

## 細菌之核苷核糖化毒素： 綠膿桿菌外毒素 A

陳作琳<sup>1</sup> 林立中<sup>2</sup> 黃昭蓮<sup>3</sup> 林嘉伯<sup>1,2</sup>

行政院衛生署藥物食品檢驗局<sup>1</sup>, 東吳大學微生物學研究所<sup>2</sup>  
中央研究院分子生物研究所<sup>3</sup>

### 摘 要

對於一些細菌所產生的毒素，經由作用於真核細胞內某些重要蛋白質的核苷核糖化反應 (ADP-ribosylating reaction) 而影響其正常的生理功能已有大致的了解。大部份這類的毒素主要是由兩個部份 (moieties), A 和 B 所組成。B 部份負責其分子本身與毒性敏感細胞表面特殊受體的結合，而 A 部份則負責執行核苷核糖化 (ADP-ribosylate) 細胞內蛋白質的酵素活性。綠膿桿菌外毒素 A (*Pseudomonas* exotoxin A, 簡稱 PEA), 是綠膿桿菌所產生的細胞外產物中最具毒性的成份。此一外泌性蛋白質毒素主要由三個區域 (domains) 所組成：即區域 I, 區域 II 和區域 III, 其主要功能分別與細胞的結合 (binding)、在細胞內的移位 (translocation) 和發揮核苷核糖化活性 (ADP-ribosylating activity) 有關。吾人若應用綠膿桿菌外毒素 A 之核苷核糖化反應毒殺細胞的功能，一般皆相信可以作為製備免疫毒素 (immunotoxins) 的最佳選擇。在本篇綜論中，吾人將討論核苷核糖化細菌毒素 (ADP-ribosylating bacterial toxin) 的結構、作用機制，並對於綠膿桿菌外毒素 A, 以及綠膿桿菌外毒素 A 和其他核苷核糖化毒素 (ADP-ribosylating toxin) 的異同作一簡介。

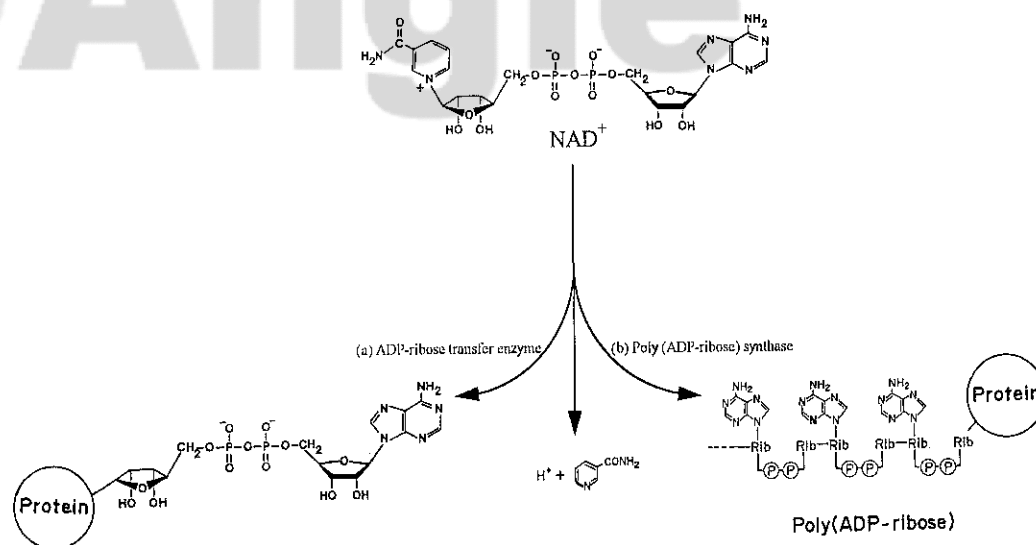
**關鍵詞：**核苷核糖化，細菌毒素，綠膿桿菌外毒素 A。

### 前 言

核苷核糖化反應 (ADP-ribosylating reaction) 對於維持細胞正常生理功能是十分重要的，細胞內一些重要的生化反應所必需的酵素，可經由核苷核糖化反應來調控其活性，所以其活性調控一旦被干擾，就會對細胞造成極大的危害。而部份原核生物所產生的外泌性蛋白質毒素就具有這種酵素活性，因此能夠產生這類毒素的原核生物都被視為危險的病原菌，而這一類的毒素也就被歸類為核苷核糖化毒素 (ADP-ribosylating toxin)。

綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 是一株在醫院中常見的伺機性病原菌，尤其對於一些抵抗力較弱的病人常會造成生命的危害<sup>(1)</sup>。由於綠膿桿菌能抵抗不少的抗生素，再加上它能產生一些外泌性的物質，其中一些物質即外泌性蛋白質細胞毒素，因此對於這株菌的研究非常多。根據前人的研究，它能分泌的物質有下列幾種：elastase、alkaline protease<sup>(2)</sup>、rhamnolipid<sup>(3)</sup>、hemolysins phospholipase C<sup>(4)</sup>、alginate (一種 exopolysaccharide)<sup>(5, 6)</sup>、兩種 ADP-ribosyltransferases, exoenzyme S<sup>(7)</sup> 和綠膿桿菌外毒素 A (*Pseudomonas aeruginosa* exo-

Journal of Food and Drug Analysis, 1996, 4(2)



**Figure 1.** ADP-ribosylating reaction. (a) Mono-ADP-ribosylation of proteins by the catalysis of ADP-ribosylating bacterial toxins. (b) Poly (ADP-ribose) reaction.

toxin A, 簡稱 PEA)<sup>(8)</sup>。由於吾人對於這些毒素的研究由來已久，因而對於其致病機制已有大致的了解<sup>(9-11)</sup>，而其中對病人危害最嚴重的莫過於綠膿桿菌外毒素 A<sup>(8)</sup>，在以小白鼠為實驗動物所得的半致死量 (LD<sub>50</sub>) 約為 0.2 μg<sup>(12)</sup>，可見其毒性之強。因此針對綠膿桿菌外毒素 A 的結構、作用機制，以及它和其它細菌性核苷糖化毒素 (ADP-ribosylating toxin) 的異同，在此擬作一概略的介紹。

