機成分を吸収して、生育に利用できる機能を有する可能性が示唆された。新井らは、*Nostoc sp.* HK-01 がレゴリス内部に侵入し、細胞外多糖類を分泌して土壌の有機化を促進することを示し、*Nostoc sp.* HK-01 が、レゴリスの有機化を促進することが可能な、極めて有効な生物であると報告している (新井, 2009; Arai *et al.*, 2008, 2009)。

1-6 陸棲ラン藻 *Nostoc sp.* HK-01 における宇宙環境耐性

宇宙環境は、地球上環境とは明らかに異なる。無重力、超高真空、放射線、超低温から高温まで温度変化がある (高橋, 1987; Baglioni *et al.*, 2007; Horneck *et al.*, 2010)。陸棲ラン藻 *Nostoc sp.* HK-01 が火星環境において生育の可能性があるととしても、火星などへの運搬過程において、これら特殊環境に曝露される可能性は高い。Halstead ら (1984) は、スペースシャトル荷台部の環境は、真空状態、

温度 $-150\sim+100^{\circ}\text{C}$ であると報告している。

Arai ら (2008) は、陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の乾燥藻体において、 10^{-5} Pa の真空状態に曝露しても、生存が確認されたことを報告した。*Nostoc* sp. HK-01 は高い真空耐性を有することが示唆された。また、高温 (100°C)、重粒子線 (He) および紫外線 (172, 254 nm) に対する環境耐性についても確認された (藤代, 2012; 五十嵐, 2013; 味岡, 2014; Tomita-Yokotani *et al.*, 2013; Kimura *et al.*, 2014, 2015)。*Nostoc* sp. HK-01 は乾燥状態において、極めて高い宇宙環境耐性を有することが証明された。陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 は宇宙環境への初期導入生物として極めて有効である。

1-7 ラン藻の食料としての利用

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 は、これまでに記載したように、将来火星などの宇宙居住において閉鎖生態系への物質循環利用のための導入生物として極めて有用な生物として期待されている。しかし、食資源として、詳細な検証はまだなされていない。*Nostoc* sp. HK-01 を物質循環利用の生物と考えるだけでなく、食資源としての利用が検証できれば、閉鎖生態系内における初期の食料確保に大きく貢献できると考えられる (Kimura *et al.*, 2012)。

宇宙農業構想の中で、山下ら (2005, 2008) は、長期にわたり人間が火星で健康的に居住するために、栄養的にも嗜好的にも満足できる食材の組み合わせが重要であることを示している。山下ら (2005, 2008) はさらに、コメやダイズ、サツマイモやコマツナの植物性食材とカイコやドジョウなどの動物性食材を候補として、それらを組み合わせることで理想的な献立を提案している。しかし、

山下らが提案する理想的な献立を用いた実証の一部は、アメリカ・ユタ州の砂漠の閉鎖生態系施設 MDRS (Mars Desert Research Station) 内で行われた、宇宙環境要素を含まない実験に限られている。火星初期導入時に、これらの献立に必要な食料を用意することは難しいことから、具体的な献立の提案は、火星導入のための候補として実際に提案され研究が続けられている材料を用いることが適当であると考えられる。初期導入生物候補である陸棲ラン藻 *Nostoc sp. HK-01* の食資源としての利用が検証されれば、食料を介した物質循環としても、極めて有用な生物種になると考えられる。

一方、地球上において食用とされてきたラン藻は、水棲ラン藻のスピルリナ (*Spirulina plantensis*)、スイゼンジノリ (*Aphanothece sacrum*)、陸棲ラン藻のインクラゲ (*Nostoc commune*)、ハッサイ (髮菜) (*Nostoc flagelliforme*) などである (支倉, 1985ab; Yumoto *et al.*, 1988; Henrikson, 1989; Yumoto and Ohga 1991; Ohga and Yumoto, 1992; 石松・石橋, 1994; Takenaka *et al.*, 1998)。水棲ラン藻スピルリナ (*Spirulina plantensis*) は、アフリカチャド湖およびその周辺の地域で“*Dihe*”として食用されている (Yoshida and Hoshi, 1980; Henrikson, 1989)。スピルリナは、高塩類濃度、高アルカリ性を好む。この地域では、主食である雑穀につける濃厚なスープあるいはソースとして利用されていた。1960年代以降、スピルリナはタンパク質やミネラル、ビタミンの含有量が多く、高い栄養価が注目された。さらには生理機能性についても研究がすすめられた (Henrikson, 1989)。NASA (National Aeronautics and Space Administration) は、ラン藻のスピルリナは宇宙食の最有力候補だとして位置づけている (Pinero Estrada *et al.*, 2001; Ozdemir *et al.*, 2004; Deo *et al.*, 2014)。スイゼンジノリ (*Aphanothece sacrum*) は、淡水性ラン藻

類で清澄な流水に生息する。支倉ら (1985ab) は、日本では江戸時代から現在の福岡県と熊本県で幕府献上品としてスイゼンジノリが保護され、郷土料理の高級食材として利用されてきたことを報告している。陸棲ラン藻のイシクラゲ (*Nostoc commune*) は、淡水性のラン藻でネンジュモ属の一種である (石松・石橋, 1994)。世界各地の裸地表面に生育し、細胞外に粘性多糖類を産生して群体を形成する (Tamaru *et al.*, 2005)。中国では、冬の時期に水田で採取され、スープや揚げ物にされると報告されている (Gao, 1998; Takenaka *et al.*, 1998)。日本においても、沖縄県では「モーアサー」として祝い事に利用されたり、滋賀県では「姉川くらげ」と呼ばれ保存食として利用されてきたという歴史がある (Takenaka and Yamaguchi, 2010)。ハッサイ (髮菜) (*Nostoc flagelliforme*) は、ネンジュモ目のラン藻で、北方ユーラシア (中国モンゴル自治区) の乾燥した草原地帯の地表に生育している (Gao, 1998)。古くから中国料理の高級食材として、水に浸漬後、脱色して炒めもの (髮菜牡蛎) や蒸しもの (佛跳牆) などの料理に使用されていた (南, 2000)。中国人やカルフォルニアやハワイの中国移民は、ハッサイを伝統的なスープに加えていた (Gao, 1998)。近年の乱獲により、2003年中国でも採取販売が禁止となった (井上, 2007)。このようにラン藻類は古くから食料として世界各地で利用され、なかには食文化を形成するに至る場合もある。

ラン藻類の食用に関する研究が進む中で、栄養価や生理機能性も明らかにされてきた。スピルリナ (山田, 1972; 中山, 1975; 大石, 2003)、スイゼンジノリ (Takenaka and Yamaguchi, 2010) およびイシクラゲ (Yumoto *et al.*, 1988) において、栄養成分量が分析されている。ラン藻は窒素固定能があるため、タンパク

質が多く含まれる。また、糖質、食物繊維、無機質（ミネラル）の含有量が多いことも示されている（Hori *et al.*, 1992, 1990）。食物繊維、カルシウム（Ca）、鉄（Fe）は、平成 25 年国民健康栄養調査（厚生労働省）において、日本の成人に不足している栄養成分であることが報告され、ラン藻による栄養補給が可能と考えられる。ラン藻の生理機能性については、Ishibashi ら（1994）が、ラン藻類（スイゼンジノリ、イシクラゲ）の乾燥粉末あるいはラン藻抽出難消化性多糖類を高コレステロール飼料に添加した場合、ラット血清および肝臓総コレステロールの上昇を抑制する効果があることを報告している。Li ら（2011）は、イシクラゲ（*Nostoc commune*）からの多糖類に抗酸化活性及び水分保持活性があると報告している。兼清ら（2008）は、ハッサイ（髮菜）（*Nostoc flagelliforme*）由来酸性多糖分子に抗ウイルス活性があることを報告している。

ラン藻はこのように世界で食用され、またその栄養価や生理機能性が高いことが報告されている。陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 も食料としての可能性を予測させる。*Nostoc* sp. HK-01 が、火星環境における物質循環の初期導入生物の候補としてだけでなく、宇宙環境においてラン藻が食料として利用できれば、宇宙農業における有人宇宙活動の初期段階から食料の供給に大きく貢献できることが期待される。

1-8 食品の 3 機能

食品の研究は、20 世紀初頭の栄養学から始まった。我々は、外から様々な物質（栄養素）を取り入れ、利用することで、成長し労働や健康維持を行うことが可能となる（速水, 1971）。ヒトの生活に必要な栄養素の発見や栄養素の人体

への影響についての数々の研究から、個々の栄養素の価値が評価され、その結果が食品の栄養としての価値として位置づけられた。1980年代の高度経済成長期は、食の豊かさが注目され、食品のおいしさに関わる成分やテクスチャーに関する研究が増え、食品の嗜好としての価値が、食品機能のひとつとして位置づけられた（荒井, 2007）。1990年代は、疾病を予防し健康の維持増進するための食品の成分に関する研究が活発となった。このような食品の研究の流れの中で、1984年から1995年の荒井らの研究から、“食品の機能”が提唱されるに至った（荒井ら, 2007）。食品の機能は、栄養供給としての一次機能、食品の嗜好に関わる二次機能および人の健康維持や疾病予防における生体調節機能としての三次機能である（Table 1-1）。それまで、食品の価値の基準は、「栄養特性」「嗜好特性」という「特性」という言葉で表されていたが、荒井らは食品が各器官で様々な「はたらき」を行うことから、生体との相互作用を強調した「機能」という言葉に置き換え、食品の機能を3つに分類し、この考え方を「食品機能論」とした。1993年のNatureのNewsに、荒井らの研究と三次機能にあたるfunctional foodという概念が紹介され、その後functional foodは国際語として定着している（Swinbanks and O'Brien, 1993; 荒井, 1995, 2007）。

1-9 本研究の目的と研究内容

本研究は、これまでに、高乾燥・真空ほか熱や紫外線、重粒子線など各種宇宙環境耐性を有することが証明されている（1-6）光合成微生物の陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の、有人宇宙活動における食資源としての利用の可能性はまだ具体的に検証されていないことから、これらを強く示すために、Table 1-2 に示

す課題について、検証することを目的とした。

火星における閉鎖生態系において人間が食料として利用可能な条件として、食料の効率よい生産から実際の利用まで、人間の食料としての一連の流れが確保されるかを検証する必要がある。本研究は、陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の、①火星レゴリス上における栽培の可能性、②十分な収穫量の確保の検討、③栄養的価値としての機能評価、④調理・加工の可能性について検証し考察する。

第 1 章は緒論として、宇宙開発と長期有人宇宙活動を行う上で食料の確保が重要な課題であること、宇宙環境において栽培可能な生物資源として有効性が明らかになりつつある陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 が、宇宙環境耐性や大気の酸化、土壌の有機化の点から初期導入生物として極めて有用であることを論じ、陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の食資源として利用の可能性を検証することの必要性について論じた。

第 2 章は、火星において食資源として利用するために、陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 が火星レゴリスにおいて長期的に生育増殖が可能かを確認する必要があることから、Arai ら (2008, 2009) の研究により、火星模擬レゴリス上での 140 日間の生育が確認されているラン藻株の、8 年間後の生存・増殖機能と火星栽培の可能性を検証した。

第 3 章は、陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 が陸棲ラン藻の中でも高い増殖能がある可能性を、寒天培地と液体培地において他種のラン藻と比較することで検証した。陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 を食資源として利用するために、増殖能が高いことは必要な条件である。

第 4 章は、陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 藻体の栄養成分を分析し、栄養的価値

について、食品の3機能について検証し確認・考察した。

総合考察は、第2章から第4章までの研究結果および考察から、導き出される火星を想定した有人宇宙活動における陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の食資源としての有用性について、総合的に考察を行った。

本研究の生物材料の陸棲ラン藻は、火星初期導入生物候補であることから、本研究成果は将来の実際のラン藻利用時に極めて重要な情報となる。

(補足)

Nostoc sp. HK-01 の表記は、第2章から第4章まで、記載される第2回目から、HK-01、と記載した。人間、人、およびヒトを、ヒトとして統一した。調理に関する表記で、資料から引用された場合、元の資料の表記法を優先した記載を含む。

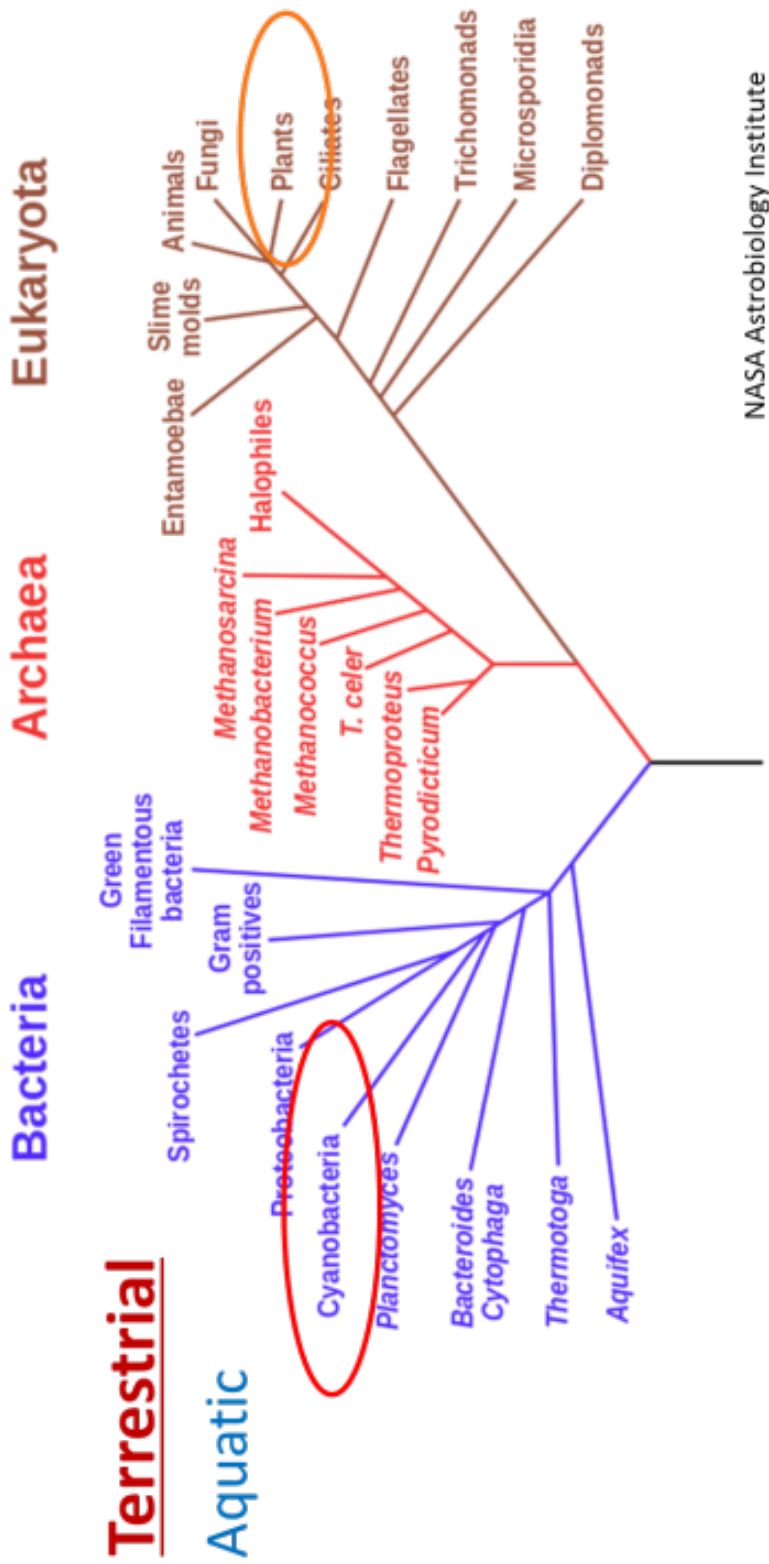


Fig. 1-2 ラン藻の生物学的分類 (NASA Astrobiology Institute <https://astrobiology.nasa.gov>から引用して利用) .

Table 1-1 食品の3機能とその評価項目.

機能	評価項目
一次機能	栄養素の供給源となる要素
二次機能	食品の味・香り・色・歯触りなどのヒトの感覚に関わる
三次機能	非栄養素成分で生体恒常性維持や体調調節に関わる

「ネオエスカ基礎栄養学 第三版」(江指隆年・中嶋洋子編 2012)を引用

Table 1-2 *Nostoc* sp. HK-01 を火星における食資源として導入するために達成されるべき課題（工学的技術を除く）。

課題項目	達成状況	
宇宙環境耐性 (地球からの運搬中の環境を含む)	真空 (10^{-4} , 10^{-5} Pa) 紫外線 (172, 254 nm) 重粒子線 (He線) γ 線 乾熱 (100°C) 高温や高塩類の環境耐性	達成 (Arai <i>et al.</i> , 2008) 達成 (藤代, 2012; 味岡, 2014; Tomita-Yokotani <i>et al.</i> , 2013; Kimura <i>et al.</i> , 2014) 達成 (五十嵐, 2013; Kimura <i>et al.</i> , 2015) 検証中 (井上ら, 2015; 木村ら, 2015)
宇宙放射線による突然変異・DNAダメージ	一部検証中 (実験中・たんぽぽ計画; Yamagishi <i>et al.</i> , 2008)	
火星レゴリスの土壌化 火星レゴリス上における長期生存 他の陸棲ラン藻との増殖能の比較	可能性証明 (Arai <i>et al.</i> , 2008) 140日まで証明 (Arai <i>et al.</i> , 2008) 未検証	
食資源としての利用評価	食品の機能評価 一次機能 二次機能 三次機能	未検証
	安全性	微量の毒性 (未発表)

第2章

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の火星模擬レゴリス上

8年後の生存と増殖機能の確認

2-1 序論

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の乾燥藻体は、高い乾燥耐性に加え、真空や高温および紫外線耐性を具備することが評価され、2015 年現在 ISS 外部曝露実験生物候補として実験計画が施行されている。HK-01 は、火星における有人宇宙活動のための初期導入生物種候補としても高く注目されている（第 1 章）。HK-01 の有用性のひとつは、食料にもなり得る生物種であることである。

火星で、HK-01 を食料として利用するためには、HK-01 が火星レゴリス上で長期に栽培でき、生存・増殖可能であることが望まれる。これまで、Arai ら (2008, 2009) は、火星レゴリスでの植物の生長を想定し、Mini-scale の A'MED (Arai's Mars Eco-Systems Dome) を用いて、火星模擬レゴリスにラン藻培養に適した MDM (Modified Detmer's Medium) 培地を混合した火星模擬レゴリス培地 MRS (Martian Regolith Simulant) を調製し、その上で HK-01 を最長 140 日培養した結果、HK-01 は少量の水と二酸化炭素および光があれば、有機成分のない MRS 上で生長可能であることを明らかにした。このとき、レゴリス成分を含まない培地で培養した HK-01 は 75 日以内に白化したと報告している。これらの結果は、HK-01 がレゴリスの無機成分を吸収し、生育に用いている可能性を示唆している。しかし、Yamashita ら (2005) が提案する宇宙農業構想は、火星にヒト 100 人が 20 年間居住することを目標にして構想されている。ヒトの火星居住の間に、HK-01 がヒトの食料として恒常的に利用できる可能性を示すために、HK-01 が年単位の長期にわたり火星レゴリス上で生存や増殖ができることを、実験的に検証、証明する必要がある。

