



2009.2.10 PF研究会  
「蛍光XAFS研究の現状と進展」

# 生物に高濃度に濃縮された元素に対する 蛍光XAFS測定

徳島大学総合科学部  
沼子 千弥

## 目次

### 1. 生体濃縮現象

### 2. 蛍光XAFS法の特徴

### 3. 研究事例

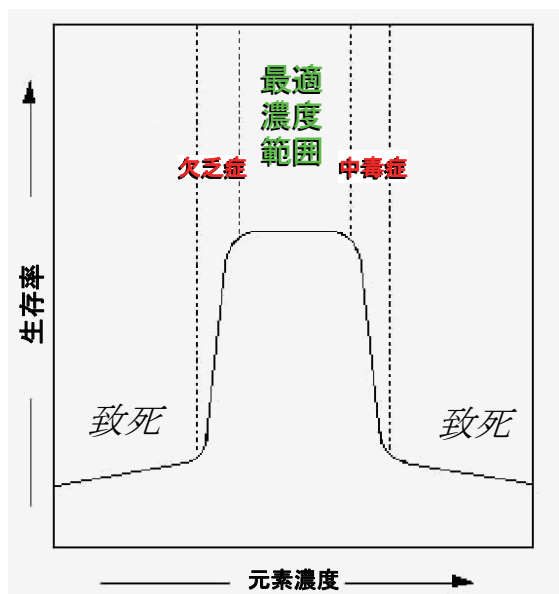
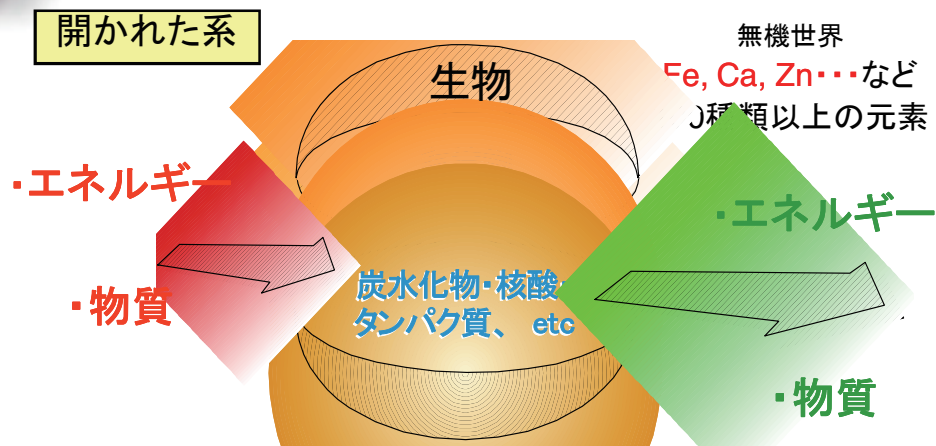
エラコに濃集されたバナジウムに対する蛍光XAFS

Feを高濃度に濃集したヒザラガイの歯に対する蛍光XAFS

### 4. まとめ

# 元素の必須性と毒性：

体内の元素濃度を最適範囲内に押さえる機構



1. 必要な元素を環境から取り込む  
吸収機構を発達させる



生体濃縮現象

2. 生体に有用な機能を引き出す

もし最適範囲以上の元素が体内に入ってきたら...

- ・体外に排出する
- ・無毒化して、体内に貯蔵する
- ・他の目的で積極的に活用する→(例)骨格形成



生体鉱物化現象

環境における元素濃度や化学形が  
生物の元素取り込み・排出の機構に影響  
(例) ヒジキ中のヒ素、水俣病のメチル水銀

生物の元素活用戦略を研究するには、  
環境中の元素と生体内の元素の両方の存在状態を  
知ることが重要

→ 非破壊状態分析の必要性

# 特定元素の高濃度蓄積生物

\*K. Okoshi and T. Ishii, Mar. Biotech. 3, 252 (1996).

生物種	主要沈着組織	局在場所	濃縮元素	濃度(ppm)	濃縮係数**
ワスレガイ	腎臓	細胞外顆粒	<u>Mn</u> , Zn, Ca, P	44200	$2 \times 10^7$
シャコガイ	腎臓	細胞内顆粒	<u>Mn</u> , Zn, Ca, P	3270	$3 \times 10^5$
マダコ	エラ心臓	細胞内顆粒	<u>Co</u> , Ni, U	120	$4 \times 10^5$
ヒザラガイ	歯舌	歯冠	<u>Fe</u> , Ca, P	101000	$4 \times 10^8$
カサガイ	歯舌	歯冠	<u>Fe</u> , Si	41200	$1 \times 10^8$
エラコ	エラ	表皮細胞	<u>V</u>	5100	$2 \times 10^6$

•海水中での元素濃度はTrekianの値を使用。Mn: 0.4ppb, Co: 0.03ppb, Fe:3ppb, V:1.9ppb



エラコ



ヒザラガイ

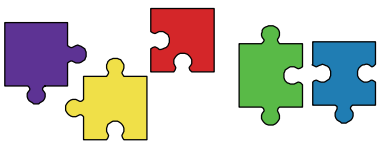
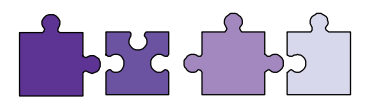
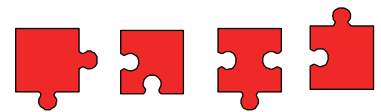


