



contents

1. 学会長挨拶
2. The eDNA Society International Meeting 2023
3. 第6回環境DNA学会九州大会
4. 環境DNA研究最前線(第6回)
5. MtInsects-16Sを用いた昆虫類の環境DNA解析
6. 編集あとがき／ニュースレター編集委員
7. 環境DNA学会理事・監事・委員一覧

学会長挨拶	2
The eDNA Society International Meeting 2023 (第5回環境DNA学会大会)	3
実行委員長による開催報告とお礼	3
ポスター賞受賞者の声	7
動物プランクトン動態の復元手法としての堆積物DNAの有効性と特異性	7
環境に秘めたRNAの囁きに耳を傾けて	7
第6回環境DNA学会九州大会	9
開催概要	9
セッションおよび集会報告	10
標準化委員会ワークショップ: 令和6年3月「環境DNA調査・実験マニュアル」はどう変わる?...	10
企画セッション1: どう使う?環境DNA各省庁の取り組み	11
企画セッション2: 環境DNAはネイチャーポジティブにどう貢献するか?	11
自由集会 1: 環境DNA研究に欠かせないDNAデータベースの現状と課題...	12
自由集会 2: 水を汲むのはもう飽きた!~水以外を媒体とする環境DNA分析~	12
環境DNA研究最前線(第6回)	14
環境DNAデータベースANEMONE DBとその活用	14
MtInsects-16Sを用いた昆虫類の環境DNA解析 -従来のmtDNA COIプライマーとの比較-	17
専門家コメント	20
編集あとがき／ニュースレター編集委員	21
環境DNA学会理事・監事・委員一覧	22



源 利文（神戸大学大学院人間発達環境学研究科 教授）

2023年は、5月に実施した大津での国際大会に加え、12月の九州大会と大会が2回開催される、やや忙しい1年でした。環境DNA学会として初めて開催した国際大会には、19カ国から約250人の参加者を迎え、大きな成功を収めることができました。同じ年に2回目の大会となった九州大会では、多くの参加者を得ることができるかと心配しましたが、蓋を開けてみれば、202人の参加を得て例年以上の盛り上がりとなりました。海外では韓国、中国、オセアニアで環境DNA学を専門とする学会が正式に立ち上がっているとのことで、国際的にも国内的にも環境DNA学の隆盛を実感することができた1年となりました。

環境DNA学の進展においては、大会における発表テーマが少しずつ多様化していると感じています。マクロ生物の環境DNA分析においては、ある特定の種のDNAがどこから検出されるかといったもっともシンプルな解析から、DNAの量的な評価、メタバーコーディングによる網羅的な解析へと進化し、生き物がどこにどれだけ分布しているかということをも明らかにするためのツールとして成熟しつつありますが、この1年間の大会での発表はそれをさらに進化させるものが増えてきました。同定の難しかった複合种群の解析、核/ミトコンドリアDNA比や環境RNAを用いた生理状態の解明など、これまで概念実証にとどまっていた解析技術が発展し、実用に近づいて来ています。このような様々な方面への発展には、多様な参加者によるボトムアップ的な議論が必須であり、学会大会はその意味で重要な役割を果たしています。

一方で、生物分布を知るための手法としては、具体的に社会に実装され始めています。九州大会でも議論されたように、各省庁の主導する生物モニタリングへの導入、国際的なネイチャーポジティブの流れに対応した経済界の要請、国際的な標準化の進展といった、トップダウン的な要素への対応も今後の重要な課題となるでしょう。学会としては、マニュアルの改訂、各省庁とのラウンドテーブルの実施、関連プロジェクトや標準化タスクフォースへの学会理事の参加などを通じてこれらの課題に対応していますが、正直に言えばやや手が回っていないというところもあります。今後、より多くの会員の皆様のお手をお借りして、様々な課題に取り組んでいきたいと思っておりますので、ぜひ皆様のご協力をお願いいたします。

このほかにも学会の国際化など学会としての課題はたくさんあるのですが、今後もこの分野の学問としての発展や社会への展開を会員の皆様とともに楽しんでいきたいと思っております。今後とも変わらぬご支援を賜りますようお願い申し上げます。

The eDNA Society International Meeting 2023 (第5回環境DNA学会大会)

実行委員長による開催報告とお礼



山中 裕樹 (生物多様性科学研究センター、龍谷大学 准教授)

2023年の5月、滋賀県大津市においてThe eDNA Society International Meeting 2023を開催いたしました。大会のテーマ“Moving from knowledge into practice”のもと、急速に進展している環境DNA分析の技術とそこから生まれた知見をいかに社会の中で活用するかに主眼を置いて議論が交わされました。各国で実施されている具体的な生物モニタリングプログラムや世界規模での展開を目指すサンプリングプロジェクト、そして生み出されるデータに対して社会の中でどのように信頼性と価値をもたせるかまで、様々な事例やアイデアが紹介されました。私たちが手にしたこの環境DNA分析というツールが社会の中で普遍的に利活用される未来を共有するための、価値ある大会となりました。

大会の準備と運営は、源利文博士(神戸大学)を大会長とした14名の大会実行委員会と学会事務局によりなされました。日程は2023年5月17日から5月19日で、コア日程終了後は2日間にわたって京都および大津でのエクスカージョンが行われました。参加者は19か国から約250名を数え、大変盛況な大会となりました。琵琶湖南西側の湖岸に位置するピアザ淡海を会場とし、日本の環境DNA研究が始まった地である琵琶湖の眺望を楽しみながらの大会となりました。多くの賛助企業からご協賛を賜るとともに、琵琶湖を望む会場ホワイエには展示ブースも多く出展され、展示パネルや装置を前に出展者と参加者との活発な歓談がなされました。3つの基調シンポジウムでも、一般講演でも、またポスター会場においても、発表者と聴講者との間で熱のこもった質疑応答があり、COVID-19のパンデミック後、初の対面開催であった本大会は、大変重要な意見交換の場となりました。



