

昆虫類の環境DNA調査方法の開発

-魚類だけじゃない環境DNAの活用方法について-

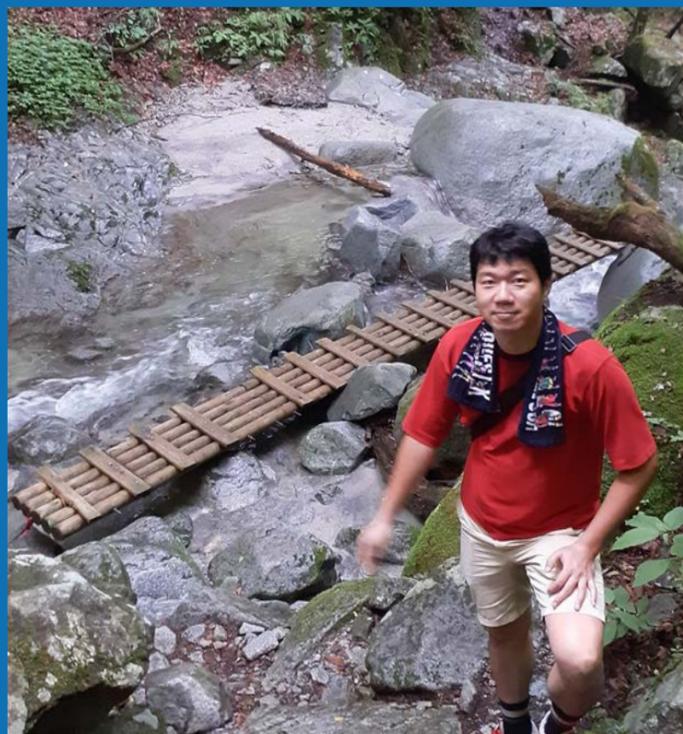
令和7年10月24日
神奈川県環境科学センター調査研究部
主任研究員 長谷部勇太

本日の内容

-  自己紹介
-  環境DNAって何？
-  昆虫類の環境DNAに関する研究

自己紹介





神奈川県環境科学センター 主任研究員 長谷部 勇太

📄 プロフィール

- ✓ 母校は東京農工大学で、院へは進学せず、卒業後は平成16年度から神奈川県庁に入庁(化学職、現在の環境技術職)。
- ✓ 入庁後12年間は公害、高圧ガス、下水道、廃棄物処理等の法律に基づく規制や届出・許可申請の審査等の業務に従事
- ✓ 平成28年度より環境科学センターに配属となり、水源環境保全事業の実施効果を評価する「河川モニタリング調査」を担当
- ✓ 令和4年度より河川モニタリング調査のうち、県民参加型の調査に新たな生物調査手法である「環境DNA調査」を導入するなどの取組を推進
- ✓ 令和7年度より横国大学で生態学の勉強を開始(修士1年)←NEW!!



環境DNA分析作業の図



環境DNAって何？



-環境DNAとは-

環境DNA (eDNA)

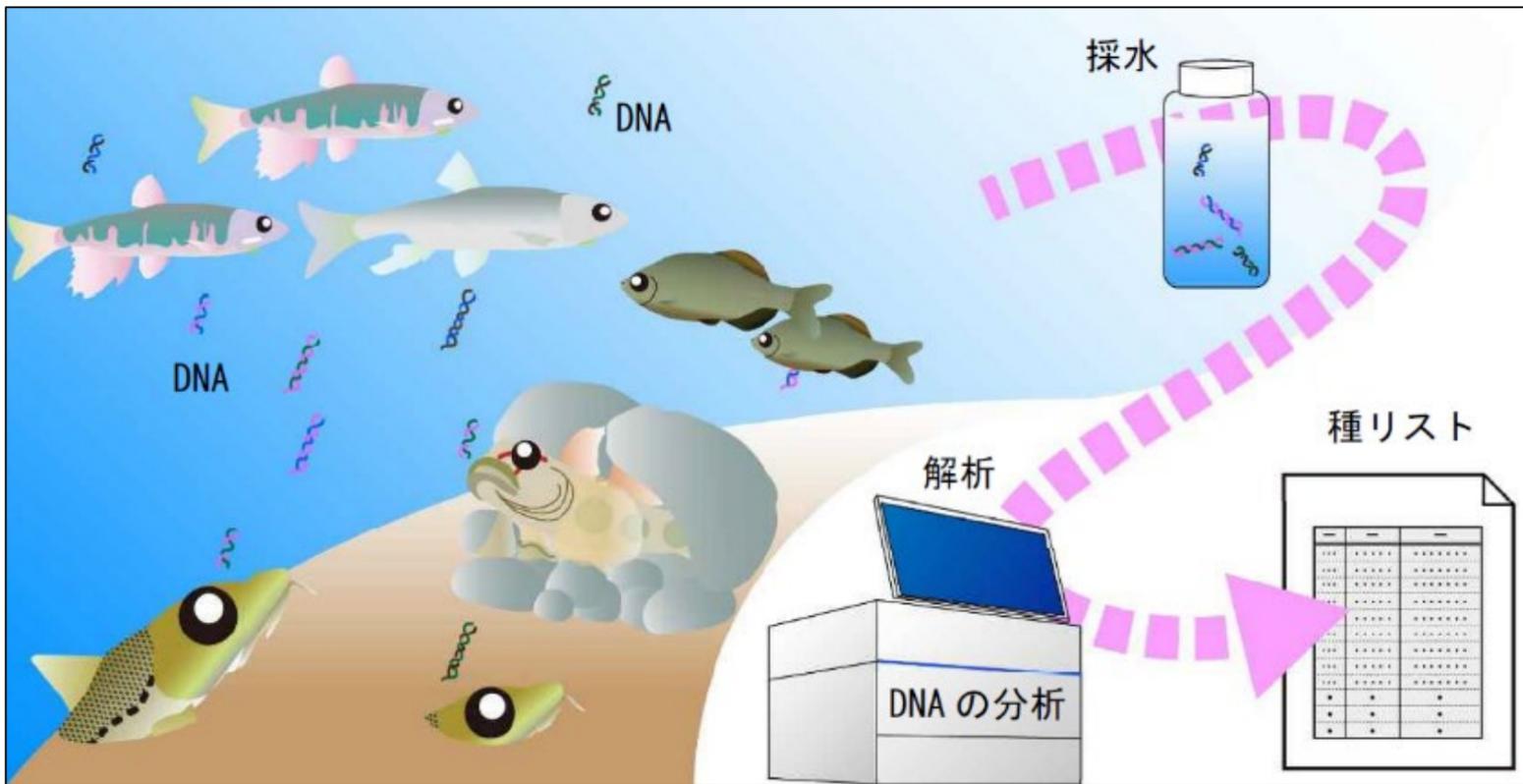
動植物の排泄物，組織片などに由来する水中に存在するDNA断片

1リットルの水から，環境DNAを調べることで

環境DNAの有無から生物の存在を推定

環境DNAの量から生物量を推定

これを「環境DNA調査」といいます。



出典：「環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き(第2版)」(環境省生物多様性センター)

