

生体高分子試料を含む氷衛星ブリューム模擬微粒子の超高速衝突捕集と分析(1): ペプチド回収と検出の成功

矢野創(JAXA/ISAS)、藤島皓介(NASA/ARC, ELSI)、
田端誠(千葉大学)、河口優子(東京薬科大学)、
高野淑識(JAMSTEC、JAXA/ISAS)、渋谷岳造、高井研(JAMSTEC)、
平井隆之(JAXA 研究開発部門)、関根康人(東京大学)、
Benjamin Carbonnier、Mohamed Guerrouache (University Paris-East)、Lynn J. Rothschild (NASA/ARC)

1. 研究背景と目標設定

土星衛星エンケラドスや木星衛星エウロパなど、外惑星領域の氷衛星が有する内部海は、地球外生命が現存しうる場として、アストロバイオロジー分野で近年注目されている。特に 2005 年、エンケラドスの南極域から高速で噴出する、有機物やナノシリカを含む海水ブリュームの存在が、探査機カッシーニのその場観測によって確認された。この「地下居住可能領域＝内部海」(Ocean World)の発見(図1)は、中心星からの距離と天体表層に液層の水が存在できる環境によって規定された「古典的なハビタブルゾーン」からの大きなパラダイムシフトである。すでに 2016 年1月に NASA は、次期中型太陽系探査プログラム(ニューフロンティア計画)候補に新たにエンケラドスを含む「Ocean World」探査を明記し、ポスト火星探査時代の無人太陽系探査の潮流を決定づけた。

私たちはそうした新時代の到来を予見して 2011 年より、2020-30 年代に国際協力で実現すべき「氷衛星アストロバイオロジー探査」に向けた基礎研究として、特にエンケラドスに代表される内部海ブリュームからの放出海水微粒子中に含まれる生命の「実体・痕跡・兆候」等を評価するために必要な、内部海由来の岩石や氷微粒子のサンプルリターン及びその場分析の双方を実現するミッションデザイン検討(表1)とそれらの基盤技術を追求してきている。

本研究はその準備研究の発展形であり、2015 年度から JAXA/ISAS 超高速衝突実験装置を利用し、エンケラドス微粒子に含まれる有機物含有鉱物の捕集、検出、分析に関する模擬実験を開始した。過去にはEuReCa、スターダスト、たんぽぽプロジェクトのような、鉱物、微生物、低分子有機物のエアロゲル捕集技術の先行研究はあったが、超高速衝突捕集時に生体関連高分子が受ける物理学的、化学的影響に注目した評価実験は本研究の独創である。

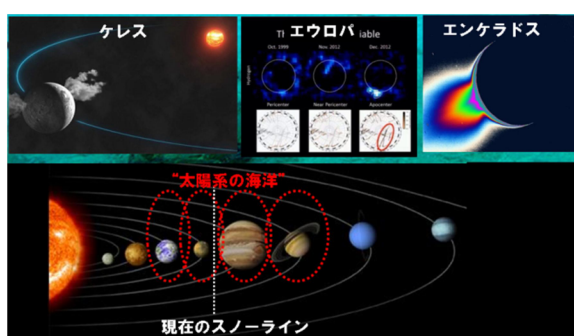


図1(上): 太陽系内の内部海に注目した「海世界 (Ocean World)」探査の対象となる天体例

表1(右): 国際エンケラドス海水サンプルリターンのミッションデザイン検討のトレードオフ例

	タイプ1	タイプ2-1	タイプ2-2	タイプ3
概要	自由帰還軌道	土星周回軌道	土星周回軌道	衛星周回軌道
サンプリング	> 7 km/s, 1回	~ 4 km/s, 複数回	~ 4 km/s, 複数回	0.2 km/s, 複数回
全球測地	不可	不可	不可	可
総ΔV	小 0 km/s	中 3 km/s	中 3 km/s	高 7 km/s
電力/推進	ASRG/化学推進	ASRG/化学推進	電力セイル/電気推進	電力セイル/電気推進
開発体制	日本主体 + 米国支援	日本主体 + 米国支援	国際協力 日本主体	国際協力 日本主体
期間	25年	14年	14年	26年

