

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 14 日現在

機関番号：37112

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22340166

研究課題名（和文） 宇宙物質中の生体関連有機物の光学異性体比の超高感度分析法の開発

研究課題名（英文） High sensitive enantiomeric analysis of bioorganic compounds for cosmic samples

研究代表者

三田 肇 (MITA HAJIME)

福岡工業大学・工学部・教授

研究者番号：00282301

研究成果の概要（和文）：生命の起源を考える上で、アミノ酸の光学異性体の選択がどこで生じたのが重要な課題の一つになっている。特に、近年、宇宙環境においてこの選択が生まれたと考えられるようになってきているが、これを明らかにするためには、多くの宇宙試料中のアミノ酸の光学異性体比を明らかにする必要がある、極微量の宇宙試料中の分析を可能にするための分析技術の確立が必要である。そこで、超高感度分析技術の開発を行ない、数十ミクロンの炭素質コンドライト粒子の分析ができることを確認した。

研究成果の概要（英文）：Origin of homochirality of amino acids is one of the most important subjects for origins of life. Recently, it is thought that homochirality was achieved in the space environment. In order to confirm this hypothesis, small amount of enantiomeric ratio of amino acids should be determined in the space samples *e.g.* cosmic dusts. Therefore, we developed a high sensitive enantiomeric analysis system and demonstrated a analysis of very small particle of carbonaceous chondrite.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	11,100,000	3,330,000	14,430,000
2011年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2012年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,590,000	1,989,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：地球惑星科学、地球宇宙化学

キーワード：生物圏地球化学・光学異性体・超高感度分析・アミノ酸・炭素質隕石

### 1. 研究開始当初の背景

地球上の生命がどのように誕生したのかは、研究者のみならず多くの国民が興味をもっている科学的課題である。ビッグバンで誕生した宇宙では、様々な元素が生まれ、多くの化学物質が合成されてきた。簡単な化学物質から、様々な機能を有する複雑な化学物質が生まれ、組織化され、生命の誕生に至ったと考えられている。

これまでに、地球上の生命体を構成する重要な有機物であるアミノ酸が、炭素質隕石 (Kvenvolden et al., 1971; Shimoyama et al., 1979 他) や月の石 (Harada et al., 1971; Brinton & Bada, 1996) などから検出されており、宇宙環境を模した実験でも多種のアミノ酸が生成することが見出されている。これらのアミノ酸から生命に至るまでには、さらに、ペプチド生成と光学異性体の選択という

課題が残されている。従来は、D-体とL-体が等量存在するとされていた炭素質隕石で、一部の非タンパク質アミノ酸に数%のL-体過剰が報告(Cronin & Pizzarello, 1997)され、光学異性体の選択が宇宙環境で起きたと考えられるようになってきている。しかし、アラニンなどのタンパク質構成アミノ酸の光学異性体の偏りの起源については、未だに明らかでない。

そこで、地球に落下した後の地球生物による汚染を除去した可能な限り新鮮な汚染の少ない宇宙試料の分析が重要になり、国際宇宙ステーション上で採取した宇宙塵(Yamagishi et al., 2008, 三田, 2008)などの分析が求められている。しかし、宇宙塵試料は、非常に微細な粒子のため、含有アミノ酸量は極めて微量である。

## 2. 研究の目的

マーチソン隕石に含まれるイソバリンとアラニンの濃度をもとに、国際宇宙ステーション上で採取が想定されている数十 $\mu\text{m}$ の宇宙塵中に含まれるイソバリンとアラニン含量は、 $10^{-16}$  mol となる。そこで、数%の光学異性体の過剰を分析するために、 $10^{-18}$  (amol) オーダーの分析を目標とした超高感度で精度の高い分析法を確立することが目的である。

## 3. 研究の方法

本研究目的を達成するためには、検出器の超高感度化、微小試料のハンドリングシステムの構築、汚染を除去した取扱が主要な要素技術となる。

(1) 検出器の高感度化では、浜瀬がこれまでに開発し、fmol オーダーでの分析実績のあるD-アミノ酸二次元一斉分析 HPLC システムで用いられている蛍光分光法の高感度化として、バックグラウンドの低減化を目指した超高感度蛍光検出器を製作する。

(2) 抽出・加水分解では、誘導体化の操作中の試料ロスや汚染を避けるために、内海が有するナノマイクロレベルでの加工技術を応用し、微小試料ハンドリング・誘導体化システムを構築する。

