

# プロジェクト名： 地球環境変動の解析と地球生命システム学の構築 (略称：地球生命システム学)

プロジェクトディレクター： 本山 秀明教授（国立極地研究所）

サブプロジェクトディレクター： 伊村 智教授（国立極地研究所）

## [1] 研究計画・研究内容について

### (1) 目的・目標

地球環境は地球上の気水圏、地圏、生物圏、そして、人間圏の相互のバランスの上で形成されてきた。地球環境変動と現代への影響を地球生命システムとの関わりの上で解明することを目標とする。これまでの遺伝子解析で得られた微生物多様性のデータを、氷床コア情報から得られた氷期、間氷期を含む気候変動と照合し、大規模な地球環境変動と微生物の進化・多様化の相互作用を理解し、環境変動下での生命の適応戦略のメカニズムを明らかにし、地球生命システム学の構築を目指す。そのために本プロジェクトでは、環境の変動が大きい極域を中心に、南極およびグリーンランドなどで、環境データの取得と微生物解析について研究を行う。

### (2) 必要性・重要性（緊急性）

本研究はわが国では本機構における融合的研究においてしかできないと思われるユニークさがある。すなわち、地球生命システムの多様化・進化と相互作用の関係理解への手がかりが、72 万年の歴史を保存している氷床コアを用いた解析により、今後の地球生命システムをシミュレーションする上で必須の情報を与えてきた。これを核としてさらに大学等の研究者が参画することにより、新分野創成が可能となる。また、産業革命以後、地球環境は大きな変動をしており、昨今の地球温暖化に纏わる国際情勢や二酸化炭素の削減等の話題は人類、地球生命に対して驚異となっている。地球の生命が今後、地球環境の変動の中でどのように進化し、多様化していくのかを過去数十万年の環境復元と地球生命との相互作用を解明することにより、地球環境変動下における地球生命システム学として新しい領域を切り開く事ができる。この問題に多くの時間と経費を費やしている大学・研究所の研究者は、今こそ、地球環境変動と地球生命システム、そして人間社会への関わりを考えていく時である。本プロジェクトでは地球環境変動と生物適応を課題にしているコミュニティーやコンソーシアムに対しても社会のニーズにこたえられる準備が十分に整っている。

氷床コアの微生物解析に関しては、ポストーク基地下の氷床下湖は数十万年も外界から隔離され、かつ地球上に残された神秘的かつ希少な極限環境であり、世界はそこでの特殊な生物の存在を期待したが、その後、湖を汚染する危険性の問題があり掘削が停止したままになっている。また、英国を中心とした新たな掘削の動きが出ており、短期間に氷床下湖（たとえばエルスワース基地周辺）のサンプルを採集する計画が浮上している。ドームふじ基地下には氷床下湖は無いが、氷床コア底部の微生物の予備的観測により、まさに極限環境の“進化が遅れた”過去の微生物が生き残っている可能性が濃厚となっている。ドームふじ基地深層掘削氷床コアは、地球上ではこの場所以外では入手できない貴重な“生きた微生物化石”の宝庫ともいえ、一刻も早く、氷床コア中の微生物の時系列的解明が急がれる。

### (3) 期待される成果等（学問的効果、社会的効果、改善効果等）

極限環境に順応した多様な微生物試料が得られ、生命システムのメカニズムの理解に資するとともに、貴重な遺伝子資源が期待される。これまでに確立された地球生命の遺伝学的手法を基盤にして、地球環境変動の下で、地球環境に飛来する生物の過去数十万年前の過去の生物のタイムカプセルの復元、及び

生命がどのように進化、多様性を得たかを極地において解明することが期待できる。さらに、極地の自然環境下ではどんなウイルスがどのような振る舞いをするのか、雪氷域にウイルスが存在するのかについてはこれまで、全く分かっていない。また、本プロジェクトではグリーンランド、スバルバル、ヨーロッパアルプス、アジア高山域、南米、南極等からのアイスコアから時系列的にウイルスを検出し、進化のメカニズムを解明することで新しい分野が期待される。これらの研究により、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することができ、極限環境下の地球環境変動と生命システムのメカニズムの解明が期待できる。

新領域融合研究センター (TRIC: Trans Disciplinary Integration Center) の方法論としての「融合」の意味を徹底的に吟味し検証することにより、融合研究の真の方法論を見いだすことが出来る。本プロジェクトでは他に例のないリスクを背負った氷床微生物の解明があるが「融合」の方法論で解明することにより、多様性、進化、研究開発等多様な課題に対して解決することが期待でき、社会的波及効果も大きいと考えられる。フィールドサイエンスとしての氷床コアの解析により過去の地球環境及び生命との関わりを取得したデータで示すことは、その特異な方法論において大学教育研究活動にも大きな影響をもたらす。

#### (4) 独創性・新規性等

本研究の独創的な部分は極限域からの生物、微生物の無菌的検出法である。したがって、現場で試料を無菌的に採取し、処理ができる半恒久的な現場実験施設の可能性、現地から日本に持ち帰った後の施設、試料の保存法、抽出法、検出法、とくに全菌数計数、16S rRNA 遺伝子等による概略的な群集解析をルーチン手順のみならず、種の確定を実現させることが期待できる。このような方法を用いた「人間圏創始の環境復元」及び「極限環境でのウイルス検出」のテーマは新規性のあるテーマである。また、極域環境は氷床コアをはじめとして、湖底及び海底堆積物コアの解析により、地域特異的に時間軸が濃縮された形で生物由来試料の採取が可能であることが特徴である。第Ⅰ期のプロジェクトで準備された氷床年代の特定、気候変動要因解析、化学組成、同位体組成、構成生物種の構成や変動に関わるゲノム情報等のデータを加えて解析を行うことにより、地球全体の変動を反映した極域環境の変化と、極限環境における生命活動との相互作用による環境形成プロセスについての時系列的なユニークな解明が期待できる。

本プロジェクトの特徴の一つは極地研が中心となって、遺伝研、情報研、統数研が一体となって初めて目的が果たせることにある。すなわち、極地研は試料提供、極域生物相の生態と分類、気候・環境、地形・地質などのさまざまな環境情報と、第Ⅰ期計画で培った極地研—遺伝研の遺伝子解析システムを駆使して解析を実施することにより目的の達成を目指す。遺伝研は新型シーケンサーを駆使したメタゲノム、1細胞ゲノムを特定することにより、環境中に存在する全生物を一体としてとらえるための解析手法、実験手法、情報処理手法を開発し、ゲノム、遺伝子解析を中心とした世界に類を見ない研究を実施する。統数研は氷床コアから解析された物理、化学、及び生物遺伝子データの解析を行う。特に新型DNAシーケンサーにより出てくるテラバイトに及ぶ膨大なデータの解析をコンピュータ処理により解析する。情報研においては、すでに蓄積されている学術標本データを中心に、さまざまなデータの所在等についての調査を行い、メタデータデータベースを作成する。これをもとに、第Ⅱ期目のデータベースの構築支援と統合化データベースの構築を行う。また、最終目標であるデータベースの学術ポータル (バイオポータル) による提供、開発研究を行い、最終的には共同利用機関が提供する共同研究資材として広く公開し、利用に供するシステムを構築することが独創的である。

## (5) これまでの取り組み内容の概要及び実績

- ・地球環境変動下の生命の進化、多様性の解明は環境の変化に大きく依存する。地球生命システムを環境・遺伝基盤の上で解明してきた第 I 期プロジェクトではドームふじ基地の深層掘削コアの微生物解析を中心に、氷床・雪氷域の生命について多面的に研究を行ってきた。
- ・ドームふじ氷床コアの微生物解明はコンタミ対策のために開発研究を重ね、多くの経費と年月を費やしてきた。しかしながら、これまでに一部の氷床コアを用いて、16rDNA の解析はほぼ終了した。遺伝子は断片的になっていることがわかり、新型 DNA シーケンサー解析が最良の方法であるという結論に達した。
- ・3000m の氷床底面付近に見いだされたシアノバクテリアは現生している種とは大きく異なることが示唆された。南極大陸の岩盤域の極限環境に適應しているか、あるいは既に絶滅してしまった特殊な系統であるかが推測された。
- ・難培養微生物がほとんどである氷床コア微生物の研究において、1 細胞遺伝子解析の開発研究を行った。微生物 1 細胞に分取、ゲノム DNA 増幅、新型 DNA シーケンサーによる塩基配列決定するまでに至っている。
- ・氷床コアから見いだされる微生物の起源の知識を得るために、昭和基地沿岸域の 16S, 18rDNA, ITS 領域での遺伝子解析を実施した。先行研究が少ない南極では遺伝学的に未記載、未研究な生物が多い段階では、この研究は必須である。近隣では極地の中でも生物の宝庫である沿岸域、湖沼域の生物相を、遠方では熱帯アマゾン域の空中生物相の遺伝子解析を通じて解明してきた。これらの遺伝子データは一部、新型 DNA シーケンサー (454) を駆使した膨大なデータが集積されている。これらのデータ解析は第 1 期プロジェクトの 5 年目の総決算ともいべき解析が続いている。
- ・南極の湖沼群に見つかったコケ坊主群集の解明は単に、分類・生態学的解明を超えて遺伝子解析を行うことによって湖沼植物群集のミクロシステム生態系、モデル生物の開発研究に及んだ。
- ・極地研究所蔵の多様性生物画像データベースは地理的データによって他分野データである 3D 画像解析データ、遺伝子データがとの連動が可能となり、学術標本データベースの新しい領域が見えてきた。
- ・中国・ロシア高山性氷河の古生態系解明としてキルギスタンのアイスコアの微生物解析において、植物、微生物を 16S, 18rDNA, ITS 解析を行い相対速度の検定を行い、年代を推定した。現在の氷河表面と比較すると、氷河底部の環境は現在の高山植物地帯に類似していることが予測される。これらの研究はグリーンランド氷床底部、南極ドームふじ基地氷床底部の環境推定に応用される。
- ・世界の様々な地域の雪氷環境中の微生物培養 (1200 株) を通じた遺伝子解析を行った。極限環境に見いだされる多くの微生物が難培養生物であるが、これらの遺伝子解析と同時に、培養可能な微生物の遺伝子解析は将来的には多くの利用や新分野の構築が期待される。

## (6) 国内外における関連分野の学術研究の動向

氷床コアからの微生物解析の研究は現在、国内外で見あたらぬ。類似する研究では国内では REGAL (Research on Ecology and Geohistory of Antarctic Lakes) がある。南極観測の湖沼生態系のプロジェクトである。さらに南極研究科学委員会(SCAR)のワーキンググループ会議である SALE (Subglacial Antarctic Lake Environments) がありロシア、ドイツ、ベルギー、アメリカなど 9 カ国が参加している。南極氷床下湖の物理、化学、生物、地学などの総合的な問題を検討する会合である。このチームは日本のドームふじ基地の氷床コアの微生物解析について注目している。しかしながら、氷床下湖のない環境を持つドームの氷床コアの微生物では日本が最も進んでいるのが現状であるが、お互いに情報交換しながら研究を進めている。

国際極年 IPY2007-2008 の主導的なプロジェクトとして、MERGE (Microbiological and Ecological

Responses to Global Environmental Changes in polar regions) があるが、研究方法、研究地域、研究者において類似している。しかしながら、MERGE は予算が伴わない研究プログラムであり、将来的には SALE、EBA (Evolution and biodiversity in Antarctica), PAME (Polar Aquatic Microbial Ecology) と合流していく計画である。

## [2] 研究計画

### (1) 全体計画

地球環境は地球上の気水圏、地圏、生物圏、そして、人間圏の相互のバランスの上で形成されてきた。地球環境変動と現代への影響を地球生命システムとの関わりの上で解明することを目標とする。これまでの遺伝子解析で得られた微生物多様性のデータを、氷床コア情報から得られた氷期、間氷期を含む気候変動と照合し、地球環境変動と微生物の進化・多様化の相互作用を理解し、環境変動下での生命の適応戦略のメカニズムを明らかにし、地球生命システム学の構築を目指す。そのために本プロジェクトでは、環境の変動が大きい極域を中心に、南極およびグリーンランドなどで、環境データの取得と微生物解析について研究を行う。以下のテーマを中心に 4 研究チームで研究を進めるが、研究の進捗状況に応じて柔軟に研究計画を変更する。

- 1) 氷床コア中の微生物及び生物起源物質の解明 (サブテーマ 1)
- 2) 氷床コアに見る人間圏創始の環境 (ダスト等) と生物活動 (サブテーマ 1、2)
- 3) ウイルスデータを用いた進化メカニズムの時系列解明 (サブテーマ 1、2)
- 4) 極限微生物の多様性と進化メカニズム (サブテーマ 2)
- 5) 生物の環境適応メカニズムの解明 (サブテーマ 3)
- 6) 沿岸域の氷床、氷河、湖沼生態系から見た地球環境変動の変遷 (サブテーマ 4)

#### サブテーマ 1 「氷床、氷河コアから見た地球環境復元と微生物、ウイルス、生物起源物質の解明」

研究テーマの 1) 氷床コア中の微生物及び生物起源物質の解明、2) 氷床コアに見る人間圏創始の環境 (ダスト等) と生物活動、3) ウイルスデータを用いた進化メカニズムの時系列解明を行う。氷床、氷河コアの総合解析により地球環境変動を解明し、ドームふじ基地の深層掘削コアの微生物解析を中心に、氷床・雪氷域の生命について多面的に研究する。難培養微生物がほとんどである氷床コア微生物の研究において、1 細胞遺伝子解析の開発研究を行い、氷床コアから見いだされる微生物と沿岸域、湖沼域の生物相の比較研究により、微生物の多様性を認識する。アイスコアから時系列的にウイルスを検出し、進化のメカニズムを解明する。

本サブテーマは、次の 4 研究課題を中心に研究を進める。研究の進捗状況に応じて柔軟に研究計画を変更する。

- I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明
- II) 氷床アイスコアに見る地球環境変動と生物との時系列解明
- III) アイスコア中の微生物と環境変動
- IV) 氷河・氷床中の花粉 1 粒ずつの DNA 分析－遺伝情報を利用した古環境復元－

#### サブテーマ 2 「極限生物の多様性と進化メカニズム」

南極やグリーンランドの氷床氷は他では入手できないタイムカプセルとして過去の地球環境が保存されており、貴重な“生きた微生物化石”の宝庫である。またグリーンランドでは、人間活動に関連した掘削計画として NEEM 計画があり、日本も参加している。約 15 万年分の氷床コア (1 つ前の間氷期の

全般までをカバー)で地球温暖化を数10年単位の高精度解析が期待される。本サブテーマ2は研究テーマの2)氷床コアに見る人間圏創始の環境(ダスト等)と生物活動、3)ウイルスデータを用いた進化メカニズムの時系列説明、4)極限微生物の多様性と進化メカニズムの解明を行う。

主に以下の研究課題を中心に研究を進める。

- I) グリーンランドにおける微生物多様性に関する研究
- II) 極限環境生物統合データベースの構築
- III) 極域コケ類のゲノム多様性
- IV) 極域環境と鱗脚類の進化

極限環境に適応している様々な生物について調べ、その多様性、環境適応のメカニズムおよび進化の歴史を明らかにすることを旨とする。

### サブテーマ3「生物の環境適応メカニズムの解明」

研究テーマの5)生物の環境適応メカニズムを解明する。生物はその生存環境の変動に合わせて適応するメカニズムを発達させてきた。特に南極大陸では、約5000万年前にオーストラリア大陸と分離後、急速に寒冷化したため、生物は他の大陸では見られない独自の進化により南極の極限環境(極寒、乾燥、貧栄養、極夜/白夜、紫外線など)に適応するメカニズムを獲得してきた。個々の生物について環境適応のメカニズムをゲノムレベルで解明すると共に、生物間での相互作用(共生、食物連鎖など)の解析を通じて、生物の環境適応や進化に関する遺伝学的研究を展開する。

大きくは次の3項目から構成される。

- I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析
- II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析
- III) 微量試料(氷床コア、地殻コアなど)における遺伝子解析技術の開発

南極コケ坊主生態系において、代謝の主要な役割を果たす微生物について、ゲノムレベルでの環境適応の機能解明を行うと共に、南極生態系における高等生物(線虫)の環境適応の機能解明にも取り組む。

### サブテーマ4「南極沿岸氷雪圏と湖沼生態系から見た地球環境変動の変遷」

研究テーマの6)南極沿岸域の氷床、氷河、湖沼生態系から見た地球環境変動の変遷について研究を行う。これまでに極湖沼底のコケ坊主について行ってきた16S/18S rRNA遺伝子解析、及び、物質生産・物質循環に関与する微生物、酵素について大規模解析を行う。また沿岸域の氷床末端、氷床上、氷床下などの境界領域を、氷床を取り巻く自由水環境と位置づけ、そこに存在する生物圏を探索する。レーダ、サーマルドリル、熱水ドリルを導入し、氷床下水系の水文学的研究、微生物生態系研究を面的に展開する。

本サブテーマは、以下の3項目から構成される。

- I) コケ坊主生態系の微生物種組成と物質循環構造
- II) 南極沿岸生態系の生物多様性と地史的変遷
- III) 周氷生態系における生物圏探索

## (2) 各年度の計画

### 平成22年度(予備研究・プロジェクト開始)

ドームふじ基地氷床コアの解析により、72万年の年代を決定したが、35万年~72万年の環境データの解析が遅れていることと、北極グリーンランドの氷床解析が加わったことにより、微生物の解析のためには、物理、化学的解析システムのインフラが必要である。それらを整備しつつ、第I期計画で研究

成果の上昇した研究テーマのとりまとめを行う。すなわち、世界各地から得られた氷河生態系における微生物試料及び、氷床コア中の微生物及び生物起源物質の解明、極限微生物の多様性と進化メカニズムに焦点を合わせて研究を行う。また、次年度以降に計画されている氷床コア中のダストと微生物、人間圏創始の環境と生命活動、ウイルスデータの取得に関しては準備を行う。

#### 平成 23 年度

地球環境変動下の生命の進化、多様性を解明するために、両極の氷床コアにおける表面、浅層、深層、最深部、及び岩盤破片における時間軸に沿った微生物解析を引き続き行う。氷床ドームコアの 72 万年の過去の復元の中でも、20 万年はホモサピエンスの環境、生態、文明があった。ここでは、氷床コア中のダストと微生物の関連に注目し、人間圏の創始の頃の環境と生命活動にかかわるデータを取得する。また、ウイルスの進化メカニズムを解析に着手する。これまでの遺伝子解析で得られた時間軸、環境軸の微生物多様性のデータを、氷床コア情報から得られた氷期、間氷期を含む気候変動と照合し、進化、遺伝的多様性についてとりまとめ、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、極限環境下の地球環境変動と生命システムのメカニズムを解明する。

#### 平成 24 年度 (中間評価)

地球環境変動下の生命の進化、多様性を解明するために、両極の氷床コアにおける表面、浅層、深層、最深部、及び岩盤破片における時間軸に沿った微生物解析を引き続き行う。また、ウイルスの進化メカニズムの研究を継続して行う。極限環境の南極産線虫、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、分類学的解析の結果をとりまとめ、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、極限環境下の地球環境変動と生命システムのメカニズムを解明する。

#### 平成 25 年度

地球環境変動下の生命の進化、多様性を解明するために、両極の氷床コアにおける表面、浅層、深層、最深部、及び岩盤破片における時間軸に沿った微生物解析を引き続き行う。極域の氷床コアより取得された環境と生命情報と、20 万年にさかのぼったホモサピエンスの生活様式、環境及び生命情報、ウイルスの進化メカニズムについて研究を継続する。今日の地球環境によってグリーンランドの氷床や北極海の氷の融解をはじめとした極地の環境変動は今日の人間社会に大きく影響を与えている。過去の地球環境変動から今日、生起している環境変動(温暖化、海水準変動、海洋大循環等)を把握し、生命の進化、多様性について検討し、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、極限環境下の地球環境変動と生命システムのメカニズムを解明する。

#### 平成 26 年度

地球環境変動下の生命の進化、多様性を解明するために、両極の氷床コアにおける表面、浅層、深層、最深部、及び岩盤破片における時間軸に沿った微生物解析を引き続き行う。極域の氷床コアより取得された環境と生命情報と、20 万年にさかのぼったホモサピエンスの生活様式、環境及び生命情報、さらに、湖底や堆積物から得られた環境および生命情報を引き続き取得する。南極においては、海洋における二酸化炭素の増加に伴う海洋の酸性化が起り、クリオネなどの翼脚目の絶滅が問題になっている。また、領土権が認められていない南極地域での生物探査が南極の環境破壊につながるとして南極条約で問題になっている。これらを検討していくことで、地球環境の変動と微生物の進化・多様化の相互作用のとりまとめを行い、極限環境下の地球環境変動と生命システムのメカニズムを解明する。

## 平成 27 年度

地球環境変動下の生命の進化、多様性を解明するために、両極の氷床コアにおける表面、浅層、深層、最深部、及び岩盤破片における時間軸に沿った微生物解析を引き続き行う。グリーンランドを含む氷床コアより取得された環境と生命情報を引き続き取得する。過去の地球環境変動から今日、生起している環境変動（温暖化、海水準変動、海洋大循環等）を引き続き解明し、生命の進化、多様性について検討し、地球環境の変動と微生物の進化・多様化の相互作用をとりまとめ、最終的に極限環境下の地球環境変動と生命システムのメカニズムを解明する。

