

# 生体高分子試料を含む氷衛星プルーム模擬微粒子の超高速衝突捕集と分析(2): 親水性エアロゲル捕集の物理的特徴

矢野創(JAXA/ISAS)、藤島皓介(NASA/ARC, 東工大/ELSI)、  
田端誠(千葉大学)、沼保壮太(慶応大)、高萩航(慶応大)、富田勝(慶応大)、  
高野淑識(JAMSTEC, JAXA/ISAS)、高井研(JAMSTEC)

## 1. 研究背景と目標設定

2020-30年代のアストロバイオロジー研究の中核として海洋天体 (Ocean World) 探査が実現に向けて進展しつつある現在、筆者らは土星衛星エンケラドスに代表される内部海を有する天体から放出されるプルーム微粒子を捕集し、その試料から生命の実体・痕跡・兆候等を調査するためのその場物質分析およびフライバイサンプルリターン探査のクリティカルパス技術の基礎研究を行っている。具体的には、(1)内部海由来の岩石や氷微粒子の非破壊捕集と(2)軌道上での有機物・生体分子のその場分析、ないしは(3)惑星保護対策を施した地球帰還カプセルを密閉したままで行う岩石・有機物微粒子の主要分析、の三つの新しい探査・分析戦略の実現を目指している。本研究はその一環として、2015年度から JAXA/ISAS 超高速衝突実験装置を利用し、プルーム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。実験の全期間は5年間以下とし、

- (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が可能なミッションデザインの制約条件の抽出、  
の三本柱の成果を創出する。

初年度は、フライバイ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宇宙実績を積んでいる「たんぼぼ」捕集パネルに使用されている(メチルシリケート加工による)疎水性の国産シリカエアロゲル(0.01g/cc)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(アミノ酸が重合した分子鎖)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。

二年目である本年度は、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が、海底起源の固体微粒子に付着している状態を想定したシリカ微粒子を飛翔体に用いること(図1)で、内部海起源試料の捕集状況を推定できるようにした。さらに新規に親水性シリカエアロゲルを製作し、疎水性・親水性二種類の等密度エアロゲルに電荷・疎水度等の化学的特性の異なる8種類のペプチドを衝突させ、その物理的応答及び、捕集後に溶出されるペプチドの種類と濃度、抽出効率に与える影響を確認した。

