

MRSA 疫学アレイの開発

近藤恭光

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ; MRSA)は院内感染の原因菌として全体の約 70%を占めるという報告もあり、敗血症や心内膜炎など重篤な病気を引き起こす事が知られている。発症機構、宿主への感染能、薬剤耐性機構については解明されていない部分が多い。しかしながら、こうした違いは MRSA の菌株ごとの構成遺伝子の違いや、菌株間の配列の違い、また、外来性遺伝子領域であるゲノミックアイランドの有無などによるところが大きい。特にゲノミックアイランドは毒性や薬剤耐性の大部分に寄与しているといわれている。こうした菌株間のゲノムの違いを解明することは、MRSA の発症機構解明や伝播予測、進化予測等の疫学的研究に重要であり、近年、様々な遺伝子型決定手法が用いられている。その中でも特にマイクロアレイは多くの遺伝子を同時に解析できるという点で非常に期待されているが現状では感度、精度ともに満足なもの得られていない。そこで本研究では疫学的研究に用いる目的で、黄色ブドウ球菌の毒性、薬剤耐性、ならびにゲノミックアイランドの解析が可能な MRSA 疫学アレイを開発した。

紹介論文

Development and validation of microarray assay for epidemiological study of MRSA

J. Otsuka, Y. Kondoh, T. Amemiya, A. Kitamura, T. Ito, S. Baba, L. Cui, K. Hiramatsu, T. Tashiro, H. Tashiro (RIKEN and Juntendo Univ.)

Molecular and Cellular Probes, submitted

要旨

MRSA の疫学的解析ではその毒性が重要視され、その観点から 221 種類の遺伝子を選択した。以下の遺伝子について特異的な領域を選択し、45mer のプローブを設計した。(i) 黄色ブドウ球菌特異的タンパク質(3 種類)、(ii) 薬剤耐性因子 (48 種類)、(iii) 毒素ならびにその発現調節因子(110 種類)、(iv) ゲノミックアイランドや挿入配列に関連する配列。コアグラゼなど相同性の高い遺伝子ファミリーや代表的なゲノミックアイランドである SCCmec については、識別能を向上させるために複数プローブを用いるマルチプローブ法を採用した。これら遺伝子について 390 種類のプローブを設計し、それらをスライドグラスにスタンプし、マイクロアレイを作製した。検証に用いた株は 34 株で、それらの株より各々 DNA を抽出した。全配列が決定された 7 株について、アレイの解析結果とゲノム配列に基づく遺伝子の保有状況を比較したところ 100%の精度で一致が見られた。また、27 株のアレイの解析結果は、32 遺伝子に関して、PCR によるゲノタイプングの結果、99.4%(859/864)の精度で一致した。今後は、MRSA のゲノタイプやゲノミックアイランドの保有状況と、臨床症例との関係の解明が期待される。