



# 愛研技術通信

## 掲 示 板

法令・告示・通知・最新記事・その他

### ○ エコアクション21中央事務局より「感謝状」をいただきました

弊社が2015年4月より取り組んでいる「エコアクション21」の活動に対し、エコアクション21中央事務局より感謝状をいただきました。

今後も、環境にやさしい社会の実現に向け引き続き積極的に取り組んでまいります。



## ○ 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

2022年8月9日山口大学報道発表資料抜粋

山口大学の研究グループは、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。

### 【 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。

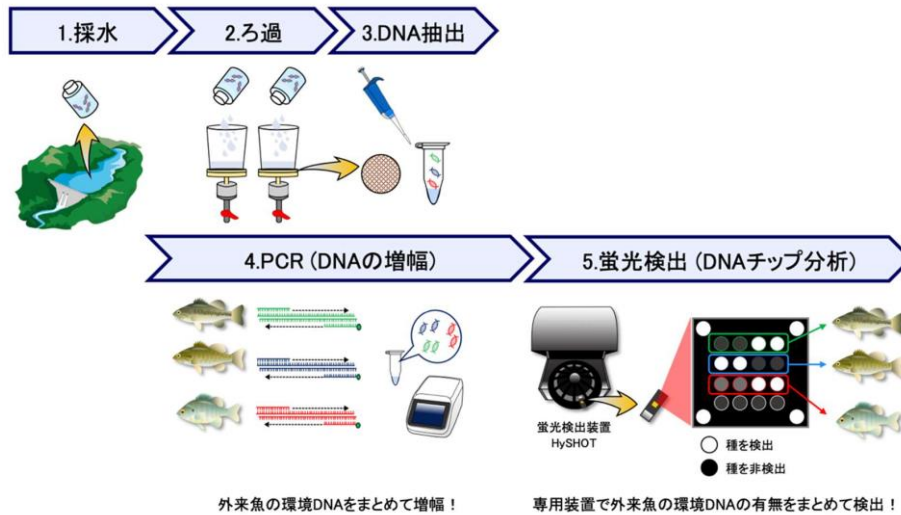


図1 環境DNAチップ分析の概略図

【 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。

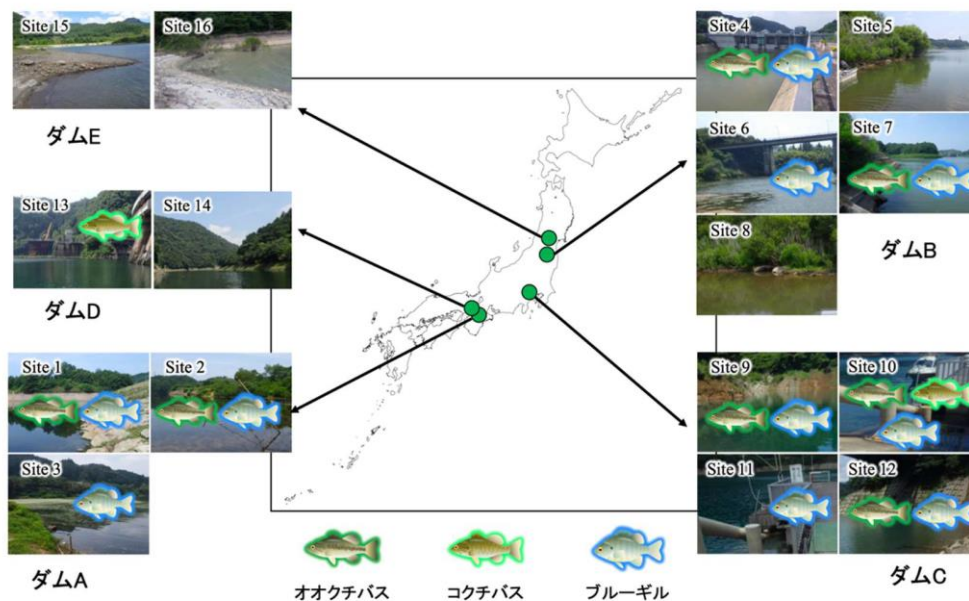


図2. 環境DNAチップを用いた外来魚3種の分析結果

## 【 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え、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。

## 【 DNAチップとは 】

DNAチップは、DNAマイクロアレイとも呼ばれ、多数のDNA断片を樹脂やガラス等の基板上に高密度に配置した分析ツールのことです。

あらかじめ塩基配列の明らかな1本鎖のDNA断片を多種、基板上に配置しておきます。調べたい細胞から抽出したmRNAを利用し「相補的DNA（cDNA）」を作ります。このcDNAに蛍光色素をくっつけてからDNAマイクロアレイに流すと、cDNAは塩基配列のあうDNA断片と結合します。結合位置を蛍光や電流によって検出し、最初の配置から検体に含まれるDNA配列を知る事が出来ます。