(3) さらに、三田のもつ炭素質隕石や地球堆積岩試料などに含まれる有機物分析技術を活かし、汚染を除去した溶媒・反応試薬の調製、操作手順を見直し、各ステップごとに改善点を抽出する。

以上の成果を組み合わせ、炭素質隕石や宇宙塵試料のアミノ酸分析を実施する。

## 4. 研究成果

### (1) 新規超高感度蛍光検出器の開発

蛍光検出器の高感度化にあたっては、光量の強化、迷光の除去、集光効率の増大、高感

度検出器の使用が挙げられる。そこで、アミノ酸の蛍光誘導体化にはこれまでに最も高

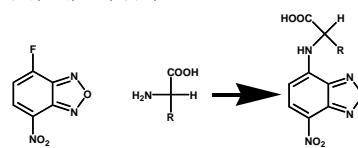


Fig. 1 NBD-derivatization of amino acids

感度なアミノ酸分析の報告がなされている NBD 化(ニトロベンゾキサジアゾール化, Fig. 1) を選択し、ほぼその励起波長に相当する 475 nm の半導体レーザー (150 mW) を光源とした。迷光の影響を除くために、75-3000 Hz の光学チョッパーを通して、HPLC のセルに励起光を照射した。セルには微量用の HPLC セル (内容積 2  $\mu\text{L}$ ) を用い、対物レンズを通してセルからの蛍光を集光し、バンドパスフィルターにより散乱光を除去した後、高感度光電子増倍管により検出した (Fig. 2)。アミノ酸の種類により、存在する濃度が大きく異なるので、励起光に直行する二方向に同様の検出系を設置し光電子増倍管への印加電圧を変えることにより、検出器のダイナミックレンジを大きく取れるようにした。データの取り込みは、チョッパーにより励起光を照射し蛍光を発している時間の信号の積算値から、励起光を遮った暗条件下での信号の積算値を除することで、迷光の影響を除くようにした。ここで、チョッパーを介した励起光照射のタイミングと蛍光発光には遅延が生じるので、その遅延時間を補償する装置を付属させた。

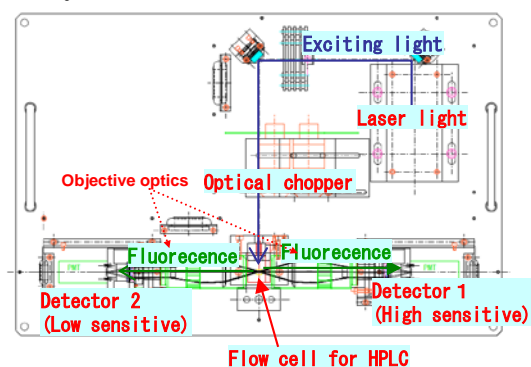


Fig. 2 System diagram of fluorescence detector

チョッパーの回転速度を変えて、蛍光信号出力のみと、今回の暗条件下での信号で補正した蛍光信号の S/N 比の相違を求めた。従来型の蛍光信号出力のみでは、シャッタースピ

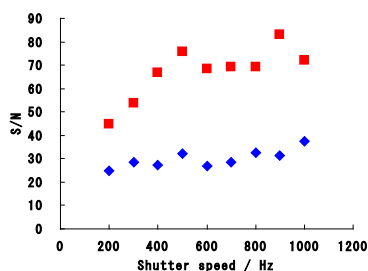


Fig. 3 S/N ratio vs. shutter speed

一ドの違いによる S/N 比の変化は見られないが、暗条件下での信号で補正した蛍光信号処理を加えたことでシャッタースピードの増加に伴う S/N 比の向上が見られた (Fig. 3)。(2) マイクロマシン技術を利用した試料ハンドリング

極微量の試料をロスなく、かつ、汚染せずに誘導体化するため、マイクロマシン技術を応用することを試みた。

第一段階として、宇宙塵試料のような粉体と反応・抽出液を輸送するシステムとして、表面弾性波 (SAW) を用いた液体・粉体の同時輸送系の構築を目指した。液体輸送は、既に、実績があるので、粉体輸送について検討した。ここでは、電界によって変形する性質をもった圧電体の基板の上に作製した櫛歯型電極 (IDT: Inter-Digital Transducer) に高周波の電圧を印加することによって表面弾性を発生させた。ニオブ酸リチウム基板上に作製した IDT から 10mm<sup>3</sup> の粉体を置き、信号発生器で高周波電圧を発生させ、増幅器で増幅する。そして IDT に増幅した高周波電圧を印加し、粉体の挙動を観察した。銅粉、ワング樹脂を試料に用いたところ移送が可能なことを確認できた (Fig. 4)。さらに、反応温度の低下と反応時間の短縮をはかり、セルへのダメージを防ぐマイクロ波加熱装置の作製を行った。

