



# 環境 DNA の定量分析 魚の群れを DNA で探す



国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構  
山本 哲史

### はじめに：生き物の名札としての DNA

琥珀に閉じ込められた蚊の体内から DNA を取り出して、恐竜を復活させる。有名な恐竜映画「ジュラシックパーク」で、生きた恐竜を復元した方法である。映画ではヴェロキラプトルやティラノサウルス、ガリミムス、ディプロドクスなど数多くの恐竜や翼竜（そして後にはモササウルス類まで）が復元され、イスラエブラル島に建設されたテーマパークで暮らすこととなる。私の大好きな映画の一つだ。

DNA の情報をもとに恐竜を復活させることができるのは、「DNA は生命の設計図」だからだ。受精卵が細胞分裂を繰り返し生物としての形を成していく過程で、DNA の塩基配列情報を基にして、それぞれの生物種の独自の形や性質が作り上げられていく。ヒトがヒトらしく、あるいは鶏が鶏らしく成長するのは、ヒトと鶏の DNA には異なる情報が含まれているからである。つまり、DNA の塩基配列が異なるのである。

それぞれの生物種ごとに DNA の塩基配列は異なるので、DNA は生物の「名札のようなもの」と見ることができる。生物学者はこれを、スーパーの商品に一つ一つ付いているバーコードに見立てて、DNA バーコードと呼んでいる。DNA に含まれる情報量は膨大だが、そのうち短い一部分だけでも生物を区別するバーコードとして利用することができる。生物を形態ではなく、DNA バーコードを用いて特定することには利点と欠点がある。欠点は、DNA を分析するための装置や薬品が必要となる点である。形態を研究するのに比べてコストがかかる場合があるのだ。一方、形態を研究するにはそれぞれの生物がどのような形態を持っているかを熟知しておく必要があり、非常に専門的な知識が要求される。DNA 分析は少しコストがかかるという難点はあるが、誰にでも簡単に分析できる

ことが大きな利点である。さらに、生物の体の一部さえあれば DNA を取り出して分析し、生物種を判定できる可能性がある。元の姿とは全く違う状態になった生物、例えば食品として加工されてしまったものなどでも DNA を取り出して生物を判定することもできる。これらの利点を活かして、DNA 分析による生物種の判定は現在では様々な場面で用いられている。

### 環境 DNA を使った生物調査

DNA バーコード解析の利点を最大限に活用した生物調査法がある。その名も環境 DNA 分析。環境 DNA は英語で environmental DNA なので eDNA 分析と言ったりもする。環境という言葉には「生物の周囲を取り巻くもの」という意味がある。つまり海の水や地面の土、あるいは私達をとりまく空気のような、生物そのものではない物に含まれる DNA が環境 DNA である。

先ほど、生物の元の姿をとどめていない場合でも DNA 分析ができるということを紹介したが、環境 DNA もそれに含めることができる。例えば、魚は排泄や代謝を通して、自分の体の一部（小さな皮膚などのかけらや細胞）を水中に放出している。元の姿をとどめていないどころか、目にも見えない微小なものだ。しかし、水を汲んで濾過すれば、魚達が放出したその微小なものを集めることができる。そしてそこに含まれる DNA を分析すれば、そこにどのような魚が住んでいるかがわかるのだ。

水中だけでなく、空気中には鳥やヒト、その他の哺乳類の環境 DNA が漂っており、地面の土にはミミズや徘徊性の昆虫の DNA が含まれる。雪原についた足跡にも DNA が残っていて、足跡を残した生き物を特定できる。そこに着目したのが環境 DNA を用いた生

物調査である。生物自体を捕獲する必要がないどころか、探す必要もない。魚の姿を探さなくても、水を汲んで調べることで魚が居ることがわかるし、その種類を判断することもできるのである。

### 環境 DNA の定量

広域での調査や希少生物の調査に環境 DNA 分析は大いに役立つことがわかっているが、研究者たちはそのポテンシャルを広げるために、更に研究開発を進めている。その一つが環境 DNA の量を測定することで生物の数や量を推定するという試みである。

DNA 分子の数を数える技術は既にある、例えば定量 PCR 法である。生物の授業のおさらいとなるが、PCR は DNA ポリメラーゼとプライマーを使って DNA を増幅する技術である。PCR 反応の過程で、DNA は指数関数的に増加する。最初に 1 本しかなかった DNA 分子は次の段階で 2 本に増え、その次には 4 本、そして 8 本と倍々に増えていく。最初の分子が 1 本だった場合、PCR 反応では 5 回の増幅過程を経ると原理的には 32 本に増える。これが、最初に 5 本の DNA 分子があった場合、5 回の増幅過程で 160 本の DNA 分子となる。初期の DNA 量によって、検出できる閾値に達するまでの時間が異なるのである。この原理を使えば、2 つの試料で DNA 分子の量（数）の大小関係を調べることができる。さらに、すでに DNA 分子の数がわかっている試料と比較分析することで、DNA の数を計測できる。そして、この PCR 反応の際に、ターゲットとなる生物種の DNA バーコードにだけ反応するプライマーを使えば、知りたい生物の DNA だけを数えることができるのだ。これが定量 PCR である。

