



October 2021
Vol. 8 / No.10 (通巻94号)

生活衛生ニュース

発行：(株) 静環検査センター

静岡県藤枝市高柳2310番地 tel.054-634-1000 fax.054-634-1010

DNAで生き物を救う!

～新たな生物調査の紹介～

従来の生物調査は、捕集網などで生物個体を採集し、あるいは直接観察することで確認するのが主流でした。しかし、近年DNA解析が飛躍的に進展したことにより、生物調査にもDNA解析が導入されつつあります。

DNAによる調査では、「組織DNA」を用いてそれがどのような生物であるのか、「環境DNA」を用いて何処にどのぐらいの生物が息するのかを知ることができます。また、多種多様な生物種の形態的特徴を経験的に蓄積したベテラン調査員でなくとも、生物欠片、糞、または池の水などから生物情報を得ることが出来るようになりました。

DNAとは

DNAはデオキシリボ核酸の略称であり、アデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)の4つの塩基で構成され、核やミトコンドリアの中で遺伝情報の保存・複製に関与しています。その4つの塩基で組み合わせられた配列を塩基配列と呼びます。その解読には、DNAシーケンサーという機器を使い配列決定します(この操作をシーケンスと呼びます)。一般に、DNAは生命の基本設計図と説明され生物種ごとに異なります。

組織DNAによる生物調査

組織DNA調査とは、生物組織(皮膚、毛根、羽根など)の一部や排泄物(体液、糞など)のDNAを対象に生物種を識別・同定するものです。一般的に犯罪捜査でのDNA解析や親子鑑定などもこれに当たります。

さらに、生物調査では外観による識別が困難な交雑種の解析にも用いられます。実際に調べてみると、見た目はホニシガメそのもののなのに別種との交

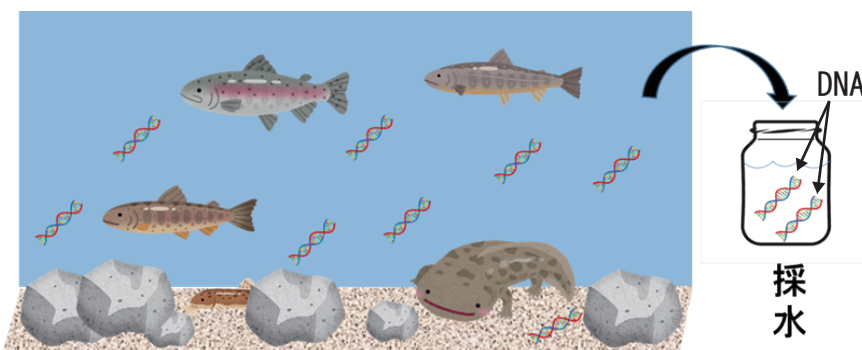


図 環境DNAイメージ(河川水等に残存するDNA)

雑種であったり、本来の分布地でなく別の地域から移入された生物個体群であったり、目では直接見えない情報がDNAの配列情報で見えてくることもあります。一般的に、この解析にはサンガー法*が利用されます。

環境DNAによる生物調査(図)

環境DNA調査とは、海洋や河川、湖沼の水、森林や畑の土壌を採取し、その中に残されているDNAを対象に生物種を識別・同定するものです。よって、河川水や森林土壌を採取してくるだけでその場所を通過し息する生物種を調べることが出来ます。

主に、特定の場所・環境を調査対象と

し、そこに、①「ある特定の生物種」が分布しているか否かや、②「地域生物相(そこに分布している全ての生物種)」を知りたいときに実施します。

①「特定の生物種」を調べる場合(種特異的解析)

採取した河川水などに残されている特定の生物種のDNAをリアルタイムPCR装置(写真1)で増幅し、即座に増幅量をモニターすることで特定の生物種の有無を調べます。この手法は、配列決定をおこなわないので迅速かつ簡便であり、さらにDNA量を定量することができるので生息数の比較検討をおこな(次頁につづく)



写真1 リアルタイムPCR装置
(QuantStudio 1: Thermo Fisher社)

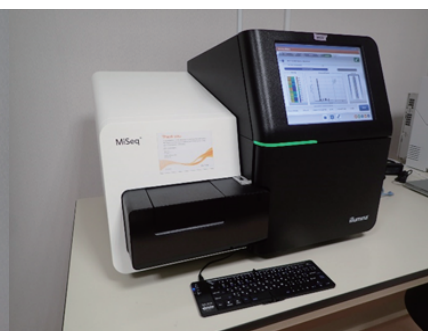


写真2 次世代シーケンサー
(MiSeq: Illumina社)

(前頁のつづき)

うことが出来ます。また、後述の手法②と比べて検出感度が高いとされています。

②「地域生物相」を調べる場合(網羅的解析)