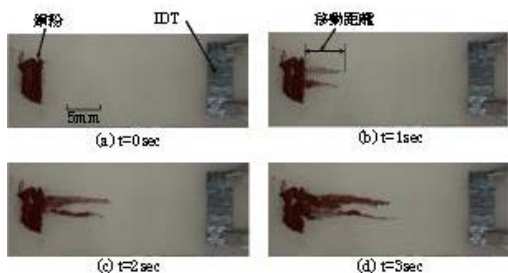


Fig. 4 Powder transport demonstration by SAW

第二段階として、アミノ酸誘導体用のデバイス設計を行い、その検証を行った。アミノ酸の誘導体化処理ではデバイス材料に高い耐化学薬品性と耐熱性が求められる。本研究ではフッ素樹脂であるポリテトラフルオロエチレン (PTFE) を材料に用いてマイクロ流路を作製した。デバイスは上下 2 枚のチップからなり、下段チップには 3 枚の PTFE 基板を積層し、2つの反応セルと試薬貯蔵セル、さらにこれらのセルをつなぐ流路で構成される。上段チップは 2 枚の PTFE 基板の積層構造であり、試料粉末の投入用と蒸気除去用の 2つの開口部を設けている。このデバイスでは密閉系での加熱操作を行うために上段チップをスライドさせることでバルブの機能を持たせている。密閉系と開放系、両方の加熱操作を行う必要のある反応セルには下段チップ天板に微細な貫通口を設け発生する蒸気を除去するためのフィルター構造に

した。このデバイスの特徴は、PTFE のシール性と低摩擦性を利用したスライド式バルブによるバルブ操作である。このバルブ方式では片側のチップをスライドさせることにより流路の接続/切断を行い、バルブ機能を持たせることにした。これらの機能を確認するためのプロトタイプデバイスを作成し (Fig. 5)、各機構の検証を行った。この結果、送液性能、スライド式バルブ保持力について、所定の性能が得られることを確認できた。さらに、加熱処理のためのポスト壁導波路を用いた局所的マイクロ波加熱を試作し、温度制御の実証ができた。



Fig. 5 Prototype device for amino acid derivatization

#### (2) ブランク量の低減

極微量の試料中に含まれるアミノ酸分析を目指しているが、この場合、もっとも重要な課題が実験に使用する水・試薬・器具などに起因するブランク量となるアミノ酸の混入である。そこで、分析に使用する液量を少なくするための反応容器、有機物の除去が容易でかつ極微量を取り扱うことができるガラス器具、作業用クリーンベンチなど、実験の各段階における作業を点検しなおした。これらにより、分析機器の測定感度内でほとんどブランクのピークが検出されないレベルを達成することができた (Fig. 6)。

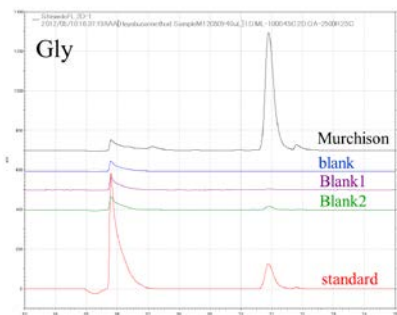


Fig. 6 Blank test for amino acid analysis

#### (4) 宇宙環境試料のアミノ酸分析

これらの成果を受けて、実際の宇宙環境試料に含まれるアミノ酸分析を実施した。ここで使用した試料は、アミノ酸の検出が既に確認されている CM2 炭素質隕石である Yamato-791191 の直径約 50 μm の粒子と、小惑星探査機 HAYABUSA が小惑星 ITOKAWA (Asteroid 25143) で採取し持ち帰ってきた約 50-100 μm の粒子 2 個 (RA-QD02-0033, RA-QD02-0049) である。

