

機関番号：82657

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20710020

研究課題名 (和文) 南極アイスコアの生物学的解析と古環境復元に関する研究

研究課題名 (英文) Biological analysis of ice core from Antarctica and reconstruction of past environment

研究代表者

植竹 淳 (UETAKE JUN)

情報・システム研究機構・新領域融合研究センター・融合プロジェクト特任研究員

研究者番号：40455473

研究成果の概要 (和文)：

南極アイスコア中に含まれる微生物は、氷期間氷期サイクルなどの過去の気候変動と連動して変化している可能性があるため、計 244 サンプルを解析した。球状のバクテリアの濃度は南極外から飛来してきた鉱物粒子量が非常に多い層と一致する事から、鉱物粒子と共に飛来してきたバクテリアである可能性が考えられる。また、糸状菌様の粒子は特に鉱物粒子が多い層では無いため、風送微粒子と共に飛来してきた可能性は低いと考えられる。

研究成果の概要 (英文)：

In Dome Fuji ice core, filamentous bacteria-like particle, had not been observed in the surface, were found in some layers. As concentration of coccoid bacteria is high in the end of glacial age when dust particle concentration is high, these match suggest coccoid bacteria are transported by wind with other particles like dust. This result indicate similar tendency as previous study in Vostok, and support them. Otherwise, concentration of filamentous bacteria-like particle is high in mid-last glacial age and early-Holocene, and these have no relationship with dust particle.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：雪氷微生物学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：南極、アイスコア、バクテリア

1. 研究開始当初の背景

氷河や氷床などの雪氷圏は、無生物的な環境と見なされてきた為、これまで生態学的研究はほとんど行われてこなかった。しかし、このような寒冷な環境にも、昆虫、甲殻類、環形動物、藻類、バクテリアなど多様な生物によって構成される特殊な生態系が存在する事が明らかになってきた。また、氷河上に生

息する微生物は生態学的に重要なだけでなく、アイスコア解析による古環境復元の新たな環境指標になりうる事が明らかとなってきた。アイスコア解析への予備的解析として、南極氷床各地で採取された現在の表層積雪試料中の球型バクテリアの密度を計測したところ、1ml あたり 1.7×10^2 (細胞数/ml) と湖沼や土壌のような環境と比較して、

密度が低い事が明らかとなった。しかし一方で、ドームふじアイスコア中の球形バクテリア細胞密度は現在の積雪表面に比べて多い事が示された。また、表層積雪試料では全く観察されなかった糸状バクテリア様粒子が非常に多く含まれていることがわかった。以上の結果から、南極ドームふじアイスコア中には現在の表面積雪に比べ生物量が多い事が示された。

2. 研究の目的

ドームふじアイスコア中に含まれる微粒子の供給源は南極大陸以外の陸域から発生し、対流圏あるいは成層圏の大気循環により長距離輸送されてくる事が知られている。このため、予備研究で観察された微生物の多くは、南極大陸外の陸域から風により飛来してきたものと考えられる。各時代において微生物量が大きく増減する事、特に放線菌の生物量などは氷期と間氷期で大きな差があった事から、環境条件によって微生物が飛来してくるプロセス（発生源の環境や風の強さなど）が変化していたと推測される。このことから逆に、微生物の量や種類を特定する事が可能であれば、微生物が棲息していた当時の古環境の情報を得ることが可能である。そのためには、まず基本研究としてこれらの微生物の生態的情報を知る必要がある。そこで本研究では、ドームふじアイスコアの最終氷期初期から現在までのサンプルを用いて、氷期-間氷期サイクルにおける微生物量と種類の変動、さらにはアイスコア中の微生物と環境変動との関連を明らかにしていく。

3. 研究の方法

(1) サンプル処理

アイスコアサンプル中に含まれる微生物量は通常的环境に比べて極めて少ない。このため、アイスコアの処理は外部からのコンタミネーションが無いように注意を払う必要がある。このため本研究に用いる試料の作成はすべてクラス 1000 のクリーンルーム内のクリーンベンチ（クラス 100）で行う。

