

## 環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

研究区分：革新型研究開発（若手枠）

研究実施期間：2022（令和4）年度～2024（令和6）年度

課題番号：4RF-2203

体系的番号：JPMEERF20224R03

研究課題名：気候変動の影響評価に向けた地球規模の海洋性動物プランクトン多様性解析

Project Title : Investigation of Zooplankton Diversity in the Global Oceans to Understand Future Impacts of Climate Change on Marine Ecosystems

研究代表者：平井 慎也

研究代表機関：東京大学

研究分担機関：

キーワード：動物プランクトン、多様性、ゲノムスキミング、メタバーコーディング、モニタリング

注：研究機関等は研究実施期間中のものです。また、各機関の名称は本報告書作成時点のものです。

令和7（2025）年11月



## 目次

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書 .....	1
研究課題情報 .....	3
<基本情報> .....	3
<研究体制> .....	3
<研究経費> .....	3
<研究の要約> .....	4
<研究の全体概要図> .....	5
1. 研究背景 .....	6
2. 研究目的 .....	7
3. 研究目標 .....	9
4. 研究内容 .....	10
5. 研究結果及び考察 .....	14
6. 研究成果及び自己評価 .....	25
6. 1. 研究成果発表の件数 .....	25
6. 2. 主要な研究成果発表 .....	25
6. 3. 研究成果の学術的意義 .....	26
6. 4. 研究成果の環境政策等への貢献・見通し .....	26
6. 5. 主要な研究成果普及活動 .....	27
6. 6. 國際共同研究等の状況 .....	27
6. 7. 研究成果に基づく研究目標の達成状況及び自己評価 .....	28
7. 研究者略歴 .....	30
8. 研究成果発表の一覧 .....	30
(1) 産業財産権 .....	30
(2) 論文 .....	30
(3) 著書 .....	31
(4) 口頭発表・ポスター発表 .....	31
(5) 「国民との科学・技術対話」の実施 .....	39
(6) マスメディア等への公表・報道等 .....	39
(7) 研究成果による受賞 .....	39
(8) その他の成果発表 .....	40
権利表示・義務記載 .....	40

Abstract

## 研究課題情報

## &lt;基本情報&gt;

研究区分 :	革新型研究開発（若手枠）
研究実施期間 :	2022（令和4）年度～2024（令和6）年度
研究領域 :	自然共生領域
重点課題 :	【重点課題13】生物多様性の保全に資する科学的知見の充実や対策手法の技術開発に向けた研究 【重点課題8】気候変動への適応に係る研究・技術開発
行政ニーズ :	（4-1）企業の技術・製品・サービスにおける生物多様性への貢献に関する定量的評価手法の研究開発
課題番号 :	4RF-2203
体系的番号 :	JPMEERF20224R03
研究課題名 :	気候変動の影響評価に向けた地球規模の海洋性動物プランクトン多様性解析
研究代表者 :	平井 悠也
研究代表機関 :	東京大学
研究分担機関 :	
研究協力機関 :	

## &lt;研究体制&gt;

サブテーマ1 「気候変動の影響評価に向けた地球規模の海洋性動物プランクトン多様性解析」

&lt;サブテーマリーダー（STL）、研究分担者、及び研究協力者&gt;

役割	機関名	部署名	役職名	氏名	一時参画期間
リーダー	東京大学	大気海洋研究所	講師	平井 悠也	

## &lt;研究経費&gt;

&lt;研究課題全体の研究経費（円）&gt;

年度	直接経費	間接経費	経費合計	契約上限額
2022	4,616,000	1,384,000	6,000,000	6,000,000
2023	4,616,000	1,384,000	6,000,000	6,000,000
2024	4,616,000	1,384,000	6,000,000	6,000,000
全期間	13,848,000	4,152,000	18,000,000	18,000,000

## &lt;研究の要約&gt;

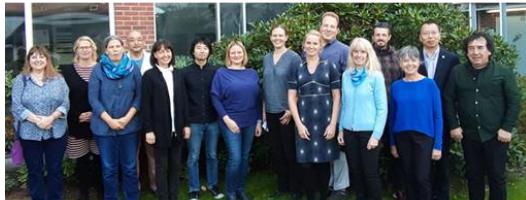
海洋性動物プランクトンは低次から高次生産をつなぐ重要生物であり、海洋環境の変化に迅速に応答する指標生物である。しかし、海洋性動物プランクトンは約7000種と高い多様性を誇り、形態分類は高度な専門知識・経験を要し、形態的に判断できない隠蔽種や未成体個体の問題も存在する。一方、分子生物学的手法は正確に種を把握可能であり、近年は特定遺伝子領域の配列を網羅的に取得し、環境中の群集構造を明らかにするメタバーコーディング解析が台頭しつつある。メタバーコーディングは動物プランクトンの多様性を迅速・正確に評価可能な手法として期待され、地球規模のデータ充実に向けた国際ワーキンググループMetaZooGeneも発足した。しかし、日本周辺の西部北太平洋の遺伝子データは不足しており、メタバーコーディングや参照配列のデータの充実が求められている。そこで本研究は、国際ネットワークの下、太平洋を中心とした動物プランクトンの遺伝子情報の充実し、地球規模の多様性解析にむけて太平洋を中心としたメタバーコーディングデータの充実を図った。また、確立された手法を海洋モニタリングに導入し、将来的な気候変動が海洋生態系に及ぼす影響を把握可能にすることも目的とした。遺伝子情報の充実では特に日本周辺海域の重要種に焦点を当て、将来的に長く利用可能なミトコンドリアゲノムやrDNA配列等の有用配列を効率的に取得可能なゲノムスキミングの技術を動物プランクトンで確立し、日本周辺海域の重要種を中心に600を超えるデータを取得した。メタバーコーディング解析は複数領域を用いた手法に高度化を行い、インド洋・太平洋広域のデータ解析を行った。日本周辺海域を合わせると新たに397試料の群集データを取得し、地球規模のメタバーコーディングデータの整備に向けたデータベースを作成・公開し、国際共同研究で研究室間のメタバーコーディングデータのインタークリブレーションを行うMZG-ICEを行った。メタバーコーディングの手法は日本周辺海域のモニタリングにも導入され、現在の多様性や種の分布を正確に把握し、将来的に気候変動が海洋生態系に及ぼす影響を把握可能にする体制が確立された。また、本課題を通じて確立された体制や技術を活かし、多くの分子生物学的手法を用いた動物プランクトンや海洋生態系に関する研究が行われた。

### ＜研究の全体概要図＞

# 気候変動の影響評価に向けた地球規模の 海洋性動物プランクトン多様性解析

国際ワーキンググループ MetaZooGene

# 国際連携：メタバーコーディングの全球展開 地球規模の動物プランクトン多様性調査



SCOR WG157

# MetaZooGene

Toward a new global view of marine zooplankton biodiversity based on DNA metabarcoding and reference DNA sequence databases.

[Main Page](#)

[Zoonotic Page](#)

★ [MetaZooGene Overview](#)  
 ★ [SCOR WG157](#)  
 ★ [Zoonotic Page](#)  
 ★ [Associated Publications](#)  
 ★ [Associated WG157 Preprint](#)

★ [What is MetaZooGene](#)  
 Recommended Reading  
 Recommended Training

★ [MetaZooGene Products](#)  
 ★ [Zooplankton Databases](#)  
 ★ [Zooplankton Databases](#)

★ [Meeting and Workshops](#)  
 ★ [SCOR WG157 Preprints](#)  
 ★ [SCOR Workshops](#)  
 ★ [SCOR Workshops](#)  
 ★ [SCOR WG157 Meeting](#)  
 ★ [SCOR WG157 Preprint](#)  
 ★ [SCOR WG157 Preprint](#)  
 ★ [SCOR WG157 Preprint](#)  
 ★ [SCOR WG157 Preprint](#)

MetaZooGene biodiversity remains a significant challenge, despite the development of high-throughput DNA barcoding tools (short and long reads) and the increasing number of reference databases. We propose to tackle this complex puzzle via analysis of one or two reference DNA barcode databases, regional and global, to generate a greater global synthesis of zooplankton biodiversity. The MetaZooGene SCOR Working Group will develop a global barcode for the major groups of marine zooplankton, including molecular, morphological and ecological data, to facilitate biodiversity through international communication, cooperation, and collaboration. The Working Group will also develop a reference database for marine zooplankton, including a barcode index, a barcode reference database, and a barcode database for DNA metabarcoding of marine zooplankton biodiversity.

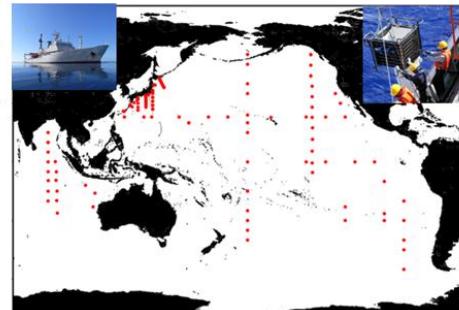
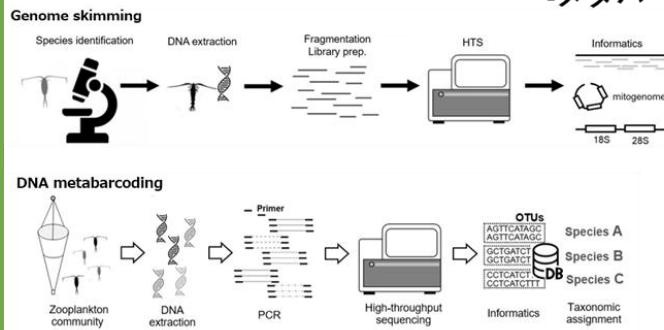
Deliverables include a project website, work portal, and database. Expected outcomes of best practices for DNA metabarcoding of marine zooplankton will be developed, and a protocol for DNA metabarcoding of marine zooplankton will be developed. Workshops to build capacity for the MetaZooGene mission will be held for early career scientists and those from developing countries, and the field will be held in association with international conferences.

See the SCOR WG157 MetaZooGene Preprint ([click here to view](#))

國際共同研究

東京大学大气海洋研究所

- 遺伝子解析体制の確立
- ゲノムスクリーニング：データベース充実
- メタバーコーディング：広域群集解析



国内研究連携

国内研究機関

## 将来変化の把握体制確立・遺伝子データの拡張

## -海洋モニタリングへのメタバーコーディング導入

・ゲノムスキミング・メタバーヨーディング技術移転・他機関からの解析受託

## 1. 研究背景

海洋性動物プランクトンは植物プランクトンを捕食し、魚類仔魚期の餌として低次から高次生産をつなぐ役割を海洋生態系で果たしている。また、動物プランクトンは海洋の環境変化に迅速に応答し、その種組成や多様性は海洋生態系の健全性を評価するための重要な指標となる。現在、温暖化等の地球規模の環境変化は急激に進んでおり、日本周辺海域においても昇温化、酸性化、豪雨に伴う低塩化等が既に報告されている。そこで、将来起こりうる海洋生態系の変化を検出するため、今現在の動物プランクトン種の分布を正確に把握し、その群集構造の変化を正確に把握する体制を確立することは重要な課題となる。

海洋性動物プランクトンの種分類は形態的特徴に基づき行われてきたが、動物プランクトンは既知種でも約7000種と高い多様性を誇り、形態分類には高度な専門知識・経験を必要とする。また、形態的には種を判断することができない隠蔽種や未成体個体の問題も動物プランクトンでは存在する。一方、DNAの塩基配列に基づく分子生物学的手法は正確に種を把握可能であり、国際プロジェクトCensus of Marine (2000-2010年)を中心とし、DNAバーコーディングによる動物プランクトンの遺伝子情報が蓄積されてきた。しかし、遺伝子情報の登録数は十分でなく、動物プランクトンの中でも優占する甲殻類のカイアシ類においても種同定に有用なミトコンドリアCOI領域のデータベース充実度は20%に留まり、日本周辺の西部北太平洋のデータは特に不足している。

動物プランクトン群集の把握は上記の形態分類の律速が存在するが、近年は特定遺伝子領域の配列を網羅的に取得し、環境中の群集構造を明らかにするメタバーコーディングが台頭しつつある。メタバーコーディングは動物プランクトンの多様性を迅速・正確に評価可能な手法として期待され、Scientific Committee on Oceanic Research (SCOR) 国際ワーキンググループMetaZooGene (<https://metazoogene.org/>) が2019年より活動を開始し、本研究の研究代表が日本の代表としてコアメンバーに選出されている（図1）。同ワーキンググループは動物プランクトンの遺伝子情報のさらなる充実を行い、地球規模のメタバーコーディングのネットワーク形成を目的としている。また、国際ワーキンググループの活動は国連海洋科学の10年のアクションの一つにも発展している（<https://oceandecade.org/actions/metazoogene-metabarcoding-zooplankton-diversity/>）（図1）。

メタバーコーディングのような最新手法を導入することにより、動物プランクトンの地球規模の多様性や群集構造が明らかになると期待され、得られる各種の分布データは今後起こりえる生態系の変化を捉える上では重要な情報となると考えられる。一方、動物プランクトンにおいて遺伝子解析技術は十分に普及しておらず、太平洋を中心とした動物プランクトンの遺伝子配列情報は不足し、メタバーコーディング解析を行う際の律速となっている。また、現在進行形で環境変化が進む中、現在の動物プランクトンの分布情報を把握し、将来的におこる変化を把握する体制を作ることが重要な課題となっている。

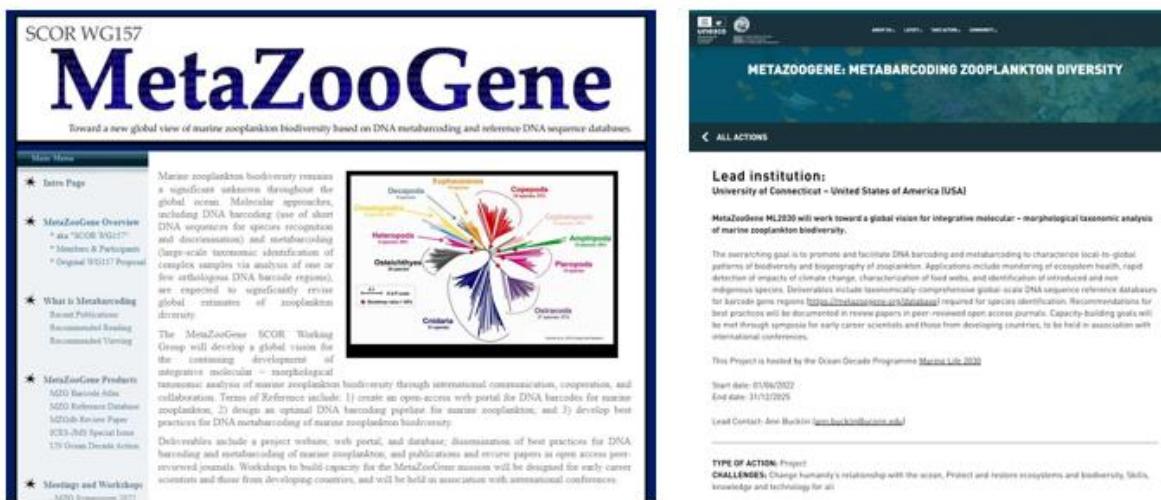


図1. SCOR国際ワーキンググループおよび国連海洋科学の10年のアクションMetaZooGene

## 2. 研究目的

本研究は、国際ネットワークの下で動物プランクトンの遺伝子配列情報を充実させ、地球規模の広範囲の多様性解析を行うことにより、現在の動物プランクトンの多様性や各種の分布を把握することを目的とする。また、確立された手法は新たな海洋モニタリング手法として活用し、将来的な気候変動が海洋生態系に及ぼす影響を動物プランクトンを通して長期的に把握可能な体制を確立する。

目的達成のため、はじめに動物プランクトンの遺伝子解析技術の高度化を行う。遺伝子情報の充実では従来はDNAバーコーディング法(図2)が行われてきたが、ミトコンドリアゲノムやrDNA配列等の有用配列を効率的かつ網羅的に取得可能なゲノムスキミング(図3)の技術を動物プランクトンで確立する。DNAバーコーディングは特定の遺伝子領域をPCRにより増幅し、サンガーシーケンスにより~1,000 bpの配列を取得する技術であるが、動物プランクトンの高い多様性、小型種から十分なDNA量の確保が困難、汎用プライマーによる有用遺伝子配列のPCR増幅が困難等の問題が挙げられる。ゲノムスキミングは断片化されたゲノム配列の一部を超並列シーケンサーで取得し、ミトコンドリアゲノムやrRNA遺伝子等のコピー数の多い配列の再構築を行う技術である。この技術は種特異的なPCRプライマーを必要とせず、10,000 bpを超えるミトコンドリアゲノムも取得可能であり、動物プランクトンの有用遺伝子配列取得に大きく貢献する可能性を秘めている。そこで最適なゲノムスキミングの手法を動物プランクトンで確立し、日本周辺海域を中心に動物プランクトン種からDNAを抽出し、遺伝子情報の蓄積を行うことで国際ワーキンググループの活動へも貢献する。