## 平成 28 年度以降の展開

南極及び北極の氷床コア、極限環境より取得された環境と生命情報をとりまとめ、地球環境変動から今日まで生起している環境変動（温暖化、海水準変動、海洋大循環等）の相互作用について考察し、極限環境下の地球環境変動の解析と生命システム学を構築する。

## サブテーマ 1 「氷床、氷河コアから見た地球環境復元と微生物、ウイルス、生物起源物質の解明」

### 平成 22 年度

#### I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明

ドームふじ深層コア（長さ 3,035.22m、最深部の年代は過去 72 万年前と推定）の基本解析データセットを第 1 期から継続して作成する。6 年間の研究期間で、全深度で時間分解能 100 年程度のデータセット作成を目指す。

また、グリーンランド氷床コアから明らかにされた最終氷期中の急激な温暖化と緩やかな寒冷化である D/O サイクルに対応する南極氷床で見ついている AIM に注目して解析研究を進める。

#### II) 氷床アイスコアに見る地球環境変動と生物との時系列解明

本プロジェクトの予備研究として、第一期で確立した少数細胞からのゲノム増幅手法を南極アイスコア試料に予備的に試みる。またこれまでの結果からアイスコア試料中の細胞数は極めて少ないことが分かったため（10cells/ml 以下）、自動細胞解析分離装置（FACS）を用いたソーティングの最適化や、ナノリットル・スケールで流体を制御し高密度のチャンネルネットワークを備えた集積流体回路チップを用いたゲノム増幅手法を取り入れるための準備をおこなう。

また、各種抗菌剤耐性遺伝子の定量解析および時系列ごとの分子進化解析をおこなうために、抗生物質耐性遺伝子の検出方法のさらなる集積化を図り、北極圏スピッツベルゲン島 Austfonna アイスコアと中国内陸部 Dunde 氷河アイスコアに対して、抗生物質耐性遺伝子の解析に着手する。

#### III) 氷床コア中の微生物及び生物起源物質の解明:アイスコア中の微生物と環境変動

アイスコア中に含まれる低濃度の微生物を鉍物粒子などの存在下でも定量的に検出する為に、核酸、タンパク質、細胞膜などに特異的に結合する計 16 種類の蛍光試薬の微生物への染色特性、非生物粒子への非特異的な結合などを考慮し、共焦点レーザー顕微鏡を用いた 2 種類の蛍光色素の波長特性を検出する方法を検証する。

#### IV) 氷河・氷床中の花粉 1 粒ずつの DNA 分析—遺伝情報を利用した古環境復元—

予備実験として、ロシアのブルーハ氷河から採取した雪氷試料をもちいて、そこに含まれるマツ属花粉 1 粒ずつを PCR し、従来属レベルで留まっていた分類を節レベルでおこなうことを試みる。

### 平成 23 年度

#### I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明

ドームふじ深層コアの基本解析データセット作成を継続する。

AIM の研究を継続するとともに、10 万年氷期サイクルが強化された 40-45 万年の移行期 (Mid-Bruhés イベント) と、その前後の MIS10~MIS14 をカバーするコア解析と研究を重点的に行う。

## II) 氷床アイスコアに見る地球環境変動と生物との時系列解明

無菌的なソーティングがおこなえる自動細胞解析分離装置へのバージョンアップをおこない、氷河表面試料や北極のアイスコア試料を用いて、1-100 細胞を段階的に分離し、16SrRNA 遺伝子配列の解析をおこない、微生物を細胞単位で解析する手法の構築および、クローンライブラリーとの比較をおこなう。また、集積流体回路チップを用いた反応系のメリットは、反応系が小さいことと顕微鏡観察下で目的・標的細胞から遺伝子反応がおこなえる点である。微細流路チップのデザインの考案し、プロトタイプの作成をおこない、標的 1 細胞-数細胞からの 16SrRNA 遺伝子の増幅を試みる。

昨年度得られたメタゲノム配列の情報解析をおこない、アイスコア中に含まれる小数細胞からのゲノム解析をおこなうための技術的な改良をおこない見通しをたてる。また、特定病原体不在の鶏卵 (SPF) を用いたウィルス培養実験や、アイスコア中の微生物の培養や、多くのアイスコア試料において抗生物質耐性遺伝子伝搬の年代変化を明らかにする。

## III) アイスコア中の微生物と環境変動

ドームふじアイスコアの先行研究において微生物濃度が特に高かった層を中心に、よりインターバルの細かいサンプリングを実施して、詳細な微生物濃度の定量を行う。また、これまで分析をしていなかった深度においても分析を実施し、鉱物粒子、イオンやガスなどの成分と比較し、濃度の増加に影響を与える要因との関連を検討する。

## IV) 氷河・氷床中の花粉 1 粒ずつの DNA 分析-遺伝情報を利用した古環境復元-

引き続き、マツ花粉を亜節レベルで同定するための手法開発に取り組む。開発に際し、新たにマルチプレックス PCR 法による DNA 増幅を試みる。マルチプレックス PCR 法は 1 回の実験で複数領域の塩基配列を増幅する方法であり、これにより同定に必要なより多くの塩基配列情報が利用できることになる。今年度は先ず、マルチプレックス PCR の対象領域を決定するために GenBank に登録されている塩基配列データの解析を進める。その後プライマーの設計に取りかかる。プライマーを完成させた後、その性能をテストするために、北極域の氷河水から抽出したマツ花粉をもちいてマルチプレックス PCR、増幅 DNA の塩基配列決定をおこなう。また塩基配列情報から亜節レベルでの同定も試みる。さらに花粉の起源についても考察する。マツ花粉の起源推定は、種ごとの分布域をまとめた植生図等を既に入手しており、これを利用する。

## 平成 24 年度

### I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明

ドームふじ深層コアの基本解析データセット作成を継続する。

最終氷期の AIM イベントや Mid-Bruhés イベントの研究に加えて MIS14 (55 万年) 以前の気候・環境変動について、特に氷期中の温暖化と寒冷化である AIM について詳細に研究する。これから北半球のグリーンランドは高々 20 万年前の氷しか残っていないが、最終氷期の中で活発に急激な温暖-寒冷の気候変動である D/O イベントが明らかになっているが、南半球の氷床コアに残る AIM イベントから、地球全体に見た時間スケールの短い気候変動を明らかにする。

### II) 氷床アイスコアに見る地球環境変動と生物との時系列解明

昨年度まで得られたラフなアセブルデータや 16srRNA 遺伝子等の保存的な塩基配列から生物種に特異的なプライマーを作り出し、リアルタイム qPCR で微生物種の定量的データの取得を試みる。自動細胞解析分離装置を用いて氷床アイスコア中に含まれる微生物細胞を各反応 well に 1-数細胞程度



ソーティングし、16SrRNA 遺伝子配列の解析をおこなうことで、アイスコア中の定量的な群集構造解析をおこなう。平成 23 年度までに得られた知見を基に、氷期および間氷期の南極氷床アイスコア試料から、ウィルス、微生物、植物、花粉等のゲノム情報の取得や、リボソーム rRNA 遺伝子等の保存的な遺伝子領域での PCR、クローンライブラリーの作成をおこなう。

全ゲノム増幅がおこなえる集積流体回路チップのデザインを考案し、プロトタイプを作成をおこない、1 細胞からゲノム増幅できるチップの開発に着手する。アイスコア中の微生物の培養や、環境変動とそれに伴う抗生物質耐性遺伝子の変化を時系列ごとに解析することで、人間活動が環境に与えるインパクトを評価する。これらの情報を集約させて中間評価をおこなう。

### III) アイスコア中の微生物と環境変動

ドームふじアイスコアにおいて過去数十万年スケールでの微生物量の変動を明らかにする為に、これまでカバーしていなかった特に約 10 万年以前のアイスコアから引き続きサンプリングと微生物の定量を行い、鉱物粒子、イオンやガスなどの成分と比較し、濃度の増加に影響を与えうる要因との関連を検討する。

### IV) 氷河・氷床中の花粉 1 粒ずつの DNA 分析—遺伝情報を利用した古環境復元—

マツ花粉を種レベルで同定するために、全ゲノム増幅法を取り入れた手法開発に取り組む。氷河中の花粉に残存する核・ミトコンドリア・葉緑体ゲノム DNA を Phi29 と呼ばれる酵素を使って予備増幅し、増幅された DNA を材料として、種を同定するための塩基配列情報の取得を目指す。また、マツ花粉の種を同定するためのプライマー設計を開始する。手法を確立したのち、北極域の氷河氷から抽出したマツ花粉をもちいてテストし、種レベルでの同定を試みる。そして、平成 23 年度に実施した起源推定について、種の情報を利用してその精度を高める。

## 平成 25 年度

### I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明

ドームふじ深層コアの基本解析データセット作成を継続する。

AIM イベント、Mid-Bruhés イベントについての研究を継続する。

グリーンランド北西氷床にて計画されている 200m 氷床掘削コアを用いた北極域での地球環境変動を明らかにする研究を開始する。

### II) 氷床アイスコアに見る地球環境変動と生物との時系列解明

氷床アイスコア中の微生物、ウィルス、植物等の大規模なメタゲノム解析に取り組むと共に、得られた膨大なゲノムデータから生物種に特異的なプライマーを作り出し、リアルタイム qPCR や digital PCR で生物種の定量的データの取得や、自動細胞解析分離装置を用いた微生物細胞から 16SrRNA 遺伝子配列解析に取り組む。数サイクル分の氷期-間氷期サイクルや、最終氷期 (LGM) からの気候変動イベントと生物情報に着目した解析をおこなう。

また、自動細胞解析分離装置と集積流体回路チップとを組み合わせた分析をおこない、アイスコア試料中の 1 細胞からのゲノム増幅や定量的解析に取り組む。

### III) アイスコア中の微生物と環境変動

北極域で行われているアイスコア掘削の試料を用いて、過去十数万年スケールでの微生物の変動を明らかにして、南北両極における微生物の変動を明らかにする。また、これらの違いから微生物の全球的、もしくは地域的な変動の原因をアイスコア解析から得られる過去の気候復元データから検討する。

### IV) 氷河・氷床中の花粉 1 粒ずつの DNA 分析—遺伝情報を利用した古環境復元—

平成 24 年度で開発した手法を南極表層雪試料中のマツ花粉に適用し、南極に飛来するマツ花粉の

起源を明らかにする。そして、この実験的結果を数値実験による結果と比較・検討し、南極における物質循環の理解を深める。また、北極域氷河で掘削されたアイスコアをもちいて、そこに含まれるマツ花粉の DNA 分析に着手する。アイスコアの各時代に含まれるマツ花粉を種レベルで同定し、その変遷を明らかにする。この地域では氷河に含まれるマツ花粉は長距離輸送によるものなので、その種の情報から花粉起源の変遷についても明らかにする。

#### 平成 26 年度

##### I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明

ドームふじ深層コアの基本解析データセット作成を継続する。

AIM イベント、Mid-Bruhes イベントについての研究を継続する。

グリーンランド北西氷床にて計画されている 200m 氷床掘削コアを用いた北極域での地球環境変動を明らかにする研究を継続する。

##### II) 氷床アイスコアに見る地球環境変動と生物との時系列解明

平成 25 年度までに得られた知見を基に、複数のアイスコア試料からメタゲノム解析や 1 細胞ゲノムの解析をおこなう。氷床アイスコアに刻まれている各種気候学的なイベントや、宇宙線強度変動や太陽活動変動要素と、生物やウイルスとの関係性や進化学的視点に着目した解析をおこなう。

##### III) アイスコア中の微生物と環境変動

人為起源の影響を非常に受けやすい山岳地域アイスコア試料から数千年スケールでの微生物の変動を明らかにする。極域アイスコアからの長期的な微生物変動データと比較し、特に人為起源の影響が強く現れると考えられる、文明圏成立後の環境変動を着目する。

##### IV) 氷河・氷床中の花粉 1 粒ずつの DNA 分析—遺伝情報を利用した古環境復元—

引き続き北極アイスコアの解析を進める。そして、本研究より明らかになる花粉起源の情報と数値実験による結果を比較・検討し、北極域の物質循環の変遷について考察する。また、アジアの山岳氷河で掘削されたアイスコアをもちいて、そこに含まれるマツ花粉の DNA 分析をおこない、気候・環境変動にともなうマツ種の変遷の研究に着手する。DNA の分析は平成 24 年度に開発した全ゲノム増幅法をもちいる。

#### 平成 27 年度

##### I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明

ドームふじ深層コアの基本解析データセット作成を完成する。

氷床コア研究が学際的に行われているので、地球環境変動研究の現状をまとめるとともに、将来に実施すべき研究の方向を検討する。データベースを作成し、これを公開することで地球環境変動史などの研究進展に貢献する。

##### II) 氷床アイスコアに見る地球環境変動と生物との時系列解明

環境変動とそれに伴う氷床生物およびウイルスの変化を時系列ごとに解析することで、地球環境変動に対する地球生命システムの環境適応のメカニズムの解明をめざす。

##### III) アイスコア中の微生物と環境変動

これまで得られた様々な地域のアイスコア中の微生物変動データから、過去数万年から数千年にわたる変動を総合的に整理して、様々な年代スケールでの微生物量変動から、これまでになかった視点からの環境復元法の確立を目指す。

##### IV) 氷河・氷床中の花粉 1 粒ずつの DNA 分析—遺伝情報を利用した古環境復元—

引き続き山岳氷河のアイスコア解析を進める。この地域では、氷河中の花粉は周辺植生由来と考え

られる。各時代のマツ種の変遷を明らかにし、先行研究により明らかにされている気候・環境変動との関係を考察する。

#### 平成 28 年度以降

南極及び北極の氷床コア、極限環境より取得された環境と生命情報を取りまとめ、地球環境変動から今日まで生起している環境変動（温暖化、海水準変動、海洋大循環等）の相互作用について考察する。

#### サブテーマ 2 「極限生物の多様性と進化メカニズム」

##### 平成 22 年度

###### I) グリーンランドにおける微生物多様性に関する研究

近年ではクリオコナイトの集合体が氷河上でのアルベドを下げる効果から、氷河の融解を促進しているとされている。しかしクリオコナイトの中の微生物の分子系統解析は、南極の一部の地域しか報告されていなかった。グリーンランド氷床から採取されたクリオコナイト内に生息する微生物について調べ、これらの多様性や生息環境を突き止める。

###### II) 極限環境生物統合データベースの構築

南極に分布している蘚類を現場で撮影できるソフトウェアの開発。それによってリアルに実際生えている南極蘚類の実態が観察できるようになる。

###### III) 極域コケ類のゲノム多様性

予備研究としてゲノム解読に適した試料の選別を行う。対象と考えられているギンゴケの生育速度が遅いため、今年の南極観測隊に参加し、コケ類の採集を行う。

###### IV) 極域環境と鰭脚類の進化

哺乳類進化の歴史も、大陸移動など地球環境変動と深くかかわっている。生物多様性を理解には進化的な視点が不可欠であり、DNA など分子データから生物の系統関係を推定する分子系統樹法が効果的である。哺乳類の中で形態的に特殊化し、水中生活に適応した鰭脚類の進化について、未だに謎が多く残っている。ウェッデルアザラシミイラの DNA を解読し、その分子進化速度の推定と集団サイズの拡大の時期を調べることによって、陸上の肉食動物から、再び冷たい南極の海に戻った鰭脚類の進化の歴史と極域環境との関わりを探る。予備研究として極地研に収蔵されているウェッデルアザラシミイラの標本の DNA を抽出し、分子データに基づく解析を行う。

##### 平成 23 年度

平成 22 年度に引き続きウェッデルアザラシミイラ（骨）による Ancient DNA 解析を行う。それによって、より精確なウェッデルアザラシの分子進化速度の推定が期待できる。先行研究報告では、およそ 2000 万年前、クジラ類のヒゲクジラ科内部 4 系統が同時に分れ、また鰭脚類のアザラシ科内部 2 系統、鰭脚類のアシカ科とセイウチ科の分岐もほぼ同じ頃と推定されている。それをウェッデルアザラシミイラで得られた塩基置換速度で確認する。もし本当であれば、鰭脚類の種分化とヒゲクジラの急速な種分化が同時期だったということになる。つまり、その時期に地球環境上なにか共通な要因があったと思われる。より地球環境の変動と生物の進化・多様化の相互作用を理解することができる。

またギンゴケのゲノム解析の先行研究として、南極産ギンゴケにおける培養条件などを把握し（例：MS 培地の 4 倍希釈で、温度条件 15°C で）、大規模のゲノム解析の準備を整える。

##### 平成 24 年度（中間評価）

平成 23 年度で得られた結果を踏まえて、氷床コアから解析された物理、化学、及び生物遺伝子デー

タを中心に解析を進める。特に次世代型 DNA シーケンサーにより出てくるテラバイトにも及ぶ膨大なデータ処理やコンピュータ解析を行う。

また、ウイルスデータに基づいて、進化メカニズムの時系列研究を行う。

南極、北極、グリーンランドにおけるクリオコナイトの中の微生物の遺伝子解析、分類学的解析の結果をとりまとめる。

今まで予備研究を重ねてきたギンゴケのゲノム解読を本格的にスタートさせる。

#### 平成 25 年度

平成 24 年度にスタートさせたギンゴケの大規模なゲノム解析と両極の氷床コアから得られた微生物の遺伝子データ解析に一層取り込む。

遺伝子解析においては、cDNA、タンパク質の発現パターンを比較し、進化のメカニズムの解明を試みる。更にウイルスデータの進化メカニズムについて研究を継続する。

また氷河の融解を促進しているとされているクリオコナイトにおける微生物の解析について、温暖化との関係を調べる。改めて生命の進化、多様性について検討し、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できるよう努める。

#### 平成 26 年度

平成 25 年度に継続して、ギンゴケの大規模なゲノム解析を行う。

極限環境生物統合データベースを構築し、目標であるデータベースの学術ポータルによる提供、開発を行う。最終的に共同利用機関が提供する共同研究資料としてまとめる。

極域の氷床コアより取得された遺伝子データの解析で、何十万年にさかのぼったホモサピエンスの生活様式、環境及びその他の生命情報を取得できるよう試みる。極限環境下の地球環境変動と生命システムのメカニズムを解明する。

#### 平成 27 年度

ギンゴケの大規模なゲノム解析を完結させ、両極の氷床コアにおける表面、浅層、深層、最深部、及び岩盤破片における時間軸に沿った微生物解析を最終段階に入る。過去から今日に至るまでで起きた環境変動（温暖化、海水準変動、海洋大循環等）の原因を追究し、地球環境の変動と微生物の進化・多様化の相互作用をとりまとめ、最終的に極限環境下の地球環境変動と生命システムのメカニズムを解明する。

#### 平成 28 年度以降の展開

南極及び北極の氷床コア、極限環境から得られた地球形成に関する情報を取りまとめ、地球環境変動（温暖化、海水準変動、海洋大循環等）の相互作用について考察し、地球環境変動の解析と生命システム学を構築する。

#### サブテーマ 3 「生物の環境適応メカニズムの解明」

##### 平成 22 年度（予備研究・プロジェクト開始）

###### I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析

プロジェクト開始の予備研究として、第 1 期で確立した 1 細胞ゲノム解析技術を南極コケ坊主試料にパイロットスケールでの適用を行う。さらに、第 1 期で南極コケ坊主試料から分離した培養可能株のうち、他の大陸由来の近縁種においてゲノム解析が完了されている *Pseudomonas* 属細菌のゲノム

解析を行い、そのゲノム比較から南極微生物のゲノム特性に関する予備的な知見を取得し、本プロジェクトにおける戦略的および技術的な見通しを立てる。

## II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析

プロジェクト開始の予備研究として、第1期で解析を進めていた高度な凍結、乾燥耐性を持つ南極線虫 *Panagrolaimus davidi* について、凍結耐性が高まる低温馴化（4℃で1週間の飼育）を行った線虫から cDNA ライブラリ（PDF ライブラリ）を作成し、その配列解析を行う。さらに、より高度の凍結耐性能が期待される南極線虫を南極のコケの凍結試料から分離・同定を試みる。

## III) 微量試料（氷床コア、地殻コアなど）における遺伝子解析技術の開発

本プロジェクト第1期で確立した、レーザーマイクロダイセクションにより分取した微生物1細胞から 16S rRNA 遺伝子領域を増幅し塩基配列を決定するという技術について、論文として報告する。また本技術をコケボウズ試料に適応するための予備研究として、新たに好気性及び嫌気性培養可能微生物株の分離を行う。さらに、氷試料と異なり夾雑物の多いコケボウズ試料からの微生物1細胞分取、及び 16S rRNA 遺伝子増幅の技術的な見通しを立てる。

## 平成 23 年度

### I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析

平成 22 年度に南極コケ坊主試料からパイロットスケールで取得した 1 細胞ゲノムに関するゲノム解析を行うことで難培養性微生物のゲノム情報を取得すると共に、培養可能株においても窒素固定細菌を中心にゲノム解析を行い、これらのゲノム比較を行う。さらに、ゲノム情報を取得した南極コケ坊主試料からの好冷性 *Pseudomonas* 属細菌については、好冷性（耐冷性）を失った変異株のゲノム解析を行い、これらのゲノム比較から南極の低温環境に適応した好冷性（耐冷性）メカニズムの解明を行う。また、第 52 次南極観測隊夏隊が採取した新たなコケ坊主試料を用いた本プロジェクトとしての微生物ゲノムおよびメタゲノム解析を開始する。

