バイオミメティクスと最新の分析評価技術

西 埜 誠^a

^a(株)島津製作所 分析計測事業部(〒530-0012 大阪府大阪市北区芝田 1-1-4)

Advanced Analysis and Evaluation Technology for Biomimetics

Makoto NISHINO^a

^aAnalytical & Measuring Instruments Division, Shimadzu Corporation(1-1-4, Shibata, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-0012)

Keywords : Biomimetics, Microfocus X-Ray CT, Imaging Mass Microscope, Liquid Marble

1. はじめに

バイオミメティクスは、生物模倣技術と言われ、生物の特有な形態や構造を模倣した工業製品は日常品に利用されている。その実用化例として、我々の身の回りにある代表的なものに、オナモミの種子をまねたマジックテープ、ハスの葉の微細な表面構造を模倣した超撥水性の繊維、サメ肌のリブレット構造を模倣した競泳水着などがある¹⁾。さらに、単なる形態模倣だけにとどまらず、物理化学的視点からその機能、能力を模倣して新規の機能性材料を生み出すことも模索されている。これらの機能性材料を生み出すには、材料である生物の機能にかかわる表面の構造や成分の分析が必要となる。ここでは、バイオミメティクス素材開発に必要な生物および素材の表面分析評価技術を紹介する。

2. X線CTシステムによる生物および素材の構造観察

X線CTは非破壊で対象内部の情報を得ることができるため、対象の構造を崩すことがない。軟組織の観察や光学顕微鏡による観察が難しいものには特に有効である。さらに、構造観察に留まらず、対象の三次元形状データを活用すれば、構造解析などのシミュレーションや3Dプリンタによる造形も可能となることから、その後の材料開発に繋がる有益な手法として注目されている。

観察には、島津製作所製のマイクロフォーカスX線CTシステム inspeXio SMX-100CT を用いた(図1)。この装置は、

最大X線管電圧100 kV、チャート分解能5 μm 、搭載可能最大ワークサイズ $\phi 180\text{ mm} \times \text{H } 250\text{ mm}$ であり、軟X線の利用効率が高く、生物系のワークや樹脂製品の拡大撮影に適したモデルである²⁾。ここでは、生物の構造観察事例として、サメ肌、カイメン、また素材の構造観察事例としてリキッドマーブルのCT撮像例を紹介する。

2.1 オオテンジクザメのサメ肌

サメ肌の表面形状は流体抵抗の低減化を実現するものとして、競泳水着のほか船体や航空機の機体への応用が注目されている。このサメ肌をX線CTシステムにて撮像した³⁾。観察には、約70%エタノールに浸漬したサメ肌切片の標本を使用した。標本外観を図2に、この容器ごと透視観察した結果を図3に示す。また、X線CTシステムにて撮像した結果を図4に示す。

図4(1)-1及び(1)-2は、それぞれサメ肌の断面画像で、このデータを元にVR表示したものが図4(2)-1である。このVRデータは0から65535までの階調で表現された中の詰まったボクセルの集合体であるが、鱗部分とそれ以外で2値化し鱗表面のみのポリゴンデータとしたのが、図4(2)-2、(3)-1~3である。このポリゴンデータはSTL形式(STL: Standard Triangulated Language, 三次元形状を小さな三角形の集合体で表現したもの)で出力することが可能で、3Dプリンタでのモデリング(図4(2)-3)や流体解析といったシミュレーションに利用することができる。

X線CTシステムを使用すると、鱗の突起に隠れた表側からは観察できない内側の形状情報までも再現することが可能

図1 X線CTシステム inspeXio SMX-100CT

図2 標本外観

図3 X線透視画像

図4 サメ肌のCT画像・VR表示画像

である。この実物の形状をそのまま解析に利用できるため、シミュレーションなどでの解析精度向上への寄与が期待される。

2.2 カイメン

海綿動物は、体中に張り巡らされた水路構造を持ち、生命活動の維持のための水輸送機能を持っている。この複雑なカイメン体内の水路ネットワーク構造を解明し数値モデル化するためには、まずその水路ネットワークがどのように張り巡らされているかを明らかにする必要がある。そのネットワーク構造を取り出すため、水路に樹脂を流し込んで型取りする手法がとられていた。しかし、カイメン内部の水路は末端になればなるほど非常に細くなっており、樹脂が入り込めない部分は写し取れないためネットワーク構造から欠落してしまう。また、非常に細い水路の樹脂部分は破損しやすく、これも欠落の原因となる。そこで、細い末端の水路の観察にも有用なX線CTシステムを用いてカイメンの撮像を行った⁴⁾。図5は乾燥させたカイメンの標本外観で、透視画像を図6に示す。

図5 標本写真

図6 X線透視画像

CT撮像結果を、図7に示す。図7(1)-1はカイメン全体を撮像した画像、(1)-2は、一部拡大撮像した画像である。カイメンの内部に黒く空いた穴の部分が水路で、拡大撮像をおこなうと、更に細い水路が鮮明に映っていることが確認できる。この水路部分を可視化したものが、図7(3)-2である。断面画像では(2)-2のように部分的にしか水路情報は得られないが、これを立体にすることで非常に細かな水路がカイメン体内中に張り巡らされている様子が可視化できる。また非

図7 カイメンのCT画像・VR表示画像

破壊での観察であるため、太い水路は全体撮像から、全体撮像では映りにくい細い水路については拡大撮像結果から抽出し、これを組み合わせることでより詳細な水路ネットワークの抽出が可能となる。

