

MiFish 法に係る誤同定チェックシートの
使い方に関する解説書

2022年3月

環境省自然環境局生物多様性センター

更新履歴

更新日	更新内容
2021年3月	手引きの参考資料8として解説書を作成・掲載した。
2022年3月	環境省 MiFish リファレンスデータベースの更新等に合わせ解説書を更新した。手引きの参考資料8として掲載。

(1) 本資料について

環境省では、二次的自然環境に生息する淡水魚類の分布情報の拡充や希少種の保全推進、外来種の対策強化、環境影響評価における生物調査の効率化などに環境 DNA 分析技術を有効に活用するため、「環境 DNA 分析技術を用いた淡水魚類調査のための手引き」を作成し、公開しています。

手引きでは、魚類相を調べるための環境 DNA 分析手法として、魚類特異的ユニバーサルプライマーを用いた網羅的解析（以降、MiFish 法とします）を推奨しています。MiFish 法では、種を同定する際に、形態分類学的手法により種が同定された標本から得られた DNA 配列（以降、リファレンスとします）が登録された国際塩基配列データベースの情報に対し、サンプルから取得した DNA 配列と最も相同性が高い配列を専用ソフトウェアにより検索し、その登録情報に付けられた学名を同定結果として採用するという方法がとられます。この操作は、一般的に、相同性検索や BLAST 検索などと呼ばれます。

BLAST 検索では、検索の最上位に来た登録配列に付与されている学名をそのまま採用した場合、その種同定結果は、以下に示す主に 3つの要因により、間違っただけになってしまうことがあります。この誤同定の有無を確認し、正しい学名に修正する操作のことを、手引きでは「精査」と呼んでいます。

MiFish 法で誤同定が生じる主な要因

- ① 国際塩基配列データベースの登録情報が間違っている（魚類分類学の進展により、登録された種の学名が変更され、登録時と現時点で学名に相違があるもの等を含む）。
- ② MiFish 法で用いる配列情報では、種レベルの識別が難しい分類群がある。
- ③ 雑種個体が生息している可能性があり、ミトコンドリア DNA を対象とした分析（MiFish 法を含む）では、正確な種同定ができない。

環境 DNA 分析技術を用いた淡水魚類調査において、調査結果の正確性を担保するためには、この「精査」がされていることが重要です。特に、要因①と②による誤同定は、環境 DNA 分析技術を標準化する際の大きな課題であることが分かってきました。この課題を解決するためには、国際塩基配列データベースの登録情報の間違いを修正し、さらに可能な限り最新の学名を反映した新しいデータベースを構築し、かつ、MiFish 法では種レベルの識別が難しい分類群に関する情報が整理されていることが望ましいと考えられます。

そこで、環境省では、MiFish 法で用いる 12S リボゾーム RNA 遺伝子の一部領域（以降、MiFish 配列とします）を対象に、国際塩基配列データベースに登録されている配列情報を取得した上で再整理し、学名以外の付帯情報を参考に「データベース上の学名」を修正し、環境省版の MiFish リファレンスデータベースを整備しました。

また、整備したデータベースの MiFish 配列を基に、科レベルもしくは属レベルで分子系統樹を作成し、「MiFish 法における種の識別性を確認するための分子系統樹」としてまとめました。この分子系統樹の情報を参考に、MiFish 配列では種レベルの識別が難しい分類群を抽出した上で、さらに淡水魚類各分野の専門家に対して、種の識別性や学名等に関する確認や助言（エキスパートチェック）を依頼し、その結果を前述の MiFish リファレンスデータベースに反映させました。

こうした作業をふまえて完成した環境省版 MiFish リファレンスデータベースの情報を利用し、手引きで推奨する「精査」を誰でも簡単に行えるものを目指して作成されたツールが、「MiFish 法に係る誤同定チェックシート」です。このチェックシートでは、アクセス番号を基に精査を行います。アクセス番号とは、国際塩基配列データベースに登録されたすべての配列に付けられている配列固有の識別番号です。環境 DNA 分析を民間の分析受託会社や大学等に委託すると、分析結果表（環境省の手引きでは「一致率が高い生物種リスト」と呼んでいます）が提供されます。この分析結果表には、「サンプルから検出されたこの環境 DNA 配列は、このアクセス番号の登録情報と一致したので、この種に同定しました」という情報が一般的には記載されています。MiFish 法に係る誤同定チェックシートでは、この分析結果表に記載されたアクセス番号をチェックシートに入力することで、誤同定の有無を精査することができます。

