

トピックス

環境 DNA を用いた水圏生物研究

あらき ひとし (北海道大学大学院 農学研究院)
みずもと ひろき (北海道大学大学院 農学院)

はじめに

「環境 DNA」という言葉をご存知でしょうか。生物から剥がれ落ちて環境中を漂っている DNA を「環境 DNA」、これを集めて解析する技術を「環境 DNA 技術」と呼びます。私が環境 DNA の研究を始めたのは今から 4,5 年前になりますが、当時この技術の知名度はまだゼロで、「水を汲めば、周囲にどんな魚がいるのか分かる(かもしれない)」と言っても、真に受けてくれる人は大変少なかったように思います。最近では研究者はもとより、マスメディアや行政の方々にまでこの言葉が浸透してきていて、変化の早さに驚かされます。そこで今回は環境 DNA 技術の生い立ちと、これまでの研究を簡単に振り返りつつ、幾つかの未来展望を試みたいと思います。

環境 DNA 技術の生い立ちと発展

土や水などの環境媒体から生物(そのもの)を採集し、そこに含まれる DNA を解析するメタゲノムと呼ばれる技術は、次世代シーケンサーと呼ばれる大量 DNA 解析技術の誕生と時を同じくして微生物学分野では盛んに研究されていました。一方、脊椎動物のような大型生物において、環境水から DNA を検出することでその存在を論じたのはフランスのグループが初めてでした(Ficetola et al. 2008)。彼らはアメリカから来た外来ウシガエルの分布を調査していて、溜池の水からウシガエルの DNA が高い確率で検出されることを見出したのです。これが、環境 DNA がこの世に産声を上げた瞬間でした。

今から思えば大変画期的で発展性の高い研究報告ですが、実はその後数年間はあまり脚光を浴びることがありませんでした。ただ、その間にも日本をはじめとする幾つかのグループが同様のアイデアにたどり着き、魚類や両生類について環境水から DNA 検出が出来ないかとの模索が始まっていました。そして、最初のフランス・ウシガエル論文が第一世代の DNA 増幅技術(PCR)を用いていたのに対し、リアルタイム PCR と呼ばれる第二世代の増幅技術を用いて定量的な DNA 検出を行う手法へと改良が進んでいきました(Takahara et al. 2012, 2013)。高原らは水槽や池にコイを飼育

し、生物量と検出環境 DNA 量に強い相関があることを示したのです。このことが、捕獲や目視に頼らない外来種や希少生物の存在判別はもちろん、非侵襲的な(生体に触れない)資源生物の資源量推定への可能性を開き、現在の環境 DNA 技術の礎となったといつてよいでしょう。

もう一つのブレイクスルーは対象生物の拡大です。上記の手法が対象生物を絞った、云わば狙い撃ち型の研究手法なのに対し、今度は「何がいるかは分からないが、何かがいたらそれを検出する」、云わば散弾銃型・発見型の研究手法です。この手法も 2012 年にそのプロトタイプ論文が発表されていましたが、当時はまだ数種の魚を同時に検出する程度の技術でした(Thomsen et al. 2012)。しかし、その僅か3年後には魚類全体を網羅しつつ、高い精度で種判別まで出来てしまう、魔法の道具が開発されたのです。これも日本の環境 DNA 研究グループからでした(Miya et al. 2015)。私自身も微力ながらこの魔法の道具開発に関わりましたが、今でもこの研究は Nature, Science に掲載されてもおかしくない、革新的な研究成果だったと考えています。

環境 DNA の現在地と未来展望

とはいえ、環境 DNA 技術は生まれてからまだ 10 年に満たない、ヨチヨチ歩きの若い技術です。水さえ汲めば何でも分かるのか、と言われれば、もちろん答えは NO です。では、どこまで分かるのか、それこそが現状、環境 DNA 研究の最大の関心事といつても過言ではありません。

環境 DNA 技術の目下の問題点は、その限界がはっきり見えていないという事にあります。私が環境 DNA の話をして、真っ先にうける質問は「どれくらい離れた生き物が検出されるのか?」です。より深く洞察をされる方からは、「どれくらい前にいた生き物が見つかるのか?」「解析する水の量を増やせばもっと多く見つかるのか?」「死んだ生物の DNA も検出するのか?」といった質問も受けます。これらの質問はどれも尤もで、毎回明確な答えを返せずに辛い思いをしますが、DNA の由来である生物の状況(生死、成長段階等)、そして環境水採集地点までの時空間的な距離はほぼ確実に検出する DNA 量に影響します。

