報道関係各位

2025 年 7 月 11 日

岡山理科大学
岡山大学
University of Manitoba
倉敷市立自然史博物館
北海道大学
たんば恐竜博物館

瀬戸内海産ゾウ類化石をもちいて
化石に眠る太古のタンパク質を「見る」技術を開発

―恐竜化石にも応用可能―

【ポイント】

- ✓ 岡山、香川両県にまたがる瀬戸内海（備讃瀬戸）の海底から産出した数万年前のゾウ類化石をもちいて、化石の組織形態を壊さずに化石内に存在するタンパク質を可視化、検出する方法を開発
- ✓ 博物館に保管されている骨の断片など、見た目だけでは種の特定が難しい化石でも、本技術でタンパク質の残存を確認し、配列を解析することで、高精度な種同定が可能になった
- ✓ 本技術をより古い時代の化石に応用することで、恐竜などの絶滅動物の化石からのタンパク質も抽出できる可能性がある

図 1. 備讃瀬戸から産出した絶滅ゾウ類の復元ロボット（倉敷市立自然史博物館提供）

図 2. 特殊染色によってタンパク質が赤く染まったゾウ類化石の研磨標本

【概要】

近年、化石に残されたタンパク質を分析し、絶滅生物の進化を探る「パレオプロテオミクス」(※1)という分野が注目されています。しかし、化石に残るタンパク質はごく微量で、常に外部からの汚染(コンタミネーション)の危険が伴うため、解析されたタンパク質が本当に化石由来(内因性)であるかどうかの証明が大きな課題でした。

本研究では、化石を薄くスライスした「研磨標本」に対し、骨の主成分であるコラーゲン(※2)を特異的に染色する特殊染色法を応用しました。その結果、化石の微細な組織構造を保ったまま、タンパク質の存在とその分布位置を直接「見る」ことに世界で初めて成功しました。さらに、タンパク質の定量分析や質量分析を組み合わせることで、染色されたタンパク質が数万年前のゾウ類に由来する内因性(※3)のものであることを多角的に証明しました。この方法は、高価で複雑な分析の前に、タンパク質がよく保存されている化石を選び出すための、簡便で信頼性の高いスクリーニング技術として、今後のパレオプロテオミクスの発展に大きく貢献することが期待されます。

なお、この本研究に関する記者会見を下記の通り実施します。

■会見日時:2025 年 7 月 18 日(金)13 時 00 分から
■場　所:　　岡山会場:岡山理科大学岡山キャンパス(岡山市北区理大町 1-1)
学園創立 50 周年記念館 3 階 会議室
兵庫会場:兵庫県丹波市立たんば恐竜博物館
※ 2 会場はオンラインで接続します。

■説　明:
岡山会場:岡山理科大学生物地球学部恐竜学科　教授　辻極　秀次
講師　千葉　謙太郎

お車でお越しの方には記者会見場の 50 周年記念館脇に 4 台の駐車場のほか、附属高校前にも駐車場を用意しています。

■岡山理科大学企画広報課(086-256-8508、kikaku-koho@ous.ac.jp)

兵庫会場:岡山理科大学生物地球学部恐竜学科　教授　實吉　玄貴
兵庫県丹波市教育委員会教育部恐竜課　教育普及専門員　稲葉　勇人

お車でお越しの方には、たんば恐竜博物館の駐車場を用意しています。

■兵庫県丹波市教育委員会教育部恐竜課
(0795-77-1887、kyouryu@city.tamba.lg.jp)

※ 両会場での取材申し込みにつきましては、できるだけ前日までに、各会場連絡先までご連絡ください。

※ 研究成果の概要は上記の通りですが、報道解禁は記者会見後とさせていただければと思います。

【学術的背景】

タンパク質は、遺伝情報を担う DNA よりも化学的に安定しており、数百万年以上にわたって化石内部に残存する可能性が示されています。そのため、DNA が失われてしまった古い化石からでも、タンパク質を分析することで、絶滅動物の系統関係や生態などを明らかにできると期待されています。

