

プロジェクト名： 地球生命システムの環境・遺伝基盤の解明とモデル化・予測に向けた研究

プロジェクトディレクター： 神田啓史

1. 研究目標

生命と地球環境は互いに影響しあって今日に至っている。どのように相互作用して、生命は進化し、多様化してきたかのメカニズムを理解するために、数 10 万～100 万年を経て封印されてきた過去のタイムカプセルである氷床コア中の微生物や極限環境に生きる生物の遺伝子構成や発現パターン・機能を解析し、地球及び生命システムを解明することを目標とする。

2. 研究概要

(1) 研究の理念

新領域融合研究センターの三つの課題，生命システム，地球環境システム，及び複雑システムモデル化・情報処理の融合研究領域を進めるにあたって，企画の当初から，南極氷床コアの生物相の研究に最新のゲノム解析の手法が加わることにより，地球環境変動と微生物の進化・多様化の研究や地球と生命の相互作用のシミュレーション研究と一挙につながるなど，これまでの枠組みでは考えられなかった成果が期待されると考えられていた。この観点に立って，本研究プロジェクト「地球生命システムの環境・遺伝基盤の解明とモデル化・予測に向けた研究」では，生物の時間的変動と環境による変動に着目して，以下の二つのサブテーマに沿って研究を進める。サブテーマの研究内容は相互に関係し，共通部分も多いため，明確に分けることはできないが，研究目的を遂行するために便宜的に設けたものである。各サブテーマにはさらに共同研究者が具体的に実施する研究課題がある。

(2) 二つのサブテーマ

「古環境タイムカプセルとしての氷床コアの解析」

地球生命の時間的な変動と環境との関連において，DNA 情報取得の唯一の可能性は凍結地帯であると考えられ，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，微生物がいつ，どのような環境と相互作用して生命システムを多様化・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。20 年度は以下の研究課題で進めた。

- 1) 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
 - ①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
 - ②氷河生態系におけるバクテリアの生態
- 2) 氷床コアゲノム解析法の開発

ーマとして開始した。

平成17年度 (プロジェクト開始)

プロジェクト研究の初年度として、比較的細胞数の多い氷山水や浅層掘削氷床コアを対象にした融解装置の開発、難培養微生物のゲノム解析手法の開発、抗生物質耐性遺伝子の分析手法の開発を行った。環境微生物の遺伝資源解析のための情報基盤の整備、南極産線虫、露岩域植物多様性、及び湖沼生物等の極限環境生物の解析を行い、極限環境生物統合データベースの構築に向けて資料整理を行った。

平成18年度

17年度末に成功した南極ドームふじ基地における3028.52mの深層氷床コアからの微生物の解析準備として、P2級のクリーンルームの整備、氷床コア融解装置等の開発に着手した。さらに、18年度末に、3035.22mの深層氷床コアの掘削に成功し、最深部の氷に有機物と思われるものと岩盤の破片が採集され、これらの解析について検討した。一方、南極、スピッツベルゲン、アラスカ、チベット、チリなどから収集されてきた氷床コア、雪氷、土壌、植物試料等进行处理して、これらから無菌的に微生物を抽出し、遺伝・環境基盤の解析を進めた。南極産線虫の持つ高度な凍結、乾燥に対する耐性の機構を分子レベルで解明し、有用遺伝子の発見を目指した他、地衣類を中心とした極限露岩域の植物多様性研究、湖沼生物・微生物等の遺伝子解析を行った。

平成19年度

中間評価の年度として、本研究の5年計画3年目に当たり、中間評価が加わる。中間評価に先立、レビュー委員による評価、意見を踏まえて、プロジェクト研究に反映させた。すなわち、アイスコアのコンタミネーションへの対応は融解ヘッド、レーザー距離計、小手式融解機器などによる実験を繰り返し、有効な融解装置の開発の目途が立った。菌数の少ない極限環境の微生物の解明は取得データの信頼度、適切な遺伝子解析キットの選択、培養法の開発など、問題が解決されていないことも多いが、既に南極氷山水から無菌的に分離したバクテリア粒子から直接、試験管内でゲノムDNAを増幅し、塩基配列を決定、バイオ・インフォマティクス的手法により多数のバクテリアを同定するにいたった。19年度以降からは古環境の遺伝資源を解明する新たな試みとして、1細胞からのゲノム解析手法の開発に着手し、レーザーマイクロダイセクション顕微鏡を用いて1細胞を分取し、ゲノムDNAの抽出、ゲノム増幅の諸条件について検討を行なった。

平成20年度

氷床コアの微生物解析では、南極ドーム氷床コア最深部の有機物及び岩盤破片の解析および時間軸に沿った氷床コア微生物の解析を行った。ドームふじ基地の氷床下から採取された大陸起源と考えられる微量な氷から、氷内部の試料を無菌的に採取するための融解装置の開発をおこなった。作成した融解装置を用いて遺伝子の増幅が確認された。DNAデータベースと照合し菌

種の推定を行った結果、各種バクテリアや、光合成生物であるシアノバクテリアに近縁な遺伝子配列を検出することに成功した。極限環境の微生物データベースの情報を加えることにより、新たな古環境指標として利用できる可能性を明らかにした。さらに、広域の雪氷試料から微生物、大気生物成分、環境指標としての生物起源物質を明らかにし、これまでに未知であった雪氷生物の生態を解明した。また、1細胞からのゲノム解析手法の開発では微生物より分取した細胞の16S rDNA由来のDNA増幅断片はDNAシーケンスを行い、既知配列情報と比較を行った結果、増幅16S rDNA断片の塩基配列情報から細菌の分類推定に成功した。一方、湖沼コケ坊主微生物の分子生物学的解析において、古細菌、シアノバクテリア、真核生物が酸化還元条件下に異なる生物種が存在している等新たな知見が得られた。

平成21年度

南極ドーム氷床コアの微生物及び岩盤域の氷床微生物のゲノム解読、遺伝子/ゲノム進化の解析およびメタゲノム解析の結果をまとめる。また、南極産線虫、露岩域植物多様性、湖沼生物・微生物等の極限環境微生物の遺伝子解析、海底堆積物の微生物群集構造の解析、分類学的解析の結果をとりまとめる。1細胞からのゲノム解析手法の確立により、難培養微生物のゲノム解析を行う。同時に、極限環境の遺伝子情報データベースを構築する。極地環境における生物資源とゲノム解析技術及び、統計・情報解析技術を融合させることにより、地球環境の変動と微生物の進化・多様化の相互作用を理解し、地球生命システムのモデル化と将来予測をする。

平成22年度以降の展開

南極ドーム氷床コアの微生物及び岩盤域の氷床微生物のゲノム解読、遺伝子/ゲノム進化の解析およびメタゲノム解析の結果を引き続きまとめる。とくに、氷床底、及び岩盤由来の微生物の解析を引き続き行い、古環境と南極氷床における氷床形成プロセスと微生物の関係について解明する。南極産線虫、露岩域植物多様性、湖沼生物・微生物等の極限環境微生物の遺伝子解析、海底堆積物の微生物群集構造の解析、分類学的解析の結果をとりまとめ、極地環境における生物資源とゲノム解析技術及び、統計・情報解析技術を融合させ、モデル生物との比較によるシステムの可塑性の解析を行うとともに、さらに地球環境の変動と微生物の進化・多様化の相互作用を理解し、極限環境下での生命の適応戦略のメカニズムの解析により、地球生命システムのモデル化と将来予測を行う。

4. 研究経費の推移

平成17年度実績：	241,910千円
平成18年度実績：	197,600千円
平成19年度実績：	171,510千円
平成20年度実績：	200,000千円
平成21年度見込：	148,000千円

5. 平成20年度の研究推進体制

[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 金子 亮 植竹 淳 中澤文男 上野 健

[国立遺伝学研究所] 仁木宏典 小原雄治 菅原秀明 鈴木えみこ 鹿児島浩 馬場知哉

柳原克彦

[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

共同研究者

[北海道大学] 福井 学

[秋田大] 井上正鉄

[千葉大] 竹内 望

[玉川大] 吉村義孝

[東京薬科大] 山岸明彦 横掘伸一

[日本大学] 成田貴則

[日本海洋技術研究機構] 高野淑識

[ゲノム創薬研究所 (kk)] 小方康至

[長浜バイオ大] 池村淑道 阿部貴志

[京都大] 幸島司郎

[立命館大] 今中忠行

[京都府立大] 牛田一成

[広島大] 長沼 毅

[島根大] 大谷修司

6. 平成20年度の研究進捗

サブテーマ「古環境タイムカプセルとしての氷床コアの解析」

概要

氷床コアの微生物解析では、南極ドーム氷床コア最深部の有機物及び岩盤破片の解析および時間軸に沿った氷床コア微生物の解析を行った。ドームふじ基地の氷床下から採取された大陸起源と考えられる微量な氷から、氷内部の試料を無菌的に採取するための融解装置の開発をおこなった。作成した融解装置を用いて遺伝子の増幅が確認された。DNA データベースと照合し菌種の推定を行った結果、各種バクテリアや、光合成生物であるシアノバクテリアに近縁な遺伝子配列を検出することに成功した。極限環境の微生物データベースの情報を加えることにより、新たな古環境指標として利用できる可能性を明らかにした。さらに、広域の雪氷試料から微生物、大気生物成分、環境指標としての生物起源物質を明らかにし、これまでに未知であった雪氷生物の生態を解明した。また、細胞数の少ない難培養微生物の解明のために、レーザーマイクロダイセクション法による微生物の1細胞分取を試み、全ゲノム DNA 増幅とゲノム・ライブラリー構築の実用化について検討した。分取した細胞の16S rDNA 由来の DNA 増幅断片は DNA シークエンスを行い、既知配列情報と比較を行った結果、増幅16S rDNA断片の塩基配列情報から細菌の分類推定に成功した。一方、湖沼コケ坊主微生物の分子生物学的解析において、古細菌、シアノバクテリア、真核生物が酸化還元条件下に異なる生物種が存在している新たな知見が得られた。南極産線虫遺伝子解析、露岩域植物多様性、湖底・海底堆積物の微生物群集構造の解析、3D画像解析等極限域の生物システムに関する研究を引き続き行った。

平成20年5月、カナダ、バンフでの極域、高山域微生物シンポジウム、7月、ロシア、サンクトペテルブルグでの SCAR/IASC/ IPY 合同国際会議、12月、極地研主催の極域気水圏・生物圏

合同シンポジウム融合研究セッション，平成 21 年 3 月，ノルウェー，ベルゲンでの北極科学サミット週間（ASSW）国際シンポジウム等において，融合プロジェクトメンバーによる研究論文が多数発表された。

以下，主な研究課題について進捗状況を報告する。

1) 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

ドームふじ基地の氷床下から採取された大陸起源と考えられる微量な氷から，氷内部の試料を無菌的に採取するための融解装置の開発を行った。作成した融解装置を用いた試料から核酸を抽出し，PCR で遺伝子増幅が確認され，塩基配列の解読をおこなった。DNA データベースと照合した結果，各種バクテリアや，光合成生物であるシアノバクテリアに近縁な遺伝子配列を検出することに成功した。南極の湖沼，湖底，土壌，雪，コケなど極限環境の微生物データベースの情報を加えることにより，新たな古環境指標として利用できる可能性を明らかにした。さらに，南極アイスコア中に含まれる微生物の多くは，南極大陸外の陸域から風により飛来してきたものと考えられる。微生物量が各時代において大きく増減し，とくに放線菌の生物量などは氷期と間氷期で大きな差があったことから，環境条件によって微生物が飛来してくるプロセス（発生源の環境や風の強さなど）が変化していたと推測される。20 年度は，ドームふじアイスコアの最終氷期初期から現在までの氷試料を微生物観察用フィルターに濾過し，DNA を染色する蛍光色素で染色し，蛍光顕微鏡による直接観察により球状バクテリア，放線菌の細胞数を計測した。また，放線菌と考えられる微生物の走査型電子顕微鏡画像の解析を行った。南極の雪氷域から採取された花粉の研究は微生物研究の分野をはじめ，多くの分野に有効な情報を提供する。20 年度は雪試料から花粉 1 粒を抽出し，DNA 分析するための一連の操作を確立した。南極雪試料中で存在率が高かったマツ属花粉を DNA 分析対象とし，その手法開発に着手した。予備実験として，ロシアの氷河雪試料に含まれるマツ属花粉をもちいてマルチプレックス PCR をおこない，DNA 増幅に成功した。世界で 100 種を超えるマツ属は種の絞り込みには複数の DNA 領域を調べる必要があるが，現在，増幅のターゲットとなる DNA 領域を塩基配列データベースを利用して選定している。

2) 氷床コアゲノム解析法の開発

微生物 1 細胞を氷中から分取し，そのゲノム情報を解析する手法の開発では，微生物の分取はレーザーマイクロダイセクション顕微鏡を用い，微生物を直接観察しながら行った。分取した細胞から PCR 法によって細菌の 16S rRNA 遺伝子領域を増幅し，種決定が行えることを示した。また，分取した細胞の全ゲノム情報を得るために，Phi29 DNA polymerase を用いて極微量のゲノム DNA から全ゲノム増幅を行う反応条件を検討した。大腸菌や枯草菌を材料としてモデル実験を行い，細胞を希釈した反応条件下で 1 細胞レベルでのゲノム DNA 増幅に成功した。さらにこの手法を実際の南極に生息する微生物に応用する目的で，南極湖沼の「コケ坊主」生態系から実験室条件で培養可能な微生物（細菌）の分離にも成功した。現在，細菌 1 細胞の全ゲノム増幅からのゲノムライブラリーの作成およびゲノムシーケンスによる評価系の構築を進めており，最

最終的にはアイスコア氷中を含めた難培養微生物からのゲノム解析をめざす。

3) 難培養微生物のゲノム解析手法の開発

雪氷中に含まれる微生物の細胞数が少なく(100~1,000 cell/ml), 結果として平均 250bp 程度の比較的短い断片配列が得られる場合が多かったことから, 一括学習型自己組織化地図マップ法 (Batch-Learning Self-Organizing Map, BLSOM) による断片ゲノム配列の生物系統分類法に改良を加え, 短いゲノム断片配列に対しても高精度な推定を可能とするための手法の検討を行ってきた。現在までに, 500bp 程度の配列についても, これまでの分解能とほぼ同程度の分離能が得られた。今後は更なる改良を試み, 開発している解析ソフトへの実装を行う。また, メタゲノム解析で取得されたゲノム断片配列にコードされている遺伝子の機能を知ることも重要な課題の一つである。しかしながら, メタゲノム解析のように新規性の高い遺伝子が取得された場合, アミノ酸配列の相同性検索ではタンパク質の機能推定が困難な例が多い。BLSOM をタンパク質に適用し, オリゴペプチドの使用頻度の類似度を基礎にしたタンパク質の機能推定法の開発を目的として, タンパク質の BLSOM を実施したところ, 機能を反映した良い分離を得た。環境微生物ゲノム由来で COG と有意な相同性が得られたタンパク質を対象に, 並行して BLSOM のみでの機能推定を実施したところ, ほとんどの配列が相同性検索と同じ結果を示しており, 機能未知タンパク質の機能推定が可能となった。配列相同性検索では機能推定できなかった多数のタンパク質類についても機能推定が可能となってきている。

サブテーマ「極限環境生物システムの比較研究」

1) 極限環境の生物

極限環境に生息する線虫の研究では高度な乾燥・凍結耐性を持つ南極線虫 *Panagrolaimus davidi* について集中して解析を行った。ストレスのない標準条件 (温度 20°C, 十分な水分, エサを与えた状態) で飼育した *P. davidi* の cDNA ライブラリの追加解析を行い, 合計 6,878 種類の転写産物 (遺伝子) を得た。また, 今後, この解析データは寒冷・乾燥環境ストレス下の *P. davidi* の cDNA ライブラリとの比較対象として用い, この比較解析の結果をもとに耐性遺伝子のスクリーニングを行う。前年度までの解析によって得られていた乾燥耐性遺伝子の候補, LEA (late embryo abundant) 類似遺伝子については全内部配列を決定し, 全長 cDNA 配列データを得た。これにより 2 種類の新規の LEA 類似遺伝子を同定し, *P. davidi* には合計で 6 種類の LEA 類似遺伝子があることを明らかにした。引き続き *in vitro* での LEA タンパク質の機能解析を行うために, これらの cDNA を発現ベクターに組み込み, タンパク質の精製を試みている。また最近, 新しく南極に生息する *Plectus* 属線虫を極地研の凍結コケ・サンプルから単離, 飼育に成功した。*P. davidi* と同様に, 耐性遺伝子の探索を試みる。

