

学位授与番号：甲 1 0 3 1 号

氏 名：入井 俊昭

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 29 年 1 月 11 日

学位論文名：

Development of a dual test procedure for DNA typing and methamphetamine detection using a trace amount of stimulant-containing blood

学位論文名（翻訳）：

（覚せい剤含有微量血液からの DNA 型検査と覚せい剤分析の同時実施法の検討）

学位審査委員長：教授 柳澤裕之

学位審査委員：教授 靱山俊彦 教授 武田聡

論 文 要 旨

論文提出者名	入井 俊昭	指導教授名	岩楯 公晴
--------	-------	-------	-------

主論文題名

Development of a dual test procedure for DNA typing and methamphetamine detection using a trace amount of stimulant-containing blood

(覚せい剤含有微量血液からの DNA 型検査と覚せい剤分析の同時実施法の検討)

Irii T, Maebashi K, Fukui K, Sohma R, Matsumoto S, Takasu S, Iwadate K, Legal Medicine, 2016; 20: 53-60.

覚せい剤取締法違反等の薬物犯罪においては、薬物の摂取に用いられた注射器に残された極めて微量な血液から、摂取した薬物（主に覚せい剤であるメタンフェタミン塩酸塩）及び摂取者の DNA 型を特定することが求められる。現在、一般的に行われている検査手法では、DNA 型検査と覚せい剤分析は独立して行われ、各々の検査で微量な試料の一部を用いるため、どちらか一方の検査のみで試料を使い切ってしまうこともある。

本研究は、微量な覚せい剤含有血液を、一度溶解した後、DNA 型検査に用いる血球由来成分と覚せい剤分析に用いる液相部分に分離することで、単独の試料から簡便な方法で DNA 型検査と覚せい剤分析を両立することを目的とした。

試料は、血液に覚せい剤成分であるメタンフェタミン塩酸塩水溶液を混合したものをを用いた。試料を Protainase K を含む PBS で溶解し、その後、溶解液にメタノールを加え、 -20°C で冷却後、遠心分離した。アルコールの高分子沈殿能により、沈殿として得られた血球由来成分を DNA 型検査に、液相を覚せい剤分析に用いた。

DNA 型検査は、沈殿から DNA を抽出、定量し、AmpF STR[®] Identifiler[®] Plus PCR Amplification kit を用いた STR 分析を行った。覚せい剤分析は、液相に酢酸 20 1 を加え、窒素気流下で 300 1 まで蒸発させた後、抽出カラムを用いて抽出、誘導体化の後、ガスクロマトグラフィー質量分析法で検出・定量した。

本研究において、各条件の検討とプロトコールの設定、検出限界、法科学的模擬試料への適用について検討を行った結果、本法は、DNA 型検査及び覚せい剤分析ともに検査可能であり、模擬混合試料においても、少量の血液及びメタンフェタミン塩酸塩を含む試料で検出可能であった。また、実際の鑑定を想定し、法科学的模擬試料として注射器試料及び血痕試料を作成し、本法の適用を検討したところ、本法を行わずに DNA 型検査及び覚せい剤分析をそれぞれ単独で行った対照試料と同等の結果であった。本法は、約 2 時間という短時間かつ簡便な操作で、単独の試料から DNA 型検査、覚せい剤分析の両方が実施可能であり、犯罪捜査において有用であると考えられる。

学位審査の結果の要旨

入井俊昭氏学位論文は、和文タイトル「覚せい剤含有微量血液からの DNA 型検査と覚せい剤分析の同時実施法の検討」と題するもので *Legal Medicine* 誌 (IF 1.442), 2016 年 20 巻、53-60 ページに掲載された論文であり岩楯公晴教授の指導によるものです。経歴については iPad に掲載されている資料をご覧ください。

覚せい剤取締法違反などの薬物犯罪においては、薬物の摂取に用いられた注射器に残された極めて微量な血液から、摂取したメタンフェタミンなどの覚せい剤及び摂取者の DNA 型を特定する必要がある。現在、行われている検査手法では、DNA 型検査と覚せい剤分析は各々独立して行われるため、試料が微量な場合にはどちらか一方の検査のみで試料を使い切ってしまうことがある。本研究では、微量な血液試料を用いて DNA 型検査及びメタンフェタミン分析を約 2 時間という短時間かつ簡便な操作で同時に実施できる手法を開発した。この手法は検挙率を向上し、今後の犯罪捜査に極めて有用かつ社会的抑止力にも繋がる。

学位審査は 2017 年 1 月 6 日、靄山俊彦教授と武田聡教授のご出席のもとに公開で行われました。席上以下の質問がありました。①今まで、DNA 型検査と覚せい剤検査は同時に行われていなかったのか。②微量とは、どの位の量で検査できるのか。③DNA 型検査は従来法とほぼ同様な感度であり問題ないが、メタンフェタミン検査は従来法よりも感度が 5 倍ほど低い。実際の法医学的検査を行うに当たって、メタンフェタミン検査の感度に問題はないのか。また、実際の法医学的検査に使用可能か。④測定時に他の薬物の影響はないのか。⑤通常では DNA 型検査と覚せい剤検査を同時に行えない程の微量な検体を用いて、両検査を同時に行うことにより社会的な抑止力になるか。⑥DNA を沈殿させる溶剤として、エタノールをメタノールに変更したのはなぜか。また、エタノールを使用した場合の回収率とメタノールを使用した場合の回収率を比較したか。⑦メタンフェタミン測定試料作製時に *proteinase K* を使用しているが、*proteinase K* のメタンフェタミン測定への影響はどうか。また、*proteinase K* の代替品を考えたことはあるか。⑧実臨床では、同じ血清濃度でメタンフェタミンの濃度が異なる。しかし、今回の研究では希釈血清を用いてメタンフェタミンの濃度勾配を作っている。これは何故か。⑨今後、この手法をどの様に改善したら、より有

効な検査手法になると考えるか。など多数ありましたが、入井俊昭氏はこれらの質問に的確に回答しました。

学位審査委員会は慎重審議の結果、「覚せい剤含有微量血液からの DNA 型検査と覚せい剤分析の同時実施法の検討」と題した本論文は、今後の覚せい剤犯罪の検挙率向上と社会的抑止力に繋がり、学位申請論文として十分価値あるものとして認めました。