本章は、新井ら (2008) の研究において、MDM 培地成分を含まない MRS

のみの培地上に接種された HK-01 を、8 年間保存して得られたラン藻を材料として、生存および増殖の確認を行った。

2-2 材料及び実験方法

2-2-1 生物材料と培養培地

Arai ら (2008, 2009) が調整した火星模擬レゴリス培地を用いた。スナップカップ ($\phi=4$ cm、高さ 6 cm、容積約 75 mL) に備えられた火星模擬レゴリス上で、室温で 8 年保存された *Nostoc* sp. HK-01 を材料として用いた (Fig. 2-1)。火星模擬レゴリスの組成を、Table 2-1 に示す。Kieffer ら (1992) の火星レゴリス成分分析データをもとに、新井ら (2008, 2009) が、三宅島産玄武岩質砂粒 (粒径約 1-5 mm) とクニゲル VI (粒径約 5-50 μm , Kunimine Industries Co., Ltd.) および酸化鉄 (III) の 3 成分の質量比を 2:7:1 で調製した。

2-2-2 FDA 染色法による生存検定

Fluorescein diacetate (FDA) は、細胞内に取り込まれると、エステラーゼにより加水分解されて蛍光性 Fluorescein となることから、エステラーゼを発現している生細胞が蛍光染色される (Dittmer and Weltzien, 1990)。FDA 染色法を利用してラン藻の生細胞確認を行った (Jones and Senft, 1985; Mori *et al.*, 2002; Arai *et al.*, 2008)。FDA を dimethylsulfoxide 0.5 mL 中に 1 mg 溶かし、さらに 0.2 mL acetone に溶かした後、5°C に保存し、FDA-stock 溶液とした。0.04 mL FDA-stock 溶液を 10 mL Delbecco's Phosphate Buffered Saline と混合し、0.002 % に調製して FDA 使用溶液として使用した。生存細胞を確認するための一連の実験方法を Fig. 2-2

に示す。火星模擬レゴリス上に生育させた HK-01 藻塊からピペットを用いて約 100 μg 採取した。採取した藻体に 500 μL の滅菌水を加えた後、 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ 、40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の条件で 2 日間液体培養した。培養後、ラン藻懸濁液をミキサー (Test Tube Mixer TM-251, Iwaki) を用いて $279.5 \times g$ で 1 分攪拌した。ラン藻懸濁液 200 μL を小チューブ (Violamo Micro Tube, AsOne) に分取した後、FDA 染色液 100 μL を加え、 37°C で 10 分間振とう培養器 (M・BR-022UP, Taitec) で振とうした。5 分、遮光下で氷冷した後、試料をスライドガラスに 20 μL 分取し、正立型蛍光顕微鏡 (BX50, Olympus) を用いて細胞の生細胞の観察を行った。細胞観察は、光学及び蛍光フィルター NIBA (励起波長 470-490 nm) を用いて行った (接眼×対物：10×20)。200 倍で観察したラン藻を視野 160 $\mu\text{m} \times 160 \mu\text{m}$ 内で、FDA 染色による緑色蛍光を発した生細胞の存在を確認した。器具類は、あらかじめ高圧蒸気滅菌を行うか市販滅菌器具を用いた。

2-2-3 寒天培地を用いた HK-01 増殖確認

寒天粉末 (植物培地用, Wako) を液体培地 (BG-11, Rippka, 1979, Table 2-2) に加え、オートクレーブ (BS-235, Tomy) を用いて高圧蒸気滅菌し、0.5 % 寒天培地を調製した。24 穴細胞培養プレート (SPL Life Sciences) に 1 穴ごとに寒天培地 500 μL 分注し、無菌状態で冷却後、寒天を固定化した。一連の方法を Fig. 2-3 に示す。8 年間保存した HK-01 の藻塊を少量採取した後、500 μL の滅菌水を加水し、 37°C 、1,000 rpm で 45 分、水平偏芯震動 (M・BR-022UP, Taitec) した。その後、15 分程度、手で攪拌したラン藻懸濁液を 24 穴ウェル細胞培養プレート内の寒天上に、各ウェルに 10 μL ずつ分注した。 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ 、12 時間連

続光照射 ($40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で静置培養した。測定日に、24 穴細胞培養プレートから、増殖した藻体を無作為に選び、光学顕微鏡 (MIC-D Digital Microcroscope, Olympus) を用いて観察した。

2-3 結果および考察

火星を想定した有人宇宙活動における宇宙農業の初期導入生物種として期待される陸棲ラン藻の HK-01 は、これまで高い宇宙環境耐性は報告されているが、MRS 上で、長期生存・増殖が可能かどうかの検証はまだ行われていない。そこで、これまでに、MRS 上にすでに、加水も栄養負荷もされていない環境で、8 年地上で培養されている陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の藻塊を材料として検証した。

Fig. 2-4 に、MRS 上で 8 年置かれた HK-01 の状態を示す。写真 A において緑色コロニーが観察された。拡大した状態を写真 B に示す。レゴリス培地表面はすでに乾燥しており、レゴリス培地の初期重量と現在の重量から、水分減少量は約 3.3 mL であることがわかった。初期培地の含水率は約 37.7 vol%であったが、約 33.6 vol%に減少した。目視観察で、乾燥した火星模擬レゴリス表面に HK-01 のゼリー状の多糖質様の物質に覆われた藻塊が観察された。目視観察により、光合成に必要な色素は保存され、細胞を保護する多糖質がそれを保護していると予測された。

8 年間 MRS 上に置かれた HK-01 の藻塊の一部を採取し、細胞の FDA 染色法による生存確認を行った (Fig. 2-5)。複数の細胞に、エステラーゼ活性を示す緑色蛍光が観察できたことから、生細胞が存在することが確認された (Fig. 2-5,

B)。Kimura ら (2015) によれば、HK-01 の生活環の中で、1 細胞で生存する細胞は、休眠細胞であることが報告されている。エステラーゼ活性を示す細胞が、いずれも 1 細胞で観察されていることから、本章・本検証で観察された生細胞のほとんどが、休眠細胞であると確認された。HK-01 がどのような環境条件で休眠細胞に分化するかの詳細な研究はまだされていないことから、8 年の過程のどの時期に休眠細胞に分化したかの時期は定かではない。しかし、写真 Fig2-5, B-6 に示すように、休眠細胞から発芽して 2 細胞に分化する様子が、加水後に観察されることから、本章で材料とした藻塊の細胞が、十分に生存を継続し繁茂する機能を維持していることは明らかである。

FDA 染色法による細胞生存の検証は、細胞内にエステラーゼが残存していれば死細胞であっても蛍光する可能性があることや、生存細胞であっても増殖能が失われている可能性もあること、および FDA 観察で休眠細胞から発芽・分化した細胞であることをさらに確かめるために、ラン藻の培地を用いて培養し、増殖機能を検証した。HK-01 は、増殖過程でネンジュ構造を示すことが報告されている (Kato, 2003)。HK-01 の生細胞のネンジュ構造を観察することで細胞の増殖機能を確認した。その結果、Fig. 2-6 に示すように、8 年間保存した HK-01 から採取された藻塊の培養開始 8 日の観察で、明らかなネンジュ形態と細胞増殖が認められた。これは、8 年間火星模擬レゴリス上に置かれた HK-01 の藻塊内の細胞が生存機能を十分に維持していたことを明らかに示す結果である。ラン藻の必要栄養成分を含まない寒天培地で、HK-01 を培養した場合、Fig. 2-7 に示すように 105 日で HK-01 コロニーが白化したが、これは Arai ら (2008) の結果と一致する。火星模擬レゴリス上で 8 年間の生存・増殖が確認

されたが、レゴリス成分を含まない寒天のみの培地で培養された場合は 105 日で死滅した結果から、HK-01 は、火星模擬レゴリスに含まれる何等かの成分を利用して可能性が考えられる。火星模擬レゴリスには、Table 2-1 に示すように無機成分が多量に含まれ、その中に、ラン藻用培地 BG-11 に含まれる元素、Na、K、Mg、Ca、Fe、Mn および O が存在する。HK-01 は生存に必要な無機成分をレゴリスから取り込み生存機能を維持した可能性が示唆された。本検証実験は、地上で行われたことから、火星模擬レゴリスに含まれない窒素 (N) 源をどのように得るかが課題となる。NASA によれば、ごく最近、火星探査機キュリオシティからの情報により、火星に硝酸塩が存在する可能性を公表している (Stern ら, 2015)。窒素が火星に存在するならば、窒素固定能を具備する本ラン藻は十分に窒素 (N) を体内に取り込むことが可能である。また、火星レゴリスに非常に微量に含まれるが不足する可能性が高いリン (P) 元素は、生物の代謝に極めて重要な元素であるが、本ラン藻は光合成生物である上に、後の章で示すように (4-3)、脂質を藻体全体の約 10% 含むことから、自身が有するリン (P) 源を利用した可能性も考えられる。

本章・本実験により、HK-01 が、火星模擬レゴリス上で 8 年間という長期に増殖機能を失うことなく生存することを、初めて実験室レベルで確認した。この結果は、火星初期導入生物種として、HK-01 が優れていることを示している。



加水(30 ml)
ラン藻をレゴリス表層
に培養



10 ml容量の火星模擬レゴリス
(75 ml 容量カップ)

8年後



Fig. 2-1 火星模擬レゴリス上に保存した陸棲ラン藻*Nostoc* sp. HK-01.

Table 2-1 MRS (Martian Regolith Simulant) の組成,(weight %, oxides, Arai *et al.*, 2008).

	Na	Mg	Al	Si	P	K	Ca	Ti	Mn	Fe
Martian Regolith (observed value) ^{a)}	1.34	6.00	7.20	43.40	0.68	0.10	5.80	0.60	0.45	18.20
Martian Regolith Simulant (Total of three ingredients)	2.54	2.11	12.74	59.67	—	0.27	3.12	0.28	0.07	14.81
Basaltic sand from Miyake Island (20 %) ^{b)}	3.97	2.86	14.00	52.66	—	0.67	8.62	1.42	0.36	15.31
Three ingredients	2.50	2.20	14.20	70.20	—	0.20	2.00	—	—	2.50
Ferric oxide powder (10%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00

^{a)}Data based on direct soil analyses from Viking X-ray Fluorescence Spectrometer and SNC meteorite reported by Kieffer *et al.*, 1992. ^{b)}Data based on direct soil analyses from X-ray Fluorescence Spectrometer reported by Kato *et al.*, 2005. ^{c)}Data from Kunimine Industries Co., Ltd., URL.

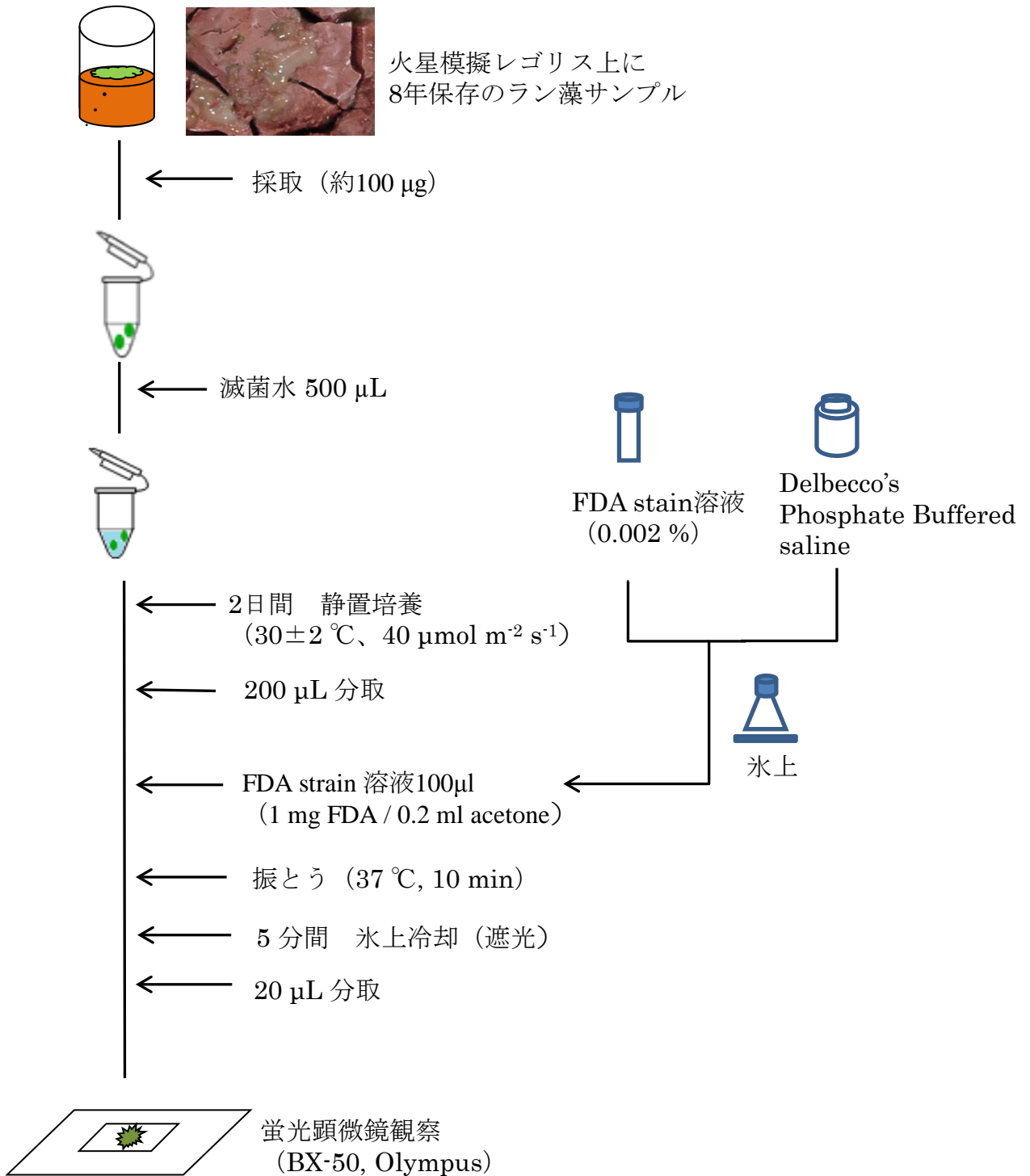


Fig. 2-2 火星模擬レゴリス上に8年間保存した陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01の生存確認法 (FDA染色法) .

Table 2-2 ラン藻標準培地(BG-11)の組成 (Ripka *et al.*,1979).

Ingredient	Amount (g/L) in medium
	BG-11
NaNO ₃	1.5
K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	0.04
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.075
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.036
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA (disodium magnesium salt)	0.001
Na ₂ CO ₃	0.02
Trace metal mix A5+Co*	1 mL/L
Deionized water	1,000 mL

* トレースミネラルミックス培地 “A5+Co” の組成

Ingredient	Amount (g/L distilled water)
H ₃ BO ₃	2.86
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.81
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.222
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.39
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.079
Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0.049

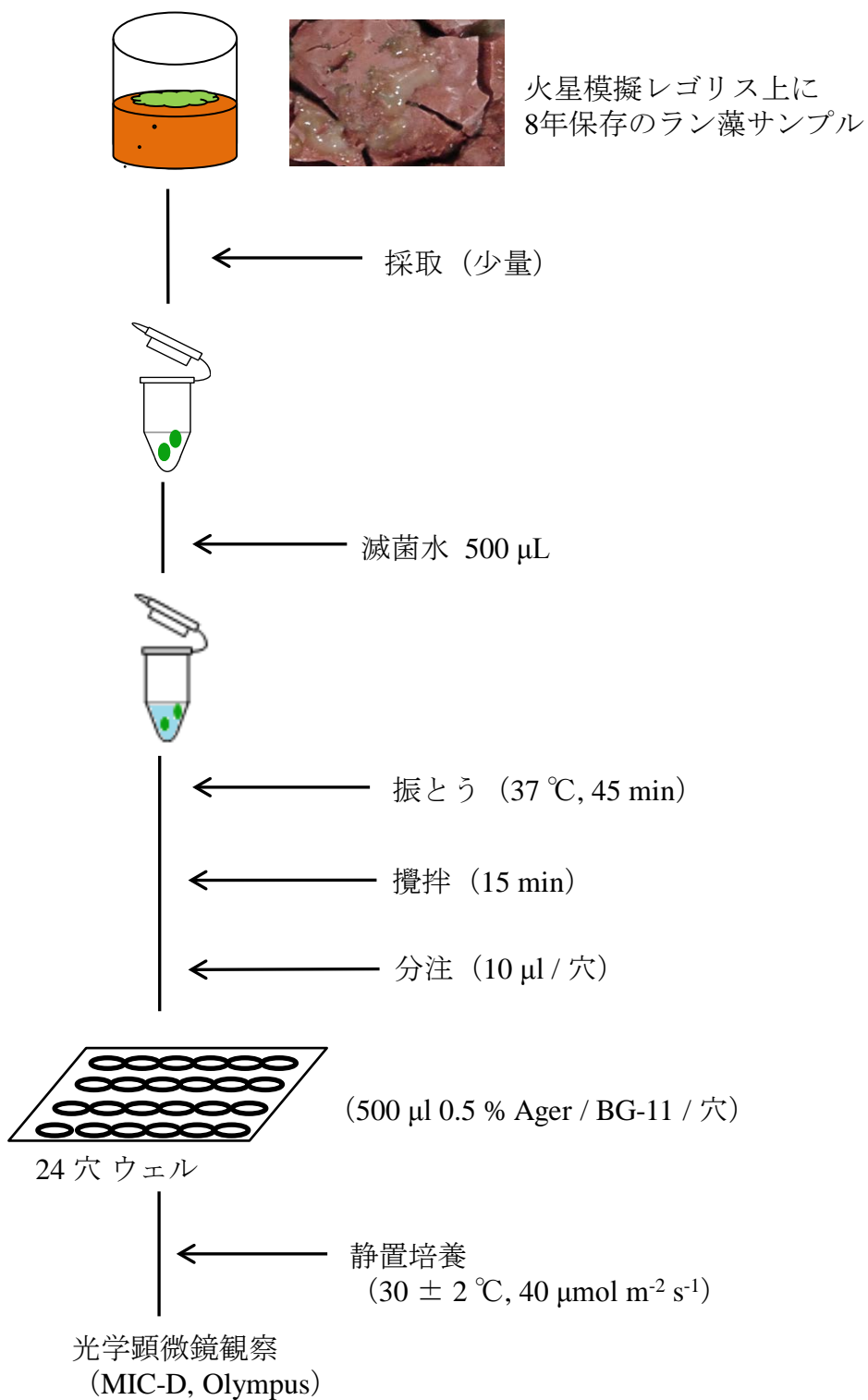
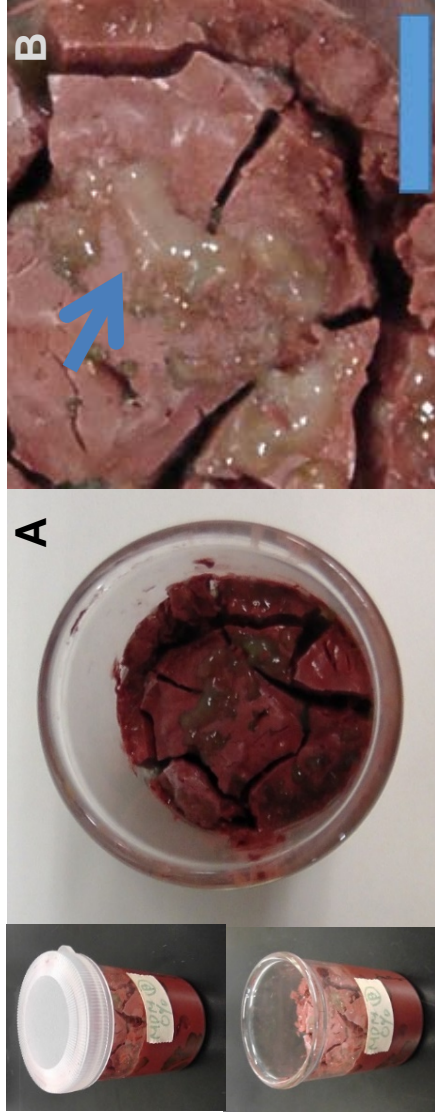


Fig. 2-3 火星模擬レゴリス上に8年間保存した陸棲ラン藻 *Nostoc sp.* HK-01 の生存増殖確認法.

