

MLVA 法解説

国立感染症研究所

細菌第一部

はじめに

ここでは腸管出血性大腸菌 O157 など、多くの細菌に対して使われている MLVA 法（エムエルブイエー法、ムルヴァ法などと呼ばれます）の原理と活用について比較的わかりやすくまとめました。みなさまのご理解の一助になれば幸いです。

MLVA 法とは

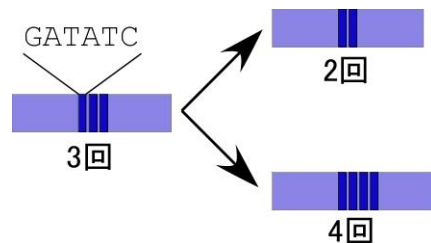
- Multilocus variable-number tandem-repeat analysis の略です。
- 日本語では「反復配列多型解析」と呼びます。
- 細菌のゲノムにある短い縦列の繰り返し構造（リピート）に着目した方法です。

例：GATATC GATATC GATATC

この場合、GATATC という 6 塩基のリピート単位が 3 回繰り返す

- ゲノムにはこのようなりピートが複数箇所あります。
- 複製（菌が増える）時、リピートの伸び縮みが生じます。

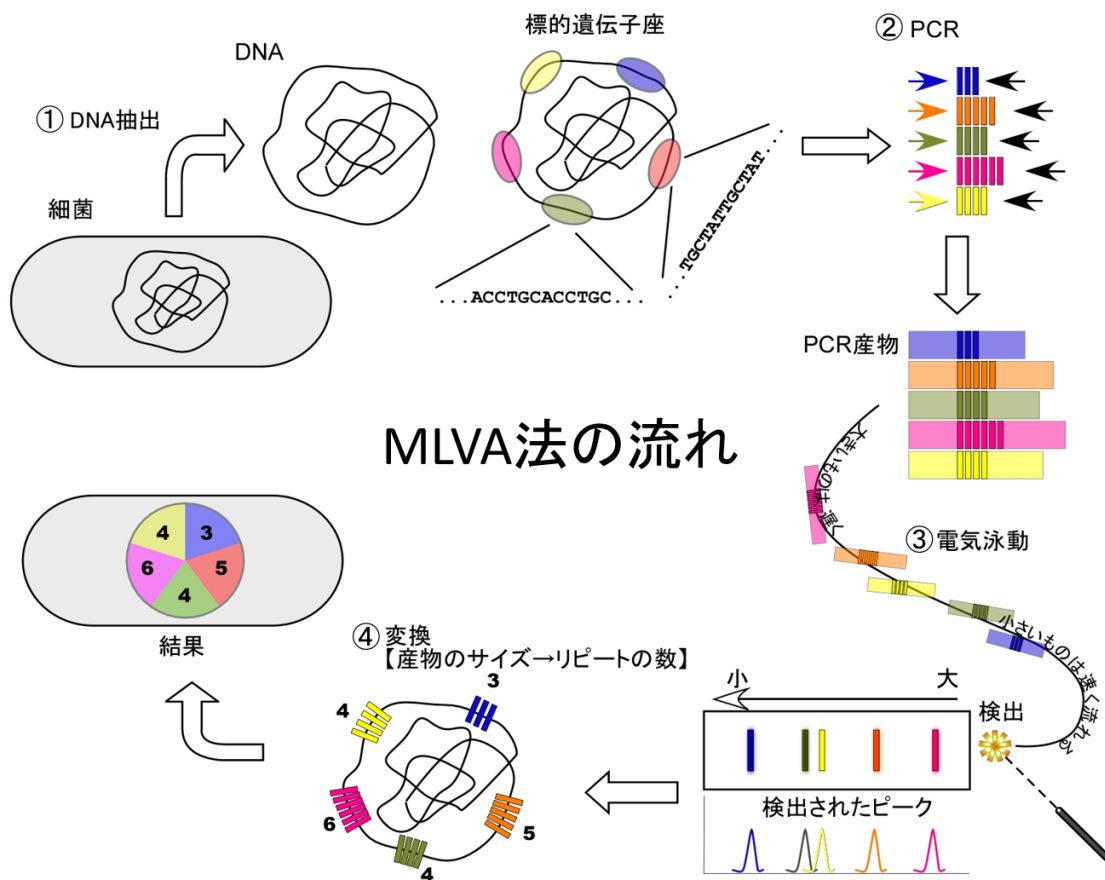
3 回から → [複製] → 2 回になったり、4 回になったりします。



- リピート数の違いから菌株が同じか違うかを調べます。
- MLVA 法は菌株が同じか違うかを遺伝子レベルで調べる分子疫学解析手法の一つです。

MLVA 法の流れ

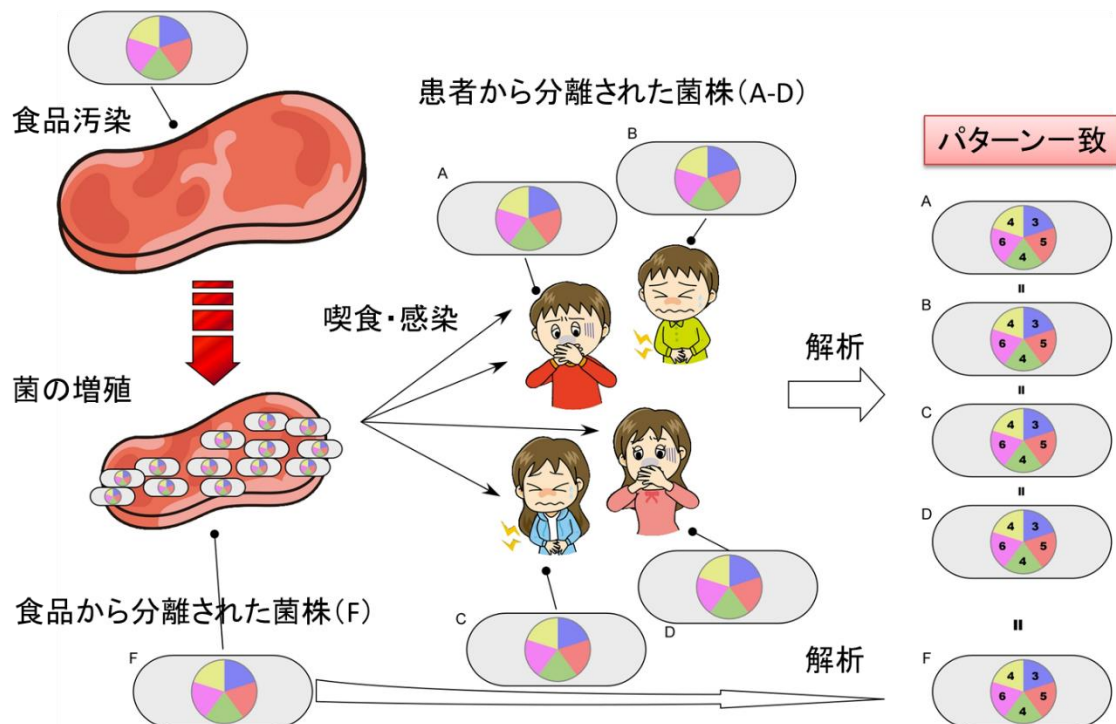
1. 菌から DNA を取り出します (DNA 抽出)。
2. 抽出した DNA にある MLVA の標的遺伝子領域 (標的遺伝子座) に対応するプライマーを使って PCR を行い、標的部分を増幅します。
3. 増幅された PCR 産物を電気泳動によって分離します。大きいサイズの産物は遅く、小さいサイズの産物は速く流れ、検出器で順番に検出されます。
4. 検出された産物の大きさから、それぞれの遺伝子座に何個のリピートがあるかを割り出します。結果としてリピートの数字の組み合わせが得られます。



