

# 研究成果報告書（第26回学術研究助成）

2019年 4月 1日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団

理事長 野村 茂樹 殿

所属機関名 北海道大学大学院理学研究院

職 名 日本学術振興会特別研究員(PD)

氏 名 竹田 裕介

## 1. 研究課題

紫外線蛍光イメージングで迫る化石頭足類軟体部の解剖組織学

## 2. 共同研究者

なし

## 3. 研究報告

### I. 研究の目的

軟体動物頭足類（イカ・タコ類）は現在の海洋において汎世界的に分布し、高次捕食者として海洋生態系の一翼を担っている。地球史においては、その化石記録の豊富さから、有殻型の頭足類（アンモナイト類やオウムガイ類、ベレムナイト類）が重点的に注目されてきたが、一方で、現生型の無殻型あるいは内殻型の頭足類（コレオイド）とリンクすると考えられる化石記録も、ジュラ紀以降のラーガーシュテッテンから発見されつつある。これらは海洋生態系の変遷という視点から頭足類の形態進化を明らかにする上で高い可能性を秘めている。しかし、コレオイド化石はしばしば圧密を受けた状態で産出し、また、化石化ポテンシャルの高い硬組織が少ない。軟体部の各パーツは続成作用を受けながらも保存されているが、自然光下では詳細な形態や構造を認識しにくく、頭足類の生理・生態を理解するのに必要な情報の抽出は困難である。これを解決するために、紫外線による自家蛍光反応を利用して軟体部の形態を観察する試みもなされてきた（例えばLarson et al., 2010）が、紫外線の出力が弱く、軟体部の構造を解剖学のレベルで捉えることはできていない。また、蛍光色はその化学組成を反映するため、軟体部の続成作用の理解に有用な情報を持っていると考えられるが、その色を定量的に評価する試みはなされてこなかった。

そこで、本研究では、化石試料に対して高出力紫外線による自家蛍光反応を利用し、自家蛍光スペクトルを取得する分析システムを確立することを目的とする。更に、この分析システムを白亜系レバノン産コレオイド化石試料に応用し、紫外線蛍光イメージングによる解剖組織学研究が可能であることを実証する。

## II. 研究の方法

### 1. 紫外線蛍光イメージングによる分析システムの制作

市販のミラーレスデジタル一眼レフカメラおよびマクロレンズを撮影系として用いた。撮影画像の画素数は横6720ピクセル・縦4480ピクセルである。カメラへの入射紫外線をカットするため、レンズには紫外線除去フィルター (Carl Zeiss T\* UVフィルター) を装着した。紫外線光源として、波長365nmのUVライト (オプトコード社) を用いた。これらの機材を組み合わせ、簡易暗室内で試料の紫外線自家蛍光像を撮影するシステムを構築した。

本研究では、自家蛍光スペクトルを取得する方法として、回折格子を利用した。回折格子フィルム (Edmund Optics社, 格子周波数: 1000本/mm, 溝ピッチ: 25400.00本/インチ, 波長域: 400nm- 700nm, 分散角: 36.00°, 板厚: 0.003インチ) をレンズフード内部に貼り付けた機材を作成した。

### 2. 白亜系レバノン産コレオイド化石試料の撮影

イタリア・ミラノ自然市立博物館所蔵の白亜系レバノン産コレオイド化石標本を材料とした。紫外線自家蛍光像を撮影後、試料の蛍光させたい領域以外を紫外線吸収フィルムで覆い、必要な蛍光のみが得られる状態で、回折格子付きレンズフードをカメラに装着し、回折された自家蛍光スペクトルを撮影した。本分析では、カメラの感度はISO=100とし、シャッター速度とF値を変えることで画像の明るさを調節した。次に、ソフトウェアMakali (国立天文台) を用いて、画像から輝度分布および入射光からの距離 (ピクセル数) を求めた。更に、波長が既知の可視光源 (450nm, 470nm, 505nm) のスペクトル分布で校正することで、蛍光を構成する波長を半定量的に算出した。

## III. 研究結果

### 1. 化石試料の紫外線自家蛍光像の取得

コレオイド (コウモリダコ類) 化石試料 (*Dorateuthis syriaca*: 1個体, *Glyphiteuthis libanotica*: 4個体, 未記載個体: 3個体) について、波長365nmの紫外線による自家蛍光像を取得した (図1)。撮影画像上では、岩石基質は薄紫色～赤紫色に、コレオイドは部位に応じて乳白色～黒色 (無蛍光) まで多様な自家蛍光反応を示した。

白色光



紫外線 (365nm)

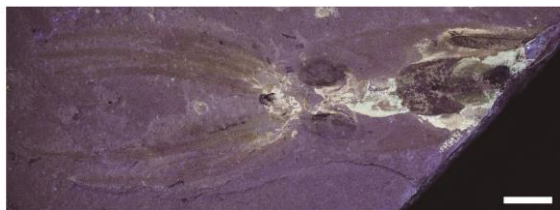


図1. 白色光および紫外線下 (自家蛍光) でのコレオイド撮影画像の例. *Glyphiteuthis libanotica* (i20587a). スケールは10mm.

### 2. 自家蛍光の回折スペクトル像の取得

波長365nmの紫外線による、試料各部位の回折スペクトル像 (図2) を取得した。例えば図2における蛍光スペクトル像 (蛍光自体は乳白色に見える) からは、545nm (黄緑色) および466nm (水色) に強いピークを持つ波長分布が得られた。



図2. 上: *Glyphiteuthis libanotica* (i24801) における外套膜部位の自家蛍光 (乳白色) のスペクトル像. 下: 同様の撮影セッティングにおける可視光 (505nm) の回折スペクトル像.

#### IV. 考察

これまでの研究で用いられた紫外線光源は120mWと低出力のものだったが (例えばCrippa and Teruzzi, 2017) 本研究では, 紫外線出力が4050mWという強力な光源を用いることで, コレオイド化石試料軟体部の自家蛍光像をこれまで以上に鮮明に取得することができた. 軟体部の各パーツでの微妙な蛍光の違いを認識することが可能になり, 解剖組織学的観察に成功した. また, マクロレンズとデジタル一眼レフカメラを用いることで, 光学 (蛍光) 顕微鏡よりも広視野で試料を高解像撮影できるため, 個体全体を俯瞰しつつ詳細な観察が可能である.

更に, 本研究では回折格子を用いて, 自家蛍光をスペクトル化し, 蛍光波長を半定量的に求めることができた. 一般的に, 蛍光スペクトルの分析は分光分析器や分光計を用いて行う. これらの分析機器では試料サイズに制約があり, 測定部位の調整が難しく, また, 非常に高価な機材である. 本研究で確立した手法は定量性の点ではこれらの分析機器に劣るが, 上述のデメリットを克服し, かつ, ポータビリティが高い. 博物館における標本調査のような, 自然史科学的研究にとって有効なシステムであると考えられる.

#### V. 成果発表

本研究で確立した自家蛍光像およびスペクトル像撮影システムについて, 日本古生物学会にて発表予定である. また, コレオイド化石試料における軟体部の自家蛍光像をもとに解剖組織学的考察を行い, 国際誌に掲載すべく論文を準備中である.

#### VI. 今後の課題

引き続き, 自家蛍光像の観察をもとに, 頭足類の解剖組織学的研究を継続する. 今回は試料から発せられた自家蛍光を直接回折格子に当てたが, より定量的なスペクトル像取得にはコリメータを用いる必要がある, 今後検討すべきである. また, 自家蛍光スペクトルから推定された波長をもとに, 軟体部の鉱物種の推定を行う.