

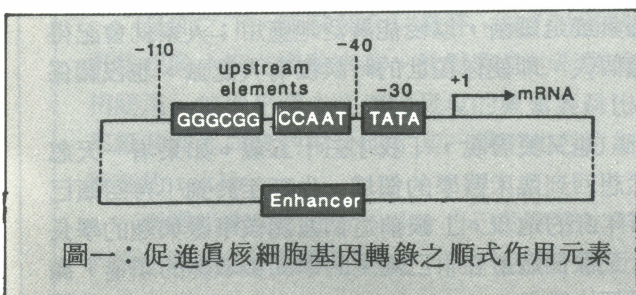
# 核癌蛋白質與 逆式作用因子

## Nuclear Oncoprotein and Trans-acting Factor

撰文 / 王正怡

### 前言

1969年 Steven Martin 用化學突變劑處理 Rous 肉瘤病毒 (Rous Sarcoma Virus, RSV) 後，獲得 src 基因 (RSV 含有 gag, pol, env 和 Src 四個基因) 之變異株，該變異株只有生長在允許溫度 (permissive temperature) 下時，src 基因的產物才具有活性，在允許溫度與非允許溫度下均可進行病毒的複製，但只有在允許溫度下複製時才能引起細胞轉形作用 (cell transformation)，至此乃發現 RSV 引起肉瘤與基因有關。以往也發現到腫瘤細胞核染色體有變異，致癌物質同時也具有突變劑的性質，這些現象均顯示癌症的形成似乎與基因有關，但無法提出直接、具體的證明，而 RSV 的研究首先提供了有關的證據。Bishop 等以 src 基因為探針，發現 src 基因廣泛的存在於各種動物體內，稱之謂 proto-oncogene，目前所知的反錄病毒致癌基因有 20 種以上，此類基因與生物體某些基本功能有關，即它們與細胞的生長、分化有關。致癌基因在細胞內擔任何種功能？它們如何使正常細胞轉變為腫瘤細胞？這些都是目前腫瘤研究的重點，此方面的研究探索不僅可了解腫瘤形成的原因，也可了解控制細胞生長的機轉。目前將致癌基因分為五類，即酪氨酸激酶 (tyrosine kinase)、生長因子 (growth factor)、甲狀腺荷爾蒙受器 (thyroid hormone receptor)、G 蛋白 (G protein) 和核癌蛋白質 (nuclear oncoprotein)。



圖一：促進真核細胞基因轉錄之順式作用元素

### 核癌蛋白質

#### (nuclear oncoprotein)

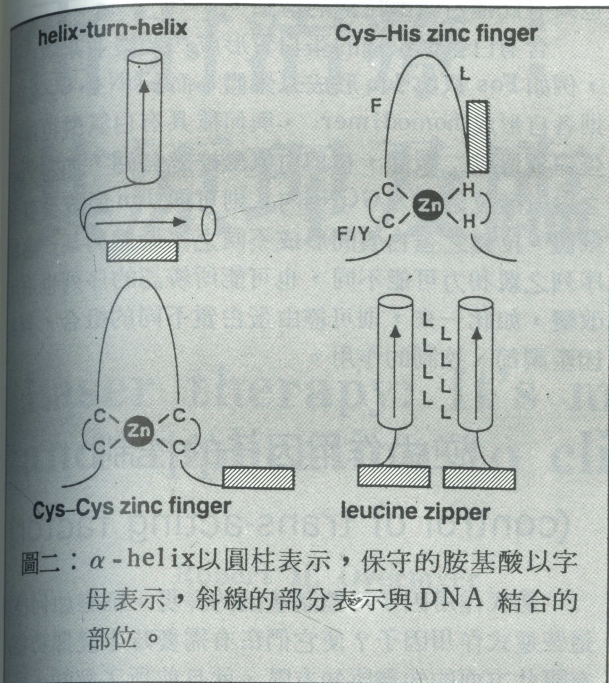
Papovavirus 之大 T<sub>1</sub> 抗原為最早發現的核癌蛋白質，此一發現導致一種想法，認為細胞產生轉形作用必然發生在細胞核內。1983 Rigby 等發現 papovavirus 之大 T 抗原與病毒 DNA 之合成有關，因而推測大 T 抗原也可促進細胞 DNA 之合成，而使細胞發生轉形作用。1985 年，Lanford 等初步證實此推測的可能性。Kingston 等發現腺病的 EIA 可促進病毒與宿主細胞基因上啓初者 (promotor) 之活性，乃進一步提出，核癌蛋白質既然可促進細胞基因的轉錄，必然可使細胞基因之表現異常，而導致轉形作用。