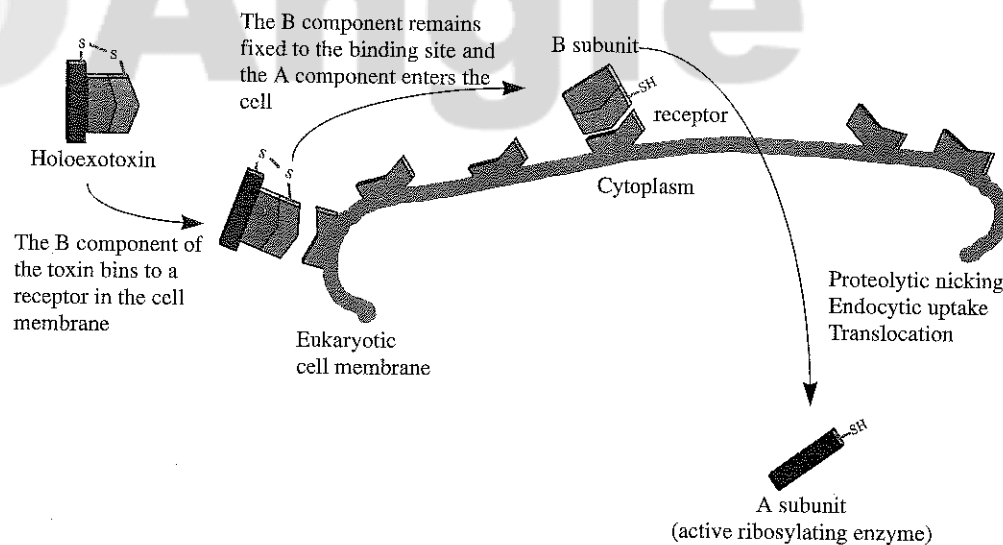
### 核苷糖化反應

要了解核苷糖化毒素的作用方式，首先就必須對細胞內進行的核苷糖化反應有所認識。此一反應對生物體十分重要，因為它能對生物體內的蛋白質進行共價修飾 (covalent modification)，而經過這種修飾之後可以使一些原本不具有活性的酵素產生活性，進而催化生物體內種種重要生化反應的進行，例如：大白鼠肝細胞核 (the nucleus of rat hepatocyte) 的組織蛋白 (histones) 不論在活體內 (*in vivo*) 或活體外 (*in vitro*) 均可作為多核苷糖受體 poly(ADP-ribose) acceptors；或使原具活性的蛋白失去活性而使得細胞不能進行正常的生化功能，例如：細胞內蛋白質生成所需的延長因子 2 (elongation factor-2, EF-2)，被核苷糖化反應後，會使該細胞失去合成蛋白質的能力，而導致細胞死亡。一般而言，人體細胞內對於控制酵素活性的方式主要有兩種：一是藉由

ligand 來控制，另一種方式則是共價修飾。而共價修飾主要又分成三種方式：磷酸化 (phosphorylation)、腺核苷酸化 (adenylation) 以及核苷糖化 (ADP-ribosylation)。圖一(a)就是細胞內的蛋白酵素被細菌之毒素蛋白核苷糖化的過程，參與這個反應除了主要的基質外尚須有 NAD<sup>+</sup> 和核苷糖轉化酶 (ADP-ribosyltransferase)；而這類反應在真核生物體內發生的過程是如圖一(b)所示的多核苷糖化反應 (poly-ADP-ribosylating reaction)，主要是由多核苷糖轉化酶 (poly ADP-ribose polymerase) 或多核苷糖合成酶 (poly ADP-ribose synthase) 所催化而進行，它們存在於所有真核生物的細胞核內，而核內參予反應的蛋白質包括有：histones、A24 protein、high-mobility-group proteins、low-mobility-group proteins、topoisomerase I and II、DNA polymerase α and β、terminal nucleotidyltransferase、DNA ligase I and II、RNA polymerase II、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>-dependent nuclease 以及多核苷糖聚合酶 poly(ADP-ribose) polymerase 等<sup>(13)</sup>，這個反應只發生在真核生物的細胞核中，而不會發生在原核生物中，這是因為在原核生物細胞中沒有相同或類似的酵素存在。

某些原核生物能合成一些非生理上必要的外泌性蛋白質，例如白喉毒素 (diphtheria toxin)、霍亂毒素 (cholera toxin)、百日咳毒素 (pertussis toxin) 以及綠膿桿菌外毒素 A

Journal of Food and Drug Analysis, 1996, 4(2)



**Figure 2.** Schematic representation of the basic A-B structure of ADP-ribosylating bacterial toxins and the possible mechanism of entry of the toxic fragment A into the eukaryotic cell.

(PEA)，皆具有多核苷核糖轉化酶的活性，而被歸類為核苷核糖化毒素，只要有適當的基質存在，這些毒素就能催化核苷核糖化反應的進行<sup>(13, 14)</sup>，與真核生物細胞內所發生的反應不同就是原核生物的反應是單核苷核糖化反應 (mono-ADP-ribosylating reaction)，且這個反應的基質大部份是存在細胞膜或細胞質中。這種差異完全是因為兩種類型之蛋白質的酵素活性不同的緣故，最顯著的差異就是在真核生物的細胞內必須有核苷核糖 (DNA) 存在時才會發生核苷核糖化反應，也就是說只有在活的細胞核中才會發生。但是對於那些可以產生毒素的原核生物而言，它們所分泌的毒素蛋白質即使在 DNA 不存在的情形下也能作用。因此當這些病原菌入侵到真核生物的生物體內，即使病原菌沒有入侵到細胞中，但是它們所產生的外泌性蛋白質毒素仍舊可以發揮作用，進而造成細胞的死亡。

