转录因子 *FOSB* mRNA 5′非翻译区内部核糖体进入位点的活性

马 晶，孙柳柳，马文囡，陶义芬，陈 蕴，朱瑞宇，金 坚*
（江南大学 药学院，江苏 无锡 214122）

摘要：研究 FOSB 基因侧翼序列是否含有内部核糖体进入位点（internal ribosme entry site，IRES），进而探究其生理功能。作者利用双顺反子报告载体（pRL-FL），构建检测质粒（pRL-*FOSB*-FL），并将其转染到人胚肾细胞 HEK293 和 4 种癌细胞中，检测 *FOSB* mRNA 5′非翻译区（5′untranslated region，5′UTR）IRES 活性并通过逐步截断探索其活性中心，最后对肝癌细胞 Bel-7402 进行药物（紫杉醇和顺铂）刺激。报告载体的结果显示，*FOSB* mRNA 5′UTR 具有 IRES 活性，且在不同细胞中 *FOSB* IRES 活性存在显著性差异，在卵巢癌细胞 A2780/WT 细胞中 *FOSB* IRES 活性较高。序列截断发现，*FOSB* mRNA 5′UTR 中的 160nt（-376 到-217）对其 IRES 的功能至关重要.在肝癌细胞中，随着加药浓度的增加，其 IRES 活性逐渐增加，尤其在紫杉醇刺激下活性增加更为明显。本研究发现的 *FOSB* 基因的这些特性为研究 *FOSB* 在肿瘤的预防与治疗提供了一种新的思路。

关键词：小鼠骨肉瘤病毒致癌基因同族体 B；内部核糖体进入位点；5′非翻译区；荧光素酶
中图分类号：Q 522　**文章编号：**1673-1689（2019）07-0041-08　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.07.006

Activity of Internal Ribosme Entry Site in mRNA 5′ Untranslation Region of Transcription Factor FOSB

MA Jing，*SUN Liuliu*，*MA Wennan*，*TAO Yifen*，*CHEN Yun*，*ZHU RuiYu*，*JIN Jian**
（School of Pharmaceutical Sciences，Jiangnan University，Wuxi 214122，China）

Abstract：To explore the possible sequence and function of internal ribosme entry site（IRES）in flanking sequence of *FOSB*. Using the typical bicistronic reporter system of dual-luciferase，constructing the reporter plasmids containing the 5'UTR of *FOSB* mRNA and then transfecting them into HEK293 cell and 4 strains of cancer cells. Performing the deletion of *FOSB* mRNA 5'UTR and stimulating the Bel-7402 cell with anticancer drug，paclitaxel or cis-platinum. The results showed that the *FOSB* mRNA 5'UTR has IRES activity and the sequences of 160nt between -376 and -217 nt are essential to its IRES function. The *FOSB* IRES activity can be stimulated in Bel-7402 treated with paclitaxel or cis-platinum，especially under the stimulating of paclitaxel. All these findings provide a

收稿日期：2017-01-03
基金项目：国家自然科学基金项目（81101667）。
* **通信作者：**金　坚（1960—），男，博士，教授，博士研究生导师，主要从事药物设计与分子药理学方面的研究。E-mail：jinjian31@126.com
引用本文：马晶，孙柳柳，马文囡，等. 转录因子 *FOSB* mRNA 5′非翻译区内部核糖体进入位点的活性[J]. 食品与生物技术学报，2019，38（07）：41-48.

new thought and direction for the study of *FOSB* in cancer prevention and treatment.

Keywords: *FBJ* murine osteosarcoma viral oncogene homolog B (*FOSB*), internal ribosome entry site(IRES), 5'untranslated region(5'UTR), luciferase

小鼠骨肉瘤病毒癌基因同源物 B（*FBJ* murine osteosarcoma viral oncogene homolog B *FOSB* 或 *FOSB*)是 *Fos* 转录因子家族的一员,与细胞的增殖、分化、转化及肿瘤发生密切相关。*Fos* 家族包括 4 种转录因子:*FOS*、*FOSB*、*FOSL1* 和 *FOSL2*，这些基因能够编码亮氨酸拉链蛋白,与其它蛋白质形成同源或异源二聚体,二聚体与靶基因的碱性激活因子-1(Activatingprotein-1,*AP*-1)结合,以调节靶基因的表达[1]。*FOSB* 基因的蛋白质产物除全长的 *FOSB* 外,还存在一个在 C 端比 *FOSB* 短 101 个氨基酸残基的 Delta *FOSB* 蛋白[2],它是一种 *FOSB* 的较短的剪切形式,但比 *FOSB* 更为稳定,在治疗慢性上瘾症状中扮演着重要的角色[3-6]。而 *FOSB* 基因不仅与药物成瘾相关,也与乳腺癌和卵巢癌的发生有关,在诱导因子的作用下会引起三阴性乳腺癌细胞的死亡[7-9]。最近研究发现,*FOSB* 基因有望成为血管内皮瘤细胞及胃癌细胞的有效生物标记物[10-11],而对 *FOSB* 基因蛋白表达调控机制的研究,很少报道。

