

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K00996

研究課題名（和文）古ゲノム分析による日本列島の穀物利用史の解明

研究課題名（英文）Ancient genomics study on histories of crop species utilization in Japanese Archipelago

研究代表者

熊谷 真彦（Kumagai, Masahiko）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・高度分析研究センター・主任研究員

研究者番号：80738716

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、歯石ゲノムを対象とした新規分析法を開発することにより、日本列島人の穀物利用の歴史の解明に取り組んだ。まず人骨試料からのサンプリングによる広範な古代歯石コレクションの構築を行った。これら試料からのDNAを抽出と次世代シーケンサーをもちいたゲノム解析のための技術開発をおこなった。DNAメタバーコーディング法による網羅的な食性の解明のための、精緻な情報解析手法を開発し、歯石試料への適用により古代の人びとの食性情報の取得に成功した。また、これまで困難であったイネ科の穀類を分類可能なマーカーを独自開発しイネ科雑穀の同定に成功するなど、歯石DNAの分析による食性研究を大きく前進させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

古代の人びとの生活を知ることは、人類学や考古学の根幹をなす興味であり、さまざまな手法がもちいられてきた。我々は近年注目されはじめた歯石DNAの解析手法を開発し、日本列島の古代の人びとの食性の歴史を明らかにするための基盤を構築した。特に考古遺物として残りにくい植物性の摂食物に着目し新しい知見を得た。作物や野生植物の利用は環境条件や農工技術と共に時代とともに変化してきたはずであり、これらを知ることはこれからの我々の環境変動への適応やレジリエントな社会とは何かを考える上でも役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the history of grain utilization among the people of the Japanese archipelago by developing a novel analysis method targeting the calculus genome. First, we constructed an extensive ancient calculus collection through sampling from human skeletal remains. We developed techniques for DNA extraction from these samples and genomic analysis using next-generation sequencing. To comprehensively elucidate dietary habits through DNA metabarcoding, we developed a detailed information analysis method and successfully obtained dietary information of ancient people by applying it to calculus samples. Additionally, we developed markers capable of classifying previously challenging Poaceae grains and successfully identified Poaceae millet. Through these efforts, we made significant advances in dietary research using calculus genomes.

研究分野：分子人類学

キーワード：歯石 クス 食性 古代DNA DNAメタバーコーディング イネ 雑穀 Amplicon seq バイオインフォマティクス

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。

1. 研究開始当初の背景

古代より日本列島では様々な植物種を利用してきたが、とりわけイネ、アワ、キビ、ヒエ、ムギ、豆類といった穀物は栄養源として、あるいは人類集団間の交流を理解する上での重要な要素であるといえる。遺跡からの遺物の検出方法の向上により様々な情報が得られてきたが、歯石や糞石の DNA 分析により摂食物を同定する取り組みが注目を集めている。とくに従来の方法で遺物として残存しづらい植物種の検出には大きく貢献することが期待される。

マーカー遺伝子の PCR アンプリコンを次世代シーケンサーにより解読する DNA メタバーコーディングは様々な種を網羅的に検出することが可能である。本手法を古代歯石 DNA に適用するための実験方法および情報解析手法には検討の余地が大きく、これらの開発と検証が必要であった。また、配列の類似性により既存のマーカーでの DNA メタバーコーディングでは分類することができない種を分類するためには、独自のマーカー開発が必要であった。これらの技術開発ならびに、歯石サンプルを広範に収集することも必要であった。

2. 研究の目的

日本列島における縄文時代から江戸時代にかけての人びとの食性の解明ならびに、穀類そのものの遺伝的な変遷を明らかにすることで、1 万年以上にわたる日本列島人の摂食物および穀物利用の歴史を詳細に明らかにすることが研究の最終目標である。そのために、歯石サンプルの収集、歯石の DNA メタバーコーディング解析手法の確立といった基盤の構築、さらに歯石からの穀物古代ゲノム解析の検討を行うことを本研究では目指す。

3. 研究の方法

(1) 人骨試料からの歯石サンプルの収集

日本列島のさまざまな時代や地理的な位置の遺跡から出土した人骨試料から歯石を収集し、広範な時代と地域をカバーする大規模なコレクションを構築した。

(2) 歯石 DNA メタバーコーディングのための情報解析手法の開発

従来からマーカーとして用いられている葉緑体 *trnL* 遺伝子について、アンプリコンシーケンシングを行ったデータから、摂食物候補を推定する情報解析におけるパラメータやデータ可視化法の検討を行いパイプライン化した。

