

第8章 宇木汲田遺跡および有田遺跡から 出土したイネ種子の DNA 分析に基づく 弥生早期の北九州に伝播した イネタイプの検討

田中克典（弘前大学農学部）

1. はじめに

イネ品種は大きく、インディカとジャポニカとに分けられる。またジャポニカは、温帯ジャポニカと熱帯ジャポニカとに分かれる。日本列島にはインディカが導入されたケースは少ないとされており（佐藤 1971, 松本 1994）、遺跡で出土した種子がインディカであるかジャポニカであるかが問題になることは少ない。一方、縄文稲作の可能性がクローズアップされてきたことから、熱帯ジャポニカが利用されていた可能性が注目を集めるようになってきた（佐藤 1992, Tanaka et al. 2015）。

イネの種子遺存体は北海道を除く全国の遺跡から出土しており、弥生時代には既に青森県までその利用が広まっていた（佐藤 1971）。九州北部では、地理的に韓半島や大陸と近いためか、稲作のみならず生活に関わる人工遺物やその加工技術が導入されたと考えられている（中山2010）。このため、同地域は日本において稲作が早期に開始された場所として注視されており、菜畑遺跡や板付遺跡の出土米は稲作開始期のイネタイプを検討する上で重要な試料となっている（佐藤 1992）。

宇木汲田遺跡ではイネ種子、有田遺跡ではイネ種子が検出されており、弥生早期に日本へ稲作が導入されたことを検討する上で重要な遺跡である。そこで、これらの遺跡から出土したイネ種子について DNA を分析し、弥生早期に導入されたイネのタイプを推定した。また、周辺域におけるイネのタイプと比較し、宇木汲田遺跡ならびに有田遺跡のイネ種子を特徴づけた。

2. 材料及び方法

試料は宇木汲田遺跡の no.6/F-8-c・d?/IXa-4-4・6（弘前大学登録番号：HUA125）、no.7/F-8-c・d?/IXa-4-17（同：HUA126）、no.8/F-8-c・d?/IXa-4-18（同：HUA127）、no.30/G-8-c/G-8-d/Xa-9-67/Xa-9-70（同：HUA145）、no.31/G-8-d?/Xa-93（同：HUA146）と no.35/F-8-c/Xa-10-14（同：HUA148）と有田遺跡第1次調査の31街区円形竪穴（同：HUA048）より採集されたイネである。これらの種子は九州大学にて所蔵されており、本報告書第7章の研究によって計測されたイネ種子である。供試粒数は HUA148で2粒、HUA048で20粒および残りの試料で各10粒である。

各々の種子は、デジタルカメラで撮影後、滅菌済みのステンレスビーズ（分銅）とともに滅菌チューブに入れ、破砕機（TissueLyser LT, QIAGEN, アメリカ）により粉碎した。全 DNA の抽出にはアルカリ抽出法を一部改変した改変アルカリ抽出法を用いた（Mutou et al. 2014）。この手法は、出土遺物の DNA を抽出する際に用いられている方法で、核・葉緑体の全 DNA が抽出可能である。DNA 抽出後、カラムによる精製を行った。なお、コンタミネーションを確認するため、脱イオン蒸留水（滅菌蒸留水）を用いて抽出したサンプルをネガティブ・コントロールとした。

抽出した DNA のうち、有田遺跡の出土米については以下の 6 つの領域について、Ex Taq (TaKaRa, Japan) を用いて PCR (Polymerase Chain Reaction) 法により DNA を増幅した。宇木汲田遺跡の出土米については、②、④～⑥の 4 つの領域について解析した。今回使用したプライマーの配列は表31に示す。

- ①葉緑体 DNA の *rps16* の遺伝子内イントロン領域で、OsC01と呼ばれている (Okoshi et al. 2015)。本報においてもこの名称を採用した。PCR 増幅される塩基配列の長さがインディカとジャポニカとで異なることが、塩基配列の解析により確認できるため、本領域はイネを 2 種類に分類する際に利用できる。
- ②葉緑体 DNA の *petN* と *trnC* との遺伝子間領域で、I-32領域と呼ばれている (Tang et al. 2004)。本報においてもこの名称を採用した。PCR 増幅される塩基配列の長さがインディカとジャポニカとで異なるため、本領域によりイネを 2 種類に分類できる。
- ③葉緑体 DNA の *Orf100* 領域で、F1と R1とのプライマーセットで PCR 増幅すると、特異的 DNA 断片の増幅はイネにおいてジャポニカでのみ確認できる (Takahashi et al. 2008)。また、F1と R2とで PCR 増幅すると、特異的 DNA 断片の長さはインディカとジャポニカとで異なるので、本領域によりイネを 2 種類に分類できる。
- ④葉緑体 DNA の *rpl16* と *rpl14* との遺伝子間領域で、PS-ID 領域と呼ばれている (Nakamura et al. 1999)。本報においてもこの名称を採用した。この領域について塩基配列を解読すると、ジャポニカとインディカとで単純反復配列の長さが異なるので、本領域によりイネを 2 種類に分類できる。
- ⑤イネ第 6 染色体の遺伝子間領域に座乗している DNA マーカーで、IDJ6領域と呼ばれている (花森ら 2011)。本報においてもこの名称を採用した。塩基配列の挿入や欠失によりイネによって長さが異なる。F1と R1とのプライマーセットで PCR 増幅すると、主な温帯ジャポニカでは 98bp の DNA 断片、主なインディカまたは熱帯ジャポニカでは 315bp の DNA 断片が検出される。また、欠失領域に座乗する R2と先述の F1とで PCR 増幅すると、特異的 DNA 断片はインディカまたは熱帯ジャポニカのみで確認できる。この 2 つのプライマーセットでイネを 2 種類に分類できる。
- ⑥イネ第 7 染色体領域に座乗する遺伝子内領域 (*Rc*) で、種皮 (糠) の色のうち、赤色 (*Rc*) と茶色 (*rc*) とを識別できる (Furukawa et al. 2007)。本報においてはこの領域を *Rc* 遺伝子領域とした。なお、コシヒカリに代表される日本で食されている白米ではこの遺伝子が *rc* 型であり、粳を取り除くと玄米の色は茶色である。本報ではこのイネを褐色種皮イネとした。また、種皮が赤色のイネを赤色種皮イネとした。

①～⑥の領域は 1 度目の PCR 産物を用いてさらに同じプライマーで PCR 増幅を行った。PCR 増幅において温度条件、反応液の組成は定法とした (Castillo et al. 2016, Tanaka et al. 2015)。PCR 産物は 2.5% アガロースゲルで電気泳動を行って期待領域に対応する長さの DNA 断片を確認した。以上の実験を 2 反復行い、電気泳動にて期待サイズを示した DNA 断片を切り出した上、ABI PRISM337 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) により塩基配列を解読した。