真核生物中经典的翻译机制是帽依赖型的翻译起始机制,需要 mRNA 上的帽子结构和真核翻译起始因子来招募核糖体进而起始翻译。然而在病毒中,存在着另一种更为高效的翻译起始机制,即非帽依赖型翻译起始机制，其 mRNA 并没有帽子结构,核糖体的 40S 小亚基直接通过识别 mRNA 序列结构或 mRNA 的 5'非翻译区(5'UTR)起始翻译。其 mRNA 5'UTR 上核糖体能识别的序列称为内部核糖体进入位点((internal ribosme entry site,IRES)[12]。事实上,在真核生物中,也已发现许多转录因子的 mRNA 具有 IRES 活性，而这些转录因子大多与细胞增殖、分化、凋亡以及细胞耐药等有关,如血管内皮生长因子（Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)[13]、NF-κB 抑制因子（NF-κB repressing factor,NRF)[14]、原癌基因 c-myc[15]、DNA 损伤结合蛋白 2(DNA damage-binding protein 2,DDB2)[16]、核糖体结合蛋白 1(Ribosome Binding Protein 1,RRBP1)[17]等。而已发现的 IRES 元件通常 5'UTR 偏长、GC 含量丰富、二级结构复杂。*FOSB* mRNA 5'UTR 符合上述 IRES 的基本特征，作者将 *FOSB* mRNA 5'UTR 的基因序列插入到研究 IRES 活性常用的双荧光素酶报告质粒(pRL-FL)中,检测其是否有 IRES 活性并初步探究其 IRES 的结构与功能。

1 材料与方法

1.1 实验材料

在实验室初期构建并保存真核表达载体即双荧光素酶报告载体 pRL-FL 以及去启动子载体 pRL-FLΔSV40;大肠杆菌 DH5a:天根生化科技有限公司;DNA 限制性内切酶 *Nde* Ⅰ和 *EcoR* Ⅰ:Fermantas 公司;T4 DNA 连接酶和 prime STAR HS DNA 聚合酶:TaKaRa 公司；重组质粒 pRL-*FOSB*-FL:作者构建;重组质粒 pRL-*c-myc*-FL:中美泰和购买,DMEM、RPMI1640 培养基和胎牛血清：美国 Gibco 公司；人胚肾细胞 HEK293、人卵巢癌细胞 A2780/WT、人结肠癌细胞 HCT-8/WT、人肝癌细胞 Bel-7402/WT 及宫颈癌细胞 Hela/WT：均保存于作者所在实验室的液氮罐中;紫杉醇,顺铂药物:Sigma 公司;LipofectamineTM 2000：美国 Invitrogen 公司;双荧光素酶报告基因检测试剂盒(Dual® Luciferase Reporter Assay System):美国 Promega 公司;其他试剂均为分析纯试剂。

1.2 表达载体的构建

FOSB 5' UTR cDNA 序列（NM_001114171)由生工生物工程(上海)有限公司合成,合成序列含有 *Nde* Ⅰ和 *EcoR* Ⅰ酶切位点。*FOSB* 5' UTR 的全长基因序列和实验所需的各截短基因序列均以重组质粒 pRL-*FOSB*-FL 为模板进行扩增,在 SV40 启动子的载 ΔpRL-FL 上插入 *FOSB* 5' UTR 的全长基因序列,构建 ΔpRL-*FOSB*-FL;同时又载体 pRL-FL 上插入各截短片段,构建出的截短片段的重组质粒分别为 pRL-*FOSB*-J1-FL（-376 to -1)、pRL-*FOSB*-J2-FL(-592 to -217)、pRL-*FOSB*-J3-FL(-592 to -377)、pRL-*FOSB*-J4-FL（-188 to -1)、pRL-*FOSB*-J5-FL(-377 to -217)。将各重组质粒转化到感受态大肠杆菌 *Escherichia coli* DH 5a 中,涂板摇菌后,将

菌液送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,质粒截短 PCR 所用引物见表 1,其中下划线是 *Nde* I 和 *EcoR* I 的酶切位点和保护碱基。引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1 构建截短质粒 PCR 所用引物序列

