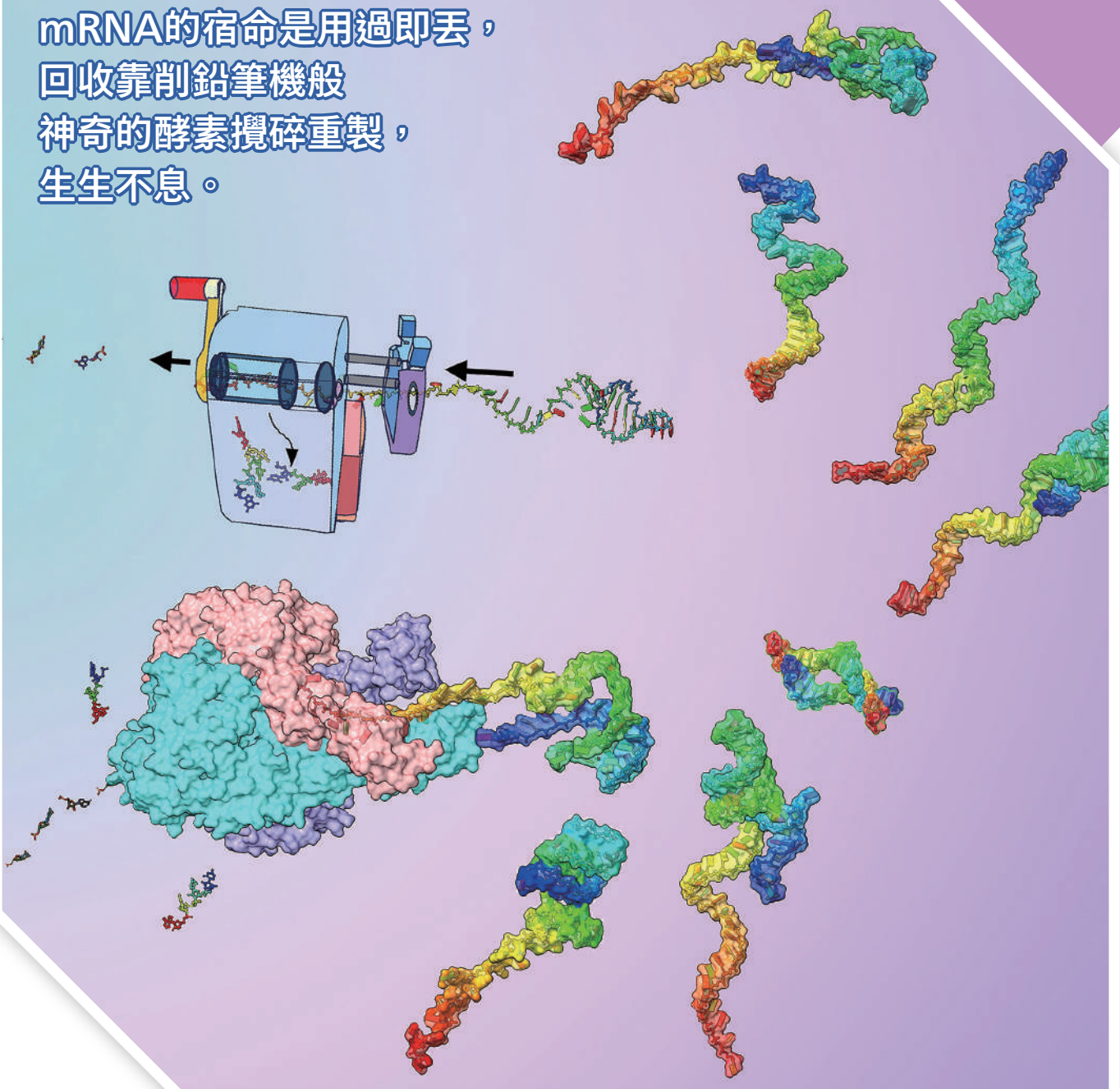




研究專文

短命的RNA 一切與不切之間

mRNA的宿命是用過即丟，
回收靠削鉛筆機般
神奇的酵素攪碎重製，
生生不息。



主任的話

5月中旬國內疫情突然轉劇，先是雙北緊接著全臺都上升到第三級警戒，為遵守國家防疫政策，減少人員移動，我們不得不停止用戶進入本中心。同時為了減少對用戶實驗的衝擊，我們決定調整光源運轉時期，將每年例行性的短停機檢修時程提前執行，並於6月8日再次恢復運轉。這次則採用郵寄樣品或遠端實驗方式進行用戶實驗。中心同仁也因應疫情改採分流上班，降低在工作場域的人員密度，確保最低限度的人與人的接觸。這也使得原本就不足的支援人力，更加吃緊。希望用戶們共體時艱，大家一起撐過這段非常時期。

