

令和3年3月26日

## 若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 201980318

氏名 山口 晴香

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。  
なお、下記記載の内容については相違ありません。

### 記

- 1.派遣先: 都市名 ケンブリッジ (国名 英国 )
- 2.研究課題名 (和文) : 先史時代人における食の季節性復元に向けての歯根部連続サンプリング手法の確立
- 3.派遣期間: 令和2年1月4日 ~ 令和2年3月24日 (81日間)
- 4.受入機関名・部局名: ケンブリッジ大学 考古学・人類学研究科
- 5.派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

ケンブリッジ大学の受け入れ研究者の指導のもと、オックスフォード大学にてAndrea Czermak氏からコラーゲンの微量連続サンプリングを学んだ。具体的には、歯牙試料の石膏包埋、マイクロームによる切断、顕微鏡観察用試料の作成、脱灰した歯牙切片からのメスおよび生検トレパンを用いた象牙質サンプリングを習得した。また、ケンブリッジ大学にてEmma Loftus氏からマイクロミリング装置を用いた分析用試料の採取を習得した。

#### ①歯牙試料の石膏包埋・マイクロームによる切断・顕微鏡観察用試料の作成

これまで、硬組織の切片作成においては樹脂包埋が一般的であった。この方法では、切片作成後樹脂から試料を取り出すことができず、同位体分析の際に樹脂による汚染が起きてしまう懸念があった。しかし、水に溶出する石膏で包埋することによって、切断時は比較的強固に固定するが、その後試料を分析のために取り出すことができるようになった。さらに、採用者が同位体分析を行う元素を基本的には含まないため、同位体分析への影響も最小限に止めることができるようになった。この方法で、同位体分析のために2mm厚の切片、および透過光顕微鏡観察様の600-800 $\mu$ m厚の切片を作成した。

#### ②脱灰した歯牙切片からのメスおよび生検トレパンを用いたコラーゲン炭素・窒素安定同位体分析用象牙質試料サンプリング

こちらにおいては、2つの方法を比較検討した。メスを用いた斜め方向のサンプリングでは、顕微鏡下で観察された成長線に沿ってより正確なサンプリングが可能である一方、技術と集中力を要する。生体トレパンを用いたサンプリングでは、システムチックに速くサンプリングが可能である一方、斜めに走る成長線の角度までは反映させることができなかった。成長線をうまく可視化できる場合、次に紹介するマイクロミリング装置を用いて脱灰前に粉状にサンプリングするという手段も検討する必要がある。

#### ③マイクロミリング装置による分析用試料の採取

この方法は、主に貝の成長線に沿った分析用試料の採取で用いられている。顕微鏡ライブ画像に対しソフトウェアで掘削軌道を定めてサンプリングが可能であるため、より正確に成長線に沿った試料採取が期待できる。①で切片を作成した後、粉状に同位体分析用の試料を採取し、前処理を行っていくことが望ましい。ただし、粉状の微量試料の前処理ではその過程でサンプルロスが起こることが多く、これについては今後も手法改善・開発を継続して行っていく。

## 6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

### ■研究成果発表等の見通し

当初の滞在予定より新型コロナウイルス感染症の拡大より短期間になってしまったため、採用者の研究対象である縄文時代・弥生時代の人歯資料を用いたサンプリング・同位体分析は現地で行うことができなかった。しかし、帰国後歯牙試料の石膏包埋、切断機による切片作成、顕微鏡観察が所属機関でも実施可能になった。現在は現代人歯を用いた試験的実験が中心であるが、すぐに先史時代資料に応用する準備ができています。初期段階の発表として、縄文時代・弥生時代の資料において詳細な成長線の観察は行えた段階でまず得られた知見を国内学会にて発表予定である。本発表としては、同位体分析を行ない食性の時期変化について検討した上で、採用者の学位論文および査読付国際誌にて発表する。

### ■今後の研究計画の方向性

#### ①歯の成長線の可視化

帰国後現代人歯を用いた試験的な実験では、歯冠エナメル質では周期的に形成されるレチウス条と考えられる線、歯根象牙質では周期的に形成される線と垂直に走るとされる象牙細管が実体顕微鏡下で観察できた。目標としては、象牙質でおよそ5日周期で形成されるフォン-エブナー線を観察し、これに沿って微量サンプリングを進めることを挙げている。これには観察標本の染色、偏光透過光顕微鏡等でのさらなる観察が必要である。しかし、現時点で成長方向について参照できる線が実体顕微鏡レベルでも観察でき、サンプリングの掘削軌道の設定に使用可能と期待される。