### Yamato-791191

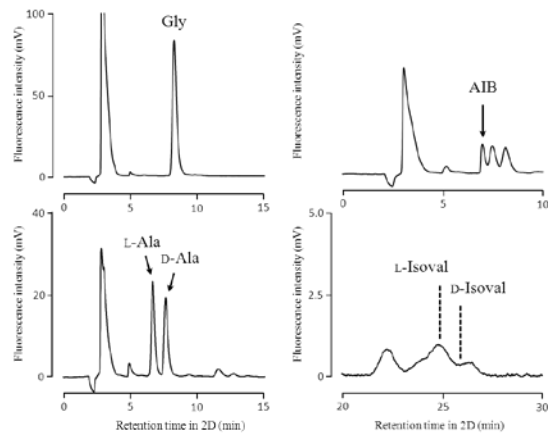


Fig. 7 Amino acids in Yamato-791191 carbonaceous chondrite

Fig. 7に、Yamato-791191粒子の分析結果を示した。この粒子から、優位な量のアミノ酸を検出することができ、光学異性体をもつアラニンのベースラインでの光学分割ができ、ほぼラセミ体であることが確かめられた。一方で、 $\alpha$ -アミノイソ酪酸とイソバリンの検出はできたが、同時に溶出成分が存在するために、光学異性体比を求めるには不十分な結果であった。

次に、ITOKAWA粒子の分析結果をFig. 8に示す。この時点では、十分にブランクのアミノ酸量を低減することを達成していなかった。このため、ITOKAWA粒子の分析結果に多少のアミノ酸が検出されているが、Blankのデータと比較してもらえると明らかであるが、ブランクにも同程度のアミノ酸が検出されている。このため、ITOKAWA試料には、優位な量のアミノ酸が含まれていないと判断した。

#### (5) まとめと展望

超高感度蛍光検出器を作成し、マイクロマシン技術を応用した試料ハンドリング・アミノ酸誘導体化装置を試作・実証し、ブランク量の低減化のための改善を施すことで、目標としていた数十 $\mu\text{m}$ スケールの極微量宇宙環境試料中のアミノ酸の光学分割を達成することができた。

一方で、炭素質隕石中に含まれるアミノ酸の種類は、生体中に含まれるアミノ酸の種類に比べて非常に多様であるため、2次元システムを組みながらも共溶出の分離に課題が残された。

また、国立極地研究所からの南極隕石の貸与申請の手続きに手間取り、当初の計画に比べると実際の炭素質隕石試料の分析数が少なくなってしまった。このため、論文としての成果発表に至っていないことは研究遂行上の問題として挙げられる。

システムの性能的な検証はできたので、本研究期間終了後も、引き続き、分析手法の改

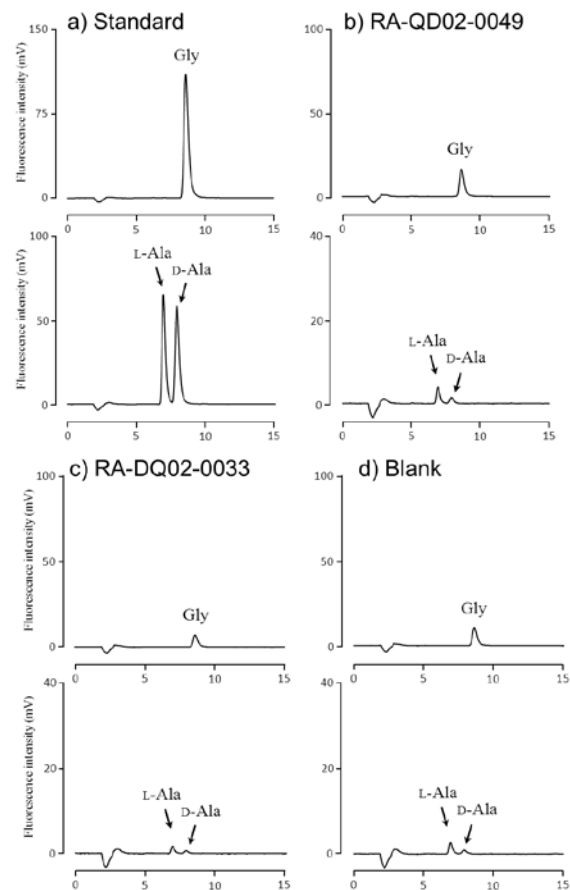


Fig. 8 Amino acids in ITOKAWA samples

善に努めながら、多くの試料の分析を進め、光学異性体の偏りの起原に関する研究を進め、本予算の成果とした論文発表を行っていく。

#### (6) 謝辞

本研究を遂行するにあたり、九州大学大学院理学研究院・奈良岡浩教授に多大なるご協力頂きましたことに感謝いたします。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1件)

