

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H04358

研究課題名（和文）シン・パレオゲノミクスが創る博物館資料群活用の新展開

研究課題名（英文）"Shin" Paleogenomics Creates New Perspectives on the Utilization of Museum Materials

研究代表者

覚張 隆史（Gakuhari, Takashi）

金沢大学・古代文明・文化資源学研究所・助教

研究者番号：70749530

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 32,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、これまで蓄積されてきたパレオゲノミクス（古代ゲノム分析）の分析手法を博物館に収蔵された様々な生物資料へ応用することを目的として実施された。特に、劣化度合いが強い多様な標本を対象にしたゲノム解析の新たな展開として、微量サンプリングによるパレオゲノミクスを実践し、これまで分析が困難であった「難ゲノム解析資料群」からゲノムデータ取得及び取得ゲノムデータを用いた比較ゲノム解析を実践することを試みた。古人骨、博物館の絶滅哺乳動物、真菌類標本、植物病理標本、寄生虫卵などを対象としたパレオゲノミクスを実施し、これまで分析が困難であった資料群へパレオゲノミクスが応用できることを実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでのパレオゲノミクス研究は、DNA分子の保存環境が良好な資料を対象にした研究が中心であったが、既存のパレオゲノミクスの手法では分析が困難な「難ゲノム解析資料群」が膨大な数存在している。これらの資料からゲノムデータを取得することが可能になれば、今まではDNAが保存されやすい地域や時代だけの点々としたデータを比較解析していた研究の制約状況を改善することができ、これまで以上に膨大な資料群のゲノムデータを用いた新しいパレオゲノミクスの研究が可能になると期待される。新たな分析手法を応用することで、生物学だけでなく、農学や法医学などの他分野の研究領域に対しても、有益な情報を提示できる考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study was conducted with the aim of applying the analytical methods of paleogenomics (ancient genome analysis) that have been accumulated so far to various biological materials in the museum collection. In particular, as a new development of genome analysis for various specimens with a high degree of degradation, we attempted to apply paleogenomics by micro-sampling to acquire genome data from "difficult-to-analyze genome materials" that have been difficult to analyze, and to conduct comparative genome analysis using the acquired genome data. Paleogenomics was conducted on paleohuman bones, extinct mammals in museums, fungal specimens, plant pathology specimens, and parasite eggs, demonstrating that paleogenomics can be applied to materials that have been difficult to analyze in the past.

研究分野：パレオゲノミクス

キーワード：パレオゲノミクス 微量サンプリング 古人骨 絶滅哺乳類 植物病理標本 寄生虫卵

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

遺跡から出土する骨や寄生虫卵などの微化石、博物館に収蔵されている生物標本のゲノム解析をパレオゲノミクスと呼ぶ。これまでのパレオゲノミクスは、保存状態が劣悪な資料から高品質のゲノムデータを取得することが困難であったため、新たな技術の応用が求められていた。本研究は組織特異的分取技術及び 1 細胞分取技術 (シングルセル解析) をパレオゲノミクスに応用し、「難ゲノム配列決定資料群」からの高品質なゲノムデータ取得と集団ゲノム解析を試みる。

2. 研究の目的

博物館に長期間にわたり保管されている遺跡出土骨や博物館標本のゲノム解析(パレオゲノミクス)は、未だにゲノムデータ取得が困難な資料が数多く存在する。これら「難ゲノム配列決定資料群」からの膨大な過去のゲノムデータがまだ未取得である。これらの資料群からゲノムデータの取得を可能にすることは、人類学・考古学など多様な研究領域を大きく発展させると考えられる。また、先行研究において部分的なゲノムデータ取得ができていたものの、品質の低いゲノムデータ取得に止まるものが多く、全ゲノムデータの取得が現状困難であった資料群が膨大に存在する。

そこで本研究は、難ゲノム配列決定資料群から高精度な全ゲノム配列決定を可能にする組織特異的分取技術及びシングルセル解析技術を応用し、博物館資料・考古資料への実践的応用を試みる。従来のパレオゲノム解析にはない全く新しい手法開発・応用研究を展開し、シン・パレオゲノミクスという新たな研究領域を創出する。

3. 研究の方法

人骨・軟部組織標本・菌標本・寄生虫卵の 4 チームに分かれてそれぞれ研究を進めた。人骨チームは、富山県埋蔵文化財研究センターに収蔵されている縄文時代前期の小竹貝塚、大阪市埋蔵文化財センターに収蔵されている松井横穴墓出土人骨、九州大学比較文化研究科に収蔵されている北部九州の古墳時代人骨、島根県松江市の古墳時代出土人骨、京都府京丹後市の古墳時代人骨、モンゴルのモンゴル科学アカデミーに収蔵されている中世遺跡出土人骨、ホンジュラスのコパン遺跡出土人骨を対象に、側頭骨からの組織特異的サンプリングを実施した。また、その一部について、切片を作成し、専用の脱灰液を用いて脱灰した後に、in situ hybridization した側頭骨の組織切片に対して、顕微鏡を用いたマニュアルサンプリング及び局所サンプリング装置を用いた DNA コア領域のサンプリングを実施した。DNA 抽出及び全ゲノム増幅を行なったのちに、DNA ライブラリを作成し、次世代シーケンサーを用いてゲノムデータの取得を試みた。

