

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：15201

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21335

研究課題名（和文）魚類の成長ステージを把握する環境RNA手法の開発：ニホンウナギをモデルとして

研究課題名（英文）Development of an environmental RNA method for estimating growth stages of fish: Japanese eel (*Anguilla japonica*) as a model

研究代表者

高原 輝彦（Takahara, Teruhiko）

島根大学・学術研究院農生命科学系・准教授

研究者番号：10536048

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、重要水産資源ニホンウナギをモデルケースにして、異なる成長ステージを識別・定量できる環境RNA手法の開発を試みた。島根県の神西湖における野外調査の結果、本種の環境RNAは環境DNAに比べて検出が極めて困難であり、デジタルPCRは微量な環境RNAの検出に有効である可能性が見出された。また、環境DNA分解抑制効果をもつ塩化ベンザルコニウムは、環境RNAにも効果的であることが示唆された。加えて、本種の性腺刺激ホルモンの一つを対象にしたプライマー・プローブの開発に成功した。さらに、ヒレサンプルを用いたRNAseq解析の結果、ステージ特異的に発現しているいくつかの遺伝子の存在が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果として、これまで未解明であった環境RNAの自然環境中の動態の一端を解明し、環境RNA手法の実用化に向けた基礎的な知見を収集できたと考えている。これらの成果をベースにして環境RNA手法を確立できれば、野外では水サンプルを採取するだけの簡便な操作のみによって、とくに産卵に向かう銀ウナギ（＝下リウナギ）を科学的根拠に基づいて明瞭に識別・定量することが可能になり、効果的な漁獲制限によって将来的な資源回復への貢献が期待できる。今後は、環境RNA手法の確立に向けて、環境中のRNAの回収率を高めるための採水・濾過量の増加やデジタルPCRの費用対効果などの検討を進めていく必要があると考えている。

研究成果の概要（英文）：In this study, we attempted to develop an environmental RNA (eRNA) method that can distinguish and quantify different growth stages using the Japanese eel, an important fishery resource, as a model case. As a result of our field survey at Lake Jinzai in Shimane, it was found that eRNA of this species is extremely difficult to detect compared to eDNA, and that the digital PCR method may be effective in detecting eRNA. We also showed that benzalkonium chloride, which has an inhibitory effect on eDNA degradation, is also effective against eRNA. In addition, we succeeded in developing a primer/probe for one of the gonadotropins of this species. The RNA-seq analysis using fin samples of this species suggested the presence of some genes that are stage-specifically expressed. In the future, we plan to examine the points that need to be improved, which were clarified in this study, toward the establishment of an eRNA method.

研究分野：陸水生態学

キーワード：環境RNA 環境mRNA ニホンウナギ 成育段階 環境DNA 銀ウナギ 黄ウナギ RNA-seq

1. 研究開始当初の背景

貴重な水産資源を適切に管理するためには、ときには漁獲制限を課す必要がある。そのための資源量の推定には、対象種の成長ステージごとの生物量(バイオマス)を正しく評価することが重要である。しかし、これまで生物量に関する情報は、実際の採捕調査に頼らざるを得なかった。しかも各成長ステージにおける再生産への貢献度は、採捕した個体ごとに成熟度を調べる必要があり、ほとんどの魚種において実施が困難であった。一方、環境 DNA (生物から脱落した組織や糞等に由来する環境中の DNA のこと)による生物量推定は、採取した水に含まれる対象種由来の DNA の濃度から生物量を簡便に推定できる大きなメリットをもつ。そこで、成長ステージに応じて異なる遺伝子を発現することに着目し、この違いを環境中の RNA で検出できれば、水を汲むだけという簡便な方法で、より詳細な生物量推定が可能となり、持続可能な水産資源量の管理にも寄与することができる。

ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) は、日本人にとって食文化に根付く欠くことのできない水産資源である。しかし近年、漁獲量の激減や国際自然保護連合 (IUCN) による絶滅危惧 IB 類への指定により、本種の捕獲は厳しく制限され、効果的な保全活動と持続可能な資源管理はますます喫緊の課題となっている。効果的な漁獲制限を実現するためには、何よりもまず、ニホンウナギの再生産に関わる成長ステージごとの生息量を定量的に明らかにする必要がある。具体的には、調査地域におけるニホンウナギの成長ステージを 3 段階に分けて、(1) 本種稚魚として変態した“シラスウナギ”が沿岸の内湾や河川にどのくらい遡上してくるのか、(2) 遡上後、生活史の中で最も長い定住生活期である“黄ウナギ”がどのくらい生息しているのか、そして、(3) 約 10 年間、黄ウナギとして成育後、“銀ウナギ(成熟開始個体)”に変態して、いわゆる「下りウナギ」として産卵のためにどのくらい海へ下るのか、を明らかにすることである。すなわち、成長ステージに応じた生物量の評価方法として環境 RNA 手法を開発することは、対象地域においてニホンウナギがどのくらい定着し、そして、再生産に貢献するためにどのくらい海へ下っているのか、これまで未解明であった本種の遡上・定着・降河に関する回遊生態の一端を明らかにできる、まさに画期的な技術になると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、重要水産資源のニホンウナギ (*Anguilla japonica*) をモデルケースにして、野外調査では水 1L ほどを採取するだけで、簡便に生物量を推定できる“環境 DNA”手法を更に発展させて、ニホンウナギの異なる成長ステージを区別して定量できる“環境 RNA 手法”を開発することを試みた。そのためにまず、(1) 環境 RNA 調査の実施に適した野外調査フィールドの探索を実施した。つぎに、(2) 採取した水サンプルに含まれる環境 RNA の適切な保存方法を確立するため、ニホンウナギの飼育水を用意して環境 DNA 分解抑制剤として知られる塩化ベンザルコニウム (BAC) が環境 RNA の分解抑制にも効果的であるかどうかを検証した。そして、(3) 既存のデータベースの情報を利用してニホンウナギの成長ステージを識別可能な環境 mRNA 検出用プライマー・プローブの作成を試みた。そして、(4) 成長ステージの異なるニホンウナギの遺伝子発現の相違に着目した RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析を実施して、新規なプライマー・プローブの作成に必要なデータの収集を試みた。

3. 研究の方法

(1) **野外調査** : 2021 年 6 月から 2022 年 5 月の期間、鳥根県の神西湖・宍道湖・中海の各 7 地点において毎月 1 回の野外採水調査を実施した。採水の際には、使い捨て手袋をつけて表層の水で数回共洗いをした後に 1L を採取した。採取した水サンプルに DNA 分解抑制剤として塩化ベンザルコニウム (BAC) を 1mL 添加した (Yamanaka et al. 2016, Takahara et al. 2020)。なお、神西湖のみ、環境 RNA 用として水 1L を別に採取して、同様に BAC を添加した。採水後、気温、水温、溶存酸素量、pH、電気伝導度、硝酸イオン濃度、塩分も記録した。

保冷して持ち帰った水サンプルはガラス繊維ろ紙 (DF/F; ワットマン社) を用いて吸引ろ過を実施した後、Uchii et al. (2016) などに従って、環境 DNA、および、環境 RNA の抽出処理を実施した。RNA については、市販のキットに付属のプロトコルに従い、逆転写処理などを実施した。その後、Takahara et al. (2020) で公表済みのニホンウナギ特異的なプライマー・プローブ (ミトコンドリア DNA シトクロム *b* 遺伝子領域を対象) を用いて、リアルタイム定量 PCR (qPCR) を実施した。また、予備的検証として、環境 RNA サンプルについてはデジタル PCR (dPCR) による測定も実施した。

