



# 愛研技術通信

## 掲 示 板

### 法令・告示・通知・最新記事・その他

杉浦健太郎が優良従業員の表彰を受けました。

一般社団法人 愛知県環境測定分析協会は、毎年、「環境測定分析業務に7年以上勤続し、功績顕著である者」、「豊かな実務経験と熟練した能力を有し、人格見識とも卓越している者」を優良従業員として表彰を行っています。本年度は営業業務部の杉浦健太郎が表彰を受けました。

例年、定時社員総会で表彰式が行われますが、今期は新型コロナウイルスの影響で総会が行われなかったため、社内で表彰を行いました。

以下、表彰式を終えて感じた抱負などを記していただきました。



写真：社内での表彰式

環境測定・分析という立ち位置で地球環境問題に取り組むという志を持ち入社しました。早いもので7年半が経過しました。今回、このような賞を賜り大変光栄です。

入社当時の思いを忘れず、今後も環境測定・分析の知識を深め、得た知識や経験を若い世代に継承していきます。

これからもご指導・ご鞭撻の程、よろしくお願いいたします。

**○ 海産の二枚貝から新たに生物蓄積性化合物を発見！**  
～ 広島湾のイガイと堆積物に残留する有機ハロゲン化合物の  
ノンターゲット/ターゲットスクリーニング ～

2020年6月2日 愛媛大学報道発表資料抜粋

広島湾のイガイと堆積物に残留する既知・未知の有機ハロゲン化合物をスクリーニングした結果、未知のミックスハロゲン化合物が沿岸域に遍在し、残留性有機汚染物質と同等の高い生物蓄積性を示すことが本研究で明らかとなりました。

**【 詳細 】**

ポリ塩化ビフェニル (PCBs)、ジクロロジフェニルトリクロロエタン (DDT)、そしてダイオキシン類などの残留性有機汚染物質 (POPs) は環境残留性や生物蓄積性が高く、ヒトや野生動物種に対して悪影響を及ぼすことが危惧されています。POPsは「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約 (POPs条約)」によって厳しく規制されており、廃絶 (生産・使用の禁止) や非意図的生成の削減が推進されています。

POPs条約が発効した2004年5月以降、多数の有機ハロゲン化合物 (OHCs) が新規POPsに追加登録されてきましたが、国際的に注目を集めているPOPsやその候補物質は既知の人工汚染物質に限定されます。そのため、未知POP様物質の生成や環境排出、そして生物曝露は見落とされている可能性が高いです。

沿岸域におけるOHCsの天然生成も新たな環境問題となり得ます。海産の藻類や細菌が合成する特定の天然有機ハロゲン化合物 (HNP) は、POP様の物理化学特性や毒性を示すことが知られています。海洋生物相は人為・天然起源双方に由来するOHCsに曝露されている可能性があります。これら化合物群の包括的なスクリーニング調査は十分に実施されておらず、なかでも魚介類等の低次栄養段階生物を対象とした研究例は欠落しています。

そこで本研究チームは、二次元ガスクロマトグラフ-高分解能飛行時間型質量分析計 (GC×GC-HRTofMS) 及びガスクロマトグラフ-高分解能二重収束型質量分析計 (GC-HRMS) を駆使して、広島湾のイガイと堆積物に残留する既知・未知のPOP様物質をスクリーニングしました。その結果、既知のOHCs (POPsやHNPs) に加え、塩素と臭素が置換した未知のミックスハロゲン化合物 (UHC-Br<sub>3-5</sub>Cl) が検出され、示性式はC<sub>9</sub>H<sub>6</sub>Br<sub>3</sub>Cl<sub>0</sub>、C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>Br<sub>4</sub>Cl<sub>0</sub>、C<sub>9</sub>H<sub>4</sub>Br<sub>5</sub>Cl<sub>0</sub>と推定されました。これらの未知化合物は製造実績がないにも関わらず湾沿岸域に遍在していたため、環境中における非意図的生成 (天然生成) が示唆されました。さらにUHC-Br<sub>3-5</sub>Clで認められた生物相 (イガイ)-堆積物蓄積係数 (BSAF) 注1) は、同等の脂溶性 (log オクタノール-水分分配係数: log Kow) 注2) を有するPOPsのBSAF値に比べ1桁高値であったことから、UHC-Br<sub>3-5</sub>Clの高い生物蓄積性が示されました。今後は、低次-高次栄養段階生物を対象とした人為・天然起源OHCsの包括的なモニタリングと生態毒性リスクの評価が必要です。

