

## 6 各プロジェクトの研究成果等報告（詳細）

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、南極および北部グリーンランドの氷床コアや、環境の変動が大きい極域を中心に、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、ボ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、ヨーロッパアルプス、南極半島、南極等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。
- ・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。
- ・花粉分析は、植生変遷・気候・環境の復元研究において広く使われている手法である。氷河・氷床に封じ込められた花粉に着目して予備実験を重ねてきた。氷河表層に含まれていた、数年前のマツ属花粉を対象として DNA 分析を試みたところ、その成功率は数十パーセントに達し、先行研究を大きく凌ぐ結果を得た。また取得した遺伝情報からは、形態観察からでは困難な亜節レベル (種の一階級上の分類群) での識別にも成功した。さらに、千年前の花粉の顕微鏡観察からは、花粉内に細胞内物質 (原形質) が残存していることを、約 50 年前の花粉末ちいた核酸染色実験では、生殖核が残存していることも確認した。

## (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。平成23年度にはNEEMアイスコアが基盤岩付近まで掘削され、参加各国で基盤岩由来である粒子が多く含まれるアイスコアの生物解析に関するミーティングが行われた。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。過去の遺伝子情報を再構築する研究は、特に人類を対象とした「古遺伝学」として、あるいは堆積土壌からメタゲノムとして解析する方法を中心として近年発展している分野であるが、特定の植物種を対象とするアプローチは極めて限られている。

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、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、南極およびグリーンランドなど、環境の変動が大きい極域を中心に、環境データの取得と微生物解析について研究を行う。

平成22年度と平成23年度は以下の6つの研究テーマを中心に4研究チームで研究を進めた。研究の進捗状況に応じて柔軟に研究計画を変更することとしていた。結論として、研究チームを見直して、平成24年度以降は研究テーマを特定せず3研究チームに組織を変更して研究を進めることとした。

#### <平成22年度－平成23年度>

研究テーマ

- 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る地球環境変動の解明を行い、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 細胞遺伝子解析を開発研究する。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 分析ー遺伝情報を利用した古環境復元ー

#### 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堀削計画として 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解明、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。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目指す。

- 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

#### 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。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。

- 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

#### 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

## <平成24年度以降は、以下の3サブグループにて研究を進めることとした>

### サブテーマ1「氷河、氷床コアに見る地球環境の変遷と生物の変動、人間圏との関わり」

氷河、氷床のコア解析による地球環境変動の復元、アイスコア中の微生物・ウイルスなどの環境変動への対応や進化メカニズムの時系列解明等の研究課題を遂行する。細胞濃度が極めて低く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細胞遺伝子解析を軸に研究を行う。アイスコアから時系列的にウイルスを検出し、人間圏との関わりを明らかにすることに挑む。

### サブテーマ2「極限環境における生物多様性とそのパターン」

南極沿岸域の氷床、氷河、湖沼生態系から見た地球環境の変遷およびそこに見られる極限生物の多様性と分布パターンの解明を行う。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、そこに存在する新規生物圏を探索する。同時に、極限生物の分類・分布・遺伝子等に関する総合的なデータベースの構築を目指す。

### サブテーマ3「極限生物の環境適応メカニズムと進化」

極限微生物の多様性と環境への適応メカニズムおよび進化プロセスの解明を行う。メタゲノム解析、ゲノム解析、一細胞からの遺伝子解析等の幅広い手法を応用し、堆積物や氷床コア中の微生物生態系解析を行う。特に機能遺伝子解析からの生態系内物質代謝メカニズムの解明、環境耐性遺伝子からの適応機構の解明を目指す。

## (2) 各年度の計画

### 平成23年度

南極ドームふじ氷床コアや北極グリーンランド氷床コアから詳細な気候・環境変動を復元し、その変動の中での微生物の対応・進化の解析のために、物理・化学的・生物的解析システムのインフラを整備しつつ、第I期計画で研究成果の上がった研究テーマのとりまとめを行う。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た研究を進める。

### 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、両極の氷床における表面、浅層、深層、最深部など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

極域の氷床コアより取得された環境変動と生命情報、ウイルスの進化メカニズムについて研究を継続する。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。極地の大規模な環

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、変動する極限環境下での生命システムのメカニズムを解明する。

#### 平成 26 年度

極域の氷床コアより取得された環境変動と生命情報と、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。氷床コアから時系列的にウイルスを検出し、人間圏との関わりを明らかにすることに挑む。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、変動する極限環境下での生命システムのメカニズムを解明する。

#### 平成 27 年度

3 つの研究課題「氷河、氷床コアに見る地球環境の変遷と生物の変動、人間圏との関わり」、「極限環境における生物多様性とそのパターン」、「極限生物の環境適応メカニズムと進化」について研究を遂行し、これらを融合的に取りまとめ、地球生命システム学の構築を目指す。研究成果を公開するとともに、地球生命システム学についての国際共同研究を主導する。

#### 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し、極限環境下の地球環境変動の解析と地球生命システム学を構築する。

### **<サブテーマ毎>**

#### 平成 23 年度

##### 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」

##### 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。また、異なる固体微粒子分析装置のキャリブレーション方法を検討するとともに、サンプルの前処理法を確立する。アイスコア自動融解・分注装置を完成させる。

##### 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

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。さらに、前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) を用いたウイルス培養実験や、アイスコア中の微生物の培養などをおこなう。

##### 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の、これまで分析をしていなかった深度でも分析を実施し、微生物高濃度層

を対象としてアイスコアからのクリーンサンプリングを実施して、遺伝子解析を行う。

#### 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、北極域の氷河氷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。

### サブテーマ 2 「極限生物の多様性と進化メカニズム」

研究課題 I～III は、他のサブテーマにマージしたので、「IV) 極域環境と鰭脚類の進化」のみについて報告する。

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。南極に生息するウェッデルアザラシのミイラの DNA を解読し、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。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、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について DNA 抽出、分子データ解析を試みる。

平成 22 年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。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できるようになる。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は、地球環境上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ようになる。

### 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

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。

## 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

微生物の種組成の解析を終了し、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 年度以降は改編した 3 サブテーマの年次計画を記載した>

### サブテーマ 1 「氷河、氷床コアに見る地球環境の変遷と生物の変動、人間圏との関わり」

#### 平成 24 年度 (中間評価)

### 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。また氷床底面付近の氷と、底面に存在する水の物理・化学的研究、微生物学的研究を進める。さらに、アイスコア自動融解・分注装置を実用化する。この装置に固体微粒子アナライザーと水安定同位体比アナライザーを接続し、ダストと水安定同位体比の自動分析法を開発する。

### 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 遺伝子配列の解析や、微量細胞からのゲノム増幅をおこない、アイスコア中の微生物の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、ウイルス、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。また、アイスコア中の微生物の培養や、雪氷環境中の抗生物質耐性遺伝子の変化を解析することで、人間活

動が環境に与えるインパクトを評価する。

### 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。

## 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-Bruhes イベントについての研究を継続する。氷床底面付近の氷と、底面に存在する水の物理・化学的研究、微生物学的研究を継続する。また、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。さらに、アイスコアの固体微粒子と水安定同位体比の自動分析法を確立し、実際のサンプルの分析を開始する。また、アイスコア自動融解・分注装置に ICP 質量分析装置を接続し、アイスコアの自動 ICP 質量分析法の開発に着手する。

### 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、ウイルス、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、この実験の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。また、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行う。25 年度に引き続き、アイスコアの ICP 質量分析の自動化を完成させる。

### 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、ロシ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。また、アイスコア自動融解・分注装置に LC/MS を接続し、アイスコアの自動 LC/MS 分析法の開発を行う。

### 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

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「極限環境における生物多様性とそのパターン」

### 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、氷床上、および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。

## サブテーマ 3 「極限生物の環境適応メカニズムと進化」

### 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。

### [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、北極スバルの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。

#### <平成 22 年度～平成 23 年度>

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（途中から新潟大学）

〔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（途中から新潟大学）

#### 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23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

- ・氷床コア含有気体の窒素と酸素の量比の 2000 年間隔の深部データが完成したので、これを用いてミランコビッチ・サイクルに基づく新たな年代決定を行っている。作業年代としては EPICA Dome C の EDC3 年代を適用し、同位体ピークのマッチングで作成して研究を進めている。
- ・ドームふじ深層コアのイオン分析データを用いて、海塩性ナトリウムイオン（海塩エアロゾルの指標）、非海塩性カルシウムイオン（ダストの指標）、非海塩性硫酸イオン（海洋生物活動の指標と考えられている）のフラックス変動の復元を行った。非海塩性硫酸イオンのフラックスは、オービタルスケールの変動を示すものの、海塩性ナトリウムや非海塩性カルシウムとは異なり、気温と単純な逆相関の関係を示していなかった。本研究の結果から、氷期の寒冷期に、陸域のダスト起源の非海塩性硫酸イオンが増えた可能性が示唆された。
- ・数千キロ離れたドームふじとドーム C の氷床コアデータの比較で、起源の異なるエアロゾルの変動パターンとフラックスレベルが 72 万年間を通じてほぼ同じであった。南極氷床内陸の高原域では、数千年から数万年の時間スケールで、大気中のエアロゾルの濃度が均一になるメカニズムが働いていることが示唆された。
- ・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を行った。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。
- ・ダスト濃度については、数年以下スケールでその変動をとらえることができた。気候ステージ毎にダストの構成鉱物種が異なる可能性が示唆された。
- ・氷期・間氷期サイクルとエアロゾル変動の対応に着目して、エアロゾルの濃度だけでなく組成という新しい古環境プロキシに着目した解析をしてきた。 $-50^{\circ}\text{C}$  で氷を昇華して不揮発性のエアロゾルを抽出する手法を開発した。この手法の開発によって、氷 1g 程度に数百個のエアロゾル粒子が含まれていること、それらエアロゾル粒子の組成を分析することが可能になった。
- ・イオン濃度から硫酸塩濃度を復元し、その濃度が氷期間氷期スケールの気温変動と負の相関関係があることを明らかにした。この負の相関は硫酸塩が負の放射強制力として氷期間氷期スケールの気温変動に作用している可能性を示唆する。
- ・比電気抵抗方式の 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 という異なる原理に基づく 3 種類の固体微粒子分析装置で同じサンプルを分析して比較したところ、分析結果が大きく異なった。球形の標準粒子を用いた場合は、ほぼ同様の結果が出ることから、分析結果の相違は、極地のアイスコアのサンプルに、非球形のダスト粒子が多く含まれていることが原因であると推定される。
- ・22 年度に組み立てを行ったアイスコアの自動融解・分注装置において、チューブの材質や装置の洗浄方法を検討した。改良の結果、ダスト及びイオン成分について、装置系による汚染を除去し、ブランク値を低く抑えることができた。アイスコアの自動融解・分注装置はほぼ実用化できる段階に入った。さらにアイスコアのダスト及び水安定同位体比分析の自動化のため、分析装置の設計を行った。

## II) 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

雪氷試料中に検出される抗生物質耐性遺伝子の検索を継続した。世界各地の 54 の雪氷試料に対して、抗生物質耐性遺伝子の増幅検出をおこなった（図 1）。

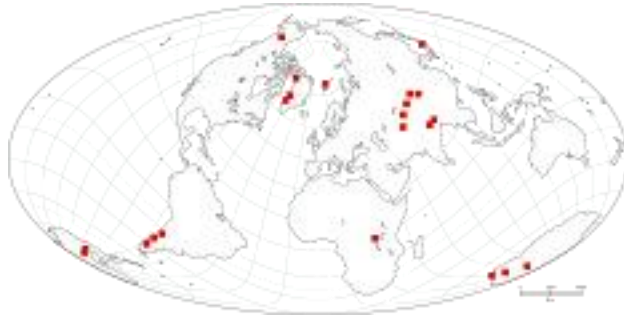


図1: 左図: 分析に用いた雪氷サンプルの採取場所、右図: コンタミネーションを防止した試料採取

抗生物質耐性遺伝子が検出された全ケース（45 サンプル）について、16SrRNA 遺伝子 Ct 値と抗生物質耐性遺伝子の Ct 値に対する散布図から、16SrRNA 遺伝子と抗生物質耐性遺伝子には相関関係がないことがわかった（図 2 左）。これはバクテリア全体における抗生物質耐性遺伝子保有率はサンプルによって大きく異なっているが、個々の抗生物質耐性遺伝子の絶対量は大きく変わらないことを示唆している。氷試料と雪試料とを比較しても抗生物質耐性遺伝子の Ct 値には全く差がないことが分かった。また、最も多く検出された *aac(3)* 遺伝子について同様な相関関係を調べてみたが、有意な相関関係は見られなかった（図 2 右）。従って、氷河上での抗生物質耐性遺伝子の量は、抗生物質耐性遺伝子が検出されれば、サンプルによって大きく異なることや、バクテリアの密度が高いサンプルでは多種の抗生物質耐性遺伝子が存在していることが示唆された。

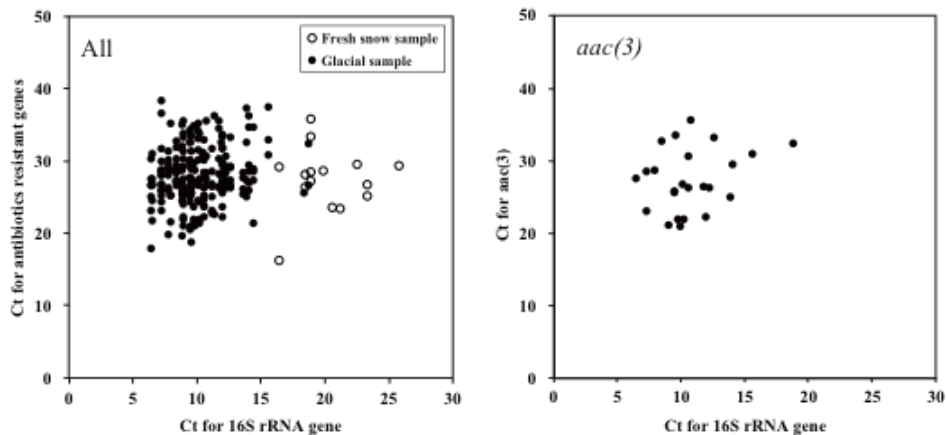


図2: Ct<sub>16S</sub> 値と Ct<sub>Anti</sub> 値との相関関係

また、耐性遺伝子の検出のパターンに地域特性のあることを見いだした。具体的には、南緯 40 度以南のチリ共和国氷河および南極大陸ではほとんど検出がないか全く検出されないのに対して、南緯 40 度線以北の地点では、検出が認められることであり、大気循環によって北半球起源の抗生物質耐性微生物が散布されているものと推測された。また、主に検出される耐性遺伝子から、医療を原因 (*aac3*, *blaIMP*, *ermM* 等) とするものと農業を原因 (*tetW*, *strA*) とするものに二分できることが明らかとなった。

雪氷から検出された耐性遺伝子を保有する多剤耐性の緑膿菌 (MRDP) が医療現場でおおきな問題となっており、好冷性の土壌細菌 *Pseudomonas* が、医療現場で発生する多剤耐性の *Pseudomonas aeruginosa* から雪氷環境中でも遺伝子の接合伝達を受ける可能性も否定できないため、とくにこれらの細菌について調査をする必要性が示唆された。

### III) Ice Core Sequence Identification

This project focuses on analyzing the Ice Core sequences. Ice samples were taken in Antarctica and Kirghizstan. Small DNA fragments were extracted from ice and sequenced using Roche 454 sequencer. In Saitou lab we are analyzing the datasets by comparing them with the databases of known sequences. A novel sequence identification platform was developed for this purpose by Kirill Kryukov.