● 特徴

⊗ 簡単・安全

- ✓ 現場作業は採水のみで非常に簡便かつ専門的な知識は不要
- ✓ 捕獲調査に比べて安全に作業可能

⊗ 効率的

- ✓ 現場採水、ろ過・DNA抽出作業、分析・解析作業の工程を分担可能ため、高効率

⊗ 高精度

- ✓ 調査地周辺に生息する生物を高精度に把握可能

⊗ 保存性

- ✓ DNA抽出サンプルは低温で長期間保管可能

⊗ 解像度

- ✓ 形態から種を同定できない場合でも、種によってはDNA配列の違いから種同定可能

→ 端的に言えば「簡易・高精度な生物調査ツール」といえる。



で、それって何の役に立つの？

-生物多様性の現状-

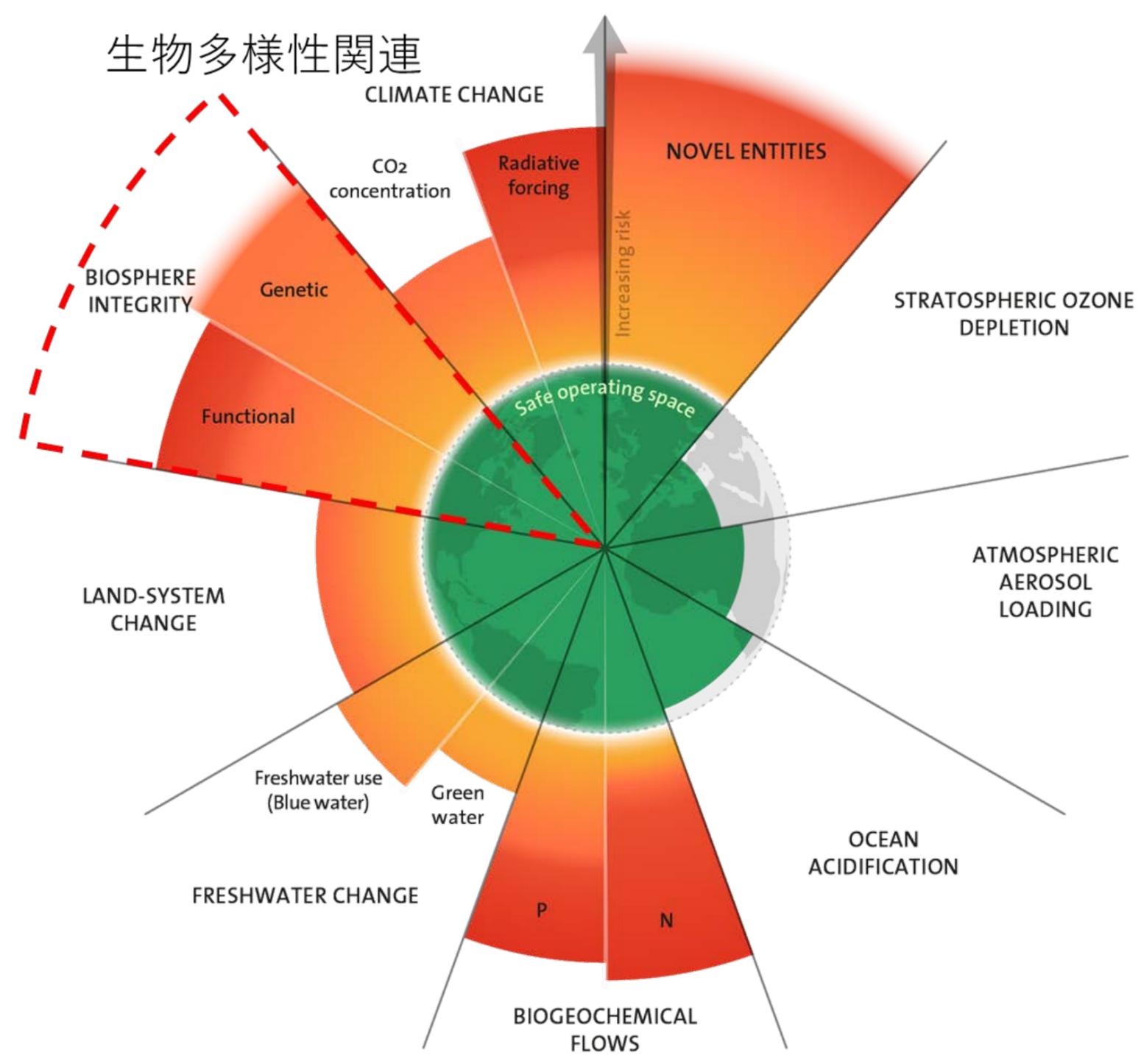


Image via Stockholm Resilience Center, Stockholm University

地球の限界(2023)

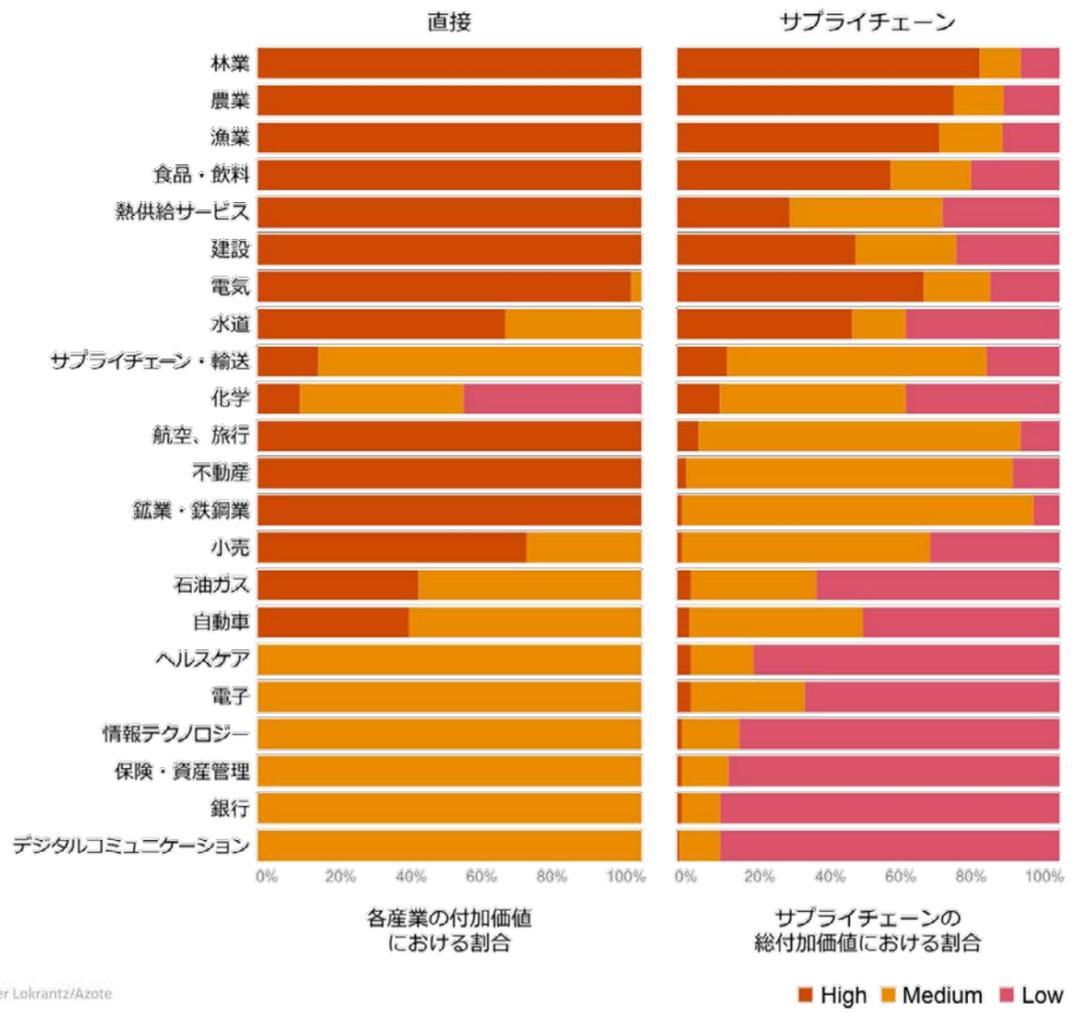
✓ 人類が持続的に生存するために超えてはならない地球環境の9つの限界を示した「地球の限界(左の図)」を見ると、少なくとも現状において生物多様性の損失(赤点線でかこった部分)は持続可能なレベル(緑の範囲内)を大きく逸脱してしまっている。

→ それでは、この現状は人にとってどのような問題をもたらすのか？

-生物多様性は社会や経済の基盤-



- ✓ 左の図はSDG s の各項目がどのような関係にあるかを示した図で、生態系を基盤として、社会、経済が存在しうることを示しています。
- ✓ 下の図は各産業が自然の資本にどの程度依存しているかを示しています。



-生物多様性の損失は予測できないリスクを生む一つの例-

INTERNATIONAL COSMOS PRIZE
 2022年コスモス国際賞受賞記念講演会

生物多様性の損失と感染症

How biodiversity loss fuels pandemics

2022年コスモス国際賞受賞者
フェリシア・キーシング
 バード大学教授(生物学)

生物多様性と人獣共通感染症病原体の伝播リスクとの関係を研究する生物学者。生物多様性と感染症リスクの関係から生物多様性が人間の社会にとって価値あるものであることを示している。