本資料は、環境 DNA 分析技術を用いた淡水魚類調査を行う際に、精度の高い調査結果を取得するために必要な「精査」を簡易的に行うツールである MiFish 法に係る誤同定チェックシートの使い方と、その基盤となる環境省版 MiFish リファレンスデータベースに関して解説するものです。

(2) MiFish リファレンスデータベースの整備対象種

国際塩基配列データベースから登録情報を取得する際に検索対象とした種は、表 1 の各リストに掲載されている種から重複を除いた 1878 種を基本としました。さらに、MiFish 法による種の識別性をより明確にするため、表 1 のリストには未掲載の情報のうち、二次的自然環境に生息する淡水魚類の同属近縁他種（主に海外産の種）も、必要に応じて整備の対象種に追加しました。

表 1 MiFish リファレンスデータベースの整備対象種

リスト名	対象種数	備考
①環境省二次的自然環境に生息する淡水魚類リスト	471 種	④及びそれ以降に追加された種内系統 101 系統を含む
②環境省レッドリスト 2020（汽水・淡水魚類）	260 種	絶滅のおそれのある地域個体群（LP）15 種を含む
③生態系被害防止外来種リスト	86 種	ガー科 7 種、パイコ科 5 種、国内外来種 4 種を含む
④Watanabe et al. (2017) による琉球列島を除いた日本産在来淡水魚類リスト	288 種	明確な種内系統 100 系統を含む
⑤河川水辺の国勢調査のための生物リスト（令和 3 年度版）	1041 種	魚類版の掲載種全種
⑥日本産魚類全種リスト ver.13（2022 年 2 月 6 日版）	1144 種	登録 4665 種のうち、①②⑤に含まれる汽水・淡水魚類のみを抜粋
⑦二次的自然環境に生息する淡水魚類リスト掲載種の「同属他種」や「過去に使われていた学名（シノニム）」	699 種	中坊（2013）掲載の 4321 種のうち①②に含まれる汽水・淡水魚類のみを抜粋
⑧国際塩基配列データベース上で使用されている固有の学名など必要性に応じて任意に追加されたもの	246 種	種間雑種標本由来や sp.のあとに固有の識別名が付けられているもの等
整備対象種	計 1878 種	和名と学名の組み合わせが重複しているものを除いた種及び系統の合計数

※リスト④の Watanabe et al.(2017)とは、以下の文献を示します。

Appendix 4 in Watanabe, K., K. Tominaga, J. Nakajima, R. Kakioka and R. Tabata. (2017) Chapter 7. Japanese freshwater fishes: biogeography and cryptic diversity. In: Motokawa, M. and H. Kajihara (eds.) Species Diversity of Animals in Japan, Diversity and Commonality in Animals. Springer. pp. 183–227.

（日本語補足追記：上記文献の付録 4「日本列島（琉球列島を含まない）に生息する淡水魚類の種、亜種、種内の深い分岐群のリスト」を示します）

(3) MiFish リファレンスデータベースの整備内容

環境省版 MiFish リファレンスデータベースの整備に用いたリファレンスは、2022 年 2 月 24 日時点で国際塩基配列データベースからダウンロードした情報を元としています。ダウンロードの際は、表 1 の 1878 種を対象に「学名」と「12S」というキーワードで検索を行い、国際塩基配列データベースから 12S リボゾーム RNA 遺伝子配列が含まれるデータを取得しました。そこからさらに、MiFish ユニバーサルプライマーの配列の一部を検索キーとして、MiFish 配列を完全に含む登録情報のみを抽出し、アクセス番号ごとに整理しました。

さらに、アクセス番号ごとに整理した登録情報の中から、複数の付帯情報（特に note や ecotype、strain 欄に記載された情報）を参考に、データベースに登録された学名の妥当性を確認した上で、作成した MiFish リファレンスデータベースの登録学名を修正しました。

また、登録情報に標本管理施設及び標本番号があるが、採集地の記載がないデータのうち、表 2 の 5 つの施設で管理されている標本に関しては、国立科学博物館が管理運営するサイエンスミュージアムネット (<http://science-net.kahaku.go.jp/>) から 2020 年 1 月 20 日にダウンロードした各施設の登録データを利用し、転記しました。

表 2 標本番号から採集地の情報を入手した標本管理施設のリスト

施設名略号	標本管理施設名
NSMT	国立科学博物館
FRLM	三重大学大学院生物資源学研究科附属水産実験所
KAUM	鹿児島大学総合研究博物館
CBM	千葉県立中央博物館
HUMZ	北海道大学総合博物館水産科学館

