—技術報告—

指紋検出等に用いる微弱紫外線が STR 型検査に及ぼす影響

藤井宏治^{*1}, 日比野和人^{*2}, 伊藤元貞^{*2}, 北山哲史^{*1},
中原弘明^{*1}, 水野なつ子^{*1}, 関口和正^{*1}

科学警察研究所^{*1}, 警察庁^{*2}
〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-1^{*1}
〒100-8974 東京都千代田区霞が関 2-1-2^{*2}

**The Effect of Ultraviolet Light Mainly Used for Detecting Latent
Fingerprints on STR Typing.**

Koji Fujii^{*1}, Kazuhito Hibino^{*2}, Motosada Ito^{*2}, Tetsushi Kitayama^{*1},
Hiroaki Nakahara^{*1}, Natsuko Mizuno^{*1} and Kazumasa Sekiguchi^{*1}

National Research Institute of Police Science
6-3-1, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882, Japan^{*1}
National Police Agency^{*2}
2-1-2, Kasumigaseki, Chiyoda-Ku, Tokyo 100-8974, Japan^{*2}

(Received 4 March 2008; accepted 13 May 2008)

Ultraviolet (UV) light at a wavelength of 254 nm has been used in Japan to detect latent fingerprints. However, the degradation of DNA at 254 nm UV has become a problem for short tandem repeat (STR) typing. In this study, 306 nm UV light that gives a relatively sharp fingerprint image was selected as a new light source for our imaging instrument, and its effect on STR typing was compared to that of the 254 nm UV light. Twenty microliters of saliva and 3 μ l of blood were dried on glass slides and irradiated from 5–20 cm with 306 nm or 254 nm UV light for 0.5–30 min. DNA extracted from the UV-irradiated samples was quantified using real-time PCR assay and STR typing was performed. Both wavelengths reduced the amounts of DNA, as irradiated at the shorter distance or for the longer time. However, the reduction of the amount of DNA was less under the 306 nm UV light than the 254 nm. When the 306 nm UV light was irradiated from 5 cm, full STR profiles were obtained from the saliva and blood samples within 10 and 3 min, respectively. In addition, when it was irradiated from 20 cm, full STR profiles were obtained from all the samples in spite of irradiation for 30 min. It was indicated that the 306 nm UV light could be useful as a new light source. However, the use of the 306 nm UV light at a short distance or for a long time should be avoided as much as possible for STR typing.

Key words: Forensic science, DNA, STR typing, UV, Fingerprint

緒 言

潜在指紋等を検出する方法の一つとして、紫外線を照射する方法があり¹⁾、我が国でも「微弱紫外線映像装置」として、各府県警察の鑑識課に整備されている。紫外線は、DNAを分解することが知られており、殺菌用として広く用いられているだけでなく、STR型検査を実施する際に、器具や試薬をデコンタミネーションする目的で用いられることもある²⁾。最近、種々のヒト由来資料について、STR型検査が実施されるようになってきており、指紋等の検出のため微弱紫外線が照射された周囲の斑痕資料についても、STR型検査を依頼される可能性がある。したがって、「微弱紫外線映像装置」に用いる紫外線が、その後に行うSTR型検査に及ぼす影響を認識した上で、指紋等の検出を行う必要がある。

指紋検出等に用いる紫外線がSTR型検査に及ぼす影響については、Andersenらが³⁾、ピーク波長255 nmから514 nmの5種類の光源について検討しており、255 nmの紫外線を照射した場合、30秒でもDNAが分解し、STR型検査に悪影響を及ぼしたと報告しているが、Grubwieserらは⁴⁾、ピーク波長350 nmの紫外線では、STR型検査に悪影響を及ぼさなかったと報告している。我が国で整備している「微弱紫外線映像装置」では、光源としてピーク波長254 nmおよび365 nmの紫外線が用意されていたが、ピーク波長365 nmの紫外線では、鮮明な指紋像が得られないことが経験的に知られており、実際には、ピーク波長254 nmの紫外線が使用されてきた。しかし、ピーク波長254 nmの紫外線は、STR型検査に悪影響を及ぼすと考えられることから、その代替となる光源を探したところ、ピーク波長306 nmの紫外線が候補として挙げられた。

本研究では、ピーク波長306 nmの紫外線について、「微弱紫外線映像装置」により、鮮明な指紋像を得ることが可能であることを確認した後、指紋等の近くに付着した斑痕資料からSTR型検査を行うための予備的検討として、実験的に作製した唾液斑および血痕に、ピーク波長306 nmの紫外線を照射し、その紫外線がSTR型検査に及ぼす影響について、従来から用いているピーク波長254 nmの紫外線と比較した。

