

fos 与 jun 癌基因产物的结构特点及其转录调控作用的研究进展

姜 琨 童坦君

(北京医科大学生物化学教研室, 100083)

提 要

部分癌基因的产物位于细胞核内, 是 DNA 结合蛋白。fos 与 jun 基因产物为其中具代表性的, 它们对细胞生长与分化具有重要调控作用, 这两个基因的产物间存在密切联系。下面对 fos 与 jun 产物的特征性结构, 所谓的亮氨酸拉链及其功能即对基因转录的调控作用的研究作一简要的回顾。

关键词 亮氨酸拉链, 二聚体, 糖皮质激素受体, 转录因子

真核基因的表达调控机理是当今分子生物学研究的热点之一。而转录水平的调控, 是这一热点中的重点。基因转录, 受转录因子的调控。这些蛋白质因子与 DNA 序列中的一部分结合, 进而促进或阻遏相关基因的转录。对这些转录因子的来源、结构、性质及作用机制的研讨具有重要意义。近年来研究发现转录因子往往具备下列结构特征: 如锌指结构、螺旋-转折-螺旋、亮氨酸拉链等。不同的转录因子各自可能具备其中的一种特征性结构, 这些特征性结构同转录因子与 DNA 的结合密切相关^[1,2]。本文试图对亮氨酸拉链这一较普遍存在的结构特征, 以癌基因 fos 和 jun 产物为例, 对其研究进展作一回顾。

1 fos 与 jun 在正常细胞中的表达及其诱导

癌基因 fos 在细胞生长的静止期基本不表达; 而 jun 基因家族即使在稳定期也有一定程度的表达^[3]。许多外来刺激因素如血清, 血小板衍生生长因子, 成纤维细胞生长因子, 表皮生长因子, 转化生长因子, 白细胞介素-1, 肿瘤坏死

因子 α 等均可诱导细胞内 fos 与 jun 的表达^[4]。上述因素大部分是细胞分裂促进因子。

2 fos 与 jun 基因产物的结构特点及其与 DNA 的结合

癌基因 fos 与 jun 编码的蛋白质具两个显著的结构特点: a. 蛋白质的氨基酸序列中存在着若干个周期性出现的亮氨酸, 类似序列亦可见于 c-Myc, GCN4, L-Myc 等基因或癌基因产物。^[5] 这些亮氨酸规律地重复出现: 每隔七个氨基酸残基就出现一个亮氨酸残基。b. 具备上述特征的氨基酸序列盘曲形成 α 螺旋, 每个螺旋结构域均有不少于四个的亮氨酸残基重复出现。这些亮氨酸均位于螺旋的一侧, 近似直线排列, 亮氨酸的 γ 碳原子上伸出两个甲基, 因而两个这样的螺旋结构, 可以相互靠近, 通过彼此交错伸出的亮氨酸残基相互结合构成二聚体, 即由 γ 碳上伸出的甲基参与二聚体的构建, 这就是所谓的亮氨酸拉链 (leucine zipper), 它是依靠分子拉链即非共价键而形成的(图 1, 2)^[5]。

其它某些基因的产物如果也具有以上结构特征,那么既可形成异源二聚体,类似于 Fos-Jun 异源二聚体;也可形成同源二聚体,类似于 Jun 同源二聚体。目前尚未发现 fos 产物的天然同源二聚体。