Table 1 Oligonucleotide primers used in PCR for deletion plasmids construct

引物		碱基序列(5'-3')
FOSB-J1	Forward	5'-GGAATTCCATATGGTGGGACCCGCCGGACGCGT GGAGGAGAC-3'
	Reverse	5'-CGGAATTCTTCCCTGGGCACAGGGGGGCCCCTG-3'
FOSB-J2	Forward	5'-GGAATTCCATATGCATTCATAAGACTCAGAGCT ACGGCCACG-3'
	Reverse	5'-CGGAATTCCCAGGCCCCCACAGGATGCCGC-3'
FOSB-J3	Forward	5'-GGAATTCCATATGCATTCATAAGACTCAGAGCT ACGGCCACG-3'
	Reverse	5'-CGGAATTCGGGGGGAGGGGAGTAATAAAGAAGAC-3'
FOSB-J4	Forward	5'-GGAATTCCATATGCCATTGTTGGAACGGGACGTTGC -3'
	Reverse	5'-CGGAATTCTTCCCTGGGCACAGGGGGGCCCCTG-3'
FOSB-J5	Forward	5'-GGAATTCCATATGGTGGGACCCGCCGGACGCGT GGAGGAGAC-3'
	Reverse	5'-CGGAATTCGCCCAGGCCCCCACAGGATGCCGC-3'

1.3 细胞培养与转染

人胚肾细胞 HEK293、人卵巢癌细胞 A2780/WT、人宫颈癌细胞 Hela/WT 培养于 DMEM 完全培养基(加 10%的血清),而肝癌细胞 Bel-7402/WT 和结肠癌细胞 HCT-8/WT 培养于 RPMI 1640 完全培养基(加 10%的血清),待细胞长至 80%~90%时,用胰酶消化传代,待细胞再次长至 80%~90%时,铺细胞于 24 孔板,铺板后第二天加入 100 uL 的 opti-MEM,1 ug 的质粒以及 2 uL 的 LipofectamineTM 2000 混匀,孵育 25 min,加入已换好液的 24 孔板中,培养 18~24 h 后将细胞用 1×PLB(Passive Lysis Buffer)裂解,收于-80 ℃待用。

1.4 双荧光素酶检测活性

在 24 孔板中铺细胞(70%~80%),细胞贴壁后(16~24 h)将质粒转染进细胞中,24 h 后取出 24 孔板,用 PBS 洗两遍,可轻微振荡,并用枪头将残留 PBS 吸干,加 100 uL 1×PLB(Passive Lysis Buffer)到每个孔中去裂解细胞,并在摇床上充分裂解 15 min 后,用枪头吹打板底并收集细胞裂解液,将待检样置于-80 ℃中保存。对双荧光素酶的活性检测时,准备干净的 Corning Costar 96 孔白板,先加入 20 uL 的细胞裂解液,接着将加过裂解液的孔板放在 GloMaxTM_96 孔板发光检测仪上,然后加入 100 uL 的萤火虫荧光素酶底物(LAR Ⅱ),在充分混合后迅速地测定其荧光值,最后加入 100 uL 的反应终止液海肾荧光素酶底物(Stop&Glo® reagent),使之充分混匀后,再测其荧光值。IRES 的活性以萤火虫荧光素酶活性与海肾荧光素酶活性的比值表示(即 Fluc/Rluc)。

1.5 统计学分析方法

本研究所有的数据均用 GraphPad Prism 5.0 软件分析,统计数据采用 SEM 表示,组间比较采用 Student t 检验分析统计学差异。*:P<0.05;**:P<0.005;***:P<0.000 5。

2 结果与分析

2.1 *FOSB* 序列与结构分析

在 NCBI 里搜索 *FOSB* 序列发现,*FOSB* 序列较长(592 bp)(见图 1(a))且 GC 含量偏高(56.5%),在各种族间序列同源性较高达到 55.74%(见图 1(b))。而用 RNA Folding Form 模拟其二级结构(见图 1(c)),可以看出 FOSB 5′UTR 可以形成稳定且复杂的二级茎环结构(ΔG=-202.87 kcal/mole),存在潜在的 IRES 元件。

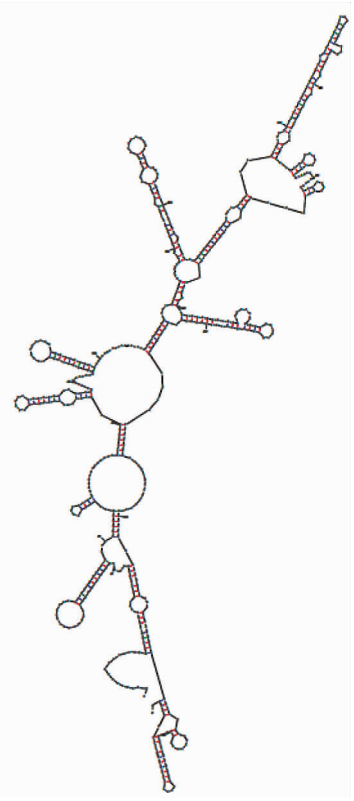
2.2 *FOSB* mRNA 5' UTR IRES 活性初步确定

FOSB mRNA 5'UTR 是否含有 IRES 活性,目前仍要借用工具质粒,而检测 mRNA 是否有 IRES 元件,国际上较为通用的是双顺反子报告载体的方法,由帽依赖型机制来起始载体中的第一个顺反子翻译,在载体上游顺反子的 3' 端和下游顺反子的 5'端间插入有潜力的 IRES 元件,来介导下游顺反子的翻译[18]。而本研究中用到的双荧光素酶报告载



