

ナメクジウオ内柱に蓄積されるヨウ素の高分解能観察

High Resolution Observation of Iodine Accumulated in the Endostyle of the Lancelet

窪川 かおる^a, 大東 琢治^b, 難波 秀利^c, 竹本 邦子^d, 木原 裕^d

Kaoru Kubokawa^a, Takuji Ohigashi^b, Hidetoshi Namba^c, Kuniko Takemoto^d, Hiroshi Kihara^d

^a東京大学 海洋研究所, ^b立命館大学 総合理工学研究機構, ^c立命館大学 理工学部, ^d関西医科大学

^aOcean Research Institute, University of Tokyo, ^bResearch Organization of Science & Engineering, Ritsumeikan University,

^cDepartment of Physical Science, Ritsumeikan University, ^dKansai Medical University

結像型軟X線顕微鏡を用いて、ナメクジウオの内柱ゾーン5に蓄積されているヨウ素の分布観察を行なった。その際、ヨウ素のM吸収端(631 eV)前後となる600及び640 eVのエネルギーを用いて透過像を取得し、その透過率分布の変化を検出することにより、高分解能でのヨウ素分布の観察を試みた。

By using the full-field imaging soft x-ray microscopy, distribution of iodine which was accumulated in zone 5 of the endostyle of a lancelet was observed. Then, x-ray energy of 600 and 640 eV, which are below and above of the M absorption edge of iodine (631 eV), were used to obtain the transmission images. From the difference of the transmittance of two images, observation of the distribution of iodine with high resolution was attempted.

背景と研究目的: 脊索動物門頭索動物亜門であるナメクジウオ類は系統進化学上、脊椎動物に最も近い位置にある無脊椎動物である。近年報告された脊椎動物、尾索動物、頭索動物の全ゲノム配列を比較解析した結果によると、脊椎動物とナメクジウオ類は共通の祖先から進化してきて共通する遺伝子を多く持つこと、そしてホヤ類は脊椎動物が持っている多くの遺伝子を失ったことがわかってきたこともあり[1]、注目を集めている生物である。そのため、ナメクジウオが持つ原始的な器官の機能解明を行なう事で、無脊椎動物から脊椎動物へと至る断絶的進化の探る端緒となり得ると考えられている。例えば、脊索動物特有の器官である内柱は高等動物が持つ甲状腺の祖先型として着目されており、これらを繋ぐ証拠の発見が待ち望まれている。最近、その機能的な裏付けとして、内柱に甲状腺ホルモン分泌に必須である、ヨウ素が蓄積されている直接的な証拠を見つけることが出来たが、どのような部位に蓄積されているのか、より詳細な情報を得る必要があると考えている。

そこで本研究では、ナメクジウオの内柱でヨウ素を蓄積しているゾーン5に着目し、ここに蓄積されているヨウ素の分布の高分解能観察を行なう事で、蓄積を担っている微細構造を特定し、脊椎動物へと至る飛躍的進化の解明の端緒とすることが目的である。そしてこの際の観察手法として、透過力が高く、高分解能であり、同時に元素分析を行なうことが可能となる、放射光光源を用いた結像型軟X線顕微鏡が有用であると考えている。

実験: BL-12の軟X線顕微鏡を用い、ヨウ素のM吸収端(631 eV)前後となる600及び640 eVのエネルギーを用いて観察を行ない、得られたX線透過像のコントラストの差分から、ヨウ素の分布観察を行なう。

ナメクジウオ (*Branchiostoma belcheri*)をブアン固定した後、パラフィン包埋したものを、マイクロームで1 µm厚の切片にした。これを厚さ~300 nmのポリイミド薄膜上に伸展したものを試料として用いた。なお、この試料作成の過程において、染色は一切行なっていない。

