

# アミノ酸のラセミ化反応年代測定法

原田尚美<sup>1)</sup>

## 1. はじめに

古気候・古海洋学的あるいは考古学的な観点で、アミノ酸のラセミ化反応を環境復元(年代推定、気温・水温推定)に利用してきた歴史は古い。アミノ酸にはL体およびD体の光学異性体が存在するが、生物が合成するアミノ酸は、一部のバクテリアを除いてすべてL体である。生物の死後、生化学的な制御がとけると、温度環境が一定であれば時間とともに一定の速度でラセミ化反応が進行する。L体アミノ酸からは、ラセミ化反応後、同じ確率でL体とD体のアミノ酸が形成される。つまり、一定の割合で徐々にD体のアミノ酸が増加する。アミノ酸年代測定法とは、D体とL体の比(D/L)が時間とともに一定の割合で増加する事を利用して、天然の試料中のアミノ酸のD/L比から試料年代を推定する方法である。

アミノ酸は、生物の痕跡があれば地球上至る所に存在するが、特にこの手法が有効なのは、炭酸塩などに代表される生物起源の殻に含まれるアミノ酸を利用する場合である。有孔虫、二枚貝、カタツムリの殻、ケイ藻、放散虫など、自然界には炭酸塩、ケイ酸塩などの殻をもつ生物が多く存在する。この殻は炭酸塩やケイ酸塩のみで構成されているわけではなく「鑄型」が必要で、タンパク質から構成されている。我々の身体の基本となる骨格はリン酸カルシウムで構成されているが、この骨格を作る時の「鑄型」もちろんタンパク質である。タンパク質は、アミノ酸の集合体であり、それ自身は有機物の中でも分解に弱いことで知られる。しかし、殻に含まれるタンパク質は、炭酸塩、ケイ酸塩などにしっかり守られているため、地質学的年代スケールを経ても分解をあまり受けていない。従って、地

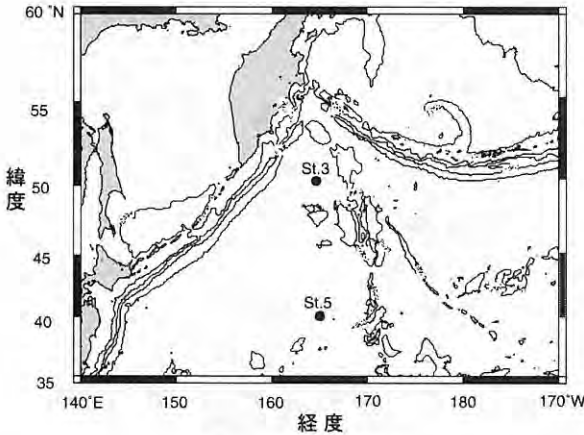
質年代の推定において、殻に含まれるアミノ酸の利用は有効である。

ラセミ化反応の速度は、圧力やpH(Bada, 1971)など周囲の物理・化学的な環境の変化に左右されるが、異性体比への影響は温度や時間の経過に比べ、誤差の範囲である(Bada and Schroeder, 1975)。つまり天然の環境下において地質学的年代スケールで反応が進行する場合、温度変化と時間経過が最も反応の速度や度合いを左右する。温度が一定かあるいは変化の履歴がわかっている場合には、年代や堆積速度の推定(Macko and Aksu, 1986)に、また年代が既知の場合は、温度の変化(Miller *et al.*, 1997)を読みとることが可能となる。一方、アミノ酸の異性体比そのものを、地球外起源物質かどうかの判断材料としたり(Zhao and Bada, 1989)、過去のDNAの保存状態を確かめるために用いている例(Poinar *et al.*, 1996)もあり、地球科学的研究におけるアミノ酸のラセミ化反応の道具としてのポテンシャルは高い。

アミノ酸のラセミ化反応年代測定に関する研究は、Hare and Mitterer(1967)以来、炭酸塩化石を中心に行われ(McCoy, 1987)、特に第四紀の炭酸塩海底堆積物の堆積速度や年代推定には威力を発揮してきた(Sejrup *et al.*, 1987)。この手法の利点は、1)アミノ酸のラセミ化反応速度の違いを利用して、数百年から数十万年まで年代推定が可能なこと、特に<sup>14</sup>C年代では推定できない年代範囲をカバーしていること、2)独立した他の年代測定法を利用してラセミ化反応速度定数を決めてしまえば、同じ温度環境下の試料の年代推定が可能なこと、3)不連続試料の年代推定が可能なことが挙げられる。炭酸塩化石の利用が多いのは、化石内で炭酸カルシウムと鑄型を形成するタンパク質がラミ

1) 海洋科学技術センター むつ研究所:  
〒035-0022 青森県むつ市大字関根字北関根690

キーワード:アミノ酸異性体比, 年代測定, ケイ酸塩堆積物



第1図 試料の採取地点.

