

國科會計畫

計畫編號: NSC96-2311-B018-001-MY3

研究期間: 9608-9707

免疫細胞之結構新穎神經胜太研究—類甲殼類升血糖激素之純化、基因表現、結構與功能分析

Studies of Structurally Novel Neuropeptides in
Immunocytes---Purification, Gene Expression, and Structural and
Functional Analyses of Crustacean Hyperglycemic Hormone-Like
Molecules

李奇英

中文摘要

先前的研究發現甲殼類升血糖荷爾蒙 (Crustacean hyperglycemic hormone, CHH) 有分子多形態。被發現於 X-器官/血竇腺 (X-organ/sinus gland, XOSG) 的兩個 SG-CHH 之間的差異僅在於第三個胺基酸之構象 (L-苯丙胺酸或 D-苯丙胺酸); 這兩個 SG-CHH 在功能上有調節強度的差異。在其他神經內分泌組織 (胸神經節或圍心器官) 發現的 CHHs (TG-CHH 或 PO-CHH) 與 SG-CHH 之差異在於分子序列的 C-端區域; 此差異造成 TG-CHH、PO-CHH 與 SG-CHH 之功能分歧。本實驗室最近的免疫分析首次顯示, 甲殼類免疫細胞 (血球細胞) 具有類 CHH 分子; 分子選殖所得的 cDNA 序列顯示血球表現的 CHH (Hem-CHH) 只有典型 CHH 的 N-端 40 個胺基酸殘基。因此 Hem-CHH 是中斷型 CHH, 為一結構新穎的 CHH 家族新成員。本計畫主要目的是瞭解 Hem-CHH 基因結構、Hem-CHH 在不同類型血球細胞與神經內分泌組織之表現分佈模式, 以及分析 Hem-CHH 之功能與結構。第一年計畫中, 我們將選殖 Hem-CHH 基因, 瞭解其外顯子/內顯子組成; 利用反轉錄-聚合-連鎖反應或原位雜交偵測 Hem-CHH 在不同類型血球細胞與神經內分泌組織之表現。第二年計畫中, 我們將使用高效能層析來分離血球萃取液, 再利用專一性抗體來篩選層析分離之收集液; 具免疫反應的收集液其所含物質之分子量及胺基酸序列再以質譜儀分析確認, 並與 cDNA 預測之數值比對, 以獲取純化 Hem-CHH。並進一步分析純化 Hem-CHH 之次級結構組成與雙硫鍵鍵結模式。此外, 我們將測試 Hem-CHH 之升血糖與抑制蛻殼功能 (此為 SG-CHH 已知的兩個生物活性)。第三年計畫中, 我們將發展即時聚合-連鎖反應定量 Hem-CHH。

mRNA，用來探討在免疫刺激物處理的動物，其 Hem-CHH 基因表現是否改變，以推估 Hem-CHH 可能參與免疫調節。。此外，我們將建立數種免疫調節功能分析，用來探討 Hem-CHH 可能的免疫調節功能。本計劃預期結果將有多方面的重要性。Hem-CHH 是 CHH 家族的新成員；之前發現的 CHH 家族成員都位於神經內分泌組織。Hem-CHH 表現於免疫細胞暗示 Hem-CHH 具有免疫調節功能。我們預期本計劃的結果將揭露甲殼類免疫調節的新層面。此外，與先前發現的 CHH 比較，Hem-CHH 具有獨特的初級結構，僅具有 40 個胺基酸殘基；其更高級結構與先前發現的 CHH 應有顯著的差異。因此，本計劃功能與結構的分析將有助於瞭解不同 CHH 分子其功能分化之結構基礎，以及 CHH 分子多型態之生理意含等重要之課題。