3. 結 果

以下ではまず地点ごとに分析結果を述べる (図93～図115)。

宇木汲田遺跡の no.6/F-8-c・d?/IXa-4-4・6では、IDJ 6 領域の F1と R1のプライマーセットでの PCR 増幅により、1 粒から主に温帯ジャポニカで認められる DNA 断片が増幅できた (表32)。また、

表31 本研究のPCR増幅に使用したプライマー

増幅領域	略称	フォワード (F) , リバーズ (R) プライマー (5' to 3')	
<i>Rps16</i> intron1	OsC01	F	CCTTATTCCGGTCCAATTCTA
		R	GGGTATGTTGCTACTCTTTTGAA
<i>PetN-trnC</i>	I-32	F	ATCAGTTCAAAGAATTTACTC
		R	TATTTATACTTAATGCTCCCC
<i>Orf100</i>		F	TGGATTTTCGAAAGTCAATTTT
		R	CCTTTTCCCACTCGCTCTCTA
<i>Rpl16-rpl14</i>	PS-ID	F	TCAATTTCTTCGGTTAGAAATA
		R	GAAAGAAATATTGTCTTTCCAG
DJ6		F	ATCCAAAACAGTTGCATTGAC
		R1	CCAGTTTAATGTTTTYTCATTGCC
		R2	GATTTTCCGTTTTCCGTGCC
<i>Rc</i>		F	TCCTGATGATTGTTCCCAGTA
		R	CTTCTCCTCTCTTTCAGCACA

表32 宇木汲田遺跡より採集したイネ種子のDNA型

九州大学試料番号 / 弘前大試料番号	種子 番号	I-32	PS-ID	IDJ6	<i>Rc</i>	九州大学試料番号 / 弘前大試料番号	種子 番号	I-32	PS-ID	IDJ6	<i>Rc</i>
HUA125: no.6 F-8-c · d? IXa-4-4 · 6	1	—	—	—	—	HUA145: no.30 G-8-c/ G-8-d Xa-9-67/Xa-9- 70	1	—	—	—	—
	2	—	—	—	—		2	—	—	—	—
	3	—	—	—	—		3	—	—	Tr	—
	4	—	—	—	—		4	—	—	—	—
	5	—	—	—	—		5	—	—	Tr	—
	6	—	—	Tr	—		6	—	—	Tr	—
	7	—	—	—	—		7	—	—	Tr	—
	8	—	—	Tr	—		8	—	—	—	—
	9	—	—	Te	—		9	—	—	—	—
	10	—	—	—	—		10	—	—	—	—
HUA126: no.7 F-8-c · d? IXa-4-17	1	—	—	—	—	HUA146: no.31 G-8-d? Xa-93	1	—	—	—	—
	2	—	—	—	—		2	—	—	—	—
	3	—	—	—	—		3	—	—	—	—
	4	I	—	—	—		4	—	—	—	—
	5	—	—	—	—		5	—	—	—	—
	6	—	—	—	—		6	—	—	—	—
	7	—	—	—	—		7	—	—	—	—
	8	—	—	—	—		8	—	—	—	—
	9	—	—	—	—		9	—	—	—	—
	10	—	—	—	—		10	—	—	—	—
HUA127: no.8 F-8-c · d? IXa-4-18	1	—	—	Tr	—	HUA148: no.35 F-8-c Xa-10-14	1	—	—	—	—
	2	—	—	—	—		2	—	—	—	—
	3	—	—	—	—						
	4	—	—	—	—						
	5	—	—	Tr	—						
	6	—	—	—	—						
	7	—	—	—	—						
	8	—	—	Tr	—						
	9	—	—	—	—						
	10	—	—	—	—						

¹J: ジャポニカ型, I: インディカ型, Te: 温帯ジャポニカ型, To: 熱帯ジャポニカ型・インディカ型, Rc: 赤褐色種皮イネ型, rc: 褐色種皮イネ型。DNA タイプは、現代のイネの塩基配列と同じであったことを示す。



図93 宇木汲田遺跡 no.6 F-8-c-d ? IXa-4-9 (HUA125) の出土米における葉緑体ゲノムに特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) I-32領域、B) PS-ID 領域。マーカーや試料の順番はA) とB) とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: インディカ“IR36”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。

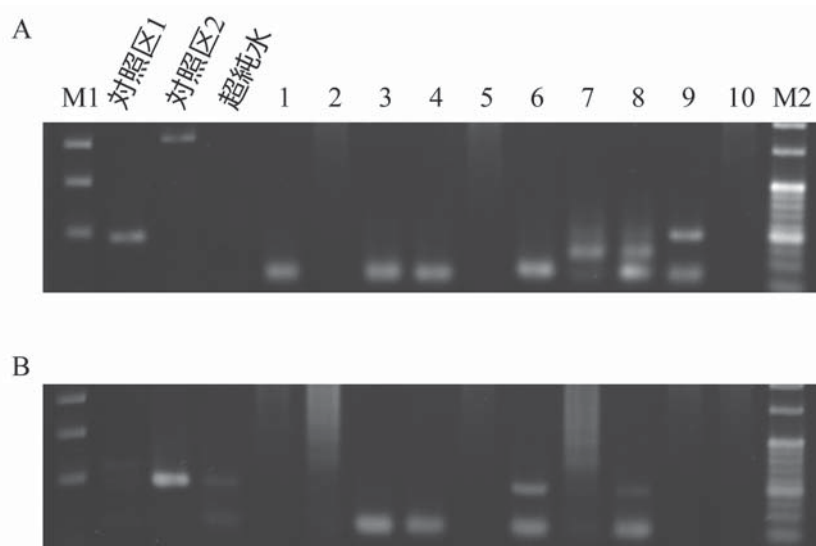


図94 宇木汲田遺跡 no.6 F-8-c-d ? IXa-4-9 (HUA125) の出土米における IDJ6領域に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) F1とR1プライマーセットの領域、B) F1とR2プライマーセットの領域。マーカーや試料の順番はA) とB) とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: 熱帯ジャポニカ“T0221”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。



図95 宇木汲田遺跡 no.6 F-8-c-d ? IXa-4-9 (HUA125) の出土米における Rc 遺伝子に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 褐色種皮のイネ‘日本晴’、対照区2: 赤色種皮のイネ“T0221”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。

