

## 第10章

微生物に注目して海の環境を調べよう！  
「環境DNAでさぐる海の環境調査」

## 1. 環境DNAとは

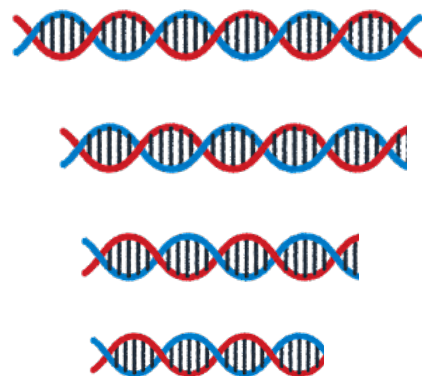
地球にすむすべての生物は、遺伝物質として DNA をもっています。DNAは、水中、土壌中、空気中など、あらゆる環境中に存在しています。この環境中にある生物由来のDNAのことを、

「環境DNA(eDNA: environmental DNA)」

と言います。

科学捜査でも、現場に残された髪の毛などの遺伝子から、DNA鑑定の技術を用いて、犯人の特定が行われています。環境DNAは環境中にあふれるほど存在していて、水や土を採取し分析することで、その環境に希少種がいるのか・いないのか、いるのであればどのくらいいるのかといったことがわかります。また、技術の進歩により、環境中にどのような生物がいるのかを網羅的に検出することもできるようになりました。

この10年ほどで、環境DNAの研究は急速に発展し、環境調査などさまざまな場面で活用されています。



DNAの構造：DNAは2本の長い鎖が結合した、らせん構造をとる。環境中には断片化したDNAがたくさんある。

## 2. 広義と狭義の環境DNA分析

環境DNA分析の歴史は実は古く、最初は「微生物」の分布を明らかにする目的で開発されました。

微生物は、目に見えないため、これまで単離培養するなど人工的に増やす手法で研究されてきましたが、特定のDNAを増やすPCR技術が開発されたことから、研究が大きく進展しました。どの微生物も独自のDNAをもっているため、微生物がすむ水や土などを採取して、そこに含まれる微生物のDNAを調べることで、環境中にどのような微生物が含まれているかがわかるようになりました。こうした微生物を対象とする広い意味での環境DNA分析を、「広義の環境DNA分析」と呼んでいます。

一方、この技術を応用して、生物が体外に排出したDNAを分析し、環境中の生物の分布を推定する研究が、最近注目を集めています。例えば、魚は排泄をしたり、粘液を出したり、鱗や皮膚が剥がれ落ちたり、死亡したりして、環境中にDNAを排出します。こうして排出され、水の中を漂っている環境DNAを分析することで、そこにすむ魚の種類や存在、個体数の推定が可能になってきました。これを、「狭義の環境DNA分析」と呼びます。



DNAのサンプルから特定の遺伝子を増やすPCRの機械

## 第10章

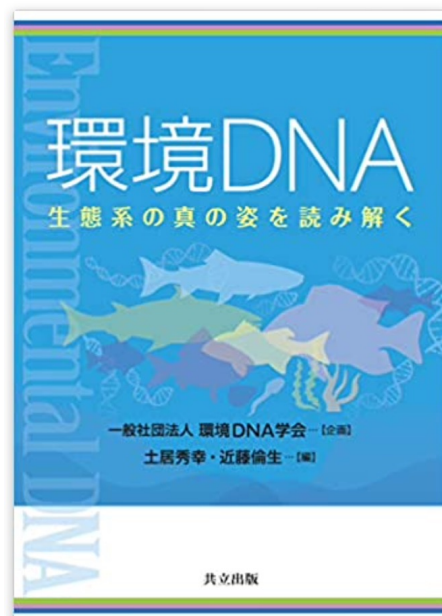
微生物に注目して海の環境を調べよう！  
「環境DNAでさぐる海の環境調査」

## 3. 環境DNA分析の手法 ①種特異的検出法

環境DNA分析の手法は、2つあります。1つ目が、特定の一種のみを対象にする「種特異的検出法」です。外来種や希少種がいるか・いないのか、いるのであればどのくらいいるのかを調べることができます。最初にこちらの手法が開発されました。

