

## サブテーマ1：古環境タイムカプセルとしての氷床コアの解析

研究代表者： 神田啓史（プロジェクトディレクター）

共同研究者：

- [国立極地研究所] 藤井理行、本山秀明、東久美子、藤田秀二、伊村智、工藤栄、  
内田雅己、瀬川高弘
- [国立遺伝学研究所] 仁木宏典、小原雄治、小方康至、阿部貴志、菅原秀明、成田貴則、  
鹿児島浩
- [国立情報学研究所] 藤山秋佐夫、武田秀明、市瀬龍太郎、荒井紀子、小林悟志
- [統計数理研究所] 長谷川政美
- [京都府立大学] 牛田一成 [東京工業大学] 幸島司郎、植竹敦
- [総合地球環境学研究所] 竹内望 [北海道大学] 福井学、高野淑識
- [総合研究大学院大学] 池村淑道 [玉川大学] 吉村義孝 [東京薬科大学] 山岸明彦
- [広島大学] 長沼毅 [京都大学] 今中忠行 [秋田大学] 井上正鉄 [島根大学] 大谷修司

### 1. 研究目標

地球生命の時間的な変動と環境との関連において、DNA情報が得られる唯一の可能性は凍結地帯であり、極域の氷床コア解析はきわめて興味深い。とくに南極の約100万年を経て封印された氷床コアから抽出された微生物等を年代順にゲノム情報を得ることにより、微生物がどのように環境と相互作用してそのシステムを多様化・進化してきたのかが明らかにできる。このためには、極微量の難培養性微生物の扱いや混合系のゲノム解析など、新分野が開ける可能性がある。

以下の研究課題の下で研究を実施する。

- 1) 微生物解析方法の開発
- 2) アイスコア中の微生物及び生物起源物質解析による古環境復元  
微生物及び生物起源物質を環境指標としたアイスコア解析法  
氷河生態系におけるバクテリアの生態調査
- 3) 氷床コアゲノム解析法の開発  
低コストシーケンス法の開発  
高効率クローニング法の開発
- 4) 難培養微生物のゲノム解析手法の開発
- 5) 抗生物質耐性遺伝子の分析手法の開発
- 6) 南極ドームふじ基地氷床コアの深層掘削

### 2. 年次研究計画

#### 平成18年度

平成17年度中に南極氷床コア 3028.52m の深層掘削の成功により、氷床コア融解装置など

の分析危機の整備が急務となった。また、平成18年度に予定されている氷床下の岩盤採取のための現地調査と岩盤採取方法について検討する。アイスコアからの生物成分サンプリング法、解析法の開発を引き続き実施する。南極をはじめスピッツベルゲン、アラスカ、チベット、チリ等のアイスコアの解析、氷河雪氷生物の生態に関する調査、及び氷床コア中の大気生物成分の供給源を特定するための調査を行う。

ゲノム解析の開発として、正確性を確認するために全ゲノム配列が明らかとなっている生物のゲノム増幅を行いシーケンスで配列を確認する。無菌氷床サンプル及び氷山から抽出したDの増幅を行い10万リード程度の配列決定を行う。

北極アイスコア試料から無菌的に核酸を抽出し、抗生物質耐性遺伝子を網羅的に解析する。同時に、南極や各地の氷河試料を対象とした解析も遂行する。

培養が困難な微生物混合試料に由来する配列の系統推定、異なる環境間での微生物群集の比較ゲノム解析における有用性の検証を試みる。ならびに、開発した手法をより多くの方に使用して、本システムのソフトウェア化を試みる。

#### **平成19年度**

平成17、18年度に採取した表面の雪氷サンプル及び南極の浅層氷床コアから微生物を分離する。これまでのアイスコアからの生物成分の抽出法、解析法を適用して、北極アイスコア解析、南極氷床アイスコアの解析に着手する。また、氷床コア及び岩盤からの微生物分離に関する準備を開始する。重複サンプルの存在する2500mまでの氷床コアを用いて年代ごとの全ゲノム増幅を行い、それぞれ2万リード程度の配列決定を行う。検出された耐性遺伝子の定量をリアルタイムPCR法により実施するとともに、遺伝子クローニングとシーケンシングを行い、既知の耐性遺伝子の配列とともに系統解析を行い、網羅的解析を行う。

#### **平成20年度**

アイスコアからの生物成分の抽出法、解析法を適用して、南極氷床アイスコア及び氷床岩盤からの微生物の遺伝的解析を開始する。約100万年前のものと考えられている3,000m以深のサンプルを用いて全ゲノム増幅を行い、配列決定する。同時に、バクテリア1個体からの全ゲノム増幅法を完成させ、1個体全ゲノム配列決定を行う。

#### **平成21年度**

本プロジェクト研究の最終年に当たり、ドーム氷床コア及び氷床岩盤から分離された微生物の遺伝的解析、及び遺伝子とゲノム進化の解析を通して、過去100万年の時系列で微生物の進化過程を解明する。最終的に研究の成果を取りまとめ、地球生命のメカニズムをモデル化し、将来の地球生命の形を予測する研究を展開する。

