

ATF2 전사인자의 발현과 AP-1 전사인자인 BATF, c-Fos, c-Jun과의 이량체 형성

장혜영* · 김재호¹

고신대학교 생명과학과, ¹경성대학교 생물학과

Received October 7, 2005 / Accepted November 29, 2005

Expression of ATF2 Transcription Factor and the Interaction with AP-1 Factors : BATF, c-Fos, c-Jun. Hye-Young Jang* and Jae-Ho Kim¹. Department of Biological Sciences, Kosin University, Busan 606-080, Korea, ¹Department of Biology, Kyungsung University, Busan, 608-736, Korea – ATF2 is a cellular transcription factor which belongs to the CREB/ATF class and it is leucine zipper protein which generally binds to DNA as dimers. This paper presents the procedure for subcloning the ATF2 gene and the results of experiment used the expressed ATF2. The pET expression vector was used since it produced 6xHis fusion protein for easy purification using affinity column. The Nickel chelating chromatography was used for purifying the expressed ATF2 from *E. coli* BL21. Subsequently *In vitro* binding pull-down assay showed the binding specificity of ATF2 with AP-1 family factors such as BATF, c-Fos, c-Jun and ATF2 itself. ATF2 forms homodimer as well as strong heterodimer with BATF. It also forms stable dimer with c-Jun but barely binds with c-Fos.

Key words – ATF2 expression, transcription factor, AP-1.

원핵세포와 진핵세포의 전사에 있어서 가장 큰 차이는 진핵세포 전사의 경우에서 볼 수 있는 다양한 단백질의 연합이다. 그 자체는 RNA 중합효소의 단위가 아니면서 전사를 조절하는 단백질을 전사인자라고 하며 진핵세포에서는 약 300여종의 많은 전사인자들이 밝혀져 있다(3,5,19). 전사인자들은 대체로 두 가지의 기능적 영역을 갖고 있으며 그 하나는 DNA와의 결합을 위한 영역이고 다른 하나는 전사의 활성화를 위한 영역이다(22). 전사인자와 같은 DNA 결합단백질은 Helix-turn-helix (HTH), Zinc fingers, 그리고 Basic region-leucine zipper (bZIP)의 3가지 중 어느 하나에 속하는 domain을 가진다(16,17). 이러한 domain들은 DNA와 상호작용을 하며 보통의 경우는 major groove과 함께 결합하나 간혹은 minor groove과 함께 작용하기도 한다(12).

대부분의 proto-oncogene의 산물들은 핵 내 신호전달인자로서의 역할을 하며 이들은 몇 분간의 일차적인 자극에 의해 나타나는 단기간의 신호를, 수 시간에서 여러 날에 걸쳐 나타나는 장기간의 세포반응으로 전환시키기 위해 작용한다(4,10). 최근 c-Fos와 c-Jun과 같은 몇몇 proto-oncogene산물은 전사인자임이 밝혀졌으며(23) 이들은 bZIP 단백질이다(12). bZIP 단백질은 일곱 번째 아미노산마다 루신을 포함하며 이것이 4-5번 정도 반복하여 있고 염기성 아미노산들이 루신 ZIP 앞에 존재하기 때문에 붙여진 이름이다. bZIP 단백질은 루신 부위의 소수성상호작용으로 이량체를 만들어 동형이합체(homodimer)나 이형이합체(heterodimer)를 형성하고 이때 염기성면을 DNA의 groove에 제공하여 결합한다(12,21).

단백질 이량체는 전사 조절에 있어서 중요한 역할을 하며 이것은 복합체의 다양한 조합으로 가능해진다. 즉 이량체(dimer)는 어떤 조합을 이루어 어떤 target gene에 결합하느냐에 따라 세포 유전자의 전사가 촉진되기도 하고 전사가 억제되기도 한다(6,9). 이와 같은 유전자 발현의 조절은 특정 염기서열을 인식하는 전사인자들이 DNA 염기서열을 인식하여 결합함으로써 진행된다(20). 이들이 결합하는 두 가지 주요한 부위는 AP-1/TRE 서열(2)과 ATF/CRE 서열 부위이다(14,15). AP-1/TRE서열(TGACTCA)는 원래 Activator Protein 1 결합부위 혹은 phorbol 12-O-tetradecanoate 13-acetate (TPA) responsive element (TRE)에서 유래했으며 c-fos와 c-jun 유전자 산물이 포함된 인자들에 의해서 인식된다. 한편 ATF/CRE 서열(TGACGTCA)는 activating transcription factor (ATF) 결합부위 혹은 cAMP responsive element (CRE)에서 유래했으며 ATF 혹은 CRE 결합 단백질(CREB)들에 의해서 인식된다(25). ATF2는 bZIP 단백질로서 세포의 stress에 대한 반응을 조절한다(7,11,24). ATF2는 동형이합체를 형성하는 것은 물론이며 다른 bZIP 단백질들과 선택적으로 이형이합체를 이루므로서 특정한 DNA서열에 결합하여 해당 유전자의 발현을 촉진한다고 알려져 있다(18).