南極の湖沼生物における地史的変遷では近年, 南極湖沼の微生物に関する知見が集積しつつあるが, 湖沼堆積物の微生物についての多様性や代謝についての知見は少ない。本研究では南極昭和基地周辺の湖沼から採取された堆積物から微生物の遺伝子を解析し, 南極湖沼の下における微生物相の解明を進めている。20 年度は南極昭和基地周辺のすりばち池の堆積物中の古細菌 (アー

キア)の多様性を明らかにした。また、塩湖堆積物中の硝化反応 ($\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$)、特にアンモニア酸化を行う微生物に注目し、その群集構造を調べるためにアンモニア酸化酵素遺伝子 (*amoA*) の解析を行った。

南極「コケ坊主」生態系における微生物相の解析では一個の完全なコケ坊主体について、物質生産・物質循環に関与する酵素のうち、二酸化炭素固定酵素(ルビスコ)、硝酸還元酵素群、窒素固定酵素の遺伝子の PCR クローンライブラリーの作成し、その大量解析を行った。また、平成 18、19 年度に実施した 16S/18S rRNA 遺伝子解析の再現性を確認するため、第二のコケ坊主体について同様の解析を行い、塩基配列を取得した。さらに、コケ坊主生態系によって得られた微生物の細胞を希釈した反応系において、1 細胞遺伝子の増殖に成功した。

海底熱水地帯の微生物解析ではこれまで南部マリアナトラフの熱水地帯で、拡大軸上に存在する Snail site と、拡大軸上から少し離れた Pika site で掘削孔から遊出する熱水を採水することに成功した。20 年度は熱水噴出口孔付近の微生物マットに注目し、その微生物群集の解析を行った。微生物マット試料から微生物のゲノム DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子と機能遺伝子(メタン酸化、アンモニア酸化、硫酸還元)の PCR クローン解析と定量 PCR をを行い、また、蛍光顕微鏡観察によって微生物群集構成と存在量、多様性を調査した。その結果、微生物マット中に系統的・代謝機能的に多様な微生物(真正細菌と古細菌)群集の存在が明らかになり、*Zetaproteobacteria* 綱という、最近報告された新しい分類群に属する 16S rRNA 遺伝子配列が多数検出された。現在、唯一分離培養されている *Zetaproteobacteria* の種は、微好気性独立栄養性鉄酸化菌である鉄酸化菌グループと予想されるが、一次生産者として海底地殻環境の微生物生態系を支えている可能性がある。

2) 極限環境生物統合データベースの構築

20 年度も引き続き、分類作業とデータの更新を行った。とくに、昭和基地周辺スカーレン大池湖底堆積物中の珪藻について分類学的検討を行った。珪藻の種組成からスカーレン大池は以前海洋環境にあったが、汽水環境をへて現在の淡水環境へ変化したと考えられた。一方、極地研収蔵標本(藓類)の 3D 画像データベースシステムについては、データ取得作業を続行するとともに撮影技術並びにソフトウェアの改良を続け、冷凍標本解凍試料においても、鮮明な原色を再現できる撮影技術を確立した。また、3D 画像上で試料の任意点の長さを測定できる計測システムを構築し、特許申請を行った。国内から極地に至るまで汎地球的に分布するコケ類を対象に、地球上での分散機構と生存戦略をゲノム構造多様性の面から解明することをめざし、そのための対象種として選定したギンゴケ (*B. argenteum*) について、ゲノム構造解析用試料の個体培養を進めている。これまでのところ、極地研で採集した標本に加え、スピッツベルゲンおよび SOYA 海岸由来の凍結試料からコケ生体の再生に成功した。宗谷海岸採取の試料は採種年月がおよそ 25 年前のものであること、コケと同時にクマムシと線虫の生存が確認できた点で極めて興味深い。

7. 平成 20 年度の研究成果

サブテーマ「古環境タイムカプセルとしての氷床コアの解析」

1) 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

①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

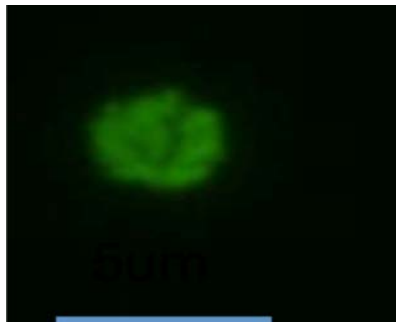
(1) アイスコア中の微生物及び生物起源物質解析法の改良：

ドームふじ基地の氷床下から採取された大陸起源と考えられる微量な氷から、氷内部の試料を無菌的に採取するための融解装置の開発をおこない、それを用いて氷試料内部の採取をおこなった。作成した融解装置を用いて抽出した試料に対して SYBR Gold で核酸を染色し、蛍光顕微鏡を用いて微生物細胞密度の測定を行った。その結果試料中には $1\mu\text{m}$ サイズのものは 200cells/ml, $3\mu\text{m}$ サイズのものは 100cells/ml 検出された。また、試料から核酸を抽出し、PCR で遺伝子増幅が確認され、塩基配列の解読をおこなった。DNA データベースと照合した結果、各種バクテリアや、光合成生物であるシアノバクテリアに近縁な遺伝子配列を検出するこ



左図：氷内部の試料を無菌的に採取する装置

下左図：南極氷床のドームふじ基地の氷床下試料から採取された大陸起源と考えられる微量な氷下中・右図：南極氷床下から検出された微生物 (スケールは $5\mu\text{m}$)



とに成功した。極限環境の微生物データベースの情報を加えることにより、新たな古環境指標として利用できる可能性を明らかにした。さらにこれまで分子生物学的研究がほとんどされてこなかった南極の湖沼、湖底、土壌、雪、コケなどの試料から、16SrRNA 遺伝子の遺伝子解析をおこない、これまで明らかにされてこなかった南極の微生物の解析をおこなった。

(2) ドームふじ氷床コアの微生物解析

蛍光顕微鏡による直接観察により球状バクテリア、放線菌の細胞数を計測し、1ml 辺りの細胞密度を推定した。この結果、球状のバクテリアの濃度が深度 580m, 2009m, 2349m でそれぞれ約 18000, 5800, 9000cells/mL と他の部分に比べ非常に多かった。これらの深度は南極外から飛来してきた鉱物粒子量が非常に多い層と一致する事から、鉱物粒子と共に飛来してきたバクテリアである可能性が考えられる。また、糸状の放線菌様のバクテリアは深度 115-491m, 736-810m にかけて多く、特に 230m, 764m においては、体積バイオマスが 104,000, 79,000 $\mu\text{m}^3/\text{mL}$ と非常に高かった。これらの深度は特に鉱物粒子が多いそうでは無いため、風送微粒子と共に飛来してきた可能性は低いと考えられ、また好冷性微生物が現地で増殖していた可

能性も、ドームふじ基地が非常に寒冷な環境である事から、非常に低いと考えられる。また、走査型電子顕微鏡で採取した糸状微生物は、形態的には放線菌の一種に類似している事が明らかとなった。

図1：球形バクテリアの微深度分布

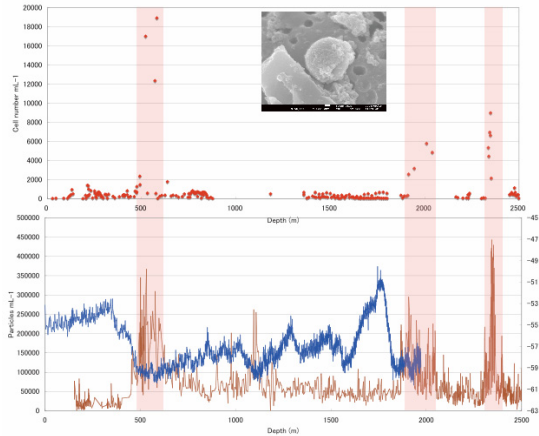
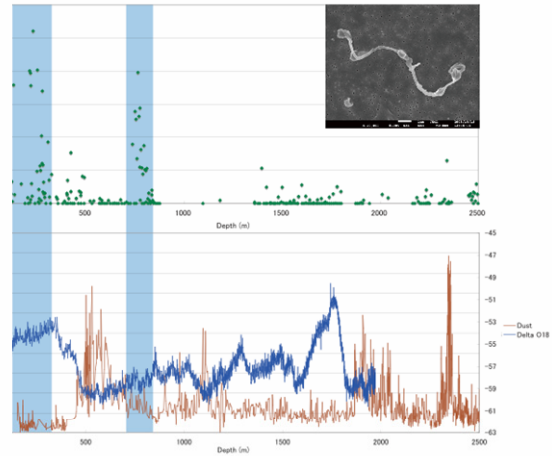


図2：糸状バクテリア様粒子の深度分布



②氷河生態系におけるバクテリアの生態

(1) チリ火山群氷河のアイスコアと雪氷微生物

南米チリ共和国中部火山群の Mocho 火山（標高 2,415m）にて採取したアイスコアを対象として、この地域で最初のアイスコア中の雪氷微生物分析による古環境復元を行ない、その成果を専門誌上で発表した。採取したアイスコアには雪氷藻類、バクテリア、有殻アメーバなどの雪氷微生物および花粉などの風送生物粒子が含まれていた（図 1）。

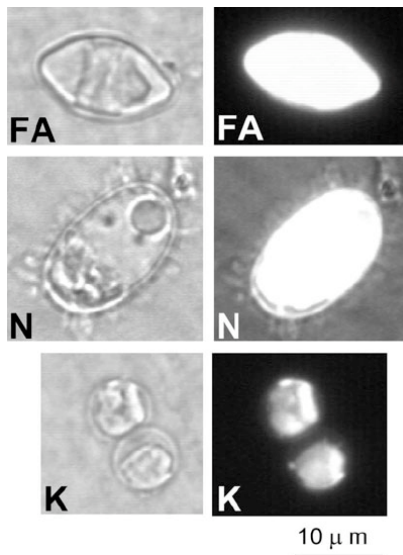


図1：モチヨ氷河アイスコアに含まれていた雪氷藻類

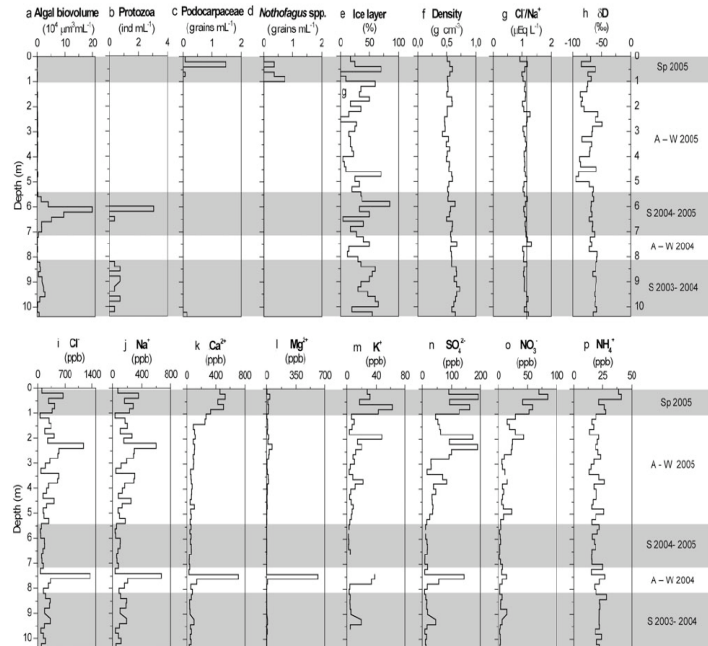


図2：モチヨ氷河アイスコア中の生物粒子、同位体、化学成分年変動

これらの生物起源粒子がアイスコア中で明確な季節変動を示したのに対して、従来のアイス

コア解析で年代決定に用いられて来た同位体や化学成分はいずれも明確な季節変動を示さなかった(図2)。これらの生物起源粒子の季節変動から復元した氷河涵養量の年変動は、実際の観測データと非常に良く一致した。以上のことから、融解の激しいこの地域のアイスコア解析における生物起源粒子分析の有効性が明らかになった。

(2) アジア高山域の氷河微生物群集

ネパールヒマラヤ氷河の微生物群集の調査をおこなうとともに、これまでに得られたサンプルの分析をすすめた。ヒマラヤのランラン地域のヤラ氷河を調査した結果、この氷河は過去11年間で末端位置が約200m後退していることが明らかになった(図3)。

この氷河の表面をおおい融解を加速している生物起源汚れ物質から9種の雪氷藻類が確認された。ヤラ氷河の90年代の調査結果と比較した所、雪氷藻類の高度分布に変化があることが明らかになった。これは近年十数年の氷河変動が、微生物群集に影響を与えていることを示唆している。一方、富山県立山で行った残雪上の微生物調査の結果(後述)、雪氷藻類の繁殖は融解が激しく日射も強い初夏に最大になるわけではな



く、春から夏まで単調に増加し、8月から9月に新雪が降る直前に最大になることが明らかになった。この季節変化の要因は、日射や融解などの条件では単純に説明できない。黄砂や降雨で供給される栄養塩などが関係している可能性がある。今後、化学的な分析などをさらに進め、雪氷微生物相の変化の原因となる環境要因を明らかにする必要がある。

図3: 生物起源汚れ物質によって近年大きく後退したヒマラヤのヤラ氷河

(3) 西グリーンランドの氷河微生物

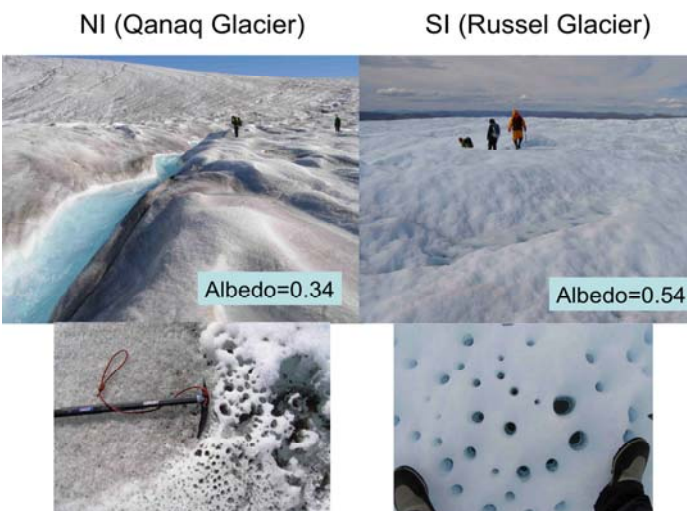


図4: グリーンランド北西部(左)と南西部(右)では汚れ物質の量や質、氷河の表面構造に大きな違いがある

温暖化による海面上昇への大きな寄与が予測されているグリーンランド北西部のカナク周辺、西部のイルリサット周辺、および南西部のカングルーサック周辺の氷河を調査した結果、氷床北西部ではヒマラヤと類似した生物的汚れ物質が氷河表面を覆い、氷河消耗域のアルベドが大きく低下していたのに対して、南西部では、氷河表面に深い縦穴が発達するためにアルベドが高く保たれるなど、地

域によって汚れ物質の量や質、氷河の表面構造に大きな違いがあることが明らかになった (図4)。

採取した氷サンプル中の雪氷微生物を分析した結果、北西部と南西部の雪氷微生物の生物量と種類層に大きな違いがあることが明らかになった。北西部の生物量が南西部の生物量を大きく上回っている原因としては、栄養塩供給量の違いが関係している可能性が示唆されたため、更なる分析を行う予定である

(4) 雪氷バクテリアの分類学的研究

立山・内蔵助雪渓から分離したバクテリア (KuFM 株) について分類学的研究を行った。氷河や雪渓等の雪氷圏に多様な微生物群集が生息し、雪氷藻類では、アイスコア解析の環境指標として用いることが出来るなど、地球環境問題においても重要な役割を果たしていることが知られている。雪氷圏には、藻類の他、バクテリアやカビ、酵母なども存在しており、バクテリアについては、立山・内蔵助雪渓やアラスカ・グルカナ氷河で、それぞれ季節や高度による優占種の変化が見られることが報告されている (Segawa, et al. 2005; 新領域プロジェクト平成17年度研究成果報告書)。このことから、雪氷藻類と同様、バクテリア相もまた環境に応じて変化すると思われ、アイスコア解析における環境指標になり得る可能性がある。しかしながら、雪氷圏に生育するバクテリアについての知見は少なく、アイスコア解析の指標に用いるためには、生育特性などの特徴を明らかにする必要がある。本研究で用いた KuFM 株は、本プロジェクトにおいて、平成17年度に立山・内蔵助雪渓から分離され、16SrDNA 解析の結果では、*Bacteroidetes* 門 (*Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* グループ) の *Hymenobacter* 属由来の 16SrDNA に対し最も高い相同性を示した株である。また、アラスカ・グルカナ氷河のクローン解析において上流部で優占するクローン (GU-Clone-1) (新領域プロジェクト平成17年度研究成果報告書) や、チリ・モチョ氷河からの分離株 (Mocho 108R) とも高い相同率 (99%)

