

Point

水や土壌などの試料に含まれているDNAを検出することにより、現場で捕獲や観察を行わずに生息している種を把握することができます。また、特定の種のDNA濃度を測定して生息量を推定することができます。生物多様性の保全や環境影響評価などさまざまな生物調査への活用が期待されている環境DNA分析技術について、当社の取り組みをご紹介します。

## 環境DNA分野に関するいでの取り組み

環境創造研究所 遺伝子解析室

### 環境DNA分析の概要

環境DNAとは、水や土壌といった環境試料中に含まれるDNAの総称です。環境DNAには、バクテリアや菌類のような目に見えない微生物の生体内にあるDNAと、魚類や両生類など比較的大型の生物に由来する生体外のDNAが含まれます。魚類の場合、エラや表皮から剥がれ落ちた細胞片や、糞や粘液、繁殖行動時に放出された精子などに由来するDNAが環境DNAとして検出されます。

近年、水域の生体外DNAを対象とした調査・研究が注目されています。さまざまな活用が期待されている環境DNA分析の概要と、当社の取り組み・実績についてご紹介します。

#### (1)長所と短所

環境DNA分析の最大の長所は、現場の作業が水を汲むだけでよいという簡便性と迅速性です。一方短所は、検出感度が非常に高いがゆえに、採水時および分析時のコンタミネーション(試料汚染:試料への外部DNAの混入)による誤検出が生じることです。そのため、この技術を実用化するにはコンタミネーションの防止に十分な配慮が必要です。

以下に環境DNA分析の長所と短所をまとめました。

#### 長所

- 1) 現場での作業は水を汲むだけ
- 2) 捕獲の必要がないため、生物を傷つけない
- 3) 捕獲や観察で見つけにくい生物が確認できる
- 4) 調査員は生物に関する高度な専門知識が不要
- 5) 広域・多地点・高頻度な調査に展開しやすい
- 6) アクセスが困難な深海域や放射線量の高い地域などの調査が可能

#### 短所

- 1) コンタミネーション防止に十分な配慮が必要
- 2) 偽陽性\*もしくは偽陰性\*を生じることがある
- 3) DNAデータベースに登録されていない生物は検出できない
- 4) 分析やデータ解析には分析機器や専門知識が必要  
\*偽陽性とは、本来はDNAが「ない」のに、誤って「ある(陽性)」と判定されること、偽陰性とはその逆に、本来はDNAが「ある」のに、誤って「ない(陰性)」と判定されることを指します。

#### (2)分析の流れ

まず始めに、河川や海域などの現場から環境水を採水します。採水量は調査目的や環境条件によって変わりますが、河川、湖沼などの淡水域では1L、海域では1~

10Lが標準的な量とされています。採水した試料から環境DNAを回収し、調査目的に応じた処理をした後、分析機器を用いて検出を行います(図1)。

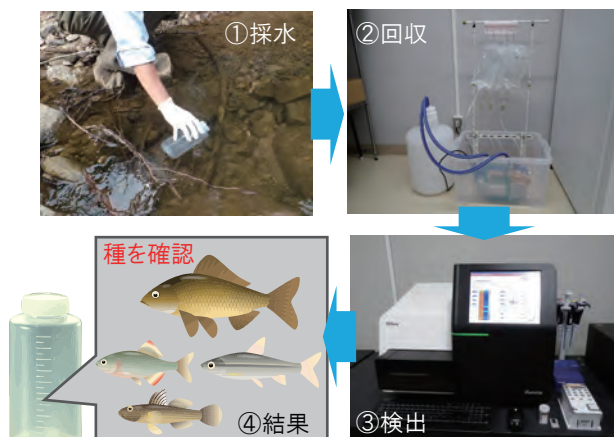


図1 環境DNA分析の流れ

検出された環境DNAの配列情報を国際DNAデータベースに登録されている情報と比較検証することにより、環境水に含まれている生物種の網羅的なリストを得ることができます。また、特定の生物種の生息確認や生息量推定を目的とする場合は、その種のDNAを対象として濃度を測定する手法があります。

### 社内体制

#### (1)組織・人員

当社では2014年から環境DNA分析業務に取り組んできました。分析は、環境創造研究所(静岡県焼津市)および食品・生命科学研究所(大阪府大阪市)において対応しています(写真1)。



