

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：82617

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26891029

研究課題名(和文) 縄文時代前期人骨の核ゲノム解析による縄文人集団の遺伝的変遷の解明

研究課題名(英文) Nuclear genome analysis of Early Jomon people to investigate their genetic changes during Jomon period

研究代表者

神澤 秀明(KANZAWA, Hideaki)

独立行政法人国立科学博物館・人類研究部・研究員

研究者番号：80734912

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：縄文時代前期-中期の縄文人骨のミトコンドリアゲノム分析を行い、複数個体からミトコンドリアゲノムの全配列を決定した。ミトコンドリアのハプログループはM7a, N9bに分類され、縄文時代早期から晩期までの遺伝的な連続性が確認された。また、ミトコンドリアゲノムの全配列に基づいて、新たなサブハプログループのM7a3が同定された。これまで縄文時代の遺伝的地域差を検出することは難しかったが、今回新たなサブハプログループが検出されたことで、北海道から沖縄の縄文人には、遺伝的地域差がある可能性が示された。また、DNAの残存状態の良い試料から核ゲノム分析を試み、核ゲノムの数パーセントを決定することに成功した。

研究成果の概要(英文)：Mitochondrial genome analysis of Neolithic Early to Middle Jomon people were conducted, and the complete sequences were determined from several Jomon individuals. Those mitochondrial haplogroups were classified into M7a and N9b, which are characteristic to Jomon people, and genetic continuity from initial to final Jomon period was confirmed. We also identified new sub-haplogroup M7a3 from Hokkaido Jomon. Though it has been difficult to detect genetic substructure of Jomon people, the new sub-haplogroup implies the genetic substructure among Jomon people from Hokkaido to Okinawa region. We chose well-preserved samples to sequence their nuclear genome, and ~10% of the genome were newly determined.

研究分野：分子人類学

キーワード：古代DNA 縄文人 ミトコンドリアゲノム 核ゲノム 日本人の起源

1. 研究開始当初の背景

縄文時代は現在の日本列島人の基層集団であることから、日本列島人の起源と成立の過程を明らかにするうえで重要な集団である。

(1)これまでミトコンドリア DNA の部分配列を決定してハプログループが決定されてきたが、それでは古代人に固有のハプログループなどの検出は困難であった。

(2)これまで縄文時代早期および後晩期の縄文人骨から核ゲノムの部分配列の決定に成功しているが、早期と後晩期の間には 4000 年間の遺伝情報の欠落があり、縄文前期を中心とした縄文人の核ゲノム分析が必要であった。

2. 研究の目的

縄文前期～中期を中心とした縄文人骨をミトコンドリアゲノムおよび核ゲノム分析を行い、縄文時代全体を通しての縄文人の遺伝的背景を明らかにすることを目的とする。

(1)これまでのミトコンドリア DNA の部分配列を用いた分析では、既存のハプログループに分類できない縄文個体がいくつか知られていた。それらの個体のミトコンドリアゲノムの全配列を決定することで、既存のハプログループとの系統関係を明らかにする。

(2)縄文人骨の核ゲノム分析を行い、これまでに決定された他の縄文人の核ゲノムと比較することで、10,000 年以上にわたる縄文時代の時期ごとの遺伝関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1)縄文時代前期～中期の人骨数点を分析対象として選出した。また、それらとの遺伝的变化を明らかとするために、他の時期の縄文時代人骨の分析も並行して行った。縄文人の歯から抽出された DNA から、次世代シーケンサーで分析するためのライブラリを作成した。作成したライブラリから古代人のミトコンドリアゲノムを効率的に分析するために、capture-on-beads method を用いてミトコンドリア DNA の濃縮を行った。濃縮したミトコンドリア DNA を次世代シーケンサーの Illumina 社製 MiSeq でシーケンスし、得られた配列をヒト参照配列に貼り付けることで、ヒト由来の DNA のみを回収した。

(2)人骨に含まれる DNA 量は非常に少ないので、試薬や実験者などからの DNA 汚染の有無を判断する必要がある。古代 DNA には特有のダメージが DNA 断片の末端に見られるので、ダメージが検出された場合、古代人由来の DNA を含んでいると判断した。