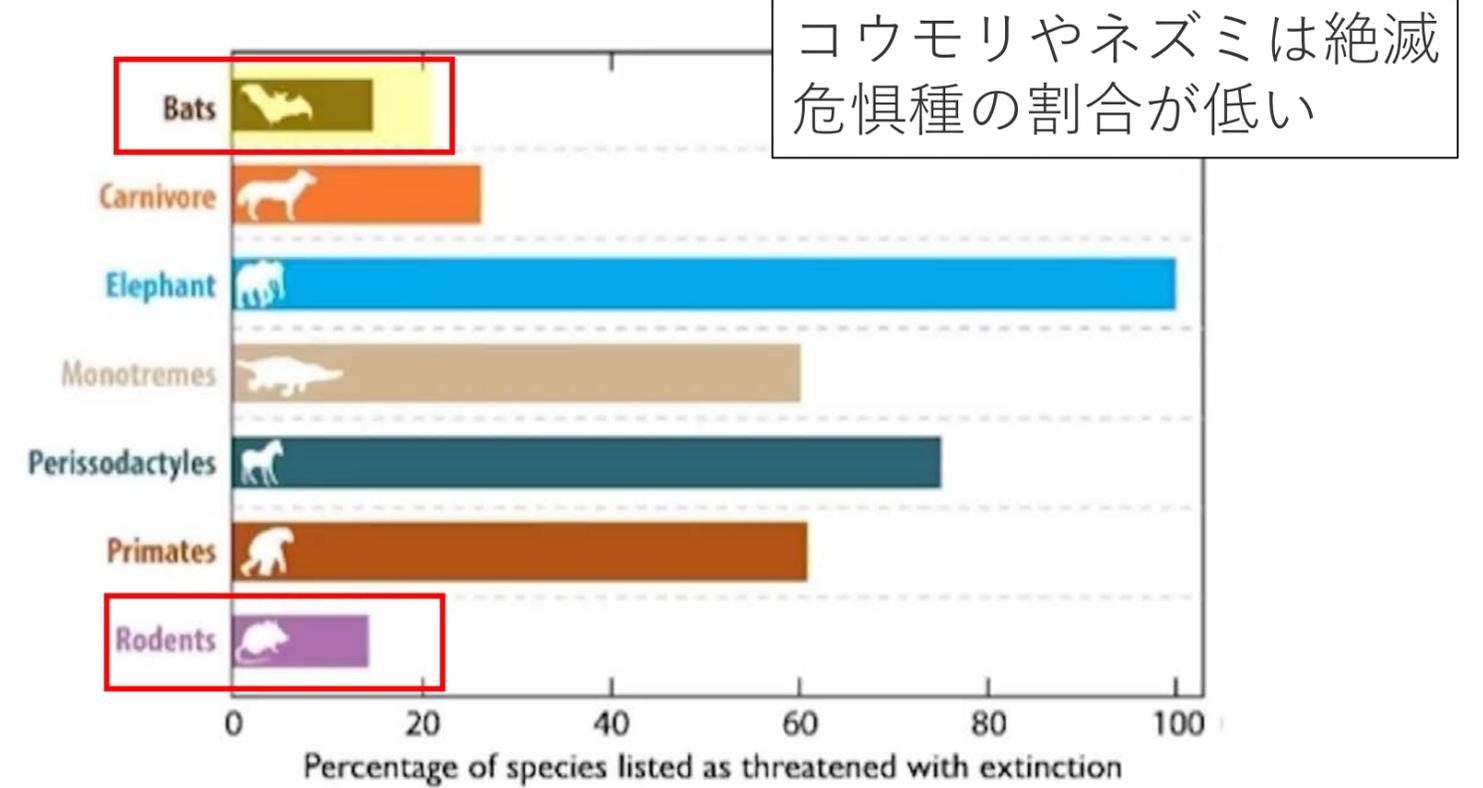
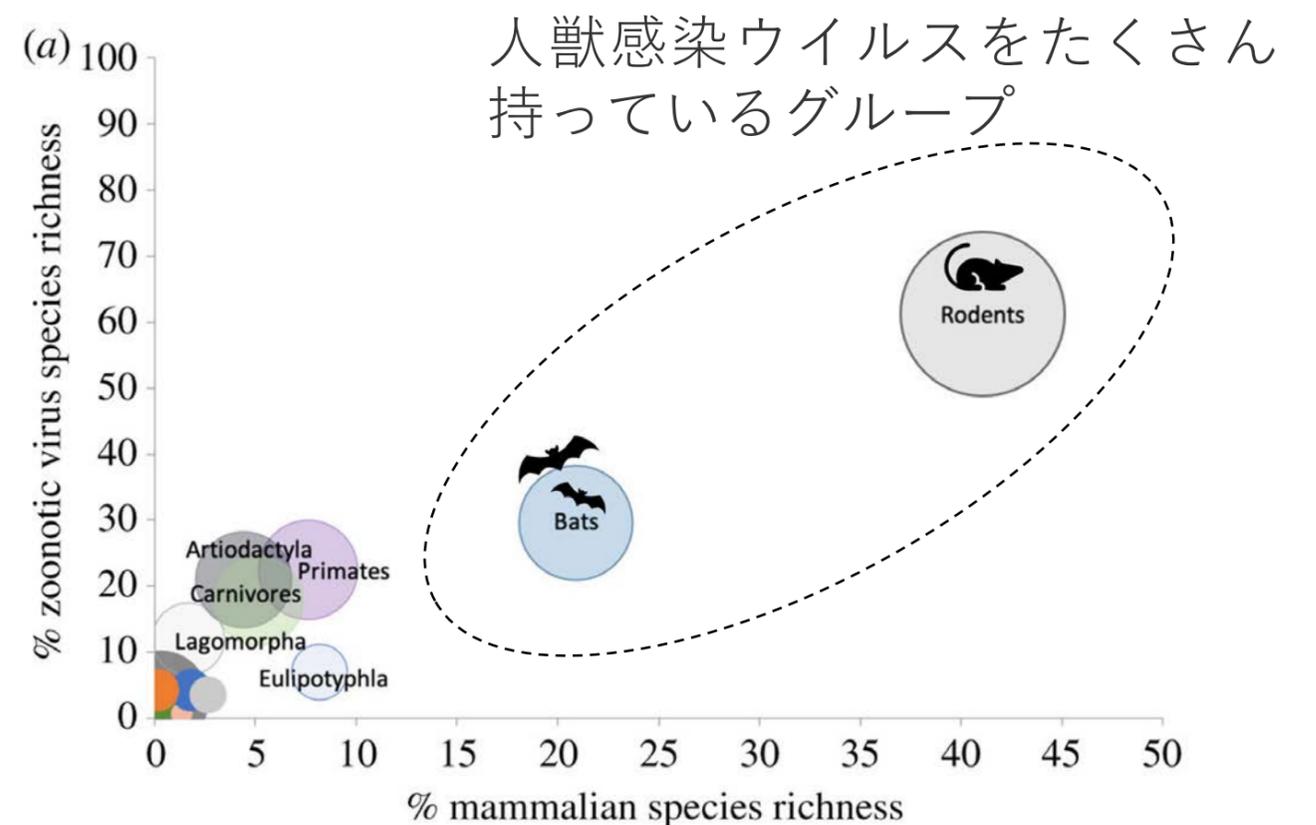
日時・内容
 令和4年**11月13日(日)** 日英同時通訳
 午後**1時30分~3時30分** 聴講無料

受賞者紹介 白山 義久 氏
(京都大学名誉教授、コスモス国際賞選考専門委員長)

受賞者講演 フェリシア・キーシング 博士

対談・質疑応答 フェリシア・キーシング博士
 岡部 貴美子 氏
(国立研究開発法人森林研究・整備機構 森林総合研究所 生物多様性・気候変動研究拠点 研究専門員)
 コーディネーター: 佐倉 統 氏
(東京大学大学院情報学環教授、コスモス国際賞選考専門委員)

✓ 生物多様性が失われると人獣感染ウイルスを媒介するような生物が生き残る。
 →人への感染リスクが高まる。





なるほど、生物多様性は大事なんだ!!

