

環境DNAを用いた陸水生態系 種構成と遺伝的多様性の 包括的解明手法の確立と実践

土居 秀幸(兵庫県立大学)

研究サブリーダー

山中 裕樹 (龍谷大学), 宮 正樹 (千葉県立中央博物館),
牧野 渡 (東北大学), 源 利文 (神戸大学),
荒木 仁志 (北海道大学), 高原 輝彦 (島根大学),
内井 喜美子 (大阪大谷大学)

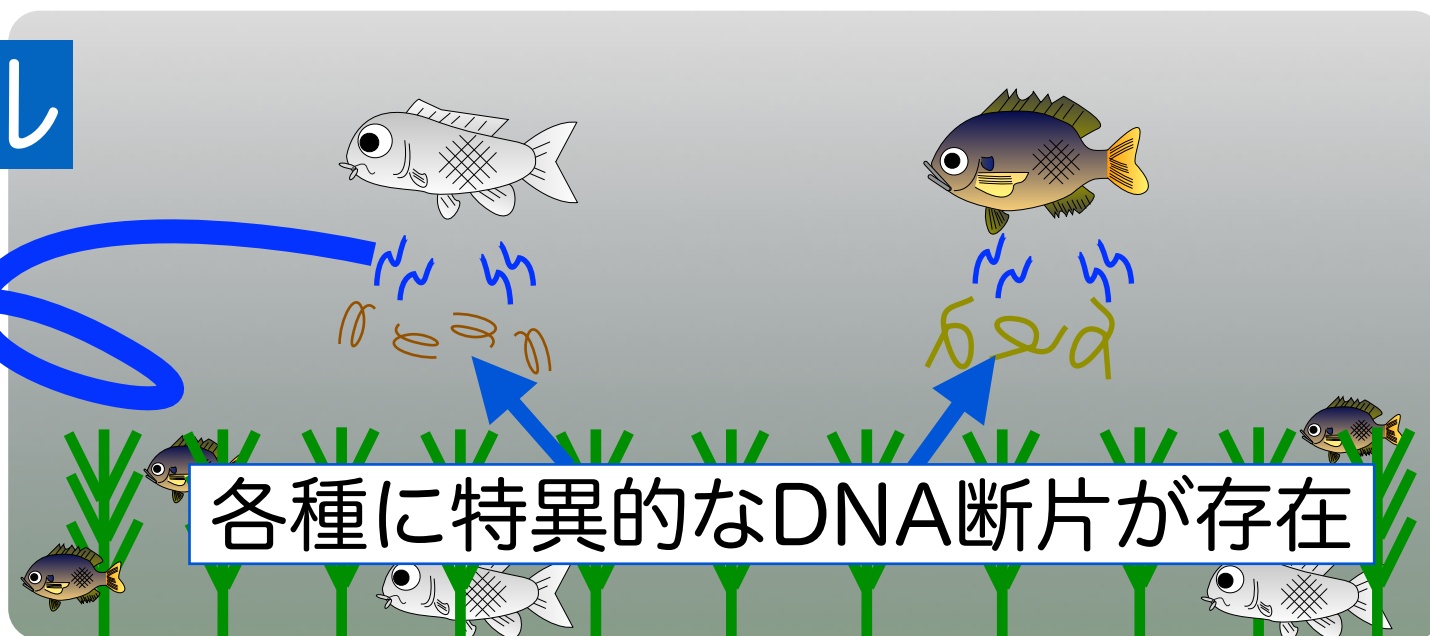
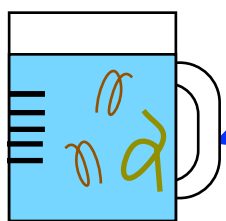
H28-30年度累積予算額：123,847千円

環境DNA (eDNA)