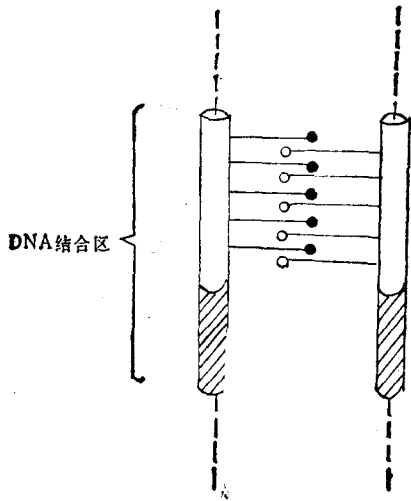


图1 亮氨酸拉链模式图

两平行管状结构代表 α 螺旋的碳骨架,其间交错伸出亮氨酸侧链。侧链顶端的球形代表 γ 碳原子的两个甲基,阴影表示碱性区域

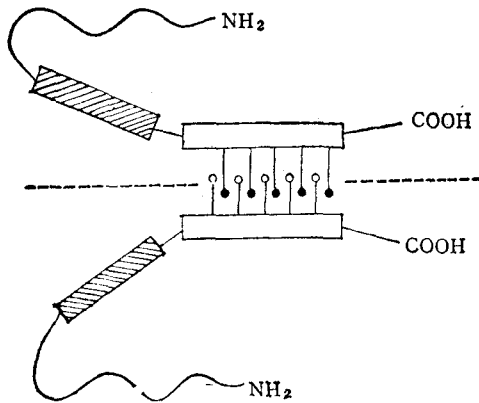


图2 二聚体 DNA 结合区模式图

亮氨酸重复出现的螺旋结构如长方形所示,伸出的亮氨酸侧链形成拉链状结构。相邻的长方形阴影区代表二聚体的碱性区,虚线表示其对称轴

体外突变实验表明: jun 或 fos 产物中的亮氨酸重复序列中的亮氨酸被脯氨酸代替后, fos 与 jun 产物构成二聚体的能力及其与 DNA 结合的能力大为降低。但若它们羧基端的亮氨酸被置换后,上述两种结合能力则不受明显影

响。这说明亮氨酸重复序列是二聚体形成的必要条件。进一步的实验证明 fos 与 jun 产物形成的异源二聚体可与 DNA 序列中的一些区域结合, jun 产物的同源二聚体也有此作用^[6,7]。

fos 与 jun 产物的亮氨酸重复序列的氨基侧是一个碱性区,与二聚体同 DNA 序列特异结合密切相关。此区若发生突变,虽然仍可形成二聚体,但丧失了与 DNA 结合的能力,表明此区是 DNA 结合所必需的^[3]。

Fos-Jun 异源二聚体的转录激活区具备多种转录激活因子的共同特征,一种转录因子的激活区可被另一转录因子的激活区所代替而不致影响其功能。各种转录因子的激活区长度不一,氨基酸组成各异,但都具有负电性的特征^[8];而且还都具有 α 螺旋的结构特征,这种螺旋结构也是促进转录所必需。此亲水 α 螺旋一侧是酸性氨基酸残基,对侧是疏水氨基酸残基。转录因子转录激活区上的一致性提示:它们可能具有共同作用对象或靶蛋白,例如另一特定的转录因子;甚至 RNA 聚合酶本身。

3 fos 与 jun 产物对转录的激活作用

研究表明:转录因子的激活区具有结构的共同性。激活作用与下列因素关系紧密: a. 激活作用的强弱与激活区的负电性有关,例如: GCN4 基因的蛋白质产物是一种酵母转录激活蛋白,其激活区由负电区构成^[9];又如 GAL4 的基因产物是酵母半乳糖代谢的调节蛋白,其激活区含两个负电区,去除任一负电区后仍能象完整的 GAL4 产物一样激活转录;若突变引起 GAL4 蛋白激活区负电性加强,则导致激活功能增强^[10]。 b. 激活区的 α 螺旋结构亦为激活功能所必需。 Ptashne 按照带负电的亲水 α 螺旋结构特征设计出有功能的转录激活区,并且发现氨基酸组成相同,但不能形成 α 螺旋结构的肽链则无激活功能^[8]。 Lech 等发现磷酸化可增强转录因子的功能^[11],由此表明环境因素通过影响转录因子从而调节基因表达。

Fos-Jun 异源二聚体较同源二聚体能更广泛地作用于 DNA 序列,调控转录,此种作用方

式可能具有普遍意义。细胞外的多种因素可通过此类癌基因产物的传导而同某些基因发生关系,影响其转录及表达。在受到诱导后 *fos* 与 *jun* 表达增加,产物形成二聚体反式作用于 DNA 特异序列,调节相关基因的转录(见图 3)。