### **3. 平成17年度の研究進捗**

#### **1) 微生物解析方法の開発**

アイスコアからコンタミネーションを回避しながら微生物などの生物成分を抽出するために、フィルンと氷との2種類に対応した融解装置の試作を作成した。共焦点レーザー顕微鏡や、フローサ

イトメトリーなどを用いた新たな分析法の開発をおこない、特定の微生物量を正確に検出しバイオマスを算出することが可能となった。

氷床コア試料へのコンタミネーションを防ぐためにクリーンルームを設置し、5重(前室、実験室、エア・シャワー室、無菌テント、クリーンベンチ)からなる無菌実験室を設置した。とくに南極氷山塊からの古代バクテリア及び古代ゲノム DNA の分離については、既に実験室に建てたクリーン・ブース内のクリーンベンチに於いて数万年前の物と目される南極氷山塊を融解、濾過し、DNA 染色されるバクテリアの粒子を検出した。この粒子からゲノム DNA が増幅され、複数のバクテリア由来である事が明らかにされた。

## 2) アイスコア中の微生物及び生物起源物質解析による古環境復元

### 微生物及び生物起源物質を環境指標としたアイスコア解析法：

ヒマラヤ、パタゴニア、ロシア・アルタイ山脈の氷河アイスコア中の微生物及び微生物起源物質を解析し、その成果を発表した。また、南極コアの生物成分と比較するために、南米チリ共和国中部火山群 Mocho 火山、及び Osorno 火山山頂氷河において 10m アイスコアを 3 本採取、及び氷河表面の微生物試料の高度別採取を行った。さらに、チリ科学研究センターの共同研究者に依頼して、南極氷床の Patriot Hill - Lake Ellsworth ルート上における雪氷微生物解析用サンプルを採取した。

### 氷河生態系におけるバクテリアの生態調査

アラスカ、グルカナ氷河で高度別に採取された氷河表面の微生物試料を分析し、雪氷微生物、特に雪氷中で増殖するバクテリア特定と、その生態に関する調査を行った。

## 3) 氷床コアゲノム解析法の開発

### 低コストシーケンス法の開発

基盤となる低コストシーケンス法の開発を行った。これまでシーケンス鑄型の増幅には PCR を用いてきた。しかし、希釈はすでに限界であり更なるコストダウンが難しいこと、ポリ配列の増幅に誤りが高頻度にかかるなどの理由で別の方法へ切り替えを検討した。その結果、Rolling Circular Amplification 法を用いた TempliPhi (GE healthcare) がより低コストであることが分かった。さらに鑄型増幅の正確性が高いためシーケンスの成功率も高くなることが確認された。17 年度中に、PCR から TempliPhi への完全切替を完了した。

### 高効率クローニング法の開発

全ゲノム DNA 増幅産物は比較的短い断片が多く、そのままクローニングを行うとほとんどのクローンが 100bp 程度のインサートのみであった。そのため、スピנקロマトグラフィ法により 400bp 以下の DNA 断片の除去を行った。DNA 共沈剤の存在下でエタノール沈殿を行った後、TA ベクターへのクローニングを行った。この結果、 $10^5$  cfu のライブラリーを作製することに成功した。得られた形質転換体のうち、5,700 クローンの両端のシーケンスを行った。このデータは阿部助手に解析を依頼した。

#### **4) 難培養微生物のゲノム解析手法の開発**

氷床コアのメタゲノム解析より得られた DNA 断片配列を対象とした系統推定の検証として、北海道大学（福井教授）との共同研究にて、尾瀬のアカシボ（融雪時における積雪赤褐色化）中に含まれる DNA サンプルを用いたメタゲノム解析を行い、今回メタゲノム解析で得られた 200base 以上の 309 本の DNA 断片配列を対象に、開発した系統推定システムにて系統推定を行った。

#### **5) 抗生物質耐性遺伝子の分析手法の開発**

南極雪氷試料（ジェームスロス島アイスクラップ）、アラスカ氷河試料（アラスカ山グルカナ氷河）、中国蘭州氷河試料（甘粛省・祁連山脈・July first 氷河）を解凍後、DNA を常法によって抽出した。この DNA 試料をテンプレートとして、対象とした抗生物質耐性遺伝子 120 種のフォワードプライマー混合物と LabelStar Reverse Transcriptase を用いて 65℃ で 2 時間反応させた。Cy 3 および Cy5 標識を行い、DNA マイクロアレイスライドガラス上でハイブリダイゼーションをおこなった。その結果、各種雪氷試料より抗生物質耐性遺伝子の存在が確認され、この方法論が南極及び北極のアイスコア試料に適用できる可能性が示唆された。

#### **6) 南極ドームふじ基地氷床コアの深層掘削**

第二期ドームふじ基地氷床深層掘削計画として進めていた深層掘削であるが、第 47 次及び第 46 次南極観測隊と共同で、3029m までの深層掘削に成功した。コア現場処理もブリットルゾーンの一部を残して終了した。深層掘削孔の検層は深度 10ヶ所について実施した。

