

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	SERRANA, Joeselle Magpayo
審査委員	主査 渡辺 幸三 副査 日向 博文 副査 三宅 洋

論 文 名 Next-Generation Freshwater Biomonitoring: Applications of DNA Metabarcoding For Community And Population-Based Ecological Assessment
(次世代型の淡水生物モニタリング: 群集と個体群の生態学的評価における DNA メタバーコーディングの応用)

審査結果の要旨

今日、河川生態系保全への社会的要請を受けて、河川管理者である国土交通省や地方自治体が生物モニタリングを行っている。指標生物の一つである水生昆虫（カゲロウ、トビケラ等）の多くは幼虫であり、成虫に比べて形態学的に種が定義されていない分類群が多い。したがって、種ではなく、属や科レベルで粗く同定される分類群が多く残されており、真の種多様性が評価されていない。また、従来の顕微鏡による形態学的な種同定は、作業時間の長さ（=人件費の増大）や誤同定等の問題も抱える。

これらの問題を解決する代替手段として、多くの種の DNA 配列が登録された DNA データベースに、解析対象個体の DNA 配列を照会して種名を同定する DNA バーコーディングが期待される。次世代シーケンシング解析（例、MiSeq=約 100 万個の 600 塩基長の配列を 2 日で解読）と組み合わせると、全種網羅的なメタバーコーディングが可能になる。河川では魚類を中心に研究や業務事例が増えつつあるが、水生昆虫の DNA メタバーコーディングの事例は世界的に少ない。また、種内個体間の遺伝的変異である遺伝的多様性も重要な生物多様性指標の一つであるが、次世代シーケンシング解析を遺伝的多様性の評価に活用する技術提案は世界的にまだなされていない。

以上の背景から、本論文では以下 3 点を主な目的とする研究を行っている。

1. 次世代シーケンシング技術を活用した DNA メタバーコーディング解析により、河川に生息する水生昆虫などの無脊椎動物や細菌類の生物多様性を評価する手法の有効性を検証する。
2. DNA メタバーコーディング解析を活用して、ダムに設置された排砂バイパストンネルやダムから河川への土砂還元による砂州再生などの自然再生事業が河川生態系に回復に寄与する効果を測定する。
3. 次世代 DNA シーケンシング技術を活用して、種内の遺伝的多様性を迅速かつ正確に測定する新規的かつ独創的な解析手法を開発する。
- 4.

本学位論文は以下のように構成されている。第 1 章では、淡水生態系の劣化の現状と DNA メ

タバーコーディングを用いた生物モニタリングの概要について述べられ、また論文の全体の構成と目的が記述されている。第2章では、生物多様性評価におけるDNAメタバーコーディングと形態学的種同定を比較している。第3章では、スイスの複数河川を対象にDNAメタバーコーディングによるダム分断河川に生息する大型無脊椎動物への排砂バイパストンネルの生態学的効果を評価している。第4章では、DNAメタバーコーディングによる米国トリニティ川で行われている砂州再生事業が河川底生動物に及ぼす効果を測定している。第5章では、河床堆積物中の微生物群集のDNAメタバーコーディングの精度を高めるための順次的膜ろ過によるサンプル前処理技術を提案している。第6章では、米国トリニティ川で行われている砂州再生事業がダム下流河川の微生物群集構造と機能的多様性の回復に寄与したかを検証している。第7章では、DNAメタバーコーディングによる種内の遺伝的多様性を評価する手法を無脊椎動物を対象に開発している。第8章では、フィリピンで拡大するココヤシ寄生虫集団の遺伝的多様性を評価している。最後に、第9章では本論文で得られた知見がまとめられている。

本研究で得られた主な知見は以下の通りである。

- 次世代シーケンス技術を活用したDNAメタバーコーディング解析により、河川に生息する水生昆虫などの無脊椎動物や細菌類の生物多様性を評価する手法の有効性を示した。従来法の形態学的種同定では作業時間の長さや同定の不正確性が問題となっていたが、これらの問題を解決する有効な手段であることが示された。また、群集を構成する各種の個体数やバイオマスが次世代シーケンス解析から得られる塩基配列データ数と正の相関関係があることを明らかにし、DNAメタバーコーディング解析が群集構造の定量的評価もできるという重要な事実も発見した。
- DNAメタバーコーディング解析を活用して、河川で行われている幾つかの自然再生事業が生態系の回復に寄与していることを裏付ける重要なデータも報告した。具体的には、ダムに堰止められた土砂をダムの上流河川から下流河川へ迂回させて供給する排砂バイパストンネルを設置することで、ダム下流河川の無脊椎動物群集の生物多様性を回復させたり、砂州を人為的に再生させて河川空間内の環境異質性を高めることで河川に生息する無脊椎動物群集や微生物群集の種多様性と機能的多様性を回復させていることも発見した。
- 次世代シーケンサーを活用して種内の遺伝的多様性を測定する新規的かつ独創的な解析手法を開発した。通常、DNAメタバーコーディングは生物群集内に含まれる種を同定するために用いられるが、同種由来のDNA塩基配列の多型を正確に検出することで、同種個体間の遺伝子レベルの多様性を測定する手法を開発した。従来の遺伝的多様性の評価は、種ごとに1個体ずつ遺伝情報を解読する必要があったが、本研究で開発した手法により、環境中から採取した多くの種が混在した数百～数千個体の群集サンプルから一度の次世代シーケンシング解析により数多くの種の遺伝的多様性を並列的に評価できる可能性が示された。

学位論文の公聴会は令和2年2月10日に開催され、続いて開催された学位論文審査会において慎重に審議を行った。審査の結果、本論文は独創的アプローチにより河川の生物多様性評価の正確性や迅速性を向上させる有用な知見や技術を提案していること、論文の内容の一部が3つの査読付きジャーナル論文が既に出版されていることなどから、社会的および学術的に重要な貢献をしていると判断でき、博士(工学)を授与するに値すると全員一致して判定した。