

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4月10日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（S）

研究期間：2010～2012

課題番号：22228006

研究課題名（和文） 地球環境保全を目指した海洋生物における石灰化の制御機構の解明

研究課題名（英文） Elucidation of regulation mechanism of calcification in marine organisms toward preservation of global environment

研究代表者

長澤 寛道（NAGASAWA Hiromichi）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：60134508

研究成果の概要（和文）：海洋生物の中でもサンゴや円石藻など代表的な石灰化生物の石灰化組織に存在する微量の有機物を抽出・精製し、それらの構造と石灰化における機能を明らかにすることによって石灰化機構の解明を試みた。その結果、10種を超える新規タンパク質および既知化合物を同定し、天然物および組換え体を用いた機能解析や電子顕微鏡観察から、石灰化における生物種を超えた有機基質の存在部位と役割に関する共通のモデルを提案した。

研究成果の概要（英文）：We tried to clarify the mechanism of calcification by characterizing organic compounds extracted and purified from calcified tissues of some representative marine organisms including corals and coccolithophores. As a result, more than 10 novel proteins and some known compounds related to calcification were identified. On the basis of the results of functional analyses and microscopic observation, we proposed a common model for calcification in terms of distribution and function of organic matrices.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	44,200,000	13,260,000	57,460,000
2011年度	36,100,000	10,830,000	46,930,000
2012年度	37,200,000	11,160,000	48,360,000
年度			
年度			
総計	117,500,000	35,250,000	152,750,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・環境農学

キーワード：海洋生物、石灰化、地球環境保全、電子顕微鏡観察、二酸化炭素、有機基質

1. 研究開始当初の背景

二酸化炭素の炭酸カルシウムへの固定反応は生物が無機鉱物を形成する反応（バイオミネラリゼーション）の主要なものであり、地球環境の維持に貢献してきた。しかし、その機構の詳細は不明である。これまで、その反応機構には、バイオミネラルに含まれる微量の有機物（有機基質）が重要な役割をして

いると考えられてきた。最近になって、これらの有機基質の構造が少しずつ明らかになってきたが、それらの機能については不明のものが多いのが現状である。

2. 研究の目的

石灰化反応を有する代表的な海洋生物として、円石藻、サンゴ、軟体動物、甲殻類、

魚類を選び、それぞれの石灰化組織から、石灰化に関わっていると考えられる有機基質を抽出・精製・構造解析を行い、機能を推定することによって石灰化の制御機構を解明することを目的とする。また、有機基質のバイオミネラル中における分布を電子顕微鏡を用いて観察・解析し、生化学的データと総合することによって石灰化のメカニズムの共通性を明らかにする。

3. 研究の方法

石灰化組織の電子顕微鏡を用いた種々の観察による結晶学的解析および石灰化組織中の有機基質の構造と機能解析を行う。石灰化組織を酸またはEDTA溶液を用いて脱灰し、可溶性画分と不溶性画分に分離する。不溶性画分から界面活性剤を含む溶液で処理することによって抽出する。それぞれに含まれる有機基質を、石灰化阻害活性、炭酸カルシウム結晶多形認識活性などを指標にして精製し、有機基質を単離し、構造解析、機能解析を行う。機能解析には、石灰化阻害活性、試験管内での結晶形成に対する効果、RNA干渉、抗体を利用した局在解析等を行う。

4. 研究成果

この3年間で、学術的に最もインパクトのある研究成果は、非晶質炭酸カルシウム(ACC)を安定に保つために利用されているリン含有化合物の同定である(Sato et al., Nature Chem. Biol., 2011)。これは、結晶多形の制御に関することで、バイオミネラリゼーション研究における主要な課題の一つである。炭酸カルシウムには3つの結晶多形が存在し、生物は必ずしも最安定なカルサイトを利用しているわけではなく、準安定なアラゴナイトやバテライトを利用しているものもある。さらに、これらよりさらに不安定な非晶質炭酸カルシウム(ACC)を利用している生物もある。その代表が甲殻類であり、甲殻類では脱皮のたびに体内で炭酸カルシウムを移動させ、再利用しているが、そのために最も溶けやすいACCを外骨格や胃石に用いている。外骨格および胃石からACC誘導活性を指標にして、可溶性有機基質を精製解析した結果、ACCを安定化する因子として、ホスホエノールピルビン酸(PEP)および3-ホスホグリセリン酸(3-PG)を同定した。以前からACC形成とリンの関連が指摘されていたが、本研究によって長年の懸案が解決された。

