

DNA 型検査による個人識別

北村 雅史[†]

DNA Typing for Individual Identification

Masashi Kitamura[†]*Forensic Science Laboratory, Ishikawa Prefectural Police H.Q.; 1-1 Kuratsuki, Kanazawa, Ishikawa 920-8553, Japan.*

(Received July 30, 2018)

As criminal cases have become more complicated, Japan's law enforcement officials are promoting the use of more sophisticated technologies, such as DNA analysis, in the course of criminal investigations in order to verify facts with objective evidence. The primary DNA analysis method employed by law enforcement officials is short tandem repeat (STR) analysis, a method for identifying individuals utilizing individual differences in the number of repeat units of characteristic DNA sequences. Presently, STR analysis can discriminate between individuals with the probability of one in approximately 4.7 trillion, even when the DNA profile is the most common type among the Japanese population. In every prefectural police department, members of criminal investigation laboratories, who were trained and certified by the Training Center of Forensic Science at the National Research Institute of Police Science, perform STR analysis. Forensic DNA analysis plays an important role not only in criminal investigations but also following large-scale disasters, to aid in individual identification. The accuracy of DNA typing is increasing with the availability of STR typing kits that can examine more loci than conventional kits. However, it remains difficult for DNA analysis to identify individuals with only small amounts of samples, old samples, or mixed samples. New methods for handling these problematic samples are required. Here, we review current investigative techniques and challenges of DNA analysis, and focus on the latest research for solutions to these challenges.

Key words—short tandem repeat; forensic analysis; individual discrimination; DNA typing

1. はじめに

巧妙化する犯罪に対応し、かつ客観証拠に基づく立証を図るために、科学技術の積極的な活用が望まれている。現在採用されている DNA 型検査技術手法は 2000 年代に全国で運用が開始されたものであり、一般的な犯罪捜査の手法の 1 つとして広く浸透している。警察の犯罪捜査において DNA 型検査は殺人事件や強盗事件などの凶悪事件から窃盗事件や条例違反まで軽重問わず様々な場面で活用され、欠かすことのできない科学技術手法の 1 つである。2007 年から 2016 年まで警察において実施された DNA 型鑑定の資料数を Fig. 1 に示す。¹⁾ DNA 型検

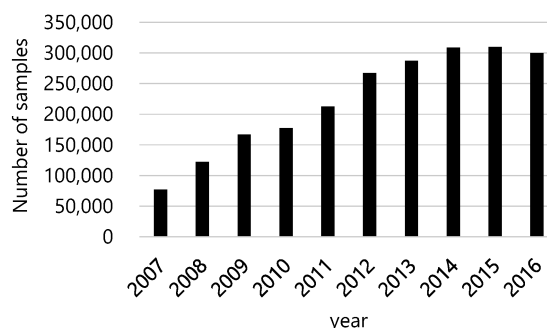


Fig. 1. Annual Change of the Number of Samples for DNA Typing Conducted by the Japanese Police Organization (2007–2016)

査の実施資料数は 2007 年 (76938 件) から 2012 年 (266867 件) まで急激に増加しているが、ここ数年における実施資料数は 30 万件前後で横ばい傾向である。DNA 型検査を行う人材の確保を積極的に行ったことや犯罪捜査への活用方法が十分に浸透したことにより、実施件数がプラトーに達したと考え

石川県警察本部刑事部科学捜査研究所 (〒920-8553 石川県金沢市鞍月 1 丁目 1 番地)

現所属: [†]城西大学薬学部薬学科生薬学研究室 (〒350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1)

e-mail: kitamura@josai.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 138 年会シンポジウム S45 で発表した内容を中心に記述したものである。