低 ← 科学優先度 技術開発要素 → 高

参考: サンプリング速度: カッシーニ = 8-14 km/s、スターダスト = 6.1 km/s

本研究の実験期間は4年間を目途とし、その間に

- (1) 生体関連分子を含む内部海模擬試料の非破壊捕集の基盤技術の確立、
- (2) ポリマー配列を1分子レベルで解読する生体分子検出・分析方法の確立、

(3) 試料採取及びその場分析を可能とするミッションデザインの制約条件の抽出、

の三本柱の成果創出を目指している。これらにより、近未来の外惑星領域生命探査において、我が国が独自かつ重要な基礎データを提供できる科学的、技術的礎を生み出すことに貢献できることを目指す。

2. 実験条件・セットアップ・結果

直径 500 km 程度の土星衛星エンケラドスは、内部海由来の水氷と有機物、ナノシリカ等を含む微粒子を、現在も宇宙空間へ噴き出している。土星からの平均距離 238,020 km の公転軌道からEリングへ構成微粒子を供給しており、32 時間 53 分で公転している。自転は公転に同期している。アルベドは 1.375 と極めて高く、新鮮な氷表面が露わになっている。全球の平均表面温度は 75K 程度であり、南極域のプルームに含まれるガス成分はカッシーニ探査機の計測により、水蒸気イオン 91%、窒素 4%、二酸化炭素 3.4%、メタン 1.7%程度と見積もられている。Waite et al. (2009)は、放出微粒子の化学分析から有機物や海塩が含まれることを示した。Hsu et al. (2015)は熱水化学反応生成物(ナノシリカ)の存在を示した。これらから熱水鉱床による、地殻と海水間の化学反応や生命活動の可能性が論じられている。

これらをより直接的に調査するためには、太陽から遠い土星系でのその場計測を可能にする省電力で高性能な観測機器のイノベーションが不可欠である。その一例が、大阪大学が中心となって開発中の「マルチターン型飛行時間型質量分析計(MULTUM)」であり、質量分解能: $m/\Delta m = 10000-50000$ 、質量計測レンジ < 500-1000 Da の性能で、 N_2 , CO , C_2H_4 の分離や、同位体の測定を可能とする。もう一つの方角性が、小型・軽量のオンチップ液体分析装置の中で生体分子を検出する「キャピラリー電気泳動分析装置」(図 2)である。宇宙空間での微小キャピラリー中の液体分析であり、液体の導入と誘導をガス圧を用いずに、電力のみで可能とするのが特徴である。本研究ではその実現に向けて、エアロゲルで捕集した微粒子を、エアロゲルごと溶液に浸潤させてキャピラリーへ導入する(図 4)、という独創的な分析技術を試行している。

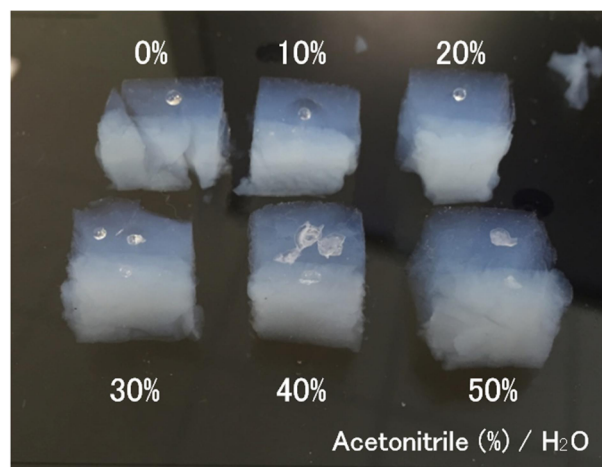
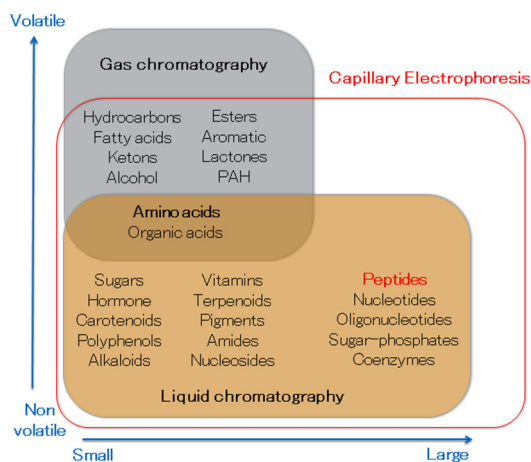


