

「地球冷却微生物を探せ」 分析結果レポートの見方

ver. 2.1



気体分析レポート

レポートファイル

レポートファイルは「Gas_ExpXXXX_YYMMDD」という名前で、htmlとpdfの2種類があります（YYMMDDはレポートが作成された日付）。

pdfファイルは、ダウンロードしても、そのままブラウザ上でも閲覧できます。htmlファイルは、PCにダウンロードした後、普段お使いのウェブブラウザアプリ（Google Chrome, Safariなど）で開いてください。

インタラクティブな図の見方（図2, htmlのみ）

グラフをダウンロードしたい

グラフの右側にあるツールバーの「download plot as a png」をクリックしてください。

注目した領域を詳しく見たい

ツールバーの「Zoom」をクリックして、グラフ上の注目したい領域をドラッグで選択してください。表示領域を左右上下に移動したい場合は、ツールバーの「Pan」をクリックしてください。表示領域を初期に戻したい場合は、ダブルクリックまたはツールバーの「Reset Axes」をクリックしてください。

ズームイン・ズームアウトしたい

ツールバーの「+ (Zoom in)」 「- (Zoom out)」を押してください。表示領域を初期に戻したい場合は、ダブルクリックまたはツールバーの「Reset Axes」をクリックしてください。

データの値を見たい、比較したい

ツールバーの「Show closest data on hover」をクリックしてください。グラフ上でマウスオーバーする（データにカーソルを乗せる）とサンプル名や値が表示されます。また「Compare data on hover」をクリックすると、縦に並んだ全てのデータの値を見ることができます。

注目したサンプルだけのグラフにしたい

右側の凡例からサンプルをクリックすることで、グラフに表示するサンプルを選択できます。ツールボックスから「Autoscale」をクリックすると、表示されたサンプルに対して適切な領域が表示されます。表示領域を初期に戻したい場合は、ダブルクリックまたはツールバーの「Reset Axes」をクリックしてください。

