

News Release

2020年12月3日



神戸大学



龍谷大学理工学研究科大学院生 釣健司さんらが 魚類に由来するメッセンジャーRNA を水から検出することに成功 脊椎動物由来の環境 RNA を対象として mRNA の検出が可能であることを実証した初の報告例

龍谷大学先端理工学部の山中准教授らの研究グループは、神戸大学大学院人間発達環境学研究科の源利文准教授、三重大学大学院医学系研究科の島田康人講師らとの共同研究で、環境水中に浮遊している魚類由来の RNA（環境 RNA）試料から、メッセンジャーRNA（mRNA）の検出（タイピング）が可能であることを世界で初めて実証しました。同じく環境中に含まれる DNA を分析対象とした環境 DNA 分析（※1）では「どのような生物が生息しているのか」を検出することができ、近年環境調査で利用されるようになってきました。mRNA は生物の生理状態や成長段階に応じて発現パターンが変化するため、mRNA を環境水中から検出できれば、将来、野生生物の健康状態や水産重要種の成長の状況など DNA からでは読み取れなかったより詳細な生物情報を「水から」取り出せるようになるかもしれません。本研究は脊椎動物由来の環境 RNA を対象として mRNA の検出が可能であることを実証した初の報告例となります。本研究の成果は、研究を主動した大学院生である釣健司さん（龍谷大学理工学研究科修士課程2年）を筆頭著者として、オンライン科学誌 Environmental DNA (Wiley 社) で 12月4日（イギリス時間 10:00、日本時間 19:00）に公開されます。

■ 本研究成果のポイント

- ✓ 魚類由来の複数種の mRNA を、飼育水から検出できることを実証した
- ✓ 長く議論が続いている環境水中の DNA の放出源について、鰓や体表で特異的に発現する mRNA を検出して由来組織を推定し、環境 RNA 分析による mRNA タイピングの利用実例を示した
- ✓ mRNA を対象とした環境 RNA 分析の実行可能性を証明し、環境 DNA 分析と合わせた非接触での生物情報分析に新たな方向性を示した

■ 発表論文

タイトル: Messenger RNA-typing of environmental RNA (eRNA): A case study on zebrafish tank water with perspectives for the future development of eRNA analysis on aquatic vertebrates

和訳：環境 RNA 分析におけるメッセンジャーRNA タイピング：ゼブラフィッシュの水槽水を用いた検出例と水生脊椎動物を対象とした環境 RNA 分析の将来展望

著者：釣健司、池田静也、廣原嵩也（龍谷大学）、源利文（神戸大学）、島田康人（三重大学）、山中裕樹（龍谷大学）、

掲載先：Environmental DNA (Wiley 社) <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/26374943>

■ 関連情報

中山研究室における研究の紹介記事 :

<https://newspicks.com/news/4683978/body/>

■ 研究内容の詳細

水中に漂っている DNA を回収・分析して生息している種を推定するという環境 DNA 分析は、魚類等の大型生物を対象としてここ 10 年ほどで急激に技術的発展を遂げています。対象生物を捕獲することなく「水から」検出できる簡便さから、生物多様性の観測や水産資源の管理に革命をもたらす技術として期待されおり、一般社団法人環境 DNA 学会が設立されるなど、社会実装に向けた動きが進んでいます。

ただ、DNA を手掛かりとして検出をする場合、放出した個体が若い個体なのか老齢個体なのか、生きているのか死んでいるのか、といった区別ができません。どのような種がその水域に存在しているのかを知ることができるだけでも有用ですが、さらに詳細な生物情報を水から取り出せないかという期待が大きくなってきていました。メッセンジャー RNA (mRNA) は生物が特定のタンパク質を合成するときに DNA 上の遺伝子情報をもとに一時的に合成される核酸物質であり、これを解析することでその個体がどのような状態であるのかを推定できます。環境水中には水生生物の細胞が剥がれ落ちたものが浮遊していると想像されていましたので、環境 DNA 分析と同じように環境水中から RNA を回収して分析できるのではないかという見込みがありました。しかし、これまで脊椎動物を対象とした環境 RNA 分析による mRNA の検出例はありませんでした。