注1) BSAF (Biota-sediment accumulation factor) : 化学物質の生物濃縮・蓄積性を表す指標の一つ。BSAF = 魚中濃度 [pg/kg] / 底質中濃度 [pg/kg] で計算される。

注2) オクタノール-水分配係数：1-オクタノールと水の2つの溶媒相中に化学物質を加えて平衡状態となった時の、その2相における化学物質の濃度比のことで、化学物質の疎水性（脂質への溶けやすさ）を表す物理化学的な指標とされ、一般的に対数値で記述される。化学物質審査規制法における新規化学物質の審査では、生物濃縮性の判断に利用されている。

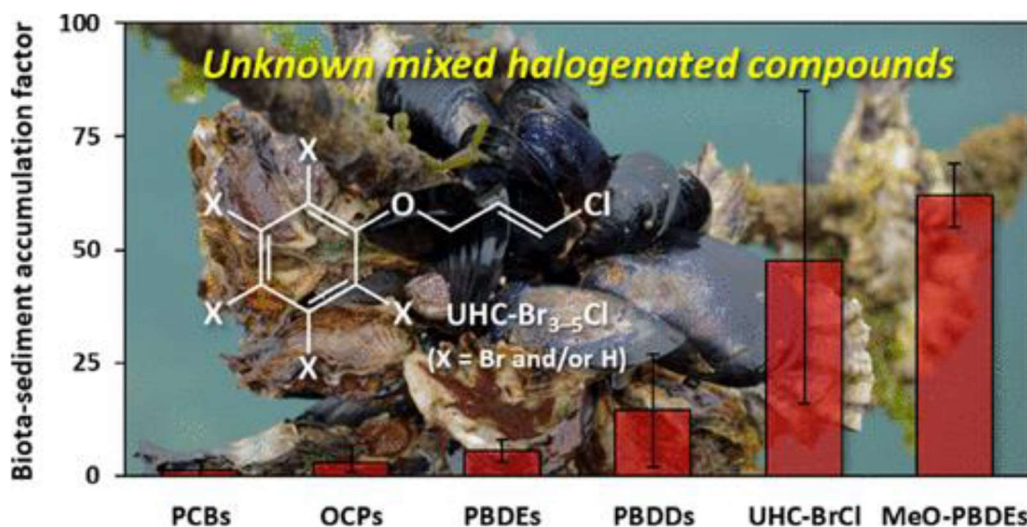


図. 検出されたミックスハロゲン化合物の構造式

### 【 GC×GC- HRTofMSとは 】

GC×GC分析では2本の異なったタイプのカラム（一般には無極性カラムと極性カラム）を直列に接続し試料を分析します。従来のガスクロマトグラフィ法（GC）よりもさらに精密な分離が可能です。分離した化学物質を、分子量を精密かつ高速に測定可能な高分解能飛行時間型質量分析装置（HRTofMS）により、迅速で正確な一斉定量分析を行うことができます。

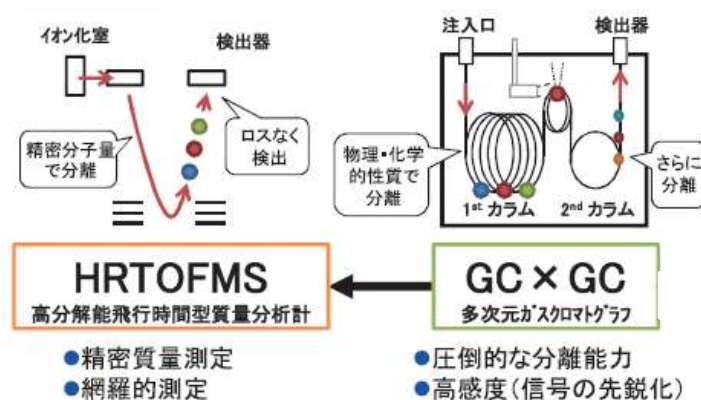


図. GC×GC- HRTofMSの概念図（国立環境研究所ホームページより引用）

## ○ 食痕に残されたDNAから誰が食べたかを特定できることを確認

2020年6月11日 神戸大学報道発表資料抜粋

京都大学、神戸大学の研究グループは、植物につけられた昆虫の食痕からDNAを採取し、食害した昆虫を特定できることを明らかにしました。

### 【 背景 】

植物は食物連鎖の起点であり、多くの動物に食害を受けます。特に、昆虫は植物を餌とする種を非常におおく含むグループで、植物と昆虫の食う一食われるの関係を明らかにすることは生態系を理解する上で欠かせません。しかし、野外で実際に昆虫が植物を食べているところを観察する機会は限られており、食う一食われるの關係の網羅的な調査は多くの時間と労力を必要とします。