この手法を使った最初の研究が、フランスで行われた外来種のウシガエルの研究でした。日本でも広島で実施された外来種であるブルーギルの研究や、京都で実施された特別天然記念物であるオオサンショウオの研究などがあり、外来種や希少種の分布を示すことができる有用な手段であることが証明されました。

この手法を用いて、対象種の個体数まで推定できるようになってきました。京都の真鶴湾で行われたマアジの研究では、魚群探査機で推定したマアジの分布と、環境DNAの濃度が相関し、個体数の推定に成功しました。ただ、課題も多くまだ簡単に推定できるという段階ではないようですが、今後の研究の進展が期待できます。



環境DNA学会企画、土居秀幸、近藤倫生編「環境DNA：生態系の真の姿を読み解く」共立出版、2021.

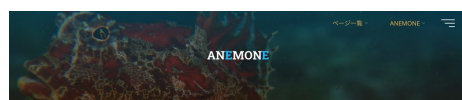
## 4. 環境DNA分析の手法 ②網羅的解析法

2つ目が、環境中にどのような生物がいるのかをまとめて検出する「網羅的解析法」です。この手法では、例えば魚類や哺乳類といったある程度まとまった生物をまとめて分析し、そこにすむ生物の種リストを作ることができます。次世代シーケンス技術の登場で、この方法は飛躍的に発展しました。

この手法で最も注目される研究は、千葉県立中央博物館の宮正樹氏の魚類の研究です。宮博士は網羅的に魚のDNAを調べるプライマーを開発し、MiFish（マイフィッシュ）と名付けました。沖縄の美ら海水族館でMiFishの性能を評価した結果、水槽で飼育された180種の魚類のうち168種、約93%のDNA検出に成功しました。これは、海外の研究よりもはるかに精度が高く、世界のスタンダードになりつつあるそうです。これに関連した全国一斉採水調査や市民調査も行われ、得られた結果がデータベース「ANEMONE DB」に公開されています。

最近では、魚類以外にも、哺乳類や陸上動物の分析、感染症への応用の研究も進められています。

この2つの分析手法は、それぞれ調べることができる内容が異なるため、調査の目的に合わせて選択する必要があります。



[ANEMONEについて](#)

[ANEMONEコンソーシアムについて](#)

[ご寄付をお願い](#)

環境DNAの調査結果が公開されているANEMONE（生物多様性観測のネットワーク）ホームページ  
引用：ANEMONE HP  
<https://anemone.bio>

## 第10章

# 微生物に注目して海の環境を調べよう！ 「環境DNAでさぐる海の環境調査」

## 5. 2022年天草環境DNA調査

2022年、産業技術総合研究所地質調査総合センター「環境調和型産業技術研究ラボ（E-Code）」の井口亮氏、水山克氏のお声かけで、天草海部が産総研の環境DNA調査に協力することとなりました。