材料および方法

1 微弱紫外線映像装置と指紋像の観察

微弱紫外線映像装置には、JFE テクノリサーチ製の紫外線遺留指掌紋検索撮影装置 (FP-100 UV) を用い、また、その光源には、ピーク波長254 nmの東芝殺菌ランプ (GL6, 東芝ライテック製)、ピーク波長306 nmのUV-B 紫外線ランプ (GL6E, 和光電気理化学製)、およびピーク波長352 nmの東芝ブラックライト蛍光ランプ (FL6BLB, 東芝ライテック製) を用いた (Table 1)。また、微弱紫外線映像装置に取り付けるフィルターには、BP254-M27 (JFE テクノリサーチ製、254 nmの紫外線使用時に接続)、300BP10 (オメガオプティカル製、306 nmの紫外線使用時に接続)、および03FIU133 (メレスグリオ製、352 nmの紫外線使用時に接続) を用いた。

スライドガラス (76 mm×26 mm) に付着させた潜在指紋に、ピーク波長254 nm、306 nm および352 nmの3種類の紫外線を30 cmの距離から使用して指紋を顕在化し、微弱紫外線映像装置により指紋像を撮影した。

2 唾液および血液への紫外線照射

実験内容について同意している成人男性3名から採取された血液、および唾液を資料とし、実験に用いるまで超低温槽 (−80℃) で保存した。あらかじめUVクロスリンカー (UV stratalinker 1800, ストラタジーン) によりデコンタミネーションを行ったスライドガラス (76 mm×26 mm) の上に、血液3 μl および唾液20 μl を、それぞれ、14 mm×14

Table 1 Illumination parameters of ultraviolet (UV) light sources used for fingerprint detection.

Light Sources	Peak Wavelength (nm)	Output Power (W)	Radiant ^{a)} Intensity (μW/cm ²)
Toshiba sakkin lamp	254	1.7	19
UV-B shigaisen lamp	306	1.0	11
Blacklight keiko lamp	352	0.6	6

^{a)} The intensity at a distance of 1 m away from the lamp.

mm および 28 mm × 14 mm の大きさで薄く塗布し、一晩、室温で乾燥させた。スライドガラスに乾燥した血液および唾液に、それぞれ、5 cm, 10 cm および 20 cm の距離から、0.5 分, 3 分, 10 分および 30 分の間、306 nm あるいは 254 nm の紫外線を照射した。また、紫外線を照射しないものを無処理対照として、0 分のデータとした。

3 DNA 抽出

Alessandrini らの報告⁵⁾を参考にして、Digenstion Buffer (10 mM Tris-HCl (pH8.0), 1 mM EDTA, 100 mM NaCl および 1% SDS) 30 μ l で湿らせた綿棒により、スライドガラス上の血液、および唾液をぬぐい取り、DNA 抽出に用いた。また、何も付着させていないスライドガラスについても、同様の操作を行い、抽出コントロールとした。DNA 抽出は、EZ-1 インベスティゲーターキット (キアゲン製) および、自動抽出装置 EZ-1 (キアゲン製) を用いて行った。切り取った綿棒の先端を入れたチューブに、滅菌水で 2 倍に希釈した G2 バッファー (キアゲン製) 240 μ l, 600 mAU/ml キアゲンプロテインナーゼ K (キアゲン製) 10 μ l を加え、56°C で唾液については 15 分間、血液については 1 時間反応させた。この反応液 200 μ l に 1 μ g/ μ l キャリア RNA (キアゲン製) 1 μ l を加えたものから EZ-1 の Trace モードを用いて、水 50 μ l で DNA を抽出した。

4 DNA 濃度の定量

抽出した DNA 溶液 2 μ l を用いて、ヒト特異配列 D17Z1 領域を用いたヒト DNA 定量キット (タカラバイオ製) により、リアルタイム PCR 装置 スマートサイクラー (セフィード製) で DNA 濃度を定量した⁶⁾。