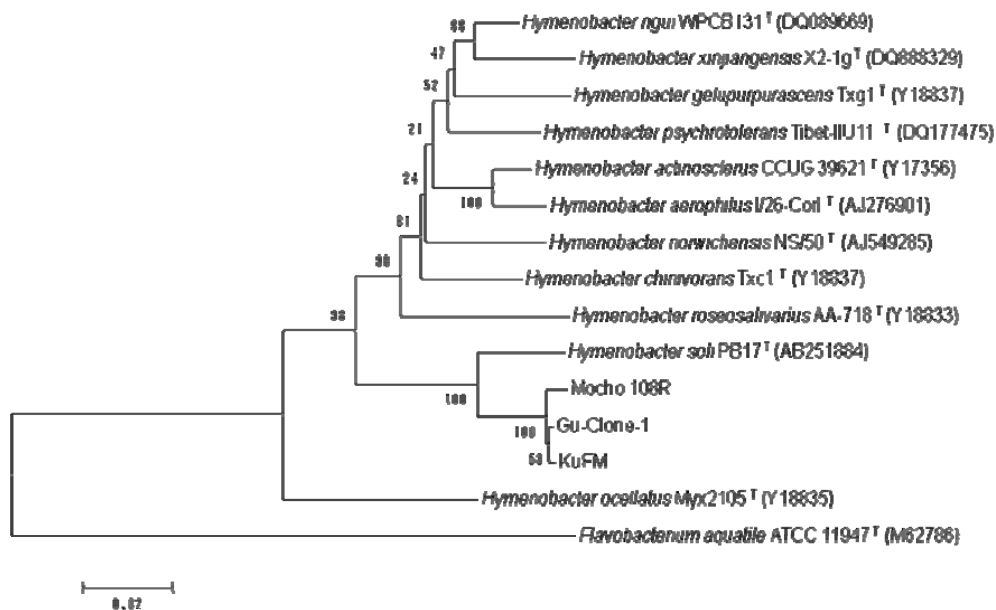


図5：立山・内蔵助雪渓から分離したバクテリア (KuFM株) の分子系統解析結果

前後)を示しているなど、雪氷圏に幅広く分布する種と思われたことから、本研究において、その分類学的特徴を明らかにした。分子系統解析の結果、KuFM株は、GU-Clone-1, Mocho 108Rと共に、一つのクラスターを形成した (Fig. 1)。このクラスターの系統枝のブートストラップ値は、100%と高いことから、既知の *Hymenobacter* に属する種とは系統的に異なる可能性が高いことが分かった。最も近縁な既知種との相同性は、*H. soli* PB17 株 (Kim, et al. 2008) に対し 96.2%であったことから、KuFM 株を含むクラスターは、*Hymenobacter* 属の新種を形成する可能性が高いと推定された。(図 5)

(5) リアルタイム PCR アレイ法による雪氷試料中の抗生物質耐性遺伝子検出

雪氷中には、好冷ないしは耐冷性の細菌が生息している (Amato et al., 2007; Christner et al., 2003; Segawa et al., 2005)。これらの細菌は、極限微生物として認識されているものが含まれるが、通常の土壌細菌や腸内細菌にも頻繁に検出されている (Segawa et al., 2005; Sheridan et al., 2003)。こうした通常の細菌の由来は、よくわかっていない。可能性として、鳥類など動物の糞便 (Sjölund et al., 2008) が議論されているが、このほかにも大気循環による微生物の運搬も可能性として否定できない。後者の場合、人間の社会活動から相当の距離的隔絶があったとしても、人間の社会活動に由来する細菌が運ばれてきて検出されることになる。抗生物質耐性菌の出現と伝搬は、人間の社会活動が地球環境に与えたインパクトの一つであると考えられるようになってきた (Cabello, 2006; Chee-Sanford et al., 2001; Goni-Urriza et al., 2000)。従って、人間の社会活動の影響から隔絶していると考えられる氷河雪氷中で抗生物質耐性菌がどのくらい検出されるか検討すれば、人間の社会活動が地球環境に与える影響を評価できると期待される。本研究では、これまで DNA マイクロアレイを用いた南極雪氷試料の評価、PCR 法による南極雪氷試料の評価を実施してきた。今年度は、リアルタイム PCR 法を用いたアレイを構築し、南極雪氷試料およびアラスカ氷河試料における抗生物質耐性遺伝子検出頻度を評価した結果を取りまとめた (Ushida, et al., 2009)。

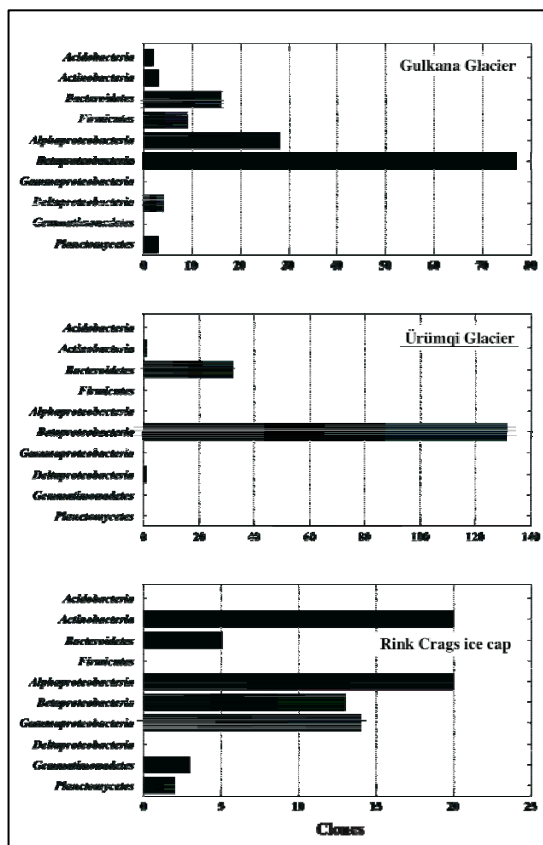


図 6. 調査した各氷河のバクテリアの種類分布

分析の結果、16S rRNA 遺伝子を含む 94 セットのプライマーとプローブのうち、陽性対照とした 16S rRNA 遺伝子は、いずれの試料からも検出された。しかし、アラスカ試料に比べ南極試料で CP 値 (25 対 28) が大きく、当該の遺伝子濃度が薄いことが示唆された。3 サイクルの差は、大まかにいって 1000 倍の濃度差があることを示唆している。また、陰性対照では非

常に低い数値が得られた (45) ので、本実験系で一定のコンタミは示唆されるものの、CP 値からその程度が推測されるのではないかと思われた。一方、*cat1* と *tetC* は、ほぼ一定の CP 値 (30~40) をもって陰性対照の精製水を含むすべての試料から検出されたので、これらの遺伝子 DNA によって、本実験系で用いたいずれかの試薬、酵素類、チューブ、チップが汚染されていたことを示している。現段階では、残念ながら汚染源は突き止められていない。これらの遺伝子を、考慮から省くと (カッコ内は CP 値の平均) *aacC1* (44), *aph(6)* (40), *ampC* (36), *blaCTX-M* (43), *msrA/B* (42), *tet(D)* (36), *tet(E)* (43), *tet(G)* (48)が、比較的低い濃度でアラスカ試料から検出されたが、いずれも南極試料からは検出されなかった (図 6)。

今回の実験で、リアルタイム PCR アレイ法による網羅解析が、本研究に適用できることが明らかとなった。とくに、検出される遺伝子水準は相当低いものと判断されたが、CP 値による水準の比較が可能な点で、これまでに採用した方法よりも優れていると思われた。南極試料は、アラスカ試料に比べ検出される耐性遺伝子は、相当少ないものと判断され、比較的人間の社会活動から隔離されているものと推測された。

(6) 南極氷床中の花粉分析

本研究では、南極雪氷試料に含まれる花粉の起源を特定し、それを固体微粒子のマーカーに用いることによって、南極氷床への物質輸送に関する時系列変化および空間分布の解明を目指している。花粉の起源は、花粉 1 粒ずつの DNA 分析から種を同定し、その植物の分布域をもとに決定するというアプローチを取っている。しかしながら、南極雪氷中の花粉については研究例が少なく、花粉の濃度・種類・保存状態についてはほとんど知られていない。そこで、20 年度は南極の 3 地点で採取した雪試料について花粉の濃度・種類・保存状態を調べた。花粉濃度については暫定的な値であるが 0.2~1.2 粒/kg の値を得た。昭和基地の積雪約 10kg を使用した先行研究 (山中ら, 1983) では 1.9 粒/kg が報告されており、本研究の結果はそれと同様の値を示した。花粉の種類については、マツ属・ヒノキ科・カバノキ科・ヨモギ属等が検出された。その中でもマツ属花粉が最も多く、50~100%を占めた。一方、花粉の保存状態は良好であった。破損している花粉はほとんど無く、さらに原形質が認められた物も多かった。本研究では花粉 1 粒ずつの DNA 分析を目指しており、この結果はその対象となる花粉が多いことを示唆した。

上記の結果をもとに、20 年度はさらにマツ属花粉 1 粒ずつを対象とした DNA 分析手法の開発に着手した。手法開発に際して、マツ属花粉 1 粒ずつを雪試料から単離する操作と、DNA を増幅する PCR の条件設定が主な検討課題となった。マツ属花粉 1 粒ずつを雪試料から単離する操作は、融解試料中の花粉を直径 13mm のフィルター上に濃縮し、マイクロマンピュレータで単離する簡便な方法を確立した。一方、花粉 1 粒ずつの DNA 分析については、ロシア・アルタイ山脈の氷河雪試料から抽出した花粉をもちいて、マルチプレックス PCR 法による葉緑体 DNA 増幅に成功した。雪氷試料中の花粉 1 粒ずつの DNA 分析についてはこれまで報告は無く、本研究が最初の成功例となる。今後は PCR 条件を最適化し、南極雪試料中の花粉についても DNA 分析を実施する。

表 1. 南極雪試料の花粉分析結果

地点	採取日 (2007年)	試料 (kg)	濃度 (粒/kg)	マツ属	ヨモギ属	ヒノキ科	カバノキ科	不明
昭和基地	3月29日	11.2	0.5	4	1	1		
昭和基地	4月13日	11.1	0.2	2				
昭和基地	5月4日	10.3	0.4	2				2
S18	11月11日	7.4	1.2	9				
ドームふじ	1月10日	10	0.9	7		1	1	

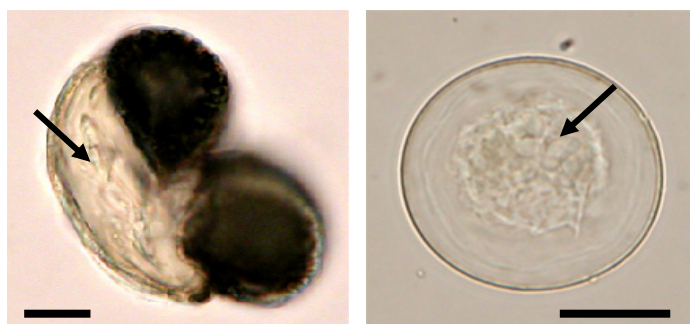


図 1. 南極雪試料から見つかったマツ属花粉 (左) とヒノキ科花粉 (右)。スケールは 10 μ m。いずれも原形質 (矢印) が確認できる。

2) 氷床コアゲノム解析法の開発

本研究プロジェクトのサブテーマとして、昨年度から難培養性微生物の解析手法の開発を行っている。1 細胞からのゲノム解析技術に関する 2 つの技術開発、「1. 1 細胞の分取技術 (レーザーマイクロダイセクション法)」と、「2. 全ゲノム増幅法 (Phi29 DNA polymerase 法)」の平成 20 年度の取り組みについて得られた知見を報告する。

1. 1 細胞の分取技術 (レーザーマイクロダイセクション法)

微生物 1 細胞を分取する方法として、レーザーマイクロダイセクション顕微鏡を用いた。通常この顕微鏡は組織切片から必要な領域のみをレーザーで切り出すような用途で用いられているものである。我々は微生物が観察できる高倍率のレンズ (X150) を使い、冰山から分離した微生物が認められた微小領域のみを切り出した。この際、微弱な静電気が切断片の回収の妨げとなったが、除電装置を顕微鏡近傍に複数設置することで回収効率を高めることができた (図 1)。回収試料を凍結融解、界面活性剤等で溶菌し、高精製度の試薬を用いた PCR を一回行うことで 16S rRNA 遺伝子を増幅し塩基配列を決定することに成功した。これらの成果は、レーザーマイ

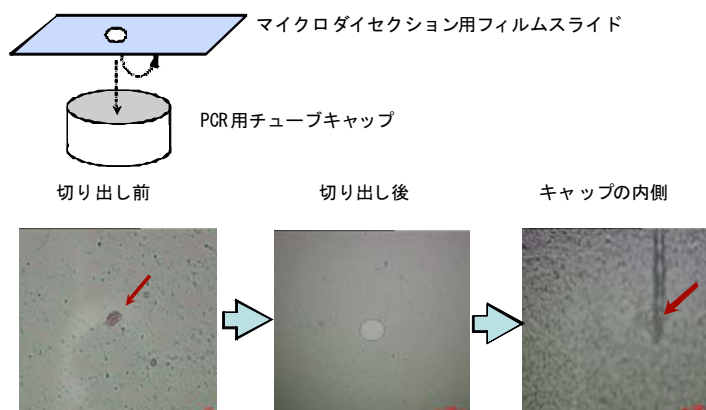


図 1 レーザーマイクロダイセクション顕微鏡による微生物の分取

試料をフィルムスライドに塗布し、顕微鏡で微生物を観察する。分取したい微生物 (赤い矢印) をフィルムごとUVレーザーにより切出す。フィルム断片は重力により下方のチューブキャップに回収される。この際、フィルム断片が小さいため微弱な静電気により落下しない場合があるが、除電器により回収効率を高めることができた。

クロダイセクション法を用いた1細胞のゲノム情報取得法としては、これまでに報告がないものである。

2. 全ゲノム増幅法 (Phi29 DNA polymerase 法)

枯草菌 *Bacillus subtilis* のファージDNAにコードされた Rolling Circle 型の DNA polymerase である Phi29 DNA polymerase を用いることで、*in vitro* で全ゲノムレベルの DNA 増幅にも有効であることが2003年に J.M. Lage らによって報告された。しかしながら、Phi29 DNA polymerase を用いた DNA 増幅にはテンプレート DNA が存在しない場合にも primer だけでバックグラウンドの DNA 増幅が起こるなど、極微量のテンプレート DNA、細胞数としては約 1,000 細胞以下のゲノム DNA 量からの全ゲノム DNA 増幅への適用は困難であるとされた。その後、多くの改良が提案され、昨年度に報告した primer の修飾や反応液組成の変更などにより微生物（細菌）の1細胞からの全ゲノム DNA 増幅の実用化に目処を立てた。本年度は大腸菌や枯草菌を用いてモデル実験系を構築し、細胞を希釈した反応条件下で1細胞レベルでのゲノム DNA 増幅に成功した（図2）。現時点での課題は、コントロール（0細胞）で時々検出される、実験室の浮遊性常在菌と思われる微生物（細菌）の反応系への混入を防ぐことにある。また、これまで大腸菌（ヒトの腸内細菌）や枯草菌（一般土壌細菌）といった培養や取り扱いが容易なモデル生物での反応条件を整備してきたが、本研究プロジェクトにおける最終的な目標は南極のアイスコア氷中を含めた培養不可能な微生物

からのゲノム解析法の確立である。そこで、より実戦的な対象として、南極湖沼の「コケ坊主」生態系から実験室条件下で培養可能な微生物（細菌）の分離を行った。グルコース栄養最小培地および富栄養 LB 培地を用