### II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析

平成 22 年度までに、良好な環境と低温のストレス環境で南極線虫 *Panagrolaimus davidi* を飼育し、それぞれから作成した cDNA ライブラリの解析を行った。平成 23 年度は、これらの比較を行い、低温ストレスに対する耐性候補遺伝子のスクリーニングを行う。この結果得られた候補遺伝子は、温度条件による発現レベルの変動を qPCR（定量的 PCR）で検討する。第 52 次南極観測隊夏隊が持ち帰る南極の土壌、蘚苔類のサンプルから南極線虫を取り出し、形態分類、および分子系統解析を行う。また、研究室での飼育を試みる。

### III) 微量試料（氷床コア、地殻コアなど）における遺伝子解析技術の開発

コケボウズ試料から 1 細胞を分離して 16S rRNA 遺伝子情報を取得し、培養可能株との比較を行う。また、1 細胞からより多くの遺伝子情報を取得するために、LMD により分取した 1 細胞の全ゲノム増幅法の開発を行う。

## 平成 24 年度（中間評価）

### I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析

平成 22・23 年度において取得した南極コケ坊主試料からの 1 細胞ゲノム解析（難培養性微生物）および培養可能株のゲノム解析、および平成 23 年度において取得した新たなコケ坊主試料からのメタゲノム解析情報などを集約することで、本プロジェクトの中間評価を行い、戦略的および技術的な修正・変更を見極める。

## II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析

*Panagrolaimus davidi* の低温、乾燥、およびこれらからの回復期について異なる cDNA ライブラリを作成し、超平行配列解析装置によって配列データを取得し、低温、乾燥ストレスに対する耐性遺伝子候補をスクリーニングする。さらに、新たに飼育できた南極線虫については、乾燥、凍結耐性を確認し、これらの条件からの cDNA ライブラリの作成を行い、配列解析を行う。

## III) 微量試料（氷床コア、地殻コアなど）における遺伝子解析技術の開発

LMD による微生物 1 細胞遺伝子分析の最大の利点は、微生物の局在を観察しながら任意の細胞を取得できることにある。第 52 次南極観測隊夏隊が持ち帰る“生きた”コケボウズ試料について、コケ細胞近傍における微生物-微生物、微生物-コケの物理的相互作用という視点で顕微鏡観察を行い、微生物種の同定を行う。

## 平成 25 年度

### I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析

コケ坊主試料からの微生物を中心とした大規模なゲノム解析およびメタゲノム解析に取り組むと共に、平成 24 年度までに得られた知見を基に、個々の微生物における環境（低温、貧栄養）適応のメカニズムや、微生物間での相互作用（窒素固定、炭酸固定を中心とした代謝関連の共生関係）についてゲノムレベルでの解明を行う。

### II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析

標準状態、低温・乾燥状態、およびこれらからの回復状態においた南極線虫からタンパク質の抽出を行い、発現パターンの比較を行う。これらのストレス下において発現が変化するタンパク質を同定し、質量分析装置により耐性遺伝子候補を決定する。また cDNA、およびタンパク質の発現パターンの比較から得られた耐性候補遺伝子について、タンパク質を大量に精製し、生化学的な機能解析を行う。

### III) 微量試料（氷床コア、地殻コアなど）における遺伝子解析技術の開発

コケ細胞近傍において物理的相互作用が認められた微生物-微生物、微生物-コケのうち、コケの生育に積極的な関与が示唆される微生物についてさらに解析をすすめる。そのような微生物として例えば、細胞内共生菌や菌根様を形成する微生物、細胞壁や仮根など特定の部位に局在するものを想定している。

## 平成 26 年度

### I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析

平成 25 年度までに得られた知見を基に、コケ坊主生態系を構成する微生物の起源（由来）を解明するために、湖沼底堆積物、氷床下水系、氷床コア、地殻コアなどの試料においてもメタゲノム解析を行い、これらの比較を行う。また、必要に応じて個別生物間での詳細なゲノム解析比較を行う。

### II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析

南極線虫の体内での機能解析を行うため、コントロール遺伝子（致死率が高いなど、効果の観察が用意な遺伝子）を使って RNAi（RNA 干渉）法の確立を試みる。また、モデル線虫 *C. elegans* への南極線虫遺伝子の導入による耐性機能の獲得を試みる。

### III) 微量試料（氷床コア、地殻コアなど）における遺伝子解析技術の開発

前年までに同定できる微生物は難培養性であることが予想され、そのゲノムを解析するには LMD を使った 1 細胞分取と全ゲノム増幅法の確立が必須である。その技術的検討は平成 23 年度を中心に行う予定であるが、その技術が確立されていない場合、コケ細胞近傍の微生物をまとめて取得し、“メ

タ”ゲノムを行うことを検討する。

#### 平成 27 年度

##### I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析

本プロジェクトの集大成として、南極環境（低温、貧栄養、紫外線照射など）における個々の微生物および共生関係について、ゲノムレベルでコケ坊主生態系を評価することで、地球環境変動に対する生命システムの環境適応のメカニズムの解明をめざす。

##### II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析

乾燥、凍結耐性を持たない南極線虫の近縁線虫の cDNA、タンパク質の発現パターンの比較から、耐性遺伝子の同定を試みる。また、耐性候補遺伝子について、RNAi（RNA 干渉法）を使って遺伝子機能阻害を試みる。

##### III) 微量試料（氷床コア、地殻コアなど）における遺伝子解析技術の開発

前年まで主にコケボウズ試料を解析の中心とするが、適宜その他の試料（氷床コア、地殻コアなど）についても LMD による 1 細胞ゲノム分析の対象としていく。それらの解析を通して、本プロジェクトで培った LMD による 1 細胞ゲノム解析技術の技術的な適応範囲、例えば解析可能な試料形態、菌種、精度などを明らかにし、次代の研究のために役立てる。

#### 平成 28 年度以降の展開

##### I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析

本プロジェクトで取得された貴重な遺伝資源に対して、人類に有用な遺伝資源の活用および機能未知遺伝子の機能解明をめざす。

##### II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析

耐性候補遺伝子の培養細胞への導入、トランスジェニックマウスなどの作成を行い、高等生物での凍結・乾燥耐性の付加を試みる。

##### III) 微量試料（氷床コア、地殻コアなど）における遺伝子解析技術の開発

本研究プロジェクトを通して培った 1 細胞ゲノム解析技術の適応を様々な試料に対して行う。難培養性の微生物を研究対象とするあらゆる分野、特に顕微鏡による観察像が重要な情報となる研究に役立つものと考えられる。

#### サブテーマ 4 「南極沿岸氷雪圏と湖沼生態系から見た地球環境変動の変遷」

##### 平成 22 年度（予備研究・プロジェクト開始）

##### I) コケ坊主生態系の微生物種組成と物質循環構造

本プロジェクト第 1 期中に南極昭和基地周辺湖沼からサンプリングされ、微生物構成の概略が分析されたコケ坊主について、より詳細な解析を進める。種構成に加えて機能遺伝子の解析を開始し、物質循環系の概要を明らかにする。

##### II) 南極沿岸生態系の生物多様性と地史的変遷

蘚苔類、微生物、微小動物を中心とした生物多様性の解明を進め、特に分類困難とされている蘚苔類についての分子系統学的解析を進める。

##### III) 周氷生態系における生物圏探索

氷床上に存在すると思われる微生物を中心とした生物群について、その存在探索を実施し、種構成を解明する。

## 平成 23 年度

### I) コケ坊主生態系の微生物種組成と物質循環構造

微生物の種構成の解析を終了し、その全体像をコケ坊主の内部構造と共に分析する。機能遺伝子の解析を進め、コケ坊主内部環境との対応を明らかにする。

### II) 南極沿岸生態系の生物多様性と地史的変遷

蘚苔類についての分子系統学的解析を完成させる。またクマムシ、センチュウを中心とした微小動物についての分類学的検討体制を固め、南極からのサンプル解析を開始する。

### III) 周氷生態系における生物圏探索

氷河、氷床上に存在する微生物生態系の地域間比較を進める。

## 平成 24 年度 (中間評価)

### I) コケ坊主生態系の微生物種組成と物質循環構造

微生物の種構成および機能遺伝子の解析による物質循環系の全体像を解明する。地球生態系のミニチュアとして、生態系モデルの構築を進める。

### II) 南極沿岸生態系の生物多様性と地史的変遷

クマムシ、センチュウを中心とした微小動物についての分類学的検討を進める。湖底堆積物コア中の微小動物相解析に着手することで、生物相の地史的変遷を復元する。

### III) 周氷生態系における生物圏探索

氷河、氷床下に着目し、本格的な熱水掘削を試みる。氷河、氷床上の生態系と、沿岸陸上生態系との関係を明らかにする。

## 平成 25 年度

### I) コケ坊主生態系の微生物種組成と物質循環構造

これまでに得られた微生物構成と物質循環系、および内部環境データを元に、地球生態系のミニチュアとしてのコケ坊主生態系モデルを構築する。

### II) 南極沿岸生態系の生物多様性と地史的変遷

生物多様性の現状を解明するとともに、湖底堆積物コア中の生物相解析による地史的変遷を復元し、古環境復元データとの関連を明らかにする。

### III) 周氷生態系における生物圏探索

氷河、氷床の本格的な熱水掘削、および生物試料採取を実施し、氷床下という特異環境下の生物相を解明する。

## 平成 26 年度

### I) コケ坊主生態系の微生物種組成と物質循環構造

地球生態系のミニチュアとしてのコケ坊主生態系モデルを完成するとともに、南極湖沼生態系のサブユニットとしての位置付けから、研究対象を南極湖沼生態系全体の多様性・物質循環系に拡大する。

### II) 南極沿岸生態系の生物多様性と地史的変遷

生物多様性と物質循環に基づくネットワークを明らかにし、沿岸生態系の動的なシステムを解明する。これと地史的変遷モデルとを組み合わせることにより、ネットワークの変遷という新たな次元へと展開させる。

### III) 周氷生態系における生物圏探索

大陸氷床上、氷床中、氷床下全体を周氷生態系と位置付け、生物相と物質循環系を明らかにする。



## 平成 27 年度

### I) コケ坊主生態系の微生物種組成と物質循環構造

コケ坊主を中心とした南極湖沼生態系の生物多様性の全容、および各生物種が生態系の中に占める栄養的地位に基づくネットワークモデルを完成させる。

### II) 南極沿岸生態系の生物多様性と地史的変遷

南極沿岸生態系の生物多様性と物質循環に基づくネットワークを明らかにし、その地史的変遷を明らかにする。

### III) 周氷生態系における生物圏探索

周氷生態系における生物相を明らかにすると共に、その物質循環からの特性を明らかにする。

## 平成 28 年度以降の展開

南極湖沼を含む沿岸生態系、氷床を巡る周氷生態系を統一的に理解するため、生物多様性の全体像および物質循環のネットワークを明らかにする。このような生態系の全体像の理解は、系の構成が単純な南極でしかなしえないものである。さらに、堆積物からの過去の変動、および数値モデルからの将来変動の予測と、時間軸に沿った南極生態系の動態を明らかにする。

## [3] 研究推進・実施体制

4 研究所が連携して研究を進めるほかに、北海道大学、筑波大学、千葉大、東京大学、日本海洋技術研究機構 (JAMSTEC)、東京工業大学、理化学研究所、玉川大学、京都大学、京都府立大学、広島大学等と連携する。極地研はドームふじ氷床コア・コンソーシアム (ICC)、附属施設である南極昭和基地、北極スパールバル、日本ニーオルスン基地の利用をはじめ、北海道大学低温科学研究所、北見工業大学、JAMSTEC、アラスカ大学国際北極研究センターと共同研究を目的に MOU を交わしている。本プロジェクトを推進していく上でこれらの機関との連携は必須であり、現在、国内外の研究体制外は整備されている。

プロジェクトディレクター [国立極地研究所] 本山秀明

サブプロジェクトディレクター [国立極地研究所] 伊村 智

### ・共同研究者

[国立極地研究所] 藤井理行、東久美子、藤田秀二、工藤 栄、内田雅己、川村賢二、瀬川高弘、植竹 淳、中澤文男、小林悟、三浦英樹、菅沼悠介、神田啓史

[国立遺伝学研究所] 小原雄治、仁木宏典、斎藤成也、菅原秀明、鈴木えみ子、馬場知哉、柳原克彦、鹿児島浩、Kirill Kryukov

[国立情報学研究所・国立遺伝学研究所] 藤山秋佐夫

[国立情報学研究所] 佐藤真一、薦田多恵子

[統計数理研究所] 曹 纓、足立 淳

[北海道大学] 福井 学、

[筑波大学] 永田恭介、内藤忠相

[千葉大] 竹内 望

[東京工大] 黒川 顕、本郷裕一

[東京大学] 金子 亮

[玉川大学] 吉村義孝

[海洋研究開発機構] 高野淑識

[長浜バイオ大] 池村淑道、阿部貴志

[京都大学] 幸島司郎  
[京都府立大学] 牛田一成  
[広島大学] 長沼 毅

### サブテーマ

本研究プロジェクトは6つのテーマを掲げているが、これらを推進していくうえで、サブテーマを掲げた4つのチームを編成する。これらのチームは相互に流動しながら研究を進め、チームの研究代表者のもとでとりまとめていく。

#### サブテーマ1「氷床、氷河コアから見た地球環境復元と微生物、ウイルス、生物起原物質の解明」

・研究代表者

[極地研] 本山秀明

・共同研究者

[極地研] 藤井理行、東久美子、藤田秀二、川村賢二、瀬川高弘、植竹 淳、中澤文男

[遺伝研] 小原雄治、藤山秋佐夫、仁木宏典、馬場知哉、柳原克彦

[京都府立大学] 牛田一成

[玉川大学] 吉村義孝

[東京工大] 黒川 顕、本郷裕一

[京都大学] 幸島司郎

[長浜バイオ大] 池村淑道、阿部貴志

[北海道大学] 福井 学

[筑波大学] 永田恭介、内藤忠相

[千葉大] 竹内 望

#### サブテーマ2「極限生物の多様性と進化メカニズム」

・研究代表者

[統数研] 曹 纓

・共同研究者

[極地研] 伊村 智、工藤 栄、内田雅己、植竹 淳、小林悟志、神田啓史

[遺伝研] 菅原秀明、鈴木えみ子、鹿児島浩

[統数研] 足立 淳

[情報研] 藤山秋佐夫、佐藤真一、薦田多恵子

[東京工大] 黒川 顕、本郷裕一

[東京大学] 金子 亮

[京都大学] 幸島司郎

[長浜バイオ大] 池村淑道、阿部貴志

#### サブテーマ3「生物の環境適応メカニズムの解明」

・研究代表者

[国立遺伝学研究所] 仁木宏典

・共同研究者

[国立遺伝学研究所] 斎藤成也、馬場知哉、柳原克彦、鹿児島浩、Kirill Kryukov

[国立極地研究所] 三浦英樹、菅沼悠介

[東京大学] 金子 亮  
[長浜バイオ大学] 阿部貴志

#### サブテーマ4 「南極沿岸氷雪圏と湖沼生態系から見た地球環境変動の変遷」

- ・研究代表者  
[国立極地研究所] 伊村 智
- ・共同研究者  
[国立極地研究所] 工藤 栄、瀬川高弘、植竹 淳、中澤文男、内田雅己、神田啓史  
[国立遺伝学研究所] 馬場知哉、鹿児島浩  
[広島大学] 長沼 毅  
[日本海洋技術研究機構] 高野淑識

### [4] 研究の進捗状況

平成 22 年度の研究の進捗についてサブテーマ毎にまとめた。

#### サブテーマ1 「氷床、氷河コアから見た地球環境復元と微生物、ウイルス、生物起原物質の解明」

##### I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明

- ・ドームふじコアの 72 万年間の基本データセット作成と高精度年代決定については研究を継続した。
- ・氷床コアから気温変動復元を高精度化するために、同位体モデルを用いた気温復元実験について詳細な再検討を行った。とくに、水分子の「水素」と「酸素」安定同位体比を両方とも解析に組み入れることで、水蒸気起源海域の水温復元の妥当性に注目して解析した。その結果、過去の研究結果とは異なり、水蒸気起源水温変動が有意に大きい推定値を得た。しかし、気温の復元結果は過去の研究とは大きくは異ならなかった。現在、この手法を他地点のアイスコアに適用し、妥当性を検討している。
- ・南極の最終氷期中の数千年スケールの温暖化イベントである AIM について、10 年以内の時間分解能でコア解析を進めた。イオンが 2.5 万年前から 3.9 万年前まで、水同位体が 2.7 万年から 3.9 万年、ダストが 2.3 万年から 3.9 万年までで、6 つの AIM イベントが含まれる。平成 23 年度から重点的に研究を進める。
- ・固体微粒子分析装置の相互比較を行った。異なる分析装置から得られた分析データの比較を可能にするため、異なる分析原理の測定器の比較を行った。使用したのは、電気抵抗方式の **Coulter Multisizer**、レーザー散乱方式の **MetOne** 及びレーザー光遮蔽方式の **Abakus** の 3 つである。その結果、以下のことが分かった。1. 3 つの測定機器の間で、実際の試料を使った測定結果に相違があった。2. この相違については、レーザー方式のデータにおいて粒子径を導き出すキャリブレーション曲線を変更することで、**Coulter Multisizer** のデータと一致するように較正することができる。3. 較正して得られたキャリブレーション曲線は、キャリブレーションを実施したサンプルが採取された地域、時代と大きく異なるサンプルには適用できない。このため、性質が大きく異なるサンプルを分析する場合は、新たなキャリブレーション曲線を作成する必要がある。
- ・アイスコア自動融解・分注装置の開発に着手した。サンプル前処理の自動化、省力化を行うため、アイスコア自動融解・分注装置の開発を実施する必要がある。22 年度はその第一段階として、以前購入した部品を用いて、アイスコア自動融解・分注装置の組み立てを行った。ダストについてブランクテストを行ったところ、良好な結果が得られた。

## II) 南極氷床アイスコア中のゲノム解析

南極氷床アイスコア中の微生物は細胞濃度が極めて低く、そのほとんどが培養不可能な細胞であると考えられる。試料年代が古いため遺伝子解析をおこなうことは技術的に非常に難しく、またコンタミネーションの問題も焦点となってくる。そこで、平成 17 年度より開始された新領域融合プロジェクト地球生命システムにおいて、1) 無菌環境下で微生物を採取するためのアイスコア融解装置の作成 2) 古代試料中の DNA 解析のための技術的問題の解決 3) 培養不能細菌の少数細胞からのゲノム完全長取得法の開発をおこなった。特にアイスコア試料中の細胞数は極めて少ないため(10cells/ml 以下)、一般的な反応系では標的細胞以外の DNA の混入やゲノム領域間における増幅バイアスやキメラ配列の形成が問題になる。また、高精度の細胞分離手法や、全ゲノム増幅をおこなうために、ナノリットル・スケールで流体を制御し高密度のチャンネルネットワークを備えた集積流体回路チップを用いたゲノム増幅手法の開発もおこなった。

開発したこれらの手法を用いて、アイスコア試料の分析をおこなった。アイスコア試料の周囲にポジティブコントロールとして人工的に合成した DNA を塗布した後に、開発した融解装置を用いて氷の中心部と、周囲部とをそれぞれ採取した。人工 DNA 配列は氷中心部試料からは検出されず、周囲の試料からのみ検出されたことから、コンタミネーションの除外は成功した。ゲノム増幅手法をもちいて微生物およびウィルスの遺伝子増幅をおこない、次世代シーケンサーにてゲノム解読をおこなった。現在、ゲノム情報解析を進めている。

## III) アイスコア中に取り込まれた微生物由来の抗生物質耐性遺伝子

平成 17 年度より開始された新領域融合プロジェクト地球生命システム(ディレクター神田啓史)において、テトラサイクリン系、アミノグリコシド系、ベータラクタム系、フェニコール系、マクロライド系、グリコペプチド系およびキノロン系に属する抗生物質について、主として過去に環境試料から検出されたことのある耐性遺伝子をターゲットとして網羅的リアルタイム PCR 検出系を構築し、南極ジェームスロス島およびアラスカ氷河、中国内陸氷河より採取した表面雪氷試料を解析した。その結果、中国内陸氷河およびアラスカ氷河試料からアミノグリコシド系やベータラクタム系、テトラサイクリン系の抗生物質に対する耐性遺伝子が検出され、また南極は相対的に清浄に保たれていることを見出し、*Journal of General and Applied Microbiology* 誌に報告した。今回のプロジェクトでは、検出方法のさらなる集積化を図るとともに、コア試料の解析を実施し、抗生物質耐性遺伝子伝搬の年代変化を明らかにしようとしている。

平成 22 年度は、極地研究所に設置のフリューダイン社製 BioMark システムに、ロシュ社製 LightCycler480 のリアルタイム PCR 検出システムを移行した。

今年度分析した試料は、試料年代の測定が終了している北極圏スピッツベルゲン島 Austfonna アイスコアと中国内陸部 Dundee 氷河アイスコアである。

アイスコア融解装置を用いてコア試料内部からコンタミネーションフリーの試料を取り出し、メンブレンフィルター上に粒子を回収し、DNA 抽出を行った。これをテンプレートとしてフリューダイン社のプロトコールに従い、STA 反応と増幅検出を行った。

今回検出された遺伝子は、アミノグリコシド系、ベータラクタム系が中心であり、このうちアミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ(Aph)は、比較的広く検出されたため、aph 遺伝子に特異的なプライマーを設計して PCR 増幅し、増幅産物のシーケンス解析を行った。