では、定量 PCR を使って環境 DNA の量を測定できたとして、本当に環境 DNA の量は生物の量を反映するだろうか？ ある実験では、複数の水槽に異なる数のマアジを飼育して、マアジの数とマアジの環境 DNA の量との相関を調べた。マアジはスーパーで売っていて、日本の食卓によく上がるあの美味しい海水魚である（写真 1）。水槽は学校の机が入ってしまうくらいの大きなもので、数匹程度のマアジはあまり窮屈せずに泳ぎ回ることができる。近くの家から海水をポンプで汲み上げて常時かけ流して飼育することで、飼育水が水槽内で滞留しないような工夫のもとに実施



写真 1 舞鶴湾近くで撮影されたマアジの群れ

されたこの実験では、マアジの量が多いほどマアジの環境 DNA 量が多くなるという関係が見いだされている。やはり、環境 DNA の量は生物の量を反映するのだ。このような関係はマアジだけでなく、コイなどの他の魚類や両生類、貝類など、幅広い生物のグループでも確認されている。

### 本物の海でマアジの環境 DNA を測る

環境 DNA の量は生物の量を反映する。水槽実験は、明確にそれを示している。では、本物の河や海でも同じだろうか？ それは実際に検証してみないとわからない。本物の河や海には、水槽実験よりも複雑な水の動きがあり、住んでいる魚たちも均一ではない。水槽実験では、若く、元気なマアジを選び出して活躍してもらった。しかし、本物の海には年老いた個体もいれば病気の個体もいるだろう。もし傷を負ったマアジがいれば、排泄や代謝の作用以上に多くの環境 DNA を出しているかもしれない。水槽実験でみられた傾向が、本物の海でもみられるとは限らないのである。

私達はそれを舞鶴の海で検証することにした。京都府も海に面した場所がある。その中心が舞鶴だ。戦後、戦地から日本に帰国する者を多く受け入れた港町である。現在では戦後の雰囲気は薄れ、舞鶴湾は引揚者ではなく多くのマアジを受け入れている。東シナ海あたりで生まれたマアジは毎年舞鶴まで回遊してくるのだ。このマアジをターゲットに、本物の海でも環境 DNA の量が生物の量を反映するかを確かめることにした。

舞鶴湾に面した一角に京都大学の舞鶴水産実験所があり、そこに緑洋丸という調査船がある。緑洋丸に

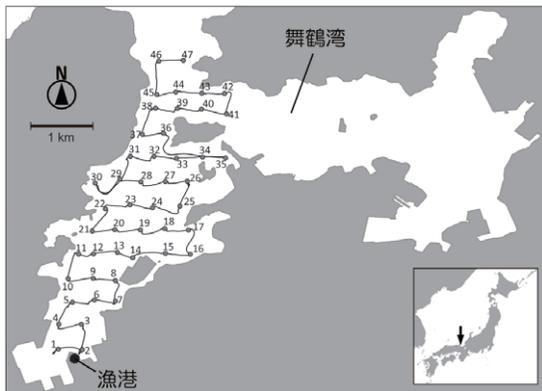


図1 舞鶴湾西湾での採水地点。採水地点を結ぶ線は調査船が進んだ航跡。



写真2 船上から表層水を汲んでいる様子

乗って、西湾の中に約50地点を取り、それぞれの地点で海面付近と海底付近の2つの水深から水を集めて濾過した(図1, 写真2)。同時に、船の移動中は常に計量魚群探知機で海中の魚の量データとっていく(図2)。文字にすると簡単そうに感じるが、到底一人ではできない。この調査は6つの研究機関から多くの人々が参加してくれたことで実現したものだ。船を操作する人、船の設備を操作する人、陸でサンプルの引き上げを手伝ってくれる人、必ずしも研究者ではない人たちも含めて多くの人に手伝ってもらった。普段私は一人か少数で研究している方が多いが、チームを作ればとてつもなく大きな研究ができるのだと実感したのを覚えている。

果たして、環境DNAは計量魚群探知機のデータと相関する結果となった(次頁図3, 図4)。そう、水槽実験でみられたのと同じように、マアジの量が多い地点ほどマアジの環境DNA量が多かったのだ。いやあ、めでたし、めでたし。・・・と、言いたいところだが、