大会のスナップショット

大概概要

大会1日目には開会式が行われ、その後の基調セッション1では、環境DNA分析を活用したエビデンスに基づく保全管理についての話題が取り上げられました。夜には懇親会が開催されました。大会2日目には、朝から環境DNAを用いた生物多様性ホットスポットの理解に関する基調セッション2が行われました。その後、企業ワークショップや一般講演、ポスター発表が行われました。大会3日目には、環境DNA分析の知識から実践への移行に焦点を当てた基調セッション3が行われました。その後、企業ワークショップや一般講演が行われ、閉会式では環境DNA分析が科学と社会に与える影響について閉会講演が行われました。



懇親会での乾杯の様子

ハイライト

開会式における源大会長の挨拶により大会の幕が開かれました。つづいて、近藤倫生博士(東北大学)から環境DNA分析を用いた生物多様性モニタリングネットワーク(ANEMONE)の紹介がなされ、環境DNA観測が生態系予測において持つ大きな可能性と、社会実装の実現に向けたビジョンが共有されました。

基調セッション1のタイトルは、“From innovation to practice: Using eDNA to support evidence-based management”で、山中裕樹博士(龍谷大学)がオーガナイザーでした。このセッションは環境DNA分析によって得られたデータを生物多様性保全や漁業資源管理に実践的に活用するプラットフォームを構築するための議論の場を提供しました。4人の講演者が登壇し、環境DNA分析の最適化や将来のモニタリングプログラムの効率化に関するさまざまなトピックが紹介されました。

基調セッション2は“Understanding biodiversity hotspots using eDNA”とのタイトルで、荒木仁志博士(北海道大学)と梶田忠博士(琉球大学)が主催し、2人に加えて3人の講演者が登壇しました。このセッションの目的は、様々な生物多様性ホットスポットについて環境DNA分析で得られた基盤情報を共有することで、マングローブ林、サンゴ礁、海域と陸水域を含めた多くの研究例が紹介されました。

基調セッション3は、“Environmental DNA moving from knowledge into practice”と題され、土居秀幸博士(京都大学)の主催により、環境DNA調査の現状、その潜在的な応用、および生態モニタリングのための課題について話題提供と議論がなされました。3名の講演者が登壇し、生物多様性保全や漁業資源管理のために環境DNA分析から得られるデータの実践的な利用について参加者が学び、議論する場となりました。

閉会の基調講演では、Mehrdad Hajibabaei博士(University of Guelph)が、生物多様性と人間の幸福の重要な関連性について論じました。博士は“Biodiversity Crisis”が進むなか、生物多様性解析における効果的なツールの切実な必要性を強調し、環境DNA分析がこの危機に対して大きな貢献をしていることを認めつつも、標準化されたプロトコルの不足によって環境評価や生物モニタリングプログラムでの環境DNA分析の利用が進んでいないことを指摘しました。環境DNA分析技術の標準化を進めることにより、生物多様性危機の理解と対処における環境DNA分析の能力を最大限活用することが提案されました。生物多様性モニタリングの標準化ツールとして環境DNA手法を進展させるという視点は、本大会および本学会の目的に合致しており、改めて本大会が時節を押さえた価値ある集会であったことを指し示すものでした。

また、大会を通じ、39件の一般講演と80件のポスター発表が行われました。最優秀ポスター賞は、槻木玲美博士(松山大学)と夏非氏(東京大学)に授与され、閉会式で表彰されました。



ポスター賞授与式の様子。左から梶木氏、源大会長、夏氏。

御礼

環境DNA学会は、本大会の成果を生かし、今後も、本大会の参加者を含む各国の研究者や組織と協力して環境DNA分析を進化させ、生物多様性の本質をより深く理解し、生物多様性保全を促進することを目指します。大会にご参加くださった方、そして開催に向けて協賛やご寄付をいただいたすべての協賛企業、滋賀県、大津市、そしてRichard Lounsbery Foundationに心より感謝いたします。なお、この大会の詳細な報告は、Environmental DNA誌に掲載しておりますので是非ご覧ください (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/edn3.465>)。



参加者の集合写真

■ 動物プランクトン動態の復元手法としての堆積物DNAの有効性と特異性



梶木 玲美 (松山大学法学部 教授)

環境DNA分析手法の飛躍的な進展は、堆積試料を用いた古生物分野にも革新をもたらし、これまで全く情報が得られなかった生物相の復元が達成されつつある。一方、魚類資源の餌資源として重要な役割を担う動物プランクトンは、その重要性にもかかわらず長期データは得られず、水産資源の低迷に餌資源がどのように寄与しているのか未だ十分な評価ができていない。

この状況を打開すべく、本研究では、琵琶湖・瀬戸内海(別府湾)を対象に主要な動物プランクトンのカイアシ類・ミジンコ類の長期復元を明らかにすることを目的とし、堆積試料に環境DNA分析を適用した。その結果、100年以上前の堆積層から連続的に、各種のDNA(堆積物DNA)が検出され、時代に応じてその濃度が急速かつ劇的に変化する事を見出した。濃度変化が何を意味するのか、さらに現存量や休眠卵量など生態特性に関する観測結果と比較した所、DNA濃度はカイアシ類ではバイオマスを、ミジンコ類はバイオマスではなく休眠卵量を反映する可能性が高いことが判明した。これらの結果は、環境DNA分析を堆積試料へ適用すれば、過去の動物プランクトン動態を捉える有効なツールになりえること、ただし、復元できる特性は、種によって異なることを示している。水の底に眠る環境DNAのビッグデータ活用は、生物相変化の実態解明を促進させる、過去から現在を俯瞰する新たなモニタリング手法としての展開が期待される。

