

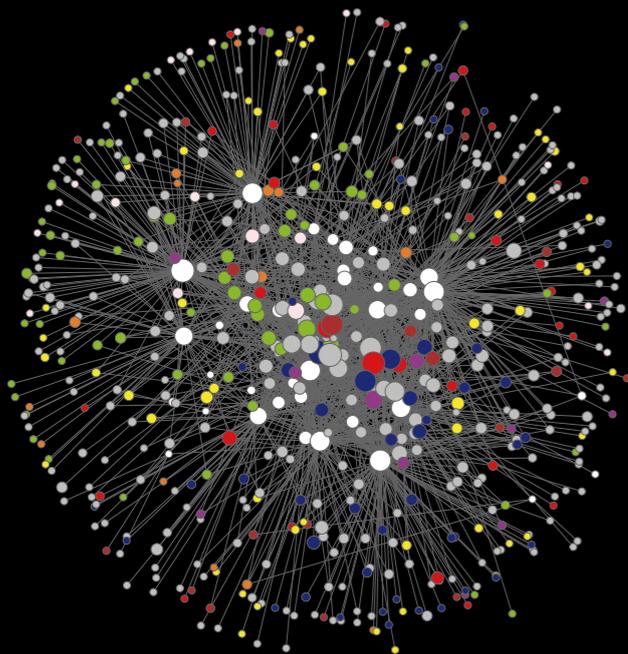
# MiSeqを用いた超多検体分析

-サンプリングからシーケンスまで-

東樹 宏和 (京大・人環)

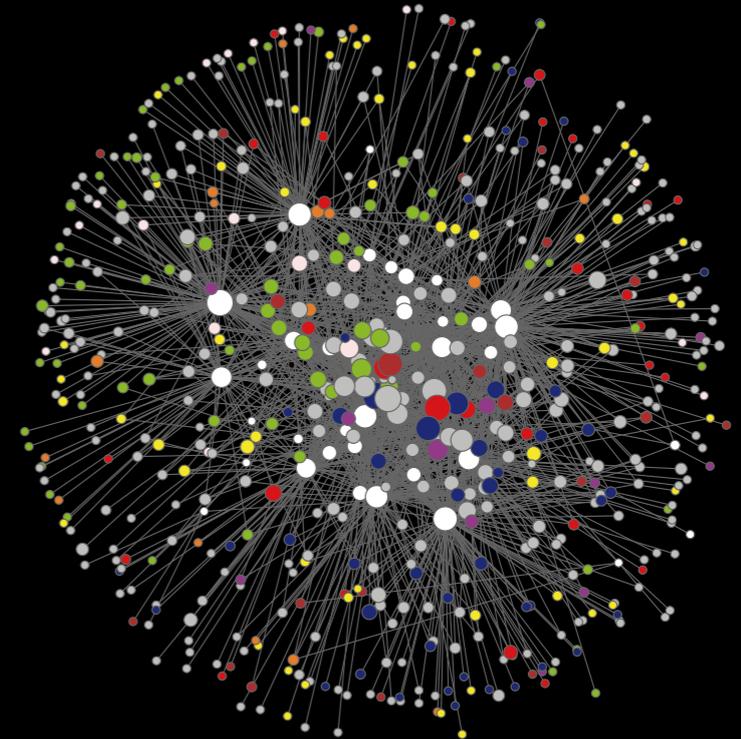
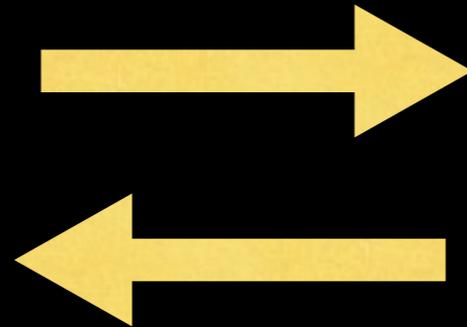
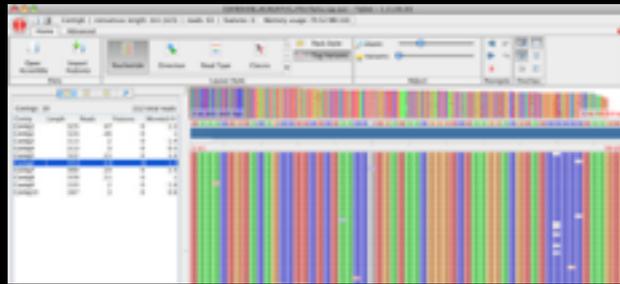
2016年3月24日

第63回生態学会大会 仙台





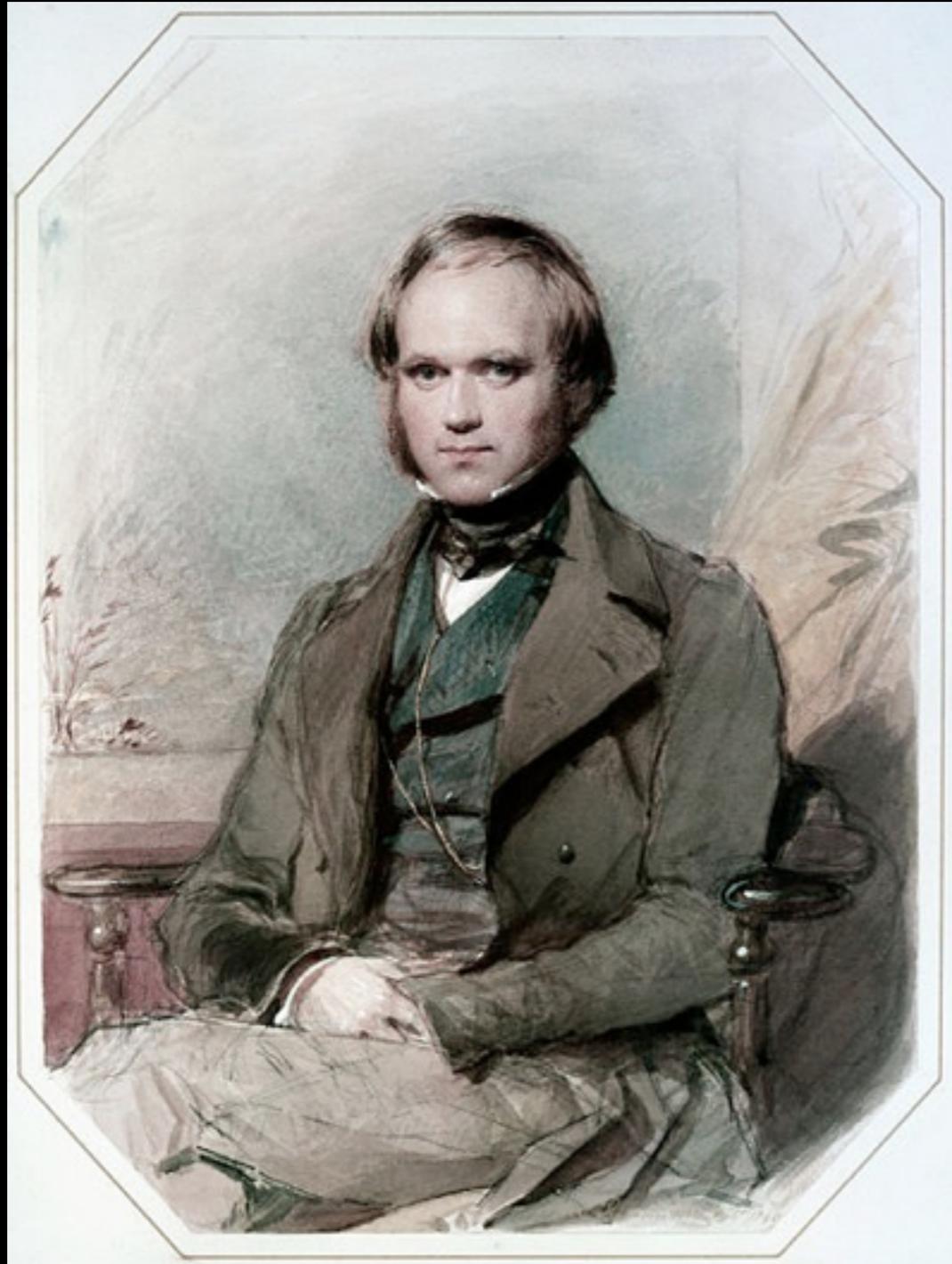
# ゲノム科学における情報革命により、 膨大な生物群集データが生態学に流入



これまで解明できなかつた小さな生物間の相互作用を大規模なデータとともに解明

DNAさえあればどんなシステムにも適用できるため、一人の研究者が生態系全体を俯瞰しやすくなる

この方たちだったら、きっと膨大な生物  
多様性情報に熱狂したに違いない



Charles Darwin



Alfred R. Wallace

# フィールド生態学者の視点で 進化学・生態学の根本的な問いに答える



# DNAバーコーディング



サンプル由来のゲノムDNA



DNAバーコード領域配列のPCR増幅



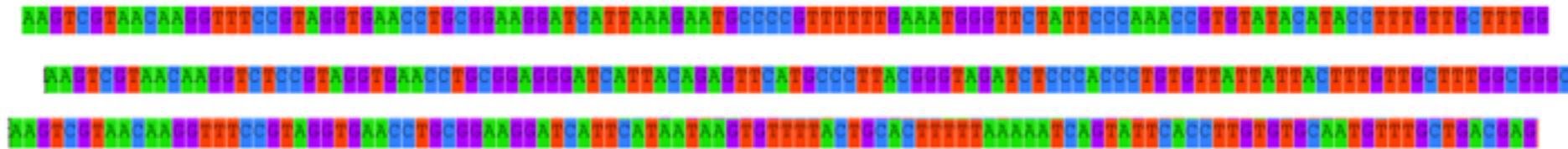
DNA配列データベース  
上の既知配列と照合

種A	T	A	C	A	G	A	G	T	T	C	A	T	G	C	C	C	T	T	A	C	G	G	G	T	A	G	G	T	C	T
種B	T	A	A	A	G	A	A	T	G	C	C	C	C	G	T	T	T	T	T	G	A	A	A	T	G	G	G	T	T	
種C	T	A	C	C	G	A	G	T	T	A	G	G	G	T	C	T	T	A	T	A	G	G	C	C	C	G	A	C	T	
種D	T	A	A	T	G	T	A	A	C	C	G	G	A	C	C	G	T	T	C	G	G	G	T	G	C	C	G	T	A	
種E	T	A	C	C	G	A	G	T	T	C	A	T	G	C	C	C	T	T	A	C	G	G	G	T	A	G	A	T	C	
種F	T	C	A	T	A	A	T	A	A	G	T	G	T	T	T	T	A	C	T	G	C	A	C	T	T	T	T	T	A	
種G	T	A	C	A	A	G	T	G	A	G	G	C	T	A	C	C	G	A	A	C	G	T	T	G	G	A	A	C	A	
種H	T	A	C	A	G	A	G	T	T	C	A	T	G	C	C	C	T	T	A	C	G	G	G	T	A	G	A	T	C	
種I	T	A	C	A	A	G	T	G	A	G	G	C	T	A	C	C	G	A	A	C	G	T	T	G	G	A	A	C	A	



「種F」 (もしくはその近縁種) として判定

# 1サンプルから複数生物を バーコーディング



複数の生物種に由来するゲノムDNAが混在するサンプル



DNAバーコード領域配列の同時PCR増幅

TACAGAGTTCATGCCCTTACGG

TACCGAGTTCATGCCCTTACGG

TACAAGTGAGGCTACCGAACGT



DNA配列データベース上の  
既知配列とそれぞれ照合

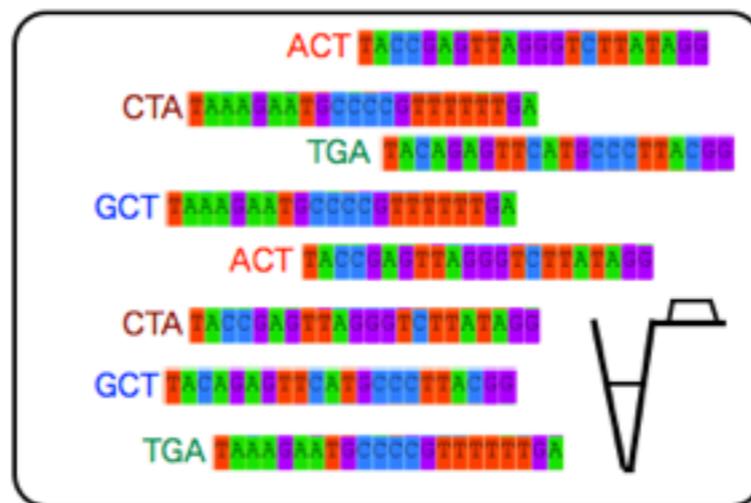
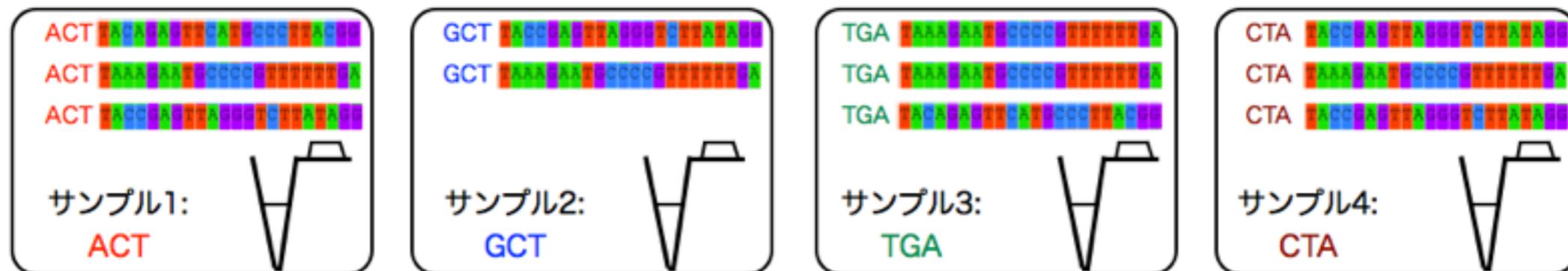
種A	TACAGAGTTCATGCCCTTACGG	TAGGTC
種B	TAAAGAA TGCCCGTTTTTTGAAA	TGGGT
種C	TACCGAGTTAGGGTCTTATAGG	CCGACCT
種D	TAAATGTAACCGGACCGTTCGGG	TGCCGTAA
種E	TACCGAGTTCATGCCCTTACGG	TAGATCT
種F	TCATAA TAAGTGTTTTACTGCACT	TTTTTAA
種G	TACAAGTGAGGCTACCGAACGT	TGGAAACA
種H	TACAGAGTTCATGCCCTTACGGG	TAGATCT
種I	TACAAGTGAGGCTACCGAACGT	TGGAAACA



