

環境変化の指標としての堆積物中の 有機物質：アミノ酸・アミノ糖

ララン プラサド グプタ¹⁾・石崎 維²⁾・川幡 穂高^{1),2)}

1. はじめに

現代は地球環境が人類活動によって氷期・間氷期のような一定の幅をもった変動(Fluctuation)でなく, 変化(Change)であるということが現実化しつつある。このような状況下, 生物を考慮した地球化学的な循環過程とその支配機構を明らかにすることはますます重要となってきた。炭素の化合物は, 炭酸カルシウムなどの無機化合物と有機物(以下OM = Organic matter)に大きく分類される。OMの中には, 比較的難分解性のもの(Refractory)と, 分解されやすいもの(Labile)がある。特に, 後者は呼吸等の作用ですぐに二酸化炭素に戻ってしまうため, 短期的な炭素循環にとって重要である。

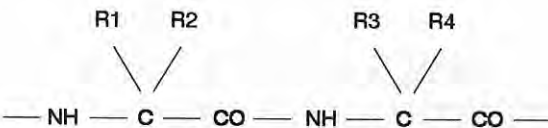
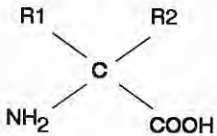
分解されやすいOMの代表としてアミノ酸(以下AA = Amino acids)がある。これは, 生物体を作る最も基本的な有機化合物の一つで, その多くはタンパク質の基本構成要素にもなっている(第1図)。現在の海洋では, 海洋表層での生物生産に伴って多量のAAが生産されている。しかし同時に, AAは水柱あるいは堆積物中において分解の作用を受け

やすい。バクテリアによって分解されるために, 数百m以上の深度下では, 堆積物や間隙水中のAA組成が通常の表層堆積物のものとは異なることが報告されている(Kawahata and Ishizuka, 1993)。このように, AAは地球表層の炭素循環の中でも生物化学物質として最も重要な炭素化合物の一つである。そこで, この章では17種類の生体AAと2種類の非タンパクAA, 2種類のアミノ糖(以下HA = Hexosamines)について, これらを用いた環境間接指標(Proxy)について述べるとともに, 実際の研究例を紹介する。

2. アミノ酸及びアミノ糖

AAは生物体を作る最も基本的な有機化合物で, 個々のAAが結合することによって, 生物の新陳代謝に必要である多様なポリペプチドや, 生物の様々な組織・器官の一部となる巨大タンパク質分子を形成する。海洋中のプランクトン・魚類・高等生物はその成長段階において, 多くのAAを合成・吸収する一方, 体内での新陳代謝の副産物として多くのAAとタンパク質を排出している。その生物の死骸や糞粒(フィーカルペレット)は分解しながら鉛直下方に輸送され, 深海や深海底に棲む生物の栄養源となる。これらのOMの大部分は代謝に使われたり, 微生物によって分解され, 再び栄養塩となって海水に溶解する。

一方, HAは多くの動物プランクトンを構成しているポリマーを形成する。中でも, グルコサミン(Glc-NH₂)とガラクトサミン(Gal-NH₂)の二種類のHAは, 海洋中の生物地球化学プロセスの研究においてAAと共に有益な指標になる。なお, AAとHAは窒素を含むので, 海洋における栄養塩サイクルとも関係しており, 重要であると考えられる。



第1図 AAとタンパク質の概念的な化学構造式。生体の場合, R2およびR4は水素。

1) 産総研 海洋資源環境研究部門
2) 東北大学大学院理学研究科(連携講座)

キーワード: 古環境復元, 生物物質, 有機物, アミノ酸, アミノ糖

3. アミノ酸・アミノ糖の分析方法

堆積物試料中のAAを分析する際は、最初に加水分解を行い、高分子化合物であるタンパク質とポリペプチドを個々のAAに分解する。通常、加水分解では不活性ガスを充填し、6N塩酸溶液中で堆積物を110℃で22時間加熱する。時間を短縮するために窒素ガスを充填し、150℃、70分の加熱処理をする方法も提案されている。次に、溶液中から加水分解に用いた塩酸を除去し、液体クロマトグラフィー(LC)にかける。溶液をLC内で強酸性陽イオン交換樹脂カラムに通し、各々のAAをpHの異なる緩衝溶液で分離する。その後、オルトフタルアルデヒド(OPA)を用いて蛍光複合体に誘導体化し、分光蛍光計で分析することにより、最終的にAA濃度を算出する。この方法による値の誤差は通常10%以下である。なお、HAの分析も同じ方法で行われる。