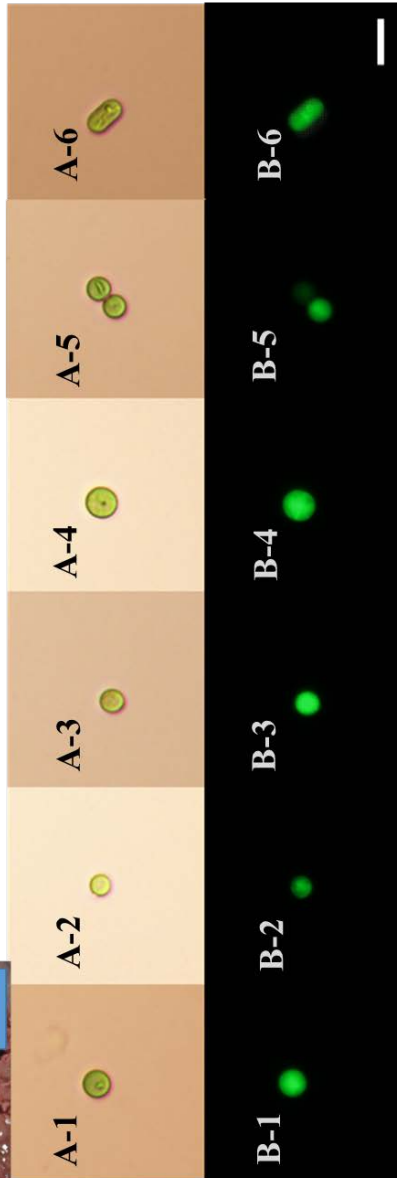


バーは 1 cm を示す

Fig. 2-4 火星模倣レゴリス上に8年間保存した陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の写真. A: 8年間火星模倣レゴリス上に保存したラン藻 (上から観察) B: レゴリス上のラン藻の拡大.



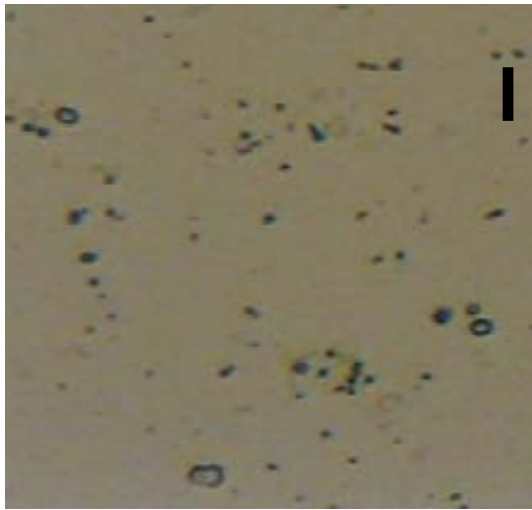
火星模擬レゴリス上のラン藻（バーは1 cmを示す）



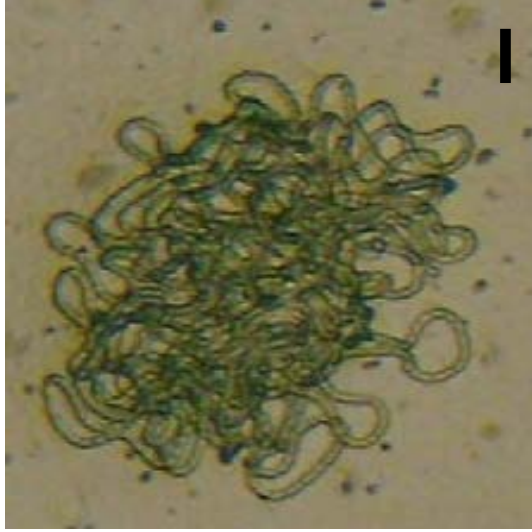
バーは10 μmを示す

Fig.2-5 8年間火星模擬レゴリス上に置かれた陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01の光学およびFDA染色法による蛍光顕微鏡写真. A-1～A-6: 通常光による顕微鏡写真. B-1～B-6: NIBAフィルターを備えた蛍光顕微鏡写真.

培養0日



培養8日



バーは20 μmを示す

Fig. 2-6 火星模擬レゴリス上に8年間保存した陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01の増殖の確認.

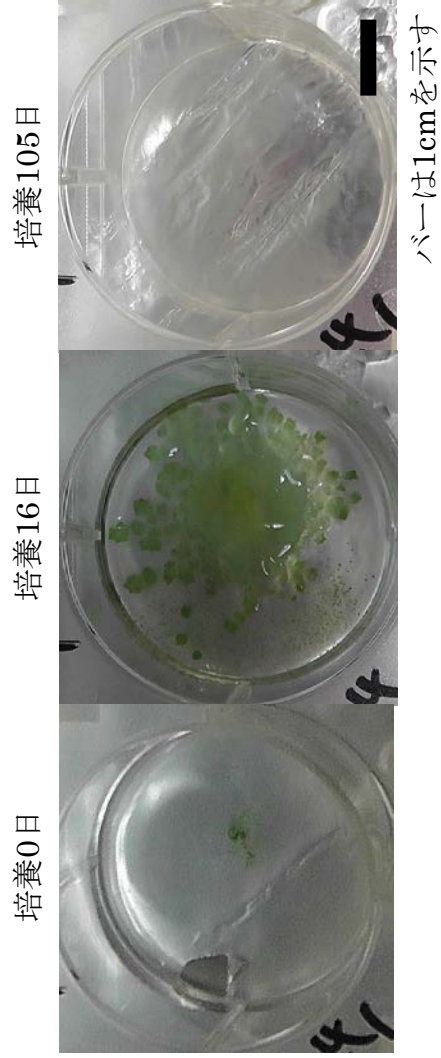


Fig. 2-7 寒天培地で培養した陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の増殖の確認.

第3章

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の増殖能の評価

3-1 序論

これまでに陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 は、陸棲であることから少量の水で生育可能であり、従って有人宇宙活動における火星初期導入候補生物として、適していることを述べた（第 1 章・緒論）。また、陸棲ラン藻が古来より食料として利用されている事実から、利用価値が高いことも示し、同様に初期導入生物として有用であることを述べた（第 1 章・緒論）。ヒトが利用する食物素材の価値のひとつとして、限られた敷地と資源の中で、相当量の収穫や栄養が、どの程度見込めるかは、実に重要な課題となる。また、例えば、イネは品種により、その生産能は著しく異なることが知られている（農林水産省、2009）。HK-01 の増殖を他の陸棲ラン藻と比較して検証することは、宇宙環境に設置されるであろう閉鎖生態系内に導入する生物種の決定時に実に重要な指標となる。

本章は、HK-01 を含む 6 種類の陸棲ラン藻を液体培地および寒天培地にて培養し、それぞれのラン藻の増殖能について評価を行った。増殖能を検証することで、宇宙環境下でどの程度の収穫を見込むことができるか、また目標量を栽培するには肥料となる元素種がどの程度必要か、さらにどの程度食品として必要量を見込めるかなど、具体的な数値を得ることができる。

3-2 材料及び実験方法

3-2-1 材料

HK-01 および HK-01 と同じ *Nostoc* 属の 3 種、すなわち *Nostoc commune* HK-02、*Brasilonema* sp. HK-05、*Calothrix* sp. HK-06、と、陸水ともに生育可能な 2 種、

すなわち *Nostoc punctiforme* ATCC 29133、*Nostoc commune* YK-04 の 6 種類のラン藻を本章・本実験に材料として用いた (Table 3-1)。Table 3-2 および 3-3 に、各ラン藻の特性を示した。*Nostoc punctiforme* ATCC 29133 は、ゲノム解析が行われているモデル株の 1 種で、*Nostoc* sp. HK-01 と同様の生活環で生育する (Meeks *et al.*, 2001)。用いた *Nostoc* 属 の栄養細胞は、細胞が連なり、ネックレスのような形態を示す (Garcia-Pichel, 2010)。用いたラン藻株の全ては、当研究室で継代培養し、増殖能の実験に用いた。

3-2-2 液体培地を用いた培養と増殖能

50 mL 容量の三角フラスコに液体培地 BG-11 を 30 mL 添加し、各ラン藻懸濁液 500 μL を無菌的に取り分け加えた。各試料を $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 、連続光照射下 ($34.72 \pm 2.55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で、14 日振とう培養を行った (Fig. 3-1)。培養後、15 mL 容量のファルコンチューブ (Centrifuge Tube, Corning) に移し、室温で静置後上清を取り除いた。さらに一晩室温で静置後、上清を取り除いた。藻体量を湿体積 (wet vol.) として計測した。

3-2-3 寒天培地を用いた培養と増殖能

Fig. 3-2 に実験方法を示した。寒天粉末 (植物培地用, Wako) を液体培地 (BG-11) に加え、オートクレーブ (BS-235, Tomy) を用いて高圧蒸気滅菌し、0.5%の寒天ゲルを調製した。6 穴細胞培養プレート (SPL Life Sciences) の 1 穴ごとに 0.5%寒天ゲルを 3 mL 分注し、無菌状態で 1 時間室温で冷却し寒天を固化した。各穴に各ラン藻懸濁液を 50 μL 分配し、 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ 下で培養した。光照射 ($47.166 \pm 2.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) は 24 時間連続光照射 (L/D ; 24/0) と明暗サ

イクル (L/D ; 12/12 暗期が先) の 2 条件を用いた。培養開始後 16 日に、各藻塊 (colony) の直径を、ルーラーを用いて計測した。

3-3 結果および考察

6 種のラン藻の液体培地を用いたラン藻の増殖能を評価した。Fig. 3-3 に、6 種類のラン藻における培養開始後 14 日の各ラン藻の湿体積 (Wet vol. μL) を示す。Fig. 3-3 (A) が培養開始時、Fig. 3-3 (B) は、培養開始 14 日の湿体積を示す。

6 種類のラン藻の液体培養開始後 14 日のラン藻藻体の写真の様子から、HK-01 の増殖が他のラン藻に比べて顕著で強い緑色を示すことが観察された。*Nostoc commune* HK-02 および *Nostoc commune* YK-04 の増殖が、Fig. 3-3 (B) の写真にも示されるように明らかに認められた。HK-01 および *Nostoc commune* HK-02 の湿体積は、他の 4 種のラン藻と比較して多く、増殖能が極めて高いことが明らかになった。HK-01 の培養開始後 14 日の湿潤藻体量は、培養開始時の容量に比べて、約 7 倍に増加した。1 日の増殖率は、 $15\%/day$ ($1.15^{14} \div 7$) となる。

Costa *et al.*, (2003) は、水棲ラン藻 *Spirulina plantensis* のオープンレースウェイポンズリアクターを利用した大規模培養実験において、培養開始 14 日の増殖結果が、培養開始時の約 4.5~6.5 倍であったことを報告していることから、HK-01 の本実験結果における増殖能は、それと比較して高いことが示された。

火星に水が存在する証拠は、これまでに火星探査機 Mars Global Surveyor、Opportunity、Phoenix、Mars Reconnaissance Orbiter などの複数の情報が存在するが (Malin and Edgett, 2000; Webster and Savage, 2004; Rennó *et al.*, 2009; Ojha *et al.*, 2015)、火星初期導入時の陸棲ラン藻の増殖に、多量の水を用いることは、未

だ困難であることが予測される。藻類の培養は、液体培養のほか、寒天を用いた固形培地による培養が一般的である。寒天培地を用いる培養の増殖能は、増殖した表面積を測定することで可能である。そこで、寒天培地を用いて、6種のラン藻の培養を、光照射条件を変えて行った。火星を想定した場合、1日は地球と近い24時間半時間で、昼と夜が存在する (Kieffer *et al.*, 1992)。寒天培地を用いた培養によるラン藻の増殖能の評価 24時間連続光照射 (L/D ; 24/0) と明暗サイクル (L/D ; 12/12) のいずれの光照射条件においても、増殖の仕方に違いはあるが、*Brasilonema* sp. HK-05 以外のラン藻について、培養開始 16日、開始時より増殖が認められた。特に、HK-01 は、写真には示していないが、培地全体にコロニーが広がることが観察され、固形培地における増殖能が、他のラン藻に比べて顕著であることがわかった (Fig. 3-4)。また、このとき、コロニーの色は 24時間連続光照射条件において、緑色が濃くなったことを観察した。Fig. 3-4 に 6種類のラン藻のコロニー面積を示す。増殖したコロニーが、美しい円形ではなかったため、4方向の直径を計測し、その平均値をコロニーの直径とし、コロニー面積 (コロニー平均半径²×3.14) を算出した。24時間連続光照射培養において、HK-01 と *Calothrix* sp. HK-06 が高い増殖能を示した。しかし、*Calothrix* sp. HK-06 の高い増殖能は、12時間毎の明暗サイクルを与えると激減した。火星における日照時間は、変動が大きいことを考慮すると、連続光照射に加え、12時間毎の明暗サイクルにおいても増殖能が高い HK-01 が、火星で栽培することを想定した場合、最も適した株であると考えられる。HK-01 の増殖は、光照射 L/D : 12/12 の方がコロニーの平均直径が大きい、コロニーの色は薄かった。HK-01 のホルモゴニア (連鎖体) の分化が観察され、

コロニーの直径を拡大したと考えられる。

以上の結果より、**HK-01** が、他のラン藻と比較して最も安定して増殖能が高いことが明らかになった。**HK-01** は、火星模擬レゴリス上で生存と増殖ができる機能を有することを、第2章で既に確かめていることから、今後、レゴリス上でどの程度の増殖が見込まれるかについて、より詳細に検証することで、より正確な収穫量を算出できると考えられる。

宇宙線や真空および熱に対する耐性を有し、火星模擬レゴリス上で長期間の生存増殖を検証した（第2章）**HK-01** が、用いた他の5種のラン藻に比べて、極めて高い増殖能を示したことは、**HK-01** が火星宇宙環境で食資源としての利用度が高いことを明らかにした。

Table 3-1 本研究に用いたラン藻.

Cyanobacteria	Sampling city	Reference
<i>Nostoc</i> sp. HK-01	Himeji, Hyogo	Katoh <i>et al.</i> , 2003
<i>Nostoc commune</i> HK-02	Himeji, Hyogo	Katoh <i>et al.</i> , 2012
<i>Nostoc commune</i> YK-04	Yokohama, Kanagawa	
<i>Nostoc punctiforme</i> ATCC 29133		Meeks <i>et al.</i> , 2001
<i>Brasilonema</i> sp. HK-05	Himeji, Hyogo	
<i>Calothrix</i> sp. HK-06	Himeji, Hyogo	

Table 3-2 本研究に用いたラン藻で分化が認められている細胞形態（+: 分化, -: 分化しない）.

Strain	Cell types				
	Vesitative cells	Heterocyst	Hormogonia	Akinete	
<i>Nostoc</i> sp. HK-01	+	+	+	+	+
<i>Nostoc commune</i> HK-02	+	+	-	-	-
<i>Nostoc commune</i> YK-04	+	+	-	-	-
<i>Nostoc punctiforme</i> ATCC 29133	+	+	+	+	+
<i>Brasilonema</i> sp. HK-05	+	+	+	-	-
<i>Calothrix</i> sp. HK-06	+	+	+	-	-

Table 3-3 本研究に用いたラン藻の乾燥重量と細胞サイズ.

Strain	Dry weight mg 500 mL ⁻¹	Cell size (μm)	
		Diameter	Length
<i>Nostoc</i> sp. HK-01	2566 ± 452	4.3 ± 0.2	4.8 ± 0.3
<i>Nostoc commune</i> HK-02	2655 ± 152	4.4 ± 0.2	4.7 ± 0.3
<i>Nostoc commune</i> YK-04	3183 ± 186	4.5 ± 0.3	4.7 ± 0.3
<i>Nostoc punctiforme</i> ATCC 29133	2763 ± 281	3.2 ± 0.1	3.9 ± 0.3
<i>Brasilonema</i> sp. HK-05	5005 ± 1198	11.1 ± 0.3	11.4 ± 1.2
<i>Calothrix</i> sp. HK-06	4005 ± 653	6.7 ± 0.4	3.6 ± 0.3

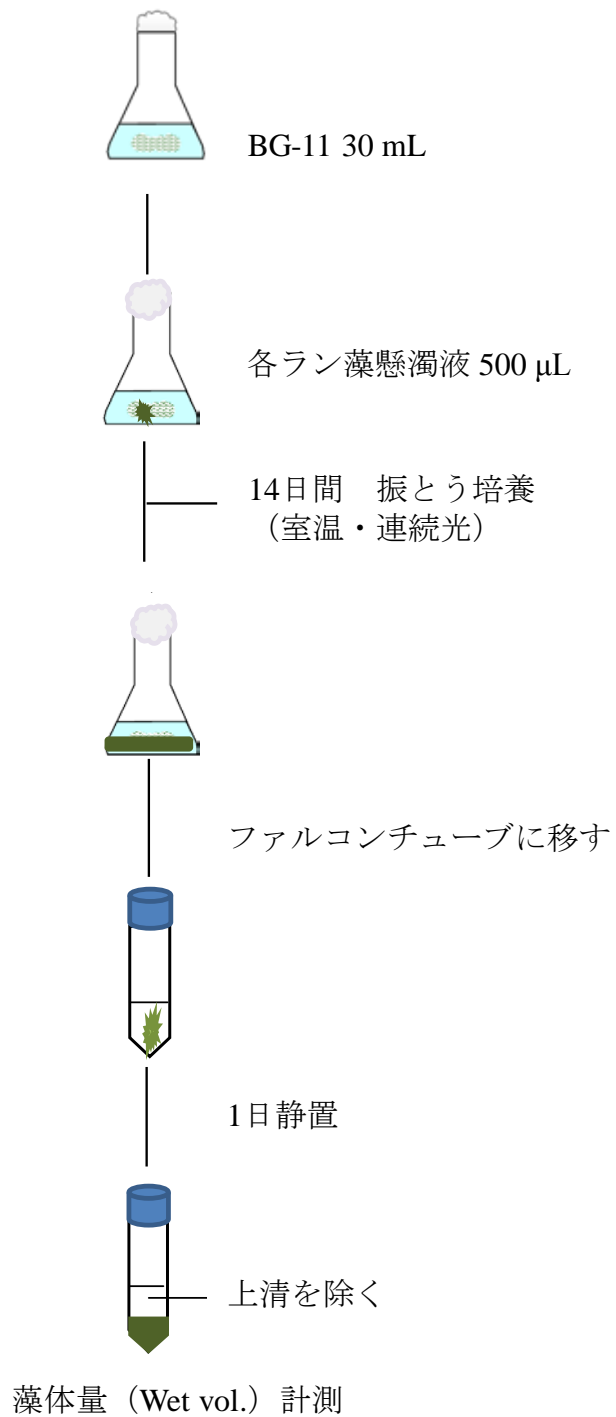


Fig. 3-1 6種類のラン藻の液体培地による増殖試験法.