本研究では実験動物として有名なコイ科魚類、ゼブラフィッシュ *Danio rerio* を使用し、その飼育水槽水から環境 RNA をろ過によって回収し、抽出・生成した後、逆転写 PCR (※2) によって、鰓と表皮で特異的に発現する遺伝子（それぞれ *clc2c* と *muc5.2*）の mRNA を検出しました。これによって、脊椎動物の mRNA を環境水中から回収して検出が可能であることを示し、また、長らく議論の対象となっている「環境 DNA は魚類のどこから放出されているのか」という問い合わせに部分的に答えることができました。*clc2c* と *muc5.2* の検出成功は鰓や体表組織から剥がれ落ちた細胞が環境 DNA (および環境 RNA) の由来の一つとなっていることを強く示していますし、同時に分析した他の複数の mRNA の検出結果から、腸管なども放出起源となっていることが示唆されました。環境 DNA および環境 RNA の由来については知見が少なく、今回得られた情報や研究アプローチそのものが、これら核酸物質の環境水中での動態のさらなる解明に貢献するものと思われます。

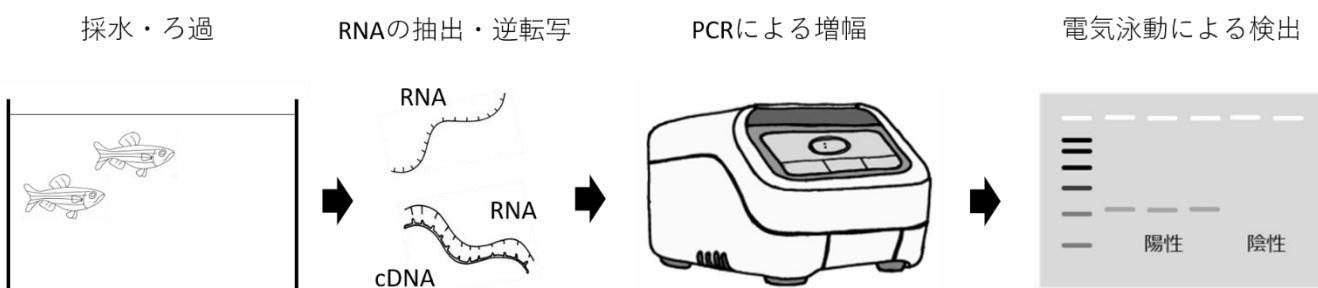


図 本研究で行った実験の流れ

なにより、脊椎動物由来の環境 RNA に対して、特定の mRNA を狙って検出（タイピング）できることを実証した例は本研究が初めてであり、極めて分解が早く検出は困難と思われていた分析が可能であると示されたことで、環境 RNA 分析の研究開発が促進されるはずです。将来的には、野生生物の成長段階の推定であったり、特定の病原生物への感染を検知したり、といった生物の保全や資源の管理に有益な分析手法へと展開できる可

能性があります。ただし、現状では DNA の情報に比べて、生物種ごと、遺伝子ごとの mRNA の情報の蓄積（データベース化）はかなり遅れています。興味のある現象（生理状態や感染の成立プロセスなど）を的確にとらえる指標とすべき mRNA はなんであるのかを、適切に選び出せるに足る十分な情報の蓄積が必要です。技術的には mRNA タイピングが環境 RNA 分析で可能であると示された今回の研究を契機として、こうした基礎情報の蓄積も活発化することを期待しています。

■ 用語解説

※1 環境DNA分析：水や土など、環境中の媒質に含まれているDNAを対象として、それを回収・分析することによって生息している種の検出や遺伝的な多様性などの情報をえる分析手法のこと。魚類等の大型生物を対象とした分析技術の開発が過去10年ほど間に急速に発展し、生物多様性観測における一般的な調査手法の一つになりつつある。

※2 逆転写PCR：RNAをPCR（Polymerase Chain Reaction）で増幅させる場合、DNAの場合と違い、まずRNAをDNAに変換してからPCRをする必要がある。RNAを相補的DNA(cDNA)に変換するステップを逆転写と呼ぶことから、RNAを対象としたPCRは逆転写PCRと呼ばれる。