4. アミノ酸およびアミノ糖を用いた間接指標

OMはプランクトン、バクテリア、魚、その他の生物起源の様々な化合物の混合・複合物質として自然界に存在し、分解によってゆっくりと難分解性OMへと変化していく。海洋中の生物起源物質の挙動を解明するためには、堆積物中のOMの起源、その分解作用、OMが存在していた環境条件に関する情報が必要である。そこで、代表的な生物起源OMであり、分解しやすく、一度に多くの種類を検出することができるAAを用いた指標が有用である。以下それぞれの指標について簡単に紹介する。

4.1 アミノ酸の絶対量及び相対含有量

一般的にAAは分解しやすいOMであることから、AA含有量が多い試料は少ない試料よりもOMが新鮮であると言われている。試料中のAA総含有量を有機炭素含有量で割った値は有機炭素を使用したAAの規格化値と呼ばれ、指標として用いられる(通常は100mgの有機炭素量に換算される)。なお、この規格化によってAAへの無機鉍物による希釈の効果を取り除くことができる(Cowie and Hedges, 1992)。また、規格化されたAA量は100mg有機炭素中に維管束植物で18mg以上、海

洋微藻類で30mg前後、植物・動物プランクトン、バクテリア、菌類で50-140mgと報告されている(Cowie and Hedges, 1992)。これまでに報告されている沈降粒子中のAA量は、100mg有機炭素中に8.5-116.4mgである(サルガッソー海: Ittekkot et al., 1984-赤道域太平洋: Gupta and Kawahata, 2002)。

4.2 続成作用・分解作用の指標

AAにはタンパク質を構成しているもの(生体AA)と構成していないもの(非タンパクAA)がある。一方、OMは生物起源物質とその分解によって生じた物質から成る。そこで、生物起源物質である生体AAと、それらの分解から生じる非タンパクAAの比を用いた試料中のOMの分解の指標が考案され、利用されている。

4.2.1 アスパラギン酸/ β -アラニン(Asp/ β -ala)

非タンパクAAである β -アラニン(β -ala)の一部は生体AAであるアスパラギン酸(Asp)の分解から生じる(Lee and Cronin, 1982)。つまりAsp/ β -ala値が低いほど分解が進んでいる。これまでに報告されている沈降粒子中のAsp/ β -ala値は、5.0-104.0(ヘス海膨: 未公開データ-カリフォルニアサイト VERTEX I: Lee and Cronin, 1984)、深海底堆積物では1以下の場合もある。

4.2.2 グルタミン酸/ γ アミノ酪酸(Glu/ γ -aba)

非タンパクAAである γ -アミノ酪酸(γ -aba)も、グルタミン酸(Glu)の分解によって生じる(Lee and Cronin, 1982)。つまり、Glu/ γ -aba値が低いほど分解が進んでいる。これまでに報告されている沈降粒子中の値は5.0-149.4(アラビア海: Haake et al., 1992-赤道域太平洋: Gupta and Kawahata, 2002)、深海底堆積物では1以下の場合もある。

4.2.3 β アラニン+ γ アミノ酪酸(β -ala+ γ -aba)

上の二つの指標と同様の原理から、非タンパクAAである β -alaと γ -abaの総量の和が高い値であると、OMがより分解していることが示される。これまでに報告されている沈降粒子中の β -alaと γ -abaの総量の和は、0.3-3.4モル%(赤道域太平洋: Gupta and Kawahata, 2002-ヘス海膨: Gupta and Kawahata, 2003)であり、深海底堆積物では70モル%という高い値を示す。ちなみに、非タンパクAAの量を評価するためにここでは試料中の β -

alaと γ -abaの総量を全AA量を用いて百分率計算した値を採用している。

4.3 アミノ酸/アミノ糖 (AA/HA)