図2 計量魚群探知機が探知した魚群のシグナル強度

本物の海での研究は、幾つかの問題点も明らかにした。顕著なものは、舞鶴湾西湾の一番奥にある水揚げ漁港であった。舞鶴湾には伊佐津川という川が流れ込む。その伊佐津川河口のすぐそばに若狭の海で獲れた魚介類が水揚げされる漁港があり(図1)、そこにはマアジも水揚げされる。環境DNAのデータを解析してはじめて、水揚げされたマアジから大量の環境DNAが舞鶴湾に流入し、それが伊佐津川の流れの勢いに乗って湾内に広がっていることがわかってきた。やはり、本物の海は一筋縄ではいかなかったのだ。ただし、データ解析の過程で、漁港の影響を除去しながら計量魚群探知機との相関を調べることができた(図4)。舞鶴湾では水揚げ漁港はこの1箇所のみ、そしてその影響は伊佐津川の影響で一方向のみに拡散していくため、この研究では比較的単純な工夫でこの影響を除くことができたのである。この研究では、漁港の影響を考慮した上で、本物の海でも実際のマアジの量(計量魚群探知機のデータ)と環境DNAの量が相関することを示すことができたのである。

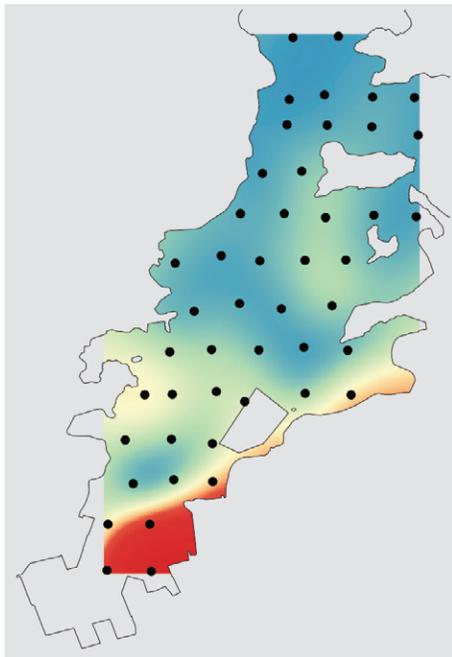


図3 マアジ環境 DNA 濃度の分布図。赤い場所は非常に環境 DNA が濃く、黄、緑、青の順に濃度が薄い。

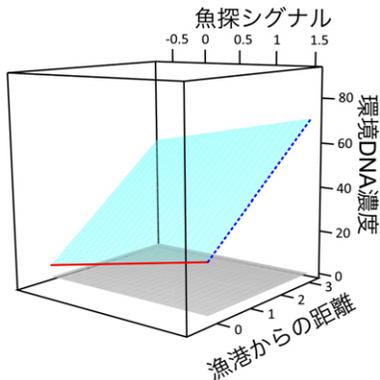


図4 マアジ環境 DNA 濃度、計量魚群探知機のシグナル、漁港からの距離の関係。赤い線は環境 DNA と魚群探知機の相関を示し、青い点線は環境 DNA と漁港からの距離の相関を示す。

### さいごに：社会に役立つ研究をするには…

水を汲んで計測すれば、そこに居る生き物の量がわかりそうだ。これが、舞鶴湾のマアジを対象とした環境 DNA 研究から言える結論である。しかし、漁港の影響など本物の海には考慮しなければ問題もことから、環境 DNA を魚群の観測に使うにはさらに手法の改善が必要だろう。学術的にはとても興味深い結果であるが、そのまま社会に役立つわけではないのである。社会に役立つ研究をしたいと思っても、なかなか難しいのが実際なのだ。一朝一夕にはいかないのが研究である。

実は、舞鶴湾の研究ではマアジの DNA のうちかなり短い塩基配列を検出している。本来、生物のもつ DNA はとても長い。染色体レベルの DNA は1億塩基以上の長さになることもある。そういった長い DNA でも、生物から放出された後、紫外線や水質の影響を受けて時間とともに短い断片となっていくと想定できるので、舞鶴湾の研究では約120塩基の短い DNA を検出するようにしたのだ。逆に、より長い DNA を検出するようにすれば、放出後まもないマアジの DNA を検出できるかもしれない。実際に、その後まったく同じ舞鶴湾の環境 DNA サンプルで約700塩基の長い DNA をターゲットにしたところ、漁港の影響をほぼ受けないデータを得ることができた。つまり長い DNA をターゲットとすることで、生きているマアジから出された新鮮な DNA を検出でき、漁港から出る古くて劣化した環境 DNA は検出しづらいことがわかったのである。社会で役立つためには、こういった改良、改変を少しずつ繰り返していく必要がある。環境 DNA の定量は、今後も少しずつ改良され、近い将来には実際の社会で活用される技術になるだろう。

舞鶴湾での研究で印象に残ったのは、到底できないと思っていた調査研究がチームワークによって実現したことだ。得意分野が異なる人達がチームを組み、議論し、得意分野でデータを取り、それらを統合する。舞鶴湾での調査研究はまさにそのようなチームワークがあってこそ実現できた。自分の得意分野を伸ばしつつ、他の人のアイデアに耳を傾けて協力できる能力も身につけておく。そのような努力が実を結んだということが、一番嬉しいことだった。