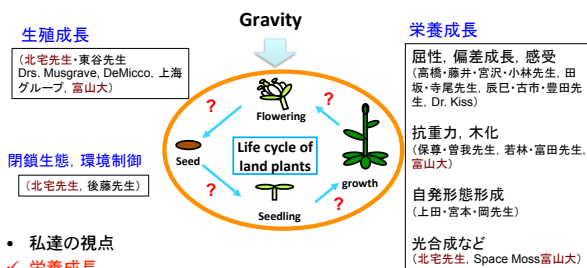


カタクリ 猿倉にて 唐原撮影

本日のお話

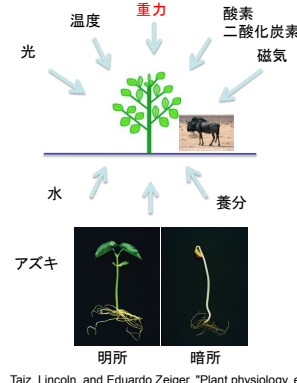
- なぜ宇宙植物学? ー背景ー
- 植物への重力のはたらき
 - ー 重力の「方向」と「大きさ」ー2つの捉え方ー
- 重力の「大きさ」の関わりを調べる実験系
 - ー 遠心機による「過重力」
 - ー 宇宙実験による「微小重力」

植物の重力影響研究 ~生活環の観点から~
日本の研究グループ中心に



- 私達の視点
 - ✓ 栄養成長
 - ✓ 二次壁・支持組織 ← 抗重力の観点
 - ✓ 養水分吸収を担う根系
 - ✓ 生殖成長
 - ー 2012宇宙環境利用科学委員会RT活動開始,2014 国際公募に応募
 - ー 2015-宇宙環境利用専門委員会コミュニティ,フジビリティスタディに応募

なぜ宇宙植物学なのか ー背景ー
植物をとりまく環境



ヌーの大移動(セレンゲティ国立公園) wikipedia.org/wiki/ヌー

- 環境変化に植物は柔軟に対応
 - ー 植物の未知の力を引き出す
- なぜ重力に着目?
 1. 未解明・未開拓 → 基礎科学
 2. 宇宙開発

Taiz, Lincoln, and Eduardo Zeiger. "Plant physiology. ed.(1998)

未知の力を引き出すために植物の重力応答を利用する

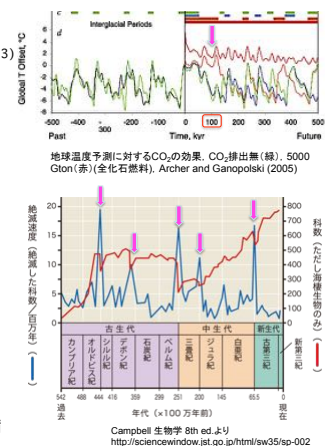
- 古来より建築材料に利用
 - ー 重力に抗して進化した結果
- しかし,まだまだ植物の未知の機能を引き出せるはず
- 成功例→ 奇跡のバナナ 田中節三氏 (2018)



植物の機能を引き出す タケの足場 広州にて 唐原撮影

人類の未来

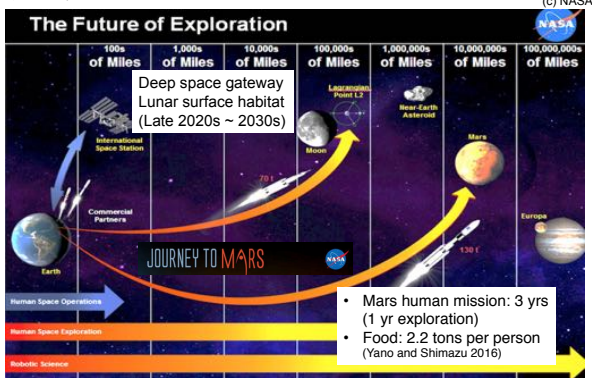
- 氷期は10万年周期(Abe-Ouchi et al, 2013)
 - ー The Future is Wild,人類消滅後の地球 (Dixon & Adams, 2004)
 - ー 人類の試練
- むしろ人為的要素の危惧
 - ー 温暖化,パンデミック,AI,核(政治の失敗), etc
 - Pamlin & Armstrong (2015), 12 Risks that threaten human civilisation
- 以前に5回の大量絶滅
 - ー 破局噴火,天体衝突
- うち4回は温暖化による
 - ー (Campbell 生物学 9th ed.)
 - ー 短期的な視野
- 2050までに人類文明は崩壊
 - ー Jared Diamond (2005)『文明崩壊』NHK「ヒトの秘密」(20180302)
- 地球での対策
 - ー 関野吉晴氏「地球永住計画」,SDGs
- 人類が地球外で生き延びる術を準備



Campbell 生物学 8th ed.より http://sciencewindow.jst.go.jp/html/sw35/sp-002

JAXA含む15カ国の宇宙機関(国際宇宙探査協働グループISECG)
国際宇宙探査ロードマップ(GER 3rd, 2018) も出された

火星までめると



Space farming: 重力環境の違い



Farming in Mars space colony (c)NASA



The Martian (c) 20th Century Fox, 2015

• 地球上と同様に育つのか?

Gravity as an environmental factor

- Gravitational acceleration vector
- Direction: to the center of the earth
- Magnitude: $9.81 \text{ m/s}^2 = 1 \text{ G}$
 - very stable
- Before Newton (1687, Principia), we did not even notice its presence
- Is it necessary for plants to perceive it and adapt themselves to it?



