

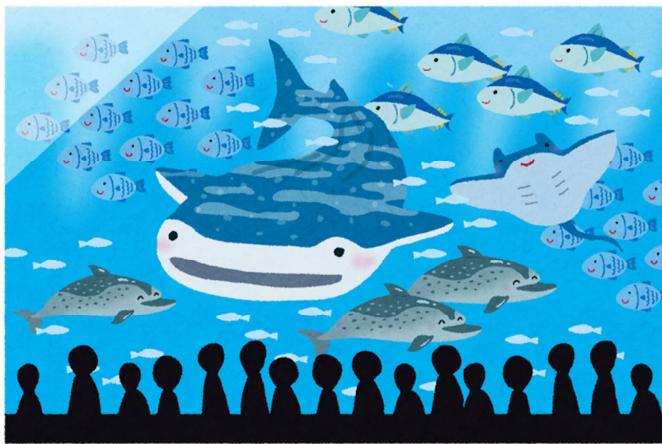
環境DNA 実務に展開するために必要なこと

国立研究開発法人 土木研究所
流域水環境研究グループ 流域生態チーム
特任研究員 村岡敬子

環境DNA たったバケツ一杯の水から生物情報！



“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～



MiFish

JST 共同発表

2015年7月22日

科学技術振興機構（J S T）

千葉県立中央博物館

神戸大学

東京大学

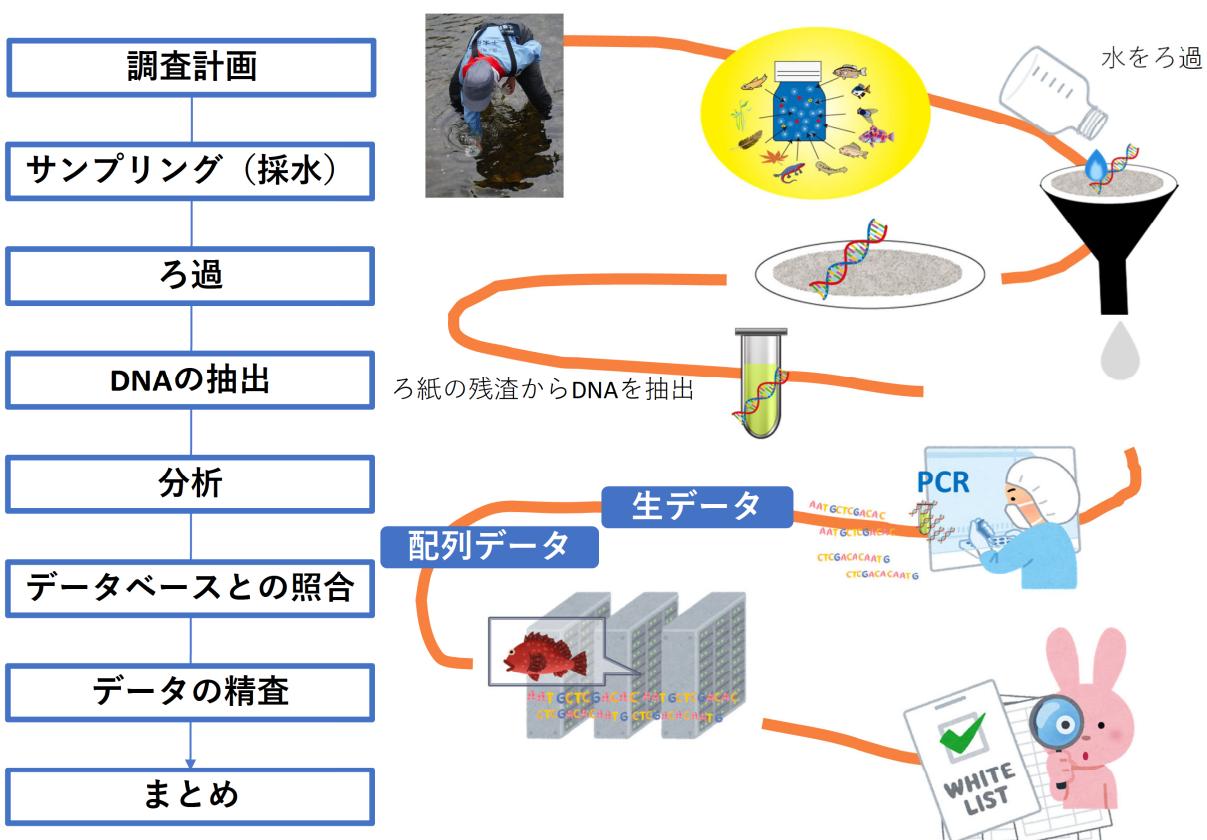
沖縄美ら海水族館の4つの水槽水（2～10リットル）から4つの水槽に飼育されている魚類の9割を越す168種の検出（93.3%）に成功

