



平成27年7月22日

科学技術振興機構(JST)
千葉県立中央博物館
神戸大学
東京大学

水をくんで調べれば、生息する魚の種類が分かる新技術を開発 ～魚類多様性の調査にもビッグデータ解析時代の到来～

ポイント

- 海や川などに生息する魚の種類を調べるには大きな労力と費用がかかっていた。
- 環境DNAから魚種を判定できる技術を開発し、その性能を水族館で検証した。
- 将来、魚を捕獲せずに魚類多様性のモニタリングが可能になる。

JST 戦略的創造研究推進事業(CREST)の一環として、千葉県立中央博物館の宮 正樹 主席研究員、東北大学、東京大学、沖縄美ら島財団、神戸大学、龍谷大学、北海道大学からなる研究グループは、魚から体表の粘液や糞などとともに水中に放出されたDNA(環境DNA)を分析することによって、DNAを放出した魚の種類を判定する技術を開発しました。

海や川や湖沼に生息する魚の種類を調べるには、水中に潜って魚を観察したり、網などの漁具を使って魚を捕るなど、多大な労力と費用がかかる上に長期間にわたる調査が必要でした。さらに、日本に生息が確認されている魚だけでも4,000種以上いるため、目視や標本の観察により魚の種類を決めるためには、高度な専門的知識と経験が必要でした。近年、魚を含む生物の体表の粘液や糞などとともに放出されたDNAが水中をただよっていることが明らかになり、「環境DNA」と呼ばれて注目を集めています。現在、DNAは「商品のバーコード」のように簡単に読み取ることができ、しかも読み取った情報(DNAの塩基配列^{注1)})から魚の種類が分かります。今回の研究では、微量な環境DNAから魚の種類が分かる部分を選択的に増幅し、それを最新の機器で分析してDNAの塩基配列を読み取り、DNAを放出した魚の種類を判定する技術を開発しました。この技術を使えば、魚に関する専門的な知識がなくても、水をくんでDNAを分析するだけで、生息する魚の種類をわずか数日間の実験と解析で推定できます。従来の手法(目視や漁獲)では実現できなかった魚類多様性のモニタリングを、大きな労力と時間をかけずに長期間かつ広範囲に行うことを可能にした画期的な手法となることが期待されます。

本研究成果は7月22日(英国時間)に英国科学雑誌「Royal Society Open Science」で公開されます。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

戦略的創造研究推進事業 チーム型研究(CREST)

研究領域：「海洋生物多様性および生態系の保全・再生に資する基盤技術の創出」

(研究総括：小池 勲夫 東京大学 名誉教授)

研究課題名：「環境DNA分析に基づく魚類群集の定量モニタリングと生態系評価手法の開発」

研究代表者：近藤 倫生(龍谷大学 理工学部 教授)

研究期間：平成25年10月～平成30年3月

JSTはこの領域で、海洋の生物多様性および生態系を把握するための先進的な計測技術と将来予測に資するモデルの研究開発を行い、これらを保全・再生するために必要な基盤技術を開発することを目的とします。本研究は、この目的を達成するために、環境DNAを利用した魚類多様性モニタリング手法の開発を目指します。

<研究の背景と経緯>

生物多様性の保全や持続可能な生物資源の利用に関する施策を推進することを目的として2008年に「生物多様性基本法」が制定され、その成立を受けて2010年に「生物多様性国家戦略2010」が閣議決定されました。この施策を推進するための基盤となる技術の1つが生物多様性のモニタリングです。ところが、海や川や湖沼で魚の多様性をモニタリングしようすると、水中に潜って観察したり網などの漁具を使って捕るなど、大きな労力と費用に加えて長期間にわたる調査が必要でした。さらに、日本に生息が確認されている魚だけでも4,000種以上いるため、目視や標本の観察により魚の種類を決めるためには、高度に専門的な知識と経験が必要でした。

一方、魚を含む生物の体表の粘液や糞などとともに放出されるDNAが水中をただよっていることが最近になって明らかになり、「環境DNA」と呼ばれて大きな注目を集めています。DNAの塩基配列には生きものの種類が分かる情報が含まれており、その情報を読み取ることによりさまざまな応用が可能になるからです。実際、環境DNAは外来魚であるブルーギルのすむ溜め池の検出、河川に生息するコイの生物量の測定、さらには特別天然記念物であるオオサンショウウオの生息地の検出などに使われ、日本でも注目すべき成果が上がっています。

環境DNAには特定の魚のDNAだけでなく、多様な生物のDNAが含まれています。これらを同時並行的に分析する技術を開発すれば、今まで労力や時間や費用の点から困難だった魚類多様性のモニタリングが可能になります。環境中のDNAをまとめて分析して生物の種類を判定する技術は「メタバーコーディング」と呼ばれており、[次世代シーケンサー^{注2\)}](#)という最新の分析機器を使ったシステムが、主に微生物を対象にして確立されてきました。この技術を魚の環境DNAに応用する上での問題は、魚の種を特定できるDNAを環境水から選択的に取り出す技術を確立することでした。本研究は、世界に先駆けて「魚類メタバーコーディング」の技術を開発し、沖縄美ら島から海水族館の4つの水槽の水を使ってその性能を検証しました。