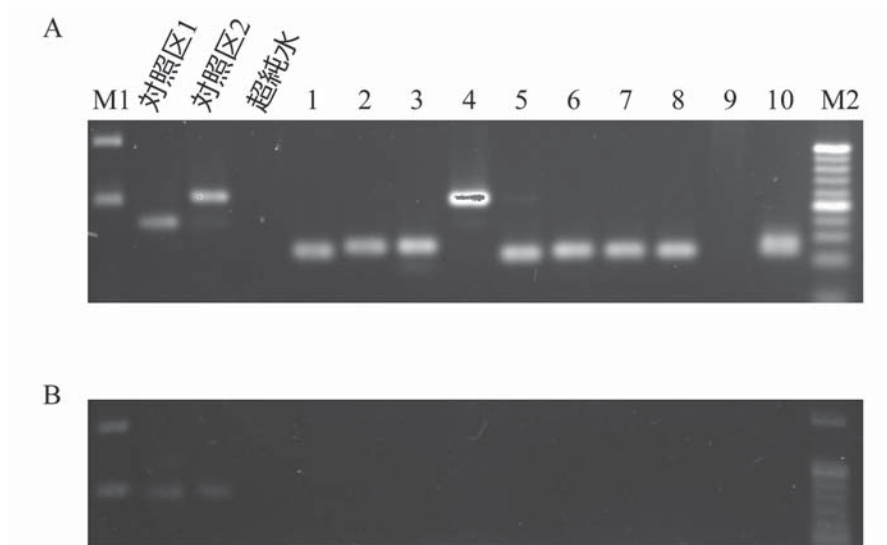


図96 宇木汲田遺跡 no.6 F-8-c-d ? IXa-4-9 (HUA126) の出土米における葉緑体ゲノムに特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) I-32領域、B) PS-ID領域。マーカ―や試料の順番はA)とB)とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: インディカ“IR36”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。

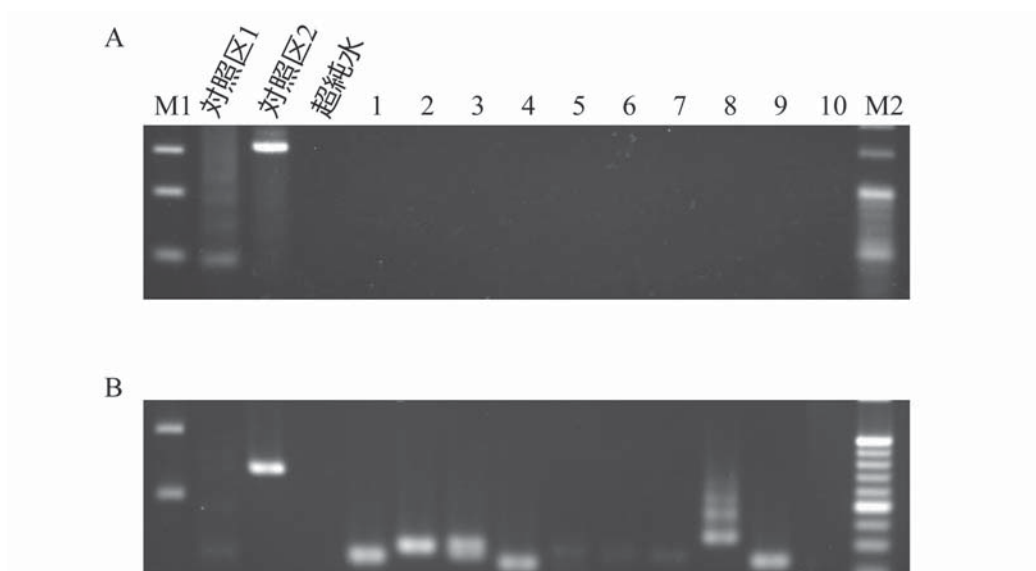


図97 宇木汲田遺跡 no.6 F-8-c-d ? IXa-4-9 (HUA126) の出土米におけるIDJ6領域に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) F1とR1プライマーセットの領域、B) F1とR2プライマーセットの領域。マーカ―や試料の順番はA)とB)とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: 熱帯ジャポニカ“T0221”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。



図98 宇木汲田遺跡 no.6 F-8-c-d ? IXa-4-9 (HUA126) の出土米におけるRc遺伝子に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 褐色種皮のイネ‘日本晴’、対照区2: 赤色種皮のイネ“T0221”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。



図99 宇木汲田遺跡 no.8 F-8-c-d ? IXa-4-18 (HUA127) の出土米における葉緑体ゲノムに特異的プライマーで PCR 増幅した産物の電気泳動図。A) I-32領域、B) PS-ID 領域。マーカーや試料の順番は A) と B) とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: インディカ“IR36”、1-10: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

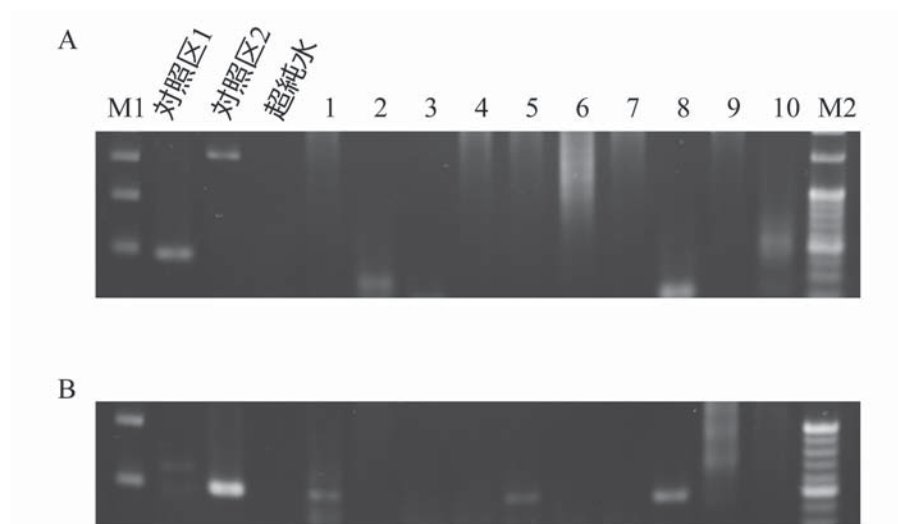


図100 宇木汲田遺跡 no.8 F-8-c-d ? IXa-4-18 (HUA127) の出土米における IDJ6領域に特異的プライマーで PCR 増幅した産物の電気泳動図。A) F1と R1プライマーセットの領域、B) F1と R2プライマーセットの領域。マーカーや試料の順番は A) と B) とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: 熱帯ジャポニカ“T0221”、1-10: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。



図101 宇木汲田遺跡 no.8 F-8-c-d ? IXa-4-18 (HUA127) の出土米における *Rc* 遺伝子に特異的プライマーで PCR 増幅した産物の電気泳動図。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 褐色種皮のイネ‘日本晴’、対照区2: 赤色種皮のイネ“T0221”、1-10: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

