

金屬硫蛋白對海洋生物生理之影響

黃閔裕、蕭聖代、吳繼倫

水產試驗所海洋漁業組

前言

金屬硫蛋白 (metallothionein, 以下簡稱 MT) 是一種普遍存在於生物體內且能夠主動與重金屬結合的蛋白質。MT 最早是由 Margoshes and Vallee (1957) 於馬的腎臟皮層中所發現, 至今已知有 50 餘種不同構型或特性的 MT, 超過 170 種可轉錄出 MT 的基因序列。由於 MT 在生物體內能夠與重金屬高度結合並具有去除毒性的特性, 半個世紀以來, 在生理、生化、醫藥及環境污染等領域皆對其進行廣泛的研究。

理化特性

MT 的分子量約 6,000—7,000 Da, 屬於分子量較小的蛋白質, 富有含硫的半胱氨酸 (約佔胺基酸總量 20—30%), 但缺乏芳香族胺基酸 (苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸), 且不具有酵素活性。MT 是一種受誘導合成的蛋白質, 重金屬為其主要之誘導物 (圖 1), 能主動與重金屬結合並儲存於生物體組織中, 扮演體內調節重金屬平衡或是去除重金屬毒性的重要角色。除此之外, 細胞因子、荷爾蒙及藥物等物質也能誘導 MT 生成。

在演化方面, MTLs (metallothionein-like proteins) 的進化具有高度保守性, 依照構型的不同, 可分為 Class I、Class II 與 Class

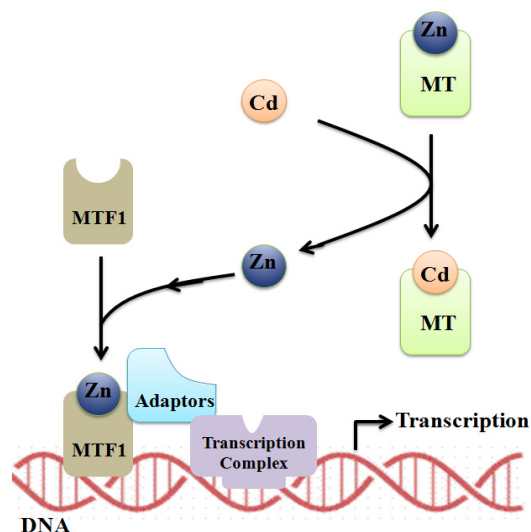


圖 1 重金屬誘導 MT 生成, 以 Cd 為例, 進入生物體內的 Cd 以較強的親和力取代 Zn 與 MT 結合, 釋放出的 Zn 會與 MTF1 (metal regulatory transcription factor 1, 一種 zinc-finger 構型的蛋白質) 結合, 並聯合 adaptor proteins 作用, 使 DNA 開始對目標基因進行轉錄 (仿自 Kevin et al., 2009)

III 三大類。其中, Class I 被定義為半胱氨酸的位置與馬的 MT-Ib 相同, 為哺乳動物及其他相近類門 (如甲殼綱及軟體動物門) 之 MT 結構; Class II 之 MT 中的半胱氨酸位置與 Class I 不同, 且主要存在與哺乳動物關係較遠的類門中, 如棘皮動物、真菌及某些原核生物; 而 Class III 則為具有 gamma-glutamylcysteinyl 分子的非典型 MT, 大多存在於植物及微生物體內 (Fowler et al., 1987; Kojima, 1991)。進一步依據分布位置的不同, MT 可再區分為 I-IV 四個亞型。MT-I

及 MT-II 廣泛存在於哺乳動物體內，尤以肝、腎細胞為主，並參與臟器之功能調節；MT-III 主要分布於中樞神經系統中的星形膠質細胞，其次為神經原細胞，但其訊息會表現於舌、胃、心臟、腎臟及生殖組織中 (Hoey et al., 1997; Moffatt et al., 1998)；MT-IV 則是分布於鱗狀上皮細胞以及皮膚、舌、消化道等器官的角質細胞中 (Quaife et al., 1994; Liang et al., 1996)。

在構型上 MT 具有兩個獨立的結構域，羧基末端 30 個胺基酸為 α 結構，可結合 4 個二價金屬離子；氨基末端前 30 個胺基酸殘基則為 β 結構，可結合 3 個二價金屬離子 (圖 2)。兩結構域間由其餘的胺基酸連結呈現啞鈴狀，使得 MT 的構型較為堅固且具有良好的耐熱性及穩定性 (圖 3)。然而並非所有物種體內的 MT 皆呈此構象，某些甲殼類的 MT 沒有 α 結構，如龍蝦就只有兩個 β 結構 (Munoz et al., 2000)。

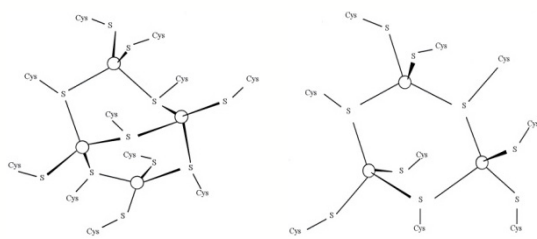


圖 2 α 結構 (左) 與 β 結構 (右)，圓圈代表可結合重金屬的位置 (仿自 Chang et al., 2006)



圖 3 MT 的分子結構示意圖
(<http://www.bioc.uzh.ch/mtpage/MT.html>)

