

Point

複数の生物群を1回の分析作業で同時に検出する環境DNA分析手法を開発しました。
この手法の活用により、分析コストを従来よりも大幅に抑えながら、さまざまな生物群の生息状況をまとめて調べることができるようになりました。

環境DNA分析手法の開発～複数の生物群を同時検出～

環境創造研究所 生物部門 遺伝子解析室 中村 匡聡、白子 智康

※本技術開発は、国立研究開発法人土壌研究所との共同研究「環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究」の一環として実施しました。

はじめに

環境DNA分析は、河川や海域から採取した水に含まれるDNA情報をもとに、その場所に生息する生物を調べる手法です。現場作業が簡便であることから、環境調査分野で急速に実用化が進んでいます。国土交通省等が管理する河川やダム湖において実施される河川水辺の国勢調査(以下「水国調査」)では、令和8年度から魚類調査に環境DNA分析が本格的に導入される予定です。さらに、この技術の適用が進めば、将来的には魚類以外の生物群にも拡大する可能性があります(図1)。

現状の分析法の課題と解決策

従来の手法で複数の生物群をまとめて調べる場合、分析コストは非常に高額になります。もし、現場で1～数リットルの水を採取するだけで、魚類・哺乳類・両生類等の複数の分類グループの生息状況を一度に調べられるようになれば、環境調査に大きな変革をもたらすことが期待されます。

環境DNA分析のうち、生物群ごとの一覧リストを得るための分析法を「網羅的解析法」といいます。この方法では、生物群ごとに個別の分析が必要です。例えば、10の生物群を調べる場合には、1つの試料を生物群ごとに10回分析することになります。仮に1生物群あたりの分析費用が4万円とすると、10生物群をまとめて調べる場合は1試料あたり40万円という高額な費用がかかります。

そこで当社では、複数の生物群を同時に検出できる手法を開発し、分析費用を削減することを目指しました。さらに、この手法を用いて、水国調査の調査地点から採取した試料を分析し、過去の採捕調査結果と比較することで、生物群別の現場適用性を検証しました。

分析法の開発

水国調査では、魚類、両生類、爬虫類、哺乳類、鳥類、昆虫類(陸上・水生)、貝類、甲殻類、環形動物(例えばゴカイやミズ)、植物(水生のみ)の10生物群が調査対象となっています。このうち、網羅的解析法がない爬虫類と環形

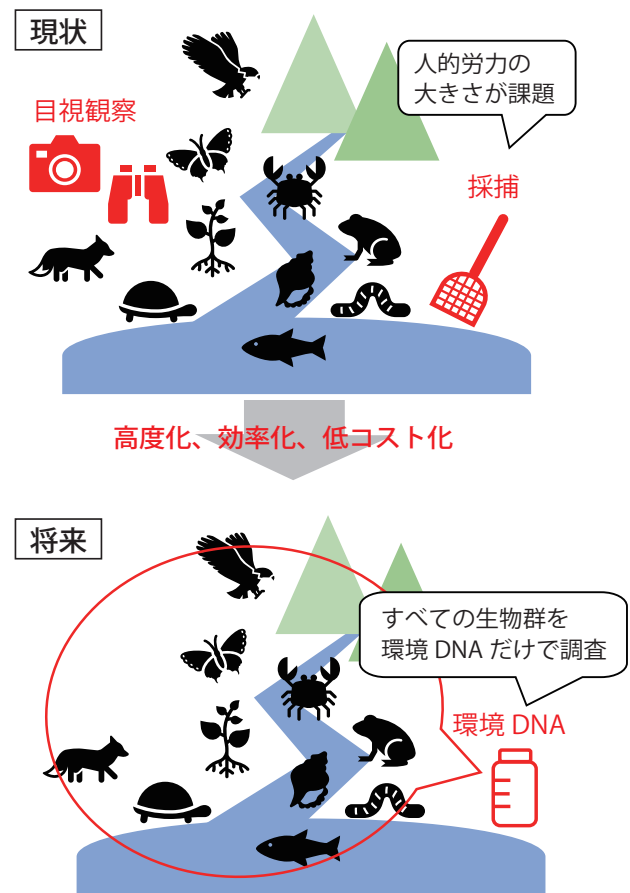


図1 環境DNA分析の全面適用で高度化した水国調査のイメージ

動物については、まず生物群特異的PCRプライマーの開発から着手しました。

同時検出はマルチプレックスPCR法を応用し、1stPCRの段階で複数のプライマー※1を混合して増幅を行いました。しかし、10生物群すべてのプライマーを混合した場合は分析がうまくいかなかったため、できるだけ少ないプライマーでの組合せセット数となるよう分析条件を検討した結果、表1の組合せが最適であるとの結果が得られました。