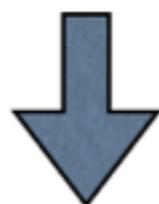
「種A・種E・種Iが共存するサンプル」と判定

# 複数サンプルのそれぞれから、 複数生物をバーコーディング

PCRの際にサンプルに固有のインデックス配列を付加する



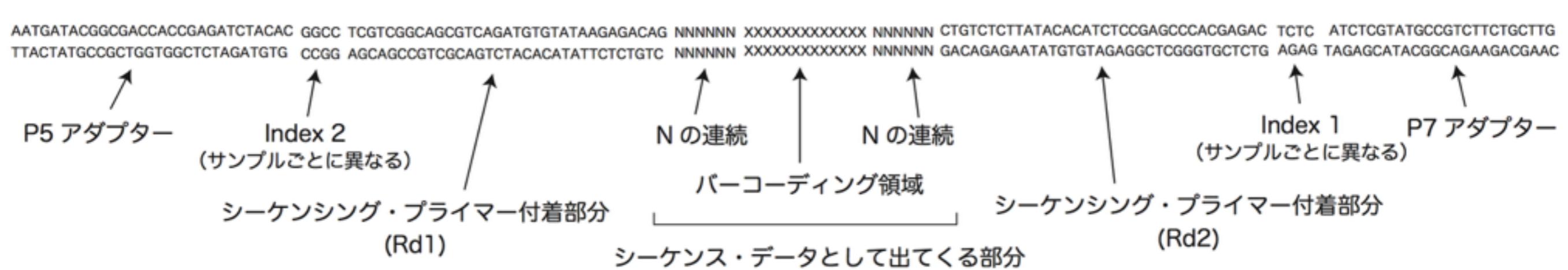
サンプルごとにインデックス付けされた  
PCR産物を一つのチューブにまとめる



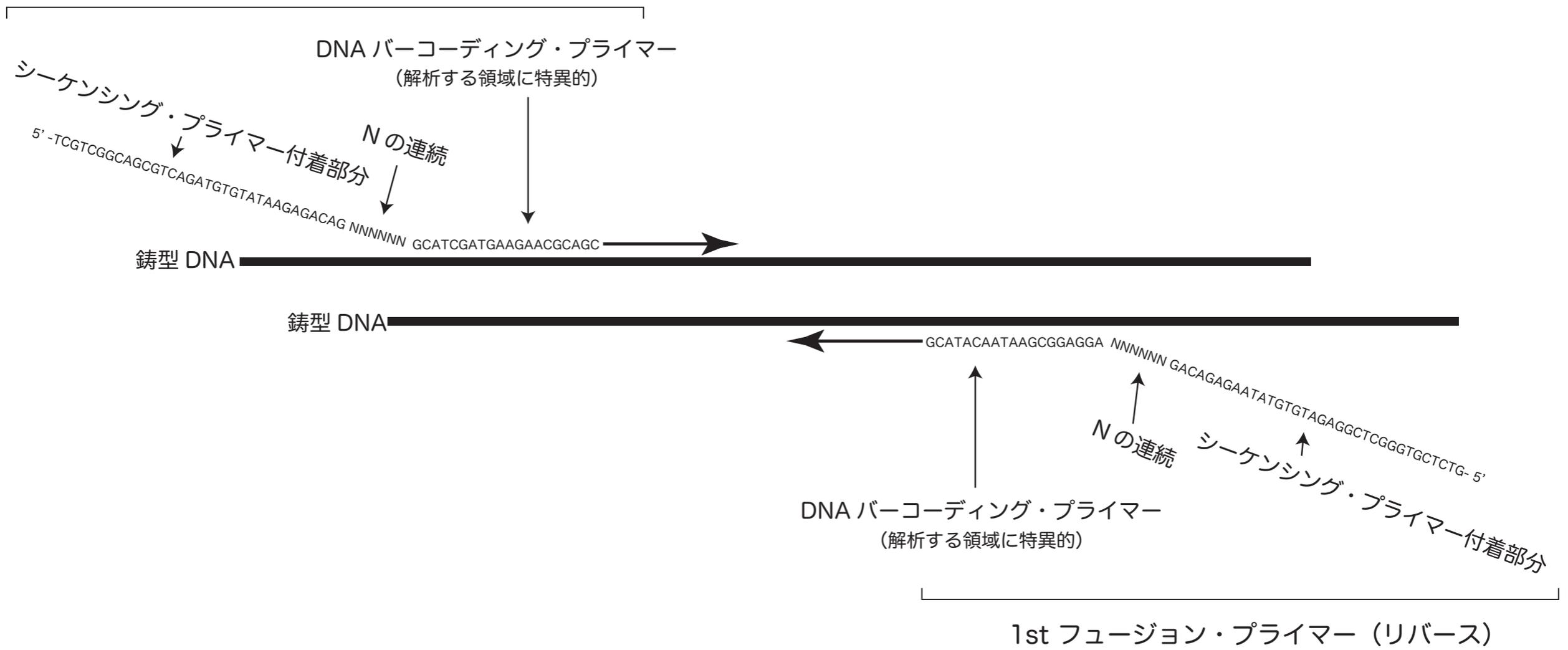
まとめて次世代シーケンシング



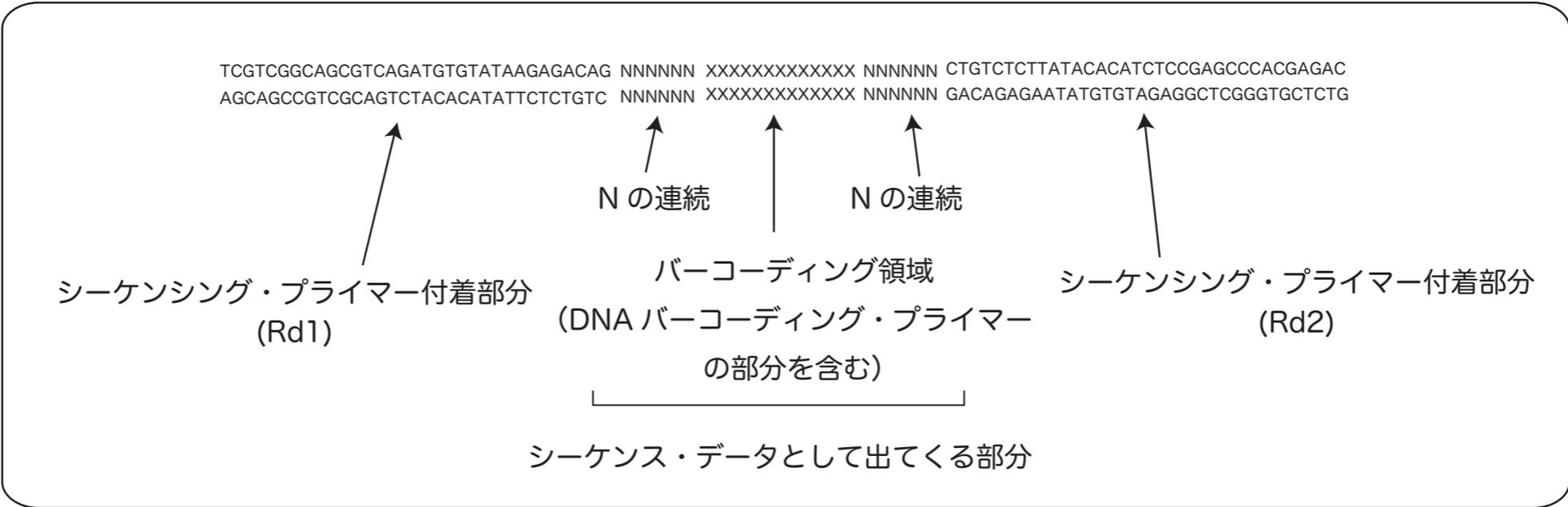
# ライブラリの構造



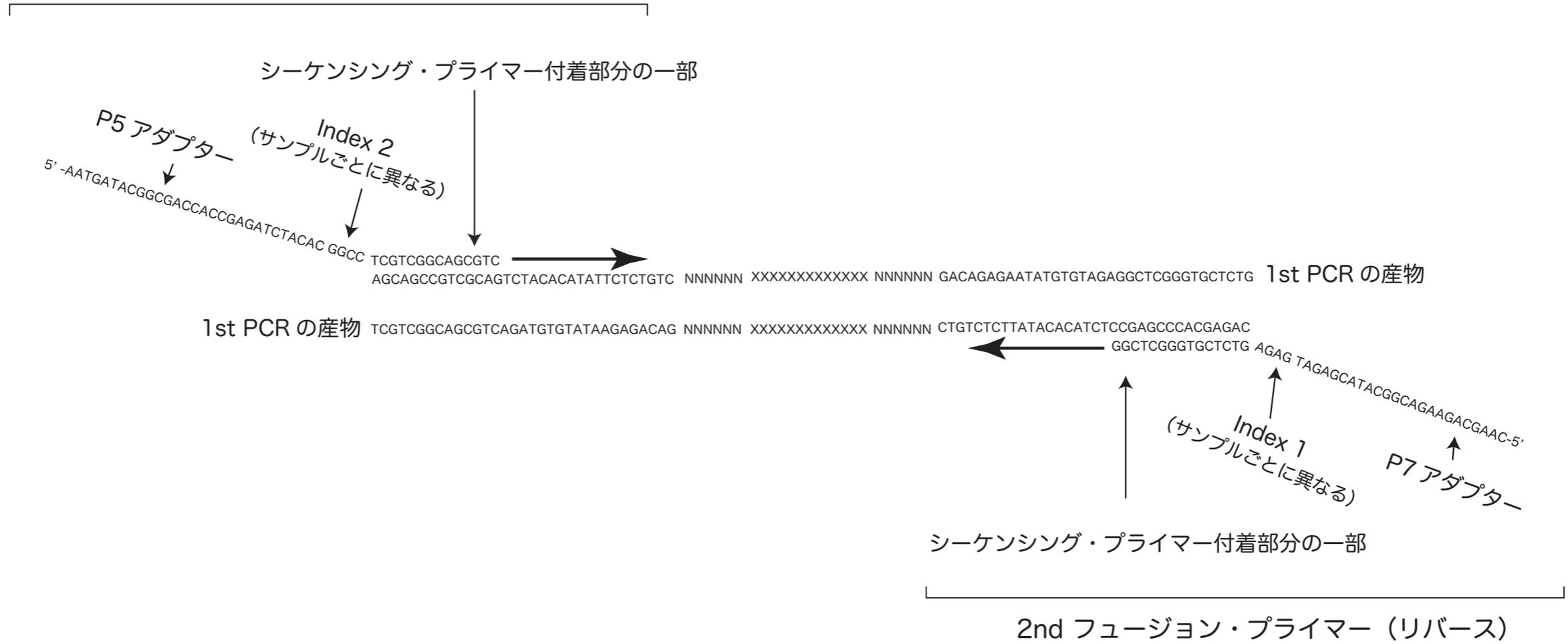
# 1st フェージョン・プライマー (フォワード)