(2) 微生物量の変動

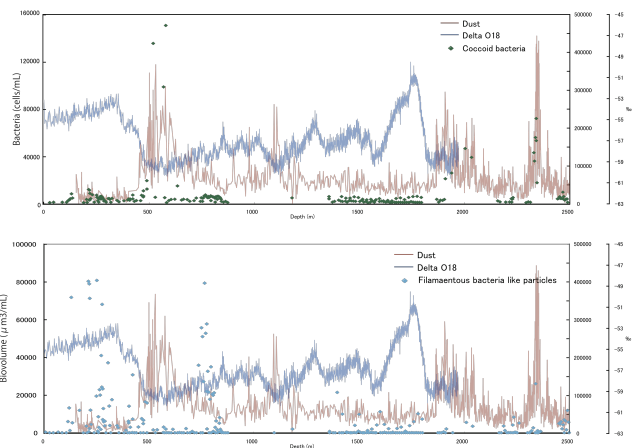
融解させた氷試料を微生物観察用フィルター（Whatman: Anodisc 等）に濾過し、DNA を染色する蛍光色素（Molecular Probes : SYBR Gold）で染色する。染色後、蛍光顕微鏡による直接観察により球状バクテリア、放線菌の細胞数を計測し、1ml 辺りの細胞密度を推定した。

(3) 微生物検出感度の向上

共焦点レーザー顕微鏡、蛍光顕微鏡を用いて計 16 種類の蛍光試薬の微生物への染色特性、非生物粒子への非特異的な結合などを考慮し、アイスコア解析に適した蛍光色素の選出をおこなった。

4. 研究成果

(1) 計 244 個のアイスコア試料を微生物観察用フィルター（Whatman: Anodisc 等）に濾過し、DNA を染色する蛍光色素（Molecular Probes : SYBR Gold）で染色した。染色後、蛍光顕微鏡による直接観察により球状バクテリア、放線菌の細胞数を計測し、1ml 辺りの細胞密度を推定した。この結果、球状のバクテリアの濃度が深度 580m、2009m、2349m でそれぞれ約 18000、5800、9000 cells/mL と他の部分に比べ非常に多かった。これらの深度は南極外から飛来してきた鉱物粒子量が非常に多い層と一致する事から、鉱物粒子と共に飛来してきたバクテリアである可能性が考えられる。また、糸状の放線菌様のバクテリアは深度 115-491m、736-810m にかけて多く、特に 230m、764m においては、体積バイオマスが 104000、79000 $\mu\text{m}^3/\text{mL}$ と非常に高かった。これらの深度は特に鉱物粒子が多いそうでは無いため、風送微粒子と共に飛来してきた可能性は低いと考えられ、また好冷性微生物が現地で増殖していた可能性も、ドームふじ基地が非常に寒冷な環境である事から、非常に低いと考えられる。

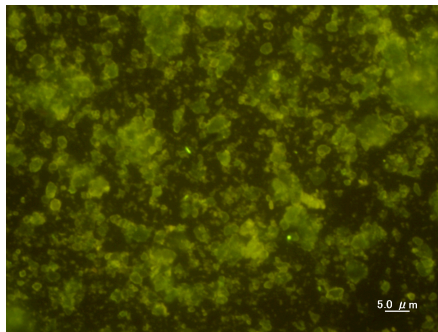


(2)

しかしながら、鉱物粒子などを含む粒子を多く含むアイスコアでは従来法では、バクテリア以外の粒子をご認識してしまう可能性が高く、検出感度を向上させるには染色法の改良が必要であった。そこで共焦点レーザー顕微鏡を用いた蛍光色素の波長特性を検出する方法（スペクトル法）を検証し、画像解析ソフトと組み合わせた細胞の自動定量法の開発のため、培養細胞、雪氷試料などを利用して予備実験を実施した。その結果、SYBR GreenI および FM4-64 をの 2 種類を用いてバクテリアの核酸と細胞膜の多重染色、スペクトルの分離が可能である事がわかった。この手法を利用しこれまで分析

したサンプルの一部で再分析を行ったところ、約 10 分の 1 程度の濃度のバクテリアが観察され、これまでの単一の蛍光色素を用いた研究手法では、細胞濃度を過大評価していた可能性が考えられる。

