



食物連鎖網は可視化できるのか？

～GC/IRMSを用いたアミノ酸の安定同位体分析でみる生物と生物のつながり～

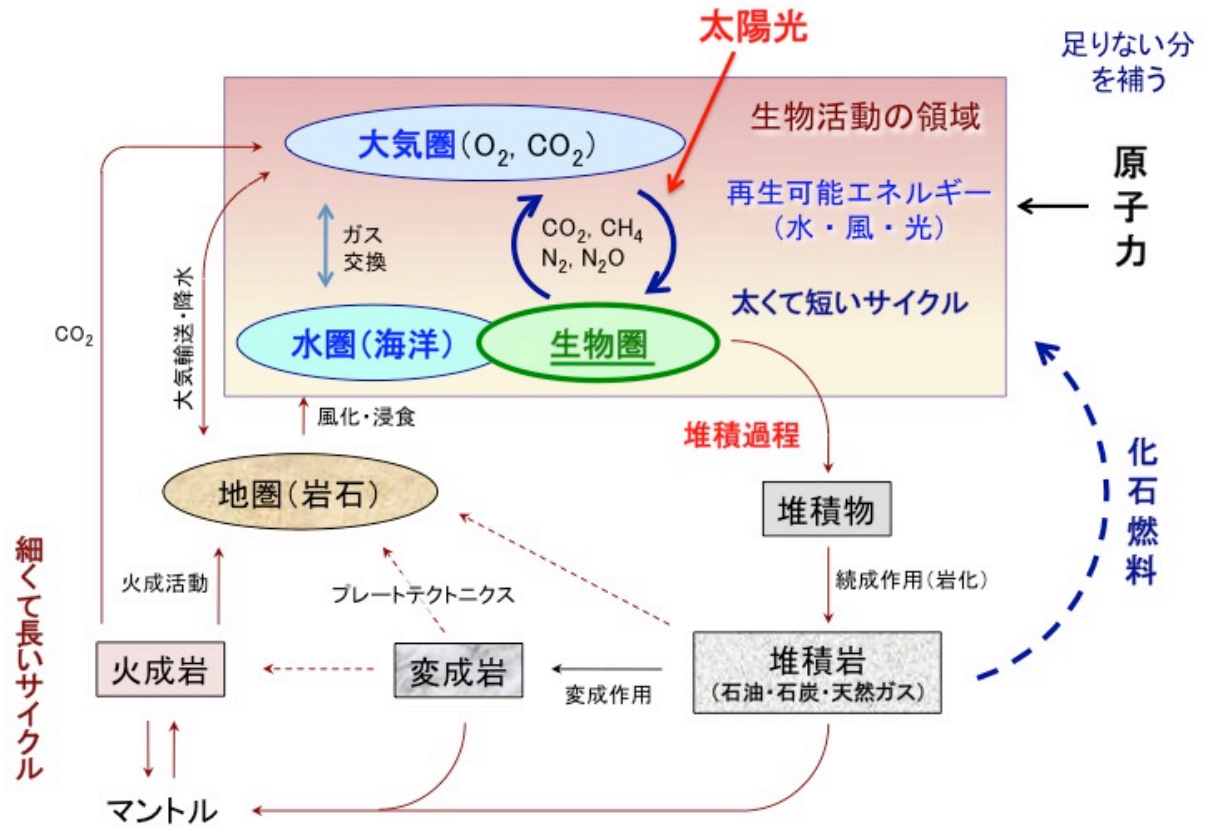
力石嘉人

独立行政法人海洋研究開発機構(JAMSTEC)

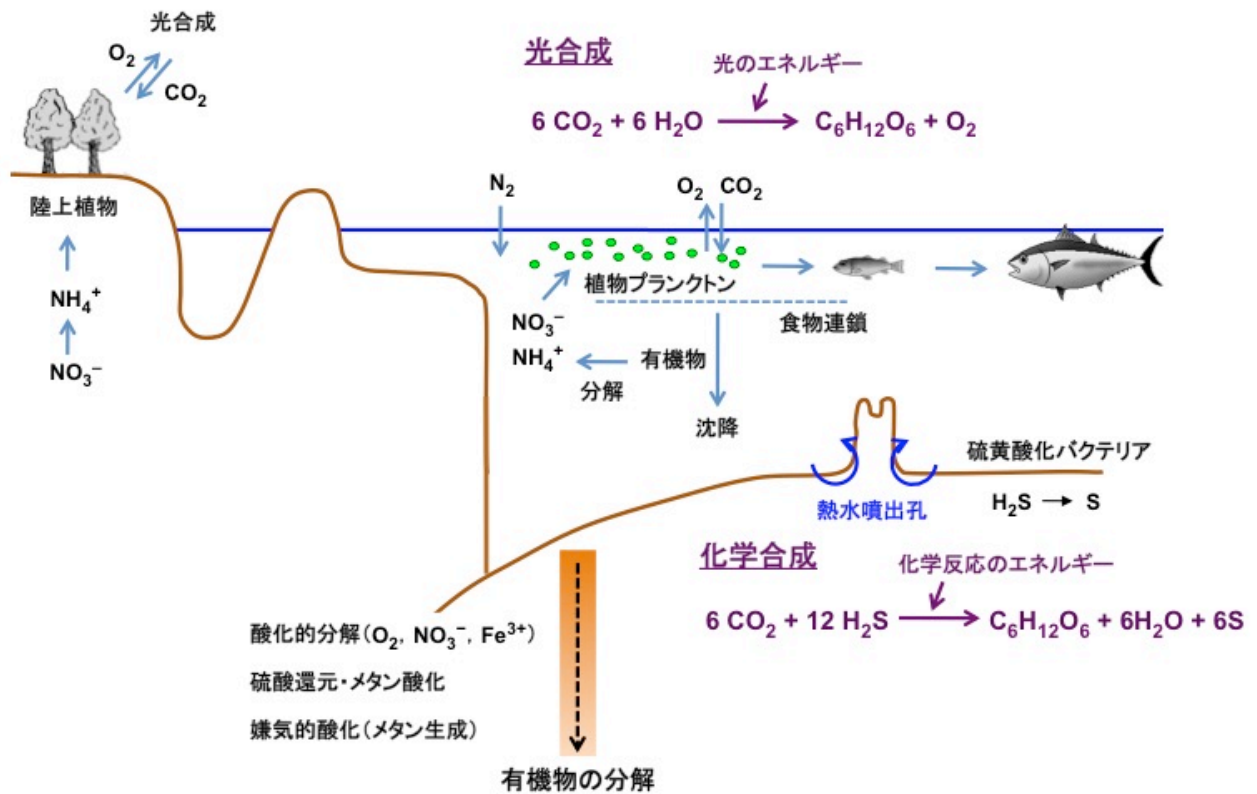
内容

1. 我々の研究 とガスクロマトグラフィー
2. GC/IRMSを使った生態系(食物連鎖)研究
(ガスクロマトグラフィー/同位体比質量分析法)

