

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02513

研究課題名（和文）アミノ酸の同位体分析を用いた海洋沿岸生態系の解析

研究課題名（英文）Elucidating coastal ecosystem structure using compound-specific isotope analysis of amino acids

研究代表者

石川 尚人（ISHIKAWA, Naoto）

国立研究開発法人海洋研究開発機構・海洋機能利用部門(生物地球化学センター)・研究員

研究者番号：80609389

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、流域から海洋沿岸域における生態系の構造を、放射性炭素（ $^{14}\text{C}$ ）やアミノ酸の窒素同位体比（ $^{15}\text{N}$ ）を用いて明らかにすることを目的とした。まず一年目に研究の方法論を確立させた。二年目には、河川を流れる溶存態有機物が、滞留時間の異なる有機炭素が混合したものであることを明らかにした。そして三年目に、炭素循環の指標として  $^{14}\text{C}$  の有効性を議論した。さらに、アミノ酸の  $^{15}\text{N}$  を用いて、異なる海流がもたらす餌資源の混合が、多様な魚類物群集を形成していることを明らかにした。また、海洋の動物プランクトンの群集平均栄養段階（iTP）が生物多様性と負の相関を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋沿岸域は漁業資源、レクリエーションといったサービスをもたらすため、人類にとって最も身近な生態系の1つであると同時に、人為的な環境破壊の影響を受けやすい。本研究によって、生態系解析における放射性炭素とアミノ酸の窒素同位体比の有効性が示された。この方法論は、国連の「持続可能な開発目標（SDGs）」や、ユネスコの「持続可能な開発のための国連海洋科学10年」を進める上で、さまざまな科学的知見を得るための重要な基盤技術になるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to understand the structure of coastal ecosystems using radiocarbon ( $^{14}\text{C}$ ) and amino acid nitrogen isotopic compositions ( $^{15}\text{N}$ ). First, the research methodology was established. Second, we showed that the dissolved organic matter in streams is a mixture of organic carbons with different turnover times. Third, we discussed the utility of  $^{14}\text{C}$  as a proxy of carbon cycling. Furthermore,  $^{14}\text{C}$  and amino acid  $^{15}\text{N}$  were combined and applied for off Sanriku ecosystems, where a variety of fish communities is supported by a mixture of diet sources derived from different ocean currents. We also revealed that the integrated trophic position (iTP) of marine mesozooplankton communities was negatively correlated with species diversity.

研究分野：生物地球化学

キーワード：放射性炭素 窒素同位体比 グルタミン酸 フェニルアラニン メチオニン

1. 研究開始当初の背景

海洋沿岸域で形成される食物網は、豊かな生物多様性や生態系機能と密接に関わっている。従来、生態系の食物網構造を解析するために、生物組織全体の炭素・窒素安定同位体比測定法が利用されてきた。しかし、陸域と海洋の境界にある沿岸域では、多様な起源をもつ有機物が混在し、その動態も時空間的に大きく変動する。これは同位体比の変動性にも影響するため、従来の研究方法で、陸域起源物質の重要性を明らかにすることは極めて困難であった。

2. 研究の目的

本研究で対象とする沿岸生態系は、広義に流域と海洋を指す。本研究では、沿岸生態系のさまざまな環境生物試料の amino 酸の窒素安定同位体比 ( $\delta^{15}\text{N}$ ) および放射性炭素濃度 ( $\Delta^{14}\text{C}$ ) を測定することにより、沿岸生態系を解析することを目的とする。

3. 研究の方法

動物の代謝において、C-N 結合が開裂する amino 酸 (例: グルタミン酸) は、食物連鎖の「食べる・食べられる関係」(栄養段階という) を経るごとに、 $\delta^{15}\text{N}$  が上昇する。それに対し、代謝時に C-N 結合が保存される amino 酸 (例: フェニルアラニン) は、 $\delta^{15}\text{N}$  がほとんど変化しない。この原理の下、生物の栄養段階はこれらの amino 酸  $\delta^{15}\text{N}$  の差分から推定できる。一方、放射性炭素濃度 ( $\Delta^{14}\text{C}$ ; 半減期 5,730 年) は、地球表層の炭素循環にとって適当な長さの時間軸を与える。