Newtonのリンゴの木の子孫
Cambridge University Botanic Garden.
en.wikipedia.org/wiki/Isaac_Newton



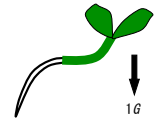
Gravitropism: a matter of direction of gravity

- Plants need to let
 - stems grow upward
 - to obtain sunlight
 - roots grow downward
 - to obtain water and nutrients
- by utilizing their sense of the direction of gravity vector



Figure 2. Contrasting responses of inflorescence stems. A, The inflorescence stems of Arabidopsis plants. B, The horizontally gravitropically influenced inflorescence stems at the end of gravitropism. C, The horizontally gravitropically influenced inflorescence stems 30 min after B. The gravitropism was given in darkness at 21°C. The arrow indicates the direction of gravity (g). Scale = 1 cm.

Fukaki et al. *Plant Physiology* 110.3 (1996): 933-943.



根の重力屈性の重力感受部位は根冠

- 根冠を除いて重力刺激(横向きにすると)重力屈性が生じない

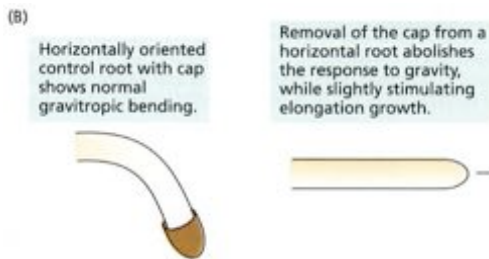
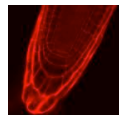
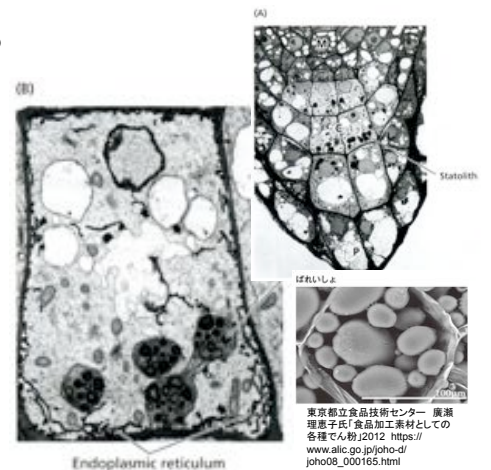


FIGURE 19.31 Microsurgery experiments demonstrating that the root cap produces an inhibitor that regulates root gravitropism. (After Shaw and Wilkins 1973.)

シロイヌナズナの根冠

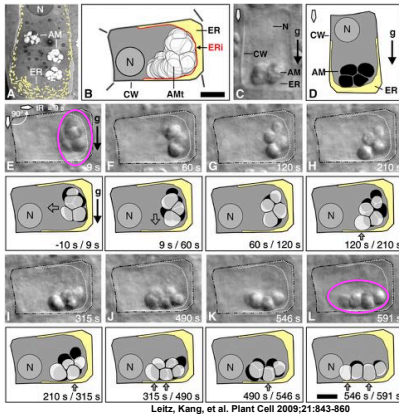
- 電顕写真
- コルメラ細胞
- アミロプラスト (球状に近い)
- デンプン貯蔵用のアミロプラストの形状は様々



Buchanan, Jones, Grisseem (eds) 2003, Biochemistry & Molecular Biology of Plants

When a root is placed horizontally,

- statoliths move and sediment at the new bottom.
- And the basal and lateral sides are covered with cortical ER.
- What happens next?

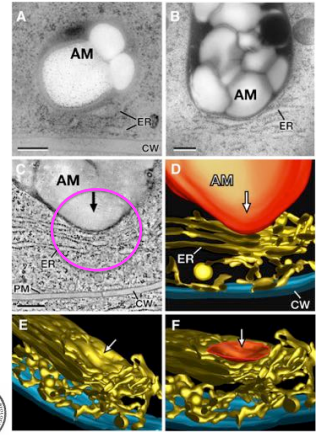


©2009 by American Society of Plant Biologists

Leitz, Kang, et al. Plant Cell 2009;21:843-860

Their tomographic analysis of high-pressure frozen cells

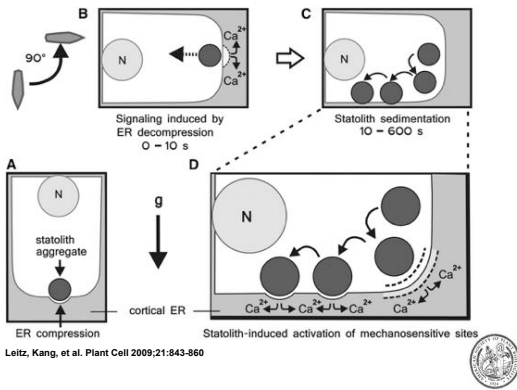
- A contact site between a statolith and cortical ER
- Sedimentation actually causes deformation of an ER membrane
- This should lead
 - activation of mechano-sensitive ion channels
 - Ca^{2+} response



©2009 by American Society of Plant Biologists

Guenther Leitz et al. Plant Cell 2009;21:843-860

Movement of the statoliths activate mechanosensitive sites in the ER and/or at the plasma membrane leading Ca^{2+} response

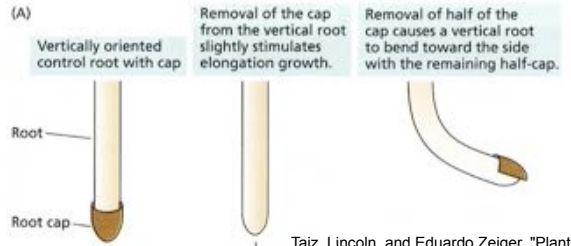


©2009 by American Society of Plant Biologists

Leitz, Kang, et al. Plant Cell 2009;21:843-860

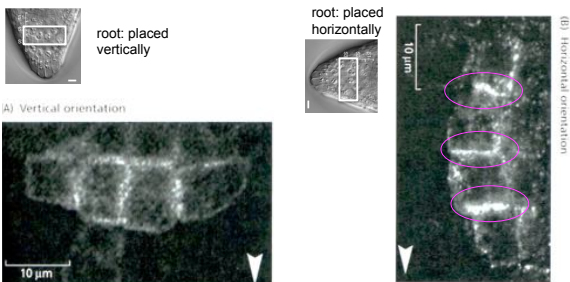
感受部位と屈曲部位が離れている messenger は何か?