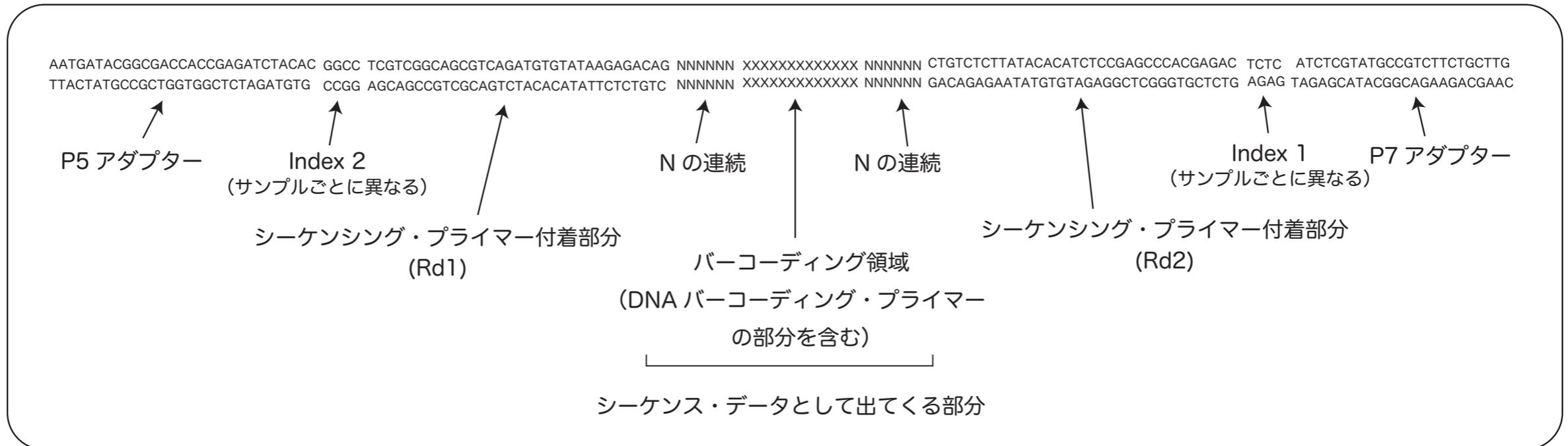
## 1st PCR の産物



## 2nd フュージョン・プライマー (フォワード)

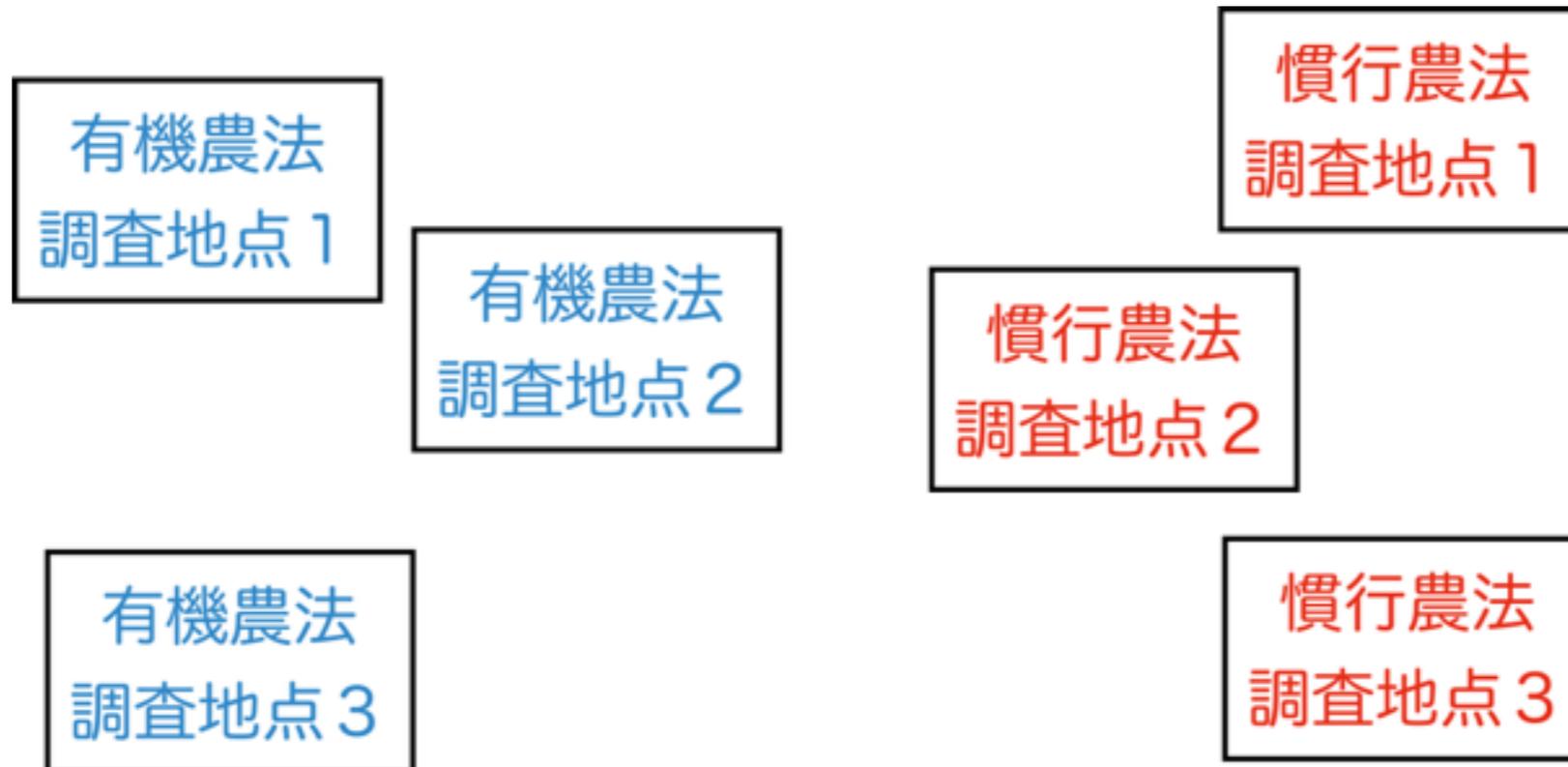


## 2nd PCR の産物



# 調査地の配置：

## だめな例



# 調査地の配置：

「とりあえずサンプル採ってみる」はだめ

有機農法  
調査地点 1

慣行農法  
調査地点 1

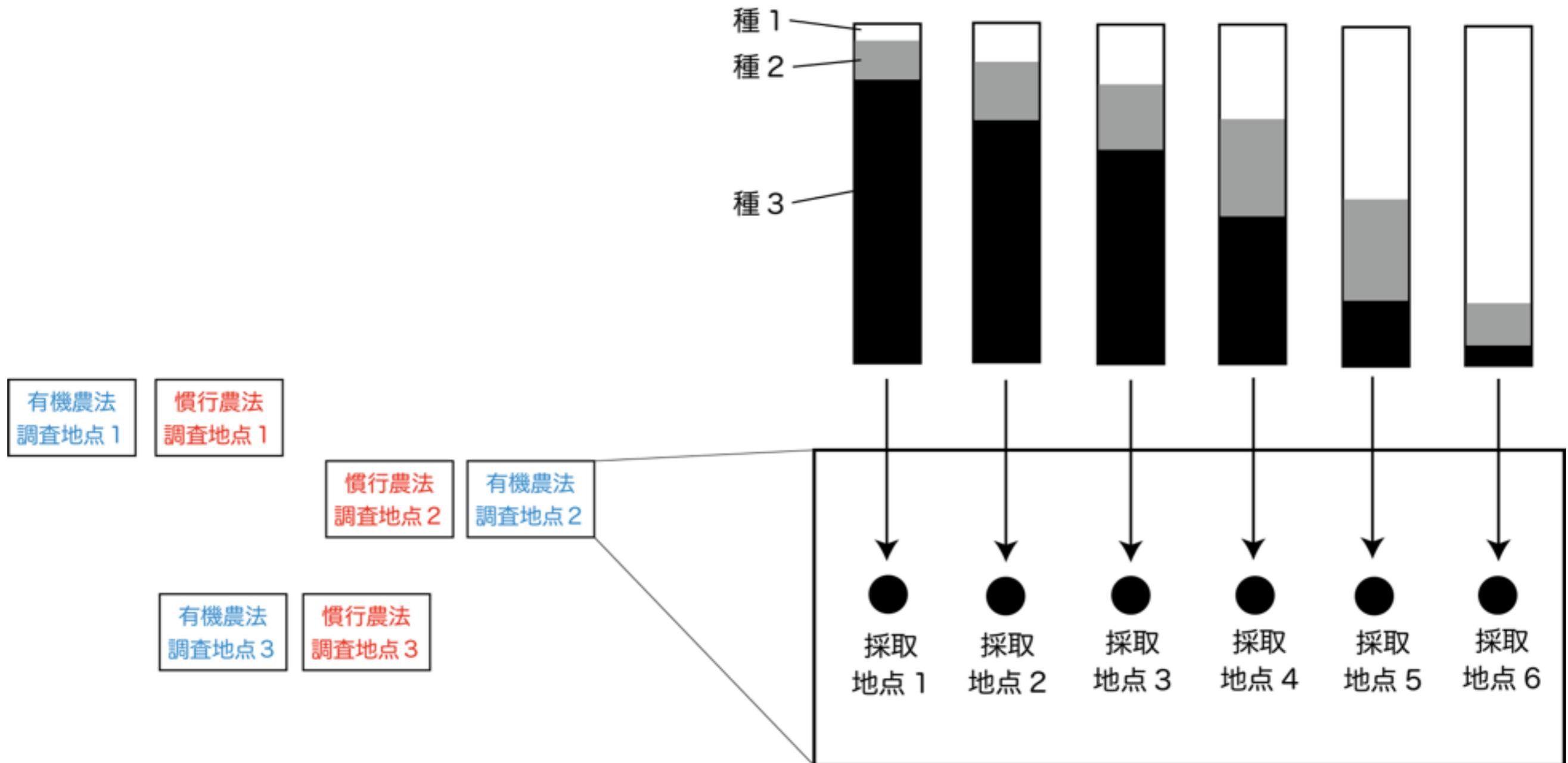
慣行農法  
調査地点 2

有機農法  
調査地点 2

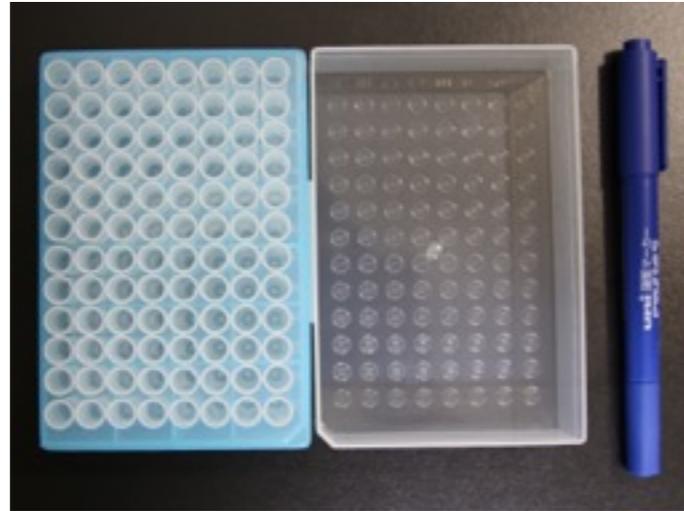
有機農法  
調査地点 3

慣行農法  
調査地点 3

# 空間的自己相関にも 気をつけよう



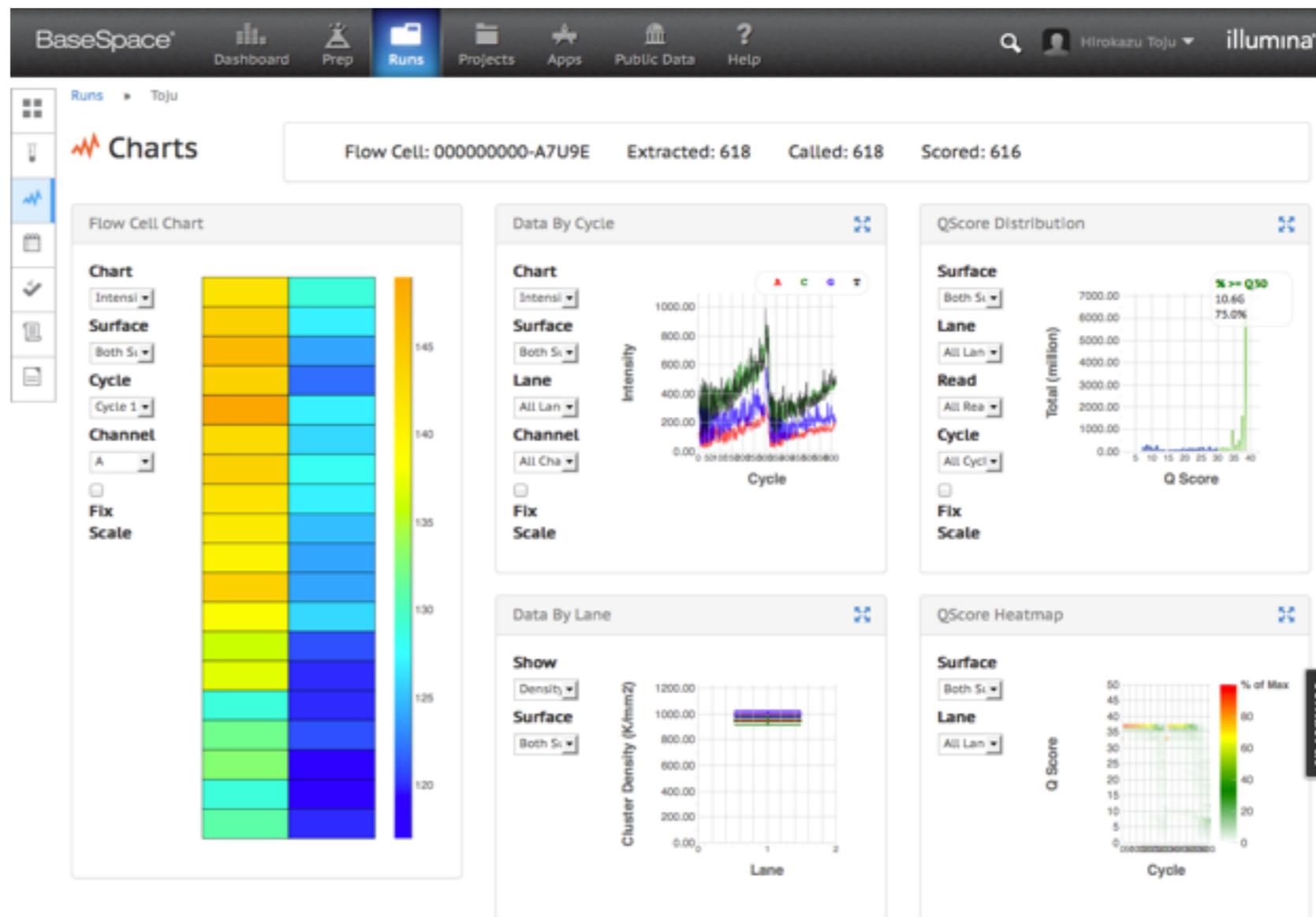
# 多サンプルのDNA抽出・PCR



# マーカー領域と 特異的プライマー

分類群	バーコード領域	増幅断片長(概算)	方向	プライマー名	配列	文献	備考	
細菌	16S rRNA (V3-V4)	400 bp	F	S-D-Bact-0341-b-S-17	CCTACGGGNGGCWGCAG	Klindworth et al. (2012)		
			R	S-D-Bact-0785-a-A-21	GACTACHVGGGTATCTAATCC	Klindworth et al. (2012)		
	16S rRNA (V4)	300~350 bp	F	515f	GTGYCAGCMGCCGCGGTAA	Caporaso et al. (2012)	The Earth Microbiome Project	
			R	806r	GGACTACNVGGGTWTCTAAT	Caporaso et al. (2012)	The Earth Microbiome Project	
真核生物全般	核 18S rRNA (V4)	380 bp	F	3NDf	GGCAAGTCTGGTGCCAG	Brate et al. (2010)		
			R	V4_euk_R1	GACTACGACGGTATCTRATCRTCCTTCG	Brate et al. (2010)		
	核 18S rRNA (V4)	380 bp	F	3NDf	GGCAAGTCTGGTGCCAG	Brate et al. (2010)		
			R	V4_euk_R2	ACGGTATCTRATCRTCCTTCG	Brate et al. (2010)		
	核 18S rRNA (V9)	200 bp	F	Euk_1391f	GTACACACCGCCCGTC	Amaral-Zettler et al. (2009)	The Earth Microbiome Project	
			R	Eukbr	TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC	Amaral-Zettler et al. (2009)	The Earth Microbiome Project	
動物	ミトコンドリア COI	700 bp	F	LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	Folmer et al. (1994)		
			R	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Folmer et al. (1994)		
	ミトコンドリア COI	700 bp	F	jgLCO1490	TITCIACIAAYCAYAARGAYATTGG	Geller et al. (2013)		
			R	jgHCO2198	TAIACYTCIGGRTGICCRAARAAYCA	Geller et al. (2013)		
	ミトコンドリア COI	400 bp	F	ARTHR_1708F	TAATIGGAGGATTYGGWAAAYT	著者作成(実績なし)	節足動物ユニバーサル	
			R	ARTHR_2173R	ACTTCTGGITGACCRAARAAYCA	著者作成(実績なし)	節足動物ユニバーサル	
	核 ITS2	300 bp	F	ITS3	GCATCGATGAAGAACGCAGC	White et al. (1990)		
			R	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White et al. (1990)		
植物	葉緑体 <i>rbcL</i>	500 bp	F	<i>rbcLa_F</i>	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	Kress et al. (2009)	<i>rbcL</i> の前半部	
			R	<i>rbcLa_R</i>	GTAAAATCAAGTCCACCRCG	Kress et al. (2009)		
	葉緑体 <i>rbcL</i>	450 bp	F	<i>rbcL_F3</i>	AAYTCCAACCATTYATGCG	Toju et al. (2013)	<i>rbcL</i> の後半部	
			R	<i>rbcL_R4</i>	CATATGCCAAACRTGAATACC	Toju et al. (2013)		
	葉緑体 <i>trnH-psbA</i>	400 bp	F	<i>psbA3_f</i>	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	Sang et al. (1997)		
			R	<i>trnHf_05</i>	CGCGCATGGTGGATTCACAATCC	Tate & Simpson (2003)		
	核 ITS2	250 bp	F	ITS2F	ATGCGATACTTGGTGTGAAT	Chen et al. (2010)		
			R	ITS3R	GACGCTTCTCCAGACTACAAT	Chen et al. (2010)		
	真菌	核 ITS1	250 bp	F	ITS1F_KYO1	CTHGGTCATTTAGAGGAASTAA	Toju et al. (2012)	植物を増幅しにくい
				R	ITS2_KYO2	TTYRCTRCGTTCTTCATC	Toju et al. (2012)	
核 ITS2		300 bp	F	ITS3_KYO2	GATGAAGAACGYAGYRAA	Toju et al. (2012)	植物も増幅する	
			R	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White et al. (1990)		

# シーケンシングはとっても簡単



どうやって膨大な  
生物群集データを  
共通の土台で  
解析するか？

# 捕食・寄生・競争・共生における 「物理的接触」を利用したDNAバーコーディング



胃内容物・糞、寄生／相利共生部位、  
共存環境サンプル....

さまざまな種間相互作用において、  
物理的接触（もしくは近接）が伴う

宿主や環境サンプルの中に  
餌 / 寄生者 / 共生者のDNA  
が含まれている

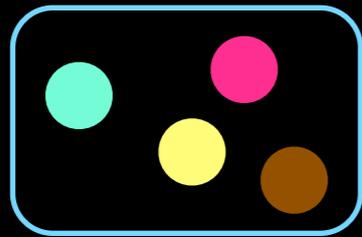
# 捕食・寄生・競争・共生における

## 「物理的接触」を利用したDNAバーコーディング

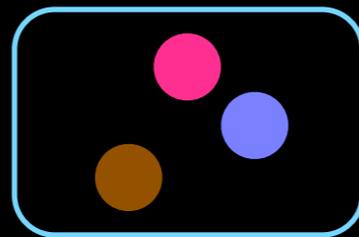
○ 宿主・環境サンプル

● 餌 / 寄生者 / 共生者

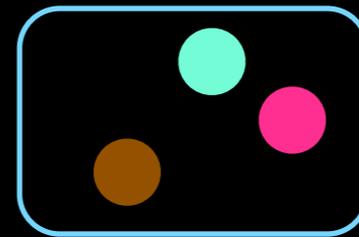
宿主サンプル 1



宿主サンプル 2



宿主サンプル 3



個々のサンプルについて、  
「宿主」および「餌 / 寄生者 / 共生者」  
をDNAバーコーディング



群集行列としてデータを統合

# 陸上生態系を支える 複雑共生系

植物群集 × 真菌群集



# 地球上の物質循環を制御する共生系



# 多様な 菌根菌

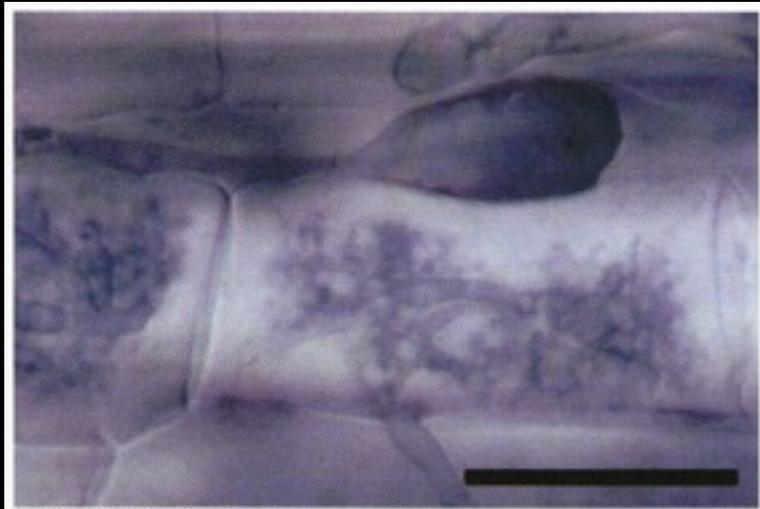


図3 アーバスキュラー菌根 [写真提供：阿部淳一]



図7 イチヤクソウ型菌根の縦断面で見られるコイル [写真提供：橋本靖]