雖然疫情嚴峻，但是我們與世界的合作不曾稍停。6月15日與德國馬克斯普朗克研究院(MPI)簽署第三次合作備忘錄，MPI決定再投資100萬歐元(約3,300萬台幣)，將於次微米軟X光能譜光束線上游，增建一座「強磁場二向性實驗站」。此實驗站的特色是，能提供相互垂直的兩個強磁場，以研究磁場影響強關聯材料之電子與能帶結構之三維分布。另MPI再加碼投資73萬歐元(約2,400萬台幣)進行既

有光束線與實驗站的升級。此外，本中心也與日本東京大學固態化學物理研究所續簽合作意向書。本中心借予泰國光源的超導插件磁鐵也再續約。

6月3日本中心王副主任於科技部部務會報中，專題報導「超導與低溫技術於加速器光源與高端精準醫材的應用與展望」。部長隨後指示前瞻司及生科司會同科技會報辦公室，共同研擬推動相關產業發展。同時，本中心磁鐵小組也已正式獲得行政院原子能委員會核能研究所質子束(proton beam)掃描磁鐵製造之委託案。

最近mRNA疫苗在COVID-19的預防上扮演非常重要的角色，本期專題報導特邀中央研究院分子生物研究所袁小玲特聘研究員介紹mRNA。袁博士運用同步輻射蛋白質晶體學的方法，研究在核糖核酸代謝過程中，扮演關鍵角色的RNA和DNA結合的蛋白質凡數十年，不僅增進對核糖核酸代謝機制的了解，也提供在疾病治療上的線索。本篇科普文章，恰好可以讓讀者進一步認識mRNA的生老病死。

重要事務

■ 本中心於4月6日召開第七屆第一次監事會會議，會中報告前次會議決議辦理情形、本中心業務、審計部通知事項辦理情形及會計師查核內控建議事項，並審查109年度決算報告。

■ 科技部發布109年度「傑出研究獎」，本中心共有4位用戶榮獲此殊榮，分別為侯明宏、徐善慧、詹益慈與詹迺立教授。侯明宏教授研究領域為蛋白質工程、藥物設計及生物物理。徐善慧教授研究專長為高分子奈米複合材料。詹益慈教授的研究領域為無機、有機、聚合物化學。詹迺立教授的研究主題為生物巨分子複合體之組裝與結構功能解析。

■ 本中心與德國「馬克斯普朗克研究院」(Max Planck Institute, MPI) 於6月15日簽署第三次合作備忘錄，由於雙方合作研究成果豐碩並為強化合作，馬克斯普朗克研究院增資加蓋「強磁場二向性實驗站」及既有光束線實驗站的升級與維運。

■ 因疫情嚴峻，原訂於9月辦理的用戶年會目前暫規劃延後至11 - 12月間舉行，屆時再視疫情調整。同時今年度暑期的各項訓練課程，包括X光暑期學校、暑期實習、暑期學分班、自由電子雷射...等均停辦或延期。

