

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：14602

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05656

研究課題名(和文) 古代文化と文明の指標となる考古学資料に残存するタンパク質の海外調査研究

研究課題名(英文) Oversea's Research on Archaeological Proteins as Molecular Markers of Ancient Culture and Civilization

研究代表者

中沢 隆 (Nakazawa, Takashi)

奈良女子大学・自然科学系・教授

研究者番号：30175492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,350,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、西アジアを中心に、中国から古代イタリアにわたる地域の旧石器時代から新石器時代の考古遺物に残存するタンパク質、特に動物骨や歯などのコラーゲンを対象に国際的調査研究を行った。新石器時代の動物骨についての研究では、質量分析によるコラーゲンのアミノ酸配列解析の結果、分析したすべての資料についてウシ、シカ、ヒツジ、ヤギなどの区別に成功した。旧石器時代の種が不明の動物の骨または歯では、抽出したコラーゲンも経年劣化により同定できたアミノ酸配列も新石器時代の資料に比べて非常に微量であった。このため考古学的タンパク質の経年劣化に対する抵抗性を構造の面から解析し、アミノ酸の分解機構の解明も行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物考古学において遺物の動物種の判定は主に形態観察やDNAの塩基配列解析によって行われてきたが、本研究では特に形状が不明でDNAも残存していない旧石器時代の動物の歯において、タンパク質のアミノ酸配列が唯一の判定材料となることを実証した。さらに、新石器時代の形態的特徴からヤギと判定された骨のコラーゲンがヤギとヒツジの両方に特徴的なアミノ酸配列をもつヤギとヒツジの自然交配種のものである可能性から、この時代における動物飼育の実態を示したという社会的意義が考えられる。また、コラーゲンの数千から数万年にわたる安定性を、この分子に特有の三重鎖構造の物理化学的安定性で説明できたという学術的意義も見出せる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of our project is to apply "protein archaeology" to proteins preserved in Paleolithic and Neolithic animal remains from archaeological sites in the area of western Asia and central Europe. For Neolithic animal bones, we identified animal species of bones and teeth by mass spectrometric amino acid sequencing of collagen. The animal species thus identified include cattle, deer, sheep, and goat. For the majority of Paleolithic animal teeth, however, there still remained ambiguity in the identity of species resulting from mass spectrometry because collagen was degraded so seriously that the quantity and number of peptide fragments obtained for the analysis were insufficiently small. To clarify the effect of such a long-term aging, we also investigated the degradation process of amino acids in proteins. One of the most interesting findings in our study is that the stability of triple-helical structure is particularly important for the longevity of type I collagen.

研究分野：生物化学、タンパク質考古学、質量分析学

キーワード：タンパク質 コラーゲン 質量分析 アミノ酸配列解析 新石器時代 旧石器時代 タンパク質の分解

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

古い地層中の化石や動物遺体などの生物学的情報を得る方法として、プライマー連鎖反応 (PCR) を用いて増幅した DNA の塩基配列の自動シーケンシングや、ソフトイオン化法に基づくマトリックス支援レーザー脱離・イオン化 (MALDI) およびエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 質量分析法によるアミノ酸配列解析がある。古生物学や進化生物学でこうした分子情報について研究する研究分野、「分子古生物学 (molecular paleontology)」も知られている⁽¹⁾。考古学でも例えば古代の遺跡から出土した骨の動物種がヒトカウマカで調査結果が大きく左右される場合もあるであろう。本研究課題の開始当初、考古資料中のタンパク質がもつ生体情報に着目した研究では、イギリスの M. J. Collins や M. Buckley らによって提唱された質量分析を用いた動物考古学 (ZooMS) が最先端に位置付けられていた⁽²⁾。それまでは動物骨のコラーゲンが、資料の放射性炭素 (¹⁴C) 絶対年代測定 (加速器質量分析: AMS) に利用されていたに過ぎない。それ以外にタンパク質中のアミノ酸のラセミ化速度から資料の年代を推定する試み⁽³⁾もあるが、いずれにしても測定に際してタンパク質は炭化するか加水分解するため、アミノ酸配列のような貴重な生体情報が完全に失われるという問題点があった。タンパク質の質量分析によるアミノ酸配列解析法が動物種の同定法として急速に普及した理由は、アミノ酸配列が DNA の遺伝子配列に匹敵する生体情報を持ち、タンパク質の中でもコラーゲンの考古学的寿命が DNA よりも数桁長いことによる。実際、2009 年に 8 千万年前の恐竜の化石からコラーゲンを検出したという論文が発表されてからこの方法の有用性が広く一般にも知られるようになった⁽⁴⁾。さらに AMS 年代測定法に比べて資料の必要量が大幅に少ない MALDI-MS および ESI-MS は、貴重な資料の非破壊的な分析が望まれる考古学において有力な研究手段として期待できる。

