

## Point

環境DNA調査のさらなる普及や新しい分野への応用展開に向けて進めてきた新たな取り組みについてご紹介します。現場における環境DNA分析に必要な、持ち運びが簡便な現場ろ過システムを開発しました。また、漁業対象種における餌資源の由来推定や資源量推定への応用可能性を検討しました。

## 環境DNA調査の普及に向けた新たな取り組み

国土環境研究所 生態解析部、環境創造研究所 遺伝子解析室

### はじめに

環境DNA調査は、現地で採水したサンプルを分析施設まで輸送し、施設内の実験室において採水した翌日もしくは翌々日にはサンプルのろ過を行うことが一般的な流れとなっています。しかし、車でアクセスが不可能な山間部や離島、外洋(船上)等で行う調査の場合、採水したサンプルの輸送には何日もかかることが想定され、サンプル中の環境DNAが分解してしまう恐れがあります。また、希少種の探索など、環境DNAの検出結果をもとに採捕等の別の調査を進めたい場合には、採水する現場においてろ過や分析までを行う技術が必要となります。そこで、さまざまな状況に対応した環境DNA調査が行えるようにするため、現場へ持ち運びが可能なサンプルろ過システムを開発しました。

また、環境DNA分析技術は、環境調査の一環としての希少種や外来種の分布調査、生物相調査等に用いられることがほとんどでした。一方で、漁業対象種における餌資源の推定や、地域における漁業資源量の推定といった水産分野の調査ニーズも今後は大きく広がる可能性があります。そこで、当社では、水産重要種であるアサリの消化管内容物を分析することで、餌資源の由来推定への応用可能性を検討しました。さらに、近年生息数の減少が指摘されているニホンウナギ(以下、ウナギ)について、河川内の分布状況や資源量を環境DNAから推定するために、水槽実験を行い、必要な基礎データを収集しました。

### 現場ろ過システムの開発

#### (1)システム開発時の留意点

環境DNA分析は、採水時や分析時などすべての段階においてコンタミネーション(試料汚染)対策が非常に重要となります。そのため、現場ろ過システムは、サンプルに接触する部分はすべて滅菌済み、かつ、使い捨て可能な部品で構成しました。また、現場への持ち運びを簡便にするために、車載電源で稼働する機器を使用し、折り畳み可能な骨組みを用いてコンパクトに収納できるよう工夫しました(写真1)。



写真1 現場ろ過システムの積載例

#### (2)システムの特徴

調査用途別に、2つのタイプの現場ろ過システムを開発しました。1号機は、上部に設置した目の粗い紙で懸濁物質を除去した後、下部のカートリッジ式フィルターで環境DNAを捕集する構造となっており、水に強い濁りがあるような池や河川等での調査を対象としています(写真2左)。2号機は、大容量のサンプリング容器を接続できる構造となっており、大量の水をろ過する必要がある海洋での調査を対象としています(写真2右)。いずれのろ過システムも複数サンプルを同時にろ過できるようになっています。

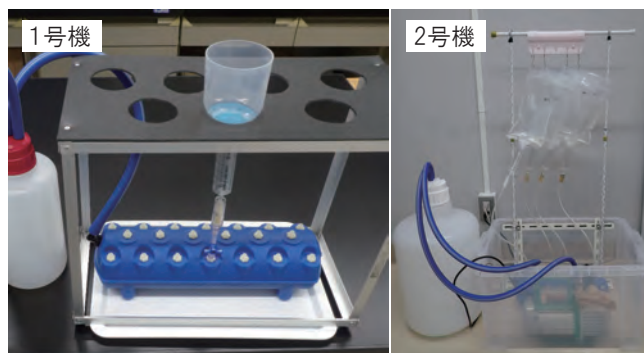


写真2 現場ろ過システム

開発した現場ろ過システムを使用して、山奥の小さな沢に生息する希少魚類トウカイナガレホトケドジョウの生息調査を実施し、第1回環境DNA学会において発表を行いました<sup>1)</sup>。

### 応用可能性の検討

#### (1)餌資源の由来推定\*

アサリは、海底の砂に潜り、直上の海水をろ過して懸濁物を餌料とする懸濁物食者です。そのため、アサリが生息するうえで、餌料となる生物が付着する底泥や砂礫、海藻等の存在は、重要な要因であると考えられます。しかし、アサリの生息にとって、いずれの環境が重要であるかはわかっていません。そこで、アサリの消化管に含まれる餌となった生物相と周辺環境(直上水および底質)の生物相を環境DNA分析により調査し、比較することで、アサリの採餌に重要な環境を検討しました。

