



環境DNA分析の概要と希少種の検出：水をくむだけで 絶滅危惧種の分布がわかる

源, 利文

(Citation)

化学と生物, 57(3):181-186

(Issue Date)

2019-03

(Resource Type)

journal article

(Version)

Accepted Manuscript

(Rights)

Copyright © 2019 公益社団法人 日本農芸化学会 <https://katosei.jsbba.or.jp/>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/90006502>



1 (1) 論文タイトル (主題・副題どちらも必ずご記入ください)

2 (和) 環境 DNA 分析の概要と希少種の検出

3 (副) 水をくむだけで絶滅危惧種の分布がわかる

4 (英) Outline of environmental DNA analysis and detection of rare species

5 (副) Distribution of endangered species discovered by a cup of water

6
7 (2) 著者名

8 (和) 源 利文

9 (英) Toshifumi MINAMOTO

10
11 (3) 著者ご所属

12 神戸大学大学院人間発達環境学研究科

13
14 (4) 要旨

15 (和：100 字程度)

16 環境中の DNA 情報を用いて生物分布を推定する環境 DNA 分析手法が近年発
17 展を続けている。本稿では、マクロ生物の環境 DNA 分析について概説すると
18 ともに、これを用いた希少種の調査事例について紹介する。

19
20 (英： 30 語程度)

21 An environmental DNA analysis method has been developed in recent years.
22 It enables to monitor the distribution of aquatic species using DNA
23 information in the environment. Here, the methods of environmental DNA
24 analysis are outlined, and the examples of rare-species investigation are
25 described.

26

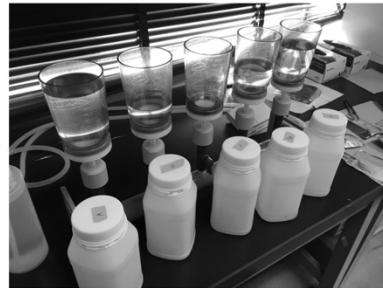
27

28 (graphical abstract)

採水



ろ過



検出



DNA抽出



29

30 Graphical Abstract: 環境 DNA の実験手順。

31

32 ※以上の図・文章は、本誌・学会ホームページでの紹介に利用しますので**必ずご記入くだ**

33 **さい。**

34

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

35 【本文】

36 はじめに

37 環境中には様々な生物がおり、その遺伝子である **DNA** も環境中に大量に存
38 在する。たとえば水や水中堆積物といった環境媒体の中にある **DNA** を分析す
39 る「環境 **DNA** 分析」が近年注目されている。これを用いると、コップ一杯の水
40 を分析するだけで、そこにどんな魚や両生類が生息しているかがわかるという
41 画期的な技術であり、この **10** 年ほどの間に目覚ましい発展を遂げている。本
42 「セミナー室」では、このような環境 **DNA** 分析に関する最新の取り組みにつ
43 いて連載でお伝えしていく予定である。本稿では、連載の導入として環境 **DNA**
44 分析の概要を示すとともに、著者らが取り組んでいる環境 **DNA** 分析を用いた
45 希少種の検出事例について紹介したい。

46

47 環境 **DNA** とはなにか

48 環境 **DNA** の定義は現時点では定まっていない。例えば、水の中には細菌や
49 真菌などの微生物や、魚や両生類などの大型生物がおり、川からくんできた水
50 サンプルには生きた微生物、微生物の死骸、大型生物から体外に放出された糞
51 などが含まれ、それぞれに **DNA** が含まれている。これらをすべてまとめて環
52 境 **DNA** と呼ぶ場合がある一方で、生体内の **DNA** は除き、生物体の外に出たも
53 ののみを環境 **DNA** と呼ぶ場合や、ある程度のサイズ以下の分画に含まれる
54 **DNA** のみを環境 **DNA** と呼ぶこともある。本稿では最も広い意味での環境 **DNA**、