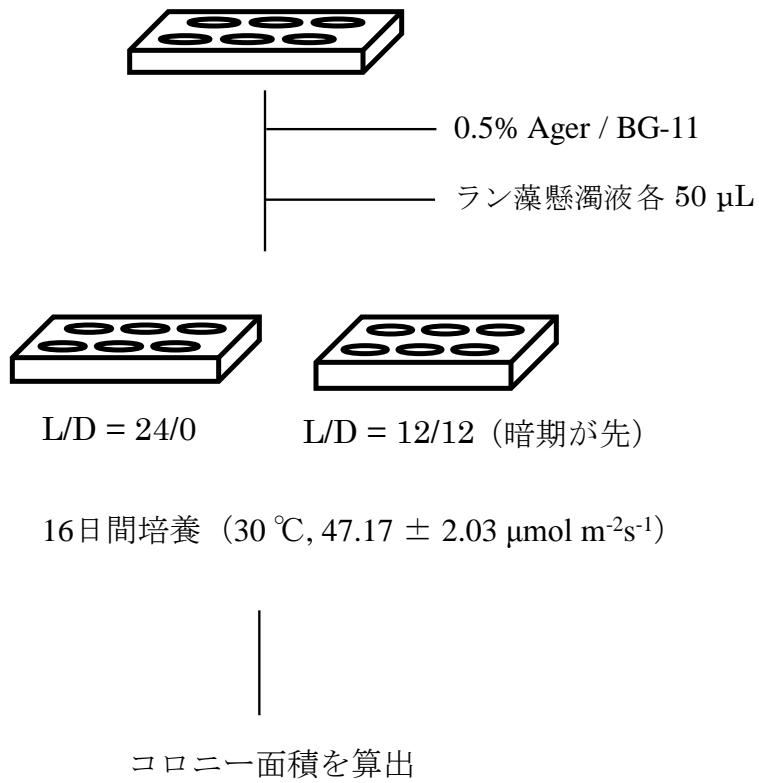


Fig. 3-2 6種類のラン藻の固形培地による増殖試験法.

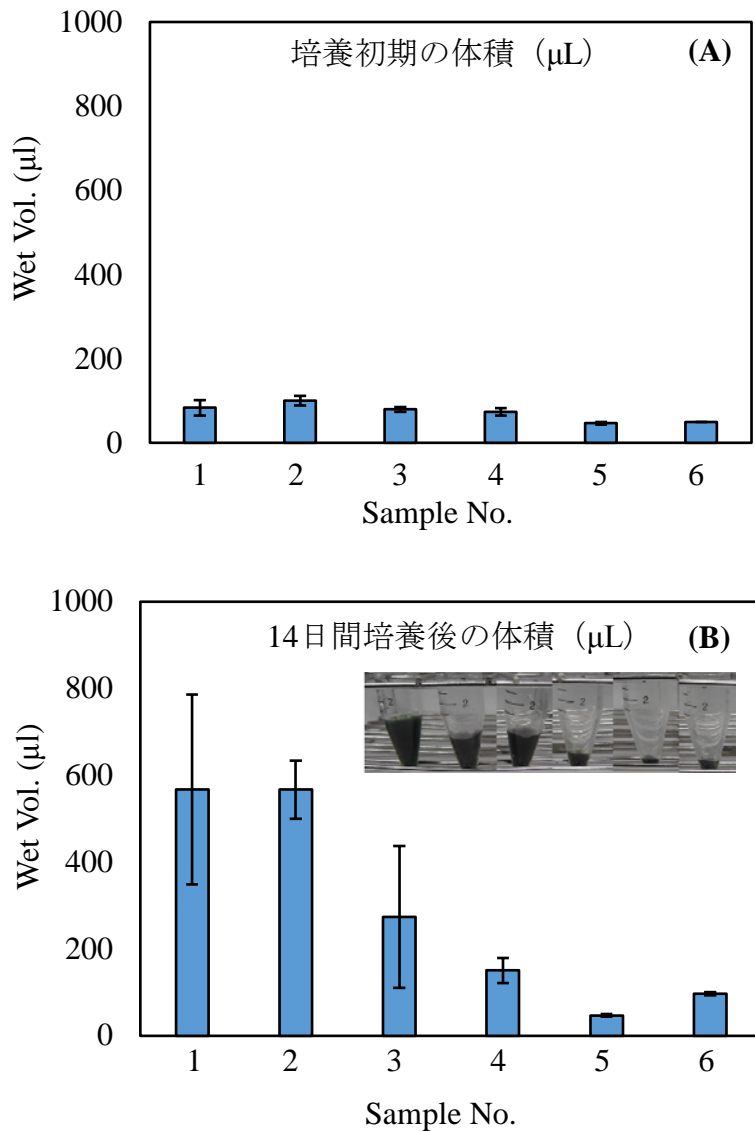


Fig. 3-3 液体培養における各ラン藻の湿体積 (wet.vol.) (A) 培養初期 (B) 培養14日後 (1) *Nostoc* sp. HK-01, (2) *N. commune* HK-02, (3) *N. commune* YK-04, (4) *N. punctiforme* ATCC 29133, (5) *Brasilonema* sp. HK-05, and (6) *Calothrix* sp. HK-06.

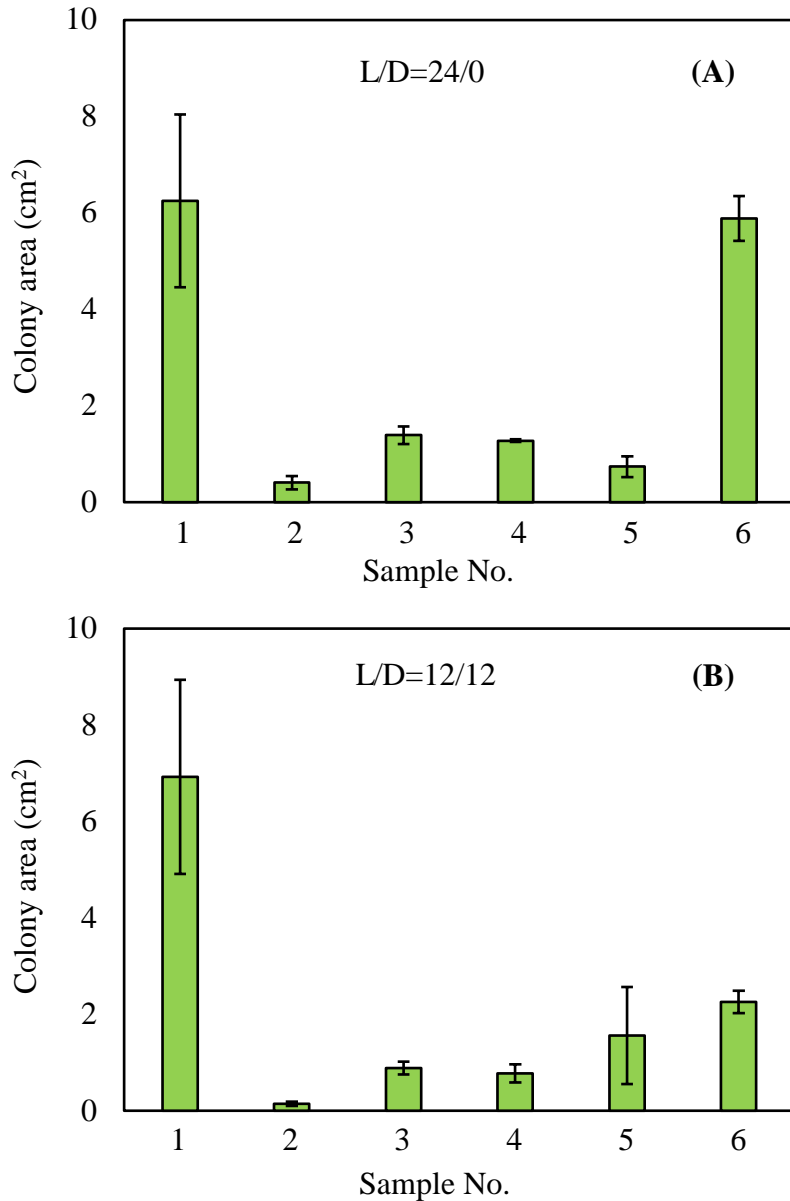


Fig. 3-4 14日間寒天固形培地培養後の各ラン藻のコロニー面積 (cm²). (A) L/D: 24/0 (B) L/D: 12/12: (1) *Nostoc* sp. HK-01, (2) *N. commune* HK-02, (3) *N. commune* YK-04, (4) *N. punctiforme* ATCC 29133, (5) *Brasilonema* sp. HK-05, (6) *Calothrix* sp. HK-06.

第4章

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 藻体の 食品としての機能評価

4-1 序論

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 は、これまで、高い乾燥耐性に加え、真空や紫外線など各種の宇宙環境耐性が高い、窒素固定を行う光合成生物として、有人宇宙活動に伴う火星農業の初期導入生物として提案されている（第 1 章）。本研究第 2 章および 3 章で、HK-01 が、火星模擬レゴリス上で長期生育が可能性で、他のラン藻と比較して、増殖能が高いことが示されたことは、有人宇宙活動の場で食料として栽培可能な生物候補であることを強く支持する。

ラン藻を食材とした宇宙で調理可能な食品を構想するために、まず、食品としての機能性に注目した。食品の機能は、ヒトが生命を維持するために必要なエネルギー源となる一次機能、食品の味や香り、味覚や嗅覚およびおいしさや美しさなど食品の嗜好性に影響する二次機能、非栄養成分で生態恒常性維持や体調調節の回復に関わる三次機能に大きく分けられる（Table 1-1, 江指・中嶋, 2012）。神経伝達の促進を図る無機質も含まれる二次機能、および生命活動における科学反応の補助となるビタミン類や抗酸化機能成分など非栄養成分で健康増進や生活習慣病などの疾病予防、免疫力を高めるなどの生体調節に関わる三次機能である（荒井, 1997; 吉田ら, 2013）。HK-01 を火星農業で生産物として用い、食品の食材として利用しようとするならば、栄養素とその機能について検証する必要がある。

ラン藻類が食品として利用された歴史は、第 1 章・緒論で述べたように、古くから良く知られている。水棲ラン藻のスピルリナ (*Spirulina platensis*)、スイゼンジノリ (*Aphanothece sacrum*) (Takenaka and Yamaguchi, 2010)、陸棲ラン藻イシクラゲ (*Nostoc commune*) (Yumoto *et al.*, 1988) およびハッサイ (髮菜)

(*Nostoc flagelliforme*) (Takenaka *et al.*, 1998) については、タンパク質量や脂質および糖質量などの一次機能や二次機能に関わる栄養成分の調査がなされている。これらの結果から、ラン藻 HK-01 も同様に食品機能を満たす栄養素や成分を備えていると推測され、また将来の有人宇宙活動で食品としての利用も期待されているにもかかわらず、食品としての機能評価はまだ具体的に調査はされていない。

食料から作られる食品には、実際にヒトが食事として得るための機能性が備わっていなければならない。食品の機能は、一般的に大きく次に示す3つの要素に分けられる。①人が生命を維持するために必要なエネルギー源となる糖質と脂質、およびエネルギー源にもなるが主として身体の構成成分となるタンパク質や生体機能を円滑化するなど、健康維持のために必要な栄養源となる一次機能である。②二次機能は、味覚や嗅覚、および、おいしさや美しさなど嗜好に関わり神経伝達の促進を図る無機質も含む機能、および③三次機能は、生命活動における化学反応の補助となるビタミンや抗酸化成分など、主要な恒常的維持栄養成分として含まれないが、健康増進や生活習慣病などの疾病予防、免疫力を高めるなどの生体調節に関わる機能である(荒井, 1997; 吉田ら, 2013)。

本章は、HK-01 乾燥藻体の、ヒトの生命維持に関わる、タンパク質、脂質および糖質量を定量し、HK-01 の一次機能としての栄養的評価を行った。また、嗜好品として、食用ラン藻が利用されている調査報告を元に、HK-01 の二次機能について考察した。さらに、三次機能の検証としてHK-01 の抗酸化機能を調べ、宇宙環境で利用する食品としての有用性を考察した。

4-2 材料および実験方法

4-2-1 材料

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 株を当研究室で継代培養し、必要な実験時に増殖した後乾燥し、各種実験に用いた。

4-2-2 HK-01 の水分定量

液体培養後の HK-01 藻体 500 μ L を滅菌したアルミホイル上に備え、暗所、23°C、相対湿度 30% で一定となるまで自然乾燥させた。乾燥した藻体を 100°C に加熱した乾燥機 (WFO-450, Eyela) に備え、2.5 時間熱曝露した。その後直ちに重量測定した ($n = 3$, AG204, Mettler Toledo)。低下した重量を乾燥藻体中に含まれる水分含量とした。

4-2-3 HK-01 のタンパク質の定量

HK-01 の乾燥藻体約 1.5 mg を、液体窒素下で破碎し粉末状にした。粉末試料は、元素分析器 (Element analyzer, Perkin Elmer) を用いて、炭素 (C)、水素 (H)、窒素 (N) 量を分析した後、得られた窒素 (N) 量からタンパク質量を算出した。食品中のタンパク質量は、タンパク質に窒素 (N) が平均 16% 含まれていることを利用し、総窒素量を定量したのち窒素係数 (6.25) を乗じて求めた (Jones, 1931)。Fig. 4-1 に、一連のタンパク質の定量方法を示した。

4-2-4 HK-01 の脂質の定量

HK-01 藻体の脂質量は、Folch 法 (クロロホルム - メタノール混液抽出法) の変法を用いて測定した (Folch *et al.*, 1957)。Fig. 4-2 に本実験で用いた定量法

を示す。液体培養したラン藻を、小チューブ (Violamo Micro Tube, AsOne) に分注し、遠心エバポレーター (MV-100, Tomy) を用いて濃縮乾固し、乾燥藻体試料約 10 mg を用意した。用意した試料にクロロホルム-メタノール (2 : 1) を 1.5 mL 加えて氷上で破砕棒 (BioMasher II, Nippi) を用いて破砕後、蒸留水 50 μ L を加えて 10 分攪拌した後、15,000 \times g で 5 分間 (20 $^{\circ}$ C) 遠心分離した。遠心分離後に得られる、上清 (水層)、ペレット層およびクロロホルム層の 3 層のうち、クロロホルム層を回収しながら、残りの水層を除いたペレット層を再度破砕し、同様の操作を複数回繰り返し、水層を取り除き、クロロホルム層を回収した。得られたクロロホルム層に、0.9%塩化カリウム溶液 0.5 mL を加え、10 分攪拌した後、遠心分離 (15,000 \times g, 5min., 20 $^{\circ}$ C) し、クロロホルム-メタノール (2 : 1) を 2 mL 加えて 10 分攪拌し、再度同上条件で遠心分離し、上記操作を繰り返した。最終的にクロロホルム層を取り出し、濃縮乾固した後得られた試料の重量をマイクロ天秤 (XP9V, Mettler Toledo) を用いて測定し脂質量とした。

4-2-5 HK-01 の炭水化物・糖質の定量

2 mL 容量の小チューブ (Violamo Micro Tube, AsOne) に備えた HK-01 乾燥藻体 694 μ g に、80%メタノール溶液を 500 μ L 加え、破砕棒 (BioMasher II, Nippi) を用い破砕した。その後、遠心分離し、上清部を試料として集めた。残渣試料に、さらに 500 μ L 蒸留水を加えて同様に破砕し遠心分離後、上清をすべて回収した。得られた 80%メタノール抽出溶液を、遠心エバポレーター (MV-100, Tomy) を用いて減圧下濃縮・乾固した。抽出物に蒸留水 1 mL を加え、0.45 μ m

フィルターでろ過し、80%メタノール抽出物中の糖質量測定用試料とした。糖質測定のための試料測定は、フェノール硫酸法を用いて行った (Dubois *et al.*, 1956)。試料に5%フェノール溶液 200 μ L 加え、さらに濃硫酸 1 mL を加えて 20 分静置した。分光光度計を用い λ 490 nm を測定した。得られた測定値は、予め行ったグルコースを標準とした検量線を用いて換算し算出した。残渣は、繰り返し 80%メタノールで洗浄後、風乾し、乾燥重量を測定し、炭素源を含む糖質量とみなした (Fig. 4-3)。

4-2-6 ラジカル消去能を指標とした HK-01 の抗酸化活性

HK-01 の乾燥試料 100 μ g を小チューブ (Violamo Micro Tube, AsOne) にとりわけ、蒸留水を加えて 1 日静置した。50 mL 容量の三角フラスコに液体培地 (BG-11, Table 2-2) を 30 mL 加えた後、連続光照射下あるいは 12 時間/1 日光照射条件で 14 日振とう培養を行った。培養後、藻体を除く上清 1000 μ L を試料として抗酸化活性を調べた。試料に DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 100 μ L を加え、攪拌後室温に静置した。15 分後、分光光度計を用いて吸光度 517nm における吸光度を計測した (Bliss, 1958; Chen, 2008)。得られた吸光度からラジカル消去率を以下の式より算出した (Fig. 4-4)。

$$\text{ラジカル消去率 (\%)} = 100 \times (1 - \text{sample/control})$$

4-3 結果および考察

古来よりラン藻を食する文化は、アジアやアフリカなど広く分布する。宇宙環境耐性が高いことで注目される HK-01 の栄養的評価が明らかにされれば、

人宇宙活動で具体的利用法を考えることができる。

食品中の水分含量をまず測定した。HK-01 の水分含量は、HK-01 乾燥藻体を 2.5 時間 100℃曝露後の乾燥藻体の重量から算出した。初期値 0.98 ± 0.07 mg の乾燥藻体の重量は、熱曝露後 0.92 ± 0.06 mg を示した (各 n=3)。藻体重量は、熱曝露前と比較して 94.5 ± 1.6 % となった。この結果から、HK-01 乾燥藻体中の水分含量は 5.5 ± 1.6 % と算出した (Table 4-1)。このとき、熱曝露を続けても有意に重量が低下しないことから 2.5 時間の熱曝露で十分に水分が除かれていることおよび、その後室温・室温湿度に静置すると重量が戻ったことから、熱曝露により低下した重量は水分であることを確認した。

Table 4-2 に、HK-01 の乾燥藻体 100 g あたりの C、H、N 量の分析結果を示す。N 量より窒素係数を乗じて算出された HK-01 のタンパク質量は、乾燥藻体 100 g あたり 52.9 ± 0.15 g となった (Table 4-1)。ラン藻は窒素固定能があるため、タンパク質含有率が高いと考えられる。食用ラン藻スピルリナには及ばないが、豚肉とダイスのタンパク質量がそれぞれ 21.5 g および 35.3 g であることと比較すると、高い値であることがわかる。タンパク質は、ヒトのエネルギー源だけでなく、筋肉や組織、骨などの身体器官や血液やリンパ液の体液、ホルモン、消化酵素など身体構成成分として重要な一次機能に含まれる栄養素である (吉田ら, 2013)。

同じく食品の一次機能に含まれる HK-01 の乾燥藻体 100 g あたりの脂質量は、 10.9 ± 0.7 g と算出された。この脂質量は、油を搾取するダイズ (19 g) と比べると少ないが、炒め物や揚げ物などの調理に利用する油脂も調達できる可能性があると考えられる (Table 4-1)。事実、藻類の油分は、エネルギー利用として

も注目されている（藻類バイオマス・エネルギーシステム研究拠点 HP）。

栄養成分分析における糖質は、一般的に食品全体から水分、タンパク質、脂質および灰分を除いた“差し引き法”が用いられ算出されている。本章は、栄養素の第三次機能となる抗酸化機能の検証と同時に分析を行ったことから、抽出成分中の糖質と残渣を分画して双方を足して測定した。灰分は非常に微量で用いた測定器の検出限界以下であったことから、ここで0.0 gとして差し引いた。HK-01の糖質量は、乾燥重量100 gあたり、抽出画分で 3.6 ± 0.8 g、残渣部で 8.5 ± 0.2 gとなり、HK-01乾燥重量100 gに対して 12.1 ± 1.0 g含まれると計算された（Table 4-1）。