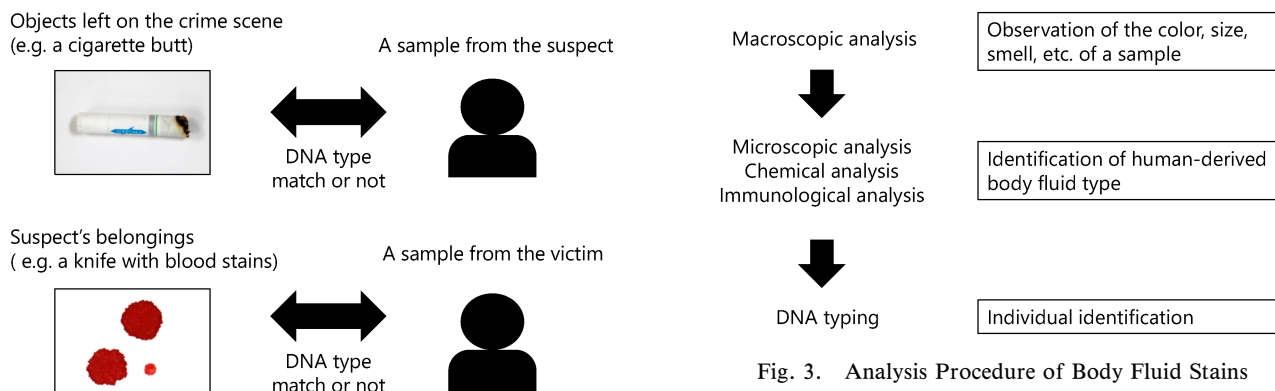


Fig. 2. DNA Analysis Performed for Connecting Crime-related Samples with a Person
(Color figure can be accessed in the online version.)

られる。現行の DNA 型検査は short tandem repeat (STR) 領域と呼ばれる短い配列の繰り返し領域を検出して行われている検査 (STR 型検査) であり、多少の改良は行われているものの技術的には円熟期を迎えている。一方、STR 型検査は時間や手間がかかる点、極めて微量な試料や混合した試料を対象にした場合に精度の低下を伴う点が STR 型検査導入時からの問題であり、これらを克服する手段が求められている。本稿では警察で行われている STR 型検査の現状と課題について紹介し、課題を解決するための研究や今後の展開について紹介する。

2. DNA 型検査法について

2-1. DNA 型検査の目的と検査実施までの流れ

DNA 型検査はヒトとモノをつなぐことを目的として実施される。犯罪捜査を例に挙げると、遺留品に付着した体液 (血液や唾液など) が被疑者由来のものであるか調べる目的で DNA 型検査が実施される (Fig. 2)。また、DNA 型検査は犯罪捜査のみならず、身元確認にも活用されている。生体試料と生前使用していた試料の DNA 型を比較することで身元を特定することができる。生前使用していた試料が不明な場合には、生体試料と親又は子の対照試料を用いた親子鑑定により身元を特定する。

警察の鑑識活動により採取された試料は、科学捜査研究所 (科捜研) に鑑定嘱託され、DNA 型検査だけでなく様々な検査が実施される (Fig. 3)。科捜研では DNA 型検査に先立ち、試料の形態や由来などの検査を行う。²⁾ まず、試料について色や大きさ、臭いなどの外観の検査が行われる。次に体液種 (血液・唾液・精液など) の同定が化学的検査や顕

微鏡による組織学的検査、血清学的検査などにより行われる。このように試料が「どのような状態」であり「何に由来するのか」を明らかにするために検査が行われる。これは、その後に行われる DNA 型検査結果の信ぴょう性や科学的合理性を支える上でも重要なプロセスである。DNA 型検査の対象は血液、唾液、精液などの体液のほかにも毛根鞘の付着する毛髪、骨、歯、筋組織などの試料であり、近年では、タッチサンプルと呼ばれる触れることで付着する皮膚片などを対象とした検査が求められるケースがある。