しかし、従来のタンパク質分析は、化石試料の一部を粉末にして成分を抽出する方法が主流でした。この方法では、化石に付着した微生物や、研究過程で混入した現代のタンパク質まで一緒に抽出してしまう可能性を排除できず、分析結果の信頼性が長年の課題となっていました。この問題を解決するには、タンパク質が「化石組織の内部に、本来あるべき場所(in situ)に存在している」ことが重要です。

今生きている動物の試料であれば、組織内の特定のタンパク質をその場で可視化するために「特殊染色法」という技術が広く用いられています。しかし、これらの染色は通常、骨の硬い無機成分(リン酸カルシウム)を酸などで溶かす「脱灰」という前処理を必要とします。化石は内部の有機成分が劣化しているため、脱灰処理を行うと組織構造そのものが崩壊してしまい、正確な観察ができませんでした。

そこで本研究では、これらの課題を克服するため、化石研究で一般的に用いられる、組織を脱灰(カルシウム成分を除く)しない研磨薄片標本に、骨基質のコラーゲンを特異的に検出する特殊染色法を適用することで化石試料に残存するタンパク質を直接可視化できないか検証しました。**(※4)**

【研究成果】

① <u>化石の組織を壊さずにタンパク質を「見る」染色法の確立</u>

複数の特殊染色法を試した結果、「Van Gieson(ワンギーソン)染色」という方法が、化石の非脱灰研磨標本に含まれるコラーゲンを鮮やかな赤色に染色するのに最も効果的であることを突き止めました。この方法は、化石を包埋している樹脂や無機成分には反応せず、コラーゲンだけを選択的に染色できます。これにより、化石の微細構造を破壊することなく、タンパク質の存在と分布を直接、目で見て確認する技術を確立しました。

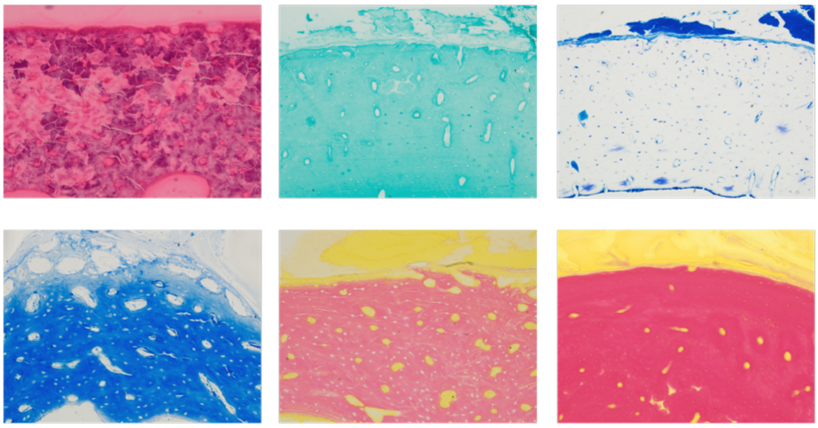

図 3. 現生ラットの骨試料を用いた様々な特殊染色例。下段右がワンギーソン染色。

② 化石骨に数万年前のコラーゲンが残存していることを多角的に証明

Van Gieson 染色で陽性反応を示した化石骨について、そのタンパク質が本当に化石由来のものであることを証明するため、多角的な分析を行いました。まず、タンパク質の定量分析(比色分析法)により、現生ラットの骨と比較して総タンパク質が約 50%、コラーゲンが約30%残存していることが確認されました。次に、このタンパク質の正体を突き止めるため、最先端の質量分析計でアミノ酸配列を解析した結果、その配列は絶滅したゾウ類の I 型コラーゲンと最もよく一致しました。これらの結果は、検出されたタンパク質が外部からの汚染ではなく、数万年前に生きていたゾウ類に由来する内因性のものであることを強く支持します。

