

## 神經及荷爾蒙訊息傳導 ——第二酵素之剖析

金克寧

生物醫學研究所助研究員

動物個體是由許多不同之組織細胞所組成，個體則是基於許多動物之生理現象均是經由不同組織細胞間經過一連串之快速訊息交流而達成，例如我們看見一隻蚊子在臉前飛舞，繼而伸出兩手將之擊斃，是一個一氣呵成之動作。但其中之細胞訊息連繫，則至少有視覺細胞、視神經細胞、中樞神經聯絡細胞、小腦協調細胞；這些經過小腦協調之訊息則經由各組運動神經送到身體之各組肌肉細胞而完成此一看似簡單其實複雜的動作。

現代細胞及神經生物研究使得我們了解到神經細胞是如何把神經訊號往下傳給另一細胞，例如：活化之上游神經細胞能夠在兩細胞接觸處(神經突觸)分泌一種化學物質(神經激素)，這個化學物質能和下游之神經細胞膜表面之結合體結合，而把訊號傳遞下去。下游神經細胞膜表面通常均有識別性相當高的蛋白結合體，能夠和特定之神經激素結合，所以能夠接受特定之化學訊息。當細胞外之化學訊息和胞膜表面之結合體結合後，便會在胞膜內引起酵素之化學反應，使細胞內某種特定訊息的化學分子大量產生而使其濃度急速提高，這些特定之化學分子訊息通常會活化許多不同之酵素系統而在細胞質及細胞核內引起連串之細胞生理反應；在神經及內分泌學定義上游細胞所分泌之化學訊號為"第一訊息"，而經由第一訊息和下游細胞膜表面之結合體結合後在胞內所產生之另一種化學分子訊息稱之為"第二訊息"。

胞外之第一訊息通常是和辨識性非常高之結合體作用，而胞內之第二訊息分子通常具有較廣泛之調控作用，例如腎上腺素(一種神經激素及內分泌素)僅能和腎上腺素結合體結合，但不能和另外一類之神經激素(乙醯膽酸)之結合體作用。因為不同之下游細胞之胞膜表面有不同的第一訊息結合體，故不同之第一訊息能夠活化不同之下游細胞，然而一旦細胞被活化後，其胞內之主要幾種第二訊息分子cAMP，DAG，三磷酸肌醇及游離鈣離子之濃度均會多少受到改變，這些分子會廣泛地調節不同酵素系統之活性。故在不同種之下游細胞內，相同之第二訊息分子可能引起相同，不同，甚至於相反之細胞生理反應。

無論是上游神經細胞收到外來之物理或化學刺激或下游神經細胞受到神經激素刺激，均會活化細胞，例如胞膜之電位變化及分泌神經激素，或肌肉之收縮或放鬆。這些刺激亦會使細胞發生疲勞現象——對外界之訊號不產生反應，最明顯的例子是我們的嗅覺系統，當我們第一次聞香水，是非常香的，久了之後，反而不覺其香。反之亦然，進入洗手間之第一分鐘，和離開時的感覺是不大相同。過去學者們專注於神經激素如何活化及激發神經細胞，但現在發現神經激素亦會使下游之神經細胞疲勞(術語為去敏感)，對更進一步之刺激不會產生反應，經由多年來發現，當結合體或其他之訊息傳導酵素被磷酸化後其酵素及蛋白活性降低，對外來之激素訊號是不會產生反應。否則神經細胞會長期處於激化狀態，而使一切代謝生理因衰竭而停止活動。故從生理之觀點而言，神經激素使下游目標細胞產生疲勞而降低感應度，是一種對神經系統之保護機制。

神經細胞之訊息傳導至少要符合三種特

性：(1)專一性，僅將其訊號傳給某些特定之下游細胞，這除了由神經結構外，還可由結合體對第一訊息之高辨識力，(2)快速性，神經之反應必須有相當的速度，否則我們每個人都會變得很遲鈍，下游細胞接到外來之物理或化學刺激後能夠很快速地分泌神經激素，而下游細胞接受到此一訊號後，能馬上改變其胞內第二訊息之濃度而引發細胞之生理反應。(3)精確性，胞內之第二訊息分子製造生產及代謝必須非常嚴格地調控，這些分子僅能在適當之時間才能產生或代謝，否則神經細胞會常處於激化狀態，或不同之神經訊息會互相拮抗，而使神經系統不能順暢地發揮其功能，例如很多腦中樞神經病變，各組神經細胞處於活化狀態，而使得病人之收縮肌及伸展肌不能配合而引發運動及平衡上之症狀。

當今之神經細胞之訊息傳導研究均非常重視訊息傳導之分子調控機制。尤其是負責製造生產第二訊息之酵素，如Adenylyl-cyclase及phospholipase(肌醇磷脂酶)。其中Adenylyl-cyclase負責把ATP製造成cAMP<sup>\*</sup>，此酵素之活性受到和結合體共同作用之G蛋白之嚴格管制，而肌醇磷脂酶負責把胞膜表面之肌醇磷脂分解為肌醇磷酸及二脂酸甘油。其中二脂酸甘油會活化胞內之C型蛋白激酶，而活化後之C型蛋白激酶會更進一步地調節訊息傳導系統之活性，而肌醇三磷酸則會使細胞內之游離鈣離子濃度增加，鈣離子本身亦可視為一種第二訊息分子，因為它會廣泛地對許多不同的訊息傳導之酵素系統做精密之調控。肌醇磷脂酶主要分為三大亞種， $\gamma$ ， $\beta$ 及 $\delta$ ，其中 $\gamma$ 亞種的活性是受到許多生長激素之調控，而 $\beta$ 亞種則是由G