Glc-NH₂とGal-NH₂という2種類のHAの総量とAA総量との比(AA/HA)は、キチン質の動物プランクトンで9 (Mayzaud and Martin, 1975), 植物プランクトンで80以上 (Strahlendorff, 1988)とその起源によって異なった値をもつ。キチン質は続成過程においてより安定なため、OM中のAAが続成で失われる一方でHAは残り、AA/HA比は続成にともなって低くなる (Müller *et al.*, 1986)。また、菌類と細菌の細胞壁にもHAが豊富に存在しているため、海洋中のOMのAA/HA比は更に低くなる (Mopper and Degens, 1972)。つまり試料中のAA/HA比は(1)動物・植物どちらのプランクトンが卓越するのか(2)続成をどの程度受けているのか、を示す指標となる。現在報告されている沈降粒子における値は5.3-63.7である(赤道域太平洋: Gupta and Kawahata, 2002)。

4.4 グルコサミン/ガラクトサミン (Glc-NH₂/Gal-NH₂)

Glc-NH₂は、多くの動物プランクトンの外骨格を形成するキチン質の主要成分である。一方、Gal-NH₂は多くの細菌の細胞壁中に含まれているが、動物プランクトンにはほとんど含まれていない (Müller *et al.*, 1986)。そのため、Glc-NH₂を主要成分とするキチン質の動物プランクトンとGal-NH₂を多く含む細菌ではGlc-NH₂/Gal-NH₂の比が異なる。多くの細菌では、その比は1-3となり (Kandler, 1979; Lehninger, 1982)、沈降粒子では2.4-33.0である(アラビア海: Haake *et al.*, 1992-ヘス海膨: Gupta and Kawahata, 2003)。

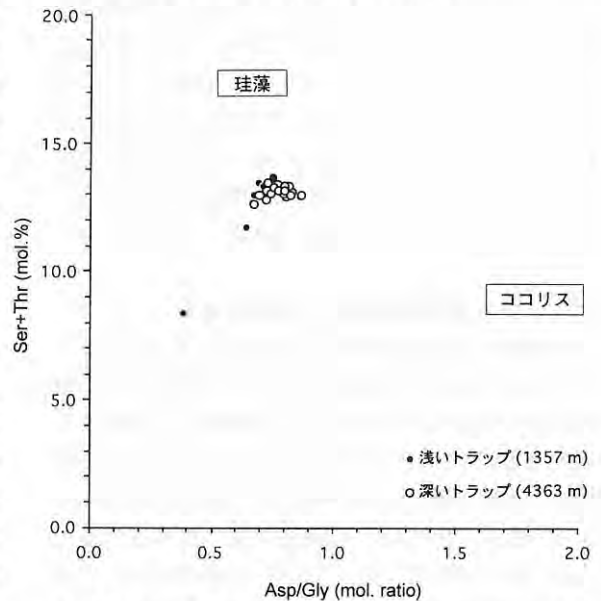
また、AA/HA比とこの指標を組み合わせることで沈降粒子中の有機成分に関する新たな情報を得ることができる。例えば、ある沈降粒子試料においてAA/HAが低い場合、その原因として沈降粒子の続成が進んでいること、もしくは動物プランクトン起源物質が卓越することが予想される。そこで試料中のGlc-NH₂/Gal-NH₂を測定すると、値が低い場合は前者、高い場合は後者の寄与がより大きいことが考察される。

4.5 アミノ酸の炭素量 (THAA-C%)

有機炭素量に対するAA中の炭素量 (THAA-C%)はOMの分解しやすさを示す指標である。THAA-C%値が高いと、分解作用を受けやすいAAに由来する炭素の割合が有機炭素の中で多い、つまり分解が比較的少ないことになる。沈降粒子におけるTHAA-C%値は8.6-51.0% (アラビア海: Haake *et al.*, 1992・赤道域太平洋: Gupta and Kawahata, 2002)、深海底堆積物では3%以下である(ヘス海膨: Gupta and Kawahata, 2003)。

4.6 アミノ酸の窒素量 (THAA-N%)