- ・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。

<https://www.jst.go.jp/pr/announce/20150722-4/index.html>

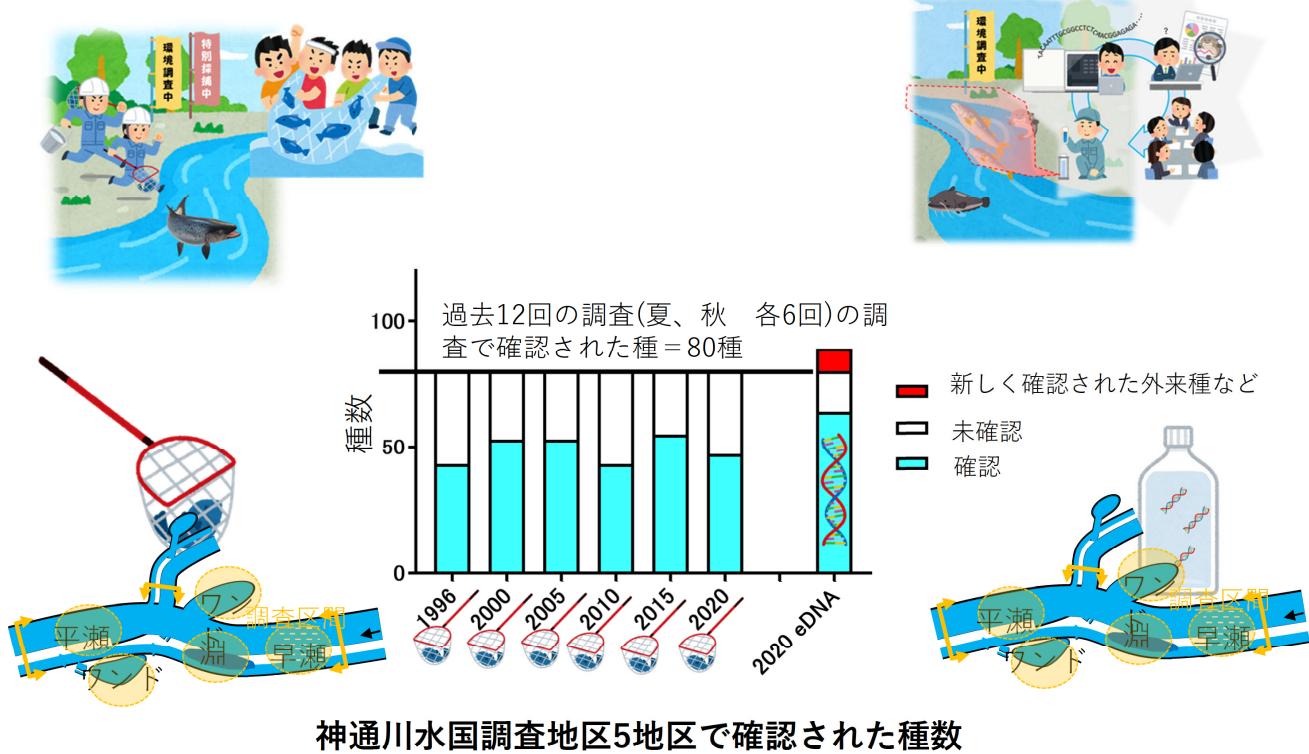
3

環境DNA たったバケツ一杯の水から生物情報！



4

河川水辺の国勢調査と環境DNA



捕獲調査は夏・秋2回の合算、環境DNAは秋季のみ。いずれも環境区分ごとに調査を実施

5

環境DNA関連の基準化

環境DNA学会 環境DNA調査・実験マニュアル

Ver.2.1 (2019.4) → Ver2.2 (2020.4)

出発点

→ Ver.3.0 (2024年8月9日発行)

環境DNA学会HP上で無料配布、書籍化の準備中

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 第1版 (2020.6)

環境DNA分析技術を用いた調査手法の手引き (淡水魚類・両生類) 第1版

「MiFish法に係る誤同定チェックシート」改訂版 (2024年5月)

農林水産省

農業水路系における生物多様性保全のための技法と留意事項

7.新しい調査技術に関する解説

7.1 環境DNA調査の適用に関する解説 (2022年7月)

国土交通省

河川水辺の国勢調査への環境DNA導入に向けたマニュアル R 7 (2025).3頃を予定)

歐州統一規格 EN 17805 2023年3月

⇒ ISO化に向けた動き

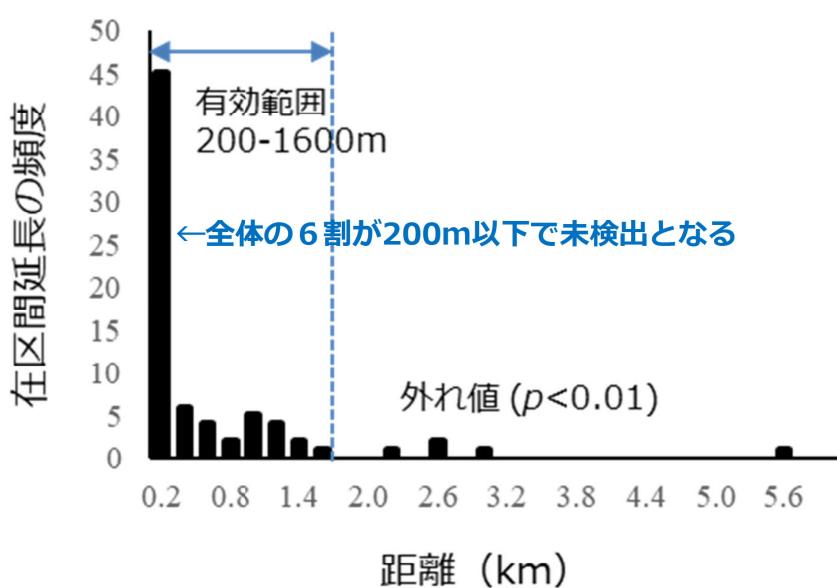
6

“水を汲むだけ”ではなかった環境DNA調査



7

どのくらいの範囲の生物情報を反映？



環境DNA含有物質の有効検出範囲

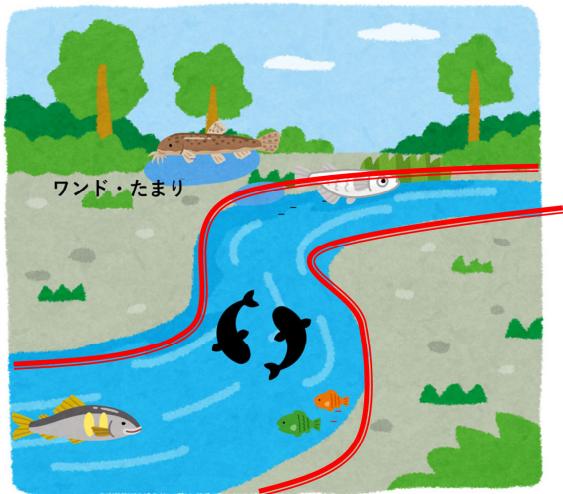
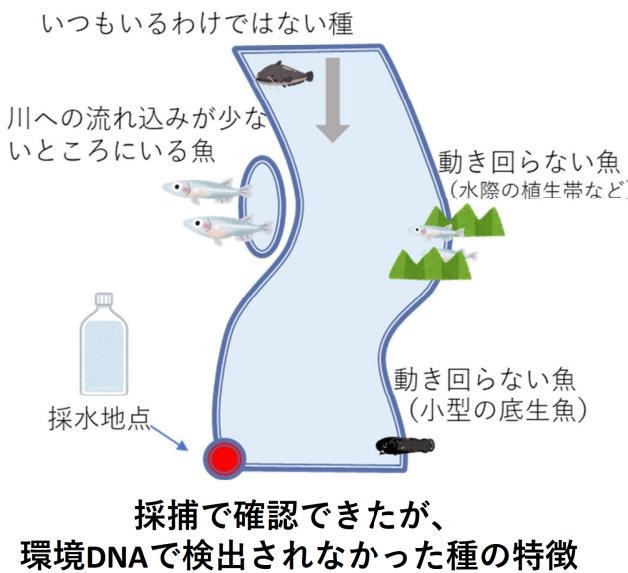
雲出川における本調査結果では、環境DNAを含む生物の組織片は、全体の6割が200m以下で未検出となり、最大で1600mとなった。有効検出範囲は供給源からの距離や濃度に左右されるものの、国内外の研究においても有効検出範囲は1 km程度とされており、最大でも2kmと考えられている。