(a)*FOSB* mRNA 5'UTR序列

(b)*FOSB* mRNA 5' UTR不同种间比对



(c)*FOSB* mRNA 5' UTR二级结构

图 1　*FOSB* mRNA 5' UTR 序列与结构分析

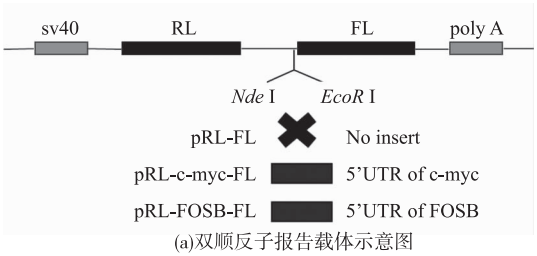
Fig. 1　Sequence and structure analysis of *FOSB* mRNA 5' UTR

体,上游是萤火虫荧光素酶(FL),下游是海肾荧光素酶(RL)。如图 2(a)所示,在 RL 和 FL 之间有许多克隆位点，将基因目的片段克隆到 I 两个酶切位点(*Nde* I 和 *EcoR*)之间,通过两个荧光素酶活性比值的大小，来判断目的基因是否具有 IRES 活性,如 FL 比 RL 的活性较高时,可初步认为该目的基因有潜在的 IRES 元件。作者将 *FOSB* 5' UTR 序列和阳性对照 c-myc 5' UTR 序列分别插入到报告载体 pRL-FL 两个阅读框中间构建目的载体 pRL-*FOSB*-FL、pRL-*c*-*myc*-FL(图 2(b)),其中阳性对照与阴性对照分别是 pRL-*c*-*myc*-FL 与 pRL-FL。然后将这三种质粒分别转染进人胚肾细胞 HEK293 中,收集细胞裂解液,24 h 后,接着通过双荧光素酶分析实验得到 Fluc/Rluc 的值。结果 pRL-*FOSB*-FL 活性远大于阴性质粒(***,P<0.000 5),且与阳性质粒 pRL-*c* -*myc* -FL 活性相似，初步确定 *FOSB* mRNA 5'UTR 中存在假定的 IRES 元件。

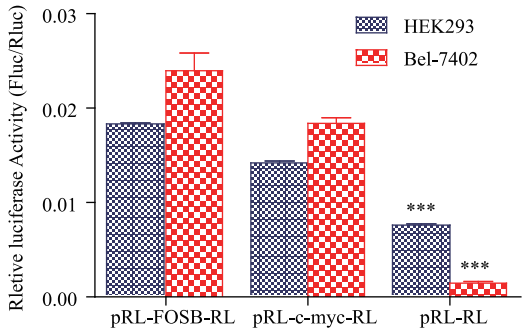
虽然双荧光素酶报告基因检测系统已相对成熟,但如果插入的检测序列中有内部启动子,就会在细胞内形成含有下游萤火虫荧光素酶的单顺反子 mRNA 的存在,从而影响实验结果的判断。为了排除这种潜在的可能性，于是将载体 pRL-FL 中的 SV40 启动子删除,从而得到新的载体 ΔpRL-FL(图 2(c)),接着仍将 *FOSB* mRNA 5' UTR 基因克隆到这个载体的两个酶切位点(*Nde* I 和 *EcoR* I)之间,如 FL 有高表达,则目的基因中有隐含启动子,反之没有内部启动子。将 *FOSB* 克隆到载体△pRL-FL 上得到△pRL-*FOSB*-FL,分别将 pRL-*FOSB*-FL 与△pRL-*FOSB*-FL 瞬转染入人胚肾细胞 HEK293 中,24 h 后收集细胞并充分裂解,通过 1.5 实验步骤可得 Fluc/Rluc 的值。如图 2(d)所示,△pRL-*FOSB*-FL 的 RL 与 FL 值均远小于 pRL-*FOSB*-FL 的值(***,P<0.000 5)，所以 *FOSB* 不含有内部启动子,进一步证明 *FOSB* mRNA 5'UTR 具有 IRES 活性。