5 STR 型検査

抽出した DNA 溶液を用いて、アイデンティファイラーキット (アプライドバイオシステムズ製) により、PCR 増幅を行った^{7,8)}。アイデンティファイラーキットでは、PCR 増幅の至適鋳型 DNA 量は 0.5~1 ng^{7,8)}であるが、PCR 反応液に入れることができる DNA 溶液は 10 μ l が上限であるため、各資料の鋳型 DNA 量は、DNA 定量値が 0.1 ng/ μ l 以上のものについては 1 ng, 0.1 ng/ μ l より低いものについては、10 μ l を用いて、PCR 増幅を行った。PCR

増幅産物は、ABI 310 ジェネティックアナライザー (アプライドバイオシステムズ製) で電気泳動し、GeneMapper ID software v3.2.1 (アプライドバイオシステムズ製) で解析した。なお、DNA 型を判定する最小のピーク高は 150 RFU とした⁷⁾。

結 果

光源としてピーク波長 306 nm の紫外線を 30 cm の距離から用いて、微弱紫外線映像装置により潜在指紋を撮影したところ、ピーク波長 254 nm の紫外線を用いた場合と比較して、若干、鮮明さは劣るものの、実用には耐える程度の指紋像が得られた。ピーク波長 352 nm の紫外線を用いた場合には、指紋像と背景の差が少なく、鮮明な指紋像は得られなかった (Fig. 1)。したがって、以下の検討はピーク波長 306 nm および 254 nm の紫外線について行った。なお、撮影に必要とした紫外線の使用時間については、撮影自体は数秒で終わったが、その前に、紫外線の角度や、装置の焦点などの撮影条件の調整のために、ピーク波長 254 nm の紫外線では 5 分程度、ピーク波長 306 nm の紫外線では、若干鮮明さが劣るため焦点が合わせにくく、10 分程度が必要であった。

ピーク波長 306 nm および 254 nm の紫外線を、スライドガラス上に乾燥させた唾液および血液に照射したところ、無処理対照と比較して、照射時間が長

Fig. 1 Detection of a latent fingerprint with the ultraviolet (UV) light at (a) 254 nm, (b) 306 nm and (c) 352 nm. The image of the fingerprint emitted under the UV light is reversed, and the ridge structure of the fingerprint is shown as a black image.

くなるほど、また、ほとんどの場合、照射距離が短くなるほど、DNAの定量値が低下していた。光源の種類については、ピーク波長254 nmの紫外線を照射した方が、ピーク波長306 nmの紫外線を照射した場合より、DNAの定量値が低下していた。また、唾液と血液では、血液の方が、DNAの定量値が低下していた (Fig. 2)。なお、いずれの検査においても、抽出コントロールからは、DNAは検出されなかった。

次に、抽出したDNAを用いて、アイデンティファイラーキットによるSTR型検査を行い、紫外線

を照射していない無処理対照の型判定結果と比較した (Table 2, Fig. 3)。アイデンティファイラーキットの至適鋳型DNA量は0.5~1 ngであるが^{7,8)}、DNA定量値が0.1 ng/ μ l以上のものについては、鋳型DNAとして1 ngをPCR増幅に用いることが可能なため、ほとんどの資料から、すべての座位が正しく検出され、「Full Profile」が得られた。一方、DNA定量値が0.1 ng/ μ lより低いものについては、PCR増幅に用いる鋳型DNAは1 ngより少なくなるため、定量値の減少にしたがって、「Full Profile」を得ることが難しくなり、一部の座位しか検出され

Fig. 2 The concentrations of DNA solutions extracted from (a) saliva samples or (b) blood samples irradiated with ultraviolet (UV) light. Each dot indicates the average of the DNA concentrations obtained from 3 individuals.

Table 2 Full profiles of STR typing obtained from saliva and blood samples irradiated under Ultraviolet (UV) light.

		The number of full profiles (n=3)							
		306 nm				254 nm			
		0.5 min	3 min	10 min	30 min	0.5 min	3 min	10 min	30 min
Saliva	5 cm	3	3	3	0(3) ^{a)}	3	1(2) ^{a)}	0(2) ^{a)}	0
	10 cm	3	3	3	2(1) ^{a)}	3	2(1) ^{a)}	0(3) ^{a)}	0(2) ^{a)}
	20 cm	3	3	3	3	3	3	2(1) ^{a)}	0(3) ^{a)}
Blood	5 cm	3	3	1(2) ^{a)}	0(3) ^{a)}	3	2(1) ^{a)}	0(3) ^{a)}	0
	10 cm	3	3	3	0(3) ^{a)}	3	3	0(3) ^{a)}	0
	20 cm	3	3	3	3	3	3	3	1(2) ^{a)}

^{a)} The number in the parenthesis is the number of partial profile(s).