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

55 すなわち環境中に存在する DNA であれば生体内外を問わずすべての DNA を環
56 境 DNA と呼ぶことにする。

57

58 初期の環境 DNA 分析は微生物が対象

59 このような環境 DNA 分析は初期には微生物を対象として行われていた。環
60 境水や土壌には無数の微生物がいるため、水や土を採取して微生物を分析する
61 のはごく自然なことである。微生物分析の最も基礎的な手法は培養であるが、
62 培養できる微生物は実は非常に少ない割合であることがわかるにつれ、遺伝子
63 を直接分析するほうが微生物叢の解明に有用であると考えられるようになった。
64 1990 年代から 2000 年代初頭にかけて微生物の環境 DNA 分析が花開き、見え
65 ない世界に実に多様な微生物が生息していることが明らかになった。このよう
66 な分析は、サンプル中に対象生物（ここでは微生物）が生きた状態で存在して
67 いることを前提としており、当然のことながら魚や両生類と行った「大きな」
68 生物を対象とした分析は行われなかった。

69

70 マクロ生物の環境 DNA 分析

71 微生物の環境 DNA 分析が報告されるようになってから 20 年ほど遅れて、マ
72 クロ生物（目に見える大きさの生物のこと）の環境 DNA 分析が始まった。世界
73 初の研究例はフランスのチームの行った、ウシガエルの環境 DNA 分析である
74 ⁽¹⁾。この研究では、ウシガエルのたくさんいる池の水からは高頻度で、ウシガ

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

75 エルの少ない池の水からは低頻度でウシガエルの **DNA** が検出され、ウシガエ
76 ルのいない池の水からはウシガエルの **DNA** が検出されなかった。このことは、
77 少量の（この研究の場合わずか **15mL**）池の水を分析するだけで、その池にウ
78 シガエルがいるのかどうかを明らかにできることを示している。しかし、今か
79 ら考えると衝撃的な内容のこの論文は、すぐには注目を集めなかったようであ
80 る。環境中にマクロ生物の生体外の **DNA** が **PCR** で検出できるほど大量にある
81 とはにわかには信じられなかったのが一つの原因かもしれない。本稿の著者自
82 身もこの論文の存在に気づいたのは自らがマクロ生物の環境 **DNA** 分析を始め
83 た後であった。しかし、その後徐々に注目を集めた本論文は本稿執筆時点で **600**
84 件を超える引用を得ている（**Google Scholar** 調べ：2018 年 11 月 6 日時点）。

85

86 環境 **DNA** 分析による単一種の特異的検出

87 上述の **Ficetola** らの論文でもそうであったように、環境 **DNA** 分析でマクロ
88 生物の分布を知ろうとする手法は、初期には特定の単一種を検出する、種特異
89 的検出法が一般的であった。この他に、メタバーコーディングと呼ばれる同時
90 多種検出法があり、両手法が目的に応じて使い分けされている。メタバーコー
91 ディングについては本連載の別稿の中で詳しく紹介される予定なので、詳しい
92 ことについてはそちらを御覧いただきたい。

93 環境 **DNA** サンプルからターゲットとなる生物種の **DNA** を特異的に検出する
94 ためには、環境中に混在する様々な生物の **DNA** から、対象種の **DNA** だけの特

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

異的に検出するプライマーの設計が鍵を握る。これを担保するために、一般的には、表 1 のような一連の手順を踏む（表 1）。これによって、設計したプライマーが近縁種を誤増幅しないことや、思いもしない生物種の DNA が増幅してしまうことを避けるのである。このとき、どれくらいの分類単位を近縁種として選択すべきであるかは一概には言えない。一般には同じ科に属するものを近縁種として対象にすることが多いが、例えば国内の河川におけるコイ科のように、同科内に非常に多種がある場合など、亜科レベルに留める場合もあれば⁽²⁾、同科どころか同目の近縁種もないといった場合に、目レベルで違っていてもできるだけ近いとみられる種を近縁種として設定することもある⁽³⁾。このような過程を経て特異性を確認することによって初めて、そのプライマーを用いた実験を行うことができる。

検出に用いられる技術

初期の環境 DNA 分析では、通常の PCR とゲル泳動による増幅バンドの確認によって環境 DNA の検出が行われてきた。最近では多くの研究でリアルタイム PCR 法が用いられるようになっている。リアルタイム PCR にも SYBR Green などのインターカレーターを用いた手法と、TaqMan プローブなどの二重蛍光標識プローブを用いた手法がある。どちらも有用であるが、特に蛍光プローブを用いる手法は、検出の特異性がプライマーだけでなく、プローブにも依存するため、より特異性の高い検出系を作ることができる。また、リアルタ