図 2: キャピラリー電気泳動分析と気体・液体クロマトグラフ分析の揮発成分・分子サイズに関する有利性の比較

図 3: 異なる濃度のアセトニトリル・水混合液滴の疎水性エアロゲル上での振る舞いの違い

放出微粒子の捕集メディアは、探査機とプルーム間の相対衝突速度に応じて、適切な素材を選ぶ必要がある。本研究では、表1のミッションデザインの検討結果から、カッシーニ探査機同様に土星周回軌道上のフライバイサンプルリターン・衝突電離分析が妥当と判断し、典型的な衝突速度を 4km/s と仮定した。これはヴィルト第二彗星コマにて 0.03 g/cc 程度のエアロゲルを用いてフライバイサンプルリターンを行ったスターダスト探査機の衝突速度 6.1 km/s より3割以上遅い速度であり、非破壊捕集には有利である。そのため本実験の捕集メディアとしては、地球周回軌道上での宇宙塵捕集を目指すたんぽぽプロジェクト用に開発された二層式疎水性エアロゲル (0.01 g/cc, 0.03 g/cc) を採用した(図 3)。衝突速度はあえてスターダスト並みの 5.5-6 km/s とし、エンケラドス会合速度の上限とした。衝突角度は全て垂直とした。

プロジェクトは、微生物を含浸させた衝突捕集実験に実績がある粘土鉱物(モンモリロナイト)に、今回人工的に調合した生体関連高分子であるペプチド(アミノ酸が重合した分子)を 17 種類選び、定量的に含浸させた(図 4)。これらは、

エンケラドス内部海の熱水活動または生命活動の証拠となりうる短いペプチド(アミノ酸が重合した分子鎖)が、海底起源の固体微粒子に付着している状態を想定して選定した。平均直径 100-200 ミクロンのこれらプロジェクトイルを二分割サボに詰め、ISAS横型二段式軽ガス銃にて散弾銃式で上記のエアロゲルへ照射した(図 5)。表2に実験結果をまとめた。全 11ショット中 9 ショット、有効データの取得に成功した。