- chemical messengerの存在はかつてより想定されていた
- 中,根冠を除くと生長が少し促進される
- 右,根冠を片側除くと除いた側の生長が少し促進される
- 根冠から,下側に生長阻害物質が供給されている証拠



Taiz, Lincoln, and Eduardo Zeiger. "Plant physiology. ed.(1998)

Next: Auxin efflux carrier (PIN3) moves

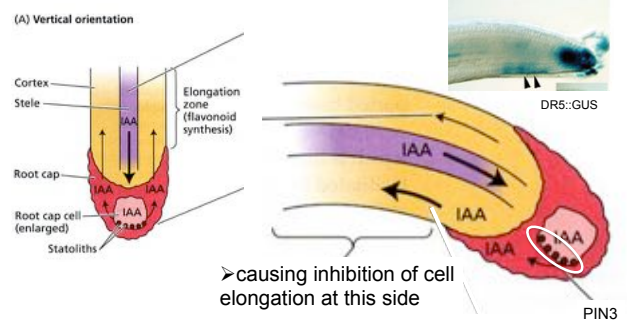


■ usually distributed around the columella cells

■ is redistributed to the new bottom side

Taiz, Lincoln, and Eduardo Zeiger. "Plant physiology. ed.(1998)

Auxin is preferentially transported to the bottom side



➢ causing inhibition of cell elongation at this side

- The root bends downward

Taiz, Lincoln, and Eduardo Zeiger. "Plant physiology. ed.(1998)

In the case of shoot gravitropism

- Statoliths are located in the endodermal (starch sheath) cells

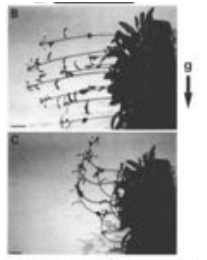
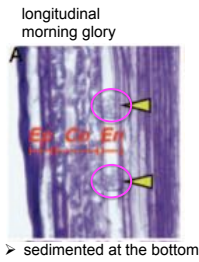


Figure 5. Coordinate responses of inflorescence stems. A, The helio receptor stems of a weeping plant. B, The horizontally gravitropized inflorescence stems at the neck of germination. C, The horizontally gravitropized inflorescence stems for one hour after B. The gravitropized stem grows in darkness at 25°C. The arrow indicates the direction of growth. (Bar = 1 cm).

Fukaki et al. *Plant Physiology* 110.3 (1996): 933-943.

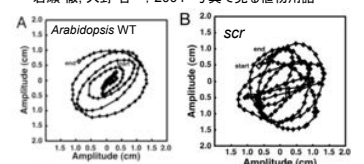
Kitazawa et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102.18742-18747

This sense of the direction of gravity vector by the endodermis

- is also used for "circumnutation" of the stem
- important for a climbing plant to climb up something
- 巻き付き茎(つる植物)
- 自らを支えるコストを節約



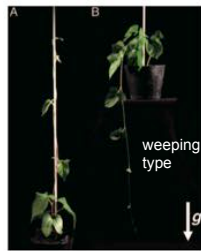
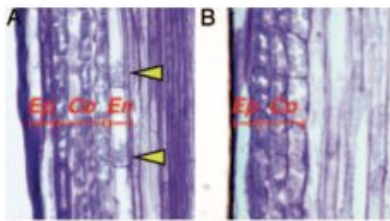
- 内皮(デンプン鞘)が欠損すると
 - (内皮(デンプン鞘)分化に関わる *SCR* の mutant, *scr*)
 - 回旋転頭運動をしない



Kitazawa et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102.18742-18747

アサガオの内皮(デンプン鞘)が欠損した mutant では

- 回旋転頭運動できなくなり
- シダレアサガオになる
- Kitazawa et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102.18742-18747



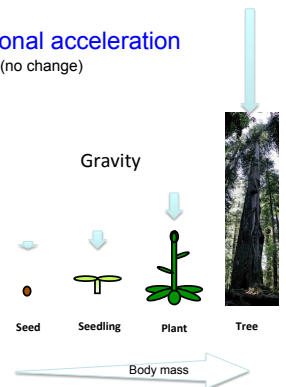
Growth of the morning glory cultivar Violet and weeping plant of the WT morning glory cultivar Violet was grown for 2.3

Next, a matter of magnitude of gravity

Gravity = Mass x Gravitational acceleration
(no change)

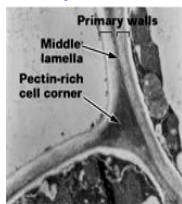
- Plants increase their body mass as they grow up
- need to resist against increasing gravity
 - by strengthening their bodies

- "Gravity resistance" response
 - recognition of such a response is of recent years
 - (Hoson, 2003)



Specific structure that strengthens plant body
Cell walls: two types

Primary cell walls



Buchanan, Jones, Gruissem (eds) 2003, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*

Secondary cell walls



- formed during cytokinesis
 - cellulose
 - hemicellulose
- important for cell elongation
- added to primary wall in specific cell types
 - lignin
- strengthen the body

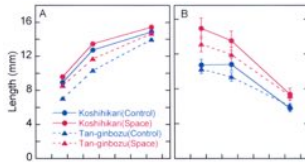
一次壁に対する重力影響 STS-95 BRIC-RC 宇宙実験(1998)

- SPACEHAB
- スペースシャトルのカーゴベイ (荷物室) に取り付けられる宇宙実験室
- スペースシャトル「エンデバー」!
- <https://jp.discoverlosangeles.com/blog/la>