ところが 2018 年に、Buckley らは恐竜の化石骨を再分析し、その結果から 2009 年に報告された恐竜の骨に現世のダチョウの骨が混入していた可能性を指摘した⁽⁵⁾。タンパク質のアミノ酸配列解析結果に基づいて動物種の判定を行う場合、タンパク質の経年劣化や他のタンパク質の混入により、分析結果の信頼性が大きく損なわれることは明らかである。本研究課題は、コラーゲンを中心に個々のタンパク質の物理化学的特徴に注目し、それぞれの資料の存在状態に応じた分析方法を用いるので、この問題に十分対処できると考えた。

2. 研究の目的

本研究課題は考古学資料に残存するタンパク質のアミノ酸配列分析とその劣化状況の解析によって当該資料の原料、産地、年代などの特定を行うことを目的としている。自然環境の中でほとんどのタンパク質は急速に分解され、残存することが期待されるタンパク質は動物骨や皮からの加工品である膠のコラーゲン、毛、角などのケラチン、絹のフィブロインなどに限られるが、それらはいずれも古代の文化・文明、技術に深く関わっている。そのため、全世界に分布し国内では入手不可能な旧石器時代にまで遡る考古資料を対象として研究を展開することとした。本研究は、国内外から分析を依頼された東アジアからエジプトに至る古代の遺跡で発掘された動物骨をはじめとする考古遺物中のタンパク質の分析を行い、その結果から考古遺物に関連する古代技術の地域的発展とその伝搬を探ることも目的に含む。

本研究課題が提唱する「タンパク質考古学」では、考古資料に関連する生物情報を得るために、タンパク質のアミノ酸配列解析による種の判定を行う。この研究で用いる質量分析によるアミノ酸配列解析の精度を向上させるためには、ペプチド中で残基質量が同一 (113 Da) であるヒドロキシプロリン (ここでは P*と略す) をロイシンとイソロイシンから区別することが必要となった。そこで P*をはじめセリン (S) やトレオニン (T) のヒドロキシ (OH) 基をホルミル化して質量の変化をもとに残基を特定する方法を開発し、従来の方法では解析が困難であった旧石器時代の動物の歯を対象としてその方法の有効性を実証することとした。

3. 研究の方法

本研究では旧石器時代から西暦 2 世紀頃までの約 2 万年にわたる年代の人骨を含む動物の骨と歯のコラーゲンについて質量分析によるアミノ酸配列解析を行なった (表 1)。保存状態が比較的良好な新石器時代 (現在から約 8 千年前; 8,000 BP と略す) 頃までの骨については、粉末 5 mg から 10 mg を 0.25 mol/L のエチレンジアミンニアンモニウム塩水溶液 200 μ L (pH 8.5) で脱灰処理し、脱塩後 10 μ L のトリプシン水溶液 (0.15 μ g/ μ L 0.1 mol/L 炭酸水素アンモニウム) を加えて消化した。この量の資料でコラーゲンが検出できなかった場合、資料の量を約 100 mg まで増加させた。MALDI-TOF および MALDI-TOF/TOF 質量分析にはマトリックスを α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸として、装置は Axima Performance (島津製作所/Kratos) を使用した。ナノ液体クロマトグラフィー (nanoLC) /ESI-MS/MS には nanoLC (AMR Inc) 装置から逆相 Zaplous カラム (AMR Inc) を介して接続した Finnigan LTQ Linear Ion Trap Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific) を使用した。質量分析用の試料調製と質量分析のより詳細な方法については既に報告した通りである⁽⁶⁾。

