硬骨魚類ウロコの赤外イメージング解析

(医科歯科大教養¹・(株)パーキンエルマージャパン²) ○奈良 雅之¹・丸山 雄介¹・服部 淳彦¹・新居田 恭弘²

IR imaging analysis of scales of bony fishes (¹ College of Liberal Arts and Sciences, Tokyo Medical and Dental University, ²PerkinElmer Japan Co., Ltd.) ○Masayuki Nara, Yusuke Maruyama, Atsuhiko Hattori, Yasuhiro Niida²

Scales of bony fishes are calcified tissues that contain osteoblasts, osteoclasts, and bone matrix, all of which are similar to those found in mammalian bone. The scales are composed of hydroxylapatite (HAP) and extracellular matrix, mainly type I collagen fibers. First, we investigated the scales from goldfish, medaka, zebrafish etc. by attenuated total reflection (ATR)-FTIR spectroscopy. ATR-FTIR spectrum for the surface coat of these scale showed a strong and broad band at about 1010 cm⁻¹, which was due to HAP, and weak bands at about 1600, 1415 and 870 cm⁻¹. Next, diffuse reflectance IR imaging was applied to the surface of fish scales. As a result, we confirmed that the quality of IR imaging was improved by using second-derivative calculation technique. We discuss the implication of IR imaging for analyzing HAP and carbonate apatite

Keywords : ATR-FTIR; Hydroxyapatite; IR imaging; Scale

硬骨魚類のウロコは、コラーゲンが主成分である繊維層と、コラーゲンにハイドロキシアパタイト (HAP) が沈着した骨質層とからできている。近年、キンギョのウロコはヒトの骨と同様に、破骨細胞と骨芽細胞によって骨 (カルシウム) 代謝が調節されていることから、骨の代替となる研究対象として注目されている¹⁾。本研究ではキンギョ、メダカ、ゼブラフィッシュなどの魚類ウロコを赤外分光法ならびに赤外イメージングを用いて、HAPやタンパク質などの状態解析を行った。まず、全反射吸収赤外分光法 (ATR-FTIR) でスペクトルを解析したところ、HAPのリン酸イオンに由来する 1010 cm⁻¹ 付近のバンドは、魚類によりピーク値が異なることがわかった。その要因は骨質層中に炭酸アパタイトが形成されていることによるものと考えられる。次に、赤外イメージング解析により魚類ウロコの HAP や炭酸イオンの分布を調べた。これまで、反射型で得られたイメージングは、正反射スペクトルにクラマース・クローニツヒ変換を行ってきたが、拡散反射スペクトルによる寄与があるため、再現性の良い赤外イメージングを得ることが困難であった。そこで、ウロコサンプルを ATR 用のスライドガラスに載せて、拡散反射スペクトルとして処理したところ、表皮側とポケット側のタンパク質や HAP の分布が明瞭に分かれたので、赤外イメージングの質が改善されたものと考えられる。さらに、二次微分スペクトルによるイメージング解析を試みることにより、ベースラインの歪みによる影響を軽減することができたので、炭酸アパタイト中の炭酸イオン由来のバンドを用いてイメージを得られることが期待される。

1) Two osteoclastic markers expressed in multinucleate osteoclasts of goldfish scales. K. Azuma, M. Kobayashi, M. Nakamura, N. Suzuki, S. Yashima, S. Iwamuro, M. Ikegame, T. Yamamoto and A. Hattori, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2007**, 362, 594.