Two databases of known sequences are used in the project: 1. “nr” – NCBI’s non-redundant database of known protein sequences. 2. “KK” – nucleotide database of genome sequences maintained by Kryukov in Saitou lab. This KK database includes all available genome sequences from public databases and sequencing projects. Sources include: NCBI, Ensembl, DDBJ, USCS, JGI, Broad Institute, The Genome Institute at Washington University, Wellcome Trust Sanger Institute, Phytozome, YeastGenome, FlyBase, WormBase, VectorBase, EuPathDB, PlantGDB, as well as WGS projects. Protein searches allow to find distant homologs, while nucleotide searches allow more accurate detection of close homologs, including non-coding sequence.

Sequence identification is conducted using homology search. The online results web-site includes statistics of the searches, such as number of identified sequences, total number of hits, distribution of best hit e-values, and distribution of number of database homologs. Also the web-site provides the interface that allows exploring the sequence identification results: For each datasets of short reads under analysis, the interface displays the taxonomic view of best known homologs. The hierarchical tree-like representation allows to explore the composition of a dataset in detail. The interface provides an option to control the depth of the tree, which allows to hide the nodes lower than certain taxonomic rank. For example, a tree can be made to display only nodes at the phylum level and above. Another option of the interface allows to hide nodes with too small number of sequences, to suppress the noise.

The taxonomic tree view allows comparing several datasets simultaneously. Up to 5 datasets can be compared. This allows, for example, to compare a positive dataset with a negative one on a shared taxonomic tree.

Some of the datasets include sequences with closest homolog in primates, which suggests human contamination of the sample. For example in “SIC-11” dataset 17% of identified sequences have primate sequence as closest homolog. Examples of dataset composition: “SIC-19” consists mainly of narrow group of fungi (>99% of identified sequences), including 26.0% *Eurotiomycetes*, 23.6% *Helotiales*, and 44.1% *Sordariomycetes*. “SIC-21” includes 56.1% Fungi, 43.2% Bacteria (25.2% *Proteobacteria* and 17.4% *Firmicutes*). “no22” is a negative dataset and includes 19.6% primate sequences (likely human contamination), and 62.9% Fungi sequences: (11.2% *Eurotiomycetes*, 37.7% *Helotiales* and 8.3% *Sordariomycetes*).

Summary of the datasets of short reads under analysis (Fig. 1):

Some of the tools developed for this project are now released as open source:

- FASTA Splitter: <http://kirill-kryukov.com/study/tools/fasta-splitter/>
- BLAST Compressor: <http://kirill-kryukov.com/study/tools/blast-compressor/>
- BLAST Supercompressor: <http://kirill-kryukov.com/study/tools/blast-supercompressor/>

### Dome Fuji ice core

Sample	Dataset	Number of Sequences	Sequence Length				Histogram	GC Content	GC Content Histogram	GC Content vs Length
			Min	Avg	Max	Total				
SIC-01	SIC-01_reads	234,896	20	384.6	635	90,334,012		35.90%		
no2	no2_reads	66,790	26	368.2	825	24,591,067		37.27%		
no3	no3_reads	40,581	29	367.4	567	14,910,773		48.56%		
	no3_reads-S	41,069	40	379.0	578	15,566,100		48.19%		

### Dome Fuji re-frozen water, bottom part ice

Sample	Dataset	Number of Sequences	Sequence Length				Histogram	GC Content	GC Content Histogram	GC Content vs Length
			Min	Avg	Max	Total				
SIC-19	SIC-19_reads	188,296	29	386.5	549	72,772,143		46.82%		
SIC-21	SIC-21_reads	125,433	23	374.3	618	46,948,316		45.87%		
SIC-21N	SIC-21N_reads	185,669	27	367.8	616	68,295,005		41.86%		
SIC-23	SIC-23_reads	135,679	29	371.2	637	50,364,290		47.19%		
SIC-23N	SIC-23N_reads	211,395	29	368.0	617	77,800,949		47.57%		
no22	no22_reads	33,913	23	359.1	656	12,179,141		38.97%		

### Kirghiz ice core, glacier samples

Sample	Dataset	Number of Sequences	Sequence Length				Histogram	GC Content	GC Content Histogram	GC Content vs Length
			Min	Avg	Max	Total				
SIC-08	SIC-08_reads	104,985	21	216.1	659	22,686,684		45.46%		
SIC-11	SIC-11_reads	97,507	25	184.5	616	17,989,351		50.04%		
no17	no17_reads	22,540	23	171.6	573	3,867,427		48.26%		
no25	no25_reads	95,520	19	120.9	554	11,552,994		49.13%		
no9	no9_reads	46,758	22	257.3	624	12,031,002		48.05%		

Fig. 1 **Datasets of short reads** These datasets of reads were extracted from the original SFF files. Extraction was done using the `sff_extract` script (version 0.2.11) developed by Jose Blanca and Bastien Chevreux. Following the extraction the reads were de-multiplexed by identifying and removing the adapter sequences. This was done using the exact matching of adapter sequences.

#### IV) アラスカ、マッコール氷河、涵養域表層における原核、真核微生物相の深度変化

アラスカ・マッコール氷河上流部のピット積雪から、全ゲノム増幅後に 16S、18S rRNA の PCR、クローンライブラリの作成を行った。細菌は粒径が同程度の風送鉱物粒子 (1-1.43  $\mu\text{m}$ ) のピークと一致しない事から、風送および融解水により流下してきたのではなく現地で増殖していた可能性が考えられる。小型の真核生物の高濃度層は、細菌と非常に良く一致していた。18S rRNA のクローン解析の結果、オキシトリカ科 (Oxytrichidae) とシオカメウズムシ目 (Haptorida) に属する繊毛虫のクローンが多数検出された。このことから、小型繊毛虫は積雪中で細菌を捕食し、増殖している可能性が示唆された。

#### V) 南極ドームふじ、グリーンランド Site-J、NEEM アイスコア中における微生物濃度の測定

22 年度に実施した微生物定量に関する手法を応用し、南極ドームふじアイスコアの再分析、グリーンランド Site-J、NEEM アイスコアの分析を行った。南極ドームふじアイスコアにおいては、これまでの解析ではダスト粒子との区別が困難であった微生物の検出が可能となり、LGM のダストイベントのほか、最終氷期の前半にも微生物濃度が高い層が多く確認され、また融解が夏期に盛んに起きて

いた Site-J アイスコアでは他のサンプルよりも微生物濃度が非常に高いことが明らかになった。

#### VI) 積雪中に含まれる微生物の変動と気象の関係

2011年3月1日から5日にかけて十勝岳中腹において計6回の降雪イベントから降雪試料を無菌的に採取し、微生物量、鉍物量の測定、クローンライブラリの解析を行った。

この結果、降雪イベント前期から中期にかけて細胞数、粒子数の著しい減少が確認され、前日までの好天で大気中に浮遊していた微生物や、鉍物粒子などが降雪により洗い流されてきていることが示唆された。また冬型が最も強かった中期には、微生物量は最も少なかったが、風速が最も強かった可能性があり、周辺の植生などから由来したと考えられる細菌が単離された。後期においては、微生物の濃度、割合が急激に高くなったが、16S rRNA のクローン解析の結果、前期よりも多様性が高いことから、長距離輸送されてきたと考えられる微生物が流入してきている可能性が考えられる。

#### VII) 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—

本研究では、南極雪氷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もちいることによって、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。本研究ではこれまで、花粉1粒ずつをDNA分析し、種同定に必要な塩基配列情報を取得するための手法開発に取り組んできた。

本研究ではロシア・アルタイ山脈の氷河試料に含まれるマツ属花粉をもちいて予備実験を進めてきた。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。これまでの研究成果として、マルチプレックスPCR法を採用し、亜節レベルでの同定が可能になったことが挙げられる。塩基配列の取得率は暫定的な値であるが約35%に達し、先行研究のそれ（数パーセント以下）を大きく凌ぐ結果が得られている。また、興味深いことに、氷河周辺に分布するヨーロッパアカマツ (*Pinus sylvestris*) と思われる *Pinus* 亜節のほか、北アメリカにのみ分布する *Australes* 亜節に同定される花粉が検出された。花粉が長距離輸送によってアメリカからアルタイ山脈に飛来した証拠であり、雪試料に含まれる化学物質のデータ等も利用しながら、物質輸送に関する考察を今後進めていく。

#### VIII) フィールド蛍光顕微鏡の開発

本研究は、氷河や極地の湖沼のような極限環境に存在している微生物を、現場で検出、計測するために、高感度かつ高解像度のフィールド蛍光顕微鏡を開発することを目的としている。本顕微鏡を用いることにより、極地微生物の生態学的研究や、試料採取場所の選定などにおいて有益な情報が得られることが期待できる。

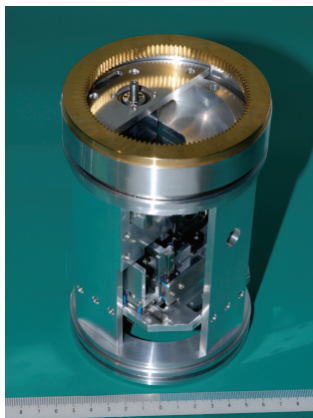
本研究で開発する顕微鏡の仕様は以下の通りである。

- (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°C)から高温(85°C)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

昨年度は顕微鏡の設計と、レーザーダイオードを用いた光源装置の製作を行った。本年度は、昨年度同様、静岡大学・宮川厚夫氏の協力を得て、X軸、Z軸、 $\theta$ 軸駆動装置(図1)と顕微鏡を収納する外筒(図2)を製作した。駆動装置の外径は112.0mm、高さは171.0mmである。駆動装置の内歯車

(図 1(a)) を外筒に固定し、反対側 (図 1(b)) に顕微鏡本体を取り付け、駆動装置と顕微鏡の両方を外筒内に収納する予定である。外筒に対して、半径方向が X 軸、軸方向が Z 軸、回転方向が  $\theta$  軸であり、ステッピングモーターと組み合わせて駆動させる。駆動範囲は、X 軸 32.0 mm、Z 軸 15.0 mm、 $\theta$  軸  $370^\circ$  であり、試料面 (図 2 のガラス面方向) に対して直径 64.0 mm の円内を観察・撮影することができる。来年度以降は、顕微鏡本体や CCD カメラによる検出装置等の製作を行う予定である。

(a)



(b)

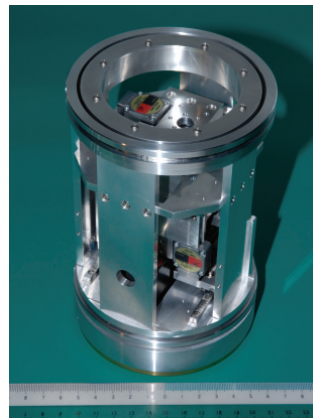


図1 X軸、Z軸、 $\theta$ 軸駆動装置。(a): 上部の黄銅製内歯車が $\theta$ 軸駆動の部品、(b): (a)を逆さにした写真で、上部に顕微鏡本体を接続する。

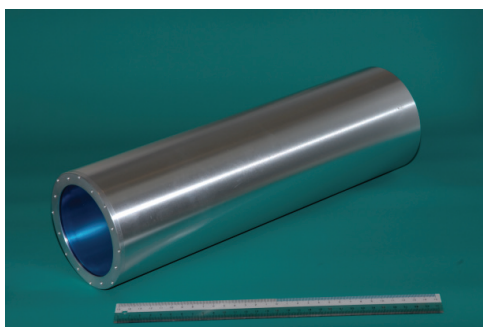


図2 顕微鏡及び駆動装置収納用外筒。左側は前面ガラス部(青色はガラス保護膜)

## サブテーマ2 「極限生物の多様性と進化メカニズム」

### I) 極域環境と海生哺乳類の進化

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水棲適応であろう。鯨類 (ハクジラ 33 属 72 種、ヒゲクジラ 6 属 14 種) 及び鰭脚類 (アザラシ 13 属 18 種、アシカ 7 属 16 種、セイウチ 1 属 1 種) は高度な水棲適応を遂げたタクサであり、陸棲の哺乳動物から、二次的に海生適応する形で進化したグループである。彼らは極地のような寒い海に住む種族が多く、極域の生態系において重要な地位を占めている。そのため彼らがいっどのように進化したのかを知ることは、極域の生態系の時系列的な変遷を理解するうえで重要である。

#### 1) ウェッデルアザラシの集団遺伝学的研究

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。正確な進化速度の推定のためには年代が既知の古代サンプルの DNA の塩基配列を決定し、現生個体との置換数を比較することで推定することができる（例えば Ho et al. 2008 など）。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。