## 核苷核糖化毒素

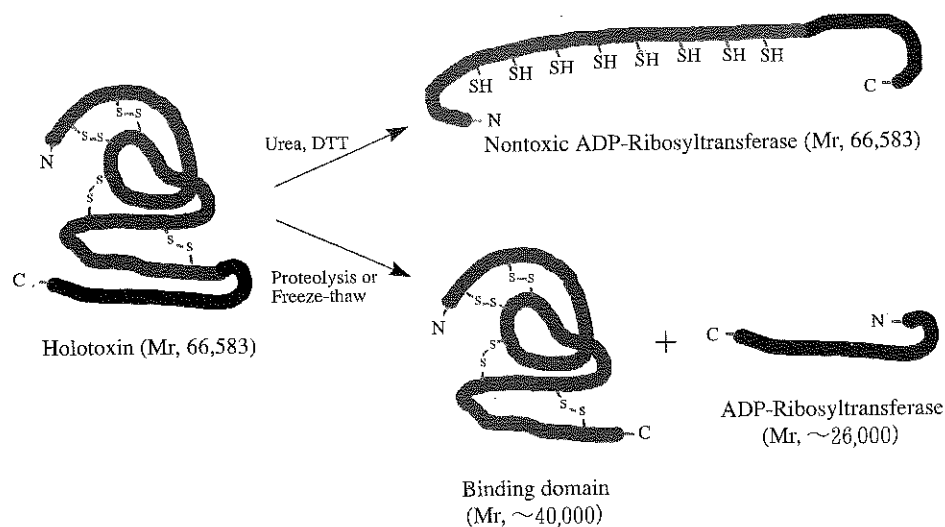
正如前面所介紹的，核苷核糖化毒素是一群由病原菌所產生的外泌性蛋白質毒素，由於它們能改變或中止細胞內的正常生理反應中的核苷核糖化反應過程，因此會造成宿主很嚴重的疾病，甚至危害生命。這些毒素主要是由兩個功能上完全不同的區域 (domain) 所組成：毒性部份 (toxic moiety) 的 A 鏈和媒介 (vector) 部份的 B 鏈，當它們以 holotoxin (即完

整的形式 A 鏈和 B 鏈) 存在時是不具有活性的。此毒素在細菌細胞內轉譯 (translation) 後，在分泌至細胞外液 (extracellular fluid) 前，於細胞內膜上 (inner membrane) 會先將領導序列 (leader sequence) 水解之，再經由蛋白分解缺口化 (proteolytic nicking) 即得一藉由一對雙硫鍵連接著具有 A, B 鏈的蛋白質。但是當此一蛋白質接觸到真核細胞的表面受器 (receptor)，A 鏈就會和 B 鏈分開，此時媒介的部份 (即 B 鏈) 就會留在細胞外，而 A 鏈 (即毒性部份) 的部份會進入細胞中，即整個毒素會由原來的不活化型 (inactive form) 轉變成活化型 (active form)<sup>(15)</sup> (圖二)；這個過程需要將 A 鏈和 B 鏈之間的雙硫鍵打斷，而這個雙硫鍵正是造成整個毒素不具活性的緣故。但對於某些細菌毒素如綠膿桿菌外毒素 A，或白喉毒素和細胞膜上接受器結合後，會經由內胞飲作用 (endocytosis) 進入細胞內，在 endosome 內分解為 A, B 鏈，A 鏈再轉送入細胞質中進行核苷核糖化反應。

各種核苷核糖化細菌毒素組 (ADP-ribosylating bacteria toxin groups) 不管是在媒介或是在毒素 (toxin) 的組成上都不太相同，但不論差異多大，一定是由兩個部份，即所謂的毒性部份和媒介所組成。而它們歸類為核苷核糖化細菌毒素的原因則是因為它們的毒性作用皆具有相同的作用機轉：即具有將真核細胞內某些重要的蛋白質核苷核糖化之活性。這些蛋白質，一般都控制著細胞內一些非常重要的生化

**Table 1.** Main properties of some typical bacterial ADP-ribosylating toxins

Bacterial toxin	Effect on eukaryotic cells	Eukaryotic cell receptor
PEA	Inhibit eukaryotic protein biosynthesis	LDL/ $\alpha$ -Macroglobulin receptor
<i>Pseudomonas</i> exoenzyme S	?	not clear
Diphtheria toxin	Inhibit eukaryotic protein biosynthesis	a 145-kDa protein
Pertussis toxin	Alteration of trans-membrane signal transduction	a 160-kDa glycoprotein
Cholera toxin	Alteration of trans-membrane signal transduction	Ganglioside
<i>E. coli</i> LT1	Alteration of trans-membrane signal transduction	Ganglioside
<i>E. coli</i> LT2	Alteration of trans-membrane signal transduction	Ganglioside



