

# 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 (地球・環境システム)

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] 研究プロジェクト

### (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、さらに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することで、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等、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を中心に研究を行う。

### (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。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、これまでの地球生命システムの多様化・進化と相互作用の関係解明の手がかりが解明されるとともに、今後の地球生命システムをシミュレートする上で必須の情報が得られてきた。これを核として、多くの大学等の研究者が参画することにより、新分野の創成が可能となるであろう。また、産業革命以後、地球環境は大きな変動をしており、昨今の地球温暖化の進行とこれに纏わる国際情勢は、人類、地球生命に対しての驚異となっている。地球の生命多様性や分布が、今後の地球環境の変動の中でどのように変動していくのかを、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明らかに出来る。今こそが、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、環境変動下における地球生命システム学という新しい領域を切り開くチャンスである。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、ポストーク湖をはじめとする氷床下湖(氷底湖)の掘削が実施され、まさにその成果が待たれている状況である。ロシアによるポストーク湖の掘削成功、イギリスによるエルスワース湖での失敗、アメリカによるウィランス・アイスストリームでの掘削成功と、各国に大きな動きがあった。一方、ドームふじ基地下には氷床下湖は無いが氷床底面の融解水が存在していて、我が国ではこれを採取している。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、一刻も早い、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、貴重な遺伝子資源の取得が期待される。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、多様な地球環境から南極に飛来した生物の過去数十万年前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のような微生物・ウイルスが存在し、どのような振る舞いをするのかについてはこれまで、ほとんど分かっていなかった。また、グリーンランド、ヨーロッパアルプス、南極半島、南極等からのアイスコアから時系列的に微生物・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 (Transdisciplinary Research 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をかかげるが、「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を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を基盤として、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であろう。

#### (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、特に微生物の無菌的検出・解析法である。これにより、現場で試料を無菌的に採取しその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、抽出、検出法、全菌数計数、特定遺伝子等による概略的な群集解析のみならず、一細胞からの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「極限環境での微生物・ウイルス検出」のテーマには依然として顕著な新規性が認められる。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手法から、次々に得られるデータを統合し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細胞からの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料として広く公開し、利用に供するシステムを構築するまでを視野に入れてい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、16S rRNA 遺伝子の解析はほぼ終了している。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、解析作業を開始した。
- ・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。南極大陸氷床下の極限環境に適応しているか、あるいは既に絶滅してしまった特殊な系統の遺骸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。開発は、微生物を 1 細胞毎に分取、ゲノム DNA の増幅、新型 DNA シーケンサーによる塩基配列の決定にまで至っている。
- ・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のバックグラウンドとして、昭和基地沿岸域の微生物について、16S/18S rRNA 遺伝子、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ため、この情報は必須である。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、これまでに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植物群集であるコケ坊主の解明は、単に分類・生態学的解明を超え、遺伝子解析による湖沼植物群集のマイ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。
- ・低緯度高山性氷河の古生態系解明としてのキルギスタンでのアイスコアの微生物解析において、植物・微生物の 16S/18S rRNA 遺伝子、ITS 解析と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および培養株の保存は、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、花粉の形態観察により分類群を同定し、過去の植生変遷・気候・環境を復元する手法である。本研究では氷河表層の積雪試料やアイスコアに含まれるマツ属花粉一粒ずつをもちいて、DNA 分析技術の開発を進めてきた。現在、従来の花粉分析では不可能であった種レベルでの同定や種内変異の検出が可能となった。
- ・南極半島、および亜南極に生息する南極線虫を、形態分類と 18S rRNA 配列情報による分子系統解析の二つの方法を用いて再分類した。
- ・南極線虫 *Panagrolaimus davidi* の大規模 RNA 解析、および全ゲノム解析を行い、この生物の持つ遺伝子セットの全容を解明した。
- ・乾燥・凍結に耐性を持つ南極クマムシ *Actuncus antarcticus* のゲノム解析を行い、ミトコンドリアの完全長ゲノムを完成させた。

## (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。国内での類似する研究には南極観測の湖沼生態系のプロジェクトである REGAL (Research on Ecology and Geohistory of Antarctic

Lakes) がある。さらに南極研究科学委員会 (SCAR) のワーキンググループである SALE (Subglacial Antarctic Lake Environments) ではロシア、ドイツ、ベルギー、アメリカなど 9 カ国が参加し、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してきた。ここでも、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されてきた。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。これらの動きの中で我が国のドームふじ基地での掘削は、氷床底部に湖がないという環境で特徴付けられており、このような環境での氷床コアの微生物解析では日本が最も進んでいるのが現状である。

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)、さらに我々のプログラム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の大きい極域を中心に、環境データの取得と微生物解析などについて研究を行う。

平成 22 年度と平成 23 年度は 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。その後研究チームを見直し、平成 24 年度以降は以下の 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。

#### 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って地球環境変動を復元し、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、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微生物・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。また、古環境復元と生物の変動についての新たな手法開発に着手する。

#### 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」

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。これまでに極域湖沼底のコケ坊主について行ってきた 16S/18S rRNA 遺伝子、及び、物質生産・物質循環に関与する酵素遺伝子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。

### 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を明らかにする。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 26 年度

(全 体)

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ってきた。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てきた。

平成 26 年度は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微生物・ウイルスなどを検出し、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。

### 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」

氷床コア研究については CFA 開発と連続分析をめざす。また論文出版を行う。氷床コア中の微生物研究は、アダプターライゲーション、PCR 法による増幅を行い、FACS から細胞採取、微量細胞からのメタゲノムを行う。なお、解析の障害になっている極地研クリーンルームのコンタミネーション問題を解決したい。花粉については、全ゲノム増幅法による DNA 分析技術を確立し、南極試料の分析に着手する。また花粉の全ゲノム増幅断片を次世代シーケンサーにより網羅的に解読し、種内多型解析を始める。

### 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」

これまでに得られた南極コケ坊主の共生生物相のメタゲノム情報から、物質生産・物質循環に関与する機能遺伝子群を特定し、コケ坊主生態系における物質循環構造の全貌を明らかにする。またグリーンランド氷床融解を促進するクリオコナイト粒とその発達プロセスについての研究を進める。

### サブテーマ3「極限生物の環境適応メカニズムと進化」

コケボウズ共生生物相のメタゲノム情報をさらに解析し、物質生産・物質循環に関与する機能遺伝子群を同定する。窒素固定菌については、コケ細胞に侵入している内生菌であるか否かを明らかにする。また、湖底堆積物などのコケ坊主周辺環境の生物相解析も並行して行い、コケ坊主を中心とした南極湖底生態系の生物多様性の全容を明らかにする。コケボウズから分離した細菌の 10 株について完全配列決定を行い、ゲノム情報解析による細菌間での大規模な遺伝子の水平伝播に関する全容解明を試みる。線虫の乾燥耐性では、その関連因子である LEA の生化学的解析、および *C. elegans* を用いた生体内での機能解析を行い、この因子の分子機能を明らかにする。

## 平成 27 年度

### (全 体)

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、これらを統合的に取りまとめ、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。

#### 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」

クリーンルームが修理されたらドームふじアイスコアの解析に再着手する。また、情報解析のパイプラインの構築をおこない、得られた塩基配列の解析をおこなう。南極アイスコア、氷河及び寒冷地サンプル群より採取された細菌叢のメタゲノム及びシアノバクテリア等の希少種の解析研究を論文にまとめる。極限環境下の様々な属性と特異的に相関する機能不明遺伝子群の検出及び機能推定法の開発を試みる。グリーンランド、カナック氷河でのクリオコナイト粒の形成、同地域の多地点の氷河でのクリオコナイト粒の次世代シーケンシングの遺伝子解析の結果と環境要因についての研究を論文にまとめる。これまでに得られているウガンダとコロンビアの氷河のバクテリア 16S rRNA の次世代シーケンスの結果を、氷河上生態から氷河周辺生態への遷移と関連させて論文にまとめる。南極氷床の広域で採取した表層雪試料をもちいて、それに含まれる二翼型花粉一粒ずつを WGA 法によって種同定する。そして、その植物種の分布域から起源を推定し、南極氷床への物質輸送の空間分布を明らかにし、論文にまとめる。中緯度山岳氷河で掘削されたアイスコアをもちいて、試料に含まれる花粉の全ゲノム増幅断片を次世代シーケンサーにより網羅的に解読し、気候変動に伴う植物種の変遷と特定種内の遺伝的多様性変化を解明し、論文にまとめる。

#### 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」

これまでに得られた南極コケ坊主の共生生物相のメタゲノム情報から、物質生産・物質循環に関与する機能遺伝子群およびその発現を解析し、コケ坊主生態系における物質循環構造の全貌を明らかにする。また氷床上、氷床下の生物相とその機能についての研究を進める。また極限環境下の生物相の起源について、解析を進める。

#### サブテーマ 3 「極限生物の環境適応メカニズムと進化」

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

コケボウズ共生生物相のメタゲノム情報をさらに解析し、物質生産・物質循環に関与する機能遺伝子群を同定する。コケの内生菌として分離した細菌および真菌について、それらの機能遺伝子の解析を行う。また、湖底堆積物などのコケ坊主周辺環境の生物相解析も並行して行い、コケ坊主を中心とした南極湖底生態系の生物多様性の全容を明らかにする。コケボウズから分離した細菌の 12 株について完全配列決定を行い、ゲノム情報解析による細菌間での大規模な遺伝子の水平伝播に関する全容解明を試みる。また、低温あるいは貧栄養条件下での遺伝子の発現解析や遺伝子の破壊など分子遺伝学的な実験解析を行い、細菌の南極環境への適応メカニズムの解明に取り組む。南極微小動物の研究においては、まず、南極線虫に対して行った伝統的な形態分類と 18S rRNA 配列情報を用いた分子系統解析の両面からの解析の結果をまとめる。また、乾燥・凍結に耐性を持つ南極クマムシ *Actuncus antarcticus* のゲノムの解析を行い、ドラフト配列の段階での発表を行う。

### [3] 研究推進・実施体制

・研究代表者、副研究代表者

[国立極地研究所]

本山秀明、伊村 智

・共同研究者

[国立極地研究所]

東久美子、藤田秀二、工藤 栄、内田雅己、川村賢二、  
三浦英樹、菅沼悠介、神田啓史、福地光男

[国立遺伝学研究所]

小原雄治、仁木宏典、斎藤成也、菅原秀明、豊田 敦、  
中井亮佑

[国立遺伝学研究所・国立情報学研究所]

藤山秋佐夫

[国立情報学研究所]

佐藤真一

[統計数理研究所]

足立 淳、曹 纓

[新領域融合研究センター]

近藤伸二、瀬川高弘、植竹 淳、中澤文男、馬場知哉、  
柳原克彦、鹿児島浩

[北海道大学]

福井 学、的場澄人、飯塚芳徳、石井 聡

[慶應義塾大学]

鈴木 忠

[筑波大学]

川口敦史

[千葉大学]

竹内 望

[東京工業大学]

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

[長浜バイオ大学]

池村淑道

[新潟大学]

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

[琉球大学]

植村 立

[国立感染症研究所]

内藤忠相

[British Antarctic Survey]

Peter Convey, Rolf Maslen

[Otago University]

David Wharton

[復旦大学]

米澤隆弘

#### 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」

・研究代表者

[国立極地研究所]

本山秀明

・共同研究者

[国立極地研究所]

東久美子、藤田秀二、川村賢二

[国立遺伝学研究所]

小原雄治、仁木宏典

[国立遺伝学研究所・国立情報学研究所]

藤山秋佐夫

[新領域融合研究センター]

近藤伸二、瀬川高弘、植竹 淳、中澤文男、馬場知哉、  
柳原克彦

[北海道大学]

福井 学、的場澄人、飯塚芳徳、石井 聡

〔玉川大学〕	吉村義孝
〔東京工業大学〕	黒川 颯、本郷裕一
〔京都大学〕	幸島司郎
〔長浜バイオ大学〕	池村淑道
〔新潟大学〕	阿部貴志
〔筑波大学〕	川口敦史
〔千葉大学〕	竹内 望
〔琉球大学〕	植村 立
〔国立感染症研究所〕	内藤忠相

### 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」

#### ・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、内田雅己、神田啓史、三浦英樹、菅原悠介、福地光男
〔国立遺伝学研究所〕	小原雄治、中井亮佑
〔新領域融合研究センター〕	植竹 淳、瀬川高弘、中澤文男、鹿児島浩
〔京都大学〕	幸島司郎
〔広島大学〕	長沼 毅
〔北海道大学〕	福井 学
〔海洋研究開発機構〕	高野淑識
〔東京大学〕	金子 亮
〔慶應義塾大学〕	鈴木 忠

### サブテーマ3 「極限生物の環境適応メカニズムと進化」

#### ・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〕	小原雄治、豊田 敦、中井亮佑、菅原秀明
〔国立遺伝学研究所・国立情報学研究所〕	藤山秋佐夫
〔国立情報学研究所〕	佐藤真一
〔統計数理研究所〕	足立 淳、曹 纓
〔新領域融合研究センター〕	近藤伸二、瀬川高弘、馬場知哉、柳原克彦、鹿児島浩
〔新潟大学〕	阿部貴志
〔広島大学〕	長沼 毅
〔長浜バイオ大学〕	池村淑道
〔千葉大学〕	竹内 望
〔British Antarctic Survey〕	Peter Convey、Rolf Maslen
〔Otago University〕	David Wharton
〔復旦大学〕	米澤隆弘

## [4] 研究の進捗状況

平成 26 年度の研究の進捗状況をサブテーマ毎にまとめた。

### 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」

#### I) 氷床、氷河コアの総合解析による地球環境変動の解明

- ・ドームふじを含む南極内陸のアイスコア研究から、二酸化炭素濃度と南極の気温が概ね連動して変化していたことが従来から知られていたが、氷期開始期など二酸化炭素濃度の減少が気温の低下に比べて数千年以上遅れる時代があったことが指摘されていたが、その原因は不明である。本研究では、これらの時代のカルシウムイオン濃度を高精度で測定することにより、ダストを起源とするカルシウムイオンのフラックスの変動が、これらの時代に二酸化炭素濃度の変動と連動して変化していたことを明らかにした。
- ・雪氷コア連続自動融解・分注・分析システムの開発を継続し、新規の融解ヘッドを用いて融解・分析システムを安定して運用できる体制を整えた。平成 26 年度は自動融解装置に電気伝導度計、ダスト分析装置、メタンガス分析装置、水安定同位体分析装置、ICP 質量分析計に加えてブラックカーボン分析装置を接続し、汚染が混入しないようなシステムに変更した。更に、データ取得・一次解析ソフトウェアの開発を行った。

