

## 研究裏話－失敗の一つ

渡部 哲光\*

大学を卒業して直ぐ、曲りなりにも研究を始めるようになり、それから現在までにかれこれ60年近く経ってしまった。色々のことを手掛けたが、当然のことながら中にはうまくいったものもあるし、いかなかつたものもある。失敗したことはそれこそ山ほどあって、なかには今から思うと恥ずかしいようなことをしてかし、忘れないと思っていても、そんなのに限って思いがけないときにひょこっと思考の途中に顔を出して来る。一方では失敗の中から、重要な事実が発見されたこともある。今回はその中から磷酸イオンにまつわるエピソードを紹介したい。

昭和30（1955）年頃であったが勤務していた富士真珠株式会社研究部では、アコヤガイの人工栽培の研究が行われていて、D型幼生までは受精後20~40時間内で殻に育成できていた。私はその浮遊性の幼生、それは $100\mu\text{m}$ 位の貝殻を持っていたが、この鉱物の種類は何か調べてみようと思った。事実、それについては当時報告が出ていなかったのである。それにはX線回折法を使えば良いのだが、そのようなものは勿論小さな会社の研究部には無い。あったものは偏光顕微鏡だけである。ホルマリンで固定したものを調べたと思うがこれは確かではない。貝殻が大きく湾曲しているので、交差ニコル下でも同心円形の消光をしてしまい、そのままでは光軸性の測定は不可能なので、デッキグラスに載せ、カヴァーガラスで押しつぶして平らな破片を作った。複屈折は低く、交差ニコル下で灰色であったのはよく覚えている。光軸性は一軸性負。屈折率測定の結果、ダーライト（炭酸・磷酸カルシウム）と同定した。てっきり成貝と同様に炭酸カルシウム結晶のどれかと思っていたので、これは意外な結果であった。データはしばらくしまってあったが、三重県立大学水産学部（現在の三重大学）に移った直後、同僚の勧めもあって、米国雑誌の「サイエンス」に投稿、1956年に掲載された。

それからしばらく経って、1964年に同じ「サイエンス」にカキの幼生貝殻の鉱物は炭酸カルシウム結晶の一種のアラゴナイトであるというStenzelの論文が発表

された（その頃、私はもうアメリカのDuke大学に研究員として赴任していた）。おや、と思ったがそのままに過ごしてしまった。この時に何とかしてアコヤガイ幼生を入手して以前の結果を追試すれば良かったのである。それと同じ頃、私は数種の動植物の硬組織構造を調べていたが、どうも分析結果に納得が行かないことが出て来て困っていた。一つは付着したばかりの若いフジツボを使った殻の形成過程の透過電顕研究で、全体像を見るため先ず、殻のX線回折分析をした。ところが、カルサイト線が出るのは当然として、その他にごく薄くではあるが磷酸カルシウムの回折線が出てくるのである。殻のどこかにこの結晶がある筈で、ダイヤモンド・ナイフで切片を作り電子線回折を試みたが検出は出来なかった。主任のWilbur教に相談しても役に立つ返事は来なかった。

そのうちに海綿動物の権威、エール大学のWillard Hartman教授と、珊瑚の石灰化の権威でジャマイカにいたThomas F. Goreau教授がCoralline Sponge（硬骨海綿類で炭酸カルシウム結晶を骨格とし、炭酸カルシウムまたはオパールの骨針を持つ）の新種を樹脂包埋して持参し、これを電顕で調べて欲しいと、Wilbur教授を通して私に頼んできた。早速観察に掛かったところ、針状の磷酸カルシウムがたくさん出来ているのである。変だなと思いながら、何度も電子回折を行った。海綿のサンプルは10種位だったので、半年ばかり掛けて次々と調べたが、結果は全く同じで、これをどう解釈したら良いのか私は全く途方に暮れていた。余り消息がないので、Hartman教授が「あれはどうなった」とやってきたので、写真を見せて意外な事実が出たと話した。教授の反応や、彼とWilbur教授との会話は覚えていない。しかし、この研究はそれで中止となったのは確かである（新種の記載はエール大学博物館紀要に発表された）。

その後1970年に、私は現在の南カロライナ大学に転勤し、バイオミネラリゼーションの研究を継続して来ている。1977年、三重県賢島で3rd International Symposium on Biomineralizationが開催され、その時、

\* Department of Biological Sciences, The University of South Carolina, Columbia, SC 29208, USA

新潟大学小林巖雄教授（今春退官）から私に、アコヤガイ幼生の殻もアラゴナイトでしたのでそのように報告しますから予め承知くださいとの話があった。前にLowenstam教授と電話でディスカッションしたこと也有って、その頃には、昔の研究に何か間違いがあったことは私も悟っていたので、学会席上でそのことについて発言した。しかし、どこをどう間違えたのかは判らなかった。

それからまた数年経って、アメリカ・カキ(*Crassostrea virginica*)の幼生を飼育する機会が出来たので、D型幼性の殻をグルタル・アルデヒドの燐酸緩衝溶液-海水で固定した後、樹脂包埋し切片を切って電顕・電子線回折で調べた。驚いたことに燐酸カルシウム結晶が沢山あるではないか！この結晶は針状で、貝殻内面を中心に数箇所から外套膜内部に放射状に伸びている。辿ってみると何と結晶は外套膜上皮細胞の細胞質を通り、細胞核を貫いているのであった。結晶は明らかに後で出来たものである。さらに、星口動物にも同様な現象を観察した。

これで始めて今までの謎が解けた。アルデヒド系の溶液は炭酸カルシウム結晶を大なり小なり溶かす（後で判ったが幼生の貝殻は特に溶け易い）。溶出したCaイオンは直ぐに燐酸イオンと結合して溶解度の低い燐

酸カルシウム結晶が形成されたのである。早速ノートを調べてみると以前に扱った海綿もフジツボもアルデヒド-燐酸緩衝液で固定してあった。海綿では燐酸カルシウム結晶は固定のアーテファクトとして形成されたと断定して良いと思う。フジツボではその結晶の局在が確認出来なかつたし、Lowenstam教授はある種のフジツボの殻にそれが実在するという論文を発表しているから、あながちアーテファクトと決める出来ないが、その可能性は高い。アコヤガイD型幼生のダーライト結晶は、残念ながら固定や保存の条件に関するノートがなくなつて仕舞つたのでそれと確定は出来ないが、矢張りアーテファクトに違いない。これについては、1990年に、Skeletal BiomineralizationのProceedingsに写真を添えて言及した。以来私は、バイオミネラリゼーションの電顕研究には燐酸緩衝液は避けてカコジル酸を使用することにしている。

この過去の失敗は今のように電顕が使用できればアーテファクトと判るのだが、一には実験を数回繰り返せば避けられたかもしれない。即ち、少なくとも10個体位、また別のグループの幼生貝殻を分析すれば良かったのである。そうすればアラゴナイトを検出していたと思う。また、Stenzelの論文の直後にもう一度アコヤガイを調べるべきであった。