ナ状に形成されており (Weiner and Hood, 1975), 構造上, アミノ酸が化石の中で安定に保存されるためである. 最近では数百年~千年といった地質学的には新しい時間スケールの2枚貝の年代測定法として提案されてきている (Goodfriend *et al.*, 1997). しかしながら, 炭酸塩以外の化石, 特に外洋の大半を占める珪質堆積物の年代推定には, アミノ酸年代法適用の可能性は示唆されつつも (Warnke *et al.*, 1980) 踏み込んだ研究は実施されてこなかった.

したがって, 本稿では, 北西部北太平洋の珪質堆積物のアミノ酸の異性体比分析を行った結果に加えて, 古地磁気強度の変化から見積もられた年代から2つの関係式を導き, 両者から推定された年代と古地磁気年代とを比較し, <sup>14</sup>C法では推定できない数万年~十数万年オーダーの珪質堆積物のアミノ酸年代の推定を行った結果 (Harada *et al.*, 2002) について述べる. また, 最後に今後の展開についても少し述べる.

## 2. アミノ酸のラセミ化反応年代測定法の原理

先に述べたように, 生体が持つアミノ酸はすべてL体であり, 生物の死後, 時間と共に一定の速度でD体へ変化する. このラセミ化反応は一次反応速度則に従って進行し, 不斉炭素原子を一つしか持たないアミノ酸を例にとると, D体とL体の異性体比 (D/L) とラセミ化反応速度定数 (k) と反応年代 (t) との関係は次の式で表す事ができる (Bada and

Schroeder, 1972).

$$\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]_t - \ln[(1+D/L)/(1-D/L)]_{t=0} = 2kt \quad (1)$$

k値は温度の変化がないかぎり, 一定の値をとる. 従って, (1)式を利用し, 他の年代測定法で決めた年代 (t) とD/L値からk値を求めておけば, 堆積物試料のアミノ酸のD/L値を求めることにより, 年代を推定する事が可能となる. D/L比が1になるときが見かけ上のラセミ化反応の終点であり, この年代測定法の限界である. しかしながらこれまでの研究で, 天然の試料においては, 異性体比が1になるまでこの手法が使えるわけではない事がわかってきている.

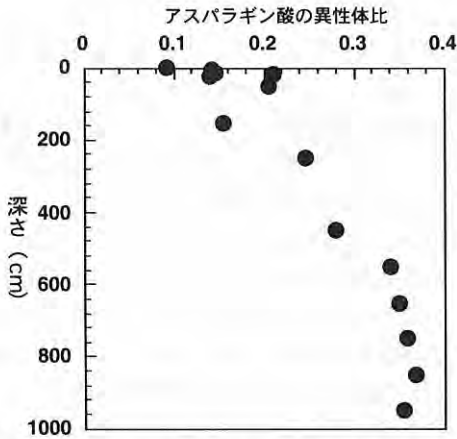
## 3. 試料と分析方法

試料は, 北西部北太平洋で採取された2点の表層堆積物および柱状堆積物を用いた (第1図). 堆積物は2点とも珪藻化石を主要構成成分とする珪質堆積物であった (St.3: 50°N, 165°E, 水深5,507m, St.5: 40°N, 165°04E, 水深5,499m). 試料は, 63 μmでふるい, 顕微鏡観察によって珪質物以外の物を取り除いた残渣をアミノ酸分析用試料とした. アミノ酸の異性体比分析は, 6mol/lの塩酸を試料に加え, 窒素ガス雰囲気下で105°C, 22時間かけてタンパク質の加水分解を行い, 試料を陽イオン交換樹脂で精製し, 誘導体化の後, ガスクロマトグラフで同定定量を行った. 異性体比はガスクロマトグラフのDおよびLアミノ酸のピーク面積比より算出した.

