

環境 DNA 技術の現状と今後の展望(座談会)

開催日 : 2019年5月13日(月)

時間 : 15時30分~17時

場所 : 当協会1号館地下会議室

参加者 :

神戸大学大学院人間発達環境学研究科 准教授
源 利文先生

福岡工業大学社会環境学部 社会環境学科 准教授
乾 隆帝先生

九州環協管理協会 生態工学室長 大井 和之

(司会 : 九州環協管理協会 環境部長 藤井 暁彦)

1. 環境 DNA 技術が活用されている現状

【藤井】 本日は「環境 DNA 技術の現状と今後の展望」と題して、国内著名な先生方をお招きして座談会を開いていきたいと思ひます。

まず、環境 DNA 学・分子生態学等のご専門の神戸大学大学院・人間発達環境学研究科准教授の源先生、もうお一方は、魚類学・魚類生態学のご専門の福岡工業大学・社会環境学部准教授の乾先生です。もう1人の参加者は、九環協の大井生態工学室長です。

はじめに、「環境 DNA 技術が活用されている現状」として、源先生から話題提供いただきたいと思ひます。

【源】 環境 DNA の研究がどのように進んできたのかを紹介させていただいて、少しだけ新しい話についても述べていきたいと思ひます。

環境 DNA の分析というのは、もともとは微生物の研究が始まりです。当たり前ですが、大気中にも、水の中にも、土壌の中にもさまざまなタイプの微生物がいて、かつて、微生物を分析するときは培養してどんな微生物が増えたかを一生懸命調べていました。それが、1980年代後半から90年代になって、どうも培養できる微生物は全体の1%に満たないと。つまり、一生懸命培養して調べても、99%はとり漏らしていることがわかってきました。一方で、そのころに DNA 技術が随分発展して、大気や水・土壌から直接 DNA を集めて分析しようというのが、環境 DNA 技術の始まりです。

もともとは微生物だったのですが、これが大型生物の分布に使われるようになったのが2008年です。フランスのチームが、ウシガエルが高密度にいる場所では DNA の検出率が高く、低密度だと検出率が下がり、いないと検出されないことを公表しました。つまり、水をくむだけ



乾 隆帝 先生
福岡工業大学

源 利文 先生
神戸大学大学院

大井 和之 室長
九州環境管理協会

(司会)藤井 暁彦 部長
九州環境管理協会



でそこにウシガエルの「いる・いない」がわかる。微生物の場合は、水や空気の中に微生物そのものがあるわけですが、大型生物の場合は、取った水の中に別にカエルがいなくても、それを分析するだけで存在が証明できるという論文が2008年に世界で初めて発表されました。

日本では、私たちのグループが最初に取りかかりました。2008年から2009年に、コイが大量のDNAを水中に放出するというのに気づき、ここから環境DNAの分析が始まっています。世界の初めてが2008年、私たちもその頃なので、大型生物の環境DNA分析が始まってから10年と少しが経過しています。

環境DNAにできることには大きく二つのパターンがあります。一つは種特異的な検出と言われるもので、ある特定の単一種を検出したり、量的評価をする手法。もう一つはメタバーコーディングという技術で複数の種をまとめて検出する方法です。

一つ目の種特異的な検出について研究例を紹介します。例えばオオサンショウウオの場合、西日本各県の代表的な河川を選んで水をくんで回ります。「いそう・いそうにない」を考えないで、ランダムに近い300地点以上で水をくんだところ、約3分の1の地点でDNAが検出されました。つまり、西日本で適当に水をくむと3分の1はオオサンショウウオに当たるということになります。そのぐらいオオサンショウウオがいるわけです。

このぐらいデータ数が多いといろいろなことができ、例えば生息適地モデルをつくることができます。DNAが検出されたという情報と、水温や気温、降水量などといった環境情報の一つにしてモデル化すると、「オオサンシ

ョウウオはこんなところにいそう」という推定ができます。これがどれほど正しいか確認したところ、既存の分布情報と精度良く合っていました。具体的には、中国地方から近畿地方にかけて大きなひとかたまりの分布域があって、東海地方、九州や四国に飛び地があることを、環境DNAでかなり正確に予測することができています。現在は、このような生息予測が環境DNAでできるようになっています。

「いる・いない」だけでなく、量はどうかかというところ、水槽実験では、1匹より2匹、2匹より4匹のほうがDNA量は多く、条件を整えれば、DNA量から生物の「多い・少ない」という情報も得られることがわかっています。ただし、例えばウナギの多少を河川で調べてみると、どの川でも一応の正の相関は見られますが、その傾きは川によって違います。つまり、いろいろな環境条件があって、単純な $y=ax$ みたいな式では表現できない、あるいは表現できたとしても、その係数の a が川によって違ったり、季節によって違ったりすることがわかっています。