ヒトは摂取される食品中のタンパク質、糖質および脂質を体内で燃焼させることで、生命維持に必要な熱量を確保するが、それらの全てを消化吸収することはできないことや体外へ排出される量を考慮する必要がある。Rubner と Atwater が行った研究から導き出されたエネルギー変換係数を用いると、体内において、1 gのタンパク質、糖質および脂質はそれぞれ4 kcal、4 kcal および9 kcalのエネルギーを供給することができる（Southgate and Durnin, 1970）。HK-01のタンパク質、糖質および脂質の栄養成分値からエネルギー量を算出すると、HK-01の乾燥藻体100 gから 358.1 ± 10.9 kcalのエネルギーを摂取できる。Table 4-1に、HK-01と食用ラン藻（中山, 1975; Yumoto *et al.*, 1988; Takenaka and Yamaguchi, 2010）および日本食品標準成分表（文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会, 2010）における米、小麦粉、鶏卵、豚肉、鰯および大豆の栄養成分値を示した。HK-01乾燥藻体100 gから得られたエネルギー値（ 358.1 ± 10.9 kcal）は、インクラゲの300 kcal やスイゼンジノリの298 kcal およびス

ピルリナ乾燥藻体 100g から得られるエネルギー値(406 kcal) と近い値を示す。

HK-01 のエネルギー値は、一般的な主食のエネルギー摂取源食品となるコメ(米) やコムギ(小麦粉) の 100 g あたりのエネルギー量それぞれ 356 および 368 kcal にも相当する。コメ 100 g の炊飯後のご飯量は、コメの量の約 2 倍の量に値することから、およそ 200 g で、ご飯茶碗 1 杯半程度となる。コムギ 100 g は一般的な大きさのバターロールパン 3 個分に相当することなどから、HK-01 は、十分にエネルギー源として利用できる食品として考えることができる。

HK-01 の有用性を示すエネルギー源となる要因の 1 つに、脂質 10% 以上であることが挙げられる。Table 4-1 に示すように、イシクラゲ、スイゼンジノリおよびスピルリナそれぞれ 100 g あたりの脂質量は、それぞれ、0.1、0.1 および 7.3 g で、HK-01 は、他の三種の食用ラン藻と比較しても、脂質量が多く、鶏卵(10.3 g) やダイズ(19 g) など脂質量が高い食品に近い含有量である(Table 4-1)。

脂質は、単位重量当たりのエネルギー量がタンパク質や糖質に比べて 2.25 倍高いことから、HK-01 の高い脂質量は、有人宇宙活動における食品として、効率的なエネルギー摂取源であることが期待できる。

次に、HK-01 の栄養素としての二次機能について、ヒトが 1 人 1 日に摂取可能な HK-01 藻体量を、食用ラン藻で用いられている調査から推測し、その摂取量に基づく献立を作り、実際に調理した。食品の二次機能は、いわゆるヒトの嗜好に関わる機能で、見た目や美しさを含む。これらを考察するために、まず、過去の食用ラン藻の利用から、菓子類を含む食品の使用量を予測した。

Delpeuch ら(1975) は、水棲ラン藻スピルリナを多く食用としているアフリカチャド湖付近の住民の摂取量を調査し、1 人 1 日 6~7 g のスピルリナをマメ

ソースに混ぜて摂取する、あるいは 10~13 g をスピルリナソースとして摂取し、最大摂取量は乾燥重量で 26 g であると報告している。スピルリナを嗜好的に受け入れているメキシコの子供は、1 日藻体生重量で 40 から 50 g (乾燥重量に換算すると約 4 g) をアイスクリームやチョコレートに添加して食していると報告している。一方、Fukunaga ら (1991) は、スピルリナ粉末をクッキーやホットケーキに添加して食味評価を行った結果、材料の小麦粉重量の 3% をスピルリナに置き換えるまで受け入れ可能であると報告している。日本人 20 名を対象として調査した場合は、他国と異なり、クッキーやホットケーキ 1 食分のスピルリナ量は 0.3 から 0.8 g が適量と計算している (Fukunaga *et al.*, 1991)。日本人を対象とした官能評価から、スピルリナは水棲ラン藻で、多量に利用することは、匂いに関して課題が残ると報告している (Fukunaga *et al.*, 1991)。支倉ら (1985b) は、江戸時代から福岡県甘木市に伝わるスイゼンジノリ料理を再現している。本研究では、その料理の写真 (Fig. 4-5, 資料より引用) を元に、各料理のスイゼンジノリ使用量を管理栄養士の視点で検証した。調理用語として、“戻す”がある。これは、乾燥シイタケや乾燥状態の藻類などを、水に浸し柔らかくし、調理しやすくする操作を示す用語で、加水すると操作の視点から同意語である。Table 4-3 にスイゼンジノリを戻した場合の、乾燥重量と加水後の重量を示す。Table 4-3 に示すようにスイゼンジノリ乾燥藻体の戻しによる重量増加量は、戻しにより約 10 倍の重量となることを確認した。この結果と、先の資料中の献立の写真 (Fig. 4-5) から、スイゼンジノリの利用法は、主食のご飯から主菜・副菜にあたる料理や菓子も含め多岐にわたるが、いずれの料理においても乾燥重量で 0.5~2.0 g と推測された。この量は、スピルリナにおけるメ

キシコと日本における調査の中間量にあたる。1食の献立の中に複数の料理にスイゼンジノリを使用することも可能で、1食当たりの使用量を乾燥重量で5g程度とし、1日3食で摂取できるラン藻の量はおよそ15~20gと設定して、6種類の料理を提案し、HK-01の利用を想定した調理例として、食品分析表の中に食品として認められているスイゼンジノリを、HK-01の代替えとして試作した。食品分析表に記載されていない食材は、食品として認められないことから、HK-01を調理することは、現在まだできない。6種類の料理は、①主食にラン藻を混ぜる、②汁物の具にする、③ラン藻を主材料とする、に分類し行った。主要食材と調理法は、Fig. 4-6からFig.4-11に試作した料理の写真と共に示す。調理された写真は、明らかに普段食している献立料理と著しい違いはなく、原料のスイゼンジノリの写真と比較しても、よりと献立として食することに違和感がないと考えられる。Fig. 4-12に1食の献立として組み合わせた食事例を示す。この場合、利用した乾燥ラン藻量は12.6gとなった。どのようなラン藻食材も、調理の仕方で、二次機能を得られると考えられる。すなわち、HK-01も調理することで、食品としての二次機能を評価することが可能であることを、スイゼンジノリを代替え食材として示すことができた。

次に、食品の三次機能に含まれる、HK-01の抗酸化機能を調べた。HK-01の乾燥藻体100 μ gを、液体培地で培養した後の抗酸化活性を調べたところ、Table 4-4に示すように、連続光照射14日で、約15%の抗酸化活性を有することが明らかになった。1日当たりの光照射量が半分になった場合、その機能は半減することから、人工に培養する場合は、連続光照射がHK-01の抗酸化機能を得るのに、より効果的であることがわかる。

本章は、HK-01 の食品としての一次機能、二次機能および三次機能の全てをはじめて具体的に評価した。また、想定できる調理例を示した。本章の結果を利用することで、今後、より具体的に宇宙環境で HK-01 を食品として利用することが可能となる。

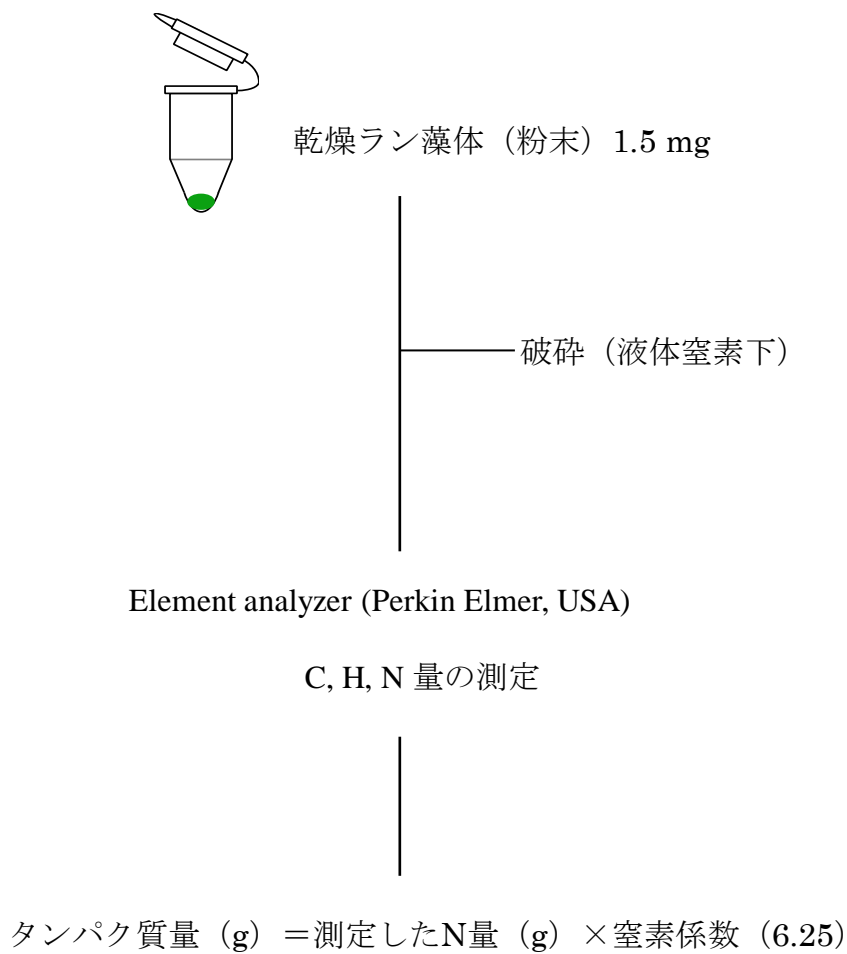


Fig. 4-1 陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 のタンパク質の定量法.

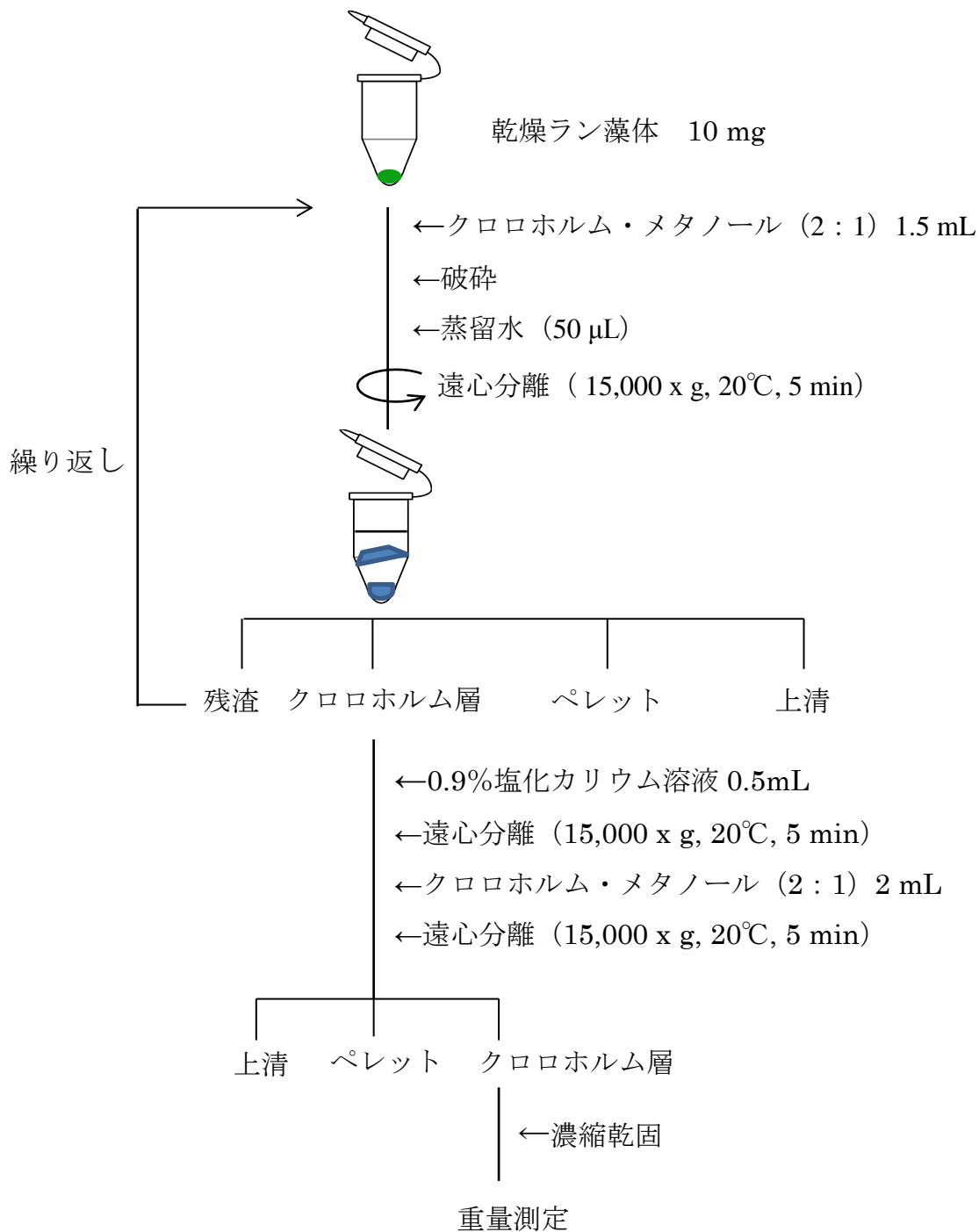
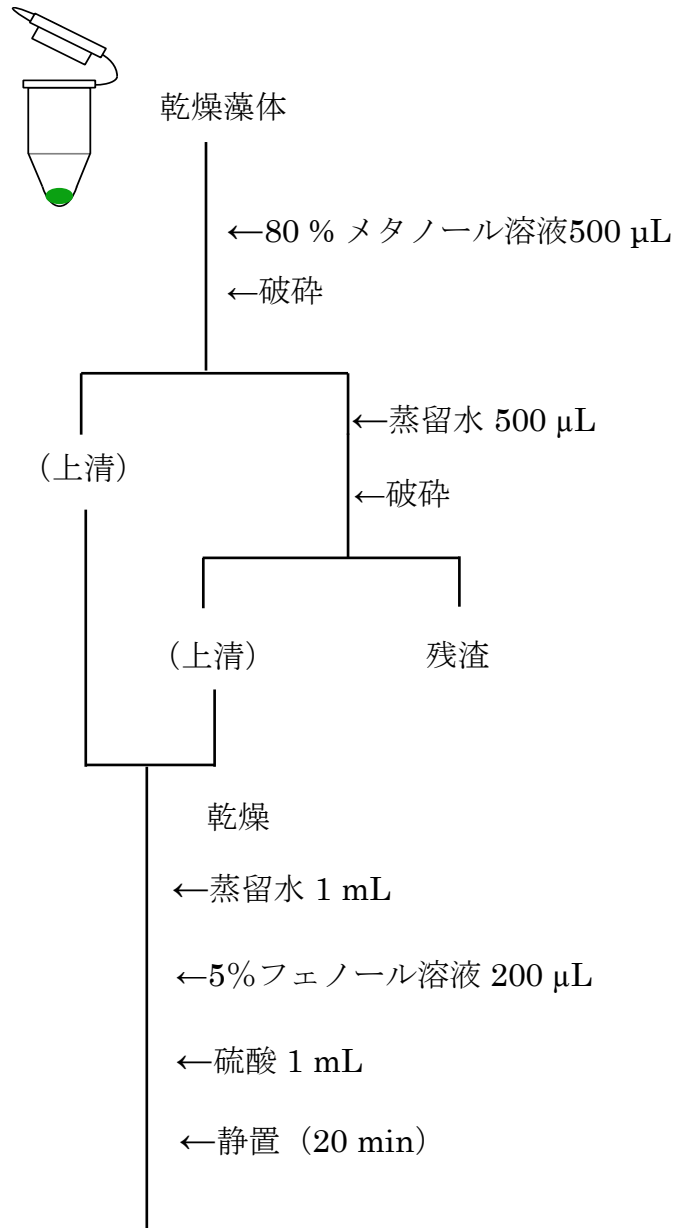


Fig. 4-2 陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の脂質の定量法 (Folch法の変法) .



490 nmにおける吸光度測定

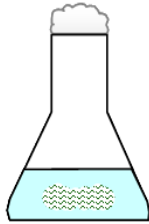
Fig. 4-3 陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の糖質の定量法 (フェノール硫酸法) .



乾燥ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 乾燥藻体100 μg

←蒸留水 500 μL

←1日静置



液体培地 BG-11 を 30 mL 添加した
50 mL 容量三角フラスコに移す

←振とう培養(14日)

L/D=24/0, 12/12 ($34.72 \pm 2.55 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
240 rpm, $26 \pm 2^\circ\text{C}$

測定試料 (上清100 μL)

←200 μM DPPH (2- 2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) 100 μl

←攪拌

←静置 (15 min)

← λ 517 nm を計測 (分光光度計)

ラジカル消去率を算出

$$\text{ラジカル消去率 (\%)} = 100 \times (1 - \text{sample/control})$$

Fig. 4-4 陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 培養後培地のラジカル消去率の測定方法.

Table 4-1 ラン藻および食品100 gあたりの栄養成分値.

ラン藻および食品	エネルギー (kcal)	水分 (g)	タンパク質 (g)	脂質 (g)	糖質 (g)
<i>Nostoc</i> sp. HK-01 (乾燥)	358.1 ± 10.9	5.5 ± 1.6	52.9 ± 0.15	10.9 ± 0.7	12.1 ± 1.0
<i>Nostoc commune</i> ¹⁾ (イシクラゲ, 乾燥)	300	16.6	19.6	0.1	55.2
<i>Aphanothece sacrum</i> ²⁾ (スイゼンジノリ, 乾燥)	298	11.5	21.8	0.1	52.4
<i>Spirulina platensis</i> ³⁾ (スピルリナ, 乾燥)	406	3.6	72.6	7.3	12.4
米	356	15.5	6.1	0.9	77.1
小麦粉	368	14.0	8.0	1.7	75.9
鶏卵(生)	151	76.1	12.3	10.3	0.3
豚肉(生)	148	71.2	21.5	6.0	0.2
鱈(生)	121	74.4	20.7	3.5	0.1
大豆(乾燥)	417	12.5	35.3	19	28.2

1) Yumoto *et al.*, (1988) *Gifu Women's University Kiyou*, **18**, 63-67.


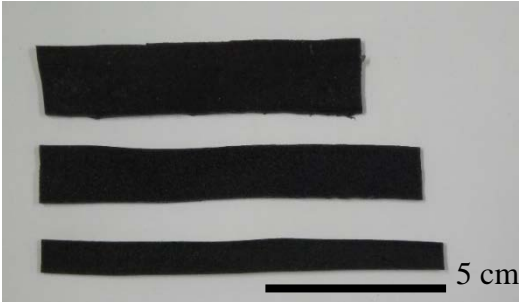
2) Takenaka and Yamaguchi, (2010) *New Food Industry*, **52**, 28-34.

3) 中山, (1975) *New Food Industry*, **17**, 7-12.

Table 4-2 *Nostoc* sp. HK-01乾燥藻体のC:H:N比 (%) .