ない。観察は、ヨウ素の蓄積が多いとされるナメクジウオの内柱のゾーン5に着目して行なった。

結果及び考察： 600 eV と 640 eV のときの軟X線透過率分布を Figs. に示す。この時の露光時間は共に 20 秒で、解析に十分な統計量を稼ぐ為に 20 回の露光を行ない、積算処理をした後、 I_0 像で除算を行なって、透過率分布像としている。Figs. の透過率表示範囲は共に 0.05 ~ 0.45 であり、640 eV の像の方が 600 eV の像に比べてコントラストが低下していることが分かる。これは高エネルギーを用いて観察することにより、全体的に透過率が 0.190 から 0.245 に上昇したためである。その一方で画像左側のぶどうの房のような透過率の低い（グレイスケールで暗い）構造においては、透過率 0.085 から 0.095 への変化となり、比較的透過率変化が小さくなった。これは試料の主成分であるナメクジウオのタンパク質の方が、蓄積されているヨウ素よりも量的にはるかに影響が大きく、ヨウ素の M 吸収端によるコントラストの変化が相対的に小さかったためと考えられる。しかし透過率の変化が微小であったという事は、それがヨウ素によるものという可能性があり、今後のより詳細な観察と検討が必要である。

今後の課題： 今回、ヨウ素による明確なコントラストが付かなかった原因の一つとして、光学系のエネルギー分解能不足が上げられる。分光用ピンホールに、現在の $\phi 20 \mu\text{m}$ より小さい $\phi 15 \mu\text{m}$ のものを使用することでエネルギー分解能は 225 から 300 に上昇するため(計算値)、より明確な観察が可能になる事が期待される。もうひとつの原因として、マンガンの L 吸収端 (639 eV) である可能性を慎重に検討する必要がある。また装置の定量性を考慮にいれた観察を行なう事を期待している。

また内柱以外の鰓、Hatschek's Pit などの別の部位や、飼育条件の異なる試料の観察を行なうことも課題である。

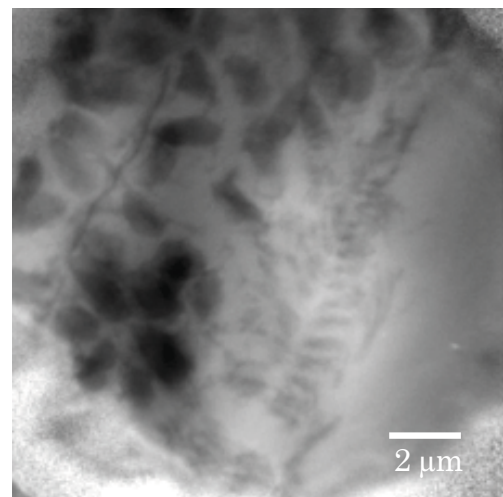
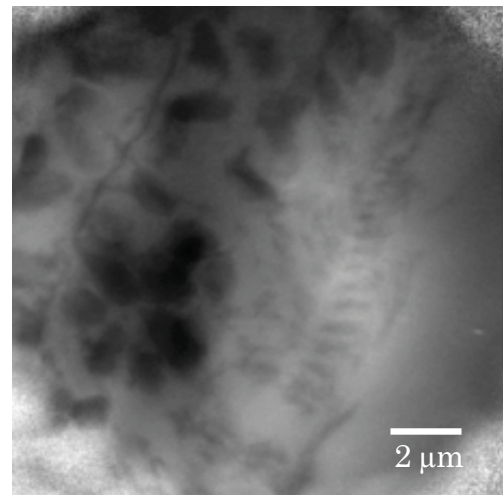
参考文献

- [1] N. H. Putnum et al., Nature, 453, (2008), 1064-1071.
- [2] A. Hirai et al., J. Synchrotron Rad. 5, (1998), 1102-1104.
- [3] A. Hirai et al., Jpn. J. Appl. Phys. 38, (1999), 274-278.

キーワード

- ・ ナメクジウオ

脊索動物門頭索動物亜門に分類される。熱帯から亜寒帯までの沿岸に広く分布し、干潟から水深約 100 m までの浅海で、流れの速い砂地に生息する。日本では房総半島以南から沖縄まで生息し、特に九州天草、瀬戸内海に多く分布する。成体の体長は 40 mm 程度で、主に珪藻類などのプランクトンを餌とする。



Figs. X-ray transmission images of zone 5 of the endostyle of a lancelet. Upper: 600 eV, Lower: 640 eV