2.3 リキッドマール

アブラムシの中には、自ら排出する蜜の液滴表面を固体ワックス粒子で覆うことで液体を団子状にし、蜜が自身の体、巣の内壁に濡れ広がらないようにする種類が存在する。この表面が固体微粒子により被覆された液滴はリキッドマールと呼ばれ、これに力を加えることで液を内部から取り出すことが可能である。リキッドマールは粘着剤・接着剤への応用や、微小反応場としての応用が期待されている。人工的に作製した、粘着性高分子の液滴表面を固体粒子で覆い粘着剤の粉末化を実現した図8のようなリキッドマールをX線CTシステムで観察を行った⁵⁾。

CT撮像した結果を図9に示す。図9(1)-1は直径約2.5 mmのリキッドマール全体を、(1)-2は一部を拡大して撮像した画像である。また、(2)-1, 2は粘着性高分子を不可視、固体粒子のみを可視化したVR表示画像である。(a)の混練前は、粘着性高分子の周囲を固体粒子が覆っている様子が観察できる。このリキッドマールを潰して練った後が、図9(b)混練後の画像である。(3)-1, 2の断面画像では、粘着性高分子の中に固体粒子が混ざり込み、粘着性高分子が表面に露出し

ている箇所があることが観察された。また、(4)-1, 2においても、固体粒子が満遍なく練りこまれており、全体として粘着性を発現していることが確認された。

3. イメージング質量顕微鏡によるダイズ葉の表面分析

植物は、生育環境の変動、植物病原菌の感染、植食者の食害など、さまざまなストレスにさらされている。これらのストレスに打ち勝つために、植物は独自の自己防御機構を発達させてきた。ダイズの害虫であるハスモンヨトウ幼虫(鱗翅目: ヤガ科)に対して強い抵抗性を示す品種ヒメシラズは、葉表面の毛茸が多く、抵抗性に寄与することが経験的に知られている。ここでは、ダイズ葉の表面のハスモンヨトウの吐き出し液により誘導される化学成分の分析例を紹介する。

ダイズ葉をハスモンヨトウに食害させると、ダイゼインやフォリモノネチン等のイソフラボン類が食害葉に蓄積することを見出されている。このダイゼインとフォリモノネチンの分布を調べるため、イメージング質量顕微鏡を用いた⁶⁾。

ダイズ葉表面に分布している化学成分のイメージングは、島津製作所製のイメージング質量顕微鏡 iMScope TRIO を用いた(図10)。この装置は蛍光検出も可能な光学顕微鏡とMALDI法を利用したイオン化部(顕微MALDI部)、およびイオントラップ飛行時間型質量分析計を組み合わせた装置であり、顕微鏡で観察された試料を直接質量分析できるのが特

図8 リキッドマール

図9 リキッドマールのCT画像・VR画像

図 10 イメージング質量顕微鏡 iMScope TRIO

徴である。MALDI 法は、検出したい試料と混合したマトリックスにレーザー光を当て、マトリックスと試料を同時に気化させるイオン化法であり、多くの分子種を同時に検出することができる。MALDI 用のレーザーとして、波長 355 nm・周波数 1 kHz の UV レーザー (Nd:YAG レーザー 3 倍高調波) を搭載し、ビームエキスパンダと組み合わせた集光レンズによる集光光学系は、最小 5 μm までレーザービーム径を絞ることができる。

ハスモンヨトウ幼虫に食害されたタマホマレ (非抵抗品種) のダイズ葉を用い、処理部位周辺を切り取り、測定プレートに張り付けて、測定に供した。マトリックスとして CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) をスプレー法により均一塗布した。iMScope TRIO の測定条件は、測定エリア: 15625 pix (125 $\times$ 125), 空間分解能: 50 μm , モード: Positive, 測定範囲: m/z 230-255, レーザー強度: 49, レーザー径: 50 μm , ショット数: 50 shots/pix とした。図 11 に、光学像、ダイゼインおよびフォルモノネチンの MS イメージを示す。これらの成分は葉の毛茸に多く付着していることがわかった。さらに、実

際に毛茸だけを抽出して LC-MS 分析を行ったところ、確かに毛茸にダイゼインとフォルモノネチンが含まれることが確認できた。

iMScope TRIO の測定は、一般的に 10 μm 前後の厚さの組織切片を用いる。これに対し、ダイズ葉は 1 mm ほどの厚みがあり、葉の凹凸、毛茸の突出など、前処理・分析に影響する要素が多い。しかし、今回は iMScope TRIO を用いて、生葉を直接 MS イメージングの分析に供することにより、測定することが可能となった。

4. まとめ

マイクロフォーカス X 線 CT システムおよびイメージング質量顕微鏡による分析評価事例を紹介した。バイオメティクス素材開発に有効な手法になると期待している。分析評価に用いた試料の提供およびアドバイスをいただいた独立行政法人国立科学博物館 篠原現人先生 (オオテンジクザメ), 国立研究開発法人海洋研究開発機構 椿 玲未先生 (カイメン), 大阪工業大学 藤井秀司先生 (リキッドマープル), 京都大学 森 直樹先生 (ダイズ葉) に謝意を表する。

(Received January 11, 2017)

文 献

- 1) 下村政嗣 (編著); バイオメティクスの本 (日刊工業新聞社, 2016).
- 2) 高橋 亮; 表面技術, 66, 594 (2015).
- 3) 櫛引敬嗣, 枝廣雅美, 野村周平, 中瀬 悠, 篠原現人; 島津評論, 73, 9 (2016).
- 4) 椿 玲未, 枝廣雅美; 島津評論, 73, 21 (2016).
- 5) 武内誠治, 枝廣雅美, 吉見 聡, 小暮亮雅, 中村吉伸, 藤井秀司; 島津評論, 73, 57 (2016).
- 6) 中田 隆, 木村有希, 山本卓志, 森口志穂, 吉永直子, 森 直樹; 島津評論, 73, 29 (2016).

図 11 タマホマレ食害葉の MS イメージング