数百から数十万に上る網羅的な遺伝子解析を、少量の検体量と比較的短時間で可能とすることから様々な研究分野で活用されています。

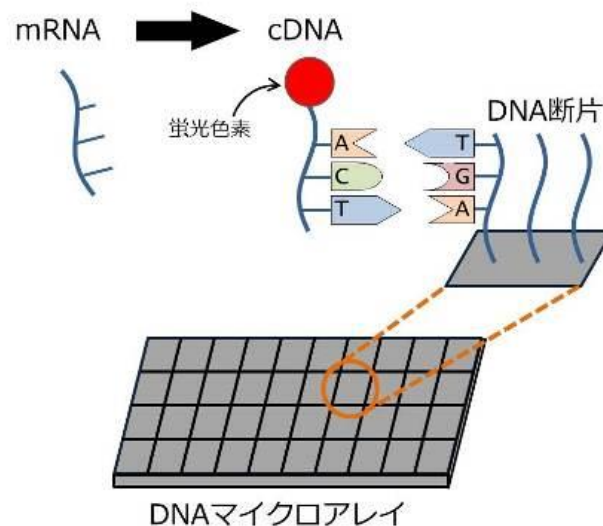


図 DNAチップの概略図（日本科学未来館HPより引用）

## ○ 雨が降ると河川水中の硝酸が増えるのはなぜか？

2022年7月28日 名古屋大学報道発表資料抜粋

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学の研究グループは、アジア大気汚染研究センターとの共同研究で、降雨の発生に伴って河川水中の硝酸（ $\text{NO}_3^-$ ）の濃度が著しく増大する現象は、流域の河畔部の土壤中に蓄積した硝酸の流入が原因であることを明らかにしました。

### 【 研究背景と内容 】

降雨に伴って多くの河川で、水中に含まれる硝酸の濃度が著しく増大することが古くから知られていましたが、その原因は明らかになっていませんでした。

本研究は、降雨に伴って硝酸濃度が顕著に増大することが知られていた新潟県の加治川上流域に自動サンプラーを設置し、降雨時の河川水を1時間おきに採取しました。そして、硝酸の窒素及び酸素の同位体組成を測定し、これを集水域内の土壌水中の硝酸の窒素及び酸素の同位体組成と比較しました。

その結果、濃度上昇を引き起こした硝酸の大部分は、上流の森林域、中でも河畔部の土壌に蓄積していたものであることを突き止めました。図1に示すように、河川水位の上昇が、河畔部の土壌中に蓄積していた硝酸の流出を促進したものと考えられます。森林域は硝酸の主要起源として従来から検討されていましたが、これを河畔部と特定したのは、本研究が世界初の成果です。

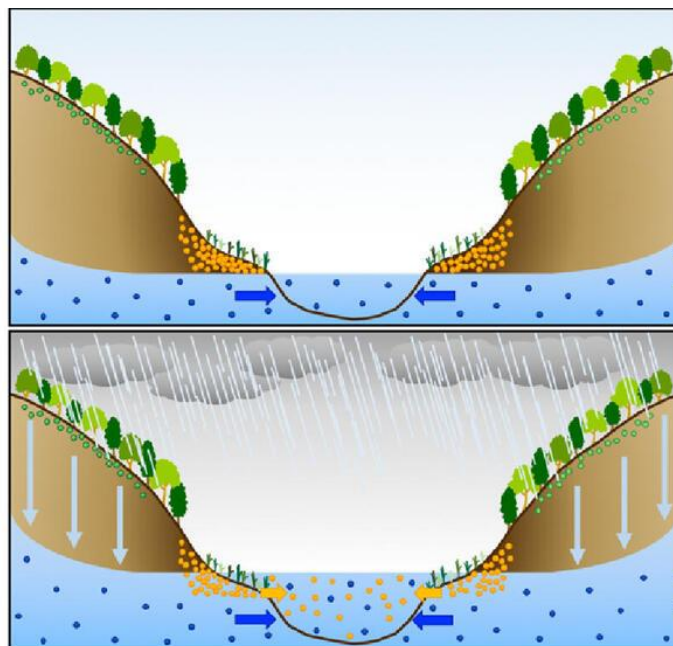


図1 本研究が解明した、降雨に伴う河川水中の硝酸濃度増加メカニズム。

### 【 窒素及び酸素の同位体組成 】

自然界に存在する窒素原子の大部分（約99.6%）は、陽子7個と中性子7個の原子核から構成される質量数14の窒素原子（ $^{14}\text{N}$ ）ですが、陽子7個と中性子8個の原子核から構成される質量数15の窒素