本研究で開発したホルミル化の方法は以下の通り。前記のトリプシン消化物の溶液を一度凍結乾燥した後、無水酢酸 50 μ L とギ酸 50 μ L を加え、60°C で 20 分の加熱操作を 2 回繰り返した。反応後は試薬と溶媒を減圧遠心濃縮装置 (SpeedVac, Thermo Fisher) で除き、残渣を 0.1% トリフルオロ酢酸水溶液とアセトニトリルを 9:1 で混合した溶液 (10 μ L) に溶かして質量分析用の溶液を調製した。

また、試料の一部はペプチドの高感度アミノ酸配列解析のため、N 末端アミノ基を *N*-succinimidylloxycarbonylmethyl tris(2,4,6-trimethoxyphenyl)phosphonium bromide (TMPP-Ac-OSu) の 10 mM アセトニトリル溶液 2 μ L をトリプシン消化物に加えて修飾 (TMPP-Ac 化) した。

質量分析の結果は UniProt (<https://www.uniprot.org/uniprot/>) と NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>) に登録されている各種動物のコラーゲンのアミノ酸配列データベースと比較・照合して行った。ESI-MS/MS の結果の一部は自動解析プログラムの Xcalibur (Thermo Fisher Scientific) を用い、すべての解析結果は翻訳後修飾や非特異的な分解を考慮して手動で確認した。そのための質量分析データと I 型コラーゲンの動物別アミノ酸配列の対照プログラムを独自に作成した。

表 1 本研究課題で分析した考古資料と同一した I 型コラーゲンと動物種

考古資料 (出土地)	推定年代 (BP/y) ^a	資料の提供元 ^b	同一した動物種
人骨 (Kierzkowo K3.1, Poland)	1,600	University of Florence	ヒト
骨 (Bulj al Shamali T.01 Site, Lebanon)	1,800	奈良大学	ウシ, ヒト
骨 (Collegno Site C93, Torino, Italy)	6,000	University of Florence	ヒト
人骨 (Tappe Sang-e Cakmaq Site, Iran)	7,000–8,000	筑波大学	ヒト
動物骨 (Göytepe Site, Azerbaijan)	8,000	東京大学総合研究博物館, 名古屋大学博物館	ヤギ, ヒツジ
動物骨 (Hacı Elamxanlı Tepe Site, Azerbaijan)	8,000	東京大学総合研究博物館, 名古屋大学博物館	ヤギ, ヒツジ
動物の歯 (Tor Hamar Site, Jebel Qalkha, Jordan)	18,000–23,000	東京大学総合研究博物館, 名古屋大学博物館	ウシ, ヒツジ など (分析中)
サイ (?) の骨 (Olivola, Tuscany, Italy)	(中期更新世)	University of Florence	ウシ (未確定)

a 現在の年数 (BP/y = Before present/year)

b 資料の提供元と共同研究者: University of Florence: Anna Maria Papini 教授; 奈良大学: 西山要一名誉教授; 筑波大学: 常木晃教授, 谷口陽子准教授; 東京大学総合研究博物館: 西秋良宏教授; 名古屋大学博物館: 門脇誠二講師.

4. 研究成果

(1) 新石器時代のヤギとヒツジのアミノ酸配列解析による種の同定

骨や皮などの動物組織に存在する I 型コラーゲンはそれぞれグリシン (Gly) が 2 残基ごとに現れる (Gly-Xxx-Yyy)_n の配列で約 1,000 残基 (n \approx 330) ものアミノ酸が連なった二本の α 1 鎖と一本の α 2 鎖からなる特徴的な三本鎖構造をとる。全体で 2,000 残基にも及ぶ I 型コラーゲンのアミノ酸配列の中で、ヤギとヒツジの違いはわずか 4 残基に過ぎない。Buckley ら⁽⁷⁾はこのうち 2 残基を含むペプチド (表 2 に示す α 2 鎖の 934-966 残基に相当) を発見しているが、経年劣化による分解を考慮すると新石器時代の動物骨でこのペプチドの検出は困難であると予想された。しかし、表 2 に示すように、結果的には Göytepe および Hacı Elamxanlı Tepe から発掘された動物骨に関する一連の分析の結果、ヤギとヒツジで異なる 4 残基すべてが確認できた。これらの 4 残基のうちの一つで、質量が 1450 Da のペプチドの N 末端アラニン (A918) 残基はヒツジのコラーゲンに特異的で、ヤギのコラーゲンでは A918 がプロリン (P) に変わっているため、消化に用いるトリプシンでアルギニン (R) と P の間のペプチド結合が切断されず、表 2 に示す質量 2218 Da のペプチドが検出される結果となった。しかし、ヤギを含めてほとんどの動物に共通するこのペプチドは、ヒツジの可能性を除外するには役立つが、他の動物と区別するには他のペプチドの配列情報も考慮しなければならない。