- ・・・となるかはともかく、生物多様性を守ることは自分の生活の基盤を守ることにもつながる大事な取組であることは間違いのない(と思います)。

-ある地域の生物多様性を守ろうと思ったら…-

✓ その地域に生息している生物は何かを知る必要がある。

我々は**自然や生態系**を相手にしている！
相手のことをよく知らなければ！



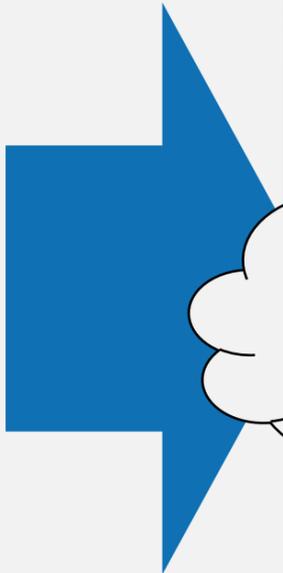
実際の生態系はどんな状況なのだろうか？

あまり情報がないなあ…

-ある地域の生物多様性を守ろうと思ったら…-

- ✓ その地域に生息している生物は何かを知る必要がある。
- これが生物多様性保全の第1歩であるが、実はそれほど簡単ではない。

ある池での調査を想定すると…



胴長必要



溺れないか

投網必要



この魚は？

もれなく調査
できているのか



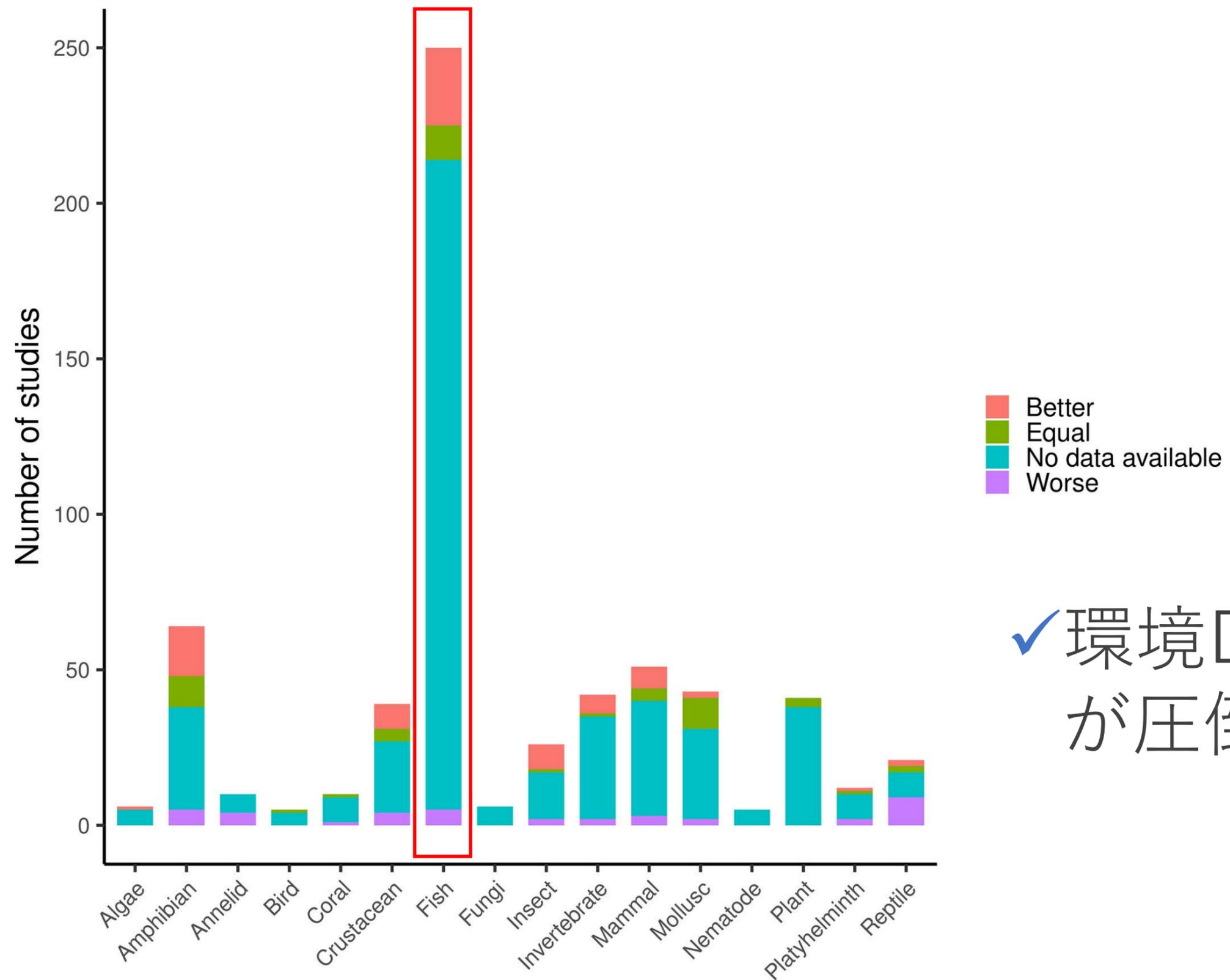
この昆虫は？



だから環境DNAを使うのか！！

じゃあ最近の環境DNAはどんな研究が多いのだろうか？

-環境DNAの研究動向-



✓ 環境DNAの研究では魚類が圧倒的に多い!!

Fediajevaite et al. (2021)

ROYAL SOCIETY OPEN SCIENCE

Open Access

Check for updates

View PDF

Tools Share

Cite this article

Section

Abstract

1. Introduction

2. Material and methods

3. Results and discussion

4. Concluding remarks

Ethics

Data accessibility

Author' contributions

Competing interests

Research article

MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species

M. Miya, Y. Sato, T. Fukunaga, T. Sado, J. Y. Poulsen, K. Sato, T. Minamoto, S. Yamamoto, H. Yamanaka, H. Araki, M. Kondoh and W. Iwasaki

Published: 01 July 2015 | <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>

Abstract

We developed a set of universal PCR primers (MiFish-U/E) for metabarcoding environmental DNA (eDNA) from fishes. Primers were designed using aligned whole mitochondrial genome (mitogenome) sequences from 880 species, supplemented by partial mitogenome sequences from 160 elasmobranchs (sharks and rays). The primers target a hypervariable region of the 12S rRNA gene (163–185 bp), which contains sufficient information to identify fishes to taxonomic family, genus and species except for some closely related congeners. To test versatility of the primers across a diverse range of fishes, we sampled eDNA from four tanks in the Okinawa Churaumi Aquarium with known species compositions, prepared dual-indexed libraries and performed paired-end sequencing of the region using high-throughput next-generation sequencing technologies. Out of the 180 marine fish species contained in the four tanks with reference sequences in a custom database, we detected 168 species (93.3%) distributed across 59 families and 123 genera. These fishes are not only taxonomically diverse,

