

# 蛋白質晶體中的生物奧祕

■ 謝殷程、管泓翔、陳俊榮

雖然基因是遺傳物質，但在生物體中，基因本身並不具有功能。基因之所以重要，是因為帶有生產各種蛋白質的密碼，這些密碼經利用後轉變成蛋白質。在細胞內，蛋白質才是真正的功能執行者。

## 解開生命密碼

提到生命，馬上想到的就是充滿在地球上的各式各樣生物，有可以動的動物，有不會動的植物，還有肉眼觀察不到的微生物，以各種特有的形狀存在。這些生命看似複雜，但有趣的是所有生命的組成單位都相似，都是細胞。

把細胞剝開並放大來看，可以看到細胞內布滿各種物質，分布最廣的是蛋白質。每個蛋白質都有其功能，有時一個功能失效就會造成嚴重的影響。雖然基因是遺傳物質，但在生物體中，基因本身並不具有功能。基因之所以重要，是因為帶有生產各種蛋白質的密碼，這些密碼經利用後轉變成蛋白質。在細胞內，蛋白質才是真正的功能執行者。因此，研究擔任第一線功能執行者的蛋白質，是了解生命的最快且最直接方式。

蛋白質結構學是一門研究蛋白質長相的科學。要清楚見到蛋白質的廬山真面目，必須有小於奈米 10 倍（ $10^{-10}$  米，稱為埃）解析度的顯微鏡。但目前最先進的顯微鏡都無法達到，因此必須借助波長範圍在埃附近的 X 光光源幫我們間接偵測蛋白質的長相。

蛋白質在水溶液中的訊號太弱，必須培養生成固體的蛋白質晶體，X 光才可以偵測到強度足夠的訊號。有了蛋白質晶體就可研究蛋白質的長相，進而了解每個蛋白質在生物中可能扮演的角色，以探索生物的運作方式。國家同步輻射中心具有世界一流的同步加速器，可以釋放出高強度的 X 光光源，提供給蛋白質結構學家使用。

**研究擔任第一線功能執行者的蛋白質，是了解生命的最快且最直接方式。**

國家同步輻射中心具有世界一流的同步加速器，  
可以釋放出高強度的 X 光光源，提供給蛋白質結構學家使用。

## 蛋白質結構的決定

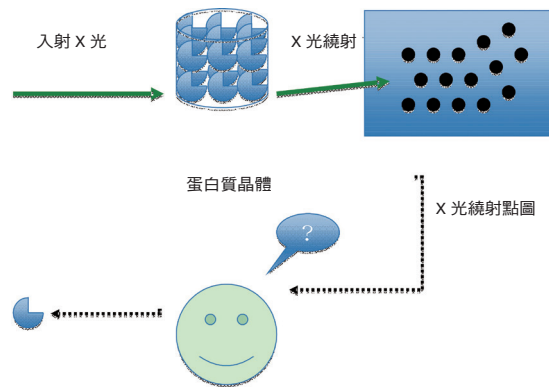
自 1957 年第 1 個蛋白質 3D 結構—肌紅蛋白結構—由英國佩魯茨 (Max Perutz, 1914-2002) 與肯德魯 (John Kendrew, 1917-1997) 使用 X 光晶體繞射方法決定後，蛋白質結構資料庫 (Protein Data Bank, PDB) 中至今已收集了超過 10 萬個蛋白質的結構。決定這些蛋白質結構的方法，主要是利用核磁共振與 X 光蛋白質晶體繞射兩種。

核磁共振的方法受到蛋白質大小的限制，因此目前決定蛋白質結構的方法仍以 X 光蛋白質晶體繞射為主。欲利用這方法決定蛋白質的 3D 結構，首先必須培養出合適的蛋白質晶體。這蛋白質晶體是由個別蛋白質分子以規則且周期性的排列所形成的，利用 X 光照射這蛋白質晶體產生 X 光繞射的現象，以 X 光繞射偵測器把這些繞射 X 光偵測記錄下來，這些繞射 X 光會在偵測屏幕上形成不同強度的繞射點。解讀這些繞射點的資料圖譜，並利用晶體學的知識，最後解析得到這蛋白質分子的立體結構。