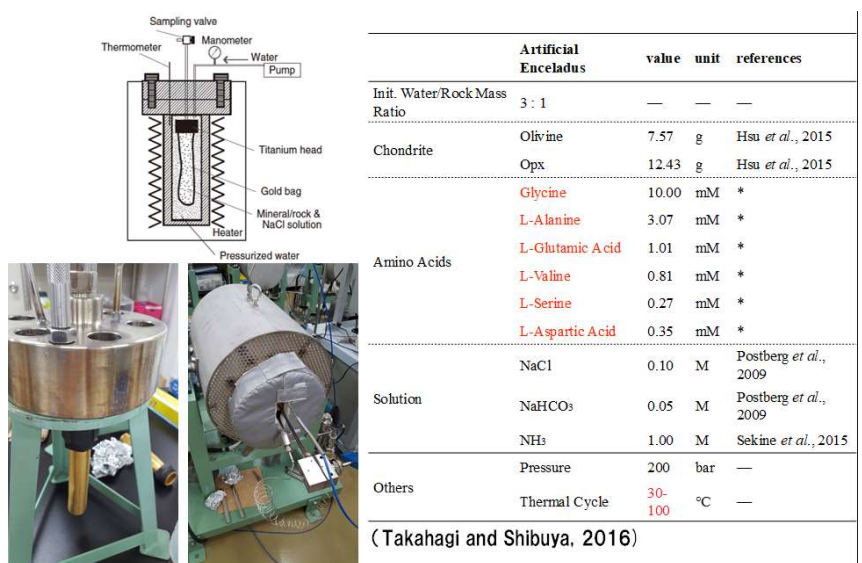


図1: 模擬エンケラドス海底微粒子を生成した JAMSTEC 熱水反応炉による煮込み(生成)実験の様子

## 2. 衝突実験条件・結果

ISAS 二段式軽ガス銃での衝突実験に用いた「模擬エンケラドス」微粒子は、粒径 70-200  $\mu\text{m}$  の非晶質シリカに異なる疎水度・分子量・電荷を有する 8 種類の 7 アミノ酸残基長のペプチドを 1mg あたり 20  $\mu\text{g}$  乾燥付着させたものであった。具体的には、平均半径  $R = 84 \mu\text{m}$ 、密度 = 1.25mg/mm<sup>3</sup>、平均質量  $m = 3.51 \mu\text{g}$ 、平均運動エネルギー: 29.5 mJ / 粒子、平均細孔径: 60Å 程度であり、7 アミノ酸のペプチドの平均長さは 10~20Å と仮定できるので、表面積~500 m<sup>2</sup>/g のシリカ表面の細孔内に十分収まることが分かる。

ID	Sample	particle mass (mg)	Speed (km/s)	Success	Target Aerogel (g/cc)	Aerogel 由来	Vaccum (Pa)
170209-1	SiO <sub>2</sub> のみ(ブランク)	~5	4.84	Yes	親水性 (0.01)	本研究(2017)	2
170209-2	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	4.13	Yes	親水性 (0.01)	本研究(2017)	1.5
170209-3	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	4.15	Yes	親水性 (0.01)	本研究(2017)	2
170209-4	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	4.09	Yes	疎水性 (0.01/0.03)	TNPP-p5-2c	2
170210-1	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	4.19	Yes	疎水性 (0.01/0.03)	TNPP-p5-2c	1
170210-2	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	4	Yes	親水性 (0.01)	本研究(2017)	0.5
170210-3	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	4.05	Yes	親水性 (0.01)	本研究(2017)	1.5
170210-4	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	6.4	Yes	親水性 (0.01)	本研究(2017)	1.5
170211-1	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	6.33	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-4a	1
170211-2	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	6.38	Nominal	親水性 (0.01)	本研究(2017)	0.7
170211-3	SiO <sub>2</sub> のみ(ブランク)	~5	6.38	Nominal	親水性 (0.01)	本研究(2017)	1.5

表 1: JAXA/ISAS 二段式軽ガス銃による超高速衝突実験結果(A):  
8種の親水基ペプチドの親水性エアロゲルによる捕集(2017/02/09-13 実施)

ID	Sample	particle mass (mg)	Speed (km/s)	Success	Target Aerogel (g/cc)	Aerogel 由来	Vaccum (Pa)
160615-01	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	4.04	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-5a	0.1
160615-02	SiO <sub>2</sub> +Enceladus sea water evaporite	~5	4.14	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-5a	3
160616-01	SiO <sub>2</sub> +Enceladus sea water evaporite	~5	6.29	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-5a	2.5
160616-02	SiO <sub>2</sub> +Enceladus sea water evaporite	~5	1.94	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-2c	0.5
160616-03	SiO <sub>2</sub> +Enceladus sea water evaporite	~5	2.065	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-2c	2.5
160616-04	SiO <sub>2</sub> +Enceladus sea water evaporite	~5	4.16	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-5a	3
160617-01	SiO <sub>2</sub> +Enceladus sea water evaporite	~5	6.197	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-5a	1.5
160617-02	SiO <sub>2</sub> のみ(ブランク)	~5	1.989	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-5a	0.5
160617-03	SiO <sub>2</sub> +ペプチドmix	~5	3.99	Yes	疎水性 (0.01)	TNPP-p5-4a	2

表 2: JAXA/ISAS 二段式軽ガス銃による超高速衝突実験結果(B):  
模擬エンケラドス海水乾燥物の疎水性エアロゲルによる捕集(2016/06/15-17 実施)