歯舌

# 生物に対する非破壊状態分析

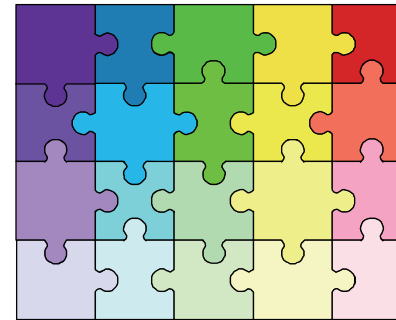
## 物理・化学

純粋、均質、  
単純化  
理想的な系

元素の 種類	
存在量	
存在形 (化学形)	

蛍光X線分析とXAFS法は、  
生物や地球科学試料にとって  
理想的な分析法の一つである。

## 地球・生物・環境科学



- ・どこにあるのか
- ・他の元素や組織とどのように関連しているのか
- ・どのような機能を持っているのか
- ・試料が稀少  
→ 同じ試料で複数の分析を行う必要



# 蛍光XAFS法の特徴



## 蛍光法の長所・短所

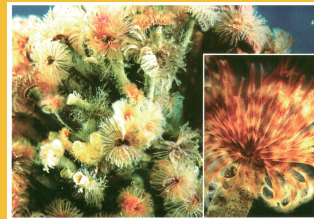
### 透過法測定で最も重要：

試料が均一で、適切な厚さを持つこと

- ・粉末を塗布したテープを数枚重ねる
- ・ペレットを作る(BN、PE、セルロース等で希釈)
- ・セルやポリエチレン袋に充填(厚さ可変セル)

### 透過法を適用できない試料

1. 測定元素の濃度が低い
2. 試料が不均一  
例) 凸凹がある  
ピンホールがありダイレクトビームがIの検出器に入ってしまう 等
3. 試料が微小・微量  
例) 入射X線のビームサイズより試料が小さい
4. マトリクスのX線吸収が大きい  
例) HgSに固溶しているZn



### 生物に対する応用を考えた場合の蛍光XAFS

#### ○長所

・検出器の選択により、主成分から微量成分まで様々な濃度の元素をターゲットにできる

(Lytle, SSD, SDD)

- ・試料は非破壊で測定可能 (生きたままでも)
- ・微量・微小な試料でも測定可能

#### ●短所

- ・入射X線の強度が大きいことが前提:放射光が
- ・スペクトルが歪み易いXAFSの原理と異なるため、解析には注意が必要
- ・ノイズが大きく、XAFS振動の抽出が難しい
- ・共存元素の蛍光X線による影響
- ・入射X線によるダメージ





## 研究事例 1

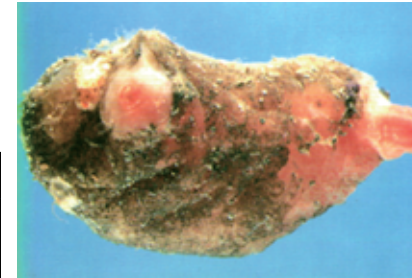
エラコに濃集されたバナジウムに対する蛍光XAFS





# バナジウム濃集生物： ホヤとエラコ

和名	バナジウムボヤ	ナツメボヤ	スジキレボヤ	マボヤ
学名	<i>Ascidia gemmata</i>	<i>A. ahodori</i>	<i>A. sydneyensis samea</i>	<i>Halocynthia roretzi</i>
被囊	—	2.4	0.06	0.01
筋膜	—	11.2	0.7	0.001
鰓	—	12.9	1.4	0.004
血球	347.2	59.9	12.8	0.007
血漿	—	1.0	0.05	0.001

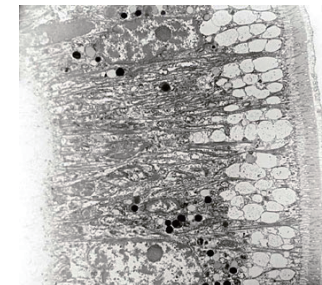


バナジウムホヤの外観

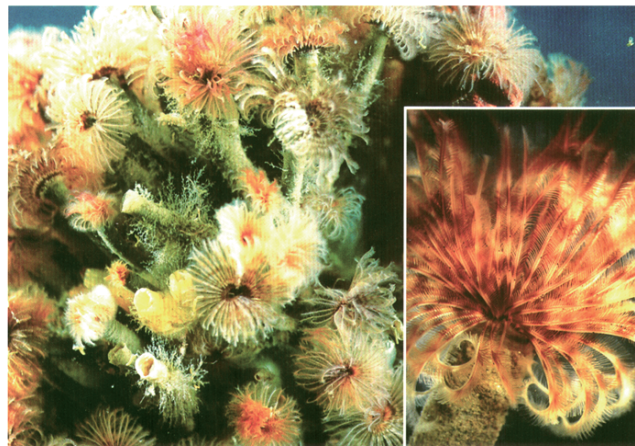
海水中のバナジウム濃度: 35nmol/dm<sup>3</sup>  
ホヤ血球のバナジウムの濃縮係数: 30万~1000万

- 参考文献
1. Michibata H, Iwata Y, Hirata J (1991) Isolation of highly acidic and vanadium-containing blood cells from among several types of blood cell from Asciidiidae species by density gradient centrifugation. *J Exp Zool* 257: 306-313
  2. Michibata H, Terada T, Anada N, Yamakawa K, Numakunai T (1986) *Biol. Bull.* 171, 672-681.