- ① H. Naraoka, H. Mita, K. Hamase, M. Mita, H. Yabuta, K. Saito, K. Fukushima, F. Kitajima, S. A. Sandford, T. Nakamura, T. Noguchi, R. Okazaki, K. Nagao, M. Ebihara, H. Yurimoto, A. Tsuchiyama, M. Abe, K. Shirai, M. Ueno, T. Yada, Y. Ishibashi, T. Okada, A. Fujimura, T. Mukai, M. Yoshikawa and J. Kawaguchi, Preliminary organic compound analysis of microparticles returned from Asteroid 25143 Itokawa by the Hayabusa mission. *Geochemical Journal*, **査読有**, Vol. 46, 2012, 61-72.  
<http://www.terrapub.co.jp/journals/GJ/t>

oc/4601.html

〔学会発表〕(計 12件)

- ① 奈良岡浩, 三田肇, 浜瀬健司ほか 23 名、はやぶさ回収試料の初期分析: 有機化合物分析、日本地球惑星連合大会 2011、2011 年 5 月 22-27 日、幕張メッセ国際会議場(千葉県)
- ② Mita, H. ほか 19 名 (Hamase, K. 9 番目)、Organic compounds exposure and organic compounds analyses of captured particles in TANPOPO mission、Origins 2011 -- ISSOL & Bioastronomy Joint International Conference、2011 年 7 月 3-8 日、Le Corum (Montpellier, France)
- ③ Yabuta, H. ほか 6 名 (Mita, H. 4 番目)、More aromatic macromolecule in carbonaceous chondrite: an attempt to detect the intact composition of meteoritic organics without isolation、Origins 2011 -- ISSOL & Bioastronomy Joint International Conference、2011 年 7 月 3-8 日、Le Corum (Montpellier, France)
- ④ Naraoka H. Mita H. Hamase K. ほか 22 名、Examination of Organic Compounds in the Hayabusa Samples from the Asteroid Itokawa、74th Annual Meeting of the Meteoritical Society、2011 年 8 月 8-12 日、Univ. Greenwich (UK)
- ⑤ 奈良岡浩, 三田肇, 浜瀬健司ほか 22 名、イトカワに降りそそぐ外来物質: アミノ酸などの有機物、2011 年日本惑星科学会周期大会、2011 年 10 月 23-25 日、相模女子大学(神奈川県)
- ⑥ 三田肇、隕石中に含まれるアミノ酸分析の高感度化への試み、日本化学会第 92 春季年会、2012 年 3 月 25-28 日、慶應義塾大学日吉キャンパス(神奈川県)
- ⑦ 三田肇ほか 13 名 (浜瀬健司番目、内海裕二番目)、たんぼぼ捕獲粒子の有機物分析にむけた超高感度アミノ酸分析法の開発、2010 年度日本地球化学会年会、2010 年 9 月 7 日-9 日、立正大学(埼玉県)
- ⑧ H. Naraoka, H. Mita, K. Hamase ほか計 18 名、Preliminary organic compound analysis of particles returned from a Asteroid 25143 Itokawa by the Hayabusa mission、42nd Lunar and Planetary Science Conference、2011 年 3 月 7-11 日、The Woodlands, (USA)
- ⑨ 小林憲正, 三田肇ほか 10 名、宇宙環境下でのアミノ酸関連分子の安定性と変成—地上実験と宇宙実験による評価—、2012 年度日本地球化学第 59 年会、2012 年 9 月 11-13 日、九州大学箱崎キャンパス(福岡県)
- ⑩ 小林憲正, 三田肇ほか 14 名、アミノ酸およびアミノ酸前駆体の宇宙環境下での安定性—たんぼぼ計画における有機物曝露実験試料の選定—、第 26 回日本宇宙生物化学会

学術集会、2012 年 9 月 27-29 日、阿波観光ホテル(徳島県)

- ⑪ 三田肇ほか 19 名、たんぼぼ計画における有機物曝露実験、日本地球惑星連合大会 2013、2013 年 5 月 20-25 日、幕張メッセ国際会議場(千葉県)
- ⑫ H. Mita ほか 18 名、TANPOPO mission: Exposure experiments of organic compounds on the JEM, ISS、13th European Workshop on Astrobiology、2013 年 7 月 22-25 日、University of Szczecin (Poland)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fit.ac.jp/~mita/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三田 肇 (MITA HAJIME)  
福岡工業大学・工学部・教授  
研究者番号: 00282301

### (2) 研究分担者

内海 裕一 (UTSUMI YUICHI)  
兵庫県立大学・付置研究所・教授  
研究者番号: 80326298  
浜瀬 健司 (HAMASE KENJI)  
九州大学・薬学研究科(研究院)・准教授  
研究者番号: 10284522

### (3) 連携研究者

なし