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は行った。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。次に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。ミトコンドリア D-loop 領域において、解読されたウェッデルアザラシミイラの部分配列を含む 84 個体現生ウェッデルアザラシの配列を基に、系統樹推定を行ったところ、ミイラサンプルの配列は現生個体の配列との間、塩基置換はなかったことが分かった。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。現在までに得られた極地研所蔵のウェッデルアザラシサンプルのミトコンドリアのハプロタイプは、現生集団においても確認できるハプロタイプであった。現在、田邊優貴子研究員のご協力のもと個体数を追加中である。

## 2) 鯨類の分岐年代推定

鯨類はハクジラ亜目とヒゲクジラ亜目に分類されている。前者は口腔内に単純化した円錐形の歯を備えており、エコロケーション（音響定位）により採餌や種内コミュニケーションを行う。一方、後者は口腔内に歯の代わりにクジラヒゲと呼ばれる器官を持ちこれで海中のプランクトンや小魚を濾し取って食べる。またエコロケーションは行わない。史上最大の動物であるシロナガスクジラに代表されるようにヒゲクジラには大型の種が多く、最小種のコセミクジラでも体長 6m 以上ある。ヒゲクジラの最古の化石記録は 3400 万年前の南極の地層から発見された *Llanocetus denticrenatus* である。この 3400 万年前という時期は、南極周海流が確立し、地球全体の気温が寒冷化した時期である。これがオキアミ類のバイオマスの拡大と多様化を促し、それに伴ってヒゲクジラが進化してきたと考えられる。このように全球レベルでの寒冷化現象とハクジラの進化は密接な関わりがあると考えられるが、ハクジラの系統における分岐年代推定に関して統一見解が得られていない。最初にハクジラ内部の分岐年代を大々的に行った Sasaki et al. (2005, 2006) ではミトコンドリアゲノムレベルでの分析を行い、ハクジラの共通祖先はおよそ 2800 万年前であり、その後およそ 2000 万年前に急速な種分化を起こしたという仮説を提唱している。この研究においては形態学的に特殊化したザトウクジラが他のヒゲクジラと分岐するのは 1500 万年ほど前であると推定している。一方、同じミトコンドリアゲノムを用いた Xiong et al. (2009) ではザトウクジラの出現は 300 万年前であるとしている。同じ遺伝子マーカー（ミトコンドリアゲノム）を用いており、共に階層型ベイズ法による緩和型分子時計法を用いている。加えて両者とも最古のクジラの化石や最古のハクジラの化石を年代推定上の制約としても用いている。なぜこのような年代の推定値の大きな違いが生じるのであろうか？

両者の解析法の最大の違いは、タクサのサンプリングの偏りである。Sasaki et al. (2005, 2006) はヒゲクジラの進化に焦点を当てているのに対し、Xiong et al. (2009) はハクジラの進化に焦点を当てている。そのため、前者はヒゲクジラ中心のデータセットであり、後者はハクジラ中心のデータである。両者は進化速度に大きな違いがある（下図）。階層型ベイズ法による緩和型分子時計を用いた分岐年代は現在、鯨類の進化にとどまらず広範囲に用いられているが、そのようなタクサのサンプリングが分岐年代推定地に与える影響は知られていない。そのため本研究はハクジラの進化の

研究にとどまらず、分子生物学上極めて重要な研究である。

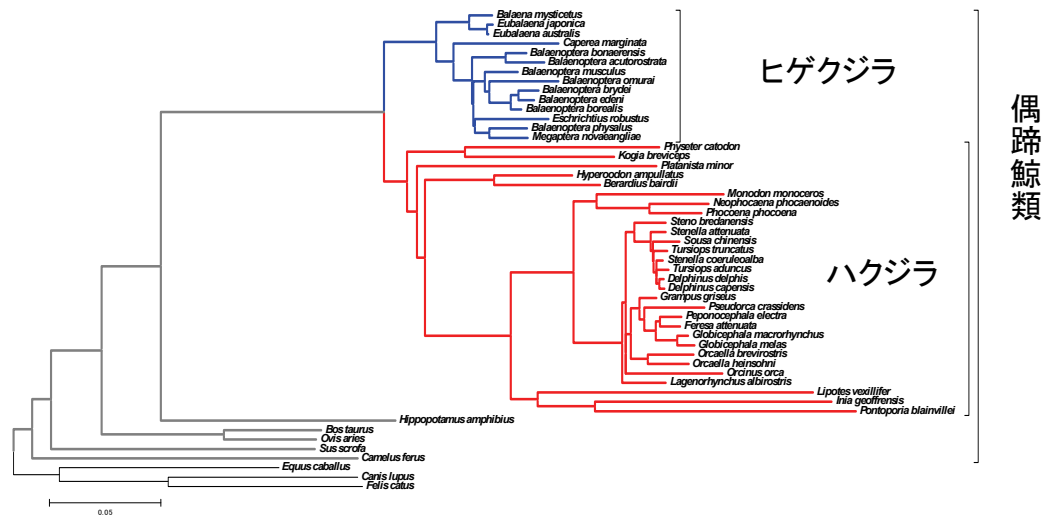
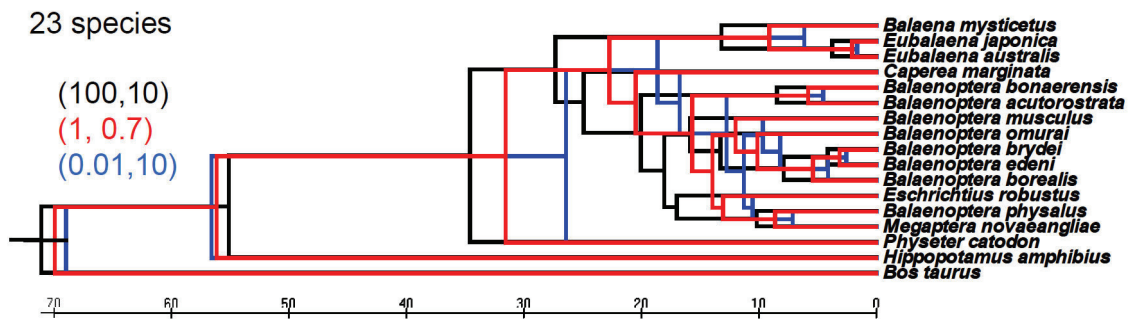


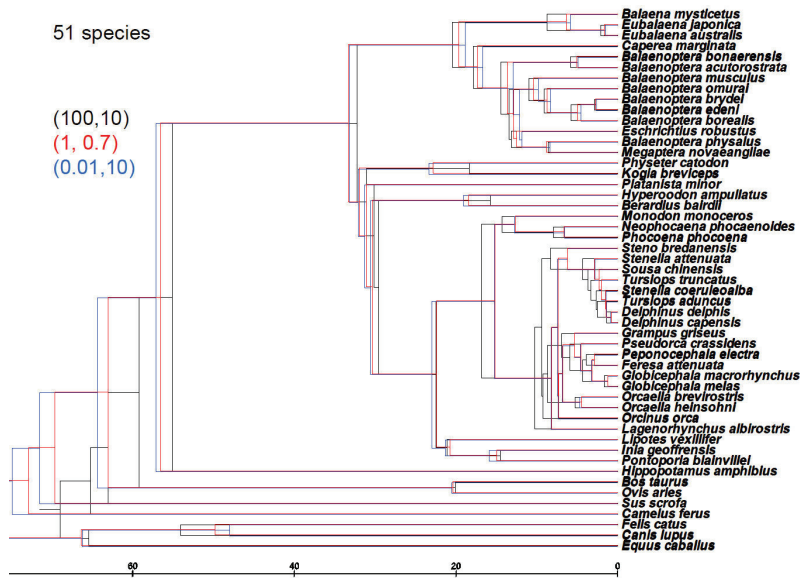
図. ミトコンドリアゲノムを用いて推定した鯨類の系統樹。鯨類全体が外群(鯨類を除く偶蹄類、食肉目、奇蹄目)よりも枝の長さが長く進化速度が速いことが分かる。鯨類の中でもハクジラは特に進化速度が速く、ヒゲクジラは相対的に遅い。

そこで、ヒゲクジラ中心のデータ、ハクジラ中心のデータ、ヒゲクジラ+ハクジラをとともにバランスよく含んだデータを用いて年代推定を行った。ベイズ推定を行う際、事前確率という概念が重要になる。経験的に得られた事前確率とデータから推定される尤度から、事後確率を計算し、その事後確率を最大にする仮説をベストの仮説とするのがベイズ法である。分岐年代推定においては、尤度関数は塩基配列データから推定された枝の長さの分散と共分散から推定される。事前確率の分布は、この場合、系統樹の根の進化速度、枝ごとの進化速度の変動、化石記録によって規定される。尤度関数と事前確率分布から事後確率分布を推定できるが、事後確率が最大になる年代が分岐年代推定値である。化石記録や系統樹の根の進化速度は多かれ少なかれ客観的に推定できるが、枝ごとに進化速度がどう変動するのかは恣意的に設定せざるを得ない。そこで我々は、この枝ごとの進化速度の変動に関するパラメーターについて、経験的に良いとされている値に加えて、いくつかの極端な値を与えて、年代推定値がどう変動するかを観測した。



上図はヒゲクジラを中心としたデータセットから推定された年代推定値である。赤で示した枝は経験的に良いとされているパラメーターで推定された推定値であるが、極端な値を与えた場合、推定値は大きく変動する。この現象はハクジラ中心のデータでも確認された。





これに対し、上図はハクジラとヒゲクジラをとともにバランスよく加えたデータである。興味深いことにどのように極端な値を与えても、年代推定値はよく似ており、安定した結果であることが分かる。仮定に大きく依存する推定は信頼性が低いといえるが、本研究の結果は事前確率分布ではなく、データから直接推定する尤度関数に依存すると考えられるため、信頼性が高いと考えられる。

本研究の結果、ヒゲクジラの共通祖先はおよそ 2000 万年前で、ヒゲクジラの急速な種分化は 1000 万年前であると推定された。この値は Sasaki et al. (2005, 2006) よりも若く、Xiong et al. (2009) よりも古い。中新世後期(1000 万年前ごろ以降)に地球全体の気温が寒冷化する全球寒冷化現象があったことが知られてい本研究の結果は、この全球寒冷化現象がヒゲクジラの多様化を促したことを示唆している。

### 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) 南極コケ坊主のメタゲノム解析

第 52 次南極観測隊によって南極 Skarvsnes の長池で採取され、湖沼水に浸された状態で冷蔵移送されてきたコケ坊主試料について 4 分割をし、それぞれ(1)メタゲノム解析/メタトランスクリプトーム解析のための DNA/RNA 抽出用、(2)メタボローム(代謝物質)解析用、(3)線虫、コケ、微生物分離用、(4)予備の保存用(-80℃保存)とした。(1)メタゲノム解析/メタトランスクリプトーム解析のための DNA/RNA 抽出用の試料は、さらに頭頂部/胴部

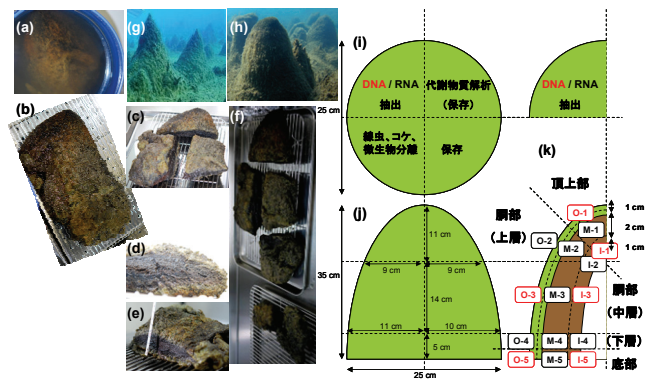


図1 長池コケボウズ試料のメタゲノム解析に向けた分割

(a) 南極の長池から湖沼水に浸され冷蔵で移送されてきたコケボウズ試料 (b) 移送容器からクリーンベンチ内のバット上に引き上げられたコケボウズ試料、計測された湿重量は2.015g、高さは35cm、径は25cm、長池のコケボウズ特有の頂上部がとがった形状が観察された (c) 頂上部、胴部の分割 (d) (e) 頂上部の分割断面。外縁部(約1cm)は緑黄色、その内部は黒褐色 (f) 頂上部、胴部、底部の分割 (g) 長池のコケボウズ、頂上部がとがった形状 (h) 仏池のコケボウズ、頂上部が丸い形状 (i) 4分割された長池コケボウズ試料の解析用途 (j) 頂上部、胴部、底部の分割サイズ (k) メタゲノム解析(DNA/RNA抽出)用試料の細分割。頂上部と底部をさらに2分割し、それぞれ頭頂部/胴部/上層/中層/下層 (l) メタゲノム解析(DNA/RNA抽出)用試料の細分割。頂上部と胴部をさらに2分割し、それぞれ頭頂部/胴部/上層/中層/下層/底部とし、さらに外縁部/中間部/内層部に分割し15分割とした

(上層/中層/下層) /底部の 5 つに分割し、さらに分割各部位を外縁部/中間部/内層部の 3 つに分割の 15 分割 (O-1~5、M-1~5、I-1~5) とした (図 1)。

長池コケ坊主のメタゲノム解析／メタトランスクリプトーム解析のための DNA/RNA 抽出用の分割試料における胴部（中層）－中間部（図 1(k)の M-3 部分）の一部を用いて、DNA/RNA 抽出の条件検討を行った（図 2）。4 つの粒径の異なるジルコニア・ビーズを用いてコケ坊主試料 100mg の細胞破碎条件を検討した。細胞破碎後に遠心分離により上清液を回収し核酸成分（DNA/RNA）をフェノールにより抽出、DNA および RNA はそれぞれの精製用カラムを用いて精製を行った。精製した DNA/RNA の一部を電気泳動法と紫外吸収スペクトル法により定性および定量解析を行った。その結果、ビーズ径 0.5mm で DNA の収量が最も高くなることが示唆された。RNA に関しては粒径の小さい 0.2mm ビーズで分解が少なくなることを確認したが、さらなる精製あるいはゲノム DNA の除去などの検討課題が残った。

今後は、得られた長池コケ坊主資料からの DNA 抽出条件を基に、頭頂部－外縁部(O-1)、頭頂部－内層部(I-1)、胴部（中層）－外縁部(O-3)、胴部（中層）－内層部(I-3)、底部－外縁部(O-5)、底部－内層部(I-5)（図 1(k)の赤字で表示部分）について、順次メタゲノム解析を進めていく方針である。