2-2. DNA 型検査法について ゲノム上には DNA の反復配列がいたるところにあり、2-6 塩基の繰り返しはマイクロサテライト若しくは STR と呼ばれる。法科学における DNA 型検出では、STR 領域の繰り返しの回数に個人差が認められることを利用し個人識別を行う。通常の STR 型検査は常染色体上の STR 座位 (ローカス) 十数ヵ所に加え、性染色体上のアメロゲニンを検出する。これらのローカスを市販のキットを用いたマルチプレックス PCR により一度に増幅する。国内ではサーモフィッシャーサイエンティフィック社の Identifiler[®] 若しくは Identifiler plus[®] を用いた 15 ローカスの STR 型検出が一般的である。³⁾ DNA 型検査は DNA の抽出・定量・増幅・泳動分離・解析の手順で行われる。マルチプレックス PCR により得られた増幅産物はキャピラリー電気泳動により泳動分離され、フラグメント解析により型判定が行われる。DNA 型の解析結果は繰り返しの回数で表記される。例えば、あるローカスで検出された繰り返し回数が 8 回と 10 回であれば、その DNA 型を「8, 10 型」と表記する (Fig. 4)。日本人の各ローカスにおける繰

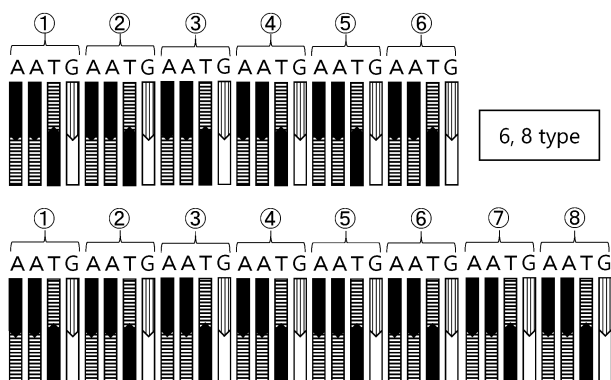


Fig. 4. STR Results Depicted as "Type"

り返し回数の出現頻度データを用いることにより、検出された DNA 型は何人に 1 人であるか算出することが可能である。⁴⁾ Identifiler plus[®]を用いた 15 ローカスの STR 型検査では最もありふれた場合でも約 4 兆 7 千億人に一人という出現頻度になるため、すべてのローカスで一致する DNA の寄与者は特定の条件（一卵性双生児）を除けば本人以外理論上考え難い。近年では、検出するローカスの数がさらに多いキット（プロメガ社の PowerPlex[®] Fusion System では 24 ローカス、サーモフィッシュサイエンティフィック社の GlobalFiler[™] STR キットでは 24 ローカス）が市販されており、これらを用いることで個人識別能力はさらに向上する。^{5,6)}

3. DNA 型検査の信頼性

3-1. 運用の基準 DNA 型検査の結果が客観的科学的証拠として採用されるためには、検査結果が第三者に信頼されることが前提となる。そのため DNA 型検査は「検査技術の妥当性」「検証可能性（再検査を見据えた検査）」、「検査人の能力」の観点から厳しく品質管理される必要がある。都道府県の科捜研で行われる DNA 型検査は全国共通した手法が採用され、日本 DNA 多型学会の「DNA 鑑定についての指針」や警察庁より発出されている「DNA 型鑑定の運用に関する指針」に基づき運用が行われている。^{7,8)}

3-2. 検査技術の妥当性 第一に DNA 型検査は倫理性に配慮しながら行われる。警察における DNA 型検査は遺伝情報を有さない領域を用いて行われており、検査結果から身体的特徴や遺伝病などの情報を得ることはない。また、検査で用いられる試薬や消耗品は法科学的品質（ヒト DNA の汚染が

