

# Press Release



報道機関 各位

2022年8月9日

国立大学法人山口大学  
東洋鋼板株式会社  
日本工営株式会社

## 迅速かつ簡易的な外来魚調査にむけた環境 DNA チップの開発

山口大学大学院創成科学研究科流域環境学講座（日本工営共同研究講座）の中尾遼平准教授（特命）、赤松良久教授らの研究グループは、東洋鋼板株式会社および日本工営株式会社と共同で、外来魚の環境 DNA を検出するための環境 DNA チップを開発し、実際にダム貯水池の環境水から外来魚の環境 DNA を検出することに成功しました。

### 研究成果のポイント

- ・医療用として用いられてきた DNA チップ技術\*1 を環境 DNA\*2 分析へと応用し、3 種類の外来魚を対象とした環境 DNA チップを開発しました。
- ・開発した環境 DNA チップを 5 つのダム貯水池に適用し、それぞれのダム貯水池の環境水から外来魚の環境 DNA を検出することに成功しました。
- ・本研究の成果は、迅速かつ簡易的に外来魚の分布情報を集め、継続的な外来魚調査およびその駆除活動に貢献できる技術となり得ることを示しました。

### 研究成果の概要

外来魚の環境 DNA を検出するための環境 DNA チップを開発し、実際にダム貯水池の環境水から外来魚の環境 DNA を検出することに成功しました。また、本研究の技術は、1 枚の環境 DNA チップを使うだけで複数の対象種を同時に検出できることから、外来魚調査のための迅速かつ簡易的な手法として利用できることが示されました。本研究の成果は、国際学術誌「Landscape and Ecological Engineering」電子版の特集号「Environmental DNA as a Practical Tool for Aquatic Conservation and Restoration」に 2022 年 6 月 10 日に掲載されました。

## 研究論文名

Development of environmental DNA chip for monitoring the invasive alien fishes in dam reservoirs

## 著者

中尾遼平<sup>1</sup>, 宮田亮<sup>2</sup>, 中村憲章<sup>2</sup>, 村松万里江<sup>2</sup>, 岡村浩<sup>2</sup>, 今村史子<sup>3</sup>, 赤松良久<sup>1</sup>

1: 山口大学

2: 東洋鋼鈑株式会社

3: 日本工営株式会社

## 公表雑誌

Landscape and Ecological Engineering

## 公表日

2022年6月10日8時(日本時間)

## 研究成果の詳細

### (背景)

外来種とは、本来その地域に生息していない生物種の総称であり、その侵入によって日本の生態系は深刻なダメージを受けていることが知られています。魚類ではオオクチバス、コクチバス(2種あわせて通称ブラックバスと呼ばれる)やブルーギルの侵入が深刻であり、これら3種はその影響力から侵略的外来種にも指定されています。そのため、外来魚の侵入防除や駆除は、日本在来の生態系を保全していくうえで早急に対処すべき課題となっています。また、ダム貯水池は上記のような外来魚がもっとも侵入・定着しやすい環境であることから、外来魚のモニタリングは、ダム貯水池の管理における重要な課題のひとつでもあります。

近年、生物調査における新たなツールとして環境DNA分析が注目されており、環境DNA分析を用いた外来魚の検出や分布調査に関する研究が世界各地で報告されています。環境DNA分析において、特定の魚類を検出する手法や、分類群を網羅的に検出する手法は確立されていますが、種数を増加させることによる分析コストの増加や、手法の複雑性、分類群の縛りなど、いくつかの課題があります。そのため、分類群に縛られず、複数の対象種を同時に、かつ簡易的に検出する技術はありませんでした。そこで本研究では、複数種や魚類群を対象とした簡易的な環境DNA分析手法の確立を目的として、医療分野で確立されているDNAチップ技術を応用して環境DNAチップの開発を行い、その後ダム貯水池の外来魚を対象としてその有効性を検証しました。

### (研究手法)

本研究では、(1)外来魚用の環境DNAチップの開発、(2)ダム貯水池を用いた環境DNAチップの野外サンプルへの適用を検討しました。まず(1)では、オオクチバス、コクチバス、ブル