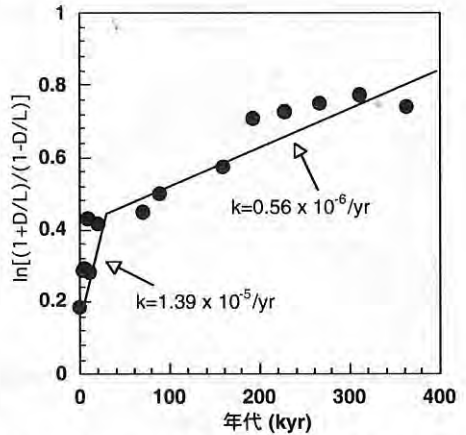
## 4. 珪酸塩堆積物中のアスパラギン酸の異性体比

珪酸塩堆積物 (St.5) のアスパラギン酸の異性体比の鉛直プロファイルを示す (第2図). アスパラギン酸は, 生体アミノ酸の中で最もラセミ化反応速度が早いため (Bada and Protsch, 1973) 数千年オーダーでも変化が見やすい上, 生物遺骸中に比較的高濃度で存在しているので, 数千年から数十万の生物遺骸堆積物の年代推定には最も適したアミノ酸の一つといえる. なお, 今回の分析の結果, アスパラギン酸の分析誤差は最大6%であった.

第2図によると, アスパラギン酸の異性体比は,



第2図 St.5堆積物のアスパラギン酸異性体比の鉛直プロファイル。



第3図 一次反応速則で表したアスパラギン酸の異性体比と古地磁気年代。

深さとともに増加しているが、堆積物上部約30cmで0.09～0.2まで急激に変化しているのに対し、それ以深ではゆっくりと増加していた。また、約950cm以深では明瞭な異性体比の増加は見られず、本コアに関しては、この深さ(古地磁気年代にして約35万年)がアスパラギン酸のラセミ化年代法の限界を示唆するものと思われる。また、表層で異性体比はゼロではなかった。これは、試料の加水分解中に一部のアミノ酸がラセミ化を生じてしまうこと、さらにバイオターベーション(生物攪乱)の効果が原因と考えられる。

### 5. アスパラギン酸の異性体比と年代の関係(一次反応速度則)

次に古地磁気強度の変化から見積もった年代とアスパラギン酸の異性体比の関係を示した(第3図)。St.5のアスパラギン酸のln値と年代は直線関係が見られたものの、約3万年付近で屈曲点を持ち、0～3万年の間で $k$ は $1.39 \times 10^{-5}/\text{yr}$ 、3～40万年の間で $0.56 \times 10^{-6}/\text{yr}$ という結果が得られた。このように数万年で $k$ 値が変化することは、これまでの有孔虫化石の報告結果と共通しているが、屈曲点を境に前者の $k$ 値は、有孔虫化石の値( $0.94 \times 10^{-5}/\text{yr}$ )よりやや大きく、後者は有孔虫の値( $0.99 \times 10^{-6}/\text{yr}$ )より小さい結果となった(Harada and Handa, 1995)。これは、両者の化石中に存在

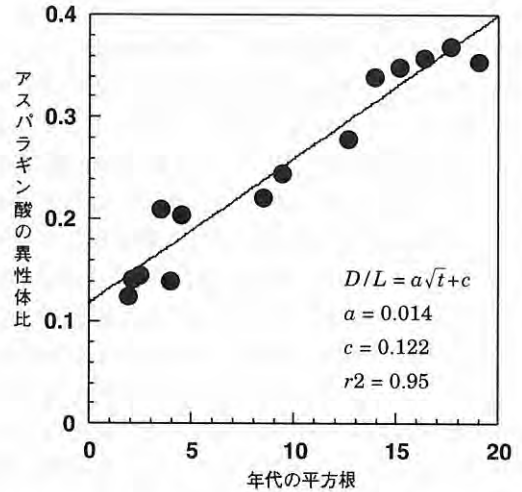
するタンパク質の形態の違い(有孔虫の場合は $\beta$ -シート構造、珪質化石の場合は無定型)やアスパラギン酸の殻の中での役割の違い(有孔虫の場合カルシウムイオンと結合、珪質化石の場合は珪酸塩とは結合していない)、殻の中に結晶水が存在しているか否か等がアスパラギン酸のラセミ化反応速度に影響を与えているためと思われる。結晶水の存在はタンパク質の加水分解を促進し、ペプチドを増加させる。アミノ酸はペプチドの末端に存在している時が内部で結合している時あるいは遊離で存在している時よりもラセミ化反応を受けやすい(Kriausakul and Mitterer, 1978)。したがって、加水分解の促進は、ペプチドの増加、つまり末端に存在するアミノ酸を増加させ、結果的にラセミ化反応速度を速める効果につながり、これが屈曲点より前の若い試料の $k$ 値が炭酸塩のそれよりも大きい結果となったのではないだろうか。一方で、末端でラセミ化を受けたアミノ酸がさらに加水分解を受け、殻の中では次第にD体の遊離アミノ酸が増加していく。これは、ペプチドの加水分解の活性化エネルギーはラセミ化反応の活性化エネルギーよりも高いためとされる。炭酸塩にくらべて空隙率の高いケイ酸塩化石は、殻から遊離アミノ酸を浸出させる可能性がある。これが殻内に残ったアミノ酸の異性体比を下げ、みかけラセミ化反応速度を低下させたのではないだろうか。

