

利用分子生物學方法作細菌分型（I）

廖旭方

沙鹿童綜合醫院院內感染管制委員會

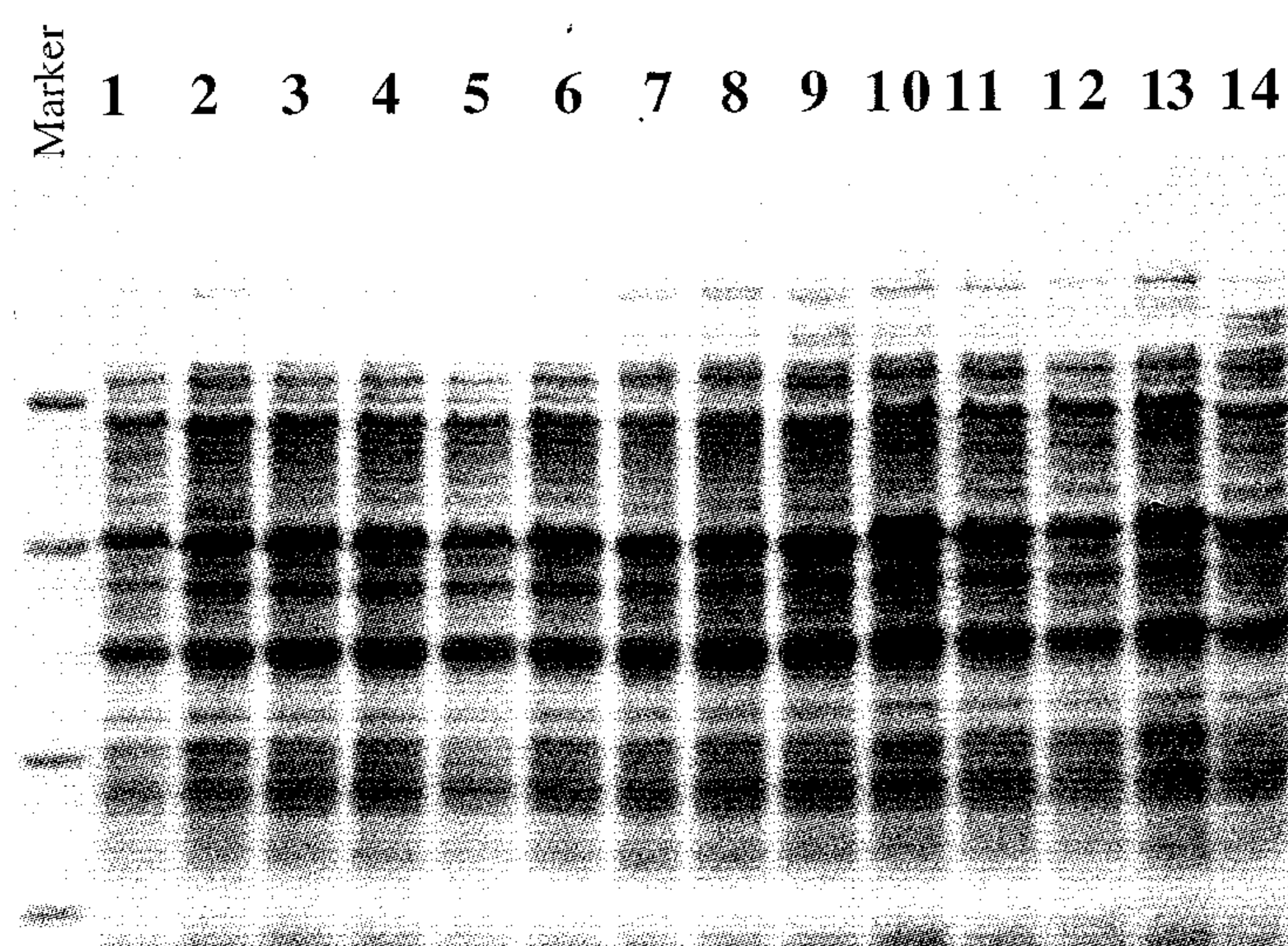
因為傳統的細菌分型法，有上文所說的缺點，加上近年來分子生物學的發展，利用分子生物學的方法作細菌分型開始普遍使用。分子生物學的細菌分型法仍然可以分成外顯型分型法（phenotypic typing）與基因型分型法（genotypic typing）兩大類。外顯型分型法主要包括細菌細胞蛋白分析（protein analysis）及脂多醣分析（lipopolysaccharide analysis; LPS analysis）。但不管是那一種方法，外顯型分型法都有一個共通的缺點，就是其外顯性的不穩定，很容易受外在生長環境的不同條件所影響。但它們較傳統分型法優異的地方，則是從它們的圖型（pattern）可以探知菌株間的變異性（diversity）與菌群間的關聯性（clonal relationship），這對細菌的流行病學分析有很大的幫助。

