

知っておきたいキーワード

DNA 鑑定

(正会員) 横山 徹†

†株式会社日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部

"DNA Analysis" by Toru Yokoyama (Bio Systems Design Dept., Hitachi High-Technologies Corporation, Ibaraki)

キーワード：DNA, STR, アレル, PCR, 電気泳動, 蛍光色素

DNA とは

DNA (Deoxyribonucleic Acid : デオキシリボ核酸) とは、生物の体を作るための設計図である遺伝子を構成する高分子です。DNAは「ヌクレオチド」と呼ばれる分子が鎖状に連なって構成され、そのヌクレオチドは塩基、糖、リン酸の三つから構成されます。個々のヌクレオチドの塩基にはアデニン、グアニン、シトシン、チミンの4種類があり、それぞれ頭文字をとってA, G, C, Tと略記されます。DNAの構造はA, G, C, Tの4文字から成る配列で表現され、この配列そのものが遺伝情報を担います。配列の長さやパターンによって、人類およびすべての生命体の多様性が生みだされています(図1)。

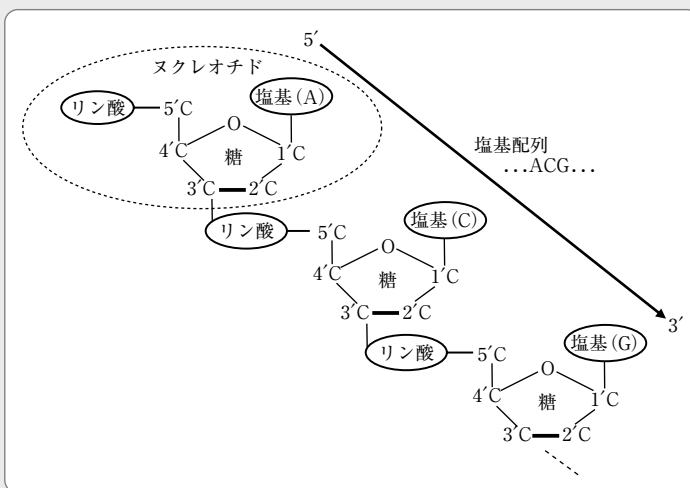


図1 DNAの基本構成

DNA多型とSTR

(1) DNA多型とは

同じ種に属する生物のDNA配列の大半は同じパターンを持ちますが、わずかな部分では配列パターンや長さが異なることで個体差がつくられます。例えば、ヒトのDNAは約30億の塩基長の配列から成り、その99.7%が同じパターンですが、残りのわずかな部分(0.3%)の配列は個人間で異なります。このような、集団の個体差を形成

するDNA配列をDNA多型と呼びます。DNA多型には、配列パターンが異なる「配列多型」と、特定の配列パターンの反復回数が異なる「配列長多型」の二種類が存在します(図2)。

(2) STRとは

DNA鑑定では、STR (Short Tandem Repeat) と呼ばれる配列長多型が、個人識別のためのマーカとして多く用いられています。STRは、4塩基長程度の短い配列パターンの反復により構成され、その反復回数に個人

(A) 配列多型

----AGACTAGACATT----
----AGATTAGGCATT----

(B) 配列長多型

反復数=3 ----(AACG)(AACG)(AACG)----
反復数=2 ----(AACG)(AACG)----

図2 DNA多型の種類

差が現れます。このSTRの反復回数は「アレル」と呼ばれ、このアレルのパターンが個人性を反映する

☞ プロファイル情報となります。

DNA鑑定では、このSTRマーカを複数種類用いることで、個人の識別精度を向上させます。例えば、一つのSTRマーカが100人に1人の割合で他人同士が一致してしまう場合でも、このようなSTRマーカを二つ用いれば、10,000 (= 100²) 人に1人を識別でき、識別精度が向上します。犯罪捜

査など法医学分野のDNA鑑定では、15～17種類程度のSTRマーカのアレルを検出することで、高い識別精度を実現しており、別人で同一のパターンが出現する確率は、およそ5兆人に1人程度といわれています。

メンデルの法則により、個々のSTRマーカでは、親が持つ2種類のアレルのどちらか一つが子に受け継が

れます。子は父親と母親からそれぞれ一つずつ受け継ぎ、二種類のアレルを持ちます(ヘテロ接合)。もしも両親のアレルが同一である場合には、子が持つアレルは1種類となります(ホモ接合)。したがって、アレルのパターンを調べることで、親子鑑定や血縁鑑定を行うことが可能となります。

DNA鑑定の流れ

(1) DNA抽出・精製

DNAは体を構成する細胞の核の中に存在し、血液、精液、爪、毛髪、表皮、唾液、尿など、さまざまな生体試料から採取することが可能です。細胞にはDNA以外にも、タンパク質、脂質など、DNA解析を阻害する不純物が含まれるため、試料からDNAのみを抽出して精製する必要があります。一般的には界面活性剤やタンパク分解酵素などを用いて細胞を溶解し、フェノール・クロロフォルムなどの有機溶媒を用いてタンパクや脂質を分離し、DNAを精製します。最近ではこうしたDNA抽出を効率よく行うキットが販売されています。