(3) 日本列島の歯石試料のメタバーコーディング解析

収集した歯石サンプルについて、(2)で開発した *trnL* 遺伝子の DNA メタバーコーディングパイプラインを適用して解析を実施した。

(4) イネ科の雑穀を分類するためのマーカーの開発

イネ科の穀物種の葉緑体ゲノム情報を取得し比較解析を行うことで配列多様性を評価し、特定の種を分類可能なマーカーを開発した。古代歯石試料への実験的な適用を行った。

4. 研究成果

古代歯石のサンプリングを3年間に渡り実施し、縄文時代～江戸時代のすべての時代区分の試料を収集することができた。また、地理的に濃淡はあるものの日本列島を広くカバーした。試料の収集にあたっては、人骨が報告書化されているか等も確認しつつ行い、確たる来歴情報が得られている試料も多く得られ学術的に価値のあるコレクションが構築できた。

trnL 遺伝子 g-h 領域をマーカーとする DNA メタバーコーディング解析は独自の手法を開発し、ポジティブコントロールデータや現代データでの検討を詳細に行いながらパラメータの決定を行った。PCR や次世代シーケンサーでの解読によって生じるエラーなども検討し、解像度を最大限に上げるような解析手順と条件を見出すことができた。主な結果として、通常のメタバーコーディング解析では、ノイズ除去の際に配列の相同性が 97%といった基準で

のクラスタリングを行うことが多いが、*trnL* 遺伝子 g-h 領域は 70bp 程度までの短い配列をペア read で両方向から二重に解読できているため、100%一致の条件での解析が可能であった。実際の歯石実験データにおいても確認された。これにより、解像度を最大限に高めた設定で信頼性のあるデータを得られることが判った。また、次世代シーケンサーにより出力される数万から数十万以上の大規模な配列データを、数十万の参照データに対して照合する処理を高速に行うようなスキームを構築しパイプライン化した。今後本パイプラインを一般利用できるように論文化とともに公開予定である。

開発したパイプラインを用いて、57 個体の古代歯石の *trnL* での DNA メタバーコーディング解析を実施した。各試料のアンプリコンシーケンシングにより数十万ほどのリードを得て *trnL* データベースに照合し、摂食した植物リストを得た。時代および個体ごとに多様な種を含んでおり、主食として利用されたコメやクリなど堅果類から、少量の摂食量が想定される種まで様々検出された。この中には目論見どおり、遺跡に遺物として残りにくいであろうと想定された葉物野菜などが検出された。また課題として上がった点として、墓地からの出土個体などに、非食性の植物の検出があり、これらの中には墓地によく植えられている植物がみられたことがある。埋葬後の土壤に多量に含まれている特定種の DNA があった場合には、それらが混入する可能性があるため、それを念頭に置きながら結果を解釈する必要がある。しかしながら、ある程度の属レベルまでの絞り込みが可能であり、食物種との判別はできるため、これらの混同をことさらに危険視する必要はないものとする。

イネ科のイネ、アワ、キビ、ヒエは日本列島で利用された穀物としていずれも重要なものであるが、例えばキビとアワは *trnL* 遺伝子の h-g 領域の配列は同一であり、イネのジャポニカとインディカも同じ配列を持つ。そこで、これらのイネ科の種や品種群を分類可能な多型サイトを含む領域を葉緑体ゲノムデータの比較解析により探索し見出した。この領域はマーカーとして使えるので、ユニバーサルなプライマーを設計し実際の歯石試料に適用したところ、良好な PCR 増幅産物がえられ、アンプリコンシーケンシングの結果、狙い通りに種の分類が可能であった。

以上のように、本研究では精力的なサンプリングにより、日本列島の幅広い時代と地理をカバーする大規模な歯石コレクションを構築できた。*trnL* 遺伝子領域を対象とした DNA メタバーコーディング解析の手法を確立しパイプライン化すると共に、実際の多数の歯石試料についてデータを得ることに成功した。さらに特定の種に着目して種同定に有効なマーカーの開発と適用を確認することができた。これにより今後の歯石や糞石といった試料のゲノムを活用した摂食物の同定のための基盤となる研究成果を得ることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 熊谷 真彦、坂井 寛章	4. 巻 2023
2. 論文標題 大規模ゲノム情報を活かすプラットフォームTASUKE の開発と活用の現状	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 農研機構研究報告	6. 最初と最後の頁 89～97
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.34503/naroj.2023.13_89	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 Nishimura Luca, Tanino Akio, Ajimoto Mayumi, Katsumura Takafumi, Ogawa Motoyuki, Koganebuchi Kae, Waku Daisuke, Kumagai Masahiko, Sugimoto Ryota, Nakaoka Hirofumi, Oota Hiroki, Inoue Ituro	4. 巻 19
2. 論文標題 Metagenomic analyses of 7000 to 5500 years old coprolites excavated from the Torihama shell-mound site in the Japanese archipelago	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0295924
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0295924	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 Mizuno Fuzuki, Tokanai Fuyuki, Kumagai Masahiko, Ishiya Koji, Sugiyama Saburo, Hayashi Michiko, Kurosaki Kunihiko, Ueda Shintaroh	4. 巻 50
2. 論文標題 Bioarchaeological study of ancient Teotihuacans based on complete mitochondrial genome sequences and diet isotopes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Annals of Human Biology	6. 最初と最後の頁 390～398
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/03014460.2023.2261844	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 熊谷真彦	4. 巻 -
2. 論文標題 植物遺物の古 DNA・古ゲノミクス研究	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 東アジア考古科学の新展開	6. 最初と最後の頁 -
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 熊谷真彦、水野文月、王瀝	4. 巻 -
2. 論文標題 田螺山遺跡出土のチャノキとみられる遺物の DNA 分析にむけて	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日中共同研究成果報告書 動物・植物・鉱物から探る古代中国	6. 最初と最後の頁 -
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 該当する