その他の個々の生物種における研究進展状況は以下のとおりである。

(1) 円石藻のココリス形成—円石藻類は海洋の主要な二酸化炭素固定生物の一つである。これまでココリスの可溶性画分から酸性多糖を同定し、さらにココリスを支えている有機基板から2種類の新規タンパク質(CSAP-1,

-2)を同定した。これらのタンパク質の機能を知るために、まず、ココリス基質タンパク質の機能を解析する一般的な方法として、円石藻に直接外来遺伝子導入する方法を検討してきた。その結果、円石藻を低張液で処理してプロトプラスト化したのち、ポリエチレングリコール法により外来遺伝子を導入する方法を確立した。2種類のタンパク質のcDNAをクローニングし、発現を調べた結果、CSAP-2の発現時期がココリス形成と同調していることからCSAP-2がココリス形成に関与していると推定された。CSAP-2遺伝子をRNAiによりノックダウンしたところ、ココリスの形態に異常が認められたことから、CSAP-2が正常なココリス形成に必須であることが推定された。

(2) 軟体動物—アコヤガイの真珠層形成に関わるタンパク質Pif 80が炭酸カルシウムのアラゴナイト結晶により特異的に結合することに注目し、その性質がタンパク質のアミノ酸配列のどの部分に由来するかを調べた。近縁種のPifホモログとの配列との比較から類似している部分を2箇所、類似していない部分を1箇所選び、それらの組換え体を調製し、活性を調べた。その結果、類似している2箇所の組換え体はいずれもアラゴナイトにより特異的に結合する可能性が示された。また、稜柱層における結晶格子の歪みが有機基質によることを示唆した。また、アコヤガイを材料にして、殻皮という貝殻を覆っているキチンを主体とした膜組織に含まれる2種類のタンパク質をはじめ同定した。

ムラサキイガイからPifと類似の基質タンパク質を得ることに成功した。これは、Pifタンパク質が真珠層を形成する種に置いて普遍性を持って機能していることを示唆した。Pifのタンパク質としての起源を、アコヤガイと近縁種のPifのcDNAをクローニングし、配列を詳細に比較することによって調べた結果、ラミニンと呼ばれる細胞外マトリックスタンパク質であると推定された。Pif関連タンパク質は分子進化の過程でかなり大きく変異を受けていることが分かった。

アコヤガイには真珠層が輝きを持たない白化真珠が存在し、産業上問題であるが、その原因は不明である。われわれは正常な貝の真珠層と白化真珠の真珠層の可溶性画分をSDS-PAGE上で比較したところ、白化真珠抽出物中に正常な貝にはないバンドを認めた。このバンドのタンパク質はN末端アミノ酸配列からナクレイン(炭酸脱水酵素)の分解物であることがわかった。これが白化の原因かどうかをさらに検討中である。

真珠形成の過程で最も重要で、最も不明な部分は真珠袋形成過程である。これを解析するために、外套膜の*in vitro*培養を試みた。種々の培養条件を検討したが、培養条件下で

石灰化を引き起こすことはできなかった。培養に伴って石灰化関連遺伝子の発現を調べたところ、培養開始から1週間までは細胞の活性はある程度保たれていることが分かった。真珠袋形成には外套膜細胞が分裂する必要があるが、そのための内因性因子が必須であると推定された。

(3) サンゴ骨格の形成—サンゴの骨格は炭酸カルシウムのアラゴナイトで作られている。以前にわれわれはアザミサンゴの骨格から酸可溶性画分から galaxin と名付けた基質タンパク質を同定したが、その機能は不明であった。そこで、全長を含む組換え体を融合タンパク質として作製し、タグを切除した後、*in vitro* で炭酸カルシウム結合活性及びキチン結合活性を調べた。その結果、アラゴナイトとカルサイトの両方に結合すること、およびキチン結合能を有することが推定された。また、*in vitro* で組換えタンパク質存在下で結晶形成実験を行ったところ、アラゴナイト結晶は誘導できなかったが、バテライト結晶を含む結晶が生成したことから、サンゴの石灰化において重要な役割を果たしているかと推定された。

一方、アザミサンゴ骨格の不溶性画分から界面活性剤を用いて抽出した画分に SDS-PAGE 上で明瞭な2本のバンドを認めた。MS/MS 解析によって部分配列を得たが、タンパク質全体の構造を出すには至っていない。これまでサンゴの有機基質は galaxin しか知られていないことから、これら不溶性の有機基質の研究は今後のサンゴの石灰化研究に重要な意味を持つことが期待される。