(2) **環境 RNA 保存方法の検討**：ガラス水槽（縦 30cm×横 60cm×高さ 35cm）4 個を用意して、水道水をくみ置きした水を水深 18cm まで入れてエアレーションを実施した。各水槽にニホンウナギ 1 個体ずつを入れて静置した（体長（重量）：約 70cm（約 640g）、80cm（740g）、100cm（740g）、90cm（800g））。7 日後、各水槽から合計 40 L になるように飼育水をバケツ（45 L、DNA フリー）に移した。バケツに入れた飼育水を攪拌しながら、1L ボトルに 1L ずつ計 36 本分を採取した。採水済みのボトルは、BAC あり処理区と BAC なし処理区でそれぞれ 18 本ずつ分けて、BAC あり処理区のボトルには BAC を 1mL 添加した。採水後の経過時間と水サンプル中の RNA の残存量を比較するため、採水からろ過処理までの時間を 0 時間、1 時間、3 時間、9 時間、24 時間、48 時間と設定して、経過時間ごとに BAC あり処理区用と BAC なし処理区用にボトル 3 本ずつを用意した。それらのボトルは、各時間のろ過処理まで 25 度に設定した恒温器で保管した。各経過時間において、割り当てた水サンプル（ボトル）をガラス繊維ろ紙（DF/F；ワットマン社）を用いて吸引ろ過を実施した。1 サンプルごとにろ過量が 1L になるように実施した。ろ過済みのろ紙はアルミホイルに包み、つぎの作業まで -80 で保存して、適宜、RNA 抽出処理とリアルタイム定量 PCR 実験を実施した。

(3) **プライマー・プローブの作成**：先行研究を参考にして、黄ウナギでは発現がほぼ見られず、銀ウナギでのみ発現量が多いと考えられた mRNA の候補を探索した。標的遺伝子の mRNA 配列は米国国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）のヌクレオチド配列アーカイブから収集した（<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>）。収集した mRNA 配列データから Primer Express 3.0.1（Thermo Fisher Scientific）を用いて候補プライマー（+ 候補プローブ）をデザインした。その後、デザインした候補プライマーセットは Primer-BLAST を使用して、ニホンウナギに特異的なプライマー配列であるかどうかを検証した。

本研究における候補プライマーの対象遺伝子領域は、淡水オプシン（Fwo）、深海オプシン（Swo）、黄体形成ホルモン（Lhb）とした。黄体形成ホルモン（Lhb）はエキソン同士の繋ぎ目の位置にプローブを設定した。これは、PCR 処理の際に DNA 配列や前駆体 mRNA 配列の増幅を防止するためである。淡水オプシン（Fwo）と深海オプシン（Swo）は既存の登録情報からはエキソンの繋ぎ目を見つけることができなかったため、エキソンに関係なくプライマー・プローブをデザインした。ハウスキピング遺伝子として、PRL と GAPDH は既存のプライマー情報を利用した（Sudo et al. 2013；Yada et al. 2020）。

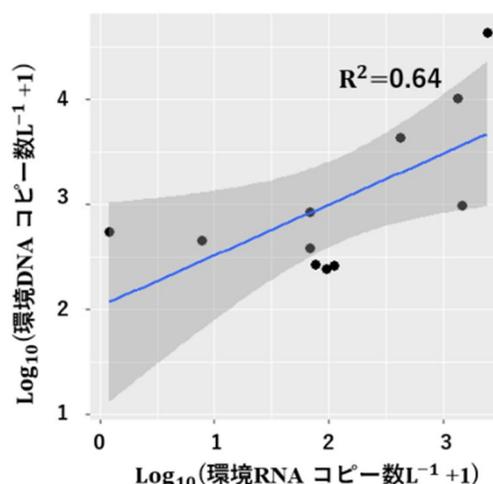
つぎに、野外で採集した後に室内水槽で畜養していた黄ウナギ、および、銀ウナギの飼育水サンプルを用意して、デザインした候補プライマー・プローブを用いたリアルタイム PCR 実験を実施して、成長ステージ（黄ウナギ・銀ウナギ）を識別できるかどうかを検証した。

(4) **RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析**：野外で採集した後に室内水槽で畜養していた黄ウナギ 3 個体と銀ウナギ 3 個体のヒレサンプルを用いて、市販のキットとプロトコルに従い RNA 精製・単離処理した。その後、Veritas 社の受託サービスを利用して RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析を実施した。