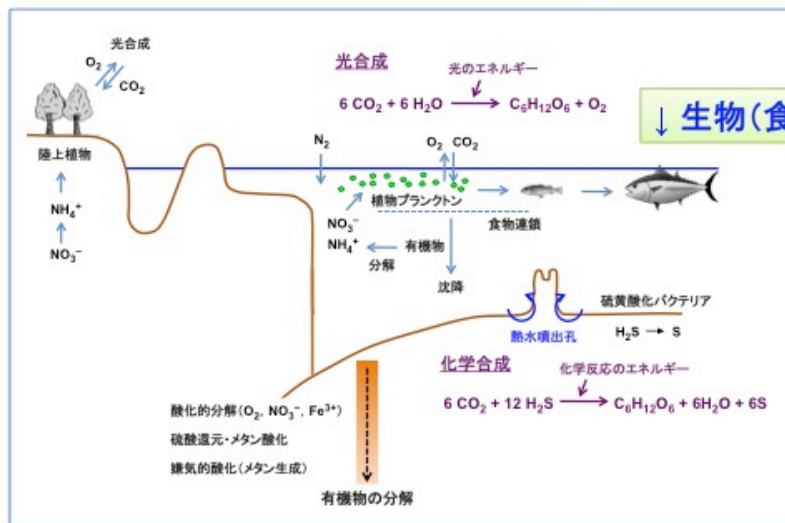
地球の循環システムでは、



生物を介した物質の流れ



それをきちんと理解し、そして定量化するには、



↓ 生物(食物連鎖)を用いた研究

↑ 海底・湖沼堆積物を用いた研究

ツールとしての
 ・有機化合物
 ・安定同位体

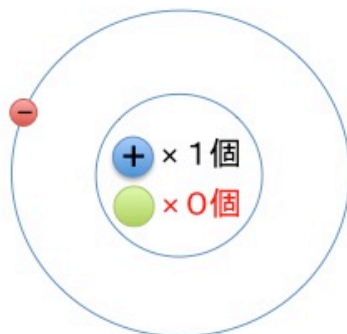
$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$
 D^{14}C D/H

手段としての
 ・GC, HPLC
 ・GC/MS, HPLC/MS
 ・EA/IRMS, GC/IRMS

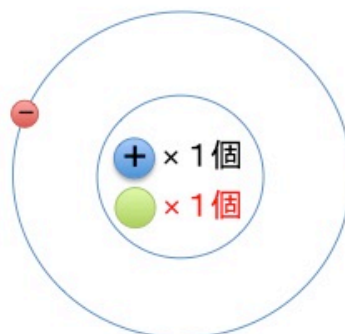
同位体とは？

原子は、陽子 \oplus , 中性子 \bullet , 電子 \ominus でできている

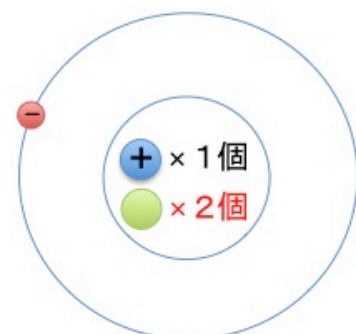
それぞれの同位体は質量数は異なるものの、外殻電子の配置が等しいためその化学的性質は非常に似ている



^1H : 水素



^2H : 重水素

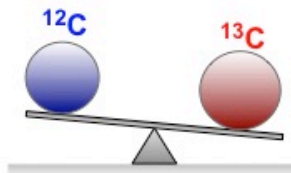


^3H : 三重水素

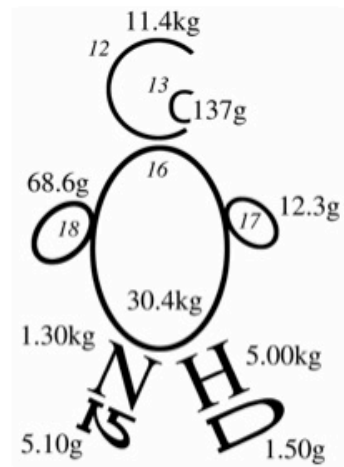
時間とともに壊変していく「放射性同位体」と壊れない「安定同位体」の2種類が存在する

生元素の安定同位体比

安定同位体	平均存在量 (%)
水素 ^1H	99.9844
$^2\text{H(D)}$	0.0156
炭素 ^{12}C	98.890
^{13}C	1.110
窒素 ^{14}N	99.635
^{15}N	0.365
酸素 ^{16}O	99.760
^{17}O	0.040
^{18}O	0.200



例えば、体重50kgの人の場合

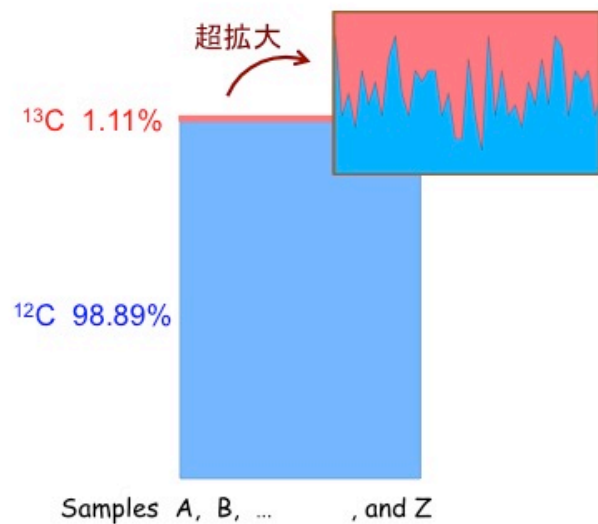


和田英太郎先生作

すなわち、実際には極僅かに異なる！！

水素	D/H	0.000116
炭素	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	0.011114
窒素	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	0.003663
酸素	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	0.002000
硫黄	$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	0.002150

小数点以下5, 6桁が変動する



...異なる質量が異なる反応性を生む！



Fry 2006より

それは...