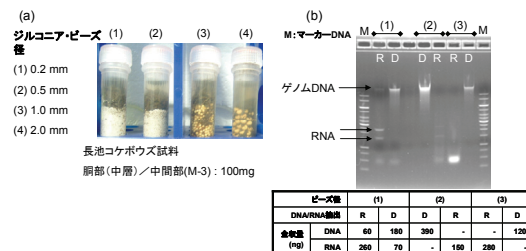


図2 長池コケ坊主試料からのメタゲノム解析用DNA/RNA抽出条件検討

- (a) 長池コケ坊主試料の胴部（中層）／中間部（図1のM-3部分）を100mg用いたジルコニア・ビーズ（ビーズ粒径0.2mm～2.0mm）による細胞破碎条件の検討
- (b) 細胞破碎後、上清液から核酸成分（DNA/RNA）をフェノール抽出後、カラム精製にてDNA（表示：D）、RNA（表示：R）をそれぞれ精製し、一部をアガロース・ゲル電気泳動で調べた。ビーズ径0.5mmがゲノムDNAの収量が最も高くなる結果を得た。RNAに関しては小さなビーズ径（0.2mm）で良い結果を得たが、さらなる精製あるいはゲノムDNAの除去の検討が必要と考えられる。

## I - ii) 南極コケ坊主の窒素固定細菌のゲノム解析

第 42 次南極観測隊により南極 Skarvsnes の仏池で採取されたコケ坊主試料より分離した 61 株の微生物培養株の中から窒素固定遺伝子（*nifH* 遺伝子）の部分配列（458bp）を有する微生物株の選別を PCR 法により行った結果、3 株の候補株が得られた。16S rRNA の塩基配列から α-プロテオバクテリアの *Agrobacterium tumefaciens* と 90%の相同性を有する *Rhizobium* 属細菌が *Rhizobium etli* の *nifH* 遺伝子の塩基配列と 99%の相同性を示し、この株を *Rhizobium sp.* MP2 株とした。また、16S rRNA の配列から α-プロテオバクテリアの *Caulobacter crescentus* と 92%の相同性を有する *Caulobacter* 属細菌も *Rhizobium etli* の *nifH* 遺伝子の塩基配列と 99%の相同性を示し、この株を *Caulobacter sp.* MP3 株とした。さらに、16S rRNA の配列から β-プロテオバクテリアの *Rhodospirillum rubrum* と 98%の相同性を有する *Rhodospirillum* 属細菌が *Rhodospirillum antarcticus* の *nifH* 遺伝子の塩基配列と 89%の相同性を示し、この株を *Rhodospirillum sp.* MP4 株とした。

昨年度の *Pseudomonas sp.* MP1 株でのゲノム解析に準じて、これら仏池コケ坊主試料から分離された窒素固定菌の候補株 3 株についてゲノム解析を開始した。*Rhizobium sp.* MP2 株については、ゲノム DNA を調製し新型 DNA シーケンサーでの解析に供した。さらに、フォスミド・ライブラリーを構築し、全クローンの両末端シーケンスに供した。*Caulobacter sp.* MP3 株については、ゲノム DNA を調製し新型 DNA シーケンサーでの解析に供した。

今後は、上記の窒素固定菌の候補株 3 株について、順次ゲノム解析を進めていく方針である。

I - iii) 南極コケ坊主細菌の低温適応機構の解明

昨年度にゲノム解析を行った *Pseudomonas sp.* MP1 株について、ゲノム配列上に残ったギャップ箇所の塩基配列を決定し、得られた詳細配列に関して他の *Pseudomonas* 属細菌の遺伝子構造との比較ゲノム解析による精査を行った。その結果、南極大陸上で *Pseudomonas sp.* MP1 株が低温環境に適応したゲノムレベルでの痕跡を得るに至った。

表1に比較ゲノム解析に用いた *Pseudomonas sp.* MP1 株を含めた10種株の *Pseudomonas* 属細菌の諸性質を示す。至適な生育の温度域として中高温 (30℃以上)、中低温 (15~30℃)、低温 (15℃以下) に分けた。中高温に2株、中低温に7株、低温でゲノム情報が明らかにされた *Pseudomonas* 属細菌は *Pseudomonas sp.* MP1 株が初めてであった。

表1 比較ゲノム解析に用いた *Pseudomonas* 属細菌

<i>Pseudomonas</i> 属細菌株	分離源	ゲノム長 (bp)	ゲノムGC組成 (%)	遺伝子数 (CDS)	至適生育温度域 (°C)	
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	Human	6,264,404	66.6	5,727	30-37	中高温 (30<)
<i>P. stutzeri</i> A1501	Root	4,567,418	63.9	4,080	30-37	
<i>P. fluorescens</i> SBW25	Root	6,722,539	60.5	5,921	25-30	中低温 (15-30)
<i>P. fluorescens</i> Pf-5	Root	7,074,893	63.3	6,297	25-30	
<i>P. mendocina</i> ymp	Soil	5,072,807	64.7	4,085	25-30	
<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> DC3000	Plant	6,397,126	58.4	6,818	25-30	
<i>P. entomophila</i> L48	Insect	5,888,780	64.2	3,660	25-29	
<i>P. brassicacearum</i> NFM421	Root	6,843,248	60.8	6,095	19-30	
<i>P. putida</i> KT2440	Soil	6,181,863	61.5	5,000	18-28	
<i>Pseudomonas sp.</i> MP1	Lake (Antarctica)	6,362,056	59.0	5,762	10-15	低温 (<15)

*Pseudomonas* 属細菌 10 種株でのゲノム上の全遺伝子 (CDS) 領域のアミノ酸組成比を調べた結果、中高温菌の *P. aeruginosa* PAO1 と低温菌の *Pseudomonas sp.* MP1 は相互に逆の傾向を示した (図3)。中高温菌の *P. aeruginosa* PAO1 の分離源はヒトで、ヒト病原菌として分離され、10 種株の中では最も高温の環境から分離されたものであり、逆に *Pseudomonas sp.* MP1 は最も低温の環境から分離されたものである。低温酵素 (低温に適した酵素) のアミノ酸組成の特徴として、(1) 非極性アミノ酸のアラニン (Ala) やロイシン (Leu) が少ないこと、(2) 極性アミノ酸のアスパラニン (Asn) やトレオニン (Thr) が多いこと、(3) アルギニン (Arg) / リジン (Lys) 値が低い (アルギニンが少なく、リジンが多い) ことが知られており、それらの傾向がゲノムレベルでの遺伝子 (CDS) のアミノ酸組成比の比較で示唆された。さらに、非極性アミノ酸のイソロイシン (Ile)、極性アミノ酸のグリシン (Gly) やグルタミン酸 (Glu) でも特徴的な傾向が見られることから、これらのアミノ酸組成比の変化も低温における酵素・タンパク質の活性や安定性に関係している可能性が示唆された。

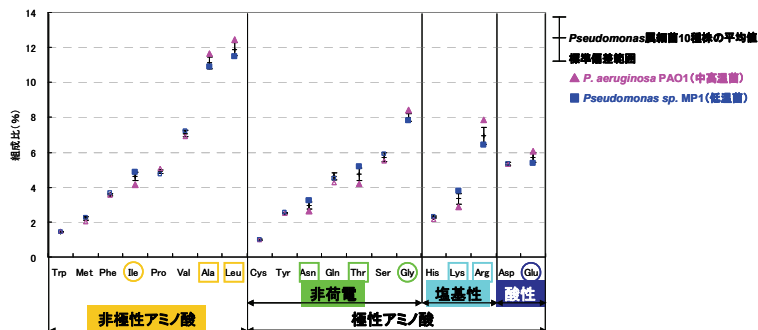


図3 *Pseudomonas*属細菌のゲノムレベルでの遺伝子(CDS)のアミノ酸組成比の比較

*Pseudomonas*属細菌10種株でのゲノム上の全遺伝子(CDS)領域のアミノ酸組成比を、比較した10種株の平均値と標準偏差範囲で示し、中高温菌の *P. aeruginosa* PAO1、低温菌の南極コケ坊主からの分離株 *Pseudomonas sp.* MP1 のアミノ酸組成比の値をそれぞれ示した。その結果、比較した10種株の中でのアミノ酸組成比の高低は *P. aeruginosa* PAO1 と *Pseudomonas sp.* MP1 で逆の傾向を示すことが明らかとなった。低温酵素 (低温に適した酵素) のアミノ酸組成の特徴として、(1) 非極性アミノ酸のアラニン (Ala) やロイシン (Leu) が少ないこと、(2) 極性アミノ酸のアスパラニン (Asn) やトレオニン (Thr) が多いこと、(3) アルギニン (Arg) / リジン (Lys) 値が低い (アルギニンが少なく、リジンが多い) ことが知られているが、それらの傾向がゲノムレベルでの遺伝子 (CDS) のアミノ酸組成比の比較でも示唆された。さらに、非極性アミノ酸のイソロイシン (Ile)、極性アミノ酸のグリシン (Gly) やグルタミン酸 (Glu) でも特徴的な傾向が見られることから、これらのアミノ酸組成比の変化も低温における酵素・タンパク質の活性や安定性に関係する可能性が示唆される。

低温酵素が低温で高いフレキシビリティを獲得するための一つの指標として、アルギニン(Arg)／リジン(Lys)組成比 (=Arg/(Arg+Lys)値) が小さくなる傾向が知られている。Pseudomonas 属細菌 10 種株でのゲノム上の全遺伝子(CDS)領域の Arg/(Arg+Lys)値を計算し、各 Pseudomonas 属細菌の至適生育温度との関係を調べた(図4)。その結果、3つの至適な生育の温度域、中高温(30℃以上)、中低温(15~30℃)、低温(15℃以下)に対応して Arg/(Arg+Lys)値も3つの区分に分類可能なことが示唆された。

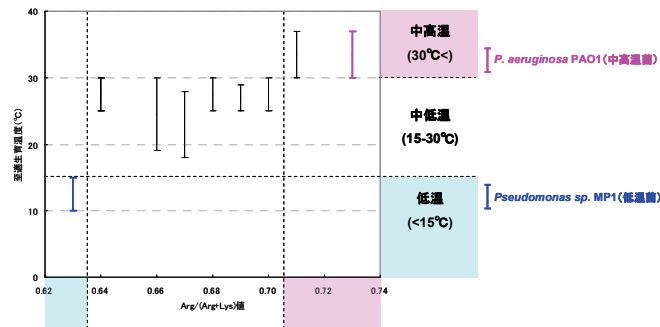


図4 Pseudomonas属細菌遺伝子(CDS)のアルギニン／リジン組成比と至適生育温度  
低温酵素が低温で高いフレキシビリティを獲得するための一つの指標として、アルギニン(Arg)／リジン(Lys)組成比 (=Arg/(Arg+Lys)値) が小さくなる傾向が知られている。Pseudomonas属細菌10種株でのゲノム上の全遺伝子(CDS)領域のArg/(Arg+Lys)値を計算し、各Pseudomonas属細菌の至適生育温度との関係を図示した。その結果、3つの至適生育温度域、中高温(30℃>)、中低温(15-30℃)、低温(<15℃)とArg/(Arg+Lys)値の関係が示唆された。

さらに Pseudomonas 属細菌 10 種株でのゲノム上の全遺伝子(CDS)領域の Arg/(Arg+Lys)値と各 Pseudomonas 属細菌のゲノム GC 組成(%)との関係を調べた(図5)。その結果、この両者には高い相関関係(相関係数 R: R2=0.9228)が示され、3つの至適な生育の温度域、中高温(30℃以上)、中低温(15~30℃)、低温(15℃以下)のそれぞれの温度域に適応した Arg/(Arg+Lys)値を持つ酵素・タンパク質がゲノムレベルでの全遺伝子(CDS)領域でのアミノ酸組成比に反映され、結果的にゲノム全体の GC 組成(%)に影響を与えていることが示唆された。

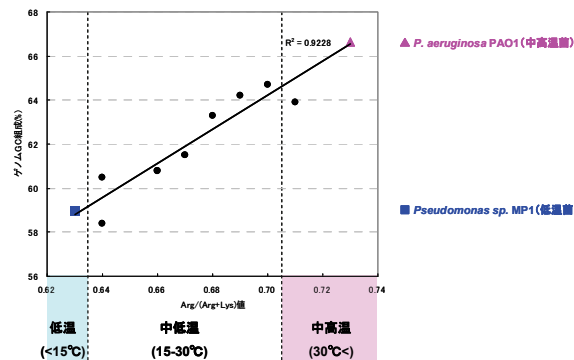


図5 Pseudomonas属細菌遺伝子(CDS)のアルギニン／リジン組成比とゲノムGC組成  
Pseudomonas属細菌10種株でのゲノム上の全遺伝子(CDS)領域のArg/(Arg+Lys)値と各Pseudomonas属細菌のゲノムGC組成(%)との関係を図示した。その結果、高い相関(相関係数R: R²=0.9228)が示され、3つの至適生育温度域、中高温(30℃>)、中低温(15-30℃)、低温(<15℃)のそれぞれ温度域に適応したArg/(Arg+Lys)値を持つ酵素・タンパク質がゲノムレベルでの全遺伝子(CDS)領域に反映され、結果的にゲノムGC組成(%)に影響を与えていることが示唆された。

以上の結果から、次のような Pseudomonas 属細菌の生育環境の温度域へのゲノムレベルでの適応進化のメカニズムが考察される。30℃以上の中高温域の生育環境に適応するためにはゲノム上にコードされる酵素・タンパク質が Arg, Ala, Gly, Leu, Glu の組成比を上げ、Lys, Asn, Ile, Thr の組成比を下げる圧力が掛かった結果、GC-rich なコドンが多用され P. aeruginosa PAO1 に代表されるようなゲノム GC 組成が高いゲノム構造となり、逆に 15℃以下の低温域の生育環境に適応するためには酵素・タンパク質の Arg, Ala, Gly, Leu, Glu の組成比を下げ、Lys, Asn, Ile, Thr の組成比を上げる圧力が掛かった結果、AT-rich なコドンが多用され Pseudomonas sp. MP1 のゲノム GC 組