4. 研究成果

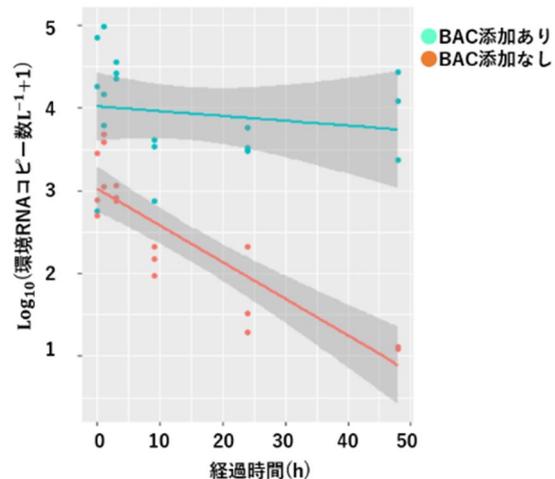
(1) **野外調査**：島根県の神西湖・宍道湖・中海において野外採水調査（2021 年 6 月から 2022 年 5 月、毎月 1 回、各 7 地点）を実施した結果、神西湖で本種の環境 DNA 濃度が最も高いことが確認された。このことから、他の湖 2 つに比べて、神西湖はニホンウナギの生息密度が高いことが示唆された。したがって、ニホンウナギの生息量が多いと考えられる神西湖は、本種の環境 RNA 調査に最も適していると考えられた。

つぎに、神西湖の水サンプルを用いてニホンウナギの環境 DNA と環境 RNA の関係を調べた結果、環境 DNA と環境 RNA の両濃度には正の相関がみられた（図 1）。しかしながら、野外の水サンプルに含まれる環境 RNA の検出率・濃度は非常に低いことも明らかになった。加えて、リアルタイム定量 PCR の測定結果に比べて、デジタル PCR を用いた場合、環境 RNA の検出感度が高い傾向がみられた。



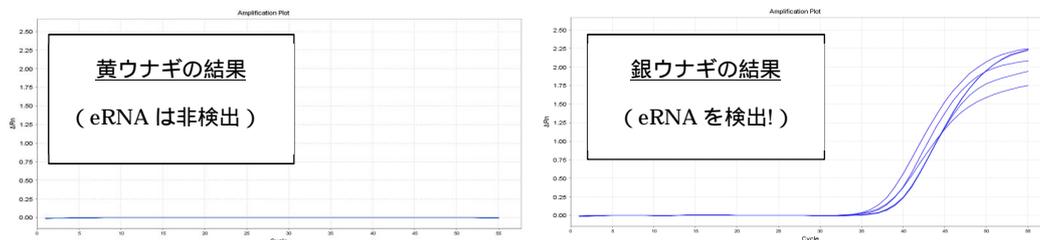
（図 1）環境 DNA と環境 RNA の関係

(2) **環境 RNA 保存方法の検討**：ニホンウナギの飼育水を採取してからろ過処理までの経過時間と環境 RNA 濃度との関係を調べた。その結果、BAC なし処理区では、経過時間とともに環境 RNA 濃度が減衰し、採水後 48 時間で環境 RNA がほぼ検出されなくなった(図 2)。一方、BAC あり処理区では、採水後 0 時間から 48 時間まで環境 RNA 濃度の大きな減衰はみられなかった(図 2)。これらのことから、環境 RNA は採水後すぐに急激な分解が始まると考えられるが、BAC の添加は、環境 DNA と同様に環境 RNA の分解抑制にも効果的であることが明らかになった。



(図 2) BAC の環境 RNA 分解抑制効果の検証

(3) **プライマー・プローブの作成**：黄ウナギと銀ウナギの飼育水サンプルを用いたリアルタイム PCR 実験の結果、性成熟に関わる性腺刺激ホルモンの 1 つである黄体形成ホルモン (Lhb) を対象にしたプライマー・プローブを使用することで、銀ウナギのみを特異的に検出できることが示唆された(図 3)。その際、mRNA のエキソン同士の繋ぎ目にプローブを設定することで、イントロン配列を含むゲノム DNA の増幅を除外できることも示すことができた。また、その他にデザインした候補プライマー・プローブ(淡水オプシン Fwo・海水オプシン Swo) では、黄ウナギと銀ウナギを区別できないことも明らかになった。