4. 研究成果

一年目は、従来利用されてきたグルタミン酸とフェニルアラニンの  $\delta^{15}\text{N}$  に加え、新たにメチオニンの  $\delta^{15}\text{N}$  を測定することにより、陸域-水域混合系で生物の栄養段階を推定する方法論を開発した。モデルとした河川の捕食性水生昆虫の栄養段階は、混合を考慮しない従来法で過小評価された。一方で、メチオニンを加えた三種類の amino 酸  $\delta^{15}\text{N}$  から、陸域・水域食物網の混合割合を求めることで、生態学的に妥当な栄養段階の推定が可能となることが分かった。この新手法は、餌資源の同位体比を測定せずとも、研究対象の生物の栄養段階推定が可能という、従来法の利点を損なうことなく、かつその応用範囲を混合系へと拡張できるようになった点において、極めて画期的である (図1; Ishikawa et al. 2018a *Limnology and Oceanography: Methods*)。また、amino 酸の  $\Delta^{14}\text{C}$  分析については、高速液体クロマトグラフィーによって各 amino 酸を単離し、さらに湿式操作による精製処理を施すことで、従来法を用いた場合の不純物の混入量を、最大で約7割減らせることが分かった (Ishikawa et al. 2018b *Analytical Chemistry*)。

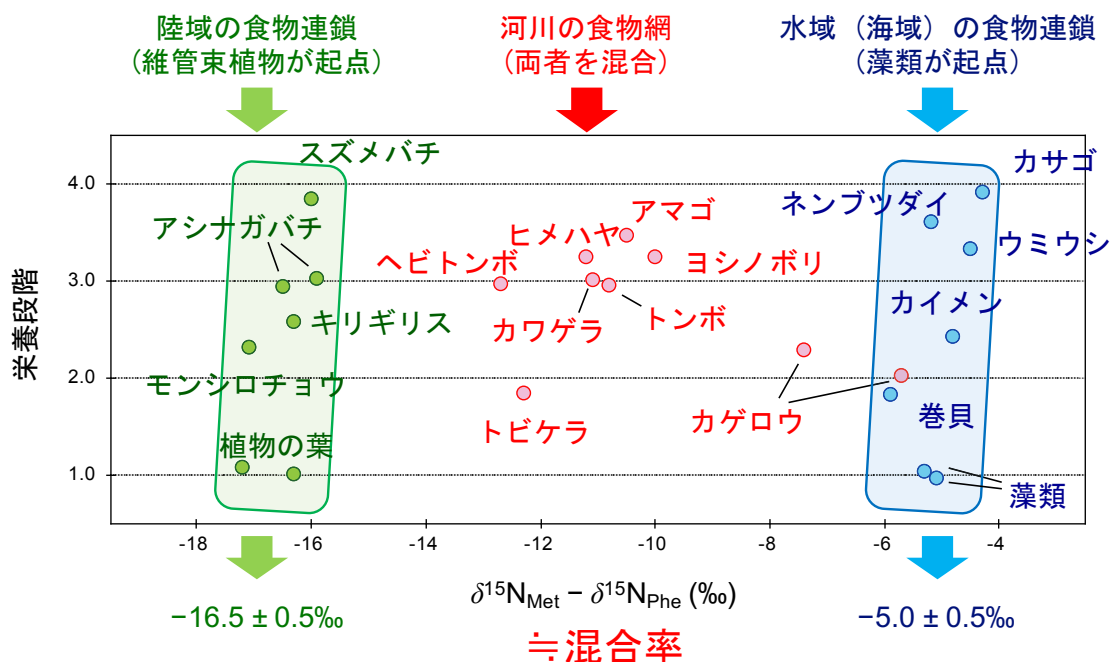


図1. 三種類の amino 酸  $\delta^{15}\text{N}$  を用いた栄養段階の推定。Ishikawa et al. (2018a) *Limnology and Oceanography: Methods* を改変。

二年目は、一年目に確立した方法論に基づき、以下の成果をあげた。河川を流れる溶存態有機物が、滞留時間の異なる有機炭素が混合したものであることを明らかにした (Ishikawa et al. 2019 Organic Geochemistry)。次に、炭素循環の指標としての  $\Delta^{14}\text{C}$  の有効性について議論した (Ishikawa et al. 2020 Limnology & Oceanography)。さらに、アミノ酸の炭素安定同位体比と  $\Delta^{14}\text{C}$  をより高精度に測定できるように、方法論を改良した (Blattmann et al. 2020 Frontiers in Marine Science; Sun et al. 2020 Rapid Communications in Mass Spectrometry)。この方法論から、生物圏と地圏との大連環について、今後の研究の方向性を展望した (図2; Blattmann & Ishikawa 2020 Frontiers in Marine Science)。そして、アミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  を用いて、海産魚類の長距離移動を追跡できる方法論を確立し、水産重要種であるサケに適用した (Matsubayashi et al. 2020 Ecology Letters)。