表 2 ヤギとヒツジで異なる I 型コラーゲンのトリプシン消化ペプチドとそのアミノ酸配列

ESI-MS (<i>m/z</i>)	質量 (Da)	アミノ酸配列 ^a	鎖 (残基) 動物種 ^b
1154.5	2308	GDAGP*PGPAGPAGPP*GPIGDVGAP*GPK	α 1 (835-861) <i>Ovis</i>
1109.4	2218	GETGPAGRP*GEVGP*GP*P*GPAGEK	α 1 (910-933) <i>Capra</i>
724.8	1450	(GETGPAGR)AGEVGP*GP*PGPAGEK	α 1 (918-933) <i>Ovis</i>
1517.6	3034	GPSGEPGTAGPPGTPGPEGLLGAPLLGLAGSR	α 2 (934-966) <i>Ovis</i>
1547.8	3094	GPSGEPGTAGPPGTPGPEGLLGAPGFLGLPGSR	α 2 (934-966) <i>Capra</i>

a ヤギとヒツジで異なるアミノ酸残基を赤字で示す。E はグルタミン酸、D はアスパラギン酸でそれぞれ Q (グルタミン) と N (アスパラギン) の脱アミド化により生じる。

b *Capra* は学名 *Capra hircus* からヤギを、*Ovis* は学名 *Ovis aries* からヒツジを意味する。

このようにして複数のペプチドの比較・対照によるヒツジとヤギの区別が可能になった。これらのマーカーを元にアゼルバイジャンの動物骨資料すべての分析結果を検討した結果、全部で30のうち2つの検体でヒツジとヤギ両方の特徴を兼ね備えたスペクトルを示した。この特徴を示すスペクトルが検体の異なる部分から抽出した試料でも観測されたことから、資料の骨はヤギとヒツジの自然交配によって極めて稀に生まれるキメラ (“geep”と呼ばれることがある)であると判断した。なぜ古代のアゼルバイジャンでヤギとヒツジの自然交配が起こり得たのかは不明であるが、少なくとも狭い地域で多数のヤギとヒツジが密集して飼育されていたと考えてよいであろう。このように、実例が少なく形態観察もDNAの塩基配列も困難なキメラの確認にはアミノ酸配列解析が極めて有効であることをこの結果が示している。

(2) コラーゲンの三重鎖構造の熱安定性と考古学的寿命

旧石器時代の動物種が不明の歯から抽出したコラーゲンは、得られたトリプシン消化ペプチドの数が少なく、解析できたアミノ酸配列も動物種を確定するには不十分であった。このことは資料中のコラーゲンが約2万年にわたる経年劣化の結果、ほとんどが分解して失われたためと考えられる。それにもかかわらず検体 JQ16-T15 (図1) では複数のペプチドの配列からヤギのコラーゲンと判定することができた。本研究では、JQ16-T15の試料のみをホルミル化することで nanoLC 装置内での汚染の可能性を排除するとともに、より確実な配列解析を可能にした⁽⁸⁾。これらの配列を含むコラーゲンの経年劣化に伴って検出されるペプチドの変化とその傾向を、年代や動物種が異なる資料について調査した結果の概要を図1に示す。