摂餌は一時的な出来事ですが、摂餌後に残る食痕には食害した昆虫の「唾液」のような分泌物がある程度の期間残っていると予想されます。研究グループは、そのような食痕上の遺存物から食害者のDNAを検出できるのではないかと考えました。

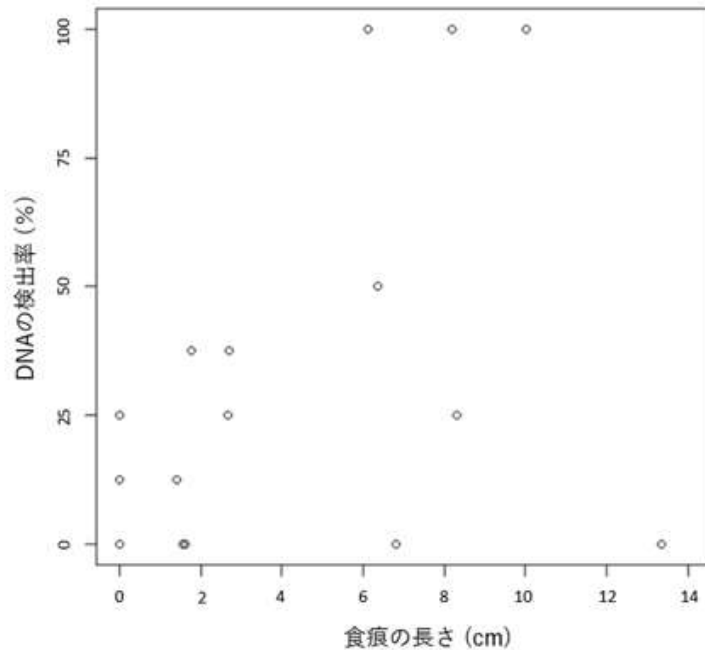
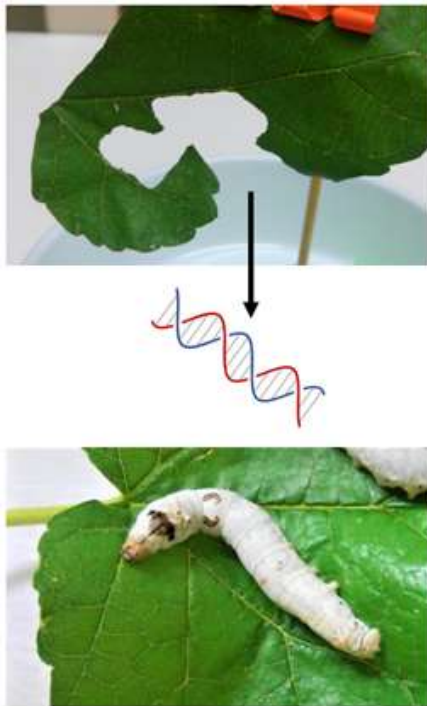
### 【 研究手法・成果 】

実験室でカイコに食害させたクワの葉の表面からDNAを洗い集め、環境DNA分析に用いられる方法で微量のDNAを増幅し、その配列を調べました。その結果、食害者であるカイコのDNAが検出できることがわかりました。食痕の長さが長いほどDNAの検出率が高くなることから、検出されたDNAの多くは食痕上に残された分泌物に由来すると考えられます(図)。また、野外で採集したベニシジミの食痕がついた葉からも同様にDNAを検出できることを確かめました。

魚や両生類、昆虫といった大きな生物の調査に使われる環境DNA分析は、これまでは主に水棲生物を対象としてきました。近年、この環境DNA分析の陸上生物への応用が進んでいます。本研究は、植物の表面に残された食痕から陸上昆虫の環境DNAを検出したはじめての例です。

### 【 波及効果、今後の予定 】

本研究では、植物の食痕上に残された微量のDNAから食害した昆虫が特定できることを明らかにしました。これは、野外のほとんどの植物についている食痕を、植物と昆虫の食う一食われるの関係を明らかにするために使うことができる可能性を示しています。従来の野外観察や飼育実験と組み合わせることで、農業や絶滅危惧種の保全への応用ができると期待されます。例えば、広い農地で農作物の食害昆虫を網羅的に把握することや絶滅に瀕した昆虫がどの植物に依存しているかを確認することなどに役立つと考えられます。今後、野外サンプルでの検出力の改善や、日光や雨によって起こるDNAの分解・消失の検討をする必要があります。