インタラクティブな表の見方（表1, 2, htmlのみ）

表が見切れている場合は、左右にスライドすることで表示領域を変えることができます。注目した要素で表を並べ替えたいときは、表の1行目にある▼をクリックしてください。

気体分析レポート

Soil in a Bottle 気体分析の結果

ゲスト

SOIL IN A BOTTLE 気体分析の結果

実験参加者（代表者）のお名前
武羅泥 雷蔵 様

作成日: YYYY-MM-DD

サンプルが東北大学に到着してから、
7〜14日でデータをお返しします。

実験にご協力ありがとうございます。本レポートではバイアル中の気体分析結果をお返します。

1. 土からのN₂O放出・吸収速度

1-1. 土を採取した場所

土のサンプルを採取していただいた場所を地図上に示しています。

データシートに記載された緯度・経度をもとに、地図上にプロットしています

図1 土を採取した場所の地図

1-2. 各サンプルの分析結果

土を入れた瓶の中のN₂O濃度を分析した結果をグラフで示します。グラフ内の点線は、近似直線です。

400

Sample

気体分析レポート



図1 土を採取した場所の地図

1-2. 各サンプルの分析結果

土を入れた瓶の中の N_2O 濃度を分析した結果をグラフで示します。グラフ内の点線は、近似直線です。

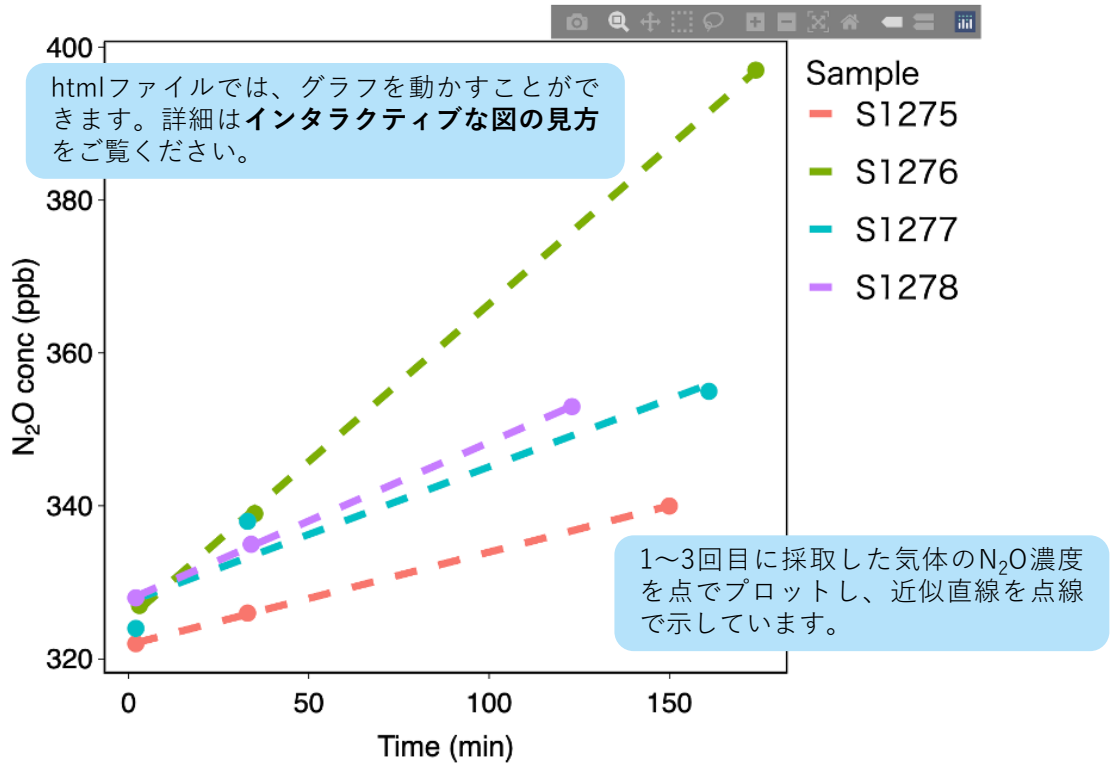


図2 瓶の中の N_2O 濃度の時間変化

図2のグラフ (近似直線) の傾きを元に、 N_2O の放出速度を算出しました。値が正 (+) のときは放出、負 (-) のときは吸収です。

表1 各土壌サンプルの情報と N_2O 放出速度

土	日時	住所	採取場所	*1	*2	*3	気温 (°C)	湿度 (%)	pH	水分 (%)
				↑ N_2O	$\Delta \text{N}_2\text{O}$	R2				
S1275	2022-04-12 15:20	京都府宇治市五ヶ庄	お1_温室横	0.45	18.33	1.00	27.8	39	6.31	n.d.
	2022-04-13	京都府京都市左京区								