核癌蛋白質吸引了許多科學家對它的注意，從事腫瘤研究的生物學家對它興趣濃厚，從事研究基因轉錄而生物學家也被它所吸引。核癌蛋白質與這兩個課題究竟有何關連？1987 年 3 月，從事研究這兩個不同課題的科學家聚集在紐約討論這個問題，希望能得到一些解答。

### 基因的調節

#### (Gene regulation)

欲了解核癌蛋白質如何促進基因的轉錄，必先了解控制基因表現的因子，真核細胞基因的轉錄受啓動者 (promotor) 及促進者 (enhancer) 之影響。啓動者內含有某些鹼基序列與啓動者的活性有關，這些序列包括 "TATA" 盒子，通常位於 -25 至 -30 的位置，CAT 盒子，GC 盒子位於 -40 至 -100 處 (圖一)。促進者內也含有類似的區域，由 100 至 200 個鹼基配對所構成，其中包括有一些重覆的鹼基序列。這些鹼基序列稱之為順式作用元素 (cis-acting elem-



圖二： $\alpha$ -helix以圓柱表示，保守的胺基酸以字母表示，斜線的部分表示與DNA結合的部位。

，leucine Zipper，此類構造對DNA結合區域極為重要，但並不直接與DNA結合。活化區域(activating domain)可與轉錄複合物(transcription complex)中之某成分作用，加速轉錄複合物之形成，促進基因轉錄，TATA-結合蛋白質(TATA-binding protein)，如真核細胞的TFIID，可能為作用的目標蛋白質(target protein)(圖三)，此區域不具明確的立體構造，主由酸性氨基酸構成，不具專一性，如將此區域與具有不同專一性之DNA結合區域連接在一起，不論DNA結合區域所辨認的鹼基序列是何種序列，均能發揮功能。

### Tun與Fos 是一種逆式作用因子

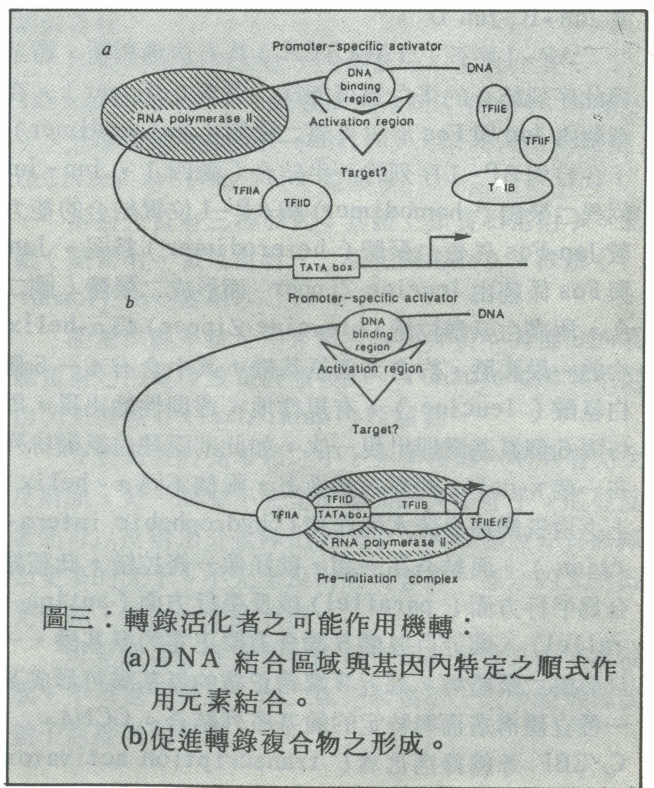
最早被證實具有逆式作用因子的核癌蛋白質是Jun Vagt 等研究ASV 17(Avian sarcoma virus 17)時發現Jun，並分析Jun之氨基酸順序，發現其C端之氨基酸順序與GCN4相似，GCN4為酵母菌的一種轉錄活化者(transcription activator)，其C端可與DNA上之特定鹼基序列結合，促進基因的轉錄。二者是否具有相同的功能？Struhl以Jun之C端取代GCN4之C端製造一個嵌合體蛋白質(Chimeric protein)，該蛋白具有GCN4之N端與