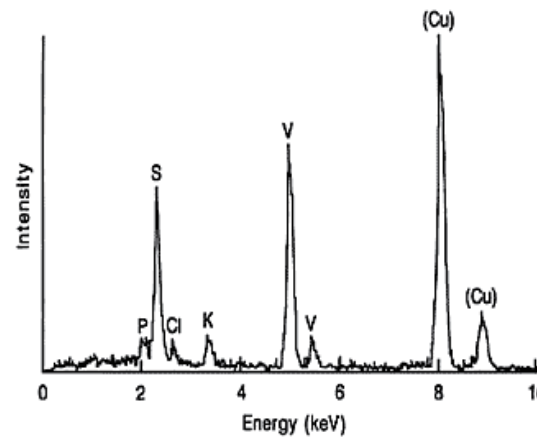
生物種	主要沈着組織	局在場所	濃縮元素	濃度(ppm)	濃縮係数**
エラコ	エラ	表皮細胞	V	5100	2 × 10 <sup>6</sup>



冠鰓の凍結切片のSEM像\*



エラコの外観



冠鰓の表皮細胞の分析電顕による元素分析\*

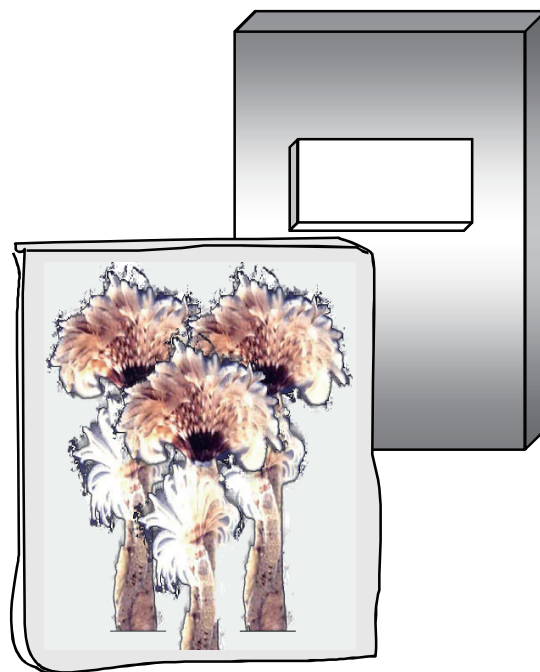
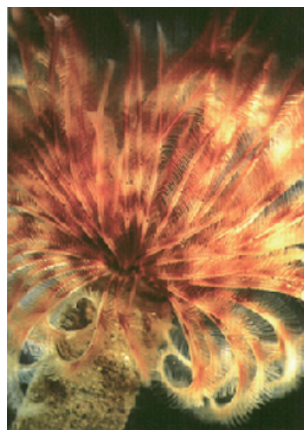
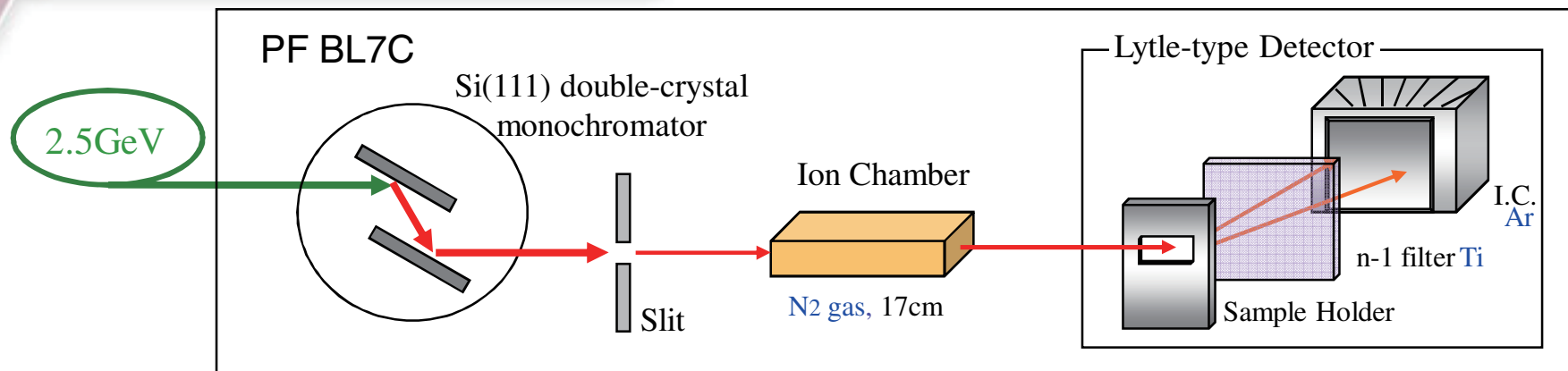
\* 放医研 石井紀明博士によるデータ



