

平成21年 5月20日現在

研究種目： 若手研究（スタートアップ）
 研究期間： 2007～2008
 課題番号： 19880010
 研究課題名（和文） XAFSによる化学形態情報を用いたバイオミネラルへの
 微量元素濃集過程の解明
 研究課題名（英文） Biological concentration of trace metals from sea water to
 the biomineral of marine bivalves.
 研究代表者
 津野 宏 (Tsuno Hiroshi)
 横浜国立大学・教育人間科学部・准教授
 研究者番号：60432069

研究成果の概要：海産二枚貝の貝殻には海水中より微量金属が濃縮されるが、そのメカニズムは明らかではない。そこで微量元素の取り込まれかたについて、無機的な結晶生成と生物による殻形成の両面から研究を行った。採集した貝を一定期間人工海水で飼育後、貝殻に含まれる微量重金属分析したところ、貝が成長した水域の化学組成の特徴を示すものの、人工海水で飼育した結果からは同じ種であっても個体差が明確であり、貝殻の重金属存在度から成育した環境を評価するためには、個体差を考慮する必要があることが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,370,000	0	1,370,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,720,000	405,000	3,125,000

研究分野：分析化学、無機地球化学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：バイオミネラル、炭酸カルシウム、微量元素、X線吸収微細構造、固・液平衡、生体濃縮

1. 研究開始当初の背景

近年、貝殻に代表される海産生物の硬組織「バイオミネラル」中に海水に微量にしか含まれていない元素が、高濃度に濃縮されていることが示され、生体にとって有害・不要な物質を「隔離処分」する場所としてバイオミネラルが機能していると考えられるようになってきた。これを定量的に理解すれば、バイオミネラルは環境の汚染状況を高感度に

記録するモニターとして活用することや、積極的に環境中から汚染物質を取り除かせるバイオレメディエーションに活用することができる事を示している。しかしながら、生物がどのような過程で環境中の微量元素を濃縮し、バイオミネラルに隔離するのか、また、バイオミネラル中で微量元素は安定に存在しうる構造をとっているのか、という現象の理解に不可欠なメカニズムに関する基礎

情報は明らかとなっていない。

バイオミネラリゼーションは、機能性を持つ生体親和素材を低エネルギー・高効率・低環境負荷で合成する過程であることから、生物学や農林水産学から、医科歯科学、材料工学、地球科学分野など広い範囲に渡って着目され、研究が進められてきている。多種多様なバイオミネラルの種類や形態の記載から始まった研究は、生体内での形成プロセスに関心が移ってきた。特定の鉱物結晶を制御し結晶化させ目的の構造に構築していく生物のプロセスを、有機物質をテンプレートして構築するものとしてとらえ、分子生物学的な手法での研究が進んでいる。近年、ゲノムサイエンスが発展したことにより、バイオミネラリゼーションの生体制御機構をテンプレートとなるタンパク質の発現機構から説明することが可能となりつつある。しかしながら、バイオミネラル自体の物質としての研究は、鉱物種・形態の記載からあまり進んでおらず、バイオミネラルの原子レベルの構造や無機結晶化していく過程については明らかではない。さらに、バイオミネラル中に濃縮される微量元素の挙動は生体中での存在度が低いことから形態分析が難しく、濃縮機構の解明を困難にしてきたと言える。

2. 研究の目的

本研究では、X線吸収微細構造(XAFS)という強力な構造解析手法で、微量元素の化学形態情報を解析することを通して、直接は測定・解析することが困難な生体内での微量元素の挙動・濃縮・隔離過程を理解することを最終の目的としている。本研究課題においては、バイオミネラリゼーションの無機過程に着目し研究を行い、次の3項目を明らかにすることを具体的な目的とした。

- (1) 各種微量元素の貝殻中での存在状態を明らかにする。
- (2) 無機過程における沈殿生成による結晶への微量元素の取り込まれ方を明らかにする。
- (3) 生体合成、無機合成による結晶中の微量元素の存在状態の比較を行い、バイオミネラリゼーションにおける沈殿過程特有の微量元素の取込まれ方を議論する。