ent)，某些蛋白質可與順式作用元素結合後可使促進者或促進者之活性，具有此種功能的蛋白質稱為逆式作用因子(trans-acting factor)或轉錄活化者(transcription activator)，經由順式作用元素與逆式作用因子交互作用，可控制基因的轉錄，一個基因上也多個順式作用元素，故一般認為基因的表現受多種蛋白質的控制，某些逆式作用因子具有細胞或組織特異性(Cell typer or tissue specificity)，只存在於特定的組織、細胞內，如使一來，使得某些啟動者或促進者的活性只能表現在特定的組織細胞內。促進基因的轉錄只是調節、控制基因表現的方法之一。

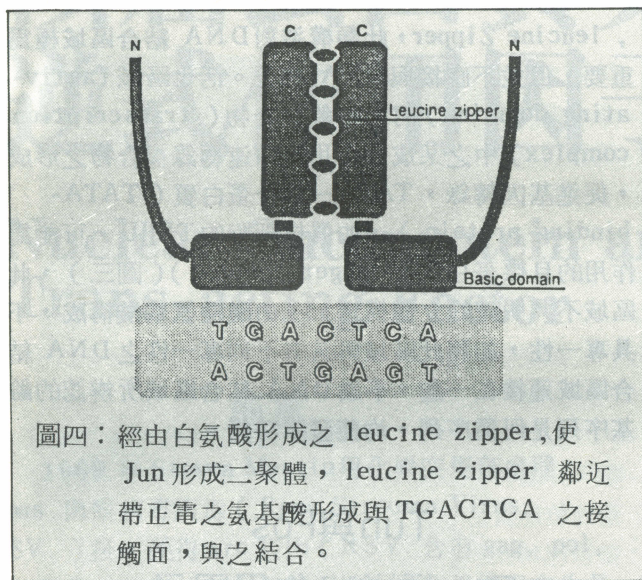
### 逆式作用因子的結構

#### (Structure of transacting factor)

一般逆式作用因子(trans-acting factor)具有兩個區域(domain)，一個為DNA結合區域(DNA-binding domain)，另一為活化區域(activating region)。DNA結合區域可與基因內特定鹼基序列，即所謂順式作用元素(cis-acting element)結合，將逆式作用因子帶到具有某特定順式作用元素的基因上，促進該基因的轉錄。DNA結合區域由100個以下的氨基酸所組成，詳細構造尚待研究，不過綜合對多種逆式作用因子的研究，可將之歸納為3類(圖二)，即helix-turn-helix, Zinc-finger



圖三：轉錄活化者之可能作用機轉：  
(a) DNA結合區域與基因內特定之順式作用元素結合。  
(b) 促進轉錄複合物之形成。



Jun 之 C 端, 乃具有促進基因轉錄之功能。此顯示 Jun 不但 C 端之氨基酸順序與 GCN4 相似, 也具有相同之功能。GCN4 與人類的 AP-1 (Activator protein 1) 相似, Jun 與 AP-1 之間的關係如何? 這些問題都耐人尋味, Vogt, Tjian 等利用抗 Jun 之抗體及胰蛋白酶圖譜 (tryptic map) 比較分析, 證明 Jun 與 AP-1 不但氨基酸順序相似, 功能也相同, Jun 能促進具有 AP-1 (TAGCTCA) 順序的基因的轉錄。由此證明 Jun 是一種 AP-1 或 AP-1 家族的成員之一, 目前已知 Jun 為一群的蛋白質, 除 Jun 外尚有 Jun-B, Jun D。