(図 3) Lhb プライマー・プローブを用いたリアルタイム PCR 実験による環境 RNA の反応曲線

(4) **RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析**：黄ウナギと銀ウナギそれぞれから採取したヒレサンプルを用いた解析の結果、ステージ特異的に発現しているいくつかの遺伝子の存在が示唆された(例：細胞間接着に関わる遺伝子など)。現在、それらの情報を元に両ステージの個体を識別可能なリアルタイム定量 PCR 用プライマー・プローブの開発を進めている。

参考文献

- Sudo R., Suetake H., Suzuki Y., Aoyama J., Tsukamoto K. (2013) Profiles of mRNA expression for prolactin, growth hormone, and somatolactin in Japanese eels, *Anguilla japonica*: the effect of salinity, silvering and seasonal change. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 164: 10-16.
- Takahara T., Taguchi J., Yamagishi S., Doi H., Ogata S., Yamanaka H., Minamoto T. (2020) Suppression of eDNA degradation in water samples associated with different storage temperature and period using benzalkonium chloride. *Limnol. Oceanogr-Meth* 18: 437-445.
- Yada T., Abe M., Kaifu K., Yokouchi K., Fukuda N., Kodama S., Hakoyama H., Ogoshi M., Kaiya H., Sakamoto T., Moriyama S., Tsukamoto K. (2020) Ghrelin and food acquisition in wild and cultured Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 245: 110700.
- Yamanaka H., Motozawa H., Tsuji S., Miyazawa RC., Takahara T., Minamoto T. (2016) On-site filtration of water samples for environmental DNA analysis to avoid DNA

degradation during transportation. *Ecol. Res.* 31: 963-967

- Uchii K., Doi H., Minamoto T. (2016) A novel environmental DNA approach to quantify the cryptic invasion of non-native genotypes. *Mol. Ecol. Resour.* 16: 415-422