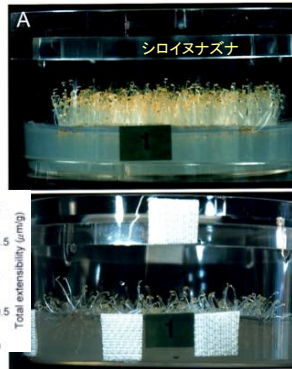


一次壁に対する重力影響 STS-95 BRIC-RC 宇宙実験

- 大阪市のグループ1998年10月スペースシャトルでの宇宙飛行
 - 暗所で短期間(3d)
- シロイヌナズナ胚軸, イネ幼葉鞘
- 成長方向は乱れた(Hoson et al. 1999)
- 細胞壁(主に一次)はのびやすく(弱くなった)(Hoson et al. 2002)



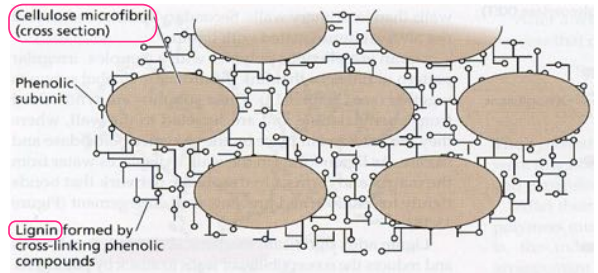
Hoson et al. (2002) Plant Cell Physiol 43:1067-1071



富山大学 神坂盛一郎先生 提供

二次壁は? Presumed architecture of the secondary cell wall

- Lignin infiltrate the space between cellulose microfibrils and become cross-linked
 - セルロース(鉄筋)の間にリグニン(コンクリート)が沈着
- This architecture makes the secondary cell wall strong



Taiz, Lincoln, and Eduardo Zeiger. "Plant physiology. ed." Sunderland: Sinauer Associates 998 (1998): 79.

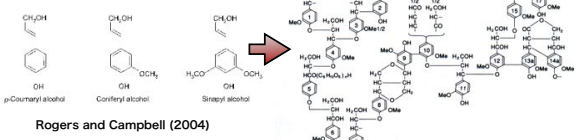
二次生長する「材」に特徴的

- リグニン
- 木材の乾重の20-30%
- モノリグノールが重合
- 合成には多くの酵素が関与



県西部森林組合にてIK Pine wood (from D. G. Shawes, A color atlas of Plant Structure)

モノリグノール



Rogers and Campbell (2004)

古くから知られ二次壁への重力作用と考えられる現象 樹木のあて材 Reaction wood 形成

- 斜面では樹幹が傾きやすい(雪の重み等)
- 根元が反応し、傾いた樹幹を元に戻す

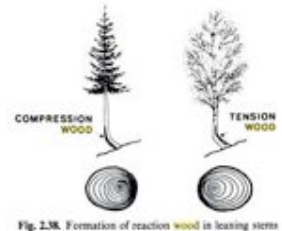


Fig. 2.18. Formation of reaction wood in leaning stems

- 裸子植物: 下で支える compression wood (圧縮あて材)
 - セルロース減るが1-3 glucan とリグニンが増え強くなる
- 被子植物: 上が引っ張る tension wood (引っ張りあて材)
 - リグニンはそのまま減るが、セルロースは増す



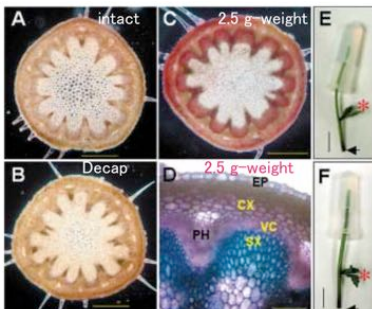
Fig. 2.41. Cross-section of a stem of Pine resinosa showing the location of compression wood (CW), opposite wood (OW) and side wood (SW) (Stead 1972)

傾いていない場合でも、重力に反応するか? 重力を変える単純な方法: Massを増やす

Gravity = Mass x Gravitational acceleration

- 重り(2.5 g, 3 d)を載せる
- リグニン化と二次成長が促進

- 体重が急に変わる
 - ストレス応答と切り分けられない
- 自然な成長では徐々に重力増加
- 重力加速度を変える必要



約10歳齢, 2.5gの重りで3d処理 Jae-Houng Ko et al. Plant Physiol. 2004;135:1069-1083

Idea: to increase a magnitude of gravitational acceleration

- Centrifuge ("Rotating arm")
- testing for high G when launching

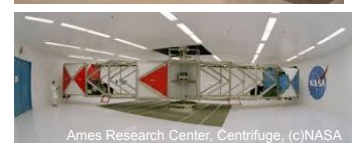


(C) Kubota mfg corp.

Uni. Bremen photo by IK

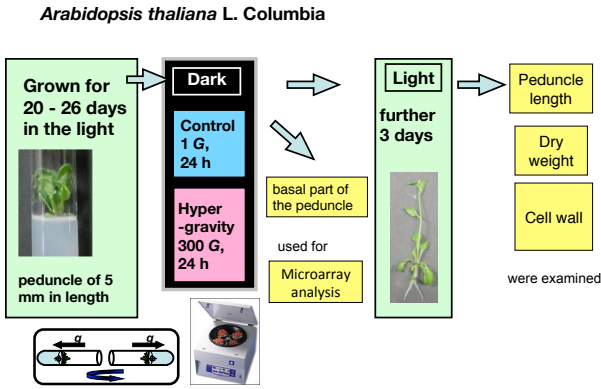


(C) JAXA



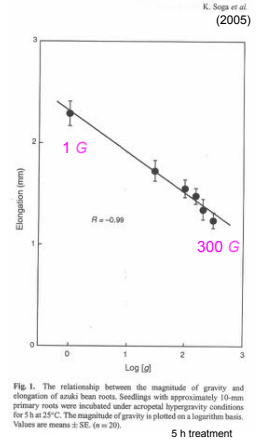
Ames Research Center, Centrifuge, (c)NASA

まずは短期の過重力実験



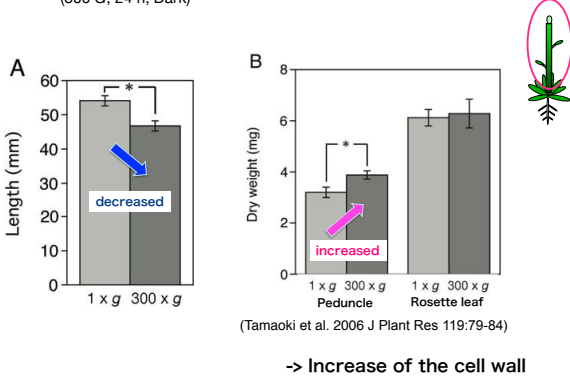
Why do we use 300 G ?

