

## 論文の内容の要旨

論文題目 法科学分野において利用される Y 染色体 short tandem repeat の日本人集団における多型性

氏名 綿引晴彦

本研究では、法科学分野において利用される Y 染色体 short tandem repeat (Y-STR) の日本人集団における多型性を明らかにすることを目的とした。また、Y 染色体は一塩基多型 (SNP) や挿入欠失多型 (Indel) によって、複数のハプログループに分類されることから、Y 染色体ハプログループごとの Y-STR 多型の特徴についても調べた。

STR は繰り返し配列多型の一つであり、数塩基の単位配列が連続した領域である。法科学分野において最も多く利用されている STR は、繰り返し単位配列が 4 塩基のものである。例えば、STR の一つである D16S539 の単位配列は GATA の 4 塩基であり、この 4 塩基が 11 回繰り返されている場合、アレル (対立遺伝子) は 11 型として表記される。STR のアレルの表記法は単位配列の繰り返し回数を反映しており、電気泳動で検出された DNA 断片の長さによって試料 DNA のアレルが決定される。STR のアレルは集団内で多様であるため、法科学分野における個人識別や血縁検査において有用である。一般的に利用される検査キットでは、複数の STR を組み合わせることによって、識別力の向上が図られている。個人識別においては、識別力が高い常染色体 STR が特に有用である。一方、血縁検査等においては、性染色体 STR の利用が特に有用となる場合がある。ヒトの Y 染色体は男性のみに存在し、Y 染色体の両端に存在する pseudoautosomal region (PAR) を除く male-specific region of the Y-chromosome (MSY) が X 染色体と組換えを起こすことなく父親から息子にそのまま遺伝する。法科学分野では、MSY に存在する Y-STR が広く利用され、一本の Y 染色体上に存在する複数の Y-STR のアレルを組み合わせたハプロタイプが個人間で比較され

る。従来の日本における Y-STR の検査においては、Yfiler キットで検査される 16 種類の Y-STR を用いる場合が多かった。より精度の高い血縁検査等のためには、さらに多くの Y-STR を検査することによって、非血縁者間において Y-STR ハプロタイプが偶然一致する確率を小さくすることが望ましい。新たな Y-STR を検査に導入する場合は、それらの日本人集団における多型性について理解し、日本人集団を対象とした検査において注意すべき事項について明らかにしておく必要がある。

本研究の前半部分では、新たに市販された Yfiler Plus キットで検査される 25 種類の Y-STR の、日本人集団における多型性について明らかにすることを目的とした。同キットでは、従来の Yfiler キットで検査される 16 種類の Y-STR に新たな 9 種類を加えた 25 種類を同時に検査することが可能となった。日本人男性 1299 人に由来する試料 DNA を用いて、日本人集団の Y-STR データを得た。Yfiler キットの 16 種類の Y-STR では、1299 試料を 1133 種類のハプロタイプに分類できたのに対して、Yfiler Plus キットの 25 種類の Y-STR を用いた場合は 1294 種類のハプロタイプに分類することができた。DYS390 のピークが低い 1 試料については、PCR プライマーの結合領域に変異が存在することが疑われたことから、反復配列の周辺領域の塩基配列解析を行い、一塩基置換が生じた箇所を特定した。ピークが観察されないヌルアレルが存在した試料については、反復配列の近傍領域の PCR 増幅において増幅産物が観察されないことを確認し、Y 染色体微小欠失がその原因であると推定できる結果を得た。以上の結果は、法科学分野の鑑定実務において、同様の現象に遭遇した際に、その原因を推定するために有用であると考えられる。単位配列の塩基数とは異なる数の塩基が挿入（または欠失）しているマイクロバリエーションについては、35 例の試料において観察されたが、それらすべてについて塩基配列解析を行い、変異の位置を明らかにした。同一ハプログループ内で変異の内容が同じマイクロバリエーションをもつ試料については、Y-STR ハプロタイプの類似性が高く、それらの共通祖先となる Y 染色体において生じた変異がマイクロバリエーションの原因である可能性が示唆された。ハプログループ Q における DYS518 のマイクロバリエーション等、特定のハプログループに特徴的なものについては、他集団のデータと比較することによって、日本人集団におけるハプログループの由来の推定に有用となりうることが示唆された。