分析の結果、アサリ消化管から検出された生物は、直上水よりも底質の生物組成に比較的近く(図1)、底質由来の

ものを餌として多く取り込んでいると考えられるため、アサリの生息にとって底質の環境が重要であることが明らかとなりました。このことから、次世代シーケンサーを用いた食性解析法と環境DNA分析技術を組み合わせることで、餌資源だけでなく、餌資源の供給源まで明らかにできる可能性があります。

※本件は中部大学との共同研究として実施しました。



図1 アサリ消化管および周辺環境の生物相

## (2) 漁業対象種の資源量推定

採集した天然ウナギを実験水槽に投入し(表1、写真3)、1時間、1、2、3、7、10、14日後に1Lずつ採水し、フィルターでろ過して、次世代シーケンサー(Mi-seq)を用いてサンプル中のDNA濃度を定量的に分析しました。そして、そのDNA濃度(copies/L)と供試個体の体重(g)から、DNA放出の速度・量と、分解速度を推定しました。

表1 実験条件

項目	実験条件
水温設定	10℃、24℃
水槽容量	100L
水槽数	2セット
供試個体	3~4個体/水槽(全長27~56cm)
試験日数	放出試験、分解試験 各14日



写真3 実験水槽(左)と実験に用いたウナギ(右)

10℃(冬季条件)と24℃(夏季条件)を比べると、夏季の方がDNA放出速度、放出量ともに多いことがわかりました。

DNAの分解は指数関数的に進み、夏季では3日程度でほとんど分解されてしまうことがわかりました(図2)。また、DNAの放出実験では、ウナギを水槽に投入後、馴致するまでの2日程度はDNAが多く放出されましたが、7日程度経

過すると水槽内のDNA濃度が安定しました(図3)。この期間の放出量と分解量から、ウナギ1個体あたり、1時間あたりの放出量を算定できました。

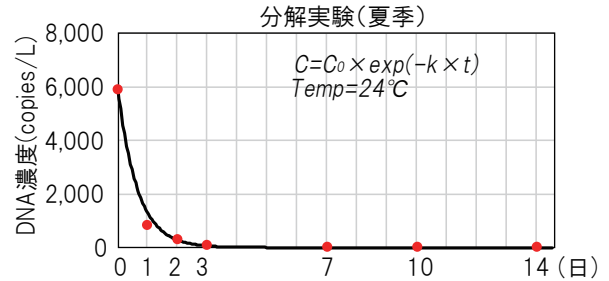


図2 ウナギから放出された環境DNA分解実験結果

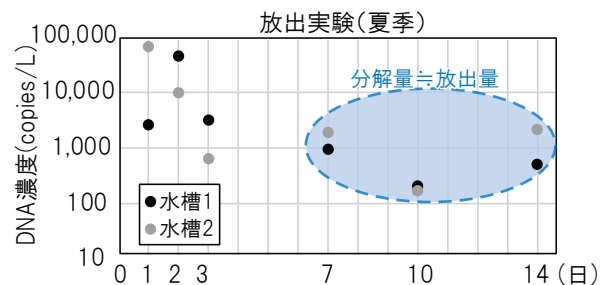


図3 ウナギから放出された環境DNA量

今回の実験では水槽ごとのばらつきも大きいため、追加実験を行うとともに、自然生息地と比較・検証を行い、資源量推定のモデルを構築することを目指します。

## おわりに

現場ろ過システムの開発により、サンプルの輸送に時間がかかることが問題となっていた山間部や離島、外洋といった場所の調査でも、環境DNA分析のためのサンプル処理が可能となりました。さらに、現場での処理が可能な簡易型DNA抽出キットと車載可能な分析機器とを組み合わせることで、調査現場において、環境DNA調査のすべての工程が行えるようになりました。

また、食性解析と環境DNA分析を組み合わせることで、餌資源の供給源が推定できる可能性が示唆されました。この技術は、希少種や水産有用種の保護増殖事業にも活用できると考えています。

ウナギの水槽実験からは、1個体が一定時間に放出するDNA量およびDNAの分解速度が把握できましたので、今後実験を重ねて精度を上げることで、河川水中の環境DNA濃度からその河川内に生息するウナギの資源量の推定も可能になると考えられます。この技術は、減少しているウナギの資源管理や河川内の重要な生息場の保全につながる河川管理に活用することが期待されます。

〔注〕

1) 白子智康, 中村匡聡, 相馬理央(2018). 環境DNA分析を用いた静岡県内におけるトウカウイナガレホトゲドジョウの生息調査, 第1回環境DNA学会東京大会