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

イム PCR の場合は PCR の後にゲル泳動などのために PCR 産物を取り扱う必要がないため、極微量な環境中の DNA を増幅する環境 DNA 分析におけるコンタミネーションのリスクを低減することができ、特に推奨される。

また、一般的な PCR は変性、アニーリング、伸長のスリーステップで実行されるのが普通であるが、筆者の経験では環境 DNA 分析の場合は 60 度程度の温度帯でアニーリングと伸長を一緒に行うツーステップ PCR が向いているようである。これは、非特異的な増幅を低減するのに役立つようである。さらに、デオキシウリジン三リン酸 (dUTP) とウラシル DNA グリコシラーゼ (UNG) を組み合わせたキャリーオーバーコンタミネーションの防止法もよく用いられる。ごく最近ではハンディタイプのリアルタイム PCR 装置も考案されているので、環境 DNA 分析が現場で終了することができる日も近いのかもしれない。

リアルタイム PCR は第二世代 PCR とも呼ばれるが、第三世代 PCR と呼ばれるデジタル PCR も環境 DNA 分析に使われ始めている⁽⁴⁾。これは、極微量の PCR 溶液を多数 (例えば 2 万個など) 用意し、対象遺伝子が溶液中に入ったものだけが示す増幅シグナルを計数することで、対象遺伝子の絶対数をデジタルに測定するものである。この手法を使うと、特に低濃度域の検出が改善することなどが知られており、微量の DNA 検出に有用であると考えられる。

種特異的環境 DNA 検出のアプリケーション

このような技術を利用した環境 DNA 分析は初期には外来種の検出に用いら

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

れてきた^(1,5,6)。研究が進むにつれて、環境 DNA 分析は低密度に分布する生物に
対しても、通常の日視や採捕を伴う調査よりも高感度であることが報告される
ようになってきた。このことは希少種の生息地探索に特に有用であることを意
味している。近年では多くの研究例で希少種の分布域把握に有効であることが
示されており、例えば特別天然記念物であるオオサンショウウオの流域内での
分布状況調査や⁽⁷⁾、絶滅危惧 IB 類に指定されるカワバタモロコの新規生息地探
索などへの適用例が報告されている⁽²⁾。本稿では、著者の関与した研究例の中
から、特に希少な種の保全に役立つ可能性のある調査事例を以下に紹介する。

環境 DNA 分析による希少種の繁殖地発見の例 1：雄物川のゼニタナゴ

環境省のレッドリストで絶滅危惧 IA 類にリストされるゼニタナゴは、過去
には北関東から東北の広い範囲に分布していたとされるが、現在では知られて
いる生息地は東北地方の 4 県の 10 箇所ほどで、そのほとんどがため池や水路
などの人工環境である。本来の生息地は大河川の下流域やそれに接続する湖沼
であり、かつては利根川や霞ヶ浦でも多数の個体を見ることができたそうであ
る。我々は、本来の生息環境である大河川にまだ繁殖を続けているゼニタナゴ
がいるのではないかと考え、秋田県の雄物川で調査を行った⁽⁸⁾。

雄物川は秋田県を流れる一級水系雄物川の本流であり、秋田県と山形県の県
境付近に端を発し、横手市や大仙市、秋田市を経て日本海に至る。本流は 130km
ほどの流程を持つ。我々は、河口から 112km 地点までに 99 地点の採水ポイン

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」「」をご使用ください。

155 トを設定して、2016 年の 8 月に水を汲んでまわった。99 地点の採水に要した
156 日数はわずか 3 日である。汲んだ水から環境 DNA を抽出し、ゼニタナゴに特
157 異的な検出系で PCR を行った結果、2 つのサンプルが陽性となった。そこで、
158 陽性反応の出た地点において採捕調査を実施した結果、1 地点から雌雄それぞ
159 れ 1 個体ずつを採取することに成功した。雄物川でゼニタナゴの成体が見つか
160 ったのは実に 11 年ぶりであった。しかも、採捕された雄個体は明確な婚姻色
161 を示し、雌個体は産卵管が伸長しており、性的に成熟した個体であった。この
162 ことは環境 DNA で特定した地点がゼニタナゴの産卵地であることを示唆する。
163 さらに、同地点に産卵基質である二枚貝を沈めて産卵トラップ調査を行ったと
164 ころ多くの二枚貝にゼニタナゴの産卵が確認された。つまり、環境 DNA 分析
165 に端を発した調査の結果、絶滅危惧種の繁殖地を発見することに成功したので
166 ある。環境 DNA 分析を用いずに河川のほぼ全域にわたる産卵トラップ調査を
167 行うのは現実的ではなく、この研究の結果は環境 DNA 分析が広域から対象種
168 の生息地をスクリーニングする手段として優れていることを示している。