二年目までの成果をふまえ、三年目は、 $\Delta^{14}\text{C}$  とアミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  を合わせて三陸沿岸の生態系に適用し、異なる海流がもたらす餌資源の混合が、多様な魚類物群集を形成していることを明らかにした (図3; Ishikawa et al. 2021 Frontiers in Marine Science)。また、アミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  を使って、ある生態系の中での平均的な栄養段階 (integrated trophic position、略して iTP) について研究した。iTP は、生態系のバイオマスを支えるための「エネルギー要求量」とみなすことができるため、これは生態系機能の一つととらえられる。そして、海洋の動物プランクトンの生物多様性と iTP との間に、有意な負の相関があることを明らかにした (Ishikawa et al. submitted)。つまり、生物多様性が高いほど、生産されたエネルギーは生態系の上位まで転送されないことがわかった。iTP が低い生態系は、高い生態系と比べてエネルギー要求量が小さいことから、同じバイオマスを支えるために必要なエネルギー量は、生物多様性が高い生態系の方が低い生態系よりも少なく済むという、斬新な仮説が生まれた。さらに、アミノ酸の放射性炭素 ( $\Delta^{14}\text{C}$ ) を用いた解析を、海洋の堆積物および生物に適用し、生物圏と地圏との間の連環を時空間的に解くことを試みた。現在、きわめて先駆的なデータが出始めてきており、本研究プロジェクトの総まとめ論文を執筆する予定である。

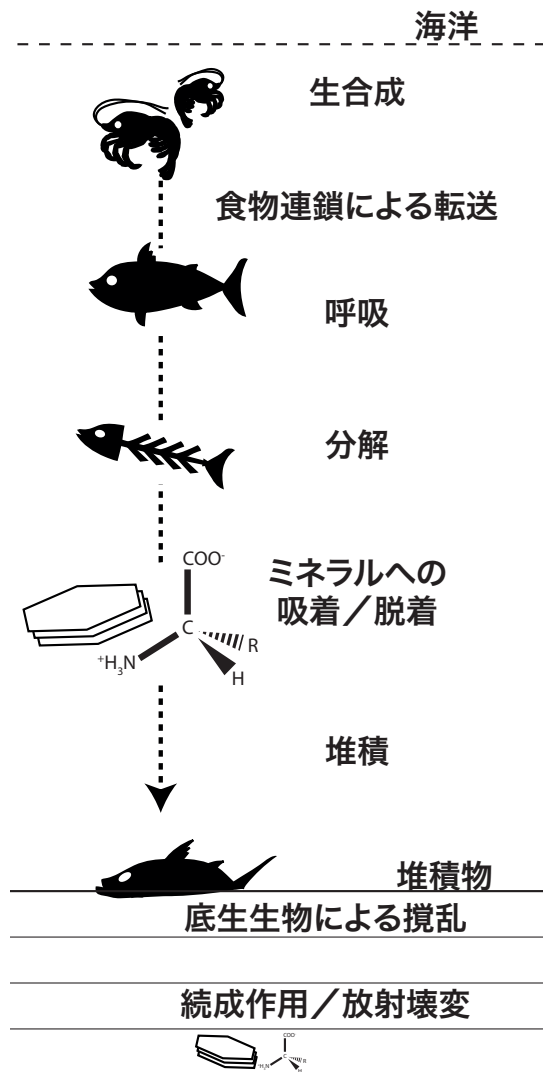


図2. アミノ酸がつなぐ生物圏と地圏。Blattmann and Ishikawa (2020) Frontiers in Marine Science を改変。