国立科学博物館 編 「菌類のふしぎ」

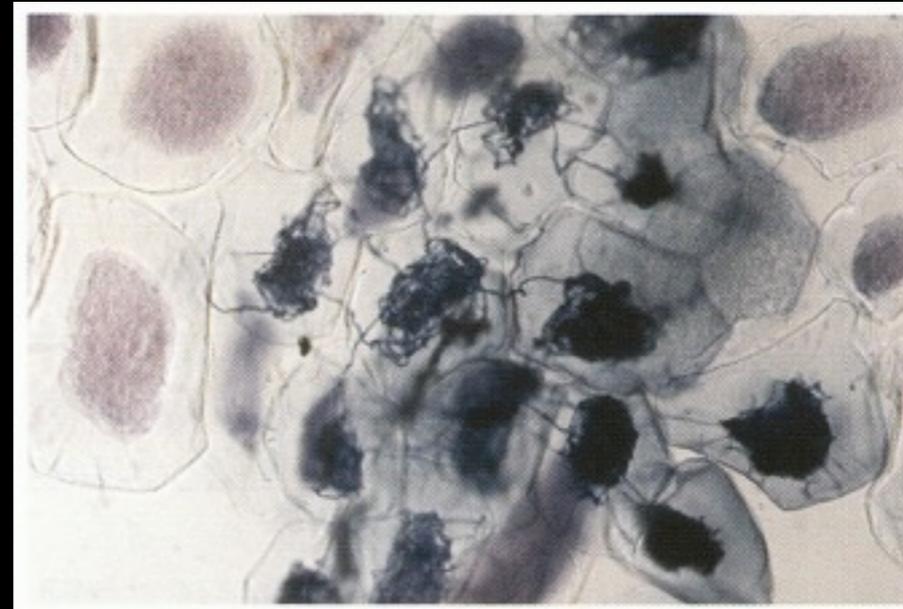


図5 ラン菌根で糸玉状を示す侵入菌糸 [写真提供：辻田有紀]

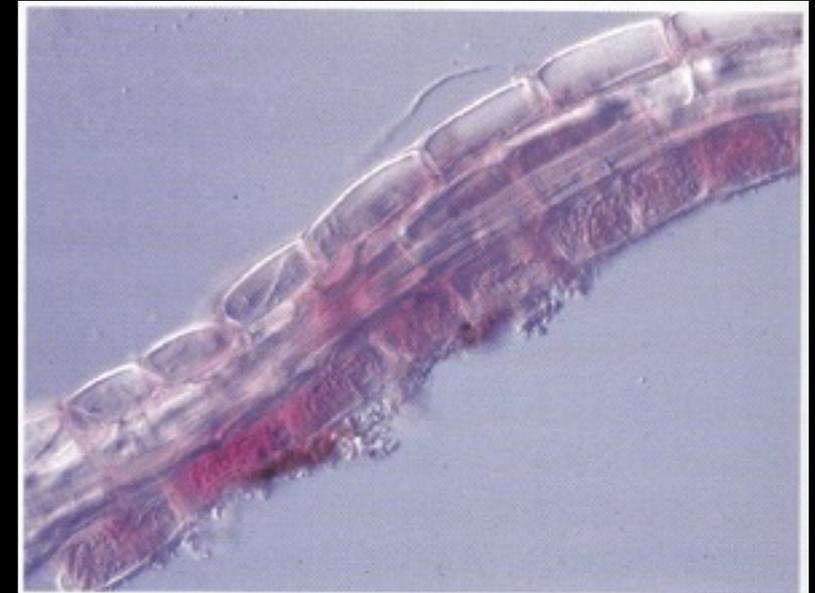


図8 ツツジ型菌根 [写真提供：薄史暁]  
根の上下半分で菌糸の糸玉状の侵入が認められる。

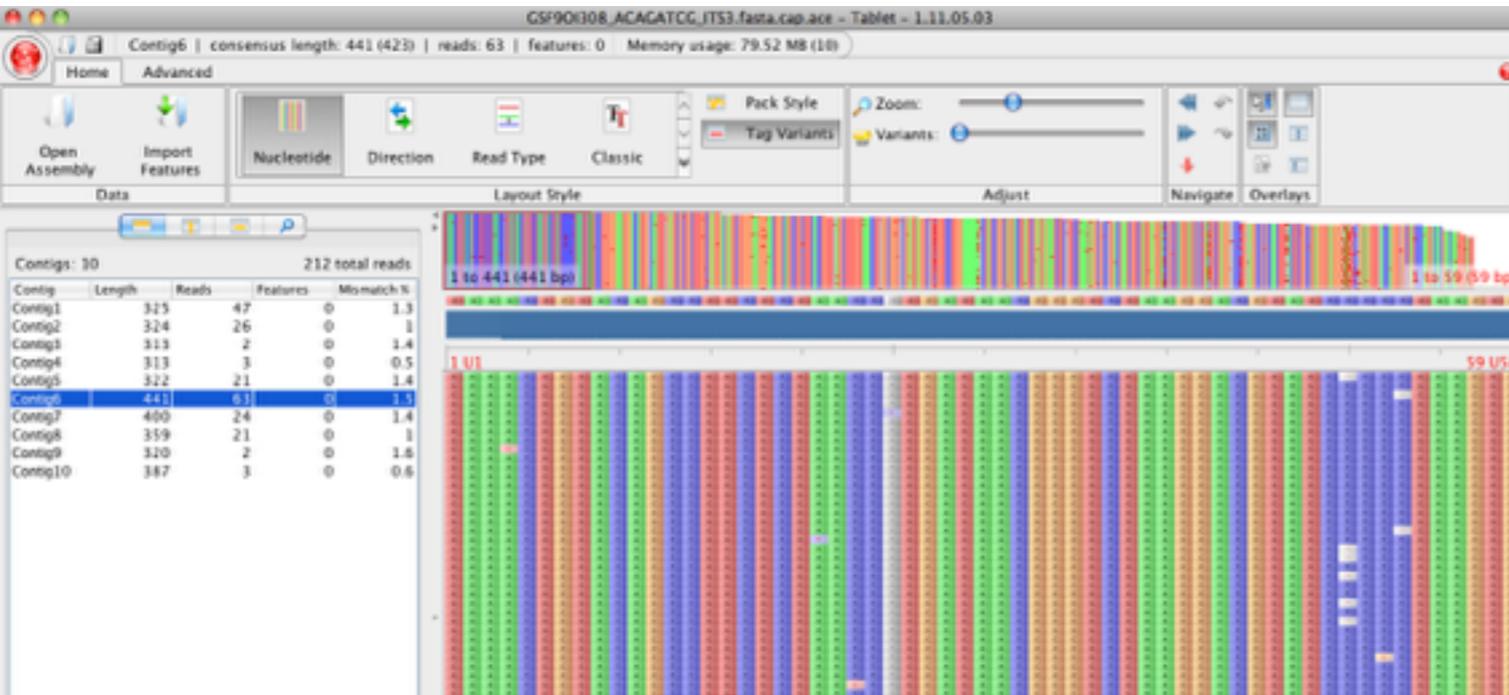
真菌 (Fungi) は、記載種だけで10万種、  
推定種数は、150~510 万種

→ 真菌をとりまく生物間の相互作用は  
「ブラックボックス」

# 大規模DNAバーコーディング

次世代シーケンスデータ

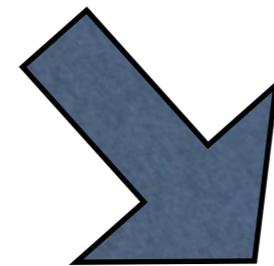
→ 生態学のデータファイルに変換



1回の解析で 300~1000 bpほどの配列が10万~2500万個得られる

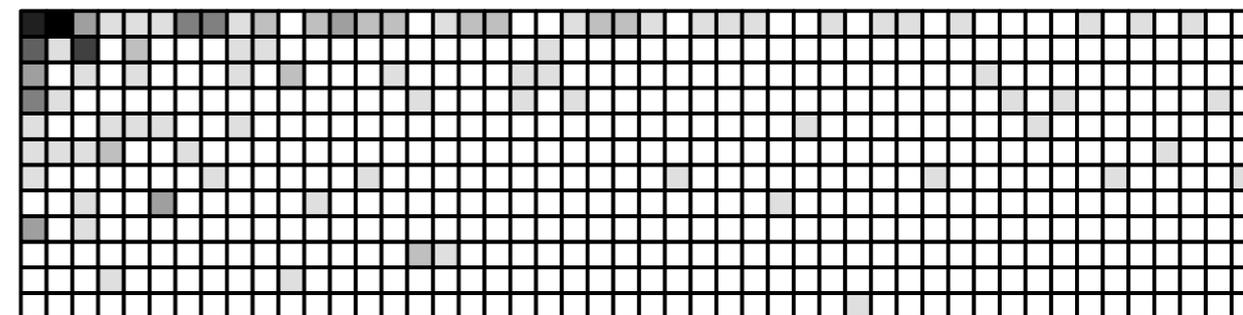
## “Claident”

次世代シーケンシングの生データ解析から生物同定、集計表作成まで



種間相互作用を表現する行列  
真菌種

植物種



mOTU	superkingdom	kingdom	phylum	class	order	family	genus	N
contig_855	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					86
contig_267	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae		56
contig_859	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					36
contig_175	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Russula	31
contig_791	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes				31
contig_27	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Lactarius	20
contig_19	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Dermateaceae		19
contig_829	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Meliniomyces	12
contig_171	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					11
contig_253	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					10
contig_29	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae	Capronia	10
contig_847	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Tricholomataceae	Mycena	9
contig_221	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Lactarius	8
contig_125	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Dermateaceae	Cryptosporiopsis	8
contig_141	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					7
contig_273	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					7
contig_187	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Russula	6
contig_251	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Thelephorales	Thelephoraceae		6
contig_129	Eukaryota	Fungi						6
contig_15	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes		Myxotrichaceae	Oidiodendron	6
contig_161	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					6
contig_227	Eukaryota	Fungi						6
contig_249	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					6
contig_853	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					6
contig_223	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreaceae	Hypocrea	6
contig_183	Eukaryota	Fungi	Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae		5
contig_357	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Cantharellales	Clavulinaceae	Clavulina	5
contig_875	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Thelephorales	Thelephoraceae	Tomentella	5
contig_173	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					5
contig_189	Eukaryota	Fungi						5
contig_1	Eukaryota	Fungi	Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae		4
contig_193	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Russula	4
contig_263	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Dothideomycetes			Cenococcum	4
contig_275	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Thelephorales	Thelephoraceae	Tomentella	4
contig_207	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					4
contig_265	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Dermateaceae	Cryptosporiopsis	4
contig_277	Eukaryota	Fungi						4
contig_31	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					4

# どの植物種にどの真菌が共生しているか？

## DNA配列情報



サンプル = 菌根



宿主 = 植物



共生者 = 真菌



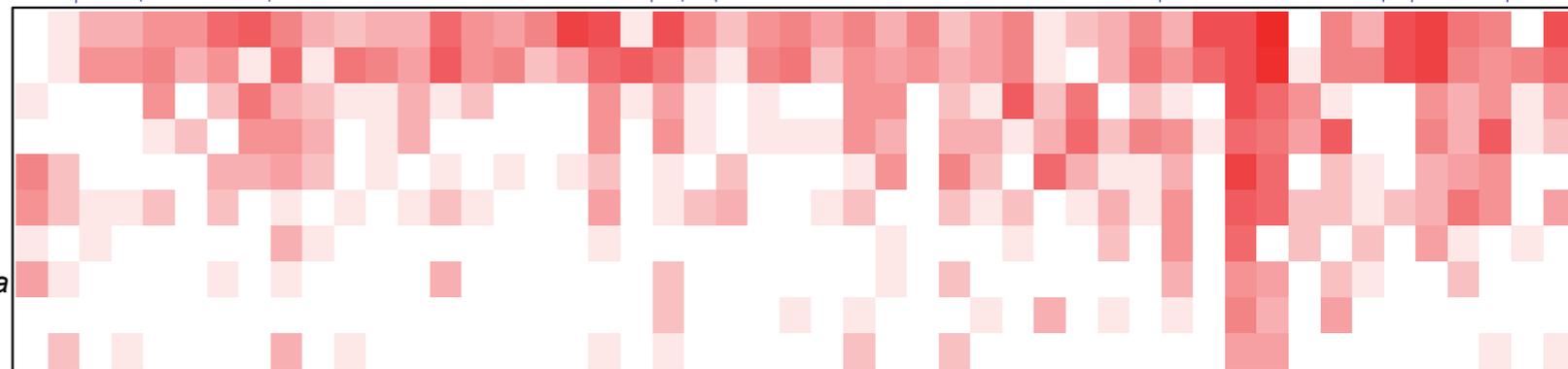
## 真菌

## 植物と真菌の共生行列

## 植物

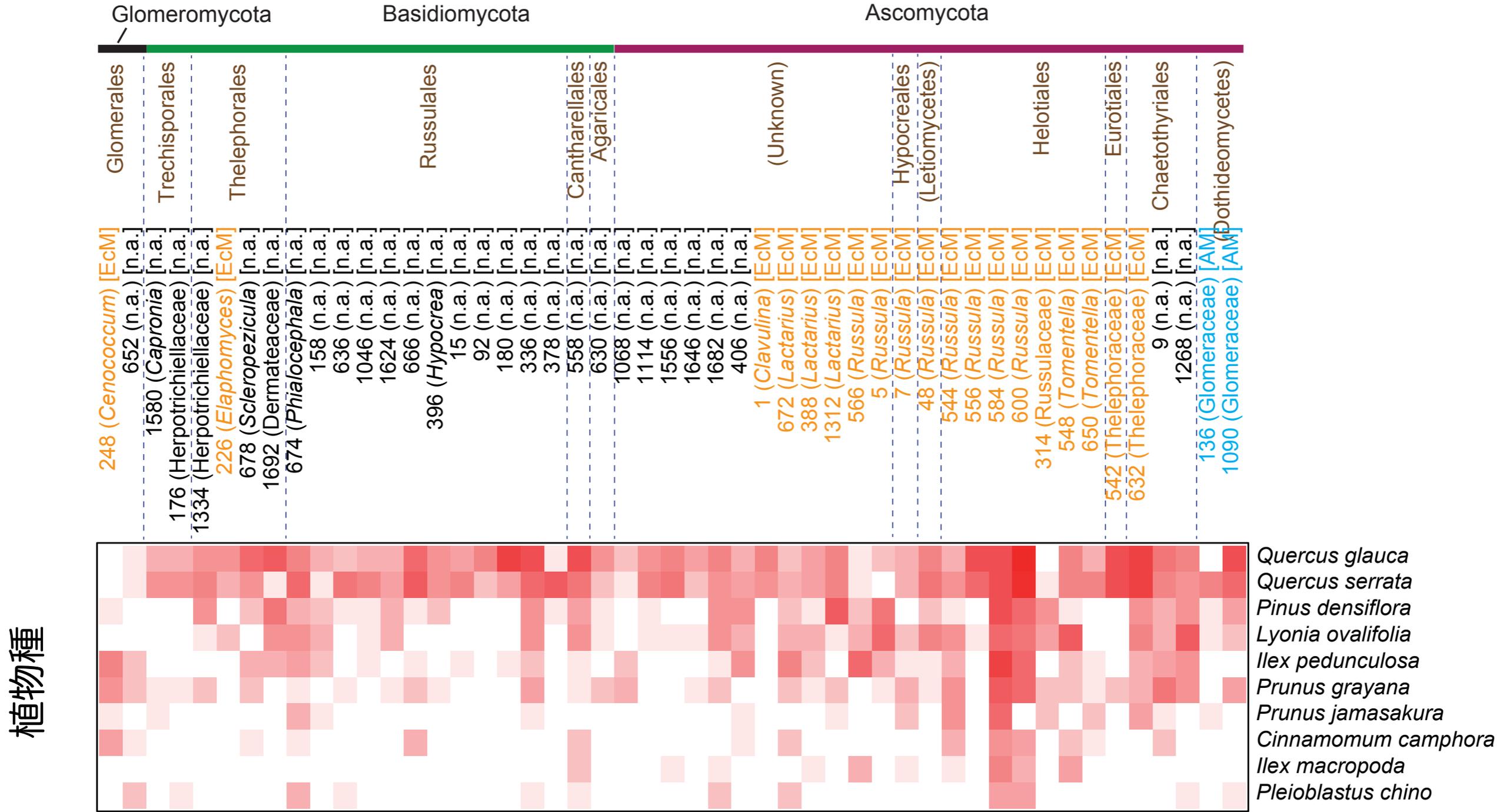
- Quercus glauca*
- Quercus serrata*
- Pinus densiflora*
- Lyonia ovalifolia*
- Ilex pedunculosa*
- Prunus grayana*
- Prunus jamasakura*
- Cinnamomum camphora*
- Ilex macropoda*
- Pleioblastus chino*