### 6. アスパラギン酸の異性体比と年代の関係 (放物線モデル)

アミノ酸のラセミ化反応は、(1)式でも表現したように、理論上は、一次の可逆反応で進行し、年代の若い炭酸塩化石中でも実際にその関係が存在することを確認できる (Harada and Handa, 1995). しかし、生物遺骸中では年代の進行とともに加水分解速度の低下に伴って、ラセミ化反応速度が低下することがわかっている。したがって、異性体比と年代の関係を、一次反応を原則に2つの回帰直線で表したり (Bada and Schroeder, 1975; Harada and Handa, 1995),あるいは、ラセミ化反応のメカニズムの説明はつかないものの、両者の関係を忠実に表現することを重視して多項式 (Wehmiller *et al.*, 1988)や放物線モデル (Mitterer and Kriausakul, 1989)など経験的な関係式を用いることとなる。そこで、本研究では、放物線モデルで両者の関係を表し、一次反応モデルとの比較を行った。放物線モデルによる異性体比と年代の関係は以下の式で表される。ただし直線で示すため、x軸には年代の平方根を用いる。

$$D/L = a\sqrt{t} + c \quad (2)$$

ここで、tは堆積物の年代、D/Lは堆積物のアミノ酸の異性体比、aは勾配、cは定数 (y切片)である。第4図に、St.5の堆積物のアスパラギン酸の異性体比と古地磁気年代の平方根値との関係を示す。この結果、両者は非常に直線性が良いことがわかる。ここで一次反応式と放物線モデルの両者を用いて、珪質軟泥であるSt.3の試料の年代を推定した (第1表)。さらに、それらの値と古地磁気年代と比較を行った。その結果、一次反応式で見積もった年代値も、放物線モデルによる年代値と共に古地磁気年代はおおよそ誤差の範囲内で一致していることがわかった。しかし、前者に関しては、古い年代になってくると古地磁気年代とのずれが



第4図 放射線モデルで表したアスパラギン酸の異性体比と古地磁気年代。

大きくなっていった。

天然の試料中でラセミ化反応速度に効いてくるのは、水温環境と堆積物を構成する物質の違い (堆積物のタイプ)である (Bada and Schroeder, 1972)。St.3とSt.5は緯度にして10度離れているものの、検鏡の結果、堆積物を構成する物質のほとんどが珪質化石であること、水深が両地点とも5,500mと水温環境もほぼ同等という共通点がある。したがって、St.5で得られたアミノ酸の異性体比と年代との関係がSt.3にもよく当てはまりアミノ酸年代が古地磁気年代とよく一致した結果となったのであろう。しかしながら、一次の反応式で推定された年代値で古い年代ほど差が大きかった。このことは、珪質化石中で生じるラセミ化反応が一次の可逆反応では説明がつかず、年代が古くなるほど加水分解等の続成作用の影響を受けて反応速度が変化していることを示唆するものと思われる。

### 7. おわりに

本稿では、アミノ酸の異性体比と年代の関係を2つの関係式で表した。反応機構を説明しうる一次反応速度則にこだわるか、両者の関係を実態に則して忠実に表現するかに関しては、研究者の判断に任されており、どちらが良いという決断は下されない。恐らく、堆積物のタイプによっても様々と考えられ、珪質堆積物に関しては、放物線モデルに

