

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：82657

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24710019

研究課題名(和文) アイスコアに含まれる花粉1粒ずつの遺伝情報を利用した古環境復元

研究課題名(英文) Paleoenvironment reconstruction using the genetic information of a single pollen grain from ice cores

研究代表者

中澤 文男 (Nakazawa, Fumio)

大学共同利用機関法人情報・システム研究機構(新領域融合研究センター及びライフサイ・大学共同利用機関等の部局等)・研究員

研究者番号：80432178

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、アイスコア(氷河掘削によって得られる氷の円柱状試料)に含まれる花粉1粒ずつを種レベルで同定するために、全ゲノム増幅(WGA)法を取り入れたDNA分析手法を新たに開発した。ロシア・アルタイ山脈のベルーハ氷河で掘削されたアイスコアを用いて、そこに含まれるマツ属花粉を材料に、開発した方法でDNA分析を実施したところ、氷河周辺に分布するシベリアマツ(*Pinus sibirica*)と同定された。また、過去100年間のマツ属花粉のDNA分析から、マツ属の優占種はシベリアマツであったと考えられた。

研究成果の概要(英文)：This study developed new method to identify the pollen grains in ice cores at the species level by whole genome amplification method that may provide sufficient sequence data for the identification. Pollen grains used in this study were *Pinus* extracted from a ice core drilled from the Belukha glacier in the Altai Mountains of Russia in the summer of 2003. The developed new method was performed using a single pollen grain. The pollen grains from Belukha glacier were identified as *P. Sylvestris*, which are currently found at the periphery of the glacier. In addition, the DNA analyses indicated that *P. Sylvestris* is a dominant species in genus *Pinus* in this region.

研究分野：雪氷学

キーワード：氷河 花粉 DNA アイスコア マツ属 WGA

1. 研究開始当初の背景

花粉分析は約 100 年の歴史を持ち、これまで植生変遷・気候・環境の復元研究において極めて多くの成果を挙げてきた。従来花粉分析では、花粉の識別は形態観察にもとづいてなされており、一般に属あるいは科レベルで留まる場合が多かった。しかしながら、植物は同一属内においても種によって対応する植生帯が異なる場合がしばしばあるため、過去の植生変遷を推定する場合、花粉を種レベルで識別することは非常に大きな意味を持つ。但し、種まで識別するためには花粉の遺伝情報を調べる必要があった。堆積物中の花粉の DNA 分析は、1996 年に初めて成功例が報告されたものの、その後の成果は今日まで極めて限られており (e.g. Suyama et al., *Genes & Genetic Systems* 1996; Parducci et al., *Mol. Ecol.* 2005)、研究の進展が遅れていた。先行研究では、湖沼堆積物や泥炭堆積物中の花粉が使用されてきたのだが、DNA の劣化・分解が進んでおり、分析に適した良質な花粉が得られにくく、DNA 分析の成功率は極めて低い (0~数パーセント) という大きな問題を抱えていた。

このような背景のもと、本研究では、先行研究とはタイプの異なる氷河に封じ込められた花粉に着目し、アイスコア (氷河掘削によって得られる氷の円柱状試料) に含まれる花粉の DNA 分析を試みた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、1) 氷河に封じ込められた極めて保存状態の良い花粉を材料として、それを 1 粒ずつ DNA 分析し、種を同定するための手法を開発すること。2) アイスコアに含まれる花粉を 1) の手法をもちいて経時的に解析し、従来花粉分析を超える、種の情報を盛り込んだ詳細な植生変遷・気候・環境の復元を試みることにある。

3. 研究の方法

本研究では、大量の遺伝情報取得が可能となる全ゲノム増幅 (WGA) 法を取り入れた、花粉 1 粒ずつの DNA 分析手法を開発し、花粉種の同定を試みた。花粉試料は、ロシア・アルタイ山脈にあるペルー八氷河にて、2003 年夏に採取された 4 m 深の積雪試料ならびに 172 m のアイスコアに含まれるマツ属花粉を用いた。花粉 1 粒ずつの全ゲノム増幅をおこない、その後増幅産物をテンプレートに使用し、葉緑体 DNA をターゲットにした PCR を実施した。そして得られた塩基配列をもとに同定をおこなった。