### DNA barcoding

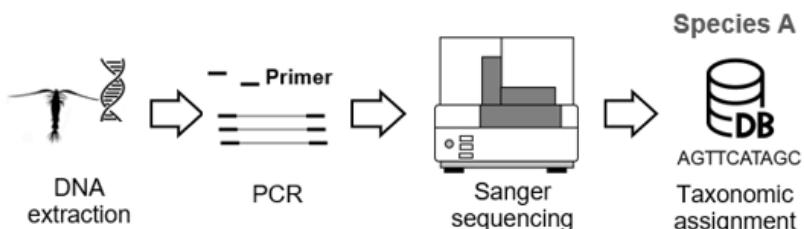


図2. DNAバーコーディングの概略図

### Genome skimming

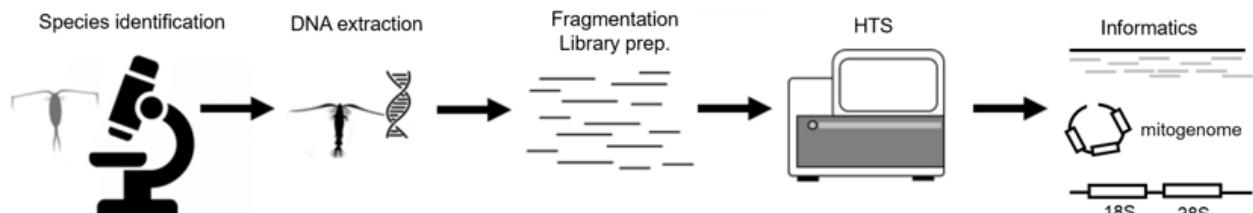


図3. ゲノムスキミングの概略図

さらに、メタバーコーディングは動物プランクトンを対象とした手法の高度化を行い、国際共同研究を通じて地球規模の解析を視野に入れた広域の群衆構造の把握を行う。メタバーコーディングは群集全体からDNAを抽出し、特定の領域をPCRにより増幅し、超並列シーケンサーにより得られた大量配列を解析することで群集構造を把握する技術である(図4)。動物プランクトンのメタバーコーディングは世界各地で行われつつあるが、大西洋や高緯度域が中心であり、太平洋やインド洋の外洋域ではデータが不足している。そこで既存の太平洋およびインド洋の試料を高度化したメタバーコーディングにより解析し、広範囲の動物プランクトンの多様性や分布データを取得する。また、国際ワーキンググループのネットワークを活用し、地球規模の動物プランクトンの多様性解析にも発展させることを目的とする。

メタバーコーディングは塩基配列に基づき群集解析を行う利点があり、解析者の技量に依らないために長期的なデータの解析にも適した手法である。そこで、日本周辺の海洋モニタリングに導入することで、現在の多様性や種の分布を正確に把握し、将来的に気候変動が海洋生態系に及ぼす影響を把握可能にする体制を確立することも本研究の目的とする。

## DNA metabarcoding

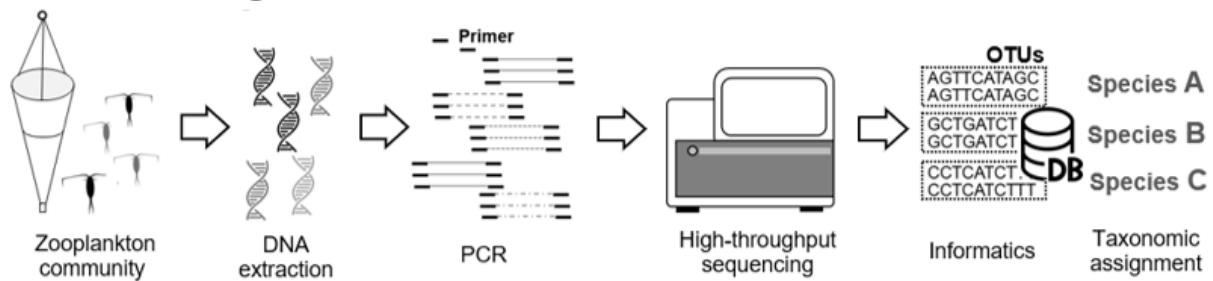


図4. メタバーコーディングの概略図

### 3. 研究目標

<全体の研究目標>

研究課題名	気候変動の影響評価に向けた地球規模の海洋性動物プランクトン多様性解析
全体目標	<p>単一のサブテーマで研究を進めるが、以下の3つの研究課題を遂行する。また、国内外の連携で関連研究も進める</p> <p><b>① ゲノムスキミング技術の確立・遺伝子情報の充実</b> 従来のDNAバーコーディングに加え、効率的な有用配列の取得方法であるゲノムスキミング手法を動物プランクトンで確立し、参照配列の充実を図る。期間中全体の目標として日本周辺海域で動物プランクトン400種の遺伝子情報の登録を目指す。特に動物プランクトンで重要なカイアシ類については現在の北太平洋のデータベース充実度が15%（地球規模では20%）と低いため、150種を追加し期間内で最低30%のデータベース充実度を目指す。</p> <p><b>② メタバーコーディングの高度化・地球規模の多様性解析</b> 現在のメタバーコーディングの課題として挙げられる定量性を解決するため、内部標準を用いた新規手法の導入を目指す。また、上記の参照配列の追加により、精度の高いメタバーコーディング手法を確立し、国際ワーキンググループ内で手法の共有を行う。現在、研究代表者は太平洋広域にまたがる70の採集地点で動物プランクトン試料のDNA抽出を行い、各採集地点では表層と中層2層の試料が採集されている。研究期間中にはDNAが未抽出の試料（約30地点）の解析を進めるとともに、これまでデータ化してきた試料についても高度化された手法で再解析を行う。また、試料採集は継続し、太平洋・インド洋を網羅する150の地点でメタバーコーディングデータの取得を目指す。期間中にはワーキンググループ内で連携し、大西洋を縦断するAtlantic Meridional Transectで得られたメタバーコーディングデータ等との比較を行い、地球規模の多様性解析を行う。</p> <p><b>③ 海洋モニタリングへの導入・社会実装</b> 上記の高度化されたバーコーディング・メタバーコーディング手法を普及し、水研機構や大学等のモニタリングに導入する。また、期間中に民間企業との連携を行い、民間企業に委託することで他の研究者がデータを取得可能な体制を確立する。長期的なモニタリングは期間内での達成は困難であるが、その将来変化を検知可能な体制を作り出すことを課題の目標とする。 以上のすべての成果は取りまとめ、手法はマニュアル化し公開し、さらなる動物プランクトンの遺伝子情報の充実を図る。得られた遺伝子情報やメタバーコーディングデータは公共のデータベースに登録し、他の研究者が将来的に参照可能にする。地球規模の動物プランクトンの解析結果もまとめ、最新の遺伝子解析から見る各種の分布、群集の多様性像についての結果もデータベース上で公表する。これらの活動を通じて動物プランクトンの分子生物学的手法の普及を目指し、研究体制を構築することにより、多様性や分布の将来的な変化を把握可能にする。</p>

<サブテーマ1の研究目標>

サブテーマ1名	同上（若手課題のため）
サブテーマ1実施機関	東京大学大気海洋研究所
サブテーマ1目標	同上（若手課題のため）

## 4. 研究内容

本研究は単一のサブテーマで研究を進めるが、上記の研究目標及び研究計画で挙げた3つの課題についてそれぞれ以下に記載する。また、本課題は国内外の連携を強化し、動物プランクトンの分子生物学的手法を用いた研究の発展および共同研究の促進を目的としている。そのため、関連した研究についても記載する。

### ● ゲノムスキミング技術の確立・遺伝子情報の充実

#### - 参照配列の充実度の検証

ゲノムスキミングの開発に先立ち、国際ワーキンググループMetaZooGeneでは現状の動物プランクトンの参照配列がどれほど充実しているのか、地域に隔たりはあるか等の情報を整理し、WGホームページ上で公開することを目的とした。WG内の話し合いにより、一般的に使用されるミトコンドリアDNAのCOIや16S、核DNAの18Sや28Sを対象としてデータを収集し、位置情報を可視化するデータベースの作成を行った。

#### - 動物プランクトンのゲノムスキミング手法の確立・検証

動物プランクトンにおいて最適なゲノムスキミングの技術は確立されておらず、課題中では効率的かつ高品質のゲノムスキミングデータを取得する方法を確立すること目標とし、ライブラリー構築およびデータ解析の流れを作成した(図5)。ゲノムスキミングの手法検証および有用性の確認には既にミトコンドリアゲノムが公開されているカイアシ類*Calanus glacialis*とオキアミ類*Eucalanus pacifica*を用いた。手法の検証では小型の動物プランクトンからも良好にゲノムスキミングデータが取得可能かを検証するため、*C. glacialis*および*E. pacifica*のそれぞれの種で異なるDNA量(10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg)を用いてゲノムスキミングを行った。得られたミトコンドリアゲノムやrRNAのcontigは各種で公開されているデータと比較し、ゲノムスキミングの有用性およびDNA量が及ぼす影響を評価した。

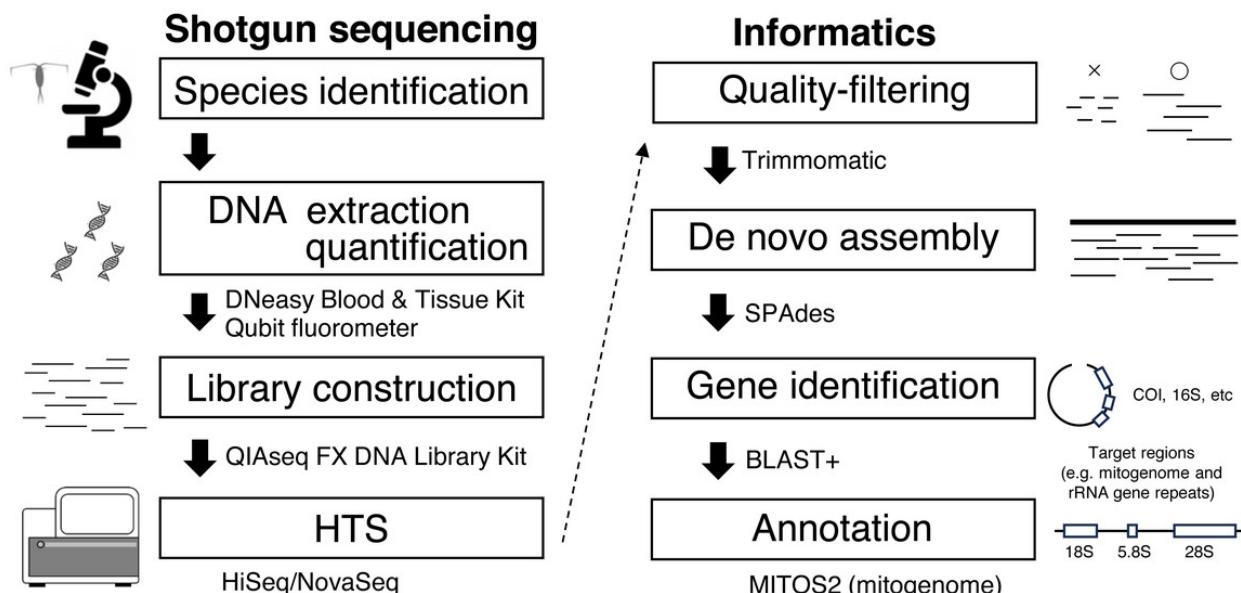


図5. ゲノムスキミングのプロトコール。ライブラリー作成から配列取得のWet解析と得られた配列をインフォマティクスで解析するDry解析に分かれる。

DNA抽出は大型の動物プランクトンでは一般的に動物プランクトンの遺伝子研究で用いるDNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN)を使用した。DNeasy Blood & Tissue Kitはゲノムスキミングに必要な質の良いDNAが得られことが確かめられ、DNA濃度は高感度に少量のDNAも測定可能なQubit Fluorometer (Invitrogen)を用いた。ライブラリー作成も予備的な検証を行い、超音波による断片等の特別な機器を必要とせず、動物プランクトンのような小型生物由来の少量のDNAからもライブラリーが作成可能なQIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN)を用いることとした。ライブラリー作成も予備的な解析を行い最適な条件を検証し、ライブラリーサイズはTapeStation (Agilent)で確認し、ライブラリー濃度はQubit Fluorometerで測定した。なお、上記のプロトコールで安定して良好なゲノムスキミングのためのライブラリー作成を行うことが可能であることが確かめられている。

得られたライブラリーは複数の試料を合わせて Illuminaの超並列シーケンサー(HiSeqまたはNOVASEQ)により大量配列を取得した。有用な遺伝子配列の取得のため、インフォマティクスによる処理が必要となるが、本研究

ではTrimmomaticを用いて低クオリティーの配列を除去し、FastQCにより得られた配列の質や配列の重複度を測定した。低クオリティーやアダプター配列の除去後、SPAdesを用いたアセンブリにより長い配列であるcontigを再構築した。ミトコンドリアゲノムのアセンブリの方法は参照配列を用いる方法も広く使われるが、本研究では参照する配列がない種の多い動物プランクトンを対象とするため、参照配列なしにアセンブリを行うSPAdesを使用して有用性を検証した。長い配列であるcontigの取得後、特にミトコンドリアゲノムとrRNA遺伝子に焦点を当て、データベースとの相同性によりこれらの有用遺伝子配列を特定した。これらの領域を含むcontigはBLASTによりデータベースとの相同性を調べることにより決定した。また、ミトコンドリアゲノムについては遺伝子の有無や配置を確認するためにMITOS2を用いた解析を行った。

#### - ゲノムスキミング手法の適用

確立した手法は日本周辺で得られた各種動物プランクトンに適用し、西部北太平洋におけるデータの拡充を目指した。また、分類体系の整理が必要な分類群を中心に、DNAバーコーディングおよびゲノムスキミングデータによる有用遺伝子配列の取得も進めた。また北極海の優占種である*C. gracialis*や日本および台湾で重要な漁獲対象種となっているサクラエビの集団構造の把握にもゲノムスキミング手法を適用した。

### ● メタバーコーディングの高度化・地球規模の多様性解析

#### - メタバーコーディング手法の高度化

従来はカイアシ類を対象とする28S領域のメタバーコーディングを行っていたが、本研究では手法を高度化し、PCRのためのプライマーを改変することで動物プランクトン全体を対象とした。従来は単一の遺伝子領域が用いられているが、保存的な領域では種の解像度の確保が困難であり、解像度の高い領域は各種動物プランクトンをカバーするPCRプライマーの設計が困難であった。そこで本研究は比較的保存的な28Sまたは18S領域に進化速度の速いCOI領域を加え、複数領域のメタバーコーディング解析を行うことで手法の高度化を図った。28S領域は従来法のカイアシ類のプライマーを改変し、18S領域は真核生物で一般的なユニバーサルプライマー(Amaral-Zettler et al. 2009)を、COI領域は動物に一般的なユニバーサルプライマー(Learay et al. 2013)を使用し有用性を確かめた。PCR後は次世代シーケンサー Illumina MiSeqによりメタバーコーディングデータを取得し、インフォマティクスにより動物プランクトンの群集構造の再現を行った。なお、従来法ではインフォマティクスに Mothurというアプリケーションを用いたが、より正確にデータ解析が可能なQIIME2を解析に導入した。解析では大量配列を配列の類似度に基づき便宜的な種であるOperational Taxonomic Unit (OTU) に分類し、保存的な28S・18S領域では99%の相同性で、配列の変異の大きいCOI領域では97%の相同性でOTUsを作成した。各OTU内の配列数は生物量の指標として用い、群集構造や多様性の解析を行った。

#### - メタバーコーディングによる広域解析

メタバーコーディングの広域解析では新たに採集した試料に研究室が保有する試料を加え、太平洋・インド洋の試料の解析を行った。試料の採集は統一した手法を行い、研究船白鳳丸に乗船し、鉛直曳きで層別に試料が採集可能なVMPS6000Dを用いた。試料は3層(0-200 m, 200-500 m, 500-1000 m)で採集し、採集後は遺伝子解析が可能なエタノールで保存した。新型コロナウイルスや燃油高騰など不測の事態もあったが、期間中には黒潮域の白鳳丸航海、東部インド洋の白鳳丸航海に乗船し、新たなVMPS6000Dを用いた試料を取得した。太平洋・インド洋の比較については広域試料のデータを用い(図6)、28SおよびCOIのメタバーコーディングデータを基に群集・多様性解析を行い、環境情報と比較を行った。本研究では特に深度別のインド洋・太平洋の違いについて調べることを目的とした。さらに、これらのデータは国際ワーキンググループ内の連携にも発展し、北太平洋の中深層の動物プランクトン群衆の制御メカニズムの研究も国際共同研究として行われた。