- (1) 基質の同位体比
- (2) どんな反応が起こったか
- (3) どれくらい反応したかを正確に反映する

何に使うか？

起源推定

- ・ 誰が
- ・ 誰の
- ・ 誰を
- ・ どこで

プロセスの推定

- ・ 何が
- ・ いつ
- ・ どのくらい
- ・ 何回

トレーサーとして追跡

- ・ いつ
- ・ どこに
- ・ どのくらい
- ・ どうやって

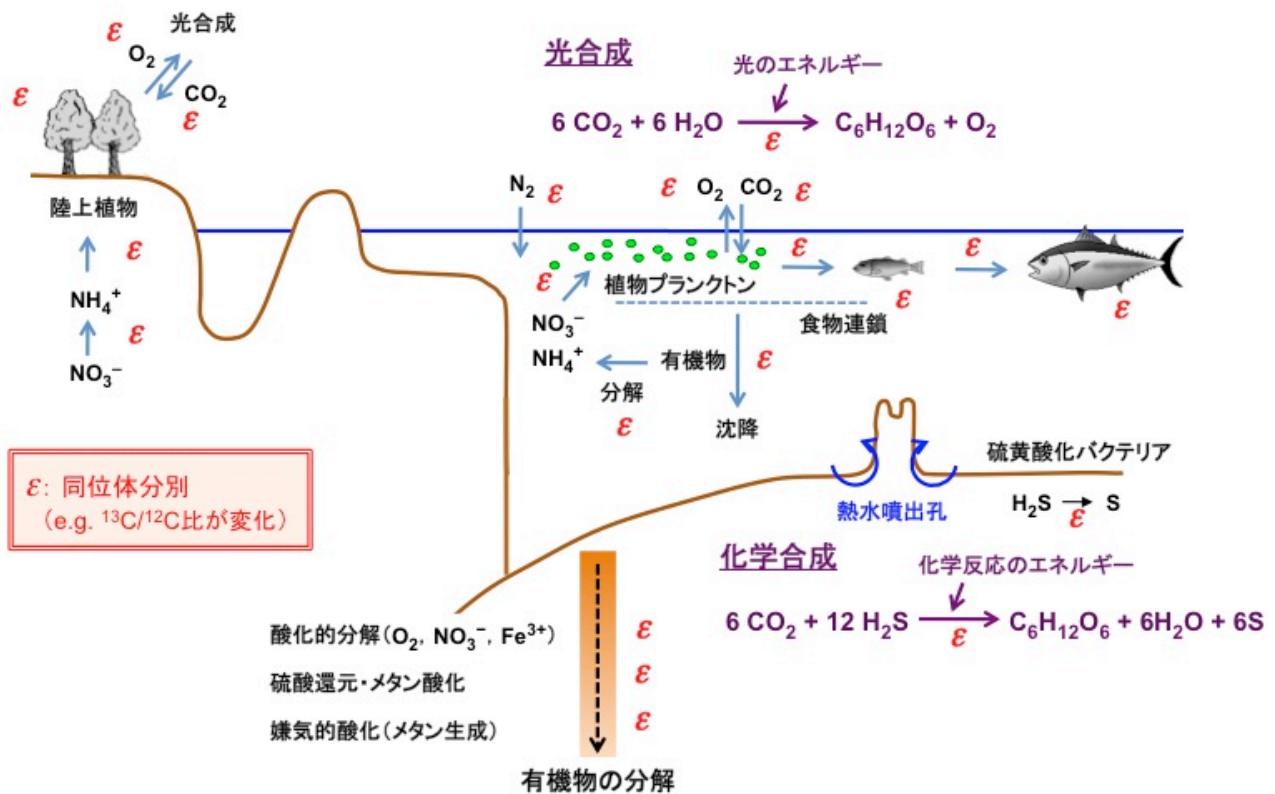
について、

同位体をうまく使えば、

なんとなくポヤッと～ときにはハッキリと見える可能性がある。

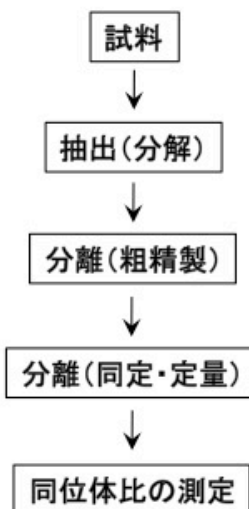
生物を介した物質の流れ

「同位体の比率を説明できなければ、説明にはならない」



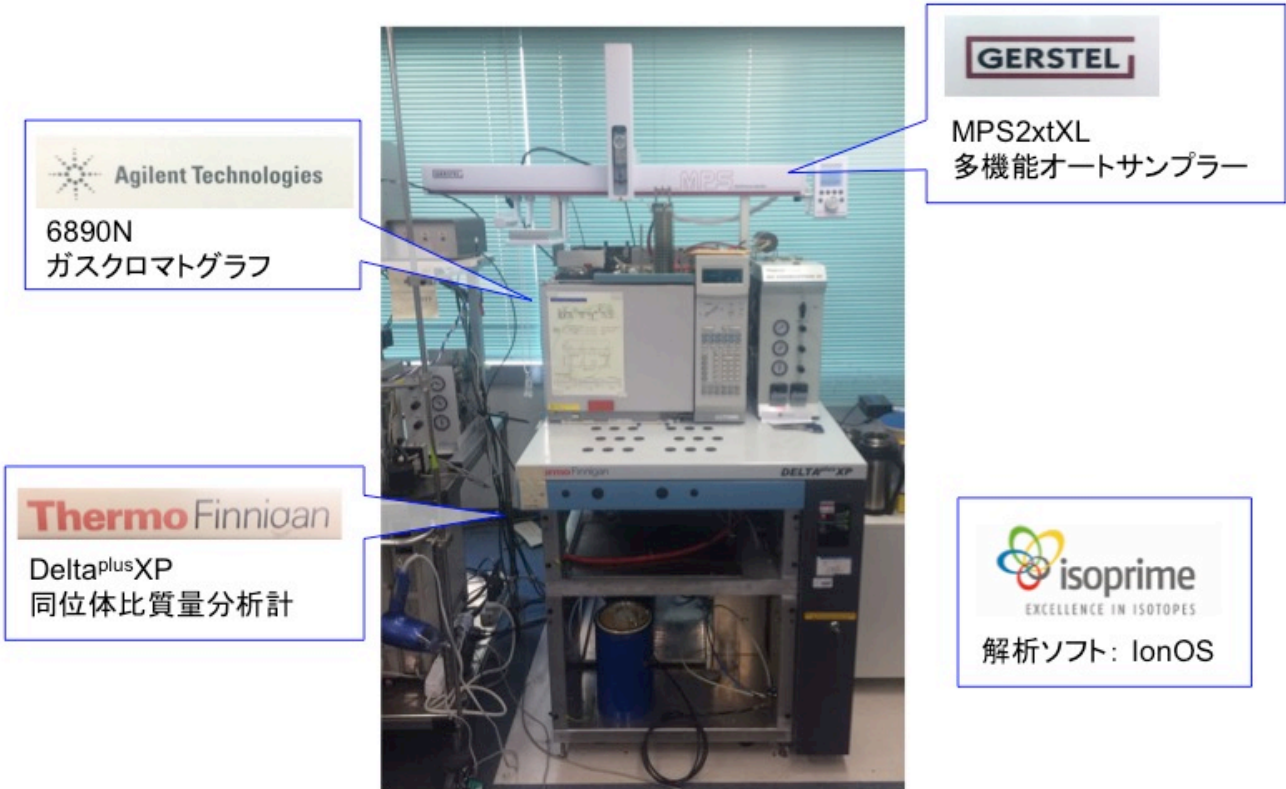
一般的な分析の流れ

同位体比を測定するための、道のりは長い……

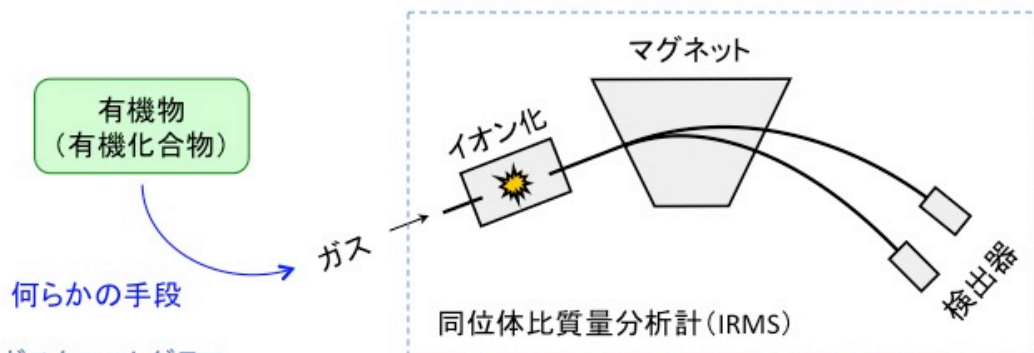


- 化合物を分離(粗精製)する
 液相分離(水/有機溶媒, 有機溶媒/有機溶媒)
 薄相クロマトグラフィー(TLC)
 シリカゲルカラムクロマトグラフィー
 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー
 イオン交換クロマトグラフィー
 結晶分離
- 化合物を分離(定量)する
 ガスクロマトグラフィー(GC)
 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)
 イオンペアクロマトグラフィー
- 化合物を分離(同定)する
 ガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)
 高速液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS)
 核磁気共鳴(NMR)
 X線回折(XRD)
- 化合物の同位体比を測定する
 ガスクロマトグラフィー/安定同位体比質量分析法(GC/IRMS)
 元素分析/安定同位体比質量分析法(EA/IRMS)
 加速器質量分析計(AMS)

GC-IRMS (ガスクロマトグラフ-同位体比質量分析計)



同位体比質量分析計 (IRMS)