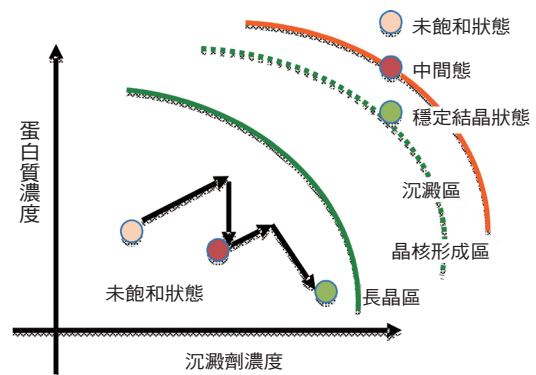
## 蛋白質晶體

高濃度 (通常大於 10 mg / mL) 且高純度 (通常大於 95%) 的蛋白質溶液在特定鹽類和沉澱劑的組合環境下經適當天數的培養，才能長出如寶石般的蛋白質晶體。但過高的蛋白質濃度會使蛋白質落於沉澱區，產生蛋白質沉澱而無法形成蛋白質晶體。

蛋白質結晶過程的相轉變，是一開始的蛋白質溶液位在未飽和狀態，在特定鹽類和沉澱劑的組合環境下，蛋白質濃度漸



決定蛋白質結構的示意圖：蛋白質分子規則且周期性排列形成蛋白質晶體，經 X 光照射後產生 X 光繞射點圖，再經分析得出蛋白質分子的三維立體結構。



二維蛋白質結晶過程的分相圖，箭頭表示蛋白質形成蛋白質晶體過程中，在不同蛋白質溶液分相區中的變化。

漸提高，從未飽和狀態變為過飽和狀態 (長晶區加上晶核形成區)，隨後晶核形成，蛋白質開始結晶 (蛋白質規則且周期性的排列)，最後達到穩定的結晶狀態，形成蛋白質晶體。一般來說，這些蛋白質晶體含

## 在現今生物結構學蓬勃發展的時代，同步輻射研究中心的 X 光光源已成為分析蛋白質晶體不可或缺的研究設施。

有約 50% 的水，另外 50% 才是由蛋白質形成的。這些蛋白質晶體的長、寬、高大約從數十到數百微米 ( $\mu\text{m}$ ) 不等。

### X 光繞射

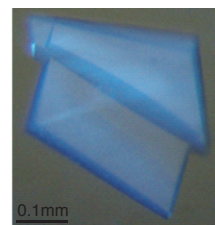
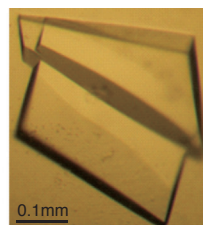
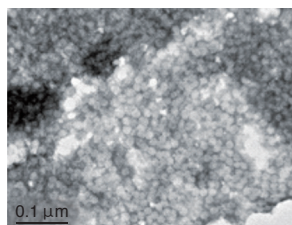
隨著同步輻射設施的發明，提供了穩定與高輝度的 X 光光源，大幅縮短決定生物晶體結構的時間，也大大增加生物晶體結構的解析度。到了現今生物結構學蓬勃發展的時代，同步輻射研究中心的 X 光光源已成為分析蛋白質晶體不可或缺的研究設施。

一般說來，蛋白質晶體在高輝度 X 光照射下的承受能力不若小分子晶體。因此，需要先把這些蛋白質晶體凍在液態氮下，然後在同步輻射 X 光照射過程中不斷以 100K 的氮氣噴吹，以減少 X 光的傷害。再收集一張張連續的蛋白質晶體繞射點圖譜，最後分析這些繞射點圖譜，決定出在蛋白質晶體中規則排列的蛋白質結構。

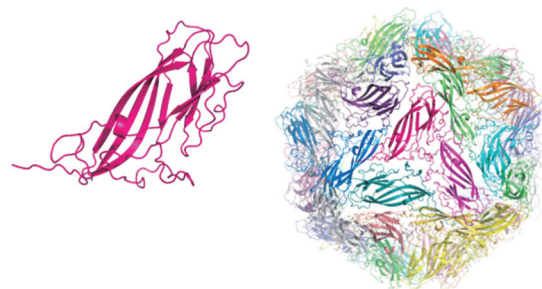
### 豬環狀病毒的應用

豬環狀病毒二型是台灣豬隻間很盛行的一種單股環狀 DNA 病毒，2004 年調查顯示，感染率近 70%。受感染的豬隻會發燒、呼吸困難，造成離乳後多系統耗弱症，最終死亡。