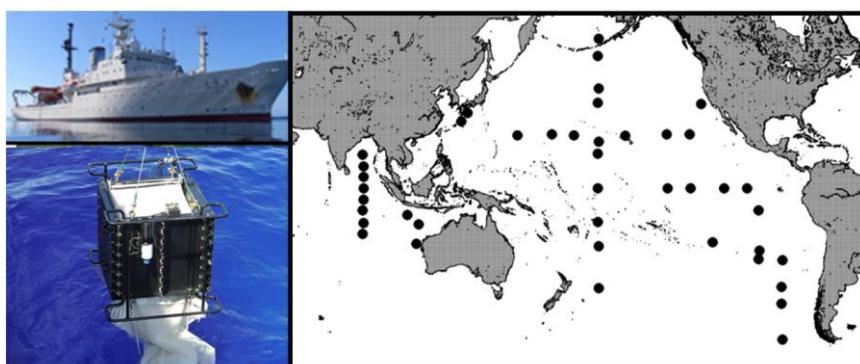


図6. 研究船白鳳丸、使用したネットVMPS 6000D、試料の採集地点。

### - MetaZooGene Intercalibration Experiment

地球規模のメタバーコーディング解析に向け、国際ワーキンググループ内で話し合いを進めた。また、これまでのメタバーコーディング解析のレビューを行った。異なる研究室で取得されたデータが比較可能かの検証を目的とした国際ワーキンググループの共同研究MetaZooGene Intercalibration Experiment(MZG-ICE)も進めた。MZG-ICEでは10か国的研究者が参加し、各研究者の試料を他の研究者と共有し、それぞれの研究室でCOI領域に加えて18S領域のメタバーコーディング解析を行った。得られたデータは統合してデータ解析を行い、研究室間のバイアスについての議論を行った。

### - メタバーコーディングデータベースの作成

メタバーコーディングデータのレビューや国際ワーキンググループの話し合いの中で、地球規模のデータが増加していることは確認された。一方、採集方法の違いなどでインド洋や太平洋で行われた研究のように正確に群集を比較することは困難であるが、それぞれのデータから特定の種や配列の有無を調査することは有用であると考えられた。そこで、これまでに例のない動物プランクトンのメタバーコーディングデータベースを作成し、地球規模のデータを収納可能なツールの作成を目指した。ツール上では特定の配列を持つ種をメタバーコーディングデータから検索し、地図上に表示できるようにするため、COIのメタバーコーディングデータから一塩基の違いであるグループであるASVを作成し、このASVが各サンプルにどれくらい含まれるか表示するシステムの開発および公開を進めた。

## ● 海洋モニタリングへの導入・社会実装

### - モニタリングへのメタバーコーディング適用

上記の高度化したメタバーコーディング法を用い、日本周辺の動物プランクトンをモニタリングする体制を整えることを目的とした。2022年より始まった東京海洋大学の汐路丸を用いたモニタリング、黒潮域をカバーする水研機構のモニタリングとも連携し、季節および年次変化を追跡できる試料の採集を進めた。モニタリングでは季節を網羅するため、冬季と夏季の試料の採集を各年を行った。日本周辺海域の採集方法については基本的に統一し、表層を対象とした小型プランクトンネットであるノルパックネットを用い、動物プランクトン試料を0-150 m(一部は0-200 m)で採集し、エタノールおよびホルマリンで固定した(図7)。得られたエタノール試料は上記のメタバーコーディング法により解析を行った。

### - 日本周辺海域のメタバーコーディングデータの充実

モニタリング地点の動物プランクトン群集を特徴付けるため、日本周辺海域の研究航海で得られた試料のメタバーコーディング解析も進めた。試料採集はモニタリングと同様に行い、黒潮域を中心に乗船する航海では可能な限りの試料を採集し、解析に供した。得られたメタバーコーディングデータは群集構造解析を行い、今現在の多様性や群集構造のパターンや各種の分布を明らかにした。

また、これらの日本周辺の動物プランクトン群集データは個別研究で活用されるのみならず、得られたデータは広域試料と同様にデータベースとして機能させ、特定生物の分布調査に活用された。例えば、オホーツク海においては流水観察の観光に使われる砕氷船ガリンコ号を用いて海水下の動物プランクトンの多様性調査が行われ、親潮-黒潮移行域においても漁場形成に関わる動物プランクトン群集の調査、日本海におけるカイアシ類ノープリウス幼生の調査等に研究が発展している。さらに、北海道紋別市においてもオホーツク海に面したオホーツクタワー(水深10 m)において、週ごとにプランクトン試料や環境DNA試料が継続的に採集され、メタバーコーディング解析が行われている。また、底生生物の幼生の分散など、特定種の検出にも得られたデータが活用された。

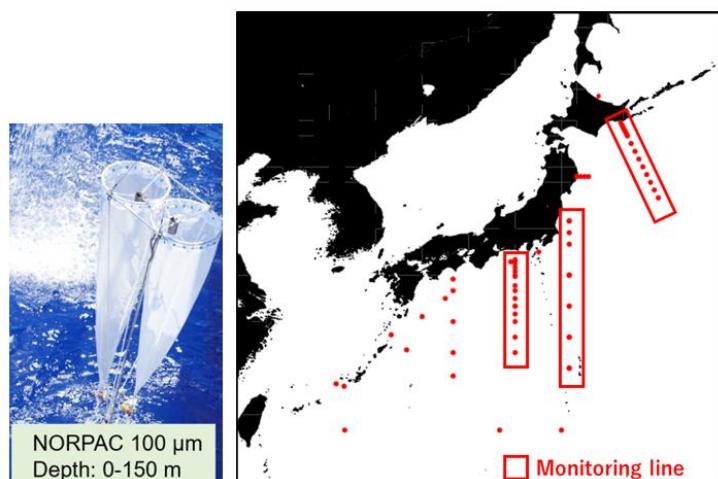


図7. 日本周辺海域の取得メタバーコーディングデータ。黒潮域を中心に試料が採集された。モニタリングラインは赤枠で囲まれており、異なる季節や年で試料が採集・解析されている。

### ● 関連研究

本課題は得られた広域試料やメタバーコーディング等の技術を有効活用し、国内外の連携体制を強化や動物プランクトンの分子生物学的手法を用いた研究の発展も目的としている。そこで、本課題により構築された人脈、研究を通じて整理・採集された広域試料、実験環境・技術を活用し、国内外の共同研究の推進を図った。例えば、種や分類の混乱があるグループの分類体系の整理、広域分布の調査、メタバーコーディングを用いた食物網の再構築などの研究が進められた。

## 5. 研究結果及び考察

本研究は単一のサブテーマで研究を進めるが、上記の研究目標及び研究計画で挙げた3つの課題についてそれぞれ以下に記載する。また、本課題は課題を通じて形成された国内外の連携、実験プラットフォームの活用も目的としており、派生した関連研究の成果についても示す。

### ● ゲノムスキミング技術の確立・遺伝子情報の充実

#### - 参照配列の充実度の検証

国際ワーキンググループMetaZooGeneにおいてメンバー間の話し合いを行い、動物プランクトンの参照配列を整備したMetaZooGene databaseを作成し、ワーキンググループホームページ上で公開した(<https://metazooogene.org/mzgdb/atlas/>) (図8) (成果番号85)。このデータベースでは各種の分布が整理され、目的の遺伝子領域もどの地点で得られたかが可視化されている。また、このデータベース作成に伴い、特に日本周辺海域を含む西部北太平洋や日本からも比較的アクセスのしやすい東部インド洋においては特に遺伝子配列情報が不足していることが明らかとなった。さらに、これらの情報を統合し、動物プランクトンのメタバーコーディング解析のためにフォーマットを整備したデータがホームページ上から提供された。

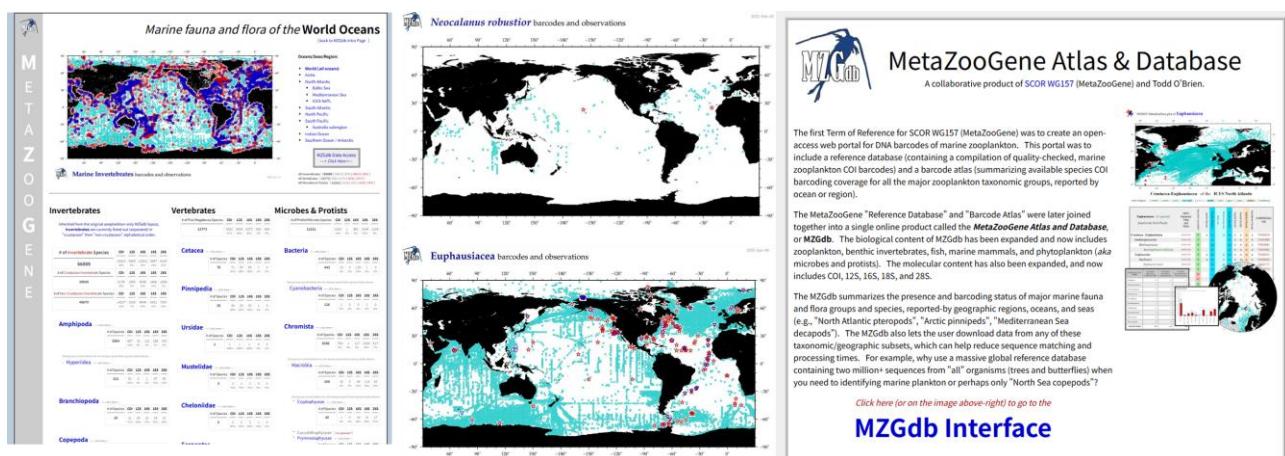


図8. MetaZooGene database。種や分類群の分布が水色のプロットで、目的領域の配列情報の登録地点が赤い星で示されている。また、メタバーコーディングのインフォマティクス用のデータベースも提供している。

#### - 動物プランクトンのゲノムスキミング手法の確立・検証

カイアシ類*C. glacialis*とオキアオキアミ類*E. pacifica*の解析では、すべてのDNA量でゲノムスキミングのシーケンスデータが取得された。高クオリティー配列の割合は特に100 pg以下で減少傾向にあり、1 pgでは特に*C. glacialis*で多くの配列が低クオリティー配列として除去された(図9)。また、ゲノムスキミングデータにおいて配列の多様性は重要であり、重複配列が少ないことが望まれる。非重複配列の割合を比較したところ、両種とも10 pgと1 pgで非重複配列が減少する傾向が示された(図9)。DNA量が少ない際はPCRによるライブラリーの増幅の際のサイクル数の増加が必要となり、より重複配列の割合が高くなると考えられた。また、PCRの際のエラーや重複配列の増加により次世代シーケンサーの解析で読み取りエラーも増加し、低いDNA量のライブラリーでは配列のクオリティーが低下した可能性が考えられた。

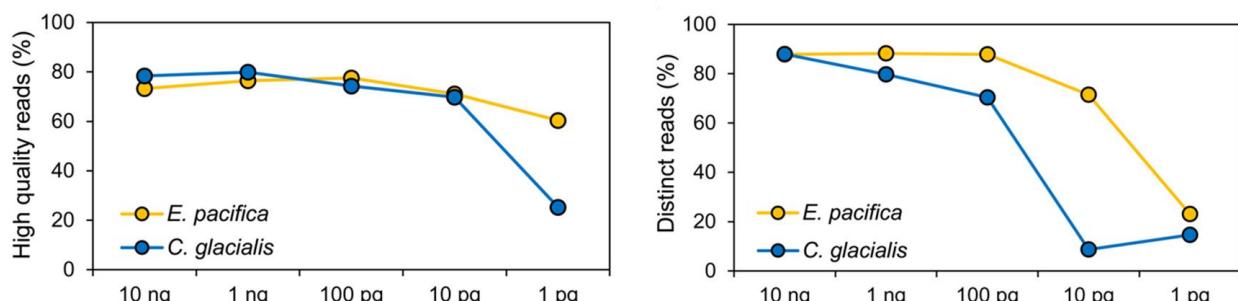


図9. *Euphausia pacifica*および*Calanus glacialis*の各DNA量の低クオリティー(左図)および非重複配列(右図)の割合

低クオリティー配列の除去後、得られたcontigを既知のミトコンドリアゲノムと比較した結果、*E. pacific*では1 pgを除き全長16,898 bpに近い長さのcontigが得られ、遺伝子数や配置も一致した(図10)。*C. glacialis*ではミトコンドリアゲノムの構造の複雑さから2つに分かれたミトコンドリアゲノムが報告されているが、本研究でも2つに分かれたミトコンドリアゲノムのcontigsが10 ng, 1 ngから得られた。一方、得られた配列数の多い100 pgでは1つにつながったcontigが得られた。10 pgおよび1 pgではミトコンドリアゲノムに由来する長いcontigsが得られなかった。また、反復配列のある調節領域の復元は困難であったが、ゲノムスキミングデータから遺伝子領域を含むミトコンドリアDNA配列が良好に取得可能なことが確かめられた。

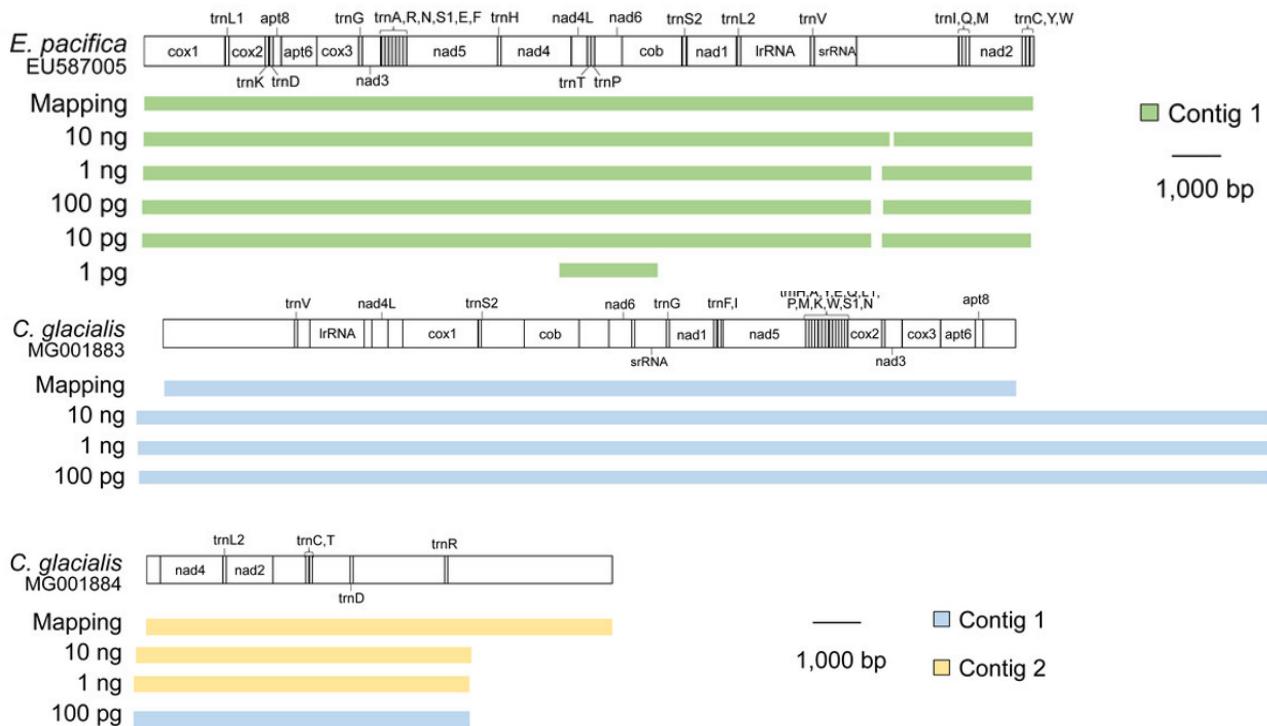


図10. *Euphausia pacifica*および*Calanus glacialis*の各DNA量の試料から得られたミトコンドリアゲノムのcontigs。公開されているミトコンドリアゲノムと比較され、カバーされている領域が示されている。

さらに、ゲノムスキミングに必要なシーケンスのリード数を検証するため、各種で異なるリード数からcontigsを構築し、ミトコンドリアゲノムが構築できるかを確かめた(図11)。その結果、*E. pacific*の解析では100万リード以上でほぼ全長のミトコンドリアゲノムが再構築可能であることが確かめられた。ゲノムサイズが大きくより複雑な構造を持つ*C. glacialis*では300万リード以上で良好なミトコンドリアゲノムデータが再構築可能であった。また、リード数の増加に伴い分かれていたミトコンドリアゲノムcontigsを結合することも可能であった。

ゲノムスキミングはミトコンドリアゲノム配列を効率的に取得可能であることが示されたが、その他の有用領域についても探索が行われた。例えば核DNAのrRNA遺伝子配列は*C. glacialis*の1 pgを除き配列が取得されたが、DNA量の増加に伴い長い領域がカバーされる傾向にあった。また、系統解析で利用される核DNAのHistone 3も両種のcontigsから検出され、核DNAの有用遺伝子配列の取得にもゲノムスキミングが有用であった。