169 環境 DNA を用いたゼニタナゴの生息調査はその後も続けており、上記の 1
170 地点では 3 年連続してゼニタナゴの環境 DNA が検出されている。このことか
171 ら、この場所が雄物川におけるゼニタナゴの重要な生息地である可能性がある。

172 また、2016 年には DNA が検出されなかった別の地点でも 2017 年には DNA が
173 検出されるとともに、個体も採捕されるなど（図 1）、環境 DNA を用いた調査
174 によって雄物川におけるゼニタナゴの分布状況が次第に明らかになりつつある。

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

ただし、この雄物川のケースにおける環境 DNA 分析では生息地の絞りこみ
まではできるが、繁殖地の発見にまで至ったのは必ずしも環境 DNA 分析の結
果ではない。一般的な環境 DNA 分析では生物の行動や状態までは知ることが
できないからである。しかし、近年になって環境 DNA サンプルにおける核 DNA
とミトコンドリア DNA の比率によって、繁殖期や繁殖地が特定できるという
研究成果が報告されており⁽⁹⁾、水を汲むだけで生息地だけでなく繁殖地を特定
できるようになることが期待されている。

環境 DNA 分析による希少種の繁殖地発見の例 2：カスミサンショウウオ

環境 DNA 分析を GIS 解析と組み合わせて希少種の繁殖地発見に至った例と
して、岐阜県におけるカスミサンショウウオの繁殖地発見のケースを紹介した
い。カスミサンショウウオは西日本の広い範囲に分布しているが、岐阜県はそ
の東端に当たると考えられている。岐阜県ではこれまでに 3 箇所（岐阜市に、
揖斐川町、海津市にそれぞれ 1 箇所）しか生息地が知られていなかった。そこ
で、カスミサンショウウオの生息に適した環境条件を GIS を用いて絞り込み、
そこで環境 DNA 分析を行うことで新たな生息地、繁殖地を発見しようという
取り組みが行われた。なお、この取組は主に岐阜県立岐阜高等学校の自然科学
部生物班によって行われたものである。

岐阜県内におけるカスミサンショウウオの生息地の環境条件として、植生や
地形の情報を取得し、同じような条件を示す場所を絞り込んだ。その後、絞り

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

込まれた 5 箇所の候補地（岐阜市 3 箇所、関市 1 箇所、海津市 1 箇所）において、環境 DNA 分析を実施した。その結果、岐阜市、関市、海津市のそれぞれ一箇所のサンプルからカスミサンショウウオの DNA が検出された。この結果を受け、それぞれの候補地において個体または卵塊を探したところ、海津市の 1 箇所でカスミサンショウウオの卵塊を発見することができた（図 2）。この事例も希少種の繁殖地を発見することに環境 DNA が有効であることを示している。特に、本種のように水環境にやってくるのが繁殖期に限られるような種の場合、水サンプルから DNA を検出することは繁殖地の特定にダイレクトに繋がる可能性がある。

また、上述の通りこの研究は主に高校生によって実施された。この事例と同様に高校生による野外調査（採水）によって希少種の生息地を確認することができた事例として、兵庫県の篠山市におけるアカザなどの検出事例がある⁽³⁾。

GIS 分析も環境 DNA 分析も高校生にとって必ずしも簡単ではないかもしれないが、この結果は、必要なサポートを得ることができれば専門家でなくても環境 DNA 調査が可能であることを示している。このことは、これまでの通常の生物調査と違って専門家ではない人でも野外調査を実行可能であることを示している。つまり、これまでよりも高頻度、多地点の調査が簡単に実施可能となる可能性があるのである。

