

2026年6月30日

一般社団法人 全国浄化槽団体連合会

会 長 上 田 勝 朗 殿

水環境保全助成事業実施報告書（総括表）

団体名称	学校法人大阪学園 大阪高等学校 科学探究部
代表者	科学探究部顧問 谷脇 鉄平 
所在地	〒533-0007 大阪市東淀川区相川2-18-51
	電話番号 06-6340-3031 F A X 06-6349-3719
事業内容 (概要、成果等)	事業内容は別紙のとおり。
事業実施期間(日時)	令和7年4月1日～令和8年3月31日の期間
事業実施場所	本校化学実験室、淀川水系河川(城北ワンド、三島江ワンドなど)
参加人数	(1)種特異的環境DNA分析を用いたツチフキの生息状況調査にかかる ツチフキの識別プライマーの設計および検証 大阪高校：教員3名、科学探究部部員4名 (2)その他の活動(淀川水系河川のフィールドワーク、中学生への講習会、 外部発表など) 大阪高校：教員3名、科学探究部部員4名
経過	約30年ぶりに淀川水系で再発見されたツチフキについて、種特異的環境DNA分析を用いた生息状況調査を行うにあたり、ツチフキの識別プライマーを設計および検証し、その段階的な検証結果を学会などで外部発表し、一定の評価を得た。 今後は、未検証の近縁種を用いた検証を引き続き行い、ツチフキの種特異的増幅産物のみを検出できる最適な条件の確立に向けて取り組んでいきたい。 他にも、イタセンネットの活動への参加や本校周辺での活動も引き続き行いながら、希少種や在来種の保全に向けて貢献していきたい。

説明資料、参考資料、成果物を添付してください。

会計報告

費 目	内 容	金 額
【旅費】 河川調査	淀川城北ワンドにおけるイタセンネットの活動	
	ガソリン代(採水・採捕に必要な物品の運搬)	
	8月～9月分、10月～11月分	3,660円
	パーキング代(採水・採捕に必要な物品の運搬)	
	8月～11月の計4回	2,100円
	交通費(阪急相川駅～JR城北公園通)	
	片道320円×往復×7名×計4回	17,920円
	ライフジャケット	4,950円
	救命器具	2,600円
	ウェダー用洗浄ブラシ	1,650円
【消耗品費・材料費】 実験	大阪市立西中学校科学部への環境DNA講習会	
	交通費(阪急相川駅～JR城北公園通)	
	片道320円×往復×4名×計1回	2,560円
	近縁種を飼育するための水槽消耗品	313円
		313円
		990円
	ツチフキ個体(2,230円×2匹)	4,460円
	ツチフキを飼育するための水槽消耗品	2,580円
		3,440円
	一連の実験にかかる消耗品	6,468円
	DNA抽出にかかる試薬	76,549円
		7,902円
	DNA抽出にかかる消耗品	19,420円
	種特異的環境DNA手法(PCR法および電気泳動法)にかかる消耗品	16,830円
		56,100円
		14,025円
	種特異的環境DNA手法にかかる識別プライマーの設計	
	にかかる文献調査費及び講習費	20,000円
	種特異的環境 DNA 手法にかかる識別プライマーの合成	9,592円
小 計		274,422円

領収書、明細を添付してください。

会計報告

費 目	内 容	金 額
【旅費】外部発表	高校・大学環境探究活動発表会(2025年9月大阪工業大学大宮キャンパス)	
	交通費(阪急相川駅～大阪シティバス大宮小学校前) 片道410円×往復×7名	5,740円
	第81回魚類自然史研究会(2025年10月大阪工業大学大宮キャンパス)	
	交通費(阪急相川駅～大阪シティバス大宮小学校前) 片道410円×往復×7名	5,740円
	第73回日本生態学会大会(2026年3月国立京都国際会館)	
	交通費(阪急相川駅～京都市営国際会館) 片道680円×往復×7名	9,520円
	印刷費(学会用ポスター印刷 A0 サイズ)	3,762円
	令和8年度日本水産学会(2026年3月東京海洋大学品川キャンパス)	
	交通費(阪急相川駅～JR新大阪駅) 片道350円×往復×4名	2,800円
	交通費(JR新大阪駅～JR品川駅) 片道13,130円×往復×2名	52,520円
	交通費(JR新大阪駅～JR品川駅) 片道10,460円×往復×2名	41,840円
	印刷費(学会用ポスター印刷 A0 サイズ)	3,738円
小 計		125,660円
合 計		400,082円