■ 環境に秘めたRNAの囁きに耳を傾けて



夏 非 (東京大学新領域創成科学研究科 修士課程)

留学生である私は、分子生物学など「ミクロ」な生物学の色が濃い学部に入ったが、魚などの「マクロ」な水生生物と触れ合いたいという思いから、アフリカツメガエルを扱う発生生物学の研究室を選んだ。そこで発生生物学ではなく、環境DNA技術と出会い、水を取るだけで手軽に水圏生物の多様性情報が得られることに魅了された。そして多様性だけでなく、生物相のさらなる情報を獲得するために、生物の健康状態などによっ

て環境中への放出量の変動する環境RNA、特に環境mRNAが次の鍵になると思った。

環境RNAをツールとして扱う前に、生物がどんなRNAを環境に放出しているのか、基盤となる情報の獲得を目的として、今回の研究を行なった。本研究では、RNA発現パターンがよく調べられた生物の中から、学部のラボにあるアフリカツメガエル(図1)と隣のラボにあるイトヨ(図2)を選んだ。扱いが難しい環境RNAサンプリングの試行錯誤を何度も行い、ようやく質と量が十分に取れたので、思いきりRNA-Seqに出して解析を行った。その結果、両生類から魚類に渡って、似たような環境RNAを放出していることがわかった。しかも、従来の研究でストレスマーカーとして使われた遺伝子も数多く検出された。



図1. アフリカツメガエル



図2. イトヨ

そして今はこの結果を元に、海の中で生物多様性が最も豊かなサンゴ礁(図3)において、環境RNAによってどこまでの情報を取り出せるのかを挑戦している。



図3. 石西礁湖

第6回環境DNA学会九州大会

開催概要

第6回環境DNA学会は、清野聡子氏(九州大学)を大会長とし、「環境DNA-生態学の未来を拓く」というテーマのもと、2023年12月2日-5日に福岡市で開催されました。12月2日には採水エクスカージョン、12月3日には西新プラザ(福岡市早良区)にて公開シンポジウム「環境DNA-革新技術が開く科学と社会の新たな姿」が開かれました。



公開シンポジウムの様子



12月4-5日には、九州大学伊都キャンパス(福岡市西区)において、標準化委員会ワークショップ、企画セッション2件、自由集会2件とともに、51件のポスター発表がされました。ポスター賞は下記の方々(敬称略)に授与されました。

【一般部門】

郡司 未佳(日本工営株式会社)

「河川魚類調査への活用を目指したパッシブサンプリングツールの実証試験について」

【学生(学部生・大学院生)部門】

伊藤 青葉(東北大学大学院)

「環境DNAと階層ベイズモデルを用いた河川魚類分布推定の高精度化」

【中高生部門】

日野 友晴(淳心学院中学校高等学校)

「救え！トゲナベブタムシ！～環境DNA分析を用いた生息域調査～」



伊都キャンパスにおける大会のスナップショット

セッションおよび集会報告

■ 標準化委員会ワークショップ: 令和6年3月「環境DNA調査・実験マニュアル」はどう変わる？

源 利文 (神戸大学)、高原 輝彦 (島根大学)、村岡 敬子 (国立研究開発法人土木研究所)

環境DNA学会が公開している「環境DNA調査・実験マニュアル」は、前回マニュアルを改定した2020年4月から既に3年以上が経過しました。この間、研究の進展や新しい技術開発、研究者らによる創意工夫が進んできたことなどを受けて、環境DNA技術標準化委員会では、本マニュアルの新たな改訂を令和6年3月の完成を目指して取り組んでいます。このセッションでは、環境DNA学会の環境DNA技術標準化委員会からの話題提供として、源利文(神戸大学)より「環境DNA分析マニュアルの発展と国際的標準化について」、高原輝彦(島根大学)より「標準化委員会の取り組みと方向性について」と題し、これまでの経緯、今回の改訂ポイントや主な変更点について説明を行いました。さらに、今回のマニュアル改定時に補強される情報として、環境DNA技術の開発・推進に精力的にかかわってこられた演者から「環境DNAメタバーコーディングデータ解析のマニュアル化について」岩崎 渉氏(東京大学)、「環境DNAのろ過方法のいろいろ」岡 慎一郎氏(沖縄美ら島財団)、「ANEMONE観測体制における環境DNA調査・実験マニュアルの活用」山川 央氏(かずさDNA研究所)の3題をご講演いただきました。会場の参加者も含めた質疑応答・意見交換では、新しい技術の適用範囲に対する質問や、マニュアル更新にあたっての技術的な課題についての意見交換が行われました。(文中敬称略)

■ 企画セッション1: どう使う？環境DNA各省庁の取り組み

土居 秀幸 (京都大学)、清野 聡子 (九州大学)、村岡 敬子 (国立研究開発法人土木研究所)