THAA-N%はOM中の全窒素量に対するAA中の窒素量の割合を示す。これは間接的にOMの相対的な新鮮さを表す間接指標となる。窒素は細菌を含む全ての生物を形成するのに必要であり、窒素に富むOMは分解を受けやすい、もしくは分解しやすいAAを形成する。そのため、その分解しやすいAAの割合を示しているTHAA-N%が高いOMは、より分解作用を受けていないと考えられるのである。沈降粒子でTHAA-N%は16.8-80.5% (赤道域太平洋: Gupta and Kawahata, 2002)、深海底堆積物では11%以下(ヘス海膨: Gupta and Kawahata, 2003)である。



第2図 AAの指標である「Asp/Gly-Ser+Thr」の研究例。図は試料が珪藻起源のOMが卓越していることを示唆する (Gupta and Kawahata, 2000)。

4.7 アスパラギン酸/グリシン (Asp/Gly) とセリン+トレオニン (Ser+Thr)

セリン (Ser) とトレオニン (Thr) は珪藻の細胞壁に豊富に存在している (Hecky *et al.*, 1973). Asp は OM のマトリックスに多く、生物源炭酸塩堆積物の基本物質である (Mitterer, 1968; Weiner and Hood, 1975). Asp/Gly と Ser+Thr は、珪藻が卓越した OM と炭酸塩堆積物を分ける際に指標として使用される (第2図; Ittekkot *et al.*, 1984; Wakeham *et al.*, 1993; Gupta and Kawahata, 2000). 植物プランクトンでは、Asp/Gly は 0.67-1.76 モル%, Ser+Thr は 7.49-11.48 モル% の間で変化し (Cowie and Hedges, 1992), その Asp/Gly と Ser+Thr の値を組み合わせることによって OM 組成に珪藻・円石藻どちらが強ク寄与しているのかを明らかにすることができる。

4.8 活性化指標 (RI)

芳香族 AA チロシン (Tyr) とフェニルアラニン (Phe) は、他の AA と比較すると分解しやすい。一方、非タンパク AA である β -ala と γ -aba は続成をうけた OM 中に蓄積する傾向にある。そのため、 $(Tyr+Phe) / (\beta\text{-ala} + \gamma\text{-aba})$ モル比は活性化指標 (Reactivity Index) として使用される (Jennerjahn and Ittekkot, 1997). この比が高い試料は、他の生物に利用されるなど、OM としての活性が高く、かつ続成をあまりうけていないと考えられる。海洋性堆積物では 0.1 以下 (大西洋: Whelan, 1977), 沈降粒子では 87.0 に達することもある (大西洋: Müller *et al.*, 1986).

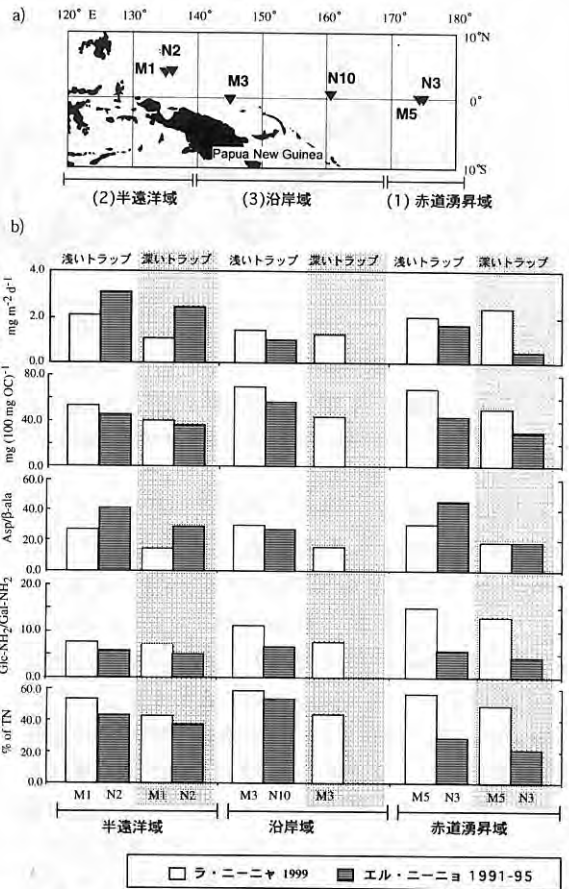
4.9 チロシン (Tyr)

Tyr は芳香族 AA であり、有酸素下では非常に分解しやすい。そのため、Tyr 含有量の減少から酸化事変にさらされていた期間を相対的に知ることができる (Suthhof *et al.*, 2000).