以上の結果から、DNA量は100 pg以上、可能であれば1 ng以上の確保が望ましいと判断された。動物プランクトンは小型であるが、小型動物プランクトンでも1 ngのDNAの確保は難しくなく、確立した方法は小型動物プランクトンに適用可能であることが確かめられた。さらに、ゲノムスキミングにおいて300万リード程度でミトコンドリアゲノムの再現が可能であった。次世代シーケンサーの技術の発展は目覚ましく、比較的低コストで大量配列を取得可能になっている。例えば Illumina NOVASEQを用いると、試薬代を含めても1サンプルあたり1万円以下でゲノムスキミングデータが取得可能であると見積もられた。以上の成果は論文としてまとめられ(成果番号3)、著名な動物プランクトン国際会議であるZooplankton Production Symposiumでも招待講演者としてもゲノムスキミング技術を紹介した(図12; 成果番号15)。また、科学博物館のシンポジウムでの研究紹介など、国内外の多くの場で成果が紹介され(例えば成果番号17、23、26、27)、国際ワーキンググループ MetaZooGeneの会議中でもプロトコルの情報共有を行った。

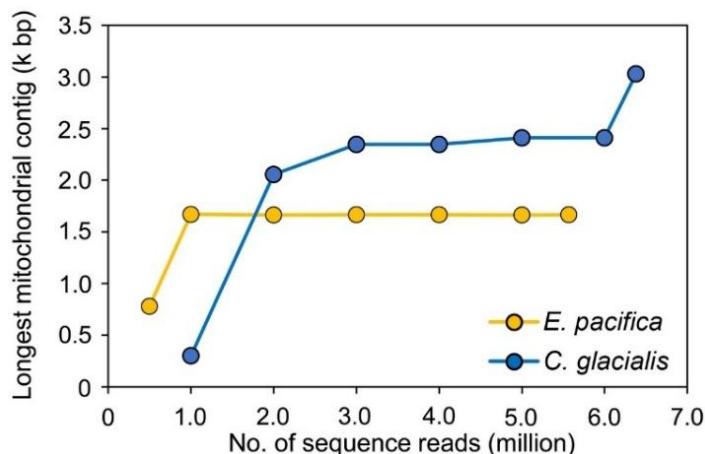


図11. *Euphausia pacifica*および*Calanus glacialis*の各リード数から得られたミトコンドリアゲノムcontigsの長さ(bp)



図12. ゲノムスキミング技術が紹介された国内外研究集会における招待講演の例

#### - ゲノムスキミング手法の適用

確立したゲノムスキミングの手法は日本周辺海域の各種動物プランクトンに適用された。同一の形態種内に複数種が含まれ正確な種数を表すことは困難であるが、現在までに400種を超える様々な動物プランクトンから計628のゲノムスキミングデータが取得された(表1)。得られたデータは45億配列を超え、1サンプル当たりも平均700万配列を十分な量の配列数が確保されている。日本周辺海域の重要種を中心にデータは取得したが、カイアシ類やオキアミ類、多毛類のように個別の研究テーマとして発展が見込まれるものについては重点的にデータを取得した。従来は一部の遺伝子領域でのみDNAバーコーディングがされた動物プランクトンであるが、ゲノムスキミングデータが蓄積することで何十年先でも有効活用されるデータが蓄積できる。これらのデータは現在データ論文としてまとめおり、データ論文を公表後に個別の研究に活用される予定である。

得られたゲノムスキミングデータは種判別のみならず、種間や種内の系統解析等にも利用可能となる。例えば、東海大学および台湾の研究者と共同研究により、サクラエビの集団構造の研究を行い、確率されたゲノムスキミングの技術も用いられている(図13)。サクラエビの研究では日本と台湾の個体が遺伝的につながることが示され、資源量の保護にも役立つ成果が得られた(成果番号4、17、26)。成果は朝日新聞など各種メディアで報道されており(成果番号78、79、80、81)、今後も取得されたゲノムスキミングデータを用いた研究が加速すると期待される。

表1. 取得されたゲノムスキミングデータのリスト

	N	Total reads	Average reads
Appendicularia	15	125371431	8358095
Chaetognatha	8	88158529	11019816
Cladocera	7	22025087	3146441
Copepoda	421	2779866957	6603009
Decapoda	29	135058480	4657188
Doliolida	2	10245830	5122915
Euphausiacea	32	200476887	6264902
Polychaeta	114	1193643225	10470554
<b>Total</b>	<b>628</b>	<b>4554846426</b>	<b>7252940</b>

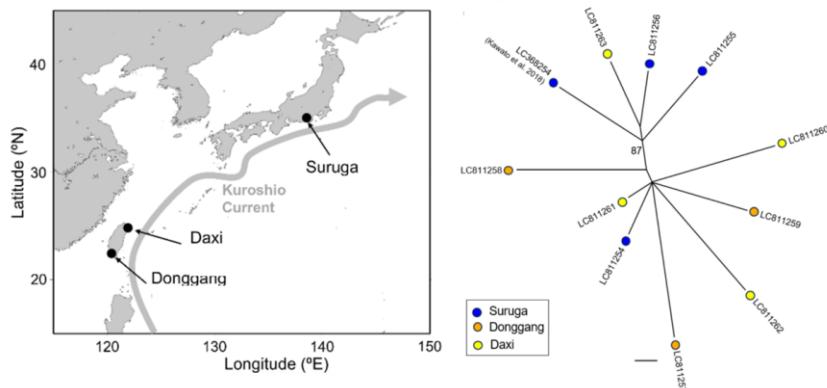
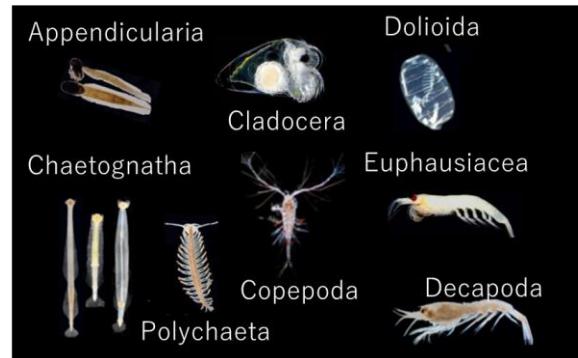


図13. サクラエビの集団構造解析。ミトゲノムによる種内の系統解析が行わた。

### ● メタバーコーディングの高度化・地球規模の多様性解析

#### - メタバーコーディング手法の高度化

複数領域によるメタバーコーディングの高度化により、従来はカイアシ類を対象にした解析から動物プランクトン全体に発展させた手法へと発展することが可能となった。各領域では最適なPCRの酵素や条件を検証し、最適なメタバーコーディングの手法を検証した。確率した手法は後述のMZG-ICEで他の研究グループの手法との比較も行われ、実験条件等も準備中の論文で公開予定となっている(MetaZooGene Intercalibration Experimentにて記載)。28S領域のプライマー配列については関連する研究の共著論文内で配列が公表された(Watanabe et al. 2023)。

#### - メタバーコーディングによる広域解析

太平洋・インド洋の比較については51地点の試料のデータを用い、28SおよびCOIそれぞれ153のメタバーコーディングデータを基に群集・多様性解析を行った。インド洋・太平洋の広範囲のメタバーコーディングの結果、28S領域では774 OTUsが、COI領域では7835 OTUsが得られた。データベースとの照合の結果様々な分類群の動物プランクトンが得られ、結果は概ね2つの遺伝子領域で一致した。保存的な28S領域では9割を超えるOTUで phylum-levelの分類群を決定できたが、変異速度の速いCOI領域では半数以上が未分類であった(図14)。そのため、動物プランクトンのメタバーコーディングの正確性向上のために参照配列の取得が必須であることが示された。また層別の結果では表層0-200 mに比べて中層200-500 mおよび500-1000 mで多様性が増加し、深度の増加に伴い多様性が上昇する傾向が示された(図14)。インド洋と太平洋の共通OTUは各層で40-45%と比較的高い割合を示し、海盆間で種レベルの交流があることが示された。太平洋とインド洋は特に表層でIndonesian Throughflowによる交流が盛んにおこなわれていると考えられたが、共通OTUの結果からは少なくとも種レベルでは中深層においても海盆間の交流が活発に行われていることが示された。

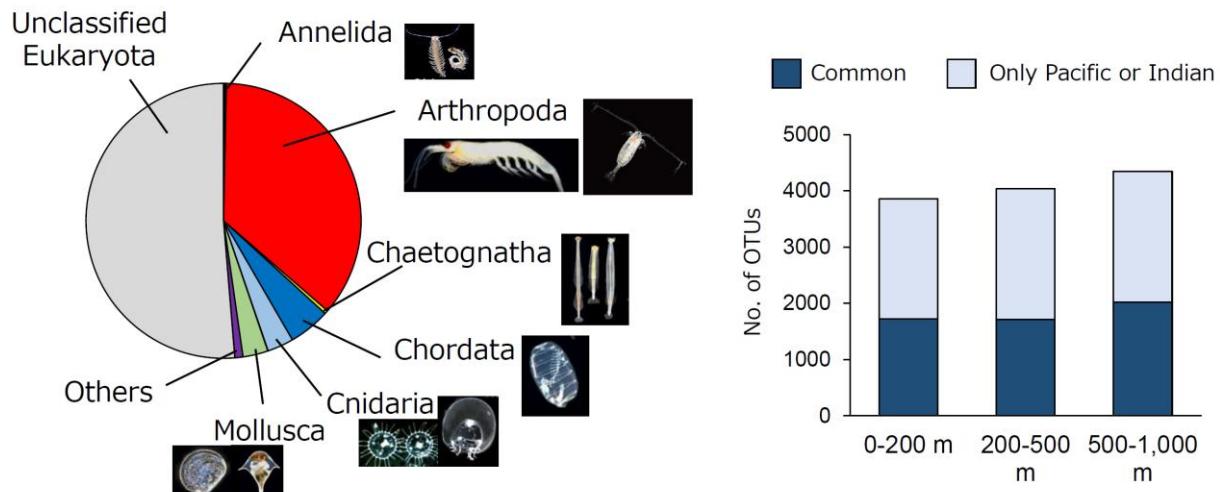


図14. 得られたOTUの分類群の割合(phylum-level)および各採集層のOTU数。インド洋と太平洋の共通OTUはCommonとして表されている。

さらに得られたOTUを基に群集構造解析を行った結果、各遺伝子領域で水深ごと異なる群集構造を示し、各深度は高緯度と低緯度で明確に群集構造が異なった。低緯度域の詳細な群集構造解析ではベンガル湾と赤道域を含む熱帯グループと亜熱帯循環の中心部と縁辺部を含む亜熱帯のグループに大別された(図15)。共通するOTUやクラスターのグループが太平洋およびインド洋で見られたことにより、群集構造は地理的要因よりも環境要因で決まっている可能性が示唆された。特に植物プランクトン量の指標になるクロロフィル濃度とクラスター解析から得られたグループのよく一致しており、餌の量などのボトムアップが群集構造を決定する上で重要と考えられた。実際、熱帯グループは亜熱帯グループより高いクロロフィル濃度が見られ、亜熱帯循環の縁辺部も表層のクロロフィル濃度が亜熱帯中心部よりも高い傾向にあった。また、特にインド洋は複雑な群集構造が観察され、群集構造と環境情報の詳細な比較が重要であると考えられた。

多様性解析の結果から、高緯度に比べて低緯度域で多様性が高く、低緯度域では特に表層では亜熱帯域で動物プランクトンの多様性が高いことが示され、この傾向はCOI領域で得られた亜熱帯循環の縁辺部で顕著であった(図16)。この亜熱帯の縁辺部で多様性が高い要因としては物理的に複雑な構造であること、貧栄養海域であるために食性等の細分化が起きていることなどが挙げられ、COIで顕著であった理由としては亜熱帯の縁辺部に分布する種が進化の上では比較的最近分化した種である可能性が考えられる。また、各OTUの分布の詳細も得られ、各種の広範囲の分布データを取得できた。これらのインド洋および太平洋の広域解析の成果は指導学生の修士論文研究としてまとめられ(玉蟲 2023)、国内外の研究集会で成果は発表されている(成果番号12、24、27、29、45、64)。また、これらの試料やデータを2次的に利用し、米国スクリプス海洋研究所と共同研究も進め、国際学会で成果が発表されている(成果番号40、42)。

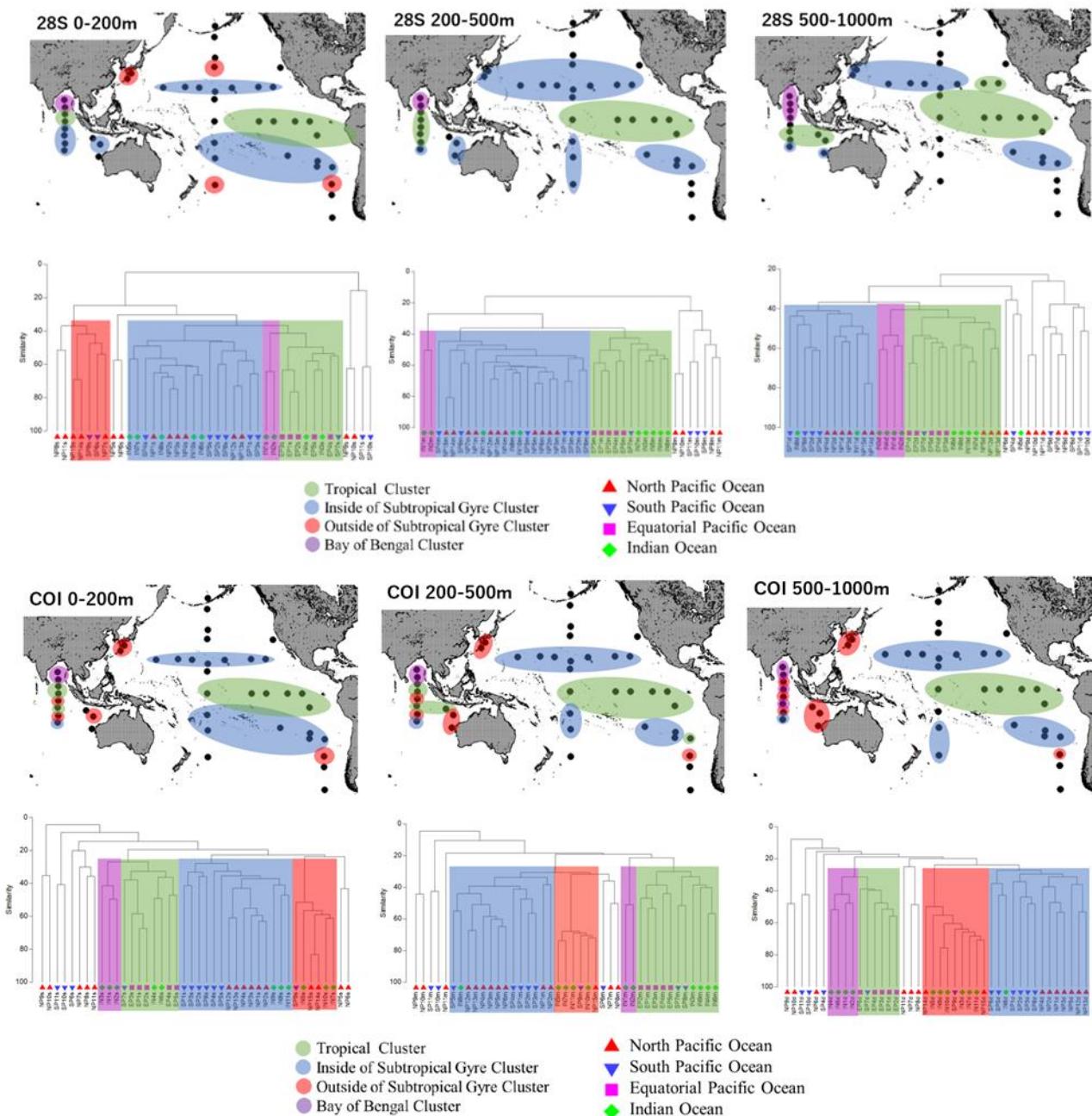


図15. 28SおよびCOI領域を用いたメタバーコーディングの群集構造解析結果

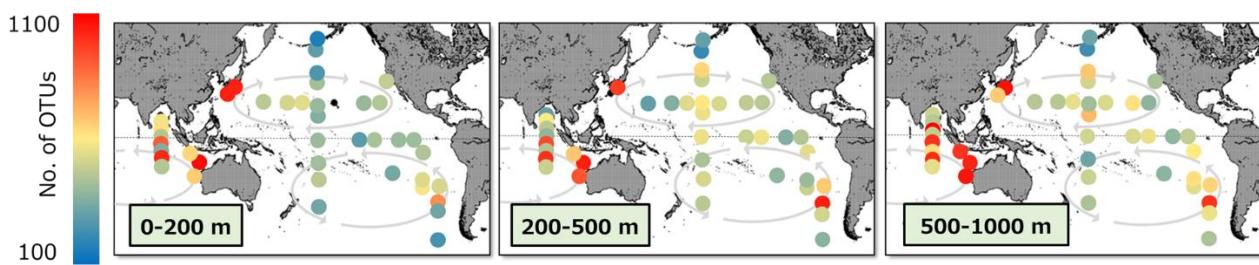


図16. COI領域の各深度におけるOTU数。多様性のパターンを表している。

## - MetaZooGene Intercalibration Experiment

国際ワーキンググループのMZG-ICEは現在すべてのグループのデータが揃い、比較のためのデータ解析が進められた。同一の試料を異なる研修グループ間でデータ化したところ、得られた群衆構造の結果は概ね一致し、研究室間で大きなバイアスは生じないという結論となった。一方、コンタミネーションやクオリティーコントロールなどで細かい違いが出ることも明らかとなった。これらの結果は2024年3月にオーストラリアで行われた7th Zooplankton Production Symposiumで発表され(成果番号49)、シンポジウム中には論文化に向けた話し合いも行われた。また、話し合われた内容や発表スライドはすべてホームページ上で公開されている(成果番号86: <https://metazoogene.org/meetings-n-workshops/zps-2024mar>)。