**Figure 3.** Schematic representation of the two ways in which PEA can be activated to express enzymatic activity.

反應，例如蛋白質生合成 (protein biosynthesis)、細胞膜訊號傳遞 (transmembrane signalling)、腫瘤發生 (oncogenesis) 以及細胞骨架結構 (cytoskeleton structure) 的合成等等；同時這些蛋白質有一些共同的特性，即它們都是 GTP-binding protein (除了肌動蛋白 actin 之外，因肌動蛋白結合的對象是腺核苷三磷酸 ATP 而非鳥核苷三磷酸 GTP)，由此可知核苷糖化細菌毒素會與不同種類的真核細胞表面的受器作用，表一列出了與核苷糖化細菌毒素作用的一些真核細胞表面受器以及它們的一些特性。

### 綠膿桿菌外毒素A 的結構、作用機制以及與其他核苷糖化毒素之比較

由以上所述核苷糖化細菌毒素之特性，

當使我們對這類細菌外泌性蛋白質毒素有了更清楚的認識，以下即要討論綠膿桿菌外毒素A 的詳細構造、作用機制及其與其他種核苷糖化毒素之比較：綠膿桿菌外毒素 A 是由 613 個胺基酸所組成的一條單一多肽鏈 (single polypeptide chain)，為一具有特異性 3-D 立體結構的蛋白質，早在 1984 -- 1986 年就已經知道它的 X 射線 (X-ray) 結晶繞射圖<sup>(16, 17)</sup>。綜合各相關實驗結果的分析，此蛋白質毒素可以分成三個區域：區域 I 由兩個不連續的部份所組成，其中 Ia 由胺基酸序列 (amino acid) 1-252 所組成，Ib 則由胺基酸序列 365-404 所組成；區域 II 是由胺基酸序列 253-364 所組成；而區域 III 則是由胺基酸序列 405-613 所組成。三個區域之間由四個雙硫鍵所連結在一起，其中區域 Ia 上有兩個，另外兩個分別位於區域 Ib 以及區域 II 上。而這三個區域在功

能上分別扮演何種角色呢？根據研究人員的研究發現：將綠膿桿菌中產生此一毒素的 DNA 選殖到大腸桿菌 (*E. coli*) 中，經由突變處理後，如果將區域 Ia 的部份除去，將會導致整個蛋白質無法與細胞表面的受器結合<sup>(18, 19)</sup>。而類似的研究發現，如果 Lys<sup>57</sup> 改變成 Glu 的話，也會造成同樣的效果<sup>(20)</sup>。而若是將區域 II 的部份除去，或是對 Arg<sup>276</sup>、Arg<sup>279</sup>、Arg<sup>230</sup> 進行點突變處理，以及將 Cys<sup>265</sup> 與 Cys<sup>268</sup> 改變成其他胺基酸，都會造成下列現象：此分子可以與細胞結合，也具有酵素活性，但不具有毒性<sup>(21, 22)</sup>。另外，若是將區域 III 除去，則整個分子的酵素活性就消失了<sup>(22, 23)</sup>。因此根據上述實驗結果，研究人員推論區域 I 是與細胞的辨識 (cell recognition) 有關，區域 II 與細胞膜的移位 (membrane translocation) 有關，而區域 III 則具有核苷核糖化轉化酶的酵素活性，能對細胞核內的 EF-2 進行核苷核糖化<sup>(18)</sup> 的反應。由此可知綠膿桿菌外毒素 A 是屬於一個典型的核苷核糖化毒素，而它的作用方式到底是如何進行的呢？當綠膿桿菌侵入宿主體內後就會分泌出綠膿桿菌外毒素 A，此時的綠膿桿菌外毒素 A 仍是以不活化型存在。然後經由宿主細胞之接受體-內吞作用 (receptor-mediated endocytosis) 而將綠膿桿菌外毒素 A 活化。一旦此毒素由不活化型轉變成活化型之後，區域 II 就會發揮細胞膜移位的功能，將區域 III 傳送到細胞質中，接著就會進行核苷核糖化反應，對延長因子 2 進行修飾 (modify)，進而抑制細胞內之蛋白質生合成，最後造成細胞的死亡<sup>(24)</sup> (圖二)。另外在試管中 (*in vitro*)，將綠膿桿菌外毒素 A 活化的路徑有兩種主要方式 (圖三)：第一種方式是一些變性劑 (denature agent)，例如尿素 (urea) 或 guanidine hydrochloride，它們會將綠膿桿菌外毒素 A 核苷核糖化區域曝露出來，使其具有活性；第二種方式則是經由蛋白分解方式，同樣也會活化綠膿桿菌外毒素 A。