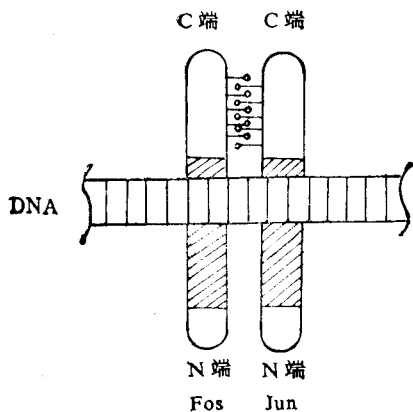


图 3 Fos-Jun 异源二聚体 DNA 结合及转录激活模型
Fos 与 Jun 蛋白质各自与 DNA 上识别位点的一部分结合,阴影区表示转录激活区

目前推测其可能作用机制有几种形式:成环模型 (looping out),变构模型 (topological model) 及滑动模型等,以成环模型最为可能^[12]。其主要内容为:转录激活因子与 DNA 的特异序列即调控点结合,作用于 DNA 上的顺式调控元件,通过 DNA 链的弯曲使转录激活蛋白彼此靠近并作用于转录起始复合物以调控转录^[13,14]。RNA 聚合酶 II 大亚基 C 端的重复七肽结构 (CT7_n) 据认为是转录激活蛋白激活区的靶点^[15]。实验证明:GCN4 基因产物在体外可以直接和 RNA 聚合酶 II 结合;特异抗 CT7_n 的单克隆抗体可阻断转录的起始。这些证据均支持 RNA 聚合酶 II 是转录激活蛋白的靶蛋白。多种转录因子可能具有共同的靶蛋白或靶点,因此对这一转录激活机制的探讨具有十分重要的意义。

4 *fos* 与 *jun* 的诱导及活性调节

多种因素,如:表皮生长因子、血小板衍生生长因子,神经生长因子,肿瘤坏死因子 α , 佛

波酯促癌剂与血清等均可诱导正常细胞 *fos* 与 *jun* 的表达,促进细胞分裂;*fos* 与 *jun* 基因的激活亦可促进生长因子相关基因的表达。

例如:神经纤维受损后,神经细胞中 Fos 与 Jun 的 mRNA 相继增多,随后神经生长因子的 mRNA 明显增多。应用小鼠成纤维细胞实验表明:当用氯化镉 ($CdCl_2$) 刺激后,细胞内 Fos 的 mRNA 水平首先升高,Jun 的 mRNA 水平随后升高。然而氯化镉若未能诱导 Fos 与 Jun mRNA 的增加,则神经生长因子 mRNA 的含量即不增加。研究还表明:神经生长因子基因的某一特定序列存在 Fos-Jun 二聚体的一个结合部位,点突变实验及删除此区域的实验都证明这一部位在神经生长因子的表达中必不可少^[16]。

有一引人注目的问题:研究发现 c-Jun 的活性可被细胞特异抑制因子所抑制,c-jun 产物存在抑制因子的作用区(称之为 δ 区)^[17],可被抑制因子识别并产生作用,c-jun 产物嵌合体在不同细胞系中的转录活性不同(见图 4)。用 HeLa 细胞的抽提物进行转录实验表明:c-Jun 蛋白质的 δ 负调区位于第 40—66 位氨基酸残基之间。v-Jun 蛋白质不含 δ 区,某种由 c-Jun 蛋白质衍生出来的产物亦不包含 δ 区,用其它转录因子的 DNA 结合区代替 c-Jun, v-Jun 及 c-Jun 衍生物的相应结构域得到嵌合转录因子, c-Jun, v-Jun 及 c-Jun 衍生物各自形成二聚体的结构域在此三种嵌合转录因子中也相应被代替,这三种嵌合体共转染入 HeLa TK⁻ 细胞后,发现三者的转录促进活性明显不同, c-jun 基因产物的转录促进活性显著低于后二者,而 c-jun 产物含 δ 区,后二者不含 δ 区,这说明在 HeLa TK⁻ 细胞中 c-jun 产物活性的抑制与 δ 区有关,后二者不含 δ 区,故未受到抑制。此外,不是在所有的细胞系中都能观察到 δ 区的抑制作用,在某些细胞系中上述三种转录因子的促转录活性相同^[17],可见抑制因子具有细胞特异性。 δ 区的作用很可能是帮助抑制因子与 c-jun 产物转录激活区(称之为 A1,见图 4)相互作用,即使这种抑制作用

容易化；或者 δ 区能够稳定抑制因子与 c-jun 产物转录激活区的作用。而 v-jun 基因产物缺乏 δ 区，所以其活性不受抑制因子的抑制，同 c-jun 产物比较，v-jun 产物具有更强的转录促进活性。