その結果、中国内陸氷河試料の 1975 年以降に aph 遺伝子が検出され、特徴的なことにいずれもトランスポゾンを上流にもつことが分かった。

#### IV) 氷試料中のウイルスの多様性と進化メカニズムの解明

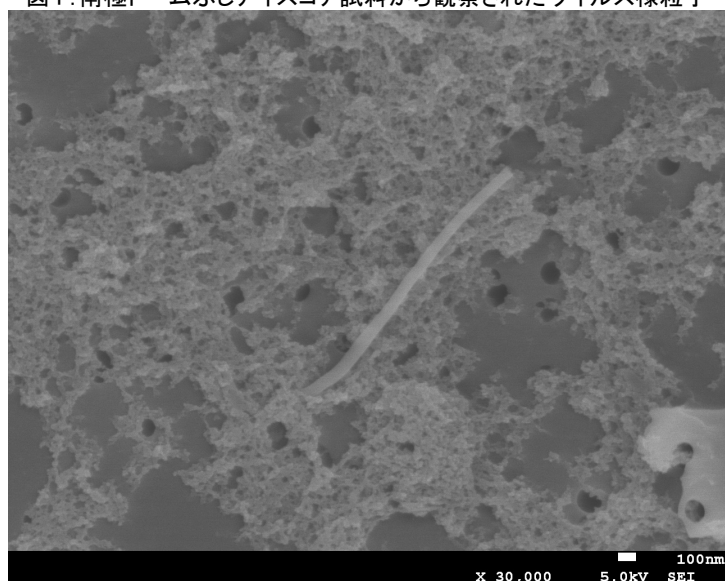
ウイルスは飛躍的に速い進化速度を持つことから、ウイルスゲノムの時系列的な変化を解析することは年単位で、かつ現在進行形でウイルスの多様性を把握することができる。さらに人類や動植物の進化や生活環にウイルスがと密接に関わり合っていることから、これまで未知であった過去の人類や動植物の解明に、重要な役割を果たすと考えられる。しかし、特に RNA をゲノムとするウイルスは、そのゲノムが分解されやすいことや、氷試料中のウイルスが微量であることから分析には困難が予想され、これまで解析されていないのが現状である。

まず南極ドームふじアイスコア試料中にウイルスが含まれているかどうか電子顕微鏡を用いて分析をおこなった。その結果、Rod-shaped type virus に分類されると考えられるウイルスが観察されたことから (図 1)、南極ドームふじアイスコア試料中にはウイルスが含まれていることが示唆され、塩基配列の取得を試みることにした。

これまでに多量の雪氷試料からの DNA の抽出、同定には成功しているが、ごく少量の雪氷試料からの RNA および DNA 抽出にはまだ技術的問題が残されているため、特にこれらの問題を解決するための研究を行った。生物量の多い南極半島、および中国の氷河表面の試料を用いて、微量 RNA からの全トランスクリプトーム増幅法 (whole transcriptome amplification)、および少数細胞からのゲノム完全長取得法を用いて、全ゲノム増幅方法のプロトコルを確立するための作業などを行った。確立したプロトコルを、南極ドームふじアイスコア試料 (約 23 万年前)、およびキルギスタンから採取されたアイスコア試料 (90 年前) に応用させ、全ゲノム増幅をおこない、次世代シーケンサー (454) で数万リード程度解読をおこなった。現在、ウイルスの系統推定や、異なるウイルス間のゲノム比較、その特徴などの情報解析をおこなっている。

また、発育鶏卵を用いたアイスコア (南極ドーム基地、およびキルギスタン) に含まれるウイルスの増幅実験をおこなった。第 11 日目齢卵 (有精卵) に無菌的に融解させた試料を接種し、35.5°C で 2 日から 4 日間培養をおこなった。ネガティブコントロールとして滅菌超純水の接種をおこなった。発育鶏卵のしょう尿液を回収し、増幅したウイルスを動物細胞に感染させ、37°C で 2 週間から 1 ヶ月程度培養をおこなった。光学顕微鏡により細胞の形態を観察し、ウイルスに感染した細胞にみられる形態変化を示したものに対して、しょう尿液から核酸抽出および全ゲノム増幅をおこない、次世代シーケンサー (454) で数万リード程度解読をおこなった。現在、情報解析中である。

図1:南極ドームふじアイスコア試料から観察されたウイルス様粒子



#### V) アイスコア中の微生物の蛍光顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡を用いた高感度検出法の開発』

南極アイスコア中に含まれる微生物は、氷期、間氷期サイクルなどの過去の気候変動と連動して変化している可能性があり、これら微生物の多くは、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。アイスコア中に含まれる低濃度の微生物を鉱物粒子などの存在下でも定量的に検出する為に、昨年度から共焦点レーザー顕微鏡を用いた2種類の蛍光色素の波長特性を検出する方法（スペクトル法）を検証し、画像解析ソフトと組み合わせた細胞の自動定量法の開発のための予備実験を実施してきた。本年度は、核酸、タンパク質、細胞膜などに特異的に結合する計16種類の蛍光試薬の微生物への染色特性、非生物粒子への非特異的な結合などを考慮し、蛍光顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡解析に適した蛍光色素の選出をおこなった。この結果、核酸染色試薬においてはYOYO-1 (Molecular Probes, Invitrogen 社) が蛍光観察、レーザー観察において最も明るく、かつ退色が少ない事が明らかとなり、アイスコア試料を対象とした微生物カウントにおいて適している事が明らかとなった。また核酸と膜の多重染色をした培養株では、両者が明瞭に染め分けられているバクテリアは、核酸のみ染色した微生物と比べてカウント数が非常に少ない事から、検出感度を向上させる結果とはならなかった。このことから鉱物粒子などを多量に含むアイスコア試料においては感度の高い核酸染色試薬のみの単一染色で観察する事が、最も検出感度の高い観察方法である事が示された。

#### VI) 氷河・氷床中の花粉1粒ずつのDNA分析—遺伝情報を利用した古環境復元—

本研究の目的は、1) 南極氷床中のマツ属花粉1粒ずつをDNA分析し、種を同定したのち、その分布域をもとに花粉の起源を推定すること。さらに、2) 南極氷床で広域的に採取した表層雪氷試料を1)の方法で解析し、氷床へ輸送される固体微粒子の起源を時空間的に明らかにし、数値実験による結果と本研究から明らかになる室内実験の結果との比較から、南極における物質循環の理解を深めることにある。

従来の花粉の分類は顕微鏡による形態観察をもとにおこなわれていたため、マツ属花粉の場合は、属よりも下の階級で分類することは困難であった。平成22年度は予備実験として、ロシアのベルーハ氷河から採取した雪氷試料をもちいて、そこに含まれるマツ属花粉1粒ずつをPCRし、従来属レベルで留まっていた分類を節レベルでおこなうことを試みた。PCRは、葉緑体DNA上の遺伝子領域(*rpoB*の一部、149bp)を増幅対象とした。計105粒の花粉で実験をおこなったところ、8粒から塩基配列を取得することができた。マツ属の下位の階級には、2亜属、4節、17亜節、約111種が存在する。本研究で取得した塩基配列は、4つの節(*Quinquifoliae*・*Parrya*・*Trifoliae*・*Pinus*)のうち、全て*Quinquifoliae*節のものであった。ベルーハ氷河周辺には現在、*Quinquifoliae*節に属するシベリアマツ(*Pinus sibirica*)が分布しており、この一致は、ベルーハ氷河に飛来する花粉が周辺に分布するマツ属起源であることを示唆した。現在、一階級下の亜節までの分類を目指して研究を進めている。マツは種によって分布域が大きく異なるので、亜節での分類が可能となればマツ花粉の起源を少なくとも大陸レベルで推定することが可能となる。また、今後本手法をアイスコア中の花粉に適用するために、ベルーハ氷河で採取したアイスコアをもちいて、そこに含まれる花粉のDNA残存について調べた。実験には、2003年と1965年の層から抽出したマツ属花粉を使用した。花粉を核酸染色液(SYBR Gold)で染色したところ、双方の花粉とも生殖核が明瞭に観察でき、花粉内にDNAが残存していることが確認された(図1)。また、経年変化に伴う染色の差異は特に見られず、DNAの保存は良好であると考えられた。本実験により、花粉1粒ずつのDNA解析がアイスコア研究においても展開できることが示唆された。

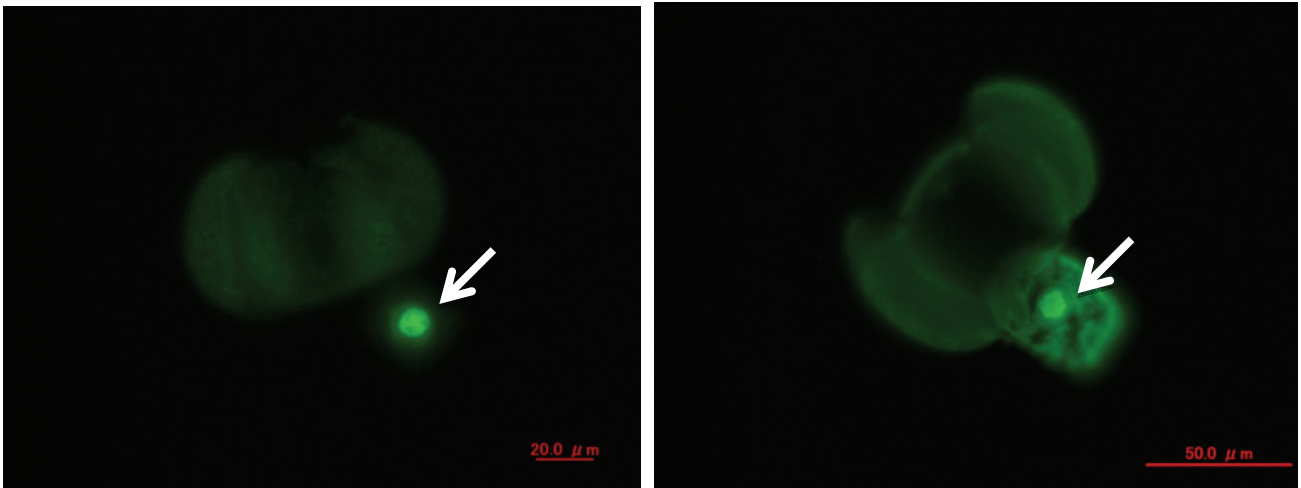


図1 マツ属花粉を核酸染色液で染色した結果。左が 2003 年、右が 1965 年の層から抽出したもの。いずれも生殖核(矢印)が明瞭に観察できる。

## VII) フィールド蛍光顕微鏡の開発

蛍光顕微鏡は、各種の蛍光色素による染色や、クロロフィルなどの自家蛍光物質を利用し、微生物を高感度に検出することができる機器であり、環境中の微生物研究において幅広く用いられている。この方法では、現地で採取した試料を、冷凍保存あるいはホルマリンなどで固定し、実験室に持ち帰ってから分析することが一般的であるが、現場で、試料採取後ただちに分析することができれば、その場所で実際に活動している微生物を分析することができる他、試料採取場所の選定においても有益な情報が得られると思われる。しかしながら、フィールドで使用できる蛍光顕微鏡は少なく、特に極地のような低温環境で、数 $\mu\text{m}$ スケールのバクテリアが検出可能な高感度かつ高解像度の蛍光顕微鏡はほとんど存在しない。そこで、本研究は、極地で使用可能なポータブル蛍光顕微鏡を開発することを目的とし、本年度は、静岡大学・宮川厚夫氏の協力を得て顕微鏡の設計と光源部の製作を行った。

図1は本顕微鏡の概念図であり、設計した仕様は以下の通りである。(1)水深5mまでの水中でも観察可能な防水・防塵構造、(2)試料をステージに載せることなく、地表や水中の試料をそのまま観察可能、(3)X軸、Z軸、 $\theta$ 軸駆動機構により、地表面などを広範囲に走査可能、(4)低温(-40℃)から高温(85℃)の広い温度範囲で使用可能、(5)省電力化のため、励起光源としてレーザーダイオードを用いる、(6)蛍光観察波長は、蛍光フィルタホイールを利用することによって、3~5波長から選択可能

光源部の製作では、レーザーダイオードを光源とする装置を製作した(図2)。用いたレーザーダイオードは、波長375nm、405nm、488nm(日亜化学工業)、638nm(三洋電機)の4つである。これらのレーザーダイオードからの光は、レーザービームコンバイナーを用いて1本の光ファイバーに入射して顕微鏡本体へ導入させた。これにより、1種類のレーザーダイオードによる蛍光観察だけでなく、複数のダイオードを点灯させ、白色光として用いる反射光観察も可能になった。また、レーザーの集光には非球面レンズを用いるため、光学設計ソフトを利用してシミュレーションを行い、高効率で光ファイバーへ入射できるように設計した。来年度以降は、微弱な蛍光に対応するために、裏面入射型CCD撮像素子等を用いた検出装置の製作を行う予定である。



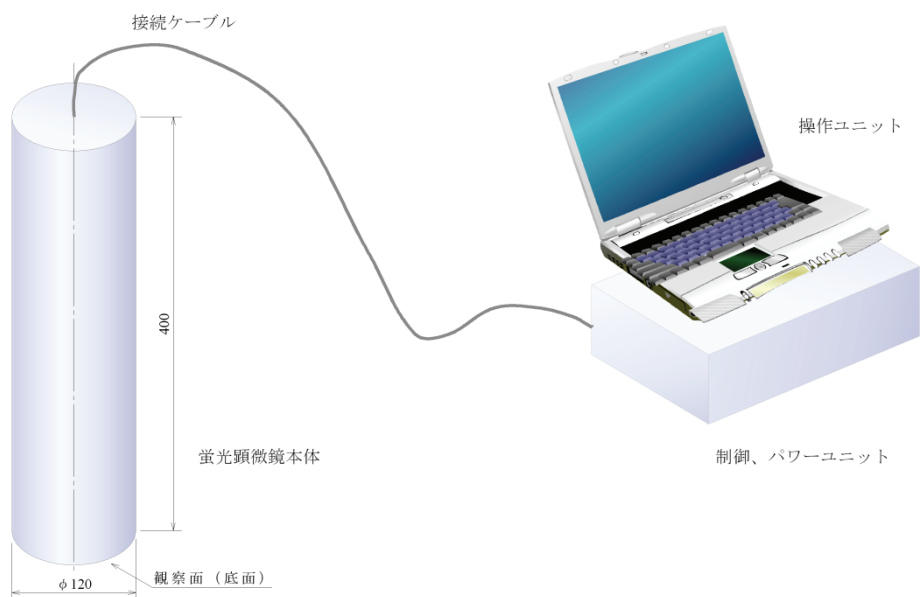


図1 ポータブル蛍光顕微鏡の概念図

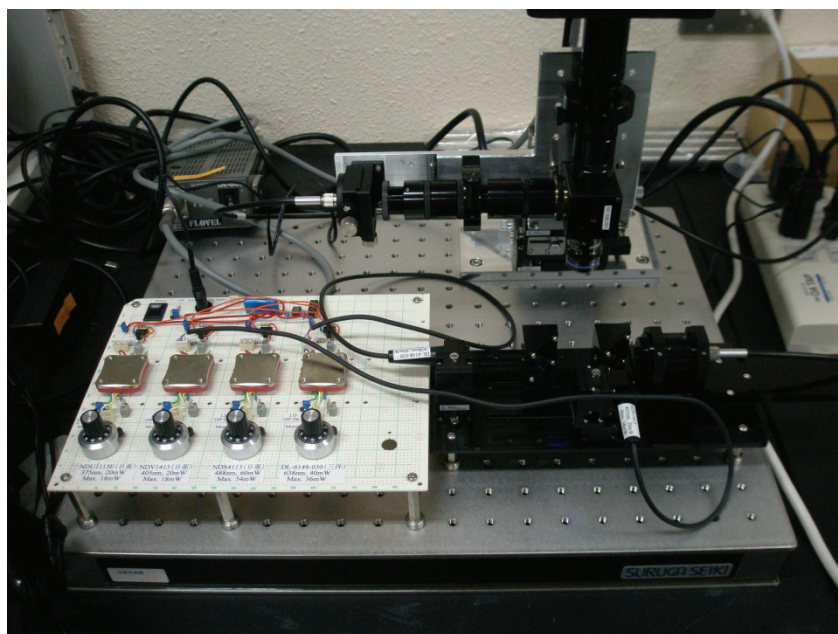


図2 4波長のレーザーダイオードを用いた光源部

## サブテーマ2 「極限生物の多様性と進化メカニズム」

### I) グリーンランドにおける微生物多様性に関する研究

グリーンランド西部・ラッセル氷河における微生物相の解析を行った。

氷河や氷床の表面には、“クリオコナイト”と呼ばれる直径 1mm 前後の球状粒子が、局所的に存在している。クリオコナイト内では雪氷藻類（主にフィラメント状シアノバクテリア）を一次生産者とし、従属栄養生物を消費者とする微小生態系が形成されていると推察される。しかし、クリオコナイトを構成する生物種の多様性やそれらの機能、食物連鎖については未だ明確ではない。そこで、本研究ではクリオコナイト生態系の構造を理解することを目的とし、平成 22 年度はその予察的研究として微生物群集構造の解析を行った。



2009年7-8月にグリーンランド西部・ラッセル氷河で採取されたクリオコナイト(採取地点はRU2、RU3の2地点)を解析に供した。同時に、リファレンス試料として、クリオコナイトを含まない氷河中(採取地点はRU1の1地点)の微生物群集も解析した。試料から抽出した全ゲノムDNAを鋳型とし、真正細菌の16S rRNA遺伝子領域のPCR増幅し、クローニングを行い、合計753の塩基配列を決定した。系統解析の結果、得られた配列は119 OTU (operational taxonomic unit) に分類された。クリオコナイトを構成する主な生物がシアノバクテリアであることはこれまでの知見でも報告されてきたが、本研究においても *Oscillatoriales* (フィラメント状) や *Chroococcales* (単細胞の付着藻類) に属するシアノバクテリア由来の配列が全体の約40%を占めた(図1)。いずれも窒素固定を行うことが報告されており、大気中の窒素ガスを窒素化合物(アンモニア、硝酸塩など)に変換してクリオコナイト内の生物にとって利用可能な窒素を供給していると考えられる。続いて、*Bacteroidetes*、*Alphaproteobacteria*、*Betaproteobacteria* に属する系統群が比較的多く検出されたが、概ね未培養であるため生理的な特徴は不明であるため、更なる研究を要する。氷河(RU1)とクリオコナイト(RU2、RU3)における微生物群集構造を比較した結果、氷河とクリオコナイトの微生物相は大きく異なった(図2)。また、数km程度しか離れていないクリオコナイト間(RU2とRU3)でも、微生物の種組成に違いが見られた(図2)。本研究により、クリオコナイト内に生息する微生物多様性の高さが示されたとともに、近隣のクリオコナイト集落間でも微生物群集が非常に異なることが明らかとなった。

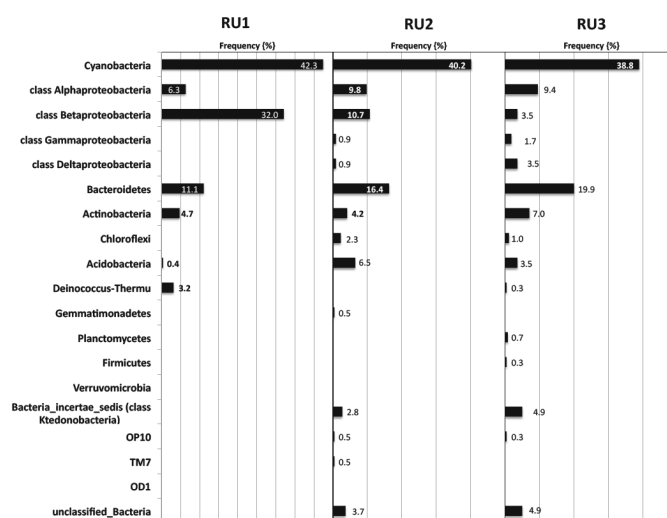
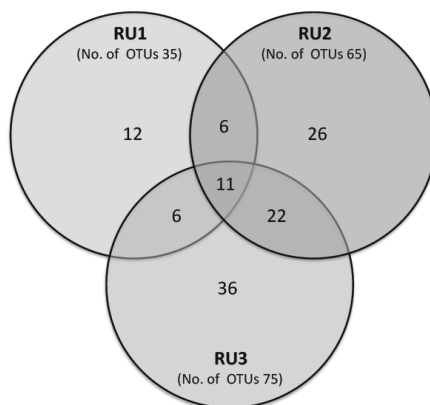


図1. ラッセル氷河の各調査地点(RU1, RU2, RU3)における真正細菌の存在割合[%]



Venn Diagram at distance 0.03

図2. 各調査地点間の微生物相の比較

## II) 極限環境生物統合データベースの構築

これまで、極地研の収蔵標本（蘚類）の 3D 画像データベースを進めてきたが、南極に分布している蘚類を現場で撮影できるドーム型の 3D アームの開発を行った。この撮影装置は、緯度・経度それぞれ、15°ずつ撮影できるもので、緯度は、真上の 90°から、75°、60°、45°、30°と撮影し、軽度は 360°を 15°ずつ撮影する。一回の撮影で合計 120 枚の画像を取り込む。得られた 120 枚の画像は、独自に開発した専用のソフトで編集し、3D システム画像として、実際に生えている南極蘚類の実態を見ることができるものである。

