

環境 RNA と環境 DNA による 魚類の検出感度の比較と その時間変化

中道 友規

Tomoki NAKAMICHI

環境ソリューション工学専攻修士課程 2年

1. はじめに

私は2019年3月15日から19日に神戸国際会議場ならびに神戸国際展示場で開催された、第66回日本生態学会に参加し、「環境 RNA と環境 DNA による魚類の検出感度の比較とその時間変化」という題目でポスター発表を行った。

2. 発表内容

2.1 研究背景

近年、水中に存在する環境 DNA を分析する環境 DNA メタバーコーディングを用いた網羅的な種の検出が注目を集めている。直接捕獲をしなくても生息生物の調査が可能で、非侵襲的かつ高感度な検出ができる点が特徴である。しかし、環境 DNA は生物個体から水中に放出された後、ある程度の期間は残存することが知られており、水流によってその個体がいる場所から遠くへ輸送される可能性がある。これは、実際にはその場にいない種を検出してしまうという偽陽性の危険があることを意味する。本研究ではこの環境 DNA 分析の問題点を解決するため、DNA に比べて分解速度が速いとされる RNA に注目した。環境 RNA は環境 DNA と比べ輸送される距離が短くなると予想されるため、サンプリング場所付近に実際に存在する種のみを、より正確に検出できる可能性がある。一方で、RNA はその発現量によっては、細胞内で DNA より多く存在するという状況も考えられる。環境 RNA を分析した場合でもそのような状況が起こるなら、環境 RNA メタバーコーディングでは逆に環境 DNA 分析で危惧される偽陽性をさらに助長してしまう可能性がある

る。

本研究では、飼育されている魚類相が既知の水族館の飼育水を用い、環境 DNA と環境 RNA を対象としてメタバーコーディングを実施した。採水後の時間的な分解の影響をとらえるために、24時間後まで経時的に濾過を行って試料を得た。水棲大型生物を対象とした環境 RNA メタバーコーディングはこれまでにほとんど報告例がなく、この分析手法についての基礎的知見を得ることを目的とした。

2.2 方法

神戸市立須磨海浜水族園の大水槽から表層水を1Lずつ、24サンプルを採取した。水試料は、採水直後(0時間後)、6、12、24時間後というような時間毎で濾過を行い、実験室にてフィルターから環境 DNA および環境 RNA 試料を抽出した。その後、MiFish ユニバーサルプライマーを用いてメタバーコーディングを行い、試料を分析した。その後、環境 DNA と環境 RNA で検出された種の比較・検討を行った。対象としている DNA 領域に種間で明瞭な差が無い場合、種として判別不可能であったため、複合種として定義した。

2.3 結果と考察

環境 DNA と環境 RNA の検出種数を比較すると、どの時間のサンプルにおいても、環境 DNA の検出種数が多かった。また、RNA のみで検出された種に規則性はなかったが、DNA のみでしか検出されなかった種は数種存在した。

環境 RNA の経時的な大きな減少は見られなかった。これは、水族館という生物の密度が濃い場所で行ったため、RNA の量が多かった可能性があることを示唆している。

採水直後の濾過サンプルでは RNA が検出されなかったが、24時間後の濾過サンプルでは RNA が検出された種が存在した。これは、リード数の得やすい種の RNA が減少し、その分が割り振られて検出した可能性がある。

今後も、さらなる水中における RNA の研究が求められる。

3. おわりに

昨年度の生態学会での発表に続き、2回目のポスター発表となった。前回よりも、様々な専門的なご意見や本手法への期待の声をいただくことができた。

最後に、研究や学会発表に関してご指導いただきました山中裕樹講師、釣健司さん、調査地の提供をしてくださりました神戸市立須磨海浜水族園の石原孝様、寺園裕一郎様、加茂耕太郎様、所属する研究室の皆様がこの場を借りて深く御礼申し上げます。