(3)現代人で知られているハプログループに基づいて、分析した縄文人のハプログループを決定した。また、ハプログループおよび個体に特有の変異を用いて、現代人による DNA 汚染の比率を計算した。汚染率の低い個体は、核ゲノム分析に適しているので、分析候補とした。

(4)ミトコンドリアゲノムを用いた縄文人の集団サイズの変化を推定した。今回得られた

縄文人のミトコンドリアゲノムでは個体数が不十分であることから、現代日本人の M7a を持つ個体を用いて、縄文人の集団サイズの変化を間接的に推定した。現代日本人が持つ M7a は縄文人に由来すると考えられており、M7a を用いた解析は有効であると考えられる。解析には BEAST software を用いた。

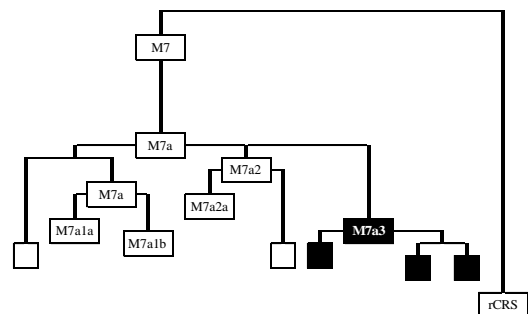
(5)現代人からの DNA 汚染が少ないと思われる個体の核ゲノム解析を試みた。シーケンスには Illumina 社製の HiSeq を用いた。個人骨から抽出した DNA の大半は、死後に流入したバクテリア等の DNA であり、ヒト由来の DNA はごくわずかである。そのため、始めに MiSeq で DNA ライブラリをシーケンスしてヒト由来の DNA の比率を調べたのち、ヒト由来の DNA 量の多い試料はそのまま HiSeq でシーケンスし、比率の低い試料は MYbaits でヒト由来の DNA 量を濃縮したのちシーケンスした。

(6)ミトコンドリアゲノム分析の時と同様に、得られた配列をヒトリファレンスゲノムにマッピングし、ヒト由来のゲノム配列のみを回収した。

4. 研究成果

今回分析した縄文時代前期人骨のミトコンドリア DNA のハプログループは M7a および N9b であった。これらのハプログループは他の時期の縄文時代人にも見られるものであり、縄文時代を通しての遺伝的な連続性が確認された。また M7a について、これまでサブハプログループに細分化できなかった個体については、今回の分析で新たに M7a3 として同定された。

M7a の系統樹



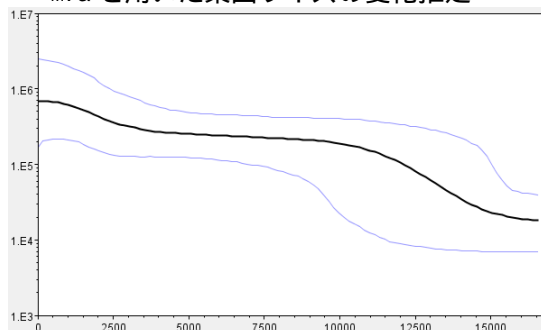
縄文人および新たに同定されたサブハプログループ M7a3 は で示した。

新たに検出されたサブハプログループの M7a3 は、M7a の祖型から分岐した非常に古い系統であることが明らかとなった。現代人のみを用いて M7a の合祖年代を計算したところ、およそ  $22,300 \pm 4,200$  年となった。また、M7a1、M7a2、M7a3 の各系統は、縄文時代においてそれぞれ九州・沖縄、東北、北海道に分布の中心があることが明らかとなった。ただしこれまでのところ、西日本縄文人のデータは限られているので、特に M7a1 の分布に関しては暫定的なものである。これまで縄文時代人が地域間で遺伝的に均質であるか異質な集団

であるかの議論がされてきたが、今回のミトコンドリアゲノムの全配列を用いた分析の結果から、縄文時代に遺伝的な地域分化が存在した可能性が示された。今後、個体数を増やしてこの仮説を検証する必要がある。以上のことから、縄文人に見られる M7a の系統は、縄文時代は始まる 16,000 年前より以前の後期旧石器時代に日本列島に流入し、地域ごとに分化して行ったと考えられる。このことから、縄文時代全体での遺伝的な時期差を検証することに加えて、遺伝的な地域差を検証する必要性が高まったと考えられる。