いて、「コケ坊主」の解体断片からいくつかの菌株を4℃で分離した。その中で、南極湖沼における代表的なグラム陰性細菌のうち Proteobacteria に属する *Pseudomonas antarctica* として報告されているものと 16S rRNA 全長配列 (1382 bp) が 99%一致する菌株 (*Pseudomonas antarctica* strain MPO1001) と、Bacteroidetes に属する *Flavobacterium xanthum* として報告されているものと 16S rRNA 全長配列 (1384 bp) が 99%一致する菌株 (*Flavobacterium xanthum* strain MPO1101) に着目した（図3）。共に南極環境に適応した好冷性細菌としての生育能を示したが、*P. antarctica* strain MPO1001 は貧栄養のグルコース栄養最小培地条件でも生育し、*F. xanthum* strain MPO1101 は富栄養 LB 培地や好塩性の Marine 培地への適応を示した。パルスフィールド

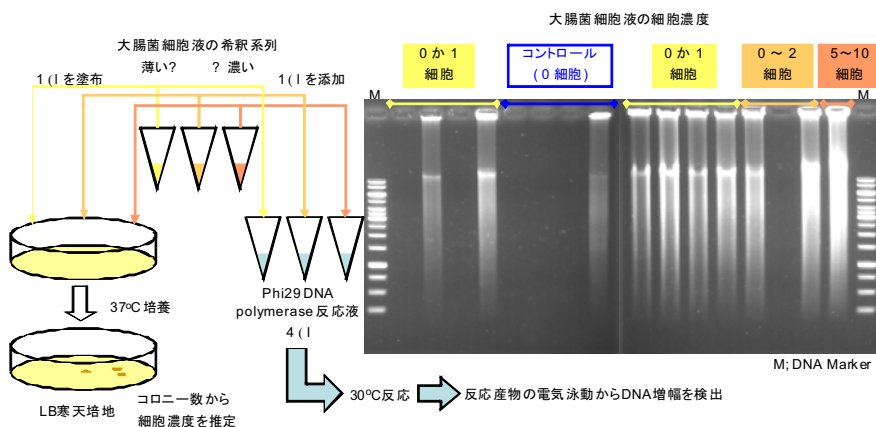


図2 細胞希釈による1細胞レベルでのゲノムDNA増幅

昨年度の検討で最適化した修飾 primer や反応液組成に基づき、大腸菌や枯草菌を用いて細胞液を希釈したモデル実験系を構築し、1細胞レベルでのゲノムDNA増幅に成功した。現時点での課題は、コントロール(0細胞)で時々検出される、実験室の浮遊性常在菌と思われる微生物(細菌)の反応系への混入を防ぐことにある。

ド電気泳動により、それぞれのゲノム DNA サイズは約 4.7Mb および 4.2Mb と推定された。これらは中温性菌の大腸菌 K-12 株 (4.6Mb) や枯草菌 168 株 (4.2Mb) と同程度であるが、ゲノム DNA の GC 含量は大腸菌 K-12 株 (51%) や枯草菌 168 株 (44%) とは大きく異なり、*P. antarctica* strain MPO1001 は高 GC (64~67%)、逆に *F. xanthum* strain MPO1101 は低 GC (32~34%) と、独自の進化と南極環境への適応、そして「コケ坊主」生態系における共生システムとの関連性に興味ある知見が示唆された。さらに、それぞれのゲノム領域を 99% 以上カバーする Fosmid ライブラリーの構築も終え、今後はこれらの研究基盤を活用することで、1 細胞レベルでのゲノム DNA 解析技術を実際の南極に生息する細菌で実証していく計画である。

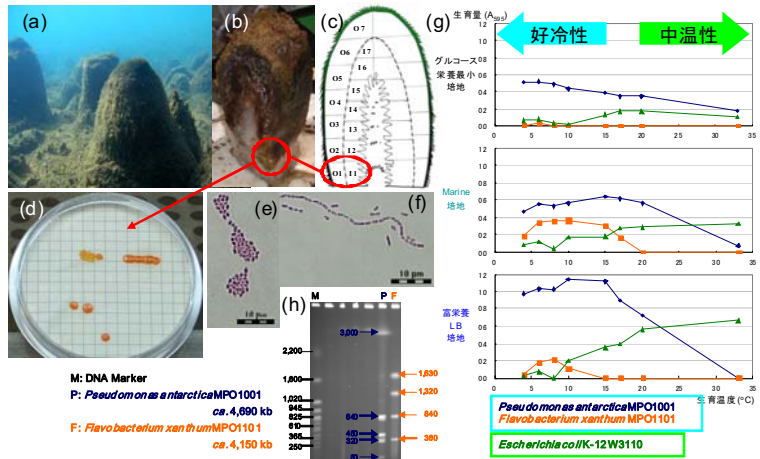


図3 南極湖沼「コケ坊主」生態系から分離された細菌

(a) 南極湖沼の「コケ坊主」生態系、(b) その解体断片、(c) 解体断片の模式図、(d) 「コケ坊主」基部の解体断片より分離された微生物コロニーの例 (富栄養 LB 培地、4°C)、(e) グラム陰性細菌 *Pseudomonas antarctica* strain MPO1001 の顕微鏡写真、(f) グラム陰性細菌 *Flavobacterium xanthum* strain MPO1101 の顕微鏡写真、(g) 分離された好冷性細菌の培地および温度条件による生育量の比較、(h) パルスフィールド電気泳動による分離された細菌のゲノム DNA サイズの推定

3) 難培養微生物のゲノム解析手法の開発

(1) 短いゲノム断片配列を対象とした系統推定法の確立

20 年度は、我々が開発を行ってきた一括学習型自己組織化地図マップ法 (Batch-Learning Self-Organizing Map, BLSOM) によるメタゲノム解析由来の断片配列の高精度な生物系統分類法に改良を加え、短いゲノム断片配列に対しても高精度な推定を可能とするための手法改良の検討を行った。昨年度の南極表層のメタゲノム解析で得られた塩基配列は、雪水中に含まれる細胞数が少なく (100~1,000 cell/ml)、結果として平均 250bp 程度の比較的短い断片配列が得られる例が多かった。さらに、最近、次世代シーケンサの登場により、より安価に短時間で大量な塩基配列決定が可能となり、メタゲノム解析もさらに大規模に実施されつつある。短いゲノム断片配列に対しても高精度な系統推定が必要となっている。これまで用いてきた最適解析条件 (縮退 4 連続, 断片化サイズ 1kb) を、縮退 3 連続塩基, 断片化サイズを 500nt に変更し、既知微生物ゲノムを対象に BLSOM 解析を行ったところ、これまでの分解能とほぼ同程度の分離能が得られた。

短いゲノム断片配列に対し、適切な解析条件を設定し組み合わせることで、より精度高い推定が可能と考えられる。今後は更なる改良を試み、開発している解析ソフトへの実装を行う。また、短いゲノム断片配列に対する新たな生物系統用の分子マーカーとして、tRNA 遺伝子に着目し、生物系統間での保存関係を調べたところ、生物系統を反映した保存関係が見られる例が多数見出された。系統分子マーカーとしての tRNA 遺伝子の利用の可能性を見出すことが出来た。

(2) データベースに蓄積の著しい機能未知のタンパク質類の機能推定法の開発

メタゲノム解析において、取得されたゲノム断片配列にコードされている遺伝子の機能を知ること重要な課題である。タンパク質の機能については、オリゴペプチドが構成する機能部品類の3次元上での立体配置が重要であり、同一ないしは類似の機能を持つタンパク質間でも、アミノ酸の1次元配列上での全域に渡る相同性を見付けられない例が多く、メタゲノム解析のように新規性の高い遺伝子が取得された場合には、特にアミノ酸配列の相同性検索でタンパク質の機能推定が困難となる。異なる原理に基づくタンパク質の機能推定法の確立が急務と

言える。BLSOMをタンパク質に適用し、オリゴペプチドの使用頻度の類似度を基礎にしたタンパク質の機能推定法の開発を目的として、タンパク質の2~4連アミノ酸頻度を対象にしたBLSOM解析を実施した。この解析では原核生物を中心としたタンパク質の機能カテゴリデータベースであるCOG (Cluster of Orthologous Group, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/>)を用い、機能が既知な機能カテゴリ (COGIDの種類数は2,853:配列数は113,738)を解析データとした。2連アミノ酸頻度 (202=400, Di20-BLSOM)ならびに、20のアミノ酸を物理化学的な類似性で11のカテゴリに集約した上での3連アミノ酸頻度 (113=1331, Tri11-BLSOM), 6のカテゴリに集約した上での4連アミノ酸頻度 (64=1296, Tetra6-BLSOM)に着目した。各タンパク質のアミノ酸配列の全長と、200アミノ酸のwindow (断片化)を設けて50アミノ酸のstepで移動させた場合 (約47万件)とを試みた。アミノ酸配列全長を用いるよりも、windowを設けた方が、分離能が良く、11に集約させた3連続アミノ酸の場合に分離能が最も良かった (図1)。

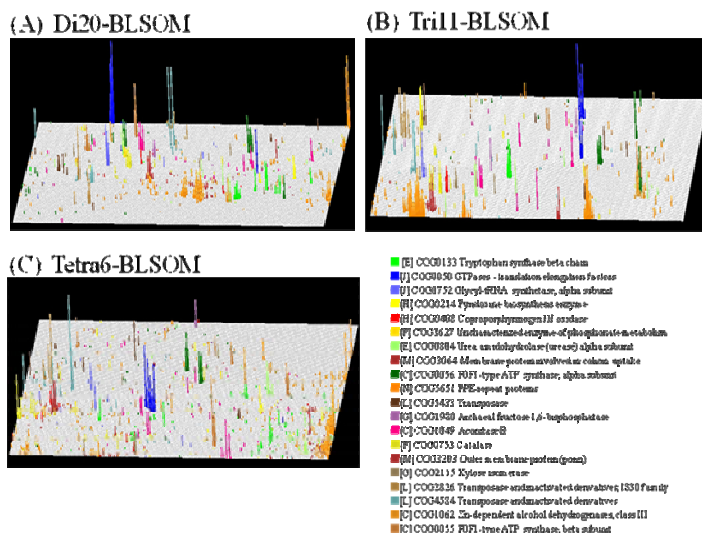


図1. COG機能カテゴリごとのBLSOMマップ上での分布

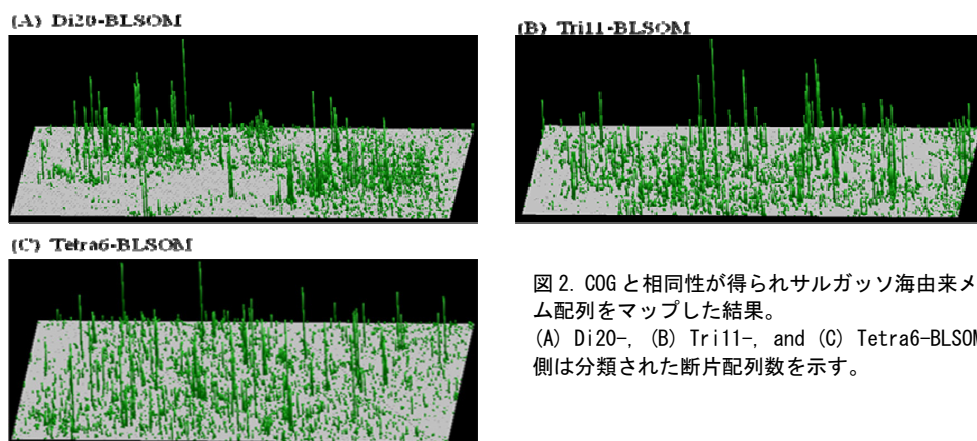


図2. COGと相同性が得られサルガッソ海由来メタゲノム配列をマップした結果。(A) Di20-, (B) Tri11-, and (C) Tetra6-BLSOM. Z軸側は分類された断片配列数を示す。

機能カテゴリごとに高い頻度で分類されていた条件を用いて、メタゲノム解析由来の機能未知タンパク質の機能推定を行った。予備的な解析として、機能既知タンパク質と配列相同性を示したメタゲノム由来のタンパク質を解析すると、その約 90%が相同性検索と一致する結果を与えた(図 2)。さらに機能既知配列と有意な相同性を示さなかった配列を対象に解析したところ、対象としたメタゲノム由来タンパク質の約 20%に対し、機能を新たに推定できた。配列相同性検索や機能モチーフ検索を補完する、適用範囲の広いタンパク質の機能推定法として BLSOM が有用なことが示された。

サブテーマ「極限環境生物システムの比較研究」

1) 極限環境の生物

①極限環境に生息する線虫の研究

南極は極めて低温で乾燥した生命にとっての極限環境である。このような環境に生命はどのようにして適応したのであろうか?この謎を解明するための重要な手法が比較ゲノム解析である。我々は南極線虫 *Panagrolaimus davidi* を用いて、この線虫が通常環境と極限環境とで発現する遺伝子の種類の違い、及び発現量の違いを比較し、この線虫の持つ高度な乾燥・凍結耐性の本体、すなわち乾燥・凍結耐性遺伝子を同定したいと考えている。

この目的のため、我々はまず *P. davidi* を環境ストレスのない良好な標準環境(温度 20°C において十分な水分、エサを与えた状態)で飼育し、このような線虫から mRNA を調整し、標準となる cDNA ライブラリを構築した。通常、生物は耐性状態に移行するためある程度の準備期間が必要であるが、この線虫は急激な凍結、乾燥に対しても強い耐性を示すため、標準環境にあってもある程度の耐性遺伝子が恒常的に発現されているものと考えられた。実際に 1 万クローンの cDNA 配列を解析したところ、期待された耐性遺伝子の候補を複数含んだ多様な遺伝子が幅広く発現されていることが判明した。*P. davidi* の遺伝子発現プロファイルを *C. elegans* のそれと比較したところ大きく異なっており、*C. elegans* では成長・増殖に関する遺伝子の発現が著しく高い発現レベルを示すのに対し、*P. davidi* では構造タンパク質やストレス耐性遺伝子の発現レベルが高くなっていた(図 1)。これはそれぞれの生存戦略に応じた遺伝子発現を反映しているものと思われる。*C. elegans* は温暖湿潤で、栄養豊富な環境に生息しており、おそらく良好な条件で(他の線虫より)早く成長し、より多く子孫を残すことで種の維持を行ってきたものと思われる。一方、*P. davidi* は寒冷乾燥で貧栄養な南極大陸を生活環境としており、成長や増殖よりも厳しい環境に対するバリアや、耐性遺伝子により多くの投資を行うことで種を維持してきたものと考えられる。現在、さらに cDNA の配列解析数を 2 万 5 千クローンまで増やし、その結果、および *C. elegans* の発現プロファイルとの比較について論文にまとめている。これは南極環境に生息する特殊な線虫の発現解析であるというばかりでなく、一般に多く行われている数千クローンの発現解析と単純に比べて 1 桁大きな解析結果であり、論文としてのインパクトは十分に大きいと考えている。

以上の大規模な cDNA 配列解析の結果、複数の凍結・乾燥耐性遺伝子の候補が見つかったが、この中でも我々はライブラリの中で比較的高いレベルで発現していた LEA (Late Embryo

Caenorhabditis elegans

rank	permil	gene	gene function
1	5.44	<i>eft-3</i>	elongation factor
2	3.93	<i>vit-6</i>	vitellogenin
3	3.89	<i>vit-6</i>	vitellogenin
4	3.29	<i>tag-61</i>	ADP/ATP carrier proteins
5	3.03	<i>tag-61</i>	ADP/ATP carrier proteins
6	2.77	<i>vit-2</i>	vitellogenin
7	2.63	<i>act-4</i>	actin
8	2.56	<i>tag-61</i>	ADP/ATP carrier proteins
9	2.49	<i>act-4</i>	actin
10	2.46	<i>rpl-3</i>	ribosomal protein
11	2.38	<i>rpl-3</i>	ribosomal protein
12	2.33	<i>rpl-3</i>	ribosomal protein
13	2.31	<i>rps-8</i>	ribosomal protein
14	2.29	<i>rack-1</i>	G protein beta
15	2.28	<i>rpa-0</i>	ribosomal protein
16	2.26	<i>rpl-3</i>	ribosomal protein
17	2.26	<i>act-4</i>	actin
18	2.21	<i>asp-1</i>	protease
19	2.17	<i>rpl-3</i>	ribosomal protein
20	2.13	<i>vit-6</i>	vitellogenin
219	0.63	<i>cey-2</i>	cold shock/Y box protein
240	0.57	<i>lea-1</i>	heat-resistant protein