この撮影場所については、GPS データを付加し、現在、南極 GIS ポータルへのデータ導入を試みている。

## III) 極域コケ類のゲノム多様性

第 1 期計画に続き、極地研に収蔵されている冷凍保存コケ類標本試料のうち、ゲノム解読に適した試料の選別を行った。対象としたのは、汎世界種と考えられているギンゴケであるが、培養下での生育速度が遅く、国内、およびアラスカで採取した生標本についてのみ純培養に成功した。南極由来の冷蔵試料について 1980 年代初頭に採集された凍結試料からギンゴケ以外のコケ類（未同定）と、クマムシ（種未同定、培養不能であった）、線虫が再生したものの、目的のギンゴケについては必要な試料が得られなかった。このため、南極観測隊に参加し、コケ類の採集を行った。また、国内産純培養標品については、遺伝研プロジェクトと連携し 454 シーケンサーを用いた大規模ゲノム配列決定を 2 ラン実施した。

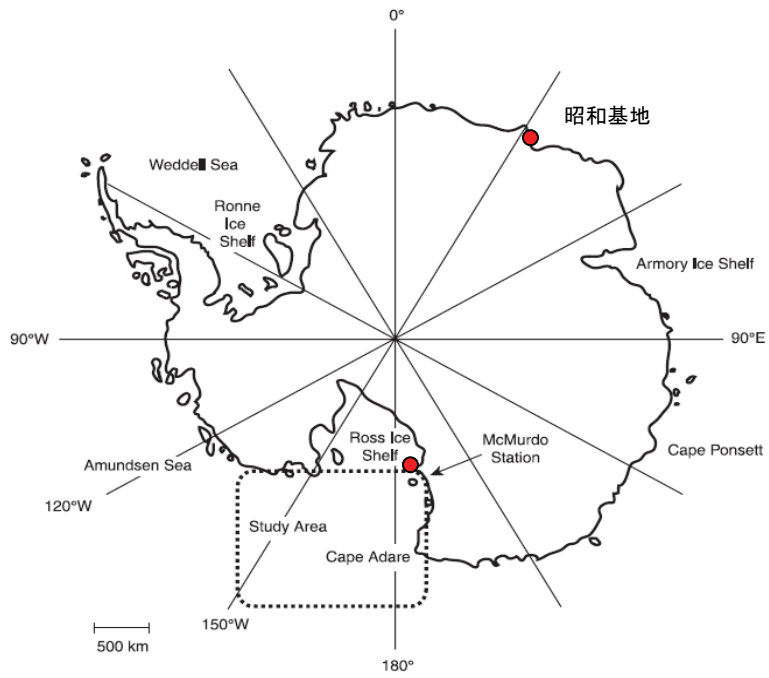
## IV) 極域環境と鰭脚類の進化

地球上には 5000 種以上の多種多様な哺乳類が生息しているが、その進化の過程の中で最も劇的な形態的变化を伴う進化は飛翔適応と水棲適応であろう。鰭脚類（アザラシ 13 属 18 種、アシカ 7 属 16 種、セイウチ 1 属 1 種）がその高度な適応を遂げた一つのタクサであり、陸上の肉食動物から、海に再適応する形で進化したグループである。彼らは主に、極地のような寒い海に住む種が多く、今回着目したウェッデルアザラシは南極域の氷の下でほとんどの時間を過ごし、生息域はアザラシ類で最南端に位置する。ウェッデルアザラシの分子進化速度の推定と集団サイズの拡大の時期を調べることで鰭脚類の進化と地球環境の関連につれてわれわれの理解が深まっていくことが期待される。

グリーンランドでは人類の髪の毛の遺伝子解析に成功しているとの報告があり、今回極地研に収蔵されている南極に生息するウェッデルアザラシミイラの標本について、年代測定、DNA 抽出、ミトコンドリア D-loop の部分配列解読、および系統樹解析を行った。

1) まず昭和基地周辺で発見されたウェッデルアザラシ幼体の全身ミイラサンプルとマクマード基地周辺で採集されたミイラ、2 つのサンプルについて、放射性炭素法による年代測定を行った。測定の結果 2 つのサンプルは約 1160 年前のものと約 2470 年前のものである可能性が高いことが分かった。

Fig. 1  
showing  
were c



標本 No: A01-05-004

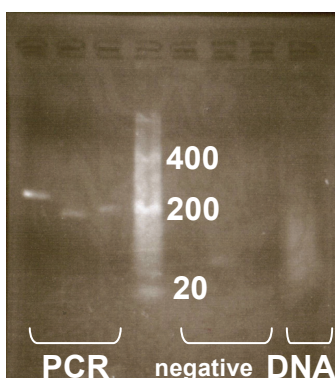
測定番号	試料名	採取場所	試料形態	処理方法	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) (AMS)	$\delta^{13}\text{C}$ 補正あり	
						Libby Age (yrBP)	pMC (%)
IAAA-103262		東南極 昭和基地周辺	アザラシ幼体 ミイラの油脂	Non	$-30.88 \pm 0.39$	$1,160 \pm 30$	$86.59 \pm 0.28$



標本 No: A01-05-005

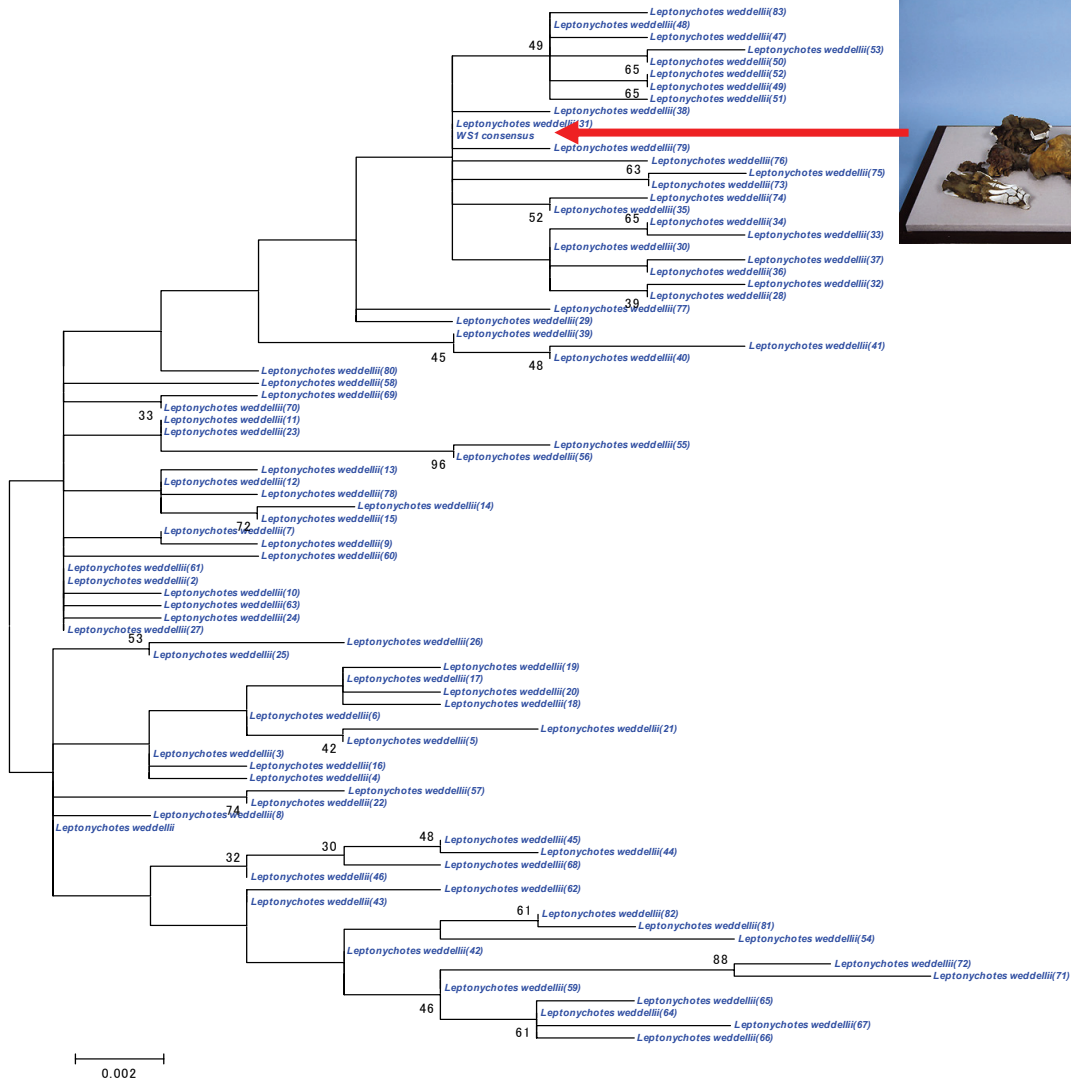
測定番号	試料名	採取場所	試料形態	処理方法	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) (AMS)	$\delta^{13}\text{C}$ 補正あり	
						Libby Age (yrBP)	pMC (%)
IAAA-102778	1	西南極 マクマード基地周辺	アザラシのミイラ	HC 1	$-21.98 \pm 0.44$	$2,470 \pm 30$	$73.49 \pm 0.25$

2) 年代測定の結果より古い年代のサンプルについて、DNA 抽出を行い、ミトコンドリア D-loop の部分配列 (471bp) 解読を行った。



3) ミトコンドリア D-loop 領域において、解読されたミイラサンプルを含む 84 個体現生ウェッデルアザラシの部分配列を基に、系統樹推定を行ったところ、ミイラサンプルの配列はある現生個体の配列との間、塩基置換はなかったことが分った。しかし、その後、ウェッデルアザラシの骨サンプルが入手でき、最終氷期までさかのぼる可能性もあり、更なる解析が期待できる。

ミトコンドリア D-loop 領域(471bp)データに基づく最尤系統樹



サブテーマ 3 「生物の環境適応メカニズムの解明」

I) 南極コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノムおよびメタゲノム解析

I - i) 1 細胞ゲノム解析技術の南極コケ坊主試料への適用

平成 19 年度より 1 細胞レベルでのゲノム解析技術の確立に着手した。その鍵を握るのが 1 細胞からのゲノム DNA 増幅技術であり、一般に微量 DNA からのゲノム DNA 増幅反応には Phi29 DNA polymerase 酵素が用いられるが、この反応系には目的 DNA 以外のバックグランド DNA が増幅され易いなど実用化には課題が残されていた。そのため、酵素、反応試薬類、実験水の純度および反応系の再検討などを経て、平成 20 年度には大腸菌をモデルにした 1 細胞レベルのゲノム DNA 増幅で目処をつけることができた。平成 21 年度には実験環境に内在するバックグランド DNA の増幅の由来を調べ、1 細胞レベルでのゲノム DNA 増幅の実用的なシステムを構築し、南極氷山水試料を用いた実証実験を行った。平成 22 年度は本解析技術を用いて南極コケ坊主試料での解析を試みた。

その概要を図 1 に示す。コケ坊主の外側断片からコケ坊主に共生する微生物を含んだ水試料 400 マイクロリットルを採取し、そのうち 100 マイクロリットルからは DNA 抽出を行い、16S rDNA ライブラリー (5.1 x 10<sup>4</sup> クローン) を構築、そのうち 545 クローンの 16S rDNA 配列を取得した。

残りの水試料の一部を数段階に希釈し、それぞれの希釈液の一部から1細胞レベルとなるゲノムDNA増幅反応を試みた。448のゲノムDNA増幅反応から144反応でDNAの増幅を検出した。144の増幅ゲノムDNA産物からPCR法で16S rDNA増幅を行い、56で16S rDNAの増幅産物が得られ、さらに塩基配列決定を試みたところ、28の16S rDNA配列を決定した。同じコケ坊主試料からは平成20年度および平成21年度に61株の培養可能な細菌が分離され、それらの16S rDNA配列が決定されている。これらをゲノム解析が完了した細菌および古細菌の16S rDNA配列と比較した結果を図2に示す。Proteobacteria、Bacteroidetes、Actinobacteria、Firmicutes、Cyanobacteria、Acidobacteriaを中心に、ゲノム解析が完了した細菌種に比較的近縁(16S rDNA配列が90%以上の類似度)のものが、16S rDNAライブラリーで220クローン、1細胞ゲノムDNA増幅で19反応産物、培養株で58株あり、新規性の高い(16S rDNA配列が90%未満の類似度)のものは、それぞれ325クローン、9反応産物、3株であった。これらは、16S rDNAライブラリーで100グループ、1細胞ゲノムDNA増幅で23グループ、培養株で22グループに分類され、それらの重複の関係を図3に示す。16S rDNAライブラリー、1細胞ゲノムDNA増幅、培養株の全てで検出されたグループは3グループあり、それはProteobacteriaの*Phenylobacterium*属、*Rhodospirillum*属、*Sphingomonas*属細菌であった。1細胞ゲノムDNA増幅と培養株で検出された4グループはProteobacteriaの*Mesorhizobium*属、*Pseudomonas*属、*Caulobacter*属およびその近縁属細菌であり、16S rDNAライブラリーと1細胞ゲノムDNA増幅で検出された6グループは、Proteobacteriaの*Geobacter*属、*Beijerinckia*属、*Granulibacter*属、Firmicutesの*Streptococcus*属、*Moorella*属、Bacteroidetesの*Gramella*属であった。これらは、ゲノム解析が完了した細菌種の知見から、コケ坊主において窒素固定や代謝産物の分解、呼吸・電子伝達などの役割が示唆された。16S rDNAライブラリー、1細胞ゲノムDNA増幅、培養株の各実験結果でのみ検出されたグループが、それぞれ85、9、10グループあり、これは実験条件による偏り(16S rDNAライブラリー:PCRおよびクローニング、1細胞ゲノムDNA増幅:溶菌、培養株:培養の選択圧など)が考えられ、生態系の全容解明には、これら複数の実験手法による相互補完の重要性が示唆された。

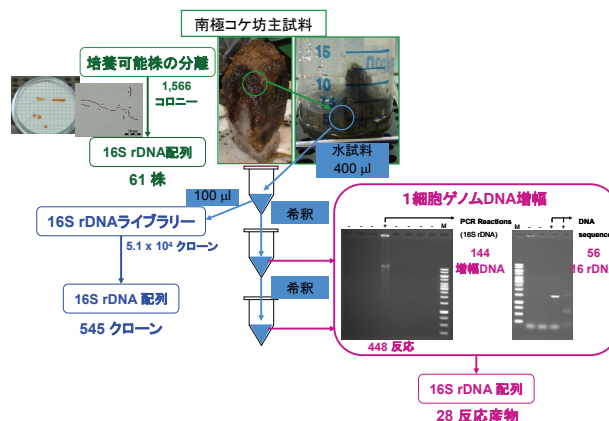


図1. 南極コケ坊主試料での1細胞ゲノムDNA増幅実験の概要

16S rDNA類似度	培養可能株	16S rDNAライブラリー	1細胞ゲノムDNA増幅産物
90%+	58	220	19
<90%	3	325	9

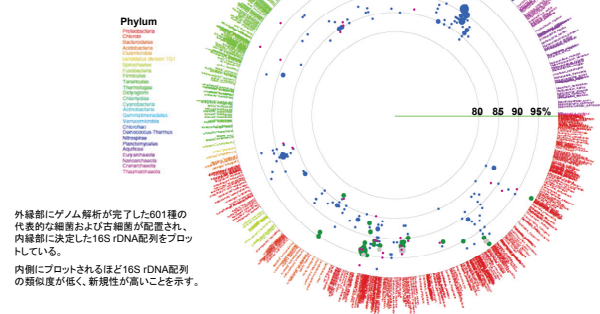


図2. 南極コケ坊主試料から得られた16S rDNA配列とゲノム解析株との比較  
Visualization tool for Taxonomic Compositions of Microbial Community (VITCOMIC, BMC Bioinformatics 2010, 11:332.)

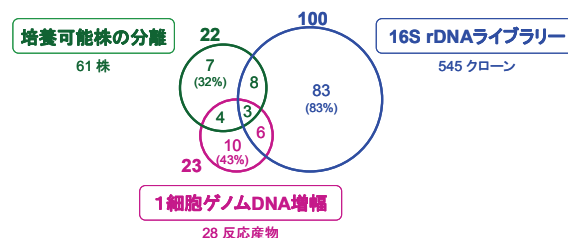


図3. 南極コケ坊主試料から得られた16S rDNA配列グループ間の比較

16S rDNAライブラリー(545クローン)、1細胞ゲノムDNA増幅(19反応産物)、培養株(61株)から得られた625の16S rDNA配列は120グループに分類され、それぞれ100、16、22グループから構成され、一部で重複が見られたが、多くは実験間での偏りを示唆する結果となった。



I – ii) 南極細菌のゲノム解析

南極大陸は約 5,000 万年前にオーストラリア大陸から分離した後、急速に寒冷化し、それによって南極の細菌はその低温環境に適応するための進化を遂げたと考えられている。世界中で細菌のゲノム解析は現在までに約 1,400 株で完成し、4,000 株以上が解析中であるが、南極由来の細菌でゲノム解析が完成したものは 2 株、解析中を含めても 14 株でしかなく、生命の進化と環境適応の観点から、南極細菌のゲノム解析研究の蓄積は重要課題の一つである。南極 Skarvsnes の湖沼で発見されたコケと微生物の共生体である“コケ坊主”から、平成 20 年度に、Proteobacteria の *Pseudomonas* 属細菌を分離し、*Pseudomonas* sp. MP1 株と命名した。平成 21 年度には、*Pseudomonas* sp. MP1 株のフォスミド・ライブラリーを構築した。

平成 22 年度は、この *Pseudomonas* sp. MP1 株のゲノム解析に取り組んだ。2 種の新型 DNA シーケンサーを用いて、ロシユ 454 での 36 万配列 (22 倍のゲノム重複度) およびイルミナ Genome Analyzer GAII での 100 万配列 (9 倍のゲノム重複度) による全ゲノム・ショットガン・シーケンスを行い、フォスミド・ライブラリーの全クローンに対する両末端シーケンスとあわせることで、6.332Mb のゲノム塩基配列を決定した。得られたゲノム塩基配列から、情報・システム研究機構のライフサイエンス統合データベースセンターで開発された微生物ゲノム・アノテーション・パイプライン (MiGAP) によるゲノム上の遺伝子のアノテーションを行い、5,954 の遺伝子 (ORFs) を特定し、そのうち 5,841 遺伝子で Clusters of Orthologous Groups of proteins (COGs) 分類による遺伝子の機能予測を行った。また、RNA 遺伝子としては rRNA を 6 と tRNA を 61、それぞれ特定した。

*Pseudomonas* sp. MP1 株の 5,954 の遺伝子 (ORFs) について、これまでにゲノム解析が完了した 7 種の *Pseudomonas* 属細菌との比較を行った。アミノ酸配列の類似度を示す BLAST 解析の結果を図 4 に示す。*Pseudomonas* sp. MP1 株を含めた 8 種の *Pseudomonas* 属細菌の全てで保存された遺伝子 (コア遺伝子: Core-Genes) としては 2,852 遺伝子が特定され、2~7 種で保存された遺伝子 (アクセサリ遺伝子: Accessory-Genes)、1 種のみゲノム上に存在する遺伝子 (単一遺伝子: Uni-Genes) を調べたところ、*Pseudomonas* sp. MP1 株で単一遺伝子が最も多く存在した。

*Pseudomonas* sp. MP1 株の次に単一遺伝子が多い *P. aeruginosa* PAO1 株はヒト病原菌で、これは Pathogenicity Islands Genes と呼ばれる病原性の遺伝子群によるものであるが、*Pseudomonas* sp. MP1 株のゲノム上には、これまで知られている病原性の遺伝子群は見つかっていない。*Pseudomonas* sp. MP1 株のゲノム上に存在する単一遺伝子が他の生物からの水平伝播による可能性を BLAST 解析により、さらに詳細に調べたところ 52% の遺伝子は、Proteobacteria、Cyanobacteria、Bacteroidetes、Firmicutes に起源を持つことが示唆された。また、これらの単一遺伝子の機能予測では、水平伝播機構に関わる遺伝子群の存在も示唆された。

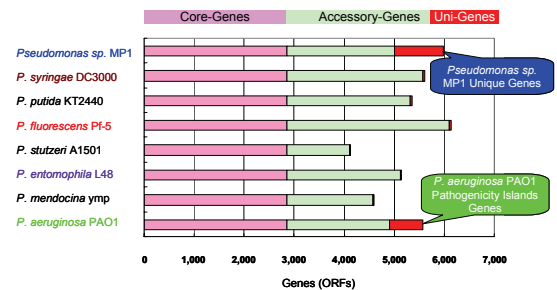


図4. *Pseudomonas*属細菌ゲノム間での遺伝子の保存性比較  
遺伝子のアミノ酸配列、BLAST解析 (E<=10)

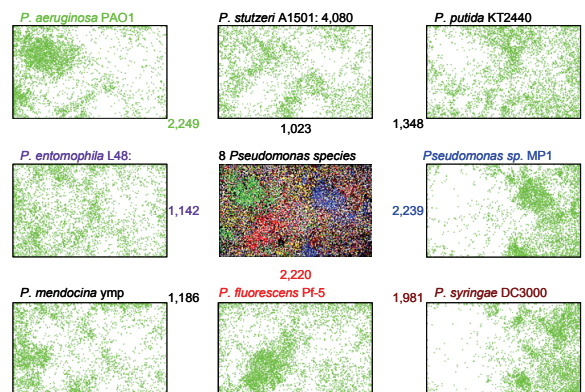


図5. *Pseudomonas*属細菌ゲノム間での遺伝子領域の構造比較  
遺伝子領域のコードの偏りの性質を自己組織化地図 (Self-Organizing Map: SOM) 解析法により行った (Cds, Codon-SOM)。中央に8種の*Pseudomonas*属細菌の全遺伝子について、コードの偏りの分布を示し、各細菌で特異的なコードの偏りを示すものは色を付けて示してある。数字は、その遺伝子数を表す。周縁部には、各細菌での遺伝子の分布を示した。