3. 研究の方法

本研究課題においては、実験室で母液をコントロールしながら合成した無機炭酸カルシウムの沈殿と飼育した貝が形成したバイオミネラルである貝殻に取り込まれた微量元素の化学状態についてX線吸収微細構造を用いた解析によって明らかにする。今回の研究で議論する化学状態は、「価数」「配位数」「結合間距離」である。対象とする元素は、

遷移金属であり環境汚染にとって重要な金属を含んだ、クロム、マンガン、亜鉛、鉄、に加え、研究代表者らのこれまでの研究から、炭酸カルシウムの無機沈殿生成との大きな影響を与えることが明らかとなった希土類元素から、ランタン、セリウム、プラセオジウム、ガドリウム、ユーロピウム、イッテルビウムを対象とする。XAFSの測定については、放射光実験施設(KEK-PF)において実施する。

(1) 無機炭酸カルシウムの生成過程により取り込まれた微量元素の化学形態解析

① 無機炭酸カルシウム結晶の沈殿実験：炭酸カルシウムの結晶形であるカルサイト・アラゴナイトがそれぞれ生成するように調製された過飽和の母液を用いて炭酸カルシウムの合成を行った。母液には微量元素を添加した。添加する微量元素の濃度は、母液中の濃度として $0.1\sim 10 \mu\text{mol kg}^{-1}$ として実験を行った。

② 溶液・結晶の解析：反応溶液・生成した結晶の化学組成は、元素に応じてICP発光分析装置ならびに、ICP-MS装置により、分析を行った。溶液については、濃度、pHなどから熱力学計算を行い、各溶存化学種の見積もりを行った。生成した結晶はX線回折により結晶形の同定を行った上で、KEK-PF BL-12Cにおいて高感度なXAFS測定を行い、取込まれた微量元素の価数、配位数、結合間距離について解析を行う予定である。

(2) 海産二枚貝の飼育実験システムの構築
本研究課題では、数種の海産二枚貝の試験的飼育を検討し、最終的にはホンビノスガイ(*Mercenaria Linnaeus*)を実験用に飼育した。

- ① 飼育実験槽の作成：実験室内の人工環境で長期飼育を実施するため、飼育水槽の構造・飼育条件等を検討した。
- ② 実験用二枚貝の確保：複数の地点より、ホンビノスガイの採集を実施した。

(3) 海産二枚貝の飼育実験によるバイオミネラル中の微量元素の存在状態の解析
貝殻中の微量元素の化学的な存在状態をX線吸収微細構造(XAFS)で解析することで、バイオミネラル中での微量元素の結合状態、サイトでの安定性を議論する。

① 人口海水による飼育実験：人工海水下で飼育し、バイオミネラルの形成が行われているかを確認した。

② バイオミネラルの分析：一定期間飼育した二枚貝の一部個体を抜き出し、解剖を行い分析した。成長段階ごとの殻体に含まれた微量元素について化学分析を実施した。各成長部位毎に分割した殻体をmilli-Q水を用いて、超音波洗浄した後に、PFAジャー中で希硝酸

により溶解させた。分解後の溶液中の金属元素 (Ca, Al, Ti, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Cd, Sb, Pb) について、ICP-MS および、ICP-AES により定量をおこなった。また、分割した殻体について、分析した部位に対応するものを用いて、ガンダルフイーカメラによる微量 X 線回折により結晶形の解析を行った後 XAFS 測定を計画している。

③ 貝軟体部の分析：分離した軟体部は、通常の高温灰化、酸分解を行い、微量元素の軟体部での濃集の有無を今後確認する予定であるため、部位毎に分け冷凍保存とした。高度の濃集が認められた場合には、濃集部位の特定と濃集時の微量元素の化学形態を特定する為に、元素マッピングと高濃度濃集部位で蛍光 XAFS による対象元素の化学形態を測定する計画である。