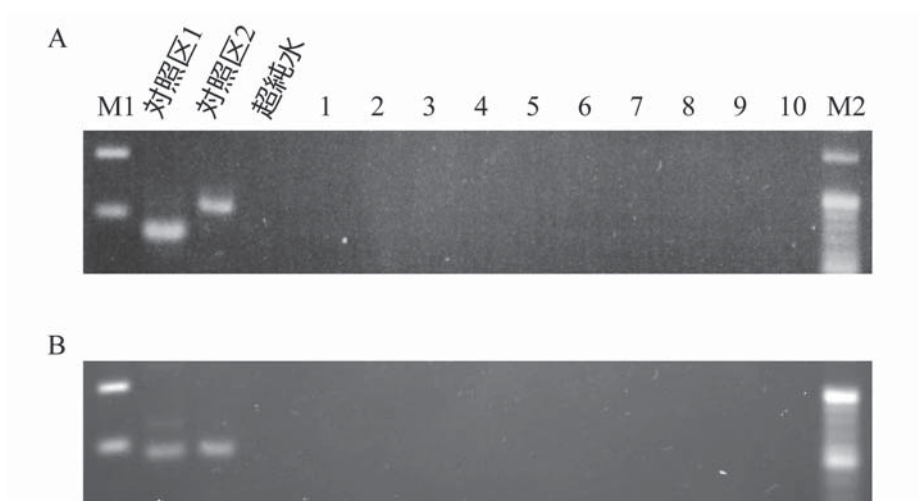


図102 宇木汲田遺跡 no.30 (HUA145) の出土米における葉緑体ゲノムに特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) I-32領域、B) PS-ID 領域。マーカーや試料の順番はA) とB) とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: インディカ“IR36”、1-10: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

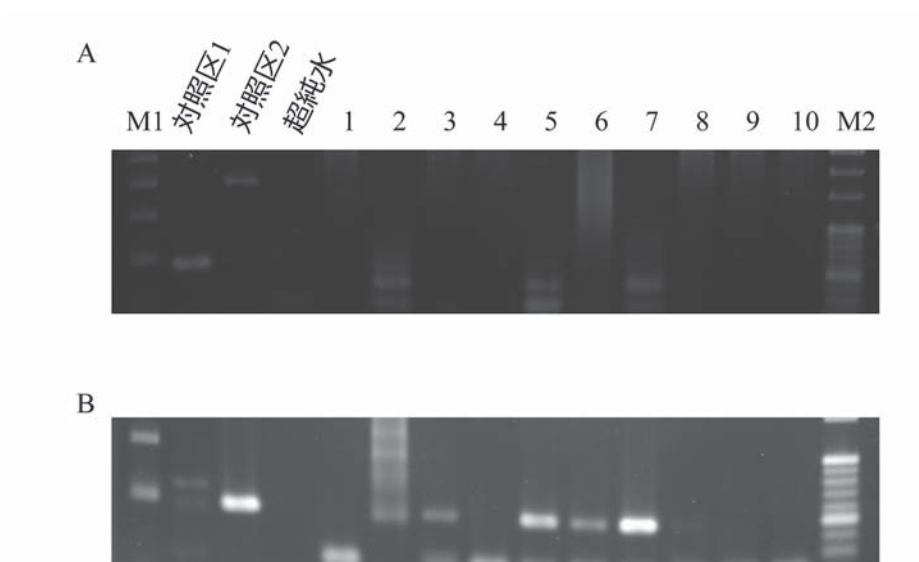


図103 宇木汲田遺跡 no.30 (HUA145) の出土米における IDJ6領域に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) F1とR1プライマーセットの領域、B) F1とR2プライマーセットの領域。マーカーや試料の順番はA) とB) とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: 熱帯ジャポニカ“T0221”、1-10: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。



図104 宇木汲田遺跡 no.30 (HUA145) の出土米における *Rc* 遺伝子に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 褐色種皮のイネ‘日本晴’、対照区2: 赤色種皮のイネ“T0221”、1-10: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

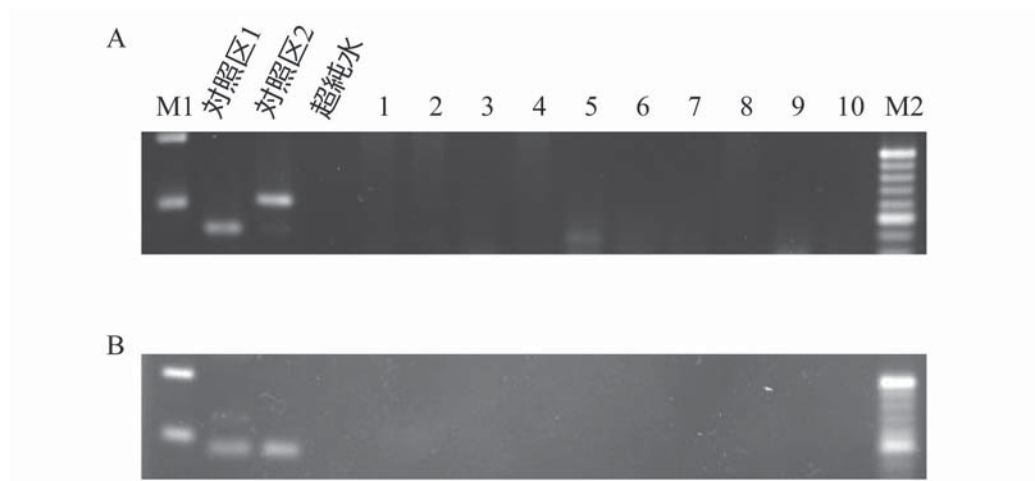


図105 宇木汲田遺跡 no.31 G-8-d ? Xa-9 (HUA146) の出土米における葉緑体ゲノムに特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) I-32領域、B) PS-ID 領域。マーカーや試料の順番はA) とB) とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: インディカ“IR36”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。

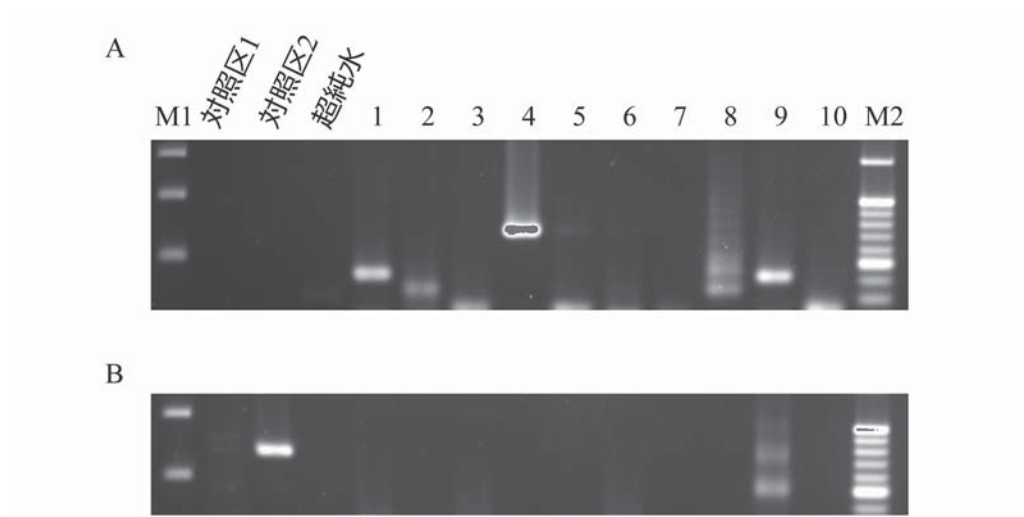


図106 宇木汲田遺跡 no.31 G-8-d ? Xa-9 (HUA146) の出土米における IDJ6領域に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) F1とR1プライマーセットの領域、B) F1とR2プライマーセットの領域。マーカーや試料の順番はA) とB) とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: 熱帯ジャポニカ“T0221”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。



