

## c-myc 致瘤蛋白的功能

Dang CV

### 1、引言

正常细胞生长和分化的调控涉及到一系列信号转导通路。这些通路将细胞外信号传递到细胞核。这些信号能够影响基因的表达,从而能够调节细胞生长。信号转导通路在正常情况下通过维持细胞内的两种因子即细胞生长促进因子和生长抑制因子之间的平衡来调节细胞生长,这些通路上的任何分子损伤可能导致细胞生长的失控。生长促进方面的分子缺陷包括突变蛋白的出现、某些正常生长促进因子的异常性持续存在、或者生长抑制蛋白活性的降低。这些改变能使细胞跨越其正常的生长限制点而成为恶性。人们正试图弄清这种由瘤基因和生长抑制基因或肿瘤抑制基因参与的肿瘤发生过程的分子机理。近年的研究表明,c-myc 瘤基因的产物——c-Myc (以 c-myc 表示 c-myc 瘤基因,而以 c-Myc 表示其蛋白产物)参与基因表达的调控和 DNA 的合成。

c-myc 瘤基因最初是作为病毒瘤基因 v-myc 的鸡细胞同源物而被分离出来的,v-myc 能诱发禽类髓细胞瘤病综合症。c-myc 在正常的细胞生长和分化调控中起着重要的作用。人的 c-myc 基因定位于 8 号染色体上,有 3 个外显子,其中第二和第三个外显子编码一种由 439 个氨基酸残基组成的蛋白质。c-myc mRNA 的翻译可以从距 AUG 起始位点 5' 端 15 个密码子的 CUG 位点开始,所形成的多肽较平时大。c-myc 表达的调控是在多重水平上即从转录到翻译后期进行的。任何遗传学的改变,只要影响到这些时期中的某一个,均可导致 c-Myc 水平的增高,而增高了的 c-myc 表达可以导致肿瘤的形成。事实上,

已经在多种肿瘤中观察到一系列影响 c-myc 表达的遗传学改变。这些改变包括基因扩增、染色体易位、插入突变以及其他结构上的改变。

一般而言,c-myc 的表达是与细胞的生长状态相关联的。如以血清或某些生长因子刺激纤维母细胞或以丝裂原刺激淋巴细胞可引起 c-myc 基因表达的一过性增强。肝脏部分切除后的再生也与 c-myc 的表达增强有关。c-myc 的表达随着细胞的分化而减弱。

对 c-myc 基因在正常细胞和肿瘤细胞中的结构和表达已进行了广泛的研究。但是,有关 c-Myc 的结构和功能所知甚少。近年对 c-Myc 的研究使我们对这一蛋白中与细胞恶性转化有关的功能结构域及其所作用的细胞靶子有了进一步的了解。

### 2、c-Myc 中恶性转化所必需的结构域

人类 c-myc 基因是通过插入或缺失突变而获得恶性转化所必需的结构域的。对 c-Myc 突变体转化活性的研究是用大鼠胚胎纤维母细胞 (REC) 进行的。野生型的 c-myc 与活化的 ras 基因共同作用可诱导大鼠原代 REC 形成转化细胞灶。不论是 c-myc 还是 ras 基因都不能单独诱导转化细胞灶的形成。c-Myc 中部的 1/3 区域缺失不影响其共转化 REC 的能力。但是,其 C-端的插入或缺失将会使它的转化活性大为降低,N-端的 143 个氨基酸残基的缺失也使它的转化活性降低。

有证据表明,c-Myc N-端的三个保守区(第 44-65、127-144 和 184-200 位氨基酸残基)对细胞的恶性转化是很重要的。c-Myc N-端有丰富的活性功能区。有人用鸡胚细胞或

鸡骨髓细胞检测禽类髓细胞瘤病毒 29 的突变型的 gag-myc 基因产物的转化活性。结果表明 c-Myc 的 C-端对缺失突变敏感。N-端的大片段缺失亦导致 c-Myc 活性的丧失。

