

• 系統編號	RN9411-0103		
• 計畫中文名稱	協同活化的 Janus Kinases 於幹原母細胞中功能角色及訊號傳遞的探討		
• 計畫英文名稱	The Functional Role and Signal Transduction of Synergistic Activation of Janus Kinases in Hematopoietic Progenitor Cells		
• 主管機關	行政院國家科學委員會	• 計畫編號	NSC91-2320-B038-028
• 執行機構	台北醫學大學細胞及分子生物研究所		
• 本期期間	9108 ~ 9207		
• 報告頁數	12 頁	• 使用語言	中文
• 研究人員	黃惠美 Huang, Huei-Mei		
• 中文關鍵字	細胞激素; 協同活化作用; 酪胺酸磷酸化; 細胞激素訊號		
• 英文關鍵字	Cytokine; Synergistic Effect; Tyrosine Phosphorylation; Signal Transduction; JAK		
• 中文摘要	<p>血球細胞的增殖，分化及預防凋亡受到細胞激素的調控。細胞激素受體不含 kinase activity，因此需要細胞質內的 Janus kinase (JAK)來幫忙傳遞訊號。許多細胞激素可以活化兩個或兩個以上的 JAKs。目前的研究大多集中於單一 JAK 於細胞激素的訊息傳遞下所扮演的角色，而對於同時活化的 JAKs 如何影響訊息傳遞和細胞活性的作用機轉卻不清楚。此實驗利用有條件的活化系統，CD16/CD7/JAK (CDJAK)，於 IL-3 依賴型細胞中同時活化兩個 CDJAKs。此融合蛋白包含 CD16 的膜外區域，CD7 的膜間區域，以及 JAK1 (CDJAK1)或 JAK2 (CDJAK2) cDNA 作為細胞質內的區域。我們建立以下幾種穩定細胞株：同時表現野生型 CDJAK1 和 CDJAK2 (CDJAK1+2)，同時表現野生型 CDJAK 和 kinase mutant CDJAKKE (CDJAK1KE+2 or CDJAK1+2KE)，或單獨表現 CDJAK1 或 CDJAK2 的 Ba/F3 cells。利用抗 CD16 抗體單獨聚集 CDJAK1 或 CDJAK2 都可以造成其本身 tyrosine phosphorylation，但是並不會進一步傳遞訊號和提供細胞活性。同時聚集 CDJAK1 和 CDJAK2 的融合蛋白，引發 Ba/F3-CDJAK1+2 細胞的酪胺酸磷酸化訊號及 STAT5，MAPK，Akt 的磷酸化以及支持增殖和預防細胞凋亡的活性。此結果顯示必需聚集 JAK1 和 JAK2 才會協同活化訊息傳遞。以 kinase 活性突變的 CDJAKKE 更進一步的證明 JAK1 和 JAK2 協同活化訊息傳遞的作用，需要正常的 kinase activity。此外，CDJAK1 和 CDJAK2 的協同活化作用會活化 βc 的磷酸化。再者，CDJAK1 和 CDJAK2 分別與 βc 和 IL-3Rα 結合。因此，此結果顯示 CDJAK1 和 CDJAK2 的協同活化作用可能經由聚集兩個複合體 CDJAK1-βc 和 CDJAK2-IL-3Rα 形成更大的複合體並進一步誘導 βc 酪胺酸磷酸化和訊息傳遞。</p>		
• 英文摘要	<p>The proliferation, differentiation, and apoptosis prevention of hematopoietic cells are regulated by multiple cytokines. Cytokine receptors possess no kinase activity, the cytoplasmic Janus kinase (JAK) play a very important role for cytokine signaling pathways. Most cytokines can activate two or more than two</p>		

JAKs; the role of only one JAK has concentrated among cytokine signaling on many researches. However, the mechanism of simultaneous activated-JAKs how to affect the signaling and cell activity are not clear. The present study used a conditional activated system, CD16/CD7/JAK (CDJAK), for JAK activation in IL-3 dependent cells. The fusion proteins consist of CD16 external domain, CD7 transmembrane region, and JAK1 (CD16/7/JAK1; CDJAK1) or JAK2 (CD16/7/JAK2; CDJAK2) cDNA as cytoplasmic domain. We established several stable cell lines: CDJAK1 and CDJAK2 (CDJAK1+2) co-expression, CDJAK and kinase mutant CDJAKKE (CDJAK1KE+2 or CDJAK1+2KE) co-expression, and CDJAK1 or CDJAK2 alone expression in Ba/F3 cells. Anti-CD16 antibody cross-linking induced CDJAK tyrosine phosphorylation of Ba/F3-CDJAK1 or Ba/F3-CDJAK2 cells, but no signal transduction and cell activity. Antibody cross-linking induced signaling of tyrosine phosphorylation and phosphorylation of STAT5, MAPK and Akt in the Ba/F3-CDJAK1+2 cells clustered the chimerical proteins of stable cell lines. These results suggested that synergistic activation of signal transduction need to cluster JAK1 and JAK2. The mutant of kinase activity, CDJAKKE, was further proved the normal kinase activity was essential for JAK1 and JAK2 to activate the synergistic effect of signal transduction. In addition, synergistic effect of both JAK1 and JAK2 activate .beta. c phosphorylation. Furthermore, CDJAK1 and CDJAK2 are constitutively associated with .beta.c and IL-3R.alpha., respectively. Therefore, the data suggest that synergistic activation effect of CDJAK1 and CDJAK2 may be through cluster two complexes, CDJAK1-.beta.c and CDJAK2-IL-3R.alpha. to form big complexes, and further activate .beta.c tyrosine phosphorylation and signal transduction.