冠鰓の凍結切片に対するVの2次元元素マッピング\*

# エラコに濃集されたVの蛍光XAFS測定

エラコを生きたまま試料ホルダーに固定し、Lytle型検出器によるV K-XAFSスペクトルの測定を行った。



❖ 生きたままのエラコ

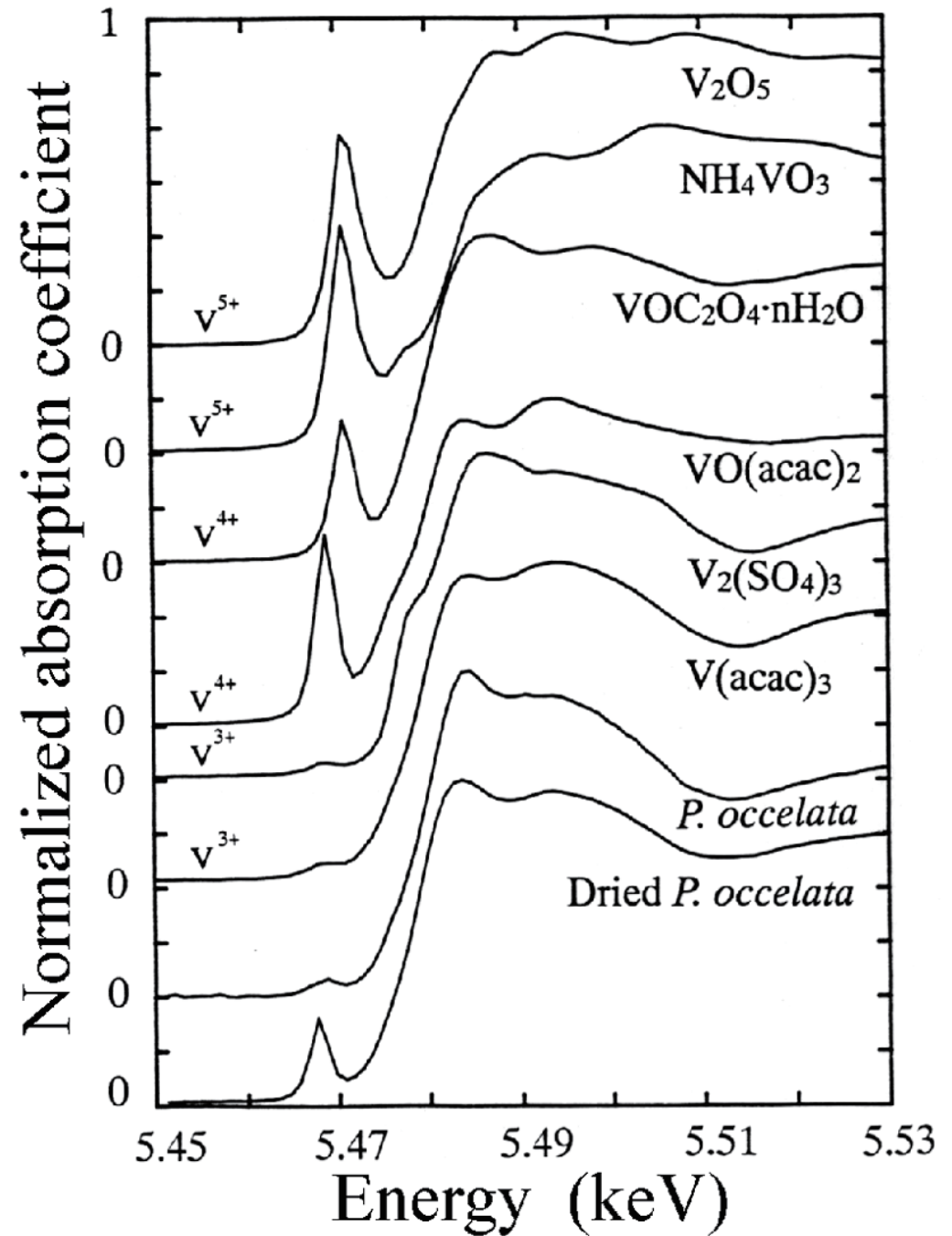
❖ 乾燥させたエラコ

- 3価
  - ◆  $V(acac)_3$
  - ◆  $V_2(SO_4)_3$
- 4価
  - ◆  $VO(acac)_2$
  - ◆  $VOCl_2 \cdot nH_2O$
- 5価
  - ◆  $V_2O_5$
  - ◆  $NH_4VO_3$

ポリエチレンの袋に試料を入れ、そのままテープでホルダーに固定し測定を行った。

エラコに濃集されたVの蛍光XAFS測定

- ◆ 生きたままのエラコ
- ◆ 乾燥させたエラコ
- 3価 ◆  $V(acac)_3$
- ◆  $V_2(SO_4)_3$
- 4価 ◆  $VO(acac)_2$
- ◆  $VOC_2O_4 \cdot nH_2O$
- 5価 ◆  $V_2O_5$
- ◆  $NH_4VO_3$