さらに核酸、タンパク質、細胞膜などに特異的に結合する計 16 種類の蛍光試薬の微生物への染色特性、非生物粒子への非特異的な結合などを考慮し、蛍光顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡を用いた検出感度の向上を試みた。この結果、核酸染色試薬においては YOYO-1 (Molecular Probes, Invitrogen 社) が蛍光観察、レーザー観察において最も明るく、かつ退色が少ない事が明らかとなり、アイスコア試料を対象とした微生物カウントにおいて適している事が明らかとなった。また核酸と膜の多重染色をした培養株では、両者が明瞭に染め分けられているバクテリアは、核酸のみ染色した微生物と比べてカウント数が非常に少ないことから、検出感度を向上させる結果とはならなかった。このことから鉱物粒子などを多量に含むアイスコア試料においては感度の高い核酸染色試薬のみの単一染色で観察する事が、最も検出感度の高い観察方法である事が示された。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Nakazawa, F., T. Miyake, K. Fujita, N. Takeuchi, J. Uetake, T. Fujiki, V. Aizen and M. Nakawo, Establishing the Timing of Chemical Deposition Events on Belukha Glacier, Altai Mountains, Russia, Using Pollen Analysis, Arctic, Antarctic, and Alpine Research, 査読有, 43 (1), 2011, 66-72
- ② Uetake, J., S. Kohshima, F. Nakazawa, N. Takeuchi, K. Fujita, T. Miyake, H. Narita, V. Aizen, and M. Nakawo, Evidence for propagation of cold-adapted yeast in an ice core from a Siberian Altai glacier, J. Geophys.

Res., 査読有, 116, 2011, doi:10.1029/2010JG001337

- ③ Jun Uetake, Takeshi Naganuma, Martin Bay Hebsgaard, Hiroshi Kanda, Shiro Kohshima, Communities of algae and cyanobacteria on glaciers in west Greenland, Polar Science, 査読有, 4, 2010
- ④ Kise Yukimura, Ryosuke Nakai, Shiro Kohshima, Jun Uetake, Hiroshi Kanda and Takeshi Naganuma, Spore-forming halophilic bacteria isolated from Arctic terrains: Implications for long-range transportation of microorganisms. Polar Science, 査読有, 3(3), 2009, 163-169

[学会発表] (計 12 件)

- ① Jun Uetake, Ryo Kaneko, Hiroshi Kanda, Hideaki Motoyama, Eukarya 18S rRNA gene diversity in cryoconite on the Russel Glacier, Greenland, 極域生物シンポジウム, 2010 年 12 月、東京
- ② Jun Uetake, Kumiko Azuma, Takayuki Kuramoto, Dorte Dahl-Jensen, Jørgen Peder Steffensen, Hideaki Motoyama, Preliminary study of microorganisms analysis in North Greenland Eemian Ice Drilling site, Second International Symposium on the Arctic Research, 2010 年 12 月、東京
- ③ 植竹淳、金子亮、神田啓史、本山秀明、グリーンランド氷床から採取されたクリオコナイト中の真核微生物の多様性、日本微生物生態学会、2010 年 11 月、筑波
- ④ 植竹淳、東久美子、倉元隆之、本山秀明、神田啓史、グリーンランド深層氷床コア掘削計画 (NEEM 計画) における微生物解析の検討、日本雪氷学会、2010 年 9 月、仙台
- ⑤ 植竹淳、永塚尚子、吉村義隆、アラスカ、グルカナ氷河における好冷性酵母群集について、日本微生物生態学会、2009 年 11 月、広島
- ⑥ 植竹淳、永塚尚子、吉村義隆、アラスカ、グルカナ氷河における好冷性酵母群集について、日本雪氷学会、2009 年 9 月、札幌
- ⑦ 植竹淳、瀬川高弘、本山秀明、神田啓史、ドームふじアイスコア中の微生物濃度変化、地球惑星科学連合大会、2009 年 5 月、幕張

⑧植竹淳、長沼毅、マーティン・ヘプスガード、神田啓史、幸島司郎、グリーンランド氷床西部における雪氷藻類の地域分布、日本微生物生態学会、2008年11月、札幌

⑨Jun Uetake Takeshi Naganuma, Martin Bay Hebsgaard, Hiroshi Kanda, Shiro Kohshima, Snow algal communities on the glaciers in West Greenland. First International Symposium on the Arctic Research, 2008年11月、東京

⑩植竹淳、本山秀明、神田啓史、氷期・間氷期サイクルにおけるドームふじアイスコア中の微生物濃度変化、日本雪氷学会、2008年9月、東京

⑪植竹淳、長沼毅、マーティン・ヘプスガード、神田啓史、幸島司郎、西グリーンランドの氷河における雪氷藻類群集と雪氷面アルベド、地球惑星科学連合大会、2008年5月、幕張

⑫Jun Uetake Takeshi Naganuma, Martin Bay Hebsgaard, Hiroshi Kanda, Shiro Kohshima, Snow algal communities and albedo on the glaciers in West Greenland. International Conference on Polar and Alpine Microbiology, 2008年5月、バンフ、カナダ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植竹 淳 (UETAKE JUN)

情報・システム研究機構・新領域融合研究センター・融合プロジェクト特任研究員

研究者番号：40455473