5. 最近の研究成果

5.1 エルニーニョ・南方振動に呼応するアミノ酸の挙動

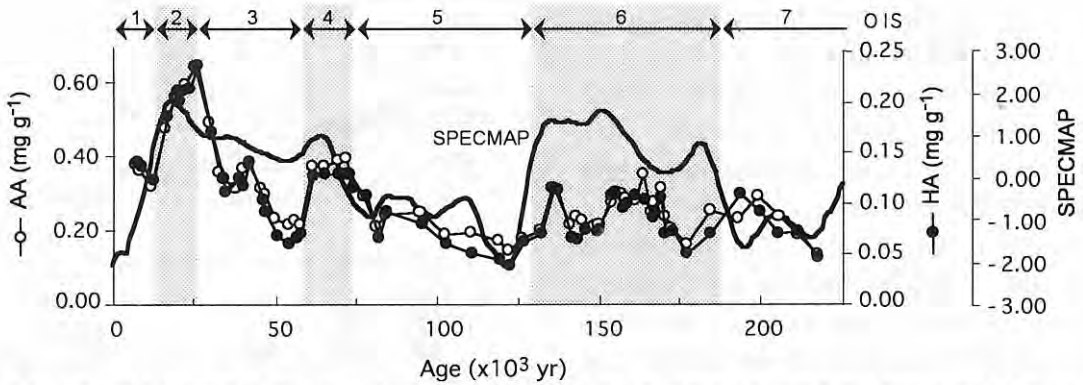
沈降粒子の性質と粒子束が海洋環境とどのような関係にあるのかを明らかにするために、赤道太



第3図 a) 赤道太平洋の東経135度から西経170度にわたる、セジメントラップ観測の観測地点。
b) エル・ニーニョ(1991-95), ラ・ニーニャ(1999)に対応した赤道太平洋のセジメントラップ観測から得られたAA成分の変動の図。

平洋の東経135度から西経170度の範囲で、1991年からセジメントラップ観測を行っており(第3図a)現在も継続している。この海域は、以下のように大きく3つに分類される(第3図a)。(1)東側:比較的一次生産が高い赤道湧昇域,(2)西側:沿岸の影響もみられる一次生産が高い半遠洋域,(3)その間に挟まれた部分:西太平洋暖水塊の貧栄養塩で特徴づけられる低一次生産域である。観測した年度は1991-95と1999年であるが、これは、エル・ニーニョ(1991-95)とラ・ニーニャ(1999)に対応している。

まず、東部の湧昇域に位置する東経175度の観測点では(第3図b, M5.N3), エル・ニーニョ時に沈降粒子の粒子束が減少し、生物起源オパール、有機炭素の粒子束およびAA粒子速も減少した



第4図. ヘス海膨から採取した堆積物柱状試料中のAAおよびHAの含有量変化とSPECMAPを対比させた図. 2.4.6の氷期にあたる時期にはAAおよびHAが高い値を示している (Gupta and Kawahata, in press).

(Kawahata *et al.*, 2000). 粒子組成に着目すると炭酸カルシウム粒子が卓越し, AA指標であるAsp/Glyモル比とSer+Thrモル%が増大することから, OMは珪藻に由来することが示された (Gupta and Kawahata, 2000). 西部の半遠洋域では, 逆にエル・ニーニョ時に粒子束が増加したが (第3図b, M1.M2), これは生物起源オパールを作る珪藻などのプランクトンが増加したためと考えられる. 中部の貧栄養域では, もともと一次生産が活発でないためAA粒子束なども小さく, 変化量は少ないが傾向としては東部の湧昇域に類似した変化が見られた (第3図b, M3.N10).

また全観測点を通じて, 続成を示すAA指標であるAsp/ β -ala, Glu/ γ -aba, β -ala+ γ -abaモル%の比はラ・ニーニャ時の方がエル・ニーニョ時よりも大きく, エル・ニーニョ時にOMの分解が著しかったことが明らかになった (Gupta and Kawahata, 2002).