2.3　*FOSB* mRNA 5' UTR IRES 活性中心的鉴定

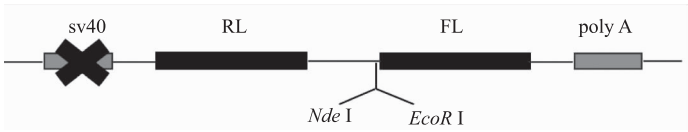
对 FOSB 5' UTR IRES 元件活性中心域的的探究，通过 RNA Folding Form 软件来模拟 *FOSB* mRNA 5'UTR 全长序列的二级结构,并对其二级结



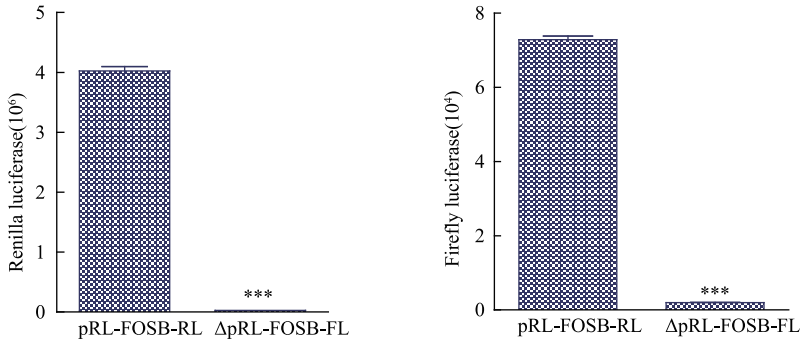
(a)双顺反子报告载体示意图



(b)重组质粒pRL-FOSB-FL、pRL-c-myc-FL及pRL-FL转染细胞的相对荧光活性比



(c)扣除启动子的双顺反子报告载体示意图



(d)重组质粒pRL-FOSB-FL和ΔpRL-FOSB-FL转染细胞的海肾荧光素酶和萤火虫荧光素酶的值

*,p<0.05;**,p<0.005;***,p<0.0005;student t test

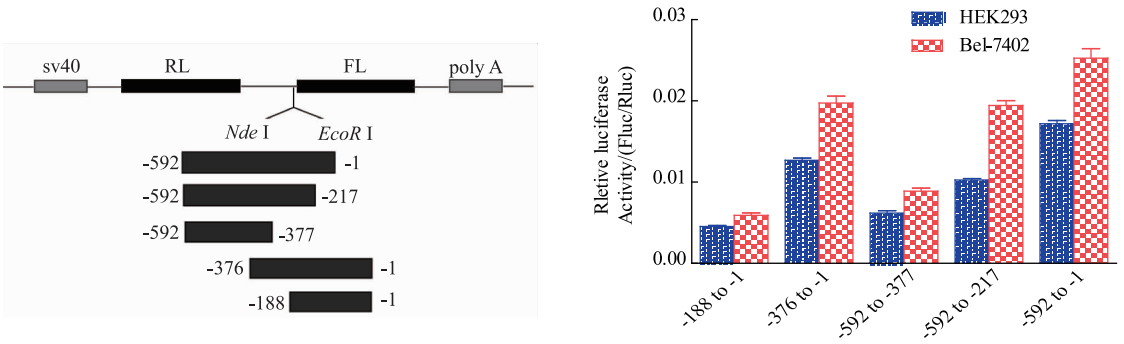
图 2 *FOSB* mRNA 5′ UTR IRES 活性初步确定

Fig. 2 Activity of *FOSB* mRNA 5′ UTR IRES preliminary determined

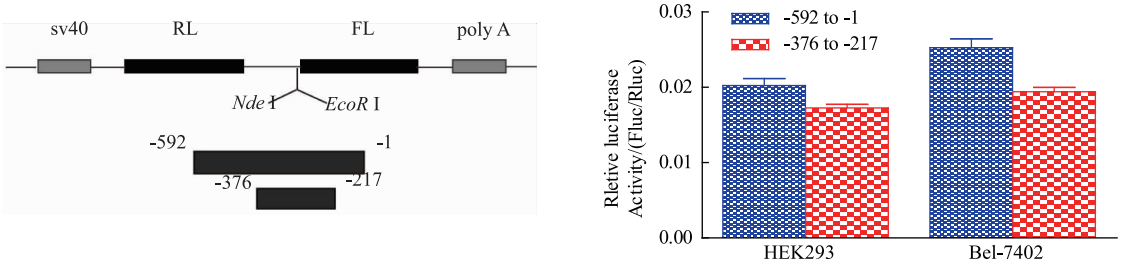
构进行分析，分别构建了 5 个截短质粒:pRL–*FOSB*–J1–FL(–376 to –1)、pRL–*FOSB*–J2–FL(–592 to –217)、pRL–*FOSB*–J3–FL (–592 to –377)、pRL–*FOSB*–J4–FL(–188 to –1)、pRL–FOSB–J5–FL(–377 to –217)。将 pRL–*FOSB*–FL 以及各截短质粒瞬转染入人胚肾细胞 HEK293 与肝癌细胞 Bel–7402 中,24 h 后收集细胞裂解液用于测定 Fluc/Rluc (见图 3(a)),两种细胞的测活结果基本一致。首先从 5'端开始截短，发现–376 至–1 活性仅降为全长活性的 75%左右,说明 5'端可能对其活性贡献较大;继续截短发现在–188 至–1 活性降为全长的21%~30%,猜测可能中间片段对其 IRES 活性贡献更大；为了验证其 3'端的重要性,对 3'端进行截短,发现–592 至–377 活性下降了 75%左右,证明 3'端对其 IRES 活性确实重要,但是截到–217(即–592 至–217)时活性又增加到全长的 60%左右,怀疑其活性中心序列可能是位于中间的–376 至–217,并将该片段插入到双顺反子载体 pRL–FL 中。如图 3(b)所示,截短质粒–376 至–217 与全长活性相比，展现出为全长活性的 70%~85%，从而判断确定其 IRES 活性中心为–376 至–217,即–376 至–217 对最高活性的贡献较大。结果显示 FOSB mRNA 5' 端非翻译区–376 至–217 序列可能是其 IRES 活性重要活性区域,而其两端序列可能抑制其 IRES 的活性。