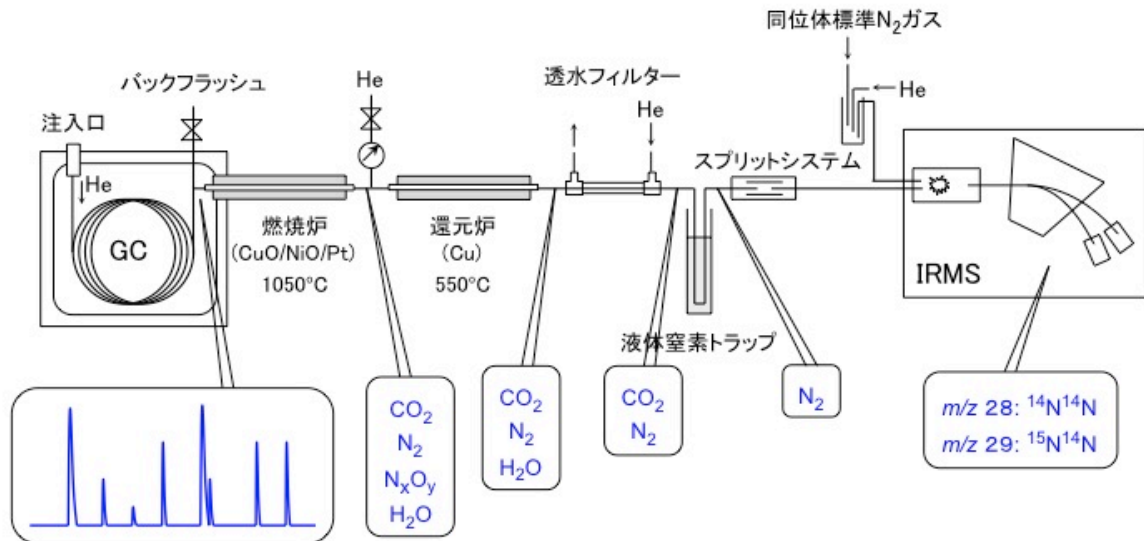


ガスクロマトグラフ
液体クロマトグラフ
元素分析
熱分解

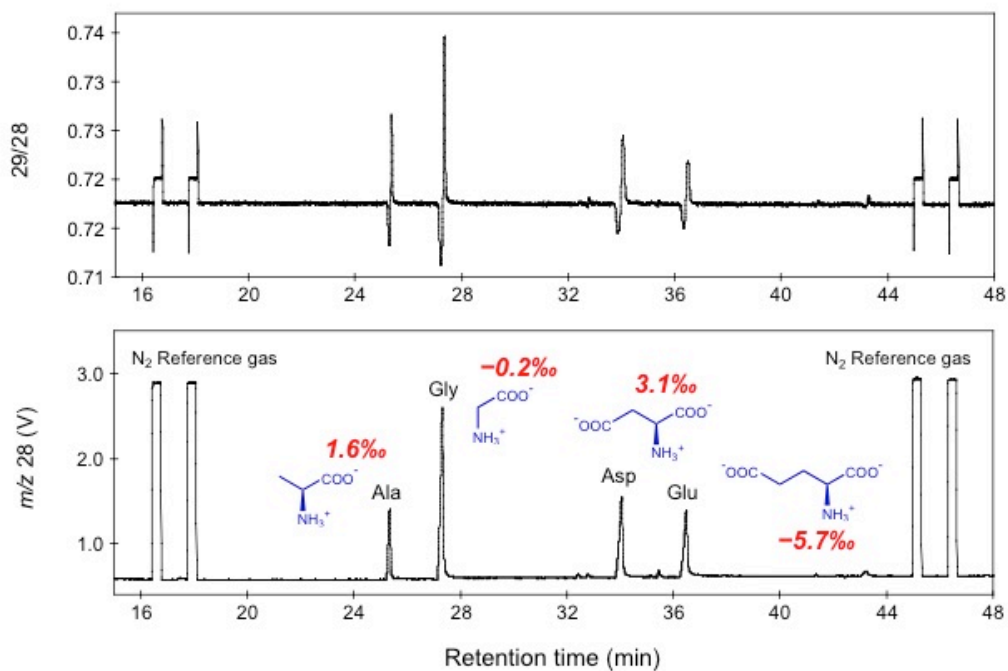
測定ガスと検出イオン

	ガス	m/z
水素	H ₂	2, 3
炭素	CO ₂	44, 45, 46
窒素	N ₂	28, 29, (30)
酸素	CO ₂	44, 45, 46
	O ₂	32, 34
	CO	28, 29, 30

GC/IRMSのしくみ(窒素の場合)

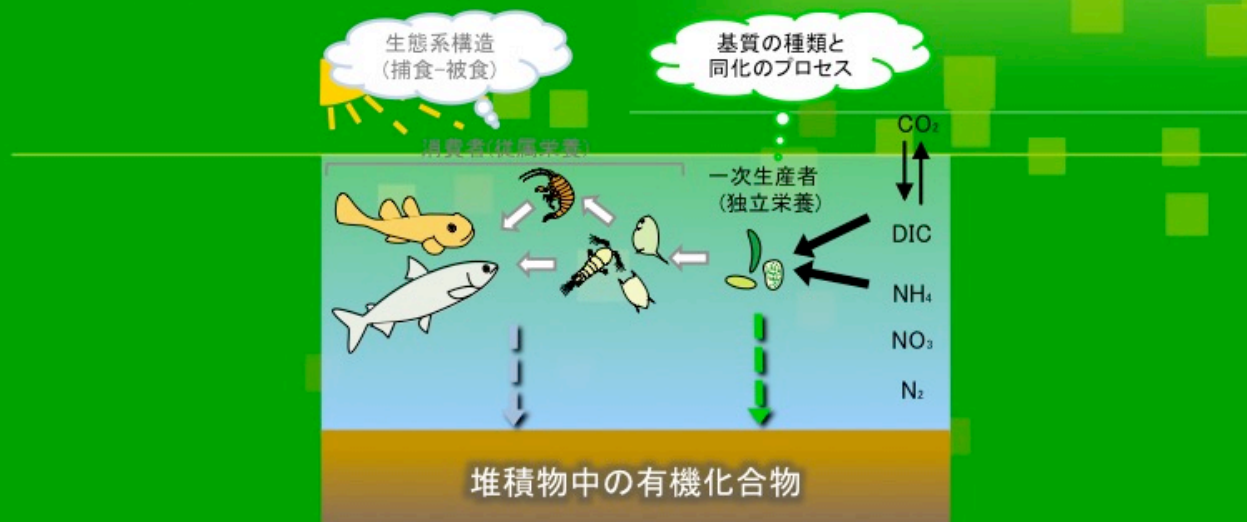


GC/IRMSのしくみ(得られる結果)



