

氏名	李 沁潼(Qintong LI)		
学位の種類	博 士 ( 生物科学 )		
学位記番号	博 甲 第 7784 号		
学位授与年月日	平成 28年 3月 25日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Study on Biological Characteristics of Ammonia-oxidizing Archaea in the Ocean (海洋性アンモニア酸化古細菌の生理生態特性に関する研究)		
主査	筑波大学准教授	博士 (理学)	内海 真生
副査	筑波大学教授	理学博士	中村 幸治
副査	筑波大学教授	博士 (学術)	中島 敏明
副査	筑波大学准教授	博士 (生物工学)	楊 英男

## 論 文 の 要 旨

地球上の窒素循環において、微生物による硝化と脱窒による生物圏への大気中窒素の取り込みと放出は最も大切な要素である。中でもアンモニア態窒素を硝酸へと酸化するアンモニア酸化プロセスは硝化の律速反応と考えられている。アンモニア酸化反応はこれまでアンモニア酸化細菌 (AOB: Ammonia Oxidizing Bacteria) によって行われていると考えられていたが、アンモニア酸化古細菌 (AOA: Ammonia Oxidizing Archaea) も生物圏に広く分布し、重要な役割を担っていることが認識されるようになってきた。また、近年、海洋中・深層に化学合成独立栄養性の古細菌が広く分布していることが細菌細胞膜脂質の同位体解析研究などから指摘されるようになり、その大部分がAOAではないかとの予測があり、海洋中深層の窒素循環や炭素循環にAOAが果たしている役割について明らかにする研究の推進が求められている。しかしながら、海洋中深層のAOAの分布や生理生態的特性は未だ明らかになっていない部分が多いため、本研究では特に研究の進んでいない北極海、北太平洋域水柱におけるAOAの分布や生理生態学的特性を明らかにすることを試みた。

太平洋側北極海調査航海 (MR10-05; 2010年9月~10月) で採取した水深5-3,828 mの試料、北太平洋調査航海 (MR14-04; 2014年7月~8月) で採取した水深0-5,319 mの試料、駿河湾調査 (SB15-01; 2015年7月) で採取した水深10-1,500 mの試料、を実験に供した。各試水をフィルターにろ過し、フィルターより細菌DNA、RNAを抽出した後、アンモニア酸化に関する機能遺伝子である*amoA*、16S rDNA、尿素利用に関する機能遺伝子である*ureC*等の遺伝子コピー数をリアルタイムPCRにより定量的に測定した。同時に、各水深の物理化学的環境因子 (水温、pH、塩分濃度、栄養塩濃度等) も測定し、*amoA*コピー数等の分布との関係性について解析を行った。

太平洋側北極海に関して、分析した16調査点すべての調査点および水深にAOAの*amoA*が検出され、コピー数水深100 mで最大となり水深が深くなるにつれ減少する垂直分布を示すことが判明した。この垂直分布特性は、16S rDNAの垂直分布特性 (表層が最大で水深が増すにつれ減少する) AOBの*amoA*垂直分布特性 (表層から深層までほとんどコピー数が変化しない、AOAの*amoA*コピー数よりも2桁小さい) と大きく異なっていた。また、AOAの*amoA*塩基配列解析から、表層と中・深層のAOAが分類学的に異

なっており、多様性も高いことが判明した。各種環境因子とAOAの分布に関する関係性についてRDA解析を行ったところ、りん酸塩、無機態炭素濃度と関係性があることが認められた。

北部太平洋および駿河湾に関しても分析したすべての調査点および水深でAOAの*amoA*が検出された。コピー数は北部太平洋では北極海と同様水深100 mで最大を、駿河湾では50mで最大を示し、AOAの*amoA*コピー数の垂直分布パターンはすべての海域でほぼ同じであった。また、cDNAより求めた*amoA*転写産物の垂直分布はコピー数については $10^2$ 程小さいが、*amoA*のそれと同じパターンを示していた。3つの海域で最大値を示す水深が異なっていた理由として、AOAの光感受性と海域の栄養度が関係していること、また、アンモニア態窒素の代替物質となる尿素の利用可能性について解析した結果、すべての海域で可能性は小さいことが判明した。

## 審 査 の 要 旨

本論文は「海洋性アンモニア酸化古細菌の生理生態特性に関する研究」と題して、硝化反応の律速となるアンモニア酸化について、海洋での主な担い手であるアンモニア酸化古細菌（AOA）の海洋分布および生理生態学的特性を北極海、北太平洋、駿河湾という温帯から寒帯にわたる海域で調査研究したものである。地球上の窒素循環は、そのバランスが崩れつつあることが指摘されている、現在最も注目されている研究対象の1つであり、中でも本論文で行った北極海や海洋中・深層はこれまでほとんど研究が行われておらず、非常に重要度の高い研究課題である。

著者は、寒帯から温帯までの網羅的な調査点の表層から底泥直上の海水試料を用い、AOAおよびAOBの*amoA*コピー数の垂直分布特性を明らかにした他、各種環境因子との関係性解析も多数のデータを用いて行っている。その結果、研究した3つの海域全てでAOAの*amoA*コピー数の垂直分布特性が同じであること、海洋においてはAOAがアンモニア酸化の主要な担い手であること、AOAの分布には光環境やりん酸塩、無機態炭素濃度が影響を及ぼすこと、などの重要な成果を得ている。これまで有光層である海洋表層部のAOAの*amoA*コピー数に関する情報は存在していたが、本研究で得られた広範囲の海洋中深層の各種遺伝子コピー数情報は、海洋のアンモニア酸化を含む硝化反応や窒素循環の解明に資する非常に重要で新規の知見を多く含む成果であると言える。

平成28年1月25日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。