それでも、現場の様々な情報を入れていくと、例えば「舞鶴湾に何匹のアジがいるか」を推定できるようになっています。このあたりの研究成果は、現在、論文投稿中です。

もう一方のメタバーコーディングの例を紹介します。兵庫県の六甲山を挟んで南北両方の地域で、北側には広い農村地帯がある調査範囲で水をくみました。環境DNAの現場での仕事は水をくむだけです。ですから、多点調査が得意で、簡単に200箇所以上で水をくむことができました。分析の結果、神戸大学のそばを流れている都賀川では、コイやオイカワなど数種類のDNAしか検出されませんでした。一方で、北部の篠山市では、たった1リットルの水から20種類以上の魚のDNAが検出されました。

この大量のデータから、例えば出現ランキングをとると、1位カワヨシノボリ、2位カワムツ、3位オイカワみたいに、川の魚がわかる人だったら、「うん、大体こういうのがどこでもいるよね」という魚がきちんと検出されています。

ここまで、単一種の検出定量と、いろいろな種をまとめたメタバーコーディングの技術について紹介しました。最後に、最近のトレンドを二つだけ紹介します。

一つは、「いる・いない」ではなくて、行動や生理状態の推定です。魚のように体外受精の生物は、産卵期に精子を放出します。精子にはミトコンドリア DNA が少ないことがわかっているので、核 DNA とミトコンドリア DNA の比率をはかると、産卵のタイミングで核 DNA の比率が顕著に増えます。

これを野外のオオサンショウウオで確かめてみました。兵庫県の羽東川という川で連続的に採水をしていたら、ある日、ある場所で核 DNA の比率が一気に上がりました。つまり、この日、この場所でオオサンショウウオの産卵があったと考えられました。

もう一つのトレンドは感染症研究への応用です。例えば、レプトスピラ症という細菌感染症があります。日本では沖縄で多く、川で遊んだときにレプトスピラという細菌が体の中に入り込み、腎臓などをやられる病気です。こういう感染症が何に関係しているのか水を飲んで調べてみると、どうも雨後に、顕著にレプトスピラが検出されることが見えてきました。

レプトスピラはもともと哺乳類に感染する病気で、自然宿主がどこかにいるわけですが、その正体ははっきりとわかっていません。そこで、この調査と同じサンプルを使ってもレプトスピラといつも一緒に出てくる哺乳類の DNA が特定できたら、それが自然宿主の候補かもしれないと考え、分析してみました。

そうすると、レプトスピラといつも必ず一緒に出てくるのがイノシシでした。どういう感染経路かはわかりませんが、雨が降るとイノシシのふんや尿が川に入って、川の中のレプトスピラ濃度が高まり、そこで泳いでいた人に感染しているのかもしれないということが環境 DNA で見えつつあります。

このように、環境 DNA のこれまでを振り返りますと、その対象は微生物から大型生物へと進化して、特定種のいる・いない、数・量の推計へと進んでいます。一方で、複数種の網羅的な探索が魚類では普通にやられています。さらに両生類やトンボ目のメタバーコーディング系も完成に近づいていますので、いろいろな生き物を調べることができるようになって思っています。

そして最近のトレンドの二つですけれども、状態や行動の推定への応用ということで、例えば生死の判別であ

ったり、繁殖行動などが検出できそうなことがわかってきました。感染症研究では、今回はレプトスピラを紹介しましたが、タイ肝吸虫とか住血吸虫みたいな寄生虫感染症にも応用が進んでいるところです。

【藤井】先生、ありがとうございます。

引き続き、乾先生から魚類学分野における活用についてお話ししたいと思います。

【乾】源先生はメソッドからつくり上げて、ここまで研究をされてきたんですけども、私は完全にユーザー側の人間です。つくり上げた方法をいかにして野外適用していくかを、これまで試行錯誤してきました。その中でも一番力を入れてきたアユの一連の研究事例を紹介します。

アユは(海と川を行き来する)両側回遊魚で、日本の陸水域の中では最重要な水産有用種のひとつです。漁業対象だけではなく遊魚としても高い経済価値がありますが、全国的、特に西日本では減っていて、その原因を突きとめたいと考えています。

実は、昔から言われていたんですが、我々魚類の人間は「アユの調査をやれ」というのが一番嫌なんです。なぜかという、大きな川の瀬にいて、泳ぐのが速い。潜って見られないことはないけれど、ほんとうに定量化できているのかどうかよくわからない。データはとれますが、自分がやっていることを信用できない魚でした。

そこで、2014 年ぐらいに、アユの調査をやらないといけなくなったのですが、ちょうどそのころ環境 DNA がはや



っていて、もしかしたら環境 DNA を使えばアユが定量化できるのではないかということで飛びついたのであります。

アユの生活史を簡単に説明しておきます。基本的に海へと下りますが、最初に生まれるのは川の下流です。川の下流で秋ごろに産卵して、親は死に、その後、ふ化した稚魚は海に下ります。冬の間は海で成長して、再び春になると川を上って、夏にどんどん大きくなって、再び1年で下流のほうに下ってきて産卵するという魚です。そこで、それぞれの生活史ステージにおける密度や生物量を環境 DNA で定量化してみたいというところから始めました。

