

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月17日現在

機関番号：82101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22510020

研究課題名（和文） 自然レベル放射性炭素を用いた海洋古細菌による水温決定に関する同位体地球化学的検討

研究課題名（英文） Isotope geochemical study of sea surface temperature reconstruction of archaeal lipids using natural level radiocarbon

研究代表者

近藤 美由紀 (KONDO MIYUKI)

独立行政法人国立環境研究所・環境計測研究センター・研究員

研究者番号：30467211

研究成果の概要（和文）：

堆積物に保存されている海洋性古細菌の細胞膜脂質（GDGTs）を用いた水温（TEX₈₆）復元プロキシの実用化をめざすため、海洋性古細菌のバイオマス量の水深分布や海洋性古細菌の起源を明らかにする。駿河湾内の異なる深度での採水し、海洋性古細菌の微生物生態学的情報と各深度におけるGDGTsの組成、存在量について調査を行った。GDGTsの自然レベル¹⁴C含有量（ $\Delta^{14}\text{C}$ ）と海水中DIC、DOC、POCの $\Delta^{14}\text{C}$ の比較から、現場海域各深度におけるGDGTsの炭素源を明らかにした。水深700mで採取された試料から抽出されたGDGTsの $\Delta^{14}\text{C}$ は、約-400‰、年代に換算すると約4000年、それに対し、DIC及びDOCの $\Delta^{14}\text{C}$ は、それぞれ-40‰、-700‰となり、GDGTsの値は、現場海水のDIC値と大きく異なっていた。本結果は、GDGTsの起源とする古細菌の生息深度について、多様な水塊で生息していることを考慮する必要性を示すものであった。

研究成果の概要（英文）：

To develop paleo-SST proxy by using GDGTs archaea membrane lipids from sediments, we need to know the ecological knowledge of marine archaea in the water column. In this study, we collected filtrated samples from several depth in Suruga bay to analyze the ¹⁴C of GDGTs and DOC, DIC, POC. The $\Delta^{14}\text{C}$ values of GDGTs from 700 m water depth was -400‰ and DIC and DOC were 140‰ and -700‰, respectively. The results of GDGTs, DIC and DOC was significantly different from each other, suggesting that various sources and depth distributions of marine archaea was occurred.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境動態解析

キーワード：古細菌・北太平洋・海洋性古細菌・細胞膜脂質

1. 研究開始当初の背景

堆積物に記録されている GDGTs に基づく

TEX₈₆ 古水温と培養試料から推定される TEX₈₆ との間には、種レベルでの多様性など微生物生態学的な違いと海水中でのレジデンスタイムの違いによる影響があると考えられるが、堆積物コアに保存される GDGTs がどの水深に生息するクレンアーキオータであるのか、その知見は皆無である。本申請研究では、水深ごとのクレンアーキオータの系統解析と GDGTs レベルの $\Delta^{14}\text{C}$ 測定を行うことによりこの問題についての答えを得たい。自然レベルの $\Delta^{14}\text{C}$ をトレーサーに用いた GDGTs の起源解明に関する研究提案は、これまで国内外において研究例はなく、オリジナリティーが非常に高いものといえる。本研究の達成により、堆積物コアからの TEX₈₆ による古水温推定の精度が向上することは明らかであり、関連分野における貢献は非常に大きい。特に、北極・南極など、これまで従来の古水温プロキシは応用出来なかった海域への貢献は非常に高く、この地域から正確な水温情報の提供は、近未来地球環境の予測のためのモデル精度向上における貢献は大変高いといえる。

2. 研究の目的

堆積物に保存されている海洋性古細菌（マリンクレンアーキオータ）細胞膜脂質（GDGTs）を用いた水温（TEX₈₆）復元プロキシの実用化をめざすため、堆積物コアを採取する現場海域における GDGTs を作るマリンクレンアーキオータのバイオマスの水深分布やクレンアーキオータの起源について明らかにする。すなわち、堆積物コアに保存される GDGTs がどの水深に生息するクレンアーキオータであるのかを解明する。本申請研究では、CTD による現場海域における大量採水を実施し、水深ごとのクレンアーキオータの系統解析と GDGTs と各深度別の DIC サンプルの $\Delta^{14}\text{C}$ 測定を行うことによりこの問題についての答えを得たい。