#### II) 南極アイスコア・氷河サンプル群より採取された細菌叢のメタゲノム及び単離された微生物のゲノム解析研究

古代試料から抽出した DNA 配列は断片化していたために、各種ネガティブコントロールおよびポジティブコントロールを用いた予備的な実験をおこない、コンタミネーションを抑えた DNA 解析のプロトコルの確立や、古代試料からの DNA ライブラリー構築に優れた Ancient illumina sequencing library 法を用いてゲノムライブラリー作成をおこなった。確立した手法でゲノムライブラリーを作成し、ハイスループットシーケンサーで塩基配列の取得をおこなった。昨年度まで近藤特任准教授が提唱していたノイズと彼が読んでいる配列の由来は把握できていないが、新しい手法ではバックグラウンド、コンタミネーション配列などは極力低く抑えられ、検出限界以下である。また、ハイスループットシーケンサーにて、マルチプレックスランをおこなうと、少量の配列が、別のインデックスとして誤認識されることがわかった。これは古代 DNA という短い塩基配列に特徴的な事であるかどうかは判断できないが、マルチプレックスでのシーケンスを控えることで、より信頼性が高いデータを算出できる事が分かった。

メタゲノム配列の全リード配列に対して相同性検索 (Blast) をおこないターゲットの遺伝子配列由来と考えられるリード抽出や微生物群の系統推定、遺伝子群の機能を解析するパイプラインを構築した。氷床下から得られたメタゲノム配列を解析した結果、シアノバクテリアを含む各種バクテリアおよびアーキアなどが検出され、ドームふじ基地から得られた南極氷床下試料には多様な微生物群が存在している事が明らかになった。このシアノバクテリア、およびアーキアは、これまでの分析結果とは高い相同性を示さず、現在調べられている南極の雪氷、土壌、湖沼等の環境には生息していないことが分かった。特にアーキア群の 16S rRNA 配列は、NCBI の全塩基データベースと照合しても unculture バクテリアを含む微生物配列と 94%未満であった。同細菌群は既知のものとは大きく異なる配列を持つことから、これは南極氷床下などの極限環境に適応している特異な系統であることが示唆された。現在、極限環境下におけるこれらの微生物種の機能解析を進めている。

### III) シアノバクテリアをターゲットとしたメタゲノムデータ中希少種の配列を効率的に抽出する解析法の開発

メタゲノムデータ中典型的に 0.1%に満たない比率を占める希少種であるシアノバクテリア種由来の配列を効率的に抽出し、種分布・遺伝子機能を解析する解析法を DDBJ スーパーコンピュータ上で構築し、南極アイスコア・氷河の異なる深度から採取されたサンプル群より採取された細菌叢のゲノム DNA を ILLUMINA HISEQ シークエンサを用いて得られた大量の DNA 配列を同解析法を用いて解析し、シアノバクテリアを中心に存在する細菌種の同定、ゲノム上にコードされている遺伝子群の決定、それら遺伝子群の機能解析を行った。これら配列データには DNA 抽出、シークエンサに使われる試薬類、実験者及び空気中から混入するノイズの影響が極めて大きく、下記 3 の公開されている寒冷地のメタゲノムデータ及び最近公開された試薬のみによるシークエンサデータを使い、それらノイズ源の同定・除去手法を開発・改良中である。解析パイプライン、解析結果の一部については、それぞれ、遺伝研スーパーコンピュータユーザー会、USM Center for Chemical Biology's Workshop on Metagenomics にて報告した。

### IV) 極限環境下から採取されたメタゲノムデータ群のシアノバクテリア種の解析

上の解析法を用いて南極アイスコア、公開されている複数寒冷地 (アラスカ永久凍土、欧州氷河等)、及び海洋、温帯・熱帯土壌、地下鍾乳洞のシアノバクテリア種の配列を同定し、細菌種及び遺伝子機能分布、それらを規定する環境要因との相関関係の解析中である。

### V) DNA が希少な環境から採られたメタゲノムデータ群を基にしたシークエンサノイズの解析

公開されている南極地底湖及び掘削過程で湧き出る水から採られたノイズを含む配列データ、及び試薬だけを用いて産出した仮想メタゲノムデータを用いてノイズとして検出される細菌種の同定を行った。結果として、南極地底湖及び掘削過程で湧き出る水から採られたサンプルではシアノバクテリア種の明確な検出はなく、試薬だけを用いて産出した仮想メタゲノムデータからは数は少ないものの、複数のシアノバクテリア種が検出された。これらの結果を基に、上の 1、2 で検出されたシアノバクテリア種の検証を行っている。また、試薬だけを用いて産出した仮想メタゲノムデータから得たノイズ細菌種群の解析結果を基にメタゲノムデータ一般のノイズの量を推定する手法を開発中である。

### VI) ハイブリッドマウスの遺伝子発現及びクロマチン免疫沈降データ解析法の開発

2 亜種間の混血マウスの父方・母方のゲノム上で異なる発現を示す遺伝子群及びそれらを制御するクロマチンの状態を解析する為に次世代シークエンサを用いて産出したシークエンサデータの解析用ソフトウェア群を開発し、実際の配列データを同解析手法を用いて解析した。

遺伝研・城石俊彦教授及び高知大・清澤秀孔准教授の研究グループが行っているハイブリッドマウスのゲノム上の遺伝子発現制御機構に関する研究において、前年度に開発していた次世代シークエンサによる大規模 RNA 配列データを遺伝研スーパーコンピュータ上で処理・解析する解析パイプラインを改良しつつ、ES 細胞、肝臓・脳より採られたサンプル群に於いて同定したインプリント及びマウス種特異的発現遺伝子群の機能解析を行った。同解析パイプライン及び解析結果は第 61 回実験動物学会総会、日本 RNA 学会、日本分子生物学会にて報告した。

### VII) 単離された種のゲノム及び遺伝子 (RNA) 解析法の開発、同手法を使った解析

- ・単離されたバクテリア種のゲノム配列データをアセンブルし、同アセンブルしたゲノム上で遺伝子群を同定し、データベース上の遺伝子配列群と比較し遺伝子機能付けを行い、且つ同種の遺伝子配

列データを基に各遺伝子の発現値を算出する解析法を構築し、京都府立大学・牛田教授のゴリラの腸内に生息するビフィズス菌2種のゲノム配列を再構成し、同ゲノム上の遺伝子発現分布を算出した。

- ・新種のコケゲノムの配列データをアセンブルし、同アセンブルしたゲノム上で遺伝子群を同定し、データベース上の遺伝子配列群と比較し、遺伝子機能付けを行う解析法を構築し、植竹研究員が採取した配列データを解析した。結果として、90%以上の配列がターゲットのコケではなく共生している細菌群由来であることが判明した。
- ・未だゲノム配列が存在しない鳥の遺伝子群の発現を遺伝子（RNA）配列データを使い推定する解析法を開発し、生物グループ高橋准教授から提供されたき鷯の筋肉サンプルより採取された RNA 配列データを解析した。SEEDs 予算で採択された本課題で、鷯の筋肉サンプル 2 種（遅・速筋）から RNA を抽出・シーケンスし、発現している遺伝子群を同定し比較機能解析を行った。第一次解析結果は SEEDs 報告会にて報告した。

#### VIII) コオリミミズの腸内細菌群集構造の解明

アラスカの氷河生態系解明の一環として、同氷河の優占的動物種であるコオリミミズ (*Mesenchytraeus solifugas*) の腸内細菌群集構造の解明を試みた。環形動物は土壌、海底、陸水など様々な環境で重要な分解者として存在し、その有機物消化能力の大部分は、環境から取り込んだ微生物群集が担うとされている。コオリミミズ腸内は養分が集積しているためか、周囲の氷河環境に較べてはるかに高い密度で細菌が存在し、細菌分類の指標である 16S rRNA 遺伝子配列に基づく解析では、群集の構成員の多くは氷河由来細菌種であることを明らかにした。同ミミズが氷河という極限環境に適応進化する過程で、好冷性の種群を腸内細菌として利用するようになったことが示唆された。

#### IX) クリオコナイト粒の形成とその環境要因

クリオコナイト粒は様々な雪氷微生物の生息環境として知られ、氷河表面に集積するとアルベドを低下し、氷河の融解を促進させる事が知られている。グリーンランド、カナック地域の氷河から採取したクリオコナイト粒のバクテリア 16S rRNA 遺伝子の次世代アンプリコンシーケンスの結果、直径が小さいクリオコナイト粒 ( $\Phi 30\text{--}249\ \mu\text{m}$ ) と直径の大きなもの ( $\Phi 250$  以上) では、炭素の含有量とバクテリア叢が全く異なることが示された。大きなクリオコナイトでは、糸状シアノバクテリアが約 4 割の比率を占めていた。この糸状のシアノバクテリアの 9.5 割以上が *Phormidesmis pristleyi* に属する一つの OTU で占められており、小さいものから大きく変化する過程での *Phormidesmis pristleyi* の成長が、クリオコナイトの肥大化に大きく貢献していることが示された。またクリオコナイト粒が多く分布する場所では、氷河表面上に多くの鉱物粒子が存在しており、この種の生育に鉱物粒子が関連している可能性があることがわかった。またクリオコナイト粒からは、次世代アンプリコンシーケンスの解析の結果、最も優占していた *Phormidesmis pristleyi* と遺伝的に同一の菌株の大量培養に成功した。そのため培養条件を変化させることで各種環境要因に対する生理的な応答を調べる事が可能となった。

#### X) 全ゲノム増幅法をもちいた南極氷床に飛来する花粉一粒ずつの起源推定

平成 26 年度は、全ゲノム増幅 (WGA) 反応のルーチン化に向けて反応条件や反応試薬類の検討を重ねてきた。そして、氷河中の花粉一粒ずつを WGA 法により種同定するための技術を確認することができた。現在、南極の花粉を DNA 分析するための準備を進めている。南極で最も多く見つかる二翼型花粉であるが、本研究ではマツ属花粉の可能性が高いと考えているが、同じ形態を持つ花粉はマ

キ科花粉が唯一知られる。マキ科の分子系統解析に関する論文が 2011～2013 年に立て続けに出版され、それに伴い、マキ科の遺伝情報が DNA データバンクに多く登録された。したがって、南極で見つかる二翼型花粉がマツ属か、マキ科であるかを遺伝情報から識別することが可能になった。現在、収集したマキ科の遺伝情報を解析し、プライマーの設計・性能テストに取り組んでいる。南極花粉 DNA 分析と並行しながら、この作業を平成 27 年度前半には終了する予定である。

#### XI) 山岳アイスコア中の花粉一粒ずつの DNA 分析—遺伝情報を利用した古環境復元—

ロシア・アルタイ山脈にあるベルーハ氷河で掘削されたアイスコアをもちいて、そこに含まれる花粉一粒ずつを DNA 分析し、遺伝情報を利用した古環境復元の可能性をこれまで検討してきた。平成 26 年度は、氷河中の花粉一粒ずつを WGA 法により種同定するための技術を確認することができた。また、花粉一粒ずつの WGA 産物を、ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) と呼ばれるマイクロサテライト (ゲノム上に存在する、数塩基の単位配列の繰り返し配列) に挟まれた領域を PCR 増幅し、増幅された DNA 断片をパーソナル次世代シーケンサーで網羅的に解読し、多型解析を試みた。シベリアマツと同定された氷河中の花粉 6 粒について、多型の見られた 180 SNP 座の主成分分析をおこなったところ 3 つのグループに分けられた。これは、シベリアマツ内の多型 (母樹の違い等) を表していると考えられた。さらに、90 年前の花粉試料からも、開発した DNA 分析法から遺伝情報を取得することができた。

#### XII) 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は、極地での使用を想定し、低温 ( $-40^{\circ}\text{C}$ ) から高温 ( $85^{\circ}\text{C}$ ) の広い温度範囲で使用可能、防水・防塵構造、湖沼などの水中でも観察できるように、試料をステージに載せることなく試料をそのままの状態を観察可能、幅広い面積を観察するため X 軸・ $\theta$  軸・Z 軸装置駆動機構など、従来の蛍光顕微鏡には無い特徴を持っている。

昨年度までに、顕微鏡の設計、レーザーダイオードを用いた光源装置の製作、顕微鏡を収納する外筒、ダイクロイックミラーホイール、対物レンズ等を動かすための X 軸・ $\theta$  軸・Z 軸装置駆動機構を製作してきた。本年度は、これまで同様、元静岡大学・宮川厚夫氏の協力を得て、「励起・反射照明用コンデンサーと鏡筒部」の部品を設計・製作した (図 1)。鏡筒部部品は 2 つあり (図 2(a))、それぞれ、対物レンズ、ダイクロイックミラーホイール、励起・反射照明用コンデンサーを取り付けるもの (図 2(a)左) と、蛍光フィルターを取り付けるもの (図 2 (a)右) である。図 2 (b)は、「励起・反射照明用コンデンサー」を鏡筒部部品に取り付けた写真である。このコンデンサー部は、光源からの光を集光させるためのレンズ等を格納し、観察する視野の直径 0.93mm の範囲を励起照明する。そして、X 軸・ $\theta$  軸・Z 軸装置駆動機構により、試料面に対して直径 64.0 mm の円内の任意の位置に、対物レンズと一緒に移動する。