MLVA 法の活用

得られた数字の組み合わせ（パターン）は同じ大腸菌の中でも異なります。パターンが近いほど菌同士の由来が近いことを表します。食中毒などの事件が発生しますと、同じお店、あるいは同じメニューの品を食べた患者さんから同じパターンを持つ菌（菌株）が採れます。また、原因施設となったお店で使われていた食品からも同じパターンを持つ菌株が取れることがあります。こうして関係した人や物から同じパターンの菌株が採れるということは、感染源を強く示唆することにつながります。

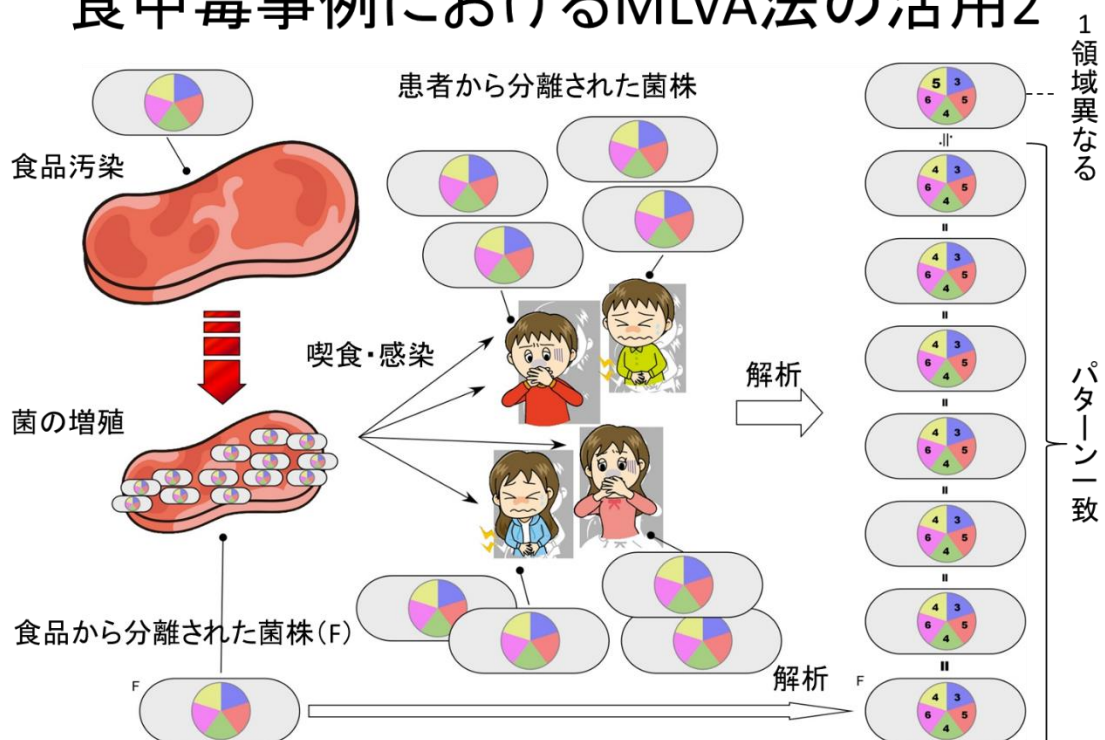
食中毒事例におけるMLVA法の活用



MLVA 法の活用その 2

ここではもう少し複雑な例を紹介しましょう。MLVA 法で使われている遺伝子座にはリピート構造があり、これは菌が増える際に変化します。菌は食品の中でも増えますし、感染した患者さんの中でも増えます。多くの場合、同じ食中毒の事例の中では患者さん、原因食品から同じパターンの菌株が採れるのですが、中には菌が増えている間にリピート数が変化したものが採れる場合があります。変化のほとんどは対象遺伝子座のうちの 1 つが変わっているだけなので、こうした菌株も由来は同じものと判断します。