（一）蛋白質分析：

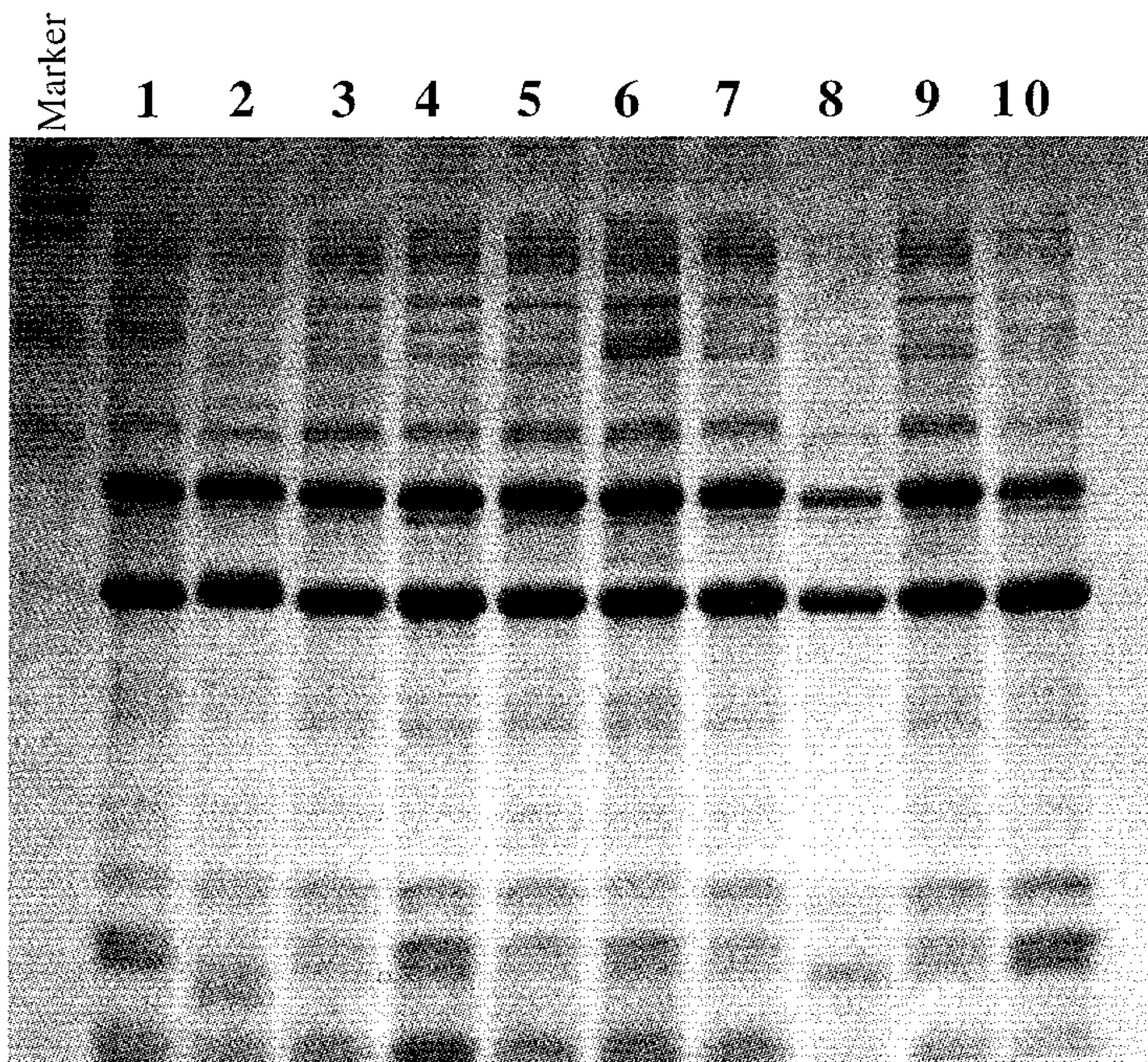
細菌的蛋白質主要是組成細菌的基本結構與進行新陳代謝所需要的各種酵素。一株細菌所產生的蛋白質種類可以高達2,000種。這些不同種類的蛋白質便構成了細菌分型的工具。基本上同種的細菌所產生的蛋白種類與數量都很類似，但在不同株的細菌間，還是會有少許的差異。我們分析細菌蛋白的方法，主要是用一般的方