調査したい生物群のDNAを予め増幅したものについて次世代シーケンサー(写真2)で解析することにより、河川等に生息する魚類や両生類、哺乳類、鳥類などに至るまでの生物相を調べることが出来ます。この方法では、夜行性で水底に生息するような採集しづらい生物種の検出や、元来生息数が少なく確認の困難な生物種の分布把握も可能です。

実際に水族館の水槽の水を使用した性能検証の結果では、水槽で飼育されている魚類の9割以上の168種の検出に成功した例もあります¹⁾。

一方、野外では全国の沿岸で環境DNAによる魚類相調査した結果では、全調査地点あわせて計136科521属1,220種の魚類が検出されたという報告もあります²⁾。

DNA解析の今後の展望

今後、DNAを用いた調査手法は従来の生物調査方法に取って代わることになるでしょうか。その回答は「現段階の技術でそれを完全に補うことが難しく、そう簡単ではない」ということになりそうです。

DNAを用いた調査手法はまだまだ発展途上であり、いくつかの欠点も明らかです。

組織DNAによる生物調査でのサンガー法においては、1検体中に何らかの原因によって複数のDNAが含まれていると正しく解析ができないため、不特定多数のDNAが混在する試料の解析には使用できません。

また、環境DNAを用いた生物調査においては、実際に対象生物を捕獲しないため、従来の生物調査で得られていた個体情報(精子、卵稚仔、成魚)を区別して情報を得ることはできません³⁾。

それならば、従来の調査にDNA解析をミックスすることでお互いの欠点を利

点で補い、より確実な成果を得ることが現段階での現実的な解決法となり、調査精度を大きく向上させ生物調査に係る膨大な労力を縮減することを可能にします。

例えば、ある河川でオオサンショウウオの分布調査を実施する場合、まず、環境DNAによる調査で生息場所を絞り込み、特定された場所において従来の生物調査の手法(潜水・捕獲)を合わせて行えば、効率的に生物の個体情報を多く得ることが出来ます。

このように、多面的なアプローチの手法を組み合わせることにより、今まで生態が分からず確認記録の少なかった生物や、生息環境が限られ生息数が少なくなった希少な生物について、簡便により多くの試料水などを集めることで精度の高い分布情報を得ることが出来るようになります。

そして、取得した情報に基づき、希少な生物を含めあらゆる生物の保護やその環境保全につなげることでSDGs(持続可能な開発目標)**、⁴⁾の達成により近づくものと考えます。

当社のDNA分析

組織DNAや環境DNAの解析手法を設計から行っています。設計とは、DNA増幅に必要なプライマーやプローブと言われる人工合成した短いDNAの配列設計であり、この配列は対象生物種ごとに異なります。

まず、組織DNA解析では、同一種内での隠ぺい種(同一種と思われていたが、DNA分析等の結果で別種とされた種。



写真3 小型サンショウウオ(アカイシサンショウウオ、静岡県産)

外見がとても似ていて識別が困難な種類)の多い小型サンショウウオ類(写真3)に適した独自の検出系を設計し分析を可能にしました。その他にも、飼育・放流個体等により遺伝子が攪乱された絶滅危惧種のメダカの系統解析等も行っています。

環境DNA解析においては、外来生物や小型サンショウウオ類、カワネズミの種特異的解析や、環境水中から魚類や両生類の網羅的解析をおこないデータ集積に努めています。

*サンガー法とは

名称はサンガー氏の発明に由来(1980年ノーベル化学賞受賞)し、ジデオキシ法とも呼ばれています。PCRで目的のDNAを増幅する際、取り込むと増幅が停止する4種類の蛍光色素付きジデオキシヌクレチドを加えておくことで様々な長さのDNAが作製されます。これを解析しDNAを構成する塩基の配列(結合順序)を決定する手法です。

**SDGsとは

Sustainable Development Goals(持続可能な開発目標)の略称、国連サミットで決められた2030年までに達成すべき国際社会共通の17の目標です。

環境分野では、目標14に「海の豊かさを守ろう」、目標15に「陸の豊かさを守ろう」の取組みがあります。

(文責 岡本 悠吾)

(参考資料)

- 1) M.Miya. et al. : 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 (2015)
- 2) 長田 穰 : 多地点・多種データから明らかにする沿岸魚類群集の形成要因, 第2回環境DNA学会神戸大会 環境DNA技術の応用~社会実装に向けて~プログラム集, 15 (2019)
- 3) 高原 輝彦ほか : 特集 環境DNAを利用した水中生物モニタリング : 環境DNA分析の手法開発の現状~淡水域の研究事例を中心に~ , 日本生態学会誌, 66: 583-599 (2016)
- 4) 弊社 HP「生活衛生ニュース」; 持続可能な開発目標(SDGs)と喫煙 (2020.6); 新型コロナウイルスのPCR検査 (2021.9)

お問い合わせ

TEL 054-634-1000 FAX 054-634-1010
http://www.seikankensa.co.jp

最新の分析機器と高精度な技術で暮らしの安心、安全をサポートする

株式会社 静環検査センター

静岡県藤枝市高柳2310番地