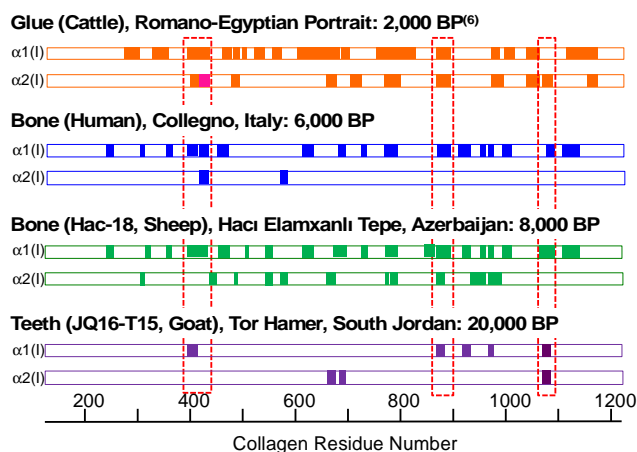


図1 質量分析により検出したペプチドのI型コラーゲン $\alpha 1$ および $\alpha 2$ 鎖上の分布。すべての考古資料で共通して検出されたペプチドが存在する領域を赤の点線で囲った。

I型コラーゲンの熱安定性は3本のポリペプチド鎖が絡まり合った特異な三重鎖構造をもとに理解されている。1万年以上前の考古資料中に残存するタンパク質のほとんどすべてが骨や歯などを構成するコラーゲンであることは、この三重鎖構造が経年劣化に対する抵抗性の高さの大きな要因になっていることは明らかである。図1の結果は、繊維状のコラーゲン分子が一緒に分解して消失するのではなく、三重鎖構造の中で不安定なドメインの立体構造が徐々に崩れて内部に埋もれていたペプチド結合が分子表面に露出し、その部分が通常タンパク質と同様に分解されて最後に数カ所の安定なドメインが断片として残ることを示している。すなわち、コラーゲンは分子全体ではなく、ドメインごとに考古学的な寿命が決まると考えられる。また、図1が示すように、動物種や存在状態の違いにもかかわらず少数のドメインが共通して保存され、各ドメインは同時に検出される傾向が見られる $\alpha 1$ 鎖と $\alpha 2$ 鎖からなるため、三重鎖が残存している可能性がある。現在、研究分担者の大阪大学・小林教授と河原助教、海外共同研究者のPapini教授とこの領域の配列を持つペプチドを合成し、三重鎖構造形成能を解析中である。

参考文献

1. 遠藤一佳 (1991) 分子古生物学の現状と展望. *Fossils* **51**, 24-45.
2. Buckley, M., Collins, M., Thomas-Oaies, J., Wilson, J. C. (2009) Species identification by analysis of bone collagen using matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **23**, 3843-3854.
3. Griffin, R. C., Moody, H., Penkman, K. E. H. et al. (2008) A new approach to amino acid racemization in enamel: testing of a less destructive sampling technology. *J. Forensic Sci.* **53**, 910-916.
4. Schweitzer, M. H., Zheng, W., Organ, C. L., Avci, R. et al. (2009) Biomolecular characterization and protein sequences of the Campanian hadrosaur *B. canadensis*. *Science* **324**, 626-631.
5. Buckley, M., Warwood, S. et al. (2017) A fossil protein chimera; difficulties in discriminating dinosaur peptide sequences from modern cross-contamination? *Proc. R. Soc. B* **284**: 201705454.
6. Mazurek, J., Svoboda, M. et al. (2014) Characterization of binding media in Egyptian Romano painting using enzyme-linked immunosorbent assay and mass spectrometry. *e-Preserv. Sci.* **11**, 76-83.
7. Buckley, M., Kansa, S. W., Howard, S. et al. (2010) Distinguishing between archaeological sheep and goat bones using a single collagen peptide. *J. Archaeol. Sci.*, **37**, 13-20.
8. 中沢 隆 (2018) タンパク質の質量分析と考古学. *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* **66**, 214-217.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Miyahara Yuya, Shintani Koya, Hayashihara-Kakuhou Kayoko, Zukawa Takehiro, Morita Yukihiro, Nakazawa Takashi, Yoshida Takuya, Ohkubo Tadayasu, Uchiyama Susumu	4. 巻 10
2. 論文標題 Effect of UVC irradiation on the oxidation of histidine in monoclonal antibodies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-020-63078-5	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 -
1. 著者名 Kawahara Kazuki, Yoshida Takuya, Maruno Takahiro, Oki Hiroya, Ohkubo Tadayasu, Koide Takaki, Kobayashi Yuji	4. 巻 117
2. 論文標題 Spatiotemporal regulation of PEDF signaling by type I collagen remodeling	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 11450 - 11458
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2004034117	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 -
1. 著者名 Yang Zheng, Shimamoto Shigeru, Maruno Takahiro, Kobayashi Yuji, Matsuura Yoshiharu, Kawahara Kazuki, Yoshida Takuya, Ohkubo Tadayasu	4. 巻 509
2. 論文標題 N-Terminal HCV core protein fragment decreases 20S proteasome activity in the presence of PA28g	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 590-595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.12.167	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 -
1. 著者名 中沢 隆	4. 巻 66
2. 論文標題 タンパク質の質量分析と考古学	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.	6. 最初と最後の頁 214-217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5702/massspec.S18-43	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 佐藤 暖, 中沢 隆, 原田繁春	4. 巻 90
2. 論文標題 ピリドキサル酵素はシグマトロピーの場を提供する –メチオニン分解酵素の反応機構	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 121-137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2018.900791	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 -