種特異的環境 DNA 分析の応用可能性

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

215 このような環境 DNA の種特異的な検出技術はどのような応用が可能である
216 うか。ひとつは多地点の情報を短時間で得られることを利用した、生物分布の
217 スナップショットを得ることである。現地での作業時間が短いことは環境 DNA
218 分析の最大のメリットの一つである。実際、著者らが行っているルーチンの環
219 境 DNA 調査では調査地点での滞在時間は 5-10 分程度である。その間に、簡単
220 に水質を測定し、水を汲んだら次のポイントにすぐ移動という具合である。こ
221 の結果、1 チームで 1 日あたり 20 地点くらいを回ることができる。その結果、
222 例えば数百地点の情報を 1 季節の間に集めることも可能である。また、このよ
223 うに多点の情報を得ることができれば、生息地の環境条件とあわせて生息適地
224 をモデル化するなどの応用も可能であり、例えばオオサンショウウオの全国に
225 おける適地モデルの作成などが行われている。

226 また、上述したように、ミトコンドリア DNA と核 DNA の比率を用いた繁殖
227 地や繁殖期の特定も進んでいる。これは精子にはミトコンドリアが少ないこと
228 を利用した解析法であり、体外受精の生物であれば一般に適用可能である可能
229 性がある。再びオオサンショウウオの事例であるが、兵庫県の羽束川ではこれ
230 を用いて繁殖の日や場所をピンポイントで特定することなどにすでに成功して
231 いる。

232 種特異的検出は基本的に 1 種のみを検出する技術であるが、PCR をマルチプ
233 レックスで行うことで、複数の対象種を同時に検出することも可能である。例
234 えば、Tsuji et al. (2018)⁽¹⁰⁾ではミナミメダカとキタノメダカの同時検出系の作

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」「」をご使用ください。

235 成に成功している。著者らも 3 種のマルチプレックス系による、ミナミメダカ、
236 ドジョウ、カワバタモロコの同時検出などに成功しており、少数の対象種を検
237 出する場合に有効であると考えられる。また、本題とは少し離れるが、マルチ
238 プレックス系によって病原体と宿主生物を同時に検出するなどの応用も可能で
239 ある。

240

241 おわりに

242 マクロ生物の環境 DNA 分析は若い技術であるが、わずか 10 年ほどの間に飛
243 躍的に発展した。今後も新たな分類群や生態系への適用など様々な応用が進む
244 と考えられる。本稿では希少種の保全に資する展開に関する話題を中心に述べ
245 たが、あらゆる生物に適用可能であるので、応用可能性は幅広い。例えば、水
246 産有用種の動態予測や、病原体と宿主の複雑な関係を知るために用いることも
247 可能だと思われる⁽¹¹⁾。

248 環境 DNA 分析の利点の一つに、DNA さえとっておけば後から解析ができる
249 という点がある。つまり、ある目的でとったサンプルが後になって別の目的の
250 解析にも流用可能ということである。あるいは、そもそも目的すらなくても、
251 平時のサンプリングを繰り返しておくことで、いざ何かが起きたときに過去を
252 振り返って状況を把握することも可能である。つまり、環境 DNA サンプルの
253 アーカイブを作成することで生物分布の情報を冷凍庫に保存しておけるという
254 である。本稿執筆時点では、サンプルの取得も保存もそれぞれの研究者に委ね

図表の挿入位置を本文中に示してください.

文献は, 出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい.

句読点は「.」「,」をご使用ください.

255 られているが、将来的には学会等が音頭を取って環境 DNA アーカイブの体系
256 的な保存を行うことで、生物分布に関する非常に貴重な情報をかなりの長期間
257 に渡って保全することが可能である。その間に技術が進めば、サンプル中のあ
258 らゆる遺伝子情報を漏らすことなく取得することもできるようになるだろう。
259 一杯の水から水中にどのような生物がどのような状態でおりどんな行動をして
260 いるか、すべてを明らかにすることができるようになる日も近いかもしれない。

261

文献欄は番号順に並べて下さい。

著者名が 10 名を超える文献は、10 名を記載し、以降を “*et al.*” および「ほか」と記載してください。

1 【文献】

2

3 1) G. F. Ficetola, C. Miaud, F Pompanon, P. Taberlet : *Biol. Lett.*, **4**, 423-425 (2008) .

4 2) 福岡有紗, 高原輝彦, 松本宗弘, 兵庫県立農業高校生物部, 丑丸敦史, 源利文 : 日本

5 生態学会誌, **66**, 613-620 (2016).

6 3) 丹羽英之, 坂田雅之, 源利文, 清野未恵子 : 保全生態学研究 (印刷中).