전사인자들은 구성하는 이량체(dimer)조합과 target gene에 결합할 수 있는 안정성에 따라 세포 유전자의 전사를 촉진시키기도 하고 혹은 억제시키기도 한다. 본 연구에서는 ATF2의 세포내 stress에 대한 반응 조절의 기작을 이해하기 위하여 ATF2의 Jun, Fos, BATF등 AP-1 family에 속하는 전사인자들과의 선택적인 dimer형성을 조사하고 이들의 결합능력을 pull-down binding assay를 통하여 확인하였다. 사용한 ATF2는 cDNA를 His tag expression cloning vector(26)

*Corresponding author

Tel : +82-51-990-2324, Fax : +82-51-911-2514

E-mail : hyjang@kosin.ac.kr

를 이용하여 발현시켰으며 발현된 His tag sequence는 Ni-NTA (nickel containing nitrilotriacetic acid)를 이용하는 nikkel-chelate system(1)의 사용으로 효과적인 분리를 가능하게 하였다.

실험재료 및 방법

균주 및 실험재료

제한효소 및 DNA 수식효소들은 New England Biolabs에서, QIAEXII는 QIAGEN에서, standard high molecular marker (λ Hind III)와 low molecular marker (ϕ X 174 Hae III), prestained SDS standard molecular marker는 Bio-rad에서 구입하였다. Plasmid pET-30a(+)His tag expression vector는 Novagen에서 E. coli DH5와 BL21은 Invitrogen으로부터 구입 하였다. Plasmid pcDNA3.1-ATF2, pEM/c-Jun, pEM/c-Fos, pEM/BATF와 전사인자 단백질 c-Jun, c-Fos 그리고 BATF는 Dr. E. J. Taparowsky (Purdue University, IN)로부터 제공 받았다. 6xHis 융합 단백질의 분리는 QIAexpress Ni-NTA Protein Purification System (QIAGEN)을 사용하였고, *In vitro* transcription/translation reactions은 TNT Quick Coupled Transcription/Translation System (Promega)을 사용하였다. ³⁵S-methionine (1175 Ci/mM)은 ICN (Irvine, CA)에서 구입하였다.

재조합 plasmid 제조 및 transformation

Plasmid의 재조합과정에서 DNA단편의 추출은 QIAEX II Agarose gel extraction procedure를 사용 하였다. Bead와 결합 한 DNA는 건조시킨 후 Tris-Cl (10 mM, pH 8.5)를 첨가하여 원심분리 하였다.

DNA 단편들의 연결은 0.5 mM의 ATP를 포함한 T4 DNA 연결효소(5 unit)를 이용하여 실온에서 30분간 동안 진행되었다. 이때 pet-30a(+)His는 20 ng/ μ l의 농도로, pcDNA3.1-ATF2에서 분리된 단편은 26 ng/ μ l의 농도로 사용되었다. 연결혼합액은 competent E. coli DH 5를 transformation하는데 사용되었다. 형질전환주는 Maniatis *et al* (13)의 방법에 따라 침전시킨(4,000 rpm, 5분) E. coli배양액을 5%의 DMSO를 포함한 TSB에 녹여 얼음 위에 두어 DNA를 수용할 수 있는 competent cell로 만들어 사용하였다. 0.1 ml의 competent cell 수용액에 1 μ l (10 ng)의 DNA를 첨가하여 계속 얼음 안에 15분간 방치한 후 42°C에서 1분간 heat shock을 주었다. Heat shock후 신속하게 얼음 안에 2분간 더 방치한 후 LB broth/kanamycin medium을 넣어 37°C에서 45분간 배양 하였다. 계속하여 형질전환된 E. coli DH5 cell의 선별을 위해 LB/kanamycin plate에서 24시간 배양되었다. 형질전환된 E. coli로부터 plasmid를 분리한 후 HindIII 절단을 통하여 ATF-2 gene의 삽입방향이 확인되었다. 재조합 plasmid로부터

터 6xHis를 가진 ATF2 fusion 단백질의 발현을 위해서는 옳은 방향으로 확인된 plasmid 2 μ l (20 ng)로서 E. coli BL21 (DE3) cell을 다시 위의 방법으로 transformation 시켰다.

