



アミノ酸の天然レベル窒素安定同位体組成を用いた食物解析

小川奈々子* 力石嘉人* 大河内直彦*

1. はじめに

天然中に存在する窒素の約99.635%は、7個の陽子、7個の中性子、そして7個の電子から成る ^{14}N である。それに対し、残りの約0.365%は、中性子が一つ多い安定同位体 ^{15}N である。原子量が異なることに起因して、様々な物理的・化学的・生物学的プロセスにおいて両者の反応速度が微妙に異なり、それを反映して ^{15}N の天然中における存在比がわずかに偏った分布をもっている。逆に言うと、この微妙な変動を捉えれば、そこで何が起きているのかについて知ることができる。こういった手法は、元来地球科学の分野で発達した研究手法であるが、最近になりその応用は徐々に生物学的な問題にまで広がりを見せている。

天然の生態系において、生物体の窒素安定同位体組成が「食物連鎖」にともなわず少しずつ上昇していくことが見出されたのは1980年代初頭のことである¹⁾。このルールを用いて、さまざまな生態系における食物連鎖の仕組みや生態系が明らかにされてきた^{2,3)}。最近になり筆者らのグループは、この研究手法の精度を飛躍的に上昇させる「アミノ酸の窒素

同位体比を用いた食物解析法」を開発した。本稿で紹介するのは、この新しい食物解析法である。この手法は、もちろん人間にも応用できるものであり、医学的な応用も視野に入るものである。

2. 天然レベルの窒素同位体比の分析法と表示法について

天然レベルの安定同位体比を用いた研究の方法論は、歴史的に独特の分析法と表示法が用いられてきた。まず、試料中に含まれる ^{15}N 存在度のわずかな変動を捉えるために、安定同位体質量分析計と呼ばれる特殊な質量分析計が用いられている。これは磁場型の質量分析計であるが、複数の検出器をもっており、同時に複数の質量イオンをモニターすることができる。窒素同位体比を測定する場合、窒素ガス(N_2)としてイオン源に導入し、 m/z 28イオン($^{14}\text{N}_2^+$)と m/z 29イオン($^{15}\text{N} \ ^{14}\text{N}^+$)を比較することにより ^{15}N の ^{14}N に対する存在比を測定する。ただし、天然中における ^{15}N 存在度の違いが非常に小さいため、試料と標準物質を交互に測定し、両者の間に見られる僅かなずれを以下の式に示すデルタ(δ)値として示す表記法が研究者たちの間で長らく用いられてきた。

*海洋研究開発機構 海洋極限環境生物圏研究領域

$$\delta^{15}\text{N} = \left\{ \frac{(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{試料}}}{(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{標準物質}}} - 1 \right\} \times 1000 (\text{‰})$$

標準物質には大気窒素ガス ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N} = 0.0036765$) が用いられ、すなわちこの $\delta^{15}\text{N}$ 値は、大気窒素ガスの $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ に対して、試料の $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ が千分率でどの程度違うかを表す。例えば、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N} = 0.0036802$ の試料では、標準試料との $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の差が $+0.0000037$ となるが、 δ 値表記では $\delta^{15}\text{N} = +1.0\text{‰}$ となる。一般に、測定にともなう誤差は 0.2‰ 程度で、これは ^{15}N 存在度が 0.003650‰ と 0.003651‰ の非常にわずかな違いを十分に捉えることができる。

本稿で主に解説するアミノ酸の窒素同位体比を測定する場合、この同位体質量分析計の手前にガスクロマトグラフィーをカップリングさせた、ガスクロマトグラフィー／燃焼／同位体質量分析計 (GC/C/IRMS) と呼ばれる分析機器を使用する。この機器では複数のアミノ酸が混在する試料をガスクロマトグラフィーによってあらかじめ分離し、分離された各アミノ酸を順次燃焼／還元して窒素ガス (N_2) にしてからオンラインで同位体質量分析計に導入し、それぞれの窒素同位体比を測定していく。こうした分析法の詳細について

は、力石他 (2007) を参照していただきたい⁴⁾。

3. 生態系と安定同位体比

自然界に生息する生き物は、光合成などによりアミノ酸を無機物から合成できる「独立栄養生物」と、他の生物に栄養依存する「従属栄養生物」がいる。捕食による生物間の結びつきは「食物連鎖」と呼ばれ、独立栄養生物を一次生産者、これを餌とする生物を消費者と呼ばれる。生態系には、一次生産者を食べる一次消費者、それを食べる二次消費者といったように、生き物がピラミッド上に積み重なっており、一次生産者からの距離を「栄養段階」として表すことができる。たとえば、牧草は一次生産者なので栄養段階が1、その牧草を食べるウシの栄養段階は2、その牛肉（だけ）を食べる人間は栄養段階が3というわけである。このような食物連鎖に沿って（栄養段階の上昇とともに）、筋肉組織など生体中に含まれる窒素の安定同位体比が上昇し、それを用いることによって生態系の食物連鎖網が解析できることが1980年代に知られるようになった(図1)。これは生体内の酵素反応系において、 ^{14}N を含むアミノ酸が ^{15}N を含むそれよりもわずかに速く代謝され、結果として生体内に ^{15}N が

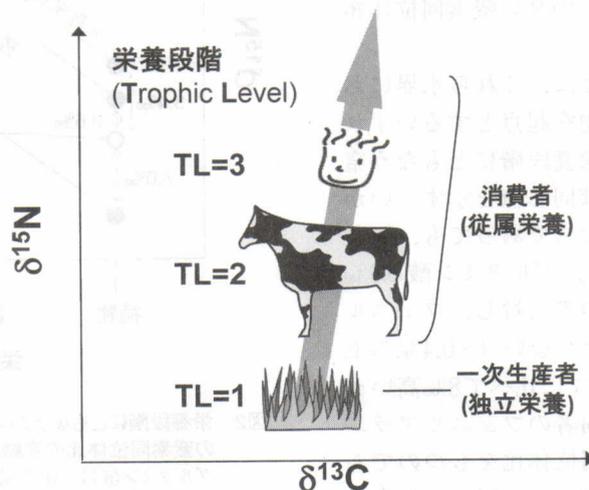


図1 天然レベルの窒素および炭素安定同位体比と食物連鎖上の生物との関係
捕食者生物の安定同位体比は窒素と炭素の両方とも、エサ生物よりも大きな値になることが経験則として明らかになっている。窒素は特にその変化が大きいため、栄養段階の推定手段として広く用いられている。