

縄文時代後期に埋没したスギのDNA分析

森林遺伝研究領域 ゲノム解析研究室
島根県環境生活部

谷 尚樹、津村 義彦
佐藤 仁志

背景と目的

近年、DNA 考古学が注目を集めています。これは古い地層に埋もれた生物材料から、古代の生物の進化や種の系譜、または当時の生物の種類数や植生などを研究する分野です。樹木においても、これまでに多くの化石または大型遺体が出土しています。1982 年に島根県で発見された三瓶小豆原埋没林は、およそ 3500 年から 3700 年前の三瓶火山の最後の大規模な噴火活動による火砕流によって埋没したと考えられています。発掘調査では、スギを始め多くの樹木が出土しましたが、その材の保存の良さも明らかになりました（写真 1）。そこで、この埋没林のスギから DNA を取り出し、現存するスギ天然林の遺伝的多様性と比較してみました。

成 果

DNAの抽出法

発掘されたスギ埋没木から保存状態の良い心材部分を削り、おがくず状になった木片を氷点下約 196℃の液体窒素中でパウダー状になるまですり潰し、DNA の抽出を行いました。その結果、9本の埋没木のうち7本から DNA を単離することができました（図 1）。

回収されたDNAの状態

回収された DNA を電気泳動法で分離すると、大量に回収できた DNA でも激しく壊れているもの、また、DNA 量が非常に微量のため検出できないものもありました（図 2）。そこで、埋没スギの微量な DNA を用いて、特定の 17 遺伝子の領域をポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法で何万倍にも増幅することを試みました。

DNA塩基配列の解読

その結果、増幅に成功した 5 遺伝子のうち 1 遺伝子（GapC）においてのみ埋没スギ個体間に DNA の塩基配列の違いを検出することができました（図 3）。この GapC 遺伝子を用いて、埋没スギ集団および近隣の現存のスギ天然林集団の DNA 変異の大きさを解

析し、時代の異なるこれら 2 集団間の差異を明らかにすることで、埋没スギ林の遺伝的特性を検討しました。

DNA分析結果

DNA 変異の大きさは現存の天然林よりも低い値を示しましたが、このことは、埋没林の発掘現場がごく狭い範囲に限られたので、発掘されたスギが親子兄弟等の近縁関係にある少数個体である可能性を反映したものと考えられます。また、分子進化理論に基づく解析では、埋没スギの DNA 変異は進化系統樹の分岐中心部に位置し、現存する天然林の祖先的な集団であることを示唆しました。一方で、現存の天然林から検出された DNA 変異には、他の集団や近代の人工林などから流入した変異、すなわち、新たな外来の DNA 変異を含むと考えられます。

今回、古代の植物遺体から核の遺伝子の PCR 増幅に初めて成功しました。また、スギゲノムデータベースを用いて、埋没スギから回収された DNA の遺伝子の塩基配列を比較することにより、埋没スギの遺伝変異の大きさや現存するスギ天然林との遺伝的違いを明らかにすることができました。



写真1 発掘された三瓶小豆原埋没林のスギ

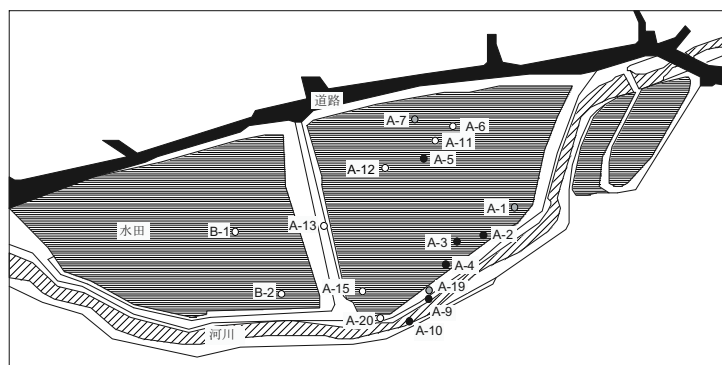
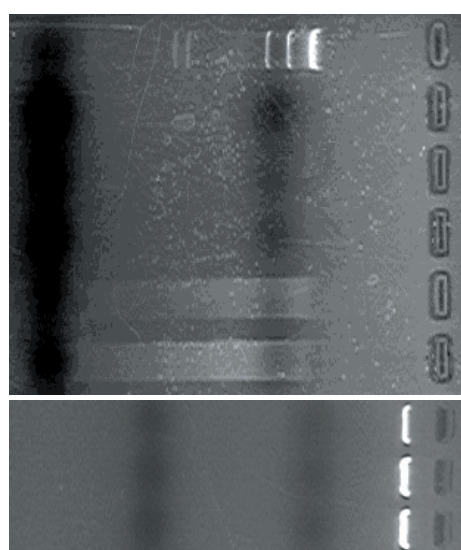


図1 発掘現場の状況

A および B から始まる個体番号がスギ。白丸は未解析木。黒丸は解析木で DNA の単離に成功した個体。灰色丸は解析したが DNA の単離に失敗した個体。



分子量マーカー

DNAが確認できなかったサンプル。

DNAが確認できたが激しく断片化している。

針葉から抽出された典型的なDNAの泳動像。断片化は見られない。

図2 単離した DNA の視覚化

(DNA が確認できる個体とできない個体があります。確認できても激しく断片化していることが観察されます。)

埋没スギ(A-4)の GapC 遺伝子の塩基配列

三瓶山の天然スギの GapC 遺伝子の塩基配列

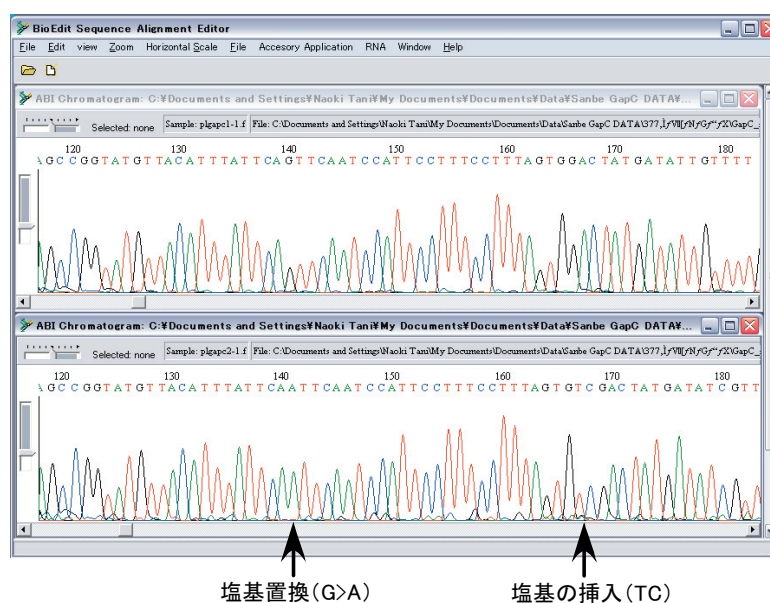


図3 埋没スギと現存する天然スギから検出された GapC 遺伝子の塩基配列の一部とその DNA 変異