図：食痕がついた葉の表面から環境 DNA を洗い集めて、その配列から食害した昆虫を特定（左）。食痕の長さが長いほど DNA の検出率が高くなることから、検出された DNA の多くは食痕上に残された唾液などの分泌物に由来すると考えられる（右）。

○ 汲んだ水から魚を数える  
 ～ 環境DNA分析による個体数の推定法を実証 ～

2020年7月3日 国立環境研究所報道発表資料抜粋

国立環境研究所、東北大学、島根大学、京都大学、北海道大学、神戸大学の共同研究チームは、水中に含まれる生物由来の DNA（環境 DNA）の分析に基づいて対象の生物の個体数を推定する新手法を開発しました。さらに、京都府舞鶴湾全域に生息するマアジを対象に本手法を利用することで、海洋環境において環境 DNA の濃度計測から生物の個体数を推定できることを初めて実証しました。

【背景】

自然環境中の水や土、空気などには、動物や植物の体から遊離した細胞や組織の断片が含まれています。近年の研究から、これら環境中の細胞・組織より DNA（環境 DNA）を抽出・分析すれば、生物の生息状況を把握できることが分かってきました。従来利用されてきた目視や捕獲による直接的な調査と比べて労力が少なく済むことなどから、環境 DNA 分析は、生態系を効率的に観測するための新しい手法として注目を集めています。

環境 DNA 分析を用いると、環境中の DNA の有無を手がかりとして対象の生物が生息しているかどうかを判断できます。この方法は、対象の生物の分布（どこにいるのか）を調べる上で役立ちます。一方、生物の個体数が多ければ環境 DNA も多く放出されると予想されるため、環境 DNA の濃度を手がかりとすれば、生物の個体数（どれだけいるのか）も把握できるのではないかと期待されてきました。しかし、自然環境では、環境 DNA は水の流れなどによって移動し、さらに時間が経てば分解してしまいます。そのため、一般的に、環境 DNA の濃度と生物の個体数は単純な比例関係にはならず、環境 DNA 分析による個体数の推定は未だ解決できない困難な問題として残されていました。

## 【 内容 】

本研究では、環境 DNA 分析データから個体数を推定する上で特に考慮すべき要因として、

(1) 生物からの DNA の放出、(2) 水中での DNA の移動、および (3) DNA の分解に着目しました。

環境 DNA の濃度が高いからといって必ずしも個体数が多いとは言えないのは、これらの要因が複雑に作用するためです。環境 DNA 分析によって個体数を見積もるためには、こうした要因に左右される環境 DNA の「一生」を踏まえることが不可欠だと考えられます。この考えに基づいて、私たちは「トレーサーモデル」と呼ばれる数理モデルを用いた、個体数推定の方法を開発しました（図 1）。

トレーサーモデルとは、対象の水域で物質（ここでは環境 DNA）がどのように運ばれるかを表す物理モデルです。環境 DNA のトレーサーモデルは、海洋力学シミュレーションなどから得られた流動場（※1）の情報と、生物の水槽飼育実験などから得られた環境 DNA の放出率や分解率の値を組み合わせて構築されます。トレーサーモデルを用いることで、対象水域のどこにどれくらいの数の生物が分布していれば、結果として、環境 DNA がどのように分布するかを予測できます（図 1、青の矢印）。しかし、私たちの目的は生物の分布から環境 DNA の分布を予測することではなく、逆に環境 DNA の分布から生物の分布を推定することです。そこで、私たちは、このモデルを「逆向きに解く（環境 DNA の分布を手がかりに個体数の分布を求める）」ための統計手法を開発しました（図 1、オレンジの矢印）。これによって初めて、対象の生物や水域に合わせたトレーサーモデルと、環境 DNA 濃度の多地点計測から、生物の個体数を見積もることが可能となりました。この手法は、河川や湖沼、海洋などの水域環境一般に適用することができます。