動植物の排泄物，組織片などに由来する水中に存在するDNA断片

1リットルの水から，環境DNAを調べることで環境DNAの有無から生物の分布(存在)を推定できる。

1リットル



これまでは、リアルタイムPCRなどにより、1種に特異的なDNAを検出

1種検出系

MiFish

ユニバーサルプライマーを用いたメタバーコーディングによる多種同時検出系

環境DNAを用いた陸水生態系種構成と遺伝的多様性の包括的解明手法の確立と実践

環境DNAを用いた陸水生態系種構成と 遺伝的多様性の包括的解明手法の確立と実践

陸水生態系種構成の解明手法の確立と実践

兵庫県立大

全国湖沼での実践
生物多様性指標の算出

神戸大

ため池, 湿地, 河川での実践
昆虫, 水草への適用

島根大

汽水域での実践
底生動物への適用

環境DNAメタバーコーディング解析手法の開発

龍谷大

MiSeq保有
環境DNA多種同時検出系手法の確立
琵琶湖における実践

千葉博

MiSeq保有
リファレンスデータの整備
ユニバーサルプライマーの開発

東北大

スパコンによるデータ解析
パイプラインの開発

遺伝的多様性の解明手法の確立と実践

北大

環境DNAからの有効集団
サイズ推定
遺伝的多様性の推定
北海道での実践

大阪大谷大

核DNAを用いた遺伝的多
様性の推定

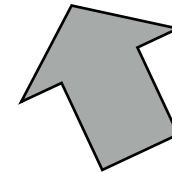
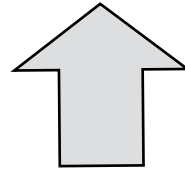
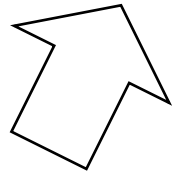
DNA分析・解析の
新手法の提供

DNA分析・解析の
新手法の提供

ユニバーサルプライマー・統
計手法の提供
調査からのフィードバック

遺伝的多様性, 集団サイズ推定
手法の提供
調査からのフィードバック

環境DNAを用いた陸水生態系種構成と 遺伝的多様性の包括的解明手法の確立と実践



陸水生態系種構成の解明手法の確立と実践

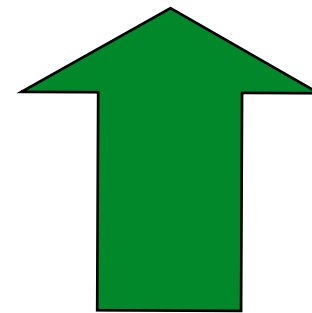
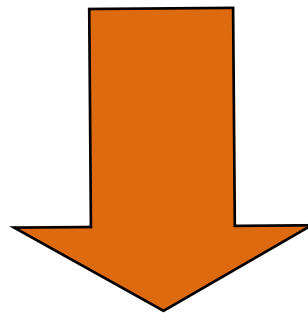
環境DNAメタバーコーディング解析手法の開発

遺伝的多様性の解明手法の確立と実践

技術開発

環境DNAによる種組成検出法・
遺伝的多様性解明手法の開発

技術提供

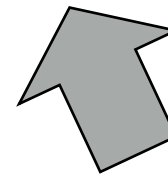
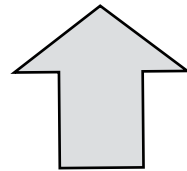
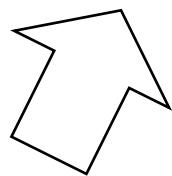


フィード
バック

実践・検証

全国，様々な水域環境，季節変化での環境DNA手法の実践・検証

環境DNAを用いた陸水生態系種構成と 遺伝的多様性の包括的解明手法の確立と実践



陸水生態系種構成の解明手法の確立と実践

環境DNAメタバーコーディング解析手法の開発

遺伝的多様性の解明手法の確立と実践

技術開発

環境DNAによる種組成検出法・
遺伝的多様性解明手法の開発

実践・検証

全国，様々な水域環境，季節変化での環境DNA手法の実践・検証



学名	和名	リード数
<i>Anas poecilorhyncha</i>	カルガモ	4,903
<i>Rhinogobius brunneus</i>	トウヨシノボリ	299
<i>Homo sapiens</i>	ヒト	278
<i>Mugil cephalus</i>	ボラ	238
<i>Pseudorasbora parva</i>	モツゴ	197
<i>Carassius auratus langsdorfii</i>	ギンブナ	104
<i>Mus musculus</i>	ハツカネズミ	61
<i>Oryzias latipes</i>	メダカ	60
<i>Gnathopogon elongatus elongatus</i>	タモロコ	51