*Pseudomonas* sp. MP1 株の遺伝子領域のゲノム構造比較を自己組織化地図 (Self-Organizing Map: SOM) 解析法により行った。その結果を図 5 に示す。遺伝子領域のコドンの偏りの性質を比較したもので、この結果から *Pseudomonas* sp. MP1 株は植物病原菌の *P. syringae* DC3000 株と最も近い遺伝子領域のゲノム構造であり、次に土壌細菌の *P. putida* KT2440 とも近いことが示唆された。ヒト病原菌の *P. aeruginosa* PAO1 株とは最も異なるゲノム構造であることも示唆された。

## II) 南極線虫を用いた比較ゲノム解析—乾燥・凍結耐性遺伝子の探索—

極めて低温で乾燥した南極は生命にとっての極限環境である。生物はどのようにして、この厳しい環境で生息できるようになったのであろうか？ 南極線虫を研究材料として用い、この生物の持つ高度な乾燥・凍結耐性の分子メカニズムの解明に取り組んでいる。

本研究によって平成 22 年度に得られた主な成果は以下の二点である。

### II - i) 25.5 年間凍結された線虫 *Plectus murrayi* の回復

極地研から寄贈された南極のコケ、*Bryum argenteum* (ギンゴケ) の凍結保存サンプル (1983 年 10 月 1 日、宗谷海岸、Langhovde、標高 95 メートルで採取) から生きた線虫を回復させ、増殖させることに成功した。線虫の凍結サンプルとしては、25.5 年の保存期間は最長記録である。(なお、これまでの凍結状態の線虫の長期保存記録は、南極線虫 *Coomansus gerlachei*、および *Rhysocolpus paradoxus* の-80 度、6.2 年である。)

この線虫は、形態的特徴から南極固有種である *Plectus murrayi* と同定された (共同研究者である札幌医科大学、鬼頭礼二先生による同定)。この線虫からゲノム DNA を抽出し、18S, 28S rRNA 遺伝子配列を増幅・配列解析を行った。その結果得られた配列は *P. murrayi* 標準株の rRNA 配列と完全に一致した。また我々は、一連の実験を行い、この *P. murrayi* が確かに凍結耐性 (図 1)、および乾燥耐性 (図 2, 3) を持つことを確認した。この線虫は栄養に富む培地では成育せず、水と寒天だけの極めて貧栄養の培地で初めて増殖した。また、この時、餌となる細菌は、おそらく南極に由来すると考えられ、16S rRNA 遺伝子の配列から主に *Pseudomonas* 属細菌であると考えられた。

### II - ii) 南極線虫 *Panagrolaimus davidi* の低温馴化 cDNA ライブラリの解析

南極線虫 *Panagrolaimus davidi* は高度な凍結、乾燥耐性を持つ。これらの本体である耐性遺伝子を明らかにするための第一段階として我々はこれまでに、環境ストレスのない良好な飼育条件で (20 度、餌・水分を十分に与えて) *P. davidi* を飼育し、この状態の線虫から cDNA ライブラリ (PDT ライブラリ) を作成し、2 万 5 千クローンの配列解析を行った。*P. davidi* は良好な状態から準備期間なしに急激に凍結、乾燥を行っても耐性を持つことから、恒常的に耐性遺伝子が発現しているだろうと考えられたが、実際にこのライブラリから複数の耐性遺伝子の候補を見出すことができた。

しかし、*P. davidi* は低温で数日間飼育した場合、さらに凍結耐性が高まるため、平成 22 年度は、低温馴化 (4℃で 1 週間の飼育) を行った線虫から新たな cDNA ライブラリ (PDF ライブラリ) を作成し、2 万 5 千クローンの配列解析を行った。



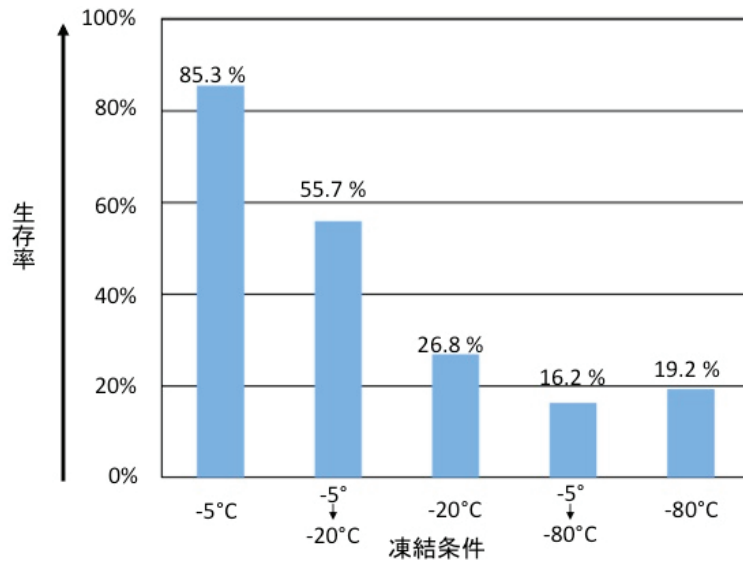


図 1) 南極線虫 *P. murrayi* の凍結耐性。約 200 匹の *P. murrayi* を水をはった時計皿に入れ、様々な条件で凍結した。24 時間後に融解して、回復した個体の数をカウントして生存率を計算した。凍結条件は次の 5 つ: 1) -5 度で凍結、2) -5 度で 1 時間凍結した後、-20 度で保存、3) -20 度で直接凍結、4) -5 度で 1 時間凍結した後、-80 度で保存、5) -80 度で直接凍結。

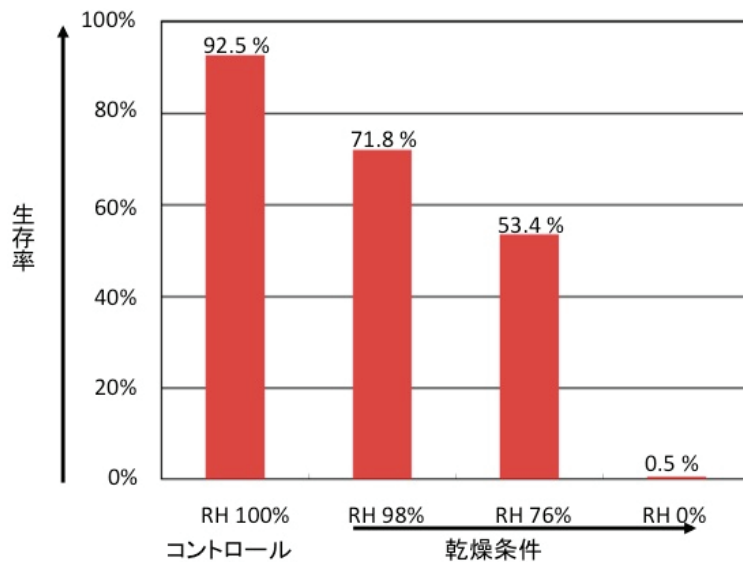


図 2) 南極線虫 *P. murrayi* の乾燥耐性。約 200 匹の *P. murrayi* を様々な相対湿度(RH: Relative Humidity)に保った乾燥チャンバーに入れた。相対湿度は様々な物質の飽和溶液で調節した。24 時間の乾燥処理の後、加水して回復した個体の数をカウントして生存率を計算した。乾燥条件は次の 4 つ: 1) 湿度 100%の湿箱で線虫を保存(無乾燥のコントロール)、2) 湿度 98%(飽和リン酸 2 水素カリウム溶液)、3) 湿度 76%(飽和食塩水)、4) 湿度 0%(シリカゲルによる乾燥)。

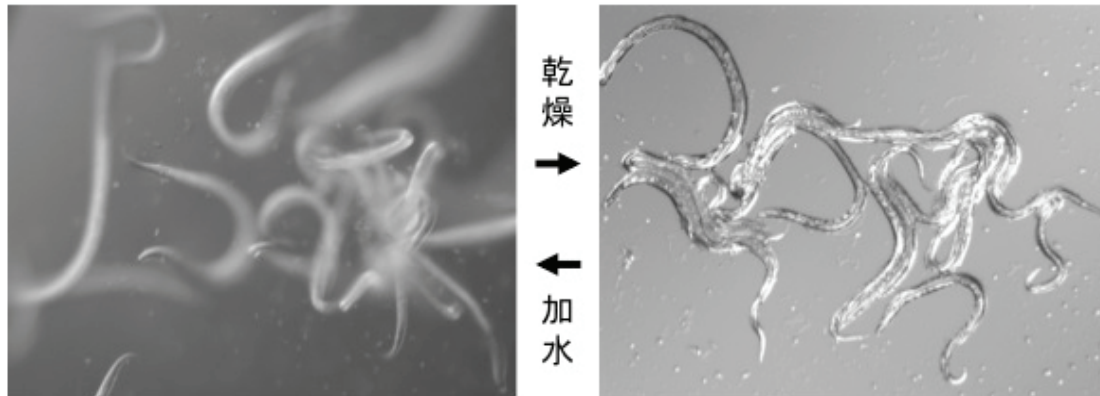


図3) 南極線虫 *P. murrayi* の乾燥と加水回復。線虫は乾燥により潜在生命状態となるが、加水により回復する。写真は相対湿度 98 %で乾燥させ、加水回復させた線虫サンプル。乾燥時の相対湿度が変わっても、基本的には形態はどれも同様の状態になるが、回復率は大きく異なる。

### III) 微量試料（氷床コア、地殻コアなど）における遺伝子解析技術の開発

昨年度までに、細菌 1 細胞をライカ社レーザーマイクロダイセクション顕微鏡（LMD）を用いて分取し、その 16S rRNA 遺伝子領域を PCR 法により増幅する基本的な方法を確立した。この方法を用いて、南極氷山に含まれる微生物の 16S rRNA 遺伝子の解析を実証試験として行った。本年度は南極湖沼で発見されたコケボウズの微生物群についての解析を行っている。具体的には、コケボウズ試料から培養可能な微生物を同定した。これまでのところ、真核生物である酵母やカビ 3 種、嫌気性細菌及び好気性細菌など 220 株以上を分離した。現在、上記 1 細胞からの 16S 増幅技術を用いて、培養することなしにコケボウズ試料中の微生物（図）の 16SrRNA 遺伝子の解析を行っている。また、LMD により分取した 1 細胞からより多くのゲノム情報を抽出するために、phi29DNA ポリメラーゼによる全ゲノム増幅法を LMD 試料に対して検討しているが、LMD 分取に用いる膜への酵素吸着や非特異的な増幅が課題となっている。膜への酵素吸着は BSA により防ぐことが可能であったが、同時に BSA に起因する高いレベルのバックグラウンド増幅が起こった。BSA から夾雑物として混入している DNA を取り除くため、線照射を行ったが、照射後の BSA は酵素反応を完全に阻害した。バックグラウンド増幅を低減させるために、反応系の極小化について検討した。これまでに Phi29DNA ポリメラーゼはサブナノリットルオーダーの water-in-oil エマルジョン中でも働くことを確認した。

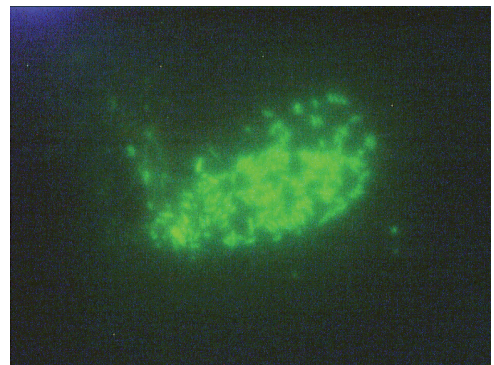


図. コケボウズ中の微生物蛍光像

## サブテーマ4 「南極沿岸氷雪圏と湖沼生態系から見た地球環境変動の変遷」

### I) コケ坊主生態系の微生物種組成と物質循環構造

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、本年度は、スカルプスネス地域の仏池から採取した一つの完全なコケ坊主体について、分子生物学的手法を用い、窒素循環に関わる脱窒関連酵素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、亜硝酸還元酵素をコードする *nirK* 遺伝子断片を 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 96 クローンを無作為に選び、総計 1,344 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  $\alpha$ -プロテオバクテリアの *Mesorhizobium* 属および *Bradyrhizobium* 属に近縁となる *nirK* 遺伝子が優占していることが分かった（表 1）。一般的に、脱窒は微好気環境などの比較的嫌気条件の厳しくない環境（酸化還元電位  $\pm 0$  V 付近）で起こることが知られている。本年度の研究成果は、コケ坊主内でも微好気-微嫌気条件において脱窒が生じる可能性を示している。また、昨年度までの遺伝子解析結果から、コケ坊主内には窒素固定菌や亜硝酸酸化菌などの微生物が検出されている。従って、本年度の成果と合わせると、コケ坊主生態系では、種々の微生物によって窒素ガス  $\rightarrow$ （窒素固定） $\rightarrow$  有機態窒素  $\rightarrow$ （腐敗） $\rightarrow$  アンモニア  $\rightarrow$ （硝化） $\rightarrow$  硝酸  $\rightarrow$ （脱窒） $\rightarrow$  窒素ガスという「コケ坊主内窒素サイクル」が回転していることが想定される。

表1. コケ坊主内外上下における亜硝酸還元酵素遺伝子(*nirK*)の分布と多様性

ONU ID.	Outer aerobic section							Inner anaerobic section							Closest amino acid sequence of known culturable bacteria [Organism name]	Similarity (%)
	O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7		
<b>Alphaproteobacteria</b>																
ONU1	26	57	55	36	42	1	14	11	31	21	10	21	copper containing nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium</i> sp. GSM-373]	87		
ONU2				11	15	1	1	25	1	41	12	27	copper-containing nitrite reductase [ <i>Bradyrhizobium</i> sp. ORS278]	73		
ONU3	39	15	7	33			4	12	4				dissimilatory nitrite reductase [ <i>Phaeobacter gallaeciensis</i> BS107]	78		
ONU4				1	36	48							nitrite reductase, copper-containing [ <i>Silicibacter</i> sp. TrichCH4B]	84		
ONU5	6	4	4	5	3	4	2	1	10	2	13	11	nitrite reductase, copper-containing [ <i>Silicibacter</i> sp. TrichCH4B]	84		
ONU6		3	1	10			9	6	4	2	25	2	copper containing nitrite reductase [ <i>Bradyrhizobium</i> sp. GSM-471]	78		
ONU7	2			2	12	5	1		11	1	12	6	5	nitrite reductase, copper-containing [ <i>Silicibacter</i> sp. TrichCH4B]	84	
ONU8	5	3	10	4	1	12	3	3	1	1				dissimilatory nitrite reductase [ <i>Phaeobacter gallaeciensis</i> 2.10]	65	
ONU9					2	13	5	6	2	2	8				dissimilatory nitrite reductase [ <i>Phaeobacter gallaeciensis</i> 2.10]	70
ONU10			1		1		7	11	4	13				copper containing nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium</i> sp. TSA38]	80	
ONU11	2		2	1			8	4	15					nitrite reductase, copper-containing [ <i>Chelativorans</i> sp. BNC1]	76	
ONU12	2	8					1				11	4	copper containing nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium</i> sp. TSA38]	73		
ONU13	3				1	2	4				3	11	nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium opportunistum</i> WSM2075]	80		
ONU14	1	2	2	4			9	3	1	2				copper containing nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium</i> sp. GSM-484]	77	
ONU15	5	2	1	5			3	1	2	1	2	2	nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium opportunistum</i> WSM2075]	83		
ONU16							6	4	7					nitrite reductase [ <i>Rhodopseudomonas palustris</i> DX-1]	79	
ONU17				3		1		2				3	nitrite reductase [ <i>Sinorhizobium medicae</i> WSM419]	79		
ONU18				1			1	1			1	4	copper containing nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium</i> sp. TSA38]	77		
ONU19	1				1	2					1	2	nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium opportunistum</i> WSM2075]	84		
ONU20	2	2	2	1									nitrite reductase, copper-containing [ <i>Chelativorans</i> sp. BNC1]	76		
ONU21							1	1			1	3	copper-containing nitrite reductase [ <i>Bradyrhizobium</i> sp. BTAi1]	77		
ONU22	1	3		1				1					nitrite reductase [ <i>Mesorhizobium opportunistum</i> WSM2075]	86		
ONU23	1										1	3	nitrite reductase, copper-containing [ <i>Chelativorans</i> sp. BNC1]	75		
<b>Betaproteobacteria</b>																
ONU24		2	2				10	27	2	16	3	5	putative dissimilatory nitrite reductase [ <i>Nitrosomonas</i> sp. URW]	68		
<b>Total</b>	<b>89</b>	<b>93</b>	<b>92</b>	<b>87</b>	<b>90</b>	<b>82</b>	<b>76</b>	<b>79</b>	<b>87</b>	<b>94</b>	<b>88</b>	<b>86</b>	<b>88</b>	<b>91</b>		

## II) 南極沿岸生態系の生物多様性と地史的変遷

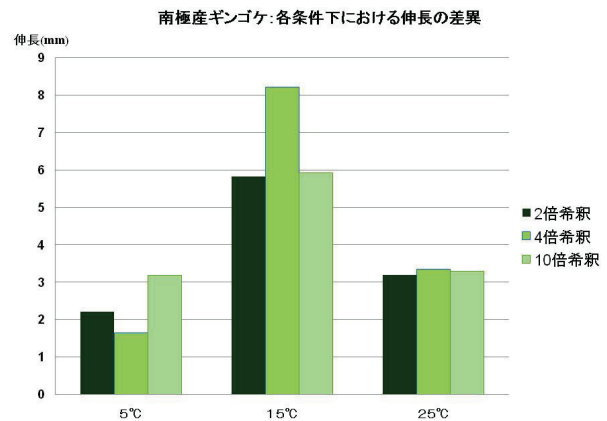
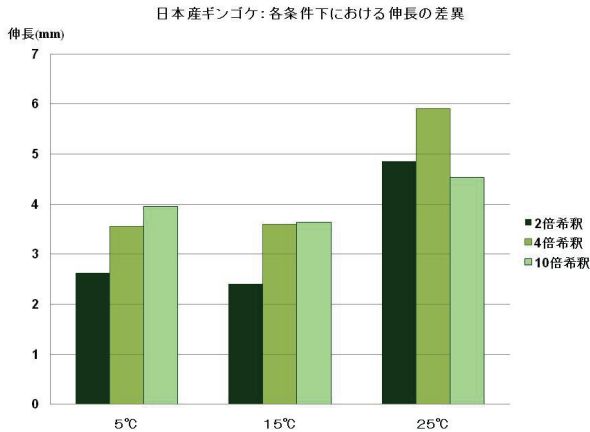
### ① 昭和基地周辺の蘚類多様性の分子系統学的解明

これまでの形態学的分類によって、昭和基地周辺からは 7 種の蘚類が報告されている。これを分子系統学的に再検討し、南極外での蘚類系統分類体系の中での位置を明らかにすることを目的に、研究を進めた。これまでの解析で、南極湖沼中のコケ坊主を構成する *Leptobryum* sp.とされてきた種が *Leptobryum wilsonii* であること、湖沼中の *Bryum pseudotriquetrum* とされてきた種は、陸上の *B. pseudotriquetrum* とは異なり、南極外に知られている基地の *Bryum* 属の種であること、陸上の *B. pseudotriquetrum* は南極外の *B. pseudotriquetrum* とは異なり、南極半島に分布する基地の *Bryum* 属の種と考えられることなどが明らかになってきた。

南極に生育すると共に、世界中に分布するコスモポリタンとして知られるギンゴケ (*Bryum argenteum*) について、ゲノム解析の準備を進めた。一定量のギンゴケが必要となるため、ギンゴ

ケの最適培養条件の確立を試みた。比較対象として国内産のギンゴケを用いて、温度条件、培地の栄養濃度について比較した。その結果、栄養条件については、MS（ムラシゲ・スクーズ）培地用混合塩類の通常使用される4倍の希釈濃度が、南極産、国内産ともに成長が早いことが分かり、温度条件については、南極産は15℃、国内産は25℃が最も最適な温度条件であることが分かった。

今後、南極産ギンゴケにおける培養条件は、MS培地の4倍希釈、温度条件15℃で行う。



## ② 極限環境生物統合データベースの構築

蘚類の多様性解析と平行して極地研の収蔵標本（蘚類）の3D画像データベースを進めてきた。22年度は、南極に分布している蘚類を現場で撮影できるドーム型の3Dアームの開発を行った。この撮影装置は、緯度・経度それぞれ、15°ずつ撮影できるもので、緯度は、真上の90°から、75°、60°、45°、30°と撮影し、経度は360°を15°ずつ撮影する。一回の撮影で合計120枚の画像を取り込む。得られた120枚の画像は、独自に開発した専用のソフトで編集し、3Dシステム画像として実際に生えている実態を見ることができるようのものである。この撮影場所については、GPSデータを付加し、現在、南極GISポータルへのデータ導入を試みている。