## ● メタバーコーディングデータベースの作成

地球規模のメタバーコーディングデータのレビューにより、地域のデータの隔たりや採集方法の違い、使用する遺伝子領域など研究目的によりデータが大きく異なることが明らかとなった(図17)。MZG-ICEの結果からは同一サンプルであれば研究グループ間の結果の違いは大きくないことは示されたが、採集方法の違う試料を用いた正確な地球規模の解析は困難であると判断した。一方、種の分布を調べるデータとしては有用であり、得られたメタバーコーディングデータから各種や配列の分布情報を容易に検索が可能なアプリケーションMarine Zooplankton metabarcoding databaseを開発した(図18)。現在までに上記のインド洋及び太平洋のデータが登録されており、今後はレビューと基にしたさらなる地球規模のデータ追加を予定し、配列情報から種の分布を把握可能な体制を立ち上げる予定である。現在このデータベースはweb上で公開されている(成果番号87)。これらのメタバーコーディングのレビューおよびwebツールについては今後論文化を予定している。

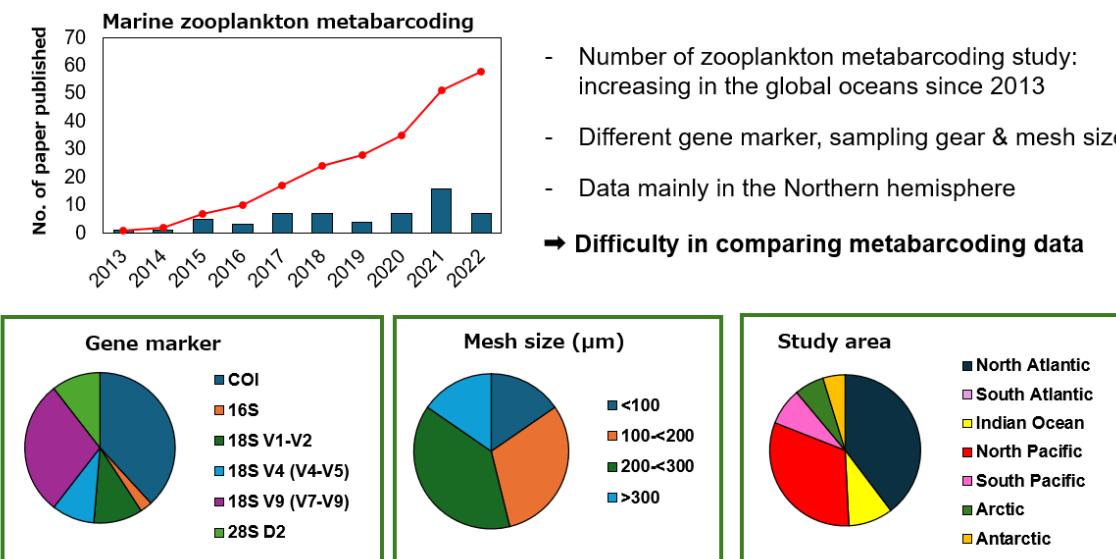


図17. メタバーコーディングデータのレビュー。メタバーコーディング研究の増加や使用した遺伝子領域、採集時に用いたネットの目合いなどが整理されている。

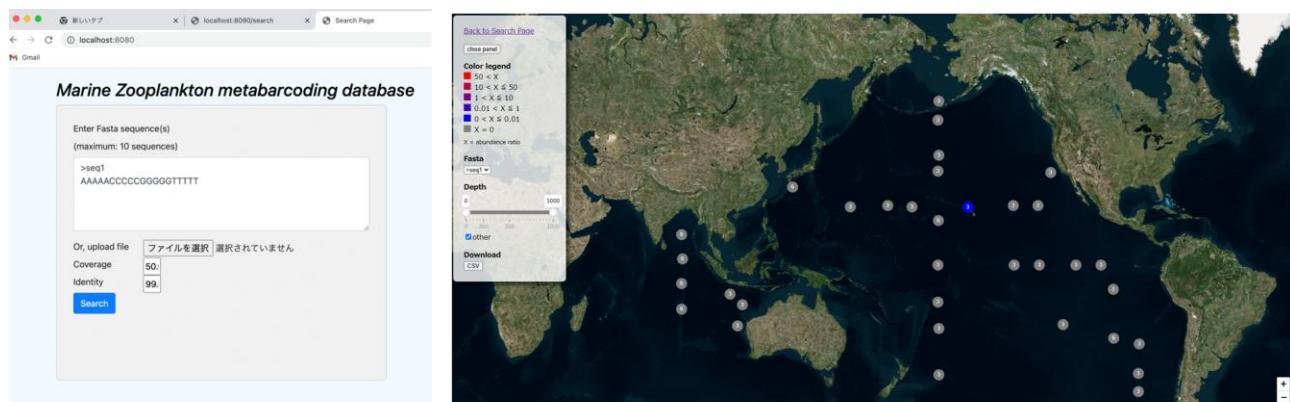


図18. 開発した動物プランクトンのメタバーコーディングのデータベースMarine Zooplankton metabarcoding database。Web上で特定の配列の分布情報をメタバーコーディング情報から検索することが可能。

### 参照文献

Watanabe T, Hirai J, Sildever S, Tadokoro K, Hidaka K, Tanita I, Nishiuchi K, Iguchi N, Kasai H, Nishi N, Katakura S, Taniuchi Y, Kodama T, Tashiro S, Nakae M, Okazaki Y, Kitajima S, Sogawa S, Hasegawa T, Azumaya T, Hiroe Y, Ambe D, Setou T, Ito D, Kusaka A, Okunishi T, Tanaka T, Kuwata A, Hasegawa D, Kakehi S, Shimizu Y, Nagai S (2023) Improving taxonomic classification of marine zooplankton by molecular approach: registration of taxonomically verified 18S and 28S rRNA gene sequences. PeerJ, 11: e15427.

玉蟲(2023)インド洋・太平洋低緯度域における動物プランクトン群集のメタバーコーディング解析. 東京大学大学院, 修士論文研究.

### ・海洋モニタリングへの導入・社会実装

#### - モニタリングへのメタバーコーディング適用

メタバーコーディング手法は黒潮～親潮域のモニタリングに導入し、メタバーコーディング解析を行い、各地点の動物プランクトン相の違いが得られた(図19)。解析にはCOI領域に加え18S領域のメタバーコーディングデータも追加した。COIのメタバーコーディングを基にクラスター解析を行ったところ、大きく亜熱帯と亜寒帯の群集に分かれた。また、亜熱帯・亜寒帯ともに冷水期と暖水期の群衆に細分化され、大きく4つのクラスターグループとなった。一方、保存的な18S領域の解析では亜熱帯のグループがCOIに比べて明確に分かれなかった。亜熱帯海域は近縁種を含めた種の多様性が高く、種レベルのCOI領域を用いることでより詳細な群集を追跡できると考えられ、解像度の高い群衆解析の重要性が示された。また、重点海域とした汐路丸のモニタリングラインには亜熱帯海域のサブグループや亜寒帯海域の群集が含まれた。そのため、今後亜熱帯化する生態系の変化を追うのに最適なモニタリングサイトであることが確かめられた。

また、多様性の解析では各試料あたりCOI領域で117—1276 OTUs、18S領域で73—579 OTUsが検出された。種の解像度の高いCOI領域のほうがOTU数は高い結果になったが、多様性のパターンは領域間で共通した。OTU数は基本的に亜寒帯海域で低く、亜熱帯で高くなる傾向にあり、海域内でも環境の違いのより大きく変動した。汐路丸のモニタリングにおいても測点や季節により大きく多様性が変動するパターンが見られた。今後の水温上昇等に伴う環境変化により、全体的な多様性は減少するのか、均一的な多様性や群集構造の変化が乏しい生態系になるのか等、多様性の点からも同モニタリングは今後の日本周辺海域の変化を捉える上で重要な解析地点になるとと考えられた。動物プランクトンのメタバーコーディングも含め、モニタリングの重要性は学会等で発表が行われている(例えは成果番号15、20、22、25、29、61)。

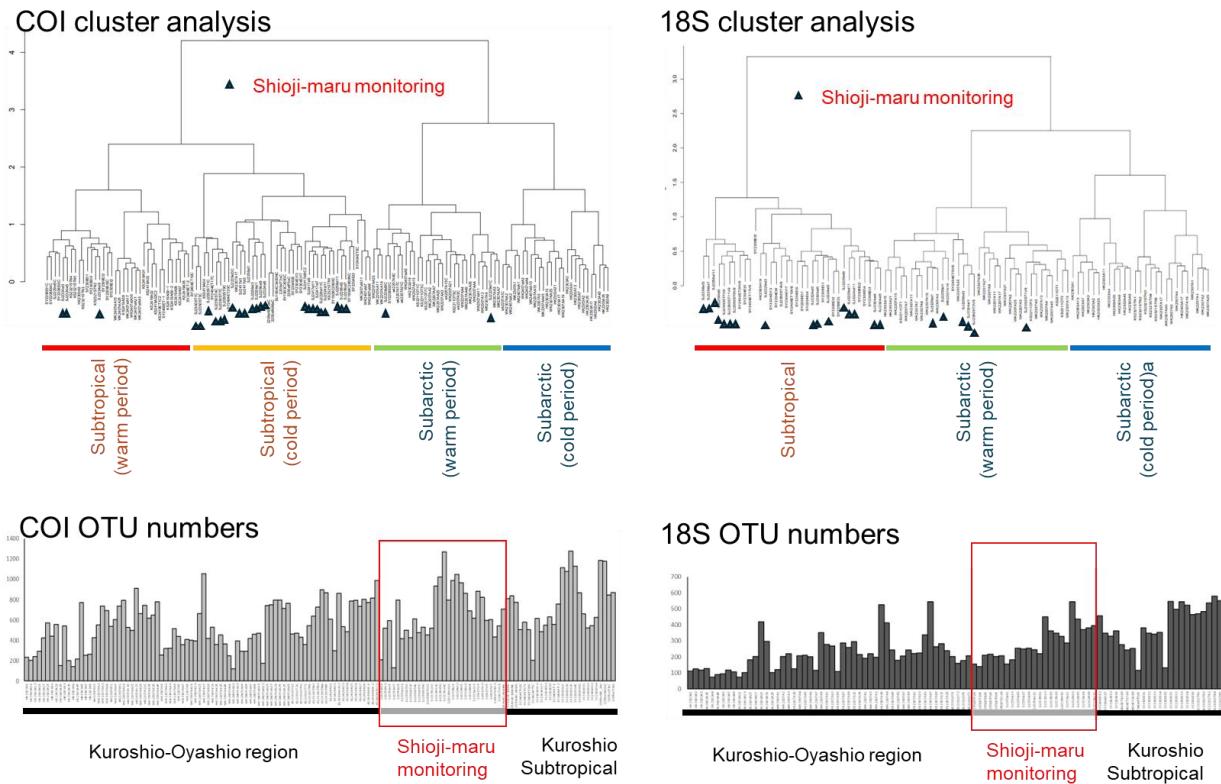


図19. COIおよび18S領域を用いた日本周辺海域のメタバーコーディング解析。重点海域である汐路丸のモニタリングがクラスター解析・OTU数の解析で明記されている。

- 日本周辺海域のメタバーコーディングデータの充実

確立された手法は日本周辺海域の各研究テーマに適用され、多くの研究成果を挙げた。例えば、オホーツク海の流水下の多様性調査において、18S・COIメタバーコーディングにより優占種の配列がオホーツク海と他海域で異なり、海水下に動物プランクトンの未知なる多様性が秘められていることが示された(図20)。成果は招待講演も行った国際シンポジウムで発表し(成果番号13、18)、読売新聞等でも報道されている(成果番号76、77)。また、研究内容はProceedingとしてもまとめられている(成果番号7、8)。さらに、北海道紋別市でもメタバーコーディング用の試料を継続的に収集しており、季節経年変化のモニタリング結果が2023年に公表されている(Sildever et al. 2023)。漁場形成に関する移行域の動物プランクトン群集、日本海のノープリウス群集の研究結果等も国際学会をはじめとして紹介され(成果番号16、39、44)、論文も投稿準備中となっている。また、得られたデータの2次利用により、底生生物の幼生検出にも活用されている。これらのメタバーコーディングの成果は上述の国際集会や科学博物館のシンポジウムを中心に、多くの場で紹介がされている(例えば成果番号15、27)。

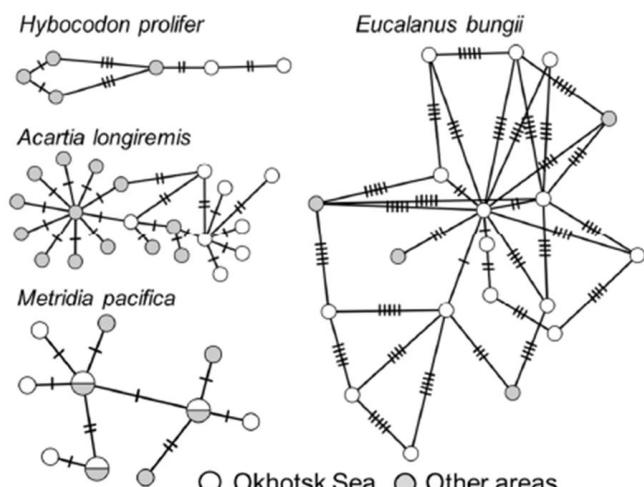


図20. 日本周辺海域におけるメタバーコーディングの適用例。オホーツク海における海水下のメタバーコーディング

による動物プランクトンの多様性調査により他海域と異なるオホーツク海独自の配列が見られ、未知なる多様性が検出された。

#### 参照文献

Sildever S, Nishi N, Tazawa S, Kasai H, Hirai J, Shiomoto H, Kikuchi T, Katakura S, Nagai S (2023) Eight years of weekly eDNA monitoring in the northwestern Pacific. *Environmental DNA*, 5: 1202-1215.

#### ● 関連研究

関連研究ではメタバーコーディング技術を活用した食性解析が多く進められ、広域分布を含めたオキアミ類(成果番号1, 6, 33, 43)、海産ミジンコ類(成果番号5)、黒潮域動物プランクトン(Kobari et al. 2024)、黒潮域仔魚(Kume et al. 2025)等の研究成果につながった。また、カイアシ類において餌生物と寄生生物の検出にも利用されている(成果番号2)。また、本課題を通じて整備されたメタバーコーディングを活用した海水中のプランクトン相の把握(Wu et al. 2024, Sugai et al. 2025)、沈降粒子の解析に発展し(Shimonaka et al. 2025)、環境DNAからの特定プランクトンの検出(Nakae et al. 2025)、メタバーコーディングデータの分類群決定のツール開発にも携わった(Inoue et al. 2024)。また、広域試料を活用した浮遊性多毛類の地球規模の種多様性の把握(成果番号36, 46, 65, 66)、北太平洋におけるマイクロネクトン群集(Nagatomo et al. 2024)北太平洋における*Metridia*属カイアシ類の種多様性・種内多様性(Hirai et al. 2023)、*Pleuromamma*属カイアシ類の系統解析や機能遺伝子の把握(Iwanicki et al. 2024)などが行われた。参照配列整備のための分類体系の整理も継続的に行い、新種記載にもつながっている(Takahashi et al. 2022)。

#### 参照文献

Kobari T, Taniguchi A, Hirata M, Kume G, Ichinomiya M, Komorita T, Kodama M, Makino F, Hirai J (2024) Comparison of trophic sources and pathways of mesozooplankton and ichthyoplankton in the Kuroshio and its neighboring waters. *Progress in Oceanography*, 229, 103356.

Kume G, Minagawa A, Shiozaki K, Jinno S, Hirai J, Ichinomiya M, Komorita T, Kodama M, Habano A, Kobari T (2025) Analyses of gut contents and isotopic composition of Anguilliformes leptocephali near southern Japan. *ICES Journal of Marine Science*, 82, fsaf065.