1. 著者名 Okii Hiroya, Kawahara Kazuki, Maruno Takahiro, Imai Tomoya, Muroga Yuki, Fukakusa Shunsuke, Iwashita Takaki, Kobayashi Yuji, Matsuda Shigeaki, Kodama Toshio, Iida Tetsuya, Yoshida Takuya, Ohkubo Tadayasu, Nakamura Shota	4. 巻 115
2. 論文標題 Interplay of a secreted protein with type IVb pilus for efficient enterotoxigenic Escherichia coli colonization	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	6. 最初と最後の頁 7422-7427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1805671115	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 -

1. 著者名 Mikata Yuji, Ohnishi Risa, Nishijima Risa, Matsumoto Arimasa, Konno Hideo	4. 巻 57
2. 論文標題 Pyrophosphate-induced intramolecular excimer formation in dinucleoComplexes with tetrakisquinoline ligands	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Inorg. Chem.	6. 最初と最後の頁 7724-7734
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.8b00726	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mikata Yuji, Kaneda Minori, Konno Hideo, Matsumoto Arimasa, Sato Shin-ichiro, Kawamura Masaya, Iwatsuki Satoshi	4. 巻 48
2. 論文標題 Methoxy-substituted tetrakisquinoline analogs of EGTA and BAPTA for fluorescence detection of Cd ²⁺	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dalton Trans.	6. 最初と最後の頁 3840-3852
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8DT04735A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Dan, Shiba Tomoo, Karaki Tsuyoshi, Yamagata Wataru, Nozaki Tomoyoshi, Nakazawa Takashi, Harada Shigeharu	4. 巻 7
2. 論文標題 X-Ray snapshots of a pyridoxal enzyme: a catalytic mechanism involving concerted [1,5]-hydrogen sigmatropy in methionine -lyase	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-05032-6	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 -

