

# 環境 DNA 分析の現状

東北大学女川フィールドセンター 池田 実

## 1. はじめに

環境 DNA 分析とは、海洋水や河川水に含まれる微量の DNA を抽出して、分子生物学的な手法により、そこに生息する生物種を検出する技術である。水中の微生物（バクテリアや微細藻類など）を同様の手法で検出することは 1990 年代から行われてきたが、最近では魚類や甲殻類を含む様々な水生生物種の検出が可能となってきた。この分析法により、生物の採集を行うことなく「バケツ一杯」あるいはもっと少ない量の水を現場から採水するだけで、その場所における対象種の存在や生物相を把握できる。このような環境 DNA 分析は、「シナイモツゴ郷の会」が行っているシナイモツゴやゼニタナゴなどの絶滅危惧種の生息状況のモニタリングや、ブラックバスやアメリカザリガニを含む侵略的外来種の存在および駆除状況のモニタリングを行う上でも有効であろう。本講演では、環境 DNA 分析の現状について、いくつかの研究事例を紹介し、その利点と考慮すべき点について整理する。

## 2. 環境 DNA の検出法

環境 DNA という言葉からは、二重らせん状の DNA が水中を漂っているイメージを受けるが、実際には水中で動物から排泄された糞尿あるいは剥落した皮膚や粘液中に含まれる細胞片に由来している。水中に漂う細胞片をフィルターでこしとり、DNA を抽出した後、PCR で分析可能な量まで増幅し検出する。2008 年にフランスで侵略的外来種として問題になっているウシガエルの生息調査に環境 DNA 分析が適用され、その有効性が示されたことが先駆となっている。その後、甲殻類、軟体動物、爬虫類や魚類、さらに水草など幅広い分類群において環境 DNA 分析が適用されるようになった。また、単一種の検出のみならず、複数種の同時検出も可能で、対象水域の種多様性についてもモニタリングできることが示されている。

環境 DNA 研究で採用されている DNA の検出方法は、以下の 4 種類である。

- 1) 電気泳動による PCR 増幅産物の判別
- 2) リアルタイム PCR
- 3) デジタル PCR
- 4) メタバーコーディング

これらのうち、1) ~ 3) は主に単一種の検出に用いられる。いずれの場合であっても、対象種の DNA だけを確実に PCR で増やすことのできる種特異的な

プライマーセットの開発が必要となる。一方、4)のメタバーコーディングは、対象とする分類群が共通して持つ DNA 塩基配列に特異的な汎用（ユニバーサル）プライマーを用いる。このプライマーによって環境 DNA サンプル中に含まれる対象分類群の DNA を全て増幅し、それらを次世代シーケンサーで読み取って、配列を DNA データバンクに登録されているデータベースと参照することで種の同定を行う。2015年に日本人研究者により、魚類の種レベルの解像度を持つ DNA 領域を増幅するためのユニバーサルプライマーが開発された。最近では、種組成のみならず、生物量や個体数の把握が試みられつつある。

### 3. 考慮すべき点

環境 DNA 分析が使用され始めてわずか 10 年しか経過していないが、その報告数は年々増加している。採水するだけなので、採集コストを大幅に削減でき、生物およびその環境に対して非侵襲的であることは大きな利点である。その他の利点としては、経験が必要な形態による種同定技術が不要で、生息密度の低い種であっても比較的容易に検出できることが挙げられる。PCR や次世代シーケンサーの解析にかかるコストも安価になっており、いずれ生物多様性のアセスメント（特に水生生物）においては、いずれルーチンワークとして定着することになるだろう。環境 DNA 分析を受託サービスとして請け負う環境調査会社や DNA 解析専門の会社もここ 2、3 年で増加している。とはいえ、環境 DNA 分析によって得られた結果を解釈する上で、以下のような考慮すべき点も指摘されている。

- 1) 存在する生物のすべてを検出できるわけではない
- 2) 対象生物の他にもその近縁種や同じ場所に生息している種の塩基配列情報が必要
- 3) 検出された DNA がいつどこで対象生物から放出されたのかわからない。
- 4) 死亡個体からも DNA は放出される。
- 5) 存在は把握できても体サイズや年齢組成まではわからない。
- 6) 擬陽性や擬陰性（コンタミネーションに起因？）が生じる場合がある。

環境 DNA 分析は優れた技術であることは疑いがない。しかし、新たな種を対象に環境 DNA 分析を行う際には、上記の考慮すべき点を十分に理解しておく必要がある。採水から DNA の検出に至るまでの一連の分析プロトコルの確立、調査水域における対象種群と共存種群の DNA 配列の収集とデータベース化を事前に行っておくことはもちろんだが、野外またはそれに近い環境下において対象種の DNA 検出率について十分な検証を行っておくことが必須である。

注) 講演者は環境 DNA の専門家ではない。そのため当日の講演内容やこの要旨は以下の日本生態学会誌 66 巻に掲載された 2 つの総説に依るところが大きい

ことをお断りしておく。同号には、環境 DNA 分析に関して詳しく解説された総説がその他にも特集として掲載されており、啓発される点が多い。興味のある方には一読を勧める。

- 1) 高原輝彦・山中裕樹・源 利文・土居秀幸・内井喜美子 (2016) 環境 DNA 分析の手法開発の現状～淡水域の研究事例を中心にして～. 日本生態学会誌, **66**: 583-599.
- 2) 山中裕樹・源 利文・高原輝彦・内井喜美子・土居秀幸 (2016) 環境 DNA 分析の野外調査への展開. 日本生態学会誌, **66**: 601-611.