(4) 魚類の鱗の石灰化—キンギョの鱗から石灰化に関与していると考えられる高度にリン酸化された新規基質タンパク質 (GSP-37) を単離した。このタンパク質のリン酸化修飾が石灰化の制御に重要であることを示した。免疫組織化学からこのタンパク質は骨芽細胞や破骨細胞とは異なる細胞で作られることがわかった。当初は、鱗にしか存在しないと推定されたが、さらに検討した結果、主要な石灰化組織である骨や歯にも発現していることが明らかとなり、石灰化組織において石灰化の過程を制御していると推定された。

(5) 有機基質の石灰化における役割と石灰化組織中の分布モデル—われわれはすでにバイオミネラル化における有機基質の分布と役割についてより一般的なモデルを提出している。上述の代表的生物材料を用いた研究をもとにして、このモデルを再検討した。その結果、可溶性有機基質の役割に ACC 形成を追加する必要があることがわかった。すなわち、有機基質は大きく3つに分類され、1つ目は生理条件下では不溶な高分子化合物であり、コラーゲン、キチン、セルロースが含まれ、石灰化の足場を形成する役割を持つ。

2つ目は1つ目の不溶性有機基質と結合して結晶形成の初期過程を制御する役割をもつ。主にはタンパク質であり、無機結晶の核形成、結晶方位、結晶多形などを制御する。3つ目は可溶性の有機基質で、さらに2つに分けられ、一方は結晶成長を制御する高分子化合物、他方は低分子化合物で多量に存在し、非晶質炭酸カルシウム (ACC) を維持する役割を持つ。このような実験に基づいた有機基質の分類は初めての試みであり、多くの例に適用可能と考えている。

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)

[雑誌論文] (計 27 件)

- 1) H. Miyamoto, H. Endo, 他 27 名 (H. Nagasawa, 26 番目). The diversity of shell matrix proteins: genome-wide investigation of the pearl oyster *Pinctada fucata*. *Zool. Sci.*, in press. (査読有)
- 2) M. Suzuki and H. Nagasawa (2013) Molluskan shell structure and its formation mechanism. *Can. J. Zool.*, in press. (査読有)
- 3) M. Suzuki, A. Iwashima, M. Kimura, T. Kogure and H. Nagasawa (2013) The molecular evolution of the Pif family proteins in various species of mollusks. *Mar. Biotechnol.*, **15**, 145-158. Doi: 10.1007/s10126-012-9471-2. (査読有)
- 4) M. Suzuki, A. Nobayashi-Sugisaka, T. Kogure and H. Nagasawa (2013) Structural and functional analyses of a strongly chitin-binding protein-1 (SCBP-1) from the exoskeleton of the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 361-368. Doi: 10.1271/bbb.120787. (査読有)
- 5) M. Suzuki, S. Nakayama, H. Nagasawa and T. Kogure (2013) Initial formation of calcite crystals in the thin prismatic layer with the periostracum of *Pinctada fucata*. *Micron*, **45**, 136-139. Doi: 10.1016/j.micron.2012.10.010. (査読有)
- 6) Y. Hirokawa, S. Matsuzuka, S. Itayama, T. Uchida, S. Fujiwara, N. Ozaki, H. Nagasawa and M. Tsuzuki (2013) Localization and associative strength of acid polysaccharides in coccoliths of *Pleurochrysis haptonefemera* (Haptophyta) predicted from their extractability from partially