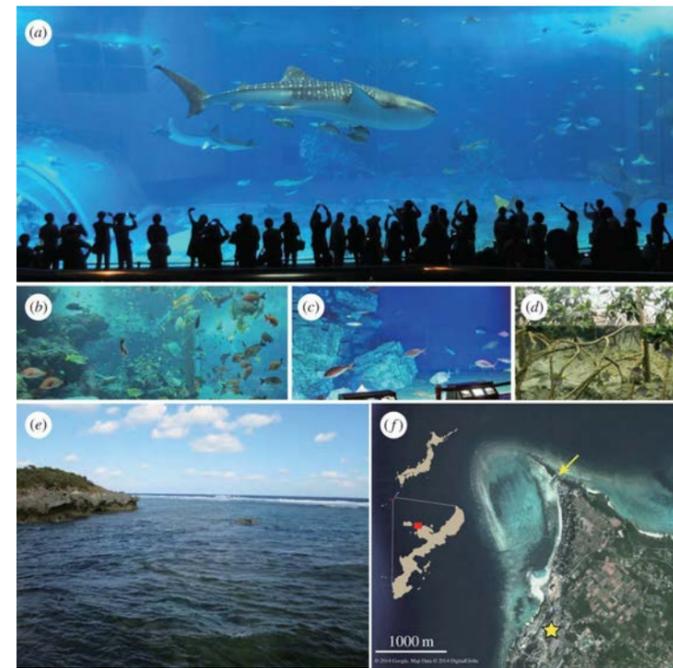
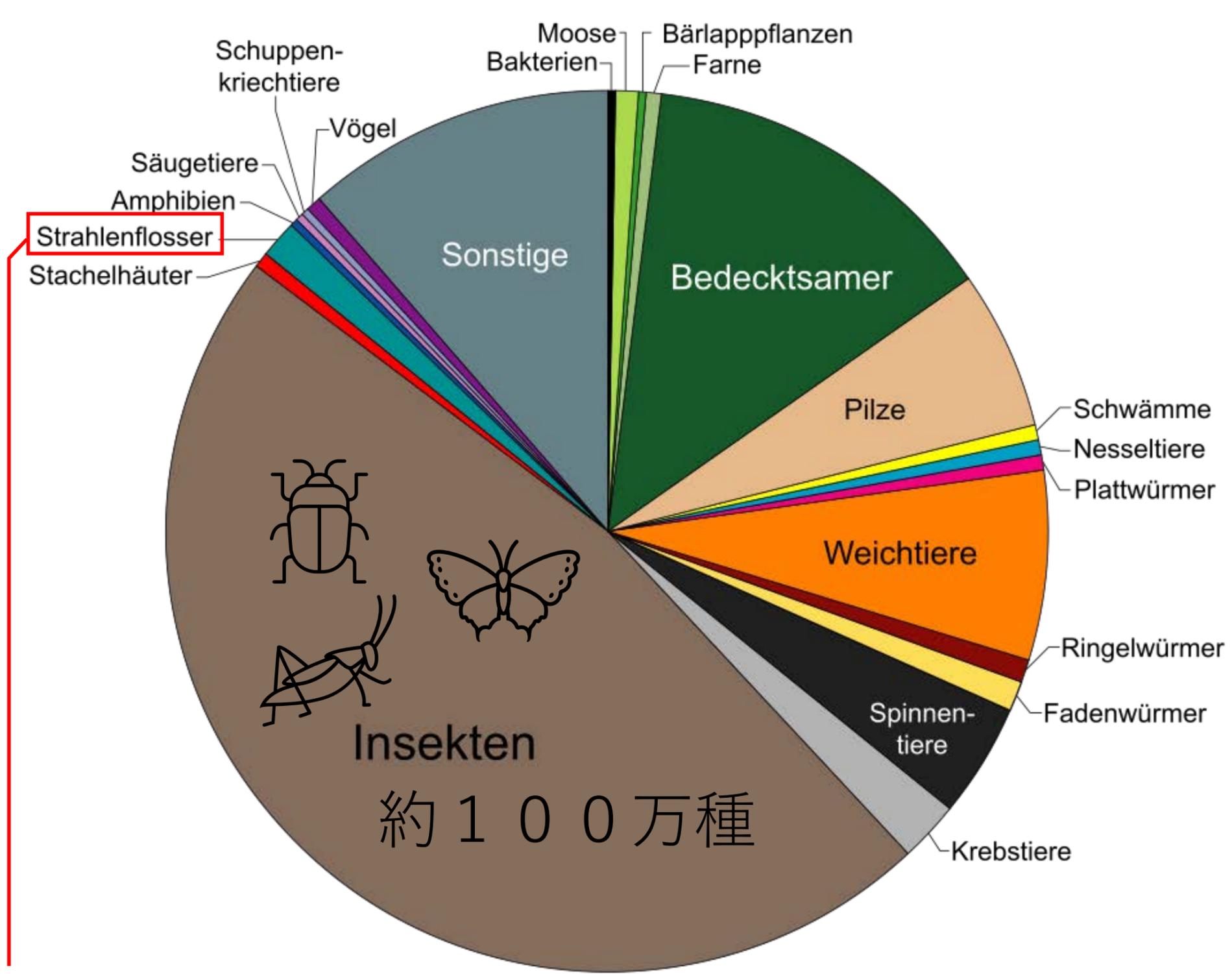


Table 6. A summary of the BLAST searches for the four aquarium tanks.

number of reads ^a	total	Kuroshio	tropical fish	deep-sea	mangrove
more than or equal to 97% identity with reference sequences (number of libraries)	4 322 882 (14)	2 568 008 (5)	1 299 788 (4)	259 191 (3)	212 643 (2)
tank fish	4 053 184 (93.4%)	2 375 892 (92.5%)	1 237 546 (95.2%)	245 201 (94.6%)	194 545 (91.5%)
non-tank fish	286 446 (6.6%)	192 116 (7.5%)	62 242 (4.8%)	13 990 (5.4%)	18 098 (8.5%)
number of tank species	249	75	159	15	8
number of tank species with reference sequences	180	63	105	13	8
number of tank species detected in MiSeq analysis	168 (93.3%)	61 (96.8%)	95 (90.5%)	13 (100%)	8 (100%)
water volumes of tank (m ³)	8465	7500	700	230	35.6

- ✓ 千葉博物館の宮氏が開発した魚類用プライマー(通称MiFish)は美ら海水族館や沖縄の海等で性能評価を行い、水槽内の魚類の93.3%を検出するという非常に優秀な検出率を示した。
- ✓ 国内の環境DNA調査の標準手法となっており、国内の研究も魚類が圧倒的に多い!!

-地球における種の多様性について-



✓ 左の図は地球上に存在する生物種の割合を示したものであるが、圧倒的に昆虫の種多様性が高く、ここを把握できなければ生態系の状態を把握したとは言えないのではないか？

魚類

A scenic view of a rocky river flowing through a forest. The river is surrounded by large, dark grey rocks and is bordered by lush green trees and foliage. The water is clear and shallow, reflecting the surrounding environment. The overall atmosphere is serene and natural.

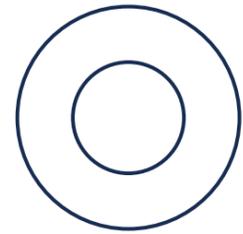
昆虫類の環境DNAに関する研究

最終目標

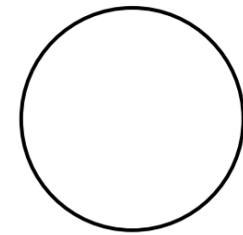
「あらゆる環境において高精度かつ簡単で安価に
昆虫相を把握できる環境DNA調査手法を確立する」

-環境別の手法開発の進捗状況-

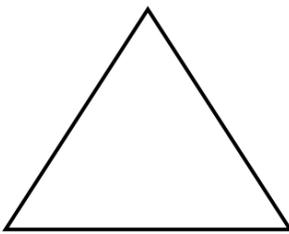
水生昆虫



流水環境



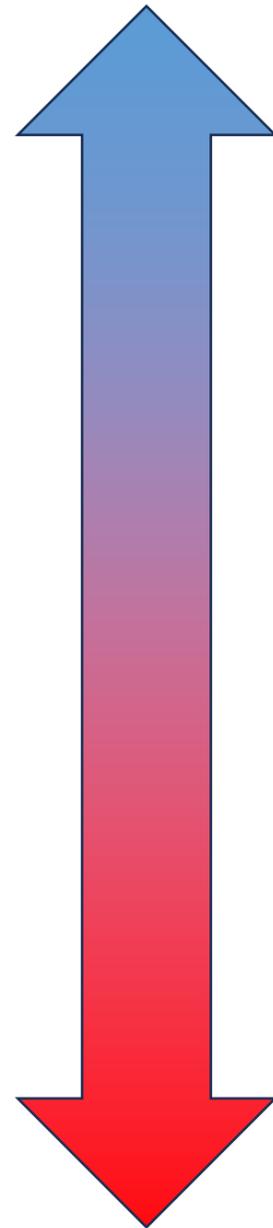
半止水環境



ミジンコに泣かされる

止水環境

難易度低



難易度高

陸上昆虫



水が流れていれば何とか
かなるかも

谷戸環境 ○



葉等に存在するDNAを
採取する？空気？

草原環境 ??