研究の流れとして、そもそも環境 DNA を使って密度や生物量が説明できなかつたらその先には進めませんので、ここからチャレンジを始めました。結果、ある程度は生物量が説明できたので、次に、環境 DNA を使ってアユの産卵のための降下動態が追えるのかをチャレンジをしました。そして、先ほど源先生のお話にも出てきましたが、繁殖行動、環境 DNA を使ってアユの好適産卵場を見つけれられるのか、この三つのチャレンジをしてみました。

最初のアユの生物量を説明できるのかという研究は、山口県の佐波川で行いました。この川では、潜っていて自分でもアユを定量化できるという感覚があり、かつ、多い・中ぐらい・少ないところが結構はっきりしている川だったので、環境 DNA の濃度と相関関係をとりやすいだろうということで、この川を選びました。

方法は、先に水をくんで、その後に瀬で潜ってアユの密度を調べ、種特異的なプライマーで DNA 分析した結果と、得られた密度・バイオマスと比較するというものです。その結果、アユの数が数えられるくらい多いところでは、どの月も DNA 濃度が高く、食み跡があるけれどもアユが見られたり見られなかったりするようなところでは濃度が低く、そもそもアユも見つからないし、食み跡も見つからないようなところでは DNA が検出されないという、とても納得できる結果になりました。

これだけでも十分でしたが、さらに実際に個体が確認されたところで、環境 DNA の濃度と密度の関係性をとってみると、非常に強い正の相関があり、現存量にもか

り強い正の相関関係があることがわかりました。

環境 DNA でアユの生物量が大体わかることが明らかになったので、その次に、川の中での動態を明らかにすることへのチャレンジです。アユは、1年の間でダイナミックに動くので、それを追えるのかどうか、島根県の高津川というところで調査をしました。ちなみにこの河川では秋になると下流域に集まってきて、このあたりの瀬でよく産卵していることがある程度は知られていました。

2017年に9回の採水、分析を行いました。DNA 濃度のピークが2度見られ、10月の中盤ぐらいにアユがやってきて、一回はおさまり、11月の後半から再び濃度が高くなるという結果になりました。ここから、この年はアユの降下のピークが2回あったのではないかと推定できます。この高津川は、アユの潜水調査が大変なぐらいの大きな川ですが、一級水系クラスの河川でも、アユの分布の中心が現在どの辺にあるのか、それを十分追えることがわかりました。

大体、川の中での動態が追えることがわかったので、三つ目のどこで産卵しているのかについて、アユのように集団で産卵する魚類であれば、ミトコンドリア DNA でも十分に明らかにできる可能性があると考え、確かめてみることにしました。

アユの産卵時間帯は夕刻から夜のはじめであるということはこれまでの知見で明らかになっていましたので、昼と夜の水をくみ分けて分析結果を比較することにより、産卵場の下流では、夜に環境 DNA 濃度が増加するに違いないという狙いを定めて研究をスタートしました。

最初に調査をした高知県の奈半利川はあまり大きくない川ですが、発電ダムがたくさんあって、河床がアーマーコート化しています。下流の河床はがちがちで、人工産卵場をつくらないとアユがほとんど産卵しないことが知られています。ここでは、十何年もモニタリングされている方がいて、人工産卵場をつくったらそこに一斉にアユが集結して産卵し、ほかの天然産卵場を放棄するというデータが得られていたので、都合がいいと考えました。この人工産卵場の下で採水したサンプルが、ほかの地点よりも濃度が高ければ、それは産卵を捉えられているという仮説のもとに調査をしてみました。

人工産卵場の下流では、昼に比べて夜の DNA 濃度

が 25 倍ぐらいに上昇しました。ほかのところでは夜の濃度はむしろ下がるのがわかりました。夜の産卵行動に伴って、産卵由来の DNA が大量に放出され、濃度が上昇することがわかりました。

このように昼夜の濃度差がはっきりしているのであれば、ほかの河川でも昼・夜の採水で比べればわかるのではないかと考え、より大きな高津川で調査してみました。2 年連続で調査をした結果、産卵期のピークが 10 月中旬から 11 月下旬であることは共通していましたが、好適産卵場の利用パターンは年によって少し異なること、そして産卵期中であっても、日によって産卵行動の活発さにどうも違いがありそうだということもわかってきました。

以上のような魚類学における活用をまとめますと、今回紹介したアユの環境 DNA では、河川内比較であれば相対的な量の評価が十分可能であると言えます。ただ、絶対定量に関しては、課題が残っています。そして、環境 DNA でアユの降下動態が追えるのかについては、一級水系クラスの大きな川であっても、その川に対象範囲を絞れば十分追えることがわかりました。