7 4) H. Doi, T. Takahara, T. Minamoto, S. Matsushashi, K. Uchii, H. Yamanaka : *Env.*

8 *Sci. Tech.*, **49**, 5601-5608 (2015).

9 5) C. L. Jerde, A. R. Mahon, W. L. Chadderton, D. M. Lodge : “Sight-unseen” detection

10 of rare aquatic species using environmental DNA. *Conserv. Lett.* **4**, 150–157 (2011).

11 6) T. Takahara, T. Minamoto, H. Doi : *PLOS ONE*. **8**, e56584 (2013).

12 7) S. Fukumoto, A. Ushimaru, T. Minamoto : *J. Appl. Ecol.*, **52**, 358-365 (2015).

13 8) M. K. Sakata, N. Maki, H. Sugiyama, T. Minamoto : *Sci. Nat.*, **104**, 100 (2017).

14 9) J. Bylemans, E. M. Furlan, C. M. Hardy, P. McGuffie, M. Lintermans, D. M.

15 Gleeson : *Meth. Ecol. Evol.*, **8**, 646-655 (2017).

16 10) S. Tsuji, Y. Iguchi, N. Shibata, I. Teramura, T. Kitagawa, H. Yamanaka : *Sci. Rep.*,

17 **8**, 9138 (2018).

18 11) 源利文 : 環境 DNA を用いた感染症研究への期待. ウイルス **66**, 171-178 (2017).

19 12) T. Minamoto, K. Hayami, M. K. Sakata, A. Imamura : *Ecol. Res.* DOI:

20 10.1002/ere.1018 (2018)

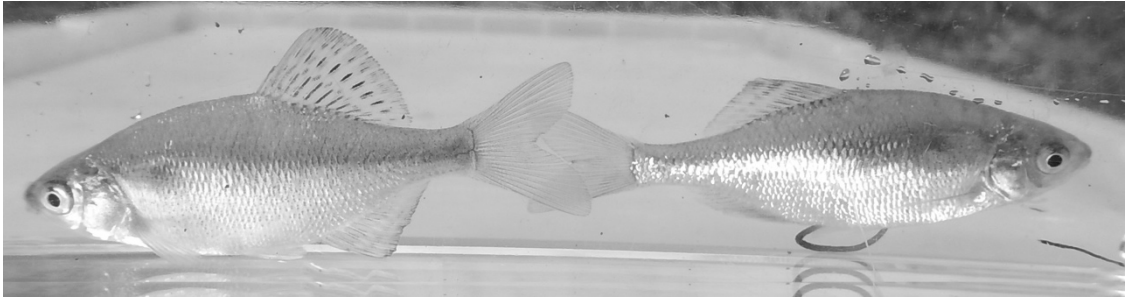


図 1 環境 DNA 分析の結果発見されたゼニタナゴの個体。左が雄、右が雌である。メス個体の産卵管が伸長し、性的に成熟していることがわかる。(写真提供：上田夏希氏)



図 2 GIS と環境 DNA 分析の組み合わせによって発見されたカスミサンショウウオの新規生息地における調査風景。(写真提供：岐阜高等学校自然科学部生物班)

表 1. 種特異的な環境 DNA 検出におけるプライマー設計の工程

工程	具体的な内容
データ収集	遺伝子データベースから対象種及び近縁種のデータをダウンロードする
設計	近縁種と対象種の間に変異のある領域を選んでプライマーを設計する
in silico チェック	Primer-BLAST 等のソフトウェアで潜在的な増幅生物種をチェックする
in vitro チェック	対象種および近縁種の DNA サンプルを鋳型として PCR を行い クロスリアクションがないことを確認
実サンプルチェック	環境 DNA サンプルに由来する増幅産物をシーケンスし 確かに対象種であることを確認

コラム：

冬でもできる環境 DNA 調査

水を汲むだけでどんな生き物が生息しているかがわかる環境 DNA 分析は現場における作業量が少ないことが最大の売りである。特に目視や採捕による直接的な確認が困難な生物の調査や、アクセスが困難な環境における調査でその真価を発揮する。ここでは、アクセス困難な環境での調査事例として、北海道の大雪山系で厳冬期に行った調査を紹介したい。なお、ここで紹介する研究について詳しくは間もなく出版される Minamoto et al. (2018)を参照されたい⁽¹²⁾。