ATF2 expression and Purification

6xHis로 융합된 ATF2의 발현과 분리는 IMAC (immobilized metal affinity chromatography)에 바탕을 둔 QIAexpress Ni-NTA Protein Purification System (QIAGEN, Valencia, CA)을 사용하였다. 먼저 LB/kanamycin plate로서 pET30/His-ATF2로 transformation된 E. coli BL21 (DE3)을 선택하여 5 ml LB/kanamycin 배양액으로 하룻밤 전배양 한다. 본 배양은 50 ml LB / 5 ul of kanamycin (30 mg/ml)액체배지에서 이루어지며 37°C, shaker에서 2시간 배양 후 ATF2의 발현을 위하여 30 μ l의 1M IPTG를 첨가하고 30분간 배양을 계속한다. 단백질 발현이 유도된 cell을 원심분리(5,000 rpm, 15 min, 4°C) 후 2 ml의 His lysis buffer (8 M urea, 0.02M sodium phosphate, 0.5 M NaCl pH 7.4)로 resuspend 한 후 sonication (5 \times 20 sec) 했다. 처리된 용액은 원심분리(5,000 rpm, 10min, 4°C) 후 상등액에 His lysis buffer로 씻은 Ni-NTA(nickel containing nitrilotriacetic acid) agarose beads, 200 ul를 넣어 4°C에서 90분간 반응 시켰다. 이 nikkel-chelate chromatography (Fig. 1) 과정에서 polyhistidine (6xHis) 융합 단백질은 nitrilotriacetic acid에 결합된 nickel ion에 흡착된다. 결합 반응 후 His lysis buffer로서 bead를 vortex하여 5회 이상 세척한 후 100 ul의 binding buffer를 첨가하여 -70°C에 저장한다. 결합단백질의 유무는 10 μ l의 beads solution을 취하여 SDS sample buffer를 넣고 95°C에서 5분간 boiling 한 후 SDS-PAGE로 전기영동하여 확인한다. ATF2의 회수를 위해서는 100 μ l의 저장된(-70°C) His-ATF2/Ni-NTAagarose beads 를 20 μ l의 bacterial protease inhibitor를 포함하고 있는 1 ml의 TBS로써 5회 세척한다. 세척 후 1 M의 imidazole을 포함한 100 μ l의 TBS로 흡착된 ATF2를 용출한다. 용출 후 TBS는 2분간 얼음위에 두었다가 상등액을 취하며 같은 과정을 반복하여 합한 ATF2 수용액은 pull-down protein binding assay등에 사용하였다.

In Vitro transcription/translation

전사인자들의 binding assay에 필요한 방사능 표식 단백질의 합성을 위한 *In vitro* transcription/translation reactions는 TNT quick-coupled *in vitro* transcription/translation system (Promega)을 사용하였다. 각 단백질의 coding sequences를 포함한 plasmid에 맞추어 ATF2의 합성에는 T7 polymerase, c-Fos와 c-Jun의 합성은 T3 polymerase, BATF의 합성에는 SP6 polymerase 등을 사용 하였다. 각각의 단백질 합성을 위해서 1 ug의 DNA를 20 ul의 reaction mixture에 넣고 ³⁵S-methionine (1175 Ci/mM)(ICN, Irvine, CA)의

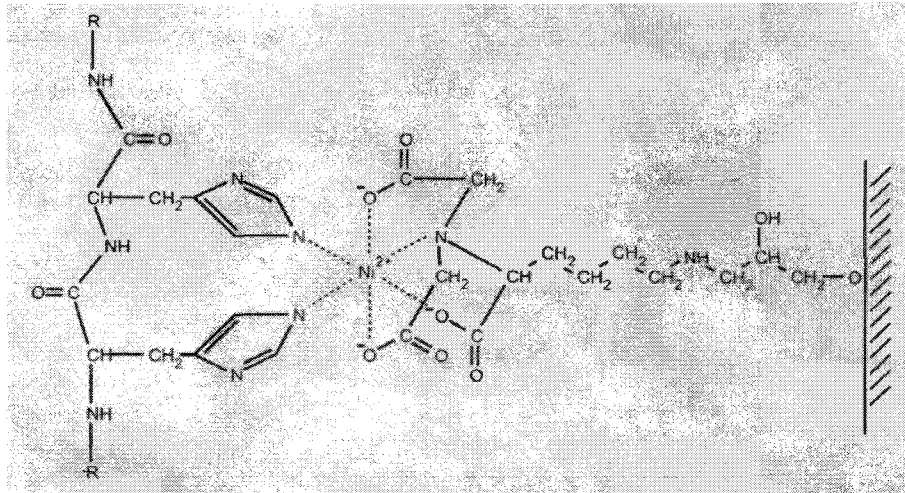


Fig. 1. Nickel chelating chromatography. Nitrilotriacetic acid matrices can bind 6xHis-tagged proteins more tightly than IDA (Iminodiacetic acid) matrices, allowing the purification of proteins.