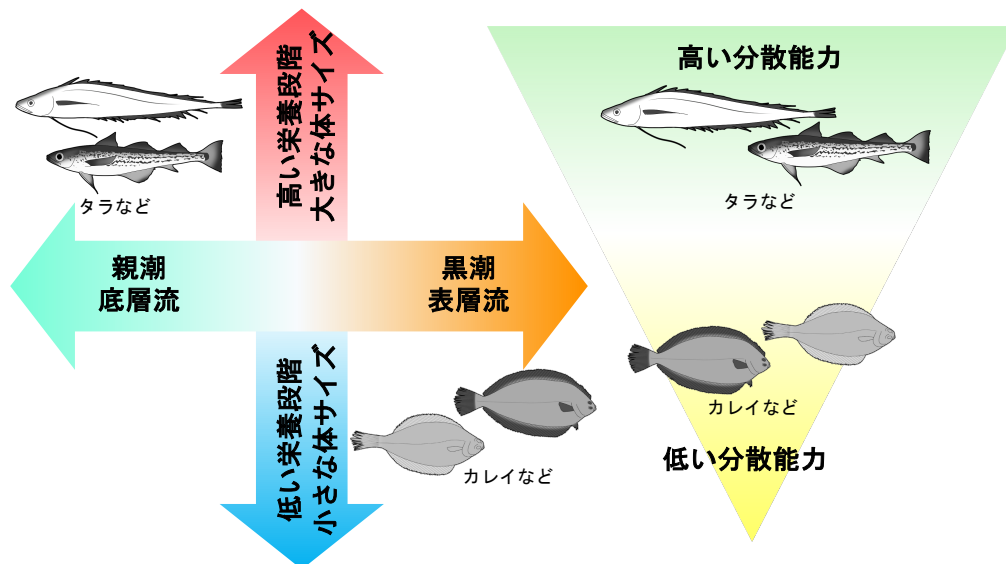


図3. 三陸沿岸の魚類群集。Ishikawa et al. (2021) Frontiers in Marine Science より。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 8件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 McCallister S. L., Ishikawa N. F., Kothawala D. N.	4. 巻 3
2. 論文標題 Biogeochemical tools for characterizing organic carbon in inland aquatic ecosystems	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Limnology and Oceanography Letters	6. 最初と最後の頁 444 ~ 457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lol2.10097	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Ko Chia-Ying, Iwata Tomoya, Lee Jun-Yi, Murakami Aya, Okano Junichi, Ishikawa Naoto F., Sakai Yoichiro, Tayasu Ichiro, Itoh Masayuki, Song Uthram, Togashi Hiroyuki, Nakano Shinich, Ohte Nobuhito, Okuda Noboru	4. 巻 70
2. 論文標題 Assessing alpha and beta diversities of benthic macroinvertebrates and their environmental drivers between watersheds with different levels of habitat transformation in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Marine and Freshwater Research	6. 最初と最後の頁 504 ~ 504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1071/MF18031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kato Yoshikazu, Kondoh Michio, Ishikawa Naoto F., Togashi Hiroyuki, Kohmatsu Yukihiro, Yoshimura Mayumi, Yoshimizu Chikage, Haraguchi Takashi F., Osada Yutaka, Ohte Nobuhito, Tokuchi Naoko, Okuda Noboru, Miki Takeshi, Tayasu Ichiro	4. 巻 21
2. 論文標題 Using food network unfolding to evaluate food web complexity in terms of biodiversity: theory and applications	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ecology Letters	6. 最初と最後の頁 1065 ~ 1074
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ele.12973	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishikawa Naoto F., Itahashi Yu, Blattmann Thomas M., Takano Yoshinori, Ogawa Nanako O., Yamane Masako, Yokoyama Yusuke, Nagata Toshi, Yoneda Minoru, Haghypour Negar, Eglinton Timothy I., Ohkouchi Naohiko	4. 巻 90
2. 論文標題 Improved Method for Isolation and Purification of Underivatized Amino Acids for Radiocarbon Analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 12035 ~ 12041
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b02693	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishikawa Naoto F., Chikaraishi Yoshito, Takano Yoshinori, Sasaki Yoko, Takizawa Yuko, Tsuchiya Masashi, Tayasu Ichiro, Nagata Toshi, Ohkouchi Naohiko	4. 巻 16
2. 論文標題 A new analytical method for determination of the nitrogen isotopic composition of methionine: Its application to aquatic ecosystems with mixed resources	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Limnology and Oceanography: Methods	6. 最初と最後の頁 607 ~ 620
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lom3.10272	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Naoto F.	4. 巻 33
2. 論文標題 Use of compound-specific nitrogen isotope analysis of amino acids in trophic ecology: assumptions, applications, and implications	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 825 ~ 837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11284-018-1616-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Haghipour N., Ausin B., Usman M. O., Ishikawa N., Wacker L., Welte C., Ueda K., Eglinton T. I.	4. 巻 91
2. 論文標題 Compound-Specific Radiocarbon Analysis by Elemental Analyzer/Accelerator Mass Spectrometry: Precision and Limitations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 2042 ~ 2049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b04491	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishikawa Naoto F., Butman David, Raymond Peter A.	4. 巻 135
2. 論文標題 Radiocarbon age of different photoreactive fractions of freshwater dissolved organic matter	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Geochemistry	6. 最初と最後の頁 11 ~ 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.orggeochem.2019.06.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishikawa Naoto F., Doi Hideyuki, Finlay Jacques C.	4. 巻 33
2. 論文標題 Global dataset for carbon and nitrogen stable isotope ratios of lotic periphyton	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 1089
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11284-018-1623-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sun Yuchen, Ishikawa Naoto F., Ogawa Nanako O., Kawahata Hodaka, Takano Yoshinori, Ohkouchi Naohiko	4. 巻 34