AP-1 序列 (TAGCTCA) 具有旋轉對稱, 顯示與此序列結合的蛋白質可能為二聚體 (dimer)。在細胞內 Jun 與 Fos 形成異質二聚體 (heterodimer), 各自與 AP-1 序列的一半結合 (圖四), Jun-Jun 同質二聚體 (homodimer) 與 AP-1 位置結合的能力較 Jun-Fos 異質二聚體 (heterodimer) 為弱。Jun 與 Fos 係經由 leucine zipper 而形成二聚體 (圖二), 所謂白氨酸拉鏈 (leucine zipper) 為  $\alpha$ -helix 中的一段肽鏈, 約含 35 個氨基酸, 其中含有 4-5 個白氨酸 (leucine), 有規律地、週期性地出現, 即每隔 6 個氨基酸即出現一次, 如此則這些白氨酸排列在一個  $\alpha$ -helix 的同一個面上, 兩個不同  $\alpha$ -helix 上之白氨酸經由疏水性作用 (hydrophobic interaction), 而結合在一起, 就好像一條拉鏈, 此種結合為平行方面 (parallel) 或反平行方面 (antiparallel)。鄰近白氨酸 5' 端含有帶正電的氨基酸, 一旦形成二聚體後, 鄰近 5' 端帶正電的氨基酸可形成某一種立體構造而與特定的鹼基序列結合。GCN4、C/EBP 等轉錄活化者 (transcription activator)

也具有此種白氨酸拉鏈的構造。

含有白氨酸拉鏈的蛋白質形成二聚體並非隨意的, 例如 Fos 只與 Jun 形成二聚體, 而 GCN4、C/EBP 則各自形成 homodimer, 與何種具有白氨酸拉鏈的蛋白質形成二聚體, 也與白氨酸拉鏈有關, 如將 Fos 之白氨酸拉鏈嵌入 GCN4 內, 則可與 Jun 形成異質二聚體。拉鏈之蛋白質間形成不同之二聚體對某一鹼基序列之親和力可能不同, 也可能所辨認的序列也有所改變, 如此一來, 則可經由蛋白質不同的組合, 對基因產調節、控制的作用。

## 逆式作用因子的控制

### (control of trans-acting factor)

逆式作用因子可控制基因的表現, 細胞如何控制這些逆式作用因子? 使它們在有需要時才發揮功能。有關此方面的知識所知有限, 就目前所了解的, 可將控制機轉分為下面三種類型; (一) 逆式作用因子以非活化形式 (inactive form) 存在於細胞內, 受到刺激後轉變為活化形式 (active form), 如類固醇受器, 類固醇受器存於細胞質內, 也是一種轉錄居化者, 在細胞內與 HSP90 形成複合物, 以非活化形式存在, 受類固醇刺激後, 此受器與之結合並與 HSP90 分開, 而轉變為活化形式, 並轉送至細胞核內, 與類固醇反應基因 (steroid hormone responsive gene) 內之特定鹼基序列結合, 促進該基因的轉錄; (二) 經由磷酸化作用活化逆式作用因子之活化區域; (三) 活化 DNA 結合區域, 有些逆式作用因子的 DNA 結合區域不能與 DNA 結合, 受到刺激後才被活化, 例如 CAP 必須與 CAMP 結合後才能與 DNA 結合。

## 結語

基因的表現與許多生理現象有關, 細胞的生長、分化、胚胎的發育, 細胞對外界刺激產生適當的反應均與基因的表現有關, 在這些正常生理過程中, 基因的表現產生一系列有計劃的改變, 而這些改變有賴於核癌蛋白質的參予。除上述的 Jun、Fos、myc、My6 核致癌基因的產物也具有類似的功能。事實上它們除了可以促進基因的表現外, 也具有抑制基因表現的作用, 有關的作用機轉有待探討。