次に、縄文人の集団サイズの変化を推定した。今回の分析個体数は限られていることから、今回のデータから集団サイズの変化を直接検証することはできない。そこで、現代日本列島人に見られる M7a 系統を用いて、集団サイズの変化推定を行った。現代日本人に見られる M7a は縄文人に由来すると考えられており、この解析によって間接的に縄文人の集団サイズの変化を推定できると思われる。解析の結果、M7a の系統は縄文時代草創期にあたる 15,000 年ほど前から集団サイズを急激に増やしていることが示された。これは、縄文人の系統が縄文時代に入って集団サイズを拡大させたことを意味していると思われる。

M7a を用いた集団サイズの変化推定



この集団サイズの変化は、縄文文化の成立と関係している可能性があり、他分野との総合的な考察が必要である。

次に、核ゲノムの分析を試みた。今回のミトコンドリアゲノム分析から、遺伝的な時期差に加えて地域差が縄文人集団を考える上で非常に重要であることがわかってきた。これまで核ゲノム分析が行われてきた縄文人骨は北海道・東北・中部地方に限られており、また、その時期もそれぞれ縄文時代後期・中期・早期と異なっていた。そこで今回の核ゲノム解析では、関東の縄文時代中期～後期人骨の核ゲノム分析を試みた。分析試料として、草刈貝塚出土人骨と西ヶ原貝塚出土人骨を選出した。ヒト由来の DNA の比率を分析したところ、草刈貝塚の試料は 13%、西ヶ原貝塚の試料は 2.5%とかなり高かった。これまで我々が分析してきた人骨試料の大半は、0.01%～1%程度であったことを考えると、保存状態が極めて良好であることがわかる。西ヶ原貝塚の試料はそれでも比率が比較的低

いので、MYbaits を用いてヒト由来の DNA の濃縮を行った。両試料を HiSeq でシーケンスした結果、現在までに核ゲノムの 10%以上を決定することに成功した。ここまで DNA 状態の良好な関東縄文人骨試料は極めて珍しいため、これらの試料からのさらなる核ゲノム分析を行う計画である。現段階で得られている関東縄文人の核ゲノムデータを、すでに分析されている北海道～中部の縄文人ゲノムと比較する予定であったが、現在それらの比較データの再解析を行っている関係で、今回得られたデータとの比較はまだ行えていない。比較データの再解析が完了し次第、関東縄文とそれ以外の地域の縄文人のゲノムの比較解析を行う予定である。これにより、縄文中期～後期の中部～北海道までの縄文人集団の遺伝的時期差・地域差が明らかになることが期待される。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

神澤秀明、Kirill Kryukov、Timothy Jinam、佐藤孝雄、奈良貴史、安達登、細道一善、田嶋敦、井ノ上逸朗、斎藤成也、篠田謙一、古代日本列島人の核ゲノム解析(第3報)、2015年10月10日、東京都江東区国立研究開発法人産業技術総合研究所臨海副都心センター別館11階会議室

篠田謙一、神澤秀明、安達登、角田恒雄、玉榮飛道、土肥直美、沖縄県伊江島出土の貝塚時代人骨の DNA 分析、第 69 回日本人類学会大会、2015年10月10日、東京都江東区国立研究開発法人産業技術総合研究所臨海副都心センター別館11階会議室

安達登、神澤秀明、角田恒雄、篠田謙一、縄文時代人の解析からみえてきたハプログループ N9b の新しい系統関係、第 69 回日本人類学会大会、2015年10月10日、東京都江東区国立研究開発法人産業技術総合研究所臨海副都心センター別館11階会議室

〔図書〕(計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

神澤秀明 (KANZAWA, Hideaki)

独立行政法人国立科学博物館・人類研究部・人類史研究グループ・研究員

研究者番号: 80734912

### (3) 連携研究者

篠田謙一 (SHINODA, Kenichi)

独立行政法人国立科学博物館・研究調整役

研究者番号: 30131923

安達登 (ADACHI, Noboru)  
山梨大学・大学院・医学工学総合研究部・  
教授  
研究者番号：60282125