衝突速度は、エンケラドスプリュームへのフライバイ軌道の会合速度である約 4km/s を想定した。これらの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各エアロゲル試料へ照射した。表1、2に実験結果をまとめた。二回の実験キャンペーンで全 20 ショット実施し、18 ショットで有効データの取得に成功した。密度 0.01g/cc のエアロゲルにおける各衝突痕の平均体積と運動エネルギー関係性は 1.04 mm<sup>3</sup> / mJ 提程度であった。

### 3. 捕集試料の分析結果

エアロゲルの物理的応答に関して、計 20 個の超高速衝突トラック(図2、3)の入口径と体積の関係性を二次元プロットした結果、密度 0.01g/cc の親水性及び疎水性エアロゲルの回帰直線が重なったことから、化学的特性の違いによる衝突時の物理的応答の差はないことが示された(図4)。

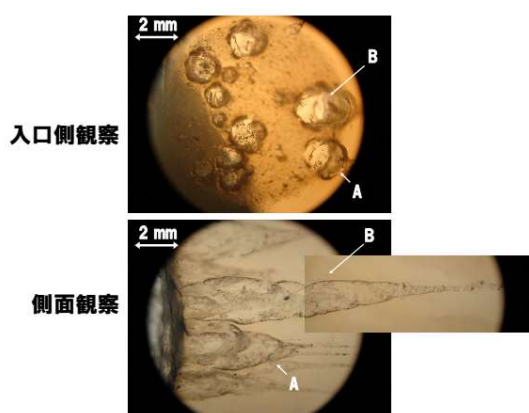


図2: 親水性エアロゲル上の超高速衝突痕の物理測定



図3: 0.01g/cc 親水性エアロゲルに捕集されたペプチド含有シリカ粒子が形成したトラック

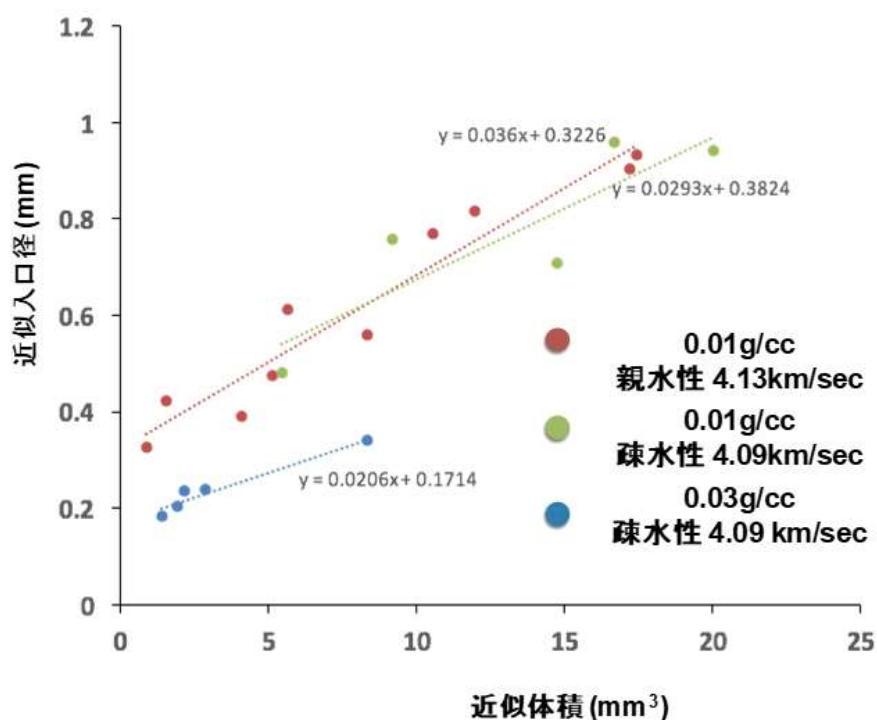


図4: 衝突痕の入口径と体積の関係性

逆に同一の化学的性質を持つ疎水性エアロゲルにおいては密度が高いほど、入口径が小さくなる現象が確認された(図5)。

