

S20020

軟 X 線吸収分光法による生体試料中の硫黄含有色素の同定の試み

Identification of the sulfur-containing pigment in the periostracum of *Corbicula* sp. studied by soft X-ray XAFS spectroscopy

竹本 邦子^b, 光原 圭^b, 太田 俊明^c
Kuniko Takemoto^a, Kei Mitsuhara^b, Toshiaki Ohta^c

^a 関西医科大学, ^b 立命館大学, ^c 立命館大学 SR センター

^a Kansai Medical University, ^b Ritsumeikan University, ^c The SR Center, Ritsumeikan University

e-mail: takemoto@hirakata.kmu.ac.jp

シジミの貝殻の色は、生育環境との関連が示唆されている。我々は、XAFS 測定で、シジミの貝殻の色の違いに関連する物質を見つけ出すことを目指している。今回、XAFS で含硫色素を検出することを試みた。含硫色素を持つマウスの毛の S-K 吸収端 XAFS 測定を行ったところ、含硫色素のモノマーによる吸収を検出することができた。

It is suggested that the color of the shell of the *Corbicula* sp. depends on the growing sediment. We aim at clarifying the pigment of the color of the shell by XAFS of the periostracum of the clam. We attempted to distinguish the sulfur-containing pigment by using S K-edge XAFS. When S K-edge XAFS was conducted on the mouse's hair, the absorption from the monomer of the sulfur-containing pigment was detected.

Keywords: *Corbicula* sp., periostracum, mouse's hair, pheomelanin, S K-edge XAFS

背景と研究目的

環境省では、琵琶湖の水質保全だけでなく、琵琶湖沿岸域における生態系改善に向けた取り組みを行っている。琵琶湖の保全及び再生に関する施策の一つとして、その底生生物の調査と生育場所である底質（湖沼の水底を構成している表層の堆積物、岩盤など）の環境評価が進められている。

我々は底質の環境評価の一つとして、底生生物の代表であるシジミの貝殻に注目している。貝殻は外套膜から分泌され形成される硬組織で、炭酸カルシウムからなる基材と最表層にある有機薄膜（殻皮）からなる。貝殻は幼生殻を起点として弧を描くように成長していくので、貝殻には成長とともに年輪のような線（成長線）が形成される。一般に、シジミの貝殻の色は黒色であると思われるが、実際は黒色から黄色まで様々な色が確認できる。貝殻の色が黄色いシジミは砂地で、黒色のシジミは泥地で多く獲れることが知られている。殻の色と底質の関係が解明できれば、殻皮を調べることで、シジミが生育してきた底質環境を把握できる。

現在、シジミの殻皮の XAFS 測定を行い、貝殻の色の違いに関連する物質の探索を行っている。今回、硫黄を含む色素 (pheomelanin) に関連する物質を XAFS スペクトルで識別することができるかを確認するため、標準物質と pheomelanin を含む生体試料について S K 吸収端 XAFS 測定を行った。

実験

pheomelanin を含む生体試料であるマウスの毛（黄色と黒色）[1]と標準試料として、5-chloro-2-methylbenzothiazole, 2H-1,4-Benzothiazine-3(4H)-one, 酸化型グルタチオン (GSSG), 2-Amino-6-chlorobenzothiazole を用意した。立命館大学 SR センターBL-13 収束軟 X 線ビームラインで、S の K 吸収端の XAFS 測定を行った。分光結晶は Si(111)を用い、測定モードは、SDD 検出器による部分蛍光 X 線収量(PFY)と試料電流による全電子収量(TEY)で行われた。

結果、および、考察：

メラニン色素には、褐色から黒色を発現する eumelanin と、黄色から赤色を発現する pheomelanin があり、eumelanin と pheomelanin の割合により様々な色が発現する。ベンゾチアゾールとベンゾチアジンは、pheomelanin を構成する基本モノマーであり、Manning らは褐色のマウスの毛の S K 吸収端 XAFS スペクトルの 2476 eV 付近の小さなピークを、pheomelanin のベンゾチアゾール由来であると報告している[1]。

Fig. 1 に標準試料の S K 吸収端 XAFS 測定の結果 (TEY モード) と、参考のため前回測定した DL-Methionine sulfoxide と L-cysteine (分光結晶 Ge(111)) の結果 (TEY モード) も示す。5-Chloro-2-methylbenzothiazole については気化して適切なスペクトルを得ることができなかった。2-Amino-6-chlorobenzothiazole では、Manning らの報告と同様に、2473.2 eV 付近に顕著なピークと 2475 eV 付近に小さいピークがみられた。2H-1,4-Benzothiazine-3(4H)-one では、2472.5 eV と 2473.8 eV に 2 つ顕著なピークと 2476 eV 付近に肩がみられた。GSSG では、2472 eV 付近に S-S に由来するピークと 2473.2 eV 付近に S-C に由来するピークがみられた。