1. 著者名 中沢 隆	4. 巻 708
2. 論文標題 旧石器時代の動物骨に関するタンパク質考古学的研究	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 考古学ジャーナル	6. 最初と最後の頁 35-38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mikata Yuji, Kizu Asako, Nozaki Kana, Konno Hideo, Ono Hiroshi, Mizutani Shunsuke, Sato Shin-ichiro	4. 巻 56
2. 論文標題 TQOPEN (N,N,N',N' -tetrakis(2-quinolylmethyl)-3-oxa-1,5-pentanediamine) family as heptadentate fluorescent Cd ²⁺ sensors	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 7404-7415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.7b00560	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamane-Koshizawa Daisuke, Fujii Sotaro, Maruno Takahiro, Kobayashi Yuji, Yamanaka Masaru, Wakai Satoshi, Sambongi Yoshihiro	4. 巻 82
2. 論文標題 Stabilization of mesophilic <i>Allochromatium vinosum</i> cytochrome c through specific mutations modeled by a thermophilic homologue	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 304 ~ 311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2017.1419856	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中沢 隆	4. 巻 9
2. 論文標題 カイコガの種で見る日本の古代養蚕史	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 古代学	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Mikata Yuji, Ohnishi Risa, Ugai Anna, Konno Hideo, Nakata Yasushi, Hamagami Ikuko, Sato Shin-ichiro	4. 巻 45
2. 論文標題 Off-on-off fluorescent response of N,N,N',N'-tetrakis(1-isoquinolylmethyl)-2-hydroxy-1,3-propanediamine (1-isoHTQHPN) toward Zn ²⁺	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Dalton Transaction (Royal Society)	6. 最初と最後の頁 7250-7257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C6DT00506C	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mikata Yuji, Ohnishi Risa, Nishijima Risa, Konno Hideo	4. 巻 55
2. 論文標題 Fluorescent detection of phosphate ion via a tetranuclear zinc complex supported by tetrakisquinoline ligand and mu-4-P04 core	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Inorg. Chem.	6. 最初と最後の頁 11440-11446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.6b01967	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Nakazawa Takashi, Osawa Momoko, Matsuo Kana, Inuzuka Mako, Ito Yuki, Kawahara Kazuki, Naito Yuichi, Kadowaki Seiji, Nishiaki Yoshihiro
2. 発表標題 Identification of animal species by mass spectrometry of collagen extracted from Neolithic and Paleolithic bones and teeth
3. 学会等名 67th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大澤桃子, 松尾佳奈, 津川加奈, 門脇誠二, 西秋良宏, 中沢 隆
2. 発表標題 南ヨルダンのTor Hamar遺跡で出土した旧石器時代の動物の歯から抽出したコラーゲンの質量分析
3. 学会等名 日本生化学会第92回大会 (パシフィコ横浜)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大澤桃子, 松尾佳奈, 津川加奈, 門脇誠二, 西秋良宏, 中沢 隆
2. 発表標題 南ヨルダンのTor Hamar遺跡で出土した旧石器時代の動物の歯から抽出したコラーゲンの質量分析
3. 学会等名 日本生化学会第92回大会 (パシフィコ横浜)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 犬塚ま子, 伊藤優貴, 苅野茉央, 山田里奈, 藪中 遥, 門脇誠二, 西秋良宏, 中沢 隆
2. 発表標題 質量分析による新石器時代の動物骨中のアミノ酸配列解析と動物種の同定
3. 学会等名 日本生化学会第92回大会 (パシフィコ横浜)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sasakura Eri, Nakazawa Takashi, Ishibashi Yui, Nakano Saki, Hashimoto Mayuko
2. 発表標題 Isolation of C-Terminal Peptide by Capturing Asparagine Peptides with Polyethyleneimine
3. 学会等名 日本生化学会第92回大会 (パシフィコ横浜)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中沢 隆, 大澤桃子, 門脇誠二, 西秋良宏
2. 発表標題 新・旧石器時代の動物遺体に含まれるコラーゲンの質量分析のための新規化学処理法
3. 学会等名 パレオアジア第8回研究大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naito Yuichi, Belmaker Miriam, Bocherens Herve, Nakazawa Takashi, Osawa Momoko, Wissing Christoph, Kadowaki Seiji
2. 発表標題 Gazelle hunting activities around Tor Hamar rock-shelter in Jordan viewed from carbon and oxygen isotope composition of tooth enamel and ZooMS.
3. 学会等名 International Symposium on Paleoanthropology, Beijing, China (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakazawa Takashi, Karino Mao, Arai Saiji, Ohnishi Keiko, Kawahara Kazuki, Taniguchi Yoko, Tsuneki Akira, Kadowaki Seiji, Nishiaki Yoshihiro
2. 発表標題 Mass spectrometry of collagen preserved in Neolithic animal bones for the identification of species