上述及前述的结果均表明 c-Myc 的 N-端和 C-端在细胞的恶性转化中起着重要作用。

### 3、c-Myc 中抑制细胞分化所必需的结构域

c-myc 基因的基础水平的表达可以防止细胞脱离细胞周期，因而能够抑制包括鼠红白血病细胞 (MEL)、F9 畸胎瘤细胞和 3T3 L1 细胞在内的一系列细胞系的分化。有人推测 c-Myc 抑制细胞分化的作用是与其转化细胞的能力直接相关的。c-Myc 编码区的缺失突变使其丧失抑制 3T3 L1 细胞分化的能力。就抑制细胞分化的能力而言，c-Myc 对其连接序列的插入突变是极为敏感的，而 N-端则对某些插入突变不敏感。这一结果表明在 c-Myc 中转化细胞所必需的结构域与其抑制 3T3 L1 细胞分化所必需的结构域有相当程度的重叠。

用 MEL 进行类似的实验时发现，c-Myc N-端的 143 个氨基酸和 C-端的 100 个氨基酸是抑制 MEL 细胞分化所必需的。中段第 143-262 位氨基酸的丢失使 c-Myc 失去抑制 3T3 L1 细胞分化的活性，而对 MEL 细胞的分化仍有中度的抑制作用。

亮氨酸拉链 (ZIP) 是 c-Myc 研究的焦点之一。ZIP 促进各种转录因子的二聚体形成，它的定点突变使 c-Myc 抑制细胞分化的能力明显降低。这一部位的插入突变使 c-Myc 的转化活性丧失。

上述结果均提示 c-Myc 对细胞分化的抑制作用在其恶性化活性中占据着中心地位。

### 4、c-Myc 中与自体抑制有关的结构域

有人观察到，c-Myc 通过一种谓之自体抑制的反馈机制对其自身的转录起始进行下

行调节。抑制的程度与细胞的类型有关，且与 c-Myc 的浓度呈比例关系。c-Myc 的第 1-100、145-262 或 265-353 位氨基酸残基的缺失并不影响其抑制内源性 c-myc 表达的能力，而第 106-143 和 354-433 位氨基酸残基则是 c-Myc 自体抑制的必需片段。ZIP 中的亮氨酸突变所形成的突变体不能进行自体抑制，表明 ZIP 在自体抑制中起重要作用。

c-Myc 自体抑制所必需的片段与其跟 ras 一道共转染 REC 所必需的片段是重叠的，提示基因表达的抑制可能与 c-Myc 的恶性转化能力有关。用杂种体细胞所进行的研究表明 c-Myc 的自体抑制是一种显性表型，提示另有一些因子与 c-Myc 的自体抑制有关。值得一提的是，很多转化细胞系缺乏对 c-myc 基因表达的自体抑制作用，而未转化的细胞则否。这一结果表明某些能够使 c-Myc 丧失自体抑制作用的遗传学损伤与 c-myc 表达的去调节有关，从而能够导致肿瘤形成。但是，这些遗传学损伤对 c-myc 基因来说是顺式的还是反式的仍有待确定。

### 5、c-Myc 中的核内定位序列

c-Myc 是最早被确认的核内致癌蛋白之一。对于与 c-Myc 核内定位有关的序列进行的研究表明，c-Myc 第 320-328 位氨基酸残基 (M1) 是进行核内定位所必需的，其丢失使 c-Myc 在核内和胞浆同时出现，但使 c-Myc 保留其共转化 REC 的能力。第 364-374 位氨基酸残基 (M2) 只起部分核内定位的作用，其丢失使 c-Myc 失去转化活性。

可以认为，M1 是主要的核内定位信号，而 M2 则具有影响转化活性的功能。

### 6、c-Myc 的非特异性 DNA 结合活性

有资料表明，c-Myc 在体外能够非特异性地结合 DNA。c-Myc 第 265-318 位氨基酸残基是非特异性 DNA 结合所必需的片段。这一区域与 v-myc 蛋白中非特异性结合 DNA

的同源区是重叠的。c-Myc 中的非特异性 DNA 结合片段中含有 4 个由丝氨酸-脯氨酸-X-X 组成的序列(X 表示其他氨基酸,通常是赖氨酸),这些序列与组蛋白 H1 的非特异性结合有关。

