HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Compound- and position-specific stable isotope methods for measuring the consumption of storage protein and lipids in plant physiology : implications for studies in ecology and geochemistry [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	滝沢, 侑子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第13105号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70285
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuko_Takizawa_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士（環境科学）　　氏 名 滝 沢 侑 子

審査委員　主査　教 授　力石 嘉人
副査　教 授　鈴木 光次
副査　准教授　山本 正伸
副査　主任技術研究員　小川 奈々子
（国立研究開発法人海洋研究開発機構）

学 位 論 文 題 名

Compound- and position-specific stable isotope methods for measuring the consumption of storage protein and lipids in plant physiology: implications for studies in ecology and geochemistry
（植物の貯蔵アミノ酸・脂質の消費に伴う分子レベル／分子内安定同位体分別：生態学・地球化学研究への応用を目指して）

有機化合物の安定同位体比（δ 値，$^{13}C/^{12}C$, $^{15}N/^{14}N$等を反映）は，一般的に，生合成・分解における「同位体分別（ε）」と原料となる「基質の δ」で説明され，その多様性から，「生合成時の環境因子」や地球表層における「物質・エネルギー循環」を理解するためのツールとして，幅広い分野で用いられてきた。しかし，生物はその生活史のなかで，比較的短い期間で有機化合物の合成と分解を繰り返すため，有機化合物の δ には，生合成（生産）の ε のみならず分解（消費）の ε が記録されている。このため，安定同位体比から物質循環を解析する上で，有機物分解は無視できない生化学過程となっている。しかしながら，(1) 観察に適した生体試料の確保が困難であること，および，(2) 最適な分析手法が，現時点で1つ（アミノ酸の窒素同位体比（$\delta^{15}N_{AA}$）を用いた脱アミノ反応の評価）に限られていることから，有機化合物の分解に伴う同位体分別（ε）の定性的・定量的な理解はほとんど進んでいない。そこで本研究では，植物試料を対象に，アミノ酸（Chapter II）および脂質（Chapter III）の分解（消費）に伴う同位体分別（ε）を実測し，その重要性を定性的および定量的に明らかにした。また，Chapter IIIにおいては，脂質分解のε を評価するために，脂肪酸分子内安定炭素（カルボキシル基の炭素）同位体比（$\delta^{13}C_{FA\text{-}COOH}$）測定法の新規開発を行った。

植物において，光合成活性の高い部位である「葉」が持つアミノ酸では，グルタミン酸とフェニルアラニンの$\delta^{15}N$値の差（$\Delta\delta^{15}N_{Glu\text{–}Phe}$値）が，−8.4‰であり，これは，分解における ε が全く見えないことを示す。一方で，暗室で発芽したサツマイモでは，イモ本体，および芽の$\Delta\delta^{15}N_{Glu\text{–}Phe}$値が，それぞれ−5.6‰，+0.7‰と優位に上昇しており，これは，発芽時におけるアミノ酸の代謝活性とその同位体分別（ε）により説明される。さらに同様な結果が，葉が芽吹く‘前’に咲く花における$\Delta\delta^{15}N_{Glu\text{–}Phe}$値が，葉が芽吹いた‘後’に咲く花の値に比べて，顕著に大きくなる（+9.1±2.3‰）ことや，落葉樹の葉の芽吹きにおいて，$\Delta\delta^{15}N_{Glu\text{–}Phe}$値が，+5.3‰から+0.8‰に急速に減少すること，においても確認された。これらの事実から，

光合成が弱い状況において，植物はエネルギーや基質を得るために，生体内に存在するアミノ酸を分解・利用すること，そしてそのアミノ酸の分解（脱アミノ反応）とそれに伴う ε が，植物の δ を変えうる重要なファクターであることを，世界ではじめて明らかにした。

アミノ酸と同様に，植物において，光合成活性の高い部位である「葉」が持つ脂質では，脂質分解（消費）に関する情報は，ほとんど得られない。一方で，脂質が主要なエネルギー源となっているゴマの種子について，暗室下で発芽を行うと，パルミチン酸（トリアシルグリセロールの主要成分，炭素数16の脂肪酸）成分の存在量は，5日間で51%減少し，同時に，δ^{13}C値が優位に上昇した（+2.9±1.7‰）。これは，発芽時における貯蔵脂質の分解とその同位体分別（ε）により説明される。同位体分別を与える主要なプロセス（Keyプロセス）をして，酵素による貯蔵性脂質の加水分解（TAG →グリセロール + 脂肪酸）が考えら，またマスバランス計算により，反応部位であるカルボキシル基の炭素のδ^{13}Cの上昇が+48±27‰（これまでに，地球の生物圏で観測されている最大級，またはそれ以上のε ）にもなると推定されるため，この反応部位であるカルボキシル基の炭素のδ^{13}Cを直接測定する新規手法を開発した（ガスクロマトグラフ-同位体比質量分析計（GC-IRMS）に，カルボキシル基の炭素の脱炭酸をおこなう熱分解炉（1100°C）を設置することで達成した）。そして，開発した新規分析法を用いて，発芽後の種子では，脂肪酸成分のカルボキシル基の炭素が+63‰上昇していることを証明した。これらの事実から，貯蔵性脂質が，発芽のプロセスにおいて主要なエネルギー・基質の源になっていること，そして貯蔵性脂質の「酵素による加水分解」が，非常に大きな ε を持つことを世界ではじめて明らかにした。

本研究で得られた成果は，今後，生体試料や環境試料を用いた「地球表層における物質・エネルギー循環」の研究において，有機化合物の「分解」が，観測されるδ 値に与える影響の評価，生合成と分解のバランスの評価，物質循環の解析結果におけるノイズの減少の実施において，その科学的根拠を与えるとともに，新規解析手法の構築における根本的かつ必須の情報を提供すると期待される。

審査委員一同は，これらの成果を高く評価し，また研究者として誠実かつ熱心であり，大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ，申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。