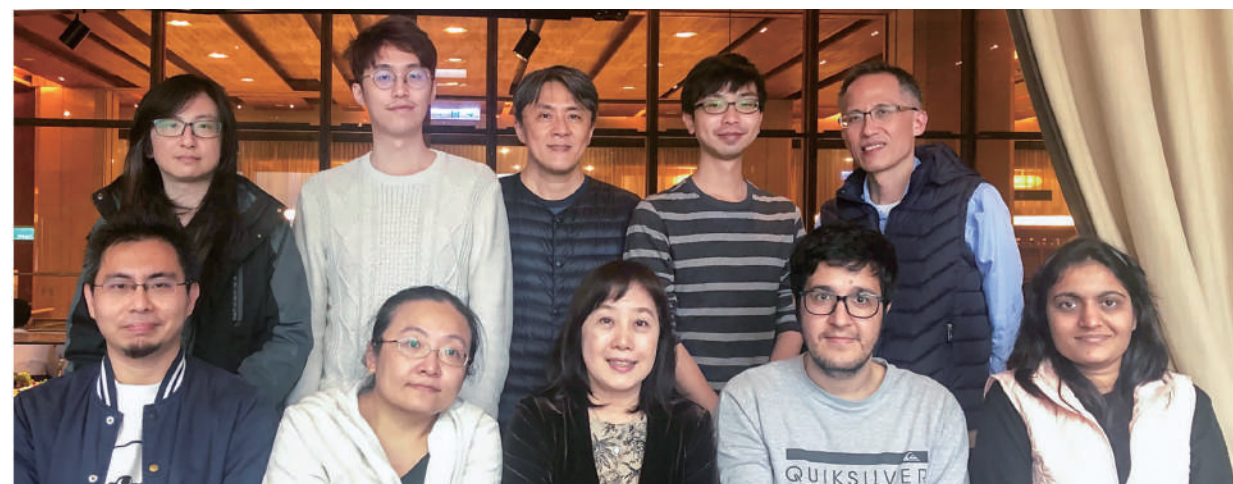
■ 為推廣中子科學研究本中心執行科技部「中子科學人才培育計畫」，公開徵求2名博士後或博士級研究人員，經審核通過者，將補助赴美國標準局(NIST)中子研究中心(NCNR)或德國Jülich中子科學中心(JCNS)參與研究。

■ 4月27日淡江大學學術副校長何啟東教授偕理學院院長、工學院院長及理工學院教授一行19位來訪，與本中心科學副主任陳俊榮博士及中心二十多位同仁交流座談，共創合作研究機會。