※1 流動場：対象の水域における水の流れ（速度）の分布を表したもの。

私たちは、2016 年 6 月に京都府北部の舞鶴湾で野外調査を行い、マアジを対象に開発した手法を適用しました。この時期は体長 3cm 程のマアジの幼魚が非常に多くの数を占める季節であることから、湾内のマアジの幼魚を数えることを目標としました。湾内の 100 地点を船で周り、表層・中層（海面から 5m 下）・底層（海底から 1m 上）からそれぞれ 1 リットルの海水を採集しました。集めた海水を実験室に持ち帰り、環境 DNA 濃度を計測し、先に述べたモデルから湾内のマアジの個体数を推定しました。開発した手法の信頼性を評価するため、この野外調査では、計量魚群探知機を用いた音響計測も同時に行い、2 つの手法（環境 DNA 分析と音響計測）の間でマアジの個体数の推定値を比較しました。



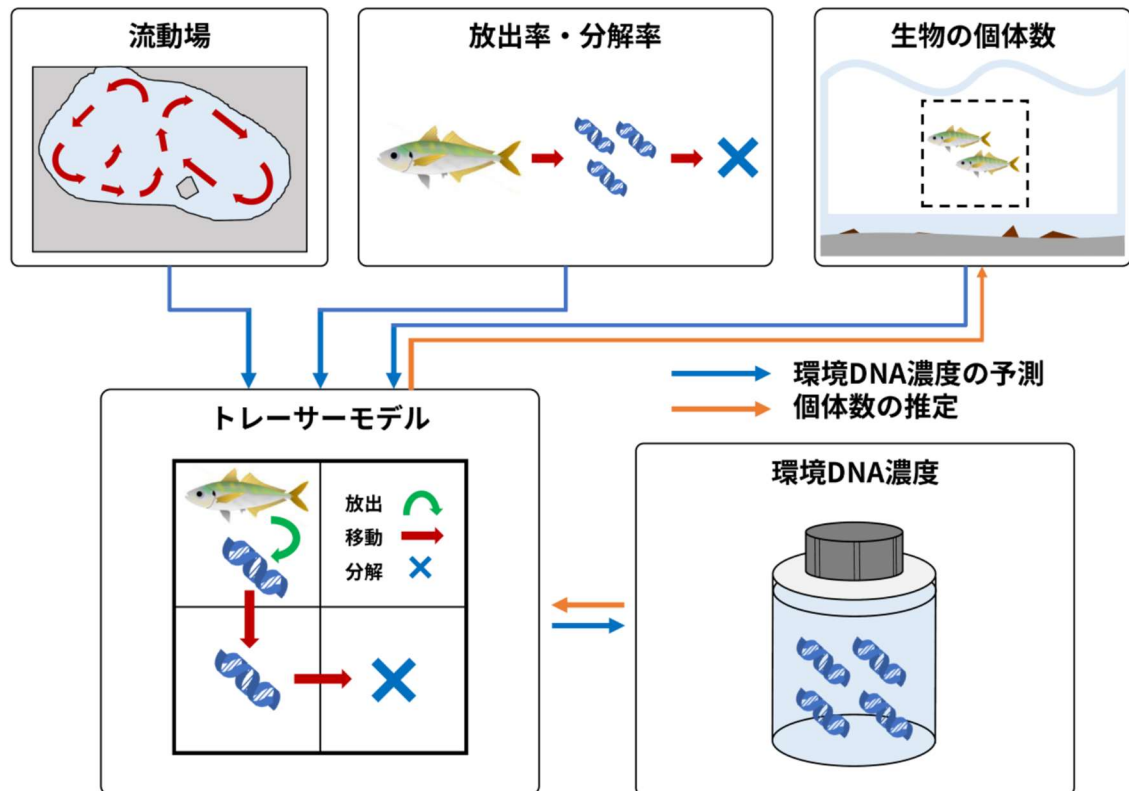


図 1. 環境 DNA の濃度計測に基づく個体数推定法の概念図。

舞鶴湾内に生息するマアジの個体数は、音響計測を用いた手法では約 1570 万尾（1510 万～1640 万尾）、環境 DNA 分析を利用した手法では約 3310 万尾（信用区間：2320 万～6320 万尾）と推定されました。環境 DNA 分析による推定では、マアジの個体密度が極端に高い地点が見つかりました。この地点は舞鶴周辺で水揚げされた魚が多く集まる卸売市場のすぐ隣（湾の南西部）に位置していたことから（図 2 左）、市場から流入する大量のマアジの DNA を捉えたものと考えられます。そこで、この市場由来の DNA について推定を補正したところ、湾内のマアジの個体数は約 2230 万尾（信用区間：770 万～5290 万尾）と推定されました。この値は、音響計測による推定値に比べて約 42%大きく、精度も劣りますが、推定の誤差を踏まえれば 2 つの推定値は比較的良く一致しています。一方、マアジの個体密度の空間分布についても大まかな傾向が明らかになったものの、個々の地点の推定値は誤差が大きく、音響計測で推定された個体密度との関連も強くありませんでした（図 2）。環境 DNA 分析によって個体数の空間分布を詳細に把握するためにはさらなる研究が必要と考えられます。