以上のような赤道太平洋のトラップの結果から, 沈降粒子の粒子束, 組成, そしてAAの組成が周期的気候変動に呼応して特徴的な値を示すことが明らかになった.

5.2 後期第四紀, 北太平洋におけるアミノ酸の挙動

これまで, 過去の一次生産の推定では, 続成過程を考慮せずにOM全体の有機炭素量が用いられてきた. そこでOMの主要成分であるAAを詳細に検討し, 過去の一次生産量の推定値に続成の影響がどの程度及んでいるのかを評価した. 北太平洋ヘス海膨から採取した堆積物柱状試料について, AAとHAを分析した. この試料は外洋の堆積物で,

堆積物中の有機炭素量は1%以下, C/N比は平均8.3という値を示しており, 海洋性OMが卓越している. また, AA・HAと類似した変動パターンが有機炭素に見られた. つまり, AAの変動は環境変動に対応した海洋中のOMの情報を記録している. AA指標を検討すると, (1) Asp/GlyとSer+Thrモル%の値から, OMの主要な起源が炭酸塩殻をもつプランクトンであること(2) AA/HAとGlc-NH₂/Gal-NH₂の比が低い(平均で4.4と1.1)ことから, プランクトン起源のOMの多くが分解していること(3) 続成の程度を示す β -ala+ γ -abaモル%の比から, AAに非常にゆっくりと連続的に酵素による続成作用が働いていること, が明らかになった. また, AAとHAの含有量変化とSPECMAPの酸素同位体比カーブを比較すると, 間氷期に比べて氷期では堆積/保存がより強かったことが示された(第4図). これは, 氷期に表層水におけるプランクトンの生産力が高まるために堆積量が増加し, 堆積したOMの表層で行われる分解の影響が軽減されて保存が強まったと解釈される. つまり氷期/間氷期という気候変動に応じて一次生産をしめすOMの保存の状態が変化してきたことを示している. 以上のことから, 過去の一次生産に対する続成を考慮できる点で, 試料中の全OM量よりもAAのほうが一次生産を見積もるためには優れた間接指標であると考えられる.

6. 終わりに

AAとHAを用いた指標によってOMの続成作用に関する膨大な量の情報を得ることができる. そ

のことによって、間接的にAAとHAが生産・堆積した生物化学的過程を認識し、理解することができる。しかし残念ながら、続成は様々な要因を含む複雑な作用であるため、AA指標のみで定量的に続成作用を補正することは困難である。そこで、AAとHAのデータを、有機炭素、炭酸塩、オパール、窒素量などと共に利用し、より多くのことを考察できる指標として環境の解明に役立てている。また、堆積物中のOM組成を知るためのAAに基づいた指標も存在し、現在もその改良や新しい指標の構築のための努力が行われている。自然界におけるOMは、時と場所によって変化するとともに複雑な集合体であり、今後もOMの挙動を明らかにするための新たな指標の開発が必要である。なお、OMの変化を理解し、海洋を調節する生物化学的な機構を説明するためには、AAの他に脂質、糖質といった有機成分が有用である。