2022年11月29日から30日にかけて、天草内の7地点（右図参照）で採水を行いました。

各地点における採水は、環境DNA調査に関するマニュアル（Minamoto et al. 2021）を参考に実施しました。

採水ろ過の実施の流れは「第10章環境DNAでさぐる海の環境調査プログラム編」を参照ください。



熊本県天草地方での環境DNA解析用の採水サンプリング地点

引用：産業技術総合研究所地質調査総合センター報告書

表：熊本県天草地方での環境DNA解析用の採水地点の詳細

| 地点ラベル | 地点名   | 採取年  | 採取月 | 採取日 | 緯度          | 経度          |
|-------|-------|------|-----|-----|-------------|-------------|
| Am01  | 牛深町春這 | 2022 | 11  | 29  | 32.18013026 | 130.0211399 |
| Am02  | 二浦町早浦 | 2022 | 11  | 29  | 32.28789225 | 130.0513717 |
| Am03  | 志柿町   | 2022 | 11  | 29  | 32.45930001 | 130.2229633 |
| Am04  | 大浦漁港  | 2022 | 11  | 29  | 32.5275215  | 130.3627618 |
| Am05  | 四季咲岬  | 2022 | 11  | 30  | 32.53075512 | 130.0143025 |
| Am06  | 通詞島   | 2022 | 11  | 30  | 32.55225884 | 130.1243136 |
| Am07  | 下田大橋  | 2022 | 11  | 30  | 32.42255166 | 130.0046795 |

引用：産業技術総合研究所地質調査総合センター報告書

## 6. 2022年天草環境DNA調査の目的

この調査では、野外においてその組成がほとんど明らかになっていない、**微生物叢**（びせいぶつそう：細菌・古細菌や真菌、微小な真核生物などの集団のこと、マイクロバイームともいう）に着目しています。微生物は環境の変化に最も敏感に反応すると予想されるため、場所による環境の違いが見やすいことから、「**環境を知るための代替品**」になると考えられます。

今後、同じ環境DNA試料から魚類など他の動物についても分析することで、「どのような微生物がいる場所に、どのような動物が検出されるか」を検討することもできます。

細菌類はどこでもいるため、他地域と比較しやすいというメリットもあります。産業技術総合研究所では、沖縄県を中心に他地域でも環境DNA調査を行なっているため、他地域と比較することで、天草の海の特徴を明らかにすることも期待できます。

## 第10章

# 微生物に注目して海の環境を調べよう！ 「環境DNAでさぐる海の環境調査」

## 7. 2022年天草環境DNA解析の結果①

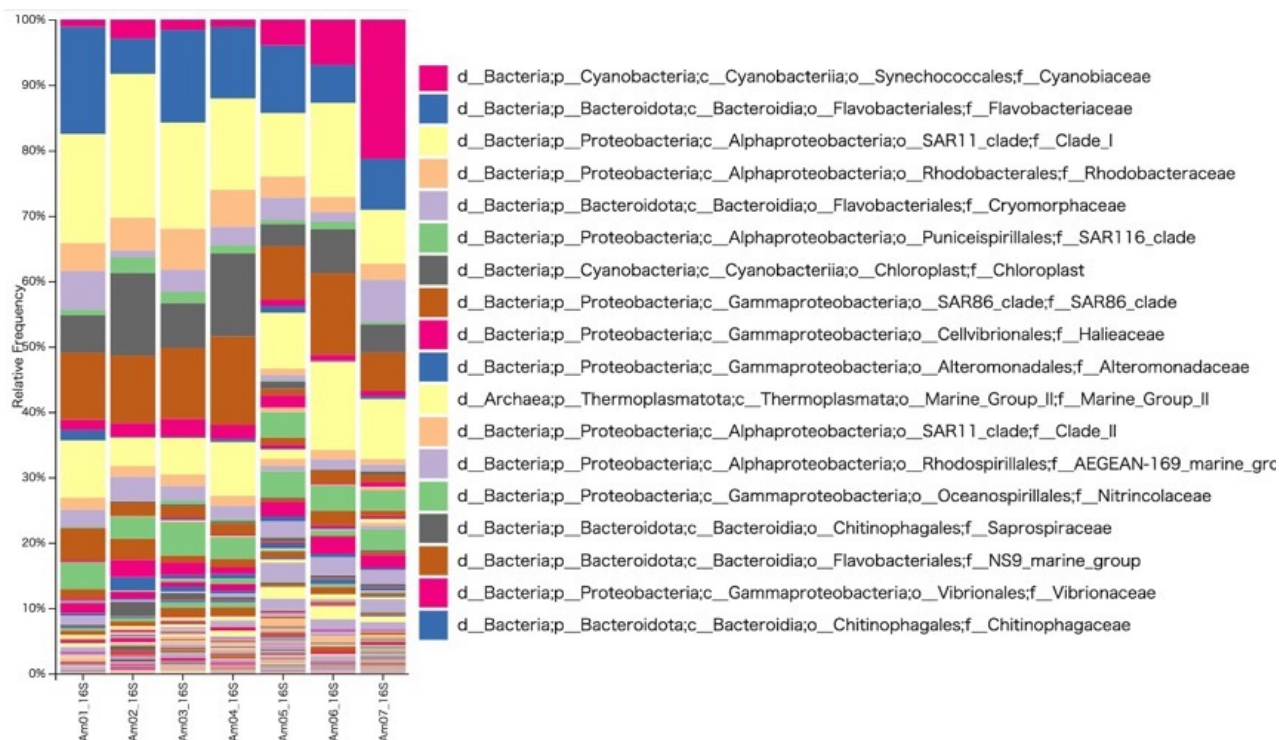
天草での11月の採水で得られたサンプル（ステリベクスフィルター）は、産業技術総合研究所の実験室に送られて、②の網羅的解析法を用いて分析が行われました。

