

經細胞，其形成過程是漸進的，由一連串有上下游關係的基因所調控，究竟有什麼樣的基因參與其中？這些基因的表達又是如何調控呢？

果蠅神經系統發育的研究常常可以運用到高等生物的神經系統，例如原神經基因atonal和amos在高等生物也有同源基因，而他們的功能也是推動神經細胞的形成，其作用之機制也大同小異。果蠅的構造較為簡單，活體實驗容易操作，因此問題也可以研究的較為透徹，例如比較不同原神經基因推動不同種類神經細胞的形成，就是從果蠅著手，相信以後可以在高等生物發現相同的機制。



簡正鼎

學經歷：

國立台灣大學化學系
學士(1981-1985)

美國紐約州立大學石

溪分校博士(1988-1993)

美國加州大學舊金山分校博士後研究(1993-1996)

中央研究院分子生物研究所助研究員 (1996-迄今)

多重功能蛋白質-磷酸葡萄糖異構酶/神經白細胞素/自體分泌移動因子的結構與功能

蕭傳鐙

本院分子生物研究所

大家都知道一段DNA經過轉錄及轉譯之後會合成出一個相對應的蛋白質，而在生物體內主要正是靠著這些具有正確摺疊的蛋白質來

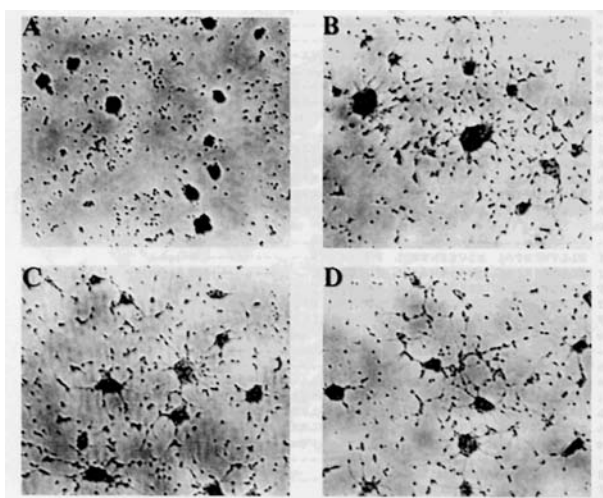
執行生理上的功能。在早期一般人都相信一個蛋白質只能執行一種功能，但是隨著分子生物學及生物技術的蓬勃發展，很多的蛋白質被發現實際上不只具有單一的生理功能。因此瞭解蛋白質的正確三度空間結構是解開此類生物大分子功能的必要手段之一。

過去幾年來，我們與中興大學孟孟孝教授的實驗室合作，運用X光繞射方法，對於具有多重功能的蛋白質—磷酸葡萄糖異構酶(phosphoglucose isomerase, PGI)進行結構及功能的研究，並且得到了一些較有趣的結果。磷酸葡萄糖異構酶在生理上主要參與糖類代謝中之糖解作用(glycolysis)及生糖作用(gluconeogenesis)，在細胞中普遍存在，一般認為此基因是屬於house-keeping gene。磷酸葡萄糖異構酶其功能在催化六磷酸葡萄糖(glucose-6-phosphate)與六磷酸果糖(fructose-6-phosphate)之間的異構化作用(isomerization)，是一種醛糖—酮糖異構酶。在動物生理上磷酸葡萄糖異構酶的基因缺陷會引起人類之遺傳疾病，如非球形紅血球溶血性貧血(Non-spherocytic hemolytic disease)，在臨床醫學上，人類的磷酸葡萄糖異構酶被用來當作癌症的指標。

有趣的是，在最近的研究中發現磷酸葡萄糖異構酶與一些重要的蛋白質像是神經白細胞素(neuroleukin, NLK)以及癌細胞的自體分泌移動因子(autocrine motility factor, AMF)具有相同的功能，而且氨基酸序列也幾乎一致的。神經白細胞素為脊髓及感覺神經元(spinal and sensory neuron)細胞之生長促進因子，也是人類單核球細胞(human mononuclear cell)分泌免疫球蛋白的誘導物質。神經白細胞素也被發現在其存在下，human immunodeficiency

virus(HIV-1)和simian immunodeficiency virus (SIV)之外鞘糖蛋白gp120 (envelope glycoprotein)會抑制神經元生長。爲了了解我們所用來研究的枯草桿菌(*Bacillus stearothermophilus*)中的磷酸葡萄糖異構酶是否也具有神經白細胞素的功能，我們與陽明大學生藥研究所吳榮燦教授合作，利用他們促進神經生長的測定系統。如圖一所示，我們證實了從枯草桿菌的磷酸葡萄糖異構酶確實能促進增強神經細胞的生長。