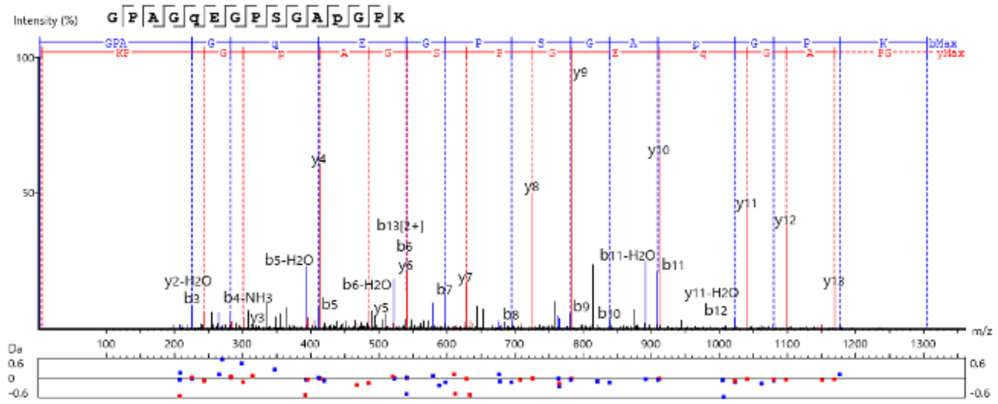

図 4. 絶滅ゾウ類のアミノ酸配列に一致した試料由来の質量スペクトル.

③ 骨と象牙でタンパク質の保存状態が異なることを解明

本研究では、同じゾウ類の化石でも、骨と歯(象牙)ではタンパク質の保存状態に大きな違いがあることも明らかになりました。骨からは良好なタンパク質が検出された一方、象牙からはほとんど検出されませんでした。これは、象牙を構成する象牙質が、象牙細管と呼ばれる微細な管を無数に持つ構造であるため、骨に外的環境に接しやすく、タンパク質の分解が進みやすかったためと考えられます。この発見は、今後のパレオプロテオミクス研究においてタンパク質が残りやすい試料を選定する上で重要な指針となります。

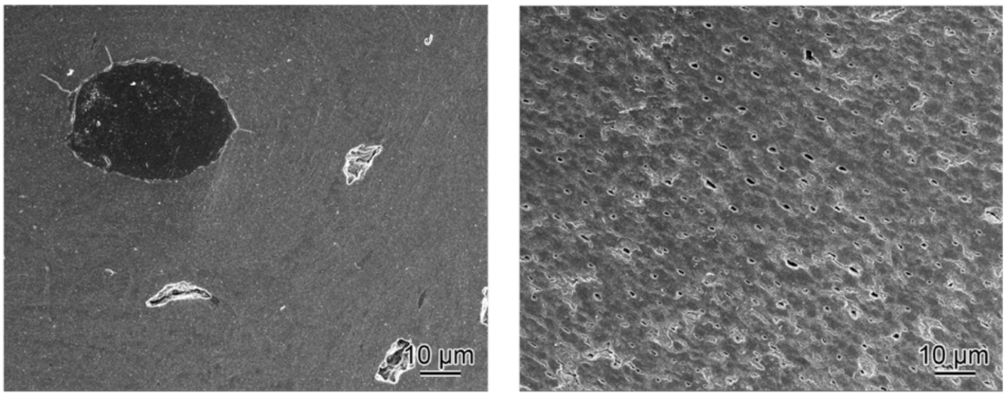

図 5. 骨(左)と象牙(右)の電子顕微鏡写真.

【今後の期待】

今回開発した染色は、安価かつ簡便に行えるため、高価で時間のかかる質量分析にかける前に、タンパク質が良好に保存されている化石を選別する(スクリーニングする)ための強力なツールとなります。これにより、研究の効率が飛躍的に向上します。今後は、本技術を様々な年代や保存状態の化石に応用し、将来的には数千万年以上前の恐竜化石に残るタンパク質の探索とそのアミノ酸配列解読に挑戦することで、生物進化の謎をさらに深く解明できると期待されます。