<研究の内容>

魚類のメタバーコーディングを成功させるためには、①どんな魚にも共通する2つの保存的な領域をDNAの塩基配列から探し出さなければなりません。同時に、②その領域に挟まれるDNAの塩基配列は魚の種類が識別可能な十分な「違い」を持っていなければなりません。さらに、③環境DNAは劣化が進んでいることが多く、②の領域の長さは短い方が望ましいと考えられています。

本研究では、これら3つの条件を満たす領域を、魚類880種から得られた**ミトコンドリアゲノム**^{注3)} 全長配列を比較することにより探し出しました。上記①の保存的領域に結合する一対の**プライマー**^{注4)} (短い一本鎖DNA)を設計すれば、プライマーがあらゆる魚のメタバーコーディング領域に結合します。そして、そこを起点に**ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)**^{注5)}でDNAを増幅すれば、2つのプライマーとそれらに挟まれる②の可変領域が必要量得られます。さらに、プライマーにさまざまなアダプターと呼ばれる配列をつけることにより、次世代シーケンサーで大量のサンプルを超並列分析できるようにしました。

最初に、世界の**魚類30,000種の多様性を代表する96種**^{注6)}を選び、その組織から抽出したDNAを用いてこれらプライマーの性能を検証しました。その結果、いずれの種からも良好なPCR産物が増幅されました。次に、沖縄美ら海水族館の4つの水槽水(2~10リットル)から抽出したDNAを増幅して次世代シーケンサーで分析しました。その結果、4つの水槽に飼育されている魚類の9割を越す168種の検出(93.3%)に成功しました(比較参照のためのDNAの塩基配列がないものは除く)。また、隣接するサンゴ礁域からとった天然海水からも亜熱帯性魚類93種を検出しました。両者を合わせると、重複するものを除いてサンゴ礁から深海にかけてのさまざまな環境に生息する魚類計232種(70科152属)を検出できたこととなります^{図1)}。

<今後の展開>

今回開発した手法は、水をペットボトル1杯程度の数リットルをくんでろ過すれば、後はDNAを抽出して分析するだけの非常に簡単なものです。現在、リファレンスとなるDNAデータ(比較参照のためのDNAの塩基配列)は5,000種近くを網羅していますが、魚類は世界で30,000種以上います。このリファレンスデータがさらに充実すれば、魚類に関する専門的知識がなくても世界中の海や川で魚類相の調査を行うことができます。従来の手法(目視や漁獲)では、労力や時間や費用の点で実現できなかった魚類多様性のモニタリングが「いつでも」「どこでも」容易にできるようになったという点で画期的です。

今回開発した技術では、1回の分析で1,000サンプル以上(1,000箇所以上の水)のデータを得ることが可能です。将来的には、特定地域の魚類相をさまざまな時間スケール(たとえば毎時・毎日・毎週)でモニタリングしたり、さまざまな空間スケールの魚類相(たとえば日本全国・全世界)を同時多地点でモニタリングするなど、これまでの手法では考えられなかった規模でのモニタリングが可能になります。生物多様性モニタリングにビッグデータの時代が来たと言っても過言ではありません。

さらに、深海や未踏の地など魚類相が明らかになっていない水域で調査を行えば、未知の魚の検出が可能に、あるいは、既知の魚でも未知の生息地を発見することが可能になります。今後の幅広い応用範囲に注目すべき手法です。

<参考図>



図1

沖縄美ら海水族館の黒潮水槽、熱帯魚水槽、深層水槽、マングローブ水槽で検出された種数と飼育された魚でリファレンスとなるDNAの塩基配列を持つ種の比。括弧内の数字はそのパーセンテージ。



参考写真 沖縄美(ちゅ)ら海水族館の黒潮水槽の全景図

成長すると全長10mを越すジンベエザメ3尾が泳ぎ、幅35m・奥行き27m・深さ10mで7,500m³の容積を持つ巨大水槽。

<用語解説>

注1) DNAの塩基配列

DNAはデオキシリボ核酸の略で遺伝子の本体となる物質。4種類の塩基(アデニン・シトシン・グアニン・チミン)が鎖のように連なり遺伝情報を蓄積する。その連なりを塩基配列と呼ぶ。

注2) 次世代シーケンサー

数十万から数千万本のDNAの塩基配列を同時に短時間で決定できる最新の分析機器の総称。従来のサンガー法と比べて数千から数万倍の分析能力を持つ。次世代シーケンサーを使うことでヒトゲノムがわずか千ドルで分析できるようになった。

