

## 軟体動物殻体中の有機基質タンパク質による 殻体形成機構の解明

関口 記由, 貝嶋 馨, 小林 文, 坂本 恵子, 島田 優子,  
杉崎 綾子, 佐俣 哲郎

麻布大学細胞生物学研究室

### 1. はじめに

数万種類とも言われる貝類の貝殻(殻体)は、全てが海水中の二酸化炭素を固定して形成される。殻体は、炭酸カルシウムの結晶である方解石もしくはアラレ石から形成されており、それら結晶の種類や組み合わせり方により殻体微細構造と呼ばれる複雑な構造が構成されている。殻体微細構造は種ごとに異なっており、それは殻体中に含まれる有機基質タンパク質によって形作られると考えられている。

有機基質タンパク質には水可溶性有機基質(water soluble organic matrix: WSM)と、膜状の水不溶性有機基質(water insoluble organic matrix: WISM)の2種類があり、これらの有機基質タンパク質を母液と呼ばれる溶液に添加し、形成される結晶を解析する実験を結晶形成実験と呼ぶ。

1996年に殻体形成における有機基質タンパク質の機能として、FaliniらとBelcherらにより2つの仮説が提出された。Faliniらの報告では、無機的に方解石を形成する母液にアラレ石殻体中から抽出したWSMを添加したところアラレ石結晶が形成された。このことからFaliniらは、このWSMにアラレ石結晶を誘導する機能があると結論づけた。一方、Belcherらの報告では、同様の母液にアラレ石殻体から抽出したWSMとWISMの両方を添加した場合にのみアラレ石結晶が形成された。このことからBelcherらは、このWSMとWISMの共存がアラレ石結晶を誘導すると結論づけた。

これに対してSamataら(1999)の結晶形成実験結果は、上記の報告と異なり、アラレ石殻体から抽出したWSM、WISMの両有機基質タンパク質にはアラレ石結晶を誘導する能力はないことを示した。

以上のことから、バイオミネラリゼーション分野において有機基質タンパク質の機能には未知の部分が多く、また殻体の形成機構の解明も十分には行われていないことが明らかである。今回、有機基質タンパク質の機能の解明に関与すると思われる新たな知見を得ることが出来たので報告する。

### 2. 結果

#### (1) これまでの説について

上記の2つの仮説を裏付ける、それぞれの実験法に問題があることが判明した。北野ら(1990)によると、アラレ石結晶が形成されやすい条件として、溶液中に $Mg^{2+}$ が存在する場合と、結晶形成速度が著しく速い場合が挙げられている。

Faliniらの実験の場合、母液に $CO_2$ を供給するために、母液の周囲に炭酸アンモニウム粉末を置き、デシケーター内に静置、密閉している。一方、Belcherらは、 $CaCl_2$ 溶液を $NH_4HCO_3$ 溶液でpH 8.0までpH調整した溶液を母液として使用している。これらの実験方法に従って追試を行った結果(Table 1)、いずれの溶液も短時間にpHが急激に上昇し、そのため結晶形成速度が異常に速くなることが判明した。

Table 1 各実験による母液の pH 変動

	Blank	10 min	30 min	60 min	180 min	6 hr	24 hr	48 hr
Falini (1996)	7.23	8.00	8.04	8.15	8.32	8.46	8.62	8.66
Belcher (1996)	7.23	9.88	9.80	9.81	9.97	10.17	10.56	10.71
今回の実験	6.20	6.21	6.43	6.52	6.71	6.82	7.31	8.19

Table 2 結晶形成の有無

	Blank	10 min	30 min	60 min	180 min	6 hr	24 hr	48 hr
Falini (1996)	×	×	○	○	○	○	○	○
Belcher (1996)	×	×	○	○	○	○	○	○
今回の実験	×	×	×	×	×	×	○	○

## (2) 有機基質タンパク質の機能について

演者らのこれまでの結晶形成実験には、いくつかの成分が混合した有機基質タンパク質を用いてきた。例えば、アコヤガイ真珠層中の有機基質タンパク質には2種類のWSM成分(48kDa, 16kDa)とWISMがある。これら3成分は、結晶を誘導する結晶核形成因子(nucleator)、結晶成長因子(promotor)、結晶成長制御因子(inhibitor)、結晶成長抑制因子(regulator)などの異なる機能を有すると推定されている。このため、これら3種類の有機基質タンパク質を分離・精製後、結晶形成実験に用いたところ、各成分ごとに異なる結晶形成能力を有することが明らかになった。

また、従来の実験は、専ら海生種の殻体中の有機基質タンパク質について行われてきたが、今回、淡水生種に関する実験もあわせて行った。海水中では、イオン組成の関係で無機的にアラレ石が形成されやすい環境である一方、淡水中では無機的に方解石が形成されやすい。淡水に生息し、真珠層にアラレ石を持つイケチョウガイの場合、有機基質成分がアラレ石を誘導する能力を有している可能性がある。このため今回の実験では、イケチョウガイの真珠層中の有機基質タンパク質を用いて結晶形成実験を行った。その結果、海生種ではアラレ石結晶が誘導されなかったが、イケチョウガイではアラレ石と思われる結晶が形成された。

これは、イケチョウガイのような淡水生でアラレ

石の真珠層をもつ種には、アラレ石結晶核形成因子が存在する可能性があることを示している。このことはさらに、軟体動物殻体中の有機基質タンパク質には、その種の生息環境に従って有機基質タンパク質の機能に違いがあることも暗示している。

## 3. 考察

今回の実験結果から、これまでに報告された海生軟体動物真珠層中の有機タンパク質の機能としてアラレ石結晶を誘導するという結果は、不適切な実験条件により、結晶が異常に速く形成されることに起因した誤りであることが明らかとなった。これに対し、演者らが行った実験ではpH変動も少なく、結晶形成実験を行うにあたり適切な実験方法であると考えられる。

今回の実験結果から、軟体動物殻体中に含まれる有機基質タンパク質には、それぞれの種の生息環境により異なる機能を有する成分が含まれる可能性があることが明らかとなった。

今回、淡水生種からアラレ石結晶核形成因子らしき成分が発見されたが、海生であるにもかかわらず方解石殻体を持つ種(ホタテガイなど)の存在など、殻体形成機構については未だに多くの謎が含まれており、今後、より詳細な実験を継続して殻体形成機構を明らかにする必要がある。