成は低いゲノム構造となったと考えられる (表 2)。さらに、*Pseudomonas sp.* MP1 のゲノム上にコードされる酵素・タンパク質で。上記のようなアミノ酸組成比の傾向は、*Pseudomonas* 属細菌以外からの水平伝播遺伝子や *Pseudomonas sp.* MP1 のみに存在が示唆されるユニークな遺伝子で特に顕著であることを明らかにした。

表2 アミノ酸コドン表

	2nd										3rd
	T			C			A		G		
T	TTT	Phe	TCT	Ser	TAT	Tyr	TGT	Cys	T		
	TTC		TCC		TAC		TGC		C		
	TTA		TCA		TAA		TGA		A		
	TTG		TGG		TAG		TGG		G		
C	CTT	Leu	CCT	Pro	CAT	His	CGT	Arg	T		
	CTC		CCC		CAC		CGC		C		
	CTA		CCA		CAA		CGA		A		
	CTG		CCG		CAG		CGG		G		
A	ATT	Ile	ACT	Thr	AAT	Asn	AGT	Ser	T		
	ATC		ACC		AAC		AGC		C		
	ATA		ACA		AAA		AGA		A		
	ATG		ACG		AAG		AGG		G		
G	GTT	Val	GCT	Ala	GAT	Asp	GGT	Gly	T		
	GTC		GCC		GAC		GGC		C		
	GTA		GCA		GAA		GGA		A		
	GTG		GCG		GAG		GGG		G		

*Pseudomonas*属細菌10種株でのゲノム上の全遺伝子(CDS)領域のアミノ酸組成比を比較した中で  
 ・中高温菌の *P. aeruginosa* PAO1 で多くなる傾向を示したアミノ酸: Arg, Ala, Gly, Leu, Glu (GC-rich)  
 ・低温菌の南極コケボウスからの分離株 *Pseudomonas sp.* MP1 で多くなる傾向を示したアミノ酸: Lys, Asn, Ile, Thr (AT-rich)  
 ゲノム上にコードされる酵素・タンパク質がそれぞれの *Pseudomonas*属細菌の生育温度域に適応進化の結果、ゲノムレベルでのアミノ酸組成比の変化とゲノムGC組成に影響を与えたと考えられる

*Pseudomonas sp.* MP1 の低温環境への適応のメカニズムを直接的に調べる方法として、変異株の解析は有効な分子遺伝学的手法である。*Pseudomonas sp.* MP1 株の生育が可能な温度域 (コロニーを形成する温度域) は 3~30°C であるが、33°C でコロニーを形成できる変異株 MP1-1 の獲得に成功した。さらに MP1-1 株を 35°C でインキュベーションした後、死滅せずに 33°C でコロニーを形成した 3 株 (MP1-2、MP1-3、MP1-4) を分離し、これらの株から 34°C でコロニーを形成できる変異株 MP1-32、MP1-42、MP1-43 を得た。これらの変異株の生育可能な温度域 (コロニーを形成する温度域) を調べたところ、MP1-1~1-4 は高温側に 33°C まで、MP1-32 は 34°C まで生育可能な温度域が拡大していた。MP1-43 は MP1-32 と同じく高温側に 34°C まで生育可能な温度域が拡大していたが、低温側は 8°C までと生育可能な温度が高温側にシフトしていた。MP1-42 は生育可能な温度域が 10~35°C と、さらに高温側にシフトしていることが明らかになった (図 6)。

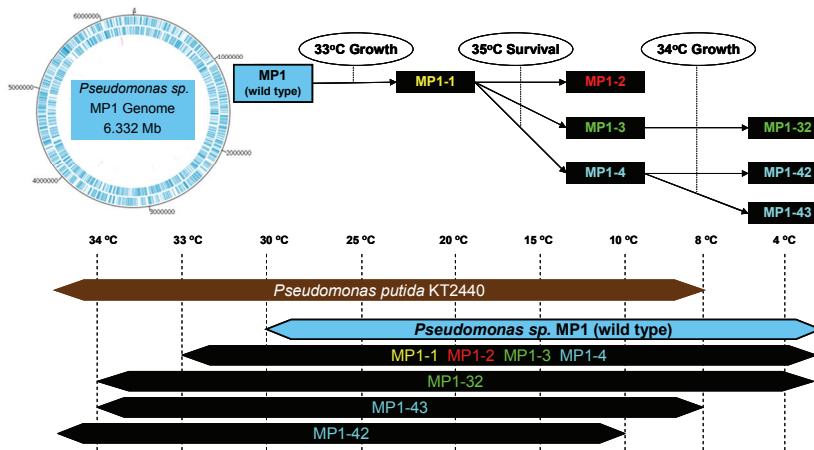


図6 南極コケボウス(仏池)細菌 *Pseudomonas sp.* MP1 株からの生育温度変異株の分離

南極の仏池のコケボウス試料から分離された細菌 *Pseudomonas sp.* MP1 株の生育温度域 (コロニーを形成する温度域) は 3~30°C であるが、33°C でコロニーを形成できる変異株 MP1-1 を得た。MP1-1 株を 35°C でインキュベーションした後、死滅せずに 33°C でコロニーを形成した株を 3 株 (MP1-2、MP1-3、MP1-4) を得た。これらの株から 34°C でコロニーを形成できる変異株 MP1-32、MP1-42、MP1-43 を得た。これらの変異株の生育温度域 (コロニーを形成する温度域) を調べたところ、MP1-1~1-4 は高温側に 33°C まで、MP1-32 は 34°C まで生育温度域が拡大していた。MP1-43 は MP1-32 と同じく高温側に 34°C まで生育温度域が拡大していたが、低温側は 8°C までと生育温度が高温側にシフトしていた。MP1-42 は生育温度域が 10~35°C と、さらに高温側にシフトしていることが明らかになった。



これらの変異株は、ゲノム上の変異により結果的に好冷性（耐冷性）を失ったと考えられ、そのゲノム解析比較から変異箇所を同定することで直接的に *Pseudomonas sp.* MP1 の低温環境への適応のメカニズムの鍵を握る遺伝子を特定できる可能性がある。そこで、これらの変異株のゲノム DNA を調製し新型 DNA シーケンサーでの解析に供した。

今後は、上記の変異株 7 株について、順次ゲノム解析により *Pseudomonas sp.* MP1 からの変異箇所を同定し、南極細菌 *Pseudomonas sp.* MP1 の低温環境への適応機構の解明を進めていく方針である。

## 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－

### II - i) 南極線虫 *Plectus murrayi* の長期冷凍保存

南極、宗谷海岸、Langhovde で 1983 年に採取され、その後、25.5 年間凍結（-20 度）保存された線虫 *Plectus murrayi* の回復・増殖に成功した。この凍結保存期間は生物として世界最長の記録である。本結果は国際的な科学雑誌 *CryoLetters* に掲載される。

### 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* の持つ高度な凍結、乾燥耐性を担う遺伝子を明らかにするため、低温馴化した線虫から cDNA 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。その後、これら配列データと、標準状態の cDNA ライブラリ配列とを比較することで、耐性遺伝子の候補が複数選択出来た。候補遺伝子の温度条件による発現の変動については qPCR（定量的 PCR）で確認した。以上の結果については、共同研究者であるオタゴ大学の D. Wharton 博士、C. Marshall 博士とともに論文にする計画である。

## 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

第 52 次南極観測隊が Skarvsnes の長池で採取したコケ坊主試料は凍結せずに持ち帰られたもので、これを用いてコケボウズの微生物群落の解析に着手した。コケボウズは貧栄養下で生育するために真核・原核微生物と代謝物質を交換して生育していると考えられており、これまでに広島大学の長沼研の研究から、コケボウズにおける物質循環の俯瞰的なモデルが提唱されている。この研究課題においては、コケボウズにおけるコケと微生物の微小環境における分布を明らかにすることで物質循環の実際のプレーヤーを同定することを目標にして計画した。まず光学顕微鏡でのコケボウズ組織の観察を行ったところ、コケ周辺に真菌類と考えられる菌糸状の細胞とバクテリア様の細胞を見出した。そこでコケボウズの組織を特殊なコンパウンドで包埋し、未固定のまま薄膜状に切り出した。薄膜は、これまでに開発してきた 1 細胞からのリボゾーム遺伝子増幅技術を用いて微生物種の同定が可能なように、レーザーマイクロダイセクションで切断が可能な粘着剤付きのホイルに貼付けた。これまでのところ、回収した試料から 18SrRNA の増幅ができていないが、この原因として、コケや真菌細胞が強固な多糖類の細胞壁で守られていることが考えられるため、細胞壁溶解酵素の使用や、細胞破碎を兼ねるため更に薄膜化する実験条件の検討が今後の課題である。また、微細環境において見出された微生物のうち培養できるものの取得を目指し、コケボウズに存在する原核・真核微生物の新たな培養株分離も行っている。

## 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」

### 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。これまでに取得してきた原核生物（バクテリアとアーキア）の 16S rRNA 遺伝子および真核生物の 18S rRNA 遺伝子の塩基配列（全 5376 件）の解析結果をまとめ、それぞれ国際誌 *Polar Biology* に投稿受理された (Nakai et al. *Polar Biol* 2012, in press)。これにより、コケ坊主に共存する生物相のカタログ化が完了し、得られた塩基配列情報は国際塩基配列データベース DDBJ/EMBL/GenBank を通して公開された。

昨年度は、コケ坊主の存立に寄与する生物種の機能の解析を目的とし、コケ坊主の内外上下 14 部位から抽出した混合ゲノム DNA を用いて、銅含有型の亜硝酸還元酵素遺伝子 (*nirK*) の多様性解析を実施した。亜硝酸還元プロセスは、脱窒（窒素固定によって取り込まれた結合型窒素を分子状窒素として放散させる反応）において最初に含窒ガスが出る key 反応である。本年度は、シトクロム含有型の亜硝酸還元酵素遺伝子 (*nirS*) の分子系統解析を試み、昨年度の結果とあわせて、コケ坊主生態系内の窒素サイクルに関わる脱窒細菌の酵素遺伝子を網羅的に取得した。コケ坊主より得られた *nirS* に帰属する塩基配列（全 1122 件）についてデータベース相同性検索を行ったところ、Alphaproteobacteria、Betaproteobacteria、Gammaproteobacteria、Firmicutes の 4 の系統グループに分子分類された。また、得られたヌクレオチド配列について、95%以上一致する配列同士を operational *nirS* unit (ONSU) としてグルーピングしたところ、19 の ONSU が得られた（表 1）。

この 19 ONSUs の中では、ONSU1 (696/1122 件) が最優占しており、コケ坊主内外上下の全部分から検出された。この ONSU1 は、ドイツの Plußsee 湖の湖水と堆積物の境界から得られた *nirS* (ABD36737) (Kim et al. *Aqua Ecol* 2011) に相同性 93%<sub>ND</sub> (ヌクレオチドの相同性) および 98%<sub>AA</sub> (アミノ酸の相同性) で最近縁であった。既知の分離株の *nirS* とのデータベース検索では、ヌクレオチド配列で *Azoarcus aromaticum* EbN1 の *nirS* (CR555306) に相同性 74%<sub>ND</sub>、アミノ酸配列では *Sulfuricella denitrificans* の *nirS* (BAI66431) に相同性 72%<sub>AA</sub> とそれぞれ最近縁であった。これらの既知菌との低い相同性は、コケ坊主内の微生物の中には、新規な亜硝酸還元酵素を持つ微生物が存在することを示唆している。また、得られた ONSU はコケ坊主内でパッチ状に分布する傾向がみられたが、1 つの例外として、ONSU7 はコケ坊主内層からのみ検出された。この ONSU7 は *S. denitrificans* の *nirS* (AB506461) に相同性 87%<sub>ND</sub> および 98%<sub>AA</sub> と比較的高い相同性を示した。*S. denitrificans* は、日本の湖の貧酸素水塊から分離された通性嫌気性の硫黄酸化細菌であり、微好気環境下では硝酸を電子受容体として脱窒を行うことができる (Kojima and Fukui *IJSEM* 2010)。これまでに実施してきた 16S rRNA 遺伝子や RuBisCO 遺伝子の多様性解析においても、硫黄酸化細菌に近縁な塩基配列が得られており、コケ坊主内の硫黄酸化細菌の一部は脱窒能も有する可能性が示された。

また、コケ坊主内の脱窒の各プロセス（硝酸還元、亜硝酸還元、一酸化窒素還元および亜酸化窒素還元）に複数の異なる微生物系統が関与している、という仮説を検討するため、前述の亜硝酸還元に次ぐ一酸化窒素還元プロセスに関わる酵素の遺伝子 (*qnorB*) について PCR クローン・ライブラリを構築し、塩基配列情報を大量取得した。

表1 コケ坊主から得られた亜硝酸還元酵素遺伝子(nirS)のPCRクローンの分布とONSUの系統

ONSU ID.	Closest amino acid sequence	Accession No.	Identity (%)	Exterior section							Interior section						
				O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7
<b>Alphaproteobacteria</b>																	
ONSU6	rice field soil clone 602S119	BAH96200	97	9	10	13	17	16	4	6	3	2	6	5	1	1	4
ONSU14	water column and sediment clone Psedi_nirS-21	ABD36737	91													1	
<b>Betaproteobacteria</b>																	
ONSU1	water column and sediment clone Psedi_nirS-21	ABD36737	98	52	61	42	38	38	59	54	43	61	47	63	33	44	61
ONSU2	soil clone CC2	ACV33310	86			2	5	3		5	5	4	4		2	5	3
ONSU3	wetland soil clone eT9	ADB85759	86														
ONSU5	activated sludge DGGE gel band s6-2	ADJ17981	90	2			2	2	1	1	9	2	3	1	7	4	5
ONSU7	<i>Sulfuricella denitrificans</i>	BA66431	98								3	3	2	3	4	3	2
ONSU8	activated sludge DGGE gel band s6-2	ADJ17981	87									1					1
ONSU9	potato field clone PF06OTU173	ADB25024	94					1				1					
ONSU10	water column and sediment clone P1m_nirS-01	ABD36710	91									1					
ONSU12	Activated sludge clone NR1-87S42	BAD37185	94	3	1	4	8	2	1	2	10	4	18	12	30	22	8
ONSU15	activated sludge DGGE gel band s6-2	ADJ17981	83														1
ONSU16	water column and sediment P7m_nirS-05	ABD36718	92			1	2		1	3							
ONSU17	landfill refuse clone 63-42	AEK31205	87				1										
ONSU18	wetland soil clone eT9	ADB85759	86							1							
ONSU19	wetland soil clone aT13	ADB85738	87							1							
<b>Gammaproteobacteria</b>																	
ONSU13	sediment-water interface clone Ssedi_nirS-35	ABR29452	82	1		1	1	4	1	2			1	1	4	2	3
ONSU4	denitrifying estuarine sediments clone HNIS-3	ABR29445	96	3	6	6	5	3	2	3	4	6	1	2	1	2	1
<b>Firmicutes</b>																	
ONSU11	water column and sediment clone S12m_nirS-30	ABD36778	89	1		1	1	14	2	3			3				
Total				62	68	57	63	67	69	73	74	83	79	82	81	84	83