続いて、作成した MiFish リファレンスデータベースに対して、個々の登録情報の信頼性を簡易的に把握できるように、専門家からの助言をふまえて定めた基準に従って、信頼度のランク分けを行いました（表 3）。

表 3 信頼度のランク分け基準

ランク分けの基準項目				信頼度 ランク
標本採集地の情報		標本管理施設と 標本番号の情報	分子系統樹による チェック	
国名のみ	県名等			
○	○	○	問題なし	AA
○	×	○	問題なし	A
○	○ or ×	×	問題なし	B_Loc
×	×	○	問題なし	B_Spe
×	×	×	問題なし	C
○ or ×	○ or ×	○ or ×	誤同定の疑いあり	D
エキスパートチェックにより修正された情報				Ex

また、MiFish 法による種の識別性を確認するため、MiFish 配列が得られた種について、科レベルもしくは属レベルで暫定的にグループ化し、分子系統樹を作成しました。分子系統樹から、同じ枝の同じ位置に 2 種以上の配列が入れ子状に並んだ場合（すなわち種間で MiFish 配列に違いがないことが示された場合）、そこに該当する種は、MiFish 法では種レベルでの識別が困難であるとみなしました。

さらに、作成した MiFish リファレンスデータベース及び分子系統樹は、淡水魚類各分野の専門家から、種の識別性や学名等に関する確認や助言（エキスパートチェック）を受けています。エキスパートチェックにより、誤同定の疑いがある（もしくは登録情報の信頼性に疑問が残る）と判断された登録情報については、信頼度ランクを「**D**」としました。また、エキスパートチェックにより、魚類分類学の最新知見や分子系統樹から登録上の学名を変更することが望ましい等の指摘がされた登録情報については、信頼度ランクを「**Ex**」とし、学名とそれに付与される和名を修正しました。

MiFish 法に係る誤同定チェックシートを使った精査の結果、信頼度ランクに「AA、A、B_Loc、B_Spe、C、Ex」のいずれかが表示された登録情報については、「MiFish 法の結果として採用を推奨する学名・和名」の欄に表示された情報を分析結果表に採用します。しかし、信頼度ランクが「D」と表示された登録情報については、「MiFish 法の結果として採用を推奨する学名・和名」の欄に表示された情報に対する信頼度が低いため、分析結果として採用せず、別途、サンプルから検出された環境 DNA 配列を用いて個別に分子系統樹を作成し、再精査を行うことが推奨されます。

なお、環境省版 MiFish リファレンスデータベース及び MiFish 法に係る誤同定チェックシートは、作成時点における種の識別性を示したものであり、この識別性は確定したものではありません。今後、国際塩基配列データベース上に登録されるリファレンスが増えることで、種の識別性に対する判断が変更される可能性があります。

(4) MiFish 法に係る誤同定チェックシートの使い方

環境 DNA 分析は、多くの場合、民間の分析受託会社や大学等に委託することが想定されます。分析完了後は、委託先から分析結果表（環境省の手引きでは「一致率が高い生物種リスト」と呼んでいます）を入手することになります。

下の図は、環境 DNA 分析結果表の例です。一般的に、分析結果表には、依頼したサンプルから得られた環境 DNA 配列と最も相同性（一致率）が高かった配列の「アクセス番号」が記載されています。なお、分析受託会社によっては、アクセス番号（バージョン番号付き）の出力が標準仕様になっていない場合があるので、分析を依頼する際に確認してください。また、オンライン解析ソフトウェアである MiFish Pipeline を使った場合は、ソフトウェアの仕様上、アクセス番号が出力されないため（2022 年 3 月時点）、この MiFish 法に係る誤同定チェックシートを使った精査を行うことができません。