気体分析レポート

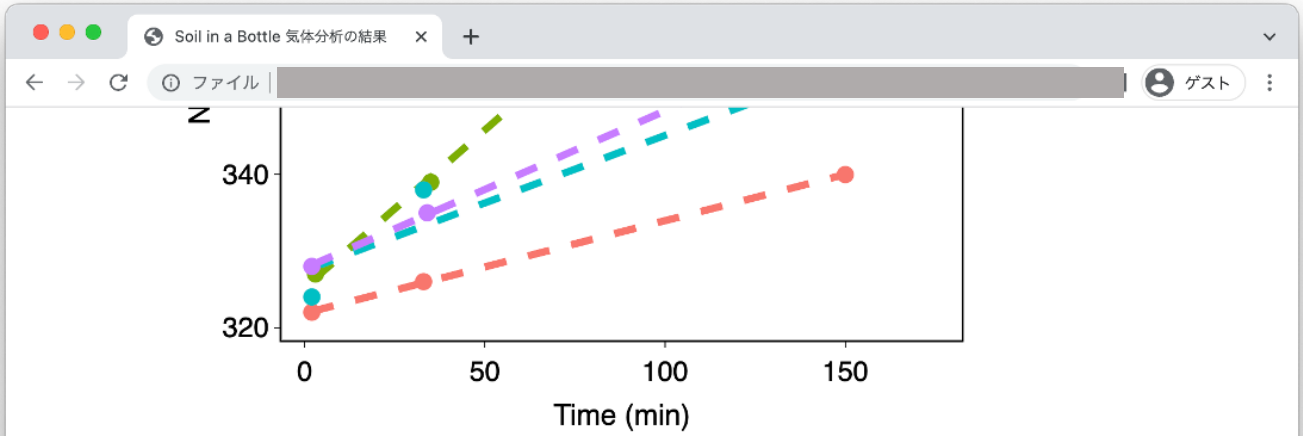


図2 瓶の中のN₂O濃度の時間変化

図2のグラフ (近似直線) の傾きを元に、N₂Oの放出速度を算出しました。値が正 (+) のときは放出、負 (−) のときは吸収です。

表1 各土壌サンプルの情報とN₂O放出速度

データシートに記載された情報を元に土壌サンプルの情報を示しています。

土	日時	住所	採取場所	N ₂ O放出速度			気温 (°C)	湿度 (%)	pH	水分 (%)
				*1 ↑ N2O	*2 ΔN2O	*3 R2				
S1275	2022-04-12 15:20	京都府宇治市五ヶ庄	お1_温室横	0.45	18.33	1.00	27.8	39	6.31	n.d.
S1276	2022-04-13 07:07	京都府京都市左京区吉田二本松町	お2_中庭	1.59	70.10	1.00	22.7	58	6.74	n.d.
S1277	2022-04-13 07:23	京都府京都市左京区吉田二本松町	お3_道路脇の木の根元	0.51	30.92	0.92	22.2	58	6.38	n.d.
S1278	2022-04-13 10:30	京都府京都市左京区吉田近衛町69	お4_建物の間	0.65	24.64	1.00	33.1	40	6.64	n.d.

Showing 1 to 4 of 4 entries

Previous1Next

*1 N₂O放出速度。マイナスの場合はN₂O吸収。単位はnmol m⁻² h⁻¹。
*2 N₂O濃度の変化幅 (最大値－最小値)、単位はppb。現在、ΔN2Oが11.4未満の場合は「N₂O放出速度=0」としている。
*3 図2の近似直線のR² (決定係数)。現在、R2が0.7未満の場合は「無効 (N₂O放出速度なし)」としている。

htmlファイルでは、表を動かすことができます。詳細は **インタラクティブな表の見方** をご覧ください。

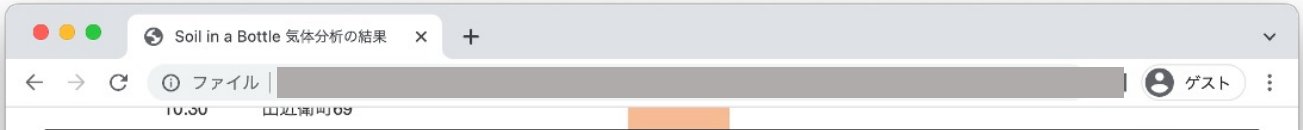
2. 空気中のN₂O濃度

2-1. 空気を採取した場所

空気を採取していただいた場所を地図上に示しています (記載された緯度経度が同じ場合はすべて同じ地点)。



気体分析レポート



Showing 1 to 4 of 4 entries Previous 1 Next

- *1 N₂O放出速度。マイナスの場合はN₂O吸収。単位はnmol kg⁻¹ h⁻¹。
- *2 N₂O濃度の変化幅 (最大値-最小値)、単位はppb。現在、ΔN₂Oが11.4未満の場合は「N₂O放出速度=0」としている。
- *3 図2の近似直線のR² (決定係数)。現在、R²が0.7未満の場合は「無効 (N₂O放出速度なし)」としている。

2. 空気中のN₂O濃度

2-1. 空気を採取した場所

空気を採取していただいた場所を地図上に示しています (記載された緯度経度が同じ場合はすべて同じ地点)。



図3 空気を採取した場所の地図

2-2. 採取した空気中のN₂O濃度

各地点、日時ごとに採取した空気の情報とN₂O濃度を表で示しています。

表2 各サンプルの情報とN₂Oの濃度

気体分析レポート

Soil in a Bottle 気体分析の結果

ゲスト

2-2. 採取した空気中のN₂O濃度

各地点、日時ごとに採取した空気の情報とN₂O濃度を表で示しています。

表2 各サンプルの情報とN₂Oの濃度

Show 30 entries

Search:

N₂O濃度

地点	日時	場所	緯度, 経度	気温 (°C)	湿度 (%)	N ₂ O (ppb)
1	2022-04-12 15:21	京都府宇治市五ヶ庄 (お1_温室横)	34.9088164 , 135.8022252	27.8	39	321.7
2	2022-04-12 15:50	京都府宇治市五ヶ庄 (お1_温室横)	34.9102189 , 135.8023744	29.6	39	323.9
2	2022-04-12 15:53	京都府宇治市五ヶ庄 ()	34.9102189 , 135.8023744	29.6	39	328.6
3	2022-04-12 17:49	京都府京都市南区東九条上殿田町44-1 (お1_温室横)	34.9831772 , 135.7586769	27.0	43	324.5
4	2022-04-13 10:31	京都府京都市左京区吉田近衛町69 吉田寮 (お4_建物の間)	35.0224697 , 135.7800933	33.1	40	326.8
5	2022-04-13 07:24	京都府京都市左京区吉田二本松町 (お3_道路脇の木の根元)	35.0240683 , 135.7812024	22.2	58	332.5
6	2022-04-13 07:08	京都府京都市左京区吉田二本松町 (お2_中庭)	35.0241745 , 135.7804051	22.7	58	321.7
6	2022-04-13 07:41	京都府京都市左京区吉田二本松町 (お2_中庭)	35.0241745 , 135.7804051	22.1	66	322.3
6	2022-04-13 07:54	京都府京都市左京区吉田二本松町 (お3_道路脇の木の根元)	35.0241745 , 135.7804051	22.1	66	324.3
7	2022-04-13 09:59	京都府京都市左京区吉田二本松町 (お2_中庭)	35.0246334 , 135.7808245	23.2	63	326.4
7	2022-04-13 10:02	京都府京都市左京区吉田二本松町 (お3_道路脇の木の根元)	35.0246334 , 135.7808245	23.5	63	332.5
8	2022-04-13 11:03	京都府京都市左京区吉田二本松町 宮下研 (お4_建物の間)	35.0247033 , 135.7807528	25.5	53	325.4
8	2022-04-13 11:04	京都府京都市左京区吉田二本松町 宮下研 ()	35.0247033 , 135.7807528	25.5	53	336.8
8	2022-04-13 12:32	京都府京都市左京区吉田二本松町 宮下研 (お4_建物の間)	35.0247033 , 135.7807528	23.9	53	327.1

Showing 1 to 14 of 14 entries

htmlファイルでは、表を動かすことができます。詳細はインタラクティブな表の見方をご覧ください。

Previous

1

Next

レポートに関するお問い合わせはSocial in a Bottleから: <https://dsoil.jp/soil-in-a-bottle-community/>

微生物分析レポート

レポートファイル

レポートファイルは「Microbiome_ExpXXXX_YYMMDD」という名前のフォルダの中にあります（2つのpdfファイルと4つのhtmlファイル）。

pdfファイルは、ダウンロードしても、そのままブラウザ上でも閲覧できます。htmlファイルは、PCにダウンロードした後、普段お使いのウェブブラウザアプリ（Google Chrome, Safariなど）で開いてください。

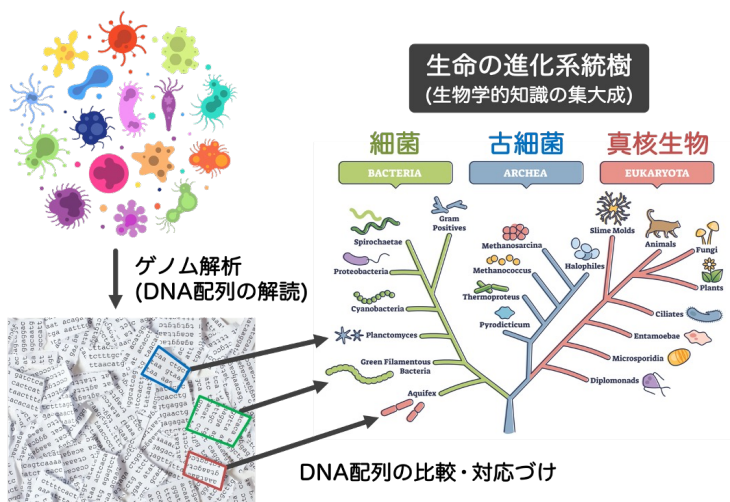
微生物分析の概要

微生物叢（Microbiota）とは、ヒトや動物、植物などの生物回りや土壌、水、大気などの環境中に存在する多様な微生物の集合体です。微生物には、真正細菌と古細菌、真菌や微細藻類、原生動物などの真核生物、それに非細胞性生物群のウイルスやウイロイド、ファージなどが含まれています。身近な例では、私たちヒトの場合、消化器、皮膚、口腔、鼻腔、呼吸器、生殖器など外部環境と接するあらゆる場所に微生物が生息しそれぞれ特有の微生物叢を形成しており、全体でおよそ1000種、数十兆個の微生物が生息しているといわれています。