第1表 St.3珪質堆積物の古地磁気年代とアスパラギン酸のラセミ化反応年代比較。

深さ (cm)	古地磁気年代 (ky)	一次反応速度則年代 (ky)	放物線モデル年代 (ky)
300-301	79.8	82.4 ± 4.9	75.6 ± 4.5
400-401	101.9	116.1 ± 7.0	92.3 ± 5.5
700-701	191.1	233.1 ± 14.0	189.9 ± 11.4

なじむようである。また、約35万年でアスパラギン酸年代の限界が示唆された。珪質堆積物についてアミノ酸のラセミ化反応年代法が適用されてこなかった理由は、1) 珪酸塩化石は、炭酸カルシウム化石のように緻密な殻でタンパク質の鑄型が保護されていない(Degens, 1976)、2) 珪藻には共生するバクテリアが作り出すD体のアミノ酸が存在する可能性がある(Lee and Bada, 1977)、3) 珪藻は、有孔虫のように単一種を拾い出すことは困難でありバルク分析を余儀なくされる、の3点が考えられる。これらは、何れも誤差を大きくする原因とはなるが、炭酸塩化石に専ら用いられてきた従来の年代測定手法では、全く時間軸の入らない堆積物には有効な手段の一つと考えられる。

最近、陸棚域や特殊環境下に生息する炭酸塩をもつ生物の年代決定にアミノ酸年代法の適用が検討されてきている(Goodfriend and Weidman, 2001)。一例としてシロウリガイが挙げられる。シロウリガイは、化学合成細菌を共生させ冷水湧出帯などの特殊環境を好んで生息の場とする。この生物のコロニーの形成や死滅は海底の地殻変動にともなう海底地震のイベントに規定されることが予想され、シロウリガイコロニーの年代の推定は海底地震活動イベントの発生年代を推定する事につながる。シロウリガイの炭酸塩殻は、骨格を形成するタンパク質がアスパラギン酸、グルタミン酸をはじめとする酸性アミノ酸を中心に構成されていることがわかった(Misawa *et al.* unpublished data)。今後、アスパラギン酸を用いたアミノ酸ラセミ化反応年代を求める事により、過去におきた冷水湧出域の海底地震イベント年代の推定が期待される。