Wu Y, Hirai J, Zhou F, Iwataki M, Jiang S, Ogawa H, Inoue J, Hyodo S, Saito H (2024) Diversity and biogeography of dinoflagellates in the Kuroshio region revealed by 18S rRNA metabarcoding. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1361452.

Sugai Y, Ushio M, Hirai J, Hasegawa-Takano M, Fujiwara T, Takada M, Mori K, Fukuda H, Saito H, Hamasaki K, Hyodo S, Yoshizawa S (2025) Distribution patterns of marine prokaryotic and eukaryotic communities revealed by environmental DNA metabarcoding analysis. *Frontiers in Marine Science*.

Shimonaka T, Kodama T, Otosaka S, Hirai J, Wagawa T, Nakae M, Sakuma K, Takahashi K. (2025) Differences in sinking processes and biological pump contribution among phytoplankton groups in the mesopelagic Layer. *Global Biogeochemical Cycles*. 39, e2024GB008476.

Nakae M, Hirai J, Hasegawa T, Iida A, Iguchi N, Sakuma K (2025) A species-specific qPCR method to detect the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* from ocean environmental DNA. *Plankton and Benthos Research*, 20, 226-230.

Inoue J, Shinzato C, Hirai J, Itoh S, Minegishi Y, Ito S, Hyodo S (2024) phyloBARCODER: A web tool for phylogenetic classification of eukaryote metabarcodes using custom reference databases. *Molecular Biology and Evolution*, 41, msae111.

Nagatomo Y, Horii S, Hirai J, Hashihama F, Sado T, Fukuchi T, Miya M, Takahashi K. (2023) Geographic distribution of micronektonic fish communities in the subtropical North Pacific: the effect of primary productivity and nitrogen fixation. *Progress in Oceanography*. 217: 103086.

Hirai J, Katakura S, Nagai S (2023) Comparisons of genetic population structures of copepods *Pseudocalanus* spp. in the Okhotsk Sea: first record of *P. acuspes* in coastal waters off Japan. *Marine Biodiversity*, 53: 12.

Iwanicki T, Chen JW, Hirai J, DeTurk H, Steck M, Goetze E, Porter M (2024) Shining new light on naupliar eyes: a novel molecular phylogeny for *Pleuromamma* (Family: Metridinidae) and the characterization of luciferase and opsin expression. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 201, 108200.

Takahashi K, Itoh H, Hirai J, Tadokoro K, Nishiuchi K (2022) A new species of genus *Sapphirina* (Copepoda, Cyclopoida) from the Kuroshio Extension region in the western North Pacific Ocean. *Plankton and Benthos Research*, 17: 358-368.

## 6. 研究成果及び自己評価

## 6. 1. 研究成果発表の件数

成果発表の種別	件数
産業財産権	0
査読付き論文	6
査読無し論文	0
著書	3
「国民との科学・技術対話」の実施	0
口頭発表・ポスター発表	62
マスコミ等への公表・報道等	10
成果による受賞	3
その他の成果発表	3

## 6. 2. 主要な研究成果発表

成果番号	主要な研究成果発表 (「研究成果発表の一覧」から10件まで抜粋)
1	Zhou F, <u>Hirai J</u> , Sato T, Horii S, Takahashi K, Tsuda A (2024) Community structure of euphausiids in the low-latitude Indian and Pacific Oceans: large impact of primary productivity. <i>Journal of Oceanography</i> , 80, 163-176. DOI: 10.1007/s10872-024-00713-z
2	<u>Hirai J</u> , Katakura S, Kasai H, Nagai S (2024) Ecological interactions between marine RNA viruses and planktonic copepods. <i>Communications Biology</i> , 7, 1507. DOI: 10.1038/s42003-024-07189-z
3	<u>Hirai J</u> (2025) Optimal input DNA thresholds for genome skimming in marine crustacean zooplankton. <i>PeerJ</i> . 13, e19054. DOI: 10.7717/peerj.19054
4	<u>Hirai J</u> , Hsiao S-T, Yeh H-M, Nishikawa J (2025) Population panmixia of the pelagic shrimp <i>Lucensosergia lucens</i> between Japanese and Taiwanese waters in the western North Pacific. <i>Scientific Reports</i> . 15, 7040. DOI: 10.1038/s41598-025-91208-4
7	<u>Hirai J</u> , Katakura S, Kasai H, Tamamushi N, Nagai S (2024) Metabarcoding analysis of zooplankton communities during a period of sea ice in the Okhotsk Sea. <i>Proceedings of The 38th International Symposium on the Okhotsk Sea &amp; Polar Oceans 2024</i> , L5.
8	<u>Hirai J</u> , Yamaguchi A, Katakura S (2025) Revealing hidden diversity of zooplankton under sea ices in the Okhotsk Sea. <i>Proceedings of The 39th International Symposium on the Okhotsk Sea &amp; Polar Oceans 2025</i> , L5.

15	Hirai J, Reference sequence data for marine zooplankton in the era of high-throughput sequencing. ICES/PICES 7th Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).
27	平井惇也, 地球規模の海洋性動物プランクトンの多様性理解に向けた取り組みと展望, 21世紀の生物多様性研究ワークショップ「多様化する生物多様性調査とそのデータ」, 東京, 12月, (2024)
49	Ann Bucklin, Leocadio Blanco-Bercial, Ruben Escribano, Tone Falkenhaug, Junya Hirai, Jenny Huggett, Pedro Martinez, Katja Peijnenburg, Leonie Suter, Agata Weydmann-Zwolicka, Paola Batta-Lona, Stacey Dubbeldam, Elza Duijm, Elizaveta Ershova, Carolina Gonzalez, Ashrene Govender, Johan Groeneveld, Sahar Khodami, Anna MacDonald, Jan Macher, Monika Mioduchowska, Andrea Polanowski, Jasmin Renz, Peter Wiebe, Todd O' Brien. Metabarcoding Zooplankton Diversity: MetaZooGene Intercalibration Experiment (MZG-ICE). ICES/PICES 7th Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).
87	Marine zooplankton metabarcoding database ( <a href="https://marine-zooplankton-metabarcoding-db.com/">https://marine-zooplankton-metabarcoding-db.com/</a> )

注：この欄の成果番号は「研究成果発表の一覧」と共通です。

### 6. 3. 研究成果の学術的意義

本研究は他の生物群に比べて遅れを取っていた動物プランクトンの分子生物学的手法を用いた研究を積極的に推進し、日本周辺海域を中心に多様性把握のデータを大量に蓄積し、国内外の連携により研究分野の発展に貢献した点で学術的意義が高い。海洋において動物プランクトンは魚類仔魚の餌料としても重要であり、環境変化に迅速に応答することから指標生物としても古くから利用されてきている。一方、分子生物学的手法の導入は最も遅れている生物群の一つとも言える。例えば微生物群集は非常に微小で形態的に分類ができないという特徴により、従来から16S rRNAの解析のように分子生物学的手法による群集把握が行われてきた。また、植物プランクトンも次世代シーケンス技術が導入され、群集レベルの把握が急速に進み、把握が困難であった魚類等の高次消費者も環境DNAの解析技術の発展により多様性や群集構造の全体像が把握可能になってきている。しかし、動物プランクトンは隠蔽種等の問題を抱えつつ、以前として形態分類に頼る手法が用いられてきた。

本研究はゲノムスキミング技術の有用性を動物プランクトンで確認し、重要種を中心に多くのデータを取得した。種判別するにはゲノムスキミングではなく従来法のDNAバーコーディングによる特定マーク（例えばCOI領域）の取得で十分であるが、種判別のみならず進化・生態の議論が可能であり、将来的に何十年とデータが利用可能なゲノムスキミングをあえて取得した点で研究の独創性がある。他の研究では単一のゲノムスキミングやミトコンドリアゲノムの報告で論文化を行っているが、本研究では400種を超える種でデータを取得し、動物プランクトンにおいては非常に先端的な研究となり、今後出される予定のデータ論文は広く引用されることが期待される。

また、メタバーコーディングは動物プランクトンで徐々に普及しつつあるが、国際WGの活動とともにさらにその流れを加速し、動物プランクトンの分子生物学的手法の発展を行う必要があった。本研究はインド洋・太平洋の知見の不足した地域の動物プランクトンの多様性や群集構造をメタバーコーディングで明らかにし、MZG-ICE等の地球規模の国際共同研究への参画にも発展している。また、広域試料に加えて日本周辺海域の黒潮域を中心に網羅的なデータが蓄積され、本研究ではおよそ400試料とこれまでにない規模のデータセットとなった。このデータセットを活かすWebツール (Marine Zooplankton Metabarcoding Database) も開発され、地球規模のメタバーコーディングの発展に寄与するものとなった。

メタバーコーディングは海洋モニタリングに導入され、将来的な変化を客観的に追えるデータを蓄積できた点も学術的価値が高く、研究としての将来的な発展性を秘め、生態系変化を追うことにより社会的な貢献も可能になると考えられる。また、期間中には多くの国内外の共同研究に発展し、国内のみならず地球規模の動物プランクトンの分子生物学的手法の発展に貢献したと考えられる。

### 6. 4. 研究成果の環境政策等への貢献・見通し

本研究では新規手法を導入し、技術の発展が目覚ましい分野においても将来的に比較可能な有用データを残すことに重点を置いた。動物プランクトンのメタバーコーディングは海洋モニタリングの有用な手段であり、今後継続的に海洋生態系の変化を把握する手段として期待が持たれる。また、環境DNA試料にも適用可能な技術であり、現在魚類を中心とした環境DNAの調査に餌情報としての動物プランクトン相の情報を付与することも可能となる。そ

のため、将来的には微生物～魚類までの分類群横断型の解析にも貢献ができる。また、環境DNAの自動サンプラーやその解析機器への応用も期待できる。遺伝子情報の蓄積についてもゲノムスキミングが広まることにより高精度の種の参考配列の蓄積が可能となり、ロングシーケンスによるメタバーコーディング等、今後の手法の高度化にも容易に対応可能な情報が蓄積可能となった。本課題は革新型研究開発(若手枠)であり、環境政策に必ずしも直結するものではないが、温暖化等で生態系が急速に変化する現在の生物相を捉え、将来的に正確に比較可能であり、長期的な変化を把握する手段として非常に有用な成果を残せたと考えられる。

## 6. 5. 主要な研究成果普及活動

本研究課題を通じてゲノムスキミングやメタバーコーディングに関する研究基盤が構築され、多くの研究に技術を適応可能な体制が整えられた。これらの技術は個別の研究課題にも活かされ、ゲノムスキミングはサクラエビ研究に応用され、台湾産と日本産の個体群のつながりを示す結果となり大きな注目を浴びた。例えば、朝日新聞をはじめとする各種メディアで紹介された（成果番号78、79、80、81）。また、メタバーコーディングもオホーツク海の調査に適用され、気候変動の影響に関する研究の採集の様子がNKHニュースで紹介されている（成果番号73）。国際シンポジウムで招待講演を行った発表では、読売新聞を始めとする各種紙面で紹介され、気候変動下における動物プランクトンの多様性研究として大きな注目を浴びた（成果番号76、77）。また、課題に関連して得られた成果は、研究者以外も参加可能な科学博物館のシンポジウム（成果番号27）や海洋多様性に関する書籍の記事（成果番号9）でもその内容が触れられている。期間内にすべての研究成果が公表されておらず、国民との科学・技術対話については進んでいないが、2025年度中に中学校への出前授業が計画されるなど、研究期間終了後も継続した活動を計画している。

## 6. 6. 国際共同研究等の状況

本課題は国際ワーキンググループのつながりを活用し、連携した国際共同研究を促進することも目的として、7件の国際共同研究を行った。University of Connecticut(アメリカ合衆国)はSCORワーキンググループMetaZooGene(図21)の代表であるAnn Bucklin教授が所属し、国際WG連携の代表として記載した。MetaZooGeneは定期的な会合を開催し、MetaZooGene databaseやMZG-ICEなど上述の様々な連携研究がすすめられた。論文として期間内にまとめられたものは多くないが、上述のように連携を通じた成果の学会発表は行われている。また、広域解析の試料はScripps Institution of Oceanography(アメリカ合衆国)との共同研究に発展し、課題を通じて得られた広域試料はUniversity of Hawaii・James Madison University(アメリカ合衆国)・The University of British Columbia(カナダ)の研究者に試料提供され動物プランクトンの多様性に関する共同研究が進められている。また、ワーキンググループの活動の一環としてフィリピンからの研究者の技術トレーニングを行い、技術の普及に努めた(成果番号41、53:図21)。さらに上述のサクラエビへの技術の適用では台湾の研究者から試料の提供を受け、国際共同研究として進め、資源管理のための両国間の協力の重要性も明らかにした(成果番号4)。



図21. 国際ワーキンググループMetaZooGene会合（左）およびフィリピン研究者への技術指導等（中央・右）等の国際連携

&lt;相手機関・国・地域名&gt;

機関名（正式名称）	（本部所在地等の）国・地域名
University of Connecticut	アメリカ合衆国
Scripps Institution of Oceanography	アメリカ合衆国
University of Hawaii	アメリカ合衆国
James Madison University	アメリカ合衆国
The University of British Columbia	カナダ
University of Iloilo	フィリピン
Fisheries Research Institute, Ministry of Agriculture	台湾

注：国・地域名は公的な表記に準じます。

## 6. 7. 研究成果に基づく研究目標の達成状況及び自己評価

&lt;全体達成状況の自己評価&gt; · · · ·

2. 目標を上回る成果をあげた

「気候変動の影響評価に向けた地球規模の海洋性動物プランクトン多様性解析」（東京大学、平井 悠也）

全体目標	全体達成状況
<p>本研究は単一のサブテーマで研究を進めるが、以下の3つの研究課題を遂行する。</p> <p>① ゲノムスキミング技術の確立・遺伝子情報の充実</p> <p>従来のDNAバーコーディングに加え、効率的な有用配列の取得方法であるゲノムスキミング手法を動物プランクトンで確立（改訂履歴1）し、参照配列の充実を図る。期間中全体の目標として日本周辺海域で動物プランクトン400種の遺伝子情報の登録を目指す。特に動物プランクトンで重要なカイアシ類については現在の北太平洋のデータベース充実度が15%（地球規模では20%）と低いため、150種を追加し期間内で最低30%のデータベース充実度を目指す。</p> <p>② メタバーコーディングの高度化・地球規模の多様性解析</p> <p>現在のメタバーコーディングの課題として挙げられる定量性を解決するため、内部標準を用いた新規手法の導入を目指す。また、上記の参照配列の追加により、精度の高いメタバーコーディング手法を確立し、国際ワーキンググループ内で手法の共有を行う。現在、申請者は太平洋広域にまたがる70の採集地点で動物プランクトン試料のDNA抽出を行い、各採集地点では表層と中層2層の試料が採集されてい</p>	<p>有用遺伝子配列の取得については効率的なゲノムスキミングの方法を確立することが出来、動物プランクトンで有用性を確かめることが出来、期間中に成果を論文として公表することが出来た（成果番号3）。研究の提案当初はマルチDNAバーコーディングで複数領域を取得する予定であったが、目標を上げてゲノムスキミングを導入し、成果を上げた点で目標を上回る成果を上げることが出来たと言える。また、日本周辺海域を中心に重要種の遺伝子情報充実させることも目標としたが、目標値として挙げた400種を超える、同種内のデータを合わせると600を超えるゲノムスキミングデータを期間内に取得できた。これらはこれまで遺伝子情報の登録がない種を150種以上含み、十分に目標を達成できたといえる。また、サクラエビの研究のようにゲノムスキミング技術を活用した個別研究についても論文を公表し（成果番号4）、各種メディアで取り上げられるような社会的にも注目度の高い成果を上げることができた。期間中はデータ取得を目的とし、すべてのゲノムスキミングデータの精査が完了していないが、早急に論文化に合わせてすべてのデータを公表する予定である。</p> <p>広域の動物プランクトンのメタバーコーディングに関しては、複数領域を用いたメタバーコーディング</p>

る。研究期間中にはDNAが未抽出の試料（約30地点）の解析を進めるとともに、これまでデータ化されてきた試料についても高度化された手法で再解析を行う。また、試料採集は継続し、太平洋・インド洋を網羅する150の地点でメタバーコーディングデータの取得を目指す。期間中にはワーキンググループ内で連携し、大西洋を縦断するAtlantic Meridional Transectで得られたメタバーコーディングデータ等との比較を行い、地球規模の多様性解析を行う。

### ③ 海洋モニタリングへの導入・社会実装

上記の高度化されたバーコーディング・メタバーコーディング手法を普及し、水研機構や大学等のモニタリングに導入する。また、期間中に民間企業との連携を行い、民間企業に委託することで他の研究者がデータを取得可能な体制を確立する。長期的なモニタリングは期間内での達成は困難であるが、その将来変化を検知可能な体制を作り出すことを課題の目標とする。

