

# コラーゲンを含む試料の調製について

池田晃子・中村俊夫

名古屋大学 年代測定資料研究センター 〒464-8602 名古屋市千種区不老町

Tel : 052-789-2578 FAX : 052-789-3095

## 1. はじめに

コラーゲンというタンパク質を含む、骨や歯、牙といった試料は、しばしば放射性炭素年代測定の対象となる。これらの試料から加速器質量分析用のターゲットを調製する場合、一般的にはコラーゲンを抽出する操作を行うが、この過程には時間がかかるため、時間的制約等によりコラーゲン抽出を行えない場合がある。

本件では、池田ほか(1997)で用いた、保存状態の大変良好な試料7点よりコラーゲンを抽出して、バルクで測定した場合の結果との比較を行ったので報告する。

## 2. 試料調製と加速器質量分析計による $^{14}\text{C}$ 測定

方法は有田ほか(1990)および中村ほか(1996)に改良を加えたものである。

試料をあらかじめステンレス製の乳鉢で粉碎可能な大きさ(厚さ2mm程度の板状)に切り出しておく。まずアセトンで表面を洗って付着している可能性のある有機化合物を溶かし落としした後、0.2N水酸化ナトリウム溶液に浸して超音波洗浄した。さらに1.2N塩酸中で超音波洗浄し、蒸留水でよく洗って60℃の乾燥器中で一晩乾燥させた。

この乾燥したバルク試料をステンレス製乳鉢を用いて粉碎し、有田ほか(1990)の方法に従ってセルロースチューブを用いたコラーゲン抽出を行って可溶性コラーゲン(solution collagen)及び不溶性コラーゲン(gelatin collagen)を得た(図1)。

それぞれの試料より得たgelatin collagenを、あらかじめ1000℃で焼きだした直径6mm、長さ5cmのバイコール管に約500mgの線状酸化銅と共に入れ、950℃で焼きだした石英綿で軽くふたをした後、少量の銀線を入れた。あらかじめ1000℃で焼きだして線状還元銅を約500mg入れた直径9mm、長さ34cmのバイコール管にこれを入れ、真空ラインに接続排気し封管した。これを電気炉内で850℃で約2時間加熱して試料中の炭素を二酸化炭素に変えた。

真空ライン中で、液体窒素(-196℃)及び液体窒素で冷却したエタノール(約-100℃)及びペンタン(-129℃)を寒剤として用いて二酸化炭素を精製した。さらに、約1.5mgの鉄粉末を触媒として、この二酸化炭素を水素還元してグラファイトを作成した(Kitagawa *et al.*, 1993)。出来たグラファイトを乾燥した後、アルミニウム製の試料台に圧入してターゲットを作成した。国際的に標準体として用いられている蓚酸(NBS-MR-49)を標準体とし(Mann, W. B., 1983; Stuiver, M., 1983)、名古屋大学年代測定資料研究センターに設置されている加速器質量分析計により $^{14}\text{C}$ 測定を行った(中

