

Antraxbakteriens fingeravtryck

■ I slutet av förra året skickade en okänd förövare i USA antraxsporer i brev. Tjugotre personer smittades och insjuknade; fem av dessa dog. Från samtliga patienter isolerade man mjältbrandsbakterier. Isolaten undersöktes med konventionella genetiska analyser och man fann inga skillnader mellan dem. Men är isolaten verkligen identiska och hur stor är skillnaden mellan dessa isolat och andra mjältbrandsstammar?

I ett aktuellt reportage för tidskriften *Science* beskriver Martin Enserink pågående studier som avser att ge svar på ovan ställda frågor [1].

DNA-profiler av humant material används ofta i domstolar för att fälla eller fria misstänkta. Men att använda en liknande teknik på prokaryota organismer är en helt annan sak. I motsats till eukaryota celler förökar sig bakterier genom delning. Teoretiskt sett borde detta medföra att alla nybildade bakterier genetiskt är identiska med ursprungscellen. Så är emellertid ej fallet. Mutationer och rekombinationer, som är naturliga genetiska processer i bakteriecellen, måste leda till variabilitet. Även bakteriers korta generationstid måste bidra till variabilitet eftersom sannolikheten för mutationer ökar linjärt med antalet cellcyklar. Men kunskaperna på området är ofullständiga, alltså är det oklart hur stora skillnaderna i verkligheten är mellan olika generationer av samma stam.

Antraxutbrottet i USA har medfört ett ökat intresse för genetisk stamidentifikation av biovapenagens. I centrum för det pågående arbetet med stamtypningssystem för mjältbrandsbakterier står Paul Keim och medarbetare vid Northern Arizona University i USA. Keims forskningsområde är studier av genomutveckling. Han har tidigare studerat genetiska variationer hos mikroorganismer och hos utrotningshotade djurarter. De senaste fem åren har Keim utvecklat fingeravtrycksmetoder för potentiella biovapenagens. Hans forskargrupp har identifierat en serie markörer hos mjältbrandsbakterier. Markörerna kallas variable-number tandem repeats (VNTR).

VNTR är korta repetitiva stamspecifika DNA-sekvenser. Fram till nu har omkring 50 sådana markörer identifierats och nya markörer tillkommer hela tiden. Det som gör Paul Keims arbete extra intressant är resultatet av hans samarbete med Martin Hugh-Jones vid Louisiana State University i Baton Rouge i USA. Hugh-Jones har genom mångårigt ihärdigt arbete skaffat sig världens största samling av mjältbrandsstammar. Paul Keim undersökte 426 orelaterade antraxisolat från Hugh-Jones samling men han fann enbart 89 unika bakteriegenom. Detta resultat bekräftar att mjältbrandsbakterier genetiskt är mycket homogena. En förklaring till homogeniteten är att antraxbakterierna har en speciell livscykel där de i långa perioder ligger vilande i sporform i miljön.

Keim är optimistisk och tror att det med ett ökande antal VNTR-markörer kan bli möjligt att skilja ett isolat från ett annat, eftersom även en konservativ mikroorganism som mjältbrandsbakterien måste antas ändra sin arvs massa då och då. Sådana DNA-förändringar skulle nya markörer kunna fånga upp. Om mutationsfrekvensen är linjärt relaterad till antal celldelningar, bör man på basen av antalet påvisade mutationer kunna beräkna antal generationer som förflutit mellan en originalstam och ett isolat som använts i t ex en bioattack.

Arbetet i Keims laboratorium fortsätter men Keim själv är mycket tystlåten om hur projektet fortskrider. Utbrottsisolaten beskrivs fortfarande som Amesstammen. Amesstammen användes för vapenproduktion i USA. Efter det att USA ensidigt stoppade sitt offensiva biovapenprogram fortsatte Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (AMRID) i Fort Detrick i USA att skicka Amesstammen till ett flertal laboratorier i och utanför USA. Dessa isolat har sedan distribuerats vidare till andra laboratorier där de odlats om upprepade gånger. Amesstammen kan sålunda förväntas förekomma i olika genetiska varianter. Det återstår att se om Paul Keims markörsystem kan reda ut eventuella skillnader mellan Amesvarianter.

Arbetet i Keims laboratorium fortsätter och dessutom har National Science Foundation i USA avsatt 200 000 US dollar för sekvensering av Amesstammen. Det är första gången i historien som en kriminell handling har resulterat i ett beslut om att sekvensera ett helt bakteriegenom. En annan mjältbrandsstam är redan nästan fullständigt sekvenserad. Men även med en komplett genominformation är det dock osäkert om genetiska fingeravtryck av utbrottsisolaten kan användas som bevismaterial i en kommande straffrättsprocess. Experterna är inte optimistiska. Så länge det råder oklarhet om hur stor variationen är mellan olika bakterieisolat vill troligen den juridiska expertisen vänta avvaktande.

Efter antraxbakterier väntar andra möjliga biovapenagens på att bli undersökta med metoder som Paul Keim fortsätter att utveckla. Ljuset i hans laboratorier kommer förmodligen också i fortsättningen att brinna långt in på natten. Men hans forskning bör nu kunna göras med större arbetsro än den kunde under antraxutbrottet då polis bevakade laboratoriet dygnet om och då TV-bolagens mobila sändare fyllde gatan utanför.

Referens

1. Enserink M. Taking anthrax's genetic fingerprints. *Science* 2001;294(5548):1810-2.