写真1 環境創造研究所および食品・生命科学研究所

#### (2)分析施設・機器

当社は、次世代シーケンサーやリアルタイムPCR装置など環境DNA分析に必要なすべての分析機器を所有しています(写真2)。また、環境DNA分析ではコンタミネー

ションへの対策が非常に重要であり、この対策が不十分であると、生息していない生物を検出するなど誤った調査結果を導いてしまう恐れがあります。そのため、環境創造研究所では、環境DNA分析を行う実験室を複数確保し、汚染が生じやすい分析工程(DNA抽出やPCR調整)をそれぞれ物理的に隔離された室内空間で実施することで、コンタミネーションの防止対策を行っています。さらに2019年春には、超高性能クリーンゾーン生成装置を導入し、環境DNA分野における国内最高レベルの分析精度を目指しています。



次世代シーケンサー



リアルタイムPCR装置



全自動電気泳動システム



クリーンゾーン生成装置

写真2 環境DNA分析に使用する機器

## 当社の実績

### (1)近年の主な受注業務

【業務名】平成30年度絶滅危惧種分布重要地域抽出のための環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の標準化・一般化検討業務

【発注者】環境省 自然環境局 生物多様性センター

【業務内容】二次的自然に生息する絶滅危惧種(淡水魚類)の分布を調査する手法として環境DNA分析技術の活用を検討しました。全国7か所で試行的な環境DNA調査を実施し(写真3)、調査手法の標準化・一般化に向けた課題の整理と検討会の運営を行いました。



写真3 環境DNA試行調査を実施した二次的自然

【業務名】平成30年度国指定浜甲子園鳥獣保護区における保全事業検討調査業務

【発注者】環境省 近畿地方環境事務所

【業務内容】干潟は鳥類の採餌場として重要な環境です。干潟の再生を目指し、貝類や甲殻類、多毛類など餌生物15種の生息状況を把握する手法として環境DNA分析技術がどの程度有効かを調査・検討しました(写真4)。

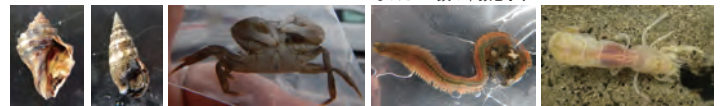
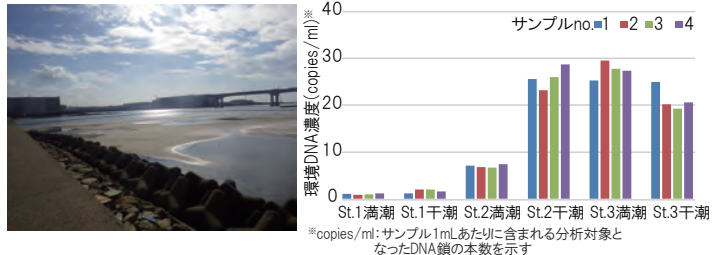


写真4 干潟の底生動物を対象とした環境DNA調査

このほかにも、国土交通省や農林水産省、地方自治体等から環境DNAに関する業務を30件以上受託しています。

### (2)学会発表、共同研究

環境DNA学会の記念すべき第1回大会が2018年9月に東京で開催され、当社もポスター発表を行いました。また、2019年度より農林水産省の戦略的プロジェクト研究推進事業「農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発」に参加し、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構とともに環境DNA分析技術を用いた侵略的外来種のモニタリング手法に関する共同研究を開始しました。このほかにも、大学や行政機関の研究者、NPO等の方々にご協力いただきながら、環境DNAに関するさまざまな共同研究を行っています。

### おわりに

環境DNA分析技術は、従来の捕獲や観察による生物調査がもつ欠点を補うことができる画期的な調査手法です。一方で、間接的に生物の生息を把握する環境DNA調査は、人為排水や流れ等の影響を受けることがあり、調査結果の評価には留意が必要です。この技術が生物調査の標準的な手法として活用されるように、今後も技術的な工夫を重ね、さまざまな技術提案をもって生物多様性の保全に貢献してまいります。

【参考文献】  
源利文(2018)、環境DNAとは何か、海洋と生物, vol.40 no.1, 3-8