現在、各省庁では環境DNAの実装に向けた様々な取り組みが行われています。本企画セッションでは、講演とパネルディスカッションを通じて、省庁連携の可能性や将来に向けた環境DNAの広がりについて意見交換が行われました。最初に、4名の講演者（農林水産省農村振興局鳥獣対策・農村環境課 課長補佐の三田康祐氏、環境省生物多様性センター 調査科長の庄司亜香音氏、国土交通省水管理・国土保全局河川環境課 課長補佐の阿河一穂氏、国土交通省九州地方整備局博多港湾・空港整備事務所長の森住直樹氏）から話題提供をいただきました。各省庁は環境DNAをどのように活用しているのか、また社会実装に向けてどのような取り組みをしているのかについて、近年の進展も交えてご講演いただきました。その後、パネルディスカッションではこれらの講演者4名に、(国研) 農業・食品産業技術総合研究機構 農村工学研究部門の小出水規行氏、(国研) 水産研究・教育機構 水産資源研究所の堀正和氏、(国研) 国立環境研究所 生物多様性領域の今藤夏子氏、(国研) 土木研究所 流域水環境研究グループの村岡敬子氏、および(国研) 海上・港湾・航空技術研究所 港湾空港技術研究所の細川真也氏を加えて、会場からの質問も交えながら、各分野における課題と解決に向けた取り組み、特に今後の環境DNA活用の計画やデータベースの整備について意見交換が行われました。本企画セッションにより、今後の省庁連携の可能性や将来に向けた環境DNAの広がりについて意見交換が行えました。今後は、共通の研究サイトなどを設けて省庁横断的に実践していくなどの具体的な議論もありました。本セッションでの議論が今後の省庁連携や研究者と行政の連携のきっかけになることを期待しています。

■ 企画セッション2: 環境DNAはネイチャーポジティブにどう貢献するか？

近藤 倫生 (東北大学)

2030年までに自然の劣化を止め、回復基調に逆転させる「ネイチャーポジティブ」が国際的な環境目標に設定された。この目標達成に向けて、環境DNA技術には大きな期待が集まっている。本企画セッションでは、環境DNAや関連技術を活用したネイチャーポジティブの達成に向け、主としてビジネス・金融セクターからの参加者を迎え、最新事例に関わる情報共有と今後の連携・展開に向けた意見交換が行われた。TNFDタスクフォース/MS&ADインシュアランスグループホールディングスの原口真氏による講演「ネイチャーポジティブに向かう世界 -TNFDから見えるデータ課題」では、金融セクターと生態学者が共同することで、自然を回復しながら成長する新しい社会システムに向けた大潮流が生じつつあることが、分かりやすく軽妙に説明された。続いて開催されたパネルディスカッションは、東北大の近藤倫生のファシリテーションのもと、原口真氏、神奈川県環境科学センターの長谷部勇太氏、(株)フィッシャーマン・ジャパン・マーケティングの津田祐樹氏、日本郵船(株)の高曾陽平氏、NECソリューションイノベータ(株)の運天弘樹氏をパネリストに迎えて進行した。パネリストによる各社の取り組み紹介に続き、水産認証等のネイチャーポジティブに関わる具体的な仕組みにおいて環境DNAが果たしうる役割のみならず、生態系保全において地域コミュニ

ティーをエンパワーする環境DNA技術の意義、ICT技術と環境DNA技術の融合の可能性、さらには環境DNAデータをステークホルダー間のコミュニケーションツールとして利用するなど、ネイチャーポジティブ達成に向けた環境DNA技術の活用に関連した幅広いアイデア提示と議論が行われた。

■ 自由集会 1: 環境DNA研究に欠かせないDNAデータベースの現状と課題

長谷部 勇太 (神奈川県環境科学センター)

本自由集会では環境DNAの研究において非常に重要な要素であるDNAデータベースの現状と課題を共有した。一人目の神保宇嗣氏(国立科学博物館)からは日本のDNAバーコーディングに関する総括と分類学者からの視点で講演をいただいた。二人目の竹中將起氏(信州大学)からは生物地理系統研究の立場から環境DNAに期待することについて講演をいただいた。三人目の発表者であり、本集会の企画者である長谷部勇太(神奈川県環境科学センター)からは環境DNA研究者の立場からDNAデータベースの重要性について発表を行った。四人目の中村匡聡氏(いであ株式会社)からは環境DNA分析を受託する民間企業の立場と自ら貝類のユニバーサルプライマー開発やDNAデータベースの登録を行う実務者的な立場から講演をいただいた。最後に、石神唯氏(タルトゥ大学)からは日本ではあまり知られていないリファレンスデータベース・プラットフォームである「UNITE」についてご紹介いただいた。

自由集会の最後では、集会開始時に参加者をお願いしたDNAバーコーディングに関するアンケートの結果を振り返った。その結果の中でもアンケート回答者の全員が「環境DNA解析においてDNAデータベース不足で困ったことがある」と答えた点については、データベースの充実が環境DNA調査・研究において非常に重要であることを改めて浮き彫りにした。本集会を一つの契機として様々な生物分類群においてDNAデータベースを充実する取り組みが進展することを期待したい。

■ 自由集会 2: 水を汲むのはもう飽きた！

～水以外を媒体とする環境DNA分析～

坂田 雅之 (北海道大学)

本自由集会では、これまでに環境DNAを含む媒体として主に利用されてきた「水」以外の、堆積物や土壌、空気などを利用した、スタンダードな手法ではない環境DNA分析について扱った。一人目かつ企画者の坂田は堆積物・土壌を利用した環境DNA分析と、堆積物環境DNAについての簡単なレビューを報告した。二人目の中村仁湖氏(株式会社環境総合リサーチ)からは、陸上哺乳類を対象とした植物ローラー法、植物スプレー法といった、野外の植物に残された哺乳類のDNAを利用した研究の結果が報告された。三人目の中尾遼平氏(山口大学)からは空気中の環境DNA分析について、収集法の比較や動物園での実践などについて発表があった。四人目の岩本遼氏(株式会社AdvanSentinel)からは下水のような固体と液体が混じり合ったようなサンプルにつ