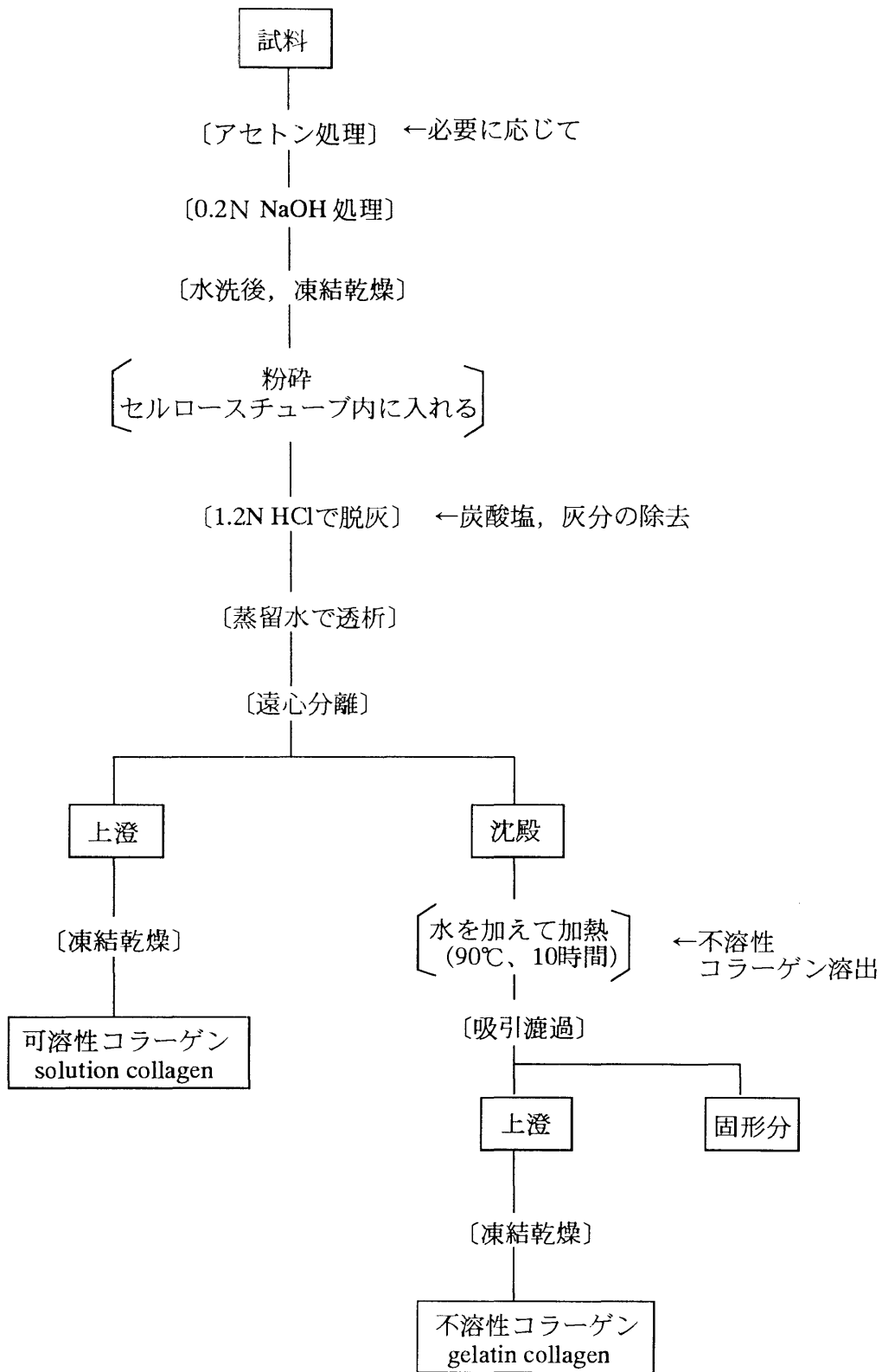


図1 コラーゲン抽出のフローチャート

表1 試料のgelatin collagenとsolution collagen含有量

Table 1 Gelatin collagen and solution collagen content of collagen containing samples

Sample No.	Gelatin collagen / %	Solution collagen / %
IVORY-1	21.5	0.25
IVORY-2	14.6	tr.
IVORY-3	16.5	0.07
IVORY-4*	—	0.12
IVORY-5	13.5	tr.
IVORY-6	15.4	tr.
IVORY-7	17.1	0.15

\*The solution containing gelatin collagen was partially lost.

表2 コラーゲンの炭素及び窒素含有率, C/N比,  $^{14}\text{C}$ 量及び  $\delta^{13}\text{C}$

Table 2 Carbon content, nitrogen content, C/N ratio,  $^{14}\text{C}$  content and  $\delta^{13}\text{C}$  of collagen containing samples

Sample No.	C content / %	N content / %	C/N ratio	$^{14}\text{C}$ content / pM	$\delta^{13}\text{C}$ / ‰
IVORY-1GC	44.56	15.65	2.84	114.9 ± 1.3	-25.3 ± 0.1
IVORY-2GC	41.24	14.91	2.76	111.9 ± 1.5	-23.6 ± 0.1
IVORY-3GC	42.18	14.86	2.83	112.9 ± 1.5	-23.7 ± 0.1
IVORY-4GC	40.76	14.39	2.83	124.0 ± 1.7	-24.8 ± 0.1
IVORY-5GC	41.13	14.78	2.78	111.7 ± 1.5	-25.4 ± 0.1
IVORY-6GC	42.45	15.25	2.78	133.4 ± 1.4	-23.3 ± 0.1
IVORY-7GC	42.92	15.48	2.77	116.3 ± 1.5	-24.3 ± 0.1

measurement error of  $\delta^{13}\text{C}$  : ±0.1

村ほか, 1988) .

