

バケツ一杯の水でエビ・カニの種類がわかる技術を開発

千葉県立中央博物館動物学研究科長 駒井智幸

1 研究の背景

海や川に生息するエビ・カニ類（十脚甲殻類）の種類を調べるには、網などの漁具を使って採集したり、水中に潜って観察するなど、多大な労力がかかる上に長期間にわたる調査が必要でした。特に、これらの甲殻類は石の下や岩の割れ目に隠れたり砂地に深い穴を掘って潜ったりなど、標本を採集するのが難しい種類も多く含まれます。近年、水生生物の体表の粘液や糞などと共に放出された DNA が水中をただよっていることが明らかになり、「環境 DNA」と呼ばれて注目を集めています。現在では、DNA は「商品のバーコード」のように簡単に読み取ることができ、しかも読み取った情報（DNA の塩基配列）から生物の種類がわかります。今回の研究では、微量な環境 DNA から十脚甲殻類の種類がわかる部分を選択的に増幅し、それを最新の機器で分析して DNA の塩基配列を読み取り、DNA を放出した種類を判定する技術を開発しました。この技術を使えば、甲殻類に関する専門的な知識がなくても、水をくんで DNA を分析するだけで、生息する十脚甲殻類の種類をわずか数日間の実験と解析で推定できます。従来の手法（目視や標本採集）では実現できなかった種多様性のモニタリングを、大きな労力と時間をかけずに長期間かつ広範囲に行うことを可能にした画期的な手法といえます。環境中の DNA をまとめて分析して生物の種類を判定する技術は「メタバーコーディング法」（多種同時並列検出法）と呼ばれており、次世代シーケンサーという最新の機器を使って分析します。この技術を甲殻類の環境 DNA に応用する上での問題は、種を特定できる DNA を環境水から選択的に取り出す分子ツール（PCR プライマー）を開発することでした。本研究は、世界に先駆けてこの PCR プライマーを開発し、甲殻類メタバーコーディング法を実用化しました。

環境 DNA メタバーコーディング法

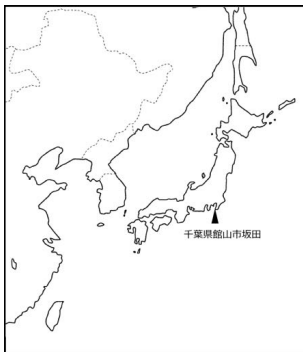


図 1. 千葉県館山市坂田の位置

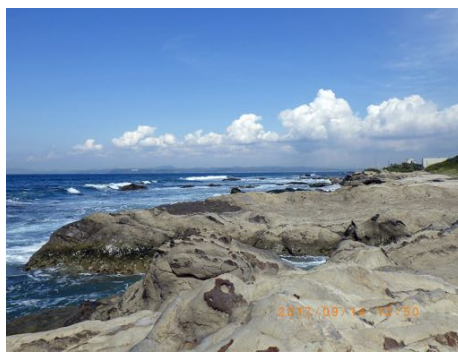


図 2. 館山市坂田の磯



図 3. バケツをほうって水を汲む

2 研究の内容

本研究では、十脚甲殻類約 200 種から得られたミトコンドリアゲノム全長配列を検討し、その結果、16S rRNA 遺伝子上に好適な領域があることがわかりました。十脚甲殻類には現在までに 14,000 種あまりが知られていますが、その多様性をカバーする幅広い分類群から 250 種を使い、その組織から抽出した DNA を用いてこれらプライマーの性能を検証しました。その結果、いずれの種からも良好な PCR 産物が増幅されました。次に、千葉県館山市坂田の海岸で採水した海水（2 リットル）から抽出した DNA を増幅して次世代シーケンサーで分析しました。その結果、42 種の十脚甲殻類を検出することができました。当該海域とその周辺の潮間帯～潮下帯から記録のある十脚甲殻類は約 90 種ですから、その約 4 割が 1 日で採水したわずか 2 リットルの海水から検出されたこととなります。

3 今後の展開

今回の手法は、水をバケツ 1 杯程度の数リットルをくんでろ過すれば、後は DNA を抽出して分析するだけの簡単なもので、魚類では同様な手法でさまざまな研究が発展してきています。しかし、十脚甲殻類の場合、分類学的な研究がいまだに不十分で、多くの未記載種や種同定の困難な種が多く存在します。今後、リファレンスとなる DNA 配列データ（比較参照のための DNA の塩基配列）を充実させるのと並行して分類学研究を進めていく必要があります。こうすることにより、十脚甲殻類に関する専門的な知識がなくても、世界中の海や川で十脚甲殻類相の調査を行うことができるようになります。

今回開発した技術では、1 回の分析で 1,000 サンプル以上（1,000 箇所以上の水）のデータを得ることが可能ですから、ある場所にどんなエビ・カニ類がいるのか調べることが大幅に簡略化されます。さらに、深海や未踏の地など生物相が明らかになっていない水域で調査を行えば、未知の種類を検出できるかもしれません。あるいは、これまでに知られていた種類でも新しい生息地を発見することが可能になります。今後の幅広い応用範囲に注目すべき手法といえるでしょう。