# エラコ中のVのXAFS解析

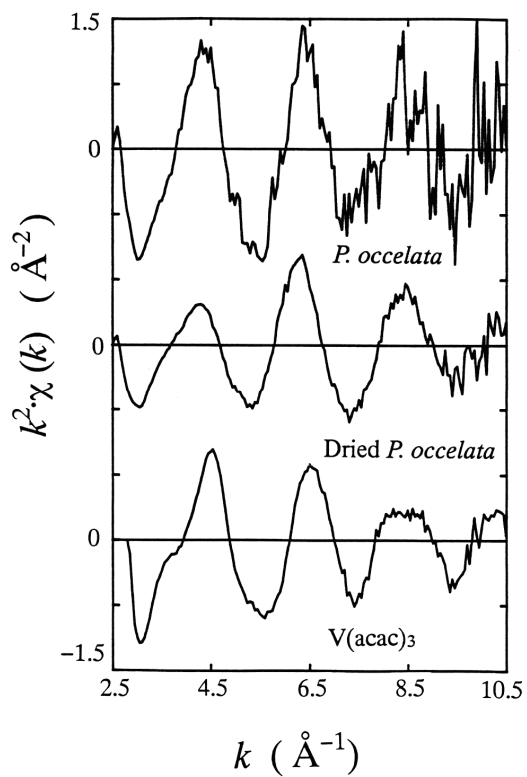


Fig. エラコとV(acac)<sub>3</sub>のVに関するk<sup>2</sup>·χ(k)曲線

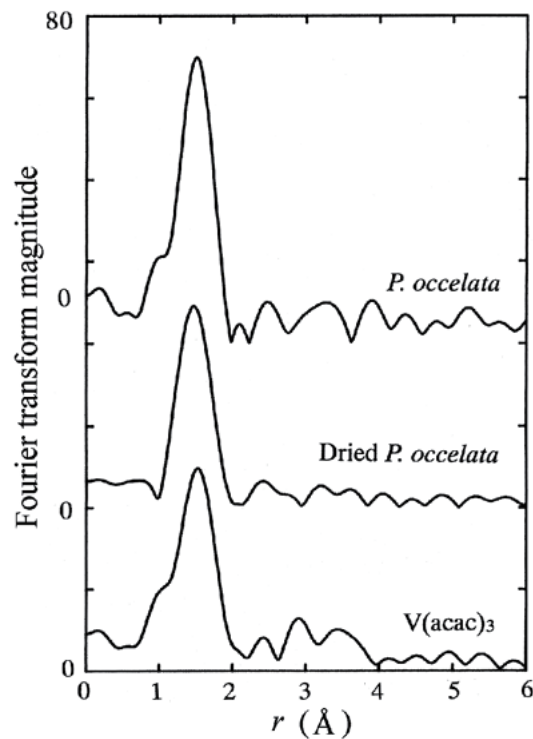
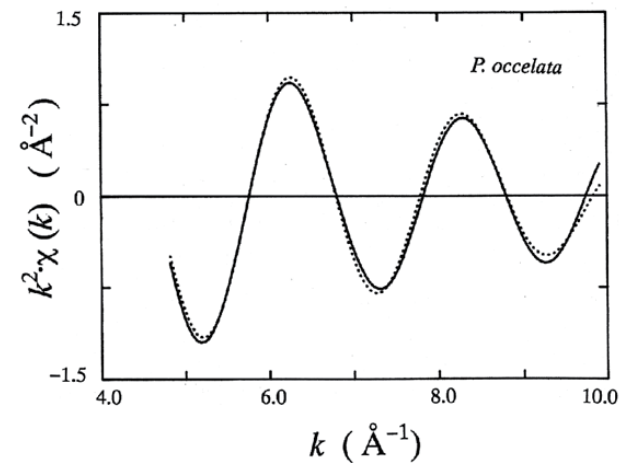
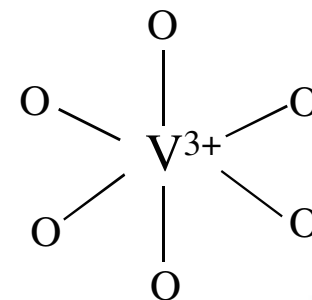


Fig. エラコとV(acac)<sub>3</sub>のV周りの同型分布曲線



エラコに含まれるVの局所構造パラメータ

	n	r/Å	σ/Å
エラコ	6.0*	2.00(1)	0.158(1)