さらに、環境 DNA でアユの好適産卵場を見つけられるのかについては、アユのように集団産卵するような魚であれば、核 DNA を使わなくてもミトコンドリア DNA 単独でも十分も把握できることがわかりました。昼夜の比較で好適産卵場の絞り込みができ、産卵場が時期に応じて変化することもわかってきたというのが、現在の研究のまとめです。

【藤井】最後に、業務としてやられていることを九環協の大井室長から紹介したいと思います。

【大井】九環協で DNA 分析を始めたのは 2010 年からです。環境 DNA はちょうど源先生たちの論文(注:コイ Takahra et al 2012, ブルーギル Takahara et al 2013)が出てからすぐに、取り組みを始めました。

九環協では、希少な魚類のヒナモロコを水槽飼育しています。最初は、実際に水槽の水からヒナモロコの DNA が検出できるか、プライマーを設計してやってみるところから始めました。2013 年、水をくんできて環境

DNA を分析し始めた最初の年で、この年にリアルタイム PCR の装置を導入しました。その後、2016 年に DNA シーケンサーを導入しております。DNA シーケンサーは普通に塩基配列を決めるだけでなく、フラグメント解析といって遺伝子型を同定できる分析ができ、例えば猫の親子鑑定などに活用しています。今年の 2 月に、iSeq100 という次世代シーケンサーが入りました。これを使うことによって、先ほど先生方から紹介された網羅的解析が自前でできるようになりました。

次に、DNA 分析をどんな分野で活用しているかです。主に自然環境に関するもの、それと、九環協では水産系の仕事も多いので、水産関連分野の依頼もあります。また、もともと環境 DNA は微生物から入ったというお話もありましたけれども、例えば 0-157 とかレジオネラ菌であるとか、そういうものをリアルタイム PCR で検出するような分析、それから、どんな種類の植物プランクトン、シアノバクテリアがいるかを検査するような分析をしてきました。

あと、産業という枠で分割しますと、博物館などから出る害虫の調査、異物として混入したものの同定ですね。潰れて形が判然としないものの DNA を調べたら、例えばチョウバエだとか、昆虫の種類までわかりました。

それから、最近わりと多いのが地域系統を調べるという仕事です。例えば、「メダカ」は、九州のミナミメダカと、ヒメダカの名で流通しているものは、遺伝子型が異なるのですが、野外で捕まえて、それが一個体一個体、どんな遺伝子型を持っているかを調べられるようになりました。個体の遺伝子型を調べることで、この川にいるのは在来型の魚であるとか、放流されたもの、遠くから運ばれてきたものとかの議論ができるようになりました。



また、「バラタナゴ」もニッポンバラタナゴだけがいるのか、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴが両方いて交雑している状態なのかとか、今後は水をくんできただけでそういうことがわかるようになるのではないかと思います。

【藤井】 源先生の研究が2008年頃に始まり、技術が発展して行く中で、九環協としては遅れること5年ぐらいい、最初は「種類が知りたい」、「在・不在」を明らかにしたいという業務が中心でした。そして、現状としても私たちの環境分野では、その範囲を大きくは出していないという認識です。

ところで、環境分野として「こんな新しい使い方を始めているよ」というものがありますか。

【源】 業務レベルで使えるのは、やはり在・不在の分布だと思います。量的な評価などはまだ研究レベルの段階を脱してなくて、乾先生もおっしゃっていましたが、例えばある川でとか、ある池でとか、ある季節というように条件を区切っていくと、その区切られた条件の中ではきちんと相関関係があるところまではできていますけれども、それが季節をまたいだり川をまたいだりといったときはなかなか難しい状況なので、そういう方向ではまだすぐには使えないように思います。

2. 今後の技術の展開・展望

(1) 自然環境分野

【藤井】 ここからは、今後の技術の展開・展望に話を進めていきたいと思います。

幾つかの分野に絞り込んで話をしたいと思いますが、最初に、自然環境分野における技術の展開を話し合いたいと思います。

【源】 環境DNA技術を使って調査をしたいと思う対象が、絶滅危惧種だったり外来種だったりというのはよくあるパターンであると思いますが、絶滅危惧種というDNAがあるわけではないので、技術的には全く同じことをやっているだけですし、そういう意味では、何を目的としたかということ次第のような気がします。

【藤井】 これまでは、ヒナモロコ、オオサンショウウオ、カブトガニのような、希少性が高い種が対象であることが多いです。今後、展開していくのではないかとというのが、外来種の侵入ですね。

【大井】 源先生が紹介されたオオサンショウウオは、西日本の主要な河川を広く回られていまして、その中には九州の河川も1つありました。その河川について、地元教育委員会から「同じやり方でもうちょっと詳しくやってほしい」という依頼を受けて、九環協が分析をしました。源先生が行った地点とは別の地点でもオオサンショウウオのDNAが検出されましたが、九州では在来のDNAしか確認されず安心したところでした。実は外来種のチュウゴクオオサンショウウオというのがいて、鴨川など淀川水系ではこの外来種と在来のオオサンショウウオの交雑がかなり問題になっています。