那麼綠膿桿菌外毒素 A 和其他的核苷核糖化細菌毒素有什麼差異呢？以白喉毒素 (DT) 為例，就蛋白質一級結構上來看，似乎兩者幾乎完全不同，而且以綠膿桿菌外毒素 A 而言它具有酵素活性的位置是在 C-端，而白喉毒素卻是位於 N-端。雖然單純就結構與酵素活性上來看兩者的確有很大的差異，然而研究人員針對白喉毒素以及綠膿桿菌外毒素 A 的接

觸部位 (catalytic site) 進行研究發現，兩者的結構非常類似<sup>(25)</sup>。而最近的研究報告更進一步指出：不論是綠膿桿菌外毒素 A 或是白喉毒素還是其他的核苷核糖化細菌毒素，它們的菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸結合處 (NAD-binding site) 以及接觸部位皆具有相似的結構<sup>(26)</sup>。由此看來，雖然各種核苷核糖化細菌毒素之胺基酸序列上組成不盡相同，結構上也不完全一樣，然而對於其發揮生物活性之接觸部位以及菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸結合處而言則具有相似的構造，表示這些核苷核糖化細菌毒素的作用機制和過程應是大致相同的。

## 未來的應用與展望

當我們了解綠膿桿菌外毒素 A 以及其他核苷核糖化細菌毒素的組成與作用方式之後，是否我們可以利用它對真核細胞毒殺的功能加以改造，使其成為一個有效的藥物？的確在目前的研究上有非常多這方面的研究。由上述介紹我們知道，綠膿桿菌外毒素 A 識別細胞的區域是位於區域 I，因此有許多人嘗試將區域 I 改造，使其能識別癌細胞或是受到愛滋病病毒 (HIV) 感染的細胞，並藉此應用於癌症<sup>(27-29)</sup> 及愛滋病<sup>(30, 31)</sup> 的治療。由於他們的實驗初步結果具有顯著的療效，因而很多研究人員即嘗試將這些毒素衍生物作為臨床上的治療藥物，然而目前為止在臨床上的研究數據則尚須相當的努力。此外雖然有那麼多的核苷核糖化細菌毒素，真正被改造應用成藥物使用的還是少數幾種，例如綠膿桿菌外毒素 A 和白喉毒素。有鑑於目前對於綠膿桿菌外毒素 A 的了解較為清楚，研究人員即儘量利用現有的基礎企圖找出是否所有的核苷核糖化細菌毒素都有共同的作用方式，如此或許能找出更多新的藥物或是對其他的毒素能進行進一步的防治或研究，這或許是今後主要努力研究的方向。

## 參考文獻

1. Wood, R. E. 1976. *Pseudomonas*: The Compromised Host. *Hosp. Pract.* 11(8):91-100.
2. Morihara, K. 1964. Production of Elastase and Proteinase by *Pseudomonas Aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 88:745-757.

Journal of Food and Drug Analysis. 1996. 4(2)