- actually not too strong
 - Dose response relationships between gravity acceleration and elongation of azuki bean root (Soga et al. 2005)
 - A linear relationship was observed
- Plants show normal response under even upto 300 G

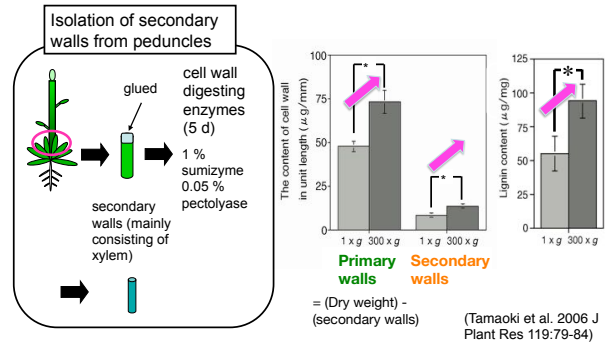


Soga et al. Functional Plant Biology 32: 175–179.

Effect of hypergravity on length and dry weight of the peduncle (300 G, 24 h, Dark)



Effect of hypergravity on the content of cell walls in unit length of the peduncle

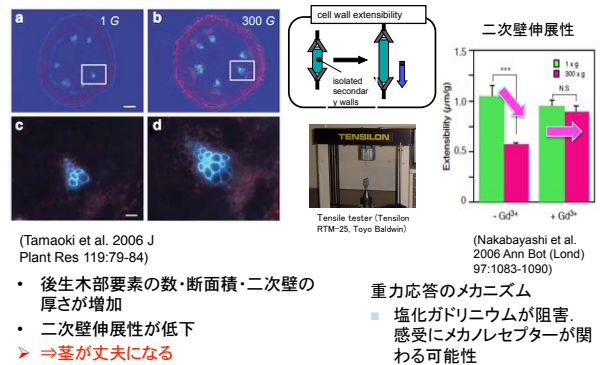


Microarray analysis: Expression of lignin-related genes increased under hypergravity

| Gene | Description | AGI No. | Fold change |
|---------------------------|----------------------------------------|-----------|-------------|
| C4H 1 gene | cinnamate 4-hydroxylase (C4H) | At2g30490 | 2.81 |
| 4CL 3 genes | 4-coumarate--CoA ligase 2 (4CL2) | At3g21240 | 4.24 |
| | 4-coumarate--CoA ligase family protein | At1g20510 | 3.00 |
| | 4-coumarate-CoA ligase -like protein | At3g48990 | 2.72 |
| FAH 1 gene | ferulate-5-hydroxylase (FAH1) | At4g36220 | 2.75 |
| OMT 1 gene | O-methyltransferase 1 (OMT1) | At5g54160 | 2.28 |
| peroxidase 9 genes | peroxidase 30 | At3g21770 | 6.85 |
| | peroxidase, putative | At5g64120 | 10.95 |
| | peroxidase, putative | At3g49960 | 9.36 |
| | peroxidase, putative | At5g58390 | 9.27 |
| | peroxidase, putative | At5g39580 | 6.13 |
| | peroxidase, putative | At4g08770 | 4.28 |
| | peroxidase, putative | At4g11290 | 3.48 |
| | peroxidase, putative | At5g06720 | 2.54 |
| | peroxidase, putative | At3g49120 | 2.29 |

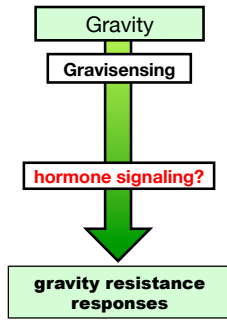
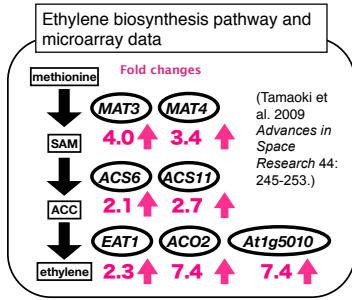
(Tamaaki et al. 2009 Advances in Space Research 44: 245-253.)

過重力がシロイヌナズナ茎の二次壁および(二次壁からなる)木部に与える影響



What kind of hormone signaling is involved in the gravity resistance responses?

- the primary candidate: **ethylene**



Expression of many ethylene biosynthesis genes are upregulated under hypergravity

光を当てながら,より長期栽培:過重力栽培装置の開発

- 生活環を通じた過重力影響の調査
- 富山大学発,特許取得
 - (久米と唐原, 特許第 4899052号)
 - 製作・(株)日本環境計測, (株)松倉(黒部市)

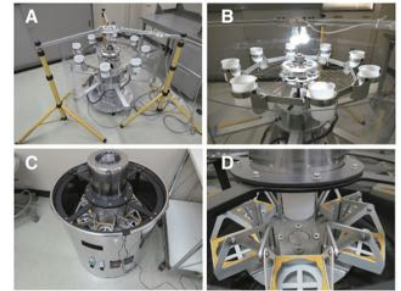


Fig. 1. Photographs of the two centrifuges, MU-17 (A, B) and MK-3 (C, D).

Mori et al. 2017 *Biological Sciences in Space* 31: 9-13.