※1 プライマー: PCRによって増幅されるDNA配列の両端に結合する短い人工の1本鎖DNAのこと

さらに、プライマーの混合比率を調整する必要があること、1試料あたりに取得するDNA配列データ数を通常より多くすることも重要であることが分かりました。

表1 同時検出に用いたプライマーの一覧と組合せ

No.	検出対象生物群	プライマー名(略称)	出典	組合せセット
1	魚類	MiFish	1)	①
2	哺乳類	MiMammal	2)	
3	鳥類	MiBird	3)	
4	昆虫類 [陸上・水生]	MtInsect-16S	4)	②
5	甲殻類	MiDeca	5)	
6	爬虫類	Reptile16S	*	
7	両生類	Amph16S	6)	③
8	貝類	Mollusca28S	7)	
9	植物[水生]	ITS2-p3/u4	8)	
10	環形動物	Annelida28S	*	

注)出典欄の*印は、自社開発であることを示す。

現場適用性の検証調査

水国調査が行われている河川(T川・S川・Y川)とダム湖(Sダム・Yダム・Tダム)で、夏と冬にそれぞれ1回ずつ試料を採取し、今回開発した同時検出法による環境DNA分析を実施しました(写真1)。



写真1 現地での試料採水の様子

同時検出法の結果と、過去の水国調査(採捕調査)の結果を比較したところ、両者の一致する割合(検出率)は生物群ごとに特有の傾向を示しました。脊椎動物(魚類・両生類・爬虫類・哺乳類・鳥類)や植物では検出率が比較的高かった一方、水生無脊椎動物では採捕調査に並ぶほどの検出精度には至りませんでした。全体的な傾向とし

ては、脊椎動物では常に陸上にいる種はほとんど検出されず、水との接触頻度が高い種は同時検出法でも環境DNAが検出されやすい傾向にあることが分かりました。無脊椎動物では、国際DNAデータベースに登録されている種がまだかなり少ないことが検出に影響していました(図2)。

水国調査の対象である10生物群すべてに環境DNA分析を適用するには、現時点では検出精度に課題が残ります。しかし、国際DNAデータベースの整備が進めば、現場での適用性はさらに向上することが期待されます。

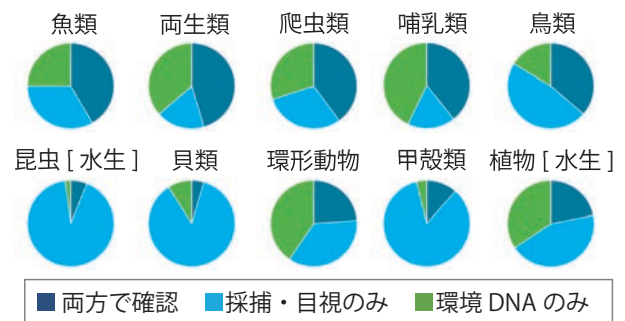


図2 生物群別・調査法別の種の検出率(例:S川)

おわりに

生物多様性国家戦略2023-2030では、自然を回復軌道に乗せるために、生物多様性の損失を止めて反転させようとするネイチャーポジティブ(自然再興)を2030年までに実現させるための試みが始まっています。そのためには、生物多様性に関する情報が不可欠であり、環境DNA分析は簡便かつ迅速に生物多様性データを収集できる強力なツールとなります。

当社では、環境DNA分析の新しい可能性をさらに追求し、今後も革新的な技術開発を進めてまいります。

[出典]

- 1) Miya M, et al. (2015) R. Soc. Open Sci. 2:150088,1-33.
- 2) Ushio M, et al. (2017) Mol. Ecol. Resour. 17:e63-e75.
- 3) Ushio M, et al. (2018) Sci. Rep. 8:4493.
- 4) Takenaka M et al. (2023) Limnology 24:121-136.
- 5) Komai T, et al. (2019) MBMG 3:e33835.
- 6) Sakata MK, et al. (2022) MBMG 6:e76534.
- 7) Nakamura M, et al. (unpublished)
- 8) Cheng T, et al. (2016) Mol. Ecol. Resour. 16:138-149.

【環境DNAの解析サービス】

当社Webページにて環境DNAの解析サービス内容の詳細についてご覧いただけます。

<https://www.ideacon.co.jp/service/environmental/natural/biological/article/20251016173241.html>