いて、COPMAN法(Coagulation and proteolysis method using magnetic beads for detection of nucleic acids in wastewater)と呼ばれる凝集法を用いることで濾過を必要とせずに核酸を捕集する方法についての紹介があった。本集会では、このような様々な媒体・手法を用いた環境DNA分析について発表・議論がなされた。いずれの手法においても水を用いた環境DNA分析ほどに特徴の理解や手法の最適化が進んでおらず発展途上であるが、水を用いた環境DNA分析にはできない、その他の媒体ならではの有用性が示された。例えば陸上哺乳類や鳥類は環境水からの検出は比較的困難であるが空気や植物ローラー法を用いることで検出しやすくなる可能性がある。また、夾雑物が多いような環境ではCOPMAN法や堆積物を用いるなどそもそも濾過を伴わない方法をとることでこれまでの課題を克服できる可能性がある。本集会が水以外の環境DNA分析を活性化させる一つのきっかけになることに期待したい。

環境DNA研究最前線（第6回）

環境DNAデータベースANEMONE DBとその活用



笠田 実（東北大学生命科学研究科 日本学術振興会特別研究員（CPD））

環境DNAを用いた魚類調査のビッグデータが、2022年6月2日より東北大学大学院生命科学研究科の近藤研究室によって、「ANEMONE DB」(<https://db.anemone.bio>)というオープンデータベースとして公開されています。現在（2024年1月時点）で、1745の観測データ数を誇り、202科569属682種の魚類データが登録されています。観測地点は、北は宗谷岬から南は西表島まで日本全国にまたがり、複数の観測地点では時系列データもとられています（図1）。生物多様性観測網ANEMONE（All Nippon eDNA Monitoring Network, <https://anemone.bio>）により、民間企業や市民参加も含めた継続的な環境DNA観測が続けられており、今後もさらにデータが充実していくことになるでしょう。

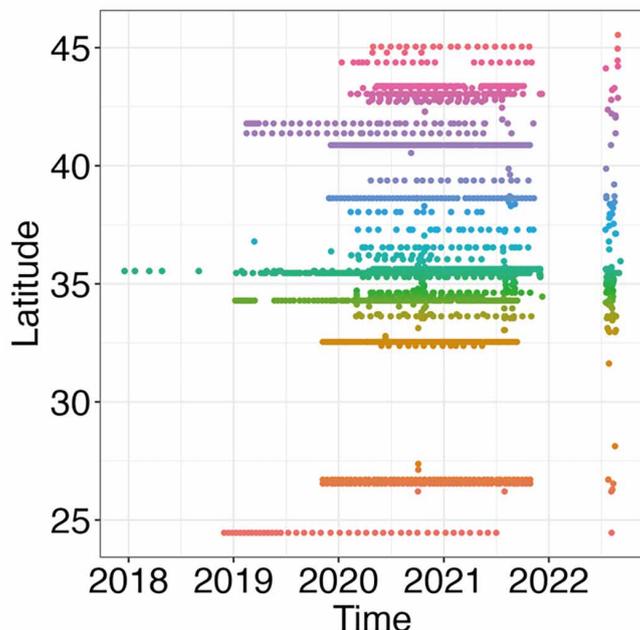


図1. ANEMONE DBの観測点の時空間分布。縦軸が観測点の緯度、横軸が時間を表す。

本稿ではまだ試行錯誤で運用中のANEMONE DBの活用と課題について述べたいと思います。まず活用についてですが、その豊富なデータ量を活かした研究利用が第一に考えられます。ANEMONE DBの環境DNAデータはUshio et al. (2018) によって開発された定量化手法を用いた方法で、DNAを定量的なデータとして扱うことが可能となっています。全国スケールでの時空間パターンの定量環境DNAデータが得られるの

で、近年急速に発展しつつある空間分布モデルや非線形時系列解析などの手法が応用できると考えられます。一方で、環境DNAと実際の生物量との関係を踏まえた上で、どのように時空間モデルに落とし込めば良いかなどは、研究の余地があるところだと思います。

次に、教育情報としての使用が考えられます。ANEMONEは市民参加のデータも多く取られており、環境DNAによる観測技術が発達してきた今、サンプリングだけなら、特別な訓練を受けなくてもできるようになってきました。そこで、環境DNAを活用して、学校教育における生物多様性の授業に繋げようという動きも出てきました(木谷ら2023、図2)。その中で、ANEMONE DBを使えば、サンプリングを実際に学生たちが行っていないデータにもアクセスすることができ、データの比較が可能になります。自分たちのいる地域とその他の地域を比べることで、さらに生物多様性への理解が深まると期待されます。ただ、現時点でのANEMONE DBは利用者登録制であり、授業で簡単に学生がアクセスできるような仕様にはなっていないので、より簡便な授業利用のために改善の必要があります。



図2. 焼津中央高校での環境DNAを使った授業の様子 (矢追雄一先生撮影)

このようにさまざまな期待がかかるANEMONE DBですが、運用開始後、いくつかの課題も見えてきました。一つ目は、運用コストの問題です。データベースの運用には多大な人的、金銭的なコストがかかります。環境DNAのデータベースの運用チームは通常のデータベース運用の知識に加えて、バイオインフォマティクスの知識も必要であり、ソフト面だけでなくハード面での問題にも対応しなければなりません。データベースを長期的に安定的に運用していくには、こうした知識、経験、技術を持ったチームが必要で、これからより充実した運用体制を整えていく予定です。二つ目は、データの登録の問題です。今のところ、ANEMONEから得られるデータのみがデータとして登録されている状態ですが、より幅広いユーザーがデータ登録できるようになれば、データベースがより充実したものになるでしょう。最後に、データの利活用についてです。本稿では、研究教育利用について簡単に述べましたが、それらを含めて、より幅広い利活用が考えられると思います。運営チームは随時アイデアを受け付けています。