さらに、エアロゲルの化学的特性の違いが有機物抽出に与える影響を検証した。エアロゲルに対して浸潤可能な溶媒の条件検討を水と低極性溶媒のアセトニトリルの濃度比率を変えることで行った。その結果、親水性エアロゲルは 20%アセトニトリル水溶液、疎水性エアロゲルは 40%アセトニトリル水溶液で、それぞれ浸透効果が確認された。



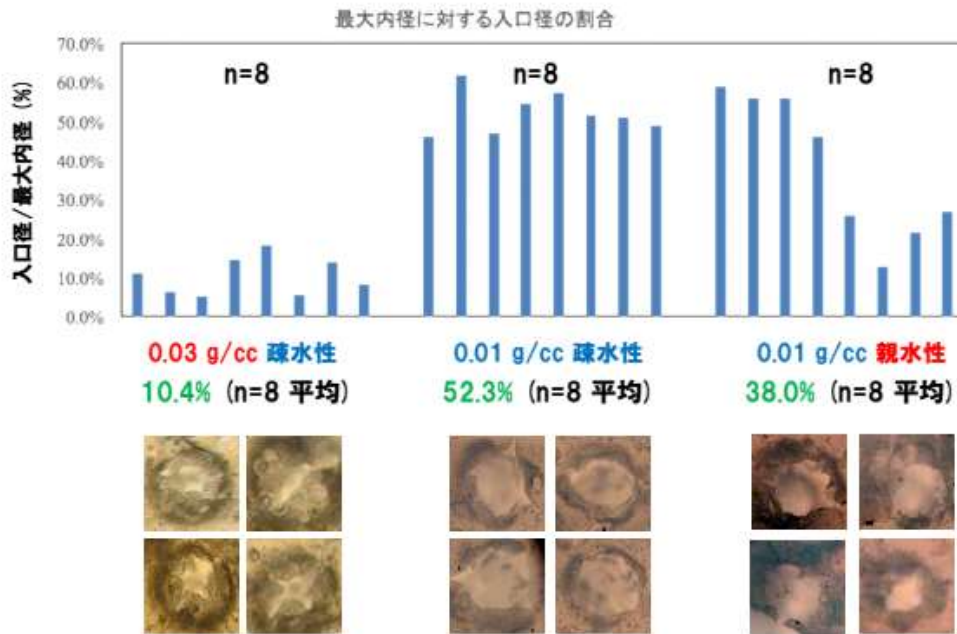


図5:衝突トラックの入口径、体積と衝突速度の相関

捕集後のペプチドの抽出分析としては、同溶液組成をエアロゲル抽出溶媒として規定し、8種類のペプチドの混合溶液(5 nmol)を含浸させたエアロゲルから抽出を物理的破壊と遠心分離にて行い、Infinity 1260 LC システム (Agilent 社)を用いた HPLC 測定による分離・定量分析を行った。その結果、8種類のペプチドのうち6種類をカラム分離することに成功し、全体としては疎水性エアロゲルから27.8%、親水性エアロゲルから31.1%の効率でペプチド抽出されることがわかった。

個別のペプチドを見ると疎水性アミノ酸アラニン(A)を含むペプチド 3(GAAGQQY)とペプチド 5(GVVGAAY)において親水と疎水の抽出率の差が6.2%と9.2%だったことから、今後も個々のペプチドに対する疎水相互作用の定量評価を継続する必要がある。なおサボ内のペプチド+シリカの弾は直径約100 $\mu$ mのシリカ粒子の表面にペプチドを蒸発乾固させたものであることから、衝突後に割れた破片と共にペプチドが壁面及び螺旋状のトラック溝に多く蓄積していると考えられる。一方、末端で捕獲された最大破片は最外殻がはがされるため、残留ペプチドは微量であると予想される。