水をくんだだけで、交雑が起こるような生物が両方いるのか、どっちかしかいないのか、あるいは、急速に分布を広げているヌートリアが侵入しているかどうか調べられます。このような外来種問題への適用が、今、自然環境分野における環境DNAの解析で毎年進んでいます。

【源】 そうですね。技術的には、オオサンショウウオとチュウゴクオオサンショウウオみたいな、近くて、でも片方は希少種で片方は外来種というケースのDNAの分別には非常に向いています。実際に岡山県で、県の依頼を受けて調査したところ、水からチュウゴクオオサンショウウオのDNAが検出されて、その後、実際に個体を確認したら確かに交雑種がいたという例があるので、外来種の新しい侵入域を知ることに使える技術だと思います。

ただし、一つ注意しなければいけないのが、我々がよく環境DNAと言っているものの対象はほとんどがミトコンドリアDNAで、ミトコンドリアDNAというのは母方からしか遺伝しません。父からは遺伝しないので、交雑種がいたときに、母親はわかるけれども父親はわからない。ちょっとややこしい話をしますが、例えば少数のチュウゴクオオサンショウウオの雄が、たくさんの在来のオオサンショウウオの雌を独占して、たくさん交雑種が生まれたときに、環境DNAの技術は無効です。全部が在来のオオサ



ンショウウオのミトコンドリアを有しているからです。そういうことがあるので、外来種の特定には非常に有用だけれども、交雑の判定はできないことに気をつけなければいけません。

【藤井】このような問題がある場合、核 DNA での検出を考えると思うのですが、技術的な問題があるのでしょうか。

【源】核であっても、水をくんで DNA を拾うところは全く同じで、そこは難しくないです。問題は、そもそもなぜミトコンドリアを狙っているかという、ミトコンドリアの DNA は 1 細胞当たりの数が多いんですね。1 細胞当たり数百あったりします。一方で核の DNA というのは、基本的には 1 細胞当たり、お父さん由来とお母さん由来の二つしかない。ただし、遺伝子によってはコピー数が非常に多い遺伝子があったりします。具体的に言うと、リボソーム RNA をコードしているような遺伝子であると、核の中にも生物種によっては一つの細胞の中に数百とか千を超えるようなコピー数があって、そういうところを上手に使うと核 DNA でも拾えます。ただ、拾えるんだけど、例えばデータベースが十分でない。つまり核 DNA の情報って膨大過ぎてなかなか調べられていないので、自分たちでまず対象種と近縁種の核 DNA 情報を調べてみたいなことをしなければいけなくなります。そういう意味でミトコンドリアに比べると、系をつくったりするのはかなり困難だと思いますね。

【藤井】ありがとうございます。外来種の侵入という話になりましたが、何かそのほかの項目でありますか。

【乾】生態分野の話の続きとして、現場として、結局捕獲したほうが楽なのか、環境 DNA のほうが楽なのかという判別ができる人が、調査・研究にかかわる人の中に一人いるかどうかがすごく大事だと思います。

例えば、ヒナモロコなどは、野外で捕獲すると言われても、雲をつかむような話で、全然見つかりません。分布密度がかなり低いところ、少数の個体が動き回っているかもしれないというレベルであれば、環境 DNA で網羅的にやってみて検出されたところで探してみるとか、スクリーニング技術としてはすごくいいと思います。ただ、九州のバラタナゴレベルだったら、私の場合だったら普通にとったほうが早いかもしれません。(笑)

【大井】今までの業務では、例えば道路をつくるとか、あるいは農業用水路の改修を行うとき、そこにバラタナゴがすんでいるとなると、捕まえに行っていました。捕まえたものを標本にするか、希少種なのでひれの一部だけ切って、あとはもとのところに逃がしたようなものをサンプルにするのですが、そういう個体標本があるとその標本の DNA でいろいろな分析ができます。

もともと最初は、ミトコンドリアの DNA で解析をやっていたのですが、核 DNA の分析も、マイクロサテライトと言われるものを使って、幾つもの遺伝子型を調べることで、「ここはタイリクバラタナゴの血がかなりまじっている」とかいったことがかなり細かくわかるようになってきています。ただ、そういう場所では 10 個体ぐらいのミトコンドリアを調べれば、そのうち少なくとも 1 個体ぐらいはタイリクバラタナゴ型が混じっています。そのため、ミトコンドリアで調べても両方の型が検出されれば交雑していることを示すので、水をくんだだけでも調べることは可能です。バラタナゴも、捕まえたほうが早いのは確かですけども、例えば道路をつくる際の環境調査など、調査範囲が長く、たくさんの地点で調査したいときには、全部の地点で投網を打つわけにはいかないですが、水だったらたくさんの地点でくめますので、そういう意味では使える方法だと思います。