調査地区下流端 片岸1地点で採水してみた

「水国調査地区の魚類相」を捉えるためには1地点では不十分

検出率=76.2%

当該年の水国調査で確認された種を
環境DNAで検出できた率

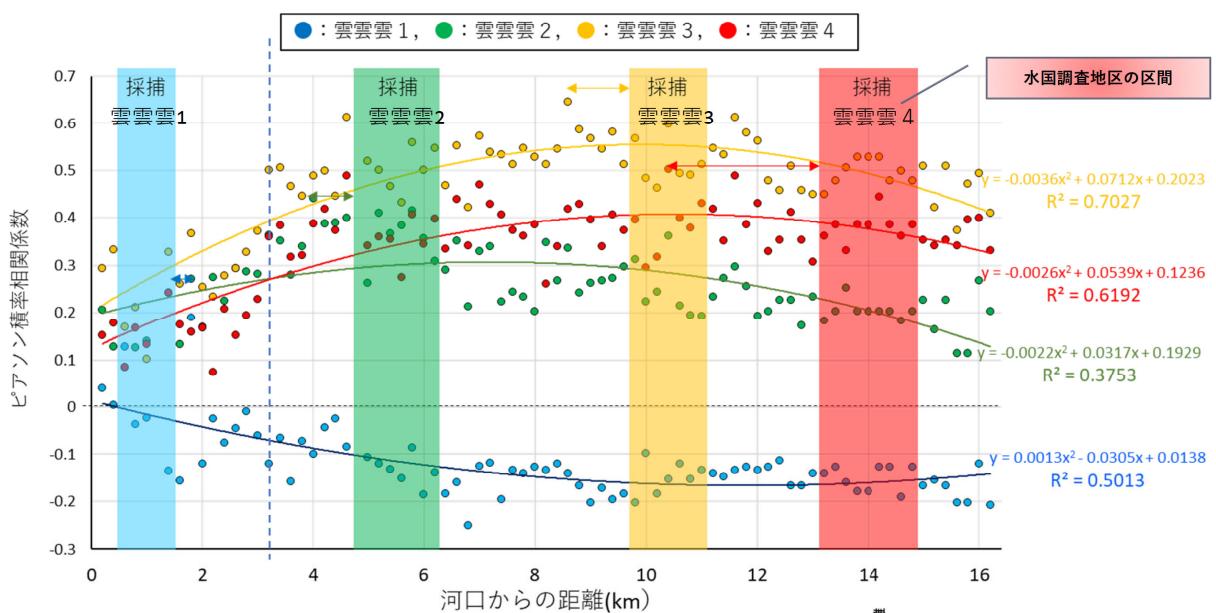


- ① 水国調査地区的最下流端両岸
- ② ワンドやクリークなど
- ③ 計4~5地点程度となるように、適宜追加

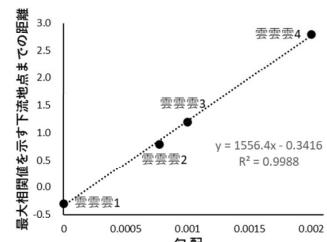
地区の魚類相を捉えるための採水地点

9

水系を俯瞰するための環境DNA調査

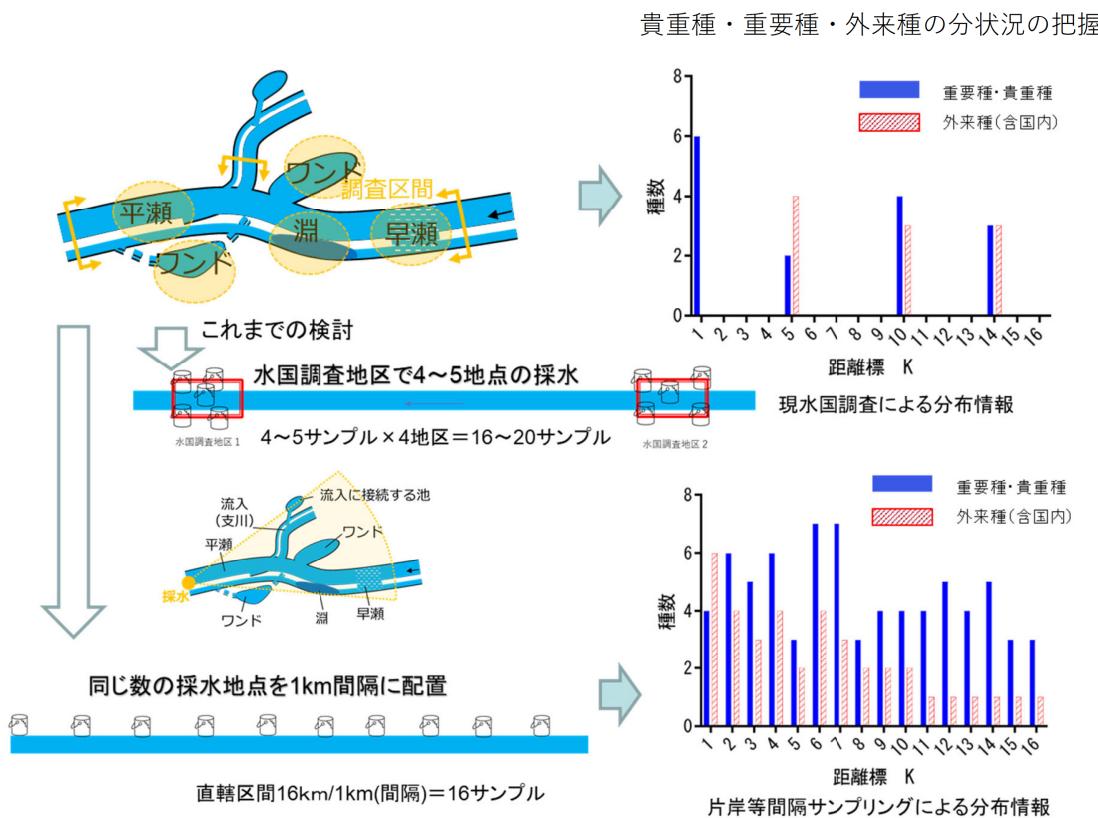


片岸で200m間隔の環境DNA調査により検出された各地点の魚類相と、河川水辺の国勢調査の4調査地区的採捕による魚類相の相関を200mそれぞれプロット。プロットの色は、対比している調査地区を表す。環境DNA調査で採捕調査で得られた魚類リストの相関が高くなる地点は、水国の調査区間外となった。さらに、最も相関が高い地区と調査地区との距離は、勾配と線形相関を示した。環境DNA含有物質の流下速度や混合拡散状況などが関連していると思われる。