以上のすべての成果は取りまとめ、手法はマニュアル化し公開し、さらなる動物プランクトンの遺伝子情報の充実を図る。得られた遺伝子情報やメタバーコーディングデータは公共のデータベースに登録し、他の研究者が将来的に参照可能にする。地球規模の動物プランクトンの解析結果もまとめ、最新の遺伝子解析から見る各種の分布、群集の多様性像についての結果もデータベース上で公表する。これらの活動を通じて動物プランクトンの分子生物学的手法の普及を目指し、研究体制を構築することにより、多様性や分布の将来的な変化を把握可能にする。

グの高度化を行い、精度よく動物プランクトンが把握可能になった。内部標準についてはこれまでの形態分類に相当する定量的なデータは提供できないことがわかり、メタバーコーディングと別に画像解析等が可能なホルマリン試料を残し、将来的に生物量等を計測可能な状態にした。広域の動物プランクトン試料の採集は新型コロナウイルスの影響の長期化や世界的情勢の変化による燃油代の高騰により大きく影響を受け、航海計画が大きくずれ込むことになった。本来はインド洋航海や北太平洋の空白域を埋める航海に期間初期に行われる予定であったが、インド洋航海は一部中止の上に2024年度後半に、北太平洋航海は課題終了後の2025年度となってしまった。そこで、既存試料の活用や日本周辺海域の試料の充実を図り、最終的には計397の群集試料からメタバーコーディングデータを取得できた。モニタリング試料や層別の試料を除き、地点数では145地点からメタバーコーディングデータを取得し、目標とする150と同等の数字を残すことができた。2025年度に繰り越した航海は10地点あり、今後も継続して広域解析を行うことで目標値を上回ることが出来る。また、MGZ-ICE等の取り組みにより地球規模のデータの充実や手法の共有も可能になった。研究のレビューからすべてのメタバーコーディングデータを統一して群衆解析を行うことは困難と判断したが、地球規模のメタバーコーディングデータを収納可能なMarine Zooplankton Metabarcoding Database（成果番号87）を作成・公表し、このデータベースにAtlantic Meridional Transectで得られたメタバーコーディングデータも含めて収納し、各種の分布を調べるデータベースとして活用することが可能となった。

動物プランクトンのモニタリングについては国内の連携体制を確立することが出来、黒潮域を中心とした重点海域も決定した。メタバーコーディング用に継続的に試料は採集されており、モニタリング体制の構築という目標は達成できた。標準的な方法は研究目的により解析が異なるため困難であると判断したが、MGZ-ICEなどを通じてstandard protocolは国際WGのホームページ等から利用可能のように準備を進めている。また、国内外の連携で必要なメタバーコーディングデータは研究室で取得できるようになった。使用するプライマーやプロトコールは論文等で公開している（例えは成果番号7、8）。メタバーコーディングも一般的な手法として定着しつつあり、詳細な技術移転を行わなくとも民間企業等でプライマー配列や解析法を指定することでデータが取得可能になっている。

以上のように主要な目的は達成でき、大きな目標である国内外の連携や関連する動物プランクトンの分子生物学的手法の発展にも大きく貢献できた。そのため、目標を上回る成果を上げることが出来たといえる。

<サブテーマ1達成状況の自己評価> · · · · · 同上（若手課題のため）

「気候変動の影響評価に向けた地球規模の海洋性動物プランクトン多様性解析」（東京大学、平井惇也）

サブテーマ1目標	サブテーマ1達成状況
同上（若手課題のため）	同上（若手課題のため）

## 7. 研究者略歴

<研究者（研究代表者及びサブテーマリーダー）略歴>

研究者氏名	略歴（学歴、学位、経歴、現職、研究テーマ等）
平井惇也	<p>研究代表者及びサブテーマ1リーダー  東京大学農学生命科学研究科博士後期課程修了  博士（農学）  水産研究・教育機構学振特別研究員(PD)、ブリティッシュコロンビア大学JSPS海外特別研究員、東京大学大気海洋研究所助教を経て、  現在、東京大学大気海洋研究所講師  日本プランクトン学会評議員  Plankton and Benthos Research編集委員  日本海洋学会海洋生物研究会事務局  SCOR Working Group 157 MetaZooGene Full Member  専門は生物海洋学および分子生態学  研究テーマは分子生物学的手法を用いた海洋性動物プランクトンの多様性の研究  受賞歴：東京大学卓越研究員、日本プランクトン学会奨励賞、日本海洋学会岡田賞、  日本プランクトン学会論文賞（共著）、日本海洋学会奨励論文賞（共著）</p>

## 8. 研究成果発表の一覧

注：この項目の成果番号は通し番号です。

### （1）産業財産権

成果番号	出願年月日	発明者	出願者	名称	出願以降の番号
	特に記載する事項はない。				

### （2）論文

<論文>

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
1	2024	Zhou F, Hirai J, Sato T, Horii S, Takahashi K, Tsuda A (2024) Community structure of euphausiids in the low-latitude Indian and Pacific Oceans: large impact of primary productivity. Journal of Oceanography, 80, 163-176. DOI: 10.1007/s10872-	1	有

		024-00713-z		
2	2024	<u>Hirai J</u> , Katakura S, Kasai H, Nagai S (2024) Ecological interactions between marine RNA viruses and planktonic copepods. <i>Communications Biology</i> , 7, 1507. DOI: 10.1038/s42003-024-07189-z	1	有
3	2024	<u>Hirai J</u> (2025) Optimal input DNA thresholds for genome skimming in marine crustacean zooplankton. <i>PeerJ</i> . 13, e19054. DOI: 10.7717/peerj.19054	1	有
4	2024	<u>Hirai J</u> , Hsiao S-T, Yeh H-M, Nishikawa J (2025) Population panmixia of the pelagic shrimp <i>Lucenosergia lucens</i> between Japanese and Taiwanese waters in the western North Pacific. <i>Scientific Reports</i> . 15, 7040. DOI: 10.1038/s41598-025-91208-4	1	有
5	2024	Kenmochi A, <u>Hirai J</u> , Obayashi Y, Yoshikawa T, Nishikawa J (2025) Feeding ecology of marine cladocerans in offshore zooplankton food-web in Suruga Bay, Japan. <i>Journal of Oceanography</i> . DOI:10.1007/s10872-025-00773-9	1	有
6	In press	Zhou F, <u>Hirai J</u> , Hamasaki K, Sato T, Takahashi K, Tsuda A (in press) Fine-scale different feeding habits of three tropical euphausiid species revealed by 18S V9 metabarcoding and stable isotope analysis. <i>Marine Ecology Progress Series</i> .	1	有

## (3) 著書

&lt;著書&gt;

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
7	2023	Hirai J, Katakura S, Kasai H, Tamamushi N, Nagai S (2024) Metabarcoding analysis of zooplankton communities during a period of sea ice in the Okhotsk Sea. <i>Proceedings of The 38th International Symposium on the Okhotsk Sea &amp; Polar Oceans 2024</i> , L5.	1
8	2024	Hirai J, Yamaguchi A, Katakura S (2025) Revealing hidden diversity of zooplankton under sea ices in the Okhotsk Sea. <i>Proceedings of The 39th International Symposium on the Okhotsk Sea &amp; Polar Oceans 2025</i> , L-5.	1
9	2025	海洋環境の事典（朝倉書店）2－5「生物多様性とは」	1

## (4) 口頭発表・ポスター発表

\*国際学会35件（代表10件・共著25件）

\*国内学会27件（代表10件・共著17件）

(発表で本課題について触れているもの、技術提供の共著などの関連課題も含む)

&lt;口頭発表・ポスター発表&gt;

\*代表（国際学会）

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
10	2022	<u>Hirai J</u> , Katakura S, Nagai S, Interactions between marine viruses and planktonic copepod <i>Pseudocalanus newmani</i> , MetaZooGene symposium 2022, Dublin, Ireland, September (2022).	1	無
11	2022	<u>Hirai J</u> , Katakura S, Nagai S, Characterization of the genetic population structures of three <i>Pseudocalanus</i> species (Copepoda, Calanoida) in the Okhotsk Sea, The 37 <sup>th</sup> International Symposium on Okhotsk Sea & Polar Oceans 2023, Hokkaido, Japan, February (2023).	1	無
12	2023	<u>Hirai J</u> , Zooplankton diversity in the eastern Indian Ocean based on molecular Approaches, Symposium of Integrated understanding of physical, biogeochemical, and ecological processes in the eastern Indian Ocean, Chiba, Japan, July (2023).	1	無
13	2023	<u>Hirai J</u> , Katakura S, Kasai H, Tamamushi N, Nagai S. Metabarcoding analysis of zooplankton communities during a period of sea ice in the Okhotsk Sea, The 38 <sup>th</sup> International Symposium on Okhotsk Sea & Polar Oceans 2024, Hokkaido, Japan, February (2024).	1	無
14	2023	<u>Hirai J</u> , Katakura S, Kasai H, Nagai S. Copepod-virus interactions revealed by molecular and morphological approaches. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
15	2023	<u>Hirai J</u> , Reference sequence data for marine zooplankton in the era of high-throughput sequencing. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
16	2024	<u>Hirai J</u> , Sachihiko Itoh, Shin-ichi Ito, Eisuke Tsutsumi. Integrated molecular approaches reveal the ecological responses of a planktonic copepod to complex marine environments in a coastal-offshore transition zone. 15th international conference on Copepoda, Hiroshima, Japan, June (2024).	1	無
17	2024	<u>Hirai J</u> . Genetic and species-level interactions of marine zooplankton between Japanese and Taiwanese waters. Taiwan-Japan Ocean Sciences Workshop on the NW-Pacific and Kuroshio Areas, Taipei, Taiwan, December (2024).	1	無
18	2024	<u>Hirai J</u> , Yamaguchi A, Katakura S. Revealing hidden diversity of zooplankton under sea ices in the Okhotsk Sea. The 39 <sup>th</sup> International Symposium on Okhotsk Sea & Polar Oceans 2025, Hokkaido, Japan, February (2025).	1	無
19	2024	<u>Hirai J</u> , Ecological interactions between viruses and copepods: A study using the continuous ocean monitoring in the Okhotsk Sea	1	無

		off Mombetsu. The 39 <sup>th</sup> International Symposium on Okhotsk Sea & Polar Oceans 2025, Hokkaido, Japan, February (2025).		
--	--	--	--	--

## \*代表（国内学会）

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
20	2022	平井惇也, 海洋動物プランクトンの分子生態学, 日本プランクトン学会若手の会基調講演, オンライン開催, 9月, (2022)	1	無
21	2022	平井惇也, 私のプランクトニックな研究生活, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会シンポジウム「私はこうして研究者になったのだった」, オンライン開催, 9月, (2022)	1	無
22	2022	平井惇也, メタバーコーディングによる動物プランクトン群集の把握—これまでの進展と今後の展望—, OceanDNA テック 2022, 千葉, 11月, (2022)	1	無
23	2023	平井惇也, ゲノムスキミングによる動物プランクトン有用遺伝子配列の取得, 日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会, 北海道, 9月, (2023)	1	無
24	2023	平井惇也・大西拓也・ZHOU Fanyu・玉蟲奈佳子・飴井佳南子・津田敦, 広域調査から見る東部南太平洋の動物プランクトン多様性・群集構造, 白鳳丸世界一周航海 (HEAW30) による科学成果, 千葉, 10月 (2023)	1	無
25	2023	平井惇也, 動物プランクトンの分子生態学のこれまでと今後, オーシャン DNA テック 2023, 千葉, 11月 (2023)	1	無
26	2023	平井惇也, サクラエビの駿河湾および台湾間の遺伝的交流, 水産海洋学会研究発表大会シンポジウム「開放型の大深度湾におけるエビ類資源とそれらを取り巻く物理・化学・生物環境」, 静岡, 11月, (2024)	1	無
27	2024	平井惇也, 地球規模の海洋性動物プランクトンの多様性理解に向けた取り組みと展望, 21世紀の生物多様性研究ワークショップ「多様化する生物多様性調査とそのデータ」, 東京, 12月, (2024)	1	無
28	2024	平井惇也, 太平洋広域における動物プランクトンの生物地理: 分子生物学的手法を用いた取り組みと展望, 東京大学大気海洋研究所共同利用シンポジウム「太平洋深海域における生物多様性・生物地理研究の展望」, 千葉, 2月, (2025)	1	無
29	2024	平井惇也, 太平洋広域解析から見えてきた動物プランクトンの生物地理・多様性と今後の展望, 東京大学大気海洋研究所共同利用シンポジウム「太平洋南北断面観測による海洋生物圏統合研究 (IMBeR)」, 千葉, 3月, (2025)	1	無

## \*共著（国際学会）

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
------	------	------	----------	-------

30	2022	Wu Y, Jiang S, <u>Hirai J</u> , Zhou F, Inoue J, Hyodo S, Saito H, Diversity and Biogeography of Dinoflagellates in the Kuroshio Region, PICES Annual Meeting, Seul, Korea, September (2022).	1	無
31	2022	Nagai S, Tazawa S, Nishi N, Sildever S, Kasai H, <u>Hirai J</u> , Shiromoto A, Kikuchi T, Kataura S, Maruyama F. Attempts to predict occurrences of plankton species by AI technologies in Mombetsu, Hokkaido, Japan, PICES Annual Meeting, Seul, Korea, September (2022).	1	無
32	2022	Minagawa A, Kobari T, <u>Hirai J</u> , Jinno S, Shiozaki K, Ichinomiya M, Komorita T, Kume G, The food source of anguilliform leptocephali in the Satsunan area, southern Japan, PICES Annual Meeting, Seul?, Korea, September (2022).	1	無
33	2022	Zhou F, <u>Hirai J</u> , Hamasaki K, Tsuda A. Feeding ecology of three euphausiid species in the low-latitude Eastern Indian and South Pacific Oceans inferred from 18S V9 metabarcoding MetaZooGene symposium 2022, Dublin, Ireland, September (2022).	1	無
34	2022	Nagai S, Tazawa S, Nishi N, Sildever S, Kasai H, Shiromoto A, <u>Hirai J</u> , Kikuchi T, Maruyama F, Kataura S, Prediction of species appearance patterns of microeukaryotes using weekly-based time-series monitoring for ten years in Mombetsu off, Hokkaido, Japan by AI technology, The 37 <sup>th</sup> International Symposium on Okhotsk Sea & Polar Oceans 2023, Hokkaido, Japan, February (2023).	1	無
35	2023	Matthews SA, <u>Hirai J</u> , Kaminsky K, Cazares A, Questel JM, Blanco-Bercial L, Ohman MD. Distributional boundaries of mesopelagic zooplankton across the North Pacific Basin: testing the effects of dispersal limitation vs. environmental homogeneity, Aquatic Sciences Meeting, Palma de Mallorca, Spain, June (2023).	1	無
36	2023	Amei K, <u>Hirai J</u> , Nishibe Y. Species diversity of the pelagic polychaete Tomopteridae in the eastern Indian and Pacific Oceans, 14th International Polychaete Conference, Cape Town, South Africa, July (2023).	1	無
37	2023	Taniguchi A, Kobari T, Kume G, Ichinomiya M, Komorita T, <u>Hirai J</u> . Metabarcoding analysis on trophic sources of mesozooplankton during spring phytoplankton bloom in the coastal waters neighboring the Kuroshio. PICES Annual Meeting, Seattle, October (2023).	1	無
38	2023	Kume G, Minagawa A, Jinno S, <u>Hirai J</u> , Shiozaki K, Ichinomiya M, Komorita T, Habano A, Kodama M, Kobari Toru. The food source of Anguilliformes leptocephali in the Kuroshio Current and adjacent waters. Indo-Pacific Fish	1	無

		Conference and the Australian Society for Fish Biology, Auckland, New Zealand, November (2023).		
39	2023	Sildever S, Nishi N, Tazawa S, Kasai H, <u>Hirai J</u> , Shiromoto A, Kikuchi T, Katakura S, Nagai S. Eight years of weekly eDNA monitoring in the north-western Pacific: an overview of the HAB species detected. 20th INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMFUL ALGAE, Hiroshima, Japan, November (2023).	1	無
40	2023	Matthews SA, Kaminsky K, Cazares AE, Questel JM, Blanco-Bercial L, <u>Hirai J</u> , Ohman MD, Distributional ranges of mesopelagic zooplankton across the North Pacific Basin: testing the effects of physical dispersal vs. environmental homogeneity. Ocean Sciences Meeting, New Orleans, U.S.A., February (2024).	1	無
41	2023	Payne MMN, <u>Hirai J</u> , Maquirang JR, Primavera-Tirol YH, Campos WL. Evaluation of zooplankton biodiversity in two critical coastal ecosystems in the Province of Aklan, Philippines using DNA metabarcoding: estuary versus coral reef. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
42	2023	Matthews SA, Kaminsky K, Cazares AE, Questel JM, Blanco-Bercial L, <u>Hirai J</u> , Ohman MD. Distributional ranges of mesopelagic zooplankton across the North Pacific Basin: testing the effects of physical dispersal vs. environmental homogeneity. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
43	2023	Zhou F, <u>Hirai J</u> , Hamasaki K, Horii S, Sato T, Tsuda A. The wide distribution of <i>Euphausia</i> species in the low-latitude ecosystem supported by the flexible omnivory: two cases in the low-latitude Indian and Pacific Oceans. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
44	2023	Nakae M, <u>Hirai J</u> , Iguchi N, Igeta Y, Sakuma K, Nishibe Y. DNA metabarcoding reveals the community structure of copepod nauplii in the Japan Sea. DNA metabarcoding reveals the community structure of copepod nauplii in the Japan Sea. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
45	2023	Tamamushi N, <u>Hirai J</u> , Zhou F, Ohnishi T, Tsuda A. Metabarcoding analysis for comparing epipelagic/mesopelagic zooplankton communities in the Pacific and eastern Indian Oceans. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無