注3) ミトコンドリアゲノム

ミトコンドリアは細胞内小器官といって、呼吸からエネルギーを取り出す際に重要な役割を果たす器官。核とは別の独自のゲノム(遺伝子の総体)を持つことが知られており、コピー数が多いなど実験上扱いやすいために、生物多様性研究のさまざまな分野に用いられる。全長がわずか16, 500塩基対ほどの環状ゲノム。ヒトの場合、核ゲノムは30億塩基対もある。

注4) プライマー

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)で用いられる一本鎖DNAのこと。PCRで増幅したいDNA(テンプレート)の両脇に設計され、それらがテンプレートと結合することにより、そこを起点とした合成反応が始まる。

注5) ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)

微量のDNA断片を増幅する技術の1つ。①二本鎖DNAの変性(94℃)、②一本鎖DNAへのプライマーの結合(50～65℃)、③テンプレートDNAの合成(72℃)の3つのステップを25～35回繰り返すことで、微量のDNA断片を増幅する。増幅にあたっては①のDNAの変性のステップでも失活しない耐熱性酵素を用いる。

注6) 魚類30, 000種の多様性を代表する96種

魚類の代表的なグループである無顎類(むがくるい: ヤツメウナギ・ヌタウナギの仲間で約100種)、軟骨魚類(ギンザメ・サメ・エイの仲間で約1, 000種)、条鰭類(じょうきりい: コイ、クロマダ、マダイなどの魚類の大半を占めるグループで約30, 000種)、肉鰭類(にくきりい: シーラカンスやハイギョの仲間で約10種)全てを含む96種類。

<論文タイトル>

“MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species”

(魚類環境DNAメタバーコーディング用ユニバーサルプライマーMiFish: 亜熱帯産魚類を230種以上検出)

doi : [10.1098/rsos.150088](https://doi.org/10.1098/rsos.150088)

<お問い合わせ先>

<研究に関すること>

宮 正樹(ミヤ マサキ)

千葉県立中央博物館 主席研究員／動物学研究科長

〒260-8682 千葉県千葉市中央区青葉町955-2

Tel: 043-265-3274 Fax: 043-266-2481

E-mail: miya@chiba-muse.or.jp

源 利文(ミナモト シフミ)

神戸大学 大学院人間発達環境学研究科 特命助教

〒657-8501 兵庫県神戸市灘区鶴甲3-11

Tel/Fax: 078-803-7743

E-mail: minamoto@people.kobe-u.ac.jp

岩崎 渉(イワサキ ワタル)

東京大学 大学院理学系研究科 准教授

〒113-0032 東京都文京区弥生2-11-16

Tel: 03-5841-3047 Fax: 03-5841-4691

E-mail: iwasaki@bs.s.u-tokyo.ac.jp

荒木 仁志(アラキ ヒトシ)

北海道大学 大学院農学研究院 教授

〒060-8589 北海道札幌市北区北9条西9丁目

Tel/Fax: 011-706-3893

E-mail: arakih@res.agr.hokudai.ac.jp

<JST事業に関すること>

川口 哲(カワグチ テツ)

科学技術振興機構 戦略研究推進部

〒102-0076 東京都千代田区五番町7 K's五番町

Tel: 03-3512-3524 Fax: 03-3222-2066

E-mail: crest@jst.go.jp

<報道担当>

科学技術振興機構 広報課

〒102-8666 東京都千代田区四番町5番地3
Tel:03-5214-8404 Fax:03-5214-8432
E-mail: jstko ho@jst.go.jp

千葉県立中央博物館 企画調整課
〒260-8682 千葉県千葉市中央区青葉町955-2
Tel:043-265-3494 Fax:043-266-2481
E-mail: kouhou_cbm@chiba-muse.or.jp

神戸大学 総務部 広報課
〒657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1
Tel:078-803-5083 Fax:078-803-5088
E-mail: ppr-kouhoushitsu@office.kobe-u.ac.jp

東京大学 理学部 広報室
〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
Tel:03-5841-8856
E-mail: kouhou@adm.s.u-tokyo.ac.jp

<水族館映像資料に関すること>

上間 智恵(ウエマ チエ)、又吉 健太郎(マタヨシ ケンタロウ)
一般財団法人 沖縄美ら島財団 経営企画部 経営企画課 広報IT係
〒905-0206 沖縄県国頭郡本部町字石川888番地
Tel:0980-48-3649 Fax:0980-48-2200
E-mail: oki-pr@okichura.jp

["Development of a Biomonitoring Tool for Fishes using Environmental DNA
- A Novel High-Throughput Multispecies Identification System -"](#)

■ [前に戻る](#) ■

This page updated on July 23, 2015
Copyright©2015 [Japan Science and Technology Agency](#).
www-admin@tokyo.jst.go.jp