### 3. 結果及び考察

表1に試料のsolution collagenとgelatin collagenの含有率 (IVORY-4のgelatin collagenは溶液を一部損失してしまったため値無し) を示した. いずれの試料もsolution collagenをほとんど含んでおらず, 一方gelatin collagen含有率はきわめて高い. 状態の良い現代の試料においては, コラーゲンはそのほとんどがgelatin collagenの形態で存在すると考えられる.

表2に各試料のgelatin collagenの炭素含有率, 窒素含有率, C/N比,  $^{14}\text{C}$ 量(pM)及び $\delta^{13}\text{C}$ を示した.  $^{14}\text{C}$ 量は, 池田ほか (1997) で示したバルク試料の $^{14}\text{C}$ 量と誤差範囲内で一致, あるいはきわめて近い値を示している. このことより, 状態の良い試料については, コラーゲン抽出を行わずにバルクの状態から直接炭素を取り出して $^{14}\text{C}$ 測定を行っても差し支えのないと考えられる.

### 引用文献

- 有田陽子・中井信之・中村俊夫・亀井節夫・秋山雅彦・沢田 健 (1990) 哺乳類化石のコラーゲン抽出法とそのAMS法による $^{14}\text{C}$ 年代測定. 名古屋大学古川総合研究資料館報告, 6, 45-54.
- 池田晃子・中村俊夫 (1997) コラーゲンを含む試料の簡便な調製. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書, VIII, 254-257.
- 池田晃子・中村俊夫 (1998) コラーゲンを含む試料の簡便な調製(2). 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書, IX, 304-307.
- Kitagawa, H., Masuzawa, T., Nakamura, T. and Matsumoto, E. (1993) A batch preparation method of graphite targets with low background for AMS  $^{14}\text{C}$  measurements. *Radiocarbon*, 35, 295-300.
- Mann, W. H. (1983) An international reference material for radiocarbon dating. *Radiocarbon*, 25, 519-527.
- 中村俊夫・大塚裕之・奥野 充・太田友子 (1996) 東シナ海の大陸棚および琉球弧の海底から採取された哺乳類化石の加速器質量分析法による $^{14}\text{C}$ 年代測定. 地学雑誌, 105, 306-316.
- 中村俊夫・中井信之 (1988) 放射性炭素年代測定の基礎 — 加速器質量分析法に重点をおいて —. 地質学論集, 29, 83-106.
- Stuiver, M. (1983) International agreements and the use of the new oxalic acid standard. *Radiocarbon*, 25, 793-795.
- Stuiver, M. and Polach, H. A. (1977) Discussion reporting of  $^{14}\text{C}$  data. *Radiocarbon*, 19, 355-363.

# Preparation of Collagen containing Samples

Akiko IKEDA and Toshio NAKAMURA

Dating and Materials Research Center, Nagoya University.  
Chikusa, Nagoya 464-8602 JAPAN  
Tel: +81-52-789-2578 FAX: +81-52-789-3095

We showed the data of carbon content,  $^{14}\text{C}$  content (pM) and  $\delta^{13}\text{C}$  of gelatin collagen extracted from 7 ivory samples. These were prepared by a simple preparation method (bulk samples were directly combusted into  $\text{CO}_2$  and measured  $^{14}\text{C}$  contents) in previous study. All the samples showed low content of solution collagen and high content of gelatin collagen, suggesting well reserved samples contain collagen in the form of gelatin collagen.

We found each  $^{14}\text{C}$  content (pM) of gelatin collagen is almost the same as the  $^{14}\text{C}$  content of bulk sample shown in previous study, suggesting we may prepare samples without extracting collagen if the samples are under good condition.