表 4 環境 DNA 分析結果表の一例

No.	アクセス番号	一致率	科名	和名	学名	採水日 調査地	二次的自然		
							2020/4/30	2020/5/30	2020/6/29
							No.1	No.2	No.4
確認種類数						14	8	10	11
総リード数						240,540	63,128	90,381	87,031
1	LC552361.1	100	コイ科	コイ(飼育型)	<i>Cyprinus carpio</i>	13,192	1,488	3,842	7,862
2	LC552360.1	100	コイ科	コイ(野生型)	<i>Cyprinus carpio</i>	1,299	0	865	434
3	LC049911.1	100	コイ科	フナ属	<i>Carassius sp.</i>	22,489	21,525	964	0
4	LC494269.1	100	コイ科	キタノアカヒレタビラ	<i>Acheilognathus tabira tohokuensis</i>	13,247	2,449	10,798	0
5	LC193307.1	100	コイ科	ゼエタナゴ	<i>Acheilognathus typus</i>	728	0	0	728
6	AP012986.1	100	コイ科	タイリクバラタナゴ	<i>Rhodeus ocellatus ocellatus</i>	26,548	0	26,548	0
7	LC552399.1	100	コイ科	カワムツ	<i>Nipponocypris temminckii</i>	2,167	0	0	2,167
8	LC552387.1	100	コイ科	モツゴ	<i>Pseudorasbora parva</i>	33,728	6,804	6,414	20,510
9	LC552383.1	100	コイ科	タモロコ	<i>Gnathopogon elongatus elongatus</i>	119	0	0	119
10	LC492322.1	100	ドジョウ科	ドジョウ	<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	15,086	2,919	5,487	6,680
11	LC069457.1	100	ドジョウ科	キタドジョウ	<i>Misgurnus sp. (Clade A)</i>	245	0	0	245
12	LC552443.1	100	サンフィッシュ科	ブルーギル	<i>Lepomis macrochirus macrochirus</i>	16,947	1,178	6,863	8,906
13	LC474183.1	100	サンフィッシュ科	オオクチバス	<i>Micropterus salmoides</i>	9,081	2,682	2,121	4,278
14	LC385178.1	100	ハゼ科	ヨシノボリ属	<i>Rhinogobius sp.</i>	85,664	24,083	26,479	35,102

精査を行う分析結果表が準備できたら、MiFish 法に係る誤同定チェックシート（以降、チェックシートとします）の「アクセス番号」と表記された黄色いセルに、分析結果表のアクセス番号（バージョン番号付き）を入力します。精査を行う分析結果表が Excel ファイルの場合は、分析結果表のアクセス番号を、チェックシートの「アクセス番号」と表記された黄色いセルにコピー&貼り付けをします。

チェックシートの各セルには、Excel の vlookup 関数が入力されているため、MiFish リファレンスデータベースから、入力されたアクセス番号に対する該当情報が自動的に参照出力される仕様となっています。なお、チェックシートでは、最初の状態では非表示になっていますが、1 行目と 2 行目に引用するシート名（デフォルトは MiFish リファレンスデータベース）と引用する列番号が指定されています。チェックシートに出力される情報をカスタマイズしたい場合は、この行を変更するか、セルに入力されて

いる関数自体を直接書き換えてください。

図 1 は、チェックシートの出力結果の一例です。チェックシートでは、以下の 4 種類の学名と和名と信頼度ランクを出力します。

- 出力名① 国際塩基配列データベース上の登録学名とそれに対応する和名
 出力名② 国際塩基配列データベース上の付帯情報を基に修正した学名とそれに対応する和名
 出力名③ 日本産全魚種リストの学名・和名（下の図では省略）
 出力名④ MiFish 法の結果として採用を推奨する学名・和名