ないこと）が保証されたものを積極的に用い、DNA のコンタミネーションが起きないように細心の注意が払われる。さらに、検査手法は科学的に確立され広く認知された手法が用いられている。曖昧な結果を排除する一例として、極めて微量な DNA（ヒトの細胞数十個程度）を鋳型とした low copy number (LCN) 解析の不採用が挙げられる。LCN 解析は PCR のサイクル数をマニュアルの回数より増やすことなどにより高感度検出を行い、通常の検出感度以上の結果を得る解析手法である。LCN 解析は再現性やコンタミネーションの可能性を始めとした疑義が生じるため、日本の警察において LCN 解析は行われていない。このことから「検出できる可能性」よりも「信頼される結果」を重視し検査が行われていることが窺える。

3-3. 検証可能性（再検査を見据えた検査）

法科学における検査は再検査を見据えた実施が要求される。DNA 型検査も例外ではなく、再採取が不可能な試料の場合、試料すべてを用いて検査することは極めて稀であり、再検査を行うために必要な試料を残して検査を実施する。また、DNA 型検査は再現がとれるように検査記録を残し、第三者機関における追試に配慮しなければならない。

3-4. 検査人の能力 科捜研で行われる DNA 型検査は警察庁管轄の法科学研修所において所定の技術訓練を受け「DNA 型検査認定資格書」の交付を受けた研究員が行う。資格取得後も一定の技術管理が行われており、検査方法や解析手法は全国で統一されるよう品質管理が行われている。検査人は技術的な知識を要求され、法廷の求めがあれば検査内容に関する根拠を提示し説明しなければならない。

4. DNA 型検査の課題

DNA 型検査は個人識別能力の高い点や微量の試料でも実施可能である点から、すべての試料で有効であるように誤解されがちである。実際には、DNA 型検査は混合した試料や微量試料において弱点が存在する。弱点を理解し課題を知ることが DNA 型検査結果を解釈する上でも重要となる。

混合した試料の DNA 検査結果から寄与者の DNA 型を特定することは困難である。例えば、あるローカスにおいて「10, 11, 13, 14 型」が検出された場合、2 人以上の混合した DNA 型であると解釈することができる。この寄与者の組み合わせは

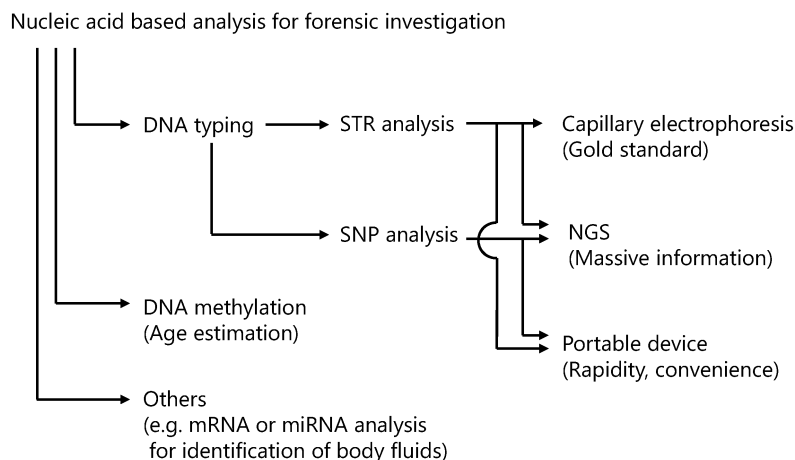


Fig. 5. Nucleic Acid Based Analysis for Forensic Investigation

「10, 11 型 + 13, 14 型」「10, 13 型 + 11, 14 型」「10, 14 型 + 11, 13 型」と解釈することもでき、「10, 11 型 + 13, 14 型 + 10, 13 型」といった 3 人の関与として解釈することもできる。以上のことから、混合した試料から検出される DNA 型の解釈は複雑となるケースが多い。