#### ②同位体分析に向けた前処理における試料ロス防止

今回習得したサンプリング方法を用いると分析試料が微量化するため、前処理による試料ロスを防ぐことが求められる。酸素同位体比は飲料水の水温変化に由来する季節情報が得られることが期待されるため、採用者はまず炭酸塩の同位体分析を行う予定である。予備的検討として同じ歯牙試料から採取した微量エナメル質試料に対して、炭酸塩分析の通常前処理の過程(超純水・次亜塩素酸ナトリウム・酢酸バッファーによる洗浄)の同位体比による影響を評価したところ、資料によって各試薬が同位体比に与える影響が異なったため、現時点では通常量サンプルに対して行う前処理を微量サンプルにも適応すべきと考えている。前処理の方法を簡素化するのではなく、前処理を行ったマイクロチューブから同位体比測定を行う容器に移す際も試料ロスが起きるため、測定用容器内で前処理を行う、もしくは前処理を行った試料を超純水に溶かした状態で測定用容器に移し、蒸発乾固させる等して試料ロスを防ぐことを検討している。コラーゲンを用いた炭素・窒素安定同位体分析では予備的検討にて窒素同位体比は100 μg(従来比1/4量)、炭素同位体比は50 μg(従来比1/8量)で安定して測定可能なことが分かった。しかし、実際に象牙質の微量試料中のコラーゲン分析を行うには、コラーゲン抽出の過程における試料ロスも無視できない。研究者によってコラーゲン抽出の方法は異なるが、通常量の試料に対して行っている「ゼラチン化」「濾過による不純物の除去」が微量試料についてもできるかを検討中である。一番問題となるのは試料ロスであり、これについては通常量の試料で用いられる吸引ろ過を、容器内での膜濾過に置き換えることで実行可能か検討する。

## 7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

### ・国際学会での発表

採用期間中に行われていた現地の国際学会で口頭発表を行い、初めて国際的な場でこれまでの成果を発表することができた。

### ・新しい実験手法の習得

先行研究を参考に自身でも取り組んでいたが、成功していなかった実験手法について論文著者から直接指導を受けることで技術を素早く習得することができた。

### ・現地研究者との交流

採用者が現在得ているデータについて、非公式な場で活発に議論を行うことができた。また、学会や大学で講義に参加する中で直接同分野・近接分野の研究者と交流することによって、研究や学位取得後のキャリアパスに活かせる新しいアイデアや人脈を獲得することができた。

### ・現地の研究環境の調査

現地の博士学生は授業のTA以外に、学部生のアドバイザーも務めており、担当する学部生が割り当てられた上で積極的に指導に参与していた。こういった活動には報酬が与えられ、フィールドワーク等に対しても企画書が認められると大学から補助金が出ていた。そのため、博士課程中に経済的に困窮している学生は比較的少ないように見受けられた。また、博士課程中の指導経験が現地でポストクのポジションに応募する時に重視されるということも学んだ。一方で、指導することが多く求められる分、自身の研究に専念できる時間が少なくなる傾向があるように感じられた。採用者の受け入れ研究機関では英国外からの研究者・学生が多く、英語を用いてコミュニケーションを取る能力が必須であった。採用者が“Visiting Student”として訪問を許可される際もIELTSで高得点を取得することが条件とされていた。英語でのコミュニケーション能力よりも、学生ビザの取得や海外でのフィールドワークで得た資料の持ち込みで苦勞する研究者・学生が多いようであった。学生間および指導教員と学生の間で活発な意見交換が行われており、さらに進捗報告も場合によっては研究室ではなく複数の研究室間で行うことによって異なる視点から貴重な意見をもらうことができる環境が備わっていた。質量分析器を用いた測定・メンテナンスや実験に必要な器具の工作等には専属の技術員が雇われている場合が多く、学生はそれに至るまでの研究計画や前処理、データ解析に時間をより多く割く傾向にあった。上記のような現地の研究環境を知ることにより、学位取得後どういった地域・研究機関で研究に従事したいか、また自身が研究室を運営する立場になった際どのような環境を作りたいかを考える良い機会を得た。