

DNAバーコーディングを応用したダム湖の 動物プランクトンモニタリング調査の高度化

所 属 東北大学大学院生命科学研究科
氏 名 牧野 渡

1. 目的

動物プランクトン組成はダム湖の重要なモニタリング項目のひとつである。本研究では、プランクトン試料を超並列シーケンサー（NGS）のDNAメタバーコーディング（アンプリコンシーケンス）に供する方法論を確立することで、モニタリング調査を簡便化かつ高度化することを目指した。そのために三春ダム（福島県田村郡三春町）の動物プランクトン群集を材料として、以下の項目を調べた。

2. 方法

平成30年6月12日と同年8月21日に、ダムサイト近傍の網場にて、プランクトンネットの鉛直曳により動物プランクトンを採集し、エタノールで固定してラボに持ち帰った。採集では、応用生態工学研究所（福島県田村郡三春町）の全面的な協力を得た。このサンプルから、種組成と個体数が既知であるモック集団を作成し、1）市販のDNA抽出キット（カラム精製）を用いて集団ごと一括してDNA抽出を行う方法論を検討し、2）モック集団の組成が「正確に」反映されるNGSメタバーコーディング条件を検討した。

3. 成果

三春ダムでは、*Daphnia galeata*および*Eodiaptomus japonicus*が優占する、標高の低い水域でよく観察される動物プランクトン組成であった。（成果1）5から9種の動物プランクトンを、2個体/種、10個体/種、20個体/種となるようにモック集団（総個体数は最小10個体/集団から最大160個体/集団）を作成し、集団毎にDNA抽出に供したが、そのいずれでも、モック集団中の全ての種が、NGSアンプリコンシーケンスで検出できた。（成果2）ただしmtCOI遺伝子（Folmer領域の3'末端側330bp）で解析した際には、*E. japonicus*の相対リード数は全リード数の0.5%程度となり、他種の値よりも著しく低かった。一方28SrDNA（D6領域を含む約330bp）で解析した際には、*E. japonicus*の相対リード数は30-60%となった。もう一方の優占種*D. galeata*の相対リード数は、mtCOIでは60-70%、nr28Sでは30%程度であった。

4. 今後の展望

動物プランクトンのバルクサンプルから50-160個体の範囲でDNA抽出し、アンプリコン解析する道筋をつけた。今回解析したmtCOI領域は、諸外国では動物プランクトンのNGSアンプリコンシーケンスで多用されているが、本邦では、これが増幅されにくい*E. japonicus*が優占するダム湖や湖沼が非常に多い。従ってモニタリングにはmtCOI領域を単独で用いるのではなく、mtCOIと28SrDNAと併用することを推薦したい。