特に野外では水流や水温等、様々な環境要因が絡むため、これらを一つ一つ紐解かねばなりません。我々を含め世界中でこのような研究が進められているので、次に本誌に原稿を寄せる頃には、より具体的な答えを持っているものと期待しています。

そのような研究の一例として、最近我々が行った研究を紹介します。現在、絶滅危惧種であるイトウについて、著者らが中心となって環境 DNA を用いた研究を行っています。北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場の協力の下で行った実験では、大変興味深い結果が得られていて、0+から20歳以上にもなるイトウ稚魚・成魚を用いた飼育実験を通じ、生物量と検出される環境 DNA との関係が広い範囲で明らかになってきました (図1)。その結果、魚が増えると環境 DNA 量が増えるのはもちろん、総重量を指標にすると、魚体サイズや年齢による影響をあまり受けずに一定の環境 DNA 量が検出されることが分かってきました (Mizumoto et al. 2017)。

またこの技術の野外への適用においては、厳密な生物量推定へのハードルはまだまだ高いものの、健全な野外集団を有するサケやイトウの河川では年間を通して長い期間環境 DNA が検出されると同時に、季節ごとに主な生息場所がシフトする、といったことも DNA 解析を通じて見えてきています。さらに、上記散弾銃型研究手法を組み合わせることで、サケやイトウがどのような餌資源に依存的に河川内移動をするのかも解明できるのではないかと期待しています。

加えて環境 DNA 検出手法そのものにも改良が

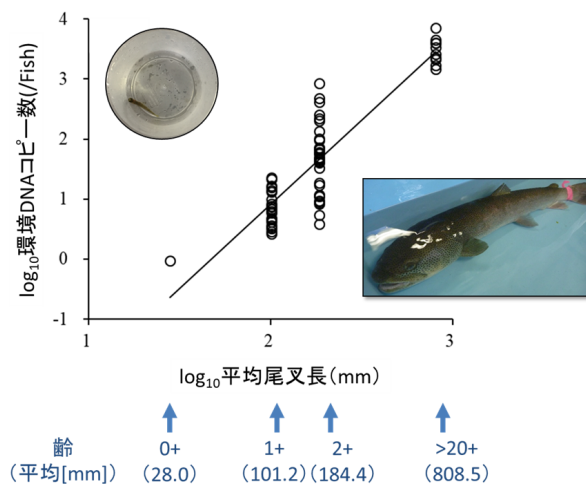


図1. イトウの環境 DNA 量・体サイズ相関 (Mizumoto et al. 2017 より改変)。

重ねられており、以前の手法では見えなかったものが徐々に見えるようになりつつあります。それによって、生物量の比較的少ない環境 (例えば深海) においても、この手法が使えるようになってくるわけです。また魚や両生類に限らず、陸生哺乳類や鳥類にもその応用範囲を広げつつあります (Ushio et al. 2017)。我々もこれらの技術的な発展に引き続き貢献しつつ、ローカルな外来生物・希少生物の抱える諸問題、サケマス資源をはじめとするグローバルな資源動態変化や温暖化の影響、といった問題の解決に寄与出来ないか。環境 DNA の可能性探求の旅はまだまだ続きます。

引用文献

- Ficetola, G.F., Miaud, C., Ponpanon, F., Taberlet, P. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters*, 4: 423-425.
- Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J.Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., Iwasaki, W. 2015. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 2: 150088.
- Mizumoto, H., Urabe, H., Kanbe, T., Fukushima, M., Araki, H. 2017. Establishing an environmental DNA method to detect and estimate the biomass of Sakhalin taimen a critically endangered Asian salmonid. *Limnology*, <https://doi.org/10.1007/s10201-017-0535-x>
- Takahara, T., Miyamoto, T., Yamanaka, H., Doi, H., Kawabata, Z. 2012. Estimation of fish biomass using environmental DNA. *PLoS One*, 7: e35868.
- Takahara, T., Minamoto, T., Doi, H. 2013. Using environmental DNA to estimate the distribution of an invasive fish species in ponds. *PLoS One*, 8: e56584.
- Thomsen, P.F., Kielgast, J., Iversen, L.L., Møller, P.R., Rasmussen, M., Willerslev, E. 2012. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *PLoS ONE*, 7: e41732.
- Ushio, M. et al. 2017. Environmental DNA enables detection of terrestrial mammals from forest pond water. *Molecular Ecology Resources*, <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12690>