豬環狀病毒是現今哺乳類間最小的病毒之一，嚴重衝擊全球養豬業。目前利用大腸桿菌表現二型豬環狀病毒的外殼蛋白，經過重組後形成病毒顆粒，再使這些病毒顆粒經過蛋白質長晶系統培養，最後形成

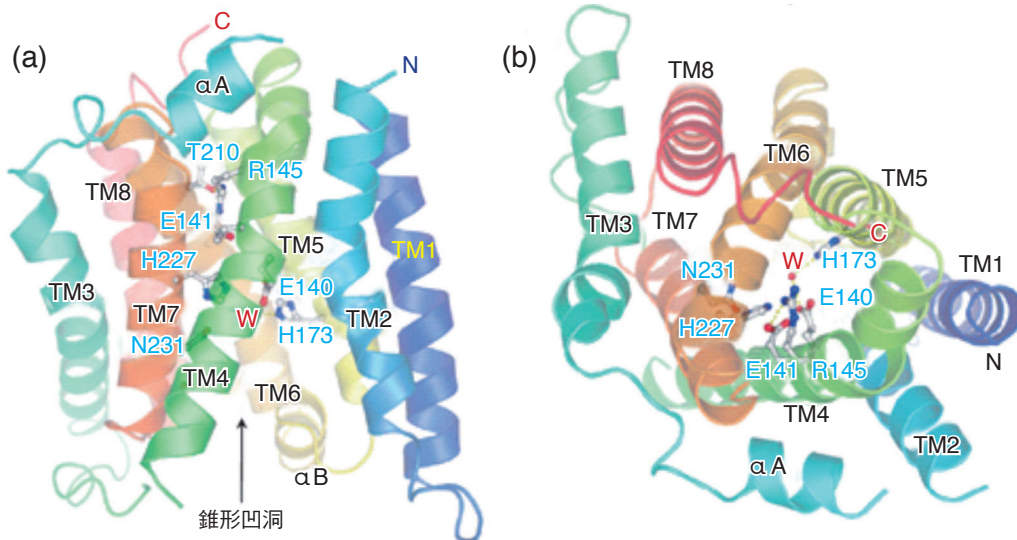


(左) 在穿透式電子顯微鏡下，經實驗室表現純化的二型豬環狀病毒外殼蛋白所形成直徑約 15 ~ 18 nm 的二型豬環狀病毒顆粒。(中及右) 二型豬環狀病毒顆粒經長晶培養，其規則且周期性排所形成的二型豬環狀病毒顆粒蛋白質晶體。(中) 在一般白光下的蛋白質晶體外觀。(右) 在紫外光下的蛋白質晶體外觀，可利用紫外光來判斷晶體是蛋白質晶體或鹽類晶體。



左圖是二型豬環狀病毒外殼蛋白質分子的三維結構，右圖是二型豬環狀病毒顆粒的結構。1 個二型豬環狀病毒顆粒由 60 個外殼蛋白質分子所組成，直徑約 15 ~ 17 奈米的球狀結構。

病毒顆粒蛋白質晶體。利用同步輻射設施收集的這些蛋白質晶體 X 光繞射資料，最後分析這些繞射點圖可以得出二型豬環狀病毒顆粒的結構。利用這二型豬環狀病毒顆粒的結構，能了解病毒顆粒組合的關鍵



海藻產甲烷球菌 Rce1 的蛋白質結構：(a) Rce1 結構由 8 個跨膜的  $\alpha$  螺旋 (TM1~TM8) 形成，(b) 結構中間可以清楚看到中空通道。

胺基酸，有助於研發破壞病毒顆粒組合的藥物。

再者，可以利用整個病毒立體結構的資訊，了解位在外圍結構的可能抗原部位，進而針對這些外部結構上的可結合區域研發新疫苗以對抗這病毒。此外，由這病毒立體結構的觀點出發，了解這病毒進入宿主細胞的機轉，除了有助於新的抗病毒藥物研發外，也能裨益新的抗病毒策略。