【源】ちょっと話題を変えさせて下さい。今、主に希少種と外来種の話をしたんですけども、もう一つは、

それこそメタバーコーディングを使って、そこにどんな魚がいるかというリスト化にも、おそらく今後はより使われていくだろうと思っています。

例えば今日、私は六甲山の例を紹介しました。基礎的な生態情報を得るために、例えば国土交通省は全国の一級河川で河川水辺の国勢調査というのをやっていますが、どこの川に何がいるかをリストアップするのが基本的な仕事です。まさにこれを環境 DNA でできるのではないかと。水をくむことで、そこにどんな魚がいるかのリストを書くことができるので、もし同じだけの予算規模で仕事をするのであれば、おそらく今やっている点数よりもはるかに多くの点数の情報をとれるだろうし、あるいは季節を変えた調査も可能だろうと思いますから、そういう基礎情報、モニタリングにも使う方向でどんどん進んでいくだろうと思います。

【乾】特に魚に関しては、それが一番、今のところ使い勝手がいいのではないかと考えていますが、ここで、一つ重要な課題があります。種名のリストです。河川水辺の国勢調査の和名リストのように一種独特なものをその委員会で決めたりしているのと、パイプラインで出てくる名前にはかなり不一致があって、それをきちんと整合できる人がいないのであれば、整合できるようなルールを業界でつくるとか、そういうことはやらないといけないと思っています。これを、独自ルールでやってしまうと、やる人によっては、パイプラインで出てきた結果までは一緒だけれども、その後、例えば種リストと水国のリストを対応させるときにやり方が変わってくることが大いにありそうな気がします。そんなに難しいことではないと思いますけれども、多分、環境 DNA 学会でそこまでやるのはなかなか難しいですね。そこは現場のニーズがわかっている人でないとできないと思うので、そういう取り組みはあってもいいのかなと思います。

【藤井】この問題は、私たちのようなコンサル業界の課題かもしれないですね。

【大井】ちょうど今の河川水辺の国勢調査は国土交通省が管轄しているわけですがけれども、実は今、国土交通

省と環境省と農林水産省と三つの省庁でそれぞれ独自に、環境 DNA 技術の標準化というか、マニュアル作成業務が動いています。幸いなことに、九環協は今年度の環境省の仕事をさせていただくことになっています。

【藤井】国としては、標準化を目指しているとは思いますが、省庁間での連携、さらには学会や学術の部分が、我々の業界にどのようにおいてくるかは不透明な部分も残っているということですかね。

【源】今、話が二つあって、一つはデータを出してからどうやってそれを最終的な種リストに落としていくかという話と、省庁間連携の話です。まず前者の、水をくみできたところから DNA を分析して、乾さんはパイプラインとおっしゃいましたけれども、データ解析を終えて一時的な暫定種リストみたいなものを出すところまでは、多分わりと簡単に誰がやっても同じことができるようになるだろうと。それを目指して、私は環境 DNA 学会の標準化委員もやっているの、標準化委員会としての標準プロトコルを作成して、もう公開しています。それを皆さんがほんとうに使ってくれるかどうかはまた別の問題なんですけれども、使ってもらえれば、誰がやっても、水をくむところからデータが出てきて、何という魚だろうという最初の一次リストをつくるころまでは多分できます。

問題は、その一次リストが出てきたときに、例えばホンモロコとタモロコでもいいのですけれども、出てきた DNA では区別できません。わかる人が見れば、「こんなところにホンモロコがいるはずがないから、これはタモロコでしょう」という一言で済んでしましますが、魚に詳しくない人にはわからなくて、「これはホンモロコかタモロコかのどっちかです」としか言いようがなかったりするわけです。

その辺をどうするかがすごく重要で、多分、それは学術サイドにはなかなか難しいことだと思います。ほんとうに地域の魚のことがわかっている人でなくて、もちろん、専門家に助けをもらうことが必要なのですが、環境 DNA 学会とか環境 DNA 技術を開発している人間にそこまで求めるのはちょっと苦しいので、その辺はコンサルさんも含めて、地域のことがわかる人と一緒にやっていかなければいけないだろうと思います。

【藤井】 地域課題とするようなところでもあり、一方では、専門性を持ったコンサルが広く存在するかということになると、どこかで標準的な解釈を与えていくことになるのでしょうか。

【源】 将来の話になりますけれども、AIだと思います。蓄積された知見と照らし合わせて、「この確率が一番高いですよ」みたいなことをある程度自動化することはきっとできるだろうと思います。そういう方向性があるって、答えというか、ある程度正しそうな既知の情報をきちんと収集することができれば、高い精度で特定できるようになると思います。あるいは、「これとこれは区別ができない可能性があります」という答えを出してもいいかもしれないですね。