3. 研究の方法

古細菌脂質バイオマーカーの定量・放射性炭素分析、植物プランクトン由来バイオマーカー濃度、堆積物中真正細菌・古細菌の DNA/RNA 解析と菌数、GDGTs の大量抽出・精製・濃縮・純度チェック、各種サイズのフィルターに補足された微生物膜脂質分子（エーテル脂質（古細菌）、脂肪酸（細菌））の抽出と同定を行う。フィルターは、大容量ソックスレー抽出機により、溶媒可溶脂質成分の全抽出を行い、その後、アルカリけん化処理を行う。さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる、中性成分から、古細菌膜脂質 GDGTs を分画する。GDGTs は、LC/MS により定量・同定、 ^{14}C 分析を行う。

1. 大量海水ろ過システムの製作と海洋深層

水取水施設でのサンプリングの実施古細菌（大きさ平均 0.5-0.2 μm ）細胞膜由来テトラエーテル脂質（GTGTs）の放射性炭素を測定するために必要な海水量は 10 万-20 万 L と試算される。深層海水の中古細菌を補足するため、0.2-0.5 μm サイズフラクションを効率的に大量ろ過できる装置を製作した。静岡県駿河湾深層水取水供給施設（397m）において、本システムの大量ろ過試験並びに実試料のサンプリングを実施した。

2. 古細菌細胞膜脂質分子（GDGTs（分子量 ca. 1,300、2002 年に発見））の抽出・同定・定量

ろ過済 0.2 μm メンブレンフィルターに補足された古細菌細胞膜脂質分子（GDGTs）の抽出条件の検討を行った。タンパク質を特異的に分解する酵素を用いて古細菌細胞膜を分解し、溶媒抽出（ソックスレー抽出等）により GDGTs を含む溶媒可溶成分を得た後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで GDGTs を含むステロール・アルコールフラクションを分離、GDGTs を LC/MS で同定・定量を行った。

3. GDGTs 分子の高純度精製のための HPLC による分析条件の検討 HPLC 順相・逆相カラムを 3 種類組み合わせた分取・精製条件の検討を行った。

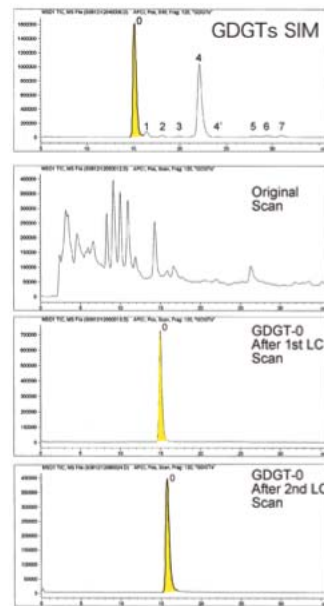


図 1. LC 分取前後のクロマトグラム

4. 極微量炭素量による高精度放射性炭素分析のための前処理法の開発と加速器質量分析計による条件検討通常必要炭素量が 1mgC である AMS 測定において、5 μg 炭素量での AMS 測定を行うための検討を行った。具体的には、同位体希釈による方法を用いて、 ^{14}C 濃度既知の炭素を加えて測定を実施した。