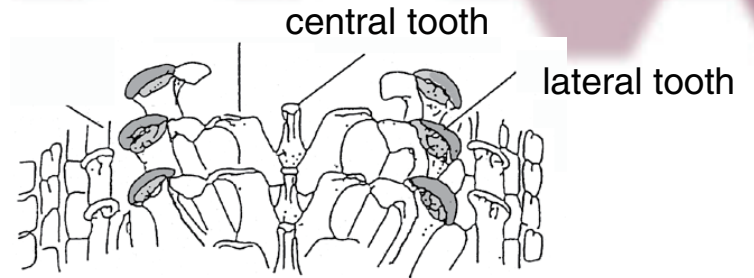
## 研究事例 2

Feを高濃度に濃集したヒザラガイの歯に対する蛍光XAFS

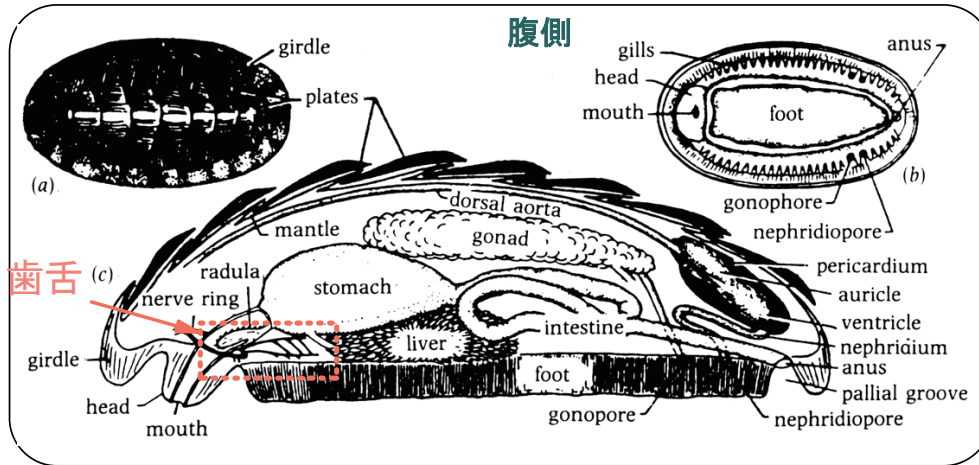




ヒザラガイは磁鉄鉱を主成分とする硬い歯を持つ



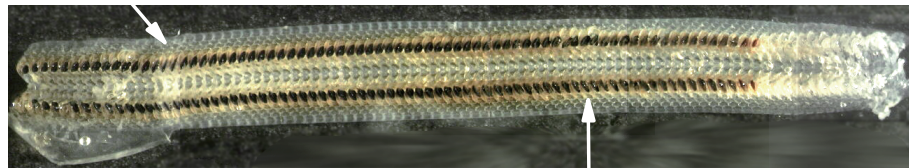
歯舌



ヒザラガイ 体長: 約5cm  
(*Acanthopleura japonica*)

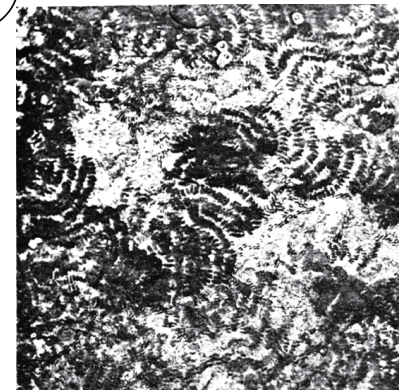
5mm

キチン質でできている基底膜

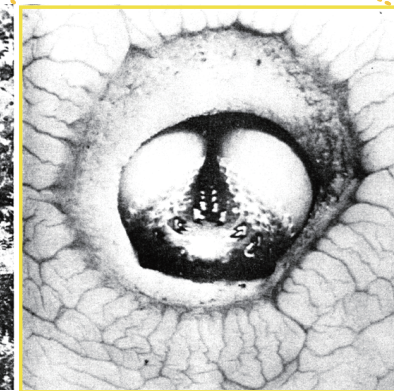


磁鉄鉱でできている黒い歯冠部

ヒザラガイの歯舌



ヒザラガイの歯形のついた  
潮間帯の石灰岩



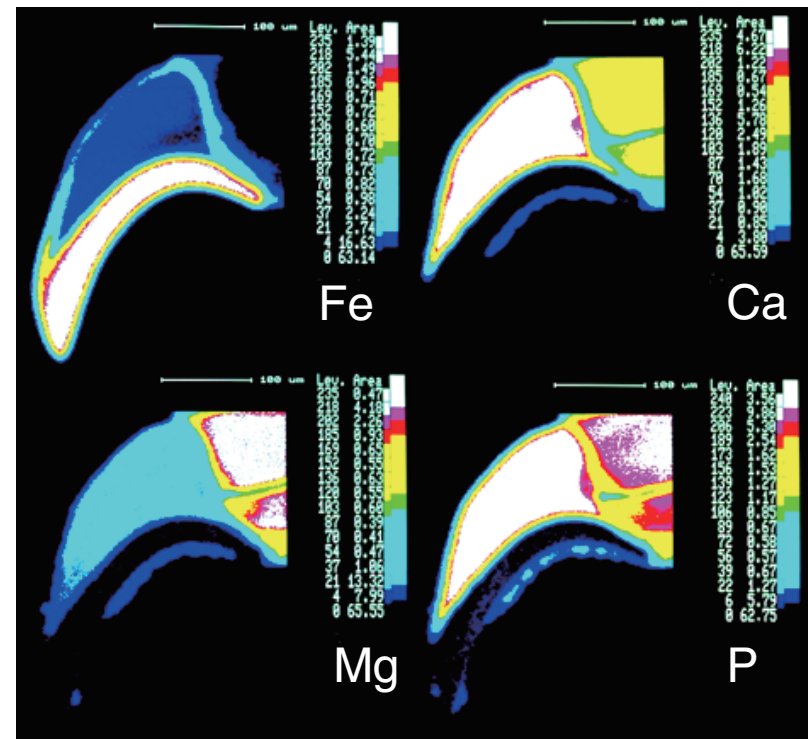
ヒザラガイの口の  
拡大写真

	Tissue	Part	Accumulated Elements	Concentration (ppm)	Concentration Factor
Chiton	Radular Teeth	Tooth Cusp	<b>Fe</b> , Ca, P	101000	$4 \times 10^8$