領収書、明細を添付してください。

○ 事業概要

本校科学探究部は、2020 年 3 月から 2024 年 5 月まで富山県氷見市を拠点にタナゴ類をはじめとする魚類相の環境 DNA 分析手法(網羅的環境 DNA 手法、種特異的環境 DNA)を用いて調査¹⁾²⁾³⁾⁴⁾してきた。

環境 DNA は、2023 年度中学 3 年生が使用する理科の教科書(新興出版社啓林館)に掲載されており、教育材料として注目され始めてきた。

このような背景がある中、2024 年 1 月、6 月に発生した能登半島地震の影響で、富山県氷見市での活動の継続を断念せざるを得なくなった。

そこで、これを機会に活動拠点を地元大阪に切り替えて、2024 年 6 月以降は、淀川水系イタセンパラ保全市民ネットワーク(イタセンネット)に加盟し、淀川城北ワンドでの外来種の駆除活動やごみ清掃活動に参加しただけでなく、本校近くの神崎川や淀川三島江ワンドでも外来種の駆除活動やごみ清掃活動を行ってきた。

その後、2025 年 4 月に有限会社エー環境研究所の岡田龍也氏と出会い、これまでの本校科学探究部の活動に興味関心を持っていただいた。その際、岡田龍也氏からツチフキ(コイ科カマツカ亜科)⁵⁾の種特異的環境 DNA 分析による生息状況調査を提案いただいた。

○ 事業内容

ツチフキ(環境省レッドリスト絶滅危惧 IB 類⁶⁾、大阪府レッドリスト絶滅危惧 I 類⁷⁾)は、淀川の河川改修や水路のコンクリート化によって生息域が失われ、さらにオオクチバスやブルーギルといった外来魚が侵入・増加したことで激減し、1990 年代を境に生息が確認できない状態となり、絶滅した可能性も考えられていた。

ところが、2022 年 6 月に守口市、2022 年 8 月に高槻市の淀川で約 30 年ぶりに再発見⁸⁾された。

そこで、本研究では、守口市から高槻市に至る淀川の河川域だけでなく、本校周辺の河川域でも環境 DNA 分析および目視・捕獲によるフィールドワーク活動を通じてツチフキの生息状況調査を行いながら、並行して外来種の駆除活動やごみ清掃活動も行い、希少種や在来種の保全に貢献することを目的とする。

○ 事業結果

2025 年度は、これまでの科学探究部が積み重ねてきた環境 DNA 分析の経験や富山県氷見市での経験も活かして、本校周辺のフィールドワークも軸として活動方針を立てた。

そんな中、2025 年度に入部した 1 年生 3 名のうち 1 名は、理科の教科書(新興出版社啓林館)に環境 DNA が掲載されている記事を見て、本校科学探究部が環境 DNA 分析を用いた研究をしていることを知り入部したため、入部当初から様々な活動に意欲的に取り組む形となった。

● ツチフキの生態について調べ学習、並びにツチフキの識別プライマーの設計および検証

ツチフキの識別プライマーを設計するにあたり、2025 年 7 月に有限会社エー環境研究所の岡田氏に講習会を実施いただき、以下の①～⑤の手順に沿って行い、識別プライマーの有効性について検証を行った(図 1)。

①ツチフキの近縁種を文献調査し、カマツカ、ナガレカマツカ、スナゴカマツカ、ヨドゼゼラ、ゼゼラの 5 種を近縁種候補として選定し、各種学名を確認した後、DNA Data Bank of Japan を用いて、ツチフキおよび近縁種の Cytb 領域の DNA 配列を検索した。

②得られた DNA 配列を、Molecular Evolutionary Genetics Analysis を用いて alignment を行った後、Seaview を用いて Consensus sequence を作成した。