Panagrolaimus davidi

rank	permil	gene	gene function
1	18.77	<i>col-34</i>	cuticular collagen
2	17.27	<i>act-4</i>	actin
3	9.93	<i>col-89</i>	cuticular collagen
4	9.52	<i>asp-1</i>	peptidase
5	9.11	<i>eft-4</i>	elongation factor
6	8.30	<i>col-170</i>	collagen
7	7.21	<i>col-169</i>	collagen
8	6.94		no frame
9	6.39	<i>elo-2</i>	palmitic acid elongase
10	6.12	<i>rol-8</i>	cuticular collagen
11	5.98	<i>col-89</i>	cuticular collagen
11	5.98	<i>tag-316</i>	ADP/ATP translocase
13	5.85	<i>gpd-2</i>	GAPDHs
14	5.71	<i>vit-2</i>	vitellogenin
15	4.62	<i>vit-5</i>	vitellogenin
16	4.08	<i>asp-3</i>	aspartyl protease
17	3.94	<i>asp-6</i>	protease
18	3.81	<i>eft-2</i>	elongation factor
19	3.67	<i>atp-2</i>	ATP synthase
20	3.40	<i>unc-54</i>	myosin heavy chain
54	1.77	<i>lea-1</i>	heat-resistant protein
60	1.63	<i>cey-2</i>	cold shock/Y box protein

図1 モデル線虫 *C. elegans* と南極線虫 *P. davidi* の発現プロファイル比較

モデル線虫 *C. elegans* と南極線虫 *P. davidi* のcDNA解析の結果、発現レベルの高い遺伝子、上位20位までについて、および代表的な低温・乾燥耐性の候補遺伝子についての順位、存在比(千分率)、類似遺伝子名とその機能を示した。(水色はタンパク質代謝系の遺伝子、黄色は卵黄タンパク質遺伝子、紫色はクチクラなどの構造タンパク質遺伝子、マゼンタは低温、乾燥耐性遺伝子)

Abundant) 遺伝子群に注目している。LEA 遺伝子は多くの生物において乾燥条件によって発現が誘導されるタンパク質で、親水性の11アミノ酸の特徴的な繰り返し配列を持つ。この配列が水分子の保持、タンパク質の保護などに働いているのではないかと考えられているが、その作用機構については未だほとんど明らかになっていない。cDNA解析の結果、*P. davidi*には少なくとも6種類のLEA遺伝子が存在することがわかった。このうち1つは比較的 *C. elegans* の *lea-1* と類似の遺伝子だと考えられるが、他の5種類の遺伝子の持つ特徴的な配列は、既知の配列データベース中には見つからず、全く新しい機能モチーフである可能性も考えられる。LEAタンパク質はタンパク質の保護機能を持つとされているが、新規のLEAタンパク質群はあるいは脂質二重膜の保護や氷の結晶へ結合による凍結耐性にも関係しているのかもしれない。これら多様なLEAタンパク質について、現在ヒスチジンタグ(6xHis-tag)付き融合タンパク質として発現させることに成功している。今後はこれらのタンパク質を精製し、その機能についての生化学的な解析を行う計画である。

最近になって、極地研究所、神田研究室から分与された南極の苔サンプルから *P. davidi* とは別種の *Plectus* 属線虫(種未同定、以下 *Plectus* sp.とする)を単離し、その飼育に成功した(図2)。この凍結サンプルは採取後26年間、冷凍庫で保存されていたが、このような長期間にわたって凍結され生存していた線虫の報告はなく、この点について論文報告ができないか現在検討中である。*Plectus* sp.は *P. davidi* とはかなり離れた系統関係にある線虫であり、両者は分岐後、少なく

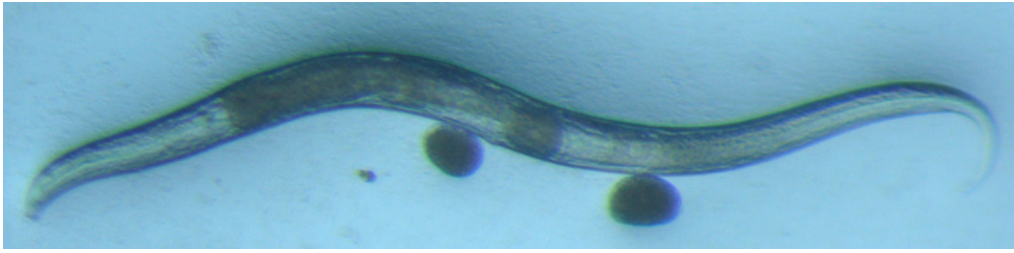


図2 新規南極線虫 *Plectus* sp.

1983年、東南極、Soya Coast、Langhovde地域のコケ (*Bryum argenteum*) サンプルから回収された新規の南極線虫 *Plectus* sp. (種未同定、極地研神田採取)。雌の個体の下に見える二個の黒い塊は発生中の卵。(左:頭部、右:尾部、上:背側、下:腹側)

とも1億年以上が経過している種である。南極が他の大陸から分離したのが5千万年前、寒冷化したのが3千万年前とされており、これらはそれぞれ独立に乾燥・凍結耐性を獲得したと考えられる。その際に同じ遺伝子セットを使って耐性を獲得したのか、あるいは全く別の遺伝子セットを使って(あるいは新規遺伝子を発達させて)耐性を獲得したのか、乾燥・凍結耐性メカニズムを理解する上で非常に興味深い解析の対象となる。今後はこの線虫を大量に飼育し、*P. davidi*と同様の発現解析を行い、耐性遺伝子の探索を行う。またさらに *P. davidi*、及び *Plectus* sp.の近縁種で、温帯に生息し乾燥・凍結耐性を持たない種、それぞれ *Panagrolaimus* sp. PS1732, *Plectus* cf. *aquatilis* Konza IICD-116などを用いた発現解析を行いたいと考えている。これらの種を使った比較解析により、耐性遺伝子候補が浮かび上がってくることを期待している。

②南極ヌナタークに生育する地衣類

ラングホブデ雪鳥沢で行われた地衣類の植生調査(170地点、調査面積200-400平方cm)の結果に基づいて表操作を行い、以下の3群落4亜群落を識別した。

1. ナンキョクチズゴケ *Rhizocarpon flavum* - ミズギワノスミイボゴケ *Buellia subfrigida* 群落
2. ナンキョクスミイボゴケ *Buellia frigida* - ナンキョクローソクゴケモドキ *Candelariella flava* 群落
 - 2a. ナンキョクヘリトリイボゴケ *Lecidella siplei* - トリハダゴケの1種 *Pertusaria* sp. 亜群落.
 - 2b. クロヒゲゴケ *Usnea sphacelata* 亜群落
 - 2c. ネナシイワタケ *Umbilicaria decussata* 亜群落
 - 2d. 典型亜群落
3. 典型群落

これらは氷舌や雪ドリフトから供給される融雪水、群落周辺の雪ドリフトの消長、地形要素(尾根・小ピーク・斜面・谷底; 母岩・転石・砂礫地)、ユキドリ集団営巣地由来の富栄養分などの環境要因の影響下で成立している。

170地点の植生調査で認められた27種類の内、出現頻度上位10種とその出現頻度を示した。これらの地衣類の植物地理学的区分の内訳は6固有種、3両極分布種、1汎存種(コスモポリタン)であった。これまでの研究(南極ヌナタークに生育する地衣類)で、大陸沿岸部における地衣類相には南極固有種が大陸内部のそれに比して多いことが指摘されている。大陸沿岸部に位置

する雪鳥沢を対象とした本研究でもそれを裏付ける結果となった。

以下、170 植生調査表に出現した地衣類の上位 10 種とその分布地理を示す。％は南極固有種 (endemic) の出現頻度

1. ナンキョクスミイボゴケ *Buellia frigida* Darb. 72.7 % (調査票番号 1)
2. ナンキョクローソクゴケモドキ *Candelariella flava* (C.W.Dodge & Baker) Castello & Nimis 53.5 % (調査票番号 2)
3. ナンキョクヘリトリゴケ *Lecidea andersonii* Filson 31.2 % (調査票番号 4)
4. ナンキョクヘリトリイボゴケ *Lecidella siplei* (C.W.Dodge & Baker) Mas.Inoue 24.7 % (調査票番号 7)
5. ナンキョクホーネンゴケ *Acarospora gwynii* C.W.Dodge & E.D. Rudolph 22.4 % (調査票番号 8)
6. ミズギワノスミイボゴケ *Buellia subfrigida* Mas.Inoue 14.1 % (調査票番号 10)
両極分布種 bipolar
7. ナナバケチャシブゴケ *Rhizoplaca melanophthalma* (Ram.) Leuckert & Poelt 35.3 % (調査票番号 3)
8. アカサビゴケ *Xanthoria elegans* (Link) Th.Fr. 8.8 % (調査票番号 5)
9. タカネケゴケモドキ *Pseudophebe minuscula* (Nyl.) D.Hawksw. 21.8 % (調査票番号 9)
両極及び両半球・赤道付近の高山 cosmopolitan
10. ナンキョクイワタケ *Umbilicaria aprina* Nyl. 28.8 % (調査票番号 6)

③南極湖沼生物における地史的変遷

南極塩湖「すりばち池」より採取された堆積物コア (全長 63cm) から全ゲノム DNA を抽出し、古細菌 16S rRNA 遺伝子の PCR (Polymerase Chain Reaction) およびクローニングを試みた。堆積物の深度ごとに全 11 クローンライブラリーを構築し、そこから合計 647 の塩基配列を決定した後に系統解析を行った。その結果、すりばち池堆積物中の古細菌群集は主に *Euryarchaeota* (全体の 85%) と *Crenarchaeota* (全体の 15%) に大別されることが明らかとなった。*Euryarchaeota* に属する配列の多くは高度好塩性古細菌 *Halobacteria* と近縁であり (相同性 94-99%), 堆積物の表層から深度 63 cm までの全深度から検出された。*Halobacteria* は塩湖や塩田、岩塩など、地球上の高塩分環境に広く分布することが知られている。また、堆積物深度 40-50 cm 付近にのみ Marine benthic group D と呼ばれる海洋堆積物特有の系統群が検出された。*Crenarchaeota* に属する塩基配列は、土壌や根圏でよく見られる系統群 Group I.1b に最も近縁で (相同性 99-100%), 堆積物の深度が深くなるに従って検出頻度が高くなる傾向を示した。今後、他の南極湖沼や土壌などに対しても古細菌群集の解析を行い、本研究の結果と比較する予定である。

古細菌 16S rRNA 遺伝子解析と平行して、アンモニア酸化反応 ($\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2$) を触媒する酵素

の遺伝子 (ammonia monooxygenase gene; *amoA*) の検出・解析を試みた。その結果、バクテリアの *amoA* は検出されなかったが、古細菌 (*Crenarchaeota*) 由来の *amoA* が堆積物深部 (55-63 cm) から検出された。*amoA* が検出された堆積物深度は、Group I.1b に近縁な 16S rRNA 遺伝子が優先する深度と一致している。なお、Group I.1b に属する古細菌の培養例は “*Candidatus Nitrososphaera gargensis*” の 1 株のみであり (2009 年 5 月現在)、この培養株はアンモニア酸化を行うことが報告されている。従って、すりばち池堆積物における *Crenarchaeota* グループ (Group I.1b) も、同様にアンモニア酸化能を持つと考えられる。ただし、アンモニア酸化細菌および古細菌は、通常は好気-微好気環境に生息すると考えられるため (一部の Anammox と呼ばれる嫌氣的アンモニア酸化細菌を除いて)、嫌氣的な堆積物深部のみで *amoA* が検出されたことは興味深い。今後の課題として、堆積物中で実際にアンモニア酸化が行われているのか (*amoA*-mRNA 発現の検出、アンモニア酸化速度の測定)、それとも遺伝子のみが堆積物中で保存されていたのか、*amoA* を持つ微生物が嫌気環境では全く別の代謝反応によってエネルギーを獲得しているのか、について調べる必要がある。

本研究により、南極湖沼堆積物における古細菌の多様性や鉛直分布、堆積物中でのアンモニア酸化の可能性が示された。しかし、どのような微生物が現場環境で活性を持ち、どのような代謝機能を有しているかは依然として不明のままである。従来の PCR 法を用いた微生物 DNA/RNA 解析に加え、メタゲノム解析やメタトランスクリプトーム解析などを用いた環境微生物の網羅的解析が重要であると考えられる。

④南極「コケ坊主」生態系における微生物相の解析

南極コケ坊主は、水生蘚類の *Bryum* sp. と *Leptobryum* sp. を主とする生物群集で、酸化的な外層と還元的な内層の二層構造が酸化還元勾配を形成する。われわれはこれまでに、16S/18S rRNA 遺伝子の多様性解析により、コケ坊主内外上下の微生物種組成を明らかにしてきた。しかしながら、rRNA 遺伝子に基づいた系統解析のみでは、微生物の機能を知ることは困難である。そこで、本研究では、スカルプスネス地域のほとけ池から採取したコケ坊主について、分子生物学的手法を用い、シアノバクテリアおよびプロテオバクテリアの二酸化炭素固定酵素 (RuBisCO) 遺伝子を標的とした多様性解析を試みた。

コケ坊主の内外上下 14 部位から抽出・精製した混合ゲノム DNA を基にし、IA (プロテオバクテリア) および IB 型 (主にシアノバクテリア) の大サブユニットをコードする RuBisCO 遺伝子を PCR によって増幅させた。そして、PCR クローンライブラリーを構築し (計 14 組)、各ライブラリーから 65 クローンを無作為に選び、総計 910 クローンについて塩基配列を決定した。

取得した塩基配列を基に分子系統学的解析を行った結果、コケ坊主全体としては α -プロテオバクテリア *Bradyrhizobium* 属やシアノバクテリア *Geitlerinema* 属由来の RuBisCO 遺伝子が優占していることが分かった。さらに、その外層ではシアノバクテリア *Leptolyngbya* 属由来のものが特異的に検出され、コケ坊主の好氣的外層と嫌氣的内層の酸化還元勾配に応じて、異なる系統群由来の RuBisCO 遺伝子が分布していることが明らかとなった (表 1)。

現在、真核生物や古細菌由来の RuBisCO 遺伝子についてもその分布調査も進めているところである。

表 1 コケ坊主内外における二酸化炭素固定酵素 (RuBisCO) 遺伝子の分布

Phylotype	Outer aerobic section							Inner anaerobic section							Closest amino acid sequence (Accession No.)	Similarity (%)	Coverage (amino acid)
	O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7			
ORU1	12	17	19	14	11	17	4	30	29	26	24	27	29	29	tar oil contaminated aquifer clone RuBisCO large subunit (ACH70420)	92	249/268
ORU2	2	3	4	3	2	4	2	7	2	4	2	3	3	8	hydrothermal vent plume clone RuBisCO large subunit (BAD14298)	95	257/270
ORU3	17	25	19	24	11	5	13	2	15	24	19	10	8	17	Geitlerinema sp. PCC 8501 RuBisCO large subunit (ABV04330)	95	255/270
ORU4		1	1		3	4	4	2				1	3		Lyngbya sp. PCC 8106 RuBisCO large subunit (ZP01622123)	94	254/270
ORU5	6	4	1		2	3	13			2	5	2	10	9	Nostoc sp. PCC 7120 RuBisCO large subunit (BAB77890)	97	262/270
ORU6			1		2					1		2			Synechococcus sp. PCC 7335 RuBisCO large subunit (EDX86479)	93	252/270
ORU7										2					Nostoc sp. PCC 7120 RuBisCO large subunit (BAB77890)	91	246/270
ORU8													4		tropical deltaic mobile mud sediment clone RuBisCO large subunit (AAQ21124)	90	243/270
ORU9	5														Nostoc sp. PCC 7120 RuBisCO large subunit (BAB77890)	82	223/270
ORU10	2	5	3	4	11	12	14								Leptolyngbya sp. PCC 73110 RuBisCO large subunit (BAE80672)	93	248/264
ORU12					3	2									Leptolyngbya sp. PCC 73110 RuBisCO large subunit (BAE80672)	92	244/264
ORU13							6								Geitlerinema sp. PCC 8501 RuBisCO large subunit (ABV04330)	92	250/270
ORU18							1								tar oil contaminated aquifer clone RuBisCO large subunit (ACH70420)	89	239/268
Total	44	56	47	45	45	47	57	41	46	59	50	45	57	63			

