

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23740386

研究課題名(和文)カルサイトとアラゴナイトからなる軟体動物の殻体形成機構の解明

研究課題名(英文)Biomineralization of the calcitic and aragonitic molluscan shell

研究代表者

中島 礼(Nakashima, Rei)

独立行政法人産業技術総合研究所・地質情報研究部門・主任研究員

研究者番号：00392639

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：軟体動物の殻体は主にアラゴナイトやカルサイトから構成されるが、中にはアラゴナイトやカルサイトが挟在、混合する場合がある。本研究では、とくにアワビの貝殻を材料として、まず貝殻の形成時期を酸素安定同位体比分析で明らかにし、そして貝殻中のアラゴナイトとカルサイトの分布をラマン分光法によって把握した。その結果、アラゴナイトとカルサイトはレイヤー状に分布し、同時に作り分けが行われていることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Shell of mollusks is composed mainly of the calcite and aragonite, there are cases that calcite and aragonite are mixed into the shell. In this study, abalone shells, which have a mixture structure of calcite and aragonite, are used as a material. The shell microstructures of the outer shell layer are examined by using Raman spectroscopy and oxygen stable isotope analysis. As a result, I found that calcite and aragonite are distributed in the outer shell layer as a thin layer separately, and formed at the same time.

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：層位・古生物学

キーワード：生体鉱物 軟体動物 地球化学 古生物学

### 1. 研究開始当初の背景

顕生代を通して無機的に形成された炭酸塩の Mg/Ca 比や Ca 濃度などに基づき、海洋の化学組成はカルサイト海 (calcite seas) とアラゴナイト海 (aragonite seas) の両者が繰り返され、カルサイトまたはアラゴナイト骨格を有する海洋生物の進化や発達、カルサイト海とアラゴナイト海の化学組成に影響を受けてきたと考えられている。一方、顕生代にわたる汎世界的な平均気温と海洋化学組成の変動を比較すると、カルサイト殻を獲得形質として持つ二枚貝類の発達・進化は、海洋化学組成よりも生息場の低水温による影響が強いほか、遺伝や食性、捕食や進化など多くの要因も指摘されている。以上より、カルサイト・アラゴナイト殻構造の獲得という系統進化の研究には、貝殻におけるカルサイトとアラゴナイトの形成条件を明らかにすることが必要である。

軟体動物の生体鉱物化作用で形成される炭酸塩骨格は、主にカルサイトとアラゴナイトから構成される。カルサイトとアラゴナイトは結晶他形の関係で、常温常圧下ではアラゴナイトよりカルサイトのほうが安定で形成されやすい。しかし、軟体動物には、アラゴナイトだけからなる種類のほうが多い。一方例えばアコヤガイは、外殻層を稜柱構造カルサイト、中殻層と内殻層を真珠構造アラゴナイトからなり、外套膜による鉱物の作り分けによって規則的に貝殻構造が形成されている。なぜ、どのようにして不安定なアラゴナイトと安定なカルサイトの作り分けが行われるのか、この疑問が「カルサイト-アラゴナイト問題」である。近年、カルサイトとアラゴナイトを作り分けるメカニズムとして、温度やイオン半径の影響で  $Mg^{2+}$  が結晶に取り込まれることでカルサイトの結晶成長が妨げられること、アスぺインなどのタンパク質がカルサイトの形成を誘導するという遺伝的なコントロールが行われていることが解明され、分子生物学による研究が進められている。しかし、どのような環境・生態の条件が影響して作り分けが行われているのかはまだ明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究の期間内における目標は、アワビ類の殻体構造内におけるカルサイトとアラゴナイトの分布を定量的に明確にすること、そして、殻体にみられる両鉱物の形成時期を明らかにし、作り分けの要因が環境条件 (水温や塩分、飼料など) などの外的要因にあるのか、あるいは成長速度や代謝活動など生活史という内的要因なのかどうかを明確にすることである。また、アワビ類化石も検討して、地質時代におけるアワビ類の殻体構造の特徴を明らかにする。

カルサイトとアラゴナイトの生体鉱物学的研究については、制御因子としてのタンパク質の研究が進められ、分子生物学からの形

成機構が明らかになってきている。しかし、両鉱物の作り分けに関しては、実際には何がきっかけなのか? 環境因子や生態との関係は? などという疑問はまだ解明されていない。また、軟体動物のカルサイト殻の形成はこれまでは低水温域で多いことが指摘されたが、環境のモニタリングと化学分析をした上での鉱物形成を定量的に評価した研究はない。これらの疑問を解明するための本研究の独創的な点は、1) カルサイトとアラゴナイトが殻に混在するアワビ類を用いること、2) アワビ類と同様な殻体構造を持つアコヤガイを比較材料とすること、3) 飼育による環境のモニター、生体・殻構造の分析と化学分析を行うことで、そして両鉱物の形成要因を明らかにし、アワビのカルサイト-アラゴナイト問題を解明することである。