No.	アクセッション番号	D列の学名に対応する和名	出力名①		出力名②		出力名④		信頼度ランク
			国際塩基配列データベース上の登録学名	F列の学名に対応する和名	国際塩基配列データベース上の付帯情報を基に修正した学名	MiFish解析の結果として採用を推奨する和名	MiFish解析の結果として採用を推奨する学名		
1	LC552361.1	コイ	Cyprinus carpio	コイ	Cyprinus carpio	コイ (飼育型)	Cyprinus carpio	AA	
2	LC552360.1	コイ	Cyprinus carpio	コイ	Cyprinus carpio	コイ (野生型)	Cyprinus carpio	Ex	
3	LC049911.1	ギンブナ	Carassius langsdorfii	ギンブナ	Carassius langsdorfii	ギンブナ / キンブナ / オオキンブナ / ニゴロブナ / キンギョ / フナ属の一種 (琉球列島)	Carassius sp. / Carassius buergeri subsp. 2 / Carassius buergeri buergeri / Carassius buergeri grandoculis / Carassius auratus / Carassius sp.	AA	
4	LC494269.1	キタノアカヒレタビラ	Acheilognathus tabira tohokuensis	キタノアカヒレタビラ	Acheilognathus tabira tohokuensis	キタノアカヒレタビラ	Acheilognathus tabira tohokuensis	B_Loc	
5	LC193307.1	ゼニタナゴ	Acheilognathus typus	ゼニタナゴ	Acheilognathus typus	ゼニタナゴ	Acheilognathus typus	AA	
6	AP012986.1	0	Acheilognathus chankaensis	Acheilognathus chankaensis	Acheilognathus chankaensis	タイリクバラタナゴ	Rhodeus ocellatus ocellatus	Ex	
7	LC552399.1	カワムツ	Nipponocypris temminckii	カワムツ	Nipponocypris temminckii	カワムツ	Nipponocypris temminckii	AA	
8	LC552387.1	モツゴ	Pseudorasbora parva	モツゴ	Pseudorasbora parva	モツゴ / モツゴ属の一種[海外]	Pseudorasbora parva / Pseudorasbora interrupta[海外]	AA	
9	LC552383.1	タモロコ	Gnathopogon elongatus elongatus	タモロコE1 (西日本型)	Gnathopogon elongatus elongatus	タモロコ / ホンモロコ	Gnathopogon elongatus elongatus / Gnathopogon caerulescens	AA	
10	LC492322.1	ドジョウ	Misgurnus anguillicaudatus	ドジョウ	Misgurnus anguillicaudatus	ドジョウ (大陸系統)	Misgurnus anguillicaudatus	Ex	
11	LC069457.1	キタドジョウ	Misgurnus sp. Clade A	キタドジョウ	Misgurnus sp. Clade A	キタドジョウ	Misgurnus sp. (Clade A)	AA	
12	LC552443.1	ブルーギル	Lepomis macrochirus	ブルーギル	Lepomis macrochirus	ブルーギル	Lepomis macrochirus macrochirus	AA	
13	LC474183.1	オオクチバス	Micropterus salmoides	オオクチバス	Micropterus salmoides	オオクチバス	Micropterus salmoides	AA	
14	LC385178.1	オオヨシノボリ	Rhinogobius fluviatilis	オオヨシノボリ	Rhinogobius fluviatilis	トウヨシノボリ / クロヨシノボリ / オオヨシノボリ / カズサヨシノボリ / オウミヨシノボリ / シマヒレヨシノボリ / ルリヨシノボリ / クロダハゼ	Rhinogobius sp. / Rhinogobius brunneus / Rhinogobius fluviatilis / Rhinogobius sp. KZ / Rhinogobius sp. OM / Rhinogobius tyoni / Rhinogobius mizunoi / Rhinogobius kurodai	AA	

図 1 MiFish 法に係る誤同定チェックシートの出力結果の例 (一部のみ抜粋)

出力名①のセル（チェックシートの C,D 列）には、国際塩基配列データベース上の登録学名とそれに対応する和名が出力されます。分析結果表の精査が行われていない場合は、この出力結果が結果表に表示されている可能性があります。

出力名②のセル（チェックシートの E,F 列）には、国際塩基配列データベース上の付帯情報（特に note や ecotype、strain 欄に記載された情報）を基に修正した学名が表示されます。また、一部の種については、種内系統の情報も付与されて出力される場合があります。

出力名③のセル（チェックシートの G,H 列）には、日本産全魚種リスト（JAF リスト）に対応する学名・和名が出力されます。

出力名④のセル（チェックシートの I,J 列）には、出力名③の情報を基本としつつ、分子系統樹による確認結果やエキスパートチェックの結果を反映した MiFish 法の結果として採用を推奨する学名・和名が出力されます。例えば、先ほどのチェックシートの出力結果例では、「ギンブナ」の学名で登録されている配列（アクセッション番号 LC049911.1）と 100%一致した環境 DNA 配列が検出されていますが、ギンブナは他の多くのフナ属魚類と種レベルの識別が困難であると判断されるため、「ギンブナ / キンブナ / オオキンブナ / ニゴロブナ・・・」として、入力されたアクセッション番号の MiFish 配列と一致したときに**該当する可能性のあるすべての種**が出力されています。

また、チェックシートの出力結果の例の 6 行目には、出力名②に「*Acheilognathus chankaensis*」というタナゴ属の外国産種が出力されています。しかし、このアクセッション番号の配列は、エキスパートチェックにより「タイリクバラタナゴ」の配列として修正されたため、この環境 DNA 配列は「*Acheilognathus chankaensis*」ではなく、「タイリクバラタナゴ」の環境 DNA を検出したと判断されます。