タッチサンプルは皮膚接触痕とも言われ、物体（体表・衣服・小物など）に触れたことで付着する皮膚片などを指す。タッチサンプルは抽出される DNA 量や質（分解程度など）にばらつきが大きい。そのため、同じような試料でも DNA 型が（全部若しくは一部）検出されるケースもあれば、全く検出されないケースもある。タッチサンプルから抽出される DNA の量や質は接触した時間・接触した物体の素材・接触者の個人差・接触後の経過時間・試料の保管状態など様々な影響を受けることが考えられる。そのため、どのような試料から DNA 型が検出される（検出されない）か画一的な見解を下すことはできない。さらにタッチサンプルの検査対象となる衣服や小物は日常的に第三者が触れる可能性もあることから、検出された DNA 型が犯行時に付着したもののなのか（事件と関連のある結果なのか）を科学的に証明する術がない。すなわち、「DNA 型が検出されない」ことは「接触していない」ことの証明にはつながらない点や「DNA 型が検出された」ことが「犯行時に接触した」ことの証明にならない点を考慮しなければならない。そのため、タッチサンプルから検出された DNA 型は他の体液の DNA 型の結果に比べ、慎重な解釈が求められる。また、他の

体液の場合においても DNA 量や質により DNA 型が全く若しくは一部しか検出されない場合があり、そのような場合は個人識別能力が著しく低下する。以上のように混合した試料や微量の試料からの DNA 型検査はその評価や解釈が通常よりはるかに難しい。

5. 最近の技術開発と今後の展開について

近年では、次世代シーケンサー（next generation sequencer; NGS）の普及が法科学分野の技術進歩に大きな影響を与えている。現行のキャピラリー電気泳動による STR 型検査は PCR 増幅長から繰り返し回数を割り出すことで行っている。一方、NGS による STR 型検出はシーケンスにより繰り返し回数を算出している。すなわち、NGS を用いた STR 型解析はアレル上の塩基配列情報の違いも加味することができ、混合した STR 型における寄与者の特定に有効である。⁹⁾ また、STR 領域を用いずに一塩基多型（single nucleotide polymorphism; SNP）を検出することで個人識別を行うことが可能である。¹⁰⁾ SNP 検出の利点は STR 型による検出に比べ PCR 増幅長が短いため、分解した DNA に対して有効である点が挙げられる。個人識別向けの SNP マーカーだけでなく、目や髪の毛の色を始めとした表現型探索向けの SNP マーカーも確立されており、これらの SNP マーカーを検出する技術的基盤が既に実用化段階で整っている。¹¹⁾ NGS による DNA 型解析は従来の DNA 型結果との互換性、シーケンサーデータのポピュレーションデータ、結果の解釈に資するバイオインフォマティクスなど様

々な考慮されるべき事項が残されている反面、従来の検査法では解決できない問題を解消する技術的なポテンシャルを有している。技術面だけではなく倫理性や実務応用性に関して慎重に検証されながら、新たな DNA 型検査法が確立されていくことが期待される。

現場で実施可能な DNA 型検査法も近年では開発が進んでいる。通常の STR 型検査は専門家による実験室内での作業を要し、処理から判定まで短くても約 8-10 時間程度を必要とする。報告されている全自動の DNA 型検出装置 (DNAscan/ANDE™ Rapid DNA Analysis™ System や RapidHIT® System) は 2 時間以内に STR 型検出を行うことができる。^{12,13)} また、近年では、従来の DNA 解析とは異なる原理のナノポアシーケンサー MiniON がオックスフォード・ナノポア・テクノロジーズ社から市販されている。MinION の特徴は直接 DNA や RNA のシーケンスが可能であり、かつ多くの情報量 (ギガベース規模の塩基配列情報) を得ることができる点である。さらに装置も安価でコンパクトであることからオンサイト向けの DNA 解析として系統解析などで用いられており、法科学への応用が期待される。¹⁴⁾