過重力環境:純粋な「実験上の環境」というわけでもない

- Habitable zone内,
- Earth Similarity Index (ESI)高
- 地球より大きな系外惑星
 - Teegarden's star b: (mass x1.1)
 - GJ 3323 b (mass x2.2)
 - Proxima Centauri b: 1.14 G
 - Kepler-452b, 2 G
- 宇宙開発上,意義はある

| 惑星 | ESI |
|--------------|------|
| 地球 | 1.00 |
| ティージャーデン星b | 0.93 |
| GJ 3323 b | 0.90 |
| TRAPPIST-1d | 0.89 |
| (グリーゼ581g) | 0.89 |
| TRAPPIST-1e | 0.87 |
| プロキシマ・ケンタウリb | 0.87 |
| ケプラー-452b | 0.83 |
| グリーゼ667Cc | 0.78 |
| 火星 | 0.70 |

<https://ja.wikipedia.org/wiki/地球類似性指標>
20191025閲覧

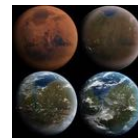


(c) NASA

(c) SETI institute

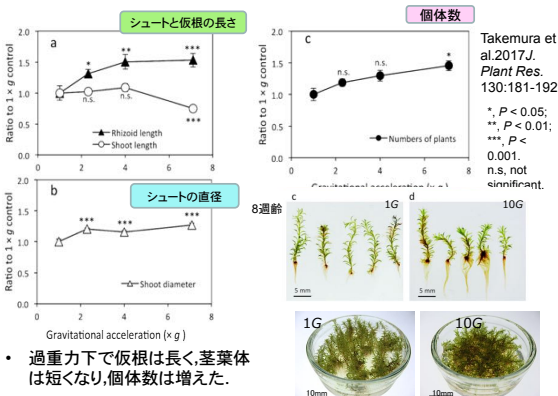
宇宙緑化・テラフォーミングまで想定すると,コケ

- 「火星改造」テラフォーミング最前線」(NHK BSプレミアム, 2014年2月13日)
- Christopher McKay『Making Mars habitable』
ネイチャー 352 巻489号96頁



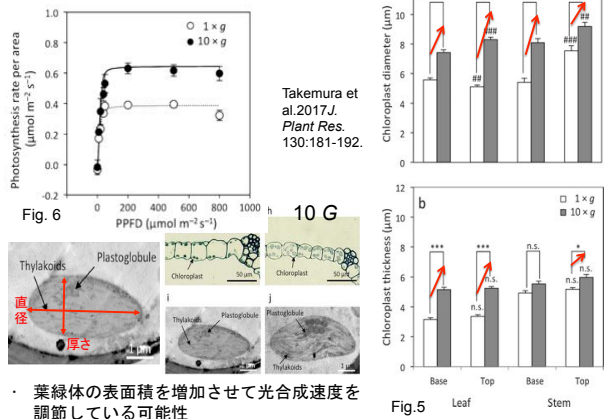
4段階で描いた火星のテラフォーミングの想像図
<https://ja.wikipedia.org/wiki/テラフォーミング>

長期過重力条件下(25d)でのヒメツリガネゴケの成長の変化

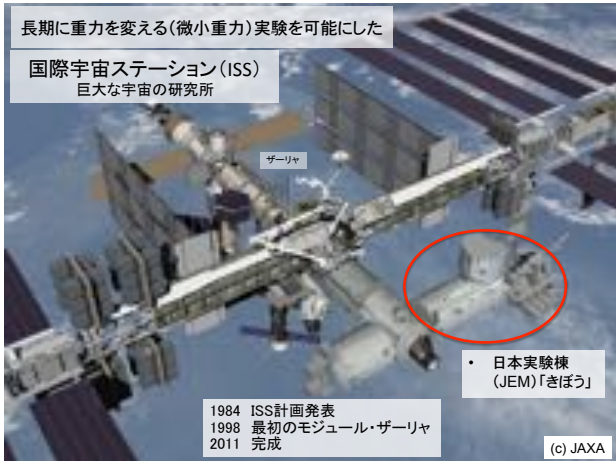


- 過重力下で仮根は長く,茎葉体は短くなり,個体数は増えた.

光合成速度,葉緑体への10G影響



- 葉緑体の表面積を増加させて光合成速度を調節している可能性



SPACE SEED Plant Experiment in Space

PI 神坂先生 2009-2010

「きぼう」実験棟

シロイヌナズナを2ヶ月栽培

軌道上での1G環境と比較

軌道上での1G環境と比較

- 微小重力下で生活環を完了させる
- 栄養成長・生殖成長は?

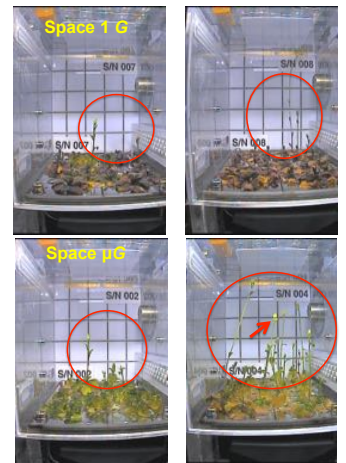
Visible in the payload bay is the Leonardo cargo module that acted as a moving van to bring supplies and equipment to the station during the STS-128 mission

credit: NASA

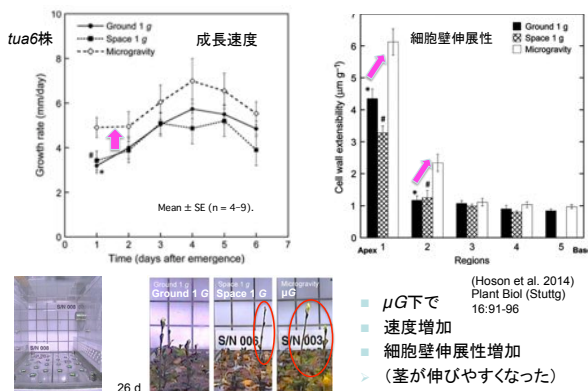


Slight differences in the timings of bolting and flowering under μG

- 28 d after imbibition
- Bolting appeared to take place earlier under μG
- Opening of the first flower
 - Growth stage No. 6.00 (Boyes et al.)
 - Toyama 1 G: 22 d
 - Space 1 G: 27 d
 - Space μG : 20 d
- 国際宇宙ステーション「きぼう」利用科学実験テーマ 実験成果報告書
- <http://iss.jaxa.jp/kiboexp/theme/first/spaceseed/>