3. Esselmann, M. T. and Liu, P. V. 1961. Lecithinase Production by Gram Negative Bacteria. *J. Bacteriol.* 81:939-945.
4. Sierra, G. 1960. Hemolytic Effect of a Glycolipid Produced by *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antonie Van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* 26:189-192.
5. Evans, L. R. and Linker, A. 1973. Production and Characterization of the Slime Polysaccharide of *Pseudomonas Aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 116:915-924.
6. Linker, A. and Jones, R. S. 1966. A New Polysaccharide Resembling Alginate Isolated from *Pseudomonas*. *J. Biol. Chem.* 241:3845-3851.
7. Iglewski, B. H., Sadoff, J., Bjorn, M. J. and Maxwell, E. S. 1978. *Pseudomonas Aeruginosa* Exoenzyme S : an Adenosine Diphosphate Ribosyltransferase Distinct from Toxin A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:3211-3215.
8. Liu, P. V. 1966. The Roles of Various Fractions of *Pseudomonas Aeruginosa* in its Pathogenesis. III. Identity of the Lethal Toxins Produced *in vivo* and *in vitro*. *J. Infect. Dis.* 116:481-489.
9. Holder, I. A. 1985. The Pathogenesis of Infections owing to *Pseudomonas Aeruginosa* Using the Burned Mouse Model : Experimental Studies from the Shriners Burns Institute, Cincinnati. *Can. J. Microbiol.* 31:393-402.
10. Nicas, T. I. and Iglewski, B. H. 1985. The Contribution of Exoproducts to Virulence of *Pseudomonas Aeruginosa*. *Can. J. Microbiol.* 31:387-392.
11. Nicas, T. I. and Iglewski, B. H. 1986. Toxins and Virulence Factors of *Pseudomonas Aeruginosa*. In *The Bacteria*, vol. 10, J. R. Sokatch and L. N. Ornston, ed., pp.195-213. Academic Press, Orlando, Fla.
12. Iglewski, B. H. and Sadoff, J. C., 1979. Toxin Inhibitors of Protein Synthesis : Production, Purification and Assay of *Pseudomonas Aeruginosa* Toxin A. *Methods Enzymol.* 60:780-793.
13. Althaus, F. R. and Richter, C. 1987. ADP-Ribosylation of Proteins. In *Enzymology and Biological Significance*, ed., pp.230. Springer-Verlag KG, Berlin.
14. Moss, J. and Vaughan, M. 1988. ADP-Ribosylation of Guanyl Nucleotide-Binding Regulatory Proteins by Bacteria Toxins. *Adv. Enzymol.* 61:303-379.
15. Middlebrook, J. L. and Dorland, R. B. 1984. Bacterial Toxins : Cellular Mechanisms of Action. *Microbiol. Rev.* 48:199-221.
16. Gray, G. L., Smith, D. H., Baldrige, J. S., Harkins, R. N., Vasil, M. L., Chen, E. Y. and Heyneker, H. L. 1984. Cloning, Nucleotide Sequence, and Expression in *Escherichia coli* of the Exotoxin A Structural Gene of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:2645-2649.
17. Allured, V. S., Collier, R. J., Carroll, S. F. and McKay, D. B. 1986. Structure of Exotoxin A of *Pseudomonas aeruginosa* at 3.0-Ångstrom Resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:1320-1324.
18. Hwang, J., FitzGerald, D. J., Adhya, S. and Pastan, I. 1987. Functional Domains of *Pseudomonas* Exotoxin Identified by Deletion Analysis of the Gene Expressed in *E. coli*. *Cell.* 48:129-136.
19. Hwang, J. and Chen, M.-S. 1989. Structure and Function Relationship of *Pseudomonas* Exotoxin A : an Immunochemical Study. *J. Biol. Chem.* 264:2379-2384.
20. Jinno, Y., Chaudhary, V. K., Kondo, T., Adhya, S., FitzGerald, D. J. and Pastan, I. 1988. Mutational Analysis of Domain I of *Pseudomonas* Exotoxin. *J. Biol. Chem.* 263:13203-13207.
21. Jinno, Y., Ogata, M., Chaudhary, V. K., Adhya, S., FitzGerald, D. J., Pastan, I. and Willingham, M. C. 1989. Domain II Mutant of *Pseudomonas* Exotoxin in Deficient in Translocation. *J. Biol. Chem.* 264:15953-15959.
22. Siegall, C. B., Chaudhary, V. K., FitzGerald, D. J. and Pastan, I. 1989. Functional Analysis of Domain II, Ib and III of

Journal of Food and Drug Analysis. 1996. 4(2)