図107 宇木汲田遺跡 no.31 G-8-d ? Xa-9 (HUA146) の出土米における *Rc* 遺伝子に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 褐色種皮のイネ‘日本晴’、対照区2: 赤色種皮のイネ“T0221”、1-10: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。

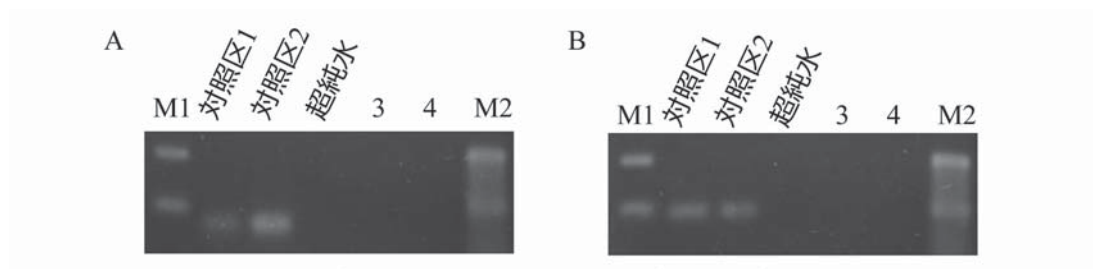


図108 宇木汲田遺跡 no.35 F-8-c Xa-10-14 (HUA148) の出土米における葉緑体ゲノムに特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) I-32領域、B) PS-ID領域。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: インディカ“IR36”、3-4: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

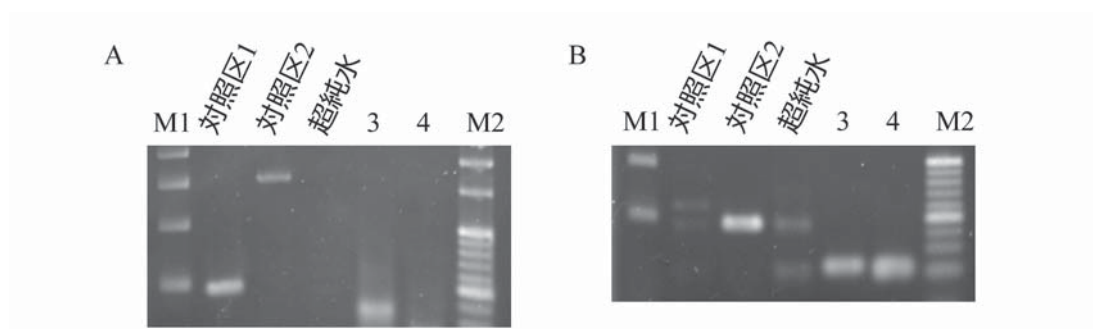


図109 宇木汲田遺跡 no.35 F-8-c Xa-10-14 (HUA148) の出土米における IDJ6領域に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) F1と R1プライマーセットの領域、B) F1と R2プライマーセットの領域。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: 熱帯ジャポニカ“T0221”、3-4: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

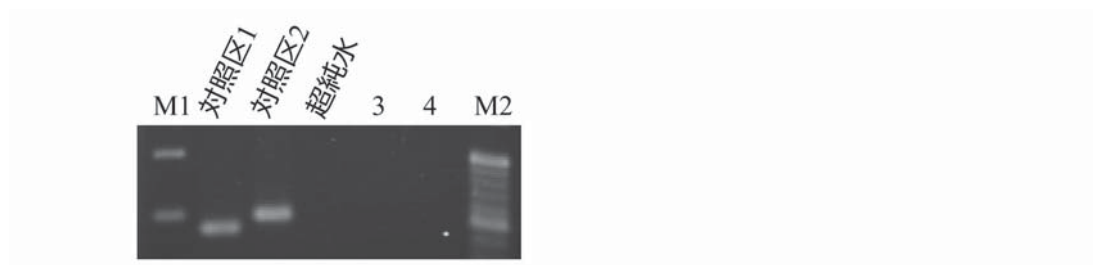


図110 宇木汲田遺跡 no.35 F-8-c Xa-10-14 (HUA148) の出土米における *Rc* 遺伝子に特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 褐色種皮のイネ‘日本晴’、対照区2: 赤色種皮のイネ“T0221”、3-4: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

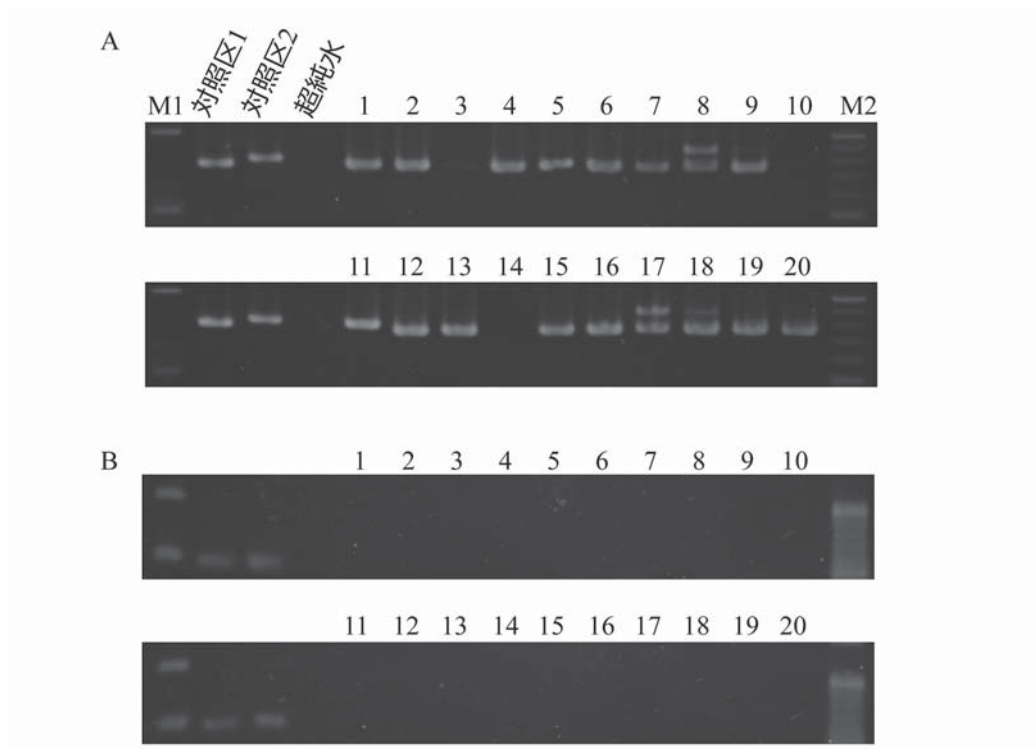


図111 有田遺跡第1次調査31街区円形竪穴（九大所蔵）の出土米における葉緑体ゲノムに特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) *OsC01*領域、B) *I-32*領域。マーカーや対照区の順番はA)とB)とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: インディカ“IR36”、1-20: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。