【大井】 微生物の網羅的解析を、¹⁶S を使ってやったときに、その塩基配列が一致するバクテリアの名前だけでなく、どんな環境で記録されているかというような情報を含んだデータベースを、東大の岩崎先生がつくられていると思います (MetaMetaDB)。ああいう感じのものが多分、魚類でもできるのではないかと思います。

(2) 水産分野

【藤井】 自然分野から少し話題を変えまして、水産分野のほうに話を進めたいと思います。本日の話題でも、マアジの資源量という話がありましたが、方向性についてはどうお考えでしょうか。

【乾】 水産分野でも当然、必要としている人がいるのですけれども、水産学会で発表したときに、みんながあまりにも冷たいのが私は気になります。(笑) どういうことかというところ、おそらく環境 DNA を全面的に認めてしまうと、これまで氷山の一角のデータをとって頑張ってきた資源量推定が否定されるということが、頭の片隅にちらついているのではないかなと感じています。使い方さえ間違えなければ確実に環境 DNA のほうが優秀だと思いますけれども、水産学会には全面的にバックアップしてくれそうな空気感はあまりありません。その水産の中で

も、おそらく興味を持っている人は、既に源先生とかと一緒にいろいろなことをされていると思いますが、業界としては、あまり盛り上がっていない感じがします。

【大井】 九環協では、資源量を推定する仕事も受けたことがあります。外洋にいる対象種の資源量を、海水をくんで、DNA から調べましようというものです。もちろん DNA 濃度に高い・低いがあったのですが、現場のサンプルリングにも課題が残っていると感じています。

【藤井】 水産分野としますと、現状から近未来的には、資源量への応用が中心になるということでしょうか。

【源】 私自身は水産にそんなに深くかかわっていませんが、環境 DNA を使って資源量をある程度推定するためには、結構いろいろな条件がつくと思います。例えば太平洋のど真ん中で水をくんで、何かの資源量を測れと言われても、多分できません。

先程示したのは舞鶴湾という半閉鎖的な湾です。6月という時期のマアジのおおよそのサイズがわかっていると、そのぐらいのサイズのマアジが1匹当たりどのぐらい DNA を出すか、それがどのぐらい分解されるかを水槽実験で調べて、どのぐらい拡散するかをモデルシミュレーションしてとかの条件を設定した上での話しです。そういう非常に限られた条件では使えるのですが、使えない場面もあって、そこでは「資源量に使えます」という話ではないと思います。だから、使う対象をきちんと考える必要がある。

一方で、これは水産の人がどう考えるかわからないですけれども、期待されるのは、多分、産卵とか繁殖する場所を推定するにはかなり使える可能性があると思うっていて、それはもちろんミトコンドリアだけの方法もあれば核を併用する方法もあります。技術的に細かいことはあるにせよ、どこで産卵しているかわからない魚って幾らでもいるんですよね。魚に限らないですけれども。そういうもののどこを保全するべきかを理解する上でも使えるでしょうし、あるいは産卵からもうちょっと離れると、例えば海洋保護区を設定したいと。まあ、設定したいというのは本来、先じゃないんですけれども、いろいろな条約

の関係で「海洋保護区を何%設定しなければならない」とかなったときに、では、どこを保護しなければいけないのかというの、例えば環境DNAで種数が多いところ、あるいは希少種の多いところをある程度推計することができれば、「では、ここを保護区にしましょう」とみたいなことにつながるかもしれない。その辺が一応、水産的な役割かなと思います。

(3) その他分野（農業、衛生など）

【藤井】自然・水産分野以外にも、環境DNAが展開できそうだという分野がありましたらお話し下さい。

【源】感染症に関係するところで、かなり使えるのではないかと思っています。いろいろな感染症の自然宿主が、よくわかっていないんです。ほとんどわからないと言ったほうがいい。例えばエイズがもともと誰から来たかは、最近ようやく猿由来であることがわかってきましたけれども、それは何十年もかけてやっとわかったんですね。

先程紹介したレプトスピラはうまくいった例だと思いますが、病原体そのもののDNAといつとも一緒に出てくるのはどの動物のDNAかを調べたら自然宿主の特定につながるかもしれないし、もちろん病原体自体のDNAを調べることが、その病気に対するリスクのマッピングにつながるかもしれません。感染症の問題には使える可能性がいろいろあるだろうと思います。

【乾】同感です。感染症や衛生のところを現状としては一番応用の可能性があると思います。もしかしたら将来的にはまた全然違うアイデアが出てくる可能性もありますけれども、現状の技術の発展先としては感染症と衛生だと思います。

実際、ウイルスの野外での動態を見ようとしたことがあったのですが、医学系の人に聞いても、人間間や町の中での移動とか、どういうところで感染拡大するかはわかっているけれども、それが自然界に出たときのウイルスの動態は全然わかっていない。そういうときに使えるのが環境DNAの技術で、今までは雲をつかむような話だから誰もやろうとしなかったらしいですね。そういう意味