ーギルという 3 種の外来魚をターゲットとして、環境 DNA チップの開発を行いました。従来の環境 DNA 分析で用いられている 3 種の検出系<sup>\*3</sup>を環境 DNA チップ用に改良し、環境 DNA チップ技術でもそれぞれの検出系で対象種のみが検出できるかどうかについて、組織 DNA を用いて確認しました。その後(2)では、国内の 5 つのダム貯水池を対象として環境 DNA チップを用いた外来魚の検出を試みました (図 1)。ここでは、リアルタイム PCR 法<sup>\*4</sup>を用いた既存の環境 DNA 分析の検出法と環境 DNA チップの検出能力を比較することで、外来魚調査における環境 DNA チップの有効性について検討しました。

### (研究成果)

本研究の(1)で開発した環境 DNA チップは、それぞれの対象種の DNA のみを PCR で増幅することができ、3 種の同時検出系として問題なく使用できることが確認されました。そのため、(2)で採水された環境 DNA サンプルを用いて環境 DNA チップによる外来魚 3 種の検出を試みたところ、それぞれのダム貯水池から外来魚 3 種の環境 DNA を検出することに成功しました (図 2)。また、環境 DNA チップの結果はリアルタイム PCR 法の結果とほぼ同様の傾向を示していたことから、環境 DNA チップがダム貯水池における外来魚調査に有効であることが示されました。また、これらの結果は、ダム貯水池における過去の外来魚の捕獲情報とも一致していることから、外来魚の生息を環境 DNA 分析によって正確にトレースできていることが証明されました。

### (今後の展望)

本研究で開発した環境 DNA チップは、環境水中に存在する外来魚の環境 DNA を検出可能であり、また従来のリアルタイム PCR 法による環境 DNA 分析とほとんど同じ検出力をもつことが示されました。また、本研究では外来魚 3 種のみを対象としましたが、環境 DNA チップの同時検出能にはまだ余力があるため、将来的には同時に検出する種数をさらに増加させることが可能です。環境 DNA チップによる複数種の同時検出には分類群の縛りがないうことから、本研究で対象とした魚類 3 種に加えて、水域を利用する哺乳類、両生類、爬虫類に含まれるような外来種 (たとえばヌートリアやウシガエル等) を同時に分析することが可能です。さらに、検出対象を外来種から希少種に置き換えれば、水域に生息する希少種をまとめて検出する環境 DNA チップを作ることでもできると思われます。また、動物以外の水生生物も適用できることから、水域の管理において重要なアオコ等の迅速な検出に使うことも可能です。

### 補足

本研究は、以下の研究助成を受けて実施されました。

- ・ WEC 応用生態研究助成 (2019-03)

## 用語解説

### 1. DNA チップ技術

従来、医療分野で利用されている DNA 分析手法であり、低コストかつ簡易的な手法で複数のターゲット遺伝子を一度に検出できる。DNA マイクロアレイ解析とも呼ばれる。

### 2. 環境 DNA

水や土などの環境中に存在する生物・動物由来の DNA の総称。魚類の場合は、体表の粘液や糞などの排泄物、表皮の細胞などが含まれる。

### 3. 検出系

環境 DNA 分析において、対象種の環境 DNA のみを PCR で増幅・検出することのできる系。本研究では3種を対象としているため、それぞれの種に固有の検出系が存在する。