食中毒事例における MLVA 法の活用 2

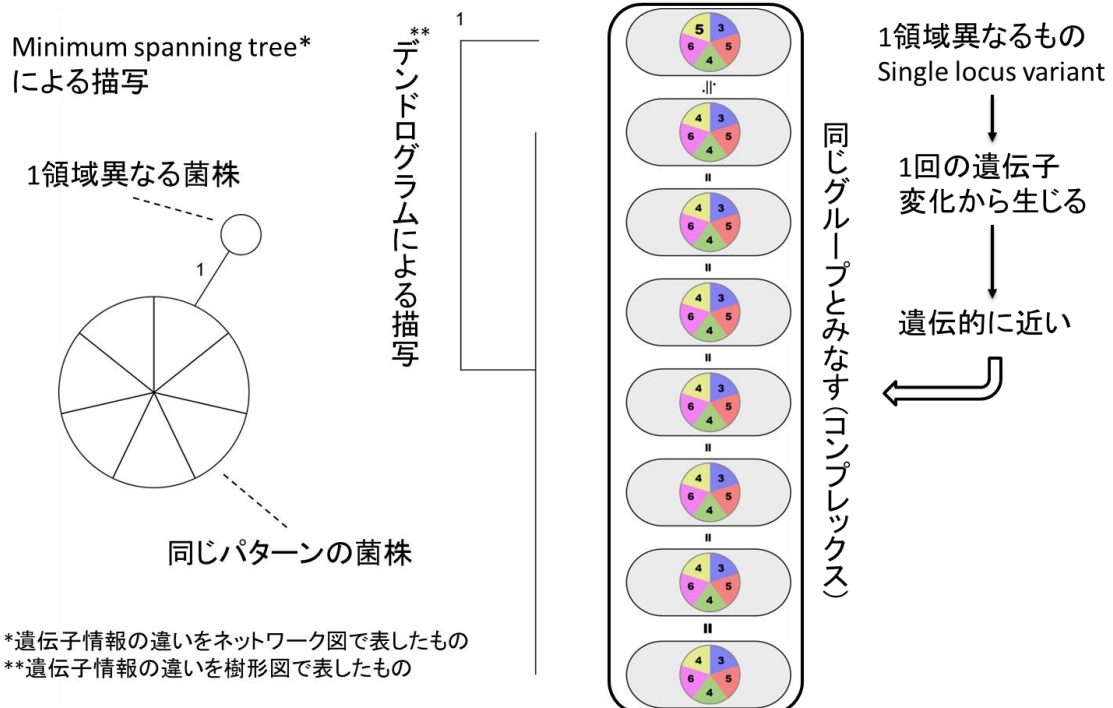


MLVA 法の活用その2 (続き)

こうした1領域だけが違うものを single locus variant と呼びます。先ほどお話ししましたように、これは菌が増えている間に遺伝子が1回変化しただけにすぎないので遺伝的に近いと考えます。こうした類似したパターンの株をまとめて「コンプレックス」と呼び、これは多くの食中毒事例で観察されます。

MLVA のパターンに基づいて菌株同士の関係性を表すようにした Minimum spanning tree やデンドログラムと呼ばれる図では、コンプレックスに含まれる菌株は近くに集積してクラスターを形成します。