本機材を用い、第52次南極観測隊に参加して現地撮影を実施した。

## III) 周氷生態系における生物圏探索

氷河や氷床下流部の表面にはクリオコナイト（Cryoconite）と呼ばれる、直径約1mmの茶-黒色の顆粒で、鉱物粒子とそこに生息する微生物群の集合体である。クリオコナイトの骨格は、主にシアノバクテリア：Oscillatorialesが糸玉のように複雑に絡み合う事により構成され、内部に大量の鉱物粒子、腐植物質を取り込んでいる。これらクリオコナイトは、古くは19世紀の北極域探検時から報告されており、近年ではこれらの集合体が氷河上でのアルベド（太陽反射）を下げる効果から、氷河の融解を促進しているとされ、頻りに氷が円柱状に溶けたプール（クリオコナイトホール）の底面に、集積しているのが観察される。ところが、このクリオコナイトの中の微生物の分子系統解析は、南極の一部の地域で行われている以外ほとんど報告されていない。そこで、北極、グリーンランド氷床から採取されたクリオコナイトを対象に、18S rRNAのクローン解析を行った。その結果、*Arachnula impatiens*をはじめとする淡水性のアメーバ、クマムシ（*Acutuncus antarcticus*）、繊毛虫（*Cryptocaryon irritans*）、緑藻類（*Chlamydomonadaceae sp.*）、酵母（*Leucosporidium antarcticum*）などが検出された。これらの多くは、中温域の土壌や淡水中などからも報告されている種であるが、

水温が 0°Cに近い氷床上の寒冷環境においても、生育している事が示唆された。

## [5] 研究成果物

### ① 知見・成果物・知的財産権等

特になし

### ② 成果発表等

<論文発表>

[学術論文]

1. Chikaraishi, Y., Takano, Y., Ogawa, N.O., Ohkouchi, N., Instrumental optimization for compound-specific nitrogen isotope analysis of amino acids by gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry. *Earth, Life and Isotopes* (Kyoto Univ Press), 365-386. (2010)
2. Fujii, M., Takano, Y., Kojima, H., Hoshino, T., Tanaka, R., Fukui, M., Microbial community structure, pigment composition, and nitrogen source of red snow in Antarctica. *Microbial Ecology*, 59, 466-475. (2010)
3. Gay, A., Takano, Y., Gilhooly Iii, W.P., Berndt, C., Heeschen, K., Suzuki, N., Saegusa, S., Nakagawa, F., Tsunogai, U., Jiang, S.Y., Lopez, M., Geophysical and geochemical evidence of large scale fluid flow within shallow sediments in the eastern Gulf of Mexico, offshore Louisiana. *Geofluids*, 11, 34-47. (2011)
4. Hanebuth, T. J. J., Voris, H., K., Yokoyama, Y., Saito, Y. and Okuno, J, Formation and fate of sedimentary depocentres on Southeast Asia's Sunda Shelf over the past sea-level cycle and biogeographic implications, *Earth-Science Reviews*, 104, 1-3, 92-110, 2011.
5. Hasegawa H., Tada R., Jiang X., Sukanuma Y., Imsamut S., Charusiri P., Ichinnorov N., Khand Y., Drastic shrinking of the Hadley circulation during the mid-Cretaceous supergreenhouse, *Climate of the Past*, 7, 119-151, 2011
6. Hosoi-Tanabe, S., Zhang, H., Zhu, D., Nagata, S., Ban, S. & Imura, S. Comprehensive analysis of an Antarctic bacterial community with the adaptability of growth at higher temperatures than those in Antarctica. *Biocontrol Sci.* 15: 57-62. 2010.
7. Hughes, K.A., Lee, J. E., Tsujimoto, M., Imura, S., Bergstrom, D.M., Ware, C., Lebouvier, M., Huiskes, A.H.L., Gremmen, N.J.M., Frenot, Y., Bridge, P.D., Chown, S.L., Food for thought: Risks of non-native species transfer to the Antarctic region with fresh produce. *Biological Conservation* (in press). 2011.
8. Iizuka, Y., Miura, H., Iwasaki, S., Maemoku, H., Sawagaki, T., Greve, R., Satake, H., Sasa, K and Matsushi, Y., Evidence of past migration of the ice divide between the Shirase and Sôya drainage basins derived from chemical characteristics of the marginal ice in the Sôya drainage basin of East Antarctica. , *Journal of Glaciology*, 56, 395-404, 2010
9. Ishii, S., Seta, M., Nakai, N., Nagai, S., Miyagawa, N., Yamauchi, A., Motoyama, H., Taguchi, M., Site testing at Dome Fuji for submillimeter and terahertz astronomy: 220 GHz atmospheric transparency, *Polar Science*, Volume 3, 213-221, 2010
10. Kato, S., Takano, Y., Kakegawa, T., Oba, H., Inoue, K., Kobayashi, C., Utsumi, M., Marumo, K., Kobayashi, K., Ito, Y., Ishibashi, J., Yamagishi, A., Biogeography and biodiversity in sulfide structures of active and inactive vents at deep-sea hydrothermal fields of the Southern Mariana

- Trough. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 2968–2979. (2010)
11. Kimura, S., Ban, S., Imura, S., Kudoh, S. & Matsuzaki, M., Limnological characteristics of vertical structure in the lakes of Syowa oasis, East Antarctica. *Polar Science* 3: 262-271. 2010.
  12. Takuro Kobashi, Jeffrey P. Severinghaus, Jean-Marc Barnola, Kenji Kawamura, Tara Carter, Tosiya Nakaegawa, Persistent multi-decadal Greenland temperature fluctuation through the last millennium, *Climatic Change*, 100, 733-756, DOI 10.1007/s10584-009-9689-9 (2010).
  13. Kobayashi, K., Kaneko, T., Takahashi, J.-I., Takano, Y., Yoshida, S., High molecular weight complex organics in interstellar space and their relevance to origins of life. *Astrobiology: Emergence, Search and Detection of Life* (American Scientific Publishers), 175-186. (2010)
  14. Takayuki Kuramoto, Kumiko Goto-Azuma, Motohiro Hirabayashi, Takayuki Miyake, Hideaki Motoyama, Dorthe Dahl-Jensen, Jørgen Peder Steffensen: Seasonal variations of snow chemistry at NEEM, Greenland, *Annals of Glaciology*, 58, in press, 2011.
  15. Kurosawa, N., Sato, S., Kawarabayasi, Y., Imura, S. & Naganuma, T. Archaeal and Bacterial community structures in the anoxic sediment of Antarctic meromictic lake Nurume-Ike. *Polar Science*, 4: 421-429.(2010).
  16. V. Masson-Delmotte, D. Buiron, A. Ekaykin, M. Frezzotti, H. Gallée, J. Jouzel, G. Krinner, A. Landais, H. Motoyama, H. Oerter, K. Pol, D. Pollard, C. Ritz, E. Schlosser, L. C. Sime, H. Sodemann, B. Stenni, R. Uemura, and F. Vimeux: A comparison of the present and last interglacial periods in six Antarctic ice cores. *Climate of the Past*, (Accepted CP, 10 Mar, 2011)
  17. Masson-Delmotte, V., B. Stenni, T. Blunier, O. Cattani, J. Chappellaz, H. Cheng, G. Dreyfus, R.L. Edwards, S. Falourd, A. Govin, K. Kawamura, S.J. Johnsen, J. Jouzel, A. Landais, B. Lemieux-Dudon, A. Lourantou, G. Marshall, B. Minster, M. Mudelsee, K. Pol, R. Röthlisberger, E. Selmo, C. Waelbroeck, An abrupt change of Antarctic moisture origin at the end of Termination II, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 107, 12091-12094, 2010
  18. Matsumoto, G.I., Tani, Y., Seto, K., Tazawa, T., Yamamuro, M., Watanabe, T., Nakamura, T., Takemura, T., Imura, S. & Kanda, H., Holocene paleolimnological changes in Lake Skallen Oike in the Syowa Station area of Antarctica inferred from organic components in a sediment core (Sk4C-02). *J Paleolimnol.* 44: 677-693. 2010.
  19. 三浦英樹, 氷床質量収支に関する研究の現状と課題-衛星データによる南極氷床とグリーンランド氷床の最近の変動-. *環境技術*, 40, 27-33, 2011.
  20. 本山秀明, 氷床コアに記録された気候・環境変動, *エアロゾル研究*, 25(3), 247-255., 2010
  21. Naganuma, T. (Co-researchers: Ryosuke Nakai, Eri Shibuya) “Isolation and phylogenetic characterization of nano-organisms (nanobes)” *IFO Research Communications*, 24: 17-30. (in Japanese with English abstract)
  22. Nakai, R., Abe, T., Takeyama, H. & Naganuma, T. Metagenomic analysis of 0.2- $\mu$ m-passable microorganisms in deep-sea hydrothermal fluid. *Marine Biotechnology*, in press, doi: 10.1007/s10126-010-9351-6. (in press)
  23. Nakai, R., Yukimura, K. & Naganuma, T. “Latitudinal and longitudinal migration of airborne microorganisms” *Proceeding of the 10th Edition Tunisia-Japan Symposium on Society, Sciences, and Technology (TJASSST)*, 57-58.
  24. Nakazawa, F., T. Miyake, K. Fujita, N. Takeuchi, J. Uetake, T. Fujiki, V. Aizen and M. Nakawo, Establishing the Timing of Chemical Deposition Events on Belukha Glacier, Altai Mountains,

- Russia, Using Pollen Analysis, Arctic, Antarctic, and Alpine Research, 43(1), 66-72. (2011)
25. Okamoto S, K. Fujita, H. Narita, J. Uetake, N. Takeuchi, T. Miyake, F. Nakazawa, V. Aizen, S. Nikitin and M. Nakawo, Re-evaluation of the reconstruction of summer temperatures from melt features in Belukha ice cores, Siberian Altai. *Journal of Geophysical Research – Atmospheres*, 116, D02110, doi:10.1029/2010JD013977, 2011.
  26. PALeo SEA level working group, The sea-level conundrum: case studies from palaeo-archives, *J. Quaternary Sci.*, 25, 19-25, 2010
  27. Kimikazu Sasa, Yuki Matsushi, Yuki Tosaki, Michiko Tamari, Tsutomu Takahashi, Yasuo Nagashima, Kazuho Horiuchi, Hiroyuki Matsuzaki, Yasuyuki Shibata, Motohiro Hirabayashi, Hideaki Motoyama, Measurement of cosmogenic <sup>36</sup>Cl in the Dome Fuji ice core, Antarctica: Preliminary results for the Last Glacial Maximum and early Holocene, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 268, 1193–1196, 2010
  28. Sasaki, M., Endoh, N., Imura, S, Kudoh, S., Yamanouchi, T., Morimoto, S. and Hashida, G. Air-lake exchange of methane during the open water season in Syowa Oasis, East Antarctica. *J. Geophysical Research*, 115: D16313, doi:10.1029/2010JD013822. 2010.
  29. Takahiro Segawa and Nozomu Takeuchi, A cyanobacterial community on the Qiyi Glacier in the Qilian Mountains of China, *Annals of Glaciology*, 51(56), 135-144, 2010
  30. Takahiro Segawa, Kazunari Ushida, Hideki Narita, Hiroshi Kanda and Shiro Kohshima. Bacterial communities in two Antarctic ice cores analyzed by 16S rRNA gene sequencing analysis, *Polar Science*, 4, 215-227, 2010
  31. Takahiro Segawa, Nozomu Takeuchi, Kazunari Ushida, Hiroshi Kanda, and Shiro Kohshima, Altitudinal Changes in a Bacterial Community on Gulkana Glacier in Alaska, *Microbes and Environments*, 25 (3), 171-182, 2010
  32. Takahiro Segawa, Yoshitaka Yoshimura, Kenichi Watanabe, Hiroshi Kanda, and Shiro Kohshima. Community structure of culturable bacteria on surface of Gulkana Glacier, Alaska. *Polar Science*, 5, 41-51, 2011
  33. Severinghaus, J.P., M. R. Albert, Z. R. Courville, M. A. Fahnstock, K. Kawamura, S. A. Montzka, J. Mühle, T. A. Scambos, E. Shields, C. A. Shuman, M. Suwa, P. Tans, R. F. Weiss, Deep air convection in the firn at a zero-accumulation site, central Antarctica, *Earth and Planetary Science Letters*, 293, 360-368, doi:10.1016/j.epsl.2010.03.003 (2010).
  34. Suganuma Y., Yokoyama Y., Yamazaki T., Kawamura K., Horng C. S., Matsuzaki H., Be-10 evidence for delayed acquisition of remanent magnetization in marine sediments: Implication for a new age for the Matuyama-Brunhes boundary, *Earth Planetary Science Letters*, 296, 443-450. 2010.
  35. Sugisaki, S., Buylaert, J.P., B., Murray, A., Tsukamoto, S., Nogi, Y., Miura, H., Sakai, S., Iijima, K. and Sakamoto, T., High resolution OSL dating back to MIS 5e in the central Sea of Okhotsk, *Quaternary Geochronology*, 5, 293-298, 2010
  36. Takano, Y., Chikaraishi, Y., Ogawa, O.N., Nomaki, H., Morono, Y., Inagaki, F., Kitazato, H., Hinrichs, K.-U., Ohkouchi, N., Sedimentary membrane lipids recycled by deep-sea benthic archaea. *Nature Geoscience*, 3, 858-861. (2010)
  37. Takano, Y., Chikaraishi, Y., Ohkouchi, N., Enantiomer-specific isotope analysis (ESIA) of D- and L-alanine: nitrogen isotopic hetero- and homogeneity by microbial and chemical processes. *Earth, Life and Isotopes* (Kyoto Univ Press), 387-402. (2010)



38. 高野淑識, 力石嘉人, 大河内直彦, 微量湿式分析による分子レベル同位体比の品質管理と確度向上: 特に天然存在比の正確な評価と Stable Isotope Probing (SIP)法の応用に向けて. *Researches in Organic Geochemistry*, 26, 81-93. (2010)
39. Takano, Y., Kashiyama, Y., Ogawa, O.N., Chikaraishi, Y., Ohkouchi, N., Isolation and desalting with cation-exchange chromatography for compound-specific nitrogen isotope analysis of amino acids. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24, 2317-2323. (2010)
40. 高野淑識, 大河内直彦, 海底下の地下生物圏: 過去と現世のリンクを担う生物地球化学プロセス. *地球化学(Geochemistry)*, 44, 185-204. (2010)
41. Takano, Y., Yokoyama, Y., Tyler, J.J., Fukui, M., Sato, T., Ogawa, N.O., Suzuki, N., Kitazato, H., Ohkouchi, N., Crustal uplifting rate associated with late-Holocene glacial-isostatic rebound at Skallen and Skarvsnes, Lützow-Holm Bay, East Antarctica: evidence of a synchrony in sedimentary and biological facies on geological setting. *Biogeosciences Discuss.*, 7, 4341-4384, doi:10.5194/bgd-7-4341-2010. (2010)
42. Tonai S., Suganuma Y., Ashi J., Itaya T., Oiwane H., Kiyokawa S., Differential timing of vertical-axis block rotations in the northern Ryukyu Arc: paleomagnetic evidence from the Koshikijima Islands, Japan, *Tectonophysics*, 497, 71-84, 2011
43. Ryu Uemura, Osamu Abe, Hideaki Motoyama: Determining the  $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$  ratio of water using a water- $\text{CO}_2$  equilibration method: application to glacial-interglacial changes in  $^{17}\text{O}$ -excess from the Dome Fuji ice core, Antarctica. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 4919-4936, 2010.
44. Uetake, J., S. Kohshima, F. Nakazawa, N. Takeuchi, K. Fujita, T. Miyake, H. Narita, V. Aizen, and M. Nakawo, Evidence for propagation of cold-adapted yeast in an ice core from a Siberian Altai glacier, *J. Geophys. Res.*, 116, G01019, doi:10.1029/2010JG001337. (2011)
45. Uetake, J., T. Naganuma, M. B. Hebsgaard, H. Kanda, S. Kohshima, Communities of algae and cyanobacteria on glaciers in west Greenland. *Polar Science*, 4 (1), 71-80. (2010)
46. Kazunari Ushida, Takahiro Segawa, Shiro Kohshima, Nozomu Takeuchi, Kotaro Fukui, Zhongqin Li and Hiroshi Kanda, Application of real-time PCR array to the multiple detection of antibiotic resistant genes in glacier ice samples. *The Journal of General and Applied Microbiology*, (56) 43-52. 2010.
47. Elie Verleyen, Dominic A. Hodgson, Koen Sabbe, Holger Cremer, Steven D. Emslie, John Gibson, Brenda Hall, Satoshi Imura, Sakae Kudoh, Gareth J. Marshall, Andrew McMinn, Martin Melles, Louise Newman, Donna Roberts, Steve J. Roberts, Shiv M. Singh, Mieke Sterken, Ines Tavernier, Sergey Verkulich, Evelien Van de Vyver, Wim Van Nieuwenhuyze, Bernd Wagner, Wim Vyverman. Post-glacial regional climate variability along the East Antarctic coastal margin—Evidence from shallow marine and coastal terrestrial records. *Earth-Science Reviews* 104: 199-212. 2011.
48. Yamane, M., Yokoyama, Y., Miura, H., Maemoku, H., Iwasaki, S. and Matsuzaki, H., The last deglaciation of Lutzow-Holm Bay, East Antarctica. *Journal of Quaternary Science*, 26, 3-6, 2011.
49. Zhang, H., Hosoi-Tanabe, S., Nagata, S., Ban, S. & Imura, S., *Psychroflexus lacisalsi* sp. nov., a moderate halophilic bacterium isolated from a hypersaline lake (Hunazoko-Ike) in Antarctica. *J. Microbiology* 48: 160-164. 2010.

[データベース]

特になし



[著書等]

1. 藤井理行, 南極氷床コアによる氷期サイクルと風速の復元, 極圏・雪氷圏と地球環境 (遠藤邦彦他編), 二宮書店, 2010
2. 藤井理行・本山秀明 編著, アイスコア: 地球環境のタイムカプセル, 成山堂書店, 2011
3. 松山洋, 川瀬久美子, 辻村真貴, 高岡貞夫, 三浦英樹編著『自然地理学』, ミネルヴァ書房, 印刷中.
4. 三浦英樹, 2章 気候変動・地球温暖化. 国立天文台編『環境年表 平成 23・24年』, 2011.
5. 長沼毅 「プランクトンと太陽光」, 『からだと光の事典』 (太陽紫外線防御研究委員会編), p.36-39, 朝倉書店, ISBN 978-4254301045, 2010年
6. 長沼毅 「第2章 地下生物圏の自然誌」, 『現代生物科学入門 第10巻 極限環境生物学』, p.45-87, 岩波書店, ISBN 978-4000069700, 2010年
7. 長沼毅 「第4章 極域生物圏の自然誌」, 『現代生物科学入門 第10巻 極限環境生物学』, p.133-177, 岩波書店, ISBN 978-4000069700, 2010年
8. 長沼毅 『生命の起源を宇宙に求めて パンスペルミアの方舟』, 化学同人, 232 pp, ISBN 978-4759813364, 2010年
9. 長沼毅, 藤崎慎吾, 『辺境生物探訪記 生命の本質を求めて』, 光文社新書, 406pp, ISBN 978-4334035754, 2010年
10. 中井亮佑, 長沼毅 「第6章 辺境の微生物」, 『シリーズ 現代の生態学 第11巻 微生物の多様性科学・生態学の新展開』 (日本生態学会編), 共立出版, 264pp, ISBN 978-4320057395, 2011年
11. 高野淑識・分担執筆, 「地球と宇宙の化学事典」 (一部の項目について執筆). 日本地球化学会 編. 朝倉書店

[解説・総説]

1. 川村賢二, 過去における地球規模の気候変動, 環境技術, 40 (4), 206 - 212, 2011
2. 川村賢二, 南極の氷が明かす地球の気候変動, milsil (国立科学博物館発行), Vol. 16, 12-14, 2010
3. 三浦英樹, 総合討論: 第四紀後期の気候変動と地球システムの挙動-その原因とメカニズムの解明に向けて, 第四紀研究, 38, 227-240, 2010
4. 菅沼悠介, 総説: 高精度年代ツールとしての古地磁気強度層序, 地質学雑誌, 117, 1-13, 2011
5. 高野淑識, 鈴木勝彦 「有機物・微生物・生態系の地球化学」という視点. 地球化学(Geochemistry), 44, 99-101. (2010)

[その他]

特になし

<会議発表等>

[招待講演]

<国際>

1. Ayako Abe-Ouchi, Fuyuki Saito, and Kenji Kawamura, Simulating the Northern Hemispheric Ice sheets throughout the Glacial and Interglacial cycles, EGU General Assembly, May, 2010
2. K. Goto-Azuma and N. Azuma, The ice core record from Dome Fuji, East Antarctica, Sigfús J. Johnsen's 70'th Birthday Symposium, 26-28 August, 2010 (アイスランド, レイキャビクにて)
3. Kenji Kawamura and the Dome Fuji Ice Core Project Members, Millennial-scale climatic changes during the last seven glacial periods: perspective from the Dome Fuji ice core records, PAGES

Regional Workshop, Nagoya, Japan, June 5-6, 2010

4. Kenji Kawamura, Shuji Aoki, Takakiyo Nakazawa, Ayako Abe-Ouchi, Timing and duration of the last four interglacial periods, 3rd workshop of PAGES working group on past interglacial climates (PIGS), New York, USA, Oct 20-22, 2010
5. Kenji Kawamura, Shuji Aoki, Takakiyo Nakazawa, Jeffrey Severinghaus, Ayako Abe-Ouchi and Fuyuki Saito, Greenhouse gases, nitrogen, oxygen and noble gas variations over glacial-interglacial cycles, 10th International Conference on Paleoclimatology, La Jolla, USA, Aug. 30-Sept. 3, 2010

