

【4-1602】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 (H28~H30)

研究代表者 土居 秀幸 (兵庫県立大学)

1. 研究開発目的

本研究プロジェクトでは、国内の環境 DNA 研究者を結集し、これらの先駆的な研究をより発展させ、環境 DNA 解析に基づく生物分布や生物多様性の詳細かつ広域的な推定方法を開発する。更に、魚類に限らず水草や昆虫、甲殻類など、水圏生態系の主要な構成生物を包括的に解析する手法や、種内変異などの遺伝的多様性を評価する手法を開発する。最終的な目標は、1 リットルの水を採水するだけで、ある水域の種組成や遺伝的多様性を明らかにする革新的な解析技術を確立することである。この技術の実践により、生物多様性の評価をより低コストでより広範に行うことができるようになる。

本研究の最終目標は、この研究で得られた成果を公開し、環境 DNA を用いたメタバーコーディングによる生物種組成の把握、種内遺伝的多様性を含む生物多様性の推定を包括的に行うシステムを提案することである。

そのために、湖沼、河川、汽水域などの陸水域生態系に生息する魚類、昆虫、水草といった多様な生物種の分布や動態を、1 リットルの水を汲むだけで把握する革新的技術を開発する。この環境 DNA 技術により、外来種・希少種を含めた生物群集の簡便かつ迅速な生物分布モニタリングが可能となる。

さらに、ミトコンドリア DNA マーカーや核 DNA マーカーを用いて、遺伝的多様性に基づく各種・各集団の絶滅リスクといった「健康状態」を明らかにする手法を開発する。これらの目的を達成するために以下の3つの大きなテーマを設定した。

- 1) 陸水生態系種構成の解明手法の確立と実践
- 2) 環境 DNA メタバーコーディング手法の開発
- 3) 遺伝的多様性の解明手法の開発

これらのテーマについて、日本の環境 DNA 研究グループを結集して組織を形成し、各サブテーマがそれぞれの目標に向けて研究を進めるとともに、サブテーマ同士で、流動的に共同研究を行う。

2. 研究の進捗状況

(1) 湖沼・ため池における環境 DNA による生物多様性推定手法・指標の開発

当初の計画通りに進行しており、全国湖沼での環境 DNA 調査及び分析について予備的な結果を得ており、H29 年度での実験準備も先行的に進行している。指標化についてもその重要な点である実験方法について検討を進めている。

(2) 環境 DNA による生物多様性調査の高効率化を目指した調査・分析手法の検討

当初の予定通りに進行しており、H28 年度に計画していた採水手法の検討を実施した。また、琵琶湖、内湖、および琵琶湖流入河川でのサンプリングを継続して実施しており、H29 年度で予定している分析・解析の準備も着実に進めた。

(3) 環境 DNA メタバーコーディングのためのユニバーサルプライマーとリファレンスデータの充実

環境水のろ過に用いるフィルターを従来のグラスファイバーフィルターからステリベクスと呼ばれるカートリッジ式フィルターに替え、回収率を大幅に上げた DNA ろ過ならびに抽出法を新たに開発した (Miya et al. 2016)。この方法を用いることにより、懸濁物の少ない場所では 20 リットルを超す大量の水をろ過できるようになった。また、ステリベクスフィルターカートリッジと 50 ミリリットルのシリンジを組み合わせた携帯型ろ過キットを開発し、環境 DNA 研究で大きな問題となっていた DNA の劣化を防ぐことができるようになった。この新たな携帯型キットを全国の協力者に配布することにより、全国一斉サンプリング等の大規模調査が可能となった。

(4) 環境 DNA メタバーコーディングデータからの多様性指標・群集解析パイプラインの開発

当初の計画通りに進行している。即ち、我が国の湖沼で優占する種の大半が含まれる mtCOI バーコードライブラリーを構築しており、また他の遺伝子領域に関しても予備的なシーケンス結果を得ている。最終的な多様性指標化の方法論の検討も逐次進行中である。

(5) 六甲山周辺地域をモデルとした環境 DNA による水域生物相モニタリング手法の確立

堆積物からの環境 DNA 抽出法について、従来のキットを用いた手法より大容量のサンプルを扱うことのできる手法を確立した。これにより、水サンプルより不均一性の高い堆積物サンプルにおける環境 DNA 分析がより精度良く実施できるようになった。

(6) 汽水流域をモデルとした環境 DNA による底生動物相モニタリング手法の確立

環境 DNA 濃度から底生動物の生物量を推定する際には、水と堆積物のサンプルを季節などに応じて適宜使い分ける必要性等を見出した。

(7) 環境 DNA を用いた北海道陸水域における固有種・外来種の包括的分布評価と有効集団サイズ推定手法の確立

河川採水と魚類相解析については当初の予定通り進行している。環境 DNA による種内多型検出についても様々なテストを実施し、最適な実験方法についての精査を進めている。

(8) 核 DNA マーカーを用いた個体群の遺伝的構造の解析

計画通りに進捗している。在来遺伝子型と外来遺伝子型を判別する核 DNA 上の一塩基多型マーカーのアレル頻度を定量的に解析するリアルタイム PCR 法を確立し、既に本手法を野外試料に適用する方策の検討に着手している。

3. 環境政策への貢献(研究代表者による記述)

アドバイザーボード会合において、環境省と意見交換を行い、今後環境政策に活かすために、どのように研究に取り組んでいけばよいか、アドバイスを頂いた。今後、環境省においても環境 DNA を使った希少種などの生物モニタリングなどを検討したく、今後の本委託業務の進展を期待しているとの感想を得た。さらに、4月以降、環境省 生物多様性センターとは密に連絡を取り合い、今後の環境モニタリングへの環境 DNA の活用について意見を交換している。本プロジェクトでは、環境モニタリングとして環境 DNA 技術を採用する場合の基準や標準的な方法(仕様となる方法)の開発を進めており、これらの情報を還元することで、環境 DNA によるモニタリング手法の環境省による策定に大きく貢献できると考えられる。

4. 委員の指摘及び提言概要

魚類以外に対する本手法の適用可能性が広がっている点は評価できる。量に対する適用が可能になれば、より有用性が増す。そのためには、基礎データとして、組織片の断片化、輸送、消滅等の各プロセスを押さえておく必要がある。さらに対象分類群を広げ、手法の標準化、データベース化を進めてもらいたい。段階としては、マニュアル化(コンタミ防止策)、効率化(省力化など)へ進むことが期待される。

5. 評点

総合評点：A