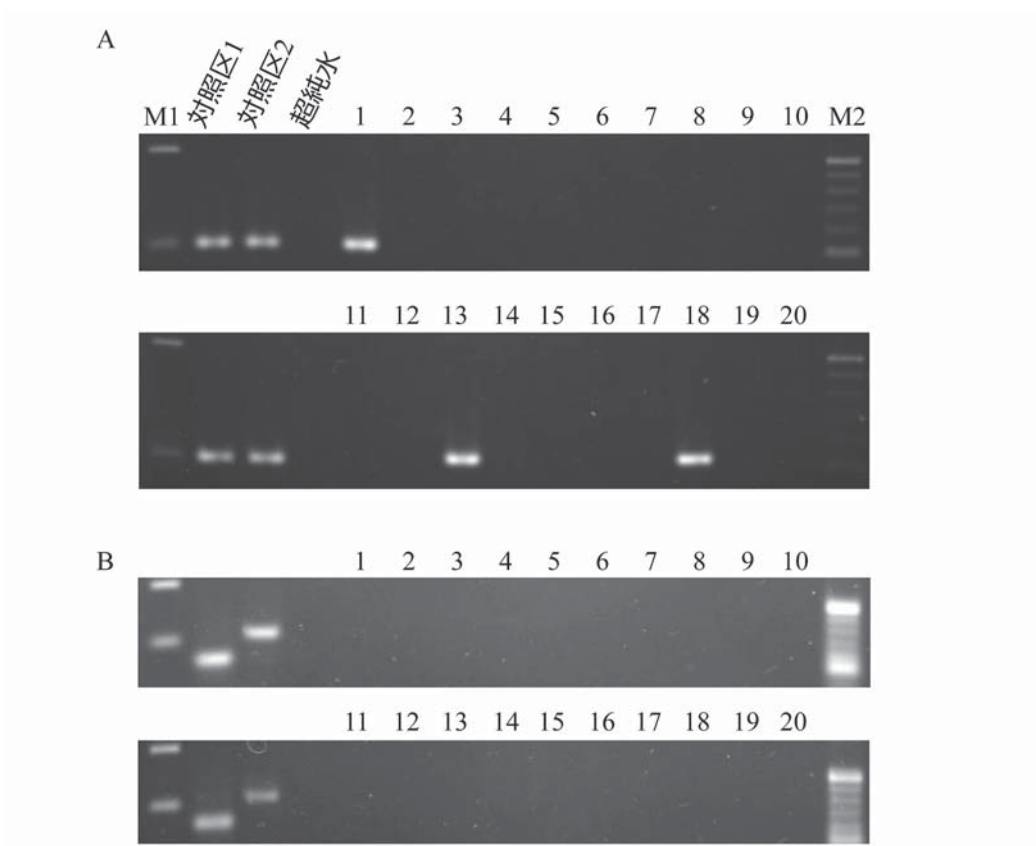


図112 有田遺跡第1次調査31街区円形竪穴（九大所蔵）の出土米における葉緑体ゲノムに特異的プライマーでPCR増幅した産物の電気泳動図。A) *Orf100*領域、B) *PS-ID*領域。マーカーや対照区の順番はA)とB)とで同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ‘日本晴’、対照区2: インディカ“IR36”、1-20: 出土米DNA、M2: 20bp DNA ladder。

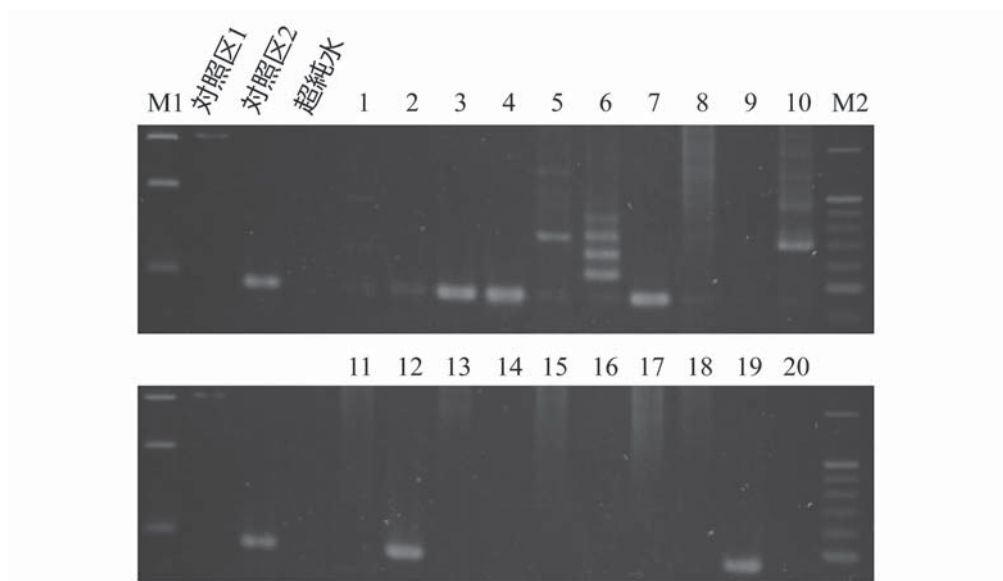


図113 有田遺跡第1次調査31街区円形堅穴（九大所蔵）の出土米における IDJ6領域に特異的プライマーセット F1と R1で PCR 増幅した産物の電気泳動図。マーカ―や対照区の順番は上下の泳動図で同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 熱帯ジャポニカ “T0221”、対照区2: 温帯ジャポニカ ‘日本晴’、1-20: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。



図114 有田遺跡第1次調査31街区円形堅穴（九大所蔵）の出土米における IDJ6領域に特異的プライマーセット F1と R2で PCR 増幅した産物の電気泳動図。マーカ―や対照区の順番は上下の泳動図で同様である。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 温帯ジャポニカ ‘日本晴’、対照区2: 熱帯ジャポニカ “T0221”、1-20: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