③作成した配列を Primer3Plus に入力し、識別プライマーの候補を設計した。その中から、ツチフキと近縁種とで塩基配列に差異が見られる領域を選定した。

④設計したプライマー候補について、Primer-BLAST を用いて種特異性を確認し、他種への非特異的な増幅が起こらないことを検証した後に、得られたプライマー候補を再度 MEGA に戻し、配列との整合性を確認することで、設計した識別プライマーの信頼性を評価した。

⑤設計したプライマーについて、PCR 法および電気泳動法を用いて有効性を検証した。



図 1 識別プライマー設計講習会の様子

● ツチフキおよび近縁種(カマツカ、ヨドゼゼラ、ゼゼラ)の飼育水から種特異的環境 DNA 分析

ツチフキおよび近縁種(カマツカ、ヨドゼゼラ、ゼゼラ)を飼育し、その飼育水からメルクミリポア社ステリベクスを用いてシリンジろ過した後、キアゲン社 DNeasy Blood & Tissue Kit、手作り回転装置を用いたウォーターバスとヒートブロックを用いて飼育水から DNA 抽出を行った。なお、DNA 抽出については、(一社)環境 DNA 学会

が公開する標準版「環境 DNA 調査・実験マニュアル(ver. 3.01)」に準拠して実施した(図 2～3)。

その後、先行研究⁹⁾を参考に、抽出した DNA サンプル、設計した識別プライマー、東洋紡社 KOD ONE PCR Master Mix・Blue[®]、プロメガ社滅菌水を用いて PCR を行い、ニッポン・ジーン社アガロース S 錠、フナコシ社 Atlas ClearSight Gold DNA Stain、コスモバイオ社 TAE buffer を用いて、電気泳動を行った。

電気泳動の結果、当初はサイクル数が少なく、ツチフキの種特異的増幅産物が確認されなかったが(図 3)、高濃度 DNA(ツチフキの眼球)を用いて、かつ、サイクル数を上げるとツチフキの種特異的増幅産物が確認された(図 4)。

次に、近縁種(カマツカ、ヨドゼゼラ、ゼゼラ)を用いて、サイクル数を上げていくと、32 サイクルを境に近縁種飼育水から非特異的増幅産物が確認された(図 5)。

以上の結果から、サイクル数を上げると非特異的増幅産物が確認されたものの、サイクル数を下げるとツチフキの種特異的増幅産物が微かに確認できたことから、設計した識別プライマーの有効性を確認できた。

ただし、他の近縁種(ナガレカマツカ、スナゴカマツカ)が未検証であることや、ツチフキの明確な種特異的増幅産物だけの確認が今後の課題であるため、引き続き、検証を繰り返していく。



図 2 ろ過の様子



図 3 DNA 抽出の様子



図 3 ツチフキおよびカマツカの飼育水を用いた電気泳動の結果

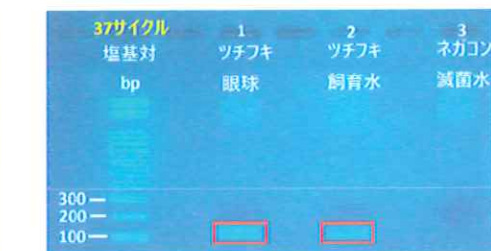
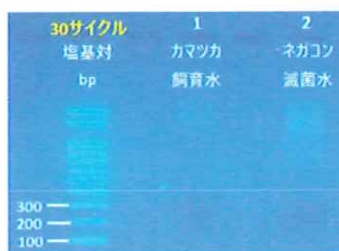