6. おわりに

個人識別のための DNA 型検査は現行の手法 (キャピラリー電気泳動装置による STR 型検査) が今後もゴールドスタンダードとして採用され、SNP 解析や NGS を用いた解析手法にすぐに切り替わることはないと予想される (Fig. 5)。一方で、近年では DNA のメチル化を利用して年齢を推定する実務応用向けの研究が行われており、タバコから約 7.65 歳の平均絶対偏差 (mean absolute deviation) で実年齢を推定することが可能である。¹⁵⁾ 年齢推定を始めとして新たな情報を得るための技術的基盤が充実しつつある昨今、法科学に資する DNA の役割は新たな展開を迎えている。

謝辞 執筆の機会を与えてくださった科学警察研究所 瀬戸康雄先生 (現 理化学研究所放射光科学研究センター)、井上博之先生 (現 国際医療福祉大学) に深謝いたします。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) National Police Agency. “Keisatsuhakusho.”: <https://www.npa.go.jp/publications/whitepaper/index.html>, cited 1 June, 2018.
- 2) Butler J. M., “Forensic DNA Typing,” Kyouritsu Shuppan Co., Ltd., Tokyo, 2009, pp. 34-36.
- 3) Collins P. J., Hennessy L. K., Leibel C. S., Roby R. K., Reeder D. J., Foxall P. A., *J. Forensic Sci.*, **49**, 1265-1277 (2004).
- 4) Yoshida K., Takahashi K., Kasai K., *J. Forensic Sci.*, **50**, 718-719 (2005).
- 5) Oostdik K., Lenz K., Nye J., Schelling K., Yet D., Bruski S., Strong J., Buchanan C., Sutton J., Linner J., Frazier N., Young H., Matthies L., Sage A., Hahn J., Wells R., Williams N., Price M., Koehler J., Staples M., Swango K. L., Hill C., Oyerly K., Duke W., Katzilierakis L., Ensenberger M. G., Bourdeau J. M., Sprecher C. J., Krenke B., Storts D. R., *Forensic Sci. Int. Genet.*, **12**, 69-76 (2014).
- 6) Wang D. Y., Gopinath S., Lagacé R. E., Norona W., Hennessy L. K., Short M. L., Mulero J. J., *Forensic Sci. Int. Genet.*, **19**, 148-155 (2015).
- 7) Japanese Society for DNA Polymorphism Research. “DNA Kantei nitsuite no Shishin,” 2012: <http://dnapol-web.sakura.ne.jp/wp/wp-content/themes/dnapol/pdf/guideline-2012.pdf>, cited 1 June, 2018.
- 8) National Police Agency. “DNA gatakantei no Unyou nikansuru Shishin no Kaisei nitsuite.”: <https://www.npa.go.jp/pdc/notification/keiji/kanshiki/kansiki20101021-1.pdf>, cited 1 June, 2018.
- 9) Guo F., Zhou Y., Liu F., Yu J., Song H., Shen H., Zhao B., Jia F., Hou G., Jiang X., *Forensic Sci. Int. Genet.*, **23**, 111-120 (2016).
- 10) Gettings K. B., Kiesler K. M., Vallone P. M., *Forensic Sci. Int. Genet.*, **19**, 1-9 (2015).
- 11) Thermo Fisher Scientific. “Ion AmpliSeq Community Panels.”: <https://ampliseq.com/tmpl/view.action?tmplDesignId=87948055#/listAction=tmplCoverageSummaryList&tmplDesignId=87948055&wrapperId=ajaxTableWrapper>, cited 1 June, 2018.
- 12) Moreno L. I., Brown A. L., Callaghan T. F.,

- Forensic Sci. Int. Genet.*, **29**, 100–108 (2017).
- 13) Hennessy L. K., Mehendale N., Chear K., Jovanovich S., Williams S., Park C., Gangano S., *Forensic Sci. Int. Genet.*, **13**, 247–258 (2014).
- 14) Benítez-Páez A., Portune K. J., Sanz Y., *Gigascience*, **5**, 4 (2016).
- 15) Hamano Y., Manabe S., Morimoto C., Fujimoto S., Tamaki K., *Sci. Rep.*, **7**, 10444 (2017).