

論文の要旨

氏 名 水川 友里

論文題目 Characterization of Light Reflection of Fish Guanine Crystals by Diamagnetic Micromanipulation

(反磁性マイクロマニピュレーションによる魚類グアニン結晶の光反射の特性評価)

本論文は、本章を含む全六章から構成され、各章についてその概要を以下に示す。第一章は序論であり、研究背景および目的について述べる。本研究の背景にある、反磁性微小物体に対する磁場効果の研究動向および魚類由来グアニン結晶について述べる。磁気科学分野では、強磁場装置の進歩に伴って、生体由来物質の磁場配向に関する様々な研究が、1980年代を中心にさかんに報告された。例えば、コラーゲンやフィブリン等の生体高分子やタンパク質等の結晶成長に与える磁場効果を明らかにする目的で、磁場効果の研究が行われてきた。しかし、反磁性微小物体の光反射解析のための実験手法を、物体が持つ磁化率異方性による磁場配向で確立し、光反射特性を評価した研究は少ない。次に本研究の研究対象である、反磁性微小物体の魚類由来グアニン結晶について述べる。1930年代頃から、魚類体表面の光反射機能に関する研究が活発化し始め、さらに色素胞細胞内に存在するグアニン結晶が、光反射の原因であることを明らかにしてきた。魚類体表面または色素胞細胞そのものを対象とした形態学的研究が多く、結晶と細胞による多層構造と光反射機能の関係性に着目した研究が主流であった。しかし、グアニン結晶単体の反射機能に着目した研究の知見蓄積が不十分である。この光反射機能の役割は、外敵から身を守るためのカモフラージュ機能または仲間とのコミュニケーション機能だと考えられているが、明確な目的はいまだ明らかにされていない。これより、今まで注目されていなかった魚類由来グアニン結晶単体の反射機能に着目することで、魚類の光反射機能解明のためのブレイクスルーを発見できる可能性がある。

そこで本研究では、色素胞細胞から分離抽出した、キングョ由来グアニン結晶の光反射解析のための反磁性マイクロマニピュレーション法を確立し、グアニン結晶単体の光学特性を評価することを研究目的とした。そして、魚類バイオリフレクター機能の解明や魚類行動学に対する寄与を研究意義とした。

第二章では、グアニン結晶の反磁性磁化率異方性を解明するために必要な物性解析について記述する。結晶の構造解析を行うためにグアニン結晶の SEM 画像解析と粉末 X 線構造解析を行った。SEM 解析で、グアニン結晶は平均約 $20\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m} \times \sim 100\ \text{nm}$ の細長い六角形状の薄板結晶であることを明らかにした。粉末 X 線構造解析では、無水結晶および一水和物結晶両方の特徴を持つことが明らかとなった。(公表論文 1) 次に、結晶 1 枚の分子配列を解析する必要があるため、顕微観察かつ非破壊測定可能な高輝度赤外分光 FTIR 測定を行った。グアニン結

晶の **b** 軸に対する赤外偏光分光測定を行った。これより、グアニン結晶の反射・吸収スペクトルにおいて、1680–1700 または 3330–3350 cm^{-1} で観測されたピークに対し、赤外偏光方向が結晶 **b** 軸に対して 0 度・90 度の場合で差異が生じた。グアニン分子の C=O 結合と N–H 結合が結晶 **b** 軸に沿って配列しているため、その分子振動変化を捉えたと推察される。(公表論文 2) FTIR 測定より、キンギョ由来グアニン結晶は無水単結晶であることが明らかとなった。また、コイ由来グアニン結晶では、無水結晶の近傍に一水和物結晶を含んだグアニンの非晶質領域が存在するとの先行報告がある。粉末 X 線解析で一水和物結晶の特徴が現れたのは、キンギョ由来グアニン結晶もコイと同様の結晶構造であるためと推察された。

第三章では、浮遊状態の魚類由来グアニン結晶に対する、磁場下における光反射特性を解析するための結晶挙動観察について述べる。グアニン結晶と蒸留水を封入したサンプル容器に対し、入射光方向・観察方向・磁力線方向を組み変えた時の結晶の光反射変化を、観察実験と光反射強度測定にて捉えた。入射光方向・磁力線方向が平行かつ観察方向が両方向に直交、または観察方向・磁力線方向が平行かつ入射光方向が両方向に直交の場合、蒸留水中のグアニン結晶は磁場印加前においてブラウン運動によるランダムな光反射を生じていたが、磁場下では光反射が抑制された。また、入射光方向・観察方向・磁力線方向がすべて直交する場合は、磁場下で光反射が増強した。これより、結晶の光反射スイッチング制御が、磁場遠隔制御により可能であることを明らかにした。(公表論文 1・3)

