

創傷弧菌致病因子之研究 Study on virulence factors of *Vibrio vulnificus*

林政賢 鍾雅婷 陳昱仲*
嘉南藥理科技大學生物科技系

摘要

創傷弧菌是一種嗜鹼性的革蘭氏陰性菌，普遍存在於海洋、河口交界處，亦稱海洋弧菌。此菌為人體致病菌，當人體受到感染時，常常引發兩種的臨床病症分別是原發性敗血症和傷口感染，其中原發性敗血症的病患往往在到院後的 48 小時內死亡，致死率高達 50%。目前已知的創傷弧菌致病因子有莢膜、細胞溶解毒素、磷脂酶、金屬蛋白酶、鐵離子攝取系統及 RTX 毒素等。

巨噬細胞是身體防禦外來病原體侵略的重要成員之一，也是人體先天性免疫的第一道防線，然而，當人體遭受創傷弧菌感染而造成嚴重的病症，其主要的原因是由於創傷弧菌會毒殺巨噬細胞，導致人體免疫系統的功能降低，造成人體急劇死亡。因此，本論文目的是要選殖出創傷弧菌對巨噬細胞的毒殺基因，進而分析該毒殺基因的特性及其與其他基因的相關聯性，並提供往後探討創傷弧菌與人體免疫系統之間關聯性的依據。

為了要選殖創傷弧菌對巨噬細胞的毒殺基因，我們以顯微鏡和細胞毒性分析，由 276 株創傷弧菌跳躍子 (transposon 5, Tn5) 突變株中篩選出，3 株 (34C7、29D2 及 47C9) 對巨噬細胞毒殺能力下降的跳躍子突變株，其中 2 株突變株 (29D2 及 47C9)，經由基因選殖與序列比對的分析，得知對巨噬細胞具有毒殺能力之毒殺基因是 *argD* 及 *rtxE*，*argD* 的核酸序列長度為 1212 bp，由 403 個胺基酸構成的蛋白質，其分子量為~44 kDa，是一個與尿素循環代謝 (urea cycle and metabolism of amino acid) 有關的基因；而 *rtxE* 的核酸序列長度為 2169 bp，由 403 個胺基酸組成的蛋白質，其分子量為~79 kDa，RtxE 的功能為 ABC 轉運蛋白質 (ABC transporter)。

ArgD 與 *RtxE* 分別經由蛋白質序列比對分析，結果顯示 *ArgD* 與霍亂弧菌 (*Vibrio cholerae* O1 biovar eltor str. N16961) 的尿素循環代謝有關的 *ArgD*，具有 85% 的相同性；而 *RtxE* 與霍亂弧菌及產氣單胞菌 (*Aeromonas hydrophila* ubsp. ATCC7966) 的 *RtxE*，分別有 91% 及 69% 的相同性，除此之外創傷弧菌 *RtxE* 是屬於 RTX toxin family 成員之一，能與 *RtxB* 和 *RtxD* 共同形成 ABC transport 是屬於第一型蛋白質分泌系統，幫助毒殺蛋白 *RtxA* 由菌體內運送至胞外，造成對巨噬細胞有毒殺能力。綜合上述結果，我們由 276 株創傷弧菌跳躍子突變株中，篩選出 3 株對巨噬細胞毒殺能力下降的突變株，經由基因選殖與序列比對分析，顯示這些毒殺巨噬細胞的基因分別是尿素循環合成代謝有關的 *argD* 和負責轉運毒殺蛋白 *RtxA* 的 *rtxE*。

關鍵字：創傷弧菌 *Vibrio vulnificus*、巨噬細胞 macrophage、細胞毒殺 cytotoxicity。