

Point

環境DNA分析は、数リットル程度の水を汲むだけの作業で、生物相やターゲット種の在・不在を調べることができる技術です。従来の捕獲調査の欠点を補完する新しい調査手法として、希少種保全や外来種対策等への活用が期待されています。

環境DNA分析技術の生物調査への応用

環境創造研究所 環境生態部 中村 匡聡

※本報告内容の一部は、国土交通省関東地方整備局常陸河川国道事務所からの委託で実施しました。

はじめに

環境DNAとは、水や土壌といった環境試料中に含まれるDNAのことを指します。環境DNAは、生物から剥離した粘膜や排せつされた糞等に含まれる細胞片がその主な由来であると考えられています。環境中に放出されたDNAは、これまでは検出不可能なレベルにまで速やかに分解されると考えられてきましたが、ウシガエル¹⁾や淡水魚類²⁾を対象とした先駆的な研究により、ある程度の期間環境中に残存していることが知られるようになりました。

水や土壌等から抽出した環境DNAサンプルには、さまざまな生物由来のDNAが含まれています(図1)。環境DNA分析では、これらの個々のDNAの塩基配列を読み取り、データベースと照合することで、サンプルに含まれる生物種を推定します。これまでは複数の生物種のDNAが混合するサンプルで塩基配列を決めるには、非常に煩雑な作業が必要でした。しかし、次世代シーケンサーとよばれる新しい分析装置の登場により、数百種以上の生物由来のDNAが混合したサンプルでも、簡便かつ大量に塩基配列データが得られるようになり、サンプルに含まれるDNAに対する種判別の精度が飛躍的に向上しました。



図1 環境DNAサンプルのイメージ

その他にも、特定の生物種にのみ反応するPCR分析系を組み込むことにより、調査対象とする種の在・不在を簡単に調べることができます。また、定量PCRやデジタルPCRと呼ばれる分析法を適用し、事前に水槽実験等により得られたバイオマス(生物量)とDNA量の相関関係を求

めておくことで、野外で採取したサンプル中のDNA量から調査地点における対象生物種のバイオマスを推定することが可能になりつつあります。

当社における調査実施例(魚類相調査)

河川や海に生息する生物の種類を調べる方法としては、投網等の道具を使った捕獲調査や、潜水による観察調査等が一般的です。しかし、網の操作を習熟するまでにはかなりの経験が必要であり、かつ、調査員の技量は調査結果に大きな影響を及ぼすと言われています。また、生物多様性に富む日本では、魚類だけでも国内に4,000種以上が生息するとされ、捕獲や潜水観察調査で正確に種を同定するためには、高度に専門的な知識と経験が求められます。

一方、環境DNAによる生物調査では、調査員が行う作業は、多くても数リットル程度の環境水を汲むだけであり、特別な技術を必要としません。また、その後のDNA分析では、用いる手法を標準化しておくことで、調査者間の知識や技術の違いによる結果の変動を最小限に抑えることができます。このような利点から、環境DNAをターゲットとした生物調査は、従来の調査法の欠点を補完できる新しい調査手法として期待されています。

そこで、両手法による調査結果にどのような違いがあるのかを調べるため、実際に関東地方の河川下流域(感潮域)において採捕調査を実施し、その同じ日に河川表層水も採水して(写真1)、環境DNA分析を行いました。環境DNA分析には測定原理が異なる2種類の次世代シーケンサー(機種A、B)を用い、機種による調査結果の違いについても検討しました。



写真1 環境DNAサンプルの採水

その結果、採捕調査では13種の魚類が確認されました。対して、環境DNA分析では、機種Aで5種、機種Bで26種が検出され、同じサンプルでも次世代シーケンサーの機種によって調査結果に違いが出るようになりました(図2)。

