

## 転移因子により生じるゲノムの多様性を利用した 腸管出血性大腸菌 O157 の型別法

腸管出血性大腸菌 O157 による食中毒が発生した際には、汚染食品から人への伝播経路を迅速に特定・遮断することが重要です。O157 の伝播経路は、ゲノムの多様性を解析し個々の菌株を識別することにより特定できます。我々は宮崎大学・林哲也教授との共同研究により O157 が多様性を獲得するメカニズムを解析し、ゲノムに数多く点在する IS と呼ばれる転移因子の挿入位置が菌株により多様であること、IEE と名付けたタンパク質が IS を介した O157 ゲノムの多様化に重要な役割を果たすことなどを明らかにしました。また、O157 ゲノムにおける IS の分布を調べるための迅速簡便な手法として、以下のような IS-printing 法を開発しました。

### ☆技術の概要

IS-printing 法は、多数の遺伝子領域を同時に増幅するマルチプレックス PCR という方法を核とする菌株識別技術です。O157 ゲノムに存在する IS の分布パターン、すなわち挿入位置や数は菌株により異なることから、各位置の IS を増幅するマルチプレックス PCR 系を構築しました。このとき、それぞれの位置について異なる長さの増幅産物が得られるように設計することで図 1 のようなラダー状の解析パターンが得られ、複数の挿入位置について同時に IS の有無を判定することができます。この解析パターンを菌株間で比較することにより、O157 の型別を行います。これまで用いていた型別法であるパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法は操作が煩雑で解析に 3 日以上を要することが問題でしたが、IS-printing 法では簡便な操作で約 3 時間のうちに、PFGE 法と同等の精度で O157 菌株を識別することができました。本方法は特に迅速な対応が必要な O157 感染事例において、大きな効果を発揮すると考えられます。

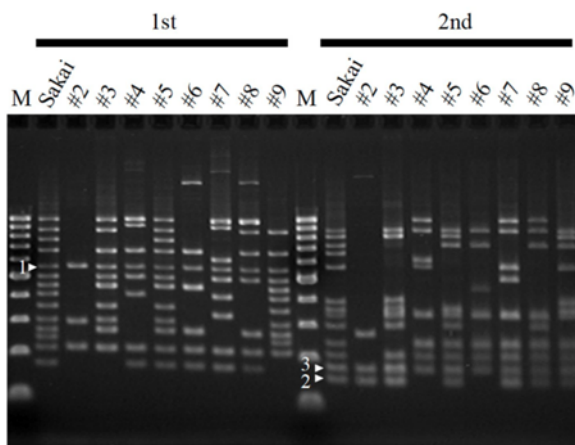


図 1. IS-printing 法による解析例  
2 種類 (1st・2nd) の PCR により IS の分布パターンを解析する。Sakai と #2 から #9 は由来および PFGE 型の異なる O157 株を、白い矢頭は同時に検出する病原因子の増幅サイズをそれぞれ示す。(Ooka et al., 2009, J. Clin. Microbiol., 47: 2888-2894 より引用)。

### ☆活用面での留意点

詳細については、農研機構 動物衛生研究所 情報広報課 (TEL: 029-838-7708) までお問い合わせください。

(農研機構 動物衛生研究所 細菌・寄生虫研究領域 主任研究員 楠本正博)