試料融解連続分注装置及び試料融解連続分析装置については、模擬コアを用いて、コア融解ヘッド、ペリスタリックポンプ、フラクションコレクターの各部分の作動および対応について確認を行った。また従来開発を進めていたコア融解装置の融解ヘッドとは別のタイプのものについて、ヘッドの詳細について議論するとともに、将来的に使用できるか検討を行った。

固体微粒子測定の精度向上について、冬季に固体微粒子測定装置のブランク値が高くなる 경우가多く、測定精度が下がるという問題があったが、これまでその原因が不明であった。本年度は様々なテストを実施し、冬季に超純水の温度が下がって測定時に気泡が析出することが原因であることを解明した。さらに、十分な脱気を行うことにより、安定した測定が実施できるようになった。気候・環境イベントの検討として、ドームふじ基地浅層コアを用いて宇宙線生成核種である  $^{10}\text{Be}$  などの解析を行い、氷コアに残っている変動が太陽活動の歴史を記録していることを明らかにした。また分析に必要なサンプル量が従来は 200g と大きかったが、これを 10g 以下で分析しても大きなトレンドは再現できた。限られた資源であるドーム氷床コアを使うときの問題であった時間分解能について見通しがついた。

### **4. 平成 17 年度研究成果**

#### **(1) 知見・成果物・知的財産権等**

##### **1) 微生物解析方法の開発**

フィルンと氷とのアイスコアからコンタミネーションを回避しながら、微生物などの生物成分を無菌環境下で採取する融解装置の開発をおこなった(図1)。



氷用の融解装置



フィルン用の融解装置

図1

氷表面にバクテリアと同程度の大きさの蛍光ビーズを塗布して融解実験をおこなったところ、氷表面の融解水からのみ蛍光ビーズが検出され、氷内部から採取された融解水からは検出されなかったことから、開発した融解装置を用いる事でコンタミネーションが起こりうる氷表面を除去することに成功した。

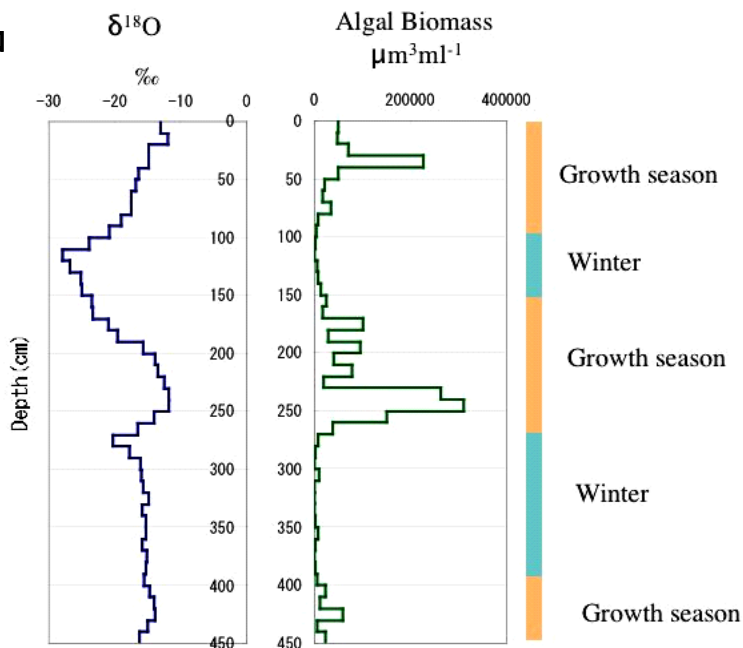
アイスコアサンプル中に含まれる微生物に対して、各種微生物のDNA量とサイズ・形態の分析や、撮影した画像の画像解析をおこない、アイスコア中の微生物の基礎的情報を得るための手法の構築をおこなった。また共焦点レーザー顕微鏡を用いてそれぞれの微生物の持つ波長特性による分布や蛍光波長ピーク差を分析することで、特定の微生物種のみを検出しバイオマスを算出させる分析方法の開発をおこなった。さらにフローサイトメトリーを利用して、氷河サンプルの微生物量・群集構造の高速解析を行うことができ、アイスコア解析に応用できる可能性が開けてきた。

## 2) アイスコア中の微生物及び生物起源物質解析による古環境復元

### 微生物及び生物起源物質を環境指標としたアイスコア解析法

ヒマラヤ、パタゴニア、ロシア・アルタイ山脈の氷河アイスコア中の微生物及び微生物起源物質を解析し、いずれの地域でもアイスコア中の雪氷微生物、特に雪氷藻類がアイスコアの年代決定に利用できること、また、ヒマラヤでは雪氷藻類のバイオマスが融解期の環境指標となることを明らかにした。例えば図2は、ロシア・アルタイ山脈のソフィスキー氷河アイスコア採取地点における雪氷藻類量と酸素同位体比( $^{18}\text{O}$ )の垂直分布の関係を示したものである。この図から雪氷藻類量は $^{18}\text{O}$ 値が高い温暖期の積雪中に多く、 $^{18}\text{O}$ 値が低い低温期に少ないことがわかる。つまり雪氷微生物は、その増殖に液体の形の水が不可欠なため融解期にだけ増殖する。したがって、その季節変動はアイスコアの年代決定に利用できることが明らかになった。