千葉県博 哺乳類 MiMammalプライマーの開発

Received: 6 September 2016 | Revised: 25 April 2017 | Accepted: 2 May 2017
DOI: 10.1111/1755-0998.12490

RESOURCE ARTICLE

WILEY **ENVIRONMENTAL ECOLOGY**

Environmental DNA enables detection of terrestrial mammals from forest pond water

Masayuki Ushio^{1,2,3,4} | Hisato Fukuda⁴ | Toshiki Inoue⁴ | Kobayashi Makoto⁵ | Osamu Kishida^{5,6} | Keiichi Sato⁷ | Koichi Murata^{8,9} | Masato Nikaido¹⁰ | Tetsuya Sado¹¹ | Yukuto Sato¹² | Masamichi Takeshita¹³ | Wataru Iwasaki¹³ | Hiroki Yamanaka^{4,14} | Michio Kondoh⁴ | Masaki Miya¹¹

Ushio et al. 2017 Mol. Ecol Res

千葉日報・朝日新聞・毎日新聞に記事掲載 NHKのテレビ・ラジオのニュースで報道

2017年(平成29年)6月20日(火曜日)

水1杯で生息種把握 DNA分析、新種発見も

県立中央博



コップ1杯の水で生息動物を把握し、県立中央博物館(千葉県中央区)は、自然環境に於ける水たまりから、湖沼に生息する哺乳類を把握できる技術を開発し、発表された。動物が水を飲む際に、口で吐き出した唾液に含まれるDNAを分析する。人の目が入りにくい森林など、観察が困難な環境での発見が期待されている。

唾液は尿に比べ、水たまり中(湖沼)にDNAを残留し、増幅し約1000種のDNAは簡単に高感度の検出が可能。また、水たまりには、アークベイスと呼ばれる、DNAを増幅させるための酵素が含まれている。DNAを増幅させることで、DNA分析が可能になる。分析に使った水は100ml程度で、採取も簡単。採取した水は、DNAを増幅させることで、DNA分析が可能になる。分析に使った水は100ml程度で、採取も簡単。採取した水は、DNAを増幅させることで、DNA分析が可能になる。

水たまりトラ-2016年5月、よこはま動物園ズラシア(南郷4地区)