- decalcified coccoliths. *Open J. Mar. Sci.*, **3**, 48–54.
doi:10.4236/ojms.2013.31005. (査読有)
- 7) T. Okumura, M. Suzuki, H. Nagasawa and T. Kogure (2012) Microstructural variation of biogenic calcite with intracrystalline organic macromolecules. *Cryst. Growth Des.*, **12**, 224–230. Doi: 10.1021/cg200947c. (査読有)
- 8) M. Suzuki, T. Okumura, H. Nagasawa and T. Kogure (2012) Localization of intracrystalline organic macromolecules in mollusk shells. *J. Cryst. Growth*, **337**, 24–29. Doi: 10.1021/cg200947c. (査読有)
- 9) T. Takeuchi, T. Kawashima 他 23 名 (H. Nagasawa, 22 番目) (2012) A draft genome of the pearl oyster *Pinctada fucata* to provide a platform for understanding bivalve biology. *DNA Research*, **19**, 117–130. Doi: 10.1093/dnares/dss005. (査読有)
- 10) M. Suzuki, H. Kim, H. Mukai, H. Nagasawa and T. Kogure (2012) Quantitative XRD analysis of {110} twin density in biotic aragonites. *J. Struct. Biol.*, **180**, 458–468. doi.org/10.1016/j.jsb.2012.09.004. (査読有)
- 11) K. Miyabe, D. Tokunaga, H. Endo, H. Inoue, M. Suzuki, N. Tsutsui, N. Yokoo, T. Kogure and H. Nagasawa (2012) GSP-37, a novel goldfish scale matrix protein: identification, localization and functional analysis. *Faraday Discussion*, **153**, 463–481. Doi: 10.1039/c2fd20051a. (査読有)
- 12) J.-W. Kim, T. Kogure, Y. Kiho, S.-T. Kim, Y.-N. Jang, H.-S. Baik and G. Geesey (2012) The characterization of CaCO₃ in a geothermal environment: A SEM/TEM-EELS study, *Clays Clay Miner.*, **60**, 484–495. Doi: 10.1346/CCMN.2012.0600505. (査読有)
- 13) A. Sato, S. Nagasaka, K. Furihata, S. Nagata, I. Arai, K. Saruwatari, T. Kogure, S. Sakuda and H. Nagasawa (2011) Glycolytic intermediates induce amorphous calcium carbonate formation in crustaceans. *Nature Chem. Biol.*, **7**, 197–199. Doi: 10.1038/nchembio.532. (査読有)
- 14) K. Saruwatari, N. Ozaki, S. Nagasaka and H. Nagasawa (2011) Morphological and crystallographic transformation from immature to mature coccoliths, *Pleurochrysis carterae*. *Mar. Biotechnol.*, **13**, S 801–809. Doi: 10.1007/s10126-010-9342-7. (査読有)
- 15) N. Yokoo, M. Suzuki, K. Saruwatari, H. Aoki, K. Watanabe, H. Nagasawa and T. Kogure (2011) Microstructures of the larval shell of a pearl oyster, *Pinctada fucata*, investigated by FIB-TEM technique. *Amer. Mineral.*, **96**, 1020–1027. DOI: 10.2138/am.2011.3657. (査読有)
- 16) Suzuki M., T. Kogure, S. Weiner, and L. Addadi (2011), Formation of aragonite crystals in the crossed lamellar microstructure of limpet shells, *Cryst. Growth Des.*, **11**, 4850–4859. Doi: 10.1021/cg2010997. (査読有)
- 17) M. Suzuki, A. Iwashima, N. Tsutsui, T. Ohira, T. Kogure and H. Nagasawa (2011) Identification and characterization of a calcium carbonate binding protein, blue mussel shell protein (BMSP), from the nacreous layer. *ChemBioChem.*, **12**, 2478–2487. Doi: 10.1002/cbic.201100317. (査読有)
- 18) A. Hayashi, N. Yokoo, T. Nakamura, T. Watanabe, H. Nagasawa and T. Kogure (2011) Crystallographic characterization of crossed lallelar structure in the bivalve *Meretrix lamerckii* using electron beam techniques. *J. Struct. Biol.*, **176**, 91–96. Doi: 10.1016/j.jsb.2011.06.011. (査読有)
- 19) K. Kayano, K. Saruwatari, T. Kogure and Yoshihiro Shiraiwa (2011) Effect of Coccolith Polysaccharides Isolated from the Coccolithophorid, *Emiliania huxleyi*, on Calcite Crystal Formation in In Vitro CaCO₃ Crystallization”, *Marine Biotechnology*, **13**, 83–92. Doi: 10.1007/s10126-010-9272-4. (査読有)
- 20) Saruwatari, K., Y. Tanaka, H. Nagasawa, and T. Kogure (2011), Crystallographic variability and uniformity in Cretaceous heterococcoliths, *Eur. J. Mineral.*, **23**, 519–528, Doi: 10.1127/0935-1221/2011/0023-2129. (査読有)
- 21) H. Nagasawa (2011) Structure and function of matrix proteins and peptides in the biomineral formation in crustaceans. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, **52**, 315–329. Doi: 10.1007/978-3-642-21230-7_11. (査読有)