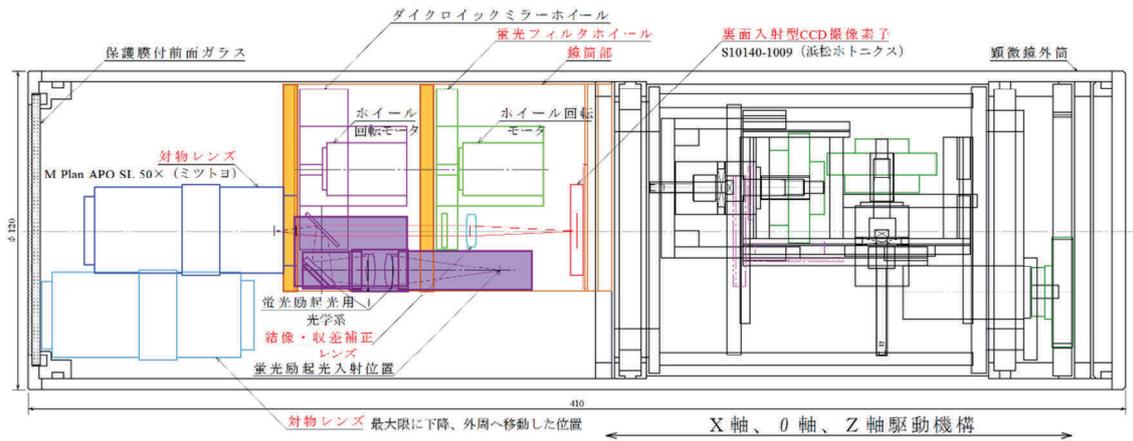
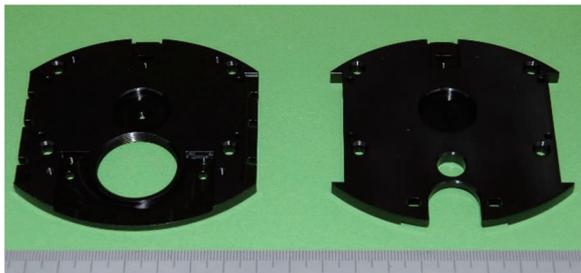


図1 本顕微鏡の構造概念図。本年度は、鏡筒部部品(図中のオレンジ色部分)と励起・反射照明用コンデンサー(紫色部分)を製作した。

(a)



(b)



図2 鏡筒部部品。対物レンズ、ダイクロイックミラー、励起・反射照明用コンデンサーを取り付けるもの((a)左)と、蛍光フィルターを取り付けるもの((a)右)の2つあり、(b)は励起・反射照明用コンデンサーを取り付けた写真である。

## 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」

### I) ウガンダ・ルウェンゾリ山の氷河上に分布する蘚類集塊の生態学的研究

ルウェンゾリ山氷河のスタンレープラトー上での観測調査を行い、この氷河の表面に楕円形をした黒色の有機物塊が多く分布していることを発見した。有機物塊の平均の大きさは、長径 18.7mm、短径 12.7mm、厚さ 8.3mm、重量 1.6g であった。氷河上の有機物塊としては、これまでにクリオコナイト粒というシアノバクテリアを中心とする集合体が報告されているが、クリオコナイト粒の大きさは 0.2–2.0mm 程度であり、今回発見した有機物塊はクリオコナイト粒とは明らかに異なる、新しいものであった。

顕微鏡観察の結果、有機物塊は主にコケ植物の原糸体とその上に形成された大量の無性芽により構成されていることが分かり、この有機物塊を氷河コケ無性芽集合体 (glacial moss gemmae aggregation: GMGA) と名付けた。GMGA 中のコケ無性芽は、

その形態的な特徴と遺伝子データベースと高い相同性を示したことから、南極でも報告されている蘚類の *Ceratodon purpureus* であると断定した。さらに、本種の生理的な情報を得るために、GMGA から培養したコケ原糸体 2 サンプルと GMGA そのものについて、培養温度を変化させて各温度における光合成活性を測定した。その結果、それぞれ 5°C の低温でも活性があるものの、至適光合成温度は 20–30°C であり、南極で報告された同種の至適温度よりも高いことがわかった。

通常、氷河の表面は融解期でも 0°C に近い温度であるが、現地の GMGA の内部温度は日中に 8–10°C まで上昇していた。これは GMGA の構造が十分に厚いことにより、氷河からの冷気を遮断し、日射で吸収した熱を保持しやすくなったためであると考えられる。また、年間を通して気温の日周変化が 0°C から 5°C で安定し、長期の凍結期間がない熱帯の気象条件などが、これまで他地域では観察されなかった本種の氷河上への侵入に貢献したのではないかと推測された。一方で、本種がコケ植物の生活環の主体である茎葉体を形成せずに原糸体やその上の無性芽といった状態に留まっている一因は、氷河上の低温と強い日射による環境ストレスではないかと推測できる。

今回氷河上で発見された GMGA は、氷河が融けて後退したばかりの植生のない岩の上でも、乾燥した状態で多数発見された。この乾燥した GMGA には、氷河上には存在していなかった他の蘚類 (*Bryum* sp.) が優占しており、氷河に削られたばかりで植生の全くない岩の上にいち早く土壌様の物質を形成していた。この事は、GMGA を中心とした氷河上の生態系が、その周辺の生態系と直接的に結びつき、熱帯高山植生にも強い影響を与えていることを示唆している。



図1 ルウェンゾリ山(ウガンダ共和国)

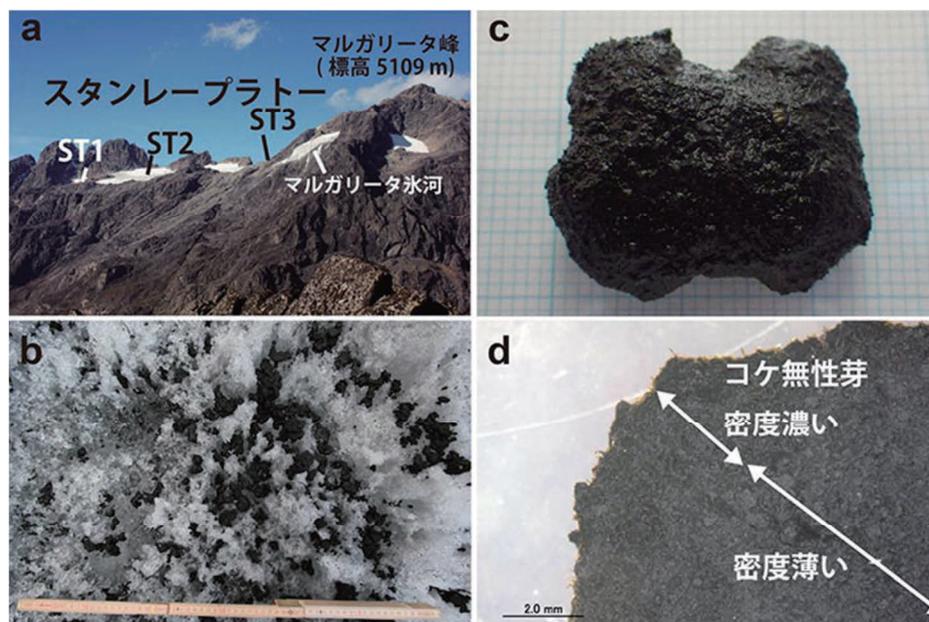


図 2 a: 調査地スタンレープラトール(氷河)とルエンゾリ山最高峰のマルガリータ峰、b: 氷河表面を覆う黒色の氷河コケ無性芽集合体(ST1 地点)。下のベージュ色のメジャーは長さ 62cm、c: 氷河コケ無性芽集合体(背景のグリッド1mm)、d: 氷河コケ無性芽集合体の断面図、表面付近に無性芽が多く分布している。

## II) 南極氷河湖における完新世の地史的背景と生物地球化学プロセス

南極氷床下の水-鉱物相互作用と氷河湖の生物地球化学的研究のうち、特に、氷床下の伏流水によるシリカ流入と基礎生産者のリンケージについて研究を進めた。南極氷床下には、基盤岩に接する氷の部分融解により液体の水 (subglacial meltwater) が存在することがある。そのような氷床下の水は、地底湖を形成するほか、一部は伏流水となり、水脈に沿い、大陸縁辺部に向かって流れてゆく (e.g., Wingham et al., Nature, 2006)。氷床下の水脈は、基盤岩との物理的削剥や化学的な水-鉱物相互作用 (subglacial weathering) を経て、無機態の炭素 (relic  $^{14}\text{C}$ ) のほか、窒素、鉄、シリカ等の栄養塩をわずかに供給・運搬する。氷床下の伏流水の恩恵を受けるのが、氷床縁辺部の基礎生産者である。

南極全体の約 1%程度は、完新世の氷床後退により、かつて氷床に覆われていた場所が露岩域となっている。そのような氷床縁辺部には、かつての氷食作用の形跡が見られる他、氷河性の湖沼が存在する。では、水の収支や物理・化学的特徴が、そこに棲息している(棲息してきた)基礎生産者にどのような影響を与え、全体の微生物相は、どのように応答しているのだろうか。これまで、基礎的な記載が非常に少なかったため、我々は、東南極氷床のルンドボークスヘッダ地域の氷床縁辺部にある氷河湖を対象に、完新世の地史的背景と生物地球化学プロセスの記載を行った。永年的な氷に被覆された湖底には、少なくとも約 6000 年前から微細な氷河性碎屑物の堆積作用が始まっていた。初生的な基礎生産者は、同時期の海成湖沼 (Lake Skallen : Takano et al., Appl. Geochem., 2012) でも観察された珪藻 (*Chaetoceros*) であることが分かった。その後、氷床後退に伴うアイソスタティックリバウンドによる隆起と離水の後にも基礎生産者は、*Chaetoceros* に近縁な種が卓越しており、離水後に基礎生産者が、大気  $\text{CO}_2$  (modern  $^{14}\text{C}$ ) と大気  $\text{N}_2$  に依存したシアノバクテリアに変遷するスカーレン地域とは、対照的な結果となった。ルンドボークスヘッダでは、無機態の炭素 (relic  $^{14}\text{C}$ ) を含む、氷床下の伏流水 (窒素、シリカ等) に依存した独特の生態系を形成していることが明らかになった。

### III) 南極産地衣類共生微生物相の解析

地衣類は極地の陸上環境で最も優勢な共生生物として知られるが、地衣を構成する菌類や藻類の組成は概ね既知であるのに対して、共生細菌種に関する知見は不足している。また、コケ坊主共生細菌相との比較は、南極環境に成立する生態系の構造と機能に関する理解を深めることに繋がると期待される。昨年度、第52次南極地域観測隊夏隊によって昭和基地周辺露岩域の4地点（椿池、浴池、スカーレン大池、および雪鳥沢）で採取された地衣類（菌類と藻類はそれぞれ *Umbilicaria yunnana* と *Trebouxia asymmetrica*）を用いて、16S rRNA 遺伝子に基づく細菌群集構造解析を行った。本年度は、北極圏のスピッツベルゲン島とウガンダのルウェンゾリ山で採取された地衣類について同様の解析を行い、昨年度までの結果と比較した。その結果、共生細菌相は予想以上に多様であり、 $\alpha$ -proteobacteria や  $\gamma$ -proteobacteria が優勢な地衣がある一方で、*Sphingobacteriales* が優勢なものもあり、採取地点間で差異があることが分かった（下図）。特に、ルウェンゾリ山産の地衣類では、Acidobacteria に帰属する塩基配列が優勢な特徴が見出された。この配列は、フィンランドの室内塵（ハウスダスト）から得られた未培養の環境配列 clone BF0002B080 (AM697130) やハワイのキラウエア火山の噴出物から取得された clone B20 (FJ466061) に高い配列相同性（96.4~98.0%）を示しており、近縁グループの全地球的な分布が示唆される。また、各試料からは窒素固定細菌や化学合成独立栄養細菌に近縁な配列も検出されており、地衣類の強い生活力の一側面は、細菌の生物地球化学的な過程によって支えられていることも窺われた。最終年度である来年度は、試料採取地点の地理的距離と細菌種の遺伝的距離を考慮した系統地理学的解析を進める。

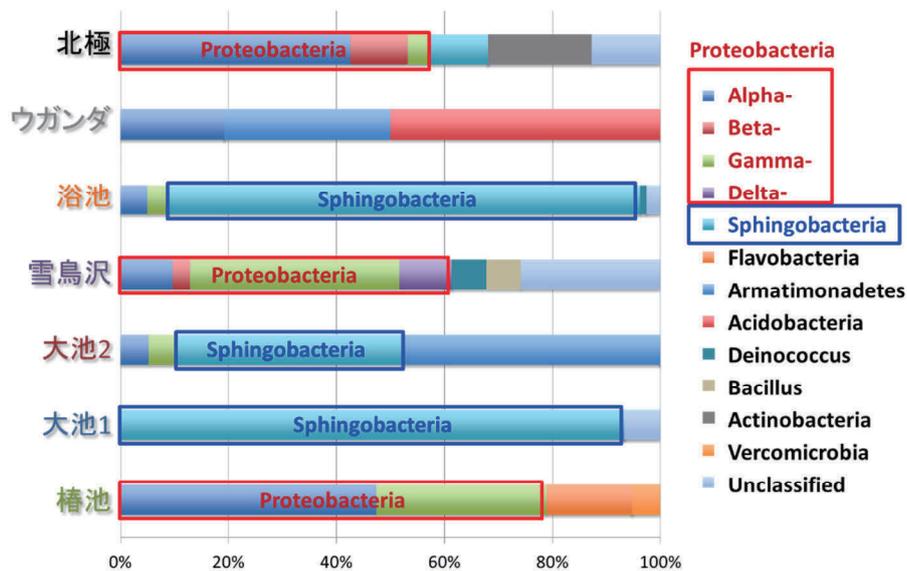


図 北極・ウガンダ・南極における地衣類共生細菌の系統と多様性

### IV) 南極産線虫類の分子系統学的解析

国立極地研究所、および英国南極研究所との共同研究により南極半島周辺の島嶼からの線虫を収集し、形態分類、および分子系統解析を行った。これにより南極線虫 146 個体から 18S rRNA 配列の情報を得ることに成功した。