食物連鎖を解読する

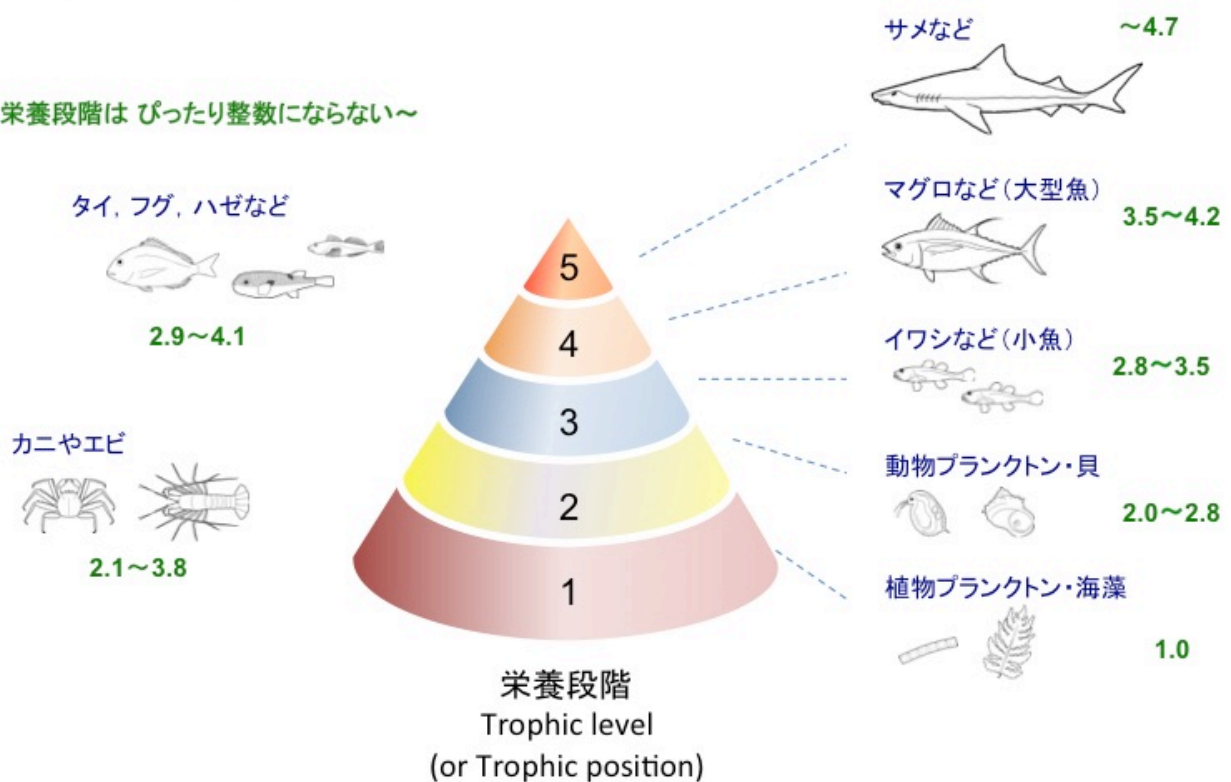
—アミノ酸の同位体比分析を用いた栄養段階測定法—



食物連鎖と栄養段階

雑食者が多い

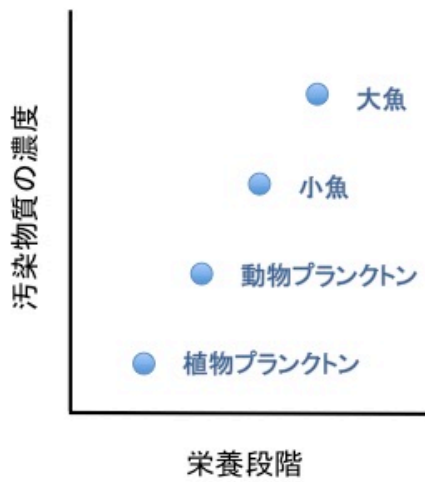
～栄養段階は ぴったり整数にならない～



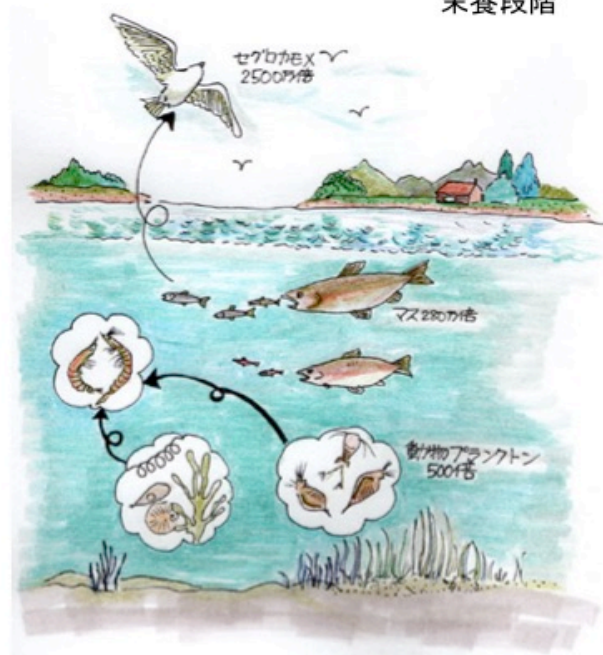
重金属(Hgなど)・有害有機物(PCBなど)の生物濃縮

食物連鎖を通して濃縮するPCBs

$$\text{濃縮率} = \frac{\text{PCBsの濃度}}{\text{栄養段階}}$$



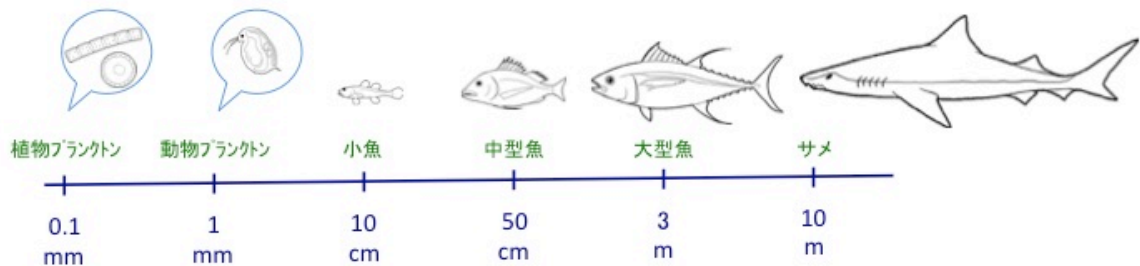
一般的に、1~5の範囲でも、従来の見積もり誤差は、±2?