■ 本中心於7月10日舉行的高分子線上聯合會議中辦理「同步輻射與中子射束應用論壇」，推廣中子和X光繞射與散射、X光電子能譜和X光影像技術。

短命的RNA — 一切與不切之間

袁小玲
中央研究院 分子生物研究所



中央研究院分生所特聘研究員袁小玲博士(前排左三)與其研究團隊

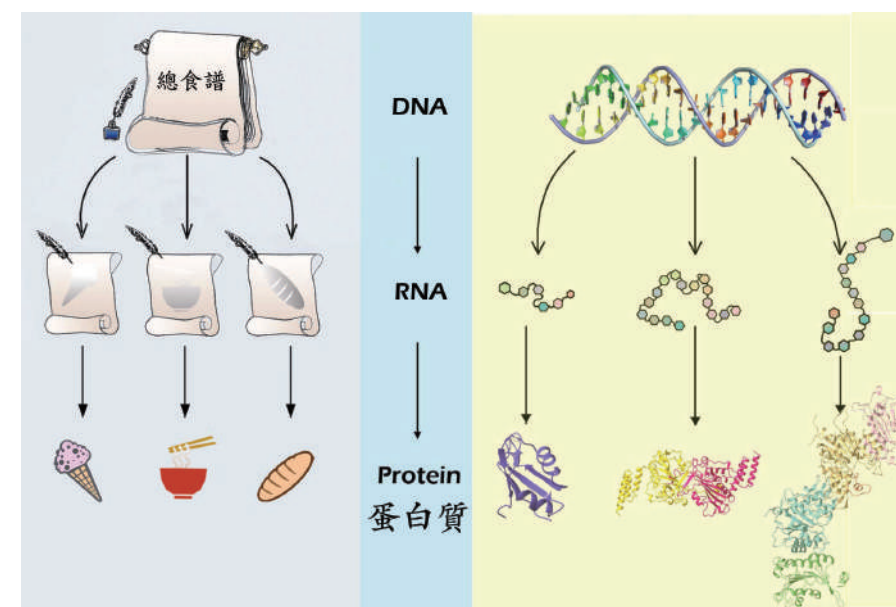
什麼是RNA？

近來新冠病毒疫情(COVID-19)席捲全球，mRNA疫苗大出風頭，第一次讓世人見識到原來mRNA可以有有效的預防病毒感染。那麼mRNA是什麼呢？為什麼mRNA疫苗需要在超低溫(攝氏-20到-70度)儲存？mRNA全名是信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid)，是一個以核苷酸作為單位而串連起來的長鏈聚合物。細胞中依據DNA的核苷酸序列，依樣畫葫蘆做出來RNA這個中間產物，用來作為製造蛋白質的藍圖。根據分子生物學的中心定律，我們的細胞按照DNA的序列做出RNA，再按照RNA的序列做出蛋白質(圖一)。每個細胞中都含有全組的DNA，就好比一份總食譜，紀錄了所有蛋白質的配方做法。然而每種細胞在不同時間、不同狀態下，並不是所有的菜色，一次出齊，而只有部分的菜色被做出來。mRNA就好比是根據總食譜而臨時抄寫出來的一道道菜色的分頁食譜。細胞中的廚房-蛋白質合成工廠，接收到了這一份份的RNA食譜，就會按照指示做出各種蛋白質。mRNA疫苗就是把病毒當中的一個特定蛋白質的食譜送入細胞，讓細胞中的蛋白質合成工廠把病毒中那個特定的蛋白質做出來，通常是位於病毒表面擔負入侵人體細胞的蛋白質。這個蛋白質會引發人體免疫系統產生抗體，來預防病毒感染。

短命的RNA

那麼mRNA疫苗為何要超低溫儲存呢？DNA負責傳遞父母到子女

間的遺傳訊息，是生命一代代延續下去的根本。所以DNA具有穩定的化學結構，細胞中亦有種種保護修復的機制，來維持DNA的完整無缺。然而RNA卻不是穩定的分子，人類細胞中的mRNA只有短短10個小時的平均壽命。這是為什麼mRNA疫苗雖然經過種種的方法來增加穩定度，卻還是在低溫下儲存，才能延長疫苗保存的期限。人類細胞中的mRNA每個壽命長短不一，短則30分鐘，長則24個小時。由於mRNA的數量與品質，直接影響蛋白質的數量與品質，mRNA為何會有不同的壽命？如何延長或減短某一個mRNA的壽命來控制下游產出的蛋白質的數量？就成為熱門而迫切的研究議題。



圖一 DNA好比是細胞中的總食譜，mRNA是依據總食譜而臨時抄寫出來分頁食譜。細胞中的廚房根據一頁頁的mRNA食譜，而做出各種蛋白質。

在細胞中的mRNA經由精密調控的機制，來維持他們不同的壽命與良好的品質[1]。一系列的蛋白質酵素參與分解RNA的工作，包含RNA解旋酵素(helicase)，負責把形成雙螺旋穩定結構的RNA鬆解開來，以利分解。以及RNA分解酵素(ribonuclease)，負責把RNA切斷。有些蛋白質酵素從長鏈的RNA中間切入(endonuclease)，有些從端點切入(exonuclease)，有些負責裁切長鏈的RNA，有些專門裁切較短鏈的RNA。這些蛋白質酵素互相合作，將形形色色結構相異、大小不一的RNA，分解成一個個的核苷酸單元。這些核苷酸又被用來做為原料，產出新的RNA。細胞中的RNA，就這麼的產生又被分解，分解又被產生。這個生生滅滅的循環中，任何一個環節出現問題，RNA的數量與品質就會受到影響，而細胞也就有所缺陷而無法正常運行了。