## 藥物設計的應用

生物體中真正有功能的是蛋白質，如果可以控制蛋白質的功能，就可以使生物的機能改變，小分子藥物就是在這基礎上產生的。

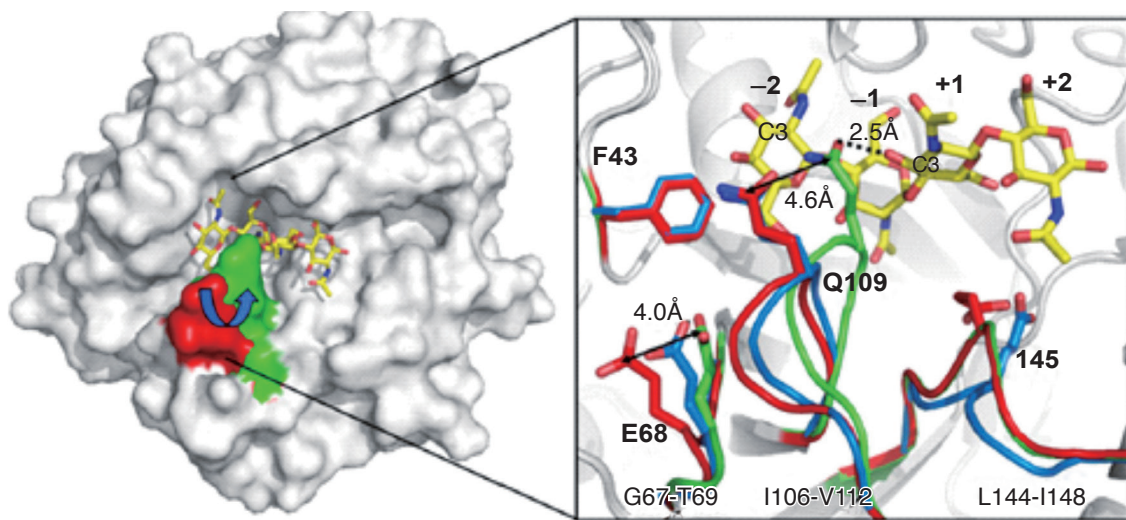
小分子藥物與蛋白質結合使蛋白質的功能增加或減少，進而調控生物機能。不過小分子藥物的設計上有風險，有時小分子會和不預期的他種蛋白質結合產生副作用，

因此設計更高的專一性與更少副作用的藥物非常重要。

傳統的小分子藥物在合成時會同時隨機合成多個相似的小分子，再測試哪個藥物最有效率，最後再修改這藥物。但用這方式開發藥物非常耗時耗錢。

蛋白質結構學可以提供蛋白質 3D 長相的資訊，根據結構分析可以知道反應區域的位置、形狀、結合力等。目前，蛋白質結構學家正在建立完整的蛋白質結構資料庫，提供化學合成學家合成小分子藥物的方向，可針對有興趣的、重要的與疾病相關的蛋白質快速設計出更具專一性、微副作用且藥效持久的小分子藥物。

癌症是 21 世紀最常見且難醫治的病症，一個正常的細胞要長成癌細胞需要非常多的蛋白質合作，因此知道癌症相關蛋白質的結構，對於藥物設計有很大的貢獻。例如，Rce1 蛋白質家族會與其他的蛋白質一起作用，導致正常細胞轉變成為癌細胞。



幾丁質酵素 chitinase 的晶體結構。左圖可以清楚看到四糖（黃色）與 chitinase 的結合區域，右圖是結合區的放大圖，提供細部結構資訊。在工業上，可以使用這結構選取數個胺基酸位置做突變以增加反應速率。

如果抑制 Rce1 蛋白質的功能，就可以降低癌細胞的生成。

在 Rce1 膜蛋白質的晶體結構中，可以清楚看到 Rce1 的長相。它由 8 個  $\alpha$  - 螺旋環繞並在中間產生一個錐形凹洞，這錐形凹洞可能是這蛋白質的作用區，因此可以提供資訊給化學合成學家以合成適合的小分子卡住這凹洞，使其功能喪失，進而治療癌症。

## 工業上的應用

使用化學合成的方法製造化合物，通常步驟繁雜且耗時耗錢，而很多的化合物卻可以使用蛋白質酵素輕易生產，但往往會因為工業機台的高溫導致蛋白質失去活性或產生白色渾濁現象，降低生產速度和造成品質瑕疵。蛋白質結構可以清楚提供

3D 立體反應活性區域構造，也可得到酵素與反應分子的結合結構，提供給分子生物學家做為酵素突變的依據。正確的突變位置可以改變酵素的物理及化學性質，使蛋白質酵素提高耐熱度與增加酵素反應而縮短製程時間。

在糖工業上也常利用到酵素，如葡萄糖異構化酵素、澱粉葡萄糖苷酵素、 $\alpha$  - 澱粉酵素等，結合相關酵素可製成一般常用的果糖與機能性寡糖。

謝殷程、管泓翔、陳俊榮

國家同步輻射研究中心科學研究組