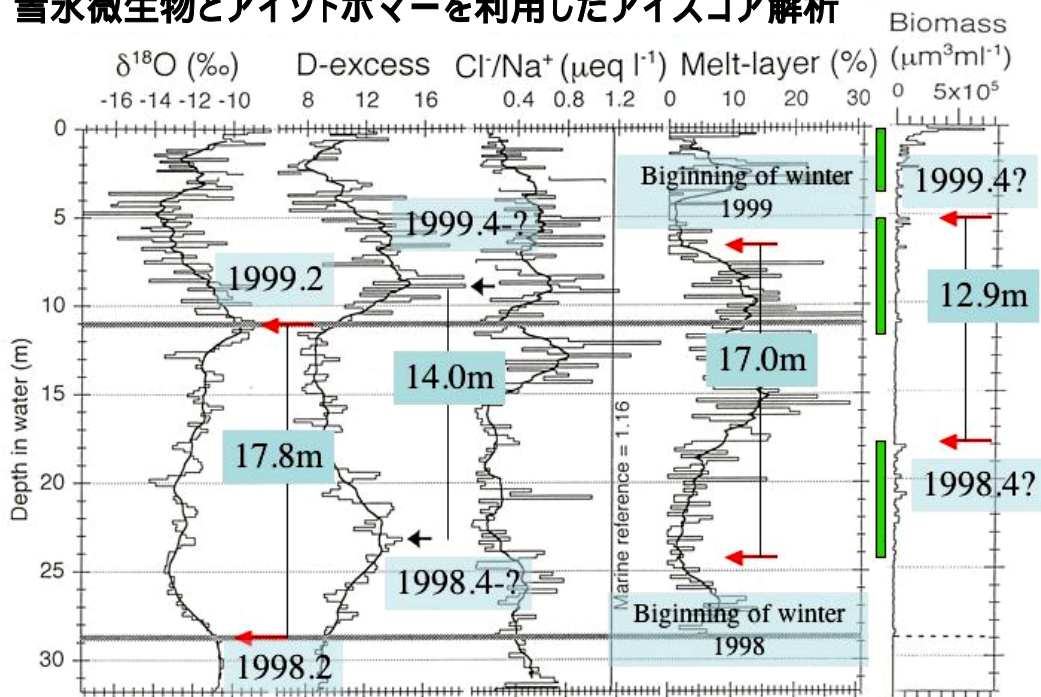
アルタイ山脈、ロシアにおける雪氷藻類量と酸素同位体量



雪氷微生物の季節変動はアイスコアの年代決定に利用可能

図 2

雪氷微生物とアイトポマーを利用したアイスコア解析



世界最大級の降水量 (>十数m/year) が初めて明らかになる

図 3

図 3 は南米パタゴニア南氷原のティンダル氷河で採取したアイスコア中の雪氷藻類分

析の結果を示したものである。このアイスコアにおいても、融解期に氷河表面で増殖する雪氷藻類が、融解期を示す季節マーカーとして利用可能であることがわかり、この氷河の年間涵養量が少なくとも水当量で十数メートル以上という世界で最大級であることが明らかになった。

#### 藻類量と夏期の質量収支(積雪量)の関係

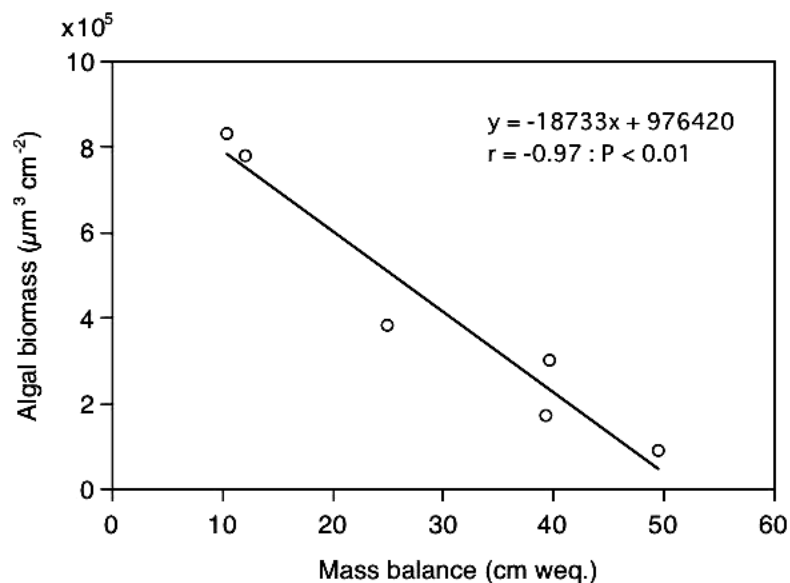


図 4

さらに、ネパールヒマラヤで採取されたアイスコアの分析により、雪氷藻類バイオマスがその年の夏の環境条件、特に夏期の質量収支(積雪量)量と逆相関の関係にあることが明らかになり(図4)、アイスコア中の雪氷藻類は、年代決定に利用できるだけでなく、環境指標としても利用できることが明らかになった。