	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Ave.	SD	SE
%						
C	25.38	25.12	25.18	25.23	0.14	0.08
H	4.17	4.06	4.00	4.08	0.09	0.05
N	8.45	8.51	8.43	8.46	0.04	0.02

Table 4-3 乾燥スイゼンジノリと加水後（戻した後）の重量と大きさの変化.

戻す前後（加水）					
戻す前（乾燥）			戻した後（加水後）		
					
重量 (g)	長さ（縦×横） (cm)	面積 (cm ²)	重量 (g)	長さ（縦×横） (cm)	面積 (cm ²)
0.380	1.9×8.1	15.39	3.887	2.0×9.1	18.2
0.310	1.5×9.5	14.25	3.405	1.6×10.5	16.8
0.239	0.7×10.3	7.21	2.237	0.8×11.2	8.96
平均値±SE					
0.310 ± 0.041		12.28 ± 2.56	3.176 ± 0.490		14.65 ± 2.88



ラン藻混ぜご飯 1人分

《材 料》

コメ（米） 100 g

乾燥ラン藻 1 g

酒、塩

《調理法》

1. 米を炊き、酒、塩で調味する。
2. 水戻しの乾燥ラン藻をせん切りし、ご飯に混ぜる。

Fig. 4-6 ラン藻を用いた調理例（1）.



炒めビーフン 1人分

《材 料》

ビーフン	100 g
乾燥ラン藻	2 g
エビ	30 g
小松菜	50 g
ニンジン	10 g
油	8 g
塩、コショウ	

《調理法》

1. 鍋に油を入れ、野菜、エビ、ビーフンを炒める。
2. 水戻しのラン藻を加え、コショウで調味する。

Fig. 4-7 ラン藻を用いた調理例 (2) .



ラン藻の吸物 1人分

《材 料》

ダシ汁 150 g

乾燥ラン藻 6 g

麩 (2個) 1 g

塩、醤油、酒

《調理法》

1. ダシをとり、塩、醤油、酒で調味する。
2. 水戻しの乾燥ラン藻と麩を入れる。

Fig. 4-8 ラン藻を用いた調理例 (3) .



ラン藻スープ 1人分

《材 料》

中華ダシ汁	150	g
乾燥ラン藻	1	g
ネギ	5	g
ゴマ	0.3	g

塩、コショウ

《調理法》

1. 中華だしをとり、乾燥ラン藻、ネギ、ゴマを加える。
2. 塩、コショウで調味する。

Fig. 4-9 ラン藻を用いた調理例 (4) .



ラン藻の酢の物 1人分

《材 料》

乾燥ラン藻 5g

三杯酢（酢、砂糖、醤油）

《調理法》

水戻しの乾燥ラン藻をせん切りし、三杯酢に漬ける。

Fig. 4-10 ラン藻を用いた調理例（5）.



野菜サラダ 1人分

《材 料》

レタス 20 g

キャベツ 60 g

パプリカ 10 g

乾燥ラン藻 1 g

ドレッシング (酢、油、塩、コショウ)

《調理法》

1. 野菜を切る。
2. 水戻しの乾燥ラン藻をせん切りして加え、ドレッシングをかける。

Fig. 4-11 ラン藻を用いた調理例 (6) .



1食当たりスエイゼンジノリ摂取量
乾燥重量で12.6g

Fig. 4-12 ラン藻を用いた食事例.

Table 4-4 陸棲ラン藻*Nostoc* sp. HK-01培養後培地のラジカル消去率の測定結果.

	24 L*	12 L/12 D**
Scavenging activity (%)	14.7 ± 8.5	5.8 ± 1.1

* Continuous a day light condition.

**12 hours a day light condition.

総合考察

総合考察

本論文は、高温・真空や紫外線および重粒子線など各種宇宙環境耐性を有することが明らかにされている光合成微生物陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の、有人宇宙活動における食資源としての利用の可能性を実験検証した。まず、火星模擬レゴリスを用いた長期保存後の生存能および液体と固形培地を用いたラン藻種としての増殖能を検討した。次に、食品機能（一次機能、二次機能および三次機能）について、調理例を示しながら検証した。

HK-01 の乾燥藻体は、その宇宙環境耐性が高く評価され、現在 ISS の外部曝露実験が施行されているが（たんぽぽ計画ホームページ; Yamagishi *et al.*, 2008）、将来の食資源として期待されているにもかかわらず、具体的評価はまだ何らされてきていない。

第 1 章は緒論として、人類が長期間宇宙環境に滞在するうえで食料の確保が実に重大な課題であるが、地球からの物資輸送には限界があることから、有人宇宙活動を行う場では、自給自足による食料供給が必須であることを論じた。火星を想定した農業構想において、光合成微生物のラン藻類が火星での物質循環の初期導入生物種候補として陸棲ラン藻 HK-01 が期待され、火星において栽培可能な生物資源として有効性が明らかになりつつあることを述べた。地球からの食料輸送負担軽減のためには、HK-01 の食料化が有効である。ラン藻類は古くから歴史的に食用として利用され、その栄養的価値や生理機能から、HK-01 の食料としての可能性を検証すべき課題（Table 1-2）として論じた。

第 2 章では、火星において食料として長期的に栽培可能かを明らかにするた

めに、レゴリス上での長期生存増殖の可能性を検証した。Arai ら (2008, 2009) の研究において、ラン藻に適した成分を含む MDM 培地を含まない MRS 上の HK-01 の 8 年後の生存と増殖機能が、FDA 染色法と固形培地を用いた増殖により確認された。藻塊の一部を取り出し加水して FDA 染色によるエステラーゼ活性を観察したところ、緑色蛍光を発する細胞を複数確認した。また、その増殖機能も確認した。HK-01 は、火星模擬レゴリス上で 8 年の乾燥状態においても生存増殖することが実験室レベルで初めて明らかになった。HK-01 は、火星レゴリスにおいても栽培可能であることを示唆した。

第 3 章では、HK-01 を含む 6 種のラン藻類における増殖能を BG-11 の液体培地と固形（寒天）培地を用いて比較した。HK-01 の増殖能は、液体培地および固形培地において、他の 5 種のラン藻に比べて高いことがわかった。とりわけ液体培地で HK-01 を培養した場合の藻体の体積は、培養開始後 14 日で栽培初期時のおよそ 7 倍に増加した。これを 1 日当たりの増殖率に換算すると 15 % と算出され、その増殖能の高さを明らかにした。

第 4 章では、陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の食品の一次機能とされる栄養的価値を検証するために、ヒトの三大栄養素であるタンパク質、脂質および糖質量を調べた。HK-01 の乾燥藻体 100 g 中における一次機能によるエネルギーは、358 kcal と本ラン藻株ではじめて算出された (Table 4-1)。この結果から、HK-01 はエネルギー源となり、タンパク質と脂質も多く含むことを確認し、栄養的価値が極めて高いことを示した。さらに、1 人 1 日当たりの HK-01 の摂取量を乾燥藻体で 20 g と想定し、ラン藻を摂取するための献立を検討したところ、1 日にラン藻乾燥藻体 20 g は十分摂取可能であると考えられた。提案した献立は、見

た目に違和感がなく食品の二次機能を備えていると考えられた。また、HK-01が抗酸化機能を備えていることを、実験的に証明した。これらのことから、HK-01の食資源としての利用の可能性が高いことを明らかにした。

第2章・第3章および第4章で、陸棲ラン藻HK-01は、栄養的にも優れ、火星のような宇宙環境においても長期間栽培が可能であることを示した。宇宙環境における初期導入生物としてだけでなく、食資源としての有用性が極めて高いラン藻であることをはじめて具体的に明らかにした。

一般に、タンパク質源とされる食品は、動物性食品の肉・魚、卵や植物性食品のダイズなどが挙げられる。肉は20%、魚は12%、卵および乾燥ダイズは35%のタンパク質量を含んでいる（文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会, 2010）。これらの食品のタンパク質量と比較しても、HK-01のタンパク質量は多いことから、タンパク質源の食品とすることができると考えられる。水棲ラン藻スピルリナもタンパク質含量が70%以上である（中山ら, 1975）。スピルリナは、一般にもサプリメントとして利用されており、NASAが提案する宇宙食の有力候補である（Pinero Estrada *et al.*, 2001; Ozdemir *et al.*, 2004; Deo *et al.*, 2014）。しかしスピルリナは水棲ラン藻で、大量に栽培するのに大量の水を必要とする。火星のような過酷な宇宙環境でスピルリナを栽培するには水の使用量に制限があることから、栽培は不可能に近いと考えられる。これに対して、陸棲ラン藻HK-01は、宇宙環境で想定される真空、乾燥、高温、紫外線、ガンマ線および重粒子線における耐性がすでに証明されており（Arai *et al.*, 2008; Tomita-Yokotani *et al.*, 2013; Kimura *et al.*, 2014, 2015）、大量栽培する場合でも必

要とする水は水棲ラン藻と比較して少量で済むと予測される。宇宙環境の場で利用できる可能性は高い。

第4章の (Table 4-1) に示す結果から、HK-01 は宇宙環境におけるタンパク質源として期待できる。ヒトの体内で合成できない必須アミノ酸は9種類あり、これらは食品から摂取する必要がある (吉田ら, 2013)。このような食品のアミノ酸組成の質を評価する指標として、アミノ酸スコアがある。必須アミノ酸がすべて WHO/FAO 基準以上含まれていればアミノ酸スコアは 100 となる。動物性食品はアミノ酸スコアが 100 となる場合が多いが、植物性食品はリシンや含硫アミノ酸のメチオニンとシスチンが不足し、アミノ酸スコアが低くなる傾向にあることから、植物性と動物性食品を組み合わせることで解決している。Becker (1994) は、ラン藻のスピルリナやスイゼンジノリ、耐塩性微細緑藻類のデュナリナ (*Dunaliella.bardawil*) のアミノ酸含量を分析し、食品のアミノ酸含量と比較したところ、微小藻類のアミノ酸組成は、含硫アミノ酸を制限アミノ酸とする植物性タンパク質のアミノ酸パターンに類似しているが、WHO/FAO 基準値はいずれのアミノ酸も満たすことを報告している。この結果は、山田 (1972)、Fukunaga ら (1991) のスピルリナ粉末のアミノ酸分析結果とも一致していることから、ラン藻類のアミノ酸組成は、ヒトの必須アミノ酸組成を満たすと予測される。HK-01 も詳細な分析はまだなされていないが、極めて多量の遊離アミノ酸が、HK-01 の藻体抽出物から分析されたことが報告されている (Tomita-Yokotani, *et al.*, 2012)。彼らは、HK-01 に微量の毒性が示されたことを未報告として検証している。HK-01 の遺伝子解析は、現在進行中であるが、毒素生産に関わる代謝を操作することで、食品としての安全性を払

拭できることが期待される。

第2章・Table 2-1 に火星レゴリスの成分を示したが、レゴリス中には、ヒトが生きていくために必要な無機質が多く含まれる。体内の水分調節にかかわるナトリウムとカリウムや骨の形成に必要なカルシウムやマグネシウムおよび血液成分となる鉄である。火星のレゴリス (100 g) は、カルシウム (Ca)、マグネシウム (Mg) および鉄 (Fe) を、それぞれ 5.8、6.0 および 18 g 含む。日本食品標準成分表 (文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会, 2010) によれば、食品 100 g においてカルシウム (Ca) が最も多い食品は、かたくちいわし (煮干し) の 2.5 g で、マグネシウム (Mg) が最も多い食品は、ゴマ (乾燥) の 370 mg、鉄 (Fe) が最も多い食品は、ひじき (乾燥) 55 mg である。これら食品と比較してもレゴリス 100 g 当たりの無機質は極めて高く、ヒトの栄養として循環され利用できる可能性を強く示唆する。火星のレゴリスをヒトが何等かの方法で吸収できる形で摂取することができれば、少量で簡便に無機質を得ることができると考えられる。Vermeer ら (1979) は、アフリカやアメリカ南部の熱帯地域において、土壌を食べる習慣があると述べている。Abrahams ら (1996) も、アフリカ熱帯地域を中心とした貧困層に土壌を食べる習慣があり、特に鉄の補給を目的に土壌を食べていると報告している。しかし実際に普段の食生活の中で、土壌を食べることは難しい。第2章で、HK-01 は火星模擬レゴリスから無機成分を得ている可能性が示唆されたことは、ヒトが火星レゴリスを HK-01 の藻体を介して得られる可能性があることを強く示唆する。ヒトが HK-01 を食材として、第4章で示したような、多様な献立を作成し調理し摂取することで、直接レゴリスの無機質を食べるよりも容易に躊躇することなく

摂取することが可能になると考えられる。

人間が健康の維持増進のために必要な栄養量は、年齢、性別、体格、身体活動状況、疾病の有無により異なる。各国や保健機関では、個人や集団における健康の維持増進のための栄養素摂取基準量を設けている。総合考察 Table 1 に、「現在の日本での栄養素摂取基準量である」「日本人の食事摂取基準（2015 年度版）」策定検討会報告書（厚生労働省 HP）から、成人対象の 1 人 1 日あたりのエネルギーおよび主要栄養素摂取基準量を示した。1 日の栄養量を HK-01 のみで充足すると仮定した場合、エネルギー量では乾燥藻体で 1 日 550～700 g、タンパク質量では 90～150 g の摂取が必要となる。ラン藻単独での栄養的充足は難しく、ほかの食品と組み合わせを行うことで効率よい栄養素摂取が可能と考える。また、食べることの二次機能である美味しさや嗜好などを満足させ、人間の心理的側面を充実させるためにも、食事として複数の食品との組み合わせで変化をつけることが重要で、実際にスイゼンジノリを HK-01 の代替えとして調理した第 4 章に示した献立は、見た目にも十分受け入れられると考えられる。

食用ラン藻の摂取量から、1 日に摂取可能な *Nostoc* sp. HK-01 の量は、乾燥藻体で約 20 g と推定した。*Nostoc* sp. HK-01 乾燥藻体 20 g からは、エネルギー約 70 kcal、タンパク質 10.6 g、脂質 2.2 g を摂取することができる。タンパク質量は、卵では 100 g（2 個分）、肉・魚類では 50 g に相当し、これら食品の 1 食あたりの主菜の使用量である。

ヒトは、食品を摂取するために調理を行うが、調理法には、生食加熱調理と

して、煮る（煮込む）、炊く、蒸すなどの湿式加熱、焼く、炒める、揚げるなどの乾式加熱がある。食品は調理により、二次機能であるおいしさや見た目の良さなどの嗜好を高めることができる。*Nostoc* sp. HK-01 の調理方法について、他の食用ラン藻の調理例をもとに検討した。

水棲ラン藻スピルリナは、アフリカチャド湖付近において“*Dihe*”として食用され、主食である雑穀につける濃厚スープあるいはソースとして調理していたとの報告がある（*Delpeuch et al.*, 1975）。また、*Sautier* ら（1976）は、フランスにおいてスピルリナを病院食に採用する試みがなされ、オムレツなど伝統的なフランス料理にスピルリナを使用したが、フランス人には嗜好的にスピルリナは受け入れられなかったと報告している。

水棲ラン藻スイゼンジノリについては、*支倉*ら（1985ab）がスイゼンジノリの伝統料理をもとにした現代料理への活かし方を報告している。スイゼンジノリは、塩漬けた真緑の生ノリ（商品名：川茸）と乾燥したノリ（商品名：寿泉苔）の状態で用いられる。伝統料理では、混ぜ飯やすし、吸物や茶わん蒸しの具、和え物、刺身のつま、酢の物、煮物などに幅広く利用されている。また、ようかん、砂糖漬けなどの郷土菓子にも利用されている。一方、現代料理への活かし方では、和風料理にとらわれず、洋風のソースやサラダ、ムース、テリーヌ、中華の炒め物や冷製の具への応用など利用が可能であることを示した。そして、スイゼンジノリは、天然の色と歯触りなどの食感の良さが食材の好ましさを引き出し、調理によりその特性が変化することを官能評価により明らかにした。スイゼンジノリは種々の調理方法に対して汎用性が高い食材であると報告している。

陸棲ラン藻イシクラゲは、世界各地の裸地表面に生育するが、日本においても広く分布し、古くから食用とされてきた。とくに滋賀県では「姉川くらげ」と呼ばれ保存食として利用された (Yumoto *et al.*, 1988)。加水し戻してゆで、酢の物などに利用されている。イシクラゲの食品としての調理科学的特性では、Ishibashi ら (1994) が、吸水性が海藻類やスイゼンジノリよりも高いこと、加熱により色や粘度が変化することを報告している。

ハッサイ (髪菜) (*Nostoc flagelliforme*) は、中国の宮廷料理の高級食材として水に浸漬後、脱色して炒めもの (髪菜牡蛎) や蒸しもの (佛跳牆) などの料理に使用した (南, 2000)。中国人やカルフォルニア、ハワイの中国移民は、髪菜をスープに加えるという報告もある (Gao, 1998)。

食用ラン藻は、主食および副食 (主菜・副菜)、菓子など多岐にわたる料理に利用されている。少量でも料理の色あいや食感に変化がつけられ、料理の種類を豊富にしている。陸棲ラン藻 *Nostoc sp.* HK-01 を食材として利用した場合も、種々の調理方法に対応が可能であると考えられる。

宇宙環境での利用を想定すると、食材や調理法は地球上よりも著しく限定されることは明らかである。簡便で短時間で調理可能な調理法や生食あるいは加熱調理の、ゆでる、炒める、焼くなど、実行しやすい調理法が求められる。

HK-01 の利用を想定した料理例として、第 4 章で 6 種類の料理を提案し、試作を行った。試作にあたり、食品分析表の中に食品として認められているスイゼンジノリを、HK-01 の代替えとして利用した、スイゼンジノリを利用するに先立ち、料理に対するラン藻の適正量を検討した。スイゼンジノリは乾燥品と

塩蔵品を用いた。6種類の料理について、①主食にラン藻を混ぜる、②汁物の具にする、③ラン藻を主材料とする、に分類し、主要食材と調理法がを検討した。その具体的調理法から、①の主食のご飯や麺にラン藻を混ぜる《混ぜご飯》は、ISSですでに宇宙実験がなされている、ティラピアやレタスなどの食材を加え、すし飯や炊き込みご飯、あるいはピラフに変化させることも可能である（竹内・遠藤, 2008; 遠藤・竹内, 2013; NASA, 2015）。《炒めビーフン》は、ビーフンを小麦粉原料の麺である中華麺やうどん、あるいはパスタに変えて、焼きそば、焼きうどん、あるいはスパゲッティにすることも可能である。また麺を使わずに材料のみを炒めることで主菜の野菜炒めとなる。②の汁物の具にする料理は、だし汁を変えるだけで、和風、洋風あるいは中華風に変えることは容易である。③の、ラン藻が主材料となる料理も、先のティラピアや、Katayamaら（2008）が提案している昆虫食材のカイコを加えることや、調味料を変えることで、あえ物やマリネなどの料理ができるなど、多くのバリエーションが期待できる。野菜サラダのドレッシングにラン藻を加えて、食感を変化させることも可能であると考えられる。これら料理の組み合わせを考え、1食分の食事献立例とラン藻の摂取量を算出すると、以下のようになる。

1) 米飯を主食とする一汁三菜

- ・混ぜご飯（主食）
- ・主菜（特にラン藻を含まなくてもよい）
- ・ラン藻の酢の物（副菜1）
- ・ラン藻サラダ（副菜2）

- ・ラン藻の吸い物（汁物）

ラン藻の総使用量：13 g

2) 主菜にラン藻を用いた一汁三菜

- ・混ぜご飯（主食）
- ・ラン藻入り野菜炒め（主菜）ビーフンでの野菜量の2倍量を使用
- ・副菜（特にラン藻を含まなくてもよい）
- ・ラン藻の中華スープ（汁物）