[学会発表] 計14件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 熊谷真彦、谷野彰勇、若林賢、塩野貴之、高木世里、片岡新、鵜野愛美、稲田健一、鯨本真友美、和久大介、覚張隆史、澤藤りかい、小金 測佳江、勝村啓史、小川元之、米田穰、太田博樹
2. 発表標題 縄文糞石のDNAメタバーコーディングによる植物性摂食物の同定
3. 学会等名 日本人類学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤木雅、小金測佳江、渡部裕介、澤藤りかい、石田貴文、熊谷真彦、太田博樹
2. 発表標題 糞石からの古代摂食物の同定を目指した DNA キャプチャー・シーケンシング法の検討
3. 学会等名 日本人類学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 熊谷 真彦、坂井 寛章
2. 発表標題 ヤポネシアにおけるイネ受容の歴史をゲノム情報から探る
3. 学会等名 日本遺伝学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 熊谷 真彦
2. 発表標題 ヤボネシアにおけるイネ受容の歴史をゲノム情報から探る
3. 学会等名 日本進化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片岡新、谷野彰勇、小金淵佳江、渡部裕介、鱒本真由美、熊谷真彦、勝村啓史、小川元之、太田博樹
2. 発表標題 古代土壌ゲノム解析にむけたDNA精製・濃縮法の開発
3. 学会等名 日本人類学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masahiko Kumagai, Norio Tabei, Yoshihiro Kawahara, Hiroaki Sakai and Takeshi Itoh,
2. 発表標題 TASUKE+: A Web-Based Platform for Visualizing Large-Scale Resequencing Data and GWAS
3. 学会等名 Plant and Animal Genomes 30 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masahiko Kumagai
2. 発表標題 Genomics studies on Asian and African rice
3. 学会等名 Studies in Asian and African Geolinguistics 4th meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 熊谷 真彦
2. 発表標題 メタゲノム解析の基礎
3. 学会等名 第231回農林交流センターワークショップ「次世代シーケンサーのデータ解析技術」
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masahiko Kumagai
2. 発表標題 Genomics studies on Oryza species
3. 学会等名 The 4th meeting of Studies in Asian and African Geolinguistics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 熊谷真彦、谷野彰勇、若林賢、塩野貴之、高木世里、片岡新、鶴野愛美、稲田健一、鯨本真友美、和久大介、覚張隆史、澤藤りかい、小金 淵佳江、勝村啓史、小川元之、米田稯、太田博樹
2. 発表標題 縄文糞石のDNAメタバーコーディングによる植物性摂食物の同定
3. 学会等名 第38回日本植生史学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 水野 文月、門叶 冬樹、熊谷 真彦、石谷 孔司、林 美千子、杉山 三郎、植田 信太郎、黒崎 久仁彦
2. 発表標題 古代メキシコ、テオティワカン遺跡出土古人骨をもちいた科学分析
3. 学会等名 日本DNA多型学会第32回学術
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masahiko Kumagai, Norio Tabei, Yoshihiro Kawahara, Hiroaki Sakai, Takeshi Itoh
2. 発表標題 TASUKE+: A Web-Based Platform for Visualizing Large-Scale Resequencing Data and GWAS Results
3. 学会等名 Plant and Animal Genomes 31 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 藤木 雅、小金淵 佳江、渡部 裕介、澤藤 りかい、村野 由佳利、鯨本 眞友美、石田 貴文、熊谷 真彦、太田 博樹
2. 発表標題 縄文人の摂食物同定のためのターゲットキャプチャー法を用いた糞石ゲノム解析
3. 学会等名 第77回日本人類学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小金淵 佳江、所谷 敬司、熊谷 真彦、勝村 啓史、梅崎 昌裕、太田 博樹
2. 発表標題 南太平洋ヒト集団を対象とした糞便DNAメタバーコーディングによる植物性摂食物同定
3. 学会等名 第77回日本人類学会大会
4. 発表年 2023年

〔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	植田 信太郎 (Ueda Shintaroh) (20143357)	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・名誉教授 (12601)	

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	水野 文月 (Mizuno Fuzuki) (50735496)	東邦大学・医学部・講師 (32661)	
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・主任 研究員 (82626)	

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