アジサイ満開 茂原



きょうの紙面

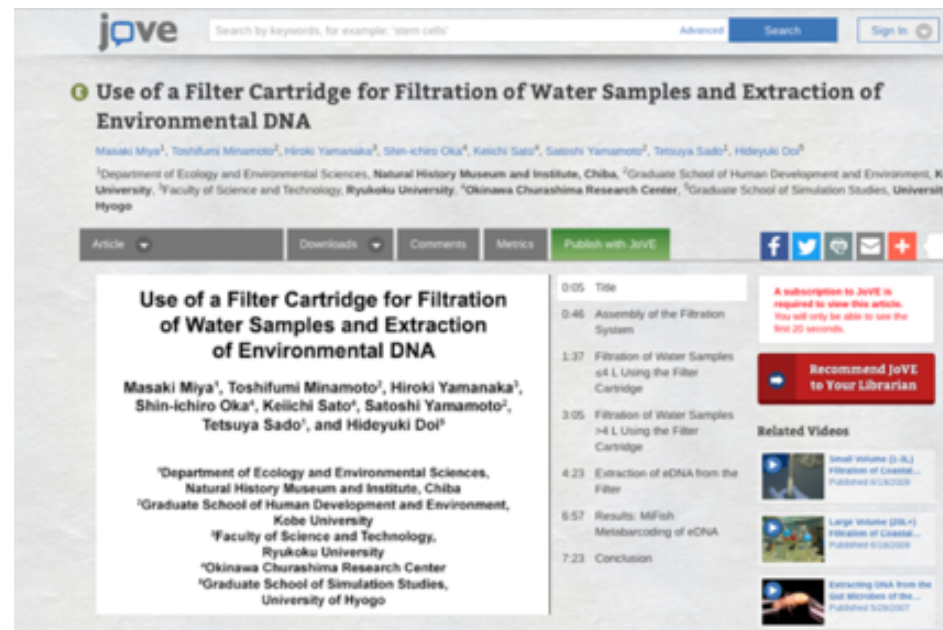
野外科ノ

木更津自動車学校

千葉県日報

6月20日(火)

20 16



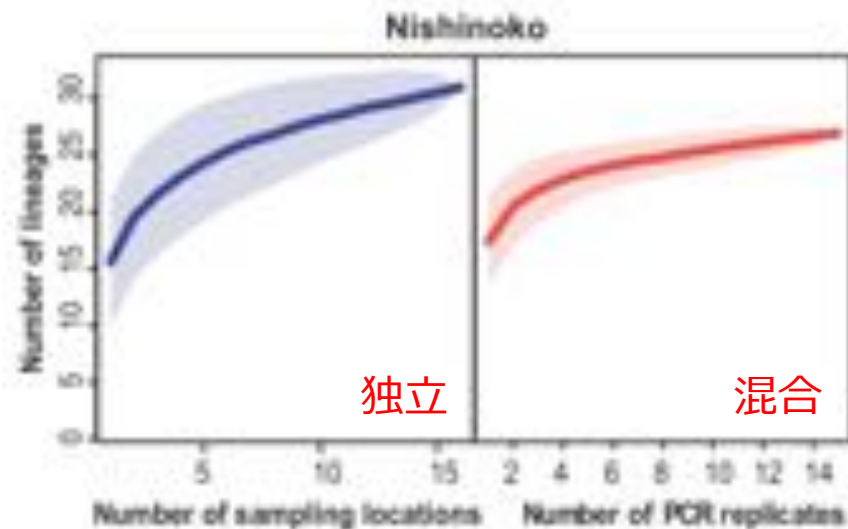
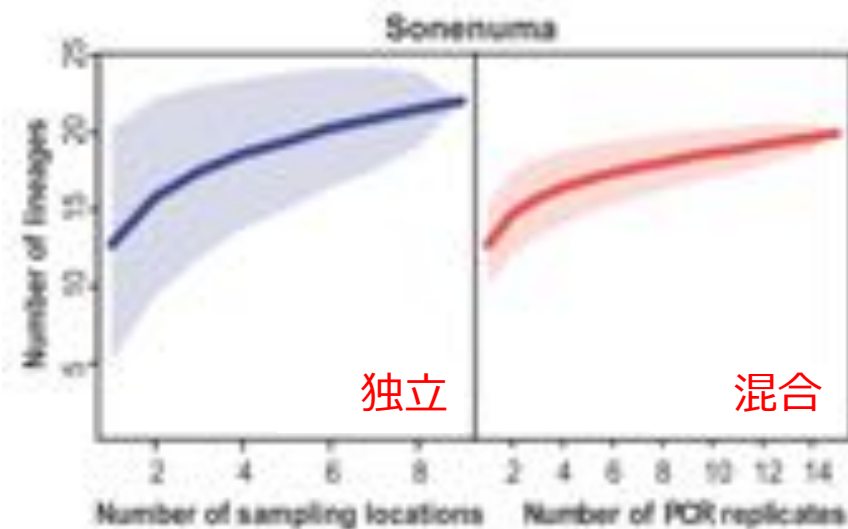
市販のキットを使ったステリベクス非破壊DNA抽出法の開発