- Pseudomonas* Exotoxin. J. Biol. Chem. 264:14256-14261.
23. Chow, J. T., Chen, M. -S., Wu, H. C. P. and Hwang, J. 1989. Identification of the Carboxyl-terminal Amino Acids Important for the ADP-Ribosylation Activity of *Pseudomonas* Exotoxin A. J. Biol. Chem. 264:18818-18823.
24. Vasil, M. L., Kabat, D. and Iglewski, B. H. 1977. Structure-activity Relationships of an Exotoxin of *Pseudomonas aeruginosa*. Infect. Immun. 16:353-361.
25. Brandhuber, B. J., Allured, V. S., Falbel, T. G. and McKay, D. B. 1988. Mapping the Enzymatic Active Site of *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A. Protein Struct. Funct. Genet. 3:146-154.
26. Domenighin M., Magagnoli C., Pizza M. and Rappuoli R. 1994. Common Features of the NAD-binding and Catalytic Site of ADP-ribosylating Toxins. Mol. Microbiol. 14(1):41-50.
27. Shiah, H.-S., Chen, T.-Y., Chang, C.-M., Chow, J. T., Kung, H.-J. and Hwang, J. 1992. *Pseudomonas* Exotoxin A-epidermal Growth Factor (EGF) Mutant Chimeric Protein as an Indicator for Identifying Amino Acid Residues Important in EGF-receptor Interaction. J. Biol. Chem. 267:24034-24040.
28. Lee, C.-H., Lee, E.-C., Tsai, S.-T., Kung, H.-J., Liu, Y.-C. and Hwang, J. 1993. An EGF-*Pseudomonas* Exotoxin A Recombinant Protein with a Deletion in Toxin Binding Domain Specifically Kills EGF Receptor Bearing Cells. Protein Engineering. 6:433-440.
29. Kihara A. and Pastan I. 1994. Small Chimeric Toxins Containing only Transforming Growth Factor alpha and Domain III of *Pseudomonas* Exotoxin with Good Antitumor Activity in Mice. Cancer Res. 54:5154-5159.
30. Davey, R. T., Boenning, C. M., Herpin, B. R., Batts, D. H., Metcalf, J. A., Wathen, L., Cox, S. R., Polis, M. A., Kovacs, J. A., Falloon, J., Walker, R. E., Salzman, N., Masur, H. and Lane, H. C. 1994. Use of Recombinant Soluble CD4 *Pseudomonas* Exotoxin, a Novel Immunotoxin, for Treatment of Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. J. Infect. Dis. 170:1180-1188.
31. Hseuh, K. -H., Shang, H. -F., Wang, L. -F., Lo, C. -K., Liao, C. -W. and Hwang, J. 1995. Engineering of *Pseudomonas* Exotoxin A into Useful Proteins for Disease Treatment. J. Chinese Biochem. Society. in Press.

# ADP-Ribosylating Bacterial Toxins :

## *Pseudomonas* Exotoxin A

<sup>1</sup>TSO LING CHEN, <sup>2</sup>LEE CHUNG LIN, <sup>3</sup>JAULANG HWANG AND <sup>1,2</sup>CHIA PO LIN

<sup>1</sup>*National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan  
161-2, Kuen Yang Street, Nan Kang, Taipei, Taiwan, R.O.C.*

<sup>2</sup>*Institute of Microbiology, Soochow University, Shih-Lin, Taipei, R.O.C.*

<sup>3</sup>*Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Taipei, R.O.C.*

It is well known that a number of toxins produced by bacteria exert their action by ADP-ribosylating reaction to certain proteins which are essential for normal eukaryotic cellular functions. Most of these toxins are composed of two moieties, A and B. The B moiety mediates the binding to the specific receptor on the surface of toxin-sensitive cells, while the A moiety is responsible for the enzymatic ADP-ribosylating activity. *Pseudomonas* exotoxin A (PEA) is the most toxic component of the extracellular products produced by *Pseudomonas aeruginosa*. The

three domain model of PEA has been well established : domain I, domain II, and domain III exerting binding, translocation, and ADP-ribosylating activities, respectively. Because of the cytotoxic ADP-ribosylating nature of PEA, it has been suggested as a good candidate in the preparation of immunotoxins. In this minireview article, we discuss the structure and function of the bacterial ADP-ribosylating toxins including PEA and compare the differences particularly between PEA and other relevant toxins.

**Key words** : ADP-ribosylation, bacterial toxins, *Pseudomonas* exotoxin A ( PEA ) .