2.4 FOSB mRNA 5' UTR 在各细胞中的 IRES活性

从上述实验不难发现,*FOSB* mRNA 5' UTR 在 HEK293 细胞与 Bel–7402/WT 细胞中 IRES 活性不同,其中在肝癌细胞 Bel–7402/WT 中活性较高。为了继续探究其 IRES 活性在癌细胞中是否是异常表达，作者将重组质粒 pRL–*FOSB*–FL 转染进另外 3



(a)重组质粒pRL-FOSB-FL和pRL-J1~J4-FL转染细胞的IRES活性



(b)重组质粒pRL-FOSB-FL和pRL-J5-FL转染细胞的IRES活性

图 3　重组质粒 pRL–*FOSB*–FL 及其截短转染细胞的 IRES 的相对活性

Fig. 3　Relative IRES activities of cells transfected with recombinant plasmids pRL–*FOSB*–FL and its deletions

株癌细胞包括人卵巢癌细胞 A2780/WT、人结肠癌细胞 HCT–8/WT、人宫颈癌细胞 Hela[19]。24 h 后收集细胞裂解液，测定萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶的活性并计算其比值(Fluc/Rluc)。如图 4 所示，在不同细胞中 *FOSB* mRNA 5'UTR IRES 活性有着明显的区别，其中与 HEK293 细胞相比，A2780/WT 中的活性较高(***，p<0.000 5)，Hela 与 Bel–7402/WT 细胞的活性也高于 HEK293 细胞(*，p < 0.05；**，p < 0.005)。而大多数文献报道[20]，IRES 的活性与细胞中 IRES 结合蛋白(IRES trans–acting factors，ITAFs)的表达量有密切关系，可能在这些癌细胞中，其 ITAFs 表达量较高，这需要进行进一步的研究。

2.5　*FOSB* mRNA 5' UTR 在细胞压力下的 IRES 活性

将重组质粒 pRL–*FOSB*–FL 转染进肝癌细胞 Bel–7402/WT 中 24 h 以后，分别用药物紫杉醇(PTX)和顺铂(DDP)处理细胞，PTX 的使用质量浓度分别为 0、0.25、0.5 ug/mL，DDP 的使用质量浓度为 0、0.5、1 ug/ml)，加药培养 18 h，在两种药物中，随着药物质量浓度的增加，其 IRES 活性均呈现逐渐上升的趋势，见图 5。说明 IRES 作为一种应激翻译起始机制，在药物刺激下 *FOSB* IRES 活性会增加，另外在紫杉醇刺激下比顺铂更为明显（*，p< 0.05；**，p<0.005)，可能与药物不同的作用机制相关。

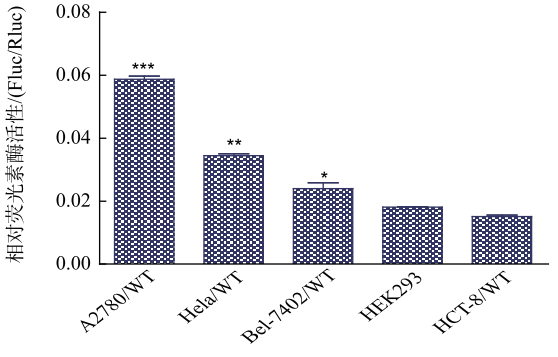
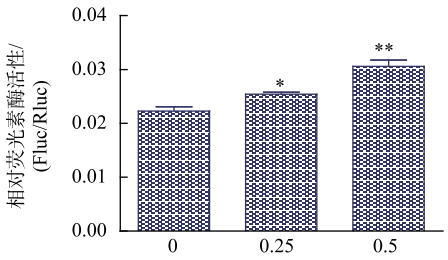
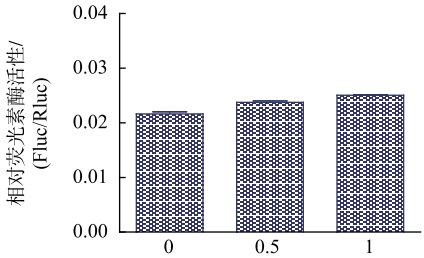