微小重力がシロイヌナズナの茎の成長(栄養成長)に与える影響



栄養成長/支持組織などへの重力関与,まとめ

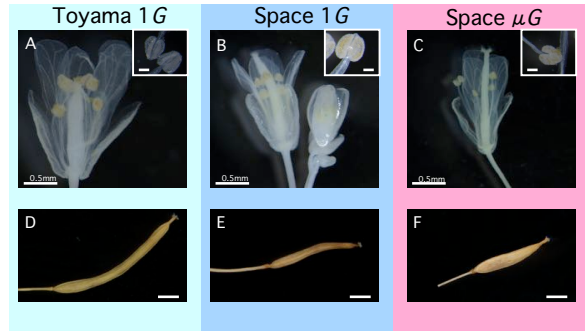
- 一次成長
 - 茎の成長・一次壁の強さは重力に伴い低下
 - 微小重力から過重力まで,統一な説明が可能
- 支持組織・二次壁の発達
 - 繊維を除き,先端部では重力に伴い発達低下(基部では μG 下でも低下しない)
 - 繊維は μG 下でむしろ発達促進傾向
 - 髓腔の発達促進による茎の強度低下を補うためか?
 - 組織・部位により異なる
 - 微小重力と過重力で統一な説明はできない
- 二次成長は未調査

生殖成長,微小重力下での受粉



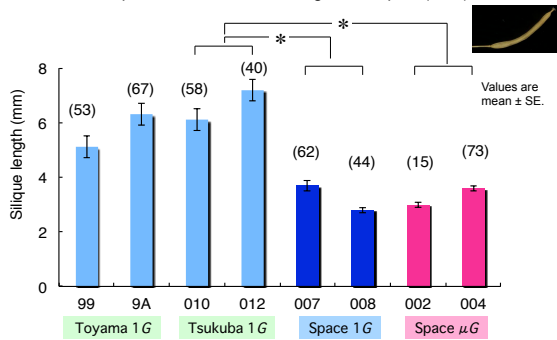
- Stigma, μG (33 d)
- pollination took place
- 国際宇宙ステーション「きぼう」利用科学実験テーマ 実験成果報告書
- <http://iss.jaxa.jp/kiboexp/theme/first/spaceseed/>

Effect of space conditions and microgravity on the morphology of flowers and siliques (33 d)



- Flowers were formed under either condition
- However, length of siliques appeared shorter both under space 1 G and μG
- 国際宇宙ステーション「きぼう」利用科学実験テーマ 実験成果報告書
- <http://iss.jaxa.jp/kiboexp/theme/first/spaceseed/>

Effect of space condition on the length of siliques (62 d)



- Length of siliques was shorter both under space 1 G and μG when compared to Tsukuba 1 G (*; Nested ANOVA, $P < 0.05$).
- 国際宇宙ステーション「きぼう」利用科学実験テーマ 実験成果報告書
- <http://iss.jaxa.jp/kiboexp/theme/first/spaceseed/>

生殖器官への宇宙環境の影響(NASA)

- 上,地上:(宇宙試料に近いと思われる) Zinnia x hybrida 'Profusion Orange' (Garden Ready)
 - © 2018 Thompson & Morgan
 - <https://www.thompson-morgan.com/pl/zinnia-x-hybrida-profusion-orange-garden-ready/t72176TM>
- 下,ISS: Zinnia hybrida cv. 'Profusion' Jan. 16, 2016
 - <https://www.nasa.gov/image-feature/first-flower-grown-in-space-stations-veggie-facility-0>
 - 雌花(舌状花)とその雌蕊は見られるが,両性花(筒状花)が全く見られない
- 器官周辺の微気候(熱対流低下)の影響か



生殖成長における重力影響

- 開花期は μG 下では早まり,過重力下では遅れる
- μG および過重力下では,雄器は雌器より影響を受けやすく,雄蕊が短くなる
- seed to seed実験として μG 下での生活環完了には成功
- ただし宇宙における(重力条件以外の)環境制御に課題

根の問題

- start from a pilot plant (factory level)
 - hydroculture
- expand to a farm level
 - use regolith of moon or mars

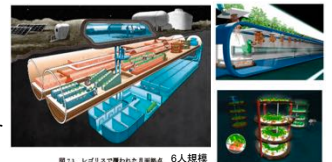


図 9.3 トリゴリスで実験された月面栽培 6人規模

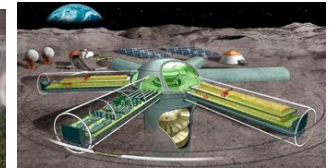
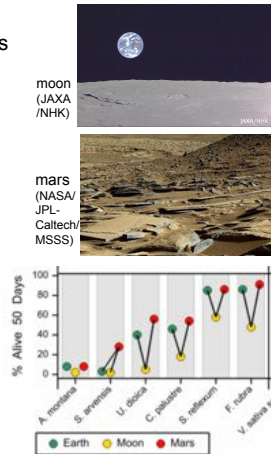


図 9.3 月面農場全体イメージ (100人規模)

Rhizosphere Regolith, moon and mars

- Similarities (to earth soil)
 - nutrient poor
 - traces of nitrates and ammonium
- Differences
 - Moon (w/H₂O), high pH 9.6
 - earth, 8.3; mars, 7.3
 - Mars, high K and C
- Growth exp. using simulant (w/o nutrients)
 - Mars ≈ Earth > Moon
 - Wamelink et al. (2014) *PLoS One* 9: e103138.