サブテーマ3 「極限生物の環境適応メカニズムと進化」

I) 南極コケ坊主生態系の構成と物質循環モデル

昨年度までの研究により、コケ坊主共生生物相の 16S/18S rRNA 遺伝子、および二酸化炭素固定酵素、窒素固定酵素、脱窒関連酵素等の機能遺伝子群の多様性が明らかとなった。その結果として、コケ坊主は外層と内層、頭頂部と底部といった部位ごとに異なる生物コミュニティを形成しながらも、これらが協調的に物質を循環させるモデルが構築された。昨年度、これまでの PCR クローン・ライブラリ法による微生物相解析では検出できなかった稀少種の網羅を目指し、コケ坊主内外上下の 6 部位からその共生生物相由来 16S rRNA 遺伝子の PCR 産物 (V3 および V4 領域の約 450bp) を作成し、Illumina MiSeq を用いてその塩基配列を決定した。本年度は、コケ坊主の直下堆積物およびその周辺の藻類堆積物についても同様の解析を進め、コケ坊主由来の配列データと併せて分子系統解析を行った。具体的な結果を以下に要約する。各サンプルにつき約 20 万件の配列を取得し、これらを相同性 97%以上の基準で (同種として扱って)、operational taxonomic unit (OTU) としてグルーピングしたところ、2232~3701 の範囲で OTU が形成された。これは、昨年度までにクローン・ライブラリ法によって特定した 564 の OTU (Nakai *et al.*, *Polar biology*, 2012) より多く、そのカバー率も 99.4%~99.6%の範囲であり、稀少種を含む微生物の系統情報を網羅した。各 OTU が帰属する細菌系統を網レベルで比較すると、コケ坊主の外層で藍藻 (シアノバクテリア) の Chroobacteria に帰属する OTU が特徴的に検出される一方で、その内層では Deltaproteobacteria および Phycisphaerae が準優占する等、内外層で異なる系統群が検出された (下図)。この傾向は、過去の PCR クローン・ライブラリ法による多様性解析の結果と整合した。また、UniFrac 距離に基づき細菌群集構造の類似度を比較したところ、コケ坊主周辺の藻類堆積物は外層の種構成と、その直下堆積物は内層のものとそれぞれ近接したクラスターを形成した (下図)。なお、古細菌由来の配列は各サンプルから 1~17 件の範囲で少ないながらも検出され、主に MCG や DHVE と呼ばれる未培養系統群に帰属した。

また本年度は、昨年度に取得した共生生物相のメタゲノム配列断片に対するアセンブル条件の最適化が完了した。現在、このアセンブルされたコンティグ配列の機能分類を進めており、最終年度である来年度は、上述した微生物相解析の結果と併せて、コケ坊主生態系における物質生産・循環の構造モデルを検証する。

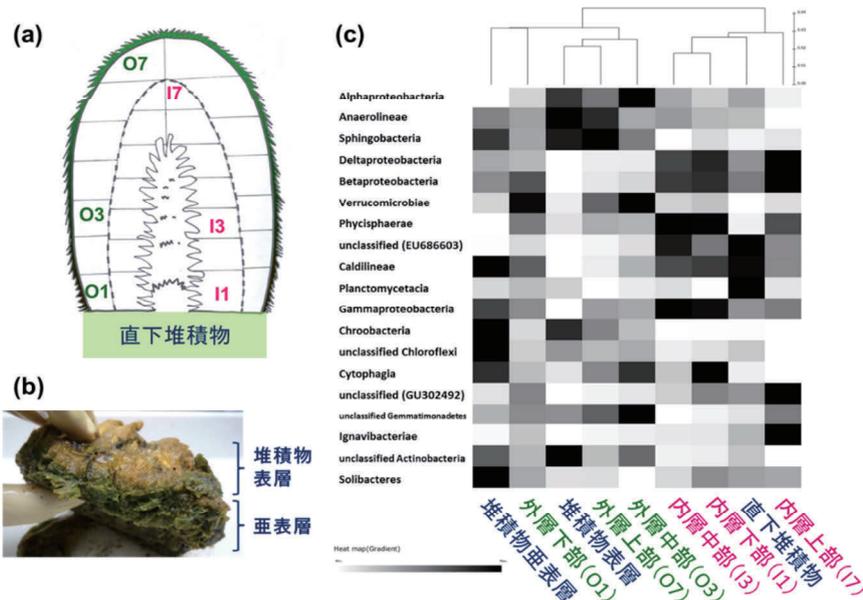


図 コケ坊主とその直下堆積物の模式図 (a)、コケ坊主周辺で採取された藻類堆積物の写真 (b)、コケ坊主とその周辺環境で優占する細菌系統群 (網レベルで分類) (c)

## II) コケ坊主生態系を構成する微生物のゲノム解析

昨年度までの研究により、東南極 Skarvsnes の仏池で採取されたコケ坊主試料より分離した 12 株の細菌のゲノム配列決定を行い、3 株 (*Pseudomonas* 属細菌 MP1 株、*Rhizobium* 属細菌 MP2 株、*Brevundimonas* 属細菌 MP3 株) で完全配列決定に至った。また、北極スピッツベルゲン島の湖沼から分離された 1 株 (*Pseudomonas* 属細菌 ArSA 株) についてもゲノム配列決定に取り組み概要配列が得られていた。今年度は、この *Pseudomonas* 属細菌 ArSA 株 (北極株) ゲノムの完全配列を決定し、先の *Pseudomonas* 属細菌 MP1 株 (南極株) の完全配列との比較解析を行うことで、両極における細菌の極域環境への適応メカニズムと進化に関する両極比較を行った。

図 1 に 16S rRNA 配列に基づいた *Pseudomonas* 属細菌 (ゲノム完全配列決定株) の系統関係を示す。*Pseudomonas* 属細菌はガンマ・プロテオバクテリア綱で *Azotobacter* 属細菌と共に *Pseudomonadaceae* 科を構成している。世界中に広く分布し、ヒト病原菌から土壌細菌、植物共生菌など生息環境は多岐に渡っている。*Pseudomonas* 属細菌の多くは 25~30°C を最適な生育温度としているが、ヒト病原菌や水田土壌から分離されたものは 35°C 以上であり、本研究の ArSA 株 (北極株) と MP1 株 (南極株) は共に 20°C 以下の低温環境に適した性質を示した。16S rRNA 配列に基づく系統解析からは、ArSA 株 (北極株) は *P. syringae*、MP1 株 (南極株) は *P. fluorescens* の各グループ種との近縁関係が示唆された。ArSA 株 (北極株) および MP1 株 (南極株) は、それぞれ北極および南極から分離された *Pseudomonas* 属細菌では世界で最初のゲノム完全配列決定株である。

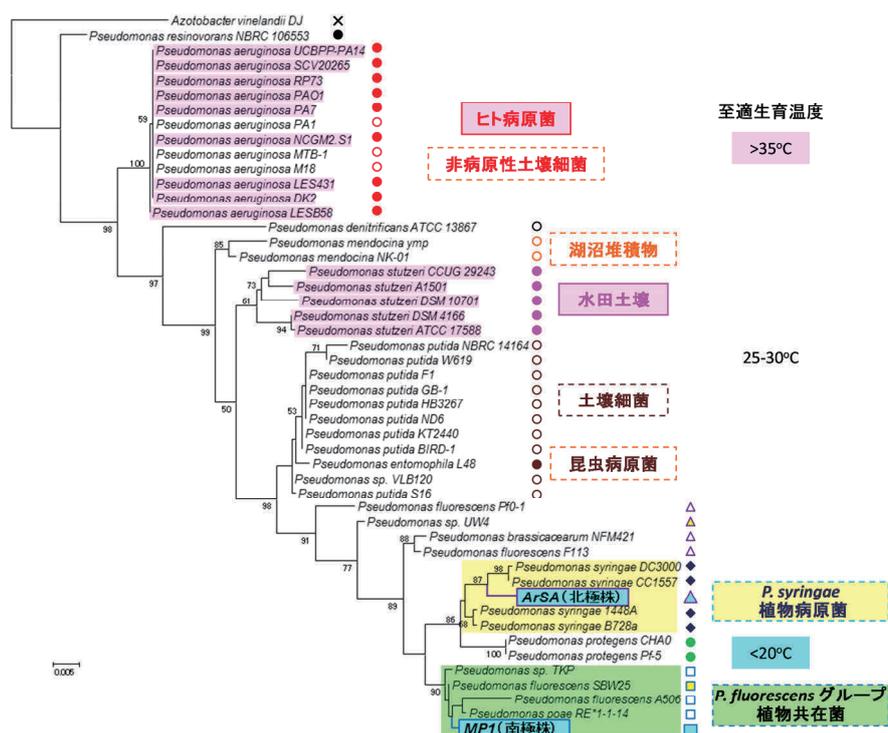


図 1 16S rRNA 配列に基づく *Pseudomonas* 属細菌 (ゲノム完全配列決定株) の系統図

完全配列決定された ArSA 株 (北極株) と MP1 株 (南極株) ゲノムの組成では、ArSA 株 (北極株) はプラスミドを持たず、ゲノム・サイズ、GC 組成、遺伝子数、tRNA 遺伝子数は MP1 株 (南極株) より小さめ (低め) であったが、rRNA オペロン (*rrn* 遺伝子) 数は逆に多いことが明らかとなった。図 2 に ArSA 株 (北極株) と MP1 株 (南極株) のゲノム構造の比較を示す。両株とも、約 50% の遺伝子は完全配列決定された全ての *Pseudomonas* 属細菌ゲノム間で共通に保存された遺伝子で構成さ

れ、約 40%の遺伝子は一部の *P. syringae* あるいは *P. fluorescens* の各グループ種のゲノム間で保存された遺伝子、さらに 4%の遺伝子はその他の一部の *Pseudomonas* 属細菌ゲノム間で保存された遺伝子、残りの 5%前後の遺伝子は他の *Pseudomonas* 属細菌ゲノムには無いユニークな遺伝子で構成されていた。

図 3 にゲノム上の遺伝子の保存性に基づいた *Pseudomonas* 属細菌の系統関係を示す。MP1 株 (南極株) では図 1 の 16S rRNA 配列に基づいた系統関係に準じた *P. fluorescens* グループ種との近縁関係が示唆されたが、ArSA 株 (北極株) は図 1 とは異なる近縁関係が示唆された。ArSA 株 (北極株) および MP1 株 (南極株) と各 *Pseudomonas* 属細菌との間での保存遺伝子数の解析から、ArSA 北極株グループ (ArSA 株との保存遺伝子が多い菌株)、MP1 南極株グループ (MP1 株との保存遺伝子が多い菌株) を仮定した。なお、MP1 南極株グループは図 1 の *P. fluorescens* グループ種と同じ菌株で構成されている。

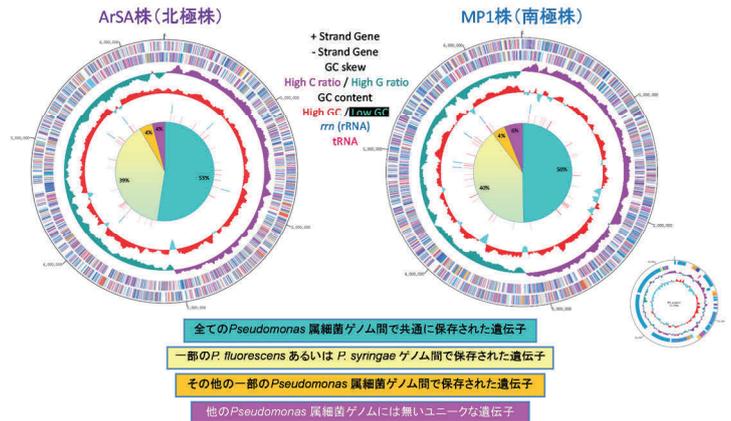


図 2 *Pseudomonas* 属細菌 ArSA (北極株) と MP1 株 (南極株) のゲノム構造

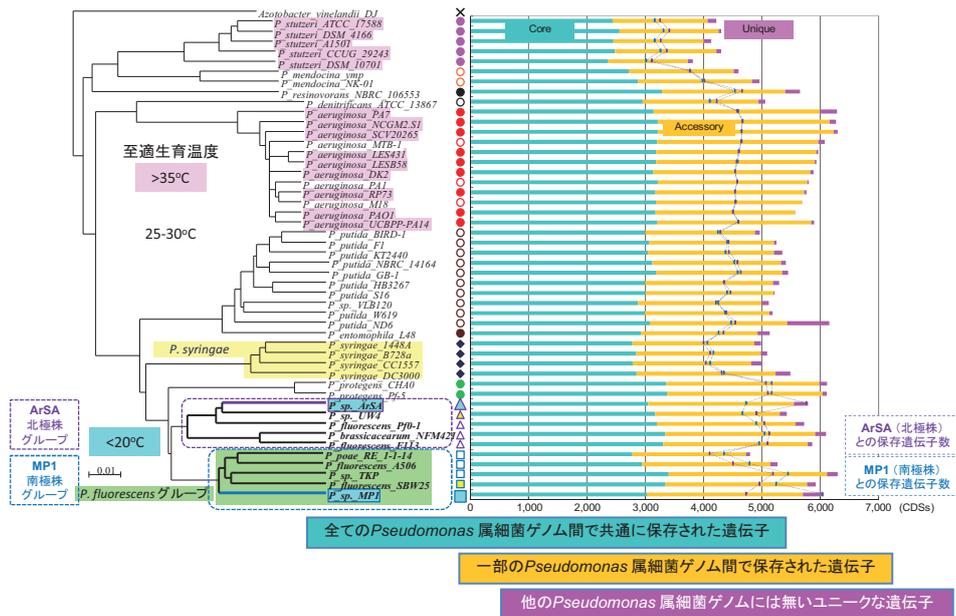


図 3 ゲノム上の遺伝子の保存性に基づく *Pseudomonas* 属細菌の系統図

図 4 に各 *Pseudomonas* 属細菌の最適な生育温度とゲノム GC 組成の関係を示す。全 *Pseudomonas* 属細菌のプロットに対する相関の線形近似直線を黒の実線で、その 95%信頼限界を黒の点線で示した (相関係数: 0.71)。各プロットはヒト病原菌、水田土壌など生育環境あるいは生物種によって区別される傾向が示された。ArSA 株 (北極株) と MP1 株 (南極株) のプロットは、この 95%信頼限界を示す黒の点線の領域の外に位置し、先に仮定した ArSA 北極株グループ ( $\Delta$ ) および MP1 南極株グループ ( $\square$ ) の各菌株のプロットに対する相関の線形近似直線を黒の実線で、その 95%信頼限界を点線で示した (MP1 南極株グループの結果のみを青で示した (相関係数: 0.94)、また、ArSA 北極株グループでも同様の結果であった (相関係数: 0.83))。これらの結果から、次のような仮説が考え