## Elemental composition of the teeth of chiton

### Elemental analyses of teeth of chiton Measured by ICP-AS

Fe	101000	(mg/m,dry)
Ca	30700	
P	21400	
Mg	4490	
Zn	3130	
Sr	570	
Na	500	
K	201	
Al	54.0	
Mn	53.0	
Cu	51.0	
N	20.0	
Cd	18.0	
Cr	11.0	
Co	7.1	
Ni	6.1	
Ba	3.4	

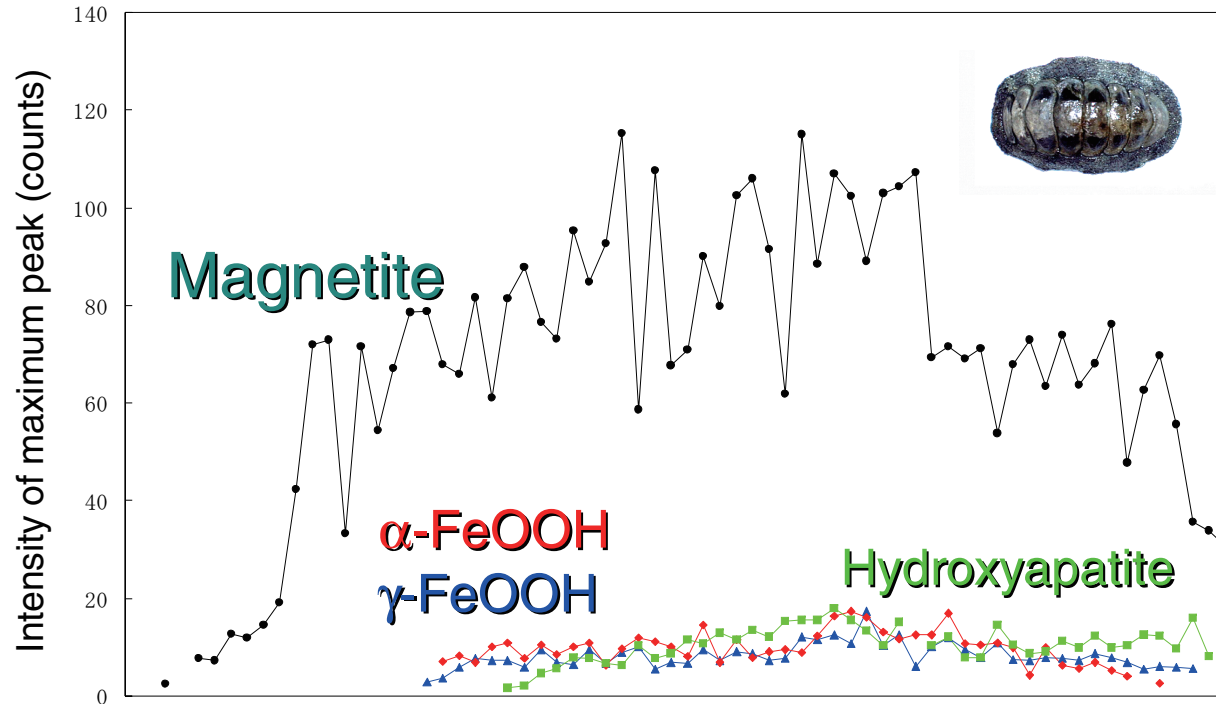


Two-dimensional elemental mapping by EPMA



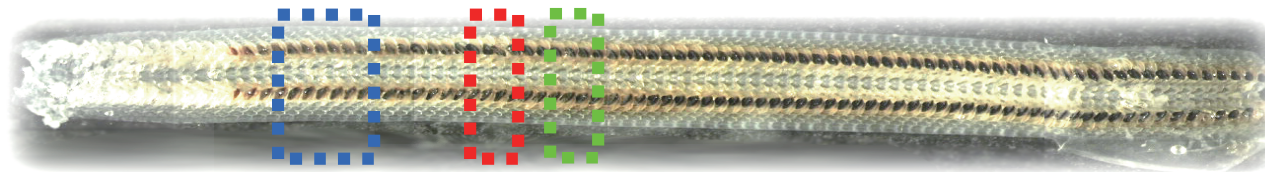
Variation of mineral components in the maturation process of the teeth of chiton

Specimen: 40 radular teeth of chiton  
 Instruments: X-ray diffractometer, Rigaku Rint 2000, Cu Ka, 40kV, 30mA, from 6 to 95deg, using nonreflecting quartz holder