Other factors

Fertilizers

- Chemical (transport)
- Organic (recycle)
 - soil microorganisms
 - ammonifying, nitrifying bacteria
 - pathogens
 - hard to control
 - (Biosphere2)



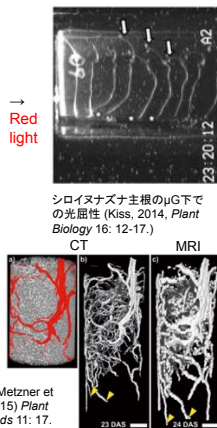
Gravity

- 0.17 G (Moon), 0.38 G (Mars)

根に対する重力の影響

個根への重力影響

- **重力屈性**: 主根(Baldwin, 2013)・側根(Kuya and Sato, 2011)
 - 閾値は 2.0×10^{-3} G以下 (Driss-Ecole et al., 2008)
- 光屈性の重力による阻害
 - 閾値は 0.1 G以下 (Kiss, 2014)
 - 月・火星でも根の重力感受は問題ない?
- 水分屈性 (Miyazawa et al., 2012)



培地環境への重力影響

- 低重力は培地中の水分分布に影響 (北毛ら, 2018)

- 根系レベルでの重力影響は未知
- 根系の可視化そのものが課題

トモグラムにおける、シロイヌナズナ個根の同定

- 根の基部
- ズーム顕微鏡像(実物)とCTスライスを照らし合わせ
- 個根の像を同定

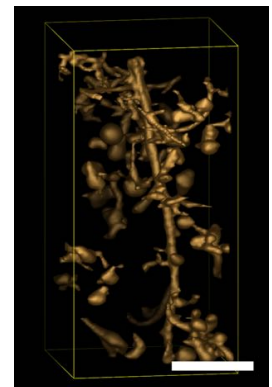


Fig. 1. 3D surface model of an Arabidopsis root constructed by using a software IMOD (Hutch1 data). Bar = 200 μm.

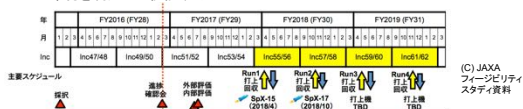
Kurogane et al. 2019 *Microscopy* 68: i51-i51.

2012年以降「きぼう」で唯一の植物宇宙実験候補 2015年度採択JAXA「きぼう」利用フィージビリティスタディ 「宇宙におけるコケ植物の環境応答と宇宙利用(スペース・モス)」

目的 重力依存的な新規バイオマス制御機構の解明とキーファクターの同定

- 藤田知道(代表), 田中歩(北海道大学): 遺伝子・タンパク質解析
- 蒲池浩之, 唐原一郎(富山大学): 成長測定, 形態変化, 遠心装置開発
- 久米 篤(九州大学): 細胞壁の機械的強度
- 半場祐子(京都工芸繊維大学): 光合成活性
- 日渡祐二(宮城大学) 先端成長や生細胞イメージング

地上での過重力実験では間接効果と真の重力応答を切り離すことができないため、微小重力環境を利用して検証する。



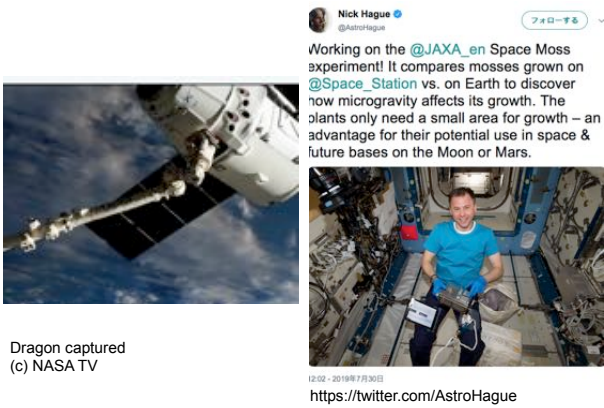
Space Moss 2019年7月25日に打ち上げ

- 民間宇宙ベンチャー
- 実業家のElon MuskのSpaceX社
- Falcon 9 ロケット
- At 6:01 p.m. EDT, or 22:01 UTC, on Thursday, July 25, SpaceX launched its eighteenth Commercial Resupply Services mission (CRS-18) from Space Launch Complex 40 (SLC-40) at Cape Canaveral Air Force Station, Florida.
- <https://www.spacex.com/news/2019/07/25/dragon-resupply-mission-crs-18-launch>



<https://youtu.be/SigrxVuP5jk>

Space Moss arrived at the ISS



Acknowledgements, Collaborators

- Ryohei Yamaura, Tomofumi Kurogane, Ryota Sawada, Koshiro Tanihata, Masaki Muramoto, Shunya Sujishi, Takamichi Suto, Umi Yashiro, Emi Okamoto, Daisuke Tamaoki, Seiichiro Kamisaka (Univ. Toyama)
- Sachiko Yano, Fumiaki Tanigaki (Japan Aerospace Exploration Agency)
- Toru Shimazu, Keiji Fukui (Japan Space Forum)
- Haruo Kasahara, Daisuke Masuda (Japan Manned Space System Ltd.)
- Hirokazu Kasahara (Tokai University), Mitsuhiro Yamada (University of Tokyo)
- Takayuki Hoson, Koichi Soga (Osaka City University)
- Yoshinobu Mineyuki, Daisuke Yamauchi (University of Hyogo), Kentaro Uesugi, Makoto Hoshino, Akihisa Takeuchi, Yoshio Suzuki (JASRI)
- This study was supported by MEXT KAKENHI (No. 21570064,24620003)
- Experiments were performed with the approval of JASRI (Proposal nos 2014A1265, 2014B1225, 2015B1556, 2016A1390).