#### 氷河生態系におけるバクテリアの生態調査:

雪氷中で最も普遍的に見られ、氷床コアにも多く含まれる微生物はバクテリアであるが、氷河や氷床の雪氷環境では、どんな種類のバクテリアが増殖しているのか、また、それらの生態に関しては、まだほとんど明らかになっていない。そこで、アラスカのグルカナ氷河で高度別に採取された氷河表面の雪氷試料中のバクテリア遺伝子を分析した。その結果、この氷河の雪氷中では限られた種類(約11種)のバクテリアが増殖しており、その多くが新種であること、また、その種類相が高度とともに変化すること(図5)が明らかになった。つまり、アイスコアに含まれる氷河の雪氷中で増殖するバクテリアの量や種類から、過去の環境を復元できる可能性が示された。

## Gulkana氷河における最優占種の高度変化

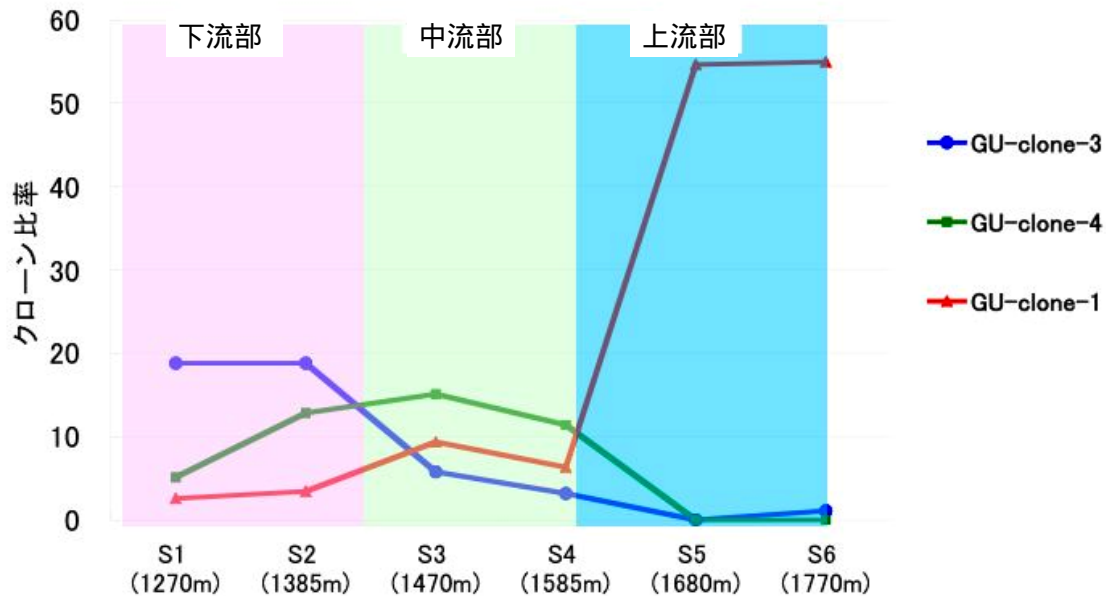


図 5

### 3) 氷床コアゲノム解析法の開発

#### 低コストシーケンス法の開発

低コストシーケンス法の開発を行った。これまでシーケンス鑄型の増幅にはPCRを用いてきた。しかし、希釈はすでに限界であり更なるコストダウンが難しいこと、ポリ配列の増幅に誤りが高頻度に起こるなどの理由で別の方法へ切り替えを検討した。その結果、Rolling Circular Amplification法を用いたTempliPhi (GE healthcare)がより低コストであることが分かった。さらに鑄型増幅の正確性が高いためシーケンスの成功率も高くなることが確認された。17年度中に、PCRからTempliPhiへの完全切替を完了した。

Adapter-ligation PCR法を用いた全ゲノムDNA増幅のために、GenomePlex complete whole-genome amplification Kit (Sigma-Aldrich)を用いて氷山氷抽出物の全ゲノムDNA増幅の検討を行った。氷山溶解液100ml相当のサンプルを用いたところ良好な増幅が認められた。

#### 高効率クローニング法の開発

全ゲノムDNA増幅産物は比較的短い断片が多く、そのままクローニングを行うとほとんどのクローンが100bp程度のインサートのみであった。そのため、スピノクロマトグラフィ法により400bp以下のDNA断片の除去を行った。DNA共沈剤の存在下でエタノール沈殿を行った後、TAベクターへのクローニングを行った。この結果、 $10^5$ cfuのライブラリーを作製することに成功した。得られた形質転換体のうち、5,700クローンの両端のシーケンスを行った。このデータは阿部助手に解析を依頼した。