### 4. リアルタイム PCR 法

環境 DNA 分析のひとつで、環境 DNA 濃度を推定することで対象種の存在や相対量を推定することが可能な手法。

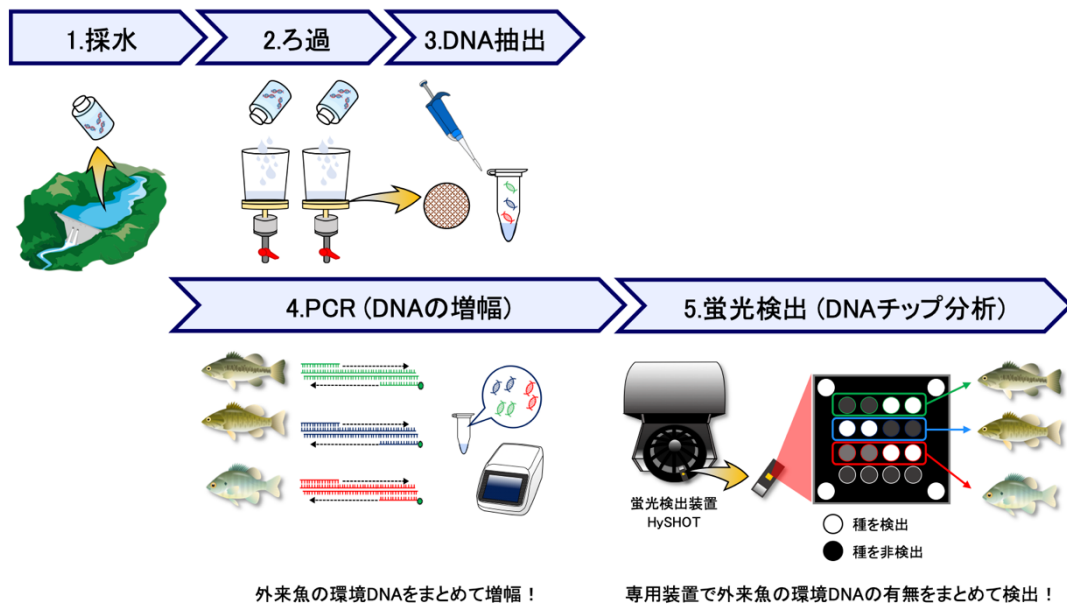


図1 環境 DNA チップ分析の概略図

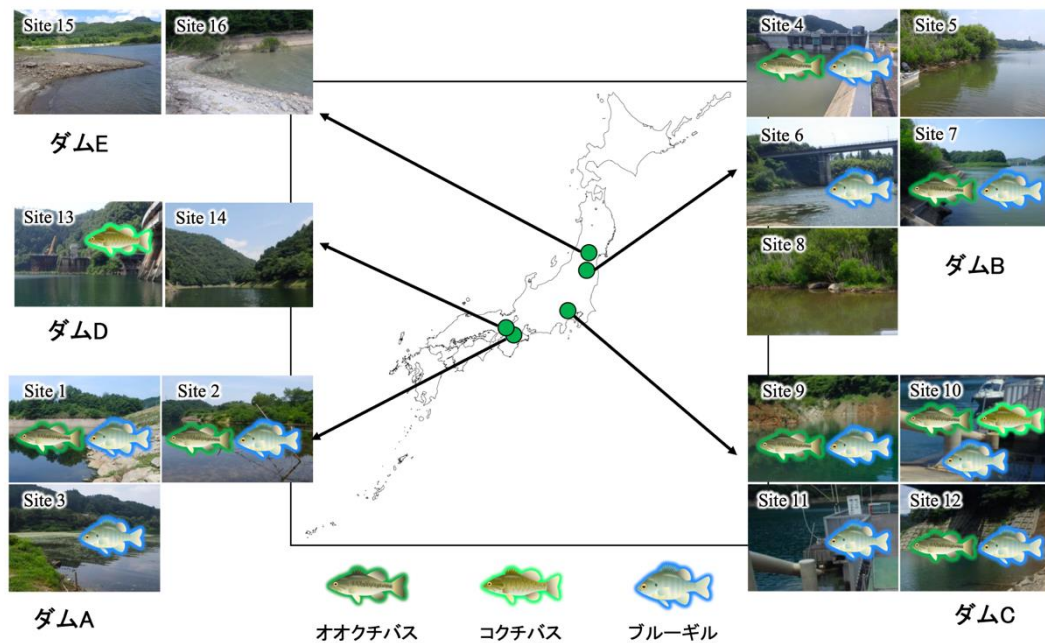


図 2. 環境 DNA チップを用いた外来魚 3 種の分析結果

**【本研究に関するお問い合わせ】**

■山口大学 大学院創成科学研究科  
 准教授（特命） 中尾 遼平  
 TEL : 0836-85-9813  
 Mail : rnakao@yamaguchi-u. ac. jp

■東洋鋼鉄株式会社 事業推進室  
 室長 岡村 浩  
 TEL : 03-4531-6850

■日本工営株式会社 中央研究所 先端研究センター  
 チーフスペシャリスト 今村 史子  
 TEL : 029-871-2072  
 Mail : a4443@n-koei. co. jp

**【報道担当】**

■山口大学

総務企画部総務課広報室

TEL : 083-933-5007

FAX : 083-933-5013

Mail : sh011@yamaguchi-u.ac.jp

■東洋鋼鋳株式会社

総務部総務・秘書グループ

TEL : 03-4531-6850

FAX : 03-3280-8160

■日本工営株式会社

コーポレートコミュニケーション室

TEL : 03-5276-2454

Mail : c-com@n-koei.co.jp