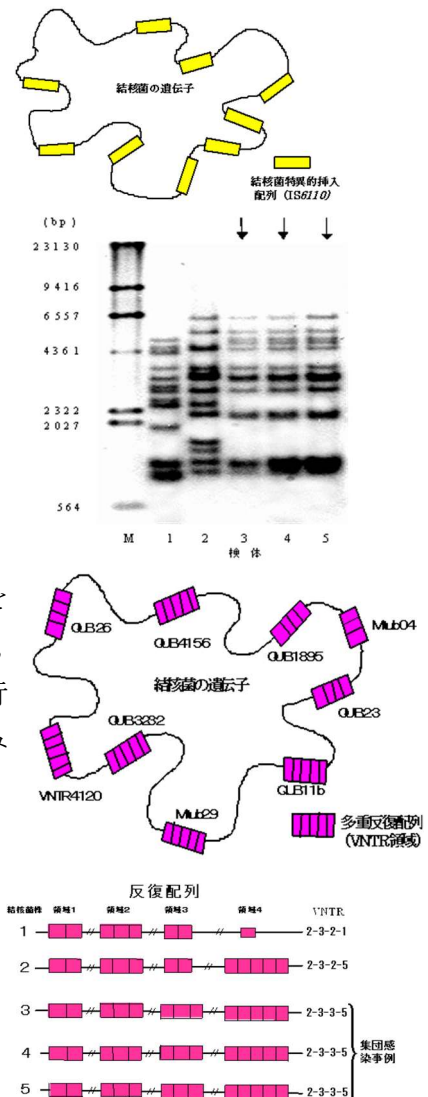


－ 結核菌の遺伝子診断 2－

2016.8

以下は研究室や衛生試験所などで院内感染の感染源特定に使う方法。① **RFLP**：培養菌DNAに制限酵素を使う。今は培養不要のPCR-RFLP。結核菌DNAを制限酵素で切断すると菌株で断片の長さや数が異なるので、電気泳動（サザンブロット）でパターンを見る。これを**Restriction Fragment Length Polymorphism（制限酵素断片長多型）**と言い菌株により異なるので指紋として使える。右図で結核菌特異配列IS6110をプローブとして転写、制限酵素で処理した結果。検体1,2は別株だが3,4,5は単一クローン（Mは塩基長マーカー）。最近では培養不要で② **VNTR**（Variable Numbers of Tandem Repeat）法*が主流。結核菌DNAのミニサテライトにある一連の遺伝子群が移動や欠損した時に残る数十塩基のDNA繰り返し配列（Tandem Repeat：縦列反復配列。以下TR）の数を測定。変化に富む複数の遺伝子座を標的としてPCRを行い、そのアレル（遺伝子座）プロファイルの違いから菌の区別を行う。喀痰から直接解析可能で複数の有効なプライマーの組み合わせにより**RFLP**に匹敵する解析力を示す（図の検体3,4,5が単一クローン）。



真核生物、特に進化した動植物に多いサテライトDNAは他の部分のDNAと密度が異なることで発見され、染色体の動原体にあるα-サテライトなどが知られる。配列ユニットの比較的短いもの、10～100塩基対のミニサテライトと数塩基対のマイクロサテライトが区別され、個体による反復回数の違いでDNA型鑑定に利用される。犯罪捜査に使われるDNA分析は①STR法（Short Tandem Repeat）、高多型領域である複数のミニサテライト（VNTR）を同時に検出する、②MLP法（Multi Locus Probe）③SLP法（SLP=Single Locus Probe）④母から継承するミトコンドリアDNA（mtDNA）⑤最近では一塩基の多型（変異）（**SNP**：Single Nucleotide Polymorphism）を調べる**SNPs解析**が行われる。これは遺伝子のエキソン（真核生物で起きるスプライシングで除去された後の有効な蛋白合成遺伝子配列部分）をPCRで増幅、ソフトウェアを用いて単一塩基の欠失、挿入を検出、比較する。遺伝子解析の落とし穴は「組み合わせの場合の数」が膨大になるので、偶然一致の確率が極めて低い数字（数兆分の一）となるが、実際はそれらの「場合の組み合わせ」に不変の固定部分が多くあれば「場合の数」は小さく「偶然一致確率」はかなり高くなる。2007年1月メリーランド州の3万人のDNA型をプールしたデータベースで、理論値で1000兆分の1とされるDNA型の「偶然の一致」の存在が裁判で明らかになっており（偶然の一致は3万分の1）、DNA型の理論上の一致確率に重大な疑念がもたれている。

*神奈川、新潟、仙台などの衛生試験所で結核集団感染時のVNTR検査施行の記載がある。