10

粗くても水系全体を俯瞰する生物情報



11

定間隔を想定した淡水域のeDNA調査の検出率

多摩川での事例（R3テーマ調査）

- 直轄区間62kmに調査地区14地区
→概ね5kmピッチの配置
- 調査地区下流端の両岸で採水

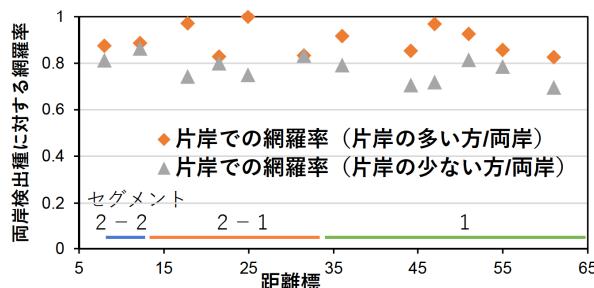
セグメント単位での捕獲に対する一致率



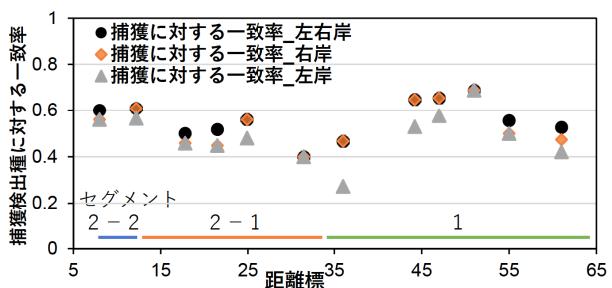
	セグメント2-2	セグメント2-1	セグメント1
両岸採水 概ね5kmピッチ	88% (4)	91% (8) 97% (11)※	88% (12) 94% (14)※
片岸採水 概ね5kmピッチ	86% (2)	83% (4) 89% (7)※	82% (6) 93% (8)※

※ ワンドを含めた場合 () は検体数を示す

両岸に対する片岸検出種（地区単位）



捕獲に対する一致率（地区単位）



12

“水を汲むだけ”ではなかった環境DNA調査

ひと手間かけてみませんか？



13

実装時のイレギュラーはなるべく抑えたい..

「ノーデータ（白紙結果）」



「不可解なデータ」



季節はすでに過ぎ去り…

再調査ができない…

業務の工期末は目前で..

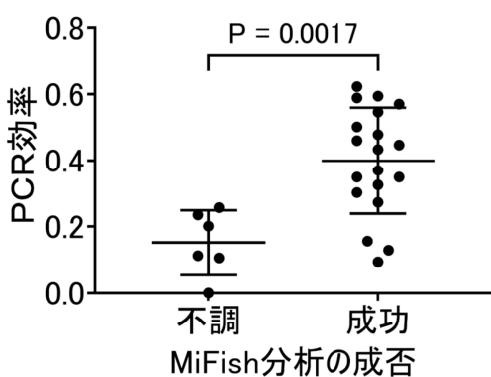
再分析の時間もない…



14

3-3. PCR効率について

流程に沿ったPCR効率の変化

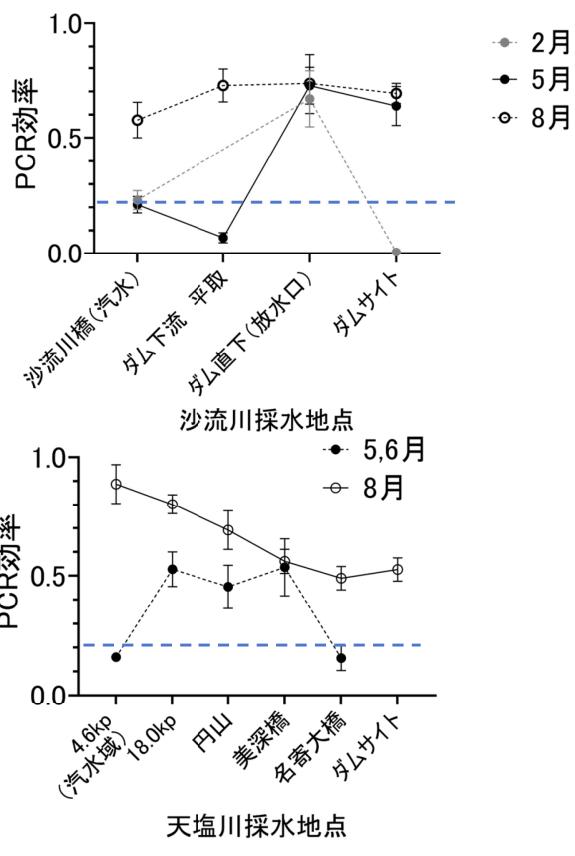


MiFish分析の成否とPCR効率

* 1stPCR産物が得られなかったサンプルおよびMiFish分析総リード数10,000リード以下のものを分析不調と定義

* PCR効率の分析対象サンプルの内、25サンプルについてMiFish分析を実施

- PCR効率が0.2を下回るとデータが得られない可能性が高くなる

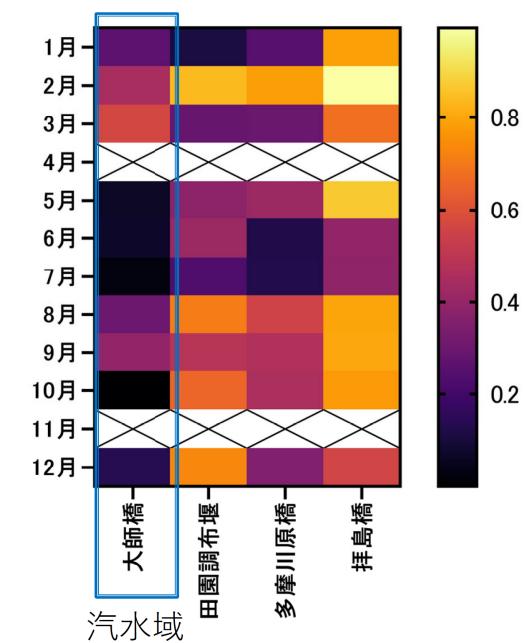
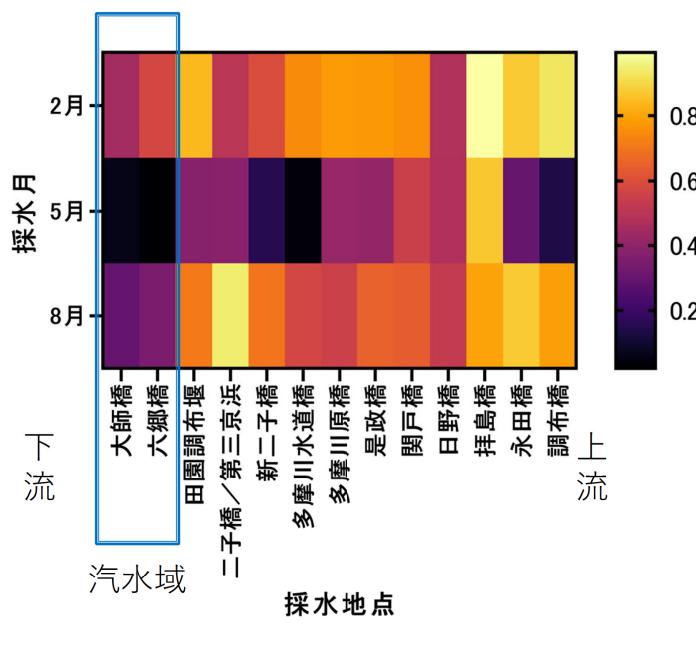