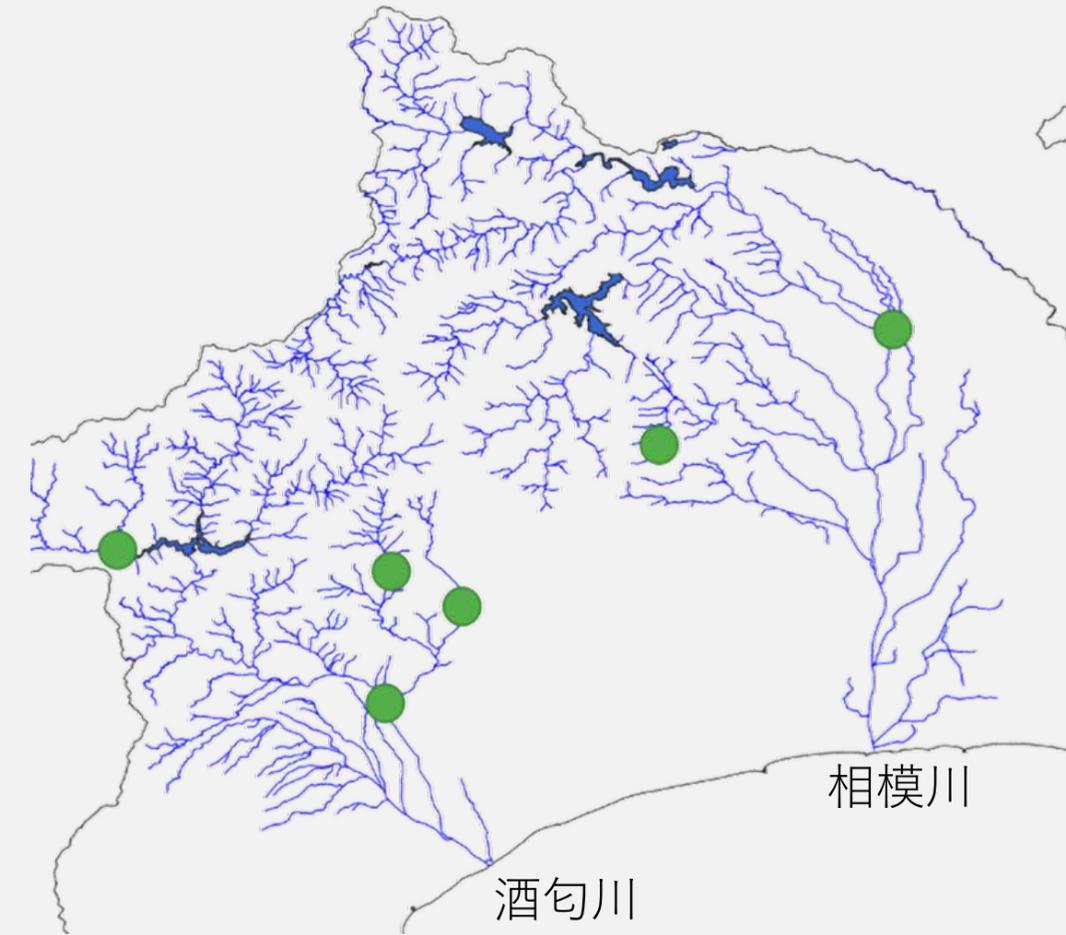


広すぎて網羅するのが大変そう
💧
水が流れているところを中心
に実施するのが早道か？

山岳環境 ??

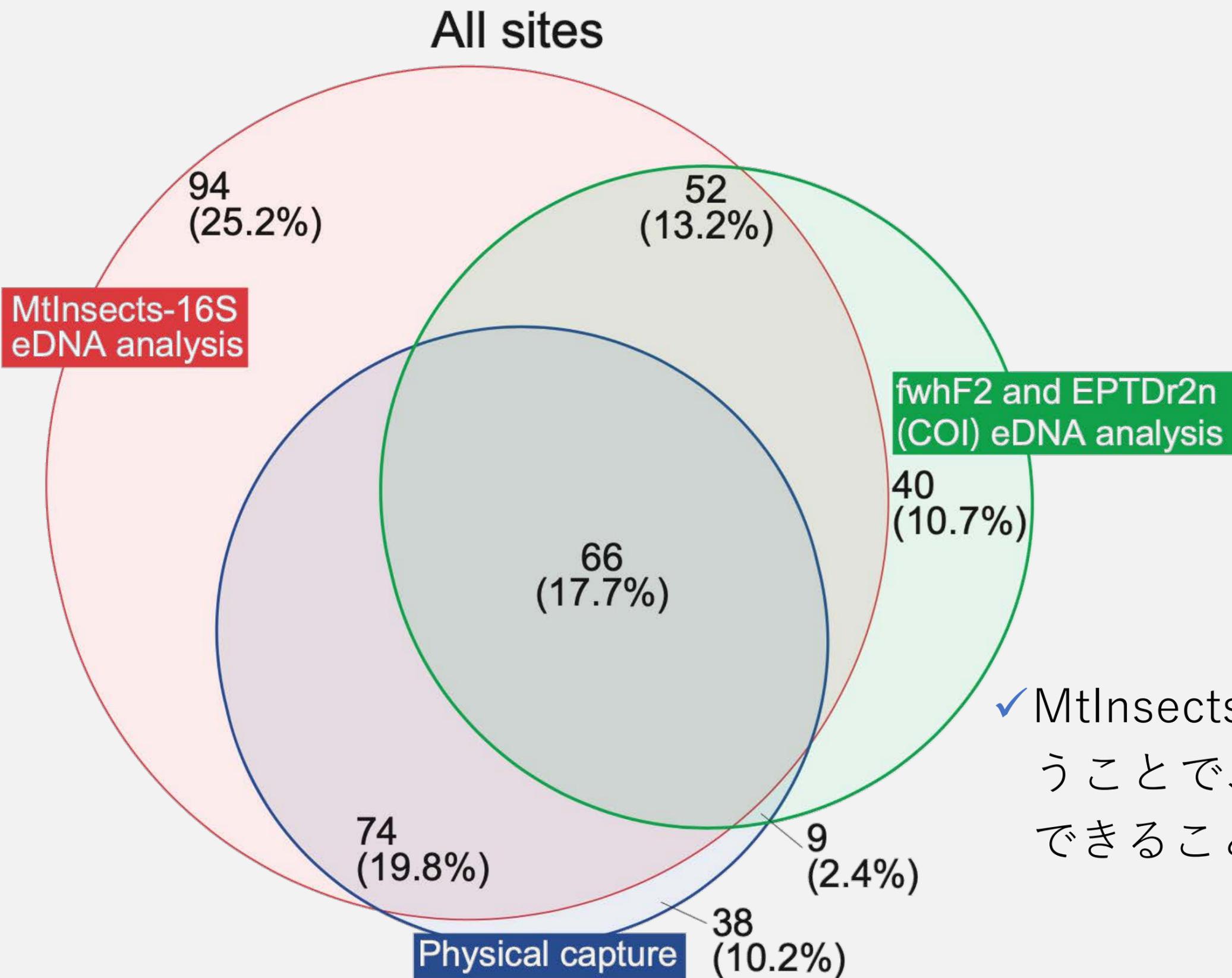
-流水環境での捕獲調査と環境DNA調査の同時調査-

- ✓ 調査地点 : 相模川水系八瀬川、谷太郎川、酒匂川水系中津川
世附川、開成公園、四十八瀬川
- ✓ 比較対象種 : カゲロウ目、カワゲラ目、トビケラ目
- ✓ 捕獲調査 : 瀬での3回の定量調査と定性調査
- ✓ 環境DNA調査 : 各調査地点で1Lの採水を3反復実施し、ステリベク
でろ過。
ステリベクスからのDNA抽出についてはWong et al
(2020)のインレットから注入する手法を採用
- ✓ プライマー : MtInsect-16S(Takenaka et al.,(2021))
- ✓ PCR工程 : KOD ONEを用いて推奨プロトコルで98°C(10sec)→55°C(5sec)→68°C(5sec)で35サ
イクル
- ✓ データ解析 : USEARCH(Edgar,RC (2010))によるデノイジング
得られたZOTUをBLAST解析し、配列一致率98%以上を当該ZOTUの種と判断



調査地点図

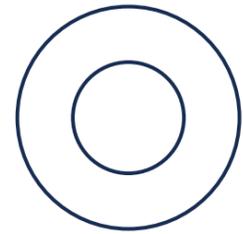
-流水環境での捕獲調査と環境DNA調査の同時調査-



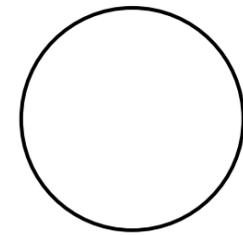
- ✓ MtInsects-16Sプライマー(赤い部分)を使うことで、捕獲調査を上回る種数を検出できることが明らかとなった。