粒線體中RNA的分解

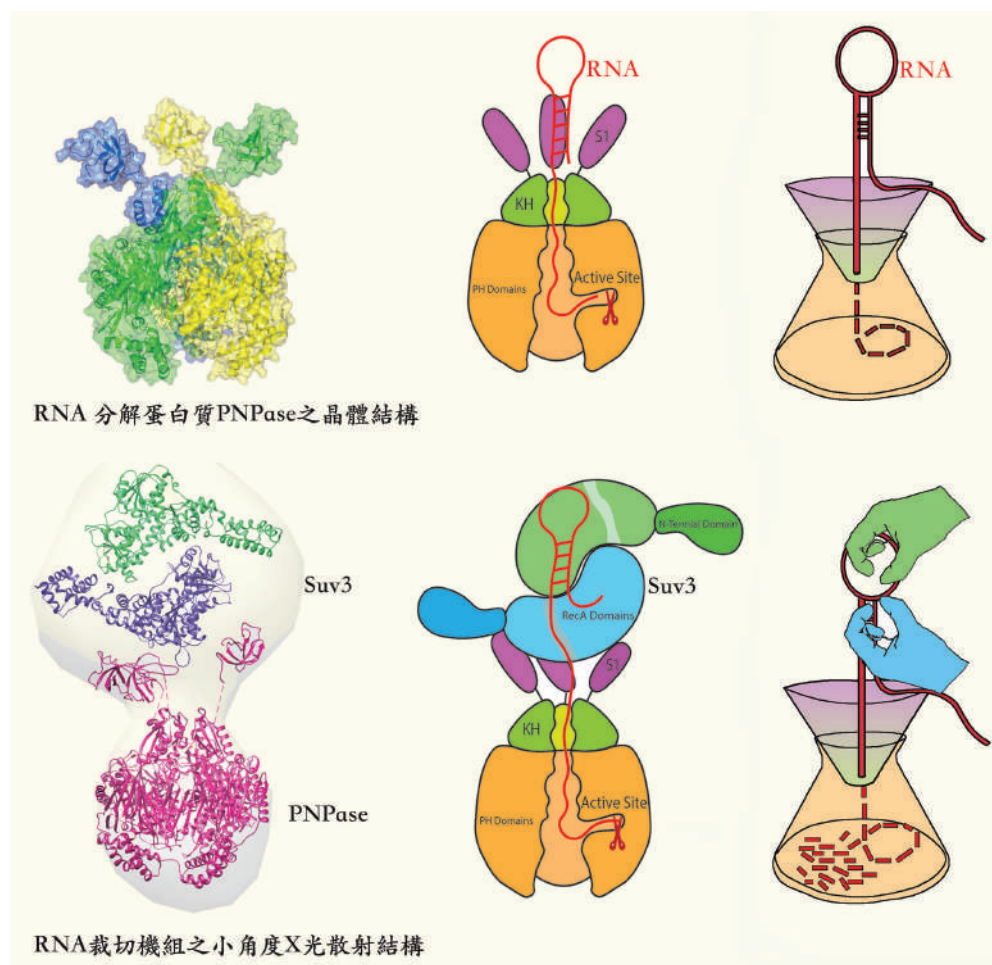
我們實驗室專門研究人類細胞粒線體中的RNA的分解機制。人類細胞中有不同的部門，粒線體這個部門，擔任細胞的發電機，負責產生電力，也就是ATP這個化合物，來提供能量給整個細胞運作。粒線體自己帶有DNA，在粒線體內會做出粒線體RNA以及蛋白質，這些蛋白質都參與ATP的生產工作。如果粒線體的DNA不能被完好的複製與維持，或是粒線體RNA不能被正常的生成以及分解，那麼負責生產ATP的蛋白質就可能殘缺或不足，而ATP的產出也就會受到影響。細胞中的粒線體功能不彰，ATP產出低落，就好比一台手機，電池卻不行，再新型頂級的手機，也無法發揮作用。很多慢性疾病，包含老年痴呆、糖尿病、心肌病變等等，病變的細胞中的粒線體都有功能不良、ATP產出低落的問題。近年來熱門的老化問題，也指出粒線體功能低落，與老化有密切關係。

切與不切之間

我們主要運用X光晶體繞射技術，配合小角度X光散射方法，來測定蛋白質以及RNA的三維結構，以了解人類粒線體中的RNA是如何被蛋白質酵素分解；這些蛋白質酵素如何選擇特定的RNA來作用；蛋白質酵素之間如何一起協調分工；以及這些蛋白質酵素的突變，為何會影響粒線體的功能而導致病變。近幾年來我們研究了EndoG、ExoG和Rex2這幾個蛋白質酵素，發現他們在粒線體中如何選擇不同的DNA或RNA來裁切，以及裁切的分子機制[2-5]。我們的研究

解釋了這些蛋白質酵素如何維繫粒線體DNA的完整，並參與粒線體RNA的分解。以及氧化壓力的增加，為何會影響蛋白質酵素的結構與功能，而導致粒線體功能不彰以及心肌病變[6]。