【稲葉勇人（筆頭著者）のコメント】

パレオプロテオミクスの研究にいつもつきまとうのは、「本当に古代のものか？」という汚染の問題です。今回確立した染色法は、複雑な分析の前に、化石に残るタンパク質の保存状態を「目で見て」確かめることができる画期的な手法です。数万年前のコラーゲンが目の前で鮮やかな赤色に染まった時の感動は忘れられません。この技術が、誰も見たことのない恐竜のタンパク質の発見など、未来の研究の扉を開く一助となれば幸いです。

【語句説明】

※1　**パレオプロテオミクス**：化石などの古い試料に残されたタンパク質を分析し、絶滅生物の系統関係や進化、生態などを探る研究分野

※2　**コラーゲン**：皮膚や骨を構成する主要なタンパク質。骨の有機成分の約 90%を占める

※3　**内因性タンパク質**：微生物や現代の生物による汚染(コンタミネーション)ではなく、化石となった生物にもともと由来するタンパク質

※4　**非脱灰研磨標本**：化石を構成する鉱物(カルシウム成分)を酸で溶かす「脱灰」処理を行わずに作製した薄片標本。組織の元々の構造が保たれる

【論文情報】

論文名: New Application of Histological Staining for Visualization of Endogenous Proteins in Fossil Material
著者名: Hayato Inaba, Kentaro Chiba, Mototaka Saneyoshi, Takaaki Miyaji, Asako Kawakami, Noriyuki Nagaoka, Yasushi Takechi, Kiyofumi Takabatake, Kirstin S. Brink, Miu Tanaka, Masaki Eda, Yoshitsugu Kobayashi, and Hidetsugu Tsujigiwa
雑誌名: Journal of Proteome Research
DOI: 10.1021/acs.jproteome.5c00078
オンライン公開日: 2025 年 6 月 25 日

【発表者・研究者等情報】

稲葉 勇人

兵庫県丹波市教育委員会 教育部恐竜課 教育普及専門員
岡山理科大学大学院 総合情報研究科

千葉 謙太郎
岡山理科大学 生物地球学部 恐竜学科 講師

實吉 玄貴
岡山理科大学 生物地球学部 恐竜学科 教授

宮地 孝明
岡山大学 学術研究院教育研究マネジメント領域（研究・イノベーション共創機構附属自然生命科学研究支援センター）研究教授

川上 朝子
岡山大学 研究・イノベーション共創機構（附属自然生命科学研究支援センター）技術補佐員

長岡 紀幸
岡山大学 学術研究院医歯薬学域 助教

武智 泰史
倉敷市立自然史博物館

高畠 清文
岡山大学 学術研究院医歯薬学域 助教

Kirstin S. Brink
Associate Professor
University of Manitoba, Department of Earth Sciences

田中 望羽
北海道大学大学院 理学院
神流町恐竜センター

江田 真毅
北海道大学総合博物館 教授

小林 快次
北海道大学総合博物館 教授

辻極 秀次
岡山理科大学 生物地球学部 恐竜学科 教授

【研究助成】

本研究はJSPS 科研費「3,500 万年前の哺乳類化石を用いた化石分子系統解析手法の開発とその応用（課題番号：JP20K20950）」、「考古遺跡より出土する部分骨格標本の分子生物学的研究とその開発（課題番号：JP24K04373）」、岡山理科大学プロジェクト研究推進事業「特殊染色法を応用した脊椎動物化石の組織学的研究」（OUS-RP-22−5）、笹川科学研究助成「ティラノサウルス類の残存タンパク質の多角的解析から確立する、信頼性が高い化石タンパク質の検出方法（2023−4101）」 の助成を受けたものです。

【お問い合わせ先】

研究の全般について
兵庫県丹波市教育委員会教育部恐竜課 教育普及専門員 稲葉 勇人
TEL：0795-77-1887 E-mail：inaba.hayato@city.tamba.lg.jp

解析方法など技術的なことについて
岡山理科大学生物地球学部恐竜学科 教授 辻極 秀次
TEL：086-256-9523 E-mail：tsujigiwa@ous.ac.jp

研究の意義や経緯、その他について
岡山理科大学生物地球学部恐竜学科 講師 千葉 謙太郎
TEL：086-256-9689 E-mail：chiba@ous.ac.jp

以 上