一方で、実際に活用するとなると、それに合わせたカスタマイズやアップデートも必要になってくるでしょう。その辺りは、運営体制を整えることで対応できるようにし、今後、なるべく様々なユーザーに使いやすくなるような形を工夫していきたいと思っています。

参考文献

Ushio M, Murakami H, Masuda R, Sado T, Miya M, Sakurai S, Yamanaka H, Minamoto T, Kondoh M (2018) Quantitative monitoring of multispecies fish environmental DNA using high-throughput sequencing. *Metabarcoding and Metagenomics 2*: e23297.

木谷亮太、佐賀達矢、笠田実、清野未恵子、佐藤真行、丑丸敦史、源利文 (2023) 高校生を対象とした環境DNA教育の実施とその効果の検証. 第6回環境DNA学会九州大会

MtInsects-16Sを用いた昆虫類の環境DNA解析 —従来のmtDNA COIプライマーとの比較—



竹中 將起 (信州大学理学部 特任助教)

私の専門は生物系統地理学や発生遺伝学など、DNAを用いて生物の種多様性や遺伝的多様性の進化を研究しています。生物系統地理研究を実施している中で、mtDNA COI領域を昆虫類のDNAバーコーディングとして用いられていることに違和感を感じていたことがきっかけで、昆虫類の新規DNAバーコーディング領域を提案し、環境DNA解析を用いた網羅的な群集解析にも使用できるPCRプライマーMtInsects-16Sを設計しました。

私は、生物系統地理研究を実施してくる中で、従来のDNAバーコーディングであるmtDNA COI領域や、mtDNA 16S rRNA領域を用いて様々な生物の進化史を調べてきました。そんな中で、mtDNA COI領域をDNAバーコーディングとして、遺伝的に種同定することに大きな違和感がありました。COI領域は、種内変異が多く種内の地域変異を調べることに適している一方、種内変異と種間変異を区別することが困難な場合が多いです。また、同様の理由で、すべての昆虫類で一致率の高い領域を探索することが困難です。実際に、公共データベースGenBankのmtDNA COI領域を用いて全水生昆虫に共通する領域を探索しましたが、見つかりませんでした。また、カゲロウ目レベルでも見つけられず、いくつかの科レベルでも困難でした(図1)。一方で、mtDNA 16S rRNA領域には複数の共通領域を見つけることができ、最終的にMtInsects-16Sを設計しました(Takenaka et al., 2023a)。また、データベースに登録する際にはMtInsects-16Sの領域長(250~300 bp)より長い断片が適しているため、500 bpほどの断片を標的としたAQdb16Sプライマーセットも同様に設計しました。設計したプライマーは、昆虫類の全ての系統群(無翅昆虫類, 旧翅類, 新翅類, 完全変態類)を含めた13目42科66種を対象にPCRが可能であり、かつ近縁種を識別することができることも確認しました(Takenaka et al., 2023a)。当初は水生昆虫に着目していましたが、結果的にすべての昆虫類で汎用できる可能性が示唆されました。

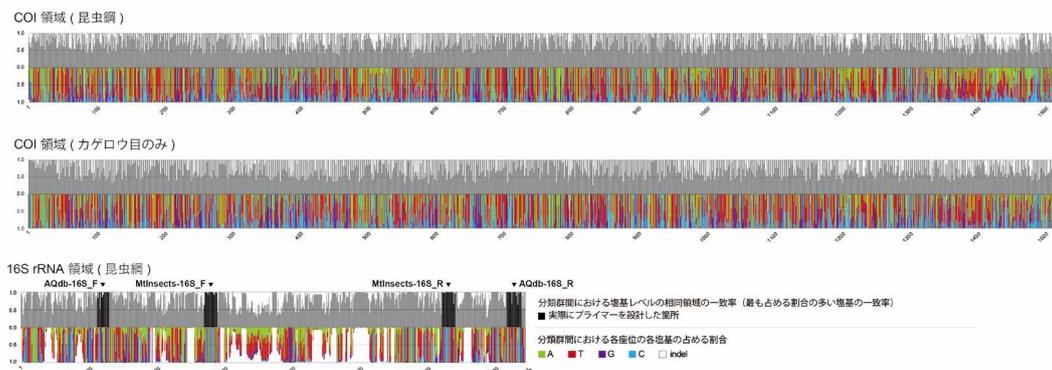


図1. 公共データベースGenBankに登録されている水生昆虫の全てのミトコンドリア遺伝子全長配列（部分列含む）から、各遺伝子領域を抜き出し、昆虫類での塩基配列の構成と一致率を示した。カゲロウ目内におけるmtDNA COI領域についても同様に示した。

MtInsects-16Sを用いた環境DNA解析を実施するにあたり、神奈川県環境科学センター、株式会社プラントビオ、そして株式会社生物技研と共同し、神奈川県の相模川と酒匂川を中心とした水生昆虫のDNAデータベースも構築しました。その結果、神奈川県内の記録昆虫種（カゲロウ、カワゲラ、そしてトビケラに限る）に対し、GenBankに登録済みのデータと合わせてmtDNA 16S領域で77%、mtDNA COI領域で83%の種を登録する充実したデータベースを構築することができました。