http://tabemono.info/report/former/pcd/1/1_1/1.html

これまで、どうやって測られてきたのか？

1. 体の大きさ



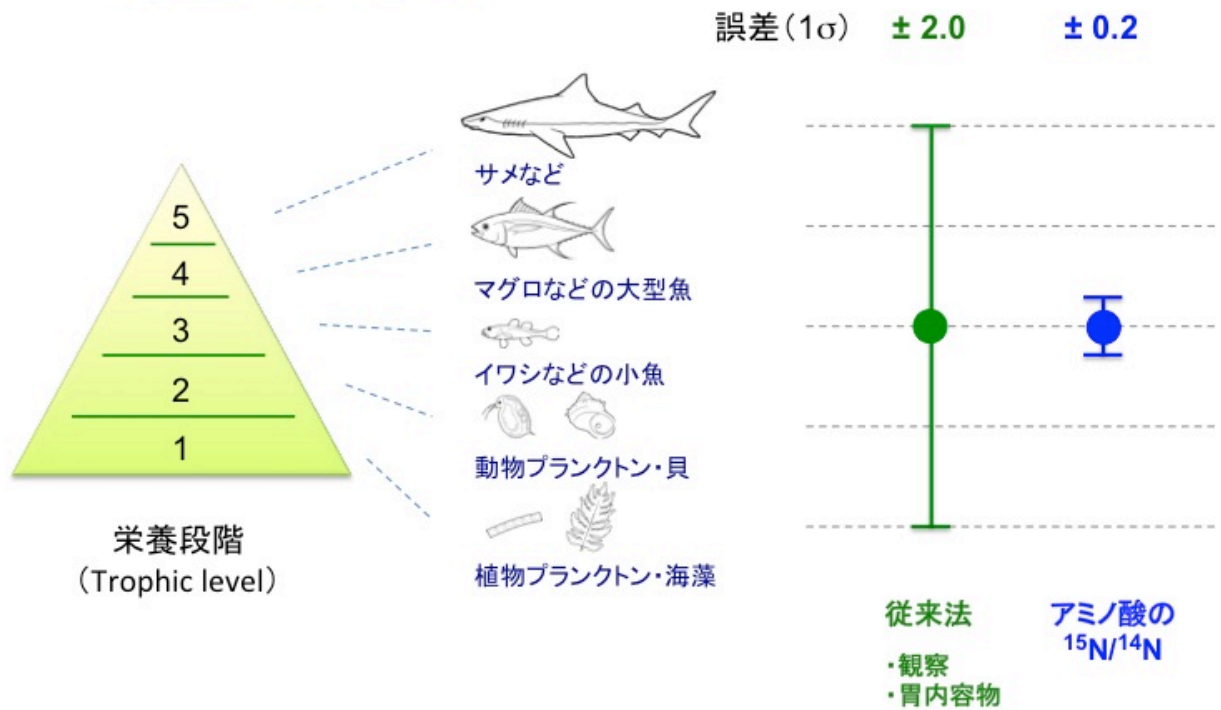
2. 歯の形

3. 胃内容物

アミノ酸の¹⁵N/¹⁴N分析

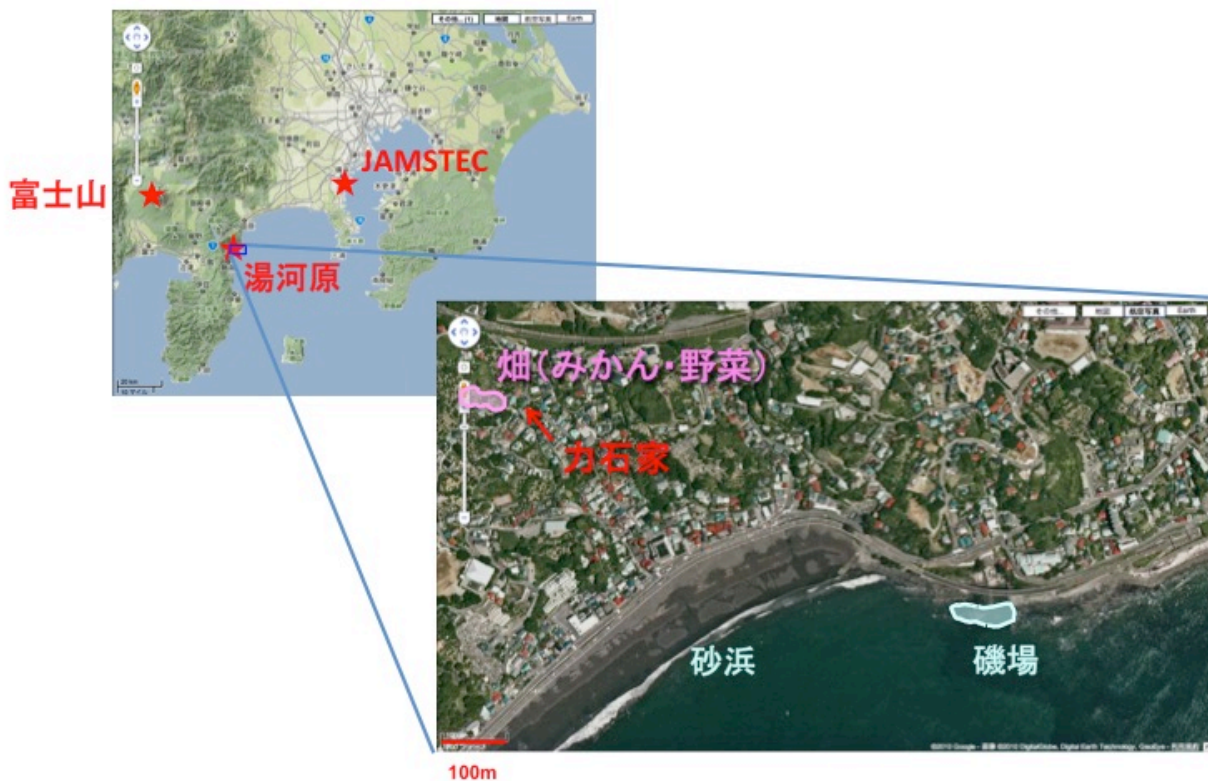
Chikaraishi et al., 2009, 2010, 2011

測定誤差を大幅に改善できる！！



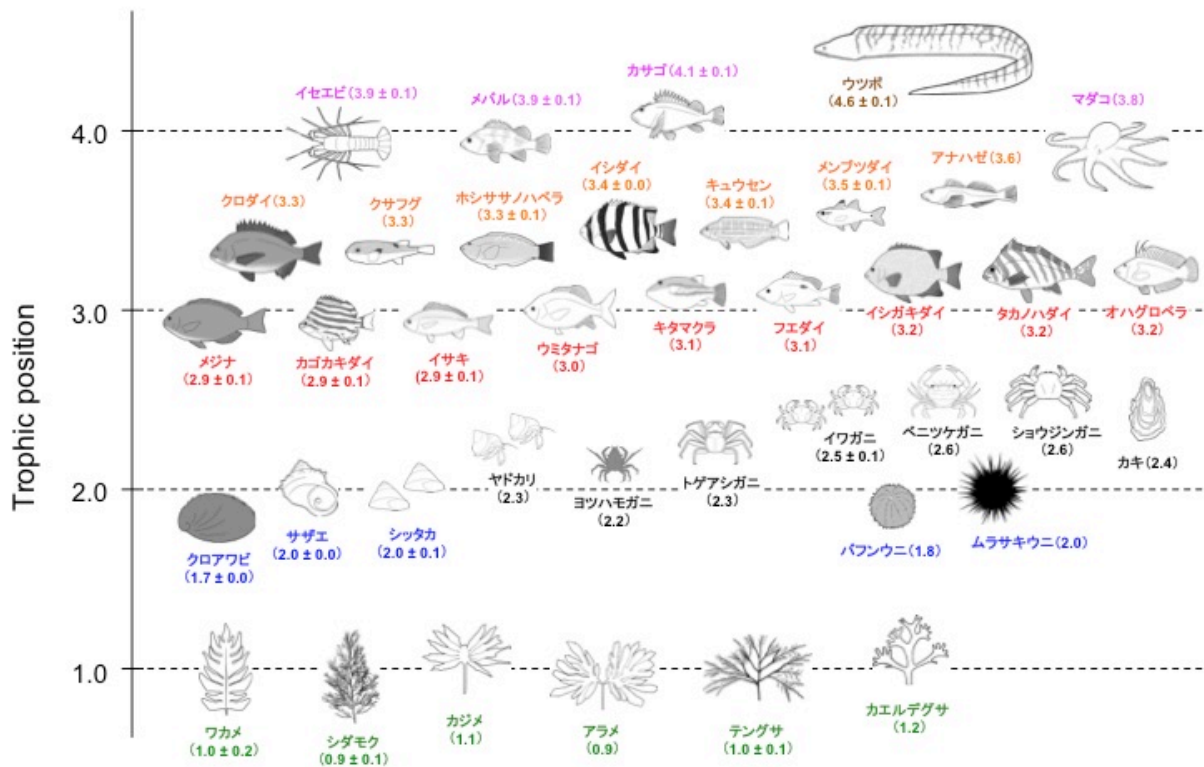
研究例：湯河原の磯・浜・畑の生態系

Chikaraishi et al., 2014.