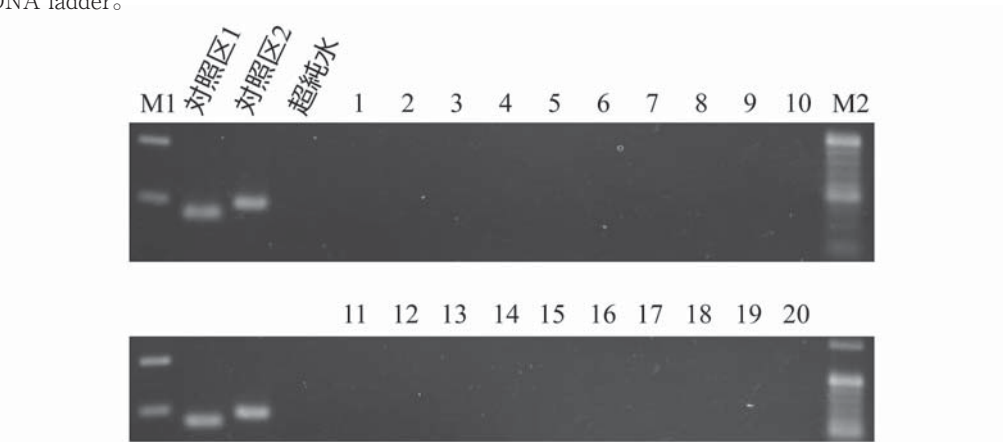


図115 有田遺跡第1次調査31街区円形堅穴（九大所蔵）の出土米における *Rc* 遺伝子に特異的プライマーで PCR 増幅した産物の電気泳動図。M1: 100bp DNA ladder、対照区1: 褐色種皮のイネ ‘日本晴’、対照区2: 赤色種皮のイネ “T0221”、1-20: 出土米 DNA、M2: 20bp DNA ladder。

表33 有田遺跡第1次／31街区／円形竪穴より採集したイネ種子の DNA 型

種子番号	OsC01	<i>petN-trnC</i>	<i>Orf100</i>	<i>rpl14-rpl16</i>	IDJ6	<i>Rc</i>
1	J	—	J	—	Te	—
2	J	—	—	—	Te	—
3	—	—	—	—	Te	—
4	J	—	—	—	Te	—
5	J	—	—	—	—	—
6	J	—	—	—	—	—
7	J	—	—	—	Te	—
8	J	—	—	—	—	—
9	J	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—
11	J	—	—	—	—	—
12	J	—	—	—	Te	—
13	J	—	J	—	—	—
14	—	—	—	—	—	—
15	J	—	—	—	—	—
16	J	—	—	—	—	—
17	J	—	—	—	—	—
18	J	—	J	—	—	—
19	J	—	—	—	Te	—
20	J	—	—	—	—	—

¹J：ジャポニカ型，I：インディカ型，Te：温帯ジャポニカ型，To：熱帯ジャポニカ型・インディカ型，*Rc*：赤褐色種皮イネ型，*rc*：褐色種皮イネ型。
DNA タイプは、現代のイネの塩基配列と同じであったことを示す。

表34 宇木汲田遺跡と有田遺跡における IDJ6領域の塩基配列変異に基づいたイネタイプ頻度

遺 跡	登録番号 ¹	No.	グリッド	層	粒数	温帯型 ²	熱帯型	不明
宇木汲田	HUA125	no.6	F-8-c・d?	IXa-4-4	10	1	2	7
	HUA126	no.7	F-8-c・d?	IXa-4-17	10	0	0	10
	HUA127	no.8	F-8-c・d?	IXa-4-18	10	0	3	7
	HUA145	no.30	G-8-c G-8-d	Xa-9-67 Xa-9-70	10	0	4	6
	HUA146	no.31	G-8-d?	Xa-9	10	0	0	10
	HUA148	no.35	F-8-c	Xa-10-14	2	0	0	2
	HUA048	有田遺跡第1次調査31街区円形竪穴（九大所蔵）			20	7	0	13

¹弘前大学人文社会科学部 北日本考古研究センターでの登録番号。

²温帯型および熱帯型はそれぞれ98bp 型および315bp 型の便宜的名称である。

IDJ6領域の F1と R2のプライマーセットでの PCR 増幅により、2粒から主にインディカまたは熱帯ジャポニカで認められる DNA 断片が増幅できた。塩基配列の解読によりこれらの DNA 断片の塩基配列は標的領域であることがわかった。なお、その他の領域については期待サイズの DNA 断片が認められなかった。

宇木汲田遺跡の no.7/F-8-c・d?/IXa-4-176では、I-32の PCR 増幅により、1粒から主にインディカで認められる DNA 断片が増幅できた（表32）。塩基配列の解読により、この DNA 断片の塩基配列は標的領域であることがわかった。なお、その他の領域については期待サイズの DNA 断片が認められなかった。

宇木汲田遺跡の no.8/F-8-c・d?/IXa-4-18では、IDJ6 領域の F1と R2のプライマーセットでの PCR 増幅により、3粒から主にインディカまたは熱帯ジャポニカで認められる DNA 断片が増幅できた（表32）。塩基配列の解読によりこれらの DNA 断片の塩基配列は標的領域であることがわかった。なお、その他の領域については期待サイズの DNA 断片が認められなかった。

宇木汲田遺跡の no.30/G-8-c/G-8-d/Xa-9-67/Xa-9-70では、IDJ6領域の F1と R2のプライマーセットでの PCR 増幅により、4粒から主にインディカまたは熱帯ジャポニカで認められる DNA 断片が増幅できた（表32）。塩基配列の解読によりこれらの DNA 断片の塩基配列は標的領域であることがわかった。なお、その他の領域については期待サイズの DNA 断片が認められなかった。

宇木汲田遺跡の no.31/G-8-d?/Xa-93と no.35/F-8-c/Xa-10-14の試料では、期待サイズの DNA 断片が認められなかった（表32）。

有田遺跡の試料では、OsC01の PCR 増幅により、17粒から期待サイズの DNA 断片が増幅できた（表33）。*Orf100* の PCR 増幅により、3粒から期待サイズの DNA 断片が増幅できた。これらの DNA 断片の塩基配列は現生のジャポニカと同じ配列であった。IDJ6 領域の F1と R1のプライマーセットで PCR 増幅により、7粒から主に温帯ジャポニカで認められ DNA 断片が増幅できた（表33）。塩基配列の解読によりこれらの DNA 断片の塩基配列は標的領域であることがわかった。なお、その他の領域については期待サイズの DNA 断片が認められなかった。

以上の結果、宇木汲田遺跡の出土米では、52粒のうち1粒（1.9%）において現生のインディカに相当する葉緑体 DNA の塩基配列を有していた。核ゲノムの解析により、1粒で温帯ジャポニカ、9粒でインディカまたは熱帯ジャポニカに相当する配列を確認できた（計19.2%；表34）。有田遺跡では、17粒（85.0%）において現生のジャポニカに相当する葉緑体 DNA の塩基配列を有していた。核ゲノムの解析では、7粒（35.0%）から現生の温帯ジャポニカに相当する配列が認められた。

4. 考 察

佐藤（1992）は南から陸稲がやってきて畑稲作として九州北部に定着し、後に中国または韓半島から水田稲作と水稻が渡来したとする、南北二元説を提案している。この説は二つの研究成果に基づいて提案された。一点目は、日本における現生イネタイプの地理的分布で、熱帯ジャポニカや熱帯ジャポニカの遺伝子の一部を有した温帯ジャポニカの頻度が沖縄で高く、九州・中国・四国・近畿、関東へと以降するにしたがい低下していた研究結果である。二点目は弥生早期から中期の遺跡から出土したイネにおいて、温帯ジャポニカと熱帯ジャポニカに相当するイネが混在していた研究結果である。特に、菜畑遺跡の分析では夜臼式土器が含まれる地層のイネにおいては、熱帯ジャポニカと温帯ジャポニカに相当する DNA タイプが検出されている。本研究で利用した宇木汲田遺跡の出土米は、菜畑

