

研究成果報告書の概要

講座等名	法医学講座	事業推進者名	赤根 敦
所属部門	代謝部門		
分担研究課題	次世代シーケンサーを用いた法遺伝学研究		
キーワード	次世代シーケンサー, 法遺伝学		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	5名		
<p>研究組織（本プロジェクトに参加する研究者、大学院生等のリストおよびそれぞれの役割）</p> <p>赤根 敦（教授）：研究の統括</p> <p>橋谷田真樹（准教授）：研究計画の立案，遂行</p> <p>松本智寛（講師）：データの収集および解析</p> <p>吉村澄孝（助教）：データの収集および解析</p> <p>大林将弘（技術員）：データの収集および解析</p>			
<p>研究成果の概要（平成 29・30 年度の研究成果について）</p> <p>平成 29 年度</p> <p>（1）mtDNA whole genome analysis</p> <p>青森県八戸市で発掘された畑内遺跡は，18 世紀初頭から 19 世紀中頃の遺跡とされ，計 45 体分の人骨が見ついている．以前の研究では識別が不可能であった，人骨 3 体と発掘研究者 2 名について mtDNA whole genome analysis を行った．その結果，発掘された 3 体は同じ mtDNA を持ち，同じ母系であることが確認された．さらに研究者 2 名の配列にも違いが見られ，全ての mtDNA 配列を見ることで人骨 3 体，研究者 2 名の識別が可能となった．</p> <p>（2）165 single nucleotide polymorphism (SNP) データによる日本人と他民族との比較</p> <p>以前作成した，祖先及び家系情報を示す 165SNP 日本人データベースを元に，1000 Genome Project からアフリカ人，ヨーロッパ人，ベトナム人そして中国人の同じ 165SNP データを抽出し，それぞれの遺伝頻度分布の比較を行い，統計的解析を行った．その結果，165SNP データを用い入ることで，アフリカ人，ヨーロッパ人，東アジア人の識別を行うことが可能となった．しかし，東アジア人のベトナム人，中国人，日本人を識別するには，より多くの有効な SNP が必要であることが示唆された．</p> <p>（3）心臓突然死例の次世代シーケンサーによる遺伝子解析</p> <p>剖検時に採取した血液から多数の遺伝子変異解析を行う molecular autopsy は，明らかな死因が見られない心臓突然死に有効である．これまでにデータに加え，今年度は乳幼児 2 例を含めた 3 例の解析を行った．3 例とも 1600 を超える塩基置換が見つかり，病因と報告されている変異がそれぞれ 2～3 ヶ所見られた．特に乳幼児の一人ではリアノジン受容体 2 遺伝子 (<i>RYR2</i>) に c. 3320C>T (p. Thr1107Met) の重篤な変異が見られた．</p>			

平成 30 年度

(4) DNA メチル化解析による年齢推定

現場に残された生体試料や身元不明のご遺体からの DNA からその由来となる人物の年齢を推定することができれば、それは法医学実務上極めて有力な情報となる。当講座にて解剖に付され、死亡時年齢が判明しておりかつ外因死と診断された 40 症例の血液から DNA を抽出し、試料とした。バイサルファイト処理後、次世代シーケンサー Ion PGM System (Thermo Fisher Scientific) を用いてメチル化解析を行った。ターゲットとした遺伝子は、C1orf1, CCDC10, ELOVL2, FHL2, SLC6A4, TRIM59, KLF14, F5, ASPA, PDE4C の計 10 遺伝子である。得られたシーケンス結果から各 CpG 部位におけるメチル化率を算出し、回帰分析にてメチル化率と実年齢の相関関係を、さらに選択された複数のメチル化部位による重回帰分析によって推定年齢を検討した。その結果、10 遺伝子 16 カ所のメチル化部位の情報で、修正済決定係数は 0.949 (標準偏差 6.04) とより正確な推定が可能となった。

(5) 新たな Ancestry informative SNP markers kit の開発

DNA から由来となる人物の民族的背景を探索することは、法医学実務において重要な懸案事項である。そこで海外の複数の大学等で構成される、新たな ancestry informative markers の共同開発プロジェクトに参加した。人種の推定に有効だとされている 214SNPs を採用し、S5 System (Thermo Fisher Scientific) を用いてタイピングを行った。その結果、アフリカ、ヨーロッパ、中東、南アジア、東アジア、オセアニア、アメリカ先住民をそれぞれ確実に識別できることが確認された。しかし、残念ながら、東アジアの中のカンボジア人、中国人、韓国人、日本人を識別することはできなかった。そのためにはより多くのマーカーが必要になると思われる。