軟部組織標本の研究では、絶滅動物であるニホンカワウソのヒゲ毛根及び肉球を対象にしたサンプリングを実施した。局所サンプリング装置を用いてサンプリングしたのちに、DNA 抽出及びライブラリ作成した。次世代シーケンサーを用いて、作成したライブラリからゲノムデータを取得した。また、菌標本では、スエヒロタケの標本から、組織をサンプリングし、DNA 抽出及びライブラリ作成を行ったのちに、次世代シーケンサーを用いてゲノムデータを取得した。同様に、植物病理標本は、感染部位を対象にした組織特異的サンプリングを実施し、DNA 抽出及びライブラリ作成した後に、次世代シーケンサーを用いてゲノムデータを取得した。

最後に、寄生虫の分析チームは、遺跡出土堆積物を対象にした寄生虫卵の固定及び分離前処理(重液分離法)を行い、土壌堆積物から約 200 個体の同一種の寄生虫卵を分取した。分取した寄生虫卵から DNA 抽出・全ゲノム増幅・ライブラリ作成を行ったのちに、

4. 研究成果

人骨班において、組織特異的サンプリングによるゲノムデータ取得を試み、対象として全ての遺跡出土人骨からゲノム解析が可能な品質のゲノムデータの取得に成功した。これらのゲノムデータと、既存の古代ゲノムデータを比較解析した結果を、海外学術誌において成果公開した。人骨からの局所サンプリングの新たな条件検討を実施するために、モンゴルの遺跡出土人骨の中で保存状態が極めて良好なサンプルを対象に、組織切片の作成、HE 染色、新たに作成したヒト Alu RNA プローブによる in situ hybridization を行い、骨切片におけるヒト核 DNA の組織内局在を確認した。また、ISH 染色されたスポットをマイクロサンプリングして、DNA 抽出・ライブラリ作成し、ゲノムデータを取得したところ、ヒト内在 DNA% がこれまでのマクロサンプリングよりも有意に高い値を示した。これらの結果についてまとめた論文を海外学術誌に投稿する予定である。また、植物病理標本の研究におけるマイクロサンプリングによる病理細胞片、菌類標本、ニホンカワウソからゲノムデータ取得を行い、論文投稿を進めている。

一方、寄生虫卵からのゲノムデータ取得の試みにおいて、分離同定された寄生虫含有溶液から得られた DNA 抽出液からゲノムデータを取得した。寄生虫卵を堆積物から分離する際の固定液による DNA 分子へのダメージによる影響のためか、寄生虫由来ゲノムが検出されるか検討し

たが検出ができなかった。今後、固定液・分離法の検討を行い、DNA にダメージの少ない前処理法の開発が必要となることが示され、課題が残る結果となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Lee Juhyeon, Sato Takehiro, Tajima Atsushi, Amgalantugs Tsend, Tsogtbaatar Batmunkh, Nakagome Shigeki, Miyake Toshihiko, Shiraishi Noriyuki, Jeong Choongwon, Gakuhari Takashi	4. 巻 4
2. 論文標題 Medieval genomes from eastern Mongolia share a stable genetic profile over a millennium	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Human Population Genetics and Genomics	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.47248/hpgg2404010004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Xiaokaiti Xiayire, Sato Takao, Kasai Kenji, Machida Kenichi, Yamazaki Kyomi, Yamaji Naomitsu, Kikuchi Hiroki, Gojobori Jun, Hongo Hitomi, Terai Yohey, Gakuhari Takashi	4. 巻 132
2. 論文標題 The history of ancient Japanese dogs revealed by mitogenomes	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Anthropological Science	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1537/ase.230617	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Cooke Niall P., Mattiangeli Valeria, Cassidy Lara M., Okazaki Kenji, Kasai Kenji, Bradley Daniel G., Gakuhari Takashi, Nakagome Shigeki	4. 巻 5
2. 論文標題 Genomic insights into a tripartite ancestry in the Southern Ryukyu Islands	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Evolutionary Human Sciences	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1017/ehs.2023.18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Cooke Niall P., Murray Madeleine, Cassidy Lara M., Mattiangeli Valeria, Okazaki Kenji, Kasai Kenji, Gakuhari Takashi, Bradley Daniel G., Nakagome Shigeki	4. 巻 27
2. 論文標題 Genomic imputation of ancient Asian populations contrasts local adaptation in pre- and post-agricultural Japan	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 1~14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2024.110050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松前 ひろみ (Matsumae Hiromi) (00735681)	東海大学・医学部・助教 (32644)	
研究分担者	金原 正明 (Kanehara Masaaki) (10335466)	奈良教育大学・ESD・SDGsセンター・研究部員 (14601)	
研究分担者	本橋 慶一 (Hashimoto Keiichi) (10527542)	東京農業大学・国際食料情報学部・教授 (32658)	
研究分担者	岡崎 健治 (Okazaki Kenji) (10632937)	鳥取大学・医学部・助教 (15101)	
研究分担者	中込 滋樹 (Nakagome Shigeki) (40625208)	金沢大学・古代文明・文化資源学研究所・客員准教授 (13301)	
研究分担者	石谷 孔司 (Ishiya Koji) (40826062)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究員 (82626)	
研究分担者	細川 正人 (Hosokawa Masahito) (60722981)	早稲田大学・理工学術院・准教授(任期付) (32689)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	和久 大介 (Waku Daisuke) (60793578)	東京農業大学・国際食料情報学部・助教 (32658)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協 力 者	舟橋 京子 (Funahashi Kyoko) (80617879)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
アイルランド	ダブリン大学			
中国	中国社会科学院			
モンゴル	モンゴル科学アカデミー			
ホンジュラス	ホンジュラス国立人類学歴史学 研究所			
ドイツ	マックスプランク研究所			
デンマーク	コペンハーゲン大学			