粉末X線回折計  
 Rigaku Rint 2000  
 管球 Cu, 40kV, 30mA  
 測定範囲: 6 ~ 95°

試料: ヒザラガイの  
 歯舌 40個体分  
 試料ホルダー  
 : 無反射石英板



Magnetite is formed abruptly

Other ferric minerals are formed

Hydroxyapatite is added into a tooth finally

歯の成熟過程で、結晶成分の種類と量に変化する

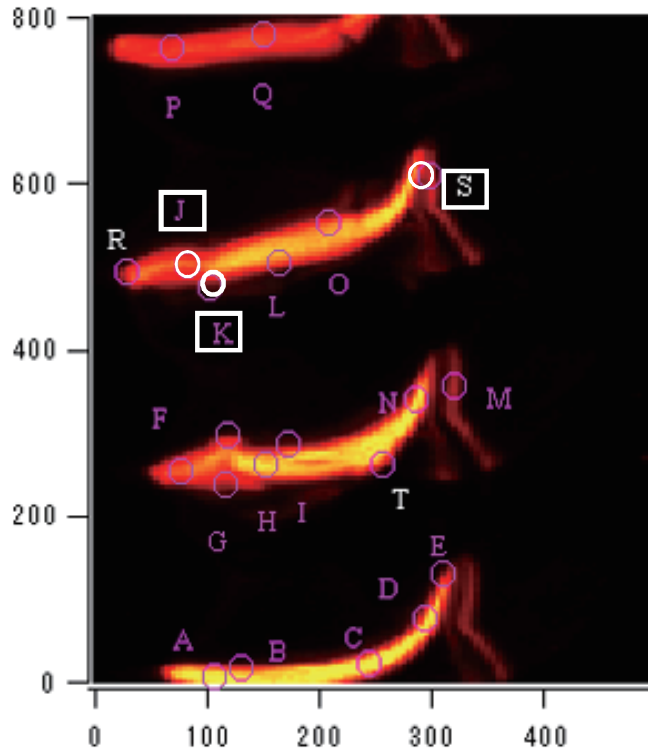
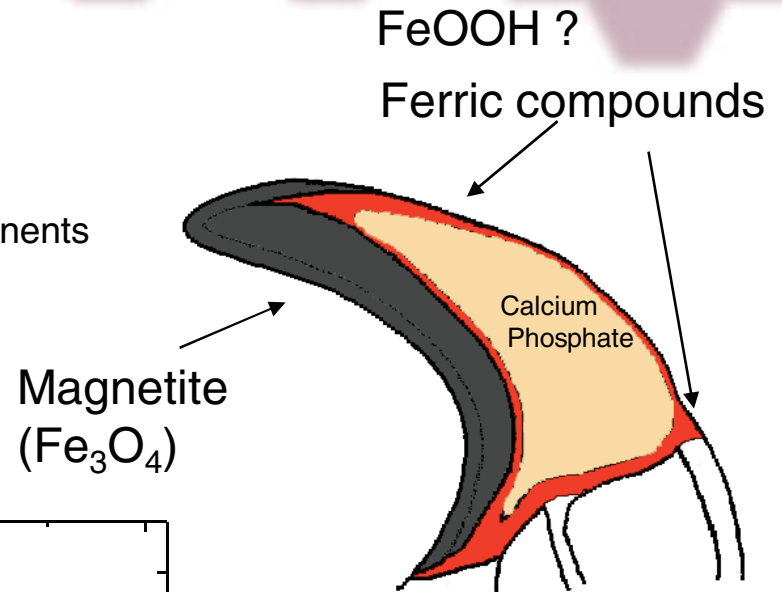
immature

mature

ヒザラガイの歯の粉末X線回折測定(実験室系)

X-ray Absorption Near-Edge structure  
measured by SR micro beam

Distribution of mineral components  
inside of a tooth



Fe-Ka mapping

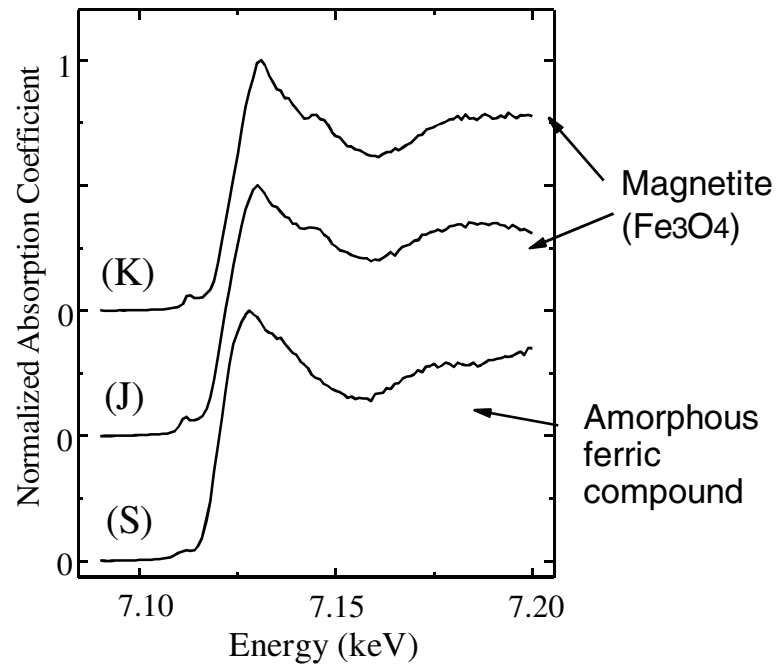


Fig. Fe K-XANES spectra

## まとめ

1. 生体濃縮現象や生体鉱物化現象の研究には、非破壊状態分析が重要である。
2. 蛍光XAFS法は、生きたままの生物試料や微小で不均質な試料に対しても応用が可能である。
3. 生物・地球科学、環境科学の研究分野で、ますます蛍光XAFSの利用が期待される。

### 生物試料を扱う上での問題点

- 通常、生物学的実験では個体差の問題を低減するために、多くの個体に対するデータを統計的に処理する。 →放射光実験では、これが難しい
- 生物学・医学の専門知識をもったXAFSユーザーの開拓が望まれる。