神奈川県の相模川と酒匂川6地点で、量的および定性的な昆虫採集調査と環境DNA分析用の採水調査を同時に実施し、我々が設計したMtInsects-16SとmtDNA COI領域に設計されたfwhF2-EPTDr2n (Vamos et al. 2017; Leese et al., 2021) を用いた環境DNA解析とを比較しました。その結果、MtInsects-16Sプライマーセットを用いた環境DNA解析において最も多くの種を検出しました(図2)。また、実際に採集された種リストに対して、16S領域では74.9%、mtDNA COI領域では40.1%の種を検出しました。しかし、mtDNA 16S領域でも採集した種の3割は検出できず、かつ全解析で検出した種のうち10.7%はmtDNA COI領域でのみ検出しました。しかし、どちらも採集数や検出DNAリード数は少なく、河川内に極めて少ないバイオマスで存在しているものと予想され、採水する頻度や、量を工夫することで、解決できるのではないかと考えています。

重要な点は、mtDNA COI領域においてすべての昆虫種を増幅するプライマーを

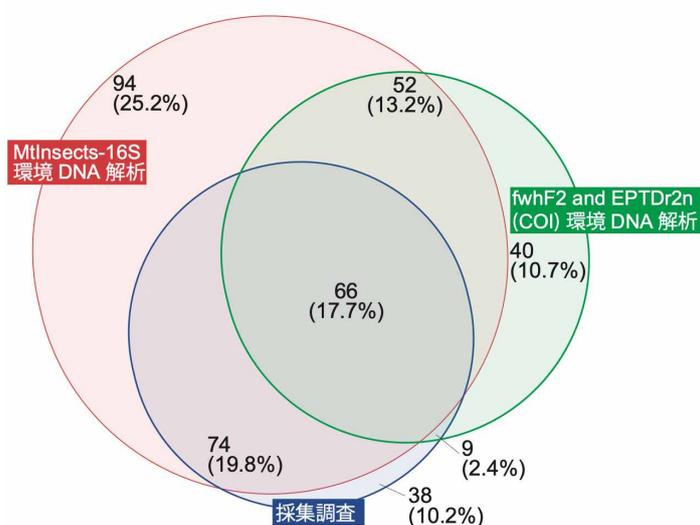


図2. 我々が設計したMtInsects-16SとmtDNA COI領域に設計されたfwhF2-EPTDr2n (Vamos et al. 2017; Leese et al., 2021) を用いた環境DNA解析と採集調査の検出種リストを比較したベン図。数字は検出種数と全検出種数内の割合を示した。

設計することは極めて困難です(私は不可能だとさえ思っています)が、mtDNA 16S rRNA領域のデータベースの充実が解決することが可能です。また、in silicoやメタバーコーディング解析の比較検討の結果、メタバーコーディングはmtDNA 16S rRNA領域が適していることも報告されています(Marquina et al. 2019)。本研究において、充実したデータベースを構築することができれば、高い威力を発揮することを明らかにしましたが、多くの地域でデータベースを構築することは急務の課題です。

最後になりますが、神奈川県環境化学センターの長谷部勇太氏には、MtInsects-16Sにいち早く興味を持っていただき、一緒に環境DNA解析を実施しました。また、信州大学の東城幸治教授、基礎生物学研究所の谷野宏樹博士、土木学研究所の岡本聖矢博士には、今回紹介した内容において多くのコメントご助言をいただきました。そして、新規DNAプライマーを設計するにあたり、環境DNA研究をされている内田典子博士には相談させていただき、このような研究紹介の機会も与えていただきました。この場をお借りして、皆様にお礼を申し上げます。本内容の一部はTakenaka et al. (2023b) に公開しています。

引用文献

- 1) Leese F, et al. (2021) Improved freshwater macroinvertebrate detection from environmental DNA through minimized nontarget amplification. *Environmental DNA* 3: 261-276.
- 2) Marquina D, Andersson AF, Ronquist F (2019) New mitochondrial primers for metabarcoding of insects, designed and evaluated using in silico methods. *Molecular Ecology Resources* 19: 90-104.
- 3) Takenaka M, Yano K, Suzuki T, Tojo K (2023a) Development of novel PCR primer sets for DNA barcoding of aquatic insects, and the discovery of some cryptic species. *Limnology* 24: 121-136.
- 4) Takenaka M, et al. (2023b) Definitive environmental DNA research on aquatic insects: Analysis optimization using the recently developed MtInsects-16S primers set. *bioRxiv* 2023-06.
- 5) Vamos E, Elbrecht V, Leese F (2017) Short COI markers for freshwater macroinvertebrate metabarcoding. *Metabarcoding and Metagenomics* 1: e14625.

内田 典子（東北大学災害科学国際研究所 助教）

環境DNA研究が隆興する一方で、水生昆虫を扱う研究者の顔触れは私が学生のころから大きく変わらない印象を持っています。これは、水生昆虫を対象とした研究では、特定の種について調べるというより群集の全体像を把握したいにも関わらず、汎用性の高い昆虫用ユニバーサルプライマーが存在しない、ということが重大な因子でした。そのため、今回竹中助教の開発したMtInsects-16Sプライマーの登場が、ブレイクスルーがもたらすと考えています。また、これまではCOI領域以外の参照配列の登録がごく少なく、COI領域について幾多の問題を認識しつつも使い続けるほかない状況でした。データベース拡充への道程は現在も容易ではありませんが、竹中先生の「データベースの充実は解決可能な課題である」という一文に、解決策は実にシンプルで、またその通りなのだ、目の前の靄を晴らされる気持がしました。今後、多栄養段階生物相や食物網全体を対象にした研究の進展も見込まれる中、昆虫類は環境DNA界のブルーオーシャンとも言えます。また上述の課題は世界各国も同じ状況であり、水生昆虫環境DNA研究者はどこに行っても打ち解けやすいというおまけ付きです。これまで昆虫類の環境DNAの動向を見守ってきた皆様、ぜひMtInsects-16Sの利用から始めてみてはいかがでしょうか。

