

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：10103

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14556

研究課題名(和文) 蜘蛛の巣の粘性物質の挙動解明のための光プローブ分析システムの新たな開発

研究課題名(英文) Development of an optical probe analysis system to elucidate the behavior of viscous substances in spider webs

研究代表者

趙越(Zhao, Yue)

室蘭工業大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：20832166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：蜘蛛の巣に含まれる粘性物質は、インテリジェントな材料特性を示すことが示唆されているが、その特性や粘着メカニズムの理解は完全ではない。本研究では、その粘性物質の挙動を解明するための光プローブ分析システムを開発した。このシステムを用いて、蜘蛛の巣の粘性物質中の低分子量化合物と糖タンパク質の分布を特徴付け、可視化することに成功した。その結果、粘性物質にイオン液体が含まれていることが明らかとなり、付着時にイオン液体の濃度変化によってタンパク質が析出される様子を確認した。これらの発見は、蜘蛛の巣の粘着メカニズムの解明に重要な実験的根拠を提供するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

蜘蛛の巣に含まれる粘性物質は、最も強力で効果的な天然接着剤の1つと見なされている。本研究は、蜘蛛の巣の粘着メカニズムに関する実験的根拠を提供し、粘着前後の構成物質の分布変化を可視化した。元素と分子のマッピングにより、粘性物質中にイオン液体が存在することを発見し、このイオン液体が粘着プロセスで重要な役割を果たすことを証明した。これらの結果は、医薬品、バイオポリマーの溶解処理、材料科学、分析化学、電池電解質など、幅広い分野での応用が期待される。特に、新しいバイオ接着剤の開発や自然界から得られる高性能材料の探求において重要な見解を提供した。

研究成果の概要(英文)：The viscous substance in spider webs has been suggested to exhibit intelligent material properties, though its characteristics and adhesion mechanism remain poorly understood. In this study, an optical probe analysis system was developed to investigate the behavior of this viscous substance. This system successfully characterized and visualized the distribution of low molecular weight compounds and glycoproteins within the spider web's viscous substance. The results revealed the presence of an ionic liquid in the substance and confirmed that protein precipitation occurs due to changes in the ionic liquid's concentration during adhesion. These findings offer crucial experimental evidence for understanding the adhesion mechanism of spider webs.

研究分野：光工学

キーワード：中赤外イメージング 赤外分光吸収法 SHG顕微鏡 イオン液体 蜘蛛

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

蜘蛛は、数百万年にわたる自然選択の過程を経て、巧妙なマクロおよびミクロスケールの構造を発達させてきた。その中でも特に有名なのがコガネグモであり、この種の蜘蛛は巧妙な行動戦略を採用し、「目に見えない」糸に粘着性物質を塗った巣を張って獲物を捕らえる。獲物が巣に捕らえられると、その抵抗は無駄になり、蜘蛛の餌探しは成功する。蜘蛛の巣におけるこれらの粘着機構の存在は、1億3000万年前の白亜紀初期にまで遡ることができる。数百万年にわたる自然選択の過程を通じて、これらの粘着機構は非常に優れた粘着性を持つ天然素材に進化し、最も強力で効果的な天然接着剤の1つと見なされている。しかしながら、この粘着物質の特性や粘着のメカニズムに関する理解は完全ではない。その理由は、粘性物質が物質に接触した後、熱力学的状態が変化するため、構成成分の分布や性質が変化するためである。従って、従来のバルク分析的手法では不十分であり、蜘蛛の巣の粘性物質の挙動を解明するためには、非接触的な光プローブ分析システムの開発が必要とされる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、超短パルスレーザー光源を用いた分光手法により、蜘蛛の巣における粘性物質の分光学的および非線形光物性を明らかにすることである。具体的には、蛍光、多光子吸収蛍光、赤外吸収分光、第二高調波発生などの光学特性を利用して粘性物質の構成成分や分子構造を選択的にイメージングする。また、このイメージングを通じて、粘性物質の物性変化や粘着メカニズムを詳細に解明することを目指す。