Fig. 3 Example of the electropherograms shown as “Full Profile”, “Partial Profile” and “No Profile”. Only the blue panels (6-FAM labeled profiles) are shown. All the profiles were obtained from blood samples of the individual #1 that were irradiated under 254nm ultraviolet (UV) light at a distance of 10 cm for various times. (A) non-treated control (irradiated for 0 minute); “Full Profile” (B) irradiated for 0.5 minute, “Full Profile”; (C) irradiated for 3 minutes, “Partial Profile”; (D) irradiated for 10 minutes, “Partial Profile”; (E) irradiated for 30 minutes, “No Profile”.

ない「Partial Profile」や、すべての座位が検出されない「No Profile」となる傾向が観察された (Table 2, Fig. 3).

考 察

DNA は紫外線照射により、DNA 鎖中の連続したチミン塩基同士が重合し、チミンダイマーが生じることや^{9,10,11,12}、DNA 鎖の一方が切断されることが知られている¹³。また、DNA の紫外線吸収スペ

クトルの極大は260 nm 付近にあるだけでなく、チミンダイマーが生じやすい極大も260 nm 付近にあり^{11,12)}、DNA 鎖の切断についても、ピーク波長312 nm の紫外線よりも、ピーク波長254 nm の紫外線の方がDNA 鎖を切断しやすいと報告されている¹³⁾。紫外線照射により生じたチミンダイマーやDNA 鎖の切断は、PCR 増幅において、DNA ポリメラーゼの反応を阻害することになるため¹⁰⁾、PCR 増幅を用いた検査であるヒト DNA 定量法やSTR 型検査に影響を与えられられる。

指紋検出等に用いる紫外線がSTR 型検査に及ぼす影響については、Andersen らが³⁾、4 座位を同時に検出するFirst FSS multiplex を用いて検討しており、ピーク波長255 nm の紫外線では、DNA が分解し、STR 型検査に悪影響を及ぼしたと報告している。また、Grubwieser らは⁴⁾、11座位を同時に検出するSGM plus キットを用いて検討しており、ピーク波長350 nm の紫外線では、STR 型検査に悪影響は及ぼさなかったと報告している。今回、「微弱紫外線映像装置」を用いた検討では、ピーク波長352 nm の紫外線では、鮮明な指紋像が得えられず、ピーク波長306 nm の紫外線を用いることで、実用に耐えうる程度に鮮明な指紋像が得られた。しかし、これまで、ピーク波長306 nm の紫外線がSTR 型検査に及ぼす影響について報告されていないため、著者らは、そのことについて検討した。

ピーク波長306 nm および254 nm の紫外線を、スライドガラスに乾燥させた唾液および血液に照射したところ、どちらの紫外線でもDNA の定量値が低下していたが、ピーク波長254 nm の紫外線を照射した方が、ピーク波長306 nm の紫外線を照射した場合より、DNA の定量値は低下し、STR 型検査で「Partial Profile」や「No Profile」となる例が多く観察され、DNA の分解が進行していることを示唆する結果が得られた。この原因としては、ピーク波長254 nm の紫外線の方が、ピーク波長306 nm のものより、チミンダイマーの生成やDNA 鎖の切断を起こしやすいことが考えられ^{11,12,13)}、今回の結果は、これまでの報告^{3,4)}とも矛盾しないものである。

血液と唾液では、乾燥させた血液に紫外線を照射

した方が、DNA の定量値が低下しやすかった。今回の検討では、資料をうすく広げたため、血液のように着色している資料では、可視光のみならず紫外線も吸収しやすく、吸収された紫外線のエネルギーによりDNA が分解されやすかったのではないかと考えている。

照射距離については、ピーク波長306 nm の紫外線を20 cm から照射した場合、30分間の照射でも、すべての資料から「Full Profile」が得られたことから、20 cm 以上離して使用するのが望ましいと考えられる。紫外線の単位面積あたりのエネルギー量は、理論的には距離の2乗に反比例することから、5 cm から照射したエネルギー量は、20 cm から照射したエネルギー量の16倍となるため、近距離から紫外線を使用することについては、十分注意する必要がある。また、照射時間については、照射距離に大きく依存するものの、ピーク波長306 nm の紫外線を用いた場合、唾液で10分間、血液で3分間の照射であれば、すべての資料から「Full Profile」が得られた。