遺跡で分析されたイネと同時期の年代と推察されており、インディカか熱帯ジャポニカにおいて主に認められる DNA 領域を有していた（表34）。一方、その後の時代にあたる有田遺跡の出土米は、温帯ジャポニカにおいて主に認められる DNA 領域を有していた。これらの結果は、熱帯ジャポニカに相当するイネが導入されて、後に水稻稲作に適した温帯ジャポニカに相当するイネが導入されたとする仮説を提示することも可能であり、前述した佐藤の仮説（1992）のうち、2つのイネタイプが前後して日本に導入されたとする視点を支持していた。

日本における193遺跡より採集した2,623粒の出土米について DNA 分析をした結果に基づくと、葉緑体 DNA の復元率は弥生時代の出土米で4.9%、核ゲノムの IDJ 6 領域では8.4%であった（田中・上條2014, 2015, 小泉ら2018）。有田遺跡の出土米において DNA の復元率は、葉緑体ゲノムで85%、IDJ 6 領域で35.0% と、ともに全国での値と比べると高く、DNA 分析を実施するうえで良好な試料であることを示しているようであった。宇木汲田遺跡の試料においては、葉緑体ゲノムの復元率が低かったものの、IDJ 6 領域の復元率は、10粒のうち no.6/ F-8-c・d?/IXa-4-4・6で3粒（30%）、no.8/F-8-c・d?/IXa-4-18で3粒（30%）および no.30/G-8-c/G-8-d/Xa-9-67/Xa-9-70で4粒（40%）と全国での復元率より高かった。これらの宇木汲田遺跡の試料も、IDJ 6 領域など核ゲノムの遺伝子間領域を解析する上では好適な材料であると考えられた。現生イネの DNA 分析では、日本にイネが導入される前後に出穂特性、草丈、種子の幅等の特性が選抜されたことが示唆されている（浅野ら2007, Izawa et al. 2009）。本研究の材料についてこれらの農業形質に関わる遺伝子と対応がつく遺伝子間領域を解読することで、日本の稲作黎明期におけるイネタイプを提示することが可能になるのかもしれない。

参考文献

- 浅野賢治・最相大輔・芦刈基行・松岡信（2007）‘草型変異からみたイネとオオムギの栽培化’“蛋白質 核酸 酵素”，52, 15, 1931-1936.
- Izawa T., Konishi S., Shomura A., Yano M（2009）‘DNA changes tell us about rice domestication’“Current Opinion in Plant Biology”，12, 185?192.
- Okoshi, M., Matsuno, K., Okuno, K., Ogawa, M., Itani, T., Fujimura, T.（2015）‘Genetic diversity in Japanese aromatic rice (*Oryza sativa* L.) as revealed by nuclear and organelle DNA markers’“Genetic Resources and Crop Evolution”，63, 199-208.
- 小泉翔太・田中克典・上條信彦（編）（2018）『日本の出土米3 佐藤敏也コレクションの研究2』、弘前大学人文社会科学部北日本考古学研究センター．
- 小林謙一（2009）「近畿地方以東の地域への拡散」『弥生農耕のはじまりとその年代』、雄山閣、55-82.
- Castillo C.C., Tanaka K., Sato Y.-I., Ishikawa R., Bellina B., Higham C., Chang N., Mohanty R., Kajale M., Fuller D.Q（2016）‘Archaeogenetic study of prehistoric rice remains from Thailand and India: evidence of early *japonica* in South and Southeast Asia’“Archaeological and Anthropological Science” 8, 523-54.
- 佐藤敏也（1971）『日本の古代米』、雄山閣．
- 佐藤洋一郎（1992）『稲のきた道』、裳華房．
- Takahashi, H., Sato, Y.I., Nakamura, I.（2008）‘Evolutionary analysis for two plastid DNA sequences in cultivated and wild species of *Oryza*’“Breeding Science”，58, 225-233.
- 田中克典・上條信彦（2014）『冷温帯地域の遺跡資源の保存活用促進プロジェクト研究報告書3、日本の出土米 I, イネの種子遺存体の形態・DNA 分析結果報告書』、弘前大学人文学部 北日本考古学研究センター．
- 田中克典・上條信彦（2015）『冷温帯地域の遺跡資源の保存活用促進プロジェクト研究報告書4、日本の出土米 II, イネの種子遺存体の形態・DNA 分析結果報告書』、弘前大学人文学部 北日本考古学研究センター．
- Tanaka, K., Kamijo, N., Tabuchi, H., Hanamori, K., Matsuda, R., Suginomori, J., Sato, Y.-I., Udatsu, T., Ishikawa, R.（2015）‘Morphological and molecular genetics of ancient remains and modern rice (*Oryza sativa*) confirm diversity in ancient Japan’“Genetic Resources and Crop Evolution”，63, 447-464.
- Tang J, Xia H, Cao M, Zhang X, Zeng W, Hu S, Tong W, Wang J, Yu J, Yang H, Zhu L（2004）A

- comparison of rice chloroplast genomes. "Plant Physiology", 135:412-420.
- Nakamura, I., Kameya, N., Kato, K., Yamanaka, S.I., Jomori, H., Sato, Y.I. (1997) 'A proposal for identifying the short ID sequence which addresses the plastid subtype of higher plants' "Breeding Science", 47, 385-388
- 中山誠二 (2010) 『植物考古学と日本の農耕の起源』、同成社.
- 花森功仁子・石川智士・齋藤寛・田中克典・佐藤洋一郎・岡田喜裕 (2011) 「DNA の欠失領域を用いた栽培イネ *Oryza sativa* L. の熱帯ジャポニカ型と温帯ジャポニカ型の識別マーカーの作出と登呂 I 期遺跡から出土した炭化種子への応用」『東海大学紀要海洋学部「海—自然と文化」』 9巻、3号、19-25.
- Furukawa, T., Maekawa, M., Oki, T., Suda, I., Iida, S., Shimada, H., Takamure, I., Kadowaki, K. (2007) 'The *Rc* and *Rd* genes are involved in proanthocyanidin synthesis in rice pericarp' "Plant Journal", 49, 91-102.
- 松本豪 (1994) 「日本の稲作遺跡と古代米に関する研究」『大阪府立大学紀要』 第46号、135-194.
- Mutou, C., Tanaka, K., Ishikawa, R. (2014) 'DNA extraction from rice endosperm (Including a protocol for extraction of DNA from ancient Seed samples)' "Cereal Genomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology vol 1099", Humana Press, New York, 7-15.
- Wanchana, S., Toojinda, T., Tragoonrung, S., Vanavichit, A. (2003) 'Duplicated coding sequence in the waxy allele of tropical glutinous rice (*Oryza sativa* L.)' "Plant Science", 165, 1193-1199.