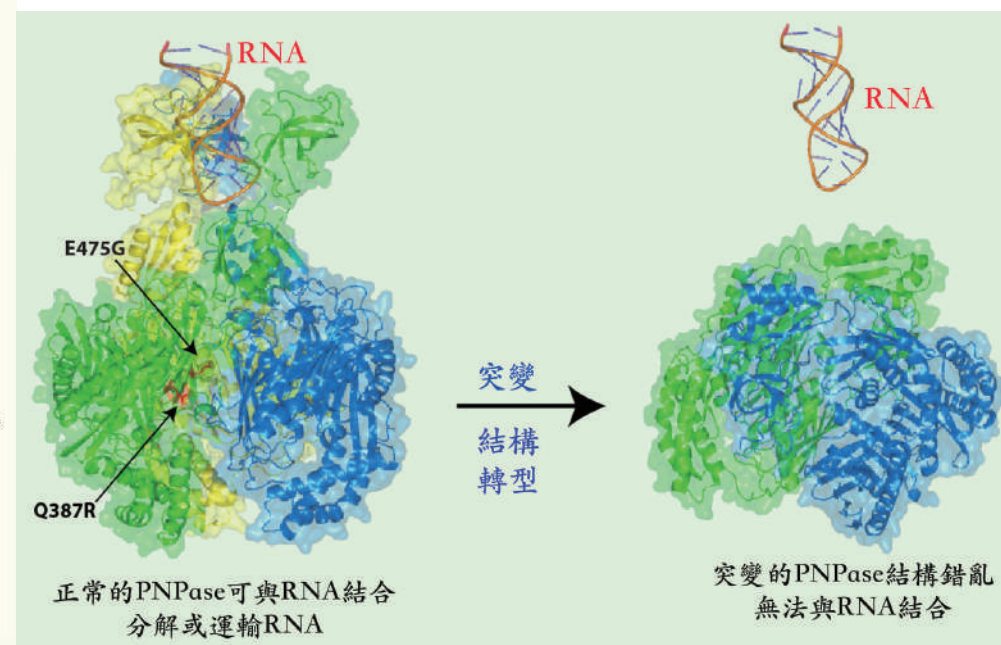
另外一個例子是我們還研究了PNPase這個蛋白質酵素，如何在粒線體中擔任RNA分解與運輸的工作。PNPase這個蛋白質只能分解單鏈的RNA，由端點切入，把一個個的核苷酸裁切下來。然而當遇到纏繞成雙螺旋結構的RNA時，PNPase就無能為力了(圖二)。這個時候PNPase會與一個RNA解旋酵素(Suv3 helicase)一起作用，解旋酵素將纏繞成雙螺旋結構的RNA拆解開來，然後將單鏈的RNA送入PNPase的刀口來裁切。這兩個蛋白質形成了一個很有效率的「RNA裁切機組」，可以快速的裁切粒線體中大量的RNA。由細菌到高等生物，包含人類細胞中的細胞核與細胞質內，都具有不同蛋白質組成但結構類似的「RNA裁切機組」。這表示經由漫漫演化長河的篩選後，這個「RNA裁切機組」功能優異，而在不同的物種，以及細胞不同的部門中，都被保留下來，擔負裁切RNA的重責大任。



圖二 PNPase 這個RNA分解蛋白質具有環形類似漏斗狀的結構，中心有一中空通道，大小正好可以容納單鏈的RNA，所以只能分解單鏈的RNA。解旋酵素Suv3好比一雙手，可以拆開來纏繞成雙螺旋結構的RNA，而與RNA分解蛋白質結合成一個「RNA裁切機組」，來迅速有效率的分解數量眾多的RNA。

那麼這個「RNA裁切機組」到底是如何作用的？我們運用X光晶體繞射技術，測定出來人類PNPase的蛋白質的晶體結構，顯示了一個環形類似漏斗狀的結構[7]。漏斗的中空通道，大小正好可以容納單鏈的RNA，而無法容納具有雙螺旋結構的RNA。PNPase的刀口位於中空通道的內部，所以這個蛋白質有一個很簡單但很有效的機制，來篩選該切的與不該切的RNA。就好比一台削鉛筆機，刀口在削鉛筆機的內部，細細的鉛筆正好可以插入而削切，而比較粗的奇異筆，就無法插進削鉛筆機來裁切了。位於粒線體外的PNPase可以分辨出哪一些RNA具有結構，不該被裁切，而是要被運送進粒線體內。反之位於粒線體內的PNPase，則與解旋酵素一起合作，來分解RNA。我們運用小角度X光散射方法，可以觀測到解旋酵素Suv3如何與PNPase結合在一起，而形成一個分子量高達四百來萬的「RNA裁切機組」，讓具有雙螺旋結構的RNA也無法抗拒，而能先被鬆解開來，繼而被裁切分解(圖二)。