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takahara Teruhiko, Fukui Katsuya, Hiramatsu Daisuke, Doi Hideyuki, Fujii Masato, Minamoto Toshifumi	4. 巻 19
2. 論文標題 Development of primer-probe sets for environmental DNA-based monitoring of pond smelt <i>Hypomesus nipponensis</i> and Japanese icefish <i>Salangichthys microdon</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Landscape and Ecological Engineering	6. 最初と最後の頁 11 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11355-022-00507-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Doi Hideyuki, Minamoto Toshifumi, Takahara Teruhiko, Tsuji Satsuki, Uchii Kimiko, Yamamoto Satoshi, Katano Izumi, Yamanaka Hiroki	4. 巻 36
2. 論文標題 Compilation of real time conditions toward the standardization of environmental DNA methods	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 379 ~ 388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1440-1703.12217	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Doi Hideyuki, Watanabe Takeshi, Nishizawa Naofumi, Saito Tatsuya, Nagata Hisao, Kameda Yuichi, Maki Nobutaka, Ikeda Kousuke, Fukuzawa Takashi	4. 巻 21
2. 論文標題 On site environmental DNA detection of species using ultrarapid mobile PCR	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Ecology Resources	6. 最初と最後の頁 2364 ~ 2368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1755-0998.13448	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Doi Hideyuki, Inui Ryutei, Matsuoka Shunsuke, Akamatsu Yoshihisa, Goto Masuji, Kono Takanori	4. 巻 66
2. 論文標題 Estimation of biodiversity metrics by environmental DNA metabarcoding compared with visual and capture surveys of river fish communities	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Freshwater Biology	6. 最初と最後の頁 1257 ~ 1266
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/fwb.13714	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Tatsuya, Doi Hideyuki	4. 巻 3
2. 論文標題 Degradation modeling of water environmental DNA: experiments on multiple DNA sources in pond and seawater	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental DNA	6. 最初と最後の頁 850 ~ 860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/edn3.192	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahara Teruhiko, Taguchi Junya, Yamagishi Satoshi, Doi Hideyuki, Ogata Shigeki, Yamanaka Hiroki, Minamoto Toshifumi	4. 巻 18
2. 論文標題 Suppression of environmental DNA degradation in water samples associated with different storage temperature and period using benzalkonium chloride	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Limnology and Oceanography: Methods	6. 最初と最後の頁 437 ~ 445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/LOM3.10374	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Minamoto Toshifumi, Miya Masaki, Sado Tetsuya, Seino Satoquo, Doi Hideyuki, Kondoh Michio, Nakamura Keigo, Takahara Teruhiko, Yamamoto Satoshi, Yamanaka Hiroki, Araki Hitoshi, Iwasaki Wataru, Kasai Akihide, Masuda Reiji, Uchii Kimiko	4. 巻 3
2. 論文標題 An illustrated manual for environmental DNA research: water sampling guidelines and experimental protocols	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental DNA	6. 最初と最後の頁 8 ~ 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/edn3.121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 立石 新・辻 冨月・山中裕樹・乾 隆帝・赤松良久・高原輝彦	4. 巻 27
2. 論文標題 環境DNAを用いた宍道湖・中海におけるモクスガニ (Eriocheir japonica) の季節的な分布推定	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Laguna	6. 最初と最後の頁 87 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 高原輝彦・服部真也・山中裕樹	4. 巻 24
2. 論文標題 環境DNAを用いた宍道湖-中海を利用する海産魚2種の季節移動性の推定	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ホンザキグリーン財団研究報告	6. 最初と最後の頁 161 ~ 170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogata Shigeki, Nishiwaki Atsuhiko, Yamazoe Kanji, Sugai Kyoko, Takahara Teruhiko	4. 巻 26
2. 論文標題 Discovery of unknown new ponds occupied by the endangered giant water bug <i>Kirkaldyia deyrolli</i> (Hemiptera: Heteroptera: Belostomatidae) by combining environmental DNA and capture surveys	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Entomological Science	6. 最初と最後の頁 e12540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ens.12540	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogata Shigeki, Doi Hideyuki, Igawa Takeshi, Komaki Shohei, Takahara Teruhiko	4. 巻 37