図 4 ツチフキの眼球および飼育水を用いた電気泳動の結果

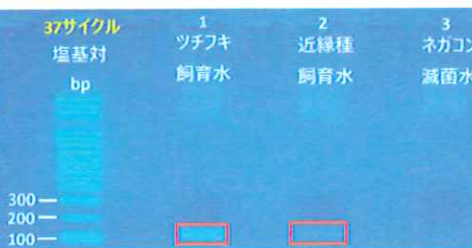
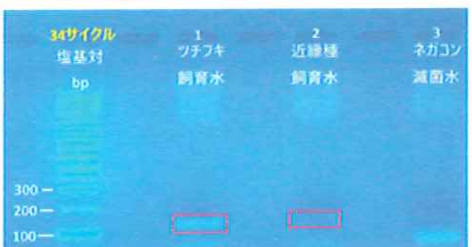
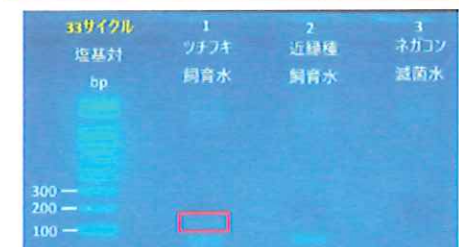
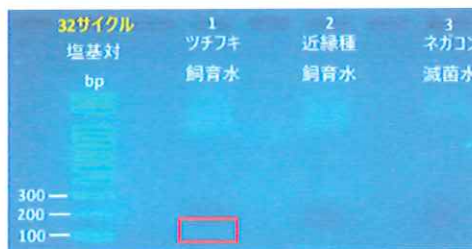
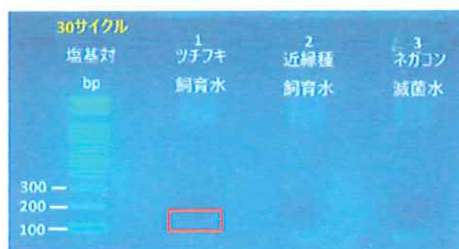


図 5 ツチフキおよび近縁種(カマツカ、ゼゼラ、ヨドゼゼラ)の飼育水を用いた電気泳動の結果

○ その他の活動

● 神崎川、淀川三島江ワンド、淀川城北ワンドでのフィールドワーク活動

1 年生の河川調査の経験値を上げるために、本校近くの神崎川で、ライフジャケットとウェダーを着用した河川内での網もんどの仕掛け練習や三角型網の使用練習を行いながら、2025 年 6 月に昨年度から調査地点にしていた淀川三島江ワンドで採水および網もんどの設置を実践した結果、科学探究部として初めて多種の魚類を捕獲した(図 6)。なお、神崎川および淀川三島江ワンドでの調査にあたり、大阪府環境農林水産部水産課指導・調整グループと淀川河川事務所高槻出張所に申請した。

また、イタセンネットの淀川城北ワンドでの活動に 2025 年 8 月、9 月、11 月に参加し、ごみ清掃をしながら底引き網の仕掛け作業や、底引き網で捕獲した外来種、在来種、希少種の分類に携わった(図 7)。



図 6 淀川三島江ワンドで採水、採捕(網もんどり、三角型網)の様子



図 7 淀川城北ワンドでイタセンネットの活動に参加する様子

● 大阪大谷大学でのリアルタイム PCR 講習会

本校では PCR および電気泳動を用いて種特異的環境 DNA 分析を行っているが、高校生ながら地道な活動をこれまでご支援いただいた大阪大谷大学内井喜美子准教授のご厚意で、2025 年 7 月に学術研究機関で行われている種特異的環境 DNA 分析のリアルタイム PCR 講習会を実施いただいた(図 8)。



図 8 大阪大谷大学薬学部内井研究室でリアルタイム PCR 講習会の様子

● 大阪市立西中学校科学部への環境 DNA 講習会

2023 年度から共同研究している大阪市立西中学校科学部の生徒さんに夏休み期間を活用して、環境 DNA 講習会を実施した(図 9～10)。



図 9 淀川城北ワンドで採水講習の様子



図 10 本校化学実験室で種特異的環境 DNA 分析(PCR および電気泳動)講習の様子

● 地域の子どもたちと一緒に本校周辺の河川清掃

夏休み期間を活用して、BLUE SANTA に参画し、地域の子どもたちと一緒に本校周辺の河川清掃を行った(図 11)。



図 11 神崎川周辺の清掃活動の様子

○ 外部発表

1年間を通じて、1年生は様々な発表会にも参加し、経験値を積んだ。

特に、2025年9月以降は、ツチフキの種特異的環境DNA分析にかかる実験結果について、段階的に得られたプロセスを主体的に発表したことで、1年生でありながら1年間で大きな成長を遂げた。