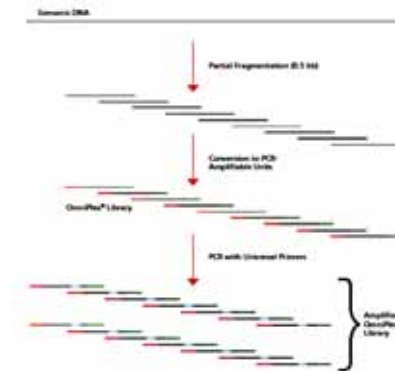
## Adaptor-ligation PCR

今回はこの方法を採用

- アダプター付加PCR法
  - これまでは手順が煩雑でありあまり使われてこなかった
  - 簡便なキットとして最近市販された

- 利点
  - 化学的せん断のため偏りが少ない
  - 非特異的増幅が起こらない
  - クローニングが容易
  - 分解の進んだサンプルも増幅可能

- 欠点
  - PCRのため増幅の偏りが起こる可能性がある
  - 増幅される断片が短い (500bp前後)

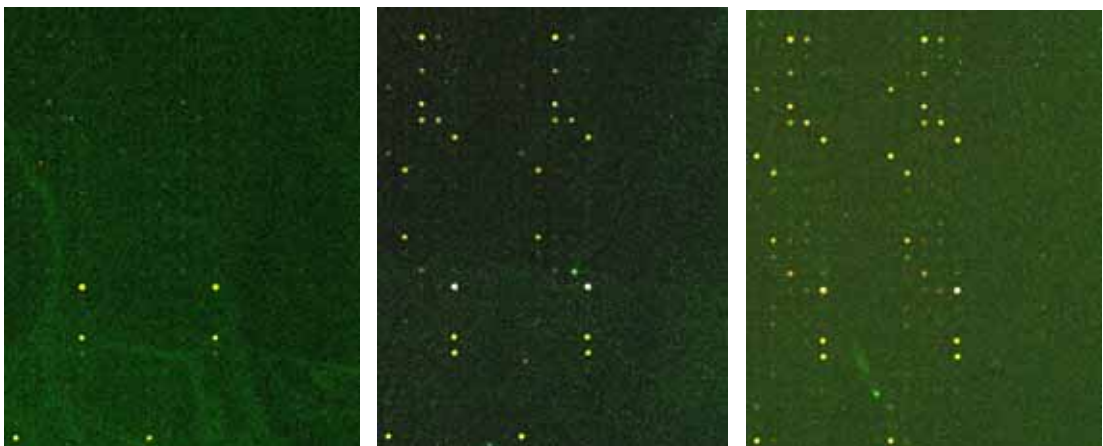


### 4) 難培養生物のゲノム解析手法の開発

サブテーマ「極限環境生物システムの比較研究」の中の環境微生物遺伝資源解析のための情報基盤の整備を参照

### 5) 抗生物質耐性遺伝子の分析手法の開発

ハイブリダイゼーションした結果を下図に示す。左から 南極雪氷試料、 アラスカ氷河試料、 中国氷河試料である。この図で黄色く光るスポットが陽性遺伝子であり、南極試料が最も少なく、中国氷河試料が最も多い結果となった。



検出された抗生物質耐性遺伝子は では *ant(3'')*Ia, *cat1*, *cat B7*, *cml B*, *cmr A*、 では *aac(3)Ib*, *aac(3)Ic*, *acc(3)Ia*, *ant(3'')*Ia, *cat(Proteus)*, *cat1*, *cat B1*, *cat B7*, *cmlB*, *cmlV*, *cmrA*, *sph*, *strV*, *tetE1*, *tetE2*, では *aac(3)Ib*, *aac(3)Ic*, *aadA11b*, *aadB*, *acc(3)Ia*, *ant(3'')*Ia, *ant(3'')*\_Ia(L06163), *ant(AJ278607)*, *aph(3')IIa*, *aph(3')IVa*, *aphA*, *aphD*, *bla1*, *bla2*, *blafox-3*, *blaROB-1*, *blaSHV-6*, *cat (Proteus mirabilis)*, *cat1*, *catB1*, *catB7*, *catD*, *cmlB*, *cmlv*, *cmrA*, *flor (Klebsiella pneumoniae)*, *sph*, *strU*, *strV*, *strW(AJ862840)*, *strW(X89010)*, *sul2*, *tet347*, *tetE1*, *tetE2*, *tmpR* であった。

それぞれ対応する抗生物質は、ストレプトマイシンなどのアミノグリコシド系 (*aac*, *aad*, *ant*, *aph*, *acc*, *str*, *sph*)、クロラムフェニコール (*cat*, *cml*, *cmr*, *flor*)、テトラサイクリン (*tet*)、ラクタム系 (*bla*)、トリメトプリム (*sul*, *tmp*) である。

