

## 1. 研究計画

本研究では、“環境 DNA (水中に遊離している DNA 断片) 手法の開発”と“環境 DNA 技術の野外への適用”の2つの研究テーマをあげて、湖沼、河川、ため池などの水域生態系における生物種の分布の推定、外来種や希少種の発見、生物量の定量に環境 DNA 手法を応用する。それによって、生物の分布や生物量の推定を可能とする環境 DNA 測定技術を確立することである。

(1) 定量 PCR による環境 DNA 手法の開発

環境 DNA (水中に遊離している DNA 断片) の定量 PCR 法による定量によって、各種水生動物の在・不在の判別と生物量を推定する手法を提案する。ミトコンドリア DNA を用いた定量 PCR による環境 DNA 手法確立のため、魚類、甲殻類についての各種 PCR 用プライマーの開発を行う。また飼育実験により、それらの PCR 用プライマーによる生物の在不在の判別が可能かについて検討する。

(2) 核 DNA、シーケンスによる環境 DNA 手法の開発

核 DNA の ITS 領域をターゲットにして各種水生動物の在・不在が判別できる新規な環境 DNA 手法を提案する。琵琶湖・淀川流域に生息する魚種の ITS 領域の遺伝子データベースを作成し、琵琶湖・淀川流域から採集した水サンプルや飼育水槽水に由来する DNA を増幅、ランダムクローニング法により、構成種の半定量的把握を試みる。

(3) 生物の移動分散研究への環境 DNA の適用

環境 DNA による魚種の在・不在判定によって、複数生息地間での魚種の移動分散評価を行う手法を提案する。流水環境である河川における環境 DNA による在・不在判定の精度について基礎情報を収集し、環境 DNA 分析技術の移動分散研究への適用方法を明らかにする。

(4) 外来種・希少種調査への環境 DNA の適用

外来種・希少種調査における環境 DNA 手法の利用法について提案する。網などの従来の手法と、環境 DNA データによる推定結果について比較し、野外調査における環境 DNA での在・不在の判別、生物量推定法の適用方法を明らかにする。

## 2. 研究の進捗状況

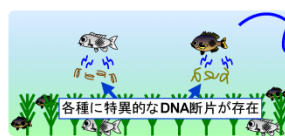
(1) 定量 PCR による環境 DNA 手法の開発

ミトコンドリア DNA を用いた定量 PCR による環境 DNA 手法確立のため、魚類、甲殻類につ



従来の生物分布モニタリング手法  
多大な労力や時間 (コスト) をかけて生物の捕獲調査が行われてきた。  
・複雑な地形や植生により網を打つのが困難  
・水の濁りや流れによって姿が見えない

環境 DNA : 動物の排泄物などに由来して水中に溶け出した DNA 断片



少量の水を採取し DNA 情報を調べて  
・環境 DNA の有無から生物分布を推定  
・環境 DNA の量から生物量を推定

- 生き物の採捕の必要性がなく、調査コストが大幅に削減できる
- 調査者によるデータのばらつきが小さくなる
- 生物種を DNA から同定するため、従来の同定技術が不要
- 捕獲方法の確立されていない外来種が侵入した場合に迅速に生息分布調査を行うことが可能

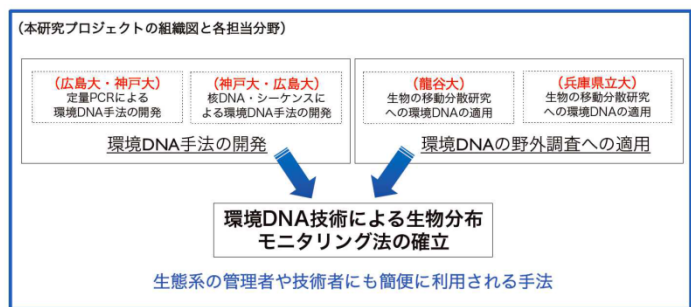


図 研究のイメージ

いての各種 PCR 用プライマーの開発に取り組んだ。また、飼育実験により、それらの PCR 用プライマーによる生物の在・不在の判別が可能かについて検討した。

#### (2) 核 DNA、シーケンスによる環境 DNA 手法の開発

核 DNA による環境 DNA 手法に適用可能なプライマーを開発した。琵琶湖淀川水系に生息する魚種のうち、コイ及びカワバタモロコについて、飼育水槽水に由来する DNA を増幅しその定量的把握を試みた。野外サンプルを用いた予備的検討も行った。

#### (3) 生物の移動分散研究への環境 DNA の適用

流水環境中での環境 DNA 分析による種の検出について、その感度を評価し、野外の流水環境での種の在・不在判定手法の基盤を確立した。また、来年度以降に向けて対象河川の水理情報の収集を行った。

#### (4) 外来種・希少種調査への環境 DNA の適用

ため池において、外来種・希少種をターゲットとした環境 DNA の測定とともに、水質データ、従来の方法（目視、投網）による生物の分布、生物量の定量、それぞれの手法間での分布推定の結果について比較した。

### 3. 環境政策への貢献

本研究では、ミトコンドリア DNA および核 DNA による定量 PCR と DNA シーケンスにより環境 DNA による生物分布や生物量の推定方法を開発した。これにより、外来種・在来希少種について、種特異的な定量 PCR システムを開発しておけば、同様にモニタリング調査が即座に可能となる。さらに、河川において環境 DNA を用いて遡上魚の分布範囲を推定する手法を開発した。この手法により、魚類の移動のために設置される魚道等の設備が有効に機能しているかを簡便に、長期にわたってモニタリングすることが可能である。

### 4. 委員の指摘及び提言概要

萌芽的な研究であるが、非常に革新的な方法で、その開発によって環境評価の可能性（コスト、労力の節約による）が広がることが期待される。特に、希少種、外来種等のモニタリング等に活用できる技術として極めて有望である。

### 5. 評点

総合評点： A