北海道には様々な在来サケ科魚類が生息するが、外来種であるニジマスによってその存続が危ぶまれる状況にある種、あるいは地域個体群もある。オショロコマとアメマスは在来のサケ科魚類であり、ニジマスによる影響が危惧されている。著者らは大雪山系のふもとにある石狩川水系のアンタロマ川およびピウケナイ川で、オショロコマ、アメマス、ニジマスの環境 DNA 調査を実施することを計画した。これらの魚種は季節的な移動も想定されるため、冬季を含む季節調査が必要であるが、冬季の環境 DNA 調査は報告例が少ない。特に、積雪が数メートルになるような環境における調査報告例は稀である。

この地域において積雪が最大になる 3 月に環境 DNA 調査を行った結果、冬季においても水を数百ミリリットル汲むだけでこれらの魚種の DNA を検出することができた。なお、一部のサンプルは凍結した河川の氷の下から得たものである。対象の河川では、この調査以前に共同研究者によって採捕調査が行われており、どの種がどこに生息するかはおおよそわかっていたが、環境 DNA 分析の結果は採捕調査の結果とほぼ同じであった。このことは、環境 DNA 分析が厳冬期の河川でも可能であることを示している。

これまでの様々な研究でほとんどあらゆる場所において、あらゆる生物を対象に環境 DNA 分析が可能であることが示されてきたが、この研究によって変温動物である魚類を対象にした場合でも、冬季にも調査が可能であることが示された。暖かい季節の調査が可能であることはすでにいくつもの論文で示されているとおりであり、いつでも、どこでも、どんな対象生物でも環境 DNA 分析が有効であるということになる。この分野の今後のますますの発展が期待される。



コラム用の図：大雪山系における環境 DNA 調査の様子。真冬でも採水するだけで底に住む魚の種類がわかる。

本誌「執筆者紹介」欄に、先生のプロフィールを紹介させていただきたく存じます。
お手数ではございますが、下記プロフィール見本をご参照のうえ、プロフィールをお
作りいただき、原稿と共にご提出ください。また、顔写真も掲載しておりますので、
あわせてご提出をお願い申し上げます。

* なお御共著の先生がいる場合はその先生のプロフィールも頂戴したくお願い申し上
げます。

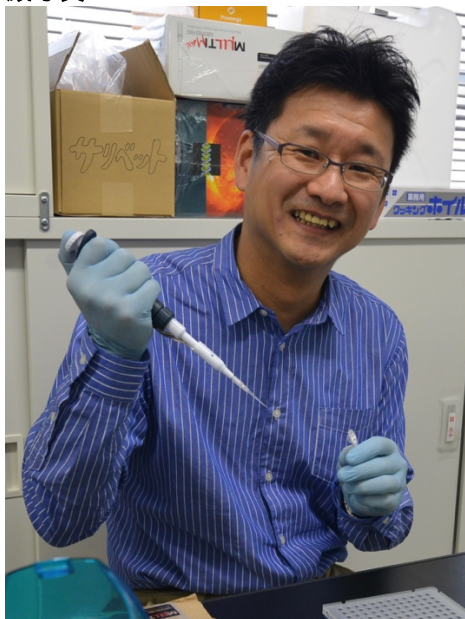
＜御芳名と御所属＞ 源利文 神戸大学(Toshifumi MINAMOTO, Kobe University)

＜略歴＞1999 年京都大学理学部卒業／2003 年京都大学大学院理学研究科博士後
期課程修了／2003 年京大大学生態学研究センター研究機関研究員／2005 年産業
技術総合研究所特別研究員／2007 年総合地球環境学研究所プロジェクト上級研究
員／2012 年神戸大学大学院人間発達環境学研究科特命助教／2017 年同准教授、
現在に至る

＜研究テーマと抱負＞環境 DNA 分析による水中生物相調査手法の開発、同分析手
法の感染症生態学への適用

＜趣味＞バレーボール

顔写真



キーワード作成のお願い

ご執筆いただいた論文に関するキーワードの作成をお願いいたします。キーワードは、
1個以上5個以下、英語のみにてお願いいたします。 キーワードはJ-STAGE、ならび
にホームページでの検索用に使用いたします（本文には記載しません）。

1. Environmental DNA

2. Real-time PCR

3. Species-specific detection