(2) DNA増幅(PCR)

生体試料から採取されるDNAの量は微量であり、そのままでは解析を行えません。DNA鑑定では、微量のDNAの特定領域のみを数時間で数100万倍以上に増やすPCR(Polymerase Chain Reaction: ポリメラーゼ連鎖反応)という技術が用いられます。PCRは、DNA鑑定のみならず、生物科学の分野で幅広く使われる基礎的な技術です。PCRでは、増幅したい領域の(両端の)配列に応じて人工的に合成した塩基配列(プライマー)を結合し、ポリメラーゼ(分解酵素)とともに特定の温度制御を数十回繰り返すことで、所望のDNA配列領域のみを指数関数的に増やすことができます。通常、DNA鑑定で用いる多数のSTRマーカの領域を増幅するための試薬が、STR解析キットとして

提供されています。

(3) 電気泳動と蛍光検出

増幅されたDNAからSTRマーカのアレルを検出します。DNA鑑定では、電気泳動(Electrophoresis)という技術が標準的に用いられています。

電気泳動では、DNA分子がマイナスの電荷を帯びている性質を利用し、高電圧を加えることでDNAを陽極側へ移動させます。このとき、DNAは分離媒体中の高分子によってふるいにかげられ、塩基長の短いDNAほど速く、長いDNAほど遅く泳動します。電気泳動ではこのDNAの泳動速度(つまりは陽極への到達時刻の違い)を検出し、検出部までの到達時刻からDNA分子の塩基長を求め、その塩基長からアレルを求めます。なお、電気泳動で用いられる分離媒体は、古くはポリアクリルアミドなどから作成された寒天状の素材(ゲル)が用いられていましたが、現在では、キャピラリーと呼ばれる30cm～50cm程度の細長い

石英ガラス管に高分子(ポリマ)溶液を充填させて分離媒体とする方法が主流となっています。

DNAの到達を検出するためには、蛍光イメージングの技術が用いられます。DNAは予め蛍光色素で標識されており、陽極側の照射・検出部において励起光を照射して、DNAが発する蛍光をカメラで検出します。蛍光強度は、DNAが検出部に到達した瞬間に高くなりますので、蛍光強度の時間変化を観測し、そのピーク時刻を求めることでDNAの塩基長が得られ、アレルが求められます。なお蛍光色素は、通常は4色～5色使用し、カラーフィルタや回折格子などによって波長方向に分けられます。蛍光の色数を増やすことで、より多くのSTRマーカを検出できるようになります(図3)。