### 3. 研究の方法

本研究の実施にあたり、平成 23 年度は、アワビなどの貝類について、成長履歴がわかっている貝殻を入手し、貝殻構造の観察、鉱物組成の分析、酸素・炭素同位体比及び微量元素分析を行い、成長に伴う貝殻構造と化学組成の特徴を調べる手法を確立する。平成 24 年度以降は、現生の貝類や化石の貝殻について、前年に確立した手法で貝殻構造・化学組成分析と生息環境の海水試料の化学分析を行う。そして、貝殻と海水の化学分析結果とモニタリングした環境および生体のデータ、生活史との関連を評価する。以上の分析結果を統合的に解釈して、カルサイトとアラゴナイトの殻体形成機構および形成要因を解明する。

貝殻成長量については、貝殻断面をアセテートフィルムや薄片として作成して、実体顕微鏡に設置した画像解析装置を用いて殻層内の成長線の幅や本数の測定を行うことで、成長速度など見積もる。

採取したアワビ貝殻の洗浄後、貝殻構造の成長方向に 0.5~1mm 間隔で貝殻の粉末試料 (約 100  $\mu$ g) を外殻層、中殻層、内殻層から採取する。この際、双眼実体顕微鏡下でマイクロドリルを装着したグラインダーを使用する。採取した粉末試料は、X 線回折 (XRD)、自動炭酸塩前処理装置付き質量分析計において酸素・炭素同位体比分析に用いる。XRD の分析ではアラゴナイトとカルサイトの含有比を測定する。

貝殻中に分布するアラゴナイトやカルサイトを把握するために、染色法とラマン分光法を用いる。染色法は、アラゴナイトとカルサイトが共存する組織観察のために使われる Meigen's solution を用いた。この手法では硝酸コバルト(II)を染色液として用いることで、アラゴナイトが紫色に染色されるがカルサイトは染色されない。ラマン分光法とは、物質にレーザーを照射することでラマン散乱光を観測し、物質の化合物の構造を解析する手法である。このラマン分光法を用いるこ

とで、カルサイトとアラゴナイトに特異的なスペクトルを識別でき、鉱物を判定することが可能となる。

#### 4. 研究成果

H23 年度には試験材料としてのアワビ類を用いて、養殖場と実験室の環境でモニタリングシステムを構築する予定であったが、2011年3月11日の東北沖地震によって、養殖場やサンプル提供者、水産総合研究センターなどが被災したため、予定したアワビ類の分析を行うことが出来なかった。しかし2010年に岩手県の大槌湾と宮城県の大泊湾で採集したアワビ類を材料として提供していただき、分析を進めた。そのほかにアワビ類の貝殻試料を新潟県の佐渡島からの試料提供と韓国沿岸における貝殻試料を材料として収集した。韓国沿岸での調査においては、アラゴナイトの殻からなる二枚貝類も研究材料として収集した。大槌と泊浜において収集したアワビ類の貝殻については、貝殻構造解析と貝殻の化学分析を行った。貝殻構造解析については、貝殻断面をアセテートフィルムを用い観察用に加工し、実体顕微鏡や走査型電子顕微鏡で観察し、貝殻に含まれるアラゴナイトやカルサイトの分布を把握した。また、軟X線による写真から、成長密度などを見積もった。貝殻の化学分析については、貝殻の粉末試料を質量分析計を用いて酸素・炭素安定同位体比の測定を行った。酸素・炭素安定同位体比の測定結果をみると、大槌湾の試料は2006年から2010年にかけての同位体比のサイクルが明瞭に判別出来た。また、泊浜の試料では2007年から2010年にかけてのサイクルが明確となった。とくに酸素同位体比は水温のプロキシとして使えることが明らかとなり、今後研究を進める上で、アワビ類の貝殻の成長解析には酸素同位体比をツールとすることは有効であることがわかった。今年度の研究成果として、化学分析と構造解析の手法については今後とも有効に使えるという研究成果が得られた。

H24 年度には研究材料としてのアワビ類以外の軟体動物として、カルサイト殻を持つホタテガイ類、カルサイトとアラゴナイト殻を持つシンカイヒバリガイ類を材料として研究をすすめた。アワビ類については、東北地方の大槌と泊浜で採集された材料のほか、韓国南岸で採集されたものと中国地方瀬戸内海で養殖されているアワビ類も材料として用いた。これらのアワビ類の貝殻については、貝殻構造解析と貝殻の化学分析を行った。貝殻構造解析については、貝殻断面をアセテートフィルムを用い観察用に加工し、実体顕微鏡や走査型電子顕微鏡で観察し、貝殻に含まれるアラゴナイトやカルサイトの分布を把握した。また、軟X線による写真から、成長密度などを見積もった。この手法のほか、今年度は新しくカルサイトとアラゴナイトを区別して染色する方法を用いて、さらに詳

細にそれぞれの鉱物の分布を把握した。ほかにラマン分光法によって、ミクロン単位での精度でカルサイトとアラゴナイトの分布を測定する手法をとりいれた。ホタテガイ類については化石と現生の標本を入手し、化石を年代測定を行った上でカルサイトの成長速度を見積もった。シンカイヒバリガイについては、貝殻断面からアセテートピール法で断面観察、そして走査型電子顕微鏡で微細構造の観察を行い、カルサイトとアラゴナイトの貝殻成長の伴う分布変化などを見積もった。ホタテガイ類やシンカイヒバリガイ類の貝殻構造は比較的シンプルであることがわかったが、アワビ類については複雑な鉱物分布をしている。これにはラマン分光法をとりいれて研究を進めることがよいことがわかった。