流程に沿ったPCR効率の変化

15

分析不調という課題

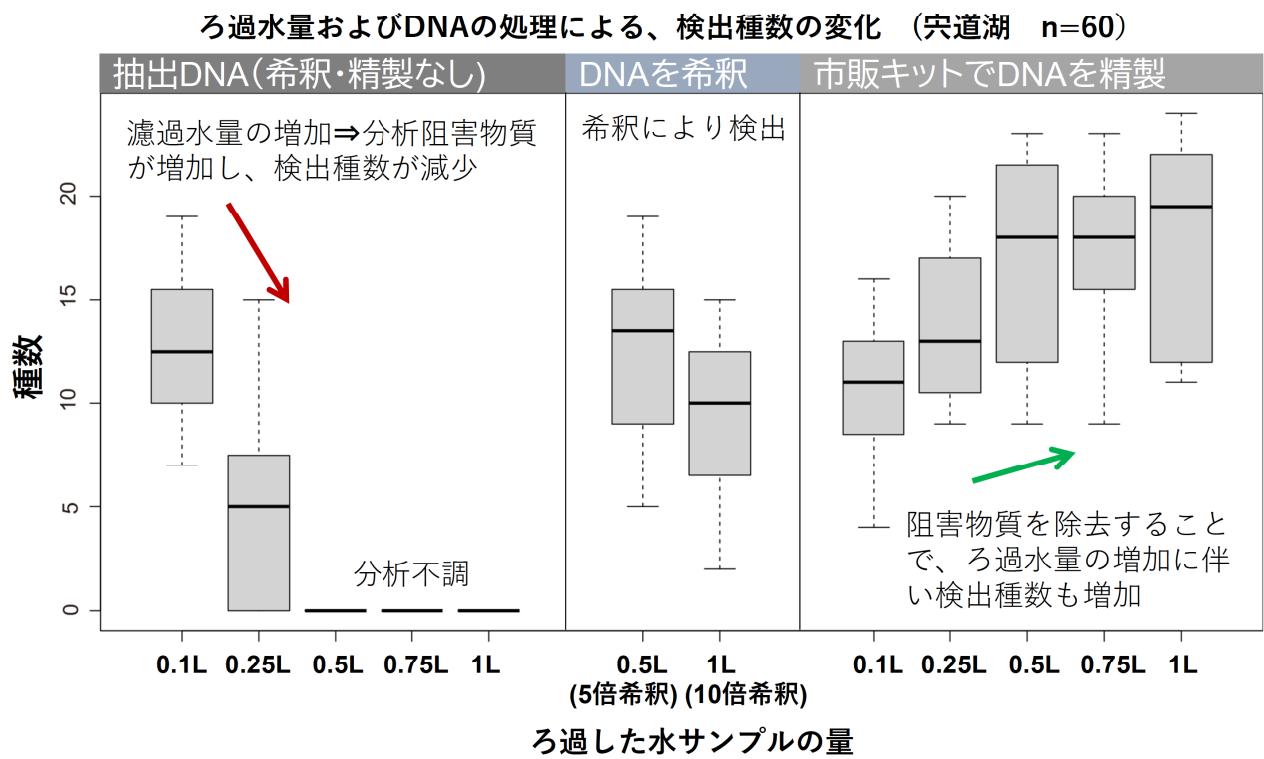
多摩川におけるPCR効率の採水時期・流程による変化



- 汽水域は、河川よりも分析阻害物質が多いという通説を反映した結果
- 5～7月は、全体的にPCR効率が低い傾向（灌漑の影響？）

16

実装時のイレギュラーを抑えるために 分析不調への対処法



混入しているPCR阻害物質に合致する除去キットを使い、阻害物質の影響を取り除くことで、良好な結果を得ることができる

17

“水を汲むだけ”ではなかった環境DNA調査



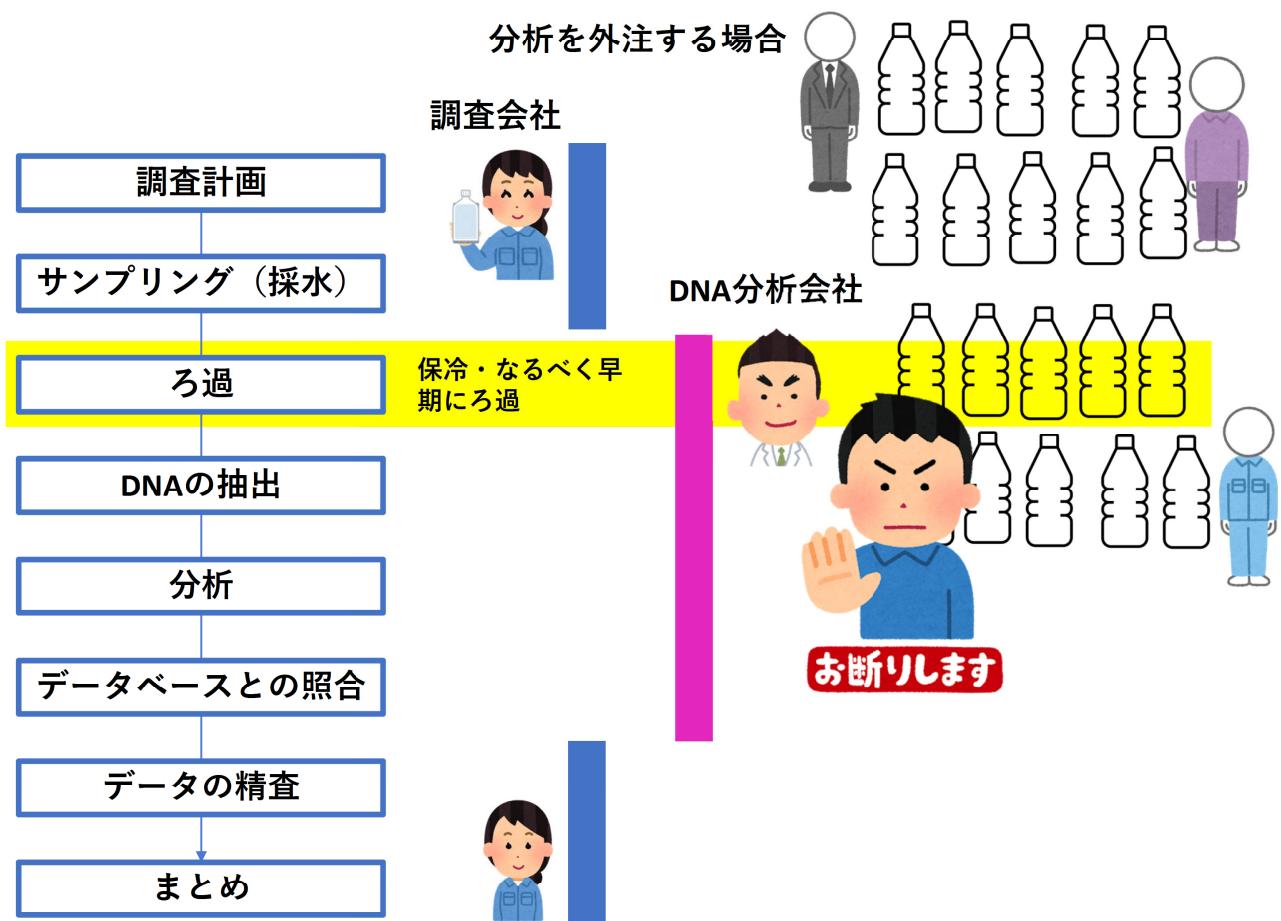