2. 論文標題 A method for stable carbon isotope measurement of underivatized individual amino acids by multi dimensional high performance liquid chromatography and elemental analyzer/isotope ratio mass spectrometry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rapid Communications in Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 e8885
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rcm.8885	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsubayashi Jun, Osada Yutaka, Tadokoro Kazuaki, Abe Yoshiyuki, Yamaguchi Atsushi, Shirai Kotaro, Honda Kentaro, Yoshikawa Chisato, Ogawa Nanako O., Ohkouchi Naohiko, Ishikawa Naoto F., Nagata Toshi, Miyamoto Hiroomi, Nishino Shiget, Tayasu Ichiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Tracking long distance migration of marine fishes using compound specific stable isotope analysis of amino acids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecology Letters	6. 最初と最後の頁 881 ~ 890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ele.13496	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Naoto F., Finlay Jacques C., Uno Hiromi, Ogawa Nanako O., Ohkouchi Naohiko, Tayasu Ichiro, Power Mary E.	4. 巻 65
2. 論文標題 Combined use of radiocarbon and stable carbon isotopes for the source mixing model in a stream food web	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Limnology and Oceanography	6. 最初と最後の頁 2688 ~ 2696
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lno.11541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Blattmann Thomas M., Montlu?on Daniel B., Haghypour Negar, Ishikawa Naoto F., Eglinton Timothy I.	4. 巻 7
2. 論文標題 Liquid Chromatographic Isolation of Individual Amino Acids Extracted From Sediments for Radiocarbon Analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Marine Science	6. 最初と最後の頁 174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmars.2020.00174	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Blattmann Thomas M., Ishikawa Naoto F.	4. 巻 7
2. 論文標題 Theoretical Amino Acid-Specific Radiocarbon Content in the Environment: Hypotheses to Be Tested and Opportunities to Be Taken	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Marine Science	6. 最初と最後の頁 302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmars.2020.00302	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Naoto F., Ogawa Nanako O., Chikaraishi Yoshito, Yamaguchi Moto-omi, Fujikura Katsunori, Miyairi Yosuke, Yokoyama Yusuke, Nagata Toshi, Ohkouchi Naohiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Influences of Ocean Currents on the Diets of Demersal Fish Communities in the Western North Pacific Revealed by Their Muscle Carbon and Nitrogen Isotopic Compositions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Marine Science	6. 最初と最後の頁 641282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmars.2021.641282	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Ishikawa Naoto F.
2. 発表標題 Use of radiocarbon and compound-specific isotope analyses for ecological research
3. 学会等名 International Symposium on Isotope Physiology, Ecology, and Geochemistry 2019 (IsoPEG '19) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishikawa Naoto F., Chikaraishi Yoshito, Ogawa Nanako O., Miyairi Yosuke, Yokoyama Yusuke, Nagata Toshi, Ohkouchi Naohiko
2. 発表標題 Analysis of coastal marine ecosystems using radiocarbon and amino acid nitrogen isotopic compositions
3. 学会等名 The 67th Annual Meeting of Ecological Society of Japan (ESJ67)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sun Yuchen, Ishikawa Naoto F., Kawahata Hodaka, Ogawa Nanako O., Takano Yoshinori, Ohkouchi Naohiko
2. 発表標題 Study of aquatic food web based on high-precision stable carbon isotopic measurement of individual amino acids
3. 学会等名 The 67th Annual Meeting of Ecological Society of Japan (ESJ67)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石川尚人, 高野淑識, 小川奈々子, 大河内直彦
2. 発表標題 アミノ酸の放射性炭素濃度測定法の開発と生物地球化学研究への応用
3. 学会等名 日本生態学会第66回全国大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoto F. ISHIKAWA, Kazuaki TADOKORO, Jun MATSUBAYASHI, Naohiko OHKOUCHI
2. 発表標題 Biomass pyramids of marine zooplankton communities as inferred from their integrated trophic positions
3. 学会等名 The 68th Annual Meeting of Ecological Society of Japan (ESJ68)
4. 発表年 2021年



〔図書〕 計2件

1. 著者名 陀安一郎、申基澈、藤吉麗 編	4. 発行年 2020年
2. 出版社 総合地球環境学研究所	5. 総ページ数 104
3. 書名 同位体環境学がえがく世界：2020 年版	

1. 著者名 井上 幹生、中村 太士・編	4. 発行年 2019年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 448
3. 書名 河川生態系の調査・分析方法	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------