られた。地球上に現存する大陸が全て1つのパンゲア超大陸にまとまり、温暖な気候であった2億年前頃までに *Pseudomonas* 属細菌における初期の環境適応と種分化が生じた。具体的には、*Azotobacter* 属細菌との属分化と、その後の、土壌、湖沼堆積物、昆虫病原菌、植物共生菌、植物病原菌など、25~30度の生育温度域での環境適応と種分化が生じた。大陸移動により両極への地理的隔離が起こり、それぞれの環境で生物は低温化への適応進化を余儀なくされ、ArSA株(北極株)とMP1株(南極株)はそれぞれ異なる *Pseudomonas* 属細菌のグループ種からゲノムワイドでの適応進化を遂げ現在に至った。*Pseudomonas* 属細菌の適応進化としては、ヒト病原菌の病原因子および抗生物質耐性因子の獲得や、水田土壌菌におけるゲノム縮小と窒素固定遺伝子群の獲得、土壌細菌の産業廃棄物起源の難分解性物質の分解能の獲得などが人間社会との関係による適応進化として議論されているが、本研究は極域の極限環境に焦点を合わせることで、地球規模での環境変動と生物の環境適応に関する新たな知見をもたらすことができると考えられる。

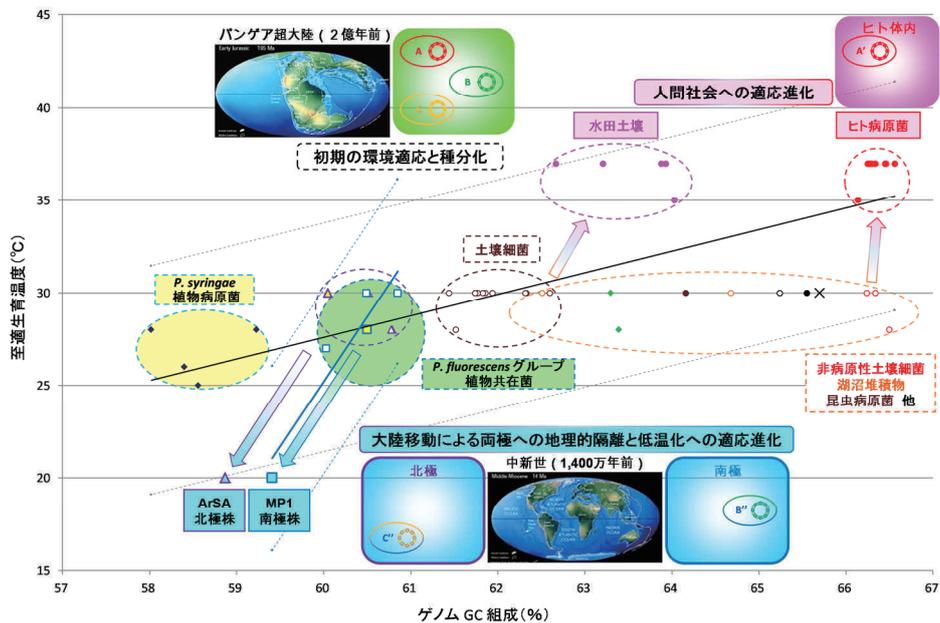


図4 *Pseudomonas*属細菌の生育温度とゲノムGC組成の関係(極域への適応の概念図)

各プロットの印は図1および図3の各菌株の印と対応

図5に全 *Pseudomonas* 属細菌と *Azotobacter* 属細菌 (*Azotobacter vinelandii* DJ株)について、それぞれの菌株の生育温度と、これら(全 *Pseudomonas* 属細菌と *A. vinelandii* DJ株)のゲノム上で高度に保存された1,235遺伝子の1stコドンのGC組成の関係を示す。図4と同様に、全 *Pseudomonas* 属細菌のプロットに対する相関の線形近似直線を黒の実線で、その95%信頼限界を黒の点線で示し(相関係数: 0.76)、ArSA北極株グループ(△)およびMP1南極株グループ(□)の各菌株のプロットに対する相関についても同様に示した(MP1南極株グループの結果のみを青で示した(相関係数: 0.84)、また、ArSA北極株グループでも同様の結果であった(相関係数: 0.85))。1stコドンのGC組成の変化はコードしているアミノ酸の変異に強く関係する。ArSA株(北極株)とMP1株(南極株)の1stコドンのGC組成は全 *Pseudomonas* 属細菌の中で最も低い値を示し、低温環境への適応進化の過程でアミノ酸配列の変異を伴う1stコドンへの選択圧の可能性が示唆された。具体的には、全 *Pseudomonas* 属細菌内では1stコドンのGC組成の変化に伴い20種のアミノ酸のうち14種で組成比が有意に(相関係数の絶対値が0.70以上)変動していた。*Pseudomonas* 属細菌内での1stコドンのGC組成の差は最大で4.1%に及ぶが、これは *Pseudomonas* 属細菌 (*P. resinovorans*

NBRC 106553 : ●) と *Azotobacter* 属細菌 (*A. vinelandii* DJ : ×) の属間の差 1.2% よりも大きく、広く環境に適応しながら種分化をしてきたことが示唆された。この 14 種のアミノ酸のうち、生育温度との相関 (相関係数の絶対値が 0.70 以上) が認められるものは 7 種であり、さらにその中で ArSA 北極株グループ (△) あるいは MP1 南極株グループ (□) 内で 1st コドンの GC 組成との相関が認められるものは 6 種であった。これらの 1st コドンの GC 組成の変化とコードしているアミノ酸の変異は、それぞれ ArSA 北極株グループ (△) および MP1 南極株グループ (□) 内で独立に生じた平行進化であると考えられるが、一部の遺伝子ではアミノ酸配列の類似性を相互に高める収斂 (しゅうれん) 的な進化の形跡が見られた。その一例を図 6 に示す。

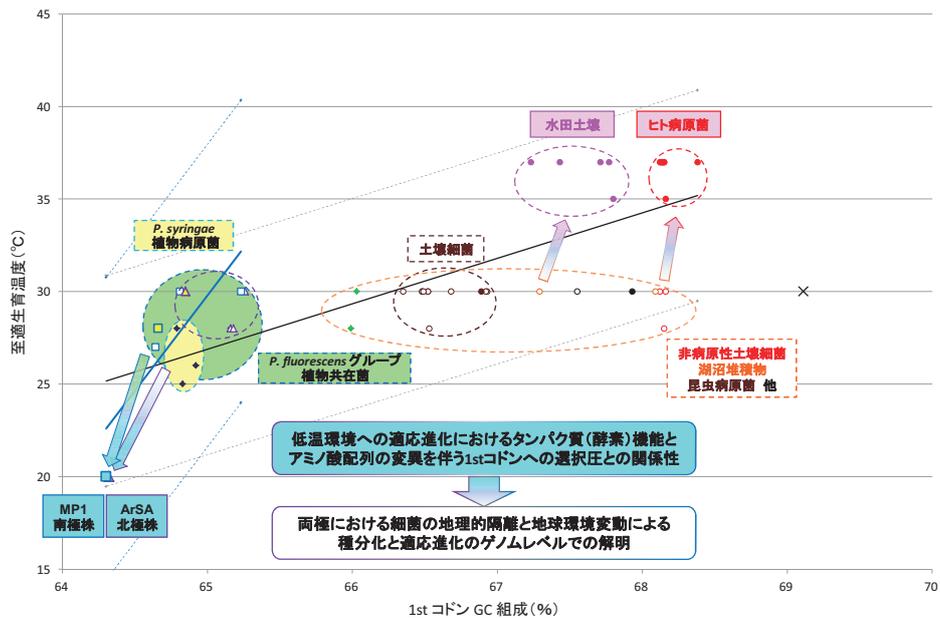


図5 *Pseudomonas*属細菌の生育温度と高度に保存された1,235遺伝子の1stコドンの関係  
各プロットの印は図1および図3の各菌株の印と対応

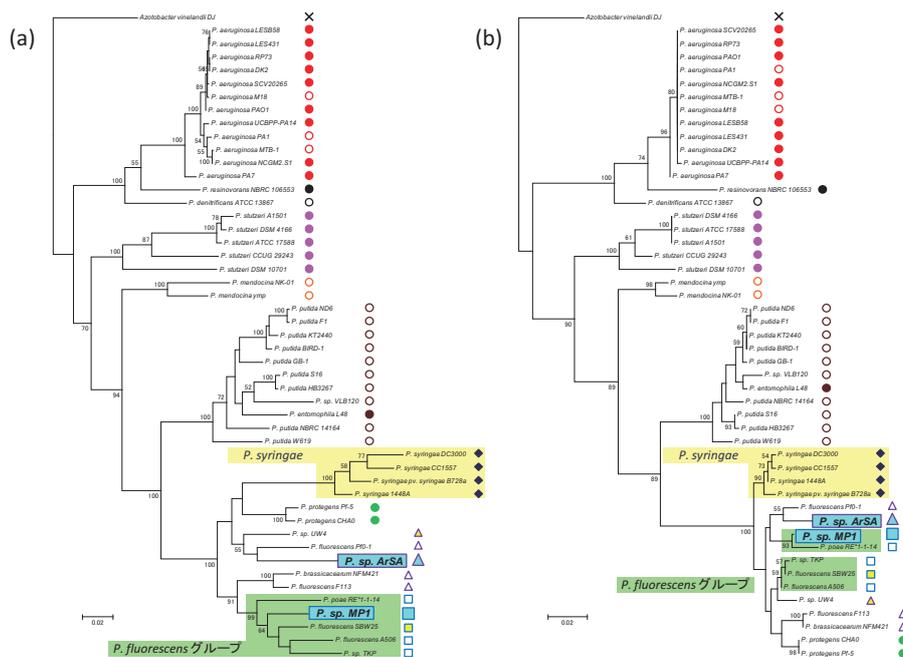


図6 *Pseudomonas*属細菌で高度に保存された $guaA$  (GMP synthase)遺伝子の系統図

(a) DNA配列、(b) アミノ酸配列を基に計算、各プロットの印は図1および図3の各菌株の印と対応

高度に保存された 1,235 遺伝子の 1 つにハウス・キーピング遺伝子の *guaA* (GMP synthase) 遺伝子がある。DNA 配列を基にした系統図では ArSA 株 (北極株) と MP1 株 (南極株) の遺伝子は、それぞれのグループ株の遺伝子群に帰属する系統関係を示すが、アミノ酸配列を基にした系統図ではこれらは互いに近縁な関係性を示した。これは 1st コドンの変異によるアミノ酸の変異がタンパク質 (酵素) の機能に影響を与え、それらは系統的に異なる遺伝子 (ゲノム) 上で、また、地理的にも隔離された両極において独立に生じたが、結果的に極域の低温環境への適応に合致したために固定化され現在に至った平行進化であり、*guaA* 遺伝子では収斂 (しゅうれん) 的な進化になったと考えられる。

今後は ArSA 株 (北極株) および MP1 株 (南極株) とそれぞれ保存された遺伝子が最も多い *Pseudomonas sp.* UW4 株および *P. fluorescens* SBW25 株 (図 3) との関係性を中心に、それぞれの祖先配列を推定し、祖先配列からのコドンの変化と、それによるアミノ酸配列の変化からタンパク質 (酵素) レベルでの低温環境への適応進化を考察し、地球環境変動による種分化と適応進化のゲノムレベルでの解明をめざしていく方針である。

### III) 南極線虫およびクマムシを用いた比較ゲノム解析—乾燥・凍結耐性遺伝子の探索—

英国南極研究所、およびニュージーランド、オタゴ大学との共同研究によって南極線虫 *Panagrolaimus davidi* の大規模 RNA 解析、および全ゲノム解析を行った。本解析により、乾燥耐性の候補遺伝子 LEA、凍結耐性の候補遺伝子 AFP、およびトレハロース代謝酵素、分子シャペロン、抗酸化酵素などのストレス耐性遺伝子の同定に成功した。

乾燥・凍結に耐性を持つ南極クマムシ *Actuncus antarcticus* のゲノム解析を開始した。平成 27 年度はゲノムの配列解析を進め、ドラフト配列の段階での発表を行う。現時点でミトコンドリア全長配列のアセンブルが完成している。

### IV) 南極産コケ植物の共生微生物の解析

コケボウズを構成するコケは、極貧栄養の南極湖沼に生育することから、生育に必要な栄養塩を共生微生物から得ているのではないかと考えられる。コケの生育には、必ずしもコケボウズという形態を必要としないことから、生育に必要な共生微生物はコケの内部あるいはすぐ近傍に存在することが考えられる。そこで、長池および仏池のコケボウズを材料に用いて、コケと共生関係にある微生物の同定を目標に、コケ細胞近傍の微生物群落の解析を行い、前年度までに窒素固定細菌や外生菌根菌と考えられる真菌を見出した。これらの微生物は両池のコケボウズコケから共通して分離されており、コケと強く結びついた微生物と言える。分離された細菌の一部のゲノムシーケンスを行い、窒素固定菌以外は寄生性であることが示唆された。この窒素固定菌は、水生植物に根粒を作る仲間に相同性が高く、窒素固定酵素を構成する *nif* 遺伝子群の一部、共生的窒素固定時の *nif* 遺伝子の発現制御に関わる *fix* 遺伝子群、窒素固定時に必要な嫌気状態を作る *mini-hemoglobin* 遺伝子群を持っていた一方、根粒形成に必要な *nodulation* 遺伝子群は持っていなかった。また、コケ細胞壁を分解できる *cellulase M*, *chitinase*, *glucosaminase* 遺伝子や、寒冷環境への適応に必要と考えられる *fish antifreeze type III* 遺伝子、光走行性に関わる *bacteriophytochrome* 遺伝子など、コケとの共生を示唆する複数の遺伝子を持っていた。また、コケを培養する際に貧栄養条件にした場合にのみ、原糸体の一部細胞の赤化及び、培地に赤色を呈する細菌が大量に出現した。これらはコケに付随していた窒素固定菌あるいは光合成細菌であると考えられ、今後この細菌の解析も行う予定である。