採取後のシリカ粒子の電子顕微鏡下での観察測定から粒径と体積の分布を求め、エアロゲル衝突面の画像解析から得られた入口径と衝突痕数(n=12)から、最終的に捕集された微粒子の質量を42.1 $\mu$ gと導出した。それに基づいて8種類のペプチド mix の存在量を推定(842.4 ng)し、抽出効率をかけることで最終的なペプチド毎の濃度(374 nM)を推定した。ただし、今回の微粒子では分解率が未知であるため、実際の濃度は算出した濃度よりもかなり少ない可能性が考えられる。HPLCのダイオードアレイ検出を用いてチロシン(吸光280 nm)及びペプチド結合(吸光215 nm)に対応するピークを探索したが、エアロゲル抽出液(衝突面と衝突痕)からは今回確認することができなかった。捕集サンプルの収量の少なさ、分解率、8種類のペプチド由来の分解産物に起因するS/N比の増加などが、要因としてあげられる(図6)。

#### 4. 結論と今後の課題

初年度には0.01g/cc疎水性エアロゲルで捕集した、速度6km/sのモンモリロナイト粒子からY-D-Yペプチドのみ抽出・分析に成功した。要因として、衝突エネルギー、疎水性、含有量・抽出効率・検出限界等の可能性があると考えられた。そこで本年度は、(1)衝突エネルギー、(2)疎水性、(3)含有量・抽出効率・検出限界が、ペプチド粒子の抽出・分析に与える影響を評価した。シリカ粒子の平均質量を算出し、~4km/sの衝突速度における、運動エネルギーとエアロゲル被破壊体積の関係を求めた。衝突痕の入口径と近似体積の分布から、衝突時の物理的な応答による違いは、エアロゲル密度に依存するものの、親水性及び疎水性エアロゲル間で差は認められない

今後の展望としては、ペプチドに対するエアロゲルの化学的性質の差は影響がないことから、現在、親水性及び疎水性エアロゲルからのペプチドの抽出を行い、含有量・各段階での抽出効率・分析装置の検出限界を確認することができる。

また分析手法としては、エアロゲルを3つの部位(後追いガスを含む衝突面、衝突痕、衝突痕が存在しない部分)に分け、溶媒を利用したペプチド抽出を個液分離法により行い、高速液体クロマトグラフィーによる定量分析を行うことで、模擬エンケラドス内部海由来有機物(ペプチド)および煮込生成物のエアロゲルからの回収効率を算出する。

教訓として、2017 年度以降は、構造がより単純なジペプチドを単体かつ高濃度で試料として利用することで、捕集から抽出・測定に至るまでの各プロセスの効率を定量的に明らかにすることを目指す。その結果をもとに、捕集微粒子をエアロゲルごと試薬に反応・抽出させて探査機内部で微小電気泳動等の分析を可能とする「その場分析機構」BBM を開発するとともに、有意な信号ノイズ比を得るための汚染管理技術を確立することも、今後の課題としたい。