某些 c-Myc 的突变体,尽管不能非特异性地结合 DNA,仍保留其共转化 REC 的活性。这表明 c-Myc 的非特异性 DNA 结合活性并非其共转化活性所必需的。但是,一旦缺失非特异性的 DNA 结合片段,c-Myc 则失去其野生型所表现出的抑制 3T3 L1 纤维母细胞分化的能力。我们推想 c-Myc 的非特异性 DNA 结合作用可能提高其识别特异性 DNA 位点的速率,而这一特性对于 c-Myc 的某些生理功能的发挥可能起着重要的作用。

### 7、c-Myc 中的螺旋-环-螺旋结构和 ZIP 寡聚体形成结构域

c-Myc 中有两个具有螺旋-环-螺旋(HLH)和 ZIP 结构的区域。这些区域在已知的转录因子中介导寡聚体的形成。

在体外,大肠杆菌产生的重组 c-Myc 以四聚体的形式出现。ZIP 的缺失致使 C-Myc 形成单聚体和部分二聚体,而 HLH 的缺失使 c-Myc 形成二聚体。c-Myc C-端带有 HLH 和 ZIP 结构域的 72 个氨基酸足以介导以单聚体存在的葡萄球菌蛋白 A (SPA) 形成二聚体。但是,这些体外实验的结果究竟是由于 c-Myc 含量偏高所致还是确实能够反映 c-Myc 的体内行为尚不清楚。

至于 c-Myc 寡聚体形成结构域的体内意义,有学者提出这样的看法,认为能在体外形成寡聚体的无转化活性的 c-Myc 的缺失突变体(第 106-143 位氨基酸的缺失)能够显性地抑制野生型 c-Myc 的转化活性。的确,第 106-143 位氨基酸的缺失突变体是一种显性的负作用突变体,而 HLH 或 ZIP 部位的缺失并不影响野生型 c-Myc 的转化活性。这种显性的负作用突变体可能通过形成无活性的寡

聚体来抑制野生型的 c-Myc 或与野生型的寡聚体竞争特异性的 DNA 结合位点。

已有的研究表明,哺乳类细胞中 GAL4 DNA 结合结构域和 VP16 活化结构域的单一的嵌合性多肽能够活化 GAL4 DNA 结合位点下游的报导基因的转录。如果嵌合蛋白的 GAL4 DNA 结合结构域能通过 ZIP 作用与 VP16 活化结构域形成复合物,那么该报导基因的转录活化便可被检测到。基于这一策略,我们观察到了酵母 GCN4 蛋白的 ZIP 结构域所形成的同源寡聚体以及 c-jun 和 c-fos 蛋白的 ZIP 结构域所形成的异源寡聚体。不过,在细胞中未见 c-Myc 的 ZIP 结构域的同源寡聚体形成。以上结果表明 c-Myc 的功能有赖于它与其配对蛋白形成异源寡聚体。

c-Myc 研究中的一个最新突破是鉴定出了一种既有 HLH 又有 ZIP 结构域的人类蛋白质,称之为 Max。Max 不但能自身形成同源寡聚体,还具有与 L-myc 和 N-蛋白结合的能力。这种结合作用看来是特异的,因为 Max 并不与其他 HLH、ZIP 或 HLH-ZIP 蛋白质如 E12、MyoD、Jun、Fos、USF 和 AP4 结合。在与 Max 所形成的异源嵌合体中,c-Myc 能与含核心序列 CACGTG 的寡聚核苷酸结合,尽管这一结合位点不一定是 c-Myc 和 Max 异源寡聚体结合的最佳位点。

最近已鉴定出 Max 的鼠同源物, Myn。Myn 类似地与人的 c-Myc 结合,能够促进 c-Myc 与核心序列 CACGTG 的结合。Myc-Myn 异源寡聚体与 CACGTG 的结合能够被核心胞嘧啶的甲基化 (CA<sup>m</sup>CGTG) 所阻断。Myn 本身并无转化活性,但它能增强 c-Myc 共转化 REC 的能力。人的 Max 能够在体外形成同源寡聚体,然而尚需确定的是,Max 的同源寡聚体能否在体内调整 Myc-Max 异源寡聚体的功能。例如,具有体外 DNA 结合活性的 Max 同源寡聚体有可能与 Myc-Max 异源寡聚体竞争生理性的 DNA 结合位点。