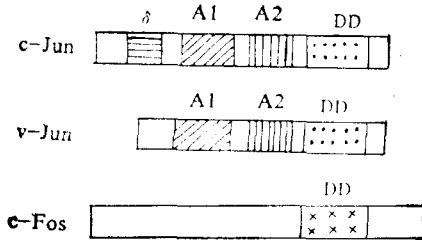


图4 c-jun, v-jun 及 c-fos 产物结构域的模式比较图
A1, A2 各表示一定的转录激活区, DD 表示二聚体形成及 DNA 结合区. A1 受 δ 区的调节作用, A2 不受 δ 区的影响

用突变后不能形成二聚体的 jun 产物以及 Fos-Jun 异源二聚体进行实验表明：只有 Jun 同源二聚体能与抑制因子接触并发生作用，提示 jun 产物同源二聚体的每一半均与抑制因子接触并受其作用（见图 5）。v-jun 产物不存在 δ 区，抑制因子与 v-Jun 二聚体发生相互作用时，则缺少了 δ 区的稳定作用或容易化作用，因而 v-Jun 二聚体的活性被抑制的程度远不如 c-Jun 显著。至于 Fos-Jun 异源二聚体，由于仅含一个 Jun 蛋白质，二聚体是非对称结构，所以结构的差异使抑制因子的作用不能实现，Fos-Jun 异源二聚体的转录激活效应较 Jun 同源二聚体明显增强^[17]。

5 糖皮质激素受体与 c-fos, c-jun 产物的关系

糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GCR)与原癌基因 c-jun, c-fos 产物间存在着相互作用，影响它们各自同 DNA 结合的能力，从而影响其转录促进活性^[18]。迄今已有日益增多的证据证明如下机制的存在：GCR 与 c-fos 及 c-jun 产物间直接作用，从而抑制转录激活因子 AP-1（即 Fos-Jun 异源二聚体，又称 activator protein-1）的活性，阻止由佛波酯和

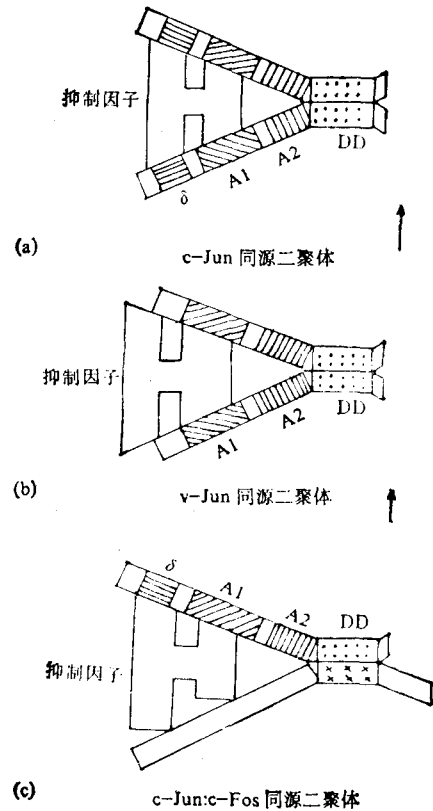


图5 抑制因子与 c-Jun 蛋白质作用的模式图
(a) 细胞特异的抑制因子与 δ 区及 A1 区均有相互作用,可以有效抑制 c-jun 产物的活性
(b) 此因子与 v-Jun 二聚体之间仅仅在 A1 区发生作用,无 δ 区的易化或稳定作用,抑制效果减弱
(c) c-Fos: c-Jun 异源二聚体由于结构差异,与抑制因子不能有效作用,抑制效应无从得以发挥

细胞因子等多种刺激因素引起的诱导细胞生长增殖的作用,同时 GCR 的生物活性也受到 c-fos 及 c-jun 产物的抑制作用。

DNA 结合实验表明 GCR 并非直接结合于佛波酯的 DNA 应答区域; AP-1 也不直接结合于糖皮质激素的应答区域 (glucocorticoid response element, GRE)^[19,20]。c-jun 产物与 GCR 孵育后二者同 DNA 结合的能力均明显削弱;若二者中任一先和其特异抗体一起孵育,则其抑制另一物质同 DNA 结合的能力就大为减弱。在 GRE 存在的条件下 GCR 与 c-jun 产物孵育之后, GCR 活性有一定程度的下降,但下降程度明显低于无 GRE 存在时者,亦即 GCR 与 GRE 结合之后 GCR 同 c-jun 产物间的相