### 【 今後の展望 】

水生生物の個体数を把握することは、水産資源の管理や希少種の保全を確実に行う上で不可欠です。しかし、水中で生活する生物を数えることはしばしば困難です。環境 DNA 分析は、目視や捕獲による従来の調査法の欠点を補い、水生生物の分布や量を効率的に把握するための有用な観測技術として注目を集めています。個体数推定の具体的な方法は確立していませんでした。本

研究は、環境 DNA の発生、移動、分解の過程を明確にすることによって、環境 DNA 濃度の多地点計測から水生生物の個体数を推定できることを示しました。この成果を嚆矢として、環境 DNA 分析による水域生態系の定量モニタリング技術の確立に向けた研究が加速することが期待されます。

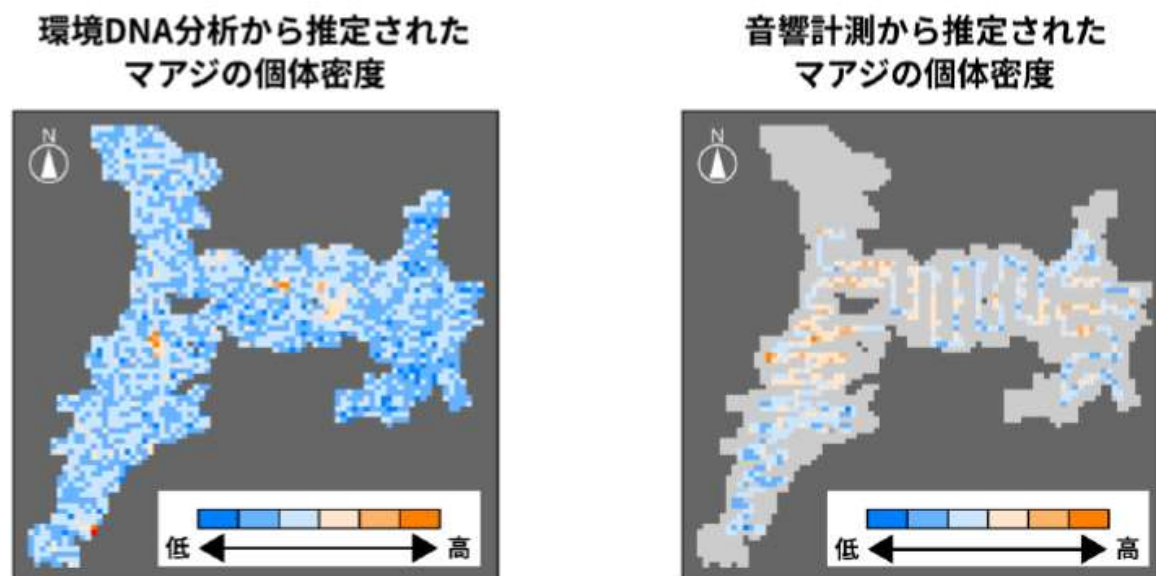


図 2. 推定された湾内のマアジの個体密度。左：環境 DNA 分析の結果（市場の影響が検出された地点（図の左下の部分）を赤で示す）。右：音響計測の結果（未計測の地点を薄い灰色で表す）。

### 編集後記

今年の6月の月平均気温は全国的にかなり高くなったようです。特に東日本では過去最高を記録したようですが、個人的にはそれほど暑かった印象はありませんでした。朝晩がまだ涼しかったからかもしれません。ただ、マスクをつけるのは日ごとに苦痛になってきました。夏場には一旦終息すると思っていた新型コロナウイルス感染症は、どうやら季節性は無いようです。熱中症対策を取りつつ感染予防を心がけましょう。

(A. K)



株式会社 愛 研

(<http://www.ai-ken.co.jp>)

本 社 〒463-0037 名古屋市守山区天子田 2-710

電話(052)771-2717 FAX(052)771-2641

半田営業所 〒475-0088 半田市花田町 2-65

電話(0569)28-4738 FAX(0569)28-4749