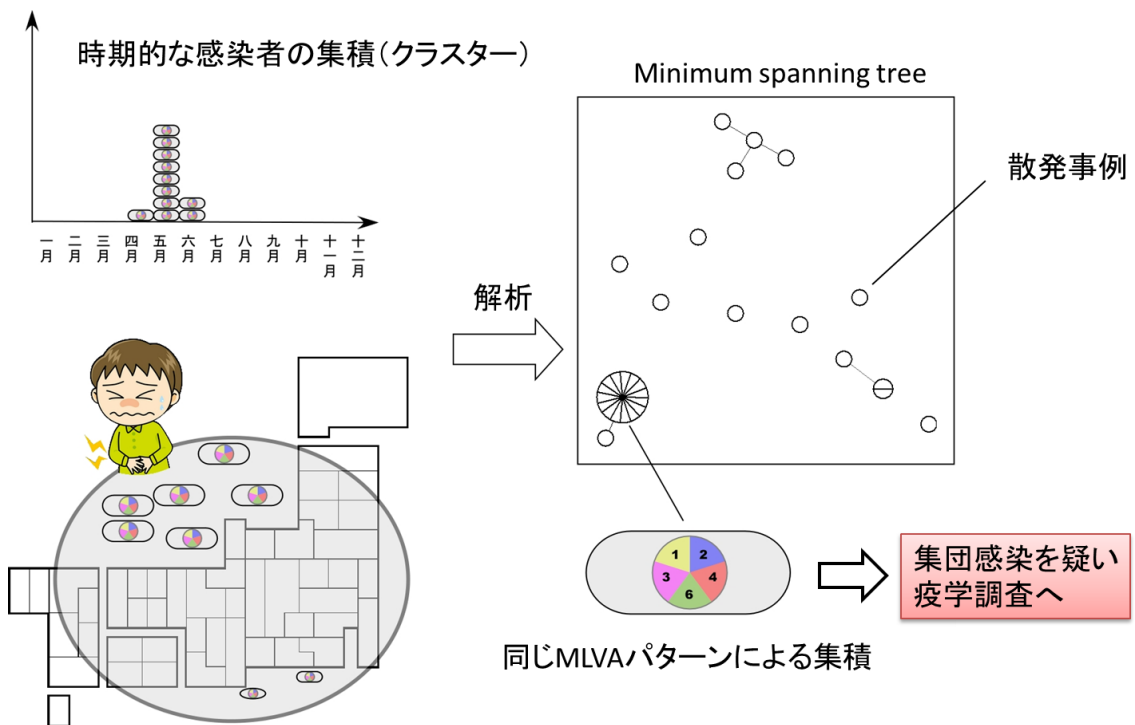
類似したパターンの株 →コンプレックス



MLVA 法の活用その 3

毎年 3000 人以上の人が腸管出血性大腸菌に感染しますが、MLVA 法で解析すると多くのパターンが見られ、その数は 1000 ぐらいになります。その 3~4 割が Minimum spanning tree 上でクラスターを形成します。この中には食中毒の株も含まれますが、一見無関係の人の株が含まれることもあります。こうした人たちが事件と関係ないかどうかを調べるきっかけに MLVA 法が活用されることもあります。

MLVA法の活用(クラスター探知)



MLVA 法活用のまとめ

- ・ 「患者さんからの菌株と、食品からの菌株が同じ、あるいは同じと考えてもよいぐらい似ている」とわかることで、その食品を原因とした食中毒であることが明確になります。
- ・ 食品の原材料、生産環境などを調べて、さらに同じ菌株がとれば、原因となった菌がどこから来たのかわかります。(さかのぼり調査と言います)
- ・ 同じ MLVA パターンの菌に感染した複数の患者さん（クラスター）から何を食べたか聞き取り調査をします。そこから浮かび上がった共通食品について、さらにさかのぼり調査をします。こうした調査によってクラスターを発生させた原因食品がわかることもあります。(疫学調査と言います)

疫学調査について

- ・ 食中毒において疫学調査は大変重要です
- ・ おひとりの情報では原因がわからなくても、何人かの情報をあわせることで原因がわかることがあります
- ・ どこで何を食べたか思い出せましたら調査員にお話してください
- ・ ご協力をお願いいたします



謝辞

本解説は厚生労働科学研究費補助金の支援を受けて作成しました。

イラスト素材：素材工場、イラスト屋

文責：国立感染症研究所 細菌第一部 泉谷秀昌