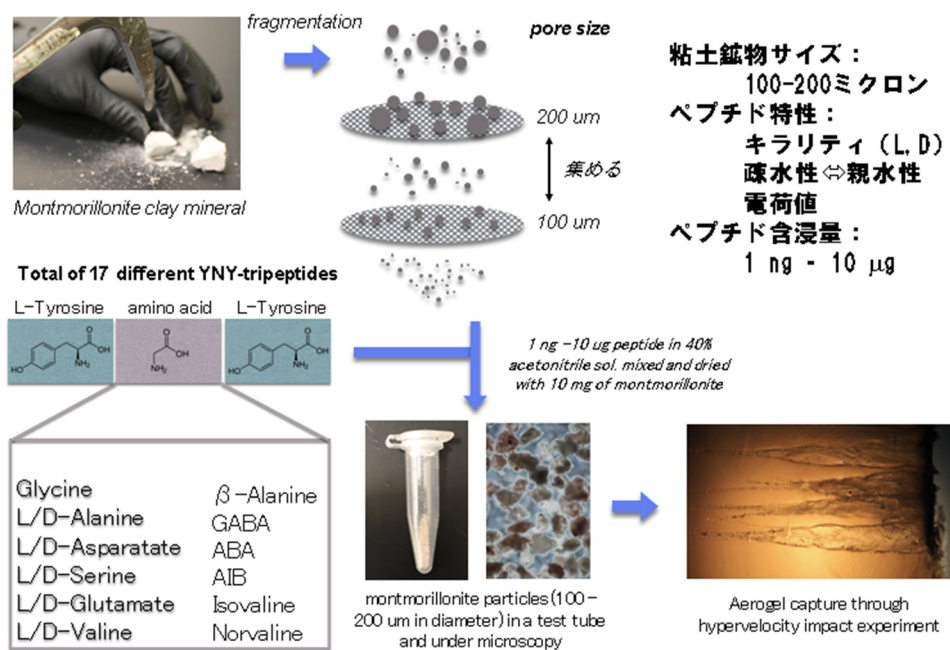


図 4：生体分子含浸プロジェクトイル試料の準備手順



図 5：0.01g/cc 疎水性エアロゲルに捕集された、5.5km/s 程度で衝突したペプチド含有モンモリロナイト鉱物粒子

ID	Sample	Peptide weight	Speed (km/s)	Success	Target Aerogel	Vacuum (torr)	Comments (shot)	Memo for peptide extraction	UV/Vis detection
150413-01	No peptide	-	5.81	Yes	TNPPp5-4a	~1	~10 impact entries in both 0.01/0.03		
150413-02	All	100ng	5.68	Yes	TNPPp5-4a	~5	~10 impact entries in 0.01		
150413-03	L+D	10ng	5.68	Yes	TNPPp5-4a	~2	two large impact entries in 0.01		
150414-01	All	1ng	5.68	Yes	TNPPp5-4a	~2	~20 impact entries in both 0.01/0.03		
150414-02	L + Non standard	1 ug	4.97	No	TNPPp10-6c	~2	Sabot hit the aerogel, holder shattered		
150414-03	L + Non standard	10 ug	5.55	Yes	TNPPp10-6c	~3	~30 impact entries in both 0.01/0.03	Extracted with 200 ul of 30% acetonitrile then evaporated	No detection.. too few particles?
150414-04	L+D	10 ug	5.58	Yes	TNPPp10-6c	~3	~30 impact entries in both 0.01/0.03		
150415-01	All	10 ug	5.56	Yes	TNPPp5-2c	~2	a lot of impact entries in both 0.01/0.03	Extracted with 500 ul of 30% acetonitrile then evaporated	Peak detected!
150415-02	L+D	10 ug	5.61	Yes	TNPPp5-2c	~3	a lot of impact entries mainly in 0.03	Extracted with 200 ul of 30% acetonitrile then evaporated	Peak detected!
150415-03	L + Non standard	10 ug	5.61	Yes/No	TNPPp5-2c	~3	only few impacts		
150415-04	L + Non standard	10 ug	5.53	Yes	TNPPp5-2c	~3	a lot of impact entries in both 0.01/0.03	smashed and soaked in 3 ml of 10% acetonitrile then evaporated	No detection

表2：本研究第一回(2015/04/13 -15)のLGG衝突実験の実績一覧

3. 捕集試料の分析結果

衝突実験後、モンモリロナイトが捕集されていることを確認できた疎水性エアロゲルについて、探査機上での「キャピラリー電気泳動分析装置」を想定し、捕集微粒子を個別に摘出することなく有機物を直接抽出する方法を試した。具体的には、二段式軽ガス銃の後追いガスで汚染された表面を除いて残ったエアロゲル体積を小片に分割し、30-40%アセトニトリル水溶液を浸潤させた上で、エアロゲル小片自体をシリンジ中で50回攪拌して破壊し、その後濃集抽出のために乾燥蒸発させた。次に、電気泳動分析用溶液に浸し、攪拌して、キャピラリー電気泳動方式でペプチドの抽出を、フランスにて試みた。衝突前のブランク試料(図6)との比較を行った結果、以下のような結果を得た。

(1) ブランク計測として、キャピラリー電気泳動を利用した異性体を含む17種類のペプチドの分離に成功した。(D-アミノ酸を含むペプチドは同じL-アミノ酸よりも泳動度が遅い傾向がある。)

(2) 0.01g/cc エアロゲルで捕集した衝突速度~6km/sのモンモリロナイト粒子からは、Y-D-Y ペプチド二種(Y-Asp-Y, Y-dAsp-Y)のみ抽出・分析に成功した(図7) [1]。