互作用减弱,此时 GCR 对 c-jun 产物的抑制作用产生了一定的抵抗性^[16]。

c-jun 产物若发生突变而缺乏其 DNA 结合区,则不论在体内还是在体外它均不能够与 GCR 发生作用;若突变未影响其 DNA 结合区,即使 c-jun 产物本身其余区域发生显著变化,它也能与 GCR 作用并抑制 GCR 与 DNA 结合。值得注意:DNA 结合区是 c-fos 与 c-jun 产物唯一共有的区域^[20],c-fos 产物很可能以同一功能区与 GCR 相互作用。目前还不很清楚 c-jun 产物的 DNA 结合区的哪一部分参与了与 GCR 的相互作用,亮氨酸拉链很可能参与了这一过程^[5,22]。另一方面,GCR 的 DNA 结合区与其同 c-Jun 蛋白作用密切相关,此区的缺失导致 GCR 失去对 c-fos 及 c-jun 产物的抑制作用。GCR 的糖皮质激素结合区在它和 AP-1 相互作用时可能具有辅助作用^[16]。

上述事实表明这样一种机制的存在:生长因子、细胞因子等因素和激素在对基因转录的调节作用中二者之间存在着密切关系。GCR 与 AP-1 复合物间这种相互抑制在细胞生长和分化的调节中很可能起着重要作用。糖皮质激素是多种细胞生长的抑制剂,并用为抗癌剂,此种效应通过 GCR 媒介,在这过程中对转录激活因子 AP-1 活性的抑制极可能具有重要意义。另一方面,经多种外界因素刺激诱导之后,细胞内 c-fos 与 c-jun 产物含量增高,对 GCR 活性的抑制增强,对抗糖皮质激素的作用,促进细胞的生长、增殖和肿瘤的发生。

总之,GCR 与 c-Fos, c-Jun 蛋白质间存在相互作用,糖皮质激素能够调节细胞对多种

刺激因素的反应。

结 语

癌基因 Fos 与 Jun 产物的结构及其二聚体的结构在转录因子中具有一定代表性,对基因转录的调控方式具有普遍性。对此调控方式以及其影响因素的研究,有助于我们深刻地了解基因转录的调控机制,而且,对肿瘤等重大疾病的诊断与防治亦具有深远意义。

参 考 文 献

- 1 Ransone L J, Visvader J, Wamsley P *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; **87**: 3806
- 2 Hunter T. *Cell*, 1991; **64**: 249
- 3 西泽诚. 国外医学 遗传学分册, 1990; **13**: 257
- 4 Sherman M L, Datta R, Hallahan D E *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; **87**: 5663
- 5 Landschaltz W H *et al.* *Science*, 1988; **240**: 1759
- 6 Turner R *et al.* *Science*, 1989; **243**: 1689
- 7 Gantz R *et al.* *Science*, 1989; **243**: 1695
- 8 Giniger E, Ptashne M. *Nature*, 1987; **330**: 670
- 9 Hope I A *et al.* *Cell*, 1986; **46**: 885
- 10 Gill G, Ptashne M. *Nature*, 1988; **334**: 721
- 11 Lech K *et al.* *Cell*, 1988; **52**: 179
- 12 Paul B S. *Nature*, 1988; **333**: 210
- 13 Horikoshi M, Hai T, Lin Y S *et al.* *Cell*, 1988; **54**: 1033
- 14 Hai T. *Cell*, 1988; **54**: 1043
- 15 Paul B S. *Nature*, 1988; **333**: 216
- 16 Hengerer B, Lindholm D, Heumann R *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; **87**: 3899
- 17 Baichwal V R, Tjian R. *Cell*, 1990; **63**: 815
- 18 Yang-Yen H F, Chambard J C, Sun Y L *et al.* *Cell*, 1990; **62**: 1205
- 19 Mordacq J C, Linzer D I H. *Genes Dev*, 1989; **3**: 760
- 20 Angel P, Imagawa M, Chiu R *et al.* *Cell*, 1987; **49**: 729
- 21 Vogt P K, Bos T J, Doolittle R F. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; **84**: 3316
- 22 Smeal T J *et al.* *Genes Dev*, 1989; **3**: 2091