3. 研究の方法

本研究では、今まで知られていない粘性物質の光物性に着目し、蛍光検出、第二高調波発生 (SHG) と多光子励起発光の利用、および赤外吸収イメージングといった方法を用いる。これらの光物性を利用したイメージングに基づき、粘性物質の光物性を明らかにして、蜘蛛の巣における粘性物質の成分分布を可視化する。そのほか、飛行時間型二次イオン質量分析法 (TOF-SIMS) および走査型電子顕微鏡エネルギー分散型 X 線分光法 (SEM-EDS) といった手法を用いた表面分析の結果と総合的に考察し、蜘蛛の巣における粘性物質の特性や粘着メカニズムを解明する。

4. 研究成果

(1) 蛍光検出

蜘蛛の巣における粘性物質は、紫外光照射による励起で全体にわたって均一に蛍光を発生することが確認された。基板に付着した粘性物質の顕微鏡観察では、可視光照明下ではコントラストが著しく異なり、紫外光照射下では蛍光強度の不均一性が観察された。蛍光の起源がタンパク質であるとは明確には証明されていないが、粘性物質を構成するタンパク質 AgSp1 および AgSp2、またはそのいずれかが、GFP (緑色蛍光タンパク質) や同じファミリーに属する蛍光タンパク質に類似した蛍光特性を示す可能性が示唆された。

(2) 飛行時間型二次イオン質量分析法

飛行時間型二次イオン質量分析法 (TOF-SIMS) を使用して、付着した粘性物質の元素分布をマッピングした。まず、走査型イオン顕微鏡イメージの結果は、光学顕微鏡で観察されるものと類似した構造を示していた。次に、 m/z 1~300 の範囲内で、正イオンおよび負イオンのマススペクトルを測定し、質量電荷比ごとのマッピング画像を得た。これらの結果から、粘性物質に Na^+ 、 K^+ 、およびタンパク質のほか、コリンとリン酸基が含まれていることが確認された。

特に、アルミニウム基板の傷によるナノメートルスケールの毛細管に沿って、リン酸基とそのカウンターイオンであるカリウムの線状分布が明確に観察された。この観察結果は、リン酸基を含む成分が付着すると毛細管に沿って容易に流れることを示し、低粘度で高い流動性を示唆している。さらに、コリンカチオンとリン酸二水素アニオンの検出は、水和イオン液体の自発的な形成を示唆している。したがって、蜘蛛の巣における粘性物質に存在する水分子が、水和コリン二水素リン酸の形成を促進し、これによってタンパク質に対する低分子量化合物の可溶化能力を高める可能性があることが推測された。

(3) 赤外吸収イメージング

新規に開発した中赤外線ハイパースペクトルイメージングシステムを用いて、蜘蛛の巣における粘性物質の赤外透過スペクトルを測定し、構成成分をマッピングした。

基板に付着する前の粘性物質では、局所的な成分分布は観察されなかった。ペプチドの主鎖の $\text{C}=\text{O}$ 振動に起因するアミド I バンド ($1600\sim 1700\text{ cm}^{-1}$) や、 $\text{C}-\text{N}$ 伸縮振動および $\text{N}-\text{H}$ 変角振動から生じるアミド II バンド ($1500\sim 1560\text{ cm}^{-1}$) などの明確なバンドが観察された。マッピング画像から、タンパク質が均一に分布していることが示された。

一方、基板に付着した場合、顕著な不均一な構造分布が観察された。赤外ハイパースペクトル

画像から、タンパク質を示すアミド I および II バンドに対応するスペクトルとリン酸二水素コリンに対応するスペクトルを抽出することができた。これにより、粘性物質内にリン酸二水素コリンが存在し、それがイオン液体として作用し、液滴内のタンパク質の溶解を促進することが示唆された。

(4) 第二高調波イメージング

第二高調波イメージングでは、反転対称性が破れた構造を選択的に観察できる。蜘蛛の巣における粘性物質を CaF_2 基板に付着させると、当初は均一であった第二高調波発生および二光子励起蛍光信号が局所的な強度分布を示した。特に、第二高調波イメージでは結晶のような構造が観察された。その後、走査型電子顕微鏡エネルギー分散分光法を使用して元素の分布をマッピングしたところ、K、P、O 元素の分布が第二高調波が発生した構造と重なっていることが明らかになった。この発見は、第二高調波発生が K、P、O の三つの元素を含む結晶に由来することを強く示唆している。