#### 文 献

- Bada, J.L. (1971) : Kinetics of the nonbiological decomposition and racemization of amino acids in natural waters. In Non-Equilibrium Systems in Natural Water Chemistry, Advances in Chemistry Series, 106: (ed by Gould, R. F.), American Chemical Society, 309-331.
- Bada, J.L. and Protsch, R. (1973) : Racemization reaction of aspartic acid and its use in dating fossil bones. Proc. Nat. Acad. Sci., 70: 1331-1334.
- Bada, J.L. and Schroeder, R.A. (1972) : Racemization of isoleucine in calcareous marine sediments: kinetics and mechanism. Earth Planet. Sci. Lett., 15: 1-11.
- Bada, J.L. and Schroeder, R.A. (1975) : Amino acid racemization reactions and their geochemical implications. Naturwissenschaften, 62: 71-79.
- Degens, E.T. (1976) : Molecular mechanisms on carbonate, phosphate, and silica deposition in the living cell. In Topics in Current Chemistry, 64:1-112.
- Goodfriend, G.A., Flessa, K.W. and Hare, P.E. (1997) : Variation in amino acid epimerization rates and amino acid composition among shell layers in the bivalve *Chione* from the Gulf of California. Geochim. Cosmochim. Acta, 61: 1487-1493.
- Goodfriend, G.A. and Weidman, C.R. (2001) : Ontogenetic trends in aspartic acid racemization and amino acid composition within modern and fossil shells of the bivalve *Arctica*. California. Geochim. Cosmochim. Acta, 65: 1921-1932.
- Harada, N. and Handa, N. (1995) : Amino acid chronology in the fossil planktonic foraminifera, *Pulleniatina oblicuiculata* from Pacific Ocean. Geophys. Res. Lett., 22: 2353-2356.
- Harada, N., Kondo, T., Fukuma, K., Uchida, M., Nakamura, T., Iwai, M., Murayama, M., Sugawara, T. and Kusakabe, M. (2002) : Is amino acid chronology applicable to the estimation of the geological age of siliceous sediments? Earth Planet. Sci. Lett., 198: 257-266.
- Hare, P.E. and Mitterer, R.M. (1967) : Non-protein amino acids in fossil shells. Carnegie Institution of Washington, Yearbook, 65: p 362.
- Kriausakul, N. and Mitterer, R.M. (1978) : Isoleucine epimerization in peptides and proteins; Kinetic factors and application to fossil proteins. Science, 201: 1011-1014.
- Lee, C. and Bada, J.L. (1977) : Dissolved amino acids in the equatorial Pacific, the Sargasso Sea, and Biscayne Bay, Limnol. Oceanog., 22: 502-510.
- Macko, S.A. and Aksu, A.E. (1986) : Amino acid epimerization in planktonic foraminifera suggests slow sedimentation rates for Alpha Ridge, Arctic Ocean. Nature, 322: 730-732.
- McCoy, W.D. (1987) : The precision of amino acid geochronology and paleothermometry. Quat. Sci. Rev., 6: 43-54.
- Miller, G.H., Magee, J.W. and Jull, A.J.T. (1997) : Low-latitude glacial cooling in the Southern Hemisphere from amino acid racemization in emu eggshells. Nature, 385: 241-244.
- Mitterer, R.M. and Kriausakul, N. (1989) : Calculation of amino acid racemization ages based on apparent parabolic kinetics. Quat. Sci. Rev., 8: 353-357.
- Poinar, H.N., Höss, M., Bada, J.L. and Pääbo, S. (1996) : Amino acid racemization and the preservation of ancient DNA. Science, 272: 864-866.
- Sejrup, H.P., Aarseth, I., Ellingsen, K.L., Reither, E., Jansen, E., Lovlie, R., Bent, A., Grigham-Grette, J., Larsen, E. and Stoker, M. (1987) : Quaternary stratigraphy of the Fladen area, central North Sea: A multidisciplinary study. Journal of Quaternary Science, 2: 35-58.
- Warnke, K.A., Blunt, D.J. and Pollock, G.E. (1980) : Enantiomeric ratios of amino acids in Southern-Ocean siliceous oozes. In Hare P.E. *et al.* (ed.), Biogeochemistry of Amino Acids, pp183-189.
- Wehmler, J.F., Belknap, D.F., Boutin, B.S., Mirecki, J.E., Rahaim, S.D. and York, L.L. (1988) : A review of the aminostratigraphy of Quaternary mollusks from the United States Atlantic Coastal Plain sites. In Easterbrook D.J. (ed.), Quaternary Dating Methods.

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.

Zhao, M. and Bada, J.L. (1989) : Extraterrestrial amino acids in Cretaceous/Tertiary boundary sediments at Sevens Klint, Denmark. Nature, 339: 463-465.

mark. Nature, 339: 463-465.

HARADA Naomi (2003) : Amino acid racemization chronology.

< 受付 : 2003年2月3日 >

## 地質情報展 2003

# しずおか


プレートの出会う場所で

地質・海洋・火山・地震・活断層・地下資源・・・  
さまざまな地質情報を総合的に展示し、地球科学各分野の研究者が解りやすく解説します。また、お子さんでも楽しめる「体験コーナー」もたくさん用意しました。ぜひ、ご家族連れでご来場下さい！

9月19日(金)～21日(日)  
9:30～17:00

グランシップ 6F ギャラリー  
(静岡県コンベンションアーツセンター) JR東静岡駅前

入場無料

主催：産業技術総合研究所   
地質調査総合センター  
日本地質学会

後援：静岡大学・静岡県・静岡市・  
静岡県教育委員会・  
静岡市教育委員会・  
静岡県地質調査業協会  
静岡県地学会

模型で学ぼう  
大地の不思議！

紙でつくる  
富士山？！

砂で遊ぼう！  
砂を学ぼう！

いろんな石に  
触ってみよう  
割ってみよう！

石膏で化石の  
模型を作ろう！

不思議なメガネで  
立体的に見る海や山！

パソコンで旅する  
富士山と駿河湾！



お問い合わせは、  
地質調査総合センター 地質調査情報部 までどうぞ。  
<http://www.gsj.jp/>  
e-mail:gevent@m.aist.go.jp  
tel:029-861-3581 fax:029-861-3672