原子 ( $^{15}\text{N}$ ) が0.4%程度混在します。同じく酸素原子の大部分 (約99.8%) は、陽子8個と中性子8個の原子核から構成される質量数16の酸素原子 ( $^{16}\text{O}$ ) ですが、陽子8個と中性子9個の原子核から構成される質量数17の酸素原子 ( $^{17}\text{O}$ ) が0.04%程度、陽子8個と中性子10個の原子核から構成される質量数18の酸素原子 ( $^{18}\text{O}$ ) が0.2%程度混在します。

これらはいずれも安定な原子核で放射壊変はしませんが、その存在比は、自然界における諸過程 (化学変化や相変化など) に際して、微小に変化するため、指標として活用されています。

## 【 成果の意義 】

河川水中の硝酸は、一次生産 (光合成) を律速することが知られていて、その濃度変化は、下流に位置する河川や湖沼、沿岸海域の富栄養化や生態系構造に甚大な影響を及ぼします。今回の発見は、流域の環境 (特に森林環境) が河川水を通して下流域の水環境に与える影響を評価する上でも、又、湖沼や沿岸海洋域における窒素汚染や水質劣化を防止する上でも貴重な知見となります。

又、硝酸の酸素同位体組成、なかでも $^{17}\text{O}$ 異常濃縮の度合いから、この河畔部の硝酸は土壌中の微生物が作り出したものであることが明らかになりました。河畔部の土壌中に微生物由来の硝酸が蓄積するのは夏季から秋季を中心とした時期に限られることから、それ以外の時期は、降雨が起きても硝酸濃度の増大が見られる可能性は低いことが予想できます。

## 【 $^{17}\text{O}$ 異常濃縮とは 】

自然界で酸素の同位体の相対存在比が変化する際に、 $^{16}\text{O}$ に対する $^{17}\text{O}$ の濃縮度と、 $^{16}\text{O}$ に対する $^{18}\text{O}$ の濃縮度は、一般に比例関係を示します。ところが、大気中で進行するごく一部の化学反応では、この比例反応から大きく逸脱して、 $^{17}\text{O}$ が過剰に濃縮されることがあります。この現象は「 $^{17}\text{O}$ 異常濃縮」と呼ばれ、この反応の代表例がオゾン ( $\text{O}_3$ ) の生成反応です。

降雨を通じて地表に供給される硝酸 (大気硝酸) は、大気中で一酸化窒素 ( $\text{NO}$ ) がオゾンと反応することで生成したものであり、オゾン同様 $^{17}\text{O}$ を異常濃縮しています。したがって、 $^{17}\text{O}$ 異常濃縮度を測定すると、大きな異常濃縮度を示す大気硝酸と、異常濃縮の無い再生硝酸を明瞭に区別できます。また、両者の混在している場合は、 $^{17}\text{O}$ 異常濃縮度からその混在比が定量化できます。

## ○ 石油中の硫黄化合物を紫外線で分解除去

～ 小型装置でオンサイト脱硫が可能に ～

2022年8月29日九州大学報道発表資料抜粋

九州大学、トヨタ自動車の研究グループは、石油中の難脱硫物質であるベンゾチオフェン類やジベンゾチオフェン類を炭化水素に溶かした状態で紫外線を照射すると、酸化反応に続いて電子環状反応などが連続的に起こり、2～16時間で完全に分解することを見出しました。

## 【 研究の背景と経緯 】

石油には、不純物として数%程度の様々な有機硫黄化合物が含まれています。硫黄分が多い状態で燃料として用いると、大量の硫黄酸化物が排出され環境汚染を引き起こすほか、自動車の排ガス浄化触媒の被毒劣化や、それを防ぐ空燃比運転による燃費性能、エネルギー効率の低下を招き、直接的、間接的に環境負荷になります。一般的に、石油からの硫黄分の除去方法として水素化脱硫という手法が確立されています。これは、製油所で大型の設備を用いて水素化反応により有機硫黄化合物を分解し、硫化水素として石油から除去する手法です。先進国では、これにより硫黄分が 10 ppm 以下程度まで低減された燃料が使われていますが、世界的には多量の硫黄分を含んだ燃料が流通している国や地域も多いのが現状です。また、水素化脱硫には、高度な技術や大型設備、250～500℃の高温、数十～数百気圧の高圧が必要で、行える場所も製油所などに限定されています。低コスト、低設備投資の脱硫操作が、室温、大気圧下、小型で簡易な設備により省エネルギーで安全に行うことができれば理想的です。