4. 研究成果

堆積物に保存されている海洋性古細菌の細胞膜脂質 (GDGTs) を用いた水温 (TEX₈₆) 復元プロキシの実用化をめざすため、堆積物コアを採取する現場海域における GDGTs を作る海洋性古細菌のバイオマス量の水深分布や海洋性古細菌の起源を明らかにする。北西太平洋域において様々な深度での採水、および表層堆積物から、現場海域における海洋性古細菌の微生物生態学的情報と各深度における GDGTs の組成、存在量について調査を行う予定である。これにより、堆積物に保存されている GDGTs から求められる TEX₈₆ がどの水深を反映しているのか特定する。これらの GDGTs の自然レベル ¹⁴C 含有量 (Δ¹⁴C) と海水中 DIC、DOC、POC の Δ¹⁴C の比較から、現場海域各深度における GDGTs の炭素源を明らかにし、堆積物に記録される TEX₈₆ の有効性を確認する。海洋古細菌の生息深度に関する情報を得るため、古細菌の GDGTs であるエーテル脂質の ¹⁴C 測定を行った。分析条件の検討も含め駿河湾の水深 400m の深層水から GDGTs を抽出し、GDGTs の放射性炭素測定を行った。その結果、GDGTs の Δ¹⁴C は、約 -400‰、年代に換算すると約 4000 年、それに対し、DIC 及び DOC の Δ¹⁴C は、それぞれ -40‰、-700‰ となり、GDGTs の値は、現場海水の DIC 値と大きく異なっていることが明らかとなった。GDGTs が表層海水の平均水温を表すとすれば、少なくとも GDGTs の起源は表層水の炭素を起源としていなくてはならないことから、本結果は、GDGTs の起源とする古細菌の生息深度について、多様な水塊で生息していることを考慮する必要性を示すものであった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Sato C. A., Akiyama S., Uchida M., Shimada K., Utsumi M., Archaeal distribution and abundance in water masses of the Arctic Ocean, Pacific sector, Aquatic Microbial Ecology, 査読有, 69, 2013, 101-112, DOI: 10.3354/ame01624

[学会発表] (計 8 件)

- ① Amano S. C., Utsumi M., Uchida M., Kondo M., Adachi M., Yamamoto T. CO₂, CH₄ fluxes and bacterial diversities at terrestrial ecosystem along the trans-Alaska pipeline in tundra and

boreal forest, Alaska. AGU fall meeting 2012, 3-7 December 2012, San Francisco, UAS.

- ② Akiyama S., Amano S. C., Uchida M., Utsumi M. Vertical profile and components of marine planktonic archaea in the Pacific sector of the Arctic Ocean. AGU Fall Meeting 2011, 5-9 December 2011, San Francisco, UAS.
- ③ Amano S. C., Akiyama S., Uchida M., Utsumi M. Distribution and structure of planktonic Archaea in the Arctic Ocean using 2008 – 2010 R/V Mirai cruise samples. AGU Fall Meeting 2011, 5-9 December 2011, San Francisco, UAS.
- ④ Kondo M., Uchida M., Kim Y., Utsumi M., Takahashi Y., Adachi M., Shibata Y. Constraining radiocarbon signature of soil organic matter in Alaskan Arctic soil: Implication for importance basis examining the impact of climate warming on CO₂ release. 2011 ARCTIC SCIENCE SUMMIT WEEK, 27 March - 1 April 2011, Seoul, KOREA
- ⑤ Kondo M., Uchida M., Kim Y., Utsumi M., Adachi M., Shibata Y. Radiocarbon Signature of Soil Organic Carbon in Tundra and Boreal Forests, Northern Alaska. The 4th East Asia AMS Symposium, 16-18 December 2011, Tokyo.
- ⑥ Kondo M., Hoshino A., Murayama S., Wagai R., Shibata Y., Uchida M. Investigation of carbon turnover and CO₂ evolution in soil organic carbon from Japanese forest soils: Insight from radiocarbon analysis of soil density fractions and soil respired CO₂. AGU Fall Meeting 2011, 5-9 December 2011, San Francisco, UAS.
- ⑦ Kondo M., Uchida M., Uchida M., Ohtsuka T., Yoshiake S., Kanda H., Koizumi H., Nakatsubo T., Shibata Y. (2011) Isotopic Signatures of Soil Organic Carbon and its Relation to Vegetation in a Successional Glacier Foreland in Ny-Aesund, Svalbard. The 10th Ny-Alesund Seminar, 25 - 26 October 2011, Kjeller, Norway.
- ⑧ 佐藤千恵, 秋山昇平, 鈴木祐喜, 内田昌男, 内海真生, 北極海海洋炭素循環に關与する海洋古細菌群集の評価. Blue earth'11, 2011 年 3 月 7-8 日, 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 美由紀 (KONDO MIYUKI)

独立行政法人国立環境研究所・環境計測研究センター・研究員

研究者番号：30467211

(2) 研究分担者

内田 昌男 (UCHIDA MASAO)

独立行政法人国立環境研究所・環境計測研究センター・主任研究員

研究者番号：50344289

内海 真生 (UTSUMI MOTOO)

筑波大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：60323250