248	( <i>Cenococcium</i> )	[EcM]
652	(n.a.)	[n.a.]
1580	( <i>Capronia</i> )	[n.a.]
176	( <i>Herpotrichiellaceae</i> )	[n.a.]
1334	( <i>Herpotrichiellaceae</i> )	[n.a.]
226	( <i>Elaphomyces</i> )	[EcM]
678	( <i>Scleropezicula</i> )	[n.a.]
1692	( <i>Dermateaceae</i> )	[n.a.]
674	( <i>Phialocephala</i> )	[n.a.]
158	(n.a.)	[n.a.]
636	(n.a.)	[n.a.]
1046	(n.a.)	[n.a.]
1624	(n.a.)	[n.a.]
666	(n.a.)	[n.a.]
396	( <i>Hypocrea</i> )	[n.a.]
15	(n.a.)	[n.a.]
92	(n.a.)	[n.a.]
180	(n.a.)	[n.a.]
336	(n.a.)	[n.a.]
378	(n.a.)	[n.a.]
558	(n.a.)	[n.a.]
630	(n.a.)	[n.a.]
1068	(n.a.)	[n.a.]
1114	(n.a.)	[n.a.]
1556	(n.a.)	[n.a.]
1646	(n.a.)	[n.a.]
1682	(n.a.)	[n.a.]
406	(n.a.)	[n.a.]
1	( <i>Clavulina</i> )	[EcM]
672	( <i>Lactarius</i> )	[EcM]
388	( <i>Lactarius</i> )	[EcM]
1312	( <i>Lactarius</i> )	[EcM]
566	( <i>Russula</i> )	[EcM]
5	( <i>Russula</i> )	[EcM]
7	( <i>Russula</i> )	[EcM]
48	( <i>Russula</i> )	[EcM]
544	( <i>Russula</i> )	[EcM]
556	( <i>Russula</i> )	[EcM]
584	( <i>Russula</i> )	[EcM]
600	( <i>Russula</i> )	[EcM]
314	( <i>Russulaceae</i> )	[EcM]
548	( <i>Tomentella</i> )	[EcM]
650	( <i>Tomentella</i> )	[EcM]
542	( <i>Thelephoraceae</i> )	[EcM]
632	( <i>Thelephoraceae</i> )	[EcM]
9	(n.a.)	[n.a.]
1268	(n.a.)	[n.a.]
136	( <i>Glomeraceae</i> )	[AM]
1090	( <i>Glomeraceae</i> )	[AM]



# 共生関係の行列データ (抜粋)

## 真菌種 (OTU)



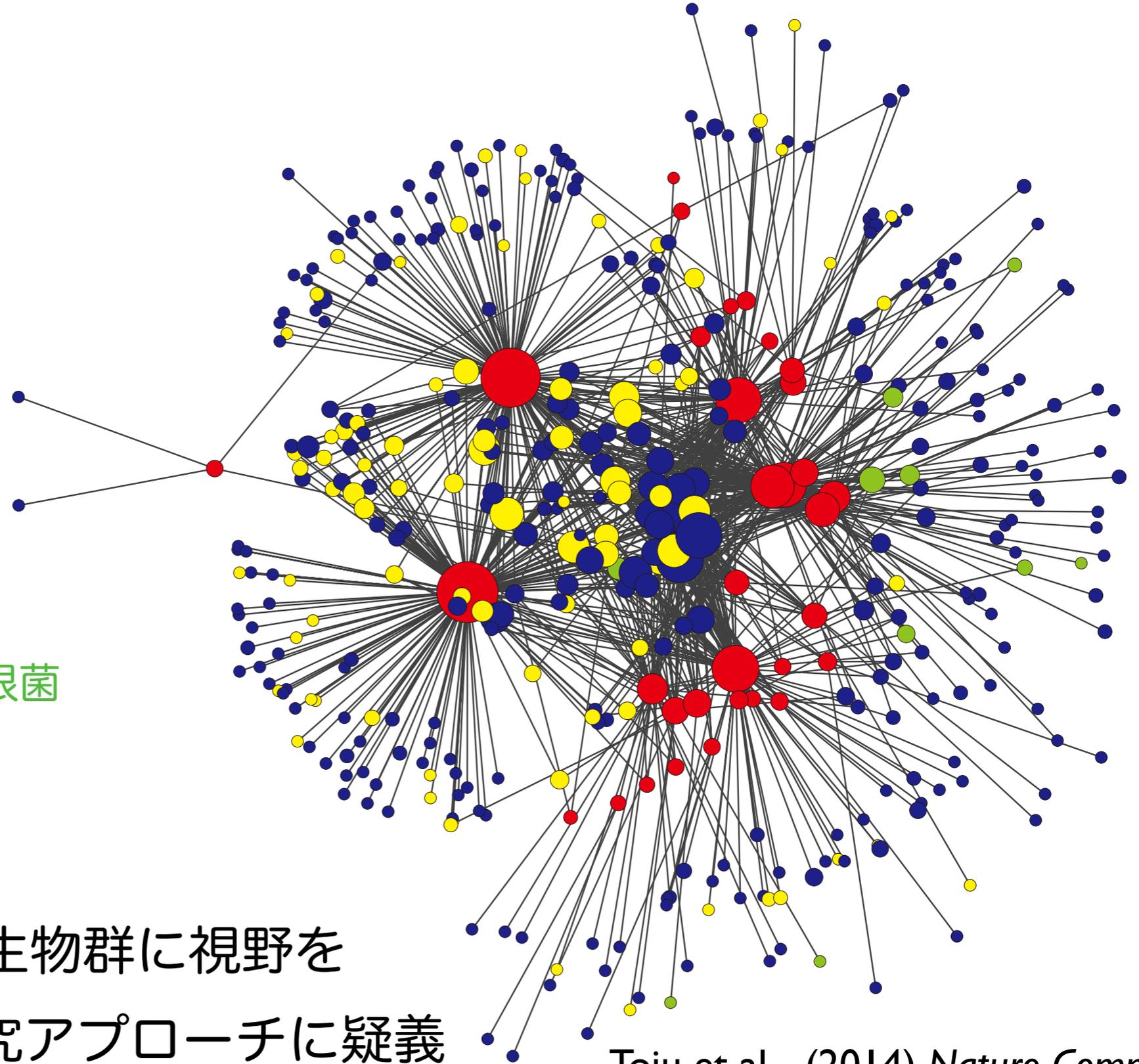
どの真菌種がどの植物種から見つかるか (広義の共生) ?

➡ 「ネットワーク」として可視化

# いままで無視されてきた真菌（内生菌）たちが重要な役割を果たしている？



- 植物種 (33種)
- 外生菌根菌
- アーバスキュラー菌根菌
- 機能不明菌 (内生菌)