針對不同的金屬離子，MT 分別有不同的親和力，由高到低依序為 $\text{Hg}^{2+} > \text{Ag}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ ，因此親和力高的金屬會向下競爭，將親和力低的金屬從 MT 上置換下來。另外在低 pH 值的情況下，原本與 MT 結合之金屬離子會發生解離，發生 50% 解離的 pH 值分別為：Zn-MT 在 3.5–4.5、Cd-MT 在 2.5–3.5、Cu-MT 則是小於 1 (Binz and Kagi, 1999)。

在海洋生物的相關研究

在野外調查及室內實驗皆證明海洋生物體中的 MT 受重金屬 Ag、Cd、Cu、Hg、Zn 的誘導生成，誘導程度的高低為 $\text{Cd} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Hg}$ ，主要發生的組織為鰓、消化道、肝臟、腎臟等直接接觸重金屬的部位或是主司累積與代謝的器官 (Bebianno and Langston, 1998)。除此之外，Ni、Co、Bi 等元素對於 MT 的基因轉錄也具有調控作用。

許多研究結果顯示，海洋生物體內之 MT 濃度會隨著環境中重金屬的濃度上升而增加，而其主要表現組織則依不同物種或不同重金屬而有所差異。例如魚類受 Cd 影響所產生之 MT 多存在於消化道，受 Zn 影響之 MT 則主要存在於鰓中，但也有些魚類的肌肉中也會產生大量的 MTs (Trinchella et al., 2006; Filipovic and Biserka, 2007; Marijic et al., 2013)；牡蠣與貽貝等軟體動物之 MT 生成，則主要位於鰓、消化道與外套膜當中 (Li et al., 2007; Devos et al., 2012)；多毛類之 MT 則大多生成於消化道及表皮 (Won et al., 2008)；白蝦則是幾丁質外殼中的 MT 與環境

中金屬濃度呈現高度相關 (Chung, 2012)。造成此差異的原因，可能與不同生物體接觸重金屬的途徑，以及生物體的代謝方式有關。

目前有許多 MT 的相關研究是以海洋生物為主要對象，包含有魚類 (鯛科、海鱸、鮭鱒類等) (Olsson et al., 1998; Roeva et al., 1999)、甲殼類 (龍蝦、白蝦、梭子蟹等) (Sigel et al., 2007)、軟體動物 (貽貝、牡蠣、螺類等) (Roesijadi et al., 1997; Isani et al., 2000) 及一些較為固著性的物種 (藤壺、海膽、沙蠶等) (Won et al., 2011; Tomas et al., 2013)。對於經濟性物種的研究主要為生理方面，探討其誘導生成、基因調控、儲存代謝、提供保護等機制，以期建立養殖上的優勢並增進食品衛生安全；而對於固著性物種的研究則多偏向生物與環境中重金屬之相關性，了解 MT 的表現受到環境中重金屬的類型及濃度影響，目標是找出適合做為重金屬污染之生物指標 (Wang and Rainbow, 2010)。

在於海洋生物上之應用

水體環境中的重金屬常以許多不同的型態存在，可為離子狀態、顆粒狀態或是與其他物質結合，且各生物可利用性各有所異；因此單只檢測環境中的重金屬濃度，並不足以得知生物體真正受到重金屬污染的程度，必需了解污染物在生物體中累積的資料或其反應，才能正確的評估重金屬污染對生物體的影響以及對人類潛在的威脅。

海洋生物體內之 MT 主要會受到重金屬所誘導生成，因此被認為非常適合做為重金屬污染之生物標記 (Romero-Isart and Vasak,

2002)。許多數量龐大且分布廣泛的物種 (如貽貝、蛤蜊、牡蠣、黑鯛、虹鱒等) 其 MT 之表現特性，皆有研究證實適合做為生物監測之用，以早期預警環境中重金屬污染的危害 (Petrovic et al., 2001; Rodriguez-Ortega et al., 2002; Bakiu et al., 2013)。

然而不同的物種或組織中，對於不同的重金屬，MT 的表現有著極大的差異。造成此種差異的原因，可能是受到環境因子 (溫度、鹽度)、重金屬的吸收速率、成長速率及其他可誘導 MT 生成之化合物所影響 (Leung et al., 2005)。過量或是時間過長的重金屬暴露，均可能導致 MT 的反應程度失準，因為生物體能容忍的重金屬濃度是有限的，累積過多的重金屬將會超過 MT 所能承載代謝的能力，因而造成細胞毒害影響正常的生理機制。此外重金屬間對於 MT 的競爭結合能力也是影響因素之一，如在之前累積與 MT 親和力較高的重金屬 (如 Cd、Hg)，會導致後來親和力較低的重金屬 (如 Zn、Pb) 無法正確的反應其累積濃度 (Shi and Wnag, 2004)。這些都是在應用 MT 做為生物標記時，需同時考慮的重要因素。

MT 除了用於生物標記之外，也能應用於水產養殖及水產加工。它不僅能使生物體產生對重金屬解毒保護的作用，於微量元素的調節、清除自由基、增進生物體免疫能力等皆有參與作用。然而因目前 MT 仍無法以人工方式大量生產導致價格昂貴，對於不同物種中的 MT 之種類特性未完全明瞭，且尚未能有效將 MT 上之金屬脫離等種種因素，使得以 MT 做為飼料或食物添加劑的構想仍在研究階段，同時也是未來的發展目標。