出力結果例の 8 行目では、出力名②に「モツゴ」と出力されていますが、出力名④では「モツゴ / モツゴ属の一種[海外]」となっています。これはモツゴとして登録されている MiFish 配列の一部が、海外産のモツゴ属の一種「*Pseudorasbora interrupta*」とも 100%一致することから、MiFish 法上は両者が識別できないことを示す意味で、該当する可能性のあるすべての種が出力されています。すなわち、この結果はモツゴとモツゴ属の一種（*Pseudorasbora interrupta*）が両方生息していることを示すものではありません。国外移入種・国内移入種の最新状況等を考慮した上で、モツゴ属の一種（*Pseudorasbora interrupta*）の生息が完全に否定できると判断される場合は、「モツゴ」として単一種で表記することを制限するものではありません。なお、これと類似した出力名④として、「モツゴ / モツゴ属の一種[海外]」の他に以下の 3 つで、海外産の種を含んだ上で、該当する可能性のあるすべての種が出力されます

イチモンジタナゴ / オオイチモンジタナゴ(俗称)[海外]

ナマズ / イワトコナマズ / タニガワナマズ / ナマズ属の一種[海外]

サクラマス（ヤマメ） / サツキマス（アマゴ） / タイワンマス[海外]

※和名の後ろに[海外]とあるものは、海外産の種であることを示します。

出力結果例の 10 行目には、出力名②の「ドジョウ」が出力名④では「ドジョウ（大陸系統）」として出力されています。これは、エキスパートチェックの結果から、松井・中島(2020)で報告されているドジョウの在来系統と大陸系統が MiFish 法から判別できる可能性が高いと考えられることから、系統情報が付与された和名として修正されたものが出力されています。なお、系統を識別する必要がない場合は、「ドジョウ」として表記することを制限するものではありません。

14 行目のヨシノボリ類のように、そのアクセッション番号の MiFish 配列と一致したときに該当する可能性のある種が、非常に多い場合があります。そうした場合、表記上の工夫として、例えば分析結果表内では「ヨシノボリ属」として簡略的に表記し、分析結果表の欄外の注釈欄に、「ヨシノボリ属」に該当する出力名④で出力されたすべての和名（もしくは学名）を明記する方法も考えられます。

引用文献

- 1) 本村浩之 (2022) 日本産魚類全種目録. これまでに記録された日本産魚類全種の現在の標準和名と学名, Online ver.13. <https://www.museum.kagoshima-u.ac.jp/staff/motomura/jaf.html>
- 2) 松井彰子・中島淳 (2020) 大阪府におけるドジョウの在来および外来系統の分布と形態的特徴にもとづく系統判別法の検討. 大阪市立自然史博物館研究報告, 74:1-15.

(5) MiFish リファレンスデータベースのその他の活用方法

MiFish リファレンスデータベースは、MiFish 法に係る誤同定チェックシートの参照データベースとしてだけでなく、その他にも活用方法が考えられます。

1 つは、相同性検索 (BLAST 検索) 用のデータベースとして利用する方法です。この MiFish リファレンスデータベースは、個別の登録情報に対して、専門家のチェックによる信頼度ランクが付与されています。したがって、例えば AA や Ex ランクの配列情報だけを別途抜き出して、独自にデータベース化し、そのデータセットに対して BLAST 検索を行うことで、より簡単に正確な同定結果が得られる可能性があります。ただし、この活用方法は、自身で BLAST 検索を行う技術と知識をお持ちの方に限定されます。

もう 1 つの活用方法としては、MiFish 法で使用されているユニバーサルプライマーのミスマッチの有無やミスマッチ数の確認を行うために必要な情報を取得することができます。MiFish リファレンスデータベースの EC 列には、プライマーのアニーリング領域を含んだ MiFish 配列を出力しています。この情報を抜き出すことで、個別の種や分類群に対するミスマッチの有無やミスマッチ数の確認を行うことができます。その

ため、環境 DNA 調査の際に問題となることがある「プライマーのミスマッチに起因する偽陰性」の検討に活用することが可能となります。なお、EC 列が「0」となっているアクセッション番号は、その登録情報自体にプライマーのアニーリング領域が含まれていないことを示しています。

(6) 免責事項

本資料及び MiFish リファレンスデータベースの情報は、細心の注意を払い作成したものです。その正確性や内容等について、環境省が保証するものではありません。環境省は、利用者が本資料の情報をを用いて行う一切の行為（資料の一部を編集・加工等した情報を利用することを含む）について、何ら責任を負うものではありません。

(7) 著作権

本資料の著作権は、下記ホームページの「生物多様性センター ウェブサイト利用規約」に準じます。

環境省自然環境局生物多様性センターホームページ URL：
http://www.biodic.go.jp/copyright/terms_of_service.html