- 22) M. Suzuki, J. Kameda, T. Sasaki, K. Saruwatari, H. Nagasawa and T. Kogure (2010) Characterization of the multilayered shell of a limpet, *Lottia kogamogai* (Mollusca: Patellogastropoda), using SEM-EBSD and FIB-TEM techniques. *J. Struct. Biol.*, **171**, 223-230. Doi: 10.1016/j.jsb.2010.04.008. (査読有)
- 23) H. Mukai, K. Saruwatari, H. Nagasawa and T. Kogure (2010) Aragonite twinning in gastropod nacre. *J. Cryst. Growth*, **312**, 3014-3019. Doi: 10.1016/j.jcrysgro.2010.07.002. (査読有)
- 24) T. Okumura, M. Suzuki, H. Nagasawa and T. Kogure (2010) Characteristics of biogenic calcite in the prismatic layer of a pearl oyster, *Pinctada fucata*. *Micron*, **41**, 821-826. Doi: 10.1016/j.micron.2010.05.004. (査読有)
- 25) 鈴木道生、小暮敏博、長澤寛道 (2010) 真珠形成におけるバイオミネラル化—貝殻内タンパク質 Pif の発見とその役割—、*バイオサイエンスとバイオインダストリー*, **68**, 102-108. (査読無)
- 26) 鈴木道生、小暮敏博、長澤寛道 (2010) アコヤガイの真珠形成の分子メカニズム—アラゴナイト結晶形成の鍵物質、酸性基質タンパク質 Pif を同定、*化学と生物*, **48**, 310-312. (査読無)
- 27) 鈴木道生、小暮敏博、長澤寛道 (2010) 真珠を輝かせる構造はどのようにして形成されるか—関与するタンパク質 Pif の発見から、*科学*, **80**, 125-127. (査読無)

[学会発表] (計 85 件)

- 1) 遠藤博寿、長澤寛道 : 円石藻 *Pleurochrysis carterae* における RNAi 法の確立、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 24 日-28 日、東北大学川内北キャンパス、仙台。
- 2) 長澤寛道 : バイオミネラル化—研究 20 年 (基調講演)、第 7 回バイオミネラル化—ワークショップ、2012 年 12 月 1 日、東京大学小柴ホール、東京。
- 3) 小暮敏博、鈴木道生、金恵真、A. G. Checa、佐々木猛智、長澤寛道 : X 線回折を用いた軟体動物貝殻を構成するあられ石中の {110} 双晶密度評価、第 7 回バイオミネラル化—ワークショップ、2012 年 12 月 1 日、東京大学小柴ホール、東京。
- 4) K. Miyabe, D. Tokunaga, H. Endo, H. Inoue, M. Suzuki, N. Tsutsui, N. Yokoo, T. Kogure and Hiroichi Nagasawa :

- GSP-37, a novel goldfish scale matrix protein: identification, localization and functional analysis. July 23-25, 2012, Metropolitan University, Leeds, UK.
- 5) K. Iimura, K. Miyabe, H. Endo and H. Nagasawa : Analysis of the GSP-37 Expression during the Scale Regeneration in Goldfish, The 9th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference. July 13-16, 2012, Kochi City Culture-Plaza Cul-Port, Kochi, Japan.
- 6) H. Endo, H. Kasajima, S. Fujiwara, M. Tsuzuki, K. Saruwatari, T. Kogure and H. Nagasawa : Molecular analysis of coccolith matrix proteins of *Pleurochrysis carterae*, Gordon Research Conference (Biom mineralization 2012), August 12-17, Colby-Sawyer College, New London, NH, USA.
- 7) M. Suzuki, T. Kogure, H. Nagasawa, S. Weiner and L. Addadi : Study on the formation mechanism of the aragonite crystals in the crossed lamellar microstructure of limpet shells. Gordon Research Conference (Biom mineralization 2012), August 12-17, 2012, Colby-Sawyer College, New London, NH, USA.
- 8) 鈴木道生、小暮敏博、長澤寛道 : バイオミネラル化—制御する有機基質—アコヤガイの真珠層形成を司る基質タンパク質 Pif の構造・機能解析— (招待講演) 日本地球惑星科学連合 2012 年度連合大会、2012 年 5 月 20-25 日、幕張メッセ、千葉。
- 9) 長澤寛道 : (独) 沖縄科学技術研究基盤整備機構 マリンゲノミクスユニット主催シンポジウム「動物の不思議な能力：ゲノムからの挑戦」、「海洋生物における石灰化に関する有機基質の同定と機能解析」、2011 年 1 月 29 日、沖縄産業支援センター、那覇市。
- 10) 長澤寛道 : 水棲生物の石灰化を制御する有機基質の構造と機能に関する研究 (招待講演)、日本農芸化学会関東支部大会、2012 年 1 月 21 日、筑波大学、つくば市。
- 11) H. Nagasawa : Mechanism of nacreous layer formation in mollusk shells: structure and function of organic matrices. The International Symposium