2. 論文標題 Environmental DNA methods for detecting two invasive alien species (American bullfrog and red swamp crayfish) in Japanese ponds	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 701 ~ 710
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1440-1703.12341	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahara Teruhiko, Doi Hideyuki, Kosuge Toshihiro, Nomura Nanae, Maki Nobutaka, Minamoto Toshifumi, Watanabe Katsutoshi	4. 巻 0
2. 論文標題 Effective environmental DNA collection for an endangered catfish species: testing for habitat and daily periodicity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Ichthyological Research	6. 最初と最後の頁 000 ~ 000
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10228-022-00900-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Souma Rio、Katano Izumi、Doi Hideyuki、Takahara Teruhiko、Minamoto Toshifumi	4. 巻 68
2. 論文標題 Comparing environmental DNA with whole pond survey to estimate the total biomass of fish species in ponds	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Freshwater Biology	6. 最初と最後の頁 727 ~ 736
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/fwb.14059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Doi Hideyuki、他20名	4. 巻 0
2. 論文標題 Species traits and ecosystem characteristics affect species detection by eDNA metabarcoding in lake fish communities	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Freshwater Biology	6. 最初と最後の頁 000 ~ 000
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/fwb.14107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山岸 聖、吉田真明、福井克也、高原輝彦	4. 巻 26
2. 論文標題 環境DNAとDNAバーコーディングを用いたニホンウナギの稚魚期に関する予備的調査	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ホシザキグリーン財団研究報告	6. 最初と最後の頁 215 ~ 228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 高原輝彦
2. 発表標題 環境DNAを用いた宍道湖のヤマトシジミとモクズガニの調査事例
3. 学会等名 2021年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 楠田 聡・山崎哲也・安藤大成・真野修一・神戸 崇・荒木仁志・高原輝彦
2. 発表標題 環境DNAを用いたヤマトシジミ資源量推定の試み
3. 学会等名 第4回環境DNA学会オンライン大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山岸 聖・土居秀幸・高原輝彦
2. 発表標題 環境DNAを用いた穴道湖・中海の流入河川8本における回遊魚4種の生息実態の推定
3. 学会等名 第4回環境DNA学会オンライン大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辻井彩花・永田晃弘・山岸 聖・高原輝彦
2. 発表標題 環境DNAを用いた穴道湖・中海におけるニホンウナギの5年間の長期モニタリング
3. 学会等名 鳥根大学エスチュアリー研究センター (EsReC) 第29回汽水域研究発表会 汽水域研究会第10回例会 汽水域合同研究発表会2022
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山岸 聖・下田莉奈・小室 隆・神門利之・引野愛子・坂田雅之・源 利文・高原輝彦
2. 発表標題 穴道湖における堆積物コアDNAを指標にした水生動植物の過去の時系列変動の解明
3. 学会等名 鳥根大学エスチュアリー研究センター (EsReC) 第29回汽水域研究発表会 汽水域研究会第10回例会 汽水域合同研究発表会2022
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小室 隆・神門利之・加藤季晋・引野愛子・山岸 聖・高原輝彦・後藤益滋・坂田雅之・源 利文
2. 発表標題 Seda DNAを用いた宍道湖における過去の車軸藻類の復元
3. 学会等名 2022年日本地理学会春季学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高原輝彦
2. 発表標題 中長期的な環境DNA観測からみえてきた宍道湖・中海の動植物個体群動態
3. 学会等名 3大学連携キックオフシンポジウム（新潟大・金沢大・島根大 環境シンポジウム）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片山悦治郎・小濱智之・松田 賢・神庭治司・溝口佑輔・西村崇士・森脇孝洋・山中裕樹・高原輝彦
2. 発表標題 江の川水系の底生生物のイシガイ科及びモクスガニを対象とした底質の環境DNAによる出現状況把握
3. 学会等名 第3回環境DNA学会オンライン大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山岸 聖・小室 隆・神門利之・引野愛子・坂田雅之・源 利文・下田莉奈・高原輝彦
2. 発表標題 堆積物コアDNAを用いた宍道湖におけるマクロ生物の近過去生息状況の推定
3. 学会等名 生物系三学会中国四国地区合同大会（2022年度島根大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田晃弘・辻井彩花・山岸 聖・源 利文・山中裕樹・高原輝彦
2. 発表標題 環境RNA手法の実用化に向けた検証：ニホンウナギをモデルケースにした野外調査と飼育実験から
3. 学会等名 生物系三学会中国四国地区合同大会（2022年度島根大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 仲村康秀・瀬戸浩二・安藤卓人・香月興太・齋藤文紀・小木曾映里・山岸 聖・高原輝彦
2. 発表標題 DNAメタバーコーディング等を応用した生態系構造の長期的変遷解明
3. 学会等名 日本海洋学会（2022年度秋季大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 増成伸文・竹本浩之・草加耕司・野口大毅・山中裕樹・高原輝彦
2. 発表標題 環境DNAおよびDNA標識を用いたモクズガニ種苗の放流後の追跡調査
3. 学会等名 日本甲殻類学会第60回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高原輝彦・山岸 聖 ・下田莉奈・永田晃弘
2. 発表標題 中長期的な環境DNA観測が実現する水草2種の年変動や季節変動の推定
3. 学会等名 島根大学エスチュアリー研究センター (EsReC) 第30回汽水域研究発表会 汽水域研究会第11回例会 汽水域合同研究発表会2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山岸 聖・仲村康秀・瀬戸浩二・高原輝彦
2. 発表標題 穴道湖堆積物コアを用いた水草DNA解析とCNS元素分析による古環境の推定
3. 学会等名 島根大学エスチュアリー研究センター (EsReC) 第30回汽水域研究発表会 汽水域研究会第11回例会 汽水域合同研究発表会2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 瀬戸浩二・香月興太・仲村康秀・齋藤文紀・辻本彰・高原輝彦・橋口亜由未・安藤卓人・入月俊明
2. 発表標題 穴道湖における過去1000年の環境変化と水草の繁茂履歴
3. 学会等名 島根大学エスチュアリー研究センター (EsReC) 第30回汽水域研究発表会 汽水域研究会第11回例会 汽水域合同研究発表会2023
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	土居 秀幸 (Doi Hideyuki) (80608505)	京都大学・情報学研究科・教授 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------