法（高溫或超音波）把細菌打碎，再用SDS-PAGE（sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis）電泳法把分子量大小不一的各種蛋白在polyacrylamide膠片中分開，因此形成各種不同的蛋白質圖型。

因為一株細菌中的蛋白質種類很多，所以上述的圖型便顯得很複雜（圖一），肉眼比對不太容易，因此又有人發展利用某一組特殊的蛋白來分型。例如我們可以把革蘭氏陰性菌中的外膜蛋白分離出來，或把細菌中一組特殊的酵素分離出來，再跑電泳，這樣跑出來的圖型，因圖紋（bands）比較少的關係，比較容易比對（圖二）。但不管那一種方法都有共通的缺點，就是外顯性的不穩定，因此菌株的生長條件一定要標準化（standardized），這



圖一 *S. marcescens* 之全蛋白分析圖型



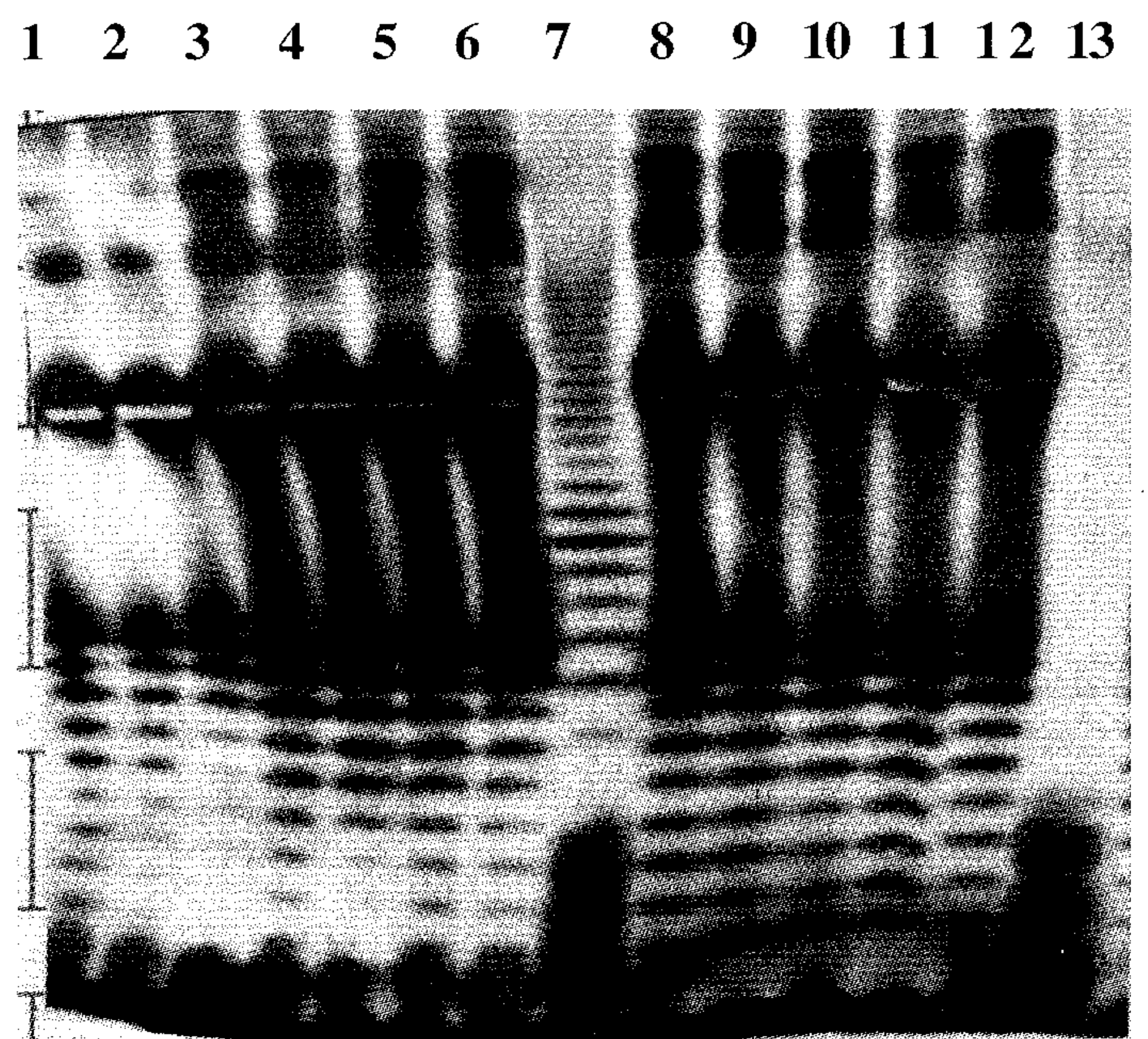
圖二 *S. marcescens* 之外膜蛋白分析圖型

樣這一類分型法的再顯性 (reproducibility) 才會高。

(二) 脂多醣分析：

脂多醣，又稱為內毒素 (endotoxin)，是革蘭氏陰性菌外膜中的結構，它分成三層，最外層為O 抗原，中間層為核心抗原，內層為脂質A (參考本專欄第二章之圖三)。脂多醣分析與O 抗原血清分型法一樣，主要是根據O 抗原的變異把菌株區分。我們可以利用phenol加熱把脂多醣分離，也可以用更簡單的方法一把細菌煮沸後，再用proteinase K (一種蛋白質分解酶) 把蛋白溶解，這樣分離出來的脂多醣與蛋白分析一樣，利用SDS-PAGE電泳法把其所含多醣成份分開，再用銀來染色，因而會呈現出不同的圖型(圖三)。一般來說脂多醣分析對菌株的區分能力與O 抗原血清分型法相同，對不含O 抗原的rough strain，同樣不能區分。

上述兩種分型法的最大優點是較其他分子生物學分型法來得簡單，我們不需要借助任何抗體、探針、引子，或限制酶的



圖三 *S. marcescens* 之脂多醣分析圖型
注意第13列為rough strain, 缺少O 抗原圖紋

幫助，即可作細菌分型。但是它們畢竟是外顯性的細菌分型法，其穩定度與再顯性很容易受外在環境所影響。因此另一類的分子生物學細菌分型法—基因分型法便被廣泛使用作為細菌分型的工具。

參考文獻

1. Towner K J, Cockayne A: Analysis of protein and lipopolysaccharide profiles. In : Towner KJ, Cockayne A, eds. Molecular Methods for Microbial Identification and Typing. London : Chapman & Hall. 1993 : 123-58.
2. Davies RL , Porter R , Coote JG, et al : Outer membrane protein and lipopolysaccharide variation in *Pasteurella hemolytica* serotype A1 under different growth condition. J Gen Microbiol 1992 ;138: 902-22.
3. Gargollo-Viola D ,Lopez D : Numerical analysis of electrophoretic periplasmic protein patterns, a possible marker system for epidemiological studies. J Clin Microbiol 1990; 28: 136-9.
4. Millership SE, Want SE: Whole-Cell protein electrophoresis for typing *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1992; 30: 2784-7.
5. Schable B, Villarino ME, Favero MS: Application of multilocus enzyme electrophoresis to epidemiologic investigation of *Xanthomonas maltophilia*. Infect Control Hosp Epidemiol 1991; 12: 163-7.
6. Tsai CM, Frasch CE: A sensitive silver stain for detecting lipopolysaccharides in polyacrylamide gels. Analytic Biochem 1982; 119: 115-9.