Fig. 2 にマウスの毛の XAFS 測定の結果 (PFY モード) と GSSG の結果 (TEY モード) を示す。2472 eV 付近と 2473.2 eV 付近に顕著なピークがみられた。これらは GSSG のピークと一致する。この結果は、毛の主成分はケラチンであり、GSSG はケラチンの含硫成分の主たるものであることを支持する。GSSG のスペクトルと比較すると 2475-2476 eV 付近に、小さいブロードな吸収がみられる。このピークは sulfoxide のホワイトラインと一致するが、強度が非常に小さいので sulfoxide 由来によるものではないと考え、ベンゾチアゾールとベンゾチアジンに由来するピークと同定できる。これは Edwards らの結果と一致する。2475-2476 eV 付近のスペクトルを比較すると、黒色の毛の方が黄色の毛よりもピーク強度が高い。これは、黒色の毛の方がメラニン色素の総量が多いことによると考えられる[2]。

今後は、この手法を貝殻に適用するとともに、高速液体クロマトグラフィーなど他の分析法も用いシジミの貝殻の色素を確定するとともに、シジミ殻の色を決定づける底質側の因子も明らかにしていきたい。

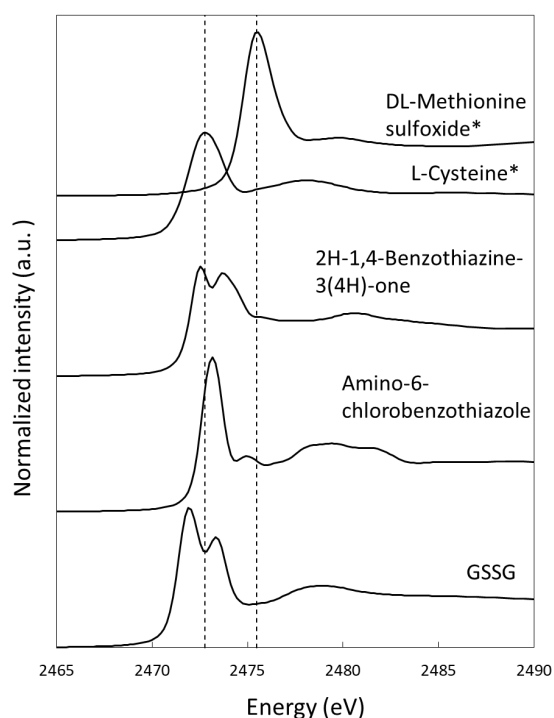


Fig. 1. S K-edge XAFS spectra of standard compounds. The spectra of cysteine and sulfoxide were obtained in the previous experiment. monochromator,

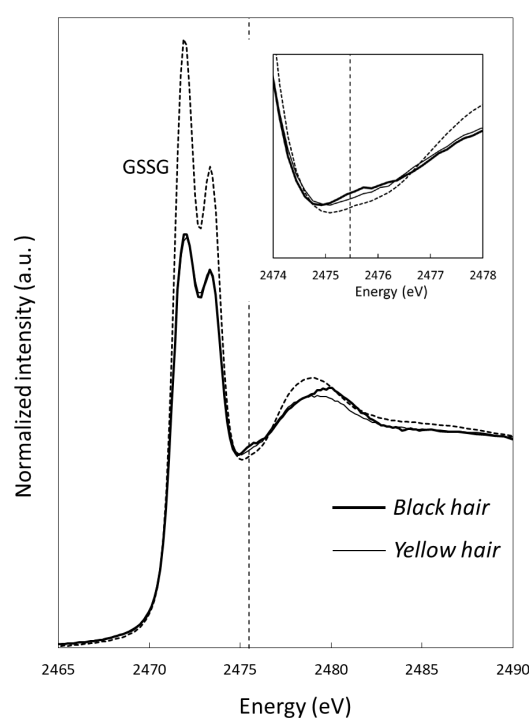


Fig. 2. S K-edge XANES spectra of the hair of mice and GSSG.

参考文献

[1] Manning P.L. et al. Pheomelanin pigment remnants mapped in fossils of an extinct mammal, Nature Communications, 10 (2019) Article number: 2250.

[2] Ozeki H., et al., Chemical characterization of hair melanins in various coat-color mutants of mice, J. Invest. Dermatol., 105 (1995) 361-366.

研究成果公開方法／産業への応用・展開について

- ・本研究成果は水環境学会などで公開する予定である。