まずサンプルからDNAを抽出し、ここからPCRの機械を使って目的とする微生物の特定の遺伝子を増やします。そして、次世代シーケンサーMiSeq（Illumina社）を用いて分析することで、結果が得られます。

環境DNAの分析結果は、データ処理の過程に応じていくつかのファイルが出力されます。分析結果のうち「一致率が高い生物種リスト」が出てくるので、これを元にして、既存の文献などから情報を精査して、偽陽性の疑いのあるものは除去し、最終的な結果（種リスト）を作成します。この情報の精査には、極めて高い専門性が必要とされます。

こうした分析の結果、得られたのが以下の図です。横軸が採水した場所（Am01～07）を、縦軸は各微生物種の割合が示されています。右に書かれているのは微生物の種類で、全部で381種類の微生物が検出されましたが、出現が多かった上位18種類のみ示されています。

これを見ると、Am07の組成が他の地点と大きく異なっていることがわかります。



各地点の微生物叢組成。縦軸は各微生物種の割合、横軸は各地点を示す。右のレジェンドは上位18 OTUのみを示している。

データ提供：産業技術総合研究所地質調査総合センター

## 第10章

# 微生物に注目して海の環境を調べよう！ 「環境DNAでさぐる海の環境調査」

## 8. 2022年天草環境DNA解析の結果②

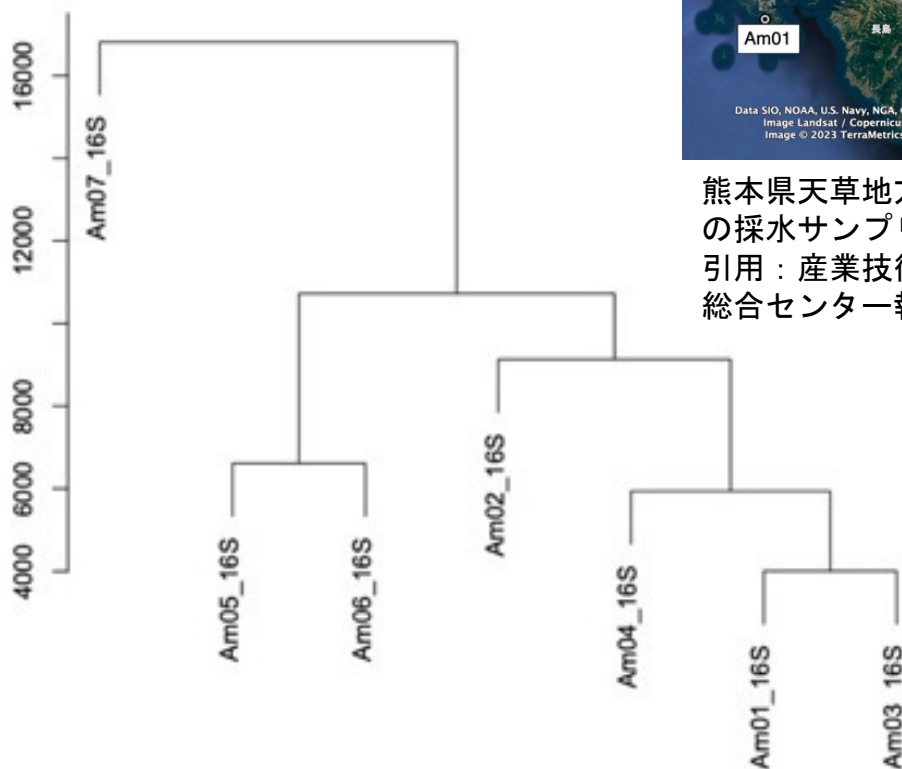
調査した7地点の地点間の違いを評価するために、クラスター解析を行った結果を以下に示しました。クラスター解析とは、個々のデータから似ているデータ同士をグルーピングする分析です。