(2)で分析に成功したペプチドは、共にL,Dアスパラギン酸、負電荷、親水性という性質を持つ。つまり電荷を帯びたペプチドだけが選択的に抽出され、その他のペプチドは疎水性エアロゲルに吸着されて抽出できなかった可能性が示唆される。つまりエアロゲルに閉じ込めたまま電気泳動分析をする場合、抽出可能なペプチドかどうかは、個々の分子の疎水性、電荷状態、衝突エネルギー、含有量・抽出効率・検出限界等の諸条件が関係している可能性があると言える。

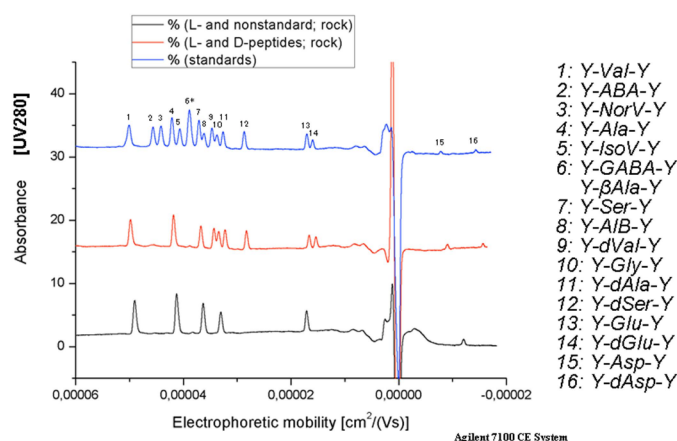


図6: 衝突前の17種ペプチドの電気泳動度・紫外吸光度の比較

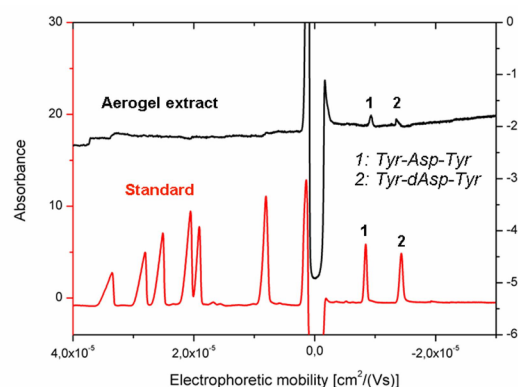


図7: 衝突後の疎水性エアロゲルから抽出検出されたペプチド二種

4. 結論と今後の課題

Ocean World 探査時代の到来を予見してエンケラドスプリーム微粒子中から生命の実体・痕跡・兆候等を調査するためのサンプルリターンとその場分析に共通する捕集メディアとしてシリカエアロゲルを選び、生体関連分子・ペプチドを含浸させた粘土粒子の超高速衝突捕集実験を行った。その結果、一部のペプチドの回収と検出に成功し、個々の疎水性、電荷状態、衝突エネルギー、含有量・抽出効率・検出限界等の諸条件が関係している可能性があることを見出した。

そこで次回以降の衝突実験では、電荷と疎水度が段階的に異なるペプチドを疎水性エアロゲルで捕集、抽出・分析する。その際、ペプチドを含浸させプロジェクトは粘土鉱物からエンケラドス地殻成分により近いシリカ等に置き換えることで、内部海起源試料の捕集状況を推定する。さらに新規に親水性エアロゲルを製作して、親水性エアロゲルの化学的特性の違いが、集後に溶出されるペプチドの種類と濃度、回収効率に与える影響を確認する。さらに軌道計画をより強く制約するため、2 km/s, 6 km/s の二種の衝突速度での回収効率の違いを確認することも必要であろう。

5. 参考文献

[1]. K. Fujishima, B. Carbonnier, M. Guerrouache, and L/ Rothschild: To the Plumes of Icy Moon and Elsewhere: in situ analysis of extraterrestrial organics and biomarkers using Miniature Electrochromatographic Monolithic Column (MEMoC). Astrobiology Science Conference, Chicago, Illinois, USA (June, 2015)