-環境別の手法開発の進捗状況-

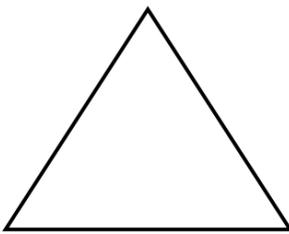
水生昆虫



流水環境



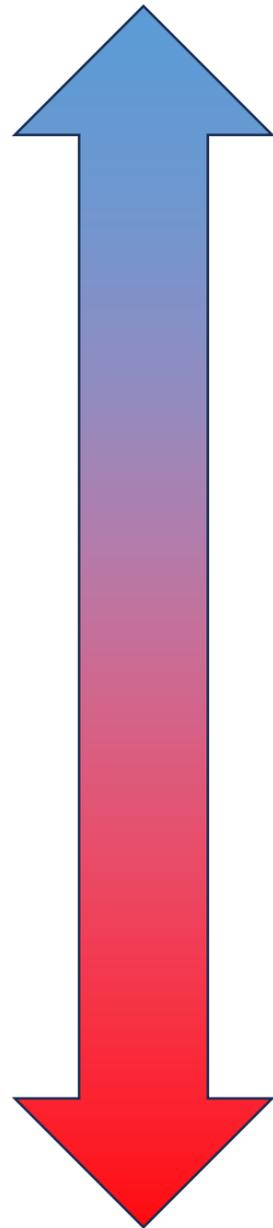
半止水環境



ミジンコに泣かされる

止水環境

難易度低



難易度高

陸上昆虫



水が流れていれば何とか
かなるかも

谷戸環境 ○



葉等に存在するDNAを
採取する？空気？

草原環境 ??



広すぎて網羅するのが大変そう
水が流れているところを中心
に実施するのが早道か？

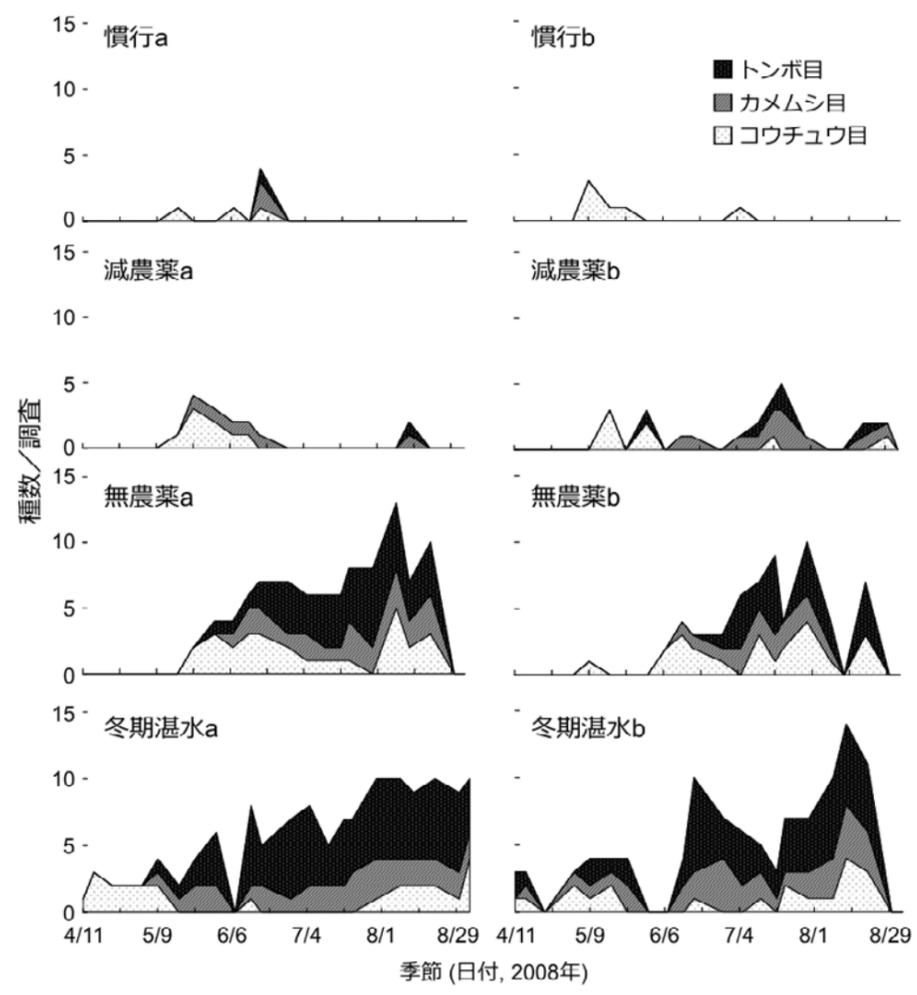
山岳環境 ??

-田んぼでの昆虫類の調査結果-

止水性昆虫の解析の例

種名	谷戸無農薬田んぼ①			谷戸無農薬田んぼ②			慣行田んぼ		
	6月	7月	8月	6月	7月	8月	6月	7月	8月
シオカラトンボ	60	28935	7720	69	27284	20234	3194	93620	922
キイロヒラタガムシ	144	200	0	1906	14496	855	262	6178	0
ホルバートケシカタピロアメンボ	0	0	73193	25	454	4629	41	227	107
チビゲンゴロウ	0	13	0	42	43	0	120	7	31
ヒメアメンボ	121	407	0	64	2368	0	99	2537	0
アジアイトトンボ	0	444	5848	0	2961	2266	0	549	7
ハイイロゲンゴロウ	0	579	539	714	0	0	244	36	0
Prodaticus leander*	0	407	0	350	76	187	32	0	0
ヒメゲンゴロウ	0	922	0	4971	1199	0	1910	27	0
コガムシ	0	4052	0	23	1326	48	2970	0	0
ヒメガムシ	0	344	406	248	157	48	0	0	0
タマリフタバカゲロウ	0	609	278	24	8947	3184	0	0	0
コマツモムシ	0	479	226	0	0	293	0	12	0
ウスバキトンボ	0	16	157	0	21	360	0	0	0
マメゲンゴロウ	6	0	4	0	0	18	0	0	0
フタバカゲロウ	0	365	0	0	53	0	36	0	0
マツモムシ	209	99	0	0	0	9	0	0	0
シオヤトンボ	0	495	356	0	246	0	0	0	0
オオシオカラトンボ	134	0	0	6	0	504	0	0	0
ナツアカネ	0	0	0	0	0	49	27	1791	0
マメガムシ	0	0	0	0	0	79	221	0	0
ミズカマキリ	0	0	16	0	72	0	0	0	0
ケシカタピロアメンボ	0	0	10	0	0	35	0	0	0
ホソミイトトンボ	0	38	0	0	0	245	0	0	0
オオアオイトトンボ	31	0	0	9	0	0	0	0	0
コガシラミズムシ	0	0	0	83	0	0	0	0	0
ヤスマツアメンボ	0	12	0	0	0	0	0	0	0
ヒメイトアメンボ	0	0	0	0	0	13	0	0	0
チビミズムシ	0	134	0	0	0	0	0	0	0
オオギンヤンマ	0	0	0	0	0	33	0	0	0
アオモンイトトンボ	0	0	560	0	0	0	0	0	0
オオイトトンボ	0	0	464	0	0	0	0	0	0
マユタテアカネ	0	83	0	0	0	0	0	0	0
アキアカネ	0	0	0	0	0	0	0	22	0
ノシメトンボ	0	0	0	0	0	586	0	0	0