图 4　重组质粒 pRL–FOSB –FL 转染各个细胞的荧光素酶的相对活性

Fig. 4　Rletive luciferase activity of pRL–FOSB –FL in various cell lines. (*，p <0.05；，p <0.005；***，p < 0.000 5；student t test). The expression data are presented as the mean + SEM of triplicate samples**



(a)在紫杉醇作用下，*FOSB* IRES活性的变化



(b)在顺铂作用下，*FOSB* IRES活性的变化

图 5 细胞压力条件对 Bel–7402 细胞中 *FOSB* IRES 活性的影响

Fig. 5 *FOSB* IRES activity in Bel –7402 cells during different cell stress (*, $p<0.05$; **, $p<0.005$; ***, $p<0.000\ 5$; student t test). The expression data are presented as the mean + SEM of triplicate samples

3 结 语

在真核生物内环境稳定状态下大多以帽依赖型机制进行翻译，而真核细胞处于细胞压力条件(低氧、饥饿、药物刺激)，此时细胞的生长、分化及凋亡会使细胞的稳态迅速打乱。这时帽依赖的翻译效率会降低，而此时 IRES 介导的翻译却会增加，进而使细胞继续维持稳态环境。*FOSB* 作为立早基因中的一员，在多种刺激后会立即表达，从而产生不同的转录因子，进而调控其他基因的转录与表达来维持细胞的生长、发育和分化[21]。最新的报道显示，*FOSB* 基因在抗癌药物的刺激下在细胞增殖速率增加[22]，故作者在研究 *FOSB* mRNA 5′ UTR 活性的同时，对其进行加药刺激，发现其不仅具有 IRES 活性，并且其在抗癌药物(紫杉醇和顺铂)刺激下 IRES 活性增加，这或许与 IRES 是一种应激翻译机制，能够维持 IRES 在细胞压力条件下的基本表达密切相关。另外 *FOSB/ΔFOSB* 作为慢性成瘾的关键分子转换机制，在成瘾药物慢性刺激后出现累积现象，并表现出独特的高度稳定性[23]，这暗示着 *FOSB* mRNA 5′ UTR 的 IRES 活性可能与其在药物刺激下的稳定表达有关。

据文献报道，具有 IRES 活性的 RNA 有以下特征：1)富含 GC 碱基；2)较长的 5′ UTR；3)二级结构较复杂。决定 IRES 功能的因素是 IRES 元件的序列结构以及其反式作用因子(ITAFs)，故 IRES 元件研究的热门总是去寻找其序列结构抑或者机制上的共性。而作者通过截短分析发现了 *FOSB* mRNA 5′ UTR IRES 活性中心位于其 5′UTR 的–376 至–217 之间，并通过将该片段连接到双顺反子载体再次验证–376 至–217 的 IRES 活性。相较于国内外已报道的细胞内的 IRES 元件，*FOSB* IRES 元件在序列与结构上相似度均不高，但是通过在 NCBI 里面进行序列搜索，并在 DNAMAN 中对其物种间同源性进行比对，发现种族间相似性达 55%以上，其同源性位置包括其活性中心，IRES 的活性序列位于FOS 基因种族保守序列中，这间接说明了 *FOSB* IRES 序列的保守性，暗示 IRES 元件在 Fos 家族中具有相对稳定性。

FOSB/Delta FOSB 与药物成瘾的机制研究较多，而其与肿瘤形成的机制鲜少提到，其实 *FOSB* 与乳腺癌和卵巢癌的形成密切相关，而目前的研究显示，在 *FOSB* 基因在乳腺癌、卵巢癌、胃癌及肺癌等多种癌细胞中发挥重要的作用，这或使 *FOSB* 基因成为某些肿瘤的诊断标志物，用于肿瘤的预防。而本研究中选用不同的癌细胞测其 IRES 活性，发现 *FOSB* IRES 活性在不同的癌细胞中明显不同，在卵巢癌细胞中活性较高，这为其成为肿瘤诊断标志物提供了另一种思路。

参考文献：

[1] HERDEGEN T, LEAH J D. Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins[J]. **Brain Research Brain Research Reviews**, 1998, 28(3): 370-490.