土壌は、自然界の中でも最も多様な微生物が存在し複雑な微生物叢が形成されていると考えられており、採取いただいた土壌を解析することで、新たな土壌微生物の発見や農業・環境改善に寄与しうる微生物叢に関する知見の蓄積が期待できます。このレポートでは、採取いただいた土壌サンプルの微生物叢を**アンプリコンシーケンス（Amplicon Sequencing）**という手法で分析した結果をご報告いたします。

アンプリコンシーケンスでは**次世代シーケンサー（Next-Generation Sequencer, NGS）**を利用し、**ポリメラーゼ連鎖反応（Polymerase Chain Reaction, PCR）**で増幅した「特定のゲノム領域」のDNA塩基配列を解析します。本プロジェクトでは「特定のゲノム領域」として、**(i) 進化系統分類のための指標である16S rRNA遺伝子**、**(ii) N₂Oを削減する（≒地球を冷却する）機能の指標である *nosZ* 遺伝子**（次項コラム参照）の2種類を対象としています。

塩基配列を取得した後は、これまでの生物学の知識の集大成である大規模な**塩基配列データベース**を参照して、サンプル中にどんな微生物が含まれていたのかを推定します[右図]。



微生物分析レポート

土壌サンプル中の微生物組成（微生物叢）

まずはじめに、ご提供いただいた土壌にどのような微生物が含まれていたのか、**微生物の組成（Microbial Profile）**を確認してみましょう。生物の進化系統分類のための指標として広く活用されている16S rRNA遺伝子とN₂Oを削減する機能の指標である*nosZ* 遺伝子を対象としてアンプリコンシークエンスを実施し、得られたデータから微生物の組成を推定しました。

現在、一般的に採用されている生物の分類体系では、全ての生物は**界（かい、Kingdom）・門（もん、Phylum）・綱（こう、Class）・目（もく、Order）・科（か、Family）・属（ぞく、Genus）・種（しゅ、Species）**の7つの階級に沿って命名・分類されています [下図]。



16S rRNA遺伝子を対象とした解析結果について、「[ExpXXXX_16Sv3v4_Class.html](#)」では比較的大まかな分類階級として **綱（こう、Class）** に着目、「[ExpXXXX_16Sv3v4_Genus.html](#)」では比較的小さい分類階級として **属（ぞく、Genus）** に着目した**微生物の組成**をそれぞれ示しています。

また、「[ExpXXXX_nosZC1_Genus.html](#)」と「[ExpXXXX_nosZC2_Genus.html](#)」ではそれぞれ*nosZ* 遺伝子のクレード1とクレード2を対象に、**属（ぞく、Genus）** に着目した**微生物の組成**を示しています。