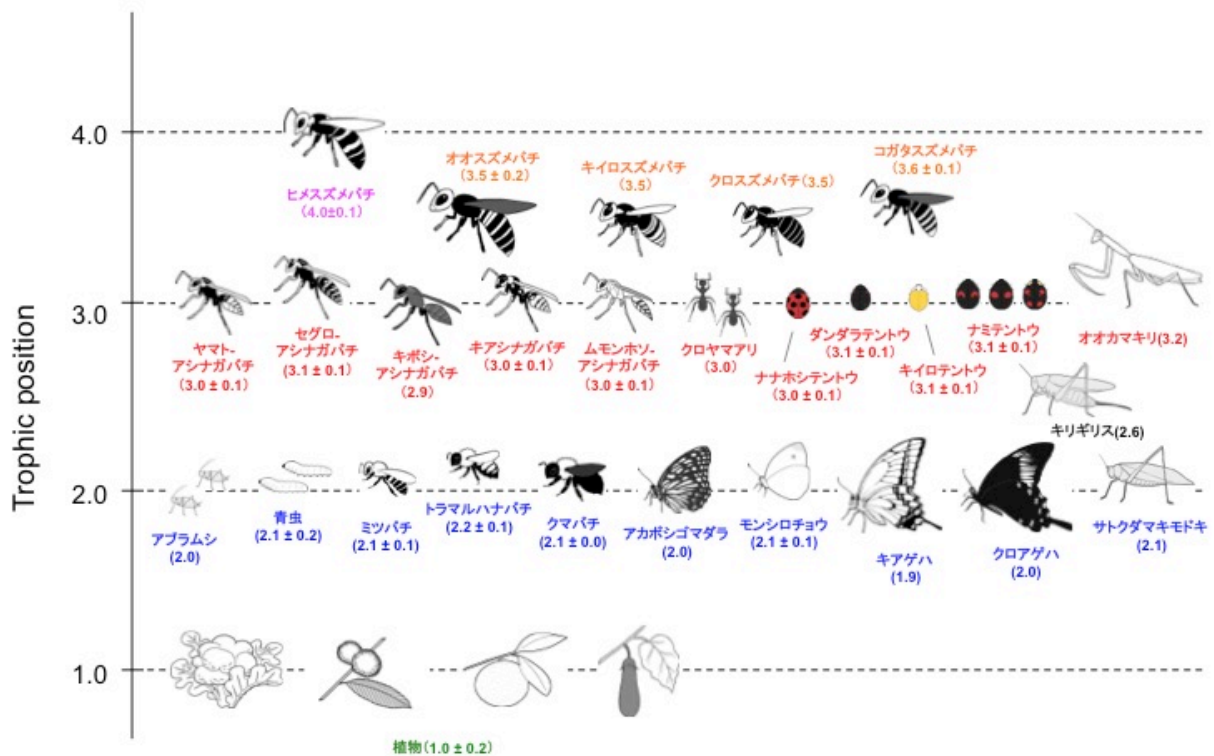
湯河原の磯(岩礁)の生物たち

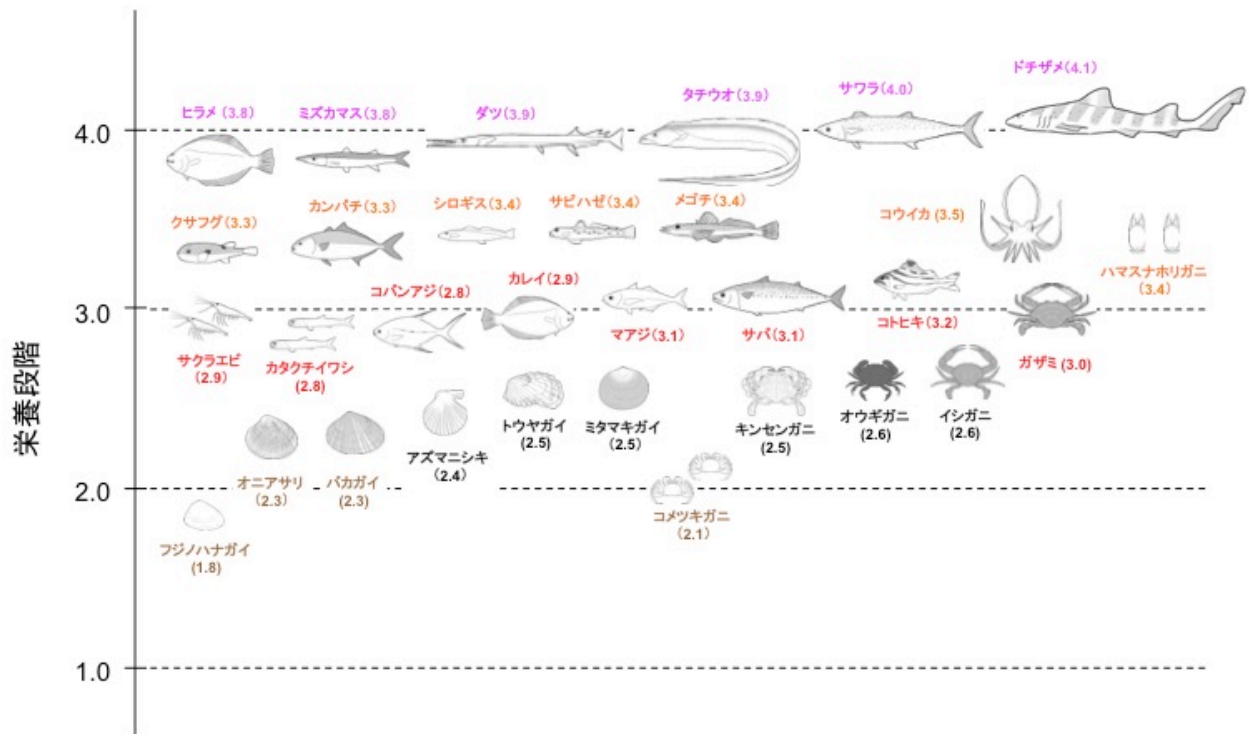
Chikaraishi et al., 2014.



湯河原のみかん畑の昆虫たち

Chikaraishi et al., 2014.





まとめ

1. 安定同位体比をうまく使えば、それは、そのまま高感度・高精度の画期的なツールになる。

同位体比の変動が、特定の反応(そのフラックス)を反映するという
「同位体の本質」を利用したツール

2. GC/IRMSを用いて、アミノ酸の安定同位体比を測定すると、生態系・食物連鎖網の構造解析を、かなりクリアーにできるようになる。