## 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8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 pyriforme* に近いとされてきた種が南米に分布する *Leptobryum wilsonii* に近縁であること、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 *B. uliginosum* に近い種であること、またこの陸上の *B. pseudotriquetrum* は、南極半島に分布する *B. palescens* に近いと考えられることなどが分かってきた。これら今回の分子系統学的解析結果から、南極地域に知られている既知の *Bryum* 属の種の分類に関しては、大幅な見直しが必要になることが明らかとなった。それぞれの形態的特徴を含め、分類学的再検討を進める。

### ② 極限環境生物統合データベースの構築

現在、南極から持ち帰られたサンプルをもとに、各生物群において多様性データが集積されつつあるが、それらを統合して公開する必要がある。すでに国立極地研究所が公開している極地生物多様性画像データベースを基礎として、本研究課題に対応したものへと拡張すべく、インターフェイスの改修や内部構造の検討を開始した。

## III) 周氷生態系における生物圏探索

微生物による光合成一次生産は、雪氷圏における物質循環に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、雪氷圏に生息する光合成微生物(シアノバクテリア、従属栄養性光合成細菌)の多様性や生息分布域については、未だ十分な理解が進んでいない。本研究では雪氷生態系における光合成微生物の生態学的意義の解明を目標とし、その予察的研究として氷河消耗域における光合成微生物の群集構造と分布域の多様性について解析を行った。

解析には、グリーンランド中西部のラッセル氷河で2009年夏期に採取した、クリオコナイト粒(2地点)および氷河縁辺部の氷河水(1地点)を供した。各試料500mg(湿重量)から全ゲノムDNAを抽出し、得られたDNAを鋳型として、シアノバクテリアの16S rRNA-ITS領域および光合成反応中心タンパク質遺伝子をポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により増幅した。各PCR産物をもとにクローンライブラリーを作成し、計240クローンの16S rRNA-ITS領域と計96クローンの光合成反応中



心タンパク質遺伝子の塩基配列を決定した後、国際 DNA データベースに登録されている塩基配列と比較して系統解析を行った。解析の結果、ラッセル氷河消耗域において *Oscillatoriales* に属するシアノバクテリアが優占することが示された。更に、16S rRNA 遺伝子に比べて進化速度の早い ITS 領域のみを解析したところ、採取地点の異なるクリオコナイト間では種・株レベルの多様性が大きく異なることが明らかとなった。また、光合成反応中心タンパク質遺伝子配列はすべて  $\alpha$  プロテオバクテリアに属しており、その系統的多様性は非常に高かった。なお、得られた光合成反応中心タンパク質遺伝子配列の多くが新奇な細菌由来であることが明らかとなった。本研究により、氷河消耗域に生息する光合成細菌の群集構造が精査されたとともに、氷河生態系における新たな炭素循環経路（光合成従属栄養細菌を介した有機物分解過程）の存在が示唆された。

## [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. C. Buizert, P. Martinerie, V. V. Petrenko, J. P. Severinghaus, C. M. Trudinger, E. Witrant, J. L. Rosen, A. J. Orsi, M. Rubino, D. M. Etheridge, L. P. Steele, C. Hogan, J. C. Laube, W. T. Sturges, V. A. Levchenko, A. M. Smith, I. Levin, T. J. Conway, E. J. Dlugokencky, P. M. Lang, K. Kawamura, T. M. Jenk, J.W. C. White, T. Sowers, J. Schwander, and T. Blunier, Gas transport in firn: multiple-tracer characterisation and model intercomparison for NEEM, Northern Greenland, Atmos. Chem. Phys. Discuss., 11, 15975-16021, 2011
2. Chown, S.L., Huiskes, A.H.L., Gremmen, N.J.M., Lee, J.E., Terauds, A., Crosbie, K., Frenot, Y., Hughes, K.A., Imura, S., Kiefer, K., Lebouvier, M., Raymond, B., Tsujimoto, M., Ware, C., van de Vijver, B., and Bergstrom, D.M. (2012) Continent-wide risk assessment for the establishment of non-indigenous species in Antarctica. PNAS 109: 4938-4943.
3. Fujita, S., Enomoto, H., Fukui, K., Iizuka, Y., Motoyama, H., Nakazawa, F., Sugiyama, S., and Surdyk, S.: Formation and metamorphism of stratified firn at sites located under spatial variations of accumulation rate and wind speed on the East Antarctic ice divide near Dome Fuji, The Cryosphere Discuss., 6, 1205-1267, doi:10.5194/tcd-6-1205-2012.
4. Fujita, S., Holmlund, P., Andersson, I., Brown, I., Enomoto, H., Fujii, Y., Fujita, K., Fukui, K., Furukawa, T., Hansson, M., Hara, K., Hoshina, Y., Igarashi, M., Iizuka, Y., Imura, S., Ingvander, S., Karlin, T., Motoyama, H., Nakazawa, F., Oerter, H., Sjöberg, L. E., Sugiyama, S., Surdyk, S., Ström, J., Uemura, R., and Wilhelms, F.: Spatial and temporal variability of snow accumulation rate on the East Antarctic ice divide between Dome Fuji and EPICA DML, The Cryosphere, 5, 1057-1081, doi:10.5194/tc-5-1057-2011, 2011.
5. Gay, A., Takano, Y., Gilhooly III, W.P., Berndt, C., Heeschen, K., Suzuki, N., Saegusa, S., Nakagawa, F., Tsunogai, U., Jiang, S.Y., and Lopez, M. (2011) Geophysical and geochemical evidence of large scale fluid flow within shallow sediments in the eastern Gulf of Mexico, offshore Louisiana. Geofluids. 11, 34-47. DOI: 10.1111/j.1468-8123.2010.00304.x
6. Hasegawa, H., Tada, R., Jiang, X., Sukanuma, Y., Imsamut, S., Charusiri, P., Ichinnorov, N. and

- Khand, Y., Drastic shrinking of the Hadley circulation during the mid-Cretaceous supergreenhouse, *Climate of the Past*, 7, 119-151, 2011.
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., and Chown, S.L. 2011) Food for thought: Risks of non-native species transfer to the Antarctic region with fresh produce. *Biological Conservation* 144: 1682-1689
  8. Igarashi Makoto, Nakai Yoichi, Motizuki Yuko, Takahashi Kazuya, Motoyama Hideaki, Makishima Kazuo: Dating of the Dome Fuji shallow ice core based on a record of volcanic eruptions from AD 1260 to AD 2001. *Polar Science*, 5 (4), 411-420, 2011.
  9. Iizuka, Y., A. Tsuchimoto, Y. Hoshina, T. Sakurai, M. Hansson, T. Karlin, K. Fujita, F. Nakazawa, H. Motoyama, and S. Fujita, The rates of sea salt sulfatization in the atmosphere and surface snow of inland Antarctica, *J. Geophys. Res.*, 117, D04308, doi:10.1029/2011JD016378, 2012.
  10. Kagoshima, H., Kito, K., Aizu, T., Shin-i, T., Kanda, H., Kobayashi S., Toyoda, A., Fujiyama, A., Kohara, Y., Convey, P. and Niki, H. (2012) Multi-decadal survival of an Antarctic nematode, *Plectus murrayi*, in a -20°C stored moss sample. *CryoLetters* in press.
  11. Kobashi, T., K. Kawamura, J.P. Severinghaus, J.-M. Barnola, T. Nakaegawa, B.M. Vinther, S.J. Johnsen, and J.E. Box, High variability of Greenland surface temperature over the past 4000 years estimated from trapped air in an ice core , *Geophysical Research Letters*, VOL. 38, L21501, doi:10.1029/2011GL049444, 2011
  12. Miura. A, Saito. Y, Tazawa. Y, Fukuoka. T, Noguchi. T and Motoyama. H: Micrometeorites in Antarctic ice detected by Ir: estimation of 120 k year old accretion rate. *Journal of Radioanalytical & Nuclear Chemistry*, DOI 10.1007/s10967-011-1312-7, 2012.
  13. Nakai, R., Abe, T., Baba, T., Imura, S., Kagoshima, H., Kanda, H., Kanekiyo, A., Kohara, Y., Koi, A., Nakamura, K., Narita, T., Niki, H., Yanagihara, K., Naganuma, T. (2012) Microflorae of aquatic moss pillars in a freshwater lake, East Antarctica, based on fatty acid and 16S rRNA gene analyses. *Polar Biology* 35: 425-433.
  14. Nakai, R., Abe, T., Baba, T., Imura, S., Kagoshima, H., Kanda, H., Kohara, Y., Koi, A., Niki, H., Yanagihara, K., Naganuma, T.: Eukaryotic phylotypes in aquatic moss pillars inhabiting a freshwater lake in East Antarctica, based on 18S rRNA gene analysis. *Polar Biology*, Published online before print (doi:10.1007/s00300-012-1188-1), in press.
  15. Nomaki, H., Ogawa, O.N., Takano, Y., Suga, H., Ohkouchi, N., Kitazato, H. (2011) Differing utilization of glucose and algal particulate organic matter by the deep-sea benthic organisms of Sagami Bay, Japan. *Marine Ecology Progress Series*, 431, 11-24. doi: 10.3354/meps09144.
  16. Oiwane, H., Tonai, S., Kiyokawa, S., Nakamura, Y., Suganuma, Y. and Tokuyama, H., Geomorphological development of the Goto Submarine Canyon, northeastern East China Sea, *Marine Geology*, 288, 49-60, 2011.
  17. Segawa, T., Yoshimura, Y., Watanabe, K., Kanda, H., Kohshima, S. Community structure of culturable bacteria on surface of Gulkana Glacier, Alaska. *Polar Science*, vol.5, 41-51, 2011.
  18. Shimizu, S., Upadhye, R., Ishijima, Y., Naganuma, T. (2011) *Methanosarcina horonobensis* sp. nov., a methanogenic archaeon isolated from a deep subsurface Miocene formation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, 2503-2507.
  19. Suganuma Y., Okuno, J., Heslop, D., Roberts, A.P., Yamazaki, T., Yokoyama Y., Post-depositional

- remanent magnetization lock-in for marine sediments deduced from Be-10 and paleomagnetic records through the Matuyama-Brunhes boundary, *Earth Planetary Science Letters*, 311, 39-52, 2011.
20. Sugisaki, S. , Buylaert, J.P. , Murray, A.S. , Harada, N. , Kimoto, K, Okazaki, Y., Sakamoto, T., Iijima, K. , Tsukamoto, S., Miura, H. and Nogi Y. High Resolution Optically Stimulated Luminescence Dating of a Sediment Core from the South-western Sea of Okhotsk. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, in press.
  21. Sugiyama, S., H. Enomoto, S. Fujita, K. Fukui, F. Nakazawa, P. Holmlund, and S. Surdyk, Snow density along the route traversed in the Japanese-Swedish Antarctic Expedition 2007/08, *J. Glaciol.*, In Press, 2012
  22. Tsujimoto, M. and Imura, S. (2012) Does a new transportation system increase the risk of importing non-native species to Antarctica? *Antarctic Science*. In press.
  23. Uetake, J., Kohshima, S., Nakazawa, F., Takeuchi, N., Fujita, K., Miyake, T., Narita, H., Aizen, V., Nakawo, M. (2011) Variations in psychrophilic yeast concentrations in an ice core from a Siberian Altai glacier. *Journal of Geophysical Research* 116.
  24. Uetake, J., Yoshimura, Y., Nagatsuka, N., Kanda, H. Isolation of oligotrophic yeasts from supra-glacial environments of different altitude on the Gulkana Glacier (Alaska). *FEMS Microbiology Ecology*, in press.
  25. V. Masson-Delmotte, D. Buiron, A. Ekaykin, M. Frezzotti, H. Gallée, J. Jouzel, G. Krinner, A. Landais, Motoyama, H, 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. *Clim. Past*, 7, 1–27, 2011, [www.clim-past.net/7/1/2011/](http://www.clim-past.net/7/1/2011/), doi:10.5194/cp-7-1-2011.
  26. Verleyen, E., Hodgson, D.A., Gibson, J., Imura, S., Kaup, E., Kudoh, S., de Wever, A., Hoshino, T., McMinn, A., Obbels, D., Roberts, D., Roberts, S., Sabbe, K., Souffreau, C., Tavernier, I., van Nieuwenhuyze, W., van Ranst, E., Vindeogel, N. and Vyverman, W. (2012) Chemical limnology in coastal East Antarctic lakes: monitoring future climate change in centres of endemism and biodiversity. *Antarctic Science* 24: 23-33
  27. Verleyen, E., Hodgson, D.A., Sabbe, K., Cremer, H., Emslie, S.D., Gibson, J., Hall, B., Imura, S., Kudoh, S., Marshall, G.J., McMinn, A., Melles, M., Newman, L., Roberts, D., Roberts, S.J., Singh, S.M., Sterken, M., Tavernier, I., Verkulich, S., Van de Vyver, E., Van Nieuwenhuyze, W., Wagner, B., and Vyverman, W. (2011) Post-glacial regional climate variability along the East Antarctic coastal margin—Evidence from shallow marine and coastal terrestrial records. *Earth-Science Reviews* 144: 199-212.
  28. Witrant, E., Martinerie, P., Hogan, C., Laube, J. C., Kawamura, K., Capron, E., Montzka, S. A., Dlugokencky, E. J., Etheridge, D., Blunier, T., and Sturges, W. T., A new multi-gas constrained model of trace gas non-homogeneous transport in firn: evaluation and behavior at eleven polar sites, *Atmos. Chem. Phys. Discuss.*, 11, 23029-23080, doi:10.5194/acpd-11-23029-2011, 2011
  29. Yanagihara K, Niki H, Baba T. Direct PCR amplification of the 16S rRNA gene from single microbial cells isolated from an Antarctic iceberg using laser microdissection microscopy. *Polar Science.*, 5, pp.375-382
  30. Yeongcheol Han, Youngsook Huh, Sungmin Hong, Soon Do Hur, Hideaki Motoyama, Shuji Fujita,

Fumio Nakazawa, Kotaro Fukui: Quantification of Total Mercury in Antarctic Surface Snow using ICP-SF-MS: Spatial Variation from the Coast to Dome Fuji. Bull. Korean Chem. Soc. Vol. 32, No. 12, 4258-4264, 2011.