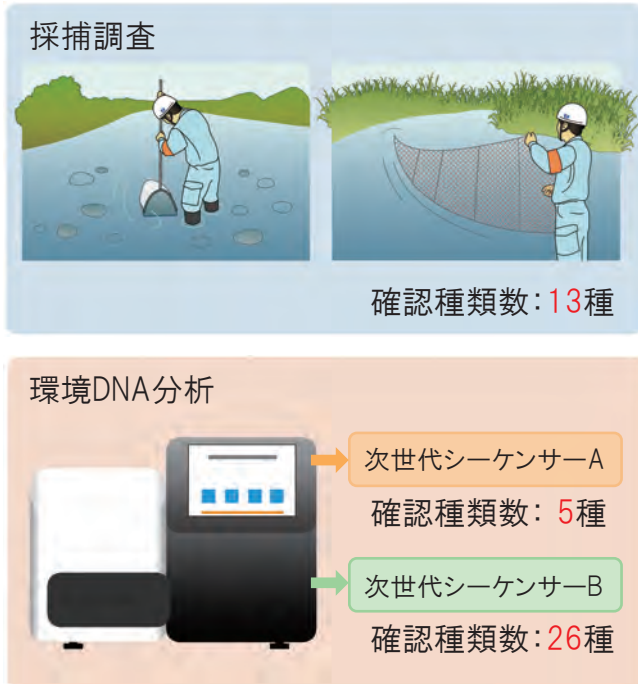


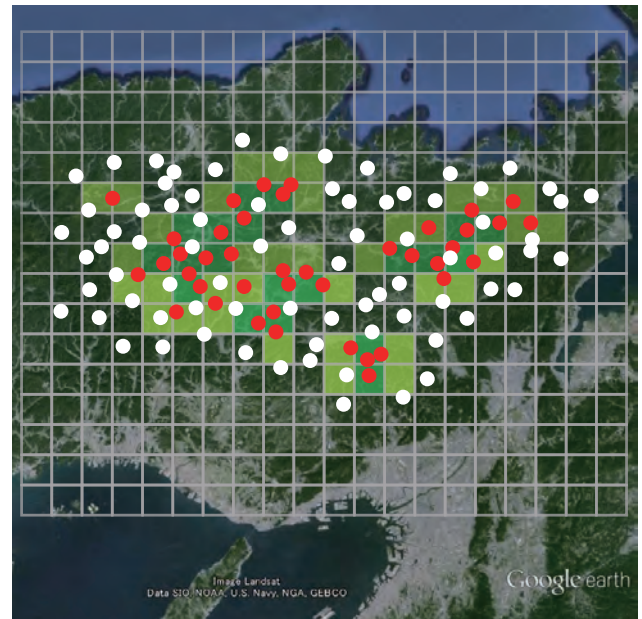
図2 採捕調査と環境DNA分析の結果比較

環境DNA分析では、ウツセミカジカやミナミメダカ等採捕調査では確認されなかった希少種も検出されたことから、本手法が魚類相の調査方法として、非常に有効な技術となることが示されました。なお、採捕調査で確認された13種のうち約半数(7種)は、環境DNA分析では検出されておらず、本手法で魚類相を完全に把握するためには、さらなる検討が必要であると考えられました。

その他の応用(最新の研究事例から)

環境DNAサンプルは、分析手法の組み合わせによって、さまざまな調査に応用することが可能です。例えば、Takahara et al.(2012)³⁾では、コイを対象として、水槽および池での実験データをもとに、環境DNA濃度とバイオマスの相関式を求め、野外調査で採取した環境水サンプルから求めたコイのDNA濃度からその生物量分布を推定しています。また、日高ら(2016)⁴⁾のように、国の特別天然記念物であるオオサンショウウオを対象として、数百地点に及ぶ広範囲にわたって網羅的に環境DNA分析を実施し、本種の在・不在データを種の分布モデル(例えば

MaxEnt等)に適用することで生息適地を推定する研究も行われています(図3)。



丸印は環境DNA分析の調査地点、赤は検出(在)、白は非検出(不在) 緑のグリッドは生息適地を示す

図3 種の分布モデルによる生息適地推定結果のイメージ

おわりに

環境DNA分析は、生態系の調査に幅広く応用できる技術として注目されています。しかし、環境DNAが環境中でどのような状態で存在し、放出源からどの程度拡散され、どのくらいの時間残存するのかという重要な点については、少しずつ知見が蓄積されつつありますが、まだ未解明の部分があります。また、分析手法についても、環境水をろ過するフィルターの孔径やDNAの抽出方法、DNA増幅条件(例えばPCRプライマー)等が標準化されておらず、技術開発が進められています。

当社では、これまでに培ってきたDNA分析技術を応用し、環境DNA分析についても調査から分析・データ解析まで一貫して実施できる体制を整えました。今後は、希少種保全や外来種対策のベースとなる調査技術として積極的に活用するとともに、深海域や高放射線量地域等従来の生態系調査手法では実施困難とされるエリアへの応用等を検討しています。

〔引用文献〕

- 1) Ficetola et al. (2008), Species detection using environmental DNA from water samples, *Biology Letters* 4, pp.423-425
- 2) Minamoto et al. (2012), Surveillance of fish species composition using environmental DNA, *Limnology* 13, pp.193-197
- 3) Takahara et al. (2012), Estimation of fish biomass using environmental DNA, *Plos One* 7, e35868
- 4) 日高ら(2016), 環境DNA分析手法を用いたオオサンショウウオ(*Andrias japonicus*)の広域調査, 日本生態学会第63回大会講演要旨