ラン藻の総使用量：6 g

3) 主食主菜兼用の麺類に、副菜・汁物

- ・ビーフン（主食・主菜兼用）
- ・野菜を補ったラン藻の酢の物（副菜）
- ・ラン藻の中華スープ

ラン藻の総使用量：9 g

この他にも、多様な組み合わせが可能であるが、1食当たり5~10g、1日当たり20gのラン藻を摂取することは可能であることを示すことができた。

本研究で利用した材料の全てにおいて、宇宙環境で作出可能かどうかの検証は、まだなされていない。例えば、酢や醤油などの調味料や、野菜の種類など、今後、管理栄養士の指導と共に、調理例を添えて開発していくことを期待する。

HK-01が、食品としてタンパク質や脂質を多く含み、十分にエネルギー源となることを確認したが、有人宇宙活動における火星を想定した農業において、

限られた耕地で栽培することを想定すると、HK-01 の栽培効率の評価が課題として残される。小規模培養から大規模培養を行う場合、培養条件を改めて検討する必要はあるが、総合考察 Fig. 1 に示すように、50 mL 三角フラスコに液体培地 (BG-11 培地) 30 mL を入れ、HK-01 乾燥藻体 2.5 mg 接種すると、第 3 章の結果より、培養開始 14 日で、約 7 倍の 17.5 mg に増殖すると算出される。このフラスコ 1 個当りが占める体積は 360 cm^3 ($6 \times 6 \times 10 \text{ cm}$) で、HK-01 乾燥藻体 17.5 mg を栽培するために 360 cm^3 の空間が必要と計算される。改めて大規模培養を行うことなく、同様のスケールで HK-01 乾燥藻体 100 g を栽培すると、図のようにフラスコを縦横に並べると、計算上 2.05 m^3 の空間が必要となる。これは底面の面積にすると 20.5 m^2 で、4.5 m 四方の栽培面積になる。HK-01 の栽培面積にて、タンパク質は 52.9 g、エネルギーは 358 kcal を得ることができる。

Yamashita ら (2009) は、宇宙農業構想においてコメ、コムギ、ダイズ、ソバ、キヌア、ジャガイモ、サツマイモおよびキャッサバについて、食品の年間栽培量と栽培面積から、エネルギーとタンパク質必要量当たりの栽培面積を試算し、主要作物種として栽培効率のよいコメ、ダイズおよびサツマイモを選択している。同試算方法を用いて、HK-01 のエネルギーとタンパク質必要量当たりの栽培面積を算出し、総合考察 Table 2 に、山下らが試算した作物の数値とともに比較して示した。エネルギー量 2000 kcal、タンパク質 60 g は、日本における成人 1 人 1 日あたりエネルギーおよびタンパク質摂取量に相当する (菱田・佐々木, 2015)。HK-01 は、栽培期間は短いですが、収穫量が食品に比べて極めて少ないため、エネルギー栽培所要面積は示された作物に及ばない。一方、タンパク質栽培所要面積で比べると、ダイズやコメよりは栽培面積が必要であるが、コム

ギやソバに比べて栽培面積が少ないことが示された。タンパク質源としての栽培効率は可能な値である。HK-01 と作物では栽培方法が異なるため、直接的に比較するにはさらに検討が必要であるが、ラン藻は栽培時期の制約もなく、比較的安定して収穫することが可能であることや農作物が自然条件の変化で栽培が困難な場合でもラン藻は栽培可能であるため食料の供給の上、有用な要素となる。

以上のように、本研究で、陸棲ラン藻 HK-01 が、総合考察 Table 3 に示すように、火星レゴリス上における長期生育が可能で、食資源としての有用性を備えていることを明らかにした。陸棲ラン藻 HK-01 の食資源として有効性が確立すれば、地球上での利用も可能である。極地などの過酷な条件下あるいは農業不適地で生育可能な HK-01 を利用することで、地球規模での食糧問題に対しても貢献できる。

HK-01 の食品の栄養機能と調理例を含めた有人宇宙活動における火星導入生物としての具体的有用性を初めてここに示した。極めて過酷な環境で、高い耐性が示されている陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の食料化が実現されれば、今後予想される地球規模の食糧問題に対して有効な対策ともなり得る。陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 は、過酷環境における食資源として極めて期待できる。

Table 1 成人1人1日あたりの栄養摂取基準量.

	エネルギー (kcal)	タンパク質 (g)	脂質 (g)	糖質 (g)	カルシウム (mg)	鉄 (mg)	ビタミンA (μ gRE)	ビタミンB ₁ (mg)	ビタミンB ₂ (mg)	ビタミンC (mg)
日本人成人男子(30~49歳) 1日の栄養摂取基準量	2650	60.0	65.0	350.0	650	7.5	850	1.4	1.6	100
日本人成人女子(30~49歳) 1日の栄養摂取基準量	2000	50.0	50.0	270.0	650	11	700	1.1	1.2	100

(厚生労働省 HPから引用)

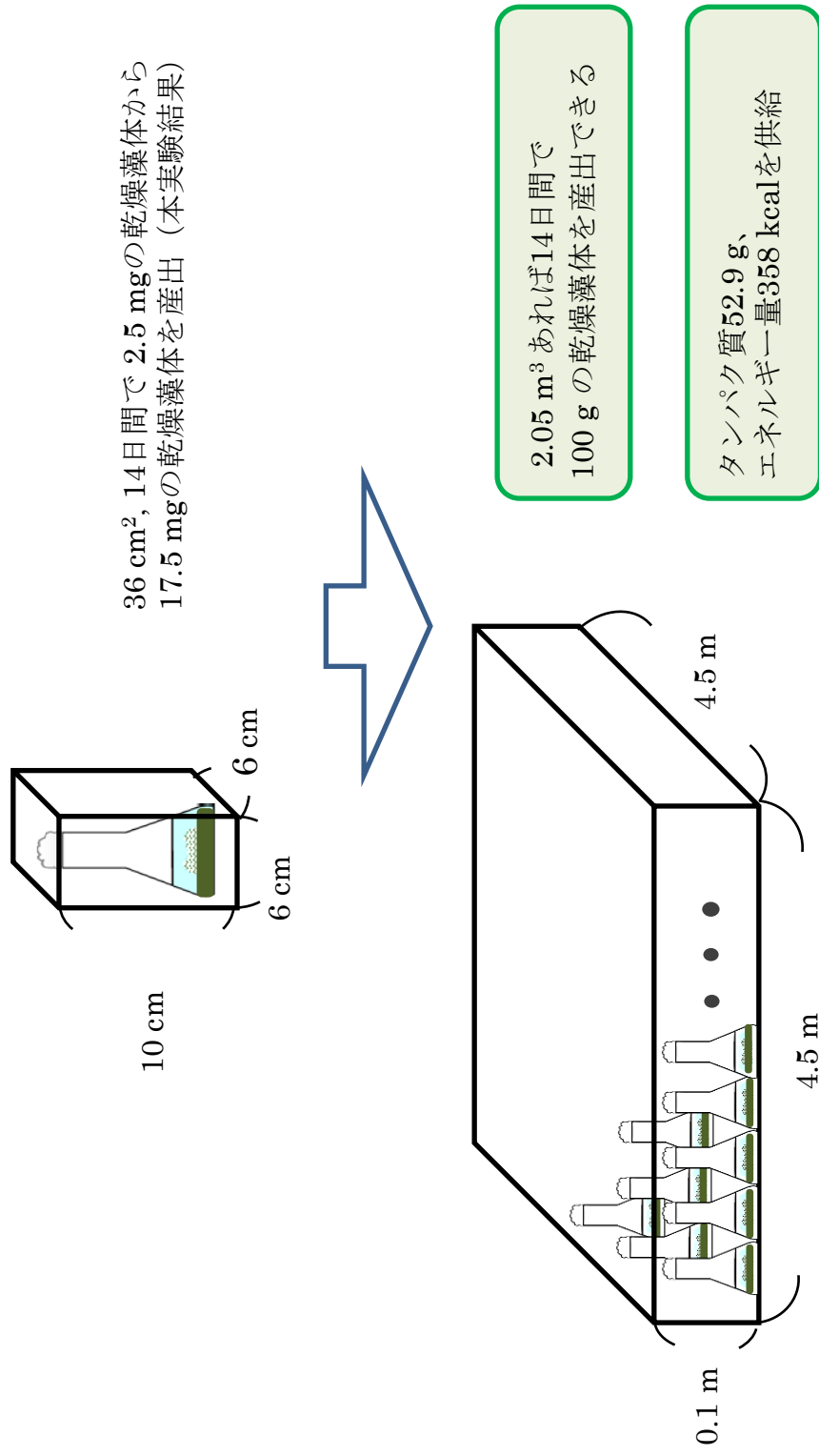


Fig. 1 陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01乾燥藻体100 g当たりの栽培面積の試算.

Table 2 陸棲ラン藻*Nostoc* sp. HK-01と食品の栽培所要面積の比較.

	播種・収穫 (month)	収穫量 (kg/1000 m ²)	タンパク質含量 (g/100 g)	タンパク質 栽培所要面積 (m ² /60 g pro./day)	エネルギー含量 (kcal/100 g)	エネルギー 栽培所要面積 (m ² /2,000 kcal/day)
<i>Nostoc</i> sp. HK-01	0.5	5	52.9	345	358	1,699
米	4	526	6.8	204	356	130
小麦	7	280	10.6	430	337	451
大豆	3.5	367	35.3	49	417	139
そば	2.5	106	12.0	359	364	394
キノア	3	178	13.4	230	403	254
じゃがいも	3	3,000	1.6	114	76	80
さつまいも	5	3,180	0.9	319	150	64
キャッサバ	11	7,000	1.4	205	160	60

Table 3 *Nostoc* sp. HK-01 を火星における食資源として導入するために達成されるべき課題（工学的技術を除く）.

課題項目	達成状況
火星レゴリスの土壌化	可能性証明（新井, 2008）
火星レゴリス上における長期生存 他の陸棲ラン藻との増殖能の比較	第2章で8年まで証明 第3章でHK-01が増殖能が高いことを証明
食資源としての利用評価 食品の機能評価 一次機能 二次機能 三次機能	第4章で証明
安全性	微量の毒性（遺伝子操作の期待）総合考察

本研究で達成

謝辞

本研究を遂行するにあたり、筑波大学大学院 生命環境科学研究科 佐藤誠吾教授より始終適切な御指導と御鞭撻を賜りました。ここに謹んで感謝申し上げます。また本稿をまとめるにあたり、筑波大学大学院 生命環境科学研究科 市川創作教授、並びに吉田滋樹准教授には貴重な御助言を頂きました。ここに深く感謝の意を表します。

本研究の遂行及び本稿をまとめるにあたり、終始適切な御指導と御助言を頂きました筑波大学大学院 生命環境科学研究科 富田-横谷香織講師に深く感謝申し上げます。

火星模擬レゴリスの調整や情報に関して、多大なご助言を賜りました、日本科学未来館 新井真由美博士、並びに独立行政法人宇宙航空開発機構 山下雅道名誉教授に心より感謝申し上げます。ラン藻株をご提供くださり、多くの貴重なご助言を賜りました、東京大学 大森正之名誉教授、並びに、三重大学 加藤浩博士に心より感謝申し上げます。

社会人博士として本稿をまとめるにあたり、東京電機大学 安部智子博士、富田-横谷研究室の木村駿太氏をはじめとして、同研究室、味岡令子氏、横島美香氏、井上琴美氏、阿部友亮氏、加藤木ひとみ氏には、多大なご協力を頂きました。ここに心より感謝申し上げます。

筑波大学社会人博士学生として本研究を遂行するにあたり、激励とご協力を賜りました十文字女子大学関係諸氏に、深く感謝申し上げます。

最後に、改めて社会人学生として、博士研究に取り組むことに対して、長い年月の間、終始惜しまず激励と協力を注ぎ続けて下さいました関係者皆様に、心より感謝申し上げます。

参考文献

味岡令子 (2014) ガンマ線 (5 kGy) 曝露が陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の乾燥藻体に与える影響. 筑波大学大学院生命環境科学研究科生物資源科学専攻修士 (農学) 学位論文.

荒井綜一 (1995) 機能性食品の研究. 学会出版センター, 1-4.

荒井綜一 (1997) 食品の機能: その研究の現状と未来像. *日本家政学会誌*, **48**, 645-652.

荒井綜一, 阿部啓子, 吉川敏一, 金沢和樹, 渡辺昌編 (2007) 機能性食品の事典. 朝倉書店, 2-18.

新井真由美 (2009) 火星を想定した宇宙農業におけるラン藻の活用. 筑波大学大学院生命環境科学研究科生物機能科学専攻博士 (学術) 学位論文.

五十嵐裕一 (2013) 陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の高温耐性. 筑波大学大学院生命環境科学研究科生物資源科学専攻修士 (学術) 学位論文.

池内昌彦 (2007) 地球と生命の歴史を作った光合成. 東京大学光合成教育研究会編, 光合成の科学, 東京大学出版会, 19-21.

石川洋二 (1997) 火星の生命 PART2 火星の環境と生命. *Biological Sciences in Space*, **11**, 3-12.

石松成子, 石橋源次 (1994) 藍藻類イシクラゲの食品素材としての特性. *日本家政学会誌*, **45**, 719-722.

井尻憲一 (1996) 宇宙へ行ったメダカ: 宇宙におけるライフサイエンス研究. *BME*, **10**, 32-41.

井上勲（2007）藍藻 30 億年の自然史 第二版 藍藻からみる生物進化・地球・環境. 東海大学出版会, 643pp.

井上琴美, 木村駿太, 富田-横谷香織, 佐藤誠吾, 加藤浩, 吉田聡, 横堀伸一, 山岸明彦, たんぽぽ WG (2015) 陸棲藍藻 *Nostoc* sp. HK-01 の重粒子線耐性. 日本微生物生態学会第 30 回大会, OF-14.

岩田勉（1991）惑星基地. *計測と制御*, **30**, 161-168.

臼井寛裕, 宮本英昭（2014）次世代火星探査計画に向けて: 探査史および将来探査計画. *地球化学*, **48**, 221-230.

江指隆年・中嶋洋子編（2012）ネオエスカ基礎栄養学 第三版. 同文書院, 2-5.

遠藤雅人・竹内俊郎（2013）閉鎖系における魚類の生産と微小重力. *International Journal of Microgravity Science Application*, **30**, 111-119.

大石圭一編（2003）シリーズ食品の科学 海藻の科学. 朝倉書店, 123.

大西充（2006）有人宇宙活動に向けた生命維持システムの研究開発. 平成 18 年度宇宙環境利用の展望, 第 2 章, 一般財団法人宇宙システム開発利用推進機構.

大西充（2015）生命維持システムの現状: 国際宇宙ステーションを中心として. 閉鎖生態系・生態工学ハンドブック（大政謙次, 竹内俊郎, 木部勢至朗, 北宅善昭, 船田良監修, 生態工学会出版企画委員会編）, アドスリー, 1章, 24-37.

大森正之, 吉村英尚, 肥後明佳（2006）特集「シアノバクテリアがひらく新しい世界」陸に棲むシアノバクテリア. *生物の科学 遺伝*, **60**, 52-57.

大森正之（2009）藍藻の出現. 光合成と呼吸30講, 朝倉書店, 第8講, 31-34.

兼清健志, 林京子, 李貞範, 竹中裕行, 林利光（2008）食用藍藻髮菜由来酸性多糖分子の構造と抗ウイルス活性. *YAKUGAKU ZASSHI*, **128**, 725-731.

木村駿太, 木村靖子, 井上琴美, 加藤浩, 佐藤誠吾, 富田-横谷香織（2015）陸棲藍藻 *Nostoc sp. HK-01* の閉鎖生態系における有用性. 第 59 回宇宙科学技術連合講演会, 2E07.

黒谷明美, 山下雅道（1990）宇宙ステーション・ミールにおけるアマガエル行動学実験. *Biological Sciences in Space*, **4**, 279-294.

厚生労働省, 政府統計 平成 25 年国民健康栄養調査結果の概要.

<http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantai-sakukenkouzoushinka/0000068070.pdf>

厚生労働省, 「日本人の食事摂取基準（2015 年度版）」策定委員会報告書.

<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/0000041824.html>

国際宇宙探査協働グループ（2013）国際宇宙探査ロードマップ.

http://www.jspec.jaxa.jp/enterprise/data/GER_V2-J.pdf

五家建夫（2006）宇宙環境リスク事典. 一章, 丸善株式会社出版サービスセンター.

後藤英司（2003）植物を中心とする閉鎖生態系生命維持システムの構築および関連実験. 平成 15 年度宇宙環境利用の展望, 第 6 章, 一般財団法人宇宙システム開発利用推進機構.

小林憲正（1997）火星の生命 PART2 火星有機物の検出. *Biological Sciences in*

Space, **11**, 13-21.

桜井誠人, 木部勢至朗 (2015) 有人宇宙活動の将来展望. 閉鎖生態系・生態工学ハンドブック (大政謙次, 竹内俊郎, 木部勢至朗, 北宅善昭, 船田良監修, 生態工学会出版企画委員会編), アドスリー, 1章, 17-23.

藻類バイオマス・エネルギーシステム研究拠点 HP

<http://www.algae-biomass-tsukuba.jp/>

高橋秀幸, 菅洋 (1987) 宇宙船の植物学. 学会出版センター, 東京.

竹内俊郎・遠藤雅人 (2008) 微小重力下におけるティラピアの遊泳と摂食行動に関する研究. *Space Utilization Research*, **24**, 251-254.

多胡靖宏 (2015) 閉鎖型生態系実験施設を用いた閉鎖居住実験: 食料自給および物質 (空気・水・廃棄物) 循環、ならびにトラブルシューティング. 閉鎖生態系・生態工学ハンドブック (大政謙次, 竹内俊郎, 木部勢至朗, 北宅善昭, 船田良監修, 生態工学会出版企画委員会編), アドスリー, 1章, 48-66.

たんぽぽ計画ホームページ <http://logos.ls.toyaku.ac.jp/~lcb-7/tanpopo/>

中山豊蔵 (1975) スピルリナー新しい蛋白質源としての可能性一. *New Food Industry*, **17**, 7-12.

西村敏充 (1985) 宇宙飛しょう体の誘導制御問題. *計測と制御*, **24**, 397-402.

新田慶治 (1986) 宇宙活動と閉鎖系の生命維持システム. *化学と生物*, **24**, 13-19.

農林水産省 (2009) 平成 21 年産水稻の品種別収穫量.

http://www.maff.go.jp/j/tokei/sokuhou/syukaku_suitou_09/

支倉サツキ, 末田和代 (1985a) スイゼンジノリ (川茸) の研究 (第1報) : 郷土料理材料としての沿革. 日本食生活文化調査研究報告集 (昭和58・59年度) (財) 日本食生活文化財団, 32-62.

支倉サツキ, 末田和代 (1985b) スイゼンジノリ (川茸) の研究 (第2報) - 古文書にみられるスイゼンジノリの料理とその現代食事への活かし方-. 日本食生活文化調査研.

速水決 (1971) 四訂栄養生理概論. 光生館, 1-6.

菱田明, 佐々木敏 (2015) 日本人の食事摂取基準. 第一出版.

藤代華歌 (2012) ラン藻の宇宙環境耐性実験のための実験系の検討. 筑波大学生命環境学群・第二学群生物資源学類卒業研究要旨集, 86.

南廣子 (2000) 身近な薬膳料理. 薬学図書館, 45, 302-305.

宮川伸 (2004) 生命の起源と原始地球の温度. *Viva origino*, 32, 81-95.