シリンジを使った現場ろ過法

採水方法の検討

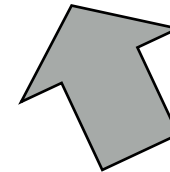
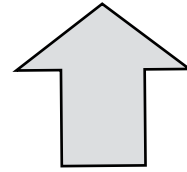
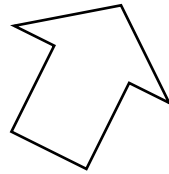
➡ 簡便化と感度の トレードオフ

- ✓ 採水地点の数・空間配置
- ✓ 採水量
- ✓ 採水の仕方（独立・混ぜる）



混合サンプルでは検出種数は低下

環境DNAを用いた陸水生態系種構成と 遺伝的多様性の包括的解明手法の確立と実践



陸水生態系種構成の解明手法の確立と実践

環境DNAメタバーコーディング解析手法の開発

遺伝的多様性の解明手法の確立と実践

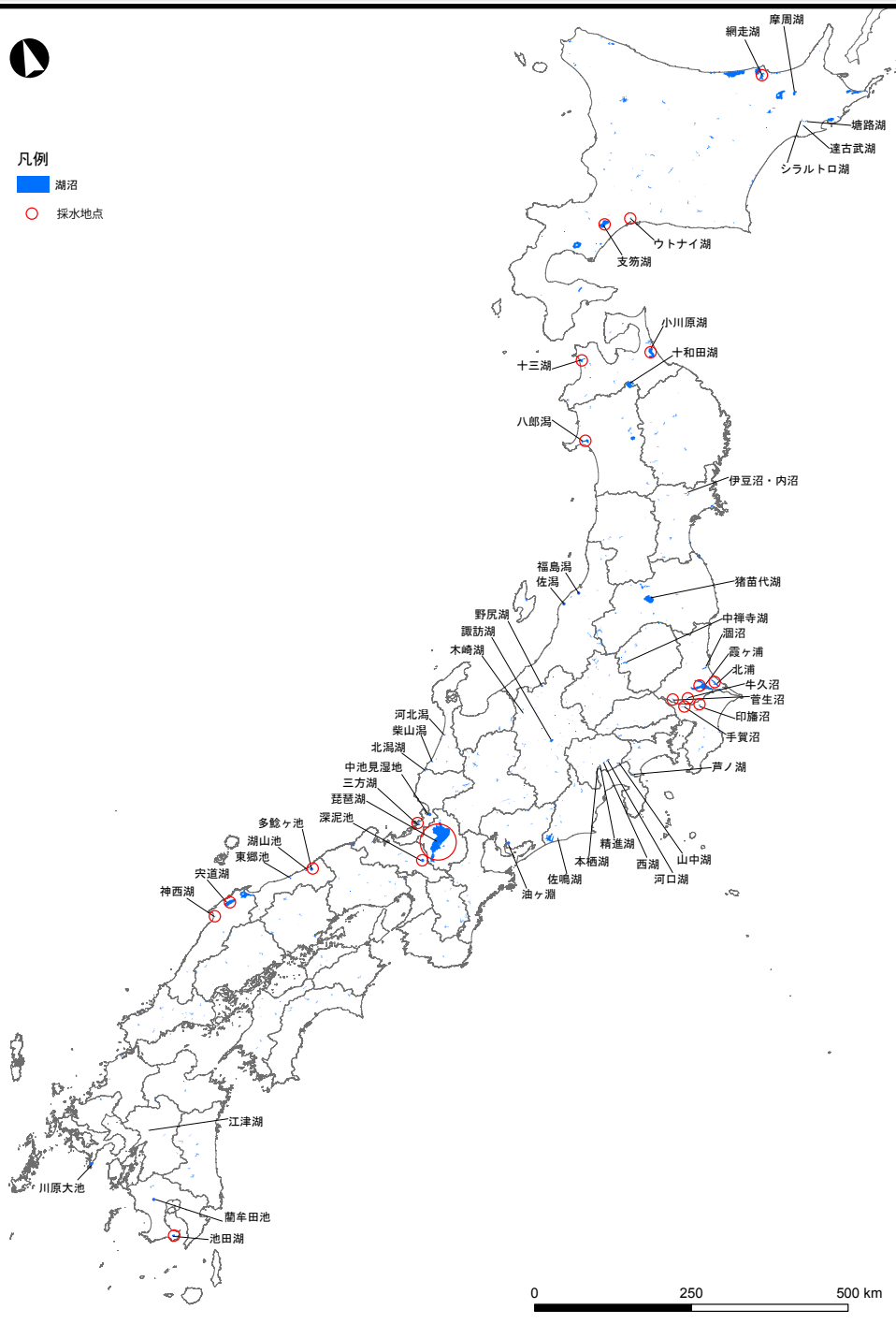
技術開発

環境DNAによる種組成検出法・
遺伝的多様性解明手法の開発

実践・検証

全国，様々な水域環境，季節変化での環境DNA手法の実践・検証

兵庫県立大 全国湖沼・河川での検証

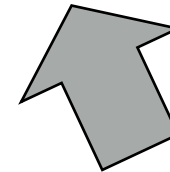
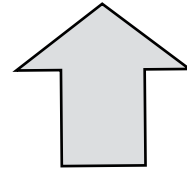
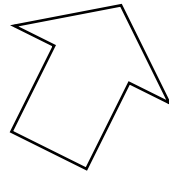


全国湖沼，河川で採水，環境DNAを分析，採捕などの調査と比較する。

全国で検証する意義

各地で即座に環境DNA手法を利用するには，**全国の様々な群集や環境**で使えることを確かめる必要がある。

環境DNAを用いた陸水生態系種構成と 遺伝的多様性の包括的解明手法の確立と実践



陸水生態系種構成の解明手法の確立と実践

環境DNAメタバーコーディング解析手法の開発

遺伝的多様性の解明手法の確立と実践

技術開発

環境DNAによる種組成検出法・