先見的に「重要そうな」生物群に視野を絞ってきたこれまでの研究アプローチに疑義

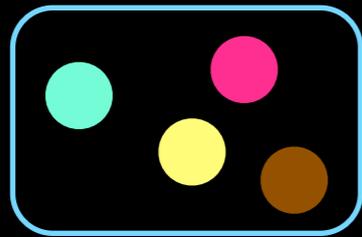
# 捕食・寄生・競争・共生における

## 「物理的接触」を利用したDNAバーコーディング

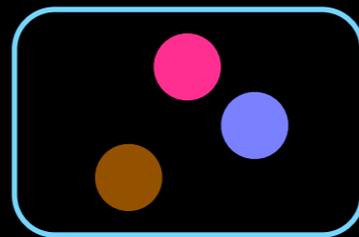
○ 宿主・環境サンプル

● 餌 / 寄生者 / 共生者

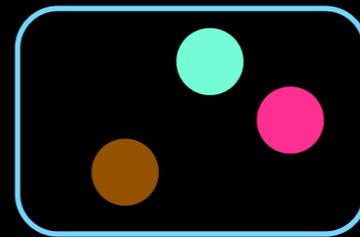
宿主サンプル 1



宿主サンプル 2



宿主サンプル 3



個々のサンプルについて、  
「宿主」および「餌 / 寄生者 / 共生者」  
をDNAバーコーディング



↓  
群集行列としてデータを統合

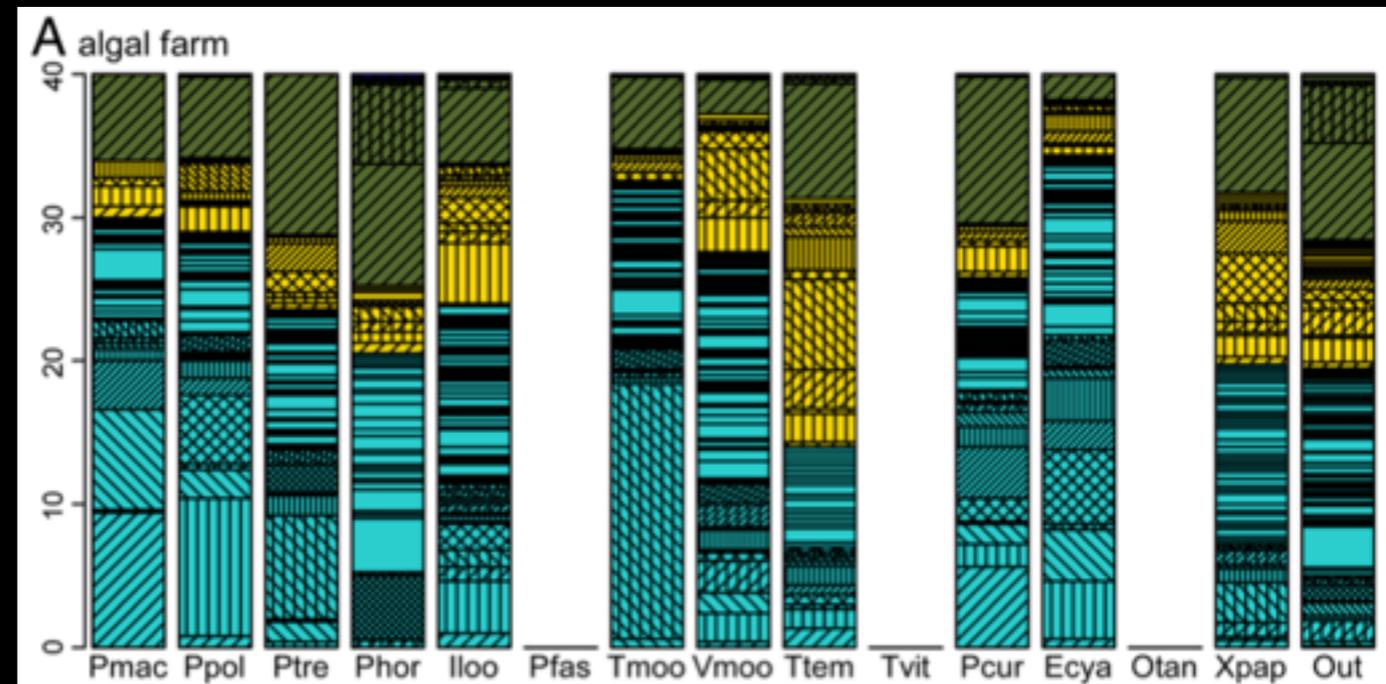
# さまざまな相互作用系でデータを収集：

タンガニーカ湖のシクリッドと藻類の被食-捕食関係

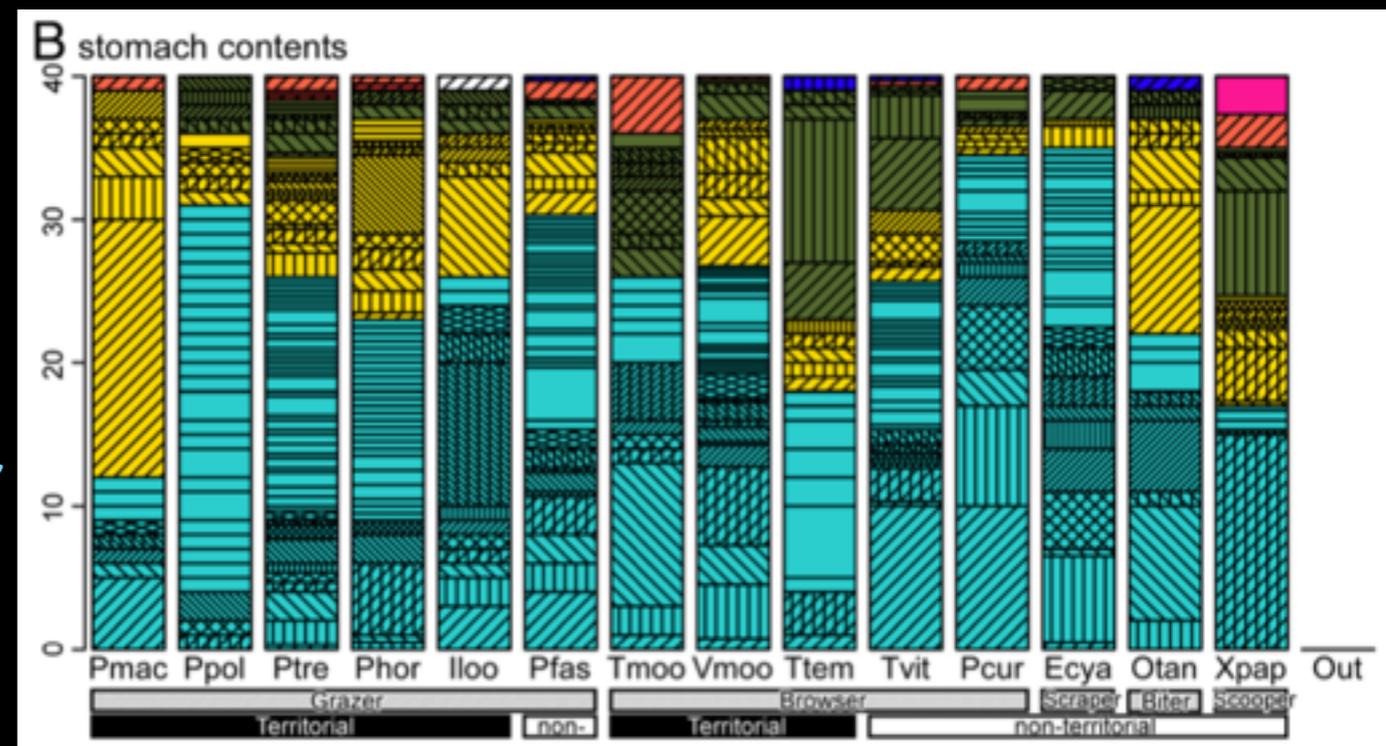
シクリッド種ごとの藻類群集の組成



## 藻園サンプル



## 胃内容サンプル



# さまざまな相互作用系でデータを収集：

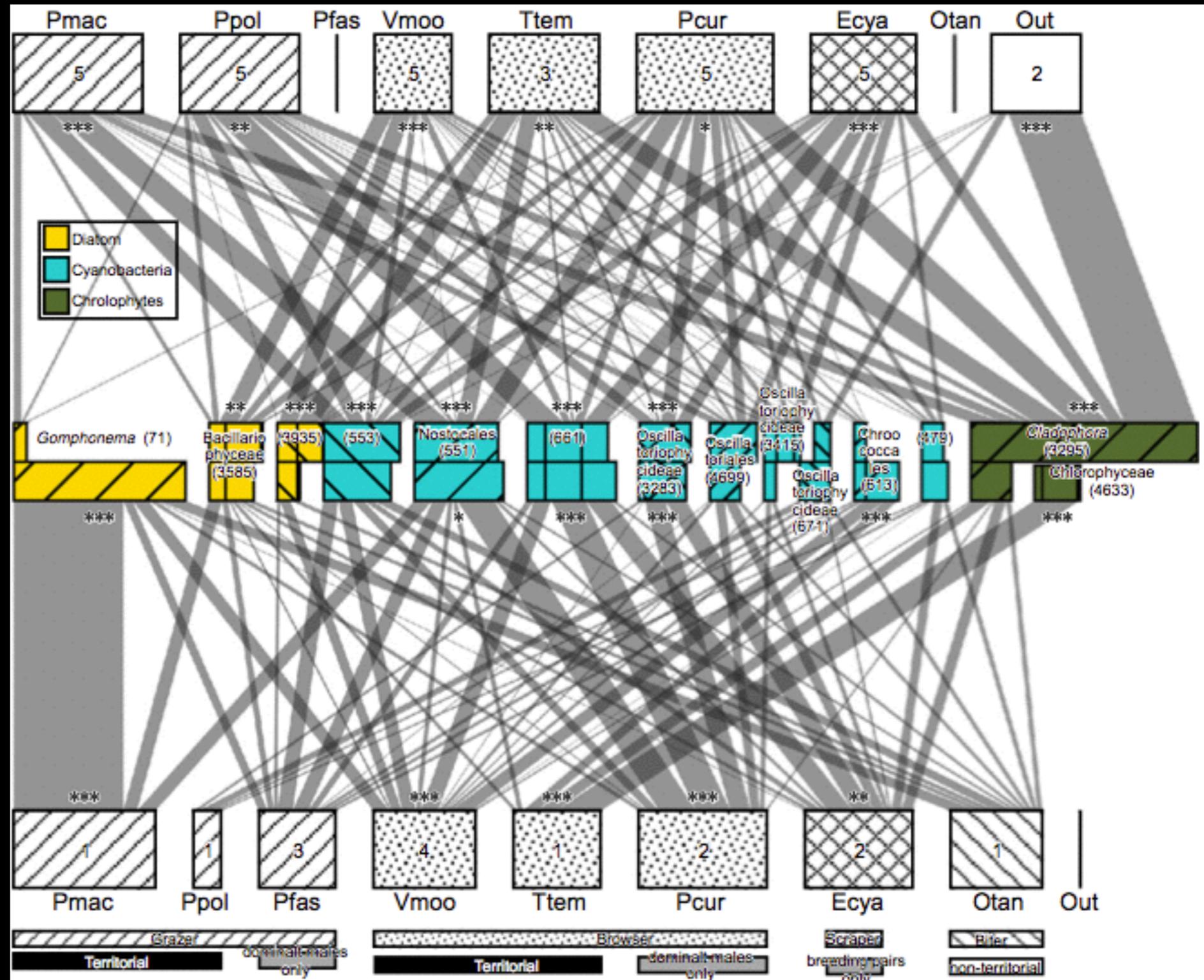
タンガニーカ湖のシクリッドと藻類の被食-捕食関係

藻園サンプルに基づくネットワーク

上段：シクリッド  
下段：藻類

胃内容サンプルに基づくネットワーク

上段：藻類  
下段：シクリッド



# ネットワーク構造にみられる 普遍性と地域性を統合的に理解

Toju et al., (2015)  
*Science Advances*

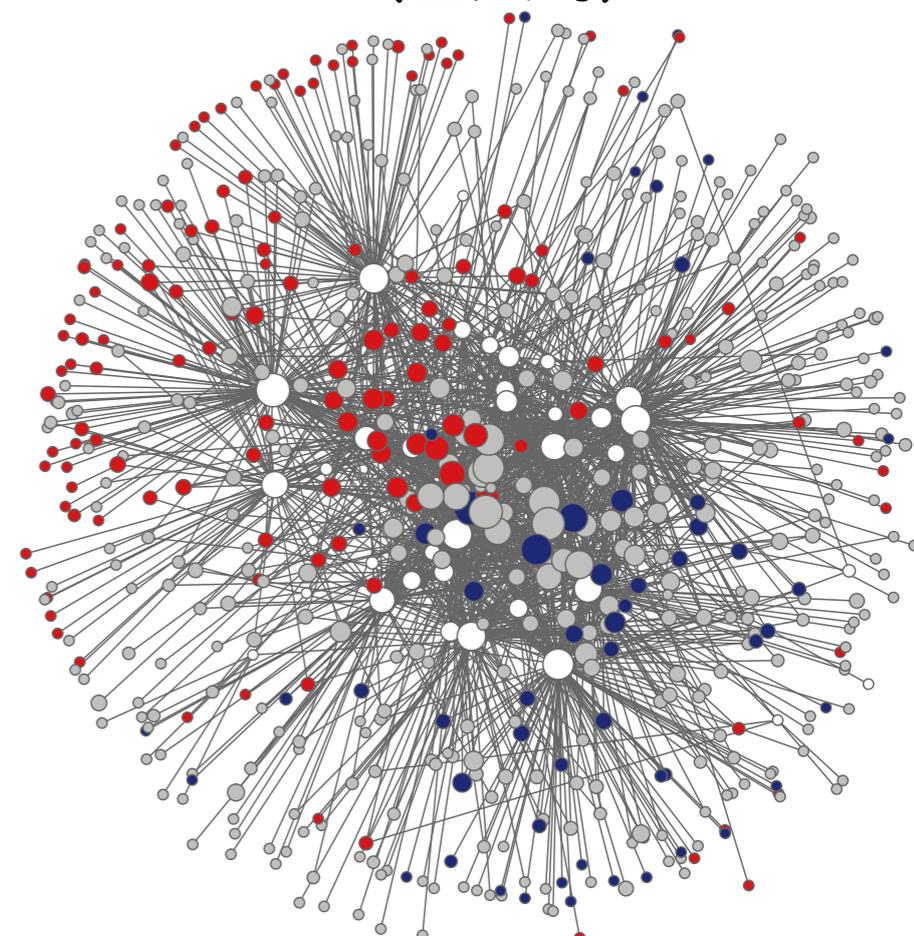
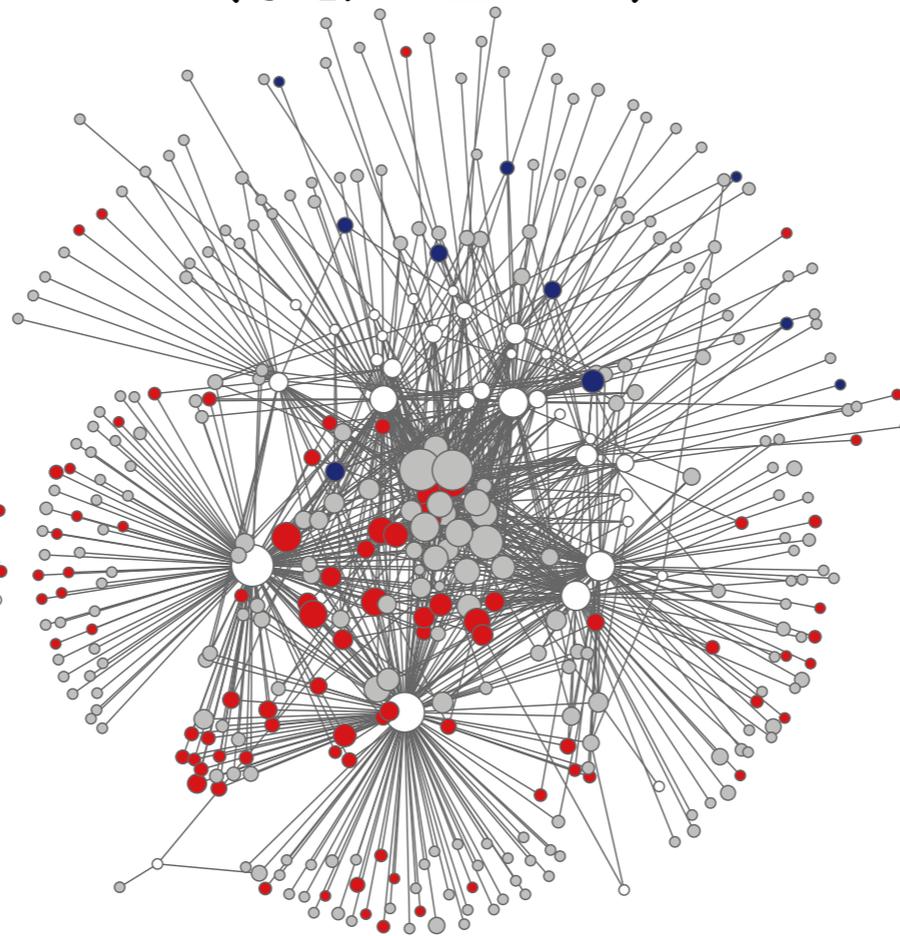
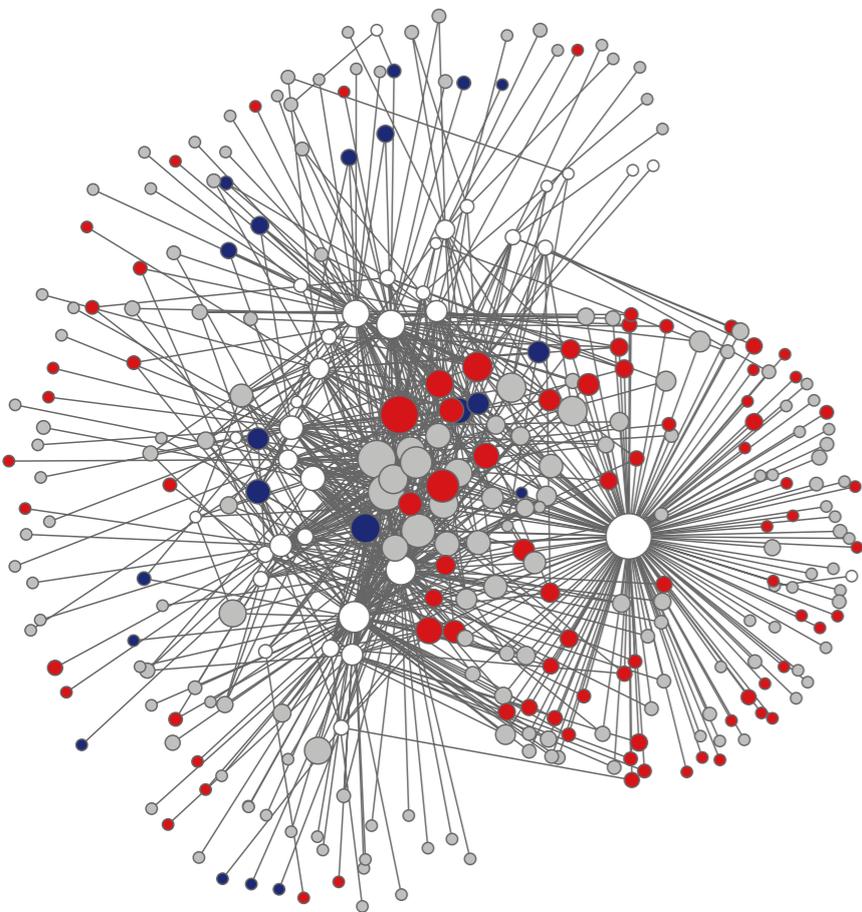
- 植物種
- 外生菌根菌
- アーバスキュラー菌根菌
- 機能不明菌



冷温帯林  
(苫小牧)

暖温帯林  
(京都・吉田山)

亜熱帯林  
(屋久島)