(下转封四)

(上接第 62 页)

*Max* 及其同源物的发现无疑将给 *c-Myc* 功能的阐明带来新的希望。

#### 8、*c-Myc* 的特异性 DNA 识别作用

通过与已知的能结合特定 DNA 保守序列的 *HLH* 蛋白的碱性区域进行比较发现, *c-Myc* 的碱性区域与哺乳动物转录因子 *TFE3*、*USF* 以及酵母蛋白 *CBF1* 和 *PHO4* 的碱性区域具有极大的相似性。*TFE3*、*USF*、*CBF1* 和 *PHO4* 均能结合保守序列 *CAC(G/A)TG*, *c-Myc* 的碱性区域亦与类似的序列结合。

当与 *CAGGTG* 结合的转录因子 *E12* 的碱性区域被 *c-Myc* 碱性区域取代之后, 所形成的嵌合性蛋白质能够识别核心序列 *CACGTG*。这是有关 *c-Myc* 碱性区域与 DNA 特异性结合的最早证据。

尽管有上述的体外实验结果表明 *c-Myc*、*Max* 以及 *Myc-Max* 异源寡聚体能结合核心序列 *CACGTG* 或 *CACATG*, 在细胞中这些蛋白质与这些核苷酸序列在功能上的相互作用仍有待研究。

#### 9、*c-Myc* 的转录活化结构域

*c-Myc* 的转录活化因子至少由两个在功能上相互独立的结构域组成。其中一个结构域以序列特异性的方式结合 DNA; 另一个结构域(即转录活化结构域), 当与 DNA 结合后, 能够活化转录。转录活化结构域是富含谷

氨酰胺或脯氨酸的酸性氨基酸序列。转录活化结构域可能含有特定的疏水性氨基酸残基, 这些氨基酸在转录活化中起作用。

#### 10、*c-Myc* 的翻译后修饰

已知 *c-Myc* 是一种磷酸化的蛋白质, 且已找到多个磷酸化部位。第 240-262 和 342-357 位上的丝氨酸的苏氨酸被酪蛋白激酶 II 磷酸化。至于这些修饰作用有何功能上的意义尚不清楚。第 342-357 位氨基酸残基上的磷酸化可能会影响 *c-Myc* 特异性地结合 DNA 的能力。有爪蟾卵母细胞中的 *c-Myc* 位于胞浆内, 直到受精后 *c-Myc* 才转移到胞核。胞浆中的 *c-Myc* 是未磷酸化的, 而一旦转位至核内, 它便以磷蛋白的形式存在。*c-Myc* 的磷酸化可能与蟾蜍 *c-Myc* 的核内转位有关。

#### 11、小结

*c-Myc* 在胞浆内合成, 并与另一种蛋白质如 *Max* 结合形成寡聚体。其核内定位信号使其定位并停留在核内。一旦与特异的 DNA 位点结合, *c-Myc* 便可活化或抑制多种靶基因的转录, 接着便使细胞出现生长和分化的改变。对于 *c-Myc* 及其配对蛋白 *Max* 的进一步研究将会有助于阐明 *c-Myc* 调节正常细胞生长以及在肿瘤中这种调节作用发生改变的机制。

(*Bioclimica et biophysica Acta (BBA)* 1991; 1072(2):103-113)

邓锡云摘译 曹亚审核

## 癌变·畸变·突变

(双月刊)

第 4 卷 第 5 期 总第 14 期

1992 年 10 月出版

编辑:《癌变·畸变·突变》编辑部  
(上海市翔殷路 594 号, 第二军医大学  
教学楼 2430 室, 邮政编码 200433)

出版行: 中国环境诱变剂学会

主编: 薛寿征  
副主编: 蒋左庶, 薛京伦, 余应年  
编辑部主任: 李怀义  
印刷: 上海译成印刷厂

公开发行 国内统一刊号 CN 31-1627/R

定价: 1.90 元