・2025年8月22日令和7年度河川基金研究成果発表会:ポスター発表1件



図 12 令和7年度河川基金研究成果発表会での発表の様子

・2025年9月6日高校・大学環境探究活動発表会:ポスター発表1件(優秀賞)

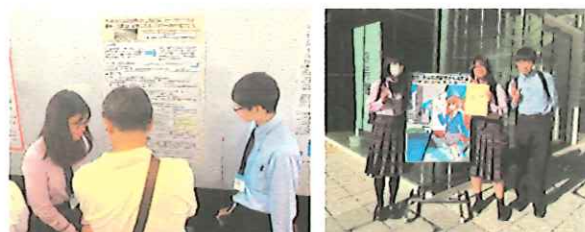


図 13 高校・大学環境探究活動発表会での発表の様子

・2025年10月4日第81回魚類自然史研究会:オーラル発表1件

・2025年12月13日第8回環境DNA学会:オンライン発表2件(本活動とは別研究で優秀賞)

・2026年3月15日第73回日本生態学会:ポスター発表1件



図 14 第73回日本生態学会での発表の様子

・2026 年 3 月 28 日令和 8 年度日本水産学会:ポスター発表 1 件



図 15 令和 8 年度日本水産学会での発表の様子

○ 今後の展望

イタセンネットでの活動を通じて、約 30 年ぶりに淀川で再発見されたツチフキが捕獲された場所の情報を入手し、2025 年 12 月～2026 年 1 月に生息域の事前調査(詳細は非公開)を行った。次年度は、その場所の河川水を定期的に採水し、その採水サンプルを用いて種特異的環境 DNA 分析によりツチフキの在・不在を判定していきたい。

また、未検証の近縁種(ナガレカマツカ、スナゴカマツカ)を入手したので、ツチフキの種特異的増幅産物のみを検出できる最適な条件の確立に向けて取り組んでいきたい。

○ 引用・参考文献

- 1) 谷脇鉄平(2020)環境 DNA を利用した仏生寺川・万尾川水系河川の生物相調査および生物保全の実践活動、公益財団法人下中記念財団 2020 年報、p.28-37
- 2) 谷脇鉄平(2021)種特異的環境 DNA 手法を用いた万尾川水系におけるタナゴ類の生息状況調査と生物保全の実践活動、公益財団法人藤原ナチュラリスト財団 2021 年度活動報告書
<https://fujiwara-nh.or.jp/archives/8f6c0a8c1cc19ffe3d907b0e6aa4d14749d09a01.pdf>
- 3) 大阪高等学校科学探究部(2022)種特異的環境 DNA 手法を利用した万尾川水系におけるタイリクバラタナゴ(外来種)の生息状況調査、公益財団法人河川基金助成事業研究レポート
<https://www.kasen.or.jp/wp-content/uploads/2024/03/2b7d025c1a09cee477c867d879d37891.pdf>
- 4) 谷脇鉄平(2024)、一般社団法人全国浄化槽団体連合会水環境保全助成事業実施報告書
<https://www.zenjohren.or.jp/wordpress/wp-content/uploads/2024/10/927b040ad5eb09c353dbe5b589bf0ad5-1.pdf>
- 5) ツチフキ、地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所
https://www.knsk-osaka.jp/zukan/zukan_database/tansui/3550b2c2834a2d4/6050b70e5d025bd.html
- 6) 環境省レッドリスト 2020
- 7) 大阪府レッドリスト 2014
<https://www.pref.osaka.lg.jp/documents/20316/5kisuitannsuigyo.pdf>
- 8) 川瀬成吾・山本義彦・鶴田哲也・田中耕司(2023)大阪府淀川におけるツチフキ(コイ科カマツカ亜科)の再発見、Natural History of Fishes of Japan, 33: 14-20.
- 9) 宮川悟・郡司吉秀・小池里奈・宮崎淳一(2023) コイ科カマツカ類の系統と分岐年代、水生動物、第 2023 巻、p.1-20.