✓ 田んぼでの止水性昆虫類の消長が捕獲調査と同様の傾向を示しており、十分利用可能。

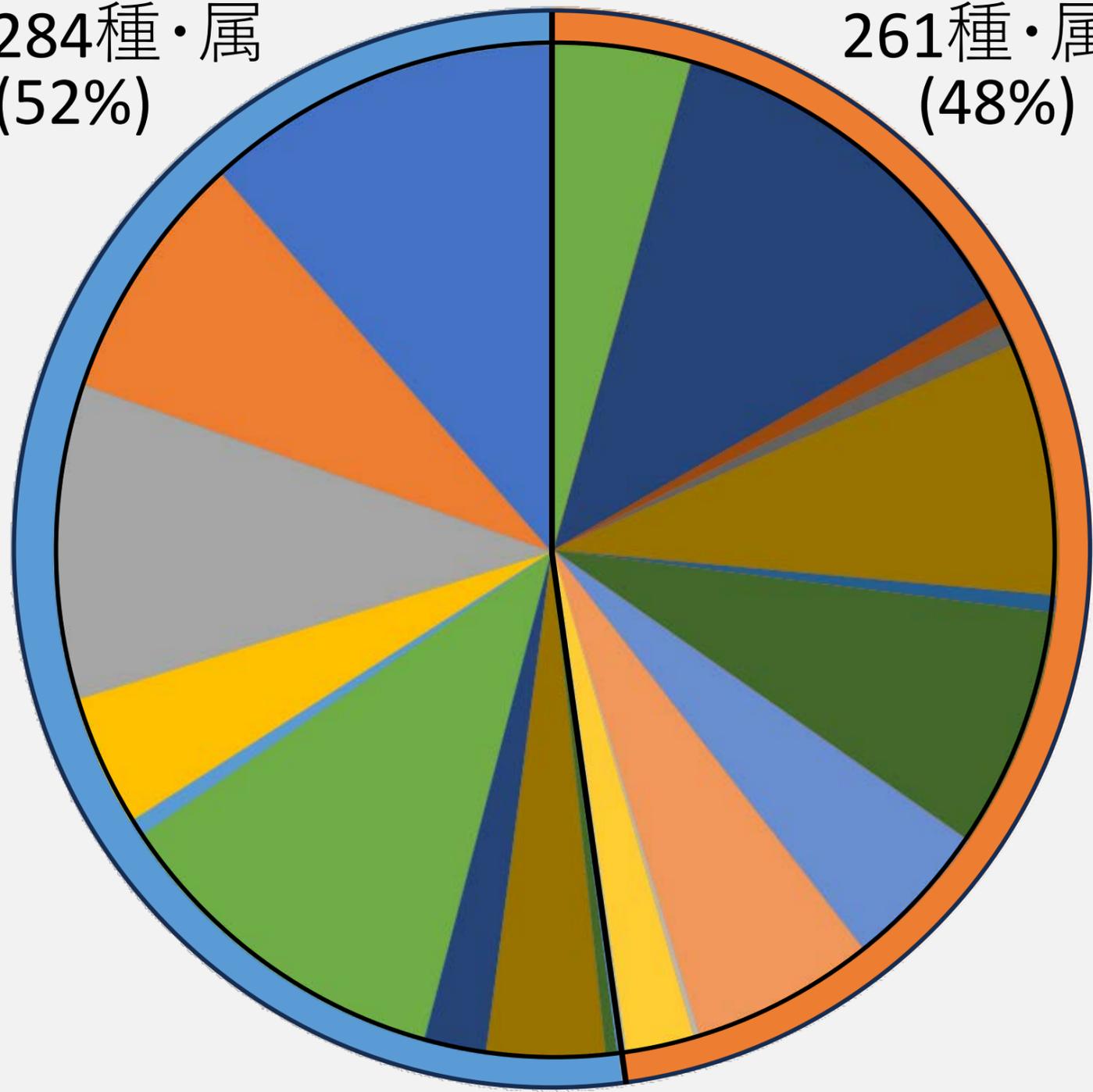


捕獲調査での季節変化(中西 2012)

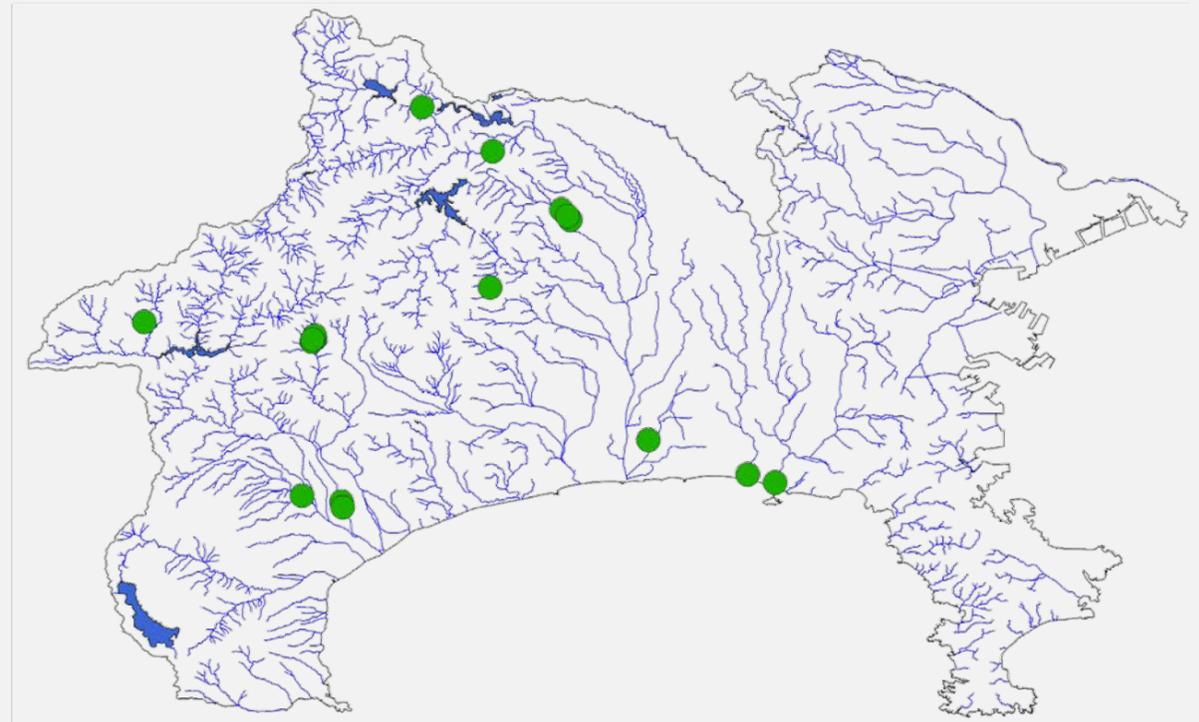
-水さえあれば陸生昆虫のDNAも多数検出可能-

水生昆虫
284種・属
(52%)

陸生昆虫
261種・属
(48%)



- カゲロウ目 (蜉蝣目)
- カワゲラ目 (セキ翅目)
- トビケラ目 (毛翅目)
- トンボ目 (蜻蛉目)
- ヘビトンボ目
- ハエ目 (双翅目)
- カメムシ目 (半翅目)
- アミメカゲロウ目 (脈翅目)
- カマキリ目 (螳螂目)
- コウチュウ目 (鞘翅目)
- ゴキブリ目 (網翅目)
- チョウ目 (鱗翅目)
- ハチ目 (膜翅目)
- バッタ目 (直翅目)
- ナナフシ目
- チャタテムシ目
- ノミ目



令和5年度調査実績：延べ19地点

- ✓ 令和5年度に県民調査員と協力して延べ19地点で河川の環境DNA調査を実施した。
- ✓ その結果、リード数は水生昆虫よりも少ないものの非常に多くの陸生昆虫類も検出しており、水さえあれば何とかかなりそう。



KANAGAWA

まとめ

- ✓ 生物多様性の損失は世界的に危機的状況にある。
- ✓ 生物多様性は人の社会や経済活動の基盤となるものである。
- ✓ 生物多様性の損失は予期せぬリスクを生みうる。
- ✓ 生物多様性の損失を防ぐにはまず自然のことを知る必要があるが、環境DNAはそれを助けてくれる強力なツールとなるだろう。
- ✓ 環境DNAの研究は魚類が中心だが、当センターでは地球上で最も種数の多い昆虫類を対象に研究を進めており、次第に様々な自然環境での精度の高い分析が可能となってきた。
- ✓ 今後もさらに研究を進め、あらゆる環境で昆虫類を精度よく検出可能な手法を開発する予定。

ご清聴ありがとうございました。



私たち一人ひとりの行動が、
未来につながる。

SDGs 未来都市 神奈川県

6 安全な水とトイレ
を世界中に



15 陸の豊かさも
守ろう