# さまざまな生態系に研究を拡大

マレーシア  
ランビル  
熱帯雨林



カンボジア  
Bokor  
雲霧林

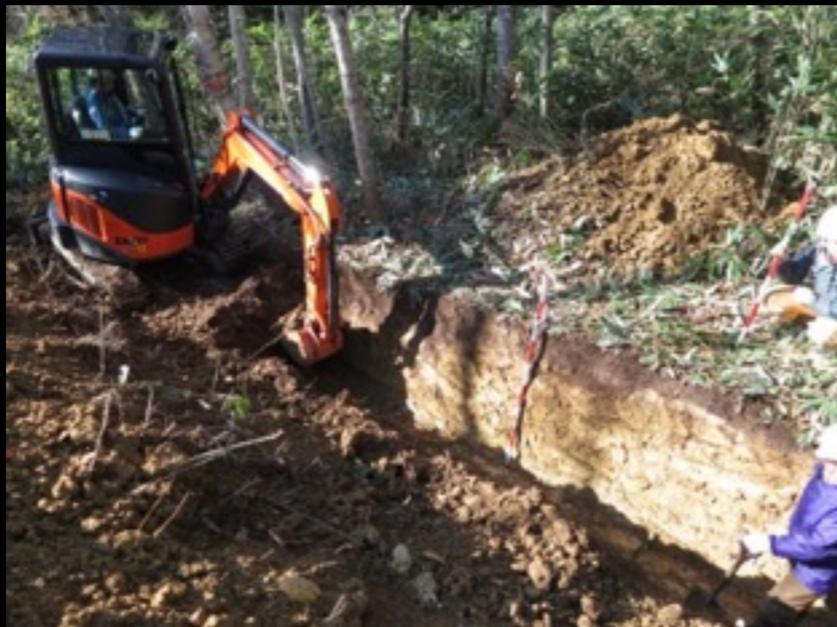


立山  
高山・亜高山帯



日本各地の水田

北海道大学演習林  
冷温帯林

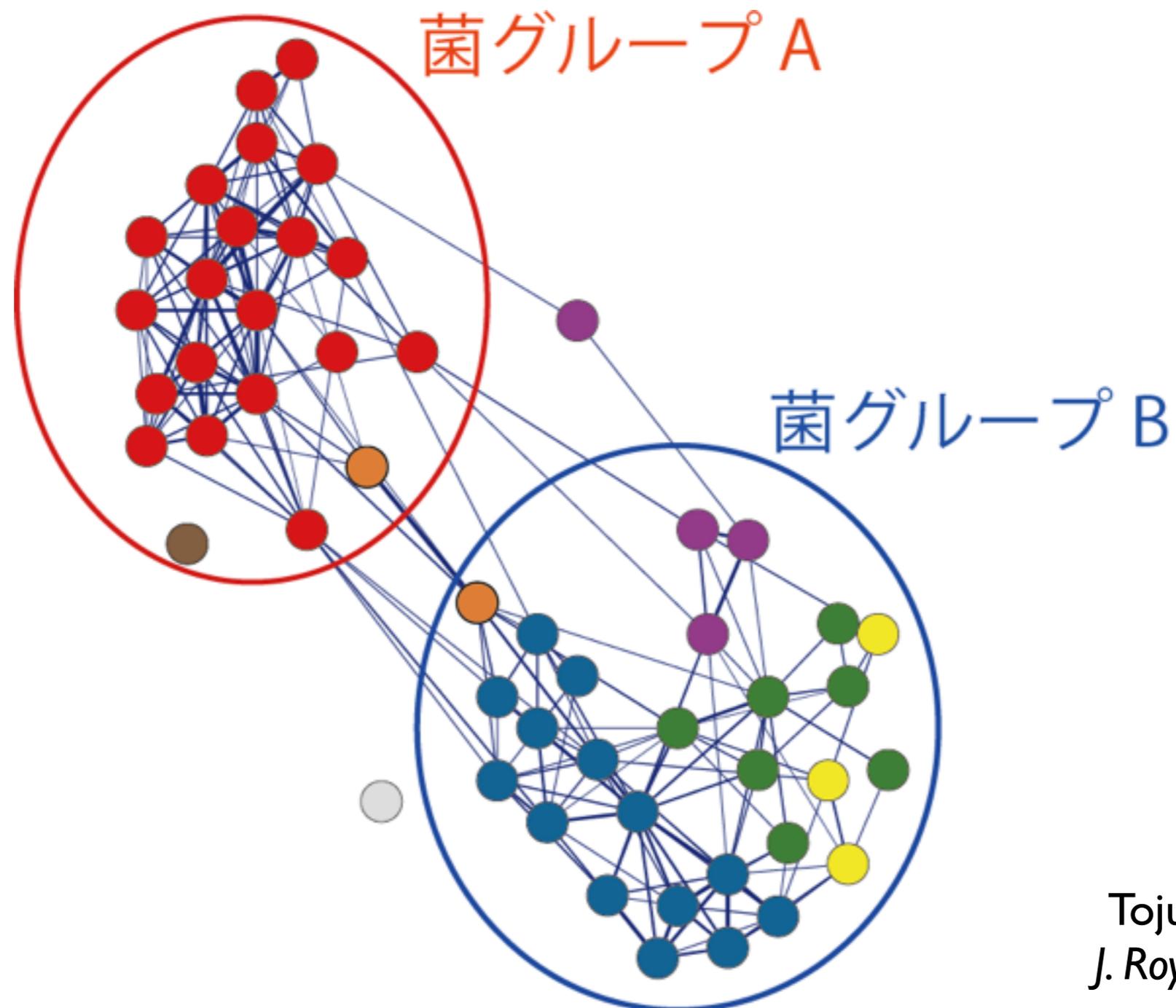


ニュージーランド  
南極ブナ林

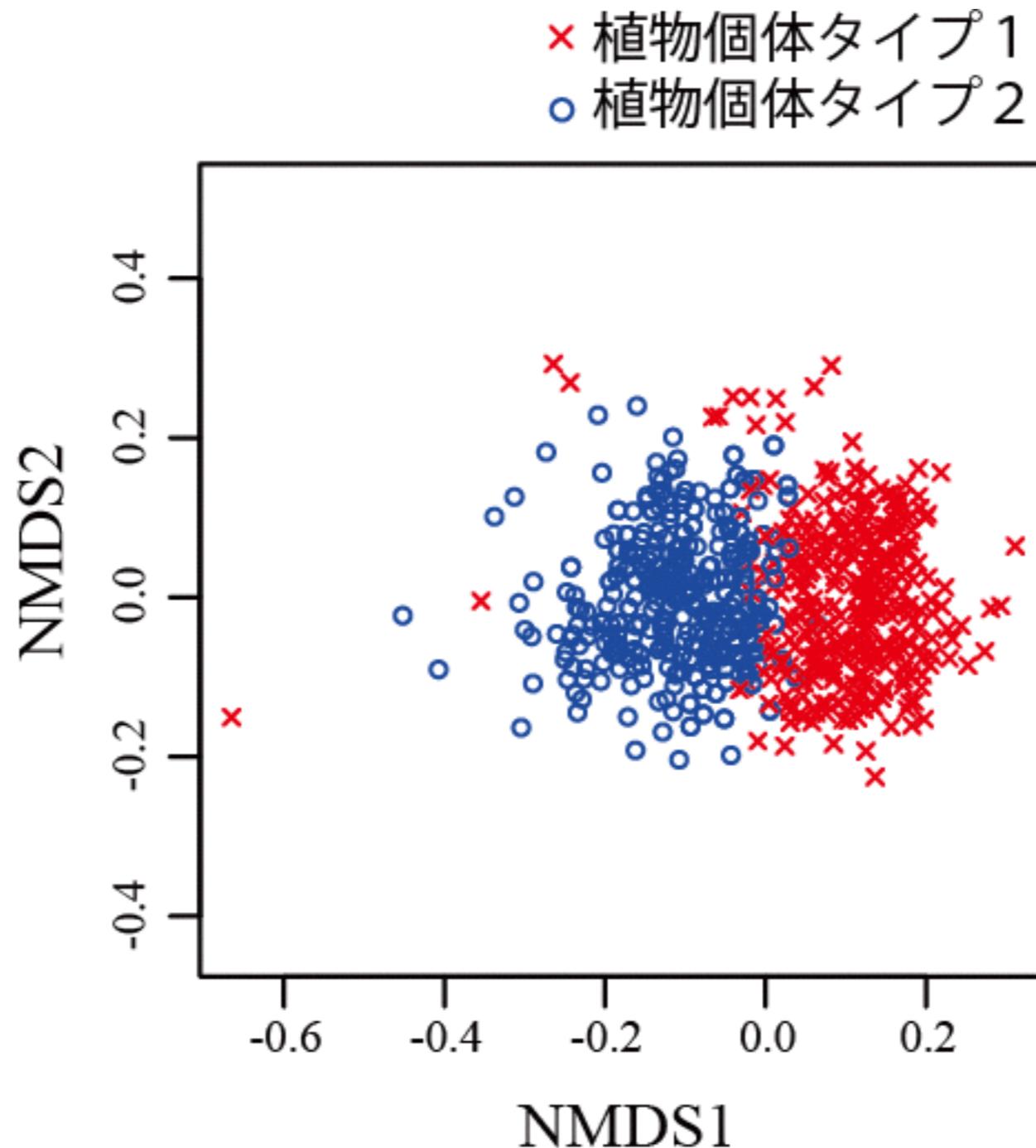




# 一見複雑なネットワーク内に、 「仲良し菌グループ」が存在



# 共生真菌相について、 植物個体がタイプ分けできる



# ヒト腸内細菌で得られた知見と整合性

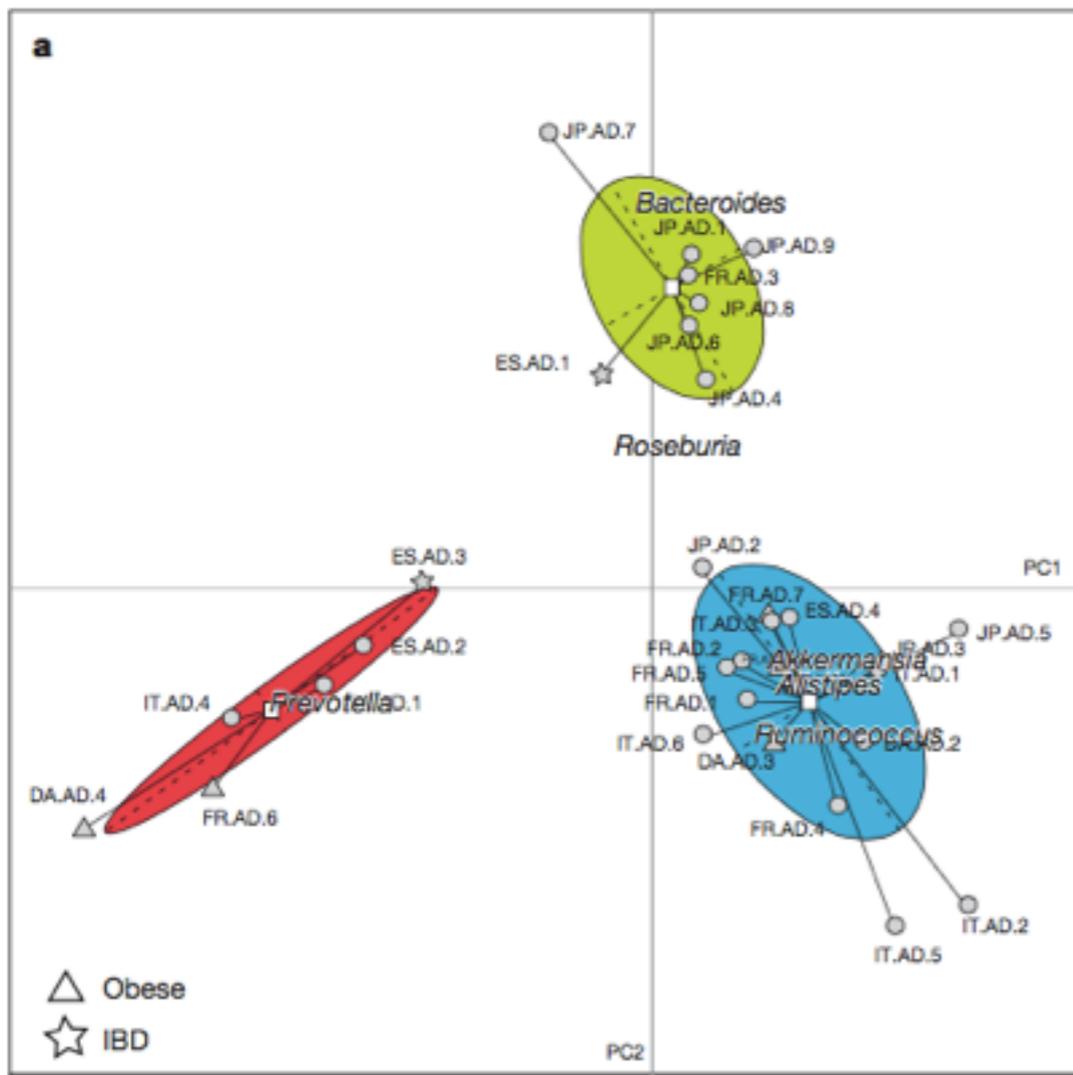
## ARTICLE

doi:10.1038/nature09944

### Enterotypes of the human gut microbiome

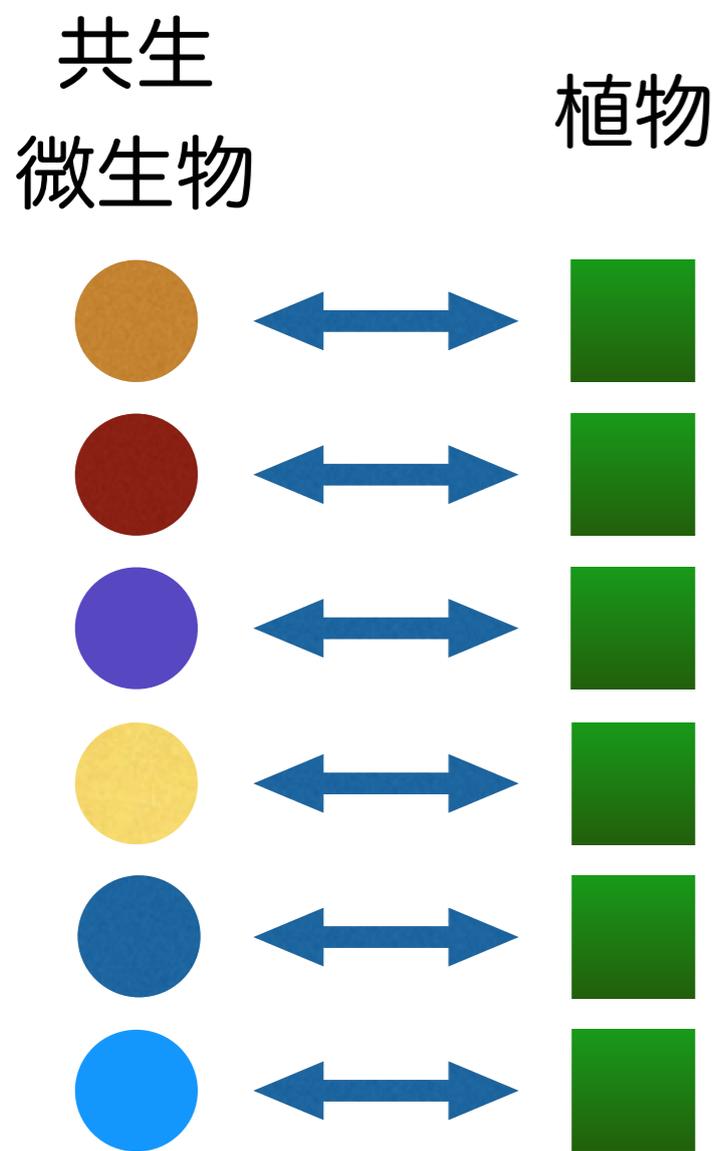
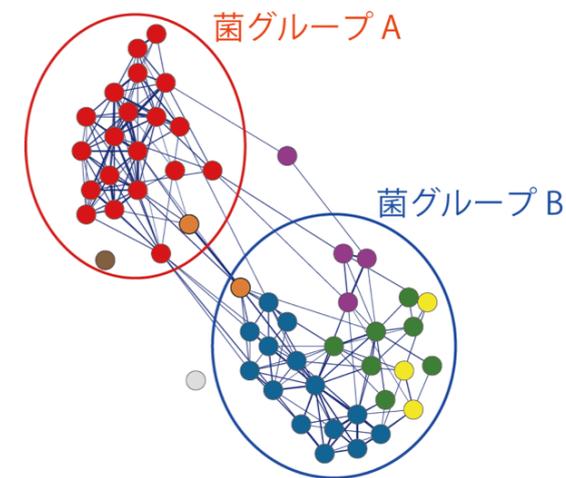
Manimozhiyan Arumugam<sup>1\*</sup>, Jeroen Raes<sup>1,2\*</sup>, Eric Pelletier<sup>3,4,5</sup>, Denis Le Paslier<sup>3,4,5</sup>, Takuji Yamada<sup>1</sup>, Daniel R. Mende<sup>1</sup>, Gabriel R. Fernandes<sup>1,6</sup>, Julien Tap<sup>1,7</sup>, Thomas Bruns<sup>3,4,5</sup>, Jean-Michel Batto<sup>7</sup>, Marcelo Bertalan<sup>8</sup>, Natalia Borruei<sup>9</sup>, Francesc Casellas<sup>9</sup>, Leyden Fernandez<sup>10</sup>, Laurent Gautier<sup>8</sup>, Torben Hansen<sup>11,12</sup>, Masahira Hattori<sup>13</sup>, Tetsuya Hayashi<sup>14</sup>, Michiel Kleerebezem<sup>15</sup>, Ken Kurokawa<sup>16</sup>, Marion Leclerc<sup>7</sup>, Florence Levenez<sup>7</sup>, Chaysavanh Manichanh<sup>9</sup>, H. Bjørn Nielsen<sup>8</sup>, Trine Nielsen<sup>11</sup>, Nicolas Pons<sup>7</sup>, Julie Poulain<sup>3</sup>, Junjie Qin<sup>17</sup>, Thomas Sicheritz-Ponten<sup>8,18</sup>, Sebastian Tims<sup>15</sup>, David Torrents<sup>10,19</sup>, Edgardo Ugarte<sup>3</sup>, Erwin G. Zoetendal<sup>15</sup>, Jun Wang<sup>17,20</sup>, Francisco Guarner<sup>9</sup>, Oluf Pedersen<sup>11,21,22,23</sup>, Willem M. de Vos<sup>15,24</sup>, Søren Brunak<sup>8</sup>, Joel Doré<sup>7</sup>, MetaHIT Consortium†, Jean Weissenbach<sup>3,4,5</sup>, S. Dusko Ehrlich<sup>7</sup> & Peer Bork<sup>1,25</sup>