リン酸二水素カリウムは顕著な非線形光学特性でよく知られているため、粘性物質における第二高調波の起源はリン酸二水素カリウム結晶であることが示唆された。粘性物質が基板に付着すると急速に広がり、その表面積が増大し、元の気液平衡が崩れる。この平衡状態の崩れによって水が蒸発し、続いてリン酸二水素カリウムが析出して結晶化する。

一方、元の気液平衡状態ではリン酸二水素カリウムの析出に十分な水の蒸気圧がないため、析出および結晶化プロセスは起こらない。水の中に溶解したリン酸二水素カリウムは結晶構造が崩れるため、SHG 活性を示さない。したがって、基板に付着する前の状態ではリン酸二水素カリウムは結晶化しないが、ナノ結晶の形で存在する可能性が高い。

TOF-SIMS のマッピング結果では、基板に付着した粘性物質において、コリンとリン酸二水素の分布が一致していることが確認された。さらに、赤外吸収スペクトルのマッピングにより、低分子量化合物中に存在するリン酸二水素コリンの水和物がイオン液体としてタンパク質を溶解することが示された。また、第二高調波画像と SEM-EDS による元素マッピング結果の比較に基づき、第二高調波の起源が析出したリン酸二水素カリウム結晶であることが特定された。この結果により、第二高調波顕微鏡を用いると、リン酸二水素カリウムの選択的観察が可能となり、リン酸塩の析出または溶解の直接的な特性評価および粘性物質の中の水和リン酸二水素コリンイオン液体の濃度の間接的な評価が可能となった。

図 1 は走査電子顕微鏡で撮影した CaF_2 基板に付着した蜘蛛の巣における粘性物質の電子顕微鏡像である。松の枝のような構造は付着後に析出したリン酸二水素カリウム結晶である。

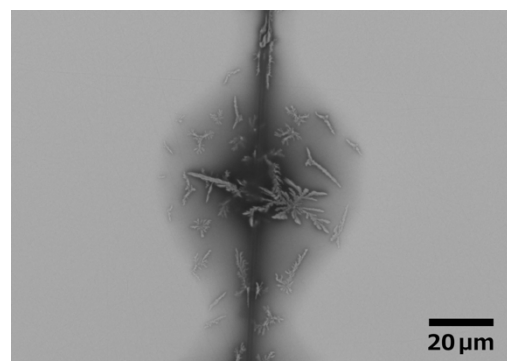


図 1. CaF_2 基板に付着した蜘蛛の巣における粘性物質の電子顕微鏡像。

(5) 粘着メカニズム

蜘蛛の巣における粘性物質が物体と接触すると、その表面積が急速に拡大し、水の蒸発により元の濃度バランスが崩れ、 H_2PO_4^- アニオンが K^+ カチオンと結合して析出する。イオン液体であるリン酸二水素コリンの含有量が減少し、タンパク質に対する溶解度が低下する。その結果、粘性物質内の糖タンパク質は変性を起こし、溶解度の低下、沈殿物の形成、硬化などの物理化学的特性の変化として現れる。さらに、分子構造の緩みにより、元々内部にあった疎水性基の一部が露出し、分子の非対称性、粘性の増加、拡散係数の低下につながる。このメカニズムにより、蜘蛛の巣における粘性物質は獲物を効果的に捕らえることができる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Zhao Yue, Fuji Takao	4. 巻 47
2. 論文標題 Two-dimensional free space electric field imaging using electric field induced second harmonic generation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Optics Letters	6. 最初と最後の頁 2999 ~ 2999
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1364/OL.460742	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Zhao Yue, Fuji Takao
2. 発表標題 Electric field imaging using electric field induced second harmonic generation
3. 学会等名 The 14th International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices' 22 (ALC22)（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 趙 越, 草間翔太, 古谷祐詞, 黄 威紘, 羅 志偉, 藤 貴夫
2. 発表標題 第8回フォトニクス奨励賞受賞記念講演 高速スキャンレス広帯域中赤外ケミカルイメージング
3. 学会等名 第71回応用物理学会春季学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------