## 【 研究の内容と成果 】

脱硫が不十分な燃料には、難脱硫性物質として知られているベンゾチオフェン類 (BT 類)、ジベンゾチオフェン類 (DBT 類) が主に残っていることが知られています。これら BT 類、DBT 類を 0.54 mmol/L (約 100ppm) の濃度で炭化水素に溶かした溶液を石英セルにいれ、小型の UV ランプ (8W, 254nm) で紫外線照射を行ったところ、16 時間以内に全ての硫黄化合物が 100%分解するのを確認しました。水素化脱硫では、アルキル基の置換によって反応が遅くなり、4,6-ジメチルジベンゾチオフェン (4,6-DMDBT) は最も脱硫が難しい化合物とされていますが、今回の我々の手法では、逆に置換基があると早く分解するのも特徴です。分解に伴って生じる黄色の沈殿物をろ過して単離し、蛍光 X 線分析、質量分析、液体クロマトグラフィーによる分析などを行い、硫黄の単体が定量的に (ほぼ 100%) 生成していることを確認しました。また、重水素標識実験により、ジベンゾチオフェンの炭化水素部分の分解物の一部としてベンゼンを検出しています。さらに、分子軌道計算により反応機構も提唱しています。

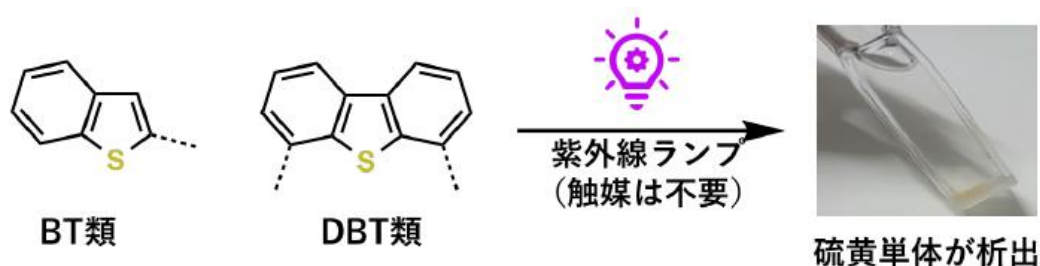


図 1. ベンゾチオフェン類 (BT 類)、ジベンゾチオフェン類 (DBT 類) の紫外線による分解と硫黄単体の析出

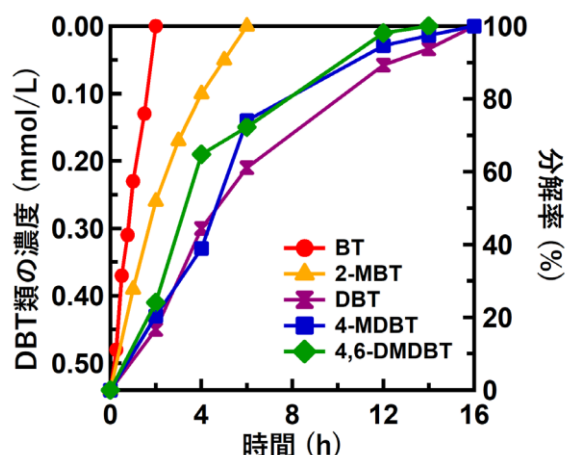


図2. 小型のUVランプ（8W，254nm）によるBT類、DBT類分解の時間経過

### 【 今後の展開 】

水素化脱硫以外の方法としては、活性炭などを使う吸着脱硫法などの研究も行われていますが、今回の紫外線照射による新手法では、硫黄単体を不溶性の固体に変換できるのも特徴のひとつです。触媒や吸着剤の交換も不要です。小型の装置により低電力で実施できるため、ガソリンスタンドや自家用車の燃料タンク付近、小規模な事業所など、オンサイトでの実施も可能です。発展途上国などで低設備投資の脱硫法として利用できる可能性もあります。また、燃料電池用の都市ガスからのDBT類の除去などに利用できる可能性もあります。今後の課題としては、析出した硫黄単体粉末の装置に応じた回収法や、紫外線を吸収する多量の芳香族化合物が混入している場合の対策などがあげられます。

### 編集後記

9月6日に気象庁気象研究所は、今年の6月下旬から7月上旬の記録的な高温に関する研究結果を公表しました。ラニーニャ現象に地球温暖化の影響が加わった結果、発生したとのことです。過去の研究の蓄積とスーパーコンピューターの計算能力の向上により、これまで1年ほどかかっていた結果報告が、発生から2カ月程度まで短縮されたそうです。(A. K)



株式会社 愛研

(<https://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