⑤海底熱水地帯の微生物解析

1970年代後半の海底熱水噴出孔の発見以来、地質学的、地球物理化学的、微生物学的調査が進められてきた。海底熱水系に生育する生物は熱水中の還元型物質の酸化で得られる化学エネルギーに依存し、光エネルギー依存の陸上の生態系から独立している。そのため、海底熱水系には陸上では見られない特殊な微生物が存在する。海底熱水系には地質学的、地球物理化学的な多様性がある。地質学的に異なる海底熱水地帯（中央海嶺, hotspot 型海底火山, 島弧型海底火山, 背弧海盆等）では、地球物理化学的に多様な熱水が生成される。この熱水多様性はそこに生育する微生物多様性を生む要因となり得る。今回の調査地域は、南部マリアナトラフ背弧海盆拡大軸と、伊豆—小笠原島弧の水曜海山で発見された海底熱水地帯である。これまで海底熱水地帯の微生物研究は主に中央海嶺において行なわれてきた。しかし、背弧や島弧の海底熱水地帯の研究はあまり進んでおらず、その微生物生態はよくわかっていない。本研究の目的は、南部マリアナトラフ背弧海盆と水曜海山の熱水地帯の微生物群集解析を通じ、海底熱水系微生物群集の一般性/特異性と、微生物と熱水環境との相互作用に関する新たな知見を得ることである。

(1) 南部マリアナトラフの硫化物構造体中の微生物群集

海底熱水地帯には、熱水中の金属イオン（例えば鉄, マンガン, 亜鉛）の硫化物が沈殿してできる硫化物構造体が存在する。近年の調査により、様々な海底熱水地帯の硫化物構造体中に、数多くの微生物が存在することが明らかになってきている。今回、南部マリアナトラフ背弧海盆拡大軸において、異なる熱水噴出地点（計4地点：拡大軸上と、軸から離れた海山山頂）から硫化物構造体を採取した。16S rRNA 遺伝子配列に基づいたPCRクローン解析と定量PCRを用いて、これら硫化物構造体の微生物群集構成と存在量、多様性を調査した。その結果、硫化物構造体中の微生物について、新たな知見を得た：(1) 活発に熱水を噴出していた硫化物構造体中の微生物群集構成は、拡大軸上と海山山頂といった地理的に離れた場所であっても、類似している。さらに、他の海底熱水地帯の硫化物構造体中の微生物群集構成とも類似している；(2) 熱水の活動度によって、硫化物構造体中の微生物群集構成と多様性は大きく変動する；(3) 共通祖先に最も近

い古細菌が存在する。この生物は超好熱性と推定され、他の海底熱水地帯にも広く分布していると示唆される（加藤ら，2008）。

(2) 南部マリアナトラフの鉄—シリカマット中の微生物群集

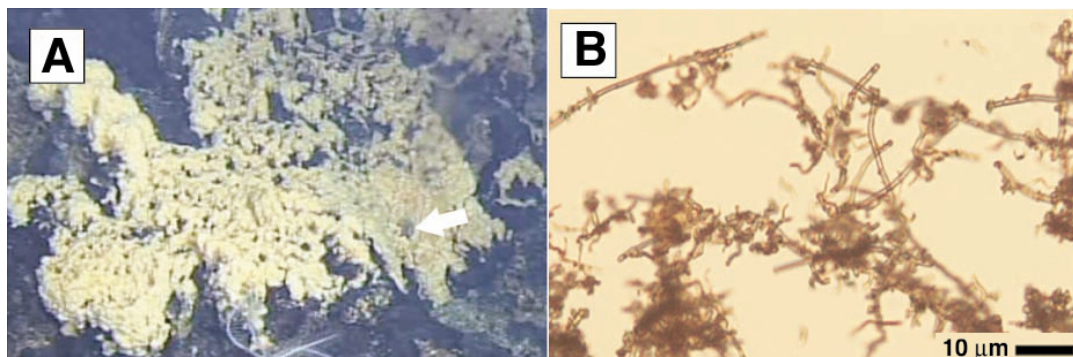


図1 A: 海底熱水噴出孔周辺の鉄—シリカに富んだ微生物マット. B: 顕微鏡観察結果

鉄—シリカを多く含む微生物マットは世界中の海底熱水地帯で発見されている。その形態学的調査から微生物様の構造が多く発見されており、微生物の存在が示唆されていた。しかし微生物学的解析はほとんどされておらず、その微生物群集に関する情報は極めて限定的であった。そのような微生物マットは比較的温度の低い熱水噴出孔付近によく見られ（40°C 以下）、硫化物構造体とは異なるユニークな微生物群集の存在が期待できる。南部マリアナトラフ背弧海盆拡大軸においても微生物マットが発見された（図1）。このマットを採取し、16S rRNA 遺伝子と機能遺伝子（メタン酸化、アンモニア酸化、硫酸還元）のPCR クローン解析と定量PCR、蛍光顕微鏡観察によって微生物群集構成と存在量、多様性を調査した。

その結果、微生物マット中に系統学的・代謝機能的に多様な微生物（真正細菌と古細菌）群集の存在が明らかになった。今までこのようなマット中からはわずかな系統の古細菌の報告があるのみだったが、今回の結果はこれまでのマット中の古細菌多様性に対する認識を覆すものであった（Kato et al., 2009a）。さらには、Zetaproteobacteria 綱という、最近報告された新しい分類群に属する 16S rRNA 遺伝子配列が多数検出された。それらの配列はこれまでに例を見ないほど系統学的に多様であった（図2）。この結果は、Zetaproteobacteria 綱に多様な種が含まれることを示唆する。現在、唯一分離培養されている Zetaproteobacteria の種は、微好気性独立栄養性鉄酸化菌である。地球表面の約 60% は海洋地殻であり、有機物の乏しい海底地殻環境の微生物生態系を支えるエネルギー源は鉄であるという仮説がある。鉄酸化菌グループと予想される Zetaproteobacteria が、一次生産者として海底地殻環境の微生物生態系を支えている可能性がある。よって、地球規模での地殻内生態系を把握する上で、Zetaproteobacteria の分布、存在量、活動度を知ることは重要な研究課題であるといえる。申請者は、世界に先立って、定量 PCR 法による環境中の Zetaproteobacteria の存在量を推定する方法を確立した。この方法を用いて、マット中の Zetaproteobacteria の存在量を推定した結果、最大で原核生物中の 22% を占めることが明らかになり、この定量法の有用性も確かめられた（Kato et al., 2009a）。

(3) 水曜海山の地殻内熱水中の微生物群集

水曜海山は、伊豆—小笠原島弧火山列の 1 つである。水曜海山のカルデラ内では、熱水噴出孔

が多数発見されている。この熱水噴出域において、海底掘削が行われた。本研究では、海底熱水域地下の微生物群集の組成、存在量、多様性を明らかにすることを目的として、掘削孔から得られた熱水の微生物解析を行なった。その結果、1) 水曜海山の海底熱水域地下の微生物群集組成は、周辺の海水やプルーム中のそれとは異なる；2) 海底熱水域地下の微生物群集組成とその多様性は、天然の噴出孔熱水中のそれとも異なる；3) 海底熱水域地下の微生物群集組成は、最も近傍の天然噴出孔との距離が離れるに伴って変動する、ということが明らかになった。これらの結果は、海底熱水系での各生育地における環境因子の相違（温度変化、エネルギー源と栄養源の有無、海底面からの深度等）に伴って、そこに生育する微生物群集組成とその多様性は劇的に変化する、ということを示唆している(Kato et al, 2009b)

2) 極限環境生物統合データベースの構築

南極昭和基地周辺の淡水藻類野外標本（湖底堆積物を含む）および培養標本を主に用いて、分類学的研究を実施した。スカーレン大池湖底堆積物中の珪藻について分類学的検討を行い、珪藻の種組成からスカーレン大池は以前海洋環境にあったが、汽水環境をへて現在の淡水環境へ変化したと考えられた。南極昭和基地周辺の淡水藻類は湖沼他、コケ群落、土壤中、雪上、岩上など幅広い環境に生息しているが未同定の種類や分類学的問題を含む種類が多く残されており、とくに同定に培養を必要とする緑藻、黄緑藻の分類学的研究は遅れている。20年度の研究では藍藻、珪藻、緑藻と黄緑藻の代表的な種類について分類学的研究を実施した。この内容の一部は極域生物画像データベースとしてホームページで公開し、研究者のみならず初心者や一般にも広く利用されることを目指した。

一方、極地研収蔵標本（蘚類）の3D画像データベースシステムについては、データ取得作業を続行するとともに撮影技術並びにソフトウェアの改良を続け、冷凍標本解凍試料においても、鮮明な原色を再現できる撮影技術を確立した。また、3D画像上で試料の任意点の長さを測定できる計測システムを構築し、特許申請を行った。さらに国内から極地に至るまで汎地球的に分布するコケ類を対象に、地球上での分散機構と生存戦略をゲノム構造多様性の面から解明することをめざし、そのための対象種として選定したギンゴケ (*B. argenteum*) について、ゲノム構造解析用試料の個体培養を進めた。極地研で採集した標本に加え、スピッツバルゲンおよび宗谷海岸由来の凍結試料からクマムシと線虫の生存が確認できた点で極めて興味深い。

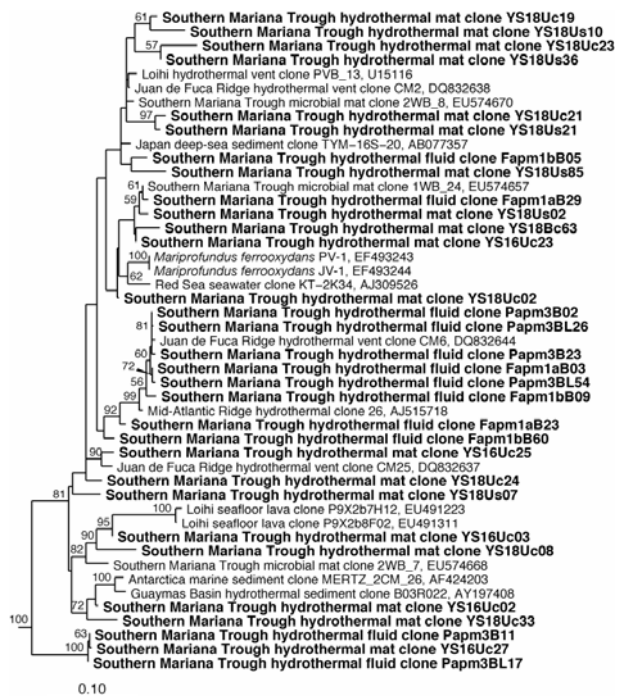


図2 *Zetaproteobacteria*の16S rDNA 遺伝子配列に基づく分子系統樹。太文字が本研究で検出したクローン

(1) 成果物 (知見・成果物・知的財産権等)

提案者 小林悟志

仮想的立体画像の表示装置, 表示方法および表示プログラム

特許出願中 出願番号 2009-031165

特許出願日 平成 21 年 2 月 13 日

(2) 成果発表等

<論文発表>

[学術論文]

1. Abe T., Ikemura, T., Ohara, Y., Uehara, H., Kinouchi, M., Kanaya, S., Yamada Y., Muto A. and Inokuchi H.(2009): "tRNADB-CE: tRNA gene database curated manually by experts" *Nucleic Acids Research*, 37(Database issue), D163-D168.
2. Abe T., Kanaya, S., Ikemura T. "Batch-Learning Self-Organizing Map for Predicting Functions of Poorly-Characterized Proteins Massively Accumulated.", *Proceedings of Workshop 2009 on Self-Organizing Maps*, accepted.
3. Abe T., Hamano, Y., Kanaya, S., Wada, K. and Ikemura, T. Large-Scale Genomics Studies Conducted with Batch-Learning SOM Utilizing High-Performance Supercomputers.", *Proceedings of the 10th International Work Conference on Artificial Neural Networks*, accepted.
4. Baba T, Huan H.C., Datsenko K, Wanner B.L., Mori H.(2008):The applications of systematic in-frame, single-gene knockout mutant collection of Escherichia coli K-12. *Methods Mol Biol.*, 416:183-194.
5. Baba T, Mori H. (2008): The construction of systematic in-frame, single-gene knockout mutant collection in Escherichia coli K-12. *Methods Mol Biol.*, 416:171-181.
6. Hara KY, Shimodate N, Ito M, Baba T, Mori H, Mori H. (2009):Systematic genome-wide scanning for genes involved in ATP generation in Escherichia coli. *Metab Eng.*, 11(1):1-7.
7. Horiuchi, K., T. Uchida, Y. Sakamoto, A. Ohta, H. Matsuzaki, Y. Shibata, H. Motoyama (2008): Ice core record of ^{10}Be over the past millennium from Dome Fuji, Antarctica: a new proxy record of past solar activity and a powerful tool for stratigraphic dating. *Quaternary Geochronology*, vol. 3, issue 3, 253-267.
8. Iizuka Y., Miyake, T., Hirabayashi, M., Suzuki, T., Matoba, S., Motoyama, H., Fujii Y. and Hondoh, T. (2008): Constituent elements of insoluble and non-volatile particles during the Last Glacial Maximum of the Dome Fuji ice core. *Journal of Glaciology*, (in press).
9. Iizuka Y., Hondoh, T. and Fujii, Y. (2008): Antarctic sea ice extent during the Holocene reconstructed from inland ice core evidence. *Journal of Geophysical Research*, Vol. 113, D15114, doi:10.1029/2007JD009326.
10. Kashiwama, Y., Miyashita, H., Ohkubo, S., Ogawa, N.O., Chikaraishi, Y., Takano, Y., Suga, H.,

- Toyofuku, T., Nomaki, H., Kitazato, H., Nagata, T. and Ohkouchi, N. (2008): Evidence of Global Chlorophyll d. *Science*, 321, 658-658. DOI: 10.1126/science. 1158761.
11. Kosaka T., Kato, S., Shimoyama, T., Ishii, S., Abe, T. and Watanabe, K. (2008): "The genome of *Pelotomaculum thermopropionicum* reveals niche-associated evolution in anaerobic microbiota", *Genome Research*, 18, 442-448,
 12. Kato, S., Kobayashi, C., Kakegawa, T., and Yamagishi, A. (2009a): Microbial communities in iron-silica-rich microbial mats at deep-sea hydrothermal fields of the southern Mariana Trough. *Environmental Microbiology*: doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.01930.x.
 13. Kato, S., Hara, K., Kasai, H., Teramura, T., Sunamura, M., Ishibashi, J. (2009b): Spatial distribution, diversity and composition of bacterial communities in sub-seafloor fluids at a deep-sea hydrothermal field of the Suiyo Seamount. *Deep-Sea Research Part I*. doi: 10.1016/j.dsr.2009.1005.1004.
 14. Marumo, K., Urabe, T., Goto, A., Takano, Y. and Nakaseama, N. (2008): Mineralogy and Isotope Geochemistry of Active Submarine Hydrothermal Field at Suiyo Seamount, Izu-Bonin Arc, West Pacific Ocean. *Resource Geology*, 58, 220-248. DOI:10.1111/j.1751-3928. 2008.00059.x.
 15. Muraoka H., Noda H., Uchida M., Ohtsuka T., Koizumi H. and Nakatsubo T. (2008): Photosynthetic characteristics and biomass distribution of the dominant vascular plant species in a high-arctic tundra ecosystem, Ny-Ålesund, Svalbard: implications to their role in ecosystem carbon gain. *Journal of Plant Research* 121: 137-145.
 16. Nakatsubo T., Yoshitake S., Uchida M., Uchida M., Shibata Y. and Koizumi H. (2008): Organic carbon and microbial biomass in a raised beach deposit under terrestrial vegetation in the High Arctic, Ny-Ålesund, Svalbard. *Polar Research* 27: 23-27.
 17. Nakazawa, F. and Suzuki, K. (2008): The alteration in the pollen concentration peak in a melting snow cover. *Bull. Glaciol. Res.* 25: 1-7.
 18. 大谷修司, 北脇悠平, 崎幸子, 福田俊治, 神谷宏, 吉岡勝廣, 後藤宗彦, 石飛裕, 宍道湖・中海の植物プランクトン水質調査結果 (2008). 島根県保健環境科学所報 49 : 118-125.
 19. Takano, Y., Chikaraishi, Y., Ogawa, O. N., Kitazato, H. and Ohkouchi, N. (2008): Compound-specific nitrogen isotope analysis of D-, L-alanine and valine: application of diastereomer separation to delta-15N and microbial peptidoglycan studies. *Analytical Chemistry*, in press, DOI: 10.1021/ac802077v.
 20. Ushida, K., Segawa, T., Kohshima, S., Takeuchi, N., Fukui, K., Li, Z. and Kanda, H. Application of real-time PCR array to the multiple detection of antibiotic resistant genes in glacier ice samples. *J Gen Appl Microbiol*, accepted.