H25 年度にはカルサイトとアラゴナイトの鉱物が共存するアワビ類とカルサイトからなるホタテガイ類の貝殻を材料として研究を進めた。アワビ類については、東北地方の大槌と泊浜で採集された材料のほか、韓国南岸で採集されたものと中国地方瀬戸内海で養殖されているエゾアワビとクロアワビを材料として用いた。ホタテガイ類については化石と現生の標本を入手し、化石を年代測定を行った上でカルサイト殻の成長速度を見積もった。現生は北海道オホーツク海およびサロマ湖と青森県陸奥湾で養殖されたものである。化石は駿河湾海底、九州西方沖海底、鹿児島島の完新統から採集されたもので、約3万～約1万年前の年代を示すことがわかった。昨年度のアワビ殻の鉱物分布を分析した予察研究から、アラゴナイトとカルサイトの分布を測定するにはラマン分光法が適用していることがわかったため、この手法を用いてアワビ殻の外殻層部分の断面の鉱物分布を検討した。ラマン分光法による分析結果から、アワビ殻の外殻層にはアラゴナイトとカルサイトが混在していることが明らかとなった。これは前年度からわかっていたことであるが、今回これらの鉱物が層状に分布していることが判明した。外側表面から、外殻層のアラゴナイト、外殻層のカルサイト、中殻層および内殻層のアラゴナイト(真珠層)という順番である。つまり、このアワビ類は同時期にアラゴナイトとカルサイトを作り分けているということである。今回は鉱物分布の比率や季節との関連性まで明らかにすることはできなかったが、今後の研究課題として、アワビ類のカルサイトとアラゴナイトの作り分けの要因について研究を進めていく方向性がわかった。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4件)

西田 梢、中島 礼、間嶋隆一、疋田吉識、  
Ontogenic changes in shell  
microstructures in the cold

seep-associated bivalve, *Conchocele bisecta* (Bivalvia: Thyasiridae)、Paleontological Research, 査読有、15 巻、2011, 193-212、DOI: 10.2517/1342-8144-15.4.193

佐藤 圭、中島 礼、間嶋隆一、渡邊裕美、佐々木猛智、Shell microstructures of five Recent solemyids from Japan (Mollusca: Bivalvia: Protobranchia)、Paleontological Research、査読有、17 巻、2013, 69-90、DOI: 10.2517/1342-8144-17.1.69

吉村寿紘、為則雄祐、鈴木 淳、中島 礼、岩崎 望、長谷川浩、川幡穂高、Element profile and chemical environment of sulfur in a giant clam shell: insights from micro X-ray fluorescence and X-ray absorption near-edge structure、Chemical Geology、査読有、352 巻、2013, 170-175、DOI: 10.1016/j.chemgeo.2013.05.035

中島 礼、示準化石と示相化石、理科教育、査読無、56 巻、2013, 68-70

〔学会発表〕(計 7 件)

佐藤瑞穂、中島 礼、坂井三郎、間嶋隆一、成長線解析によって明らかとなった化学合成二枚貝ツキガイモドキの成長サイクル、日本古生物学会第 161 回例会、2012 年 1 月 21 日、富岡市生涯学習センター(群馬県)

中島 礼、佐藤瑞穂、坂井三郎、間嶋隆一、成長線と安定同位体比解析に基づく化学合成二枚貝ツキガイモドキの成長パターン、日本地球惑星科学連合 2012 年大会、2012 年 5 月 23 日、幕張メッセ(千葉県)

中西利典、Wan Hong, Gi-Suk Song、中島 礼、Wook-Hyum Nahm、香月興太、Radiocarbon age offset between shell and plant pairs in the Holocene lagoon sediment around the Mae-ho Lagoon, eastern Korea, International Radiocarbon Conference 2012, 2012 年 7 月 11 日、Paris (France)

中島 礼、佐々木猛智、三本健二、延原尊美、トウキョウホタテはいつ絶滅したのか、日本古生物学会第 162 回例会、2013 年 1 月 26 日、横浜国立大学(神奈川県)

玉井風史、間嶋隆一、中島 礼、佐藤 圭、北西太平洋産シンカイヒバリガイ属 4 種の貝殻微細構造、日本古生物学会第 162 回例会、2013 年 1 月 26 日、横浜国立大学(神奈川県)

中島 礼、吉田勝彦、縄文人はトウキョウホタテを食べたのか?、日本古生物学会 2013 年年会、2013 年 6 月 29 日、熊本大学(熊本県)

中島 礼、加瀬友喜、荒川真司、更新世の巨大ホタテ *Mizuhopecten kamagai* の古生態、日本古生物学会第 163 回例会、2014 年 1 月 25 日、兵庫県立人と自然の博物館

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 礼 (NAKASHIMA, Rei)

独立行政法人産業技術総合研究所地質情報研究部門・主任研究員

研究者番号: 00392639