<国 内>

1. 東久美子, 極域の氷床と温暖化, 地球観測連携拠点(温暖化分野)平成 21 年度ワークショップ「統合された地球温暖化観測を目指して」—雪氷圏における観測の最前線—, 2010
2. 東久美子, 雪氷コアの水同位体分析による過去の気候・環境変動の復元, 安定同位体を用いて生態系と気候変動の関わりを科学する—陸と海と空, 過去・現在・未来をつなぐ安定同位体—, 三重大学, 2010 年 3 月 9 日, 2010
3. 東久美子, 南極・北極の氷から見た地球環境変動, 土木学会 平成 22 年度全国大会 全体討論会, 2010
4. 川村賢二, 南極氷床コアから探る過去のグローバル気候変動, 日本地球惑星科学連合 2010 年大会, 幕張, 2010 年 5 月, 2010
5. 川村賢二, 青木周司, 中澤高清, 氷床コアから見た南北気候のつながり, 日本気象学会春季大会シンポジウム「変動する地球気候の鍵 —南極・北極—」, 2011
6. 本山秀明, 南極氷床コアが明らかにした地球環境 100 万年の変動, 大学共同利用機関シンポジウム, 2010

[一般講演]

<国 際>

1. Yoshito Chikaraishi, Nanako O. Ogawa, Yoshinori Takano, Naohiko Ohkouchi: Estimation of Trophic Level based on Nitrogen Isotopic Composition of Amino Acids. International Symposium on Isotope Ecology 2010 in Kyoto, 2010.11
2. Fujita, S., Holmlund, P., Andersson, I., Brown, I., Enomoto, H., Fujii, Y., Fujita, K., Fukui, K., Furukawa, T., Hansson, M., K. Hara., Iizuka, Y., Imura, S., Ingvander, S., Karlin, T., Motoyama, H., Nakazawa, F., Sjoberg, L., Sugiyama, S., Surdyk, S., Strom, J, Spatial distribution of the Glaciological environment between the two deep ice core drilling sites at EPICA-DML and Dome Fuji, East Antarctica, 6/7-14 : オスロ貿易展示場 : 国際極年オスロ科学会議, 2010
3. 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 Nakazawa, T.. Orbital and millennial-scale variations of sea-salt, mineral dust and non-sea-salt sulfate aerosols at Dome Fuji, East Antarctica during the past 720,000 years. International Symposium on Snow, Ice and Humanity in a Changing Climate. 2010.6
4. Imura, S. & Kato, K. Diversity of lakes and aquatic mosses in Syowa Station area, Antarctica. IPY Oslo Science Conference, 2010 June.
5. Imura, S. Benthic vegetation and microbial diversity in Antarctic lakes. SCAR OSC, Buenos Aires. 2010 Aug. 5.
6. Kato, K. & Imura, S. Benthic moss pillars in Antarctic lakes consist of two mosses new to

- Antarctica. SCAR OSC, Buenos Aires. 2010 Aug. 5.
7. Kenji Kawamura, Frederic Parrenin, Shuji Aoki, Takakiyo Nakazawa, Kazue Suzuki, Timing and duration of the last four interglacial periods in the northern hemisphere constrained by the Dome Fuji ice core, Antarctica, XVIII INQUA Congress, Bern, July, 2011
  8. Kenji Kawamura, Shuji Aoki and Takakiyo Nakazawa, Accurate chronology of the Dome Fuji ice core based on O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> ratio of trapped air, IPY Oslo Conference, Oslo, Norway, June 8-12, 2010
  9. Kenji Kawamura, Shuji Aoki, Takakiyo Nakazawa, Ayako Abe-Ouchi, Fuyuki Saito, Timing and duration of the last four interglacial periods from an accurate age model of the Dome Fuji Antarctic ice core, AGU Fall meeting, December, 2010
  10. Takuro Kobashi, Kenji Kawamura, Jeffrey Severinghaus, T. Nakaegawa, Greenland temperature variation for the last four millennia, Second International Symposium on the Arctic Research, Tokyo, December, 2010
  11. Kuramoto T., Goto-Azuma K., Uetake J., Hirabayashi M., Miyake T., Motoyama H., Dahl-Jensen D., Steffensen J.P. Snow chemistry of the last four years at NEEM, Greenland. Second International Symposium on the Arctic Research. 2010.12
  12. Takayuki Kuramoto, Jun Uetake, Kumiko Goto-Azuma, Takayuki Miyake, Hideaki Motoyama, Dorthe Dahl Jensen, J. P. Steffensen. Seasonal variations of snow chemistry at NEEM, Greenland. International Symposium on Snow, Ice and Humanity in a Changing Climate. 2010.6
  13. Takayuki Miyake, Yoshiyuki Fujii, Motohiro Hirabayashi, Ryu Uemura, Takayuki Kuramoto, Kumiko Goto-Azuma, Hideaki Motoyama, Koji Fujita, Shinichiro Horikawa, Yoshinori Iizuka, Makoto Igarashi, Mika Kohno, Keisuke Suzuki, Toshitaka Suzuki: Dust flux record from the Dome Fuji ice core, East Antarctica over the past 720-kyrs. International Symposium on Snow, Ice and Humanity in a Changing Climate. Sapporo Japan, 2010年6月21日 - 26日.
  14. Motoyama, H., Goto-Azuma. K., Hirabayashi, M., Miyake, T., Uemura, R., Kuramoto, T., Igarashi, M., Iizuka, Y., Suzuki, K., Suzuki, T., Fujita, K., Horikawa, S., Kohno, M., Fujii, Y. and Kawamura, K.: Characteristics of correlation between climate and environmental elements from past 300,000 to 720,000 years in Dome Fuji ice core, Antarctica. SCAR Open Science Conference, Buenos Aires, Argentina, 3-6, August, 2010.
  15. Motoyama, H., Suzuki, K., Yamanouchi, T., Kawamura, K.: Heavy snow event at East Antarctic ice sheet during 2008 and 2009. SCAR Open Science Conference, Buenos Aires, Argentina, 3-6, August, 2010.
  16. Hideaki Motoyama, Kazue Suzuki, Takashi Yamanouchi, Kenji Kawamura: Heavy snow event on East Antarctic ice sheet in 2008 and 2009. International Symposium on Snow, Ice and Humanity in a Changing Climate, Hokkaido University, Sapporo, Japan 21-25 June, 2010.
  17. Ryosuke Nakai, Eri Shibuya, Takeshi Naganuma "Unique phylotypes of ultramicrobacteria isolated from Arctic terrains" Second International Symposium on the Arctic Research, Japan, 2010.12
  18. Ryosuke Nakai, Takashi Abe, Tomoya Baba, Satoshi Imura, Hiroshi Kagoshima, Hiroshi Kanda, Yuji Kohara, Takeshi Naganuma, Hironori Niki, Katsuhiko Yanagihara "Nitrogen fixers of an Antarctic moss pillar inferred from cyano- and proteobacterial nitrogenase genes" IPY Oslo Science Conference, Norway, 2010.6
  19. Ryosuke Nakai, Takeshi Naganuma, Hiroshi Kagoshima, Hironori Niki, Yuji Kohara, Satoshi Imura, Hiroshi Kanda, Katsuhiko Yanagihara, Tomoya Baba, Takashi Abe "Denitrifiers of an

Antarctic moss pillar inferred from nitrite reductase gene” XXXII Symposium on Polar Biology, Japan, 2010.12

20. Nakazawa F, J. Uetake, Y. Suyama, R. Kaneko, N. Takeuchi, K. Fujita and H. Kanda, DNA analysis of a single Pinus pollen grain in a glacier for identification of the species, International Symposium on Snow, Ice and Humanity in a Changing Climate, Hokkaido University, Sapporo, Japan 2010. 6. 22.
21. Okuno, J. and Maemoku, H., The role of hydro-isostasy for Holocene sea-level changes and coastal evolution in the southern Indus region, Gujarat, India, AGU Chapman Conference on Climates, Past Landscapes, and Civilizations., American Geophysical Union, Santa Fe, USA, 2011年3月.
22. Suganuma, Y., Miura, H., Zondervan, A., Deglaciation history of Sør-Rondane Mountains in Dronning Maud Land, East Antarctica, AMS-12, GNS Science, Wellington, New Zealand, 2011.3.20-25.
23. Uetake J., Goto-Azuma K., Kuramoto T., Dahl-Jensen D., Steffensen J.P., Motoyama H.. Preliminary study of microorganisms analysis at North Greenland Eemian ice drilling site. Second International Symposium on the Arctic Research. 2010.12
24. Jun Uetake, Kumiko Azuma, Takayuki Kuramoto, Dorte Dahl-Jensen, Jørgen Peder Steffensen, Hideaki Motoyama, Preliminary study of microorganisms analysis in North Greenland Eemian Ice Drilling site. Second International Symposium on the Arctic Research 2010.12

<国 内>

1. 青木周司, 川村賢二, 中澤高清, 松本康志, 中田久和, 松島寛尚, 菊地佑斗, 本山秀明, 藤井理行, 渡辺興亜, ドームふじ深層氷床コアから復元した過去 70 万年間の大気組成変動, 日本地球惑星科学連合 2010 年大会, 幕張, 5 月, 2010
2. 東久美子, 青木周司, 東信彦, 飯塚芳徳, 植竹淳, 川村賢二, 神田啓史, 倉元隆之, 小端拓郎, 笹公和, 佐藤基之, 瀬川高弘, 高村近子, 中澤高清, 平林幹啓, 藤井理行, 藤田秀二, 堀彰, 堀内一穂, 三宅隆之, 宮本淳, 本山秀明, グリーンランド深層氷床コア掘削計画 (NEEM 計画) の展望, 極域科学シンポジウム, 2010
3. 東久美子, 青木周司, 東信彦, 飯塚芳徳, 植竹淳, 川村賢二, 神田啓史, 倉元隆之, 小端拓郎, 笹公和, 佐藤基之, 瀬川高弘, 高村近子, 中澤高清, 平林幹啓, 藤井理行, 藤田秀二, 堀彰, 堀内一穂, 三宅隆之, 宮本淳, 本山秀明, グリーンランド深層氷床コア掘削計画 (NEEM 計画), 雪氷研究大会(2010・仙台), 2010
4. 東久美子, 青木周司, 東信彦, 飯塚芳徳, 植竹淳, 川村賢二, 神田啓史, 倉元隆之, 小端拓郎, 笹公和, 佐藤基之, 瀬川高弘, 高村近子, 中澤高清, 平林幹啓, 藤井理行, 藤田秀二, 堀彰, 堀内一穂, 三宅隆之, 宮本淳, 本山秀明, グリーンランド深層氷床コア掘削計画 (NEEM 計画), 日本雪氷学会, 2010.9
5. Dylan Bodington, 瀬川高弘, 本郷裕一, 幸島司郎, ヒマラヤの氷河上細菌群集の高度変化: 16S rRNA 遺伝子に基づく解析, 日本雪氷学会, 2010.9
6. 藤田秀二, 榎本浩之, 藤井理行, 福井幸太郎, 伊村智, 本山秀明, 中澤文男, 杉山慎, Surdyk, S., 東南極ドームふじ近傍の氷床底面環境および氷床下湖の分布, 第 33 回極域気水圏シンポジウム, 2010
7. 藤田秀二, Holmlund, P., Andersson, I., Brown, I., 榎本浩之, 藤井理行, 藤田耕史, 福井幸太郎, 古川晶雄, Hansson, M., 原圭一郎, 飯塚芳徳, 伊村智, Ingvander, S., Karlin, T., 本山秀明, 中澤文男, Sjöberg, L., 杉山慎, Surdyk, S., Ström, J., 東南極の 2 箇所氷床コア深層掘削点である EPICA-DML とドームふじの間の地域の雪氷環境の空間的分布, 第 1 回極域科学シンポジウム「極域大

気圏を通して探る地球規模環境変動」, 2010

8. 藤田秀二, Holmlund, P., Andersson, I., Brown, I., 榎本浩之, 藤井理行, 藤田耕史, 福井幸太郎, 古川晶雄, Hansson, M., 原圭一郎, 飯塚芳徳, 伊村智, Ingvander, S., Karlin, T., 本山秀明, 中澤文男, Sjoberg, L., 杉山慎, Surdyk, S., Strom, J., 東南極の2箇所氷床コア深層掘削点である EPICA-DML とドームふじの間の地域の雪氷環境の空間的分布, 第1回極域科学シンポジウム「極域大気圏を通して探る地球規模環境変動」, 2010
9. 藤田秀二, 榎本浩之, 藤井理行, 福井幸太郎, 伊村智, 本山秀明, 中澤文男, 杉山慎, Surdyk, S., 東南極ドームふじ近傍の氷床底面環境および氷床下湖の分布, 第33回極域気水圏シンポジウム, 2010
10. 川村賢二, 菊地祐人, 青木周司, 中澤高貴, 気泡の O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> を用いたドームふじ氷床コアの年代決定, 日本地球惑星科学連合 2010 年大会, 幕張, 5月, 2010
11. 川村賢二, 青木周司, 中澤高貴, 阿部彩子, 齋藤冬樹, 鈴木香寿恵, 南極ドームふじ氷床コアの O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> 年代による北大西洋の海底コア年代の束縛, 日本地球惑星科学連合 2011 年大会, 幕張, 5月, 2011
12. 小林悟志・加藤健吾・神田啓史. *Bryum argenteum* における南極大陸産と国産の環境適応による形態的な差異. 第74回日本植物学会. 春日井, 2010.9
13. 倉元隆之, 植竹淳, 東久美子, 平林幹啓, 三宅隆之, 本山秀明. グリーンランド・NEEM における積雪中の化学成分の季節変化. 雪氷研究大会 (2010・仙台). 2010.9
14. 三浦英樹, 太田晴美, 泉紀明, 菅沼悠介, 野木義史, 南極大陸棚上に認められる地形の特徴と第四紀の東南極氷床変動史—陸上地形地質の情報との関連性と今後の展望—, 第30回極域地学シンポジウム, 国立極地研究所, 東京, 2010年12月.
15. 三浦英樹, 菅沼悠介, 橋詰二三雄, 第四紀の環境変動において東南極氷床変動はどのような役割を果たしてきたのだろうか?—南極内陸山地の氷河地形発達史に基づく考察—, 日本第四紀学会 2010 年大会, 日本第四紀学会, 東京, 2010年8月.
16. 三浦英樹, 菅沼悠介, 橋詰二三雄, 奥野淳一, 南極セール・ロンターネ山地の氷河地形発達史からみた 第四紀の地球環境変動における東南極氷床変動の役割についての一考察, 第30回極域地学シンポジウム, 国立極地研究所, 東京, 2010年12月.
17. 本山秀明, 鈴木香寿恵, 山内恭, 川村賢二: 東南極氷床の表面質量収支変動と 2008—2009 の大雪について. 雪氷研究大会 (2010・仙台), 東京エレクトロンホール宮城, 仙台市, 2010年9月26日~29日.
18. 中澤文男・三宅隆之・藤田耕史・竹内望・植竹淳・藤木利之・ウラジミール アイゼン・中尾正義, ベルーハ氷河における積雪の花粉分析から同定された化学成分の沈着時期, 日本地球惑星科学連合 2010 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉市, 2010.5.28
19. 中澤文男・植竹淳・陶山佳久・金子亮・竹内望・竹内望・藤田耕史・本山秀明・神田啓史, DNA 分析による氷河試料中のマツ属花粉の分類, 日本花粉学会第51回大会, 中央大学後楽園キャンパス, 東京都文京区, 2010.10.10
20. 中澤文男・植竹淳・陶山佳久・金子亮・竹内望・竹内望・藤田耕史・本山秀明・神田啓史, 氷河試料中のマツ属花粉1粒ずつ DNA 分析 (2), 雪氷研究大会 (2010), 東京エレクトロンホール宮城, 宮城県仙台市, 2010.9.27
21. 中澤文男・植竹淳・陶山佳久・金子亮・竹内望・藤田耕史・神田啓史, 種レベルでの花粉分析を目的とした氷河中のマツ属花粉1粒ずつの DNA 分析 (2), 日本地球惑星科学連合 2010 年大会, 幕張メッセ国際会議場, 千葉市, 2010.5.27
22. 中澤文男・植竹淳・陶山佳久・金子亮・竹内望・藤田耕史・本山秀明・神田啓史, DNA 分析による氷河中のマツ属花粉の詳細分類, 第32回極域生物シンポジウム, 国立極地研究所, 東京都立川市, 2010.11.30

23. 西山大陸, 竹内望, 瀬川高弘, アジアの氷河上におけるクリオコナイト粒の構造と微生物, 日本雪氷学会, 2010.9
24. Hiromu Nishiyama, Nozomu Takeuchi, Takahiro Segawa, Structure and microbes of cryoconite granules on Asian glaciers, 極域科学シンポジウム, 2010.12
25. 小端拓郎, 川村賢二, 仲江川敏之, 過去千年にわたる継続的な数十年周期のグリーンランド気温変動, 日本地球惑星科学連合 2010 年大会, 幕張, 5 月, 2010
26. 奥野淳一, インド西部グジャラートにおけるハイドロアイソスタシーによる第四紀後期海水準変動とインダス文明盛衰との関係, 日本地球惑星科学連合 2010 年大会, 日本地球惑星科学連合, 幕張, 2010 年 5 月.
27. 奥野淳一, 三浦英樹, 野木義史, 南極大陸周縁域の大陸棚深度と南極氷床の関係, 日本第四紀学会 2010 年大会, 日本第四紀学会, 東京, 2010 年 8 月.
28. 奥野淳一, 野木義史, 三浦英樹, 大陸縁辺部の深度分布に対する現在・過去の氷床荷重の影響, 第 30 回極域地学シンポジウム, 国立極地研究所, 東京, 2010 年 12 月.
29. Takahiro Segawa, Takashi Abe, Shinji Kondo, Nozomu Takeuchi and Hiroshi Kanda, Reconstructions of past flora using DNA analysis from ice core samples on Gregoriev Glacier, Kyrgyz, 極域科学シンポジウム, 2010.12
30. 瀬川高弘, 阿部貴志, 竹内望, 神田啓史, キルギス・グレゴリア氷河から掘削されたアイスコアの遺伝子解析, 地球惑星科学連合大会 2010.5
31. 瀬川高弘, 氷河生態系のバクテリアの群集構造解析と地域分布, ヒマラヤにおける氷河と氷河湖決壊に関する研究集会, 2010.12
32. 高野淑識, 力石嘉人, 大河内直彦: 海底堆積物中に棲息する難培養性アーキアの Lipidomics, 日本地球化学会, 熊谷, 2010.9
33. 高野淑識, 力石 嘉人, 大河内 直彦: 微量湿式分析による分子レベル同位体比の品質管理と確度向上: 特に Stable isotope probing 法の応用研究に向けて, 日本地球化学会, 熊谷, 2010.9
34. 高野淑識, 山口保彦, 大河内直彦: 海底下の地下生物圏: 過去と現世のリンクを担う生物地球化学プロセス, 地球惑星科学連合大会, 幕張, 2010.5
35. 高野淑識, 力石嘉人, 大河内直彦: 海洋性アーキアの膜脂質分子内炭素同位体比から読む生態学的挙動, 日本有機地球化学会, 長岡, 2010.8
36. 竹田真佑美, 沢田健, 高野淑識: 南極スカルプスネス露岩地域の淡水湖・塩湖堆積物の バイオマーカー分析による古環境変動の復元, 日本地球化学会, 熊谷, 2010.9
37. 植竹淳, 東久美子, 倉元隆之, 本山秀明, 神田啓史. グリーンランド深層氷床コア掘削計画 (NEEM 計画) における微生物解析の検討. 雪氷研究大会 (2010・仙台). 2010.9
38. 植竹淳, 東久美子, 倉元隆之, 本山秀明, 神田啓史, グリーンランド深層氷床コア掘削計画 (NEEM 計画) における微生物解析の検討, 日本雪氷学会, 2010.9
39. 植竹淳, 金子亮, 神田啓史, 本山秀明, グリーンランド氷床から採取されたクリオコナイト中の真核微生物の多様性, 日本微生物生態学会, 2010.11
40. Jun Uetake, Ryo Kaneko, Hiroshi Kanda, Hideaki Motoyama, Eukarya 18S rRNA gene diversity in cryoconite on the Russel Glacier, Greenland, 極域生物シンポジウム, 2010.12
41. 山口保彦, 高野淑識, 大河内直彦: 微生物のアミノ酸窒素同位体組成から探る, 海底下の生物地球化学循環, 地球惑星科学連合大会, 幕張, 2010.5
42. 山口保彦, 高野淑識, 力石嘉人, 小川奈々子, 井町寛之, 菅寿美, 横山祐典, 大河内直彦: 微生物のアミノ酸窒素同位体組成: 生物地球化学研究における新手法, 日本有機地球化学会, 長岡, 2010.8

<受賞>

1. 中井亮佑, 平成 22 年度日本学術振興会第 1 回育志賞, 2011.2
2. 中井亮佑, 平成 22 年度広島大学学長表彰 (学術研究活動に関する表彰), 2011.4
3. Ryosuke Nakai, Dimitris N. Chorafas Foundation Research Awards in 2010, 2010.9
4. 高野淑識, 平成 22 年度日本地球化学協会 学術賞「奨励賞」, 2010

③ その他の成果発表

特になし