[解説・総説]

1. 阿部貴志, 金谷重彦, 池村淑道; “ゲノム配列情報からの効率的な知識発見のための情報学的手法の確立”, *日本化学会情報化学部会誌*, 26, 20-22, 2008.
2. 阿部貴志, 金谷重彦, 池村淑道; “データベースに蓄積の著しい機能未知のタンパク質類の機

能推定のための自己組織化マップ法による新規情報学的手法の開発”, 日本化学会情報化学部会誌, 26, 31-33, 2008.

3. 井口八郎, 小原康雄, 武藤あきら, 山田優子, 木ノ内誠, 前野聖, 金谷重彦, 池村淑道, 阿部貴志; “エキスパートがキュレートした tRNA データベース”, 日本化学会情報化学部会誌, 26, 11-16, 2008.
4. 池村淑道, 上原啓史, 棚橋佳世, 阿部貴志; “公的データベースからの有用遺伝子の発掘: 持続可能型社会への貢献遺伝子データベースの構築と世界最高水準スーパーコンピュータの利用”, 日本化学会情報化学部会誌, 26, 40-44, 2008.
5. 亀井綾美, 山岸明彦. 原核生物における細胞骨格の進化. 蛋白質核酸酵素 53, 1759-1764 (2008)
6. 山岸明彦. 生命の進化と古細菌. 蛋白質核酸酵素 54(2): 108-113 (2009)
7. 山岸明彦. 好酸性菌. 渡邊信他編集 微生物の辞典 p.682-685 朝倉書店 (2008)
8. 山岸明彦, 矢野創, 小林憲正, 横堀伸一, 橋本博文, 山下雅道. たんぽぽ: 宇宙ステーションでの微生物有機物捕獲, 曝露実験 Viva Origino, 37, in press (2008)

[招待講演]

1. Kanda, H. Evolution of Arctic Ecosystems in a Warming, Arctic Science Summit Week (ASSW), Science Symposium, Bergen, Norway, 3/24-26, 2009.
2. 山岸明彦, 横堀伸一, 矢野創, 奥平恭子, 橋本博文, 山下雅道, 小林憲正, 田端誠, 河合秀幸. 宇宙で生命の起原を探る: タンポポは飛ぶ. 第 49 回大気環境学会年会, 金沢, 9, 2008
3. 山岸明彦. 深海・宇宙の微生物. 第 24 回日本環境感染学会総会, 横浜 (教育講演) 2, 2009.
4. 山岸明彦. 生命の初期進化: どこまでわかったか. 生命科学研究シンポジウム東京 (特別講演) 3, 2009.

[一般講演]

1. Abe Takashi, Shigehiko Kanaya, Hiroshi Uehara, Toshimichi Ikemura, "A novel bioinformatics strategy for prediction of functions of a massive amount of poorly-characterized protein genes obtained by metagenome studies", XX International Congress of Genetics, Berlin, 2008.
2. 阿部貴志, 池村淑道, 小原康雄, 武藤あきら, 山田優子, 上原啓史, 木ノ内誠, 金谷重彦, 井口八郎, "エキスパートがキュレートした tRNA データベース", 日本遺伝学会第 80 回大会, 2008.
3. 阿部貴志, 金谷重彦, 池村淑道, "一括学習型自己組織化地図法 (Batch Learning Self-Organizing Map: SOM) による環境微生物ゲノム群集の解明", 日本遺伝学会第 80 回大会, 2008.
4. 阿部貴志, 金谷重彦, 池村淑道, "一括学習型自己組織化地図法 (Batch Learning Self-Organizing Map: BLSOM) による環境微生物ゲノム由来断片配列からの知識発見", 日本分子生物学会 2008 年度大会, 2008.
5. 阿瀬貴博, 横山祐典, 堀内一穂, 松崎浩之, 植村立, 本山秀明: Laschamp geomagnetic excursion found at 41 kyr BP as a Be-10 peak in the Dome Fuji ice core, Antarctica. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉, 5/25-30, 2008.

6. 麻生祐司, 高橋哲也, 山本達之, 大谷修司, 神田啓史, 伊村智, 工藤栄南極に生息する動植物からの好冷性乳酸菌の分離と機能解析第 31 回極域生物シンポジウム, 12/4,2008.
7. 東久美子, ドームふじ氷床深層コア掘削・研究グループ (ドームふじアイスコア・コンソーシアム) : 南極氷床から復元された過去数十万年の気候・環境変動. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉, 5/25-30, 2008.
8. 東久美子, 平林幹啓, 三宅隆之, 植村立, 倉元隆之, 本山秀明, 五十嵐誠, 飯塚芳徳, 鈴木啓助, 鈴木利孝, 藤田耕史, 堀川信一郎, 河野美香, 藤井理行, 川村賢二, 青木周司, 中澤高清 : ドームふじにおける過去 72 万年間のオービタル・スケール及び千年スケールのエアロゾル変動. 第 31 回極域気水圏・生物圏合同シンポジウム, 国立極地研究所, 国立極地研究所, 12/2-5, 2008.
9. 東久美子: 南極と北極の氷に記録された過去の気候・環境変動の解説. 気候講演会 (気象庁主催) , 新潟市民プラザホール, 8/27,2008.
10. Baba T., K. Yanagihara, H. Niki. Conservation of essential genes among psychrophilic bacteria genomes, SCAR/IASC IPY Open Science Conference, Saint Petersburg, Russia, 7,2008.
11. 馬場知哉, 柳原克彦, 仁木宏典. 様々な環境に生息する gamma-Proteobacteria におけるゲノムのコア構造 第 31 回日本分子生物学会年会, 神戸 12,2008.
12. Goto-Azuma Kumiko and Members of the Dome Fuji Ice Core Research Group: Millennial-scale climate variability in East Antarctica during the past 720,000 years. Polar Research - Arctic and Antarctic Perspectives in the International Polar Year. St. Petersburg, Russia. 7/8-11,2008.
13. Goto-Azuma. K., Hirabayashi, M., Miyake, T., Uemura, R., Kuramoto, T., Motoyama, H., Igarashi, M., Iizuka, Y., Suzuki, K., Suzuki, T., Fujita, K., Horikawa, S., Kohno, M., Fujii, Y., Kawamura, K., Aoki, S. and Fujita, Shuji, Junichi Okuyama, Akira Hori, Takeo Hondoh : Metamorphism of stratified firn at Dome Fuji, Antarctica: A mechanism for local insolation modulation of gas diffusion during bubble close-off. EPICA open science conference, Venice, Italy, 11/10-13,2008.
14. Goto-Azuma Kumiko and Members of the Dome Fuji Ice Core Research Group: Millennial-scale climate variability during the past 720,000 years recorded in the Dome Fuji ice core. General Assembly of the European Geosciences Union, Vienna, Austria. 4/13-18,2008.
15. Hashida, C., Hashimoto, H., Hidaka, T., Kawasaki, Y., Kishimoto, M., Kobayashi, K., Mita, H., Miyakawa, A., Naganawa, K., Ogawa, M. Satoh, S., Suzuki, A., Takahashi, J., Takano, Y., Tsuji, T, Wakana, I., Yamada, K., Yabuta, H., Yoshimura, Y. (2008) Evolution and adaptation of living in the extreme environments 2. bacteria and microorganisms. XXXI Symposium on Polar Biology, Tokyo, 12,2008.
16. 平林幹啓, 本山秀明, 中井俊一, 宇田川弘勝, 田中敦: 南極ドームふじ近傍表面積雪の Sr-Nd 同位体分析. 2008 年雪氷研究大会, (社) 日本雪氷学会・日本雪工学会, 東京大学本郷キャンパス, 9/24-27, 2008.
17. 飯田隆之, 吉村義隆, 河野均, 辻堯, 大友俊允 (2009). 氷雪極限環境微生物のマイクロマニ

- ピュレーション法による分離とその Single-Cell PCR(SCP)による同定.日本農芸化学会福岡, 3, 2009.
18. 五十嵐誠, 望月優子, 高橋和也, 中井陽一, 本山秀明: 火山噴火記録から推定した南極ドームふじコアの堆積年代 I .1260AD~現在. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉, 5/25-30, 2008.
 19. 五十嵐誠, 中井陽一, 望月優子, 高橋和也, 本山秀明, 牧島一夫: 火山噴火記録から推定した南極ドームふじ浅層コアの堆積年代-1260AD~現在-. 2008 年雪氷研究大会, (社) 日本雪氷学会・日本雪工学会, 東京大学本郷キャンパス, 9/24-27, 2008.
 20. 伊村智, 杉山慎, 福井幸太郎. 南極氷床を巡る新規生物圏探査計画, 第 31 回極域生物シンポジウム,12/4, 2008.
 21. 井上源喜, 森山貴代, 田澤知子, 竹村哲雄, 瀬戸浩二, 渡邊隆広, 中村俊夫, 伊村智, 神田啓史.南極スカーレン大池の湖底堆積物コアの有機成分による昭和基地周辺の環境変動の推定, 第 31 回極域生物シンポジウム 12/4,2008.
 22. 井上正鉄. ラングホブデ雪鳥沢における地衣類群落, 第 31 回極域生物シンポジウム 2008,12,4
 23. 亀井綾美, 原太志, 横堀伸一, 山岸明彦. 好熱好酸性古細菌 *Thermoplasma acidophilum* 由来 TaFtsZ1 の性質. 第 21 回日本 Archaea 研究会講演会, 那覇,7, 2008.
 24. 岩野耕助, 山本達之, 高橋哲也, 麻生祐司, 大谷修司, 神田啓史, 伊村智, 工藤栄, 入江伸吉, 服部俊治, 田中啓友 2 次元培養および再構成皮膚中のヒト皮膚線維芽細胞への紫外線照射の影響第 31 回極域生物シンポジウム, 12/4,2008.
 25. Kaneko, R., K. Seto, and H. Kanda, Diversity and distribution of prokaryotes in sediments from a hypersaline Antarctic lake,日本地球惑星科学連合,5,2008.
 26. Kaneko, R., K. Seto, S. Imura, and H. Kanda, Diversity and distribution of prokaryotes in sediments from a hypersaline Antarctic lake, The International Conference on Polar and Alpine Microbiology, 5, Banff, Canada, 2008,
 27. 金子亮, 神田啓史, 南極におけるアンモニア酸化酵素遺伝子の多様性と分布, 第 24 回日本微生物生態学会, 11,2008.
 28. 金子亮, 伊村智, 神田啓史. 南極すりばち池堆積物におけるアンモニア酸化酵素遺伝子の系統学的多様性, 第 31 回極域生物シンポジウム 12/4,2008.
 29. 加藤真悟, 柳川勝紀, 砂村倫成, 石橋純一郎, 掛川武, 益田晴恵, 浦辺徹郎, 山岸明彦. 南部マリアナトラフ海底熱水噴出地帯における微生物相. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張,5,2008.
 30. 加藤真悟, 大場裕紀, 小林智織, 井上和彦, 横堀伸一, 山岸明彦. 海底熱水噴出地帯における古細菌の多様性. 第 21 回日本 Archaea 研究会講演会, 那覇,7,2008.
 31. 加藤真悟, 小林智織, 掛川武, 佐藤誠悟, 益田晴恵, 浦辺徹郎, 横堀伸一, 山岸明彦, YK05-09 航海乗船者一同. 南部マリアナトラフにおける熱水性堆積物中の微生物相. ブルーアース'08 しんかいシンポジウム, 横浜,2,2009.

32. 河口優子, 横堀伸一, 吉村義隆, 辻堯, Yang Yinjie, 藤崎健太, 小林憲正, 橋本博文, 河合秀幸, 三田肇, 鳴海一成, 奥平恭子, 田端誠, 山下雅道, 矢野創, 山岸明彦. 有機物・微生物の宇宙曝露と宇宙塵・微生物の捕集実験 (たんぼぼ) : 宇宙での微生物捕集法の検討. 第34回生命の起原および進化学会学術講演会, 大阪, 3,2009.
33. 金城健太, 赤沼哲史, 玉腰雅忠, 田之倉優, 山岸明彦. 超好熱菌由来の他基質アミノトランスフェラーゼ, 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008), 神戸, 12,2008.
34. 小林憲正, 伏見英彦, 藤崎健太, 谷内俊範, 金子竹男, 三田肇, 山岸明彦, たんぼぼ WG. 惑星間塵中の有機物と生命の起源: 国際宇宙ステーション曝露部での捕集計画. 日本惑星科学会秋季講演会, 福岡, 11, 2008.
35. 小林悟志, 神田啓史, 藤山秋佐夫. 極地蘚類における 3D 画像解析と全ゲノム計画, 第 31 回極域生物シンポジウム 12/4, 2008.
36. 小林悟志, 薦田多恵子, 荒木次郎, 谷口丈晃, 伊藤武彦, 隈啓一, 藤山秋佐夫, Web サイトジャビオン(Jabion)におけるゲノムビューアーの特色. 第80回日本遺伝学会, 名古屋, 9, 2008.
37. 小林悟志・神田啓史・藤山秋佐夫. 南極昭和基地周辺に分布する蘚類の 3D 画像化. 第 72 回日本植物学会, 高知, 9, 2008.
38. Kohshima S, Uetake J, Segawa T, Naganuma T, Hebsgaard M, Kanda K. (2008) Microbial flora of glaciers in West Greenland. XXXI Symposium on Polar Biology, Tokyo, 12, 2008.
39. 工藤栄, 田邊優貴子. 南極湖沼での長期連続観測から見えてきた湖沼環境の変動性, 第 31 回極域生物シンポジウム, 12/4, 2008.
40. 倉元隆之, 平林幹啓, 本山秀明: 南極沿岸域からドームふじ基地ルート上における表面積雪の化学特性. 2008 年雪氷研究大会, (社) 日本雪氷学会・日本雪工学会, 東京大学本郷キャンパス, 9/24-27, 2008.
41. Mita, H., Hashida, C., Hashimoto, H., Hidaka, T., Kawasaki, Y., Kishimoto, M., Kobayashi, K., Miyakawa, A., Naganawa, K., Ogawa, M., Satoh, S., Suzuki, A., Takahashi, J., Takano, Y., Tsuji, T., Wakana, I., Yamada, K., Yabuta, H., Yoshimura, Y. (2008) Evolution and adaptation of living in the extreme environments I. Organic condition. XXXI Symposium on Polar Biology, Tokyo, 12, 2008.
42. Miyake Takayuki, Yoshiyuki Fujii, Motohiro Hirabayashi, Ryu Uemura, akayuki Kuramoto, Kumiko Goto-Azuma, Hideaki Motoyama, Yoshinori Iizuka, Makoto Igarashi, Mika Kohno, Keisuke Suzuki, Toshitaka Suzuki, Koji Fujita, Shinichiro Horikawa : A 720-kyear record of dust variability from the Dome Fuji ice core, Antarctica. American Geophysical Union 2008 Fall Meeting, San Francisco, 12/15-19, 2008.
43. 三宅隆之, 藤井理行, 平林幹啓, 植村立, 倉元隆之, 東久美子, 本山秀明, 飯塚芳徳, 五十嵐誠, 河野美香, 鈴木啓助, 鈴木利孝, 藤田耕史, 堀川信一郎: 南極ドームふじにおける過去 72 万年のダスト変動. 第 31 回極域気水圏・生物圏合同シンポジウム, 国立極地研究所, 国立極地研究所, 12/2-5, 2008.