地球上のヒト個体は、  
腸内細菌群集に関して、  
少数のタイプ（エンテロタイプ）  
に分かれる

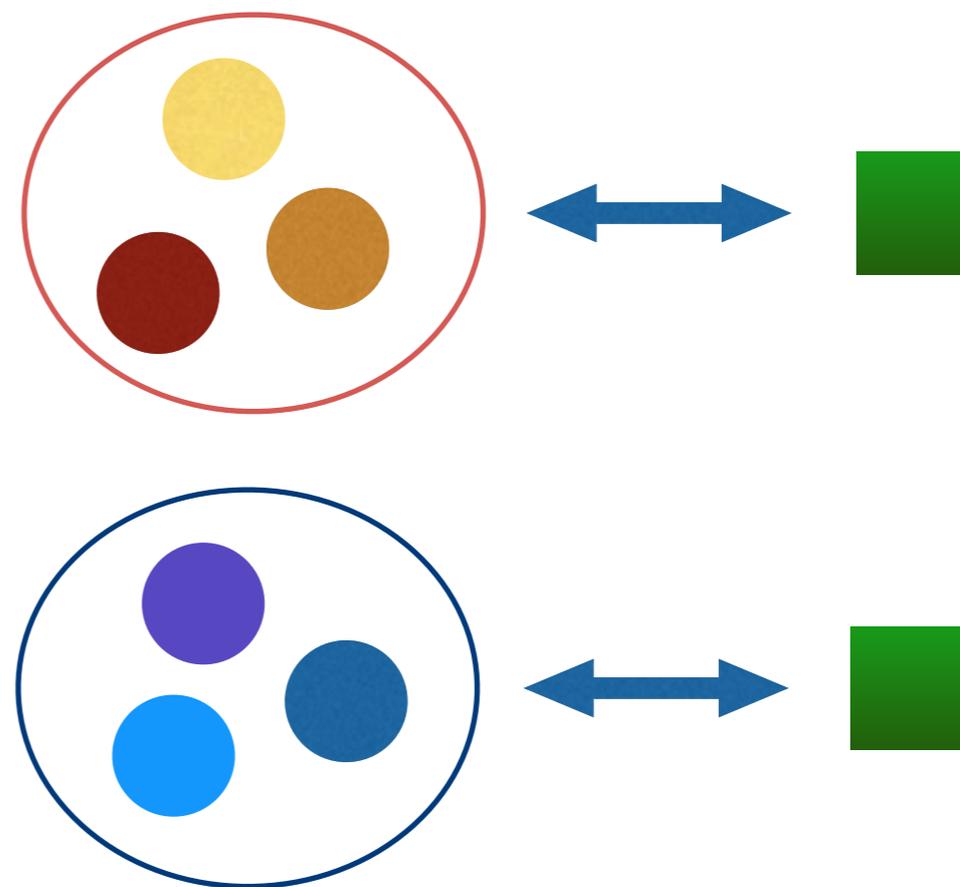


ヒトの健康状態と  
腸内細菌群集の構造  
(エンテロタイプ)  
に関連性がある

# 微生物社会全体の動きを 研究しやすくする

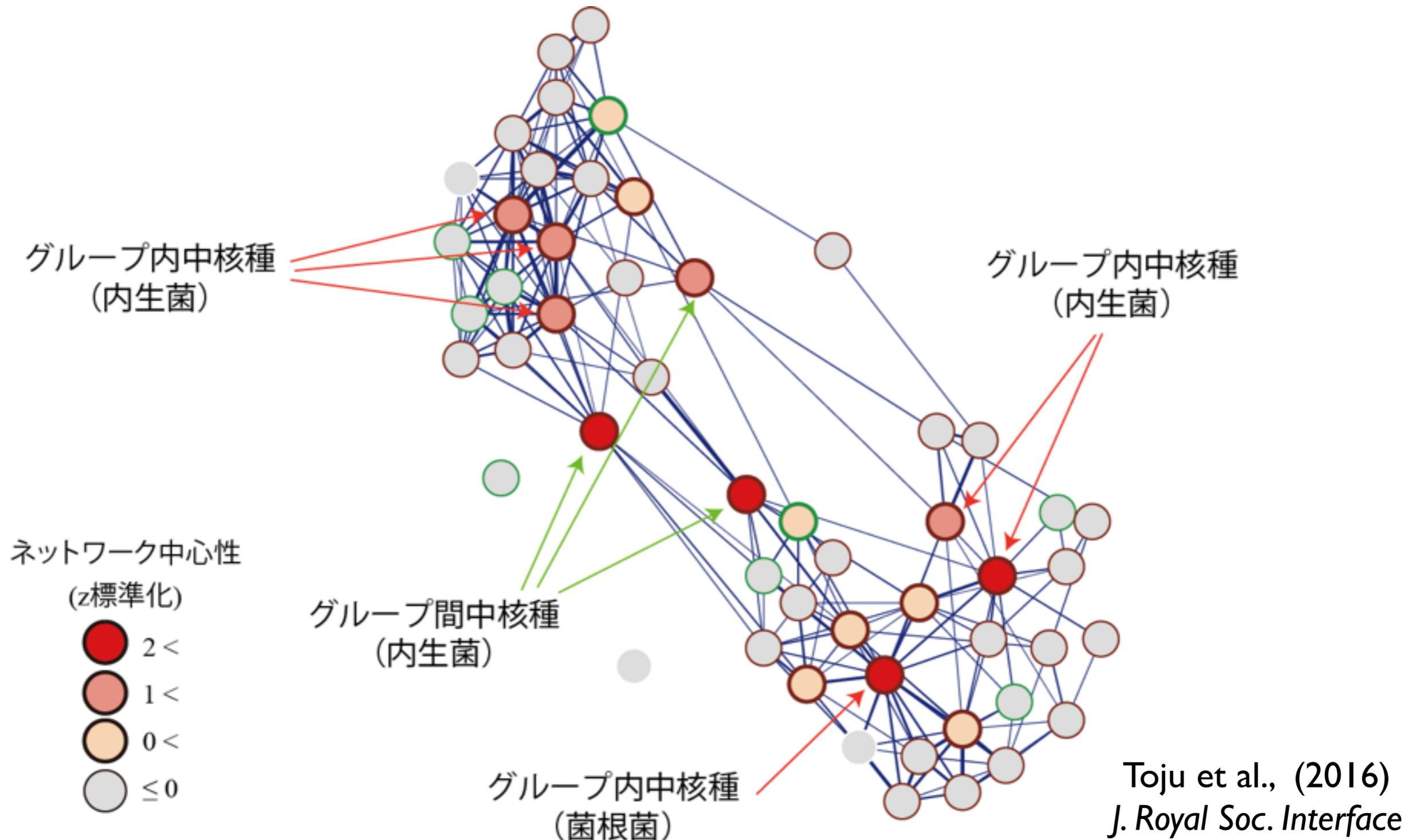


1種1種を個別に研究  
していたのではきりが無い

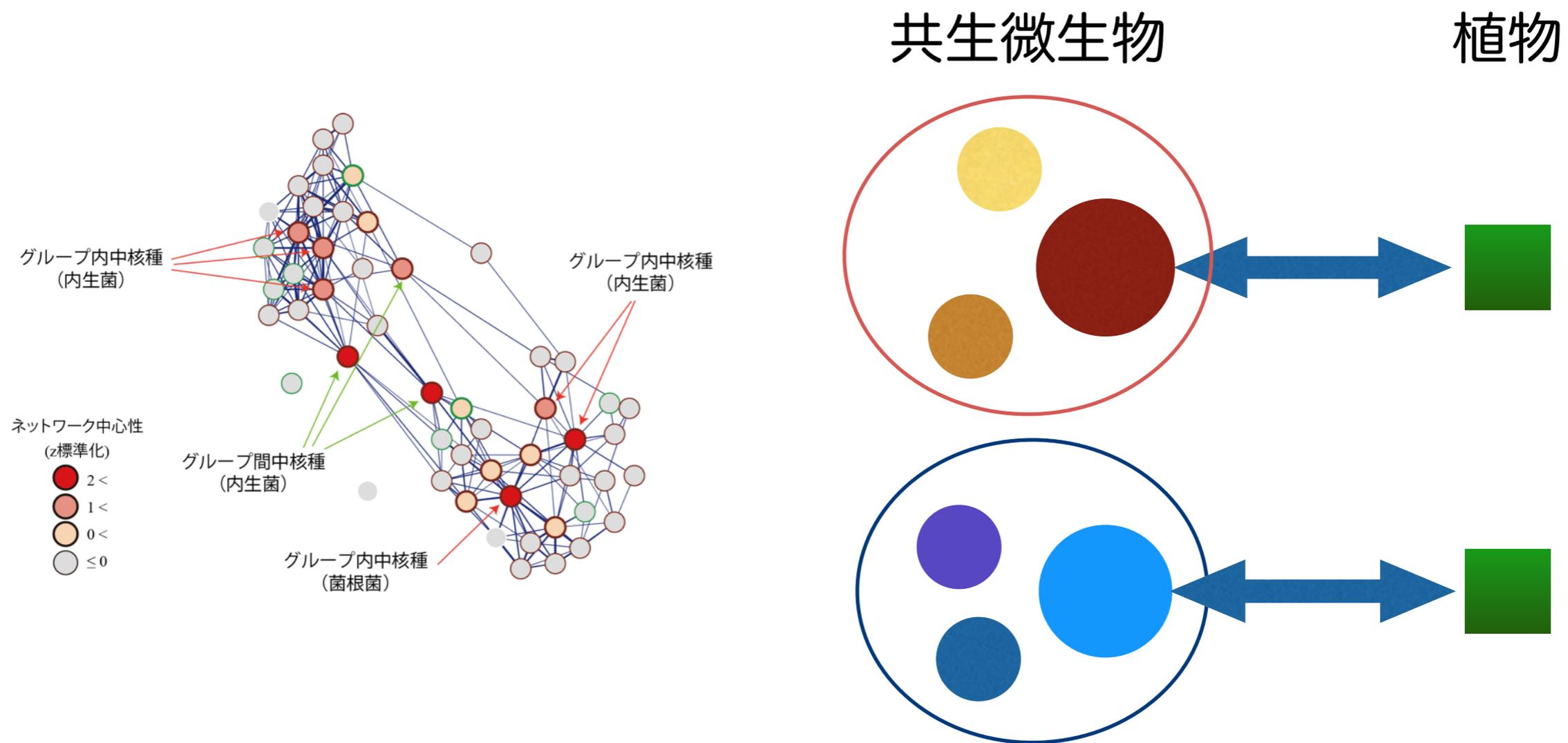


「仲良し菌グループ」をみつけることで、  
微生物社会（群集）全体を見渡す研究が  
格段にやりやすくなる

# 「仲良し菌グループ」の中に 「まとめ役」がいる？



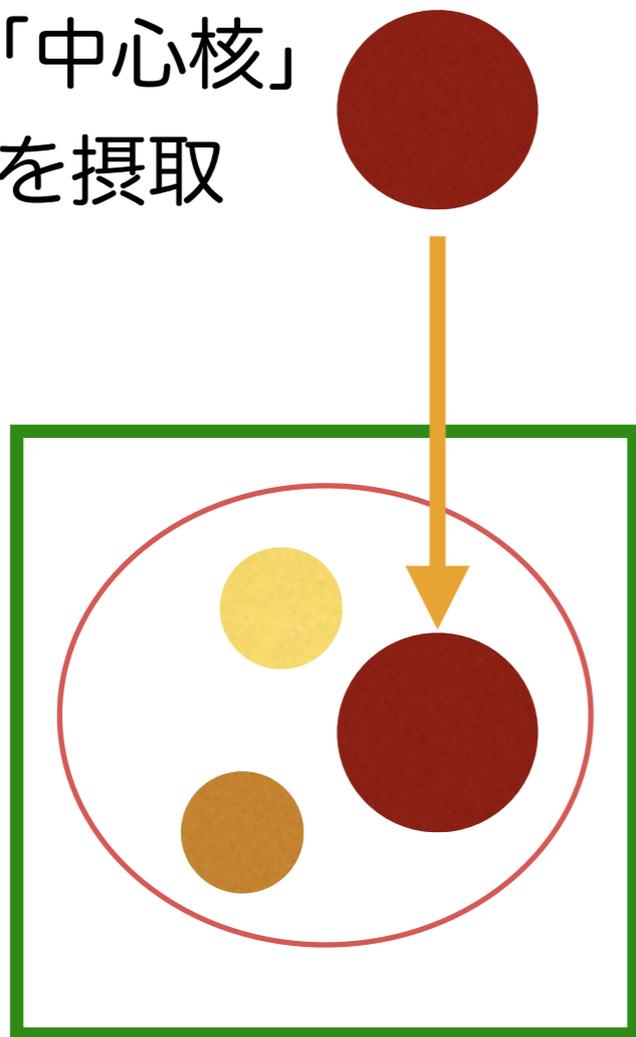
# 「仲良し菌グループ」の中心 を重点的に研究できる



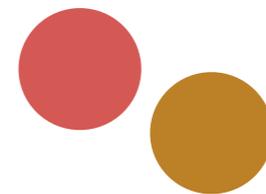
複雑な微生物群集を最小の労力で研究・管理する

# 植物の生涯を「中核」 微生物で一括管理

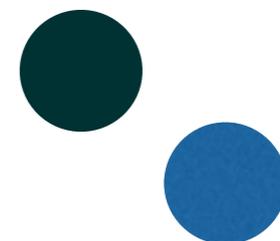
植物体に「中心核」  
微生物を摂取



「善玉」微生物



「悪玉」微生物



菌根菌に比べて、内生菌には培養可能な種が多い

# あらゆる生態系のあらゆる生物を —研究者が眺める



# 自然生態系に関する知識を活かす

システムとしての安定性・自律性を  
最小の労力・資源投入で実現する

自然生態系

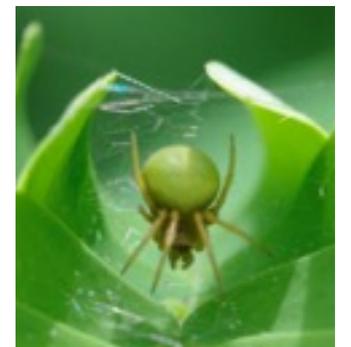
生態系サービス・  
システムとしての安定性

単純な構造の農地から  
複雑な構造へ

複雑性をそのまま活かす  
農業生態系の設計

代替農法

慣行農法



生物多様性・空間構造の多様性

# 謝辞

(発表/投稿中論文で直接お世話になった共同研究者・敬称略)

## 植物-真菌系

田辺晶史 (中央水研)  
佐藤博俊 (京都大学)  
山本哲史 (神戸大学)  
門脇浩明 (京都大学)  
日高周 (北海道大学)  
阿形清和 (京都大学)  
Gregory S. Gilbert (UCSC)  
西村理 (理化学研究所)  
矢澤重信 (名古屋大学)  
石井博 (富山大学)  
早川卓志 (京都大学)  
片山昇 (北海道大学)  
岸田治 (北海道大学)

## シクリッド-藻類系

畑 啓生 (愛媛大学)

## 理論生態学

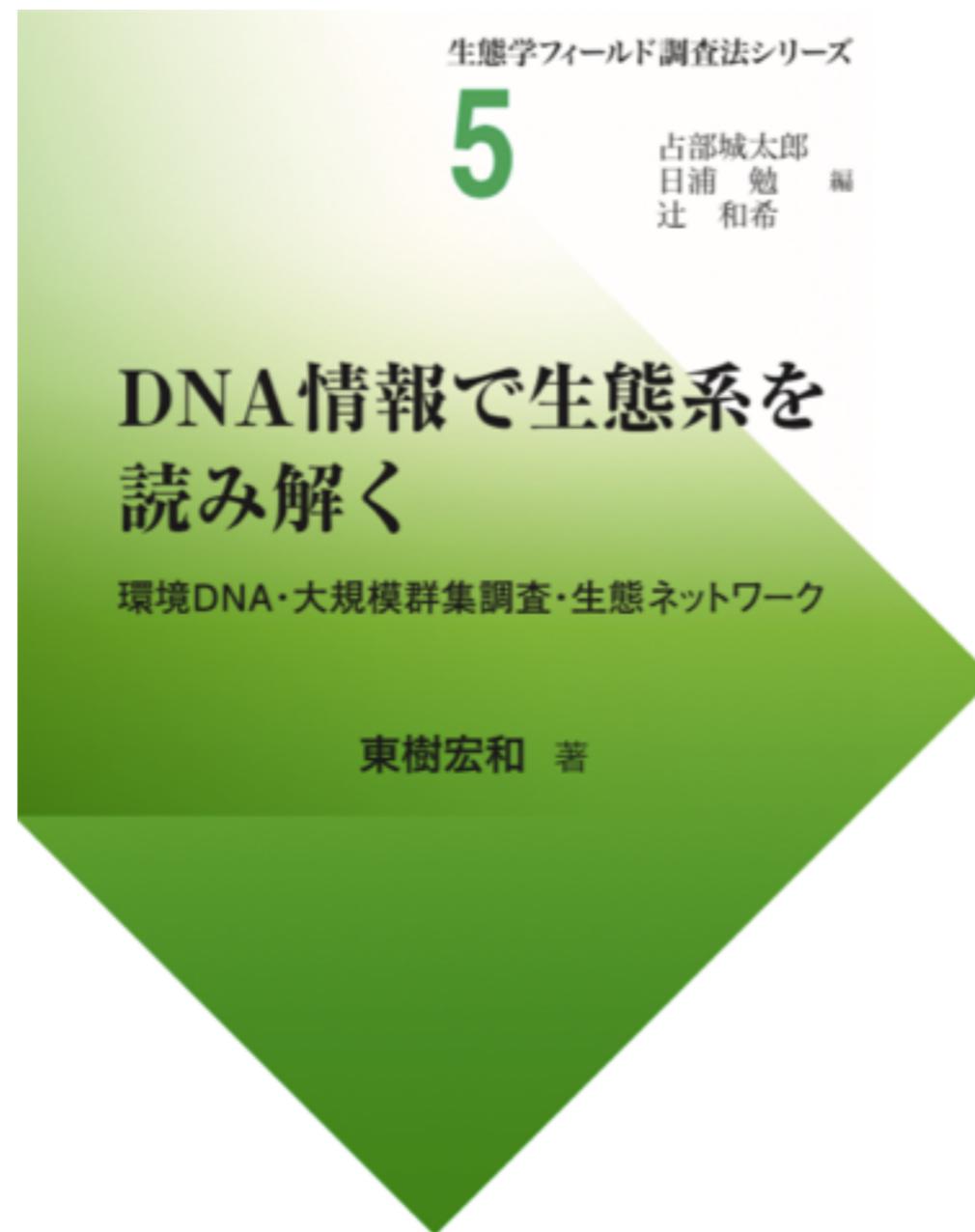
John N. Thompson (UCSC)  
Jens M. Olesen (University of Aarhus)  
Paulo R. Guimarães Jr (Universidade de Sao Paulo)



そのほか、進行中のプロジェクトで、多くの共同研究者のみなさんにお世話になっております

# DNA情報で生態系を読み解く

—環境DNA・大規模群集調査・生態ネットワーク—



共立出版