

## 野外生態系研究のための環境DNA分析

潮 雅之

もし、海や川に出掛ける機会があったなら少しでも水の中の生き物に思いを馳せて、ごくごく単純な疑問を心に浮かべて欲しい。「この目の前の水の中に一体どのような種類の魚が棲んでいるのか？」この疑問はとても単純だが、その答えは非常に重要である。たとえば、そこにいる魚の種類が分かれば漁業にとって有益だし（釣り人も嬉しいだろう）、保全すべき希少種や新種が発見できるかもしれない。しかし、この疑問に答えることは容易ではない。人間の行動や視覚が制限される水中に生息する生物の種類を調べるには、網を使った捕獲調査などが一般的だが、それらは総じて労力や金銭的なコストが大きいからである。

水の中の生物の種類を調べ、その系で起こっている現象を記載し、そのメカニズムを解明する野外生物学は水域生態学と呼ばれているが、近年、この水域生態学の生物調査方法に革命が起きている。「環境DNA」と呼ばれる環境中に微量に存在する生物由来のDNAを利用した非破壊・非侵襲的な生物調査方法が爆発的に広がりつつあるのだ。環境DNAは、たとえば魚であれば、排泄物や剥離した組織などから環境中に放出され（しばしば細胞膜などに包まれたまま）浮遊するDNAと理解されている<sup>1)</sup>。環境サンプル中に含まれる環境DNAを適当なフィルターで捕集し、DNA抽出・配列解読を行うと、その水域に生息している可能性の高い生物を網羅的に検出できる。たとえば、沖縄の美ら海水族館で行われたテストでは、巨大な水槽の水を集めてフィルターでろ過し、DNAを抽出・特定領域を増幅し、MiSeqで配列解読を行ったところ、わずか10 L程度の水からその水槽で飼育している魚種のうち、DNA配列がデータベースに登録済みの魚種の93%以上を検出することに成功した<sup>2)</sup>。もともとサンプルが「水のみ」であったことを考えると驚異の検出力である。

環境DNAの分析方法を身につければ、野外環境中の生物群集の分析が格段に効率的になる。特に、大きな利点の一つは、生物分類の知識がない研究者でも興味のある系に生息する生物を網羅的に検出できる、というものである。これは、これまで限られた専門家の協力を仰がなければ不可能であった、さまざまな分類群の生物調査を非専門家でも可能にするものであり、野外生態系の生物モニタリングの大規模化や高頻度化が期待できる。生物多様性の衰退と、それに伴う生態系機能の低下が懸念される今、環境DNA分析の利用が広がっているのは自然な流れであろう。

環境DNA分析は生物分類の高度な専門的知識が不要で

ある一方、DNA分析の方法や配列データ解析の知識が必要になる。すなわち、環境サンプルからのDNA抽出、適切なプライマーの選択やPCR条件の検討、シーケンサーによる配列解読、出力された配列の解析などが必要である。これは、そのような手法に馴染みのない研究者にとっては高いハードルであるが、近年このようなハードルを低くするための努力もなされている。たとえば、2018年に設立された環境DNA学会は、魚類をターゲットとした環境DNA分析の手順（採水・DNA抽出からMiSeqを用いた配列解読まで）を詳細にまとめて公開した<sup>3)</sup>。また、MiFish pipeline<sup>4,5)</sup>という解析パイプラインを利用すればウェブ上にMiSeqから出力された配列をアップロードして解析開始のボタンを押すだけで複雑な配列解析を実行できる。したがって、環境DNA分析の初心者には環境DNA学会のマニュアルとMiFish pipelineの利用が入門のハードルを下げる良い方法の一つであろう。

環境DNA分析は、野外生態系における生物検出の感度の高さや作業効率の良さ（野外の現場では採水作業のみ）から、ますますその利用範囲が拡大していくものと考えられる。たとえば、水中だけでなく、陸上においても森林内の水場に残された環境DNAを分析することで森林に生息している哺乳類を検出した例が報告されている<sup>6)</sup>。さらに、環境DNA分析を利用して生物の種類だけでなく量を測定する方法の開発も進められている<sup>7)</sup>。また、DNAの配列解読技術が急速に発展しており、それら新技術を用いた新しい技術が開発されると思われる。たとえば、手のひらサイズで携帯可能なOxford NanoporeのMinIONを用いれば採水現場でのDNA配列解読も可能であろう。このようにして取得される広範囲・高頻度の生物データは生態系の状態把握や近未来予測を可能にし、このことが近い将来、我々の野外生物群集に対する理解を大きく前進させるはずである。

- 1) Kelly, R. P. *et al.*: *Science*, **344**, 1455 (2014).
- 2) Miya, M. *et al.*: *R. Soc. Open Sci.*, **2**, 150088 (2015).
- 3) 一般社団法人環境DNA学会「環境DNA調査・実験マニュアル」: [http://ednasociety.org/eDNA\\_manual\\_ver2\\_1\\_3.pdf](http://ednasociety.org/eDNA_manual_ver2_1_3.pdf) (2020/1/5).
- 4) Sato, Y. *et al.*: *Mol. Biol. Evol.*, **35**, 1553 (2018)
- 5) MiFish pipeline: <http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp/mifish> (2020/3/17).
- 6) Ushio, M. *et al.*: *Mol. Ecol. Res.*, **17**, e63 (2017).
- 7) Ushio, M. *et al.*: *Metabarcoding and Metagenomics*, **2**, e23297 (2018).