4 6	2023	Amei K, <u>Hirai J</u> , Goetze E, Nishibe Y. Global species diversity of pelagic polychaetes in the family Tomopteridae as revealed by molecular approaches. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
4 7	2023	Kume G, Minagawa A, Jinno S, <u>Hirai J</u> , Shiozaki K, Ichinomiya M, Komorita T, Habano A, Kodama M, Kobari T. The diet of Anguilliformes leptocephali in the Kuroshio Current and adjacent waters. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
4 8	2023	Kobari T, Taniguchi A, Kume G, Kodama M, Ichinomiya M, Komorita T, <u>Hirai J</u> . Trophic sources and pathways toward fish larvae under spring phytoplankton bloom in the neighboring waters of the Kuroshio. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
4 9	2023	Bucklin A, Blanco-Bercial L, Escribano R, Falkenhaug T, <u>Hirai J</u> , Huggett J, Martinez P, Peijnenburg K, Suter L, Weydmann-Zwolicka A, Batta-Lona P, Dubbeldam S, Duijm E, Ershova E, Gonzalez C, Govender A, Groeneveld J, Khodami S, MacDonald A, Macher J, Mioduchowska M, Polanowski A, Renz J, Wiebe P, O'Brien T. Metabarcoding Zooplankton Diversity: MetaZooGene Intercalibration Experiment (MZG-ICE). ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
5 0	2023	Takahashi K, <u>Hirai J</u> , Shiozaki T, Hashihama F. Enhanced nitrogen regeneration by planktonic copepods in the oligotrophic subtropical ocean under active N <sub>2</sub> fixation. ICES/PICES 7 <sup>th</sup> Zooplankton Production Symposium, Hobart, Australia, March (2024).	1	無
5 1	2024	Taniguchi A, Kobari T, Kume G, Ichinomiya M, Komorita T, <u>Hirai J</u> , Comparison of trophic sources and pathways of mesozooplankton and ichthyoplankton in the Kuroshio and its neighboring waters, PICES Annual Meeting, Honolulu, USA, October (2024).	1	無
5 2	2024	Wu Y, Jiang S, <u>Hirai J</u> , Iwataki M, Hyodo S, Saito H. Dinoflagellates in the Kuroshio ecosystem: diversity, biogeography and the role of the Kuroshio to transport HAB species. 7 <sup>th</sup> Xiamen Symposium on Marine Environmental Sciences, Xiamen, China, January (2025).	1	無
5 3	2025	Payne MMN, <u>Hirai J</u> . Unveiling Marine Biodiversity in the Philippines through DNA Metabarcoding: A Contribution to Global Biodiversity Discovery and Inventory. One Ocean Science Congress, Nice, France, June (2025).	1	無

54	2025	Bucklin A, Blanco-Bercial L, Escribano R, Falkenhaug T, <u>Hirai J</u> , Huggett J, Martinez P, Peijnenburg K, Suter L, Weydmann-Zwolicka A, Batta-Lona P, Dubbeldam S, Duijm E, Ershova E, Gonzalez C, Govender A, Groeneveld J, Khodami S, MacDonald A, Macher J, Mioduchowska M, Polanowski A, Renz J, Wiebe P, O' Brien. Toward accurate and reliable time-series monitoring of zooplankton diversity using DNA metabarcoding: MetaZooGene Intercalibration Experiment (MZG-ICE). ICES Annual Science Conference, Klaipeda, Lithuania, September (2025).	1	無
----	------	--	---	---

## \*共著（国内学会）

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
55	2022	剣持瑛行・ <u>平井惇也</u> ・吉川尚・大林由美子・西川淳, 駿河湾冲合域に大量出現する海産枝角類の食物網における役割: 安定同位体比解析とメタバーコーディング食性解析によるアプローチ, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, オンライン開催, 9月, (2022)	1	無
56	2022	皆川暁慶・小針統・ <u>平井惇也</u> ・神野智・塩崎一弘・一宮睦雄・小森田智大・久米元, 薩南海域におけるウナギ目レプトセファルス幼生の食性, 日本水産学会秋季大会, 宮崎, 9月, (2022)	1	無
57	2022	橋濱史典・片野俊也・川合美千代・小橋史明・島田浩二・立花愛子・田村沙織・長井健容・溝端浩平・宮崎奈穂・岩本洋子・遠藤寿・漢那直也・久保篤史・近藤能子・塩崎拓平・ <u>平井惇也</u> , 海の砂漠化モニタリング構想, 日本海洋学会秋季大会, 名古屋, 9月, (2022)	1	無
58	2022	小針統・久米元・中村啓彦・仁科文子・堤英輔・一宮睦雄・小森田智大・郭新宇・吉江直樹・長井健容・齊藤宏明・ <u>平井惇也</u> , 水産資源を支える黒潮生態系の食物網構造と栄養動態, 東京大学大気海洋研究所共同利用シンポジウム[黒潮生態系とその変動を駆動する物理・化学・生物過程, 千葉, 12月, (2022)]	1	無
59	2022	久米元・小針統・小玉将史・塩崎一弘・一宮睦雄・小森田智大・ <u>平井惇也</u> , 魚類の産卵場および成育場としての北部薩南海域の重要性, 水産資源を支える黒潮生態系の食物網構造と栄養動態, 東京大学大気海洋研究所共同利用シンポジウム[黒潮生態系とその変動を駆動する物理・化学・生物過程千葉, 12月, (2022)]	1	無
60	2022	橋濱史典・片野俊也・川合美千代・小橋史明・立花愛子・田村沙織・長井健容・溝端浩平・宮崎奈穂・岩本洋子・遠藤寿・漢那直也・久保篤史・近藤能子・塩崎拓平・ <u>平井惇也</u> , 西部北太平洋 141.50E 線時系列観測による海の砂漠化モニタリング, 東京大学大気海洋研究所共同利用シンポジウム[黒潮生態系とその変動を駆動する物理・化学・生物過程千葉, 12月, (2022)]	1	無

61	2022	橋濱史典・片野俊也・川合美千代・小橋史明・立花愛子・田村沙織・長井健容・溝端浩平・宮崎奈穂・岩本洋子・遠藤寿・漢那直也・久保篤史・近藤能子・塩崎拓平・ <u>平井惇也</u> , 実海域における海の砂漠化モニタリング, 国連海洋科学の10年」-日本の大気・海洋科学のコミュニティがどう貢献できるか?, 千葉, 2月, (2023)	1	無
62	2022	長友佑太朗・堀井幸子・ <u>平井惇也</u> ・大南あかり・佐藤拓哉・橋濱史典・小川浩史・村田昌彦・児玉武稔・高橋一生, 太平洋・インド洋の熱帯・亜熱帯外洋域における魚類マイクロネクトンの分布と変動要因, 日本海洋学会海洋生物シンポジウム 2023, 東京, 3月, (2023)	1	無
63	2022	谷川真穂・宮本洋臣・富士泰期・巣山哲・佐藤拓哉・塩崎拓平・ <u>平井惇也</u> ・児玉武稔・高橋一生, 本州東方移行域でブルームを形成するサルパ類胃内容物のアンプリコンシーケンス解析, 日本海洋学会海洋生物シンポジウム 2023, 東京, 3月, (2023)	1	無
64	2022	玉蟲奈佳子・ <u>平井惇也</u> ・大西拓也・周凡煜・津田敦, インド洋・太平洋低緯度域における動物プランクトン群集のメタバーコーディング解析, 日本海洋学会海洋生物シンポジウム 2023, 東京, 3月, (2023)	1	無
65	2022	飴井佳南子・ <u>平井惇也</u> ・西部裕一郎, 分子生物学的手法を用いた太平洋・東部インド洋におけるオヨギゴカイ科の種多様性の解明, 日本海洋学会海洋生物シンポジウム 2023, 東京, 3月, (2023)	1	無
66	2023	飴井佳南子・ <u>平井惇也</u> ・Erica Goetze・西部裕一郎, 分子生物学的手法による浮遊性多毛類オヨギゴカイ科の全球的な種多様性解明, 日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会, 北海道, 9月, (2023)	1	無
67	2023	中江美里・ <u>平井惇也</u> ・井口直樹・井桁庸介・佐久間啓・西部裕一郎, 日本海におけるカイアシ類ノープリウス幼生の種組成とその季節変化, 2023年度水産海洋学会研究発表大会, 北海道, 11月, (2023)	1	無
68	2023	林沅・ <u>平井惇也</u> ・余澤庶・Sk Istiaque AHMED・王雪丁・矢部いつか・伊藤幸彦・樋口富彦・WONG Marty・井上潤・兵藤晋・伊藤進一・堤英輔, eDNA分析による沿岸から外洋への移行域における魚群の時空間的分布の解明, 海と地球のシンポジウム 2023, 東京, 3月, (2024)	1	無
69	2023	高橋一生・ <u>平井惇也</u> ・塩崎拓平・橋濱史典, カイアシ類は窒素固定活性が高い海域でより多くの窒素を排泄する, 日本海洋学会海洋生物シンポジウム 2024, 東京, 3月, (2024)	1	無
70	2024	下仲雄大・和川拓・中江美里・佐久間啓・廣瀬成章・ <u>平井惇也</u> ・乙坂重嘉・高橋一生・児玉武稔, 日本海深層への有機物沈降に対する一次生産者の寄与の季節性, 日本海洋学会秋季大会, 東京, 9月, (2024)	1	無
71	2024	菅井洋太・潮雅之・ <u>平井惇也</u> ・長谷川万純・藤原敬允・高田真子・森香穂・福田秀樹・齊藤宏明・濱崎	1	無

		恒二・兵藤晋・吉澤晋菅井, 黒潮亜熱帯域における原核生物・真核微生物の群集構造および分布パターン, 日本海洋学会海洋生物シンポジウム 2025, 東京, 3月, (2025)		
--	--	---	--	--

## (5) 「国民との科学・技術対話」の実施

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
		特に記載する事項はない。	

## (6) マスメディア等への公表・報道等

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
72	2023	北海民友新聞(2023年7月5日)	1
73	2024	NHKニュース報道(2024年3月5日)	1
74	2024	北海民友新聞(2024年3月6日)	1
75	2024	北海民友新聞(2024年11月27日)	1
76	2025	北海民友新聞(2025年2月18日)	1
77	2025	読売新聞(2025年2月19日)	1
78	2025	日本経済新聞(2025年3月5日)	1
79	2025	静岡新聞(2025年3月6日)	1
80	2025	日刊工業新聞(2025年3月6日)	1
81	2025	朝日新聞(2025年4月5日)	1

## (7) 研究成果による受賞

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
82	2022	優秀発表賞(共著) 剣持瑛行・平井惇也・吉川尚・大林由美子・西川淳: 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, オンライン開催, 2022 駿河湾沖合域に大量出現する海産枝角類の食物網における役割: 安定同位体比解析とメタバーコーディング食性解析によるアプローチ	1
83	2024	令和6年度東京大学卓越研究員	1
84	2025	日本海洋学会奨励論文賞(共著者) Zhou F, Hirai J, Sato T, Horii S, Takahashi K, Tsuda A (2024) Community structure of euphausiids in the low-latitude Indian and Pacific Oceans: large impact of primary productivity. Journal of Oceanography, 80, 163-	1

		176.	
--	--	------	--

## (8) その他の成果発表

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
85	2022	MetaZooGene database ( <a href="https://metazoogene.org/mzgdb/atlas/">https://metazoogene.org/mzgdb/atlas/</a> ) 国際WG MetaZooGeneが提供する参照配列のデータベース	1
86	2023	MetaZooGene meeting 2024 ( <a href="https://metazoogene.org/meetings-n-workshops/zps-2024mar">https://metazoogene.org/meetings-n-workshops/zps-2024mar</a> ) 国際WG MetaZooGeneの2024年に行われた会議内容。MZG-ICEやWGのグループの進捗を公開。	1
87	2024	Marine zooplankton metabarcoding database ( <a href="https://marine-zooplankton-metabarcoding-db.com/">https://marine-zooplankton-metabarcoding-db.com/</a> ) メタバーコーディングデータから配列情報を基に目的種や分類群を検索する公開されたwebツール。	1

## 権利表示・義務記載

特に記載する事項は無い。

この研究成果報告書の文責は、研究課題に参画した研究者にあります。  
 この研究成果報告書の著作権は、引用部分及びERCAのロゴマークを除いて、原則的に著作者に属します。  
 独立行政法人環境再生保全機構（ERCA）は、この文書の複製及び公衆送信について許諾されています。

**Abstract****[Project Information]**

Project Title : Investigation of Zooplankton Diversity in the Global Oceans to Understand Future Impacts of Climate Change on Marine Ecosystems

Project Number : JPMEERF20224R03

Project Period (FY) : 2022-2024

Principal Investigator : Hirai Junya

(PI ORCID) : ORCID0000-0001-6436-7969

Principal Institution : Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo  
Kashiwa, Chiba, JAPAN  
Tel: +81-7136-6172  
E-mail: [hirai@aori.u-tokyo.ac.jp](mailto:hirai@aori.u-tokyo.ac.jp)

Cooperated by :

Keywords : Zooplankton, diversity, genome skimming, metabarcoding, monitoring

**[Abstract]**

Marine zooplankton are key organisms that connect lower and higher trophic levels and serve as indicator species, as they rapidly respond to changes in the marine environment. However, their high diversity (with >7,000 species) and classification through morphology requires taxonomic expertise and experience. There are also identification challenges associated with cryptic species and immature stages that cannot be identified morphologically. Molecular methods address this by enabling accurate species identification. In particular, metabarcoding analysis is a promising technique that can reveal community structures rapidly and accurately based on massive amounts of sequences produced by next-generation sequencing. The international working group MetaZooGene aims to enhance global data on zooplankton metabarcoding. However, reference sequence data from the western North Pacific Ocean off Japan remains insufficient, highlighting an urgent need to enrich both metabarcoding and reference sequence datasets for this area. Thus, the aim of this study was to increase the reference sequence and large-scale metabarcoding data of marine zooplankton in the western North Pacific, thus contributing to the activity of MetaZooGene. An additional aim was to integrate the metabarcoding method into marine monitoring systems to track changes in marine ecosystems under climate change. For the reference sequence, a genome-skimming technique was established for marine zooplankton. This method allows for the efficient acquisition of valuable sequences, such as mitochondrial genomes and rDNA sequences, and is superior to the conventional DNA barcoding method. This study focused on key species in Japan and yielded more than 600 datasets. Moreover, a multi-region approach was used to improve the zooplankton metabarcoding analysis, and large-scale diversity and community structures of zooplankton across the Indian and Pacific Oceans were investigated. Metabarcoding was also applied to zooplankton communities around Japan to reveal their diversity and species distributions. Because the metabarcoding method was adapted for ocean monitoring around Japan, in this study a system to capture future changes

in marine ecosystems was established. In total, almost 400 new data were obtained for the metabarcoding analysis, successfully contributing to the work of MetaZooGene. In this study, a large amount of genome-skimming and metabarcoding data were collected, and these datasets can be used to further understand zooplankton diversity, ecology, and evolution.

### **[References]**

- Hirai J (2025) Optimal input DNA thresholds for genome skimming in marine crustacean zooplankton. PeerJ. 13, e19054. DOI: 10.7717/peerj.19054
- Hirai J, Katakura S, Kasai H, Nagai S (2024) Ecological interactions between marine RNA viruses and planktonic copepods. Communications Biology, 7, 1507. DOI: 10.1038/s42003-024-07189-z
- Hirai J, Hsiao S-T, Yeh H-M, Nishikawa J (2025) Population panmixia of the pelagic shrimp *Lucensosergia lucens* between Japanese and Taiwanese waters in the western North Pacific. Scientific Reports. 15, 7040. DOI: 10.1038/s41598-025-91208-4
- Hirai J, Katakura S, Kasai H, Tamamushi N, Nagai S (2024) Metabarcoding analysis of zooplankton communities during a period of sea ice in the Okhotsk Sea. Proceedings of The 38th International Symposium on the Okhotsk Sea & Polar Oceans 2024, L5.
- Hirai J, Yamaguchi A, Katakura S (2025) Revealing hidden diversity of zooplankton under sea ices in the Okhotsk Sea. Proceedings of The 39th International Symposium on the Okhotsk Sea & Polar Oceans 2025, L5.

This research was performed by the Environment Research and Technology Development Fund (JPMEERF20224R03) of the Environmental Restoration and Conservation Agency provided by Ministry of the Environment of Japan.