「微弱紫外線映像装置」を用いた指紋像の検討では、ピーク波長306 nm の紫外線を30 cm から使用しても、指紋像の撮影は可能であったが、撮影条件の調整のために10分程度必要であった。STR 型検査については、この照射条件では検討していないが、これよりも厳しい条件である20 cm、10分の照射により、DNA 定量値は唾液で56.2%、血液で11.9%に低下したものの、STR 型検査については、すべての資料から「Full Profile」が得られた。したがって、ピーク波長306 nm の紫外線を用いることで、指紋像の撮影と、その指紋の近くに付着した斑痕資料からのSTR 型検査は、いずれも可能であると考えられる。しかし、今回検討した指紋は新鮮なものであり、その撮影が容易であったことや、唾液や血液についても、新鮮でSTR 型検査を行うのに十分な量を用いており、指紋および斑痕ともに、状態のよいものである。指紋および斑痕の状態が悪い場合には、指紋像の撮影と斑痕のSTR 型検査の両立は、当然のことながら難しくなるものと考えられる。

紫外線の使用時間や使用距離の限界は、もともと

の斑痕の大きさ、新鮮さなどの資料の状態、およびその種類などに依存し、斑痕資料の状態や種類によっては、より短時間で STR 型検査が不能となる可能性もある。したがって、STR 型検査の可能性のある部分への紫外線の使用は、できるだけ控えるようにし、必要な場合でも近距離や長時間の使用は避けるべきであると考ええる。

文 献

- 1) Lee, H., C. and Gaensslen, R., E.: Advances in fingerprint technology 2nd edition. pp. 150–153, CRC Press, Boca Ranton, Florida (2001).
- 2) Tamariz, J., Voynarovska, K., Prinz, M. and Caragine, T.: The application of ultraviolet irradiation to exogenous sources of DNA in plasticware and water for the amplification of low copy number DNA. *J. Forensic Sci.*, **51**, 790–794 (2006).
- 3) Andersen, J. and Bramble, S.: The effects of fingermark enhancement light sources on subsequent PCR–STR DNA analysis of fresh bloodstains. *J. Forensic Sci.*, **42**, 303–306 (1997).
- 4) Grubwieser, P., Thaler, A., Köchl, S., Teissl, R., Rabl, W. and Parson, W.: Systematic study on STR profiling on blood and saliva traces after visualization on fingerprint marks. *J. Forensic Sci.*, **48**, 733–741 (2003).
- 5) Alessandrini, F., Cecati, M., Pesaresi, M., Turchi, C., Carle, F. and Tagliabracci A.: Fingerprints as evidence for a genetic profile: Morphological study on fingerprints and analysis of exogenous and individual factors affecting DNA typing. *J. Forensic Sci.*, **48**, 586–592 (2003).
- 6) 中原弘明, 藤井宏治, 水野なつ子, 吉田日南子, 笠井賢太郎: 法生物学的試料由来の DNA に対する定量法の検証. 法科学技術. **12**, 13–26 (2007).
- 7) 吉田日南子, 高橋健一, 笠井賢太郎: AmpFISTR Identifier PCR amplification kit の法科学試料への応用に関する検討. 科警研報告, **57**, 49–56 (2006).
- 8) 笠井賢太郎, 吉田日南子, 水野なつ子, 中原弘明, 藤井宏治, 関口和正: 証拠資料からの DNA 型検査法 (第 3 報). 科警研報告, **58**, 32–36 (2007).
- 9) Sinha, R., P. and Häder, D., P.: UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **1**, 225–236 (2002).
- 10) Weber, S.: Light-driven enzymatic catalysis of DNA repair: a review of recent biophysical studies on photolyase. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1707**, 1–23 (2005).
- 11) Rosenstein, B. S. and Mitchell, D. L.: Action spectra for the induction of pyrimidine (6–4) pyrimidone photoproducts and cyclobutane pyrimidine dimers in normal human skin fibroblasts. *Photochem. Photobiol.*, **45**, 775–780 (1987).
- 12) Matsunaga, T., Hieda, K. and Nikaido, O.: Wavelength dependent formation of thymine dimers and (6–4) photoproducts in DNA by monochromatic ultraviolet light ranging from 150 to 365 nm. *Photochem. Photobiol.*, **54**, 403–410 (1991).
- 13) Sato, T., Oku, N., Iida, E., Kawaguchi, K., Yamanaka, K., Mori, T. and Okada, S.: Differential effect of UV–B and UV–C on DNA damage in L–132 cells. *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 721–725 (1996).