(4) 解析

こうして得られた各STRマーカのアレルのパターン(図4)が、個人のプロファイル情報となり、☞

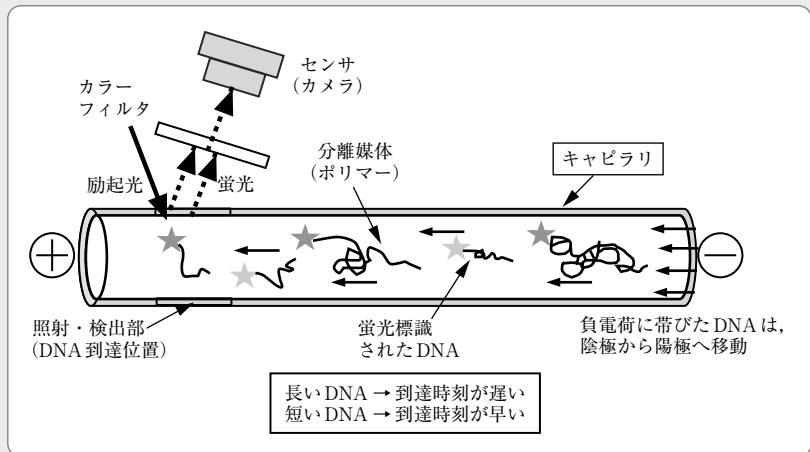


図3 電気泳動によるDNA長の検出原理

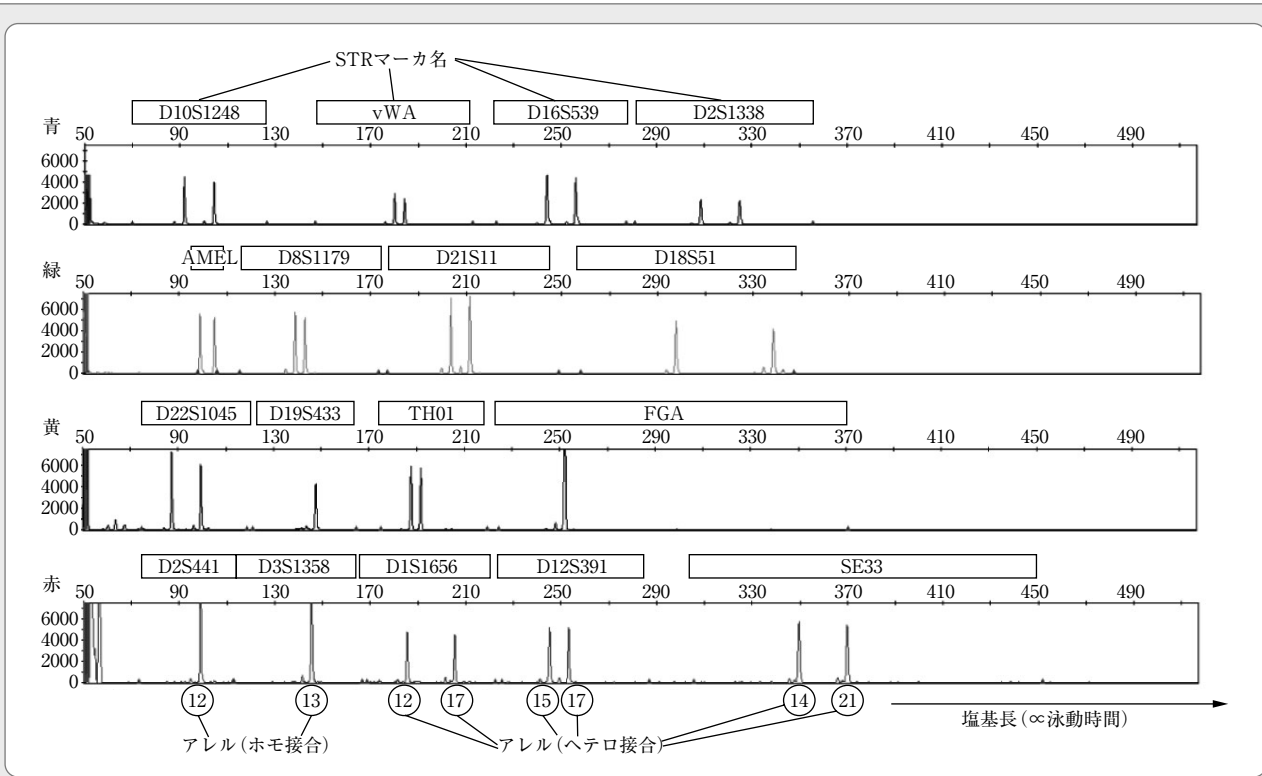


図4 蛍光強度波形とアレルパターンの例

個人識別や血縁・親子鑑定などの解析に用いられます。DNA鑑定は通常、採取したサンプル単体で行うものではなく、参照サンプルとの比較によって行われます。例えば、犯行現場などで採取されたDNA(証拠サンプル)と、被疑者から採取したDNA(参照サンプル)とで、アレルのパターンを比較し、それらが同一人物である可能性、別人である可能性などを、確率・統計

学的に解析して、鑑定書を作成します。実際には、採取したサンプルやDNAの劣化・汚染、被疑者以外のDNAの混合などによっては、得られたデータの解釈が難しいケースも多いようです。DNA鑑定結果は裁判での重要な証拠として採用されることが多いため、その品質や信頼性をいかに保証するかは非常に重要です。こうしたDNA鑑定の品質を保証するための組

織が世界では多く存在します(日本にはないようです)。例えば米国では、FBIの技術作業部会の一つであるSWGAM(Scientific Working Group on DNA Analysis Methods)が、DNA鑑定の妥当性評価についてのガイドラインを定めており、広く参照されています。

むすび

DNA鑑定は、法医学のみならず、動植物種の鑑定、食材の偽装鑑定、考古学、微生物鑑定など、さまざまな分野で使われています。技術の進展も目覚ましく、画像処理や信号処理、確率、統計など本学会となじみの深い技術もこの分野で大きく貢献しています。本稿をきっかけにDNA鑑定に関心をもていただければ幸いです。(2013年6月27日受付)

参考文献

- 1) J.M. Butler 著, 福島弘文・五條堀孝監訳: “DNA鑑定とタイピング—遺伝学・データベース・計測技術・データ検証・品質管理”, 共立出版(2009)
- 2) 赤根 敦: “DNA鑑定は万能か—その可能性と限界に迫る”, DOJIN選書(2010)



とこやま とおる 横山 徹

1999年、北海道大学大学院電子情報工学専攻博士課程了。同年、(株)日立製作所入社。以降、同社中央研究所にて、映像配信システム、マルチメディア通信、動画像符号化・高画質化などの研究開発に従事。2011年より(株)日立ハイテクノロジーズにて、DNA解析装置の信号処理の設計開発に従事。当会編集幹事、正会員、工学博士。