Multilookus järjestuse tüpiseerimine (MLST) *C. jejuni* näitel

Mihkel Mäesaar*, Mati Roasto
Eesti Maaülikool veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, toiduhügieeni ja rahvatervise õppetool *mihkel.maesaar@emu.ee

SISSEJUHATUS

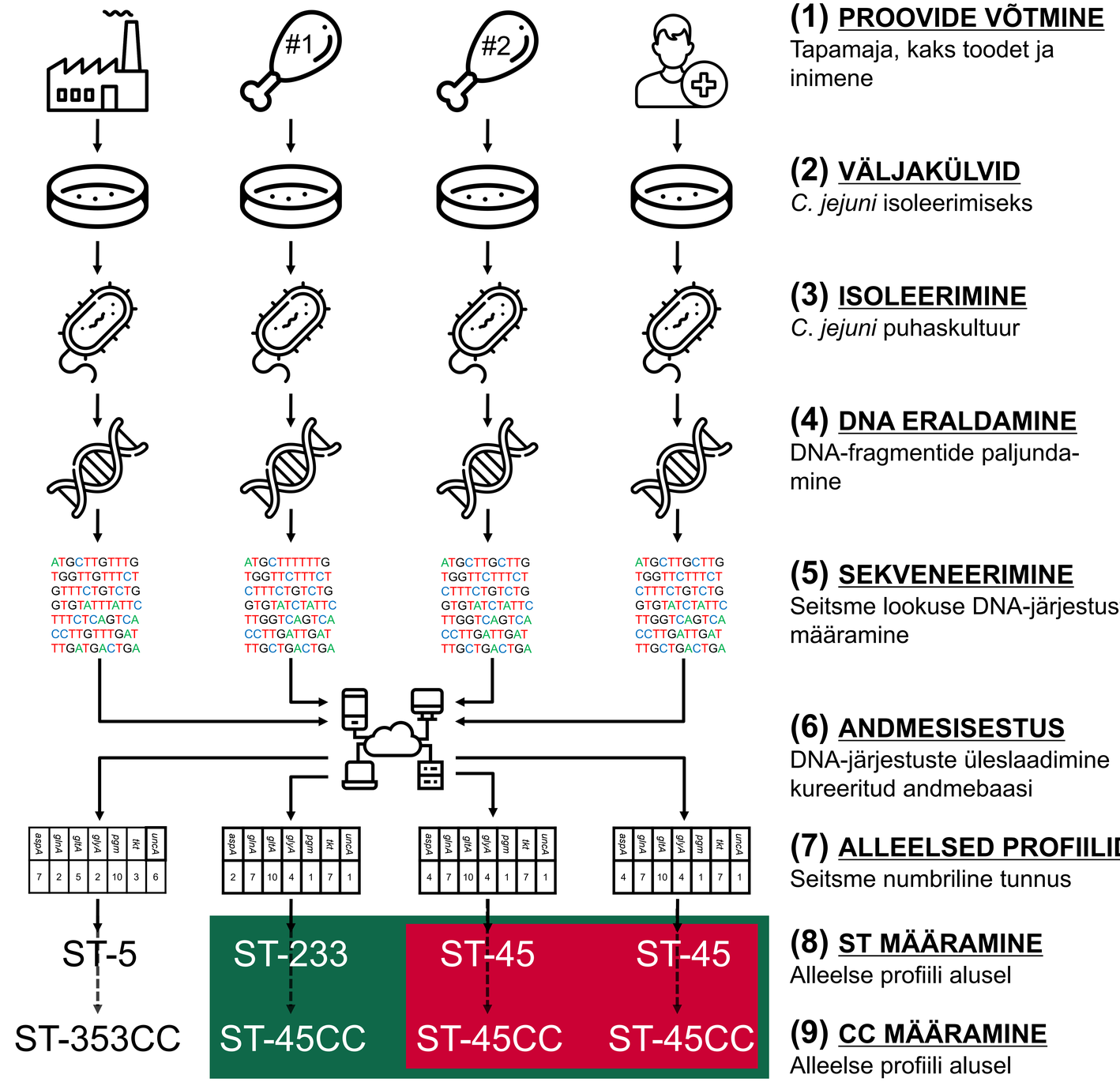
Multilookus järjestuse tüpiseerimine (ingl. *multilocus sequence typing* (MLST)) on molekulaarse tüpiseerimise meetod, mida sageli kasutatakse toidutekkelisi haiguspuhanguid põhjustavate bakterite fülogeneetilisel ja epidemioloogilisel uurimisel lisainformatsiooni allikana. MLST meetodi aluseks on kindlate lookuste (*aspA*, *glnA*, *gltA*, *glyA*, *pgm*, *tkt*, *uncA*) DNA-järjestuste siseste fragmentide varieeruvus, mis võimaldab määrata iga uuritava bakteri allelse profiili ning sellest tulenevalt sekveneerimistüübi (ingl. *sequence type* (ST)) ja klonaalkompleksi (ingl. *clonal complex* (CC)).

MLST ANALÜÜSI ETAPID (joonisel 1)

(1) Proovide võtmine, millele järgneb (2) väljakülvide tegemine ning (3) isoleerunud bakteritest (4) DNA eraldamine. (5) Eraldatud DNA paljundamine, sekveneeritakse seitsme lookuse siseste fragmentide nukleotiidsed järjestused, mis (6) sisestatakse kureeritud andmebaasi. Nimetatud seitsme lookuse erinevatele alleelidele (7) määratakse number, millest kujuneb seitsme numbriline allelne profiil. Alleelid loetakse erinevaks kui profiil erineb varasemalt andmebaasis olevatest alleelidest vähemalt ühe nukleotiidi võrra. (8) ST-sse määratakse täpselt samasuguse alleelse profiiliga isolaadid. Kui alleelid erinevad kas või ühes lookuses määratakse isolaat teise ST-sse. Juhul kui vähemalt kahel isolaadil on võrreldes eeldatava eellasega seitsmest lookusest vähemalt neljas ühesugused alleelid (9) moodustavad nad CC, milles eeldatakse, et neil on ühine eellane. Sellele järgneb tulemuste analüüs.

KOKKUVÕTE

MLST kasutamine haiguspuhagute esmastes epidemioloogilistes uuringutes annab kiire vastuse isolaatide vaheliste potentsiaalsete seoste kohta. Kuid tulenevalt sellest, et MLST analüüsil kasutatake väga väikest osa genoomist leiavad järjest enam kasutust “laiendatud” (analüüsitakse rohkem lookuseid) MLST meetodid: täisgenoomne (wgMLST) ja põhigenoomne (cgMLST) MLST, mis täiendavad konventsionaalset MLST võimaldades näha ST-de sisest geneetilist varieeruvust.



Joonis 1. MLST analüüsi etapid on toodud joonisel. MLST analüüs näitab, et inimesel haiguse põhjustanud tüvi on potentsiaalselt pärit tootest 2, sest ST-d on kokkulangevad (punane taust). Samas teise tootja tüvi kuulub küll samasse CC-sse (roheline taust), aga teise ST-sse ning tapamajast pärit tüvi nii teise ST-sse kui ka CC-sse, mis välistab viimati mainitud tüvede seotuse inimisolaadiga.

Euroopa Maaelu Arengu Põllumajandusfond: Euroopa investeeringud maapiirkondadesse

"Icons made by Dimitry Miroliubov, Eucalp, Srip, Freepik, mynamepong, Icongeek26 from www.flaticon.com"