宮嶋宏行 (2015) 生命維持システムの現状: 国際宇宙ステーションを中心として. 閉鎖生態系・生態工学ハンドブック (大政謙次, 竹内俊郎, 木部勢至朗, 北宅善昭, 船田良監修, 生態工学会出版企画委員会編), アドスリー, 1章, 24-37.

文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会編 (2010) 日本標準食品成分表 2010. 国立印刷局発行.

山岸明彦, 馬場昭次, 山下雅道 (2010) 宇宙環境生物学. 極限環境生物学 (浅島誠, 黒岩常祥, 小原雄治編), 5章, 179-220.

山下雅道, 新井真由美, 石井忠司, 石川洋二, 泉龍太郎, 大島泰郎, 大島博, 大森

克徳, 片山直美, 片山新太, 金澤晋二郎, 刈屋達也, 河崎行繁, 北宅善昭, 後藤英司, 齋藤高弘, 清水強, 白石篤志, 高沖宗夫, 高橋秀幸, 谷晃, 都木恭一郎, 富田-横谷香織, 中島厚, 長友信人, 新田慶治, 橋本博文, 平藤雅之, 藤井義晴, 水谷広, 三原恵二郎, 宮川照男, 向井千秋, 森滋夫, 矢野幸子, 山崎直子, 横田博樹 (2005) 宇宙農業構想. *Space Utilization Research*, **21**, 323-326.

山田浩一 (1972) *Spirulina* について. *醱酵協会誌*, **32**, 131-134.

吉田勉, 石井孝彦, 篠田粧子編 (2013) 新基礎栄養学 第8版. 医歯薬出版株式会社.

和田秀徳 (2007) 地球の農業と火星の農業 (特集 宇宙農業の基礎) . *宇宙生物科学*, **21**, 135-141.

Abrahams, P. W. and Parsons, J. A. (1996) Geophagy in the tropics: a literature review. *Geographical Journal*, **162**, 63-72.

Arai, M., Tomita-Yokotani, K., Sato, S., Hashimoto, H., Ohmori, M., and Yamashita, M. (2008) Growth of terrestrial cyanobacterium, *Nostoc* sp., on martian regolith simulant and its vacuum tolerance. *Biological Sciences in Space*, **22**, 8-17.

Arai, M. (2009) Cyanobacteria for Space Agriculture on Mars. *Biological Sciences in Space*, **23**, 203-210.

Baglioni, P., Sabbatini, M. and Horneck, G. (2007) Astrobiology experiments in low earth orbit: facilities, instrumentation and results. In Complete Course in Astrobiology (eds. Horneck, J. and Rettberg, P.), Chapter 11, 273-319. Weinheim, Wiley.

Becker, W. (1994) Handbook of Microalgal Culture —Biotechnology and Applied Phycology (Ed. Richmond, A.). *Blackwell Publishing*, 312-351.

- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200.
- Burke, J. D. (1994) 惑星探査ローバのアメリカにおける研究と開発. *日本ロボット学会誌*, **12**, 986-992.
- Cameron, R. E. (1962) Species of *Nostoc vaucher* occurring in the Sonoran desert in Arizona. *Transactions of the American Microscopical Society*, **81**, 379-384.
- Chen, Y. H., Chang, F. R., Lin, Y. J., Hsieh, P. W., Wu, M. J. and Wu, Y. C. (2008) Identification of antioxidants from rhizome of *Davallia solida*. *Food Chemistry*, **107**, 684-691.
- Costa, J. A. V., Colla, M. and Filho, P. D. (2003) *Spirulina platensis* growth in open raceway ponds using fresh water supplemented with carbon, nitrogen and metal ions, *Zeitschrift für Naturforschung*, **58c**, 76-80.
- Delpeuch, F., Joseph, A. and Cavelier, C. (1976) Commsomation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleus (*Oscillatoria platensis*) ches quelques populations du Kanem (Tchad), *Ann Nutr Aliment*, 497-516.
- Deo, S. K., Pandey, R., Jha, S. K., Singh, J. and Sodhi, K. S. (2014) SPIRULINA: THE SINGLE CELL PROTEIN. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, **4**, 2211-2217.
- Dittmer, U. and Weltzien, C. (1990) A rapid viability test for sclerotia with fluorescein diacetate. *Journal of Phytopathology*, **130**, 59-64.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*,

28, 350-356.

Fukunaga, T., Fuchimoto, Y., Hatae, K. and Shimada, A. (1991) Cookery Property of New Food Material: Addition of *Spilulina* to Some Food-Stuff (In Japanese with English title). *Nihon Kasei Gakkaishi*, **42**, 655-659.

Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G. H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, **226**, 497-509.

Gao, K. (1998) Chinese studies on the edible blue-green alga, *Nostoc flagelliforme*: a review. *Journal of Applied Phycology*, **10**, 37-49.

Garcia-Pichel, F. (2010) Cyanobacteria. In *The desk of encyclopedia of microbiology*, second edition (ed. Schaechter, M.), 327-345. Oxford, Elsevier.

Halstead, T. W. and Dutcher, F. R. (1984) Status and prospects. *Annals of Botany*, **54**, Supplement 3, 3-18.

Henrikson, R. (1989) Earth food spirulina. *Ronore Enterprises, Inc.*

Horneck, G., Klaus, D. M. and Mancinelli, R. L. (2010) Space microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **74**, 121-156.

Hori, K., Ueno-Mohri, T. and Okita, T. (1992) Absorption of color additives and settling volume in water of blue-green alga, ishikurage (*Nostoc commune*). *Plant Foods for Human Nutrition*, **42**, 31-36.

Hori, K., Ueno-Mohri, T., Okita, T. and Ishibashi, G. (1990) Chemical composition, in vitro protein digestibility and in vitro available iron of blue green alga, *Nostoc commune*. *Plant Foods for Human Nutrition*, **40**, 223-229.

Ishibashi, G., Ishimatu, S., Okita, T. and Hori, K. (1994) Hypocholesterolemic Effect of Blue-Green Algae, Ishikurage (*Nostoc commune*) and Suizenji-nori (*Aphanothece sacrum suringar*) in Rats Fed High Cholesterol Diet (In Japanese with English title). *Nihon Kasei Gakkaishi*, **45**, 579-584.

JAXA, ISS 組立情報.

<http://iss.jaxa.jp/iss/about/construct/>

JAXA, きぼう利用の成果.

<http://iss.jaxa.jp/kiboresults/utilization/>

JAXA, 「こうのとり」 (HTV) とは.

<http://iss.jaxa.jp/htv/overview/>

JAXA 宇宙情報センターa, 世界の宇宙開発の歴史 1950 年代.

http://spaceinfo.jaxa.jp/ja/sputnik_a.html

JAXA 宇宙情報センターb, 世界の宇宙開発の歴史 1960 年代.

http://spaceinfo.jaxa.jp/ja/world_space_projects_1960.html

JAXA 宇宙情報センターc, 世界の宇宙開発の歴史 1970 年代.

http://spaceinfo.jaxa.jp/ja/world_space_projects_1970.html

JAXA 宇宙情報センターd, 宇宙環境利用.

http://spaceinfo.jaxa.jp/ja/contents_space_utilization.html

JAXA 宇宙情報センターe, ホーマン軌道.

http://spaceinfo.jaxa.jp/ja/hohmann_orbit.html

Jones, D. B. (1931) Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds

into percentages of proteins. Circular 183, 1-22. Washington, D.C., U.S. Dept. of Agriculture.

Jones, K. H. and Senft, J. A. (1985) An improved method to determine cell viability by simultaneous staining with fluorescein diacetate-propidium iodide. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **33**, 77-79.

Kanazawa, S., Ishikawa, Y., Tomita-Yokotani, K., Hashimoto, H., Kitaya, Y., Yamashita, M., Nagatomo, M., Oshima, T., Wada, H. and Space Agriculture Task Force. (2008) Space agriculture for habitation on Mars with hyper-thermophilic aerobic composting bacteria. *Advances in Space Research*, **41**, 696-700.

Kaneko, T., Nakamura, Y., Wolk, C. P., Kuritz, T., Sasamoto, S., Watanabe, A., Iriguchi, M., Ishikawa, A., Kawashima, K., Kimura, T., Kishida, Y., Kohara, M., Matsumoto, M., Matsuno, A., Muraki, A., Nakazaki, N., Shimpo, S., Sugimoto, M., Takazawa, M., Yamada, M., Yasuda, M. and Tabata, S. (2001) Complete genomic sequence of the filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *DNA research*, **8**, 205-213, 227-253.

Katayama, N., Ishikawa, Y., Takaoki, M., Yamashita, M., Nakayama, S., Kiguchi, K., Kok, R., Wada, H. and Mitsuhashi, J. (2008) Space Agriculture Task Force. Entomophagy: a key to space agriculture. *Advances in Space Research*, **41**, 701-705.

Kato, T., Kamijo, T., Hatta, T., Tamura, K. and Higashi, T. (2005) Initial soil formation processes of Volcanogenous Regosols (Scoriacious) from Miyake-jima Island, Japan. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **51**, 291-301.

Katoh, H., Shiga, Y. Nakahira, Y. and Ohmori, M. (2003) Isolation and characterization of a drought-tolerant cyanobacterium, *Nostoc* sp. HK-01. *Microbes and Environments*, **18**, 82-88.

- Katoh, H., Furukawa, J., Tomita-Yokotani, K. and Nishi, Y. (2012) Isolation and purification of an axenic diazotrophic drought-tolerant cyanobacterium, *Nostoc commune*, from natural cyanobacterial crusts and its utilization for field research on soils polluted with radioisotopes. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1817**, 1499-1505.
- Kerr, R. A. (2004) On Mars, a second chance for life. *Science*, **306**, 2010-2012.
- Kieffer, H. H., Jakosky, B. M., Snyder, C. W. and Matthews, M.S. (1992) Mars. Tucson, Arizona, The University of Arizona Press. pp. 1498.
- Kimura, S., Arai, M., Katoh, H., Ajioka, R., Baba, K., Sato, S. and Tomita-Yokotani, K. (2014) Utilization of a terrestrial cyanobacterium, *Nostoc* sp. HK-01, under the space environment. Proceedings of the 44th International Conference on Environmental Systems, ICES-2014-127, 721-726. Arizona.
- Kimura, S., Tomita-Yokotani, K., Igarashi, Y., Sato, S., Katoh, H., Abe, T. Sonoike, K. and Ohmori, M. (2015) The heat tolerance of dry colonies of a terrestrial cyanobacterium, *Nostoc* sp. HK-01. *Biological Sciences in Space*, **29**, 12-18.
- Kimura, Y., Tomita-Yokotani, K., Sato, S., Arai, M., Kato, H., Ohmori, M., Hashimoto, H. and Yamashita, M. (2012) Evaluation of space foods in *Nostoc* sp. HK-01, *Space Utilization Research*, **28**, 239.
- Kunimine Industries Co., LTD., KUNIGEL-V1.
<http://www.kunimine.co.jp/english/index.htm>
- Levine, J. S., Augustsson, T. R. and Natarajan, M. (1982) The prebiological paleoatmosphere: Stability and composition. *Origins Life*, **12**, 245-259.

- Li, H., Xu, J., Liu, Y., Ai, S., Qin, F., Li, Z., Zhang, H. and Huang, Z. (2011) Antioxidant and moisture-retention activities of the polysaccharide from *Nostoc commune*. *Carbohydrate Polymers*, **83**, 1821-1827.
- Malin, M. C., and Edgett, K. S. (2000) Evidence for recent groundwater seepage and surface runoff on Mars. *Science*, **288**, 2330-2335.
- Meeks, J. C., Elhai, J., Thiel, T., Potts, M., Larimer, F., Lamerdin, J., Predki, P. and Atlas, R. (2001) An overview of the genome of *Nostoc punctiforme*, a multicellular, symbiotic cyanobacterium. *Photosynthesis research*, **70**, 85-106.
- Mori, F., Erata, M., and Watanabe, M. M. (2002) Cryopreservation of cyanobacteria and green algae in the NIES-collection. *Microbiology and culture collections*, **17**, 45-55.
- NASA (2015) Meals Ready to Eat: Expedition 44 Crew Members Sample Leafy Greens Grown on Space Station.
http://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/news/meals_ready_to_eat
- Nitta, K. (2005) The Mini-Earth facility and present status of habitation experiment program. *Advances in Space Research*, **35**, 1531-1538.
- Ojha, L., Wilhelm, M. B., Murchie, S. L., McEwen, A. S., Wray, J. J., Hanley, J., Masse, M. and Chojnacki, M. (2015) Spectral evidence for hydrated salts in recurring slope lineae on Mars. *Nature Geoscience*, **8**, 829-832.
- Ohga, T. and Yumoto, Y. (1992) Studies on edible *Nostoc commune* (III): Texture of fresh and dried *Nostoc commune* (In Japanese with English title). *Bulletin of Gifu Women's University*, **21**, 119-122.
- Ozdemir, G., Ulku Karabay, N., Dalay, M. C. and Pazarbasi, B. (2004) Antibacterial

activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytotherapy research*, **18**, 754-757.

Perchonok, M. H., Cooper, M. R. and Catauro, P. M. (2012). Mission to Mars: food production and processing for the final frontier. *Annual review of food science and technology*, **3**, 311-330.

Pinero Estrada, J. E., Bermejo Bescos, P. and Villar del Fresno, A. M. (2001) Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *II farmaco*, **56**, 497-500.

Rennó, N. O., Bos, B. J., Catling, D., Clark, B. C., Drube, L., Fisher, D., Goetz, W., Hviid, S. F., Uwe Keller, H., Kok, J. F., Kounaves, S. P., Leer, K., Lemmon, M., Bo Madsen, M., Markiewicz, W. J., Marshall, J., McKay, C., Mehta, M., Smith, M., Zorzano, M. P., Smith, P. H., Stoker, C. and Young, S. M. M. (2009) Possible physical and thermodynamical evidence for liquid water at the Phoenix landing site. *Journal of Geophysical Research: Planets*, **114**, E00E03, 1-11.

Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M. and Stanier, R. Y. (1979) Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of general microbiology*, **111**, 1 - 61.

Salotti, J. M. and Heidmann, R. (2014) Roadmap to a human Mars mission. *Acta Astronautica*, **104**, 558-564.

Sautier, C. and Tremolieres, J. (1976) Valeur alimentaire des algues spirulines ches l'homme , *Ann Nutr Aliment*, 517-534.

Southgate, D. A. T. and Durnin, J. V. G. A. (1970) Calorie conversion factors. An experimental reassessment of the factors used in the calculation of the energy value of human diets. *British Journal of Nutrition*, **24**, 517-535.

- Stern, J. C., Sutter, B., Freissinet, C., Navarro-González, R., McKay, C. P., Archer, P. D., Buch, A., Brunner, A. E., Coll, P., Eigenbrode, J. L., Fairen, A. G., Franz, H. B., Glavin, D. P., Kashyap, S., McAdam, A. C., Ming, D. W., Steele, A., Szopa, C., Wray, J. J., Martín-Torres, F. J., Zorzano, M. P., Conrad, P. G., Mahaffy, P. R. and the MSL Science Team. (2015) Evidence for indigenous nitrogen in sedimentary and aeolian deposits from the Curiosity rover investigations at Gale crater, Mars. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**, 4245-4250.
- Swinbanks, D. and O'Brien, J. (1993). Japan explores the boundary between food and medicine. *Nature: International weekly journal of science*, **364**, 180.
- Takenaka, H., Yamaguchi, Y., Sakaki, S., Watarai, K., Tanaka, N., Hori, M., Seki, H., Tsuchida, M., Yamada, A., Nishimori, T. and Morinaga, T. (1998) Safety evaluation of *Nostoc flagelliforme* (nostocales, cyanophyceae) as a potential food. *Food and chemical toxicology*, **36**, 1073-1077.
- Takenaka, H. and Yamaguchi, Y. (2010) Shokuyouransou: Suizenjinori, ishikurage, oyobi hassai no seirikinou (In Japanese). *New Food Industry*, **52**, 28-34.
- Tamaru, Y., Takani, Y., Yoshida, T. and Sakamoto, T. (2005) Crucial role of extracellular polysaccharides in desiccation and freezing tolerance in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 7327-7333.
- Tomita-Yokotani, K., Kimura, S., Kimura, Y., Igarashi, Y., Ajioka, R., Sato, S., Katoh, H., and Baba, K. (2013) Dried colony in cyanobacterium, *Nostoc* sp. HK-01 – Several high space environment tolerances for “Tanpopo” mission. The International Astrobiology Workshop 2013, Poster session [#1033].
- Tomita-Yokotani, K., Yamashita, M., Hashimoto, H., Sato, S., Kimura, Y., Katoh, H.

- and Arai, M. (2012) Evolution of space food in *Nostoc* sp. HK-01. In 39th COSPAR Scientific Assembly. F4.7-0009-12.
- Vermeer, D. E. and Frate, D. A. (1979) Geophagia in rural Mississippi: environmental and cultural contexts and nutritional implications. *American Journal of Clinical Nutrition*, **32**, 2129-2135.
- Webster, G. and Savage, D. (2004) Opportunity rover finds strong evidence meridiani planum was wet. NASA Press release, 2004-074.
<http://mars.nasa.gov/mer/newsroom/pressreleases/20040302a.html>
- Williams, D. R. (2007) Mars Fact Sheet.
<http://nssdc.gsfc.nasa.gov/planetary/factsheet/marsfact.html>
- Yamagishi, A., Yano, H., Okudaira, K., Kobayashi, K., Yokobori, S., Tabata, M., Kawai, H., Yamashita, M., Hashimoto, H., Naraoka, H., Mita, H. (2008) TANPOPO: Astrobiology Exposure and Micrometeoroid Capture Experiments. *Preprints of 26th International Symposium on Space Technology and Science*, k-05.
- Yamashita, M., Ishikawa, Y., Kitaya, Y., Goto, E., Arai, M., Hashimoto, H., Tomita-Yokotani, K., Hirafuji, M., Ohmori, K., Shiraishi, A., Tani, A., Toki, K., Yokota, H. and Fujita, O. (2006) An overview of challenges in modeling heat and mass transfer for living on Mars. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1077**, 232-243.
- Yamashita, M., Hashimoto, H., Tomita-Yokotani, K., Katayama, N., Yazawa, Y., Takeda, H., Mitsunashi, J., Wada, H. and Space Agriculture Task Force. (2008) Development of Space Agriculture Concept, *Space Utilization Research*, **24**, 375-377.
- Yamashita, M., Hashimoto, H. and Wada, H. (2009) On-site resources availability for space agriculture on Mars. In Mars (ed. Badescu, V), Chapter 18, 517-542. Berlin,

Heidelberg, Springer.

Yoshida, M. and Hoshii, H. (1980) Nutritive value of *Spirulina* green algae for poultry feed. *Japanese Poultry Science*, **17**, 27-30.

Yoshimura, H., Ikeuchi, M. and Ohmori, M. (2006) Up-regulated gene expression during dehydration in a terrestrial cyanobacterium, *Nostoc* sp. strain HK-01. *Microbes and Environments*, **21**, 129-133.

Yumoto, Y., Otsuji, F. and Higashino, M. (1988) Studies on edible *Nostoc commune* (I): Ecological characteristics of *Nostoc commune* and changes of the surface color of *Nostoc commune* by different preparation methods (In Japanese with English title). *Gifu Women's University Kiyou*, **18**, 63-67.

Yumoto, Y. and Ohga, T. (1991) Studies on edible *Nostoc commune* (II): Vitamin C content of fresh and dried *Nostoc commune* (In Japanese with English title). *Gifu Women's University Kiyou*, **20**, 7-10.