本研究の後半部分では、日本人集団における DYF387S1 のコピー数多型について調べた。DYF387S1 は、ヒト Y 染色体上の 8 カ所に存在するパリンδροーム (palindrome) 領域 P1 ~ P8 のうち P1 領域に存在する。パリンδροーム領域は、逆方向の長鎖反復配列がスペーサー配列を挟んで隣り合う構造をしており、DYF387S1 は P1 領域の 2 座位に存在する。しかし、日本人のハプログループ C-M131 において 3 種類のアレルが観察される試料が多かったことから、DYF387S1 にはコピー数多型が存在することが疑われた。STR 検査結果におけるシグナル強度に基づいてコピー数を推定したところ、ハプログループ C-M131 では 3 コピー存在する試料が多く、ハプログループ D-M57\*および N-M231 では 1 コピー存在する試料が多いことが示唆された。次に、蛍光標識プローブを用いた実験系を構築し、

DYF387S1 の 2 座位をパラログとして区別可能な paralogous sequence variant (PSV) の塩基配列を調べた。その結果、ハプログループ C および N では、すべての試料において PSV の塩基として T のみが検出され、ハプログループ D-M57\*、D-M125 および Q では、すべての試料において PSV の塩基として C のみが検出された。ハプログループ D-M174\* および O では、PSV の塩基として T と C の両方が検出されたが、一部の試料においては T と C のうち一方のみが検出された。さらに、PSV に T をもつ DYF387S1 パラログのアレルと、PSV に C をもつ DYF387S1 パラログのアレルを別々にタイピングできる実験系を構築し、それぞれの座位におけるアレル頻度を調べた。その結果、ハプログループ O においては、PSV に C をもつパラログのほうが DYF387S1 のアレルが大きい (単位配列の繰り返し回数が多い) 傾向にあることが明らかとなった。以上の結果に基づいて、Y 染色体ハプログループの系統樹を踏まえて考察すると、DYF387S1 のコピー数を変化させる変異が生じた過程について推定することができる。先行研究において、ハプログループ B の Y 染色体では DYF387S1 の両パラログが観察されていることから、日本人集団の Y 染色体とハプログループ B の Y 染色体の共通祖先においては、両パラログが存在していたと考えられる。その後、ハプログループ C-M130 および C-M131 に分岐する過程において、P1 領域における gene conversion および DYF387S1 を含む領域における重複が生じたと推定される。また、ハプログループ D-M57 の共通祖先において PSV に T をもつ DYF387S1 パラログを含む領域に欠失が生じ、その後、ハプログループ D-M125 の共通祖先において PSV に C をもつ DYF387S1 を含む領域に重複が生じたと推定される。ハプログループ N では、共通祖先において PSV に C をもつ DYF387S1 パラログを含む領域に欠失が生じたと推定される。ハプログループ O については、その共通祖先において DYF387S1 のコピー数を変化させる変異は生じなかったと推定される。ハプログループ Q においては、PSV に C をもつ DYF387S1 パラログのみ観察されたことから、共通祖先において PSV に T をもつ DYF387S1 パラログの欠失または P1 領域における gene conversion が生じたと推定される。各ハプログループにおける Y 染色体構造の変異については、日本人試料に関する報告が少ないことから、本研究の内容は日本人集団における P1 領域のハプログループ間における構造多様性について有用な知見を与えるものであると考えられる。また、日本人集団と共通のハプログループは他国の集団においても観察されることから、他集団における Y 染色体構造の理解のためにも有用な知見が得られたと考えられる。

本研究では、Yfiler Plus キットで用いられる 25 種類の Y-STR を組み合わせたハプロタイプの集団データを構築し、そこから得られた知見に基づいて日本人集団における Y-STR の多型性についてさらに調べた。25 種類の Y-STR を日本人集団の 1000 試料以上について調べた研究は本研究が初めてであり、得られた知見は法科学における鑑定実務や遺伝学における Y 染色体研究において有用であると考えられる。Y 染色体が重複や欠失を生じることについては以前から知られていたが、日本人に関する研究では試料数が少なかったり試料のハプログループが未知であったり、十分な知見が得られていなかった。本研究では

DYF387S1 に限定して重複や欠失を調べたが、得られた成果は日本人の Y 染色体構造に関する他の研究にも資すると期待される。また、日本人集団と Y 染色体ハプログループを共有する他国の集団における Y 染色体構造の理解のためにも、本研究の成果は有用であると考えられる。