

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		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をめざして—			
研究テーマ (欧文) AZ		DNA analysis of a single pollen grain in glaciers for reconstruction of paleoenvironments using pollen's genetic information			
研究氏 代 表 名 者	カカナ CC	姓) ナカザワ	名) フミオ	研究期間 B	2009～2011年
	漢字 CB	中澤	文男	報告年度 YR	2011年
	ローマ字 CZ	Nakazawa	Fumio	研究機関名	国立極地研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		国立極地研究所 新領域融合研究センター・融合プロジェクト特任研究員			
概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)					
<p>本研究では、氷河に含まれるマツ属花粉1粒ずつをDNA分析し、その塩基配列情報をもとに属より下位の階級で同定するための手法開発に取り組んだ。従来の花粉の分類は、その形態をもとになされており、形態の類似した近縁種の識別は難しく、属あるいは科レベルでの識別に留まる場合が多かった。マツ属については、その下位の階級には、2亜属、4節、17亜節、約111種が存在するものの、花粉の識別は属レベルに留まっていた。</p> <p>これまでの成果としては、ロシアのベルーハ氷河から採取した表層雪試料をもちいて、そこに含まれるマツ属花粉1粒ずつをPCRし、節レベルで同定することに成功した。PCRは、葉緑体DNA上の遺伝子領域(<i>rpoB</i>の一部、149bp)を増幅対象とした。計105粒の花粉で実験をおこなったところ、8粒から塩基配列を取得することができた。本研究で取得した塩基配列は、4つの節(<i>Quinquefoliae</i>・<i>Parrya</i>・<i>Trifoliae</i>・<i>Pinus</i>)のうち、全て <i>Quinquefoliae</i> 節のものであった。ベルーハ氷河周辺には現在、<i>Quinquefoliae</i> 節に属するシベリアマツ(<i>Pinus sibirica</i>)が分布しており、この一致は、ベルーハ氷河に飛来する花粉が周辺に分布するマツ属起源であることを示唆した。</p> <p>また、今後本手法をアイスコア(氷河掘削によって得られる氷の円柱状試料)中の花粉に適用するために、ベルーハ氷河で採取したアイスコアをもちいて、そこに含まれる花粉のDNA残存について調べた。実験には、2003年と1965年の層から抽出したマツ属花粉を使用した。花粉を核酸染色液(SYBR Gold)で染色したところ、双方の花粉とも生殖核が明瞭に観察でき、花粉内にDNAが残存していることが確認された。また、経年変化に伴う染色の差異は特に見られず、DNAの保存は良好であると考えられた。本実験により、花粉1粒ずつのDNA解析がアイスコア研究においても展開できることが示唆された。</p>					
キーワード FA	花粉	DNA	氷河		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Establishing the Timing of Chemical Deposition Events on Belukha Glacier, Altai Mountains, Russia, Using Pollen Analysis							
	著者名 ^{GA}	Nakazawa F., and 7 authors	雑誌名 ^{GC}	Arctic, Antarctic, and Alpine Research					
	ページ ^{GF}	66~72	発行年 ^{GE}	2	0	1	1	巻号 ^{GD}	Vol. 43(1)
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

This study attempted to develop a method that analyze DNA of a single *Pinus* pollen grain extracted from glaciers and enable identification of the taxon below the genus level using the obtained sequence. Modern pollen analysis has been carried out based on pollen morphology. Identification of related species with the analysis is therefore difficult and is limited primarily to genus or family. For *Pinus*, which is a taxon with approximately 111 recognized species in two subgenera, four sections and 17 subsections, the identification has been done at genus level.

The present study attempted to analyze the DNA of *Pinus* pollen grains extracted from surface snow collected from Belukha glacier in Russia. A 149-bp *rpoB* fragment from the chloroplast genome in each *Pinus* pollen grain was amplified by polymerase chain reaction, and DNA products were sequenced to identify them at the section level. A total of 105 pollen grains were used for the test, and sequences were obtained from eight grains. From the sequences obtained, the pollen grains were identified to be part of section *Quinquefoliae* within four sections namely *Quinquifoliae*, *Parrya*, *Trifoliae* and *Pinus*. Trees of species *Pinus sibirica* in section *Quinquefoliae* are found to be present surrounding the glaciers. The consistency of the results for this section suggests that the pollen in the glacier originated from the same *Pinus* trees that are found in the surroundings.

To extend the present method to ice core study in the future, presence of DNA in *Pinus* pollen collected from an ice core from Belukha glacier was examined. *Pinus* pollen grains from the 2003 and 1965 ice core layers were stained with SYBR Gold. The fluorescent staining of pollen grains from both layers clearly demonstrated persistence of DNA in the generative nucleus. Disappearance of DNA over time was seldom observed. The present results indicate that pollen grains have been preserved under conditions favorable for the preservation of DNA. Future analysis of pollen DNA from the Belukha ice core is expected to be successful.