④ 海水・底質中の分析：貝飼育環境の解析の為に、海水、底質中の微量元素の定量、化学形態解析を行うために凍結保存した。

4. 研究成果

(1) 無機的な炭酸カルシウム生成における微量希土類元素の影響

無機的な炭酸カルシウムの生成をバイオミネラル形成の素反応として捉え、無機的な沈殿生成による結晶への微量元素の取り込まれ方・微量元素による炭酸カルシウムの固-液平衡状態の変化を系統的に解析するために、化学的な性質が類似しているが系統的にイオン半径が変化する希土類元素を不純物として添加した炭酸塩の合成実験を中心に研究を実施した。カルサイトが生成する母液殻の結晶生成反応では、カルシウムイオンのイオン半径 (6 配位で 1.00 Å) より大きいイオン半径を持つ La (6 配位で 1.05 Å) において、きわめて高い溶解度の上昇効果を示した。しかしながら、希土類元素イオンの性質は類似しているにもかかわらず、イオン半径がわずかに小さな希土類元素 (Ce, Pr, Nd) を添加した系では、イオン半径が小さくなるに比例し、系統的に溶解度の上昇効果が減少した。さらに、イオン半径が 0.96 Å より小さい希土類元素 (Sm 以降) では、炭酸カルシウムの溶解平衡に与える効果が一切みられなくなることが示された。これは、不純物イオンの影響はその化学的性質に加え、イオン半径による影響が大きいことを示している。

また、二枚貝殻体と同じ炭酸カルシウムの結晶形であるアラゴナイトが生成する母液を用いた実験では、同様の結果は得られなかった。

(2) 海産二枚貝の人工環境での飼育実験と殻体中の微量元素の解析

実際のバイオミネラルの解析を行うために、海産二枚貝の人工環境下での飼育方法の

検討と天然環境下および人工環境下で成長した殻体中の微量重金属の存在度について解析を行った。飼育実験は条件検討の結果、当初予定していたアサリからホンビノスガイに変更したが、人工海水・人工飼料・室内環境下で 8 ヶ月を超える長期飼育が可能となった。

人工海水で飼育した個体の殻体を成長方向に切り出し、採集以前の水域で成長した部分と人工環境で飼育した部分を分け、微量元素 (Al, Ti, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Cd, Sb, Pb) と Ca の分析を行い、個体間での元素の取込まれ方の変動について、次式に示すように、殻体を構成する主成分である炭酸カルシウムの構成要素である Ca により規格化した上で個体間変動比を求め、元素ごとにプロットし殻体に含まれる元素の個体間変動パターンを求めた。

$$\text{個体間変動比} = \left(\frac{\text{金属Mの物質質量}}{\text{Caの物質質量}} \right)_{\text{個体A}} / \left(\frac{\text{金属Mの物質質量}}{\text{Caの物質質量}} \right)_{\text{個体B}}$$

その結果、異なる水域に成長した部分では、個体間の変動幅が大きく、同じ人工海水で成長した殻体では個体間変動パターンが 1 に近づくことが示され、殻体中の金属の存在度は成育環境の金属の存在度を反映させていることが示された。しかしながら、同じ人工海水飼育下で成長した部位であっても、元素によっては、特定の個体において選択的に濃集される傾向を示していた。その傾向は存在度自体の大きさは異なるものの、異なる水域で成長した部分のパターンにも反映されていることから、同じ種であっても元素濃集について個体差が生じることを示しており、殻体の重金属存在度から成育した環境の重金属存在度を見積もる上では、個体差を考慮する必要があることが示された。

本研究課題の実施は、研究室のスタートアップの段階で実施されたものであり、かつ、実質 1 年半での実施であったため、当初計画していた項目のうち、一部しか実施することができず、限定的なものとなってしまったが、今後の研究展開に重要な知見を得ることができたと考えている。また、本研究課題の中心的な手法である XAFS に関しても、本研究課題の研究期間では、共同利用実験の申請上、放射光を利用した XAFS による貝殻体中の微量元素の存在状態の解析を実施するに至らなかったが、2009 年度からの共同利用実験として採択されたことから、殻体中の重金属の局所解析を今後実施することが可能となり、本研究テーマが目指すバイオミネラルへの微量元素の濃集過程を議論することができるようになると期待される。

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)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

津野 宏 (Tsuno Hiroshi)

横浜国立大学・教育人間科学部・准教授

研究者番号：60432069

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者