PNPase的基因突變，會導至遺傳性的粒線體疾病，包含腦炎、失聰、以及心臟疾病。我們也研究了會造成疾病的PNPase突變蛋白質的結構，發現這些突變蛋白質，結構上有很大的改變，不再是漏斗型的環狀結構，與RNA結合的中空通道也消失了[8]。突變的PNPase無法好好的與RNA結合，這個蛋白質酵素也就失去了功能(圖三)。具有結構的RNA無法與PNPase結合，而被輸送進粒線體內，粒線體內的RNA也無法被PNPase順利的分解，而導致粒線體功能降低，也就引發粒線體失調失能的相關疾病了。



圖三 正常的PNPase形成漏斗型的環狀結構，具有中空的中央孔道，可與RNA結合，在粒線體中擔負分解RNA以及運輸RNA的工作。遺傳性的DNA突變，造成蛋白質變異、結構轉型，突變的PNPase喪失與RNA結合的能力，導至粒線體疾病。

RNA研究未來的發展

近年來運用RNA來操控細胞中的DNA或是蛋白質，成為熱門的研究與應用方法。好比運用RNA干擾技術(RNA interference)，來降低細胞中特定的蛋白質的產出。或是CRISPR/Cas基因編輯，利用一段引導RNA來精準的去除細胞中特定的DNA。最近RNA藥物(RNA-based therapies)的研發，也如火如荼的展開，包含應用RNA來導向特定的目標DNA、RNA或是蛋白質，影響這些目標分子的功能。或是在細胞中直接導入mRNA來產生特定的蛋白質，當作抗病毒的疫苗或是對抗癌症的免疫療法。好比這一次的新冠病毒疫情中，RNA直接粉墨登場，擔任抗病毒疫苗。未來我們不但需要知道RNA的化學特性，來發展穩定RNA的新方法。更需要知道在細胞中，RNA會遇到哪一些分解酵素，哪一些RNA偵測方式，以及這些蛋白質或酵素的特異性，才能發展出更精準的方法，以去除或穩定特定的RNA分子，在疾病的預防和治療上，發揮最大的作用。

致謝

我們實驗室幸運的有好多位傑出優秀的成員加入，在蛋白質大量生產、純化、結晶、以及結構測定上，一關關的解決問題，獲得成果。我衷心感謝一路走來，有這些聰慧又勤勉的成員，一起努力。我們也衷心感謝國家同步輻射研究中心，提供卓越精良的X光蛋白質晶體繞射實驗站(TLS13B1、TLS13C1、TLS15A1、TPS05A1)，與小角度X光散射實驗站(TLS23A1、TPS13A1)，以及這些實驗站優秀的人員，在實驗上以及數據分析上，給予我們全方位的協助。

參考文獻

1. B. Golzarroshan, M. Jain, and H. S. Yuan, Encyclopedia of Biological Chemistry, 3rd Edition. (2021).
2. J. L. J. Lin, C.-C. Wu, W.-Z. Yang, and H. S. Yuan, Nucleic Acids Res. **44**, 10480 (2016).
3. C.C. Wu, J.L.J. Lin, H.-F. Yang-Yen, and H. S. Yuan, Nucleic Acids Res. **47**, 5405 (2019).
4. L.-Y. Chu, S. Agrawal, Y. P. Chen, W. Z. Yang, and H. S. Yuan, RNA **25**, 737 (2019).
5. C.C. Wu, J.L.J. Lin, and H. S. Yuan, Trends Biochem. Sci. **45**, 935 (2020).
6. J. L. J. Lin, A. Nakagawa, R. Skeen-Gaar, W.-Z. Yang, P. Zhao, Z. Zhang, X. Ge. S. Mitani, D. Xue, and H. S. Yuan, Cell Rep. **16**, 279 (2016).
7. C. L. Lin, Y.-T. Wang, W.-Z. Yang, Y.-Y. Hsiao, and H. S. Yuan, Nucleic Acids Res. **40**, 4146 (2012).
8. B. Golzarroshan, C.-L. Lin, C.-L. Li, W.-Z. Yang, L.-Y. Chu, S. Agrawal, and H. S. Yuan, Nucleic Acids Res. **46**, 8630 (2018).