

微量なDNAを取り扱う環境DNA調査では、汚染によってサンプル中に混入した微量な物質が結果に大きな影響を及ぼします。河川水辺の国勢調査(以降水国調査)の環境DNA調査では、汚染を防ぐとともに、汚染の有無を検証するため、水国調査の実施体制や調査内容を踏まえた、水国調査独自のサンプル等の取り扱い方法が定められています。

① コンタミネーションを防ぐために、採水瓶は必ず新品を用いる



偽陽性を引き起こすコンタミネーションを防ぐために、**水国調査では採水瓶は常に新品のものを用い(再利用はしない)、使い捨て手袋を必ず用いる。DNAの除染を行う**などを徹底する必要があります。また、魚の飼育水槽や漁具、外気などから侵入したDNAもコンタミネーションの原因となるため、調査用具等の保管場所には注意が必要です。

② 調査資材の汚染防止を徹底し、採水バケツ等はあらかじめ必要数量を用意する

採水瓶の入手後速やかに
汚染が生じない環境下で栓をし、保管する

現地で使う採水バケツ等は、必要な地点数分を用意する

現地でのバケツの除染は、原則行わない



キャップと本体が別々に梱包されているものが納品された場合は、納品後速やかに、全ての採水瓶のキャップを閉める。

・閉栓作業は**汚染源となる可能性があるものと同じ空間に無い場所**で実施
例: 漁具や魚の水槽と同じ空間では行わない
・作業は清潔な服装で、使い捨て手袋やマスクを着用して行う。



塩素剤でバケツや器具を除染する
・バケツが完全に浸らない場合は、方向を変えながら、全方向が除染できるようにする。
・塩素剤の濃度は製品の記述に従う。



水道水で塩素をすすぎ流した後、**純水で表面を洗い流す**



風乾させた後、バケツを未使用のビニール袋に**個包し**、口を閉じる

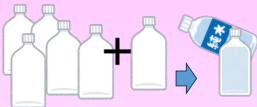
注意

- ・タオルやふきんでの拭き取りはしない。きれいな状態のペーパータオルは可。
- ・風乾は、きれいな空間で行うこと。単に乾かすだけでなく、塩素を完全に除去する意味もある。
- ・小さな部品等の風乾中はペーパータオル等の上に置き、その上にペーパータオルをかぶせる。

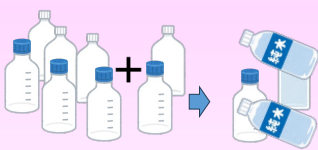
③ 使用する採水瓶等の条件毎にフィールドブランクを用意する

・フィールドブランクに用いる**純水は現地で開栓**する(実験室で用意する場合も、1フィールドブランク分を採水瓶に用意し、現地以外では開栓しない)。
・同一調査・季の調査で同じ条件で用意した採水瓶のみを使う場合は、複数の調査日程であった場合においてもフィールドブランクは**調査の最終日に1回**とれば良い。下記の様に、複数のフィールドブランクが必要な場合は、調査の最終日にフィールドブランクをまとめてとるか、条件の異なる用具に切り替わる前にフィールドブランクを用意する。フィールドブランク用の純水は、フィールドブランクの個数分を用意する。

採水瓶のみを使う場合



① 採水瓶は、採水・フィールドブランク共に新品の採水瓶を使うものとし、同調査・季で採水する地点数+α(フィールドブランク用)の採水瓶を用意する。



② 用意したタイミングや製品が異なる複数パターンの採水瓶を用いる場合は、タイミング・製品の組み合わせ毎に1本のフィールドブランク用の採水瓶を用意する。(複数のフィールドブランクが発生)

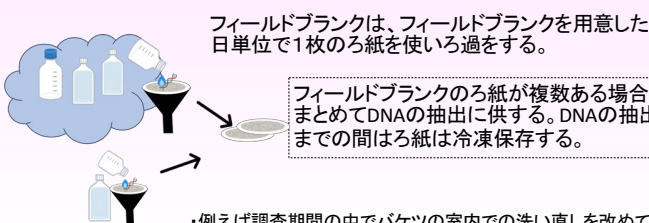
バケツを使う場合



現地ろ過を行う場合、最初の地点でバケツに純水を移し、採水瓶に移す。

・バケツをビニール袋から取り出し、純水を1L程度入れてバケツの表面をまんべんなくリンスした後、フィールドブランク用の採水瓶に移す。
・同一の方法・タイミングで除染を行ったバケツは、1回のフィールドブランクをとればよい。
・異なるタイミングで除染を行ったバケツを、同一調査・季の中で使う場合は、**その都度1回のバケツフィールドブランクをとる。**
(複数のフィールドブランクが発生)

④ 複数のフィールドブランクサンプルをひとつのサンプルにまとめる

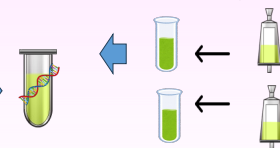


フィールドブランクは、フィールドブランクを用意した日単位で1枚のろ紙を使いすぎる。

フィールドブランクのろ紙が複数ある場合、まとめてDNAの抽出に供する。DNAの抽出までの間はろ紙は冷凍保存する。

・例えば調査期間の中でバケツの室内での洗い直しを改めて行った場合は、洗い直しを行った日のフィールドブランクが新たに発生する

フィールドブランクの分析は同一調査季に1検体となる



カートリッジフィルターによる現地ろ過を行う場合において、複数のフィールドブランクが発生した場合は、DNAを精製する段階でひとつにまとめる。

やむを得ない事情で現地でバケツの除染を行い採水を行う場合は、除染の都度採水前にフィールドブランクを作成し、ろ過～DNAの抽出～分析はそれぞれ個別に行う。

⑤ 採水からろ過の開始までは2日(48時間)以内を基本とし、最大でも3.5日(84時間)以内に実施する。これを超える場合は、基本的に現場でろ過を行う