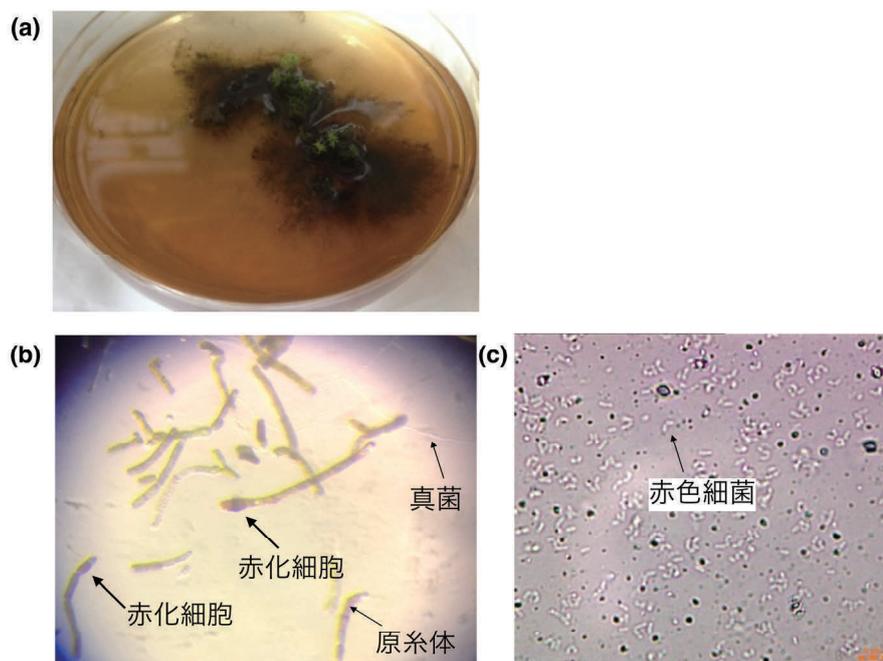


図 コケボウズコケ貧栄養培養 (a)培地の赤化現象、(b)培地中に浮遊する原糸体の一部細胞の赤化、(c)培地中に大量に発生した赤色細菌

## [5] 研究成果物

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」

### 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. Aoki, T., Matoba, S., Uetake, J., Takeuchi N., and Motoyama H., Field activities of the "Snow Impurity and Glacial Microbe effects on abrupt warming in the Arctic" (SIGMA) Project in Greenland in 2011–2013. Bull. Glaciol. Res., 32, doi: <http://dx.doi.org/10.5331/bgr.32.3>, 3-20, 2014.
2. Aoki, T., Matoba, S., Yamaguchi, S., Tanikawa, T., Niwano, M., Kuchiki, K., Adachi, K., Uetake, J., Motoyama, H., and Hori, M., Light-absorbing snow impurity concentrations measured on Northwest Greenland ice sheet in 2011 and 2012. Bull. Glaciol. Res., 32, doi: <http://dx.doi.org/10.5331/bgr.32.21>, 21-31, 2014.
3. Bentley, M.J., Cofaigh, C.O., Anderson, J.B., Conway, H., Davies, B., Graham, A.G.C., Hillenbrand, C-D., Hodgson, D.A., Jamieson, S.S.R., Larter, R.D., Mackintosh, A., Smith, J.A., Verleyen, E., Ackert, R.P., Bart, P.J., Berg, S., Brunstein, D., Canals, M., Colhoun, E.A., Crosta, X., Dickens, W.A., Domack, E., Dowdeswell, J.A., Dunbar, R., Ehrmann, W., Evans, J., Favier, V., Fink, D., Fogwill, C.J., Glasser, N.F., Gohl, K., Gollledge, N.R., Goodwin, I., Gore, D.B., Greenwood, S.L., Hall, B.L., Hall, K., Hedding, D.W., Hein, A.S., Hocking, E.P., Jakobsson, M., Johnson, J.S., Jomelli, V., Jones,

- R.S., Klages, J.P., Kristoffersen, Y., Kuhn, G., Leventer, A., Licht, K., Lilly, K., Lindow, J., Livingstone, S.J., Mass, G., McGlone, M.S., McKay, R.M., Melles, M., Miura, H., Mulvaney, R., Nel, W., Nitsche, F.O., O'Brien, P.E., Post, A.L., Roberts, S.J., Saunders, K.M., Selkirk, P.M., Simms, A.R., Spiegel, C., Stollendorf, T.D., Sugden, D.E., van der Putten, N., van Ommen, T., Verfaillie, D., Vyverman, W., Wagner, B., White, D.A., Witus, A.E., and Zwartz, D., A community-based geological reconstruction of Antarctic Ice Sheet deglaciation since the Last Glacial Maximum. *The RAISED Consortium, Quaternary Science Reviews*, 100 1-9, 2014.
4. Fujita, S., Hirabayashi, M., Goto-Azuma, K., Dallmayr, R., Satow, K., Zheng, J., and Dahl-Jensen D., Densification of layered firn of the ice sheet at NEEM, Greenland. *Journal of Glaciology*, 60(223): 905-921, 2014. doi: 10.3189/2014JoG14J006.
  5. Fujita, S., Parrenin, F., Severi, M., Motoyama, H., and Wolff, E., 2015. Volcanic synchronization of Dome Fuji and Dome C Antarctic deep ice cores over the past 216 kyr. *Clim. Past Discuss.*, 11(1): 407-445, 2015. <http://www.clim-past-discuss.net/11/407/2015/>
  6. 藤田秀二, 福井幸太郎, 中澤文男, 榎本浩之, 杉山慎, 藤井理行, 藤田耕史, 古川晶雄, 原圭一郎, 保科優, 五十嵐誠, 飯塚芳徳, 伊村智, 本山秀明, スーディクシルヴィアン, 植村立: 南極資料日本-スウェーデン共同南極トラバース 2007/2008 実施報告: I. 企画立案・事前準備と科学研究成果の概要 58(3), 352-392, 2014.
  7. 藤田秀二, 福井幸太郎, 中澤文男, 榎本浩之, 杉山慎: 日本-スウェーデン共同南極トラバース 2007/2008 実施報告: II. 現地調査活動報告. 南極資料, 59(1), 87-161, 2015.
  8. Han, Y., Huh, Y., Hong, S., Hur, S.D., and Motoyama, H., Evidence of air-snow mercury exchange recorded in the snowpack at Dome Fuji, Antarctica. *Geosciences Journal*, 18(1), 105-113, 2014, DOI 10.1007/s12303-013-0054-7.
  9. Hara, K., Nakazawa, F., Fujita, S., Fukui, K., Enomoto, H., and Sugiyama, S., Horizontal distributions of aerosol constituents and their mixing states in Antarctica during the JASE traverse. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 14(18), 10211-10230, 2014.
  10. Hoshina, Y., Fujita, K., Nakazawa, F., Iizuka, Y., Miyake, T., Hirabayashi, M., Kuramoto, T., Fujita, S., and Motoyama, H., Effect of accumulation rate on water stable isotopes of near-surface snow in inland Antarctica, *J. Geophys. Res. Atmos.*, 119, doi:10.1002/2013JD020771, 2014.
  11. Ishii, S., Kitamura, G., Segawa, T., Kobayashi, A., Miura, T., Sano, D., and Okabe, S., Microfluidic Quantitative PCR for Simultaneous Quantification of Multiple Viruses in Environmental Water Samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 80 (24), 7505-7511, 2014.
  12. Kazaoka, O., \*Suganuma, Y., Okada, M., Kameo, K., Head, M.J., Yoshida, T., Kameyama, S., Nirei, H., Aida, N., and Kumai, H., Stratigraphy of the Kazusa Group, Chiba Peninsula, Central Japan: an expanded and highly-resolved marine sedimentary record from the Lower and Middle Pleistocene, *Quaternary International*, in press. \*責任著者
  13. 近藤伸二 次世代シーケンサの現状と応用 (その 1) -配列の特徴、用途、ゲノム変異、ゲノムアセンブリ- *The LUNG perspectives* 2014 年、22 巻 (1), 82-89, 2014.
  14. 近藤伸二 次世代シーケンサの現状と応用 (その 2) -転写領域と転写制御領域の解析- *The LUNG perspectives* 2014 年、22 巻 (2), 98-106, 2014.
  15. Mackintosh, A.N. Verleyen, E. O'Brien, P.E. White, D.A. Jones, R.S. McKay, R. Dunbar, R. Gore, D.B. Fink, D. Post, A.L. Miura, H. Leventer, A. Godwin, I. Hodgson, D.A. Lilly, K. Crosta, X. Golledge, N.R. Wagner, B. Berg, S. van Ommen, T. Zwartz, D. Roberts, S.J. Vyverman, W. Masse, G.,

- Retreat history of the East Antarctic Ice Sheet since the Last Glacial Maximum. *Quaternary Science Reviews*, 100, 10 – 30, 2014.
16. Matoba, S., Yamasaki, T., Miyahara, M., and Motoyama, H., Spatial variations of  $^{18}\text{O}$  and ion species in the snowpack of the northwestern Greenland ice sheet. *Bull. Glaciol. Res.*, 32, doi:<http://dx.doi.org/10.5331/bgr.32.79>, 79-84, 2014.
  17. 三宅隆之, 植竹淳, 的場澄人 3, 坂井亜規子, 藤田耕史, 藤井理行, 姚檀棟, 中尾正義、中国西部・七一氷河における表面の雪と氷および降水の化学組成、*雪氷*、76(1), 3-17, 2014.
  18. 三宅隆之, 山田廣宣, 東久美子, 倉元隆之, 平林幹啓, 本山秀明, 極域雪氷試料におけるダスト濃度分析法の改良と試料保存過程によるダスト濃度への影響, *南極資料*, 58, 150-180, 2014.
  19. Miyake, F., Suzuki, A., Masuda, K., Horiuchi, K., Motoyama, H., Matsuzaki, H., Motizuki, Y., Takahashi, K., and Nakai Y., Cosmic ray event of AD 774-775 shown in quasi-annual  $^{10}\text{Be}$  data from the Antarctic Dome Fuji ice core. *Geophys. Res. Lett.*, 42, DOI: 10.1002/2014GL062218, 2015.
  20. Montagnat, M., Azuma, N., Dahl-Jensen, D., Eichler, J., Fujita, S., Gillet-Chaulet, F., Kipfstuhl, S., Samyn, D., Svensson A., and Weikusat, I., Fabric along the NEEM ice core, Greenland, and its comparison with GRIP and NGRIP ice cores. *The Cryosphere*, 8(4), 1129-1138, 2014.
  21. Motizuki, Y., Nakai, Y., Takahashi, K., Igarashi, M., Motoyama, H., and Suzuki, K., Dating of a Dome Fuji (Antarctica) shallow ice core by volcanic signal synchronization with B32 and EDML1 chronologies. *The Cryosphere Discuss.*, 8, 769-804, doi:10.5194/tcd-8-769-2014, 2014.
  22. Nakazawa, F., Konya, K., Kadota, T., and Ohata, T., (2015), Depositional and summer snow melting features in 2007-2011 on the upstream side of Potanin Glacier, Mongolian Altai, reconstructed by pollen and oxygen isotope analysis. *Environmental Earth Sciences*, in press.
  23. Nakazawa, F., Uchida, M., Kondo, M., Kadota, T., Shirakawa, T., Enomoto, H., Fedorov, A., Fujisawa, Y., Konstantinov, P., Kusaka, R., Miyairi, M., Ohata, T., and Yabuki, H., Radiocarbon ages of insects and plants frozen in the No. 31 Glacier, Suntar-Khayata Range, eastern Siberia. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, in press.
  24. Nagatsuka, N., Takeuchi, N., Uetake, J., and Shimada, R., Mineralogical composition of cryoconite on glaciers in northwest Greenland, *Bull. Glaciol. Res.*, 32, 107-114, 2014.
  25. Okuno, J., Nakada, M., Ishii, M., and Miura, H., Vertical tectonic crustal movements along the Japanese coastlines inferred from late Quaternary and recent relative sea-level changes, *Quaternary Science Reviews*, 91, 42-61, 2014.
  26. Orsi, A.J., Kawamura, K., Fegyveresi, J.M., Headly, M.A., Alley, R.B., and Severinghaus, J.P., Differentiating bubble-free layers from melt layers in ice cores using noble gases, *J. Glaciol.*, accepted.
  27. Oyabu, I., Iizuka, Y., Uemura, R., Miyake, T., Hirabayashi, M., Motoyama, H., Sakurai, T., Suzuki, T., and Hondoh T., Chemical compositions of sulfate and chloride salts over the last termination reconstructed from the Dome Fuji ice core, inland Antarctica, *J. Geophys. Res. Atmos.*, 119, 14,045–14,058, doi:10.1002/2014JD022030, 2014.
  28. Parrenin, F., Fujita, S., Abe-Ouchi, A., Kawamura, K., Masson-Delmotte, V., Motoyama, H., Saito, F., Severi, M., Stenni, B., Uemura, R., and Wolff, E., Climate dependent contrast in surface mass balance in East Antarctica over the past 216 kyr. *Clim. Past Discuss.*, 11(1), 377-405, 2015. <http://www.clim-past-discuss.net/11/377/2015/>
  29. Sigl, M., McConnell, J., Toohey, M., Curran, M., Das, S., Edwards, R., Isaksson, E., Kawamura, K.,

- Kipfstuhl, S., Krüger, K., Layman, L., Maselli, O., Motizuki, Y., Motoyama, H., Pasteris, D., and Severi M., Insights from Antarctica on volcanic forcing during the Common Era. *Nature Climate Change*, 2014, doi: 10.1038/nclimate2293, 2014.
30. Suganuma Y., Okada, M., Horie, K., Kaiden, H., Takehara, M., Senda, R., Kimura, J., Kawamura, K., Haneda, Y., Kazaoka, O., and Head, M.J., Age of Matuyama–Brunhes boundary constrained by U-Pb zircon dating of a widespread tephra, *Geology*, in press.
  31. Suganuma Y., Miura, H., Zondervan, A., and Okuno, J., East Antarctic deglaciation and the link to global cooling during the Quaternary: Evidence from glacial geomorphology and  $^{10}\text{Be}$  surface exposure dating of the Sør Rondane Mountains, Dronning Maud Land, *Quaternary Science Reviews*, 97, 102-120, 2014.
  32. 菅沼悠介, 福田洋一, 青山雄一, 岡田雅樹, 東ドロンイングモードランド, セール・ロンダーネ山地調査隊報告 2013 (JARE-55), 南極資料, 58, 309-340, 2014.
  33. Svensson, A., Fujita, S., Bigler, M., Braun, M., Dallmayr, R., Gkinis, V., Goto-Azuma, K., Hirabayashi, M., Kawamura, K., Kipfstuhl, S., Kjar, H.A., Popp, T., Simonsen, M., Steffensen, J.P., Vallelonga, P., and Vinther, B.M., On the occurrence of annual layers in Dome Fuji ice core early Holocene ice, *Clim. Past Discuss.*, 11, 805-830, doi:10.5194/cpd-11-805-2015, 2015.
  34. Uetake, J., Tanaka, S., Hara, K., Tanabe, Y., Samyn, D., Motoyama, H., Imura, S., and Kohshima, S., Novel Biogenic Aggregation of Moss Gemmae on a Disappearing African Glacier. *PLoS ONE* 9(11): e112510. doi:10.1371/journal.pone.0112510, 2014
  35. Yokoyama, Y., Maeda, Y., Okuno, J., Miyairi, Y., and Kosuge, T., Holocene Antarctic melting and lithospheric uplift history of the southern Okinawa Trough inferred from mid- to late-Holocene sea level in Iriomote Island, Ryukyu, Japan, *Quaternary International*, in press.
  36. Yukinaga, H., Shionyu, C., Hirata, E., Ui-Tei, K., Nagashima, T., Kondo, S., Okada-Hatakeyama, M., Honda, N., and Matsuda, M., “Fluctuation of Rac1 activity is associated with the phenotypic and transcriptional heterogeneity of glioma cells.” *Journal of Cell Science*. 127, 1805–1815, 2014.