31. 力石嘉人、高野淑識、小川奈々子、佐々木瑤子、土屋正史、大河内直彦 (2011) アミノ酸の窒素同位体比を用いた生物の栄養段階の解析：陸上環境を含めた生物生態系の解明に向けて. *Researches in Organic Geochemistry*, 27, 3-11.

[データベース]

特になし

[著書等]

1. 高野淑識『地球と宇宙の化学事典』日本地球化学会編. 分担執筆. 朝倉書店 (印刷中)
2. 佐瀬隆、細野衛・三浦英樹、植物珪酸体群集変動からみた北海道における最終間氷期以降のササの地史的動態—ササを指標とした積雪・温量環境の推定—. *植生史研究*, 20, 3-16, 2011
3. 三浦英樹、第 13 章 土壌学と土壌地理学の基礎、第 14 章 土壌学と土壌地理学の応用、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』(分担執筆)、pp. 243-257、pp. 300-301、ミネルヴァ書房、印刷中.
4. 三浦英樹、第四紀の環境変動と人為活動を読みとるための土壌研究の方法論—「堆積土壌」における土壌断面の見方と考え方—. *地球環境*, 16, 139-150, 2011
5. 三浦英樹、氷河変動と地形—世界と日本の氷期と間氷期の地形—.小池一之、山下脩二、岩田修二、漆原和子、小泉武栄、田瀬則雄、松倉公憲、松本淳、山川修治編集 (2012) :『自然地理学事典』(分担執筆)、朝倉書店、印刷中.
6. 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.
7. 中井亮佑、長沼毅 (2011) 『微生物の生態学』 第 6 章 辺境の微生物 共立出版 p 85-97.
8. 中田正夫、奥野淳一、グラシオ・ハイドロアイソスタシー. *地形*, 第 32 巻 第 3 号, 327-331, 2011.
9. 長沼 毅 (2011) 『14 歳の生命論 生きることが好きになる生物学のはなし』、技術評論社、191pp., ISBN 978-4-7741-4782-4.
10. 長沼毅 (2011) 『形態の生命誌 なぜ生物にカタチがあるのか』、新潮社、229pp., ISBN 978-4-10-603683-5.
11. 長沼毅 (2011) 『私たちは進化できるのか 凶暴な遺伝子を超えて』、廣済堂新書 (廣済堂出版)、190pp., ISBN 978-4-331-51579-2.
12. 長沼毅 (2011) 『世界をやりなおしても生命は生まれるか?』、朝日出版社、298pp., ISBN 978-4-255-00594-2.
13. 長沼毅 (2011) 4 章 5. 深海の生物たち、『生命・食・環境のサイエンス』(江坂宗春監修)、p.117-120、共立出版、ISBN 978-4-320-05717-3.
14. 長沼毅 (2012) 『生命には意味がある どれだけの奇跡の果てに僕らはあるのか』、メディアファクトリー、205pp., ISBN978-4-8401-4214-4.

[解説・総説]

無し

[その他]

無し

<会議発表等>

[招待講演]

<国 際>

1. Kobashi, T., Kawamura, K., Severinghaus, J.P., Barnola, J.-M., Nakaegawa, J.-M., Vinther, B. M., Johnsen, S. J., Box, J. E. High variability of Greenland temperature over the past 4000 years, Santa Fe Third Conference for Global and Regional Climate Change, Santa Fe, USA, 2011年11月
2. Kurosawa, N., Tsuboi, Y., Sonoda, K., Yamamoto, S. and Imura, S. Isolation and characterization of cold adapted bacterial strains isolated from Antarctic soil. International Postgraduate Conference on Biotechnology. 2011年12月15-18日 Universiti Malaysia Terengganu
3. Motoyama Hideaki: Japanese drilling at Dome Fuji and elsewhere. Ice Drilling Design and Operations Group – Technical Advisory Board meeting. Room 351 of the Atmospheric, Oceanic and Space Sciences Building, Madison, Wisconsin, USA, April 20-21, 2011.
4. Motoyama Hideaki: Japanese Glaciological Activity in Arctic. Svalbard. Science Forum: Ny-Ålesund glaciology – future opportunities and constraints, Norwegian Polar Institute, Fram Centre, Tromsø and Sommarøy Arctic Hotel, Norway, May 30-June 1, 2011.
5. Motoyama Hideaki: Japanese ice core drilling at Dome Fuji. Second Symposium ‘Polar Earth Science and Exploration’. Jilin University, Changchun City, China, September 15, 2011.

<国 内>

1. 伊村智、氷床を巡る生物探査と地球規模気候変動。日本気象学会。2011年5月20日 東京
2. 菅沼悠介、地磁気強度を用いた海底堆積物とアイスコアの高精度年代対比手法の確立。日本地球惑星科学連合2011年大会、幕張メッセ、2011年5月
3. 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
4. 馬場知哉、生物に学ぶレジリエンス” Biological Robustness”、情報・システム研究機構シンポジウム2011「システムズ・レジリエンス」、東京、2/8, 2012

[一般講演]

<国 際>

1. BABA Tomoya. Gene Essentialities of Bacterial Systems, International Symposium on Symbolic Systems Biology 2011, Hayama, Japan, 11/16, 2011
2. Goto-Azuma Kumiko, Anna Wegner, Margareta Hansson, Hirabayashi Motohiro, Birthe Twarloh, Kuramoto Takayuki, Miyake Takayuki, Motoyama Hideaki, NEEM Aerosol Consortium members, Variations of ion concentrations in the NEEM deep core and surface snow, NEEM scientific symposium (Copenhagen), 2011
3. Goto-Azuma Kumiko, Tatenuma Takuya, Miyake Takayuki, Hirabayashi Motohiro, Kuramoto Takayuki, Motoyama Hideaki, High resolution climate record from the Dome Fuji ice core during Antarctic Isotope Maxima (AIM) 3 and 4, IUGG (International Union of Geodesy and Geophysics)総会, Melbourne June 2011

4. Iizuka Yoshinori, Margareta Hansson, Oyabu Ikumi, Torbjörn Karlin, Goto-Azuma Kumiko, Constituent elements of nonvolatile particles in NEEM ice core, NEEM scientific symposium (Copenhagen), 2011
5. Kagoshima, H. and Kohara, Y. Functional genomics of two Antarctic nematodes, *Panagrolaimus davidi* and *Plectus murrayi*. 18th International C. elegans Meeting, University of California, Los Angeles, USA, 6/24, 2011
6. Kagoshima, H. and Kohara, Y. The homeobox transcription factors, CEH-14 and TTX-1, regulate expression of *gcy-8* and *gcy-18* in *C. elegans*. 18th International C. elegans Meeting, University of California, Los Angeles, USA, 6/24, 2011
7. Kaneko, R., Uetake, J., Kanda, H., Imura, S., Motoyama, H. Microbial diversity in cryoconite holes from Russell Glacier, Greenland. The 4th International Conference on Polar and Alpine Microbiology, Ljubljana, 9, 2011.
8. Kawamura Kenji, Anais Orsi, Jeff Severinghaus NEEM noble gas records: firn air and preliminary ice core data, NEEM scientific symposium (Copenhagen), 2011.
9. Kawamura Kenji, Frédéric Parrenin, Shuji Aoki, Takakiyo Nakazawa, Kazue Suzuki, Ayako Abe-Ouchi, Fuyuki Saito, Timing and duration of the last four interglacial periods in marine  $\delta^{18}O$  constrained by the Dome Fuji ice core, Antarctica, INQUA Congress 2011, Bern, 2011年7月.
10. Kawamura Kenji, on behalf of Dome Fuji Ice Core Project Members, Multi-millennial-scale climatic variations in Antarctica and their relation with orbital changes for the last eight glacial periods, AGU 2011 Fall Meeting, San Francisco, 2011年12月.
11. Miura, H., Okuno, J., Iwasaki, S. and Maemoku, H., East Antarctic ice sheet history derived from sea-level variations before the LGM, INQUA meeting, Swiss Confederation, 2011年7月
12. Miura, H., Okuno, J., Iwasaki, S. and Maemoku, H., Marginal history of East Antarctic ice sheet derived from glacial-marine geological stratigraphy and sea-level variations before LGM, UK, Edinburgh, 11th International Symposium on Antarctic Earth Sciences, 2011年7月
13. Motoyama Hideaki, Dome Fuji Ice Core Project members: Characteristics of correlation between climate and environmental elements from past 720,000 years in Dome Fuji ice core, Antarctica. AGU Fall Meeting, San Francisco, 07-11 December, 2011.
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., Kawamura, K.: Characteristics of correlation between climate and environmental elements from past 720,000 years in Dome Fuji ice core, Antarctica. WCRP Open Science Conference. Denver, Colorado, USA, 24-28 October 2011.
15. Motoyama, H., Suzuki, K., Yamanouchi, T., Kawamura, K.: Spatial and temporal snow accumulation at East Antarctic ice sheet in 1993-2010. WCRP Open Science Conference. Denver, Colorado, USA, 24-28 October 2011.
16. Nakai, R., Naganuma, T., Kagoshima, H., Niki, H., Kohara, Y., Imura, S., Kanda, H. Katsuhiko Yanagihara, Tomoya Baba, Takashi Abe "Potential microbial contribution to nitrogen cycling in an Antarctic moss pillar". International Conference on Polar and Alpine Microbiology 2011, Ljubljana, Slovenia, 2011.9
17. Okuno, J., Miura, H. and Maemoku, H., East Antarctic Ice Sheet fluctuations in mid-Holocene derive from near-field sea levels. 11th International Symposium on Antarctic Earth Sciences,

Edinburgh, UK, 2011 年 7 月

18. Okuno, J., Miura, H. and Maemoku, H., Mid-Holocene collapse of the East Antarctic Ice Sheet derived from near-field sea-level changes. XVIII International Union for Quaternary Research - Congress, Bern, Switzerland, 2011 年 7 月
19. Suganuma, Y., Miura, H. and Zondervan, A., Deglaciation history of Sør Rondane Mountains in Dronning Maud Land, East Antarctica: a geomorphologic reconstruction supported by surface exposure age observations, 11th International Symposium on Antarctic earth Sciences, Edinburgh, Scotland, July, 2011.
20. Suganuma, Y., Okuno, J. and Yamazaki, T., Delayed acquisition of remanent magnetization in marine sediments deduced from  $^{10}\text{Be}$  and paleomagnetic records through the M-B boundary, XVIII INQUA-Congress, Bern, Switzerland, July, 2011.
21. Takada, M., Miura H. and Soma, H., Stable oxygen isotope of opal phytoliths from Japanese Sasa and Phyllostachys: Basic information toward the paleoenvironmental reconstruction, INQUA meeting, Swiss Confederation, 2011 年 7 月
22. Takano, Y., Ohkouchi, N. Archaeal molecular signatures to determine de novo and salvage pathway: Insight from in-situ  $^{13}\text{C}$ -stable isotope probing. ISSM 2011 (8th International Symposium of Subsurface Microbiology), Garmisch-Partenkirchen, September, 2011.
23. Uetake Jun, Goto-Azuma Kumiko, Kuramoto Takayuki, Hirabayashi Motohiro, Miyake Takayuki, Motoyama Hideaki. Seasonal variation of bacteria from surface snow pit at NEEM, Greenland, NEEM scientific symposium (Copenhagen), 2011 年 11 月
24. Uetake Jun, Kaneko Ryo, Satow Kazuhide, Matt Nolan, Takahashi Shuhei, Motoyama Hideaki, Diversity of cold-adapted microorganisms from glacier snow and cryoconite, The 4th international conference of Polar and Alpine Microbiology、2011 年 9 月
25. Yamane, M., Yokoyama, Y., Miura, H., Maemoku, H. and Matsuzaki, H. The last glacial history of Lützow-Holm Bay, East Antarctica, UK, Edinburgh, 11th International Symposium on Antarctic Earth Sciences, 2011 年 7 月

< 国 内 >

1. Kagoshima, H. Multi-decadal survival of an antarctic nematode, *Plectus murrayi*, in a  $-20^{\circ}\text{C}$  stored moss sample. The Second Symposium on Polar Science 2011 年 11 月 18 日 国立極地研究所
2. Kagoshima, H. and Kohara, Y. The homeobox transcription factors, CEH-14 and TTX-1, regulate AFD thermosensory neuron-specific expression of *gcy-8* and *gcy-18* in *C. elegans*. 日本分子生物学会第 34 回年会、横浜、12/15, 2011
3. Kagoshima, H. Multi-decadal survival of an antarctic nematode, *Plectus murrayi*, in a  $-20^{\circ}\text{C}$  stored moss sample. 第 33 回極域生物シンポジウム、東京、11/18, 2011
4. Kaneko, R., Uetake, J., Kanda, H., Imura, S., Motoyama, H. Diversity of phototrophic bacteria in Russell Glacier, Greenland. The 33rd Symposium on Polar Biology, Tokyo, 11, 2011.
5. Kobashi, T., Kawamura, K., Severinghaus, J.P., Barnola, J.-M., Nakaegawa, J.-M., Vinther, B. M., Johnsen, S. J., Box, J. E., High variability of Greenland temperature over the past 4000 years estimated from trapped air in ice core、第 2 回極域科学シンポジウム、東京、2011 年 11 月
6. Kobashi, T., Kodera, K., Box, J. E., Shindell, D. T., Yoshimori, M., Nakaegawa, T., Abe-Ouchi, A.,

