

論文の内容の要旨

COMPREHENSIVE HUMAN MITOCHONDRIAL GENOME ANALYSIS

FOR POORLY-PRESERVED FOSSIL REMAINS

(劣化古人骨試料の包括的ミトコンドリアゲノム分析)

氏名：石谷 孔司

本論文の構成は以下の四章構成となっている。

【第一章】序論

第一章では、古代 DNA 分析の歴史や概要を紹介し、古人骨ミトコンドリアゲノム分析を行う上での課題をまとめている。1990 年代から PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）法によって骨試料（硬組織）の微量 DNA 分析が可能となり、様々な考古遺物に対する古代 DNA 研究が行われるようになった。現在では、次世代シーケンサー (Next Generation Sequencer; NGS) と呼ばれる高出力 DNA シーケンス技術によって、ゲノムスケールでの古代 DNA 分析が可能となっている。その一方で、古人骨試料のゲノム分析には、未だ解決すべき課題が存在する。特に古人骨試料における「現代人 DNA による汚染（コンタミネーション）」は大きな問題となっている。さらに、アジア等の温暖湿潤な地域で出土する試料の多くは極度に劣化しており、試料本体の DNA 量が 1% 未満であることも珍しくない。こうした劣化試料ではミトコンドリアゲノムであっても完全長配列を得ることが難しいのが現状である。そこで、本論文の第二～四章では、上記の課題に対処するため、ヒトミトコンドリアゲノムを対象とした分析手法の提案・評価及びツールの開発を行った。

【第二章】NGS データからの混入ミトコンドリアマクロハプログループの新規検出法

第二章では、次世代シーケンスデータからの混入ミトコンドリアマクロハプログループを検出するための新規手法を提案し、その精度評価を行った。本手法は公開データベース（塩基配列アーカイブ等）上のヒトミトコンドリア全塩基配列とマクロハプログループの既知情報を活用し、

シーケンシングデータにおける混入マクロハプログループを検出する。世界各地の代表的なマクロハプログループについて検証した結果、平均 10X の低い読み取り深度でも 9 割以上の高い精度で混入マクロハプログループを特定できた。本手法は、古代 DNA 配列で観察される脱アミノ化変異にも対応することが可能で劣化古人骨試料における混入ヒト DNA 汚染の定性的評価に有効である。

【第三章】ヒトミトコンドリアゲノムに対する欠損領域補完法の評価

第三章では、ミトコンドリアゲノムの欠損補完法（インピュテーション）の精度についてシミュレーションデータと実データを元に評価を行った。本研究では、世界各地の代表的なミトコンドリアハプログループの配列を用いて検証した結果、補完に用いるハプログループの種類によって補完精度に違いが見られた。特に、アフリカ地域で高頻度に見られるハプログループ L の系統では誤って補完された塩基の数(imputation errors)が大きくなる傾向が見られた。また、本研究ではミトコンドリアゲノムの領域ごとにも精度評価を行った。その結果、タンパク質や RNA をコードする領域は、調節領域(D-LOOP)に比べ imputation errors が少なく、高い精度で欠損塩基を補完できた。さらに、約 3,000 年前の劣化古人骨試料から得られた次世代シーケンスデータに対して欠損補完法を適用した結果、ハプログループの決定に関わる重要な変異も正しく補完することが出来た。

【第四章】ヒトミトコンドリアゲノム統合分析ツールの開発

第四章では、NGS から得られたショートリード配列を対象としたヒトミトコンドリアゲノム統合分析ツール MitoSuite の開発とその概要についてまとめている。劣化古人骨試料を分析する上でミトコンドリアハプログループの決定・コンタミネーションの検出・DNA ダメージの検出・変異アノテーション・ゲノムアセンブリに関わる項目は特に重要である。MitoSuite は、こうした重要項目を一括して分析できるように開発された。本ツールは GUI による優れた操作性だけでなく解析性能にも優れており、読み取り深度の厚いディープシーケンスデータでも高速かつ高精度な解析が可能である。MitoSuite による解析結果は視覚化されるため、古代 DNA におけるダメージの検出やコンタミネーションがあるようなゲノム位置も容易に特定出来る。本ツールは複数の評価項目に基づく信頼性の高いヒトミトコンドリアゲノム分析を可能とし、品質管理が特に重要な劣化古人骨試料にとって最適な分析ツールになると考えている。