遺伝的多様性解明手法の開発

実践・検証

全国，様々な水域環境，季節変化での環境DNA手法の実践・検証

本プロジェクトの ゴール

環境DNAを用いた陸水生態系種構成と
遺伝的多様性の包括的解明手法の確立と実践

技術開発

環境DNAによる種組成検出法・
遺伝的多様性解明手法の開発



達成

すでに多方面に技術提供中。プレスリリース、
学会などで公開，本にて詳細な方法などについて
紹介する（執筆中、共立出版から出版予定）。

実践・検証

全国，様々な水域環境，季節変化
での環境DNA手法の実践・検証



達成

湖沼、河川、汽水域などで実践、全国の様々な
水域で使えることを検証した。

本推進費で、様々な分類群での環境DNAメタバーコーディング手法を確立し、調査手法などを様々な水域で実践した。

- ・ H30年度より環境省において、環境DNA手法標準化のための委員会設置（土居・源は委員）

- ・ 環境省、各省庁、地方自治体，コンサルタント会社との受託研究，共同研究や技術提供を開始。

- ・ 一般社団法人環境DNA学会の設立（土居：専務理事、サブリーダー他7名が理事）、学会大会の開催



生物調査の技術として、環境省を中心に環境DNA手法の標準化が進みつつある。

国民との科学・技術対話

- ・ 環境DNA学会での**公開シンポジウム開催**（300名参加） 生態学会でのシンポジウム開催（3/19）
- ・ 一般向けの**サイエンスセミナー**など多数開催（20件以上）、各種報道による周知（NHKサイエンスZero、新聞各紙、Yahooニュースなど）
- ・ 共立出版から本の出版（2020年3月出版予定）

今後の行政への貢献

- ・ 環境DNA手法について**標準手法の提案**（環境省委員会、環境DNA学会標準化委員会を通じて）
- ・ 技術者への**技術指導**（環境DNA学会を通じて）