- Ukita, J., and Kawamura, K., Solar influence on Greenland temperature anomalies over the past 1000 years, 太陽活動と気候変動の関係に関する第2回名古屋ワークショップ、名古屋、2011年1月
7. Kurosawa, N., Tsuboi, Y., Sonoda, K., Yamamoto, S., Imura S. Effects of Growth Temperature on Fatty Acid Composition of Psychrotolerant Bacteria. The Second Symposium on Polar Science 2011年11月18日 国立極地研究所
  8. Nakai, R., Naganuma, T., Kagoshima, H., Niki, Kohara, Y., Imura, S., Kanda, H., Yanagihara, K., Baba, T., Abe T. Unsuspected eukaryotic diversity of aquatic moss pillars inhabiting a freshwater lake in East Antarctica, based on 18S rRNA gene analysis. XXXIII Symposium on Polar Biology, Tokyo, Japan, 2011.11
  9. Suganuma, Y., Miura, H. and Zondervan, A., The glacial history of Sør Rondane Mountains in Dronning Maud Land, East Antarctica、日本地球惑星科学連合2011年大会、幕張メッセ、2011年5月
  10. Uetake Jun, Satow Kazuhide, Kaneko Ryo, Motoyama Hideaki, Fujii Yoshiyuki, Matt Nolan, Takahashi Shuhei, Diversity of cold-adapted ciliates from glacier snow and cryoconite in Arctic region, The 33rd Symposium on Polar Biology, 2011年11月
  11. ドームふじ氷床コア研究プロジェクト、南極氷床コアに記録された氷期における数千年スケールの気候変動、雪氷研究2011年大会、長岡、2011年9月。
  12. 奥野淳一、三浦英樹、最終氷期最盛期における南極氷床拡大範囲と氷床量。第31回極域地学シンポジウム、東京、2011年11月
  13. 奥野淳一、三浦英樹、酸素同位体ステージ3以降の東南極氷床変動に関する考察。日本第四紀学会2011年大会、徳島、2011年8月
  14. 奥野淳一、三浦英樹、野木義史、南極大陸縁辺部における大陸棚深度に対する氷床変動の影響。日本地球惑星科学連合2011年大会、幕張メッセ、2011年5月
  15. 三浦英樹、奥野淳一、菅沼悠介、後期新生代の南極氷床変動史に関する諸問題ー地球惑星科学の中で氷床が存在する地域の「地形発達史」に期待されていることー。2011年日本地理学会春季学術大会、明治大学、2011年3月
  16. 三浦英樹、奥野淳一、菅沼悠介、南極、セール・ロンダーネ山地における鮮新世以降の氷床変動とグレイシャルアイソスタシーによる山地隆起。第31回極域地学シンポジウム、東京、2011年11月
  17. 三浦英樹、奥野淳一、菅沼悠介、南極セール・ロンダーネ山地における鮮新世以降の氷床融解とグレイシャルアイソスタシーによる山地隆起量の推定。日本地球惑星科学連合2011年大会、幕張メッセ、2011年5月
  18. 三浦英樹、人類が経験した地球環境、地理科学学会2011年度秋季学術大会、YMCA国際文化ホール、広島、2011年10月
  19. 三浦英樹、前杵英明、奥野淳一、隆起海浜地形・地質からみたグリーンランド氷床融解史の再評価、第31回極域地学シンポジウム、第2回極域科学シンポジウム、東京、2011年11月
  20. 三浦英樹、太田晴美、泉紀明、田中喜年、菅沼悠介、奥野淳一、野木義史、東南極の大陸棚上に認められる氷河地形の特徴・分布と最終氷期の東南極氷床の底面環境。第31回極域地学シンポジウム、東京、2011年11月
  21. 三浦英樹、太田晴美、泉紀明、田中喜年、菅沼悠介、奥野淳一、野木義史、東南極の大陸棚上に認められる氷河地形の特徴と第四紀の陸上氷床変動史との関連性。日本地球惑星科学連合2011年大会、幕張メッセ、2011年5月
  22. 三浦英樹、第四紀の東南極氷床変動史研究の現状と課題。第2回極域科学シンポジウム、東京、2011年



11月

23. 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：培養実験および海底堆積物への応用、地球惑星科学連合大会、2011年5月、幕張
24. 市瀬悠、野口真、森田招宏、山岸明彦、本多元、小川麻里、吉村義隆. 蛍光顕微鏡法を応用した火星における生命探査法の開発. 日本宇宙生物科学会第25回大会. 2011年9月30日、横浜国立大学
25. 小川麻里、原昌史、橋本博文、伊村智、井上源喜、金子竹男、河崎行繁、岸本海織、小林憲正、倉持卓司、町田恭祐、三田肇、宮川厚夫、森貴久、中本早紀、大林由美子、鈴木忠、高橋淳一、辻堯、藪田ひかる、山田一孝、吉村義隆、若菜 勇. 南極の微生物および有機物環境. 第2回極域科学シンポジウム. 2011年11月18日. 国立極地研究所
26. 小端拓郎、川村賢二、Jeff Severinghaus、Jean-Marc Barnola、仲江川敏之、Bo Vinther、Sigfus Johnsen、過去4000年に渡る太陽活動の変動によって引き起こされたグリーンランドの気温変動、日本雪氷学会、新潟、2011年9月
27. 小端拓郎、川村賢二、Jeffrey Severinghaus、仲江川敏之、過去4000年のグリーンランド温度変動と同期して起こった広域の山岳氷河の進退、日本地球惑星連合大会、幕張、2011年5月
28. 小林憲正、山下雅道、山岸明彦、丸茂克美、橋本博文、奈良岡浩、高橋淳一、中川和道、奥平恭子、石川洋二、河崎行繁、内海裕一、長沼毅、中嶋悟、三田肇、今井栄一、本多元、吉村義隆、宮川厚夫、福島和彦、斉藤香織、小川麻里、河合秀幸、藪田ひかる、才木常正、横堀伸一、金子竹男、大林由美子、春山純一、神田一浩、高橋裕一、大石雅寿. 地球周回軌道におけるアストロバイオロジー実験研究チーム報告：地球外有機物・微生物の検出のための宇宙実験の検討. 第28回宇宙利用シンポジウム. 2012年1月24日. 日本学術会議 講堂・会議室.
29. 植竹淳、佐藤和秀、本山秀明、藤井理行、マットノーラン、高橋修平、アラスカ、マッコール氷河、涵養域表層における原核、真核微生物相の深度変化、日本雪氷学会、2011年9月
30. 植竹淳、佐藤和秀、本山秀明、藤井理行、マットノーラン、高橋修平、アラスカ、マッコール氷河、涵養域表層における原核、真核微生物相の深度変化、日本地球惑星連合、2011年5月
31. 植竹淳、三宅隆之、牧輝弥、松木篤、馬場知哉、本山秀明、十勝岳中腹における降雪中の微生物濃度と種の変動、日本雪氷学会、2011年9月
32. 植竹淳、三宅隆之、牧輝弥、松木篤、本山秀明、降雪中の微生物濃度と種の変動、第6回大気バイオエアロゾルシンポジウム、2011年12月
33. 植竹淳、東久美子、藤井理行、本山英明、極域アイスコアおよびピットを対象とした微生物定量法の改良、第34回極域気水圏シンポジウム、2011年11月
34. 菅井彩加、今井栄一、吉村義隆、山岸明彦、本多元. 火星表面における生命探査を目的とした蛍光観察用色素の選定. 日本宇宙生物科学会第25回大会. 2011年9月30日、横浜国立大学.
35. 菅沼悠介、Brunhes-Matuyama 境界年代の再検討. 日本地質学会118年学術大会、茨城、2011年9月
36. 川村賢二、青木周司、中澤高清、阿部彩子、齋藤冬樹、ドームふじ氷床コアのO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>年代から見た間氷期のタイミングと長さ、日本第四紀学会2011年大会、徳島、2011年8月.
37. 川村賢二、青木周司、中澤高清、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、2011年5月.
38. 泉紀明、太田晴美、三浦英樹、野木義史、南極観測における海底地形調査. 日本地球惑星科学連合2011年大会、幕張メッセ、2011年5月
39. 大岩根尚、池原実、菅沼悠介、中村恭之、野木義史、佐藤太一、反射断面に記録された南極周極流の変化. 日本地質学会第118年学術大会、茨城大学、2011年9月

40. 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、ベルーハ氷河に含まれるマツ属花粉 1 粒ずつの DNA 分析、日本地球惑星科学連合 2011 年大会、幕張メッセ国際会議場、千葉県千葉市、2011.5.24
41. 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、節レベルでの識別を目的としたベルーハ氷河中のマツ属花粉 1 粒ずつの DNA 分析、雪氷研究大会 (2011)、ハイブ長岡、新潟県長岡市、2011.9.21
42. 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、節レベルでの同定を目的としたベルーハ氷河中のマツ属花粉 1 粒ずつの DNA 分析、第 2 回極域科学シンポジウム、国立極地研究所、東京都立川市、2011.11.16
43. 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、節レベルでの同定を目的とした氷河中のマツ属花粉 1 粒ずつの DNA 分析、日本花粉学会第 52 回大会、名城大学、愛知県名古屋市、2011.10.9
44. 田口幸広、瀬川高弘、鈴木悠香、ビクトリア・シェルバコバ、吉村義隆. シベリア永久凍土におけるメタン生成菌の群集解析. 第 2 回極域科学シンポジウム. 2011 年 11 月 18 日. 国立極地研究所
45. 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、中澤高貴、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 NEEM における観測報告、極域科学シンポジウム、2011
46. 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、中澤高貴、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、Dorthe Dahl-Jensen, J. P. Steffensen, Sigfús J. Johnsen, グリーンランド深層氷床コア掘削計画 (NEEM 計画) による過去十数万年の気候・変動環境の研究、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、2011
47. 東久美子、蓼沼拓也、三宅隆之、平林幹啓、倉元隆之、本山秀明、南極ドームふじにおける最終氷期の気候・環境変動-AIM3 と 4 の高時間分解能解析-、雪氷研究大会(2011 長岡)、2011
48. 藤田秀二、P. Holmlund、I. Andersson、I. Brown、榎本浩之、藤井理行、藤田耕史、福井幸太郎、古川晶雄、M. Hansson、原圭一郎、保科優、五十嵐誠、飯塚芳徳、伊村智、S. Ingvander、T. Karlin、本山秀明、中澤文男、H. Oerter、L. E. Sjoberg、杉山慎、S. Surdyk、J. Strom、植村立、F. Wilhelms : ドームふじおよび EPICA DML の 2 つの深層掘削地点を含む東南極ドロンニングモードランドでの雪の堆積の時系列変化、第 2 回極域科学シンポジウム、氷床コアセッション 2011 年 11 月 16 日 (水) 国立極地研究所
49. 藤田秀二、P. Holmlund、松岡健一、榎本浩之、福井幸太郎、中澤文男、杉山慎、S. Surdyk: 東南極ドロンニングモードランドの氷床底面環境、第 2 回極域科学シンポジウム、氷床コアセッション 2011 年 11 月 16 日、国立極地研究所
50. 藤田秀二、榎本浩之、福井幸太郎、藤田耕史、保科優、飯塚芳徳、中澤文男、杉山慎、ドームふじ表層 4m の詳細物理層位・氷床コアシグナル形成過程理解の深化を目指して- Detailed stratigraphy of a 4m-deep pit at Dome Fuji, for better understanding formation of ice core signals, 日本地球惑星科学連合 2011 年大会 2011 年 5 月 22 日(日)~27 日(金) 幕張メッセ国際会議場、2011
51. 藤田秀二、榎本浩之、福井幸太郎、藤田耕史、保科優、飯塚芳徳、中澤文男、杉山慎: ドームふじ表層 4m の詳細物理層位・氷床コアシグナル形成過程理解の深化を目指して -, 第 2 回極域科学シンポジウム、氷床コアセッション 2011 年 11 月 16 日 (水) 国立極地研究所
52. 藤田秀二「DF コア年代研究にかかる研究進捗と今後の計画」、ドームふじアイスコアコンソーティウム年次研究集会 2012 年 3 月 21 日 (水) 国立極地研究所

53. 藤田秀二「誘電率テンソルをなかだちにした南極フィルン層位構造の研究」、シンポジウム「ドームふじコアを用いた新しい古環境復元法」(12月13日(火)-15日(木)北海道大学 低温科学研究所)
54. 馬場知哉、阿部貴志、豊田敦、藤山秋佐夫、伊村智、神田啓史、本山秀明、仁木宏典、南極大陸 *Pseudomonas* 属細菌のゲノム特性、第6回日本ゲノム微生物学会年会、東京、3/10, 2012
55. 本山秀明、ドームふじ氷床コア研究プロジェクトメンバー: ドームふじ氷床コア解析による過去72万年間の気候・環境要素の相関について. 雪氷研究大会(2011・長岡)、ハイブ長岡(長岡産業交流会館)、長岡市、2011年9月20日~22日.
56. 本山秀明、ドームふじ氷床コア研究プロジェクトメンバー: ドームふじ氷床コア研究の進捗概要. 極域科学シンポジウム、国立極地研究所、立川市、2011年11月14日~18日.
57. 本山秀明、新堀邦夫、倉元隆之、飯塚芳徳、三宅隆之、平林幹啓、的場澄人: ドームふじ深層掘削孔検層観測と氷床底面状態. 雪氷研究大会(2011・長岡)、ハイブ長岡(長岡産業交流会館)、長岡市、2011年9月20日~22日.
58. 本山秀明、新堀邦夫、倉元隆之、飯塚芳徳、三宅隆之、平林幹啓、的場澄人: ドームふじ深層掘削孔検層観測と氷床底面状態について. 極域科学シンポジウム、国立極地研究所、立川市、2011年11月14日~18日.
59. 本山秀明、鈴木香寿恵、福井幸太郎、倉元隆之、山内恭、藤田秀二、川村賢二: 東南極氷床の表面質量収支その二 -2010年の場合-. 雪氷研究大会(2011・長岡)、ハイブ長岡(長岡産業交流会館)、長岡市、2011年9月20日~22日.
60. 本山秀明、鈴木香寿恵、福井幸太郎、倉元隆之、山内恭、藤田秀二、川村賢二: 東南極氷床の表面質量収支変動 -2010年の場合-. 極域気水圏シンポジウム、国立極地研究所、立川市、2011年11月14日~18日.

③ その他の成果発表  
特になし