[2] KELZ M B, NESTLER E J. deltaFosB: a molecular switch underlying long-term neural plasticity[J]. **Current Opinion in Neurology**, 2000, 13(13): 715-720.

[3] ROBISON A J,NESTLER E J. Transcriptional and epigenetic mechanisms of addiction[J]. **Nature Reviews Neuroscience**,2011,12(11):623-637.

[4] LAFRAGETTE A,BARDO M T,LARDEUX V,et al. Reduction of cocaine-induced locomotor effects by enriched environment is associated with cell-specific accumulation of ΔFosB in striatal and cortical subregions[J]. **International Journal of Neuropsychopharmacology**,2017,20(3):237-246.

[5] NESTLER E J,BARROT M,SELF D W. DeltaFosB:a sustained molecular switch for addiction[J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**,2001,98(20):11042-11046.

[6] STEINER H,VAN W V. Addiction-related gene regulation:risks of exposure to cognitive enhancers vs. other psychostimulants [J]. **Progress in Neurobiology**,2013,100(1):60-80.

[7] KATAOKA F,TSUDA H,ARAO T,et al. EGRI and FOSB gene expressions in cancer stroma are independent prognostic indicators for epithelial ovarian cancer receiving standard therapy[J]. **Genes Chromosomes & Cancer**,2012,51(3):300-312.

[8] MILDE-LANGOSCH K. The Fos family of transcription factors and their role in tumourigenesis [J]. **European Journal of Cancer**,2005,41(16):2449-2461.

[9] TING C H,CHEN Y C,WU C J,et al. Targeting FOSB with a cationic antimicrobial peptide,TP4,for treatment of triple-negative breast cancer[J]. **Oncotarget**,2016,7(26):40329-40347.

[10] HUNG Y P,FLETCHER C D M,HORNICK J L. FOSB is a useful diagnostic marker for pseudomyogenic hemangioendothelioma[J]. **American Journal of Surgical Pathology**,2017,41(5):596-606.

[11] TANG C,JIANG Y,SHAO W,et al. Abnormal expression of FOSB correlates with tumor progression and poor survival in patients with gastric cancer[J]. **International Journal of Oncology**,2016,49(4).

[12] SHATSKY I N,DMITRIEV S E,TERENIN I M,et al. Cap- and IRES-independent scanning mechanism of translation initiation as an alternative to the concept of cellular IRESs[J]. **Molecules and Cells**,2010,30(4):285-293.

[13] HUEZ I,CRÉANCIER L,AUDIGIER S,et al. Two independent internal ribosome entry sites are involved in translation initiation of vascular endothelial growth factor mRNA[J]. **Molecular & Cellular Biology**,1998 ,18(11):6178-6190.

[14] OUMARD A,HENNECKE M,HAUSER H,et al. Translation of NRF mRNA is mediated by highly efficient internal ribosome entry[J]. **Molecular and Cellular Biology**,2000,20(8):2755-2759.

[15] COBBOLD L C,WILSON L A,SAWICKA K,et al. Upregulated c-myc expression in multiple myeloma by internal ribosome entry results from increased interactions with and expression of PTB-1 and YB-1[J]. **Oncogene**,2010,29(19):2884-2891.

[16] DAI W,MA W,LI Q,et al. The 5'-UTR of DDB2 harbors an IRES element and upregulates translation during stress conditions[J]. **Gene**,2015,573(1):57-63.

[17] GAO W,LI Q,ZHU R,et al. La Autoantigen induces ribosome binding protein 1 (RRBP1) expression through internal ribosome entry site(IRES)-mediated translation during cellular stress condition[J]. **International Journal of Molecular Sciences**,2016,17(7):1174-1190.

[18] HELLEN C U T,SARNOW P. Internal ribosome entry sites in eukaryotic mRNA molecules[J]. **Genes & Development**,2001,15(13):1593-1612.

[19] HOU Ying,CHU Min,CAI YanFei,et al. Reconbination of human integrin domain ADAM15 inhibits the proliferation and migration of HeLa cells[J]. **Chinese journal of Biochemistry and Molecular Biology**,2014,33(11):1142-1147.(in Chinese)

[20] MARTINEZ-SALAS E,LOZANO G,FERNANDEZ-CHAMORRO J,et al. RNA-binding proteins impacting on internal initiation of translation[J]. **International Journal of Molecular Sciences**,2013,14(11):21705-21726.

[21] MILDELANGOSCH K. The fos family of transcription factors and their role in tumourigenesis[J]. **European Journal of Cancer**,2005,41(16):2449-2461.

[22] NA H H,HEE-JUNG N,HYANG-MIN C,et al. SETDB1 mediated FosB expression increases the cell proliferation rate during anticancer drug therapy[J]. **Bmb Reports**,2016,49(4):238-243.