- on Pearl Research, October 4-6, 2011, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.
- 12) T. Kogure, M. Suzuki, N. Yokoo, T. Okumura, H. Nagasawa: Distribution and role of intracrystalline organic macromolecules in molluscan shells, The International Symposium on Pearl Research. The University of Tokyo, Tokyo, Oct 5, 2011.
 - 13) 小暮敏博、鈴木道生、横尾直樹、奥村大河、長澤寛道：貝殻に見る炭酸カルシウム-生体高分子ハイブリッド構造、日本セラミックス協会第24回秋期シンポジウム、2011年9月7日、北海道大学、札幌。
 - 14) H. Endo, H. Kasajima, S. Fujiwara, M. Tsuzuki, K. Saruwatari, T. Kogure and H. Nagasawa: Isolation and Expression Analysis of Two Coccolith Matrix Proteins of *Pleurochrysis carterae*. 11th International Symposium on Biomineralization, July10-14, 2011, University of Sunshine Coast, Australia.
 - 15) 長澤寛道：キチン・キトサン学会、特別講演「バイオミネラル化におけるキチンの役割」、2010年7月13日、東京大学弥生講堂、東京。
 - 16) 長澤寛道：新学術領域研究「融合マテリアル」公開キックオフミーティング、特別講演、「バイオミネラル化における有機基質の同定と機能解析」、2010年9月24日、東京大学山上会館、東京。
 - 17) 猿渡和子、長澤寛道、小暮敏博：ヘテロココリスの結晶方位の多様性と共通性、第5回バイオミネラル化ワークショップ、2010年11月6日東京大学弥生講堂、東京。
 - 18) 長澤寛道：東京大学公開講座「骨」、「貝殻・真珠の骨組み形成のメカニズム」、2010年11月14日、東京大学安田講堂。
 - 19) H. Nagasawa, A. Sato, S. Nagasaka, K. Furihata, S. Nagata, I. Arai, K. Saruwatari, S. Sakuda and T. Kogure: Pacificchem 2010, "Identification of low-molecular-weight phosphorus compounds that stabilize amorphous calcium carbonate in gastrolith and cuticle of the crayfish", December 15, 2010, Hawaiian Convension Center, Hawaii, USA.

〔図書〕(計6件)

- 1) H. Nagasawa and M. Suzuki (2013) Mechanism of nacre formation in mollusk shells: Structure and function of organic matrices. In "Recent Advances in Pearl Research", eds. S. Watabe, K. Maruyama and H. Nagasawa, Terrapub, Tokyo, pp. 137-148.
- 2) T. Kogure, M. Suzuki, N. Yokoo, T. Okumura, H. Nagasawa (2013) Distribution and role of intracrystalline organic macromolecules in the pearl oyster, *Pinctada fucata*. In "Recent Advances in Pearl Rsearch", eds. S. Watabe, K. Maruyama and H. Nagasawa, Terrapub, Tokyo, pp.125-136.
- 3) H. Nagasawa (2011) The crustacean cuticle: structure, composition and mineralization. In Frontiers in Bioscience, Ed. By E. Bonucci. Electric edition.
- 4) H. Nagasawa (2011) Structure and function of matrix proteins and peptides in the biomineral formation in crustaceans. In "Molecular Biomineralization: Aquatic Organisms Forming Extraordinary Materials", Ed. by W. E. G. Muller, pp. 315-329, Springer.
- 5) 長澤寛道 (2011) 第20章 脱皮に伴う石灰化・脱石灰化のメカニズム、「脱皮・変態の生物学-昆虫と甲殻類のホルモン作用の謎を追う」、園部治之、長澤寛道編著、pp. 439-456、東海大学出版会。

〔その他〕

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/seiyu/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長澤 寛道 (NAGASAWA HIROMICHI)
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
 研究者番号：60134508

(2) 研究分担者

小暮 敏博 (KOGURE TOSHIHIRO)
 東京大学・大学院理学系研究科・准教授
 研究者番号：50282728