関心を持ったバクテリアの特徴などについてインターネットなどで調べてみましょう。

微生物分析レポート



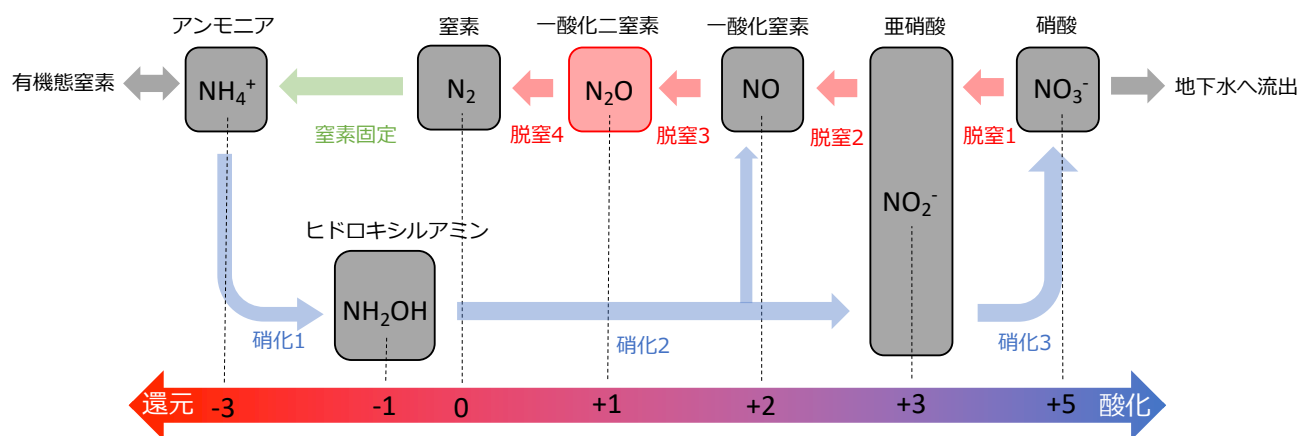
コラム

窒素は循環する 窒素原子は最も還元された状態（-3）のアンモニア、最も酸化された状態（+5）の硝酸など、様々な状態で環境中に存在している。微生物は酸化反応や還元反応を通して、生態系における窒素の循環に関与している。非常に多様な反応が知られており、代表的な3種類の反応を紹介する。

窒素固定：一部の微生物は、エネルギーを消費して大気中の窒素ガスをアンモニアに変換すること（窒素固定）ができる。このアンモニアを養分としてアミノ酸、タンパク質などの有機態窒素を合成する。また植物と共生する微生物には、植物から光合成エネルギーをもらいながら窒素固定を行い、アンモニアを植物へ供給できるものもある（例、ダイズ根粒に共生する *Bradyrhizobium* 属細菌など）。人類は工業的に窒素固定（ハーバー・ボッシュ法）できるようになったが、多量の化石エネルギーを消費し、自然の循環を超える窒素を供給していることが大きな問題となっている。

硝化：一部の微生物は、アンモニアを亜硝酸・硝酸に酸化（硝化）した時の酸化エネルギーで生育することができる。硝酸は土壌に保持されにくく、降雨によって地下水に流出してしまう。また硝化の過程で生産された一酸化窒素や亜硝酸が、 N_2O 発生に繋がる場合もある（硝化由来の N_2O 発生）。

脱窒：一部の微生物は、酸素の代わりに硝酸を使って呼吸し、硝酸を窒素ガスまで還元して大気へと放出する（脱窒）。脱窒は4つのステップ（脱窒1から脱窒4）があるが、全てのステップの遺伝子を持つ“完全型”の脱窒菌もいれば、一部の遺伝子を持っていない脱窒菌もある。脱窒の最終ステップ（脱窒4： N_2O から窒素）の遺伝子を持っていない脱窒菌は、窒素まで変換できずに N_2O を大気に放出してしまう。



N_2O 消去遺伝子を調べる 温室効果ガスである N_2O を消去するためには、 N_2O 発生ステップに対して N_2O 消去ステップ（脱窒4）が十分に働く必要がある。このステップは「 N_2O 還元酵素（遺伝子名は *nosZ*）」が行なっている。*nosZ* 遺伝子には大きく分けてクレード1 (clade I) とクレード2 (clade II) の2種類が知られている。クレード1の微生物は脱窒ステップ1-4を全て持っている“完全型”の脱窒菌が多い。一方で、クレード2の微生物は脱窒ステップ2や3の遺伝子を持っていないものも多く、彼らは「脱窒の最終ステップの専門家」なのかもしれない。

日本のどこかにある「 N_2O を消去する土壌」には、どんな *nosZ* 遺伝子を持った微生物がいるのだろうか？

まだまだ謎が多い *nosZ* 遺伝子を調べるには、それぞれの土壌について *nosZ* 遺伝子リストを作る必要がある。この市民科学プロジェクトでは、皆さんに送っていただいた土壌について、クレード1とクレード2のそれぞれの *nosZ* 遺伝子をPCR増幅して、そのDNA配列を読む「アンプリコン解析」を実施する。

微生物分析レポート

土壌サンプル中の微生物種多様性（ α 多様性）

微生物の組成を包括的に分析してわかることの一つに**種多様性**（**Species Diversity**あるいは**Alpha Diversity**）という概念があります。これは、特定の環境（今回は瓶に入れた土壌サンプル）の中に、**どのくらいの数の微生物種が存在するか**、また、**それぞれの微生物種の量的なバランス**はどうなっているかを定量的に評価する試みです。

“どのくらいの数”は、**豊富さ（Richness）**として評価され、

- ・ **Observed ASV** [系統関係を考慮しない]
- ・ **Faith の Phylogenetic Diversity** [系統関係を考慮する]