これを見ると、Am07が他と顕著に異なることが、再度確認されました。  
また、Am05とAm06が他とは異なる同じクラスターを形成することも確認されました。

Am07が他の地点と明確に異なる理由の一つとしては、採水場所のすぐ側が河川であったため、その影響を受けて、他の地点と大きく異なった可能性が考えられます。また、Am05とAm06は、北西側の比較的外洋に面した場所に位置しているが共通しています。



熊本県天草地方での環境DNA解析用の採水サンプリング地点  
引用：産業技術総合研究所地質調査総合センター報告書



微生物叢の違いをユークリッド距離で算出して作成したデンドログラム。  
データ提供：産業技術総合研究所地質調査総合センター

## 第10章

微生物に注目して海の環境を調べよう！  
「環境DNAでさぐる海の環境調査」

## 9. 今後の展望

今回は、微生物叢のみの予備的解析の結果が示されましたが、魚類など環境DNA解析がよく行われている他の生物種のプライマーを用いれば、各地点の生物群集の概要も把握することができます。

さらに、今回の微生物叢データから、各地点の酵素組成推定も可能であり、海の健全度を測る指標としても活用できる可能性があるそうです。このように、微生物から魚まで総合的に分析できる研究機関は少なく、今後の研究の進展が期待できます。

生物多様性を明らかにする調査は、これまで生物を採取するか、または目視で確認する調査が一般的でした。しかし、この環境DNA分析技術の発展により、現地調査の方法に選択肢が増え、今までになかった新たな知見を得ることができるようになりました。

環境DNA分析は新しい技術でもあり、今後も飛躍的に技術が進歩することが予想されます。こうした最先端の技術を活用して、天草の海の生物多様性保全を進めていけたらと願っています。



2022年天草調査で環境DNA用のサンプルを採集しているところ

## ●参考文献

源利文「環境DNA入門 ただよう遺伝子は何を語るか(岩波科学ライブラリー315)」岩波書店, 2022.

環境DNA学会企画, 土居秀幸, 近藤倫生編「環境DNA : 生態系の真の姿を読み解く」共立出版, 2021.

国立研究開発法人産業技術総合研究所「令和4年度沿岸域周辺の生物相に関する基礎研究-環境DNA解析による研究事例-実施報告書」, 2023.

環境省自然環境局生物多様性センター「環境 DNA 分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き—二次的自然環境においてはじめて環境 DNA 分析を利用するみなさまへ改訂第2版—」, 2022.

天草・海の冒険サポーターズテキスト

第10章「環境DNAでさぐる海の環境調査」資料集編

■発行：天草海部 ■企画・制作：浪崎直子・正角雅代・野間英樹 ■執筆：浪崎直子

■協力：産業技術総合研究所地質調査総合センター「環境調和型産業技術研究ラボ（E-Code）」  
水山克・濱本耕平・井口亮・西島美由紀

※本テキストは、2022年度地球環境基金の助成を受けて作成しました。

※本テキストではオリジナルを改変しての利用、有償配布、素材流用を禁止します。