[データベース]

特になし

[著書等]

1. 菅沼悠介, 南極におけるフィールドワークの生活技術, フィールドワーカーシリーズ第 11 巻 (分担執筆), 古今書院.

[解説・総説]

特になし

[その他]

特になし

<会議発表等>

[招待講演]

1. 菅沼悠介, 岡田誠, 堀江憲路, 海田博司, 竹原真美, 仙田量子, 木村純一, 風岡修, 白尾テフラの単結

晶ジルコン SHRIMP U-Pb 年代を用いた B-M 境界年代値の高精度決定. 日本地球惑星科学連合 連合大会, 2014 年 4 月 (連合大会ハイライト発表).

- 菅沼悠介, 堆積残留磁化獲得メカニズムと地球磁場極性逆転年代の高精度決定, 地質学会, 2014 年 9 月.
- 奥野淳一, 齋藤冬樹, 阿部彩子, 高橋邦生, 3 次元氷床力学モデルより求められた氷床融解史に基づくグリーンランドにおける第四紀海水準変動と地殻変動. 日本地球惑星科学連合 連合大会, 2014 年 4 月.

[一般講演]

(国際)

- Goto-Azuma, K., Hirabayashi, M., Motoyama, H., Miyake, T., Kuramoto, T., Uemura, R., Kawamura, K., Iizuka, Y., Suzuki, K., Igarashi, M., Suzuki, T., Fujii, Y., Horikawa, S., Fujita, K., and Sakurai, T., Ionic records from Dome Fuji, East Antarctica over the past 700 kyrs and their implications. SCAR Open Science Conference, Auckland, New Zealand, 2014 年 8 月 27 日
- Goto-Azuma, K., Wegner, A., Hansson, M., Hirabayashi, M., Twarloh, B., Motoyama, H., and the NEEM Aerosol Consortium members, Variations of ion concentrations in the NEEM deep ice core, NEEM Symposium, Copenhagen, 2014 年 4 月 25 日
- Kawamura, K., Kitamura, K., and Dallmayr, R., Holocene gas compositions in the NEEM ice core (methods and preliminary results), NEEM Symposium 2014, Copenhagen, 2014 年 4 月.
- Kawamura, K., Aoki, S., Nakazawa, T., Abe-Ouchi, A., and Saito, F., Dating of the Dome Fuji deep ice core using O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> of trapped gases and synchronization with Northern Hemisphere records, SCAR 2014 Open Science Conference, Auckland, 2014 年 8 月.
- Kawamura, K., Baggenstos, D., and Severinghaus, J.P., Past atmospheric krypton and xenon over the last 24 ka from trapped air in the WAIS Divide ice core: A potential constraint on mean ocean temperature, 2014 WAIS Divide Ice Core Science Meeting, San Diego, 2014 年 9 月.
- Motoyama, H. Suzuki, K. and Hirabayashi, M., Spatial and temporal variability of surface snow accumulation and snow chemistry at East Antarctic ice sheet. 2014 AGU Fall Meeting, San Francisco, 15-19 December, 2014.
- Nakazawa, F., Uchida, M., Kondo, M., Enomoto, H., Fedorov, A., Fujisawa, Y., Kadota, T., Konstantinov, P., Kusaka, R., Miyairi, M., Ohata, T., Shirakawa, T., and Yabuki, H., <sup>14</sup>C dating of insects found in a glacier in Suntar-Khayata range, eastern Siberia, The Thirteenth International Conference on Accelerator Mass Spectrometry, Aix en Provence, France, 2014 年 8 月 26 日
- Suganuma, Y., Okada, M., Horie, K., Kaiden, H., Takehara, M., Senda, R., Kimura, J., and Kazaoka, O., Refined chronology for the Matuyama-Brunhes geomagnetic reversal boundary based on SHRIMP U-Pb zircon dating of Byakubi tephra, AOGS, 札幌 2014 年 7 月.
- Suganuma, Y., Miura, H., Zondervan, A., and Okuno, J., East Antarctic deglaciation and the link to global cooling since the Quaternary: Evidence from glacial geomorphology and <sup>10</sup>Be surface exposure dating of the Sør Rondane Mountains, Dronning Maud Land, SCAR, ニューージーランド 2014 年 8 月.
- Suganuma, Y., Lithology and chronostratigraphy of the marine sequence at the Chiba section, central Japan: a well exposed Lower-Middle Pleistocene boundary succession. GSSP workshop, イタリア 2014 年, 10 月.

(国内)

1. 東久美子, Wegner, A., Hansson, M., 平林幹啓, 倉元隆之, Twarloh, B., 本山秀明, グリーンランド NEEM 氷床コアのイオン濃度変動が示す完新世～最終間氷期の環境変動, 第 5 回極域科学シンポジウム, 東京, 2014 年 12 月 5 日
2. 東久美子, Wegner, A., Hansson, M., 平林幹啓, 倉元隆之, Twarloh, B., 本山秀明, グリーンランド NEEM 氷床コアのイオン変動から見た過去 12 万 8 千年の気候・環境変動雪氷研究大会, 八戸, 2014 年 9 月 20 日
3. 東久美子, 平林幹啓, Dallmayr, R., 小川佳美, 永塚尚子, 国立極地研究所における雪氷試料の化学分析法の開発状況, 雪氷研究大会, 八戸, 2014 年 9 月 20 日
4. Dallmayr, R., Goto-Azuma, K., Kjær, H.A., Vallelonga, P., Yamada, H., Azuma, N., Takata, M., Schüpbach, S., and Segawa, T., High Resolution Continuous Flow Analysis System for Polar Ice Cores, 雪氷研究大会, 八戸, 2014 年 9 月 20 日
5. 平林幹啓, 本山秀明, 南極表面積雪に含まれる硫黄化合物の化学種別の同位体分析, 日本分析化学会第 63 年会, 広島, 2014 年 9 月
6. 川村賢二, 青木周司, 中澤高清, 阿部彩子, 齋藤冬樹, 南極氷床コアと北半球海底コアとの年代同期, JpGU2014 年大会, 横浜, 2014 年 4 月.
7. 川村賢二, 青木周司, 中澤高清, 阿部彩子, 齋藤冬樹, ドームふじ氷床研究プロジェクト, ドームふじ氷床コアの年代決定と北半球の海底コアとの年代同期, 雪氷学会, 八戸, 2014 年 9 月.
8. 川村賢二, 青木周司, 中澤高清, J.P. Severinghaus, Daniel Baggenstos, 阿部彩子, 齋藤冬樹, ドームふじ氷床研究プロジェクト, 極域アイスコアからみる退氷期と間氷期 (特に Termination I と V の比較), 雪氷学会, 八戸, 2014 年 9 月.
9. Kawamura, K., Climate system and variations viewed from ice cores of Antarctica and Greenland, 極域科学シンポジウム, 東京, 2014 年 11 月.
10. 近藤伸二 DDBJ スーパーコンピュータを使用した大規模極限環境メタゲノム解析及びハイブリッドマウス全トランスクリプトーム解析 遺伝研スーパーコンピュータユーザー会 2014 年 7 月
11. Kondo, S., Metagenome assembly and annotation, Metatranscriptomics USM Center for Chemical Biology' s Workshop on Metagenomics, Penang, Malaysia 2014 年 12 月
12. 近藤伸二, 加藤英政, 鈴木穰, 高田豊行, 城石俊彦, 菅沼成文, 清澤秀孔 亜種間雑種 ES 細胞を用いた組織特異的ゲノム刷り込み解析 日本 RNA 学会 2014 年 7 月
13. 近藤伸二, 加藤英政, 鈴木穰, 高田豊行, 城石俊彦, 菅沼成文, 清澤秀孔 in vitro 神経細胞分化系を用いた網羅的な組織特異的ゲノム刷り込み領域の解析 日本分子生物学会 2014 年 12 月
14. 本山秀明, 的場澄人, 藤田耕史, 山崎哲秀, 大沼友貴彦, 箕輪昌紘, 小室悠紀, 山口悟, 青木輝夫: グリーンランド北西氷床のアイスコア掘削について -SIGMA-D 経過報告-. 雪氷研究大会 (2014・八戸), 八戸市, 2014.9.20-9.23
15. 本山秀明, 鈴木利孝, 福井幸太郎, 大野浩, 保科優: 南極氷床の堆積環境について -複雑な表面-. 雪氷研究大会 (2014・八戸), 八戸市, 2014.9.20-9.23
16. 本山秀明, 古崎睦, 高橋昭好, 田中洋一, 宮原盛厚, 新堀邦夫, 的場澄人, 杉山慎, 森章一, 澤柿教伸, 高田守昌: 最近の浅層・中層掘削技術と検層について. 雪氷研究大会 (2014・八戸), 八戸市, 2014.9.20-9.23
17. 本山秀明, 古崎睦, 高橋昭好, 田中洋一, 宮原盛厚, 高田守昌, 澤柿教伸, 的場澄人, 杉山慎, 新堀邦夫, 森章一: 最近の中層掘削技術と検層について. 極域科学シンポジウム, 立川市, 2014.12.2-12.5
18. 本山秀明, 鈴木利孝, 福井幸太郎, 大野浩, 保科優: 南極氷床の堆積環境について -複雑な表面(2)-. 極域科学シンポジウム, 立川市, 2014.12.2-12.5

19. 村上匠, 瀬川高弘, Dylan Bodington, 竹内望, 幸島司郎, 本郷裕一 「氷河環境に特化したコオリミミズの共生細菌群衆構造解析」 環境微生物系学会合同大会 2014 (浜松) ポスター賞受賞 2014.8.25-29, 2014.10.23
20. 中澤文男, 陶山佳久, 伊村智, 本山秀明、全ゲノム増幅法を用いた氷河中の花粉 1 粒ずつの同定、日本地球惑星科学連合 2014 年大会、パシフィコ横浜会議センター、横浜市、2014 年 4 月 28 日
21. 中澤文男, 内田昌男, 近藤美由紀, 門田勤, 白川龍生, 榎本浩之, Alexander Fedorov, 藤澤雄太, Pavel Konstantinov, 日下稜, 宮入匡矢, 大畑哲夫, 矢吹裕伯、東シベリア・スタルハヤタ No.31 氷河で発見された昆虫の 14C 年代測定、第 5 回極域科学シンポジウム、国立極地研究所、東京都立川市、2014 年 12 月 5 日
22. 中澤文男, 陶山佳久, 伊村智, 本山秀明、全ゲノム増幅法を用いた氷河中の花粉の同定、第 5 回極域科学シンポジウム、国立極地研究所、東京都立川市、2014 年 12 月 2 日
23. 奥野淳一, 中田正夫, 石井正好, 三浦英樹, 第四紀および最近の海水準変動より推定される日本列島沿岸の鉛直地殻変動. 日本地球惑星科学連合 連合大会, 2014 年 4 月.
24. 奥野淳一, 齋藤冬樹, 阿部彩子, 高橋邦生, GIA-related sea-level changes in Greenland based on the loading histories derived from ICIES, 極域科学シンポジウム, 2014 年 12 月.
25. 菅沼悠介, 池原実, 須藤斎, 野木義史, The ANDRILL Coulman High Project: Japanese contribution to the next phase of the Antarctic Geological Drilling. 日本地球惑星科学連合 連合大会, 2014 年 4 月.
26. 菅沼悠介, 三浦英樹, Albert Zondervan, 奥野淳一, East Antarctic deglaciation and the link to global cooling since the Pliocene: Evidence from glacial geomorphology and 10Be surface exposure dating of the Sør Rondane Mountains, Dronning Maud Land. 日本地球惑星科学連合 連合大会, 2014 年 4 月.
27. 菅沼悠介, 岡田誠, 堀江憲路, 海田博司, 竹原真美, 仙田量子, 木村純一, 風岡修, Byk-E (白尾) テフラの SHRIMP U-Pb 年代に基づく M-B 境界年代値の高精度決定. 日本第四紀学会, 2014 年 8 月.
28. 菅沼悠介, 三浦英樹, Albert Zondervan, 奥野淳一, 第四紀における東南極氷床高度の低下と南極寒冷圏システム進化との相互作用. 日本第四紀学会, 2014 年 8 月. ポスター
29. 菅沼悠介, 三浦英樹, Albert Zondervan, 奥野淳一, 第四紀における東南極氷床高度の低下と南極寒冷圏システム進化, 地質学会, 2014 年 9 月.
30. Suganuma Y., Okada, M., Horie, K., Kaiden, H., Takehara, M., Senda, R., Kimura, J., Kawamura, K., and Kazaoka, O., Head, M.J Matuyama-Brunhes boundary age constrained by SHRIMP U-Pb zircon dating of a widespread tephra, 極域科学シンポジウム, 2014 年 11 月.
31. Sawada, K., Takeda, M., and Takano, Y., Possible Climatic Signal Recorded by Alkenone Distributions in Sediments from Freshwater and Saline Lakes on the Skarvsnes and Skallen Areas, Antarctica. AGU Fall meeting 2014, San Francisco, USA.
32. 竹田真佑美, 沢田 健, 高野 淑識: 南極スカルブスネス露岩地域に分布する湖沼の堆積物のバイオマーカーに記録された古環境・古生態系変動, 日本地球化学会, 富山, 2014 年 9 月
33. 牛田一成 環境における薬剤耐性遺伝子の拡散 動物用抗菌剤研究会第 41 回シンポジウム 日本獣医生命科学大学 2014 年 4 月 26 日
34. 吉村義隆, 西川彰人, 香田亮, 青木耕平, 市瀬悠, 本多元, 村野由佳, 横堀伸一, 山岸明彦. (2015) 火星での細胞検出用生命探査顕微鏡のための蛍光染色法の開発状況. 第 15 回宇宙科学シンポジウム. JAXA 相模原キャンパス