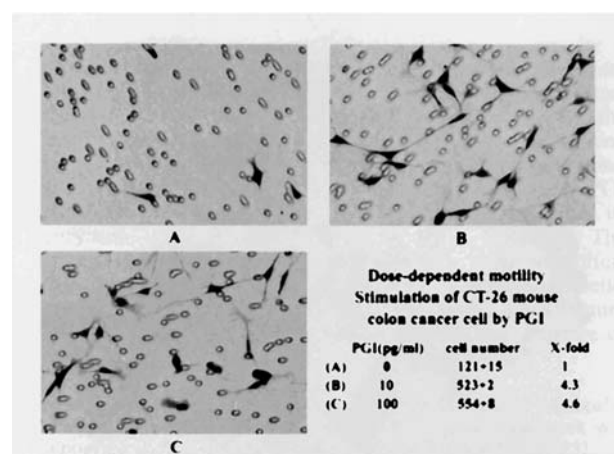
自體分泌移動因子是在1988年由美國NIH的Liotta教授所發現，其是由癌細胞所分泌出的細胞素(cytokine)，在試管實驗中(in vitro)，此自體分泌移動因子能刺激癌細胞移動(migration)的能力，在活體實驗中(in vivo)，此自體分泌移動因子會引起癌細胞的轉移(metastasis)。在那時期，Liotta等人並不知道此自體分泌移動因子與磷酸葡萄糖異構酶的關係。直到了1996年，美國Wayne州立大學的Raz教授發現了此自體分泌移動因子具有



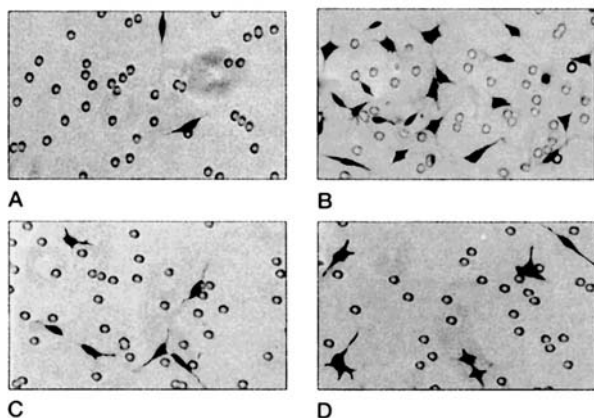
圖一 磷酸葡萄糖異構酶促進神經細胞生長的情形。(A)空白實驗 (B)，(C)及(D)爲依次加入2ng/ml，20ng/ml以及200ng/ml此蛋白質的情形。

磷酸葡萄糖異構酶的酵素活性。利用磷酸葡萄糖異構酶的抑制劑也能抑制自體分泌移動因子所引起癌細胞的轉移現象。同時分析老鼠的自體分泌移動因子及兔子肌肉的磷酸葡萄糖異構酶的氨基酸序列也極爲相似，因此證實了此自體分泌移動因子就是磷酸葡萄糖異構酶。同樣的我們也利用了相同的實驗方法，以了解我們所用的非哺乳類動物的磷酸葡萄糖異構酶是否也具有自體分泌移動因子的生理功能。如圖二所示，我們所研究的磷酸葡萄糖異構酶也確實會引起直腸癌細胞的移動。雖然此蛋白質被證實具有多重的生理功能，但至本篇論文發表前並沒有詳細的三度空間的結構訊息可以利用，以提供做爲進一步的功能研究。由於正確的分

子結構的知識是對以結構爲基礎的功能研究以及藥物設計所必須具備的先決條件之一，因此爲了了解此多重功能分子的結構與功能關係，我們運用X-光繞射方法對此分子進行晶體結構分析。我們培養出了此蛋白質的晶體。



圖二 磷酸葡萄糖異構酶引起直腸癌細胞的轉移情形。(A)空白實驗 (B)，(C)爲加入10 pg/ml以及100 pg/ml所引起的移動現象。



圖三 加入抑制劑以抑制直腸癌細胞的移動。(A)空白實驗 (B)只存在磷酸葡萄糖異構酶時所引起的移動現象 (C) 加入BAP及 (D)5PA時此移轉現象被抑制的情形



圖四 此蛋白分子與抑制劑BAP及抑制劑5PA的作用環境。

能力。爲了回答此一問題，我們首先利用兩種抑制劑（5PA以及BAP）進行功能的研究。我們發現這些抑制劑不但會抑制此分子的酵素活性，同時也會抑制此分子所引起的癌細胞的移動現象（如圖三所示）。更進一步，很幸運的我們也培養出了此分子與此二種抑制劑的複合體晶體，如圖四所示，經由這些晶體的結構，我們可以很清楚的了解，此分子是利用什麼部位來執行所對應的功能。

此篇著作主要的貢獻是對此多重功能蛋白質提供了第一個完整的三度空間晶體構造。此外，在此篇論文中經由試管實驗，我們也證實了磷酸葡萄糖異構酶不僅具有酵素的機能，同時也具有自體分泌移動因子以及神經白細胞素的活性。因此，經由此三度空間結構以及功能分析，對此分子具有不同功能的作用部位提出了合理的解釋，以提供在酵素活性、癌細胞轉移以及神經科學的研究上有價值的結構訊息，藉以了解此分子的結構與功能的關係。

最後要感謝實驗室的成員，他們才是這些實驗結果的最大貢獻者。



蕭傳鐙

學經歷：

中原大學化學系學士
(1982)

國立台灣大學化學系

碩士(1984)

美國匹茲堡大學結晶學博士(1993)

美國匹茲堡大學博士後研究(1993)

中央研究院分子生物研究所助理研究員(1994)

中央研究院分子生物研究所助研究員(1995-1999)

中央研究院分子生物研究所副研究員 (1999-迄今)