4. 研究成果

WGA 法による氷河中のマツ属花粉 1 粒ずつの全ゲノム増幅に成功した。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。そのうち、ペルー八氷河周辺にはシベリアマツとヨーロッパアカマツが分布する。本研究で同定されたマツ種は、シベリアマツ (*Pinus sibirica*) であったことから、開発した手法の正確性を確認することができた。アイスコアの深度の異なる花粉試料を DNA 分析した結果、WGA 反応の成功率が大きく異なることが分かった。そしてそれは花粉の古さではなく、氷河堆積後の保存条件によると考えられた。本研究では、過去 100 年間のマツ属花粉試料について DNA 分析を試みた。そしてそのほとんどは、シベリアマツ、もしくはシベリアマツが属する *Strobus* 亜節と同定された。従って、過去 100 年間のマツ属の優占種はシベリアマツであったと考えられた。今後、さらに古い年代の花粉末試料についても DNA 分析を実施していく予定である。

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 1 件)

1. Nakazawa, F., J. Uetake, Y. Suyama, R. Kaneko, N. Takeuchi, K. Fujita, H. Motoyama, S. Imura, and H. Kanda, DNA analysis for section identification of individual *Pinus* pollen grains from Belukha glacier, Altai Mountains, Russia. 2013, Environmental Research Letters, 8, 14032.

[学会発表](計 11 件)

1. 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 2014 年 12 月 2 日
2. 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 2014 年 4 月 28 日
3. 中澤文男, 陶山佳久 氷河中の花粉 1 粒ずつの全ゲノム増幅 第 4 回極域科学シンポジウム 2013 年 11 月 12 日
4. 中澤文男, 陶山佳久 Whole genome amplification 法による氷河中の花粉一粒ずつのゲノム DNA 増幅 雪氷研究大会 (2013・北見) 2013 年 9 月 18 日
5. 中澤文男 氷河中のマツ属花粉 1 粒ずつの DNA 分析により示された花粉長距離輸送の可能性 第 7 回大気バイオエアロゾルシンポジウム 滋賀県立大学 (滋賀県彦根市) 2013 年 2 月 1 日
6. Nakazawa, F., J. Uetake, Y. Suyama, R. Kaneko, N. Takeuchi, K. Fujita, H. Motoyama, S. Imura and H. Kanda, DNA analysis for section identification of a pine pollen grain from the Belukha glacier, Altai Mountains, Russia, Third International Symposium on the Arctic Research 日本科学未来館 (東京都江東区) 2013 年 1 月 17 日
7. 中澤文男, 陶山佳久, 竹内望, 藤田耕史, 伊村智, 本山秀明 ベルー八氷河中のマツ属花粉 1 粒ずつの DNA 分析によって明らかになった花粉の長距離輸送 第 35 回極域気水圏シンポジウム 国立極地研究所 (東京都立川市) 2012 年 11 月 29 日
8. 中澤文男, 陶山佳久, 竹内望, 藤田耕史, 伊村智, 本山秀明 ベルー八氷河中のマツ属花粉 1 粒ずつの DNA 分析から導き出された花粉長距離輸送の可能性 雪氷研究大会(2012・福山) 福山市立大学(広島県福山市) 2012 年 9 月 26 日
9. Nakazawa, F., Y. Suyama, N. Takeuchi, K. Fujita, S. Imura, H. Kanda and H. Motoyama, DNA analysis for identification of a *Pinus* pollen grain at subsection level from the Belukha glacier, Altai Mountains, Russia, 13th International Palynological Congress and 9th International Organisation of Palaeobotany Conference - IPC/IOPC 2012 東京都文京区 2012 年 8 月 28 日
10. 中澤文男 氷河・氷床に含まれる花粉を利用した研究について 日本第四紀学会 2012 年大会 (埼玉) 公開シンポジウム「氷床コア等から得られる第四紀環境情報」 2012 年 8 月 22 日
11. 中澤文男, 陶山佳久, 竹内望, 藤田耕史, 伊村智, 神田啓史, 本山秀明 垂節レベルでの同定を目的としたベルー八氷河中のマツ属花粉 1 粒ずつの DNA 分析 日

本地球惑星科学連合大会 千葉県千葉市

2012年5月25日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中澤 文男 (NAKAZAWA FUMIO)

大学共同利用機関法人情報・システム研究

機構 (新領域融合研究センター、DBCLS)

・ 研究員

研究者番号：80432178

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者