18

想定される環境DNA調査の実施体制

環境調査受注者



19



20

ろ過を分析会社に依頼するときの課題

課題1 サンプル到着からろ過に要する時間

調査に適した時期がある ⇒ 調査時期の集中 ⇒ 大量のサンプルが同時期に発生
大量のサンプルが集中すると、ろ過作業が困難

課題2 現地から分析会社への輸送に要する時間

発送・配送条件と採水～ろ過までの所要日数

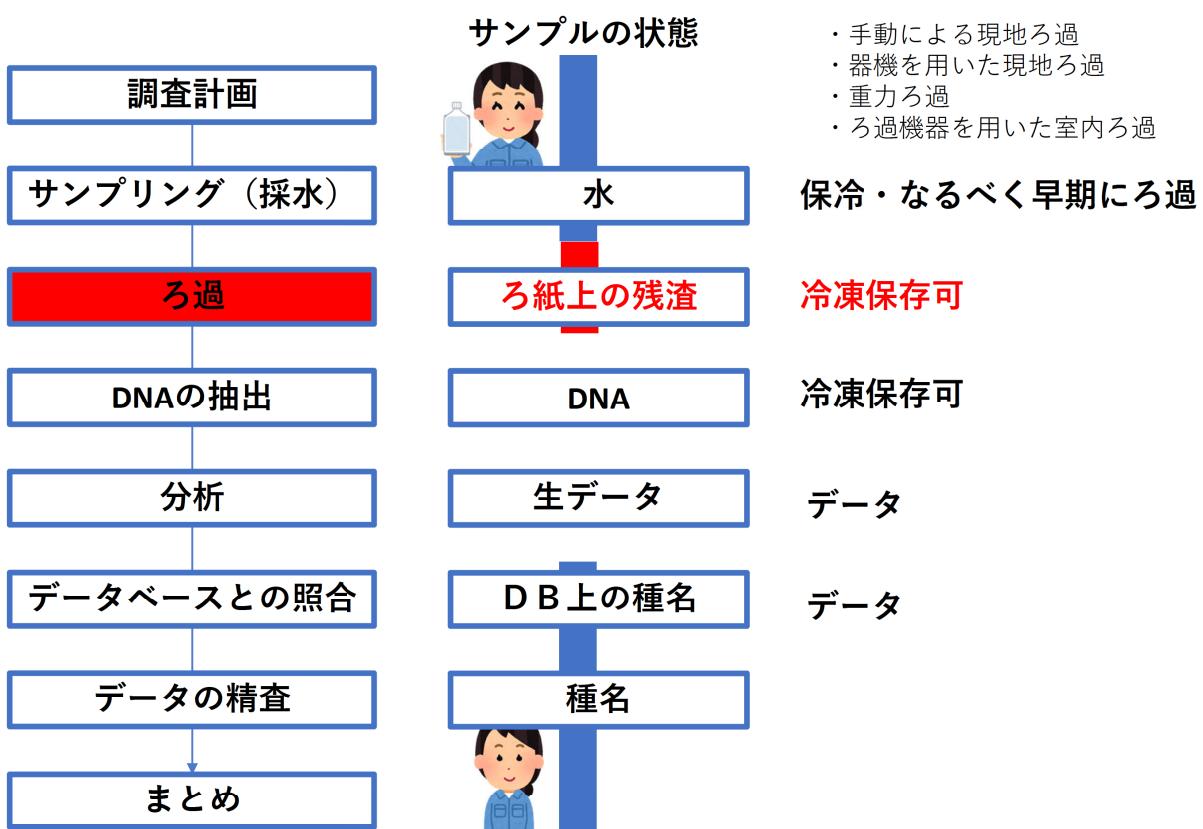
発送・配送条件	水	木	金	土	日	月
当日発送・翌日到着			採水			到着 3日目
当日発送・翌々日到着		採水		休み	休み	4日目
翌日発送・翌々日到着	採水	発送				5日目