3. 学会等名 66th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakazawa Takashi, Osawa Momoko, Matsuo Kana, Inuzuka Mako, Ito Yuki, Kadowaki Seiji, Nishiaki Yoshihiro
2. 発表標題 Identification of animal species by mass spectrometry of collagen preserved in Neolithic and Paleolithic bone specimens
3. 学会等名 PaleoAsia2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kobayashi Yuji, Kawahara Kazuki, Nakazawa Takashi
2. 発表標題 Peptide segments of type I collagen preferably preserved in archaeological bones and animal glues
3. 学会等名 35th European Peptide Symposium (Dublin, Ireland) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中沢 隆, 石橋由依, 笹倉瑛里, 田中美帆
2. 発表標題 ポリアミン類によるAsn-X結合の特異的切断反応を用いたタンパク質のC末端ペプチド の分離法
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Inuzuka Mako, Ito Yuki, Osawa Momoko, Matsuo Kana, Karino Mao, Kadowaki Seiji, Nishiaki Yoshihiro, Nakazawa Takashi
2. 発表標題 Amino acid sequencing of collagen extracted from archaeological samples for the identification of animal species by mass spectrometry
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中沢 隆
2. 発表標題 アゼルバイジャンから出土した新石器時代のヤギおよびヒツジの骨に含まれるコラーゲンの質量分析
3. 学会等名 パレオアジア第6回研究大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中沢 隆
2. 発表標題 動物骨および皮革など考古学資料から抽出したコラーゲンの質量分析による動物種の同定
3. 学会等名 パレオアジア第5回研究大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Karino Mao, Kawahara Kazuki, Kadowaki Seiji, Taniguchi Yoko, Tsuneki Akira, Moini Mehdi, Nakazawa Takashi
2. 発表標題 Characterization of degradation profile of collagen in archaeological specimens by mass spectrometry
3. 学会等名 64th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Nakazawa
2. 発表標題 Characterization of degradation profile of collagen in archaeological bone specimens
3. 学会等名 64th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中沢 隆、苅野茉央
2. 発表標題 2,000年から40,000年前の動物骨に含まれているコラーゲンのタンパク質考古学的研究
3. 学会等名 文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究2016-2020：パレオアジア文化史学第3回研究大会』
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中沢 隆
2. 発表標題 経年劣化した動物骨に残存するコラーゲンの質量分析による動物種の特定
3. 学会等名 文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究2016-2020：パレオアジア文化史学第4回研究大会』
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Karino Mao, Ito Yuki, Inuzuka Mao, Kadowaki Seiji, Nishiaki Yoshihiro, Nakazawa Takashi
2. 発表標題 Mass spectrometry of collagen in 8,000-year-old animal bones to characterize deterioration
3. 学会等名 ConBio2017 (Consortium of Biological Sciences 2017) 90th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakazawa Takashi, Kawahara Kazuki, Fukakusa Shunsuke, Karino Mao, Takashima Miho, Taniguchi Yoko
2. 発表標題 Mass spectrometry of collagen and casein in the remains of the 5th to 7th century Bamiyan Buddhas
3. 学会等名 64th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Takashi Nakazawa
2. 発表標題 How Collagen Molecules Get Older?
3. 学会等名 Workshop in the 64th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 中野沙紀, 田中裕夏, 高梨美咲, 中沢 隆
2. 発表標題 アミン系求核試薬によるタンパク質のペプチド結合の限定的切断
3. 学会等名 第89回日本生化学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 苅野茉央, 西山要一, 中沢 隆
2. 発表標題 質量分析による古代遺跡から出土した ヒト骨コラーゲンの非酵素的経年劣化の解析
3. 学会等名 第89回日本生化学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Karino Mao, Kawahara Kazuki, Kadowaki Seiji, Taniguchi Yoko, Tsuneki Akira, Moini Mehdi, Nakazawa Takashi
2. 発表標題 Characterization of degradation profile of collagen in archaeological specimens by mass spectrometry
3. 学会等名 65th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Mikata Yuji	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Wiley	5. 総ページ数 234
3. 書名 Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry	

〔産業財産権〕

[その他]

Analysis of the archaeological specimens
<https://doi.org/10.21820/23987073.2018.8.69>
researchmap (中沢 隆)
<https://researchmap.jp/read0015357>

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	三方 裕司 (Mikata Yuji) (10252826)	奈良女子大学・自然科学系・教授 (14602)	
研究分担者	小林 祐次 (Kobayashi Yuji) (20127228)	大阪大学・工学研究科 ・招へい教授 (14401)	
研究分担者	河原 一樹 (Kawahara Kazuki) (60585058)	大阪大学・薬学研究科・助教 (14401)	
研究分担者	鈴木 孝仁 (Suzuki Takahito) (60144135)	奈良女子大学・なし・名誉教授 (14602)	