では、我々みたいな自然科学がわかっている人間が医学系の人と組むことによってできることも多いのではないかと思います。

【大井】今回、九環協ではiSeq100という次世代シーケンサーをイルミナさんからいただきました。それはジャパンアグリiSeq Grantというもので、「農業分野で次世代シーケンサーを活用する研究計画を書いてください。それを審査して一番将来性がありそうなところにiSeqをあげます」ということで、いただいたんですね。その研究計画として、植物の病原体を次世代シーケンサーを使って検出するというのを提案しました。

実際には真菌類だったりウイルスだったり、いろいろな病原体があります。例えばヒヨドリバナという植物の葉っぱが黄色くなりますが、これはヒヨドリバナ葉脈黄化ウイルス、ジェミニウイルスという形のDNAでできたウイルスが引き起こす現象です。ヒヨドリバナは野生の植物ですが、トマトなどの農作物にも感染して、葉っぱの色が変わったり、縮れてしまって光合成しなくなるという植物の病気で、コナジラミという昆虫が媒介すると言われていています。そこで、媒介する昆虫とか、周りの野生植物とか、あるいは農作物からDNAをとって、そのDNAのジェミニウイルスの遺伝子をPCRで増やして、次世代シーケンサーでいろいろなところのサンプルを分析することで、「病原体は、ここの株からこっちへ移った」とみたいなことがある程度追跡できるのではないかと思っています。今の基本的な考え方は病原体というか、衛生分野と同じですが、農業分野でも同じように使える場面があるのではないかと思います。

【藤井】そうですね。人に対する衛生であったり、農作物に対する衛生であったりというところで、お三方とも同じような方向性のようなようです。

3. 今後の課題

2. の議論の中から、主な技術的課題を抽出し、その解決方針を考える。

【藤井】最後に、座談会の三つ目の話題です。技術的

あるいは制度面での課題です。特に重要になっていくだろうということをご紹介いただきたいと思います。

【源】自分がやっていることもありますけれども、技術をいかに標準化するかということが重要だと思います。

仮の話ですが、例えば分析を請け負う会社に川の水のサンプルを送ったら、海の魚の DNA がたくさんで来たとかそういうことがあったとします。そういう場合に、実験のどのステップでそういうエラーが入りやすいのか、それを減らすにはどうすればいいかというようなことをこれまで研究者は 10 年かけてようやく完成に近づけたわけですが、その間には数多くの失敗をしているわけです。そういうノウハウを共有しないと、同じエラーを分析会社がやってしまいかねないわけです。そうなってくると、ユーザーサイドからすれば、「環境 DNA を分析してくれる会社があるから送ったら、わけのわからないデータが返ってきた。環境 DNA なんてうそじゃないか」と思われかねなくて、せっかく可能性のある技術が信用を失うので、何とかしてこのようになることを避けなければならないと思います。

そのためには技術の標準化が必要で、そこを見越して、環境 DNA 学会が中心になって、標準プロトコルをつくり上げるところまでやりました。今後は、これをいかに使ってもらえるようにするかというのが大きな課題だと思います。

【藤井】ご指摘の点は、私たちコンサル側としても注意しないといけない点ですね。乾先生、どうでしょうか。

【乾】私のほうも、それにかなり連動した話なのですが、結局のところ、国交省なり農水省なり環境省なりの

予算化がなくなったときに、環境 DNA の技術は廃れてしまうと思うので、環境 DNA の分析業務がきちんと発注され続けられるようにしないといけません。当然、技術を標準化して、誰がやってもきちんとできるようなマニュアルをつくりつつ、発注側としても、信頼できる業者に発注し、これらをやり続けることで社会的な信用を高めていくことが重要であると思います。まだ眉唾だと思っている人は結構世の中にいるみたいですので、社会的な信用を得て、分野として持続できるように、みんなで一丸となって頑張る必要があると思います。

【大井】環境 DNA 技術が広まり、各社がいろいろなことをやり始めている中で、九環協は今回、環境省の業務を受注できたのですけれども、いろいろな会社がこういう業務をきちんとやっているといるということが今の環境 DNA 技術を広めていくことに役立つのではないかと考えています。

今回の座談会には、先生方に来ていただいてほんとうにありがたいと思います。今後もご指導いただきながら発展させていきたいと思っています。

【藤井】先生方からいただいた課題として、技術の標準化や、標準化の先の信頼・信用があり、それが社会浸透につながるということですから、これらを達成するために、学術の立場としての先生方、私たち民間のコンサルが連携して技術向上あるいは社会浸透に励んでいきたいと思っています。

本日は、環境 DNA の技術の現状並びに今後の展望、そして課題というテーマで、先生方をお招きして座談会を開かせていただきました。どうもありがとうございました。