ろ過までに時間要する場合がある

DNAの品質が結果を左右するような分析系に対応できない場合がある

21

分析を外注する場合



22

ろ過を調査会社で実施するメリット

メリット1 品質の安定したサンプルを分析に供することができる

サンプリング後、時間を空けずにろ過ができる

>>ろ紙は冷凍保存が可能。分析会社へのサンプルの集中を防ぐことができる。

>>水国調査以外の新しい分析系への展開も（環境RNA、定量MiFish...）

メリット2 経費や負担を抑えることができる。

1サンプルあたり4000円～必要なろ過経費が不要

輸送費を抑えることができる。

>>水の場合、1 L サンプル12本程度単位で輸送費がかかる（冷蔵）
ろ紙は、コンパクトにまとめて送ることができる（冷凍）

現地ろ過により、現地での水サンプルの運搬の負担を軽減可能

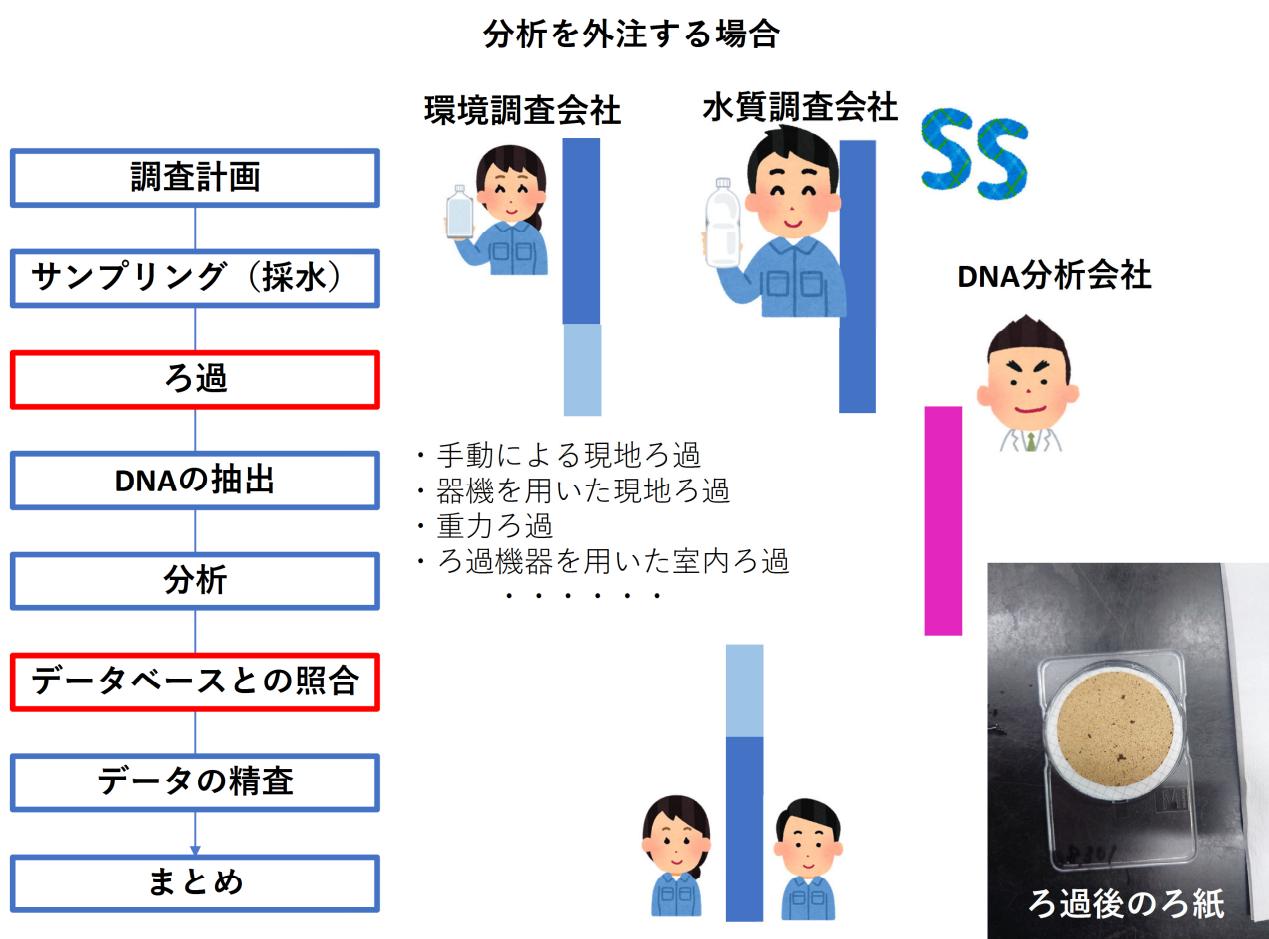
メリット3 予備サンプルを活用した、フレキシブルな調査

分析に供しないサンプルを一時的に保存し、必要に応じて追加分析が可能

>>地点や時間的に細かい予備サンプルを取得

分析結果や現象を踏まえながら、分析サンプルを追加可能

23

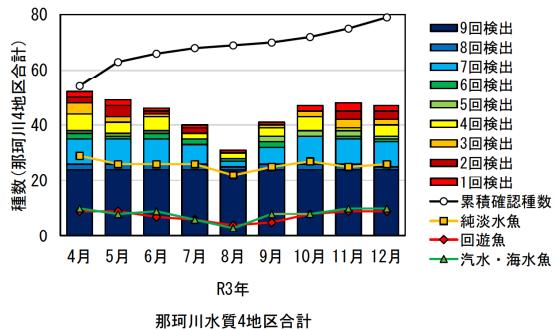


24

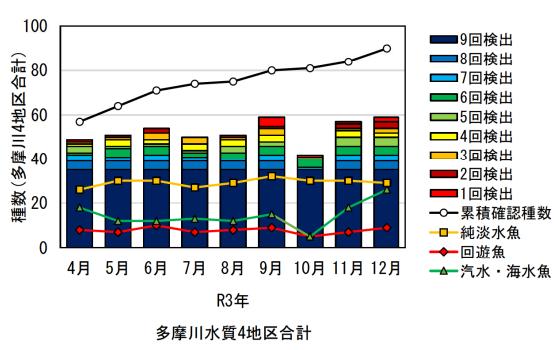
定期水質調査を利用した通年の生物情報

月別の魚類相の変化（R3：那珂川4地区、多摩4地区）

那珂川



多摩川



回遊性魚類の月別検出状況（令和3年、那珂川、多摩川）

河川	種名	遊泳型	生活型											
			4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
那珂川 4地区	ニホンウナギ	底生	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	マルタ	遊泳	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	アユ	遊泳	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	サケ	遊泳	回遊	●										
	シラウオ	遊泳	回遊		●									
	ウツセミカジカ（降海回遊型）	底生	回遊	●	●	●	●	●		●	●	●	●	●
	カマキリ	底生	回遊			●								●
	オウギハゼ	底生	回遊											
	ウキゴリ	底生	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	スミウキゴリ	底生	回遊	●	●									●
	シロウオ	底生	回遊	●	●									
	ボウズハゼ	底生	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	ミミズハゼ	底生	回遊											
	ニホンウナギ	底生	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	マルタ	遊泳	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
多摩川 4地区	アユ	遊泳	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	シラウオ	遊泳	回遊											
	テンジクカワアナゴ	底生	回遊									●		
	ウキゴリ	底生	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	エドハゼ	底生	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	スミウキゴリ	底生	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	ニクハゼ	底生	回遊							●				
	ビルソング	底生	回遊	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	ボウズハゼ	底生	回遊					●	●	●	●	●	●	●
	ゴクラクハゼ	底生	回遊					●		●	●	●	●	●
	イソミミズハゼ	底生	回遊		●									