<受賞>

特になし

③ その他の成果発表

特になし

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」

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. Huiskes, A.H.L., Gremmen, N.J.M., Bergstrom, D.M., Frenot, Y., Hughes, K.A., Imura, S., Kiefer, K., Lebouvier, M., Lee, J.E., Tsujimoto, M., Ware, C., Van de Vijver, B., and Chown, S.L., Aliens in Antarctica: assessing transfer of plant propagules by human visitors to reduce invasion risk., *Biological Conservation* 171, 278-284, 2014.
2. Kaneko, M., Takano, Y., Chikaraishi, Y., Ogawa, N.O., Asakawa, S., Watanabe, K., Shima, S., Krueger, M., Matsushita, M., Kimura, H., and Ohkouchi, N.: Quantitative analysis of coenzyme F430 in environmental samples: a new diagnostic tool for methanogenesis and anaerobic methane oxidation. *Analytical Chemistry*, 86, 3633-3638, 2014. doi: 3610.1021/ac500305j.
3. Kosugi, M., Shizuma, R., Moriyama, Y., Koike, H., Fukunaga, Y., Takeuchi, A., Uesugi, K., Suzuki, Y., Imura, S., Kudoh, S., Miyazawa, A., Kashino, Y. and Satoh, K., Ideal osmotic spaces for chlorobionts or cyanobionts are differentially realized by lichenized fungi., *Plant Physiology* 166(1), 337-348, 2014.
4. Masumoto S., Tojo M., Uchida M., and Imura S., Morphological and molecular characterization of *Rhytisma filamentum* sp. nov. from Nagano Prefecture, Japan. *Mycological Progress*, 2015.
5. Masumoto S., Tojo S., Uchida M., and Imura S. *Rhytisma polare*: Morphological and molecular characterization of a new species from Spitsbergen Island, Norway *Mycological Progress*, 13, 181-188, 2014.
6. Matsumoto, G.I., Honda, E., Seto, K., Tani, Y., Watanabe, T., Ohtani, S., Kashima, K., Nakamura, T., and Imura, S., Holocene paleolimnological changes of Lake Oyako-ike in the Soya Kaigan of East Antarctica, *Inland Waters* (4), 105-112, 2014.
7. Murakami, T., Segawa, T., Bodington, D., Dial, R., Takeuchi, N., Kohshima, S., and Hongoh, Y., Census of bacterial microbiota associated with the glacier ice worm *Mesenchytraeus solifugus*. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91.doi.org/10.1093/femsec/fiv003
8. Nakai, R., Nishijima, M., Tazato, N., Handa, Y., Karray, F., Sayadi, S., Isoda, H., Naganuma, T., (2014) *Oligoflexus tunisiensis* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, filamentous bacterium of a novel proteobacterial lineage, and description of *Oligoflexaceae* fam. nov., *Oligoflexales* ord. nov. and *Oligoflexia* classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 3353-3359.
9. Nakai, R., and Naganuma, T., (2015) *Oligoflexia*, the newest class of the phylum Proteobacteria,

consisting of only one cultured species and uncultured bacterial phylotypes from diverse habitats. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, 3, 141. doi:10.4172/2329-9002.1000141.

10. Ohkouchi, N., and Takano, Y., (2014) Organic nitrogen: sources, fates, and chemistry. *Treatise on Geochemistry*, Vol. 12, 10: Organic Geochemistry (Edited by Birrer, B., Falkowski, P., Freeman, K.), Elsevier, pp. 251-289. doi: 10.1016/B978-0-08-095975-7.01015-9
11. Okubo, T., Tosaka, Y., Sato, T., Usui, M., Nakajima, C., Suzuki, Y., Imura, S., & Tamura, Y., Bacterial Diversity in Sea Ice from the Southern Ocean and the Sea of Okhotsk, *Journal of Applied & Environmental Microbiology* 2(6), 266-272, 2014.
12. Segawa, T., Ishii, S., Ohte, N., Akiyoshi, A., Yamada, A., Maruyama, F., Li, Z., Hongoh, Y., and Takeuchi, N., The nitrogen cycle in cryoconites: naturally occurring nitrification-denitrification granules on a glacier. *Environmental Microbiology*, 16(10), 3250-3262, 2014.
13. Takano, Y., Kojima, H., Takeda, E., Yokoyama, Y., and Fukui, M.: Biogeochemistry and limnology in Antarctic subglacial weathering: molecular evidence of the linkage between subglacial silica input and primary producers in a perennially ice-covered lake. *Progress in Earth and Planetary Science*, 2015, doi: 10.1186/s40645-015-0036-7.
14. Takano, Y., Chikaraishi, Y., and Ohkouchi, N.: Isolation of underivatized amino acids by ion-pair high performance liquid chromatography for precise measurement of nitrogen isotopic composition of amino acids: development of comprehensive LC x GC/C/IRMS method. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2015. doi: 10.1016/j.ijms.2014.1011.1012.
15. Takeuchi, N., Nagatsuka, N., Uetake, J., and Shimada, R., Spatial variations in impurities (cryoconite) on glaciers in northwest Greenland. *Bull. Glaciol. Res.*, 32, 85-94, 2014.
16. Tavernier, I., Verleyen, E., Hodgson, D.A., Heirman, K., Roberts, S.J., Imura, S., Kudoh, S., Sabbe, K., Batist, M.D., and Vyverman, W., Absence of a Medieval Climate Anomaly and Little Ice Age in Skarvsnes, Lützow Holm Bay, East Antarctica., *Antarctic Science*, 26(5), 585-598, 2014.
17. Tsujimoto, M. McInnes, S.J., Convey, P. & Imura, S., Preliminary description of tardigrade species diversity and distribution pattern around coastal Syowa Station and inland Sør Rondane Mountains, Dronning Maud Land, East Antarctica., *Polar Biology*, 37, 1361-1367, 2014.
18. Uetake, J., Tanaka, S., Hara, K., Tanabe, Y., Samyn, D., Motoyama, H., Imura, S., and Kohshima, S., Novel biogenic aggregation of moss gemmae on a disappearing African Glacier, *PLOS ONE*, 2014, DOI: 10.1371/journal.pone.0112510.

[データベース]

特になし

[著書等]

1. 長沼毅 (2014) ナノサイズの微生物、『環境と微生物の事典』、p.72、朝倉書店、ISBN 978-4-254-17158-7.

[解説・総説]

特になし

[その他]

特になし

<会議発表等>

[招待講演]

特になし

[一般講演]

(国際)

1. Nakai, R., Abe, T., Baba, T., Yanagihara, K., Kagoshima, H., Imura, S., Kanda, H., Niki, H., Kohara, Y., and Naganuma, T., Microbial synergy for material cycling in an Antarctic moss pillar inferred from metagenomic data, 2014 SCAR Open Science Conference, Auckland, New Zealand, 27 August 2014.

(国内)

1. 柏原克彦、伊村智、植竹淳、中井亮佑、長沼毅、地衣類共生細菌相と生物地理、環境微生物系学会合同大会 2014、浜松、2014 年 10 月 23 日
2. Katsuhiko, K., Imura, S., Uetake, J., Nakai, R., and Naganuma, T., Lichen-associated bacteria and biogeography, 第 5 回極域科学シンポジウム, 東京、2014 年 12 月 3 日
3. Naganuma, T., Kashihara, K., Nakai, R., Niki, H., Uetake, J., Kudoh, S., and Imura, S., Polar habitats as hot spots for microbio-geography, 第 5 回極域科学シンポジウム, 東京、2014 年 12 月 4 日
4. 中井亮佑、西島美由紀、馬場知哉、長沼毅、仁木宏典、ろ過滅菌済みの環境試料から分離した極小細菌と新綱細菌、環境微生物系学会合同大会 2014、浜松、2014 年 10 月 23 日。
5. 植竹淳、瀬川高弘、永塚尚子 1、田中聡太、竹内望、本山秀明、青木輝夫、グリーンランド、カナック氷河上のクリオコナイト粒の形成プロセスと分布、環境微生物系学会合同大会 2014、2014 年 10 月
6. 植竹淳、瀬川高弘、永塚尚子 1、田中聡太、竹内望、本山秀明、青木輝夫、グリーンランド北西部、カナック氷河におけるクリオコナイト粒の形成過程とその分布、日本雪氷学会、2014 年 9 月

<受賞>

特になし

③ その他の成果発表

特になし

サブテーマ 3 「極限生物の環境適応メカニズムと進化」

① 知見・成果物・知的財産権等

1. 松浦俊一、千葉真奈美、角田達朗、馬場知哉 (2014) DNA 合成酵素—シリカ系ナノ空孔材料複合体、その製造方法及び用途、特開 2014-103924
2. 松浦俊一、千葉真奈美、角田達朗、馬場知哉 (2014) 極微量核酸の増幅方法、特願 2014-115262

② 成果発表等

<論文発表>

[学術論文]

1. Kagoshima, H., and Kohara, Y., Co-expression of the transcription factors CEH-14 and TTX-1 regulates AFD neuron-specific genes *gcy-8* and *gcy-18* in *C. elegans*. *Dev Biol.*; 399(2):325-36, 2015.

(doi: 10.1016/j.ydbio.2015.01.010)

2. Matsuura, S., Baba, T., Chiba, M., and Tsunoda, T., Nanoporous scaffold for DNA polymerase: pore-size optimisation of mesoporous silica for DNA amplification, RSC Advances, 4: 25920-25923, 2014.
3. Tagawa, K., Arimito, A., Sasaki, A., Izumi, M., Fujita, S., Humphreys, T., Fujiyama, A., Kagoshima, H., Shin-I, T., Kohara, Y., Satoh, N., and Kawashima, T., A cDNA resource for gene expression studies of a hemichordate, *Ptychodera flava*. Zoolog Sci. 31(7):414-20, 2014. (doi: 10.2108/zs130262)
4. Thorne, MAS.\*, Kagoshima, H.\*, Clark, M.S., Marshall, C.J., and Wharton, D.A., Molecular analysis of the cold tolerant Antarctic nematode, *Panagrolaimus davidi*. PLoS ONE.; 9(8):e104526, 2014. (\*authors equally contributed) (DOI: 10.1371/journal.pone.0104526)
5. Urushihara, H., Kuwayama, H., Fukuhara, K., Itoh, T., Kagoshima, H., Shin-I, T., Toyoda, A., Ohishi, K., Taniguchi, T., Noguchi, H., Kuroki, Y., Hata, T., Uchi, K., Mohri, K., King, J.S., Insall, R.H., Kohara, Y., and Fujiyama, A., Comparative genome and transcriptome analyses of the social amoeba *Acytostelium subglobosum* that accomplishes multicellular development without germ-soma differentiation. BMC Genomics. 14;16(1):80, 2015.(doi:10.1186/s12864-015-1278-x)

[データベース]

1. *Panagrolaimus davidi* genome browser. (British Antarctic Survey)

[著書等]

特になし

[解説・総説]

特になし

[その他]

特になし

<会議発表等>

[招待講演]

1. 鹿児島浩 南極の線虫とクマムシ：驚異の乾燥・凍結耐性. 自然科学研究教育センター講演会 慶応大学 (神奈川) (2014)

[一般講演]

(国際)

1. Baba, T., Abe, T., Toyoda, A., Nakai, R., Naganuma, T., Fujiyama, A., Imura, S., Kanda, H., Motoyama, H., and Niki, H., Bacterial Genome-wide Horizontal Gene-transfers Provide Co-evolution and Adaptation Strategies of Biosphere in Ultra-oligotrophic Antarctic Lake. 2014 SCAR Open Science Conference, Auckland, New Zealand, 28 August 2014.

(国内)

1. Baba, T., Abe, T., Toyoda, A., Nakai, R., Naganuma, T., Fujiyama, A., Imura, S., Kanda, H.,

Motoyama, H., and Niki, H., Biosphere of an Antarctic Lake as a Natural Laboratory of Biological Evolutions. 第5回極域科学シンポジウム、東京、2014年12月3日

2. 馬場知哉、阿部貴志、豊田敦、中井亮佑、長沼毅、藤山秋佐夫、伊村智、神田啓史、本山秀明、仁木宏典. 南極の湖沼生物圏における遺伝子の水平伝播ワールド. 第9回日本ゲノム微生物学会年会、神戸、2015年3月8日
3. 鹿兒島浩、小原雄治、仁木 宏典 (2014) 南極線虫 *Panagrolaimus davidi* の環境耐性遺伝子候補 LEA 日本分子生物学会第37回年会 パシフィコ横浜 (神奈川)

<受賞>

特になし

③ その他の成果発表

特になし