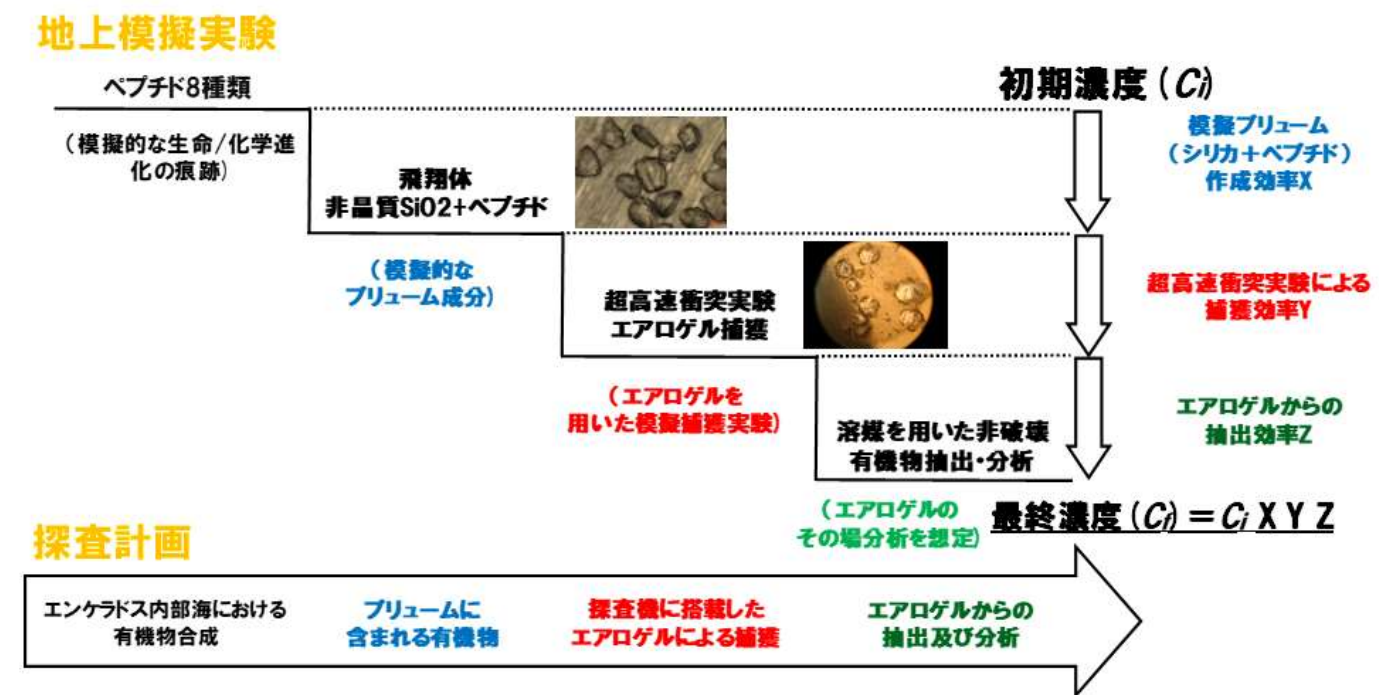


図6: プリューム微粒子内の生体分子を識別する段階的分析評価方法

## 5. 成果文献

- [1] M. Tabata, H. Kawai, H. Yano, E. Imai, H. Hashimoto, S. Yokobori, and A. Yamagishi: Ultralow-density double-layer silica aerogel fabrication for the intact capture of cosmic dust in low-Earth orbits, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 77, pp.325-334, (2016).
- [2] K. Fujishima, B. Carbone, 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)
- [3] 矢野 創、藤島 皓介、田端誠、沼保壮太、高萩航、高野淑識、渋谷岳造、富田勝、高井研: 氷天体内部海プリューム微粒子の試料捕集分析・惑星保護技術の研究(1)、第5回宇宙における生命ワークショップ、一橋講堂、2017年3月7日
- [4] 矢野創: 地球外海洋天体探査サンプルリターン、日本宇宙生物科学会・第30回大会アストロバイオロジー・シンポジウム、愛知医科大学 愛知、2016年10月15日
- [5] H. Yano: Astrobiology-Driven Space Missions and Experiments: From the low Earth Orbit to the Ocean Worlds, XIIth Recontres du Vietnam Search for Life: From Early Earth to Exoplanets, ICISE, Quy Nhon, Vietnam, (December, 2016).
- [6] 佐藤勝彦監修・縣秀彦編集(田村元秀、山岸明彦、矢野創ほか分担執筆): 科学者18人にお尋ねします: 宇宙には、だれかいますか?、河出書房新社、pp.206-216, (2017)