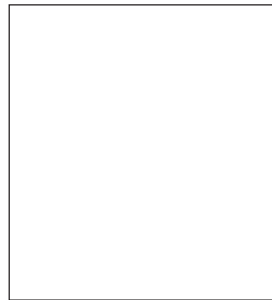
<sup>\*</sup> cAMP之主要目標是一種A型蛋白激酶，負責把磷酸根自ATP上加到某些之特定蛋白上，進一步來調控蛋白分子之酵素特性。

蛋白控制其活性，最後之 $\delta$ 亞種之調控方式尚在研究中。

由於第二訊息在胞內之濃度對細胞之生理有根本之影響，故負責製造第二訊息之酵素活性在胞內均受到嚴格的調控。其活性在何處表現（胞膜，胞質或胞核）。在何時表現均受到其他蛋白因子之控制，蛋白酵素沒有眼睛也沒有耳朵來接受命令，和其他調控因子之互相對談是藉著蛋白酵素上之特殊功能區域，這些區域之主要功能不是在直接催化某一生化反應，而是在於藉著和其他蛋白分子之結合及分解調控酵素之活性，故剖析第二訊息製造酵素之結構及酶學功能，能夠使我們對神經及內分泌之訊息傳導機制有更進一步之認識。大約四年前，我們實驗室首先開始注意到此一重要性。所以自人類心臟大動脈中純化並轉殖出負責水解肌醇磷脂之酵素家族成員中的丁型肌醇磷脂酶的基因。此成員的個子是家族中最小的一個，蛋白分子量為86Kda，而其他兩位重要成員乙型及丙型( $\beta$ 及 $\gamma$ )分子量分別為130及120Kda。因其體型較小，故結構上可能較易分析。更重要者，丁型肌醇磷脂酶在人體各個組織中均或多或少的都存在，顯示其在某一種基礎之細胞過程中擔任著不可缺少之角色，但是其調控機制至今尚未明瞭。肌醇磷脂酶家族中其他成員的酵素結構及功能之相互關係亦未有人開始研究。有鑑於此，我們首先將此一酵素之基因送入大腸桿菌中，並活化大腸桿菌使其能為我們製造出大量之具有活性之丁型肌醇磷脂酶。由於蛋白初級結構由基因所決定，故我們可以很簡單地修改此酵素之基因，而達到修改其蛋白結構的目的。將經過修改之酵素基因送入大腸桿菌中，使其為我們製出大量經過定點修改過之蛋白酵素分子，經過純化後，可

鑑定其各種經過不同修改的酵素活性。利用此一方法，我們過去三年中，不但定出在丁型肌醇磷脂酶負責認識及切割肌醇磷脂之氨基酸功能基因。更有趣的是我們意外地發現在丁型肌醇磷脂酶上，除了肌醇磷脂酶水解中心外，另有一個功能區域負責和肌醇磷脂結合，但不負責水解肌醇磷脂。當此一功能區和肌醇磷脂結合後，直接之效果是肌醇磷脂酶由細胞質中轉移至胞膜之內層表面，進而提昇其對胞膜上之肌醇磷脂之水解效率。由於這個功能區之結構和血小板胞膜表面之重要蛋白pleckstrin之N-及C-端結構類似，故稱之為Pleckstrin Homology（簡稱為PH）功能區。目前在許多其他和胞膜有關之訊息傳導蛋白分子上也發現有和PH功能區相似之結構，由於此功能區和胞膜蛋白或胞膜上之磷脂有很強之親和力，故在生理上認為在當胞膜訊息生化反應時，PH功能區和胞膜徵募訊息蛋白分子到胞膜上之機制有關。

當神經細胞或內分泌細胞在靜止狀態時，其胞內之許多訊息傳導之蛋白分子均在細胞質中。細胞受到第一訊息（神經激素或內分泌激素）刺激時，很多訊息傳導蛋白必須自細胞質湧向細胞膜去執行其在整個生化過程中之任務。雖然，我們發現丁型肌醇磷脂酶上之PH功能區會促使此酵素由細胞質湧向細胞膜，但是仍然遺留許多尚待解決之問題，例如是何種胞內訊號，使PH功能區活化而轉向胞膜之結合等等，故這方面之研究正是方興未艾。



金克寧

學經歷：

國立台灣大學復健系

學士(1975)

國立清華大學分子生

物學碩士(1977)

美國杜克大學生物化學博士(1988)

美國霍華休斯醫學研究所博士後研究(1988-91)

本院生物醫學科學研究所助研究員（1991-迄今）

## 從探討細菌RNA分解到研究哺乳類細胞生長休止基因

林淑端

分子生物研究所副研究員

### 前言

在本院年輕人員研究著作獎得獎成果發表會中，我就本研究室研究成果得獎的三篇論文定了講題「從探討細菌RNA分解到研究哺乳類細胞生長休止基因」提出演講。藉此，一方面介紹本研究室的兩個主要研究主題，即RNA分解機制及哺乳類細胞生長休止基因之探討；另一方面則對國科會及本院對這二個研究主題，無論是在研究環境或研究經費及人力上的支持，表示感謝！另外，對日以繼夜一起打拼的研究伙伴們，更由衷地感謝，若是沒有大家執著、不懼怕挑戰地來共同參與，將不會有今天的研究成果！