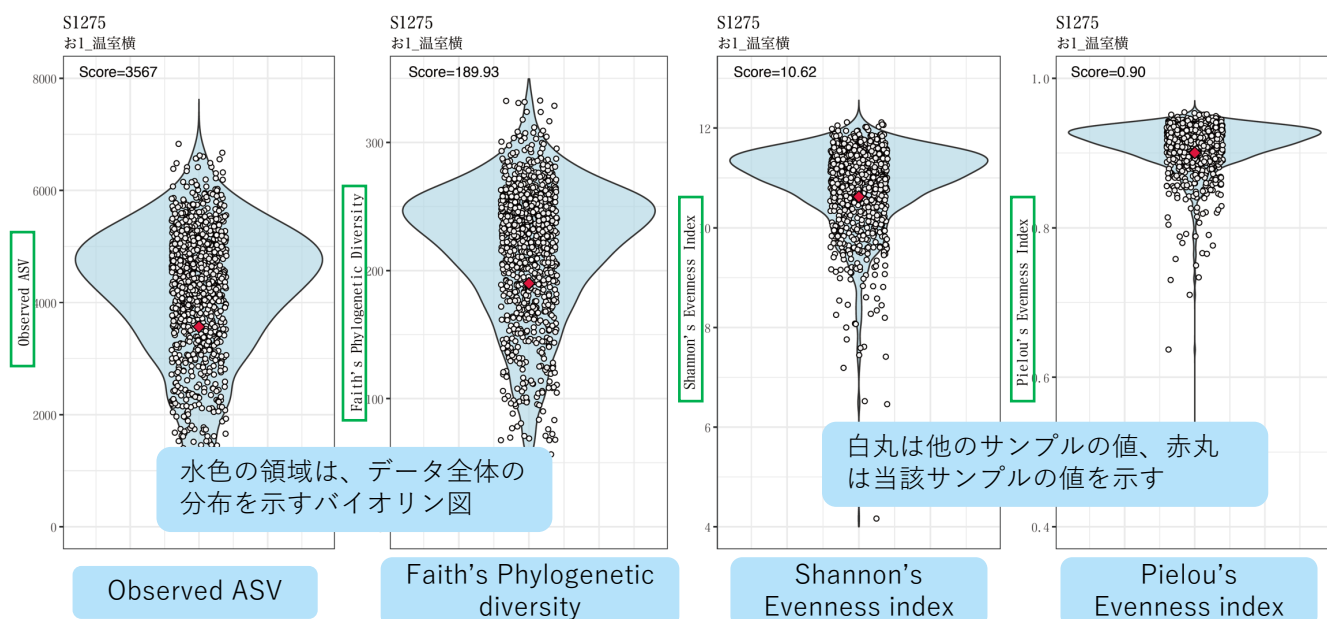
などの指標が提案されています。

“量的なバランス”は、**均等度（Evenness）**として評価され、

- ・ **Shannon の Evenness Index** [情報エントロピーの概念を活用]
- ・ **Pielou の Evenness Index** [Shannonの指標を改良]

などの指標が提案されています。

「ExpXXXX_16Sv3v4_AlphaDiversity.pdf」では、提供いただいた土壌サンプルの種多様性をまとめています。ページごとに各土壌サンプルで計算した上記4つの指標を示します [下図]。どの指標も値が大きいほど「種多様性（豊富さや均等度）が高い」と見なせます。一般的に「**多様な性質をもつ個体が存在すれば、様々な環境変化に対応できる**」という観点で、種多様性は高い方が望ましいと考えられています。



微生物分析レポート

土壌サンプル間の微生物叢の類似性（ β 多様性）

異なる場所や環境同士で微生物の組成がどれくらい似ているか、違っているか、すなわち**微生物叢の類似度**（専門的には **Beta Diversity**）を評価しました。微生物叢の類似性を定量的に評価する指標は複数提案されていますが、今回は代表的な指標である UniFrac 距離（UniFrac Distance）を用いて解析を実施しました。

「ExpXXXX_16Sv3v4_BetaDiversity.pdf」では、今までに届いた全てのサンプル間で網羅的に UniFrac 距離を定量し、全サンプルの関係性を主座標分析（Principal Coordinate Analysis）という手法で可視化しました。