謝辞：本稿を作成するにあたり、海洋科学技術センターの原田尚美博士には粗稿に目を通していただき、有益なご意見、ご指摘をいただいた。記して謝意を表します。

引用文献

- Cowie, G.L. and Hedges, J.I. (1992) : Sources and reactivities of amino acids in a coastal marine environment. *Limnology and Oceanography*, 37 (4), 703-724.
- Gupta, L.P. and Kawahata, H. (2000) : Amino acid and hexosamine compositions and flux of sinking particulate matter into the equatorial Pacific at 175° E longitude. *Deep-Sea Research*, 47 (10), 1937-1960.
- Gupta, L.P. and Kawahata, H. (2002) : Impact of ENSO variability on the flux and composition of sinking POM in the western equatorial Pacific Ocean: Amino acids and hexosamines. *Deep-Sea Research II*, 49, 2769-2782.
- Gupta, L.P. and Kawahata, H. (2003) : Vertical and latitudinal variations in fluxes and amino acid and hexosamine composition of settling particulates along 175° E in the North Pacific Ocean. *Tellus B* 558: 445-455.
- Gupta, L.P. and Kawahata, H. (in press) : Amino acids and hexosamines in the Hess Rise core during last 220000yrs, *Quaternary Research*.
- Haake, B., Ittekkot, V., Ramaswamy, V., Nair, R. R. and Honjo, S. (1992) : Fluxes of amino acids and hexosamines to the deep Arabian Sea. *Marine Chemistry*, 40, 291-314.
- Hecky, R.E., Mopper, K., Kilham, P. and Degens, E.T. (1973) : The amino acid and sugar composition of diatom cell-walls. *Marine Biology*, 19, 323-331.
- Ittekkot, V., Degens, E.T. and Honjo, S. (1984) : Seasonality in the fluxes of sugars, amino acids, and amino sugars to the deep ocean: Panama Basin. *Deep-Sea Research*, 31, 1071-1083.
- Jennerjahn, T.C. and Ittekkot, V. (1997) : Changes in organic matter from surface waters to continental slope sediments off the São Francisco River, eastern Brazil. *Marine Geology*, 161, 129-140.
- Kandler, O. (1979) : Zellwandstrukturen bei Methan-Bakterien. *Naturwissenschaften*, 66, 95-105.
- Kawahata, H. and Ishizuka, T. (1993) : Amino-acids in the sediments and interstitial waters from ODP hole-677B and hole-678B in the Panama basin. *Oceanologica Acta*, 16 (4), 373-379.
- Kawahata, H., Suzuki, A. and Ohta, H. (2000) : Export fluxes in the Western Pacific Warm Pool. *Deep-sea research part I*, 47 (11), 2061-2091.
- Lee, C. and Cronin, C. (1982) : The vertical flux of particulate organic nitrogen in the sea: decomposition of amino acids in the Peru upwelling area and the equatorial Atlantic. *Journal of Marine Research*, 40, 227-251.
- Lee, C. and Cronin, C. (1984) : Particulate amino acids in the sea: effects of primary productivity and biological decomposition. *Journal of Marine Research*, 42, 1075-1097.
- Lehninger, A.L. (1982) : *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, 1011p.
- Mayzaud, P. and Martin, J. L. M. (1975) : Some aspects of the biochemical and mineral composition of marine plankton. *Journal of Experimental Marine Biology*, 17, 297-310.
- Mitterer, R.M. (1968) : Amino acid composition of organic matrix in calcareous oolites. *Science*, 162, 1498-1499.
- Mopper, K. and Degens, E.T. (1972) : Aspects of biogeochemistry of carbohydrates and proteins in aquatic environments. Woods Hole Oceanographic Institute Technical Report WHOI-72-68, 118p.
- Müller, P.J., Suess, E. and Ungerer, C.A. (1986) : Amino acids and amino sugars of surface particulate and sediment trap material from waters of the Scotia Sea. *Deep-Sea Research*, 33 (6), 819-838.
- Strahlendorf, K. (1988) : *Organisch-geochemische Untersuchungen an Schwebstoffen der Nordsee*. Master Thesis, University of Hamburg, Hamburg, 74p.
- Suthhof, A., Jennerjahn, T.C., Schäfer, P. and Ittekkot, V. (2000) : Nature of organic matter in surface sediments from the Pakistan continental margin and the deep Arabian Sea: amino acids. *Deep-Sea Research II*, 47, 329-351.
- Wakeham, S.G., Hedges, J.I., Lee, C. and Pease, T.K. (1993) : Effects of poisons and preservatives on the composition of organic matter in a sediment trap experiment. *Journal of Marine Research*, 51, 669-696.
- Weiner, S. and Hood, L. (1975) : Soluble protein of the organic matrix of mollusk shells: a potential template for shell formation. *Science*, 190, 987-989.
- Whelan J. K. (1977) : Amino acids in a surface sediments core of the Atlantic abyssal plain, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 41,803-810.

GUPTA Lallan Prasad, ISHIZAKI Yui and KAWAHATA Hodaka (2003) : Environmental change and labile composition of sedimentary organic matter : Amino acids and hexosamines.

<受付：2003年2月7日>