中国やアラスカの氷河氷試料において検出頻度が高いのは、南極雪氷試料よりも土壌粒子の飛来や混入による影響が大きいことを考慮する必要がある。しかし、南極氷試料からもアミノグリコシド系とクロラムフェニコールに対する抵抗性遺伝子が検出されたことは、興味深い。ことに、なぜこの2系統の抗生物質なのか、さらにはその伝播経路についても、今後の解析に期待をいだかせる結果となった。

## 6) 南極ドームふじ基地氷床コアの深層掘削(図1, 2)

平成18年1月23日19時22分(日本時間24日1時22分)、第47次南極地域観測隊のチームがドームふじ基地での氷床深層掘削において、深さ3,028.52メートルまでの氷床コアの採取に成功した。ドームふじ基地氷床深層掘削計画は、平成15(2003)年から3年計画の3年目として氷床下3,030メートルの岩盤を目標にしていたもので、今回採取した氷床コアは、EUが採取した80万年前のものを超え、100万年の地球環境変動の復元ができると期待される。



図1 .  
ドームふじ基地の氷床深層掘削の現場

2003年から3年間で3000mを掘削できたことは、世界最新鋭の掘削システム、優れた掘削技術力、3交代/24時間掘削、掘削を支える体制があったからと考えられる。世界の主な深層掘削のデータから見ても、ドーム氷床コアは世界最速の掘削を成し遂げたことになる(表1)。

表 1 .世界最速の深層掘削

| 場所      | 国名    | 掘削開始      | 掘削終了             | 掘削日数 | 現在深度 | 掘削速度     |
|---------|-------|-----------|------------------|------|------|----------|
| ドームF    | 日本    | 2003/2004 | 2006.01.04<br>まで | 108  | 2872 | 178.3m/w |
| ドームF    | 日本    | 1995      | 1996             | 291  | 2503 | 57.5m/w  |
| ポストーク   | ロシア   |           | 1998             |      | 3623 |          |
| ドームC    | ヨーロッパ | 2000/2001 | 2004/2005        |      | 3270 | 99.5m/w  |
| コーネン    | ヨーロッパ | 2001/2002 | 2005.12.31<br>まで | 144  | 2685 | 125m/w   |
| GRIP    | ヨーロッパ | 1990      | 1992             | 155  | 3028 | 132.2m/w |
| GISP-II | アメリカ  | 1990      | 1993             | ?    | 3053 |          |
| N-GRIP  | ヨーロッパ | 1999      | 2004             | 243  | 3090 | 85.8m/w  |

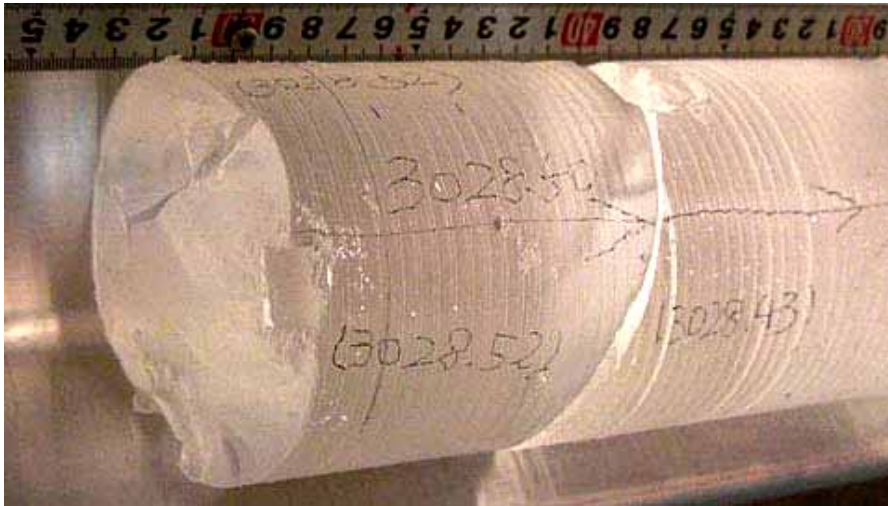


図 2 .  
3028.53m の深層から採取された氷床コア

## ( 2 ) 成果発表及び著書執筆等

- Aizen, V. B. , Aizen, E. M. , Joswiak, D.R. , Fujita, K., Takeuchi, N. and Nikitin, S. A. (2006) Climatic and atmospheric Circulation Pattern Variability from Ice-core isotope/geochemistry Records (Altai, Tien Shan and Tibet), *Annals of Glaciology*, 43, accepted.
- Aizen, V. B., Aizen E. M., Fujita, K., Nikitin, S. A., Kreutz, K. J., Takeuchi, N. (2005) Stable-isotope time series and precipitation origin from firn cores and snow samples, Altai glaciers, Siberia. *Journal of Glaciology*, 51(175), 637-654..
- Fujita, K., Thompson, L. G., Kajikawa, Y., Ageta, Y., Yasunari, T., Sakai, A., and Takeuchi, N. (2006) Thirty-year history of glacier melting in the Nepal Himalayas. *Journal of Geophysical Research*, 111, D03109, doi:10.1029/2005JD005894.
- Koshima, S., Takeuchi, N., Uetake, J., Shiraiwa, T., Uemura, R., Yoshida, N., Matoba, S. and Godoi, M.A. (2006): Estimation of net accumulation rate at a Patagonian glacier by ice core analyses using snow algae. *Global and Planetary Change*, in press.