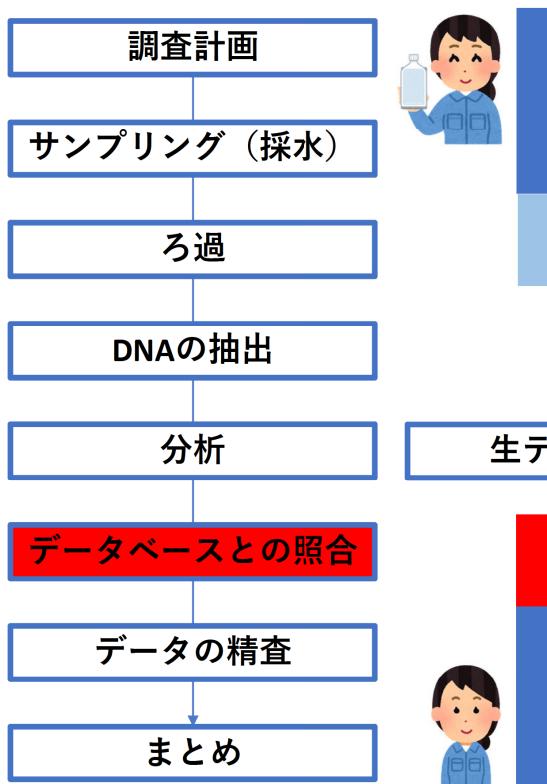
- 毎月出現する種が、那珂川で25種、多摩川で35種存在し（主に淡水性魚類）、環境DNAの結果に一定の再現性が確認された
- 那珂川のシロウオ、多摩川のボウズハゼなど、回遊生態と一致した検出状況がみられ、環境DNAでも回遊性魚類の生態がある程度評価可能であると考えられた

河川水辺の国勢調査への環境DNA導入に向けた取り組み村岡敬子・菅野一輝・篠原隆佑・天羽淳・中村圭吾、土木技術資料 64-5、(2022)

25

調査会社

分析も含む一連の作業の流れを知つて利用することをおすすめしたい。環境DNA調査技術は、まだまだ進化します！



やってからこそ
気付く課題もある

完成を待っては
前に進めない

←水国の提出データのひとつ

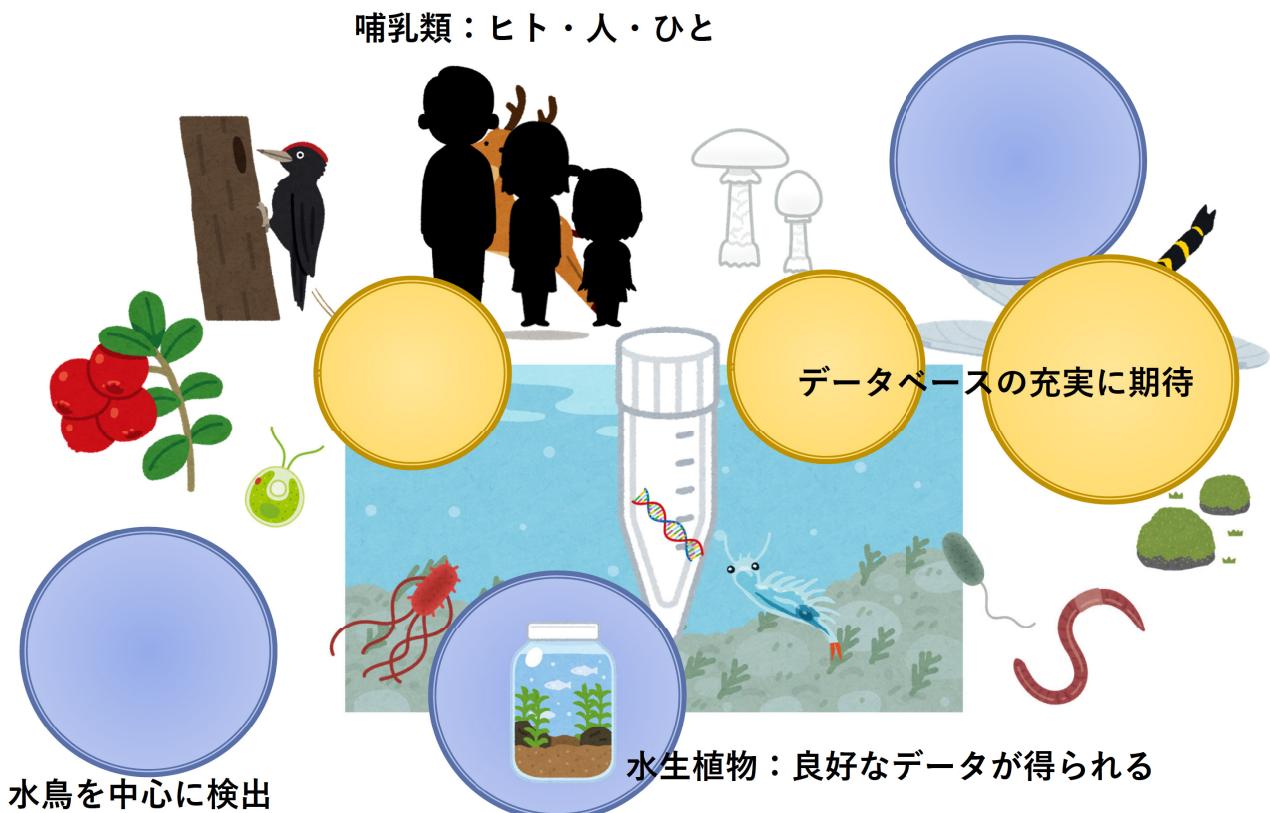
←いずれ調査会社で取り扱う場面が...

- 情報や手法は変化・進化し続けている
環境省のチェックシート
新しいパイプライン
新規に登録されるDNA情報....
- >>過去の生データの再分析



26

水国調査（魚類）用環境DNAから…



27

まとめ



- ・河川水辺の国勢調査への環境DNA実装は R 8 から！
- ・既に水国以外の場面でも、様々な使われ方が！
- ・研究分野でも、次々と新しい技術が生まれています！

環境DNAは、走らせながら進化している技術です。
使いながら共に成長していきましょう！



The 7th Annual Meeting of The eDNA Society
第7回 環境DNA学会 つくば大会

2024.11.30 ~ 12.4
つくば国際会議場
Tsukuba International Congress Center

Core Dates
12.2 ~ 12.3