第四章では、結晶 1 枚に対する光反射解析のための、反磁性マイクロマニピュレーションを行う上で、魚類由来グアニン結晶の持つ磁化軸を 2 種類の磁力線方向で明らかにした結果について述べる。重力に平行な方向を **z** 軸、光反射を生じる結晶最大面積部分((102)面)の中心を座標原点とし、**x-y** 平面に(102)面が平行、結晶 **b** 軸が **y** 軸と平行となるように、結晶に対する座標系を定義する。結晶(102)面に対して鉛直方向(**z** 軸と平行)に磁場印加した際の観察実験を行った。暗視野下では、磁場下においてグアニン結晶の光反射が抑制された。また明視野下では、(102)面が **y** 軸周りで回転し、磁場配向を生じた。(公表論文 1) これより、この実験での磁場配向は、磁化困難軸(**z** 軸)と第二磁化容易軸(**x** 軸)との磁化率異方性による配向(**y** 軸周りの回転)と考えられる。次に、結晶(102)面(**x-y** 平面に平行)に対して平行方向に磁場印加した際の観察実験を行った。結晶 **b** 軸が徐々に磁力線方向に整列するという磁場配向現象を捉えた。これは、第一磁化容易軸(**y** 軸=結晶 **b** 軸)と第二磁化容易軸(**x** 軸)との磁化率異方性による配向(**z** 軸周りの回転)と考えられる。これより、魚類由来グアニン結晶は 2 つの磁化容易軸と 1 つの磁化困難軸を持ち、これらの磁化軸の磁化率異方性で、2 種類の磁場配向を生じることが明らかとなった。(公表論文 4) また、再結晶化したグアニン結晶の磁場配向を解析した。磁力線方向に対して、結晶形態長軸が垂直に配向した。(公表論文 5)

第五章では、光反射解析のための魚類由来グアニン結晶 1 枚に対する反磁性マニピュレーション法の構築とその実験手法を利用した光反射特性評価について記述する。まず、流動による結晶移動を抑えながら結晶 1 枚の光反射特性を評価するため、グアニン結晶 1 枚を基板へ固定する試みを行った。DNA 溶液とグアニン結晶サスペンションを混合してガラスチャンバーに封入し、このサンプルに対

して鉛直磁場を 15 分以上印加した．この操作により，DNA を接着剤として結晶側面((001)面)をガラス基板に再固定できた．さらに，再固定した結晶の z 軸に対して平行方向に磁場印加したところ，結晶の y 軸周りの磁場配向によって(102)面が傾斜した．これより，結晶 1 枚から再固定・磁気制御ができることを示した．

(公表論文 6) しかし，この再固定および磁気制御法では，2 次元的な制御しかできないため，魚類の複雑な 3 次元動作を考慮した光反射の解析には向かない．そこで，微小溶液封入による結晶の低拘束条件と 2 種類の磁場配向特性を利用して，結晶がひねり回転を生じる磁気制御法（3 次元的反磁性マイクロマニピュレーション法）を構築，実現することに成功した．（公表論文 4）また，この結晶制御法にて光反射特性評価を試みたところ，強い光反射を生じる特定の結晶角度領域が明らかとなった．さらに，結晶 b 軸に対する入射光方向の光反射依存性を解析した．結晶に対する座標系の x 軸に対して，入射光方向が平行条件の場合を 0° と定義した．結晶 b 軸に対して約 $0\sim 45^\circ$ で光を入射した場合には，光反射が生じることを明らかにした．（公表論文 7）結晶に対する座標系において， z 軸周りの回転に関連する，結晶 b 軸と x 軸の成す角度を θ と定義する．また y 軸周りの回転に関連する，結晶(102)面と x 軸の成す角度を ϕ と定義する．これらの結果より，光反射が生じる結晶角度領域を[角度 θ , 角度 ϕ]=[$0\sim 46^\circ$, $10\sim 22^\circ$]と特定することに成功した．さらに，3 次元的反磁性マイクロマニピュレーション法により，光反射可能領域内で光反射のスイッチングが生じる角度範囲を[角度 θ , 角度 ϕ]=[2° , 12°]と特定した．

第六章では，本研究の成果について総括を行い，今後の展望について記述する．本研究では，魚類由来グアニン結晶には 2 つの磁化容易軸と 1 つの磁化困難軸による 2 種類の磁場配向特性を有し，結晶の遠隔制御が可能であることを示した．この 2 種類の磁場配向を利用して，結晶 1 枚の光反射特性を評価するための 3 次元的反磁性マイクロマニピュレーション法を確立した．さらにこの実験手法を利用して，魚類由来グアニン結晶 1 枚の光反射可能な結晶角度領域を明らかにし，結晶の光反射スイッチングが生じる角度範囲を特定した．この研究では，2 種類の磁場配向を用いた反磁性マイクロマニピュレーション法にて，魚類由来反磁性微小結晶の光反射可能な領域を，3 次元で解明できた点に新規性を有する．従来の研究結果では，細胞質とグアニン結晶から成る多層構造により，銀白色の強い光反射を生じると報告されていた．しかし本研究の結果から，魚類遊泳時の 3 次元運動による体表面の光反射変化は，体表面の多層構造だけでなく，グアニン結晶単体の微小な角度変化による光反射のスイッチングも関連している可能性が考えられる．これより，魚類の行動学研究やバイオリフレクター機能解明という，今後の研究展開と応用研究に寄与すると期待される．

また波及効果として，魚類由来グアニン結晶の持つ，微小な角度変化による光反射スイッチングと弱磁場による磁場配向現象を利用して，マイクロ流体回路などの微小領域内で遠隔制御できるマイクロリフレクターとしての応用が期待される．