- Miyake, T., Nakazawa, F., Sakugawa, H., Takeuchi, N., Fujita, K., Ohta, K., Nakawo, M. (2006) Concentrations and source variations of n-alkanes in a 21-m ice core and snow samples at Belukha Glacier, Russian Altai Mountains, *Annals of Glaciology*, 43, accepted.
- Nakazawa, F., Fujita, K., Takeuchi, N., Fujiki, T., Uetake, J., Aizen, V., and Nakawo, M. (2005) Dating of seasonal snow/firn accumulation layers using pollen analysis. *Journal of Glaciology*, 51(174) , 483-490.
- Takeuchi, N., Matsuda, Y., Sakai, A. and Fujita, K. (2005) A large amount of biogenic surface dust (cryoconite) on a glacier in the Qilian Mountains, China. *Bulletin of Glaciological Research*, 22, 1-8.
- Takeuchi, N., Uetake, J., Fujita, K., Aizen, V., and Nikitin, S. (2006) A snow algal community on Akkem Glacier in the Russian Altai Mountains. *Annals of Glaciology*, 43, accepted.
- Uetake, J., S.Kohshima, F.Nakazawa, K.Suzuki, M.Kohno, T.Kameda, S.Arkipov, and Y.Fujii, (2006): Biological ice-core analysis of the Sofiyskiy Glacier in the Russian Altai mountains, *Annals Glaciol.*, in press.
- Yoshimura, Y., Kohshima, S., Takeuchi, N., Seko, K. and Fujita, K. (2006): Snow algae in Himalayan ice core: new environmental markers for ice core analyses and their correlation with summer mass balance. *Annals Glaciol.*, in press.

#### 口頭発表

- Kohshima S., Y.Yoshimura, N.Takeuchi, T. Segawa and J. Uetake, Characteristics of Glacier Ecosystems and Glaciological Importance of Glacier Microorganisms, International Conference on Alpine and Polar Microbiology at Innsbruck, Austria, 27-31 March, 2006.
- Segawa, T., Takeuchi, N. and Kohshima S., Altitudinal change in bacterial flora on the Gulkana Glacier, Alaska, analyzed by 16S rRNA gene. International Conference on Alpine and Polar Microbiology at Innsbruck, Austria, 27-31 March, 2006.
- Segawa, T., Takeuchi, N. and Kohshima S., Altitudinal change in bacterial flora on the Gulkana Glacier, Alaska, analyzed by 16S rRNA gene. International Glaciological Society, Symposium on High-Elevation Glaciers and Climate Records, Lanzhou, China, 5-9 September 2005.
- Takeuchi, N., Uetake, J., Fujita, K., Aizen, V., and Nikitin, S. , A snow algal community on the Akkem Glacier in the Altai Mountains, Russia, International Glaciological Society, International Symposium on High-Elevation Glaciers and Climate Records, Lanzhou, China, 5-9 September 2005.

- Uetake J., S.Kohshima, F.Nakazawa, N Takeuchi, K Fujita, Y.Fujii, M Nakawo, Biological ice core analysis in the Belukha Glacier, Altai mountains, Russia, International Conference on Alpine and Polar Microbiology at Innsbruck, Austria, 27-31 March, 2006.
- Uetake J., S.Kohshima, F.Nakazawa, N Takeuchi, K Fujita, Y.Fujii, M Nakawo, Biological ice core analysis in the Belukha Glacier, Altai mountains, Russia, International Glaciological Society, Symposium on High-Elevation Glaciers and Climate Records, Lanzhou, China, 5-9 September 2005.
- Yoshimura, Y., Kohshima, S., Takeuchi, N., Seko, K. and Fujita, K., Snow algae in a Himalayan ice core: new environmental markers for ice core analyses and their correlation with summer mass balance. International Glaciological Society, Symposium on High-Elevation Glaciers and Climate Records, Lanzhou, China, 5-9 September 2005.

**【参考文献】**

- Kohshima, S., Yoshimura, Y. and Takeuchi, N.(2002): Glacier Ecosystem and Biological Ice-core Analysis. in *The Patagonian Icefields: A unique natural laboratory*. ed. Sepulveda F., Casassa, G. and Sinclair, R., Kluwer/Plenum New York, pp1-8.
- 幸島司郎 (2003) 雪と氷の世界の生物たちー雪氷圏の生物学. 化学と生物, 41[9] pp598-604.
- White DG, Alekshun MN, and McDermott PF. (2005) *Frontiers in Antimicrobial Resistance*. ASM Press Washington. pp. 570.