編集あとがき

内井 喜美子 (ニュースレター編集長)

環境DNA学会にとって2023年は大きな年となりました。5月には対面の国際大会が開催され、世界中から多くの人々が集まりました。これとともに、学会は国際化を加速し、生物多様性モニタリングのための環境DNA技術の標準化に向けた取り組みの開始が重要なマイルストーンとなりました。この取り組みは、国際的な共同により、現在進行中です。

標準化に向けた取り組みに関する情報は、本号における学会長挨拶や、The eDNA Society International Meeting 2023および第6回学会大会報告など、さまざまな記事で見ることができます。連載「環境DNA研究最前線」で取り上げた、東北大学が主導するANEMONEデータベースからは、日本における生物多様性モニタリングの顕著な進展を感じ取れると思います。また、最近大きな注目を集めた研究に焦点を当て、昆虫類の新規メタバーコーディングプライマーについて開発者から寄稿いただきました。このような本号の内容からも分かるように、環境DNA学は、科学的、技術的、社会的な面で着実な進歩を遂げています。これからも、会員同士、さらにより広いコミュニティとの情報交換と知識の共有を続けましょう。

環境DNA学会ニュースレター編集委員

編集長 内井 喜美子 (大阪大谷大学薬学部 准教授)

編集委員 内田 典子 (東北大学災害科学国際研究所 助教)

坂田 雅之 (北海道大学大学院農学研究院 助教)

中尾 遼平 (山口大学大学院創成科学研究科 准教授 (特命))

村上 弘章 (東北大学大学院農学研究科 助教)

環境DNA学会理事・監事・委員一覧

理事会

会 長 源 利文（神戸大学大学院人間発達環境学研究科）

副会長 笠井 亮秀（北海道大学大学院水産科学研究院）

宮 正樹（千葉県立中央博物館）

業務執行理事

専 務 山中 裕樹（龍谷大学先端理工学部）

会計担当 今藤 夏子（国立環境研究所生物多様性領域）

庶務担当 小出水 規行（農業・食品産業技術総合研究機構農村工学研究部門）

広報担当 内井 喜美子（大阪大谷大学薬学部）

渉外担当 近藤 倫生（東北大学大学院生命科学研究科）

理 事 荒木 仁志（北海道大学大学院農学研究科）

岩崎 涉（東京大学大学院新領域創成科学研究科）

清野 聡子（九州大学大学院工学研究院）

土居 秀幸（京都大学大学院情報学研究科）

中村 圭吾（国立研究開発法人土木研究所）

堀 正和（水産研究・教育機構水産資源研究所）

益田 玲爾（京都大学フィールド科学教育研究センター）

峰岸 有紀（東京大学大気海洋研究所）

村岡 敬子（国立研究開発法人土木研究所）

山川 央（公益財団法人かずさDNA研究所）

監 事 高原 輝彦（島根大学生物資源科学部）

山本 哲史（農業・食品産業技術総合研究機構農業環境研究部門）

委員

事業委員

土居 秀幸 (京都大学大学院情報学研究科) (委員長)
荒木 仁志 (北海道大学大学院農学研究院)
小出水 規行 (農業・食品産業技術総合研究機構農村工学研究部門)
今藤 夏子 (国立環境研究所生物多様性領域)
坂田 雅之 (北海道大学大学院農学研究院)
清野 聡子 (九州大学大学院工学研究院)

環境 DNA 技術標準化委員

高原 輝彦 (島根大学生物資源科学部) (委員長)
近藤 倫生 (東北大学大学院生命科学研究所)
清野 聡子 (九州大学大学院工学研究院)
土居 秀幸 (京都大学大学院情報学研究科)
中村 圭吾 (国立研究開発法人土木研究所)
源 利文 (神戸大学大学院人間発達環境学研究科)
村岡 敬子 (国立研究開発法人土木研究所)
山川 央 (公益財団法人かずさDNA研究所)
山中 裕樹 (龍谷大学先端理工学部)

国際化委員

土居 秀幸 (京都大学大学院情報学研究科) (委員長)
荒木 仁志 (北海道大学大学院農学研究院)
内井 喜美子 (大阪大谷大学薬学部)
笠井 亮秀 (北海道大学大学院水産科学研究所)
清野 聡子 (九州大学大学院工学研究院)
源 利文 (神戸大学大学院人間発達環境学研究科)
山中 裕樹 (龍谷大学先端理工学部)

広報委員

内井 喜美子 (大阪大谷大学薬学部) (委員長)
内田 典子 (東北大学災害科学国際研究所)
坂田 雅之 (北海道大学大学院農学研究院)
中尾 遼平 (山口大学大学院創成科学研究所)
村上 弘章 (東北大学大学院農学研究所)

環境DNA学会 ニュースレター No.6

The eDNA Society NEWSLETTER No.6

2024年4月 発行

編集・発行 一般社団法人環境DNA学会

編集長:内井 喜美子

〒520-2194 滋賀県大津市瀬田大江町横谷1-5 龍谷大学内

一般社団法人環境DNA学会 事務局

email office@ednasociety.org

ホームページ <https://ednasociety.org/>