44. 三宅隆之, 飯塚芳徳, 蓼沼拓也, 佐野清文, 植村立, 本堂武夫, 藤井理行 : 南極ドームふじ氷床コアにおけるダストの高時間分解能解析 : ダストとカルシウムイオンとの関係. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉, 5 月 25-30 日, 2008.
45. 三宅隆之, 飯塚芳徳, 佐野清文, 蓼沼拓也, 植村立, 本堂武夫, 藤井理行: 南極ドームふじ氷床コアにおけるダストの高時間分解能解析・その 2—異なる気候ステージでの比較—. 2008 年雪氷研究大会, (社)日本雪氷学会・日本雪工学会, 東京大学本郷キャンパス, 9/24-27, 2008.
46. 望月優子, 牧島一夫, 高橋和也, 中井陽一, 五十嵐誠, 馬場彩, 本山秀明, 鈴木啓助, 今村隆史, 秋吉英治 : 南極氷床—超新星・太陽周期探索プロジェクト. 第 2 回学術会議シンポジウム「天文学・宇宙物理学の展望—長期計画の策定へ向けて」, 東京大学本郷キャンパス小柴ホール, 5/31-6/1, 2008.
47. Motoyama, Hideaki, Ryu Uemura, Motohiro Hirabayashi, Takayuki Miyake, Takayuki Kuramoto, Yoichi Tanaka, Dome Fuji Ice Core Project Members : Characteristics of basal ice and subglacial water at Dome Fuji, Antarctica ice sheet. 2008 AGU Fall Meeting, San Francisco, 12/15-19, 2008.
48. Motoyama, Hideaki, Ryu Uemura, Motohiro Hirabayashi, Takayuki Miyake, Takayuki Kuramoto, Yoichi Tanaka, Dome Fuji Ice Core Project Members : Characteristics of basal ice and chemical constituents at Dome Fuji, Antarctica ice sheet. EPICA open science conference, Venice, Italy, 11/10-13, 2008.
49. Motoyama, Hideaki and Dome Fuji ice core project members : A 3035m deep ice core at Dome Fuji, Antarctica and the state of basal ice sheet. Polar Research - Arctic and Antarctic Perspectives in the International Polar Year , St. Petersburg, Russia, 7/8-11, 2008.
50. Motoyama, Hideaki and Dome Fuji ice core project members: A 3035m deep ice core at Dome Fuji, Antarctica and the global environmental change during the past 720,000 years. AOGS2008, Busan, Korea, 6/16-20, 2008.
51. 本山秀明, 植村立, 平林幹啓, 三宅隆之, 倉元隆之, 田中洋一, ドームふじ氷床コア研究グループ (ICC) : 南極ドームふじにおける氷床深部の状態と底面融解. 第 31 回極域気水圏・生物圏合同シンポジウム, 国立極地研究所, 12/2-5, 2008.
52. 本山秀明, 植村立, 平林幹啓, 三宅隆之, 田中洋一, ドームふじ氷床コア研究グループ : 南極ドームふじにおける氷床底面付近の状態. 2008 年雪氷研究大会, (社)日本雪氷学会・日本雪工学会, 東京大学本郷キャンパス, 9/24-27, 2008.
53. 本山秀明: 南極ドームふじ基地における氷床深層掘削 3035m と過去 72 万年間の地球環境変動. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉, 5/25-30, 2008.
54. 中分路可, 加藤真悟, 山岸明彦. 水曜海山熱水地帯における地下微生物群集の経時変化, 極限環境微生物学 2008 年度 (第 9 回) 年会, 東京, 11, 2009.
55. Nakai Ryosuke, Takeshi Naganuma, Hiroshi Kagoshima, Hironori Niki, Yuji Kohara, Satoshi Imura, Hiroshi Kanda, Katsuhiko Yanagihara, Tomoya Baba, Takashi Abe, Takanori Narita “16S rRNA-based analysis of microflora from an Antarctic moss pillar” International Conference on Polar

- and Alpine Microbiology, Banff, Canada 5,2008.
56. Nakai, Ryosuke Takeshi Naganuma, Hiroshi Kagoshima, Hironori Niki, Yuji Kohara, Satoshi Imura, Hiroshi Kanda, Katsuhiko Yanagihara, Tomoya Baba, Takashi Abe, Takanori Narita “Bacterial diversity of an Antarctic moss pillar” International Conference on Polar and Alpine Microbiology, Banff, Canada, 5,2008.
 57. Nakai Ryosuke, Takeshi Naganuma, Hiroshi Kagoshima, Hironori Niki, Yuji Kohara, Satoshi Imura, Hiroshi Kanda, Katsuhiko Yanagihara, Tomoya Baba, Takashi Abe, Takanori Narita “18S rRNA-based analysis of microflora from an Antarctic moss pillar” SCAR-IASC Open Science Conference, St. Petersburg, Russia, 7, 2008.
 58. Nakai, R., Yukimura, K., Naganuma, T., Kohshima, S., Uetake, J., Kanda, H., Spore-forming halophilic bacteria isolated from Arctic terrain: Implication for tropospheric transportation of microorganisms, Arctic Science Summit Week 2009, Bergen, Norway, 3,2009.
 59. 中井亮佑, 長沼毅, 鹿兒島浩, 仁木宏典, 小原雄治, 伊村智, 神田啓史, 柳原克彦, 馬場知哉, 阿部貴志. 南極コケ坊主におけるシアノバクテリア・プロテオバクテリアの炭酸固定酵素 (RuBisCO) 遺伝子の多様性, 第 31 回極域生物シンポジウム 12/4,2008,
 60. 中澤文男, 植竹淳, 神田啓史. 南極雪試料中の花粉一粒ずつを対象とした DNA 分析, 31 回極域生物シンポジウム 12/3, 2008.
 61. Nakazawa, T. : Orbital and millennial-scale variability of sea-salt, dust and non-sea-salt sulfate aerosols during the past 720,000 years reconstructed at Dome Fuji, East Antarctica. EPICA open science conference, Venice, Italy, 11/10-13, 2008.
 62. 大谷修司, 大塚泰介, 井上源喜, 瀬戸浩二. 南極スカーレン大池の湖底堆積物コア中の珪藻による昭和基地周辺の環境変動の推定. 日本藻類学会第 33 回大会, 琉球大学, 3/27,2009.
 63. 大谷修司, 大塚泰介, 井上源喜, 瀬戸浩二. 南極スカーレン大池の湖底堆積物コア中の珪藻による昭和基地周辺の環境変動の推定, 第 31 回極域生物シンポジウム, 12/4, 2008.
 64. 神門利之, 大谷修司, 崎幸子, 石飛裕宍道湖で発生したカビ臭について第 43 回日本水環境学会 山口大学吉田キャンパス, 3/17, 2009.
 65. Saigusa, Y.C. Y. Chikaraishi, Y. Takano, H. Kitazato, N. Ohkouchi. Site-specific $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ analysis of alanine by NMR. 4th International Symposium on Isotopomers (ISI). Tokyo, 9, 2008.
 66. Sasa, Kimikazu, Yuki Matsushi, Yuki Tosaki, Michiko Tamari, Tsutomu Takahashi, Keisuke Sueki, Shozo Mihara, Toshiyuki Oki, Yasuo Nagashima, Hiroshi Matsumura, Norikazu Kinoshita, Kotaro Bessho, Kazuho Horiuchi, Hiroyuki Matsuzaki, Yasuyuki Shibata, Motohiro Hirabayashi and Hideaki Motoyama : Cosmogenic nuclide ^{36}Cl measurements in the Dome Fuji ice core, Antarctica. The 11th International Conference on Accelerator Mass Spectrometry, Rome, Italy, 9/14-19,2008.
 67. 笹公和, 松四雄騎, 高橋努, 戸崎裕貴, 玉理美智子, 末木啓介, 長島泰夫, 松村宏, 松崎浩之, 堀内一穂, 柴田康行, 本山秀明 : 南極ドームふじ氷床コア中の宇宙線生成核種 Cl-36 : 古環境復元指標としての可能性. Cosmogenic Cl-36 in the Dome Fuji ice core, Antarctica: a potential

- tool for the reconstruction of global environmental change. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉, 5/25-30, 2008.
68. 佐藤弘康, 鈴木利孝, 飯塚芳徳, 平林幹啓, 本山秀明, 藤井理行: ドームふじ氷コアに記録された間氷期における鉄濃縮と CO₂ 濃度の関係. 2008 年雪氷研究大会, (社)日本雪氷学会・日本雪工学会, 東京大学本郷キャンパス, 9/24-27, 2008.
69. 佐藤弘康, 鈴木利孝, 飯塚芳徳, 平林幹啓, 本山秀明, 藤井理行: ドームふじ氷コアに記録された金属異常濃縮と CO₂ 濃度の関係. 第 31 回極域気水圏・生物圏合同シンポジウム, 国立極地研究所, 国立極地研究所, 2008.
70. 佐藤弘康, 油井紗瑛子, 鈴木利孝, 平林幹啓, 藤井理行: ドームふじ氷床コアから得た鉱物・海塩エアロゾルフラックスが示す気候変. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉, 5/25-30, 2008.
71. 瀬川高広. 『南極氷床中に含まれる微生物解析』地球惑星科学連合大会 5,2008.
72. Segawa Takahiro. Microbial analysis of subglacial samples drilling at Dome Fuji, Antarctica, SCAR-IASC Open Science Conference, St. Petersburg, Russia. 7,2008.
73. Segawa Takahiro. Microbial analysis of subglacial samples drilling at Dome Fuji, Antarctica, XXXI Symposium on Polar Biology, Tokyo, Japan, 12, 2008.
74. Segawa Takahiro. Microbial analysis of subglacial samples drilling at Dome Fuji, Antarctica, SCAR-IASC Open Science Conference, 2008 ,7, St. Petersburg, Russia,Suzuki, Toshitaka, Hironori Sato, Saeko Yui, Motohiro Hirabayashi and Yoshiyuki Fujii : Mineral dust fluxes over the last 340kyr derived from the Dome Fuji ice core. Goldschmidt 2008, Vancouver, 7/13-18, 2008.
75. Segawa.Takahiro Altitudinal change in bacterial and cyanobacterial flora on the No.1 Glacier, China, analyzed by 16S rRNA gene. International Conference on Polar and Alpine Microbiology, Banff, Canada, 5, 2008.
76. 瀬川高弘, 植竹淳, アンドレ・リベラ, 本山秀明, 神田啓史. 南極氷床表面, および氷床底の微生物解析, 第 31 回極域生物シンポジウム,12/3,2008.
77. Suzuki, Toshitaka, Hironori Sato, Saeko Yui, Motohiro Hirabayashi and Yoshiyuki Fujii :Mineral dust fluxes over the last 340kyr derived from the Dome Fuji ice core. Goldschmidt 2008, Vancouver, 7/13-18, 2008.
78. Segawa.Takahiro Altitudinal change in bacterial and cyanobacterial flora on the No.1 Glacier, China, analyzed by 16S rRNA gene. International Conference on Polar and Alpine Microbiology, Banff, Canada 5, 2008.
79. 高橋哲也, 麻生祐司, 山本達之, 大谷修司, 近藤哲男, 笠井稚子, 神田啓史, 伊村智, 工藤栄.南極由来の動植物を分離源とした好冷性微生物の培養第 31 回極域生物シンポジウム,12/4.2008.
80. Takano Yoshinori, Fumio Inagaki, Yuki Morono, Nanako O. Ogawa, Hiroshi Kitazato, and Naohiko Ohkouchi. Application of NMR to characterize intact polar lipids in deep biosphere. Goldschmidt

- conference, Vancouver, Canada, 7, 2008.
81. Takano Y., Nomaki, H., Ogawa, N., Chikaraishi, Y., Kitazato, H. and Naohiko Ohkouchi. In-situ tracer experiment for benthic archaea: carbon isotopic evidence of active metabolism from caldarchaeol and crenarchaeol of archaeal membrane lipids. 7th International Symposium for Subsurface Microbiology (ISSM), Shizuoka, 11, 2008.
 82. Takeuchi, N., Ishida, Y., (2008) Changes of biological community from the 1990s to 2008 on the Yala Glacier, Nepali Himalayas. XXXI Symposium on Polar Biology, Tokyo 12, 2008.
 83. 竹内望, 藤田耕史, 岡本祥子, 直木和弘, 奈良町千之, Vladimir Aizen (2008) キルギスタン・グリゴレア氷帽から掘削した 87m アイスコア. 日本雪氷学会全国大会, 東京, 9, 2008.
 84. 竹内望 (2008) 中国祁連山およびロシアアルタイ山脈のアイスコアから復元した過去 100 年の風送ダストの年変動. 地球惑星科学連合大会, 幕張 5, 2008.
 85. 蓼沼拓也, 東久美子, 三宅隆之, 平林幹啓, 倉元隆之, 本山秀明, 藤井理行: 南極ドームふじ氷床コアにおける最終氷期の温暖化イベント (AIM イベント) の連続化学分析. 第 31 回極域気水圏・生物圏合同シンポジウム, 国立極地研究所, 国立極地研究所, 12/2-5, 2008.
 86. 十倉克幸, 東條元昭, 星野保, 貴田健一, 神田啓史. スピッツベルゲン島ニーオルスン日本基地北側斜面における 2003 年から 2008 年のコケ生息性糸状菌の種構成と分離頻度の変化, 第 31 回極域生物シンポジウム 12/4, 2008.
 87. 植竹淳, 長沼毅, マーティン・ヘプスガード, 神田啓史, 幸島司郎. 西グリーンランドの氷河における雪氷藻類群集と雪氷面アルベド. 地球惑星科学連合大会, 幕張 5, 2008.
 88. 植竹淳, 本山秀明, 神田啓史: 氷期・間氷期サイクルにおけるドームふじアイスコア中の微生物濃度変化. 2008 年雪氷研究大会, (社) 日本雪氷学会・日本雪工学会, 東京大学本郷キャンパス, 9/24-27, 2008.
 89. Uetake. Jun Yeast distribution in ice core from Russian Altai mountains. International Conference on Polar and Alpine Microbiology, Banff, Canada, 5, 2008.
 90. Uetake Jun. Snow algal communities and albedo on the glaciers in West Greenland. International Conference on Polar and Alpine Microbiology, Banff, Canada, 5, 2008.
 91. Uetake Jun. Snow algal communities on the glaciers in West Greenland. The First International Symposium on the Arctic Research, 東京, 11, 2008.
 92. 植竹淳, 瀬川高弘, 本山秀明, 神田啓史. ドームふじアイスコア中の微生物濃度変化, 第 31 回極域生物シンポジウム 12/3, 2008.
 93. Uemura R., Motoyama, H., Miyake, T., Hirabayashi, M., Kuramoto, T., Goto-Azuma, K., Masson-Delmotte, V., Jouzel, J., Fujii, Y., Fujita, K., Horikawa, S. Igarashi, M., Iizuka, Y., Kohno, M., Suzuki, K., Suzuki, T. : A 720,000 years record of deuterium-excess variation from the Dome Fuji ice core, Antarctica. EPICA open science conference, Venice, Italy, 11/10-13, 2008.
 94. 植村立, 阿部理, 本山秀明: 南極ドームふじ氷床コアにおける水の酸素 3 種同位体: 17O-excess が示す氷期サイクルの相対湿度変動. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会

- 議場, 千葉, 5/25-30, 2008.
95. 植村立, 本山秀明, ドームふじ氷床深層コア化学解析研究グループ (代表 東久美子): 南極ドームふじ氷床コアにおける過去 72 万年の d-excess 変動. 日本地球惑星科学連合 2008 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉, 5/25-30, 2008.
 96. 上野健, 大園享司, 神田啓史. 高緯度北極に生育するコケ植物と維管束植物の化学量論からみた違い, 第 31 回極域生物シンポジウム, 12/4,2008.
 97. 横堀伸一, Yang Yinjie, 藤崎健太, 河口優子, 小林憲正, 橋本博文, 河合秀幸, 三田肇, 鳴海一成, 奥平恭子, 田端誠, 山下雅道, 矢野創, 吉村義隆, 山岸明彦. 有機物・微生物の宇宙曝露と宇宙塵・微生物の捕集実験 (たんぽぽ): 微生物の宇宙での生存可能性の検討. 第 34 回生命の起原および進化学会学術講演会, 大阪, 3,2009.
 98. 横堀伸一, Yang Yinjie, 藤崎健太, 河口優子, 小林憲正, 橋本博文, 河合秀幸, 三田肇, 奥平恭子, 田端誠, 山下雅道, 矢野創, 吉村義隆, 山岸明彦. 有機物・微生物の宇宙曝露と宇宙塵・微生物の捕集実験 (たんぽぽ): パンスペルミア仮説の検証にむけて. 極限環境微生物学 2008 年度 (第 9 回) 年会, 東京, 11,2009.
 99. 吉村義隆, 瀬川高弘, 田口幸広, 飯田隆之, 長沼 毅, ジーノ・カサッサ, 幸島司郎. チリ・モチョ氷河における雪氷微生物の高度分布, 第 31 回極域生物シンポジウム, 12/4,2008.
 100. 吉竹晋平, 内田雅己, 小泉博, 神田啓史, 中坪孝之. 高緯度北極ニーオルスンの一次遷移初期における土壌クラストの光合成特性, 第 31 回極域生物シンポジウム, 12/4,2008.
 101. 幸村基世, 長沼毅, 幸島司郎, 植竹淳, 神田啓史. 北極陸上試料から単離した芽胞形成中度好塩菌, 第 31 回極域生物シンポジウム, 東京, 12/3, 2008.