존재 하에 30°C로 60분간 incubation 하였다.

Pull-down binding assay

0.1%의 protease inhibitor가 첨가되어진 500 µl의 RIPA (radioimmunoprecipitation assay) buffer에 10 µl의 *in vitro* transcription/translation 반응액과 1 µg의 His-ATF2/Ni-NTA agarose beads를 함께 넣고 4°C에서 90분간 incubation 하였다. RIPA buffer는 150 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4, 1% sodium deoxy cholate, 1% Triton X-100, 0.1% SDS로 이루어져 단백질의 비특이적 결합을 방지한다. 반응 후 결합되지 않은 단백질은 500 µl의 RIPA buffer로 5회 이상 세척되어 제거되며 agarose beads에 결합된 단백질은 15 µl의 1.5 X SDS sample buffer로 5분간 boiling 함으로서 elute된다. 결합된 단백질들은 12.5% SDS-PAGE후 autoradiography에 의하여 확인된다.

결과 및 고찰

재조합 Plasmid 의 구축

ATF2의 발현을 위한 재조합 plasmid는 pET 시스템을 사용하였다(Fig. 2). pET는 cloning/expression 부위가 T7 promoter 다음에 있기 때문에 *E.coli*의 RNA polymerase에 의해서 인식되지 않는다. 따라서 cloning과정에서 안정될 뿐만 아니라 T7 RNA polymerase gene을 갖는 BL21과 같은 선별된 host에서만 발현되는 이점이 있다. ATF2 coding sequences는 pcDNA3.1(-)Myc-His에 포함된 것을 subcloning하였으며 이것은 처음에 pCMV-ATF2 (T. Hai, Ohio State University, Columbus, OH)에 포함되어 있던 것이다.

Expression vector인 pET30(+)-His6x는 BamHI으로(37°C, 1

시간) 절단된 다음 계속하여 CIP (Calf Intestine Phosphatase) 로서 처리되었다. 5.4 kb의 직선상의 pET30(+)-His6x는 1% agarose gel에서 전기영동 후 QIAEX II Agarose gel extraction procedure로서 추출하여 사용 하였다. 한편 ATF2 전사인자 gene의 coding sequences를 포함하는 pcDNA3.1-ATF2는 6.9 kb로서 ATF2 cDNA 1.4 kb를 MCS에 포함하고 있다. pcDNA3.1-ATF2도 BamHI으로 처리 (37°C, 1시간) 되었으며 1.0 % agarose gel로 전기영동을 하여 5.5 kb와 1.4kb의 두 band를 확인 하였다. 그중 1.4 kb 크기의 fragment만 위에서 기술한 QIAEX II Agarose Gel Extraction protocol로서 추출 되었다. 계속하여 정제된 vector와 insert의 ligation mixture로서 *E.coli* DH5을 transformation 시켰다.

삽입방향의 확인

형질전환된 *E.coli* DH5 cell은 LB/kanamycin plate에서 24시간 배양되어 선별 되었다. LB/kanamycin배지에서 자라는 형질전환주는 재조합 plasmid를 갖는 모든 colony를 포함한다. 그러므로 형질전환주 중에서 insert인 ATF2 gene의 삽입방향이 발현이 가능한 right orientation colony만을 선별해야하며 이를 위하여 제한효소 절편을 이용한 확인이 필요하다. Fig. 3은 LB/kanamycin plate에서 선택된 colony에서 mini prep을 통하여 얻은 DNA에 Hind III를 처리한 결과이다. 1.4 kb의 insert는 Hind III에 의하여 0.4 kb와 1.0 kb로 나누어지며 pET30(+)-His6x의 MCS에 있는 HindIII와 연계하여 절단하였을 때 형성되는 단편은 insert의 삽입된 방향에 따라 6.4 kb와 0.4 kb로 나타나거나 아니면 5.8 kb와 1.0 kb로 나타나게 된다. Fig. 3의 lane 2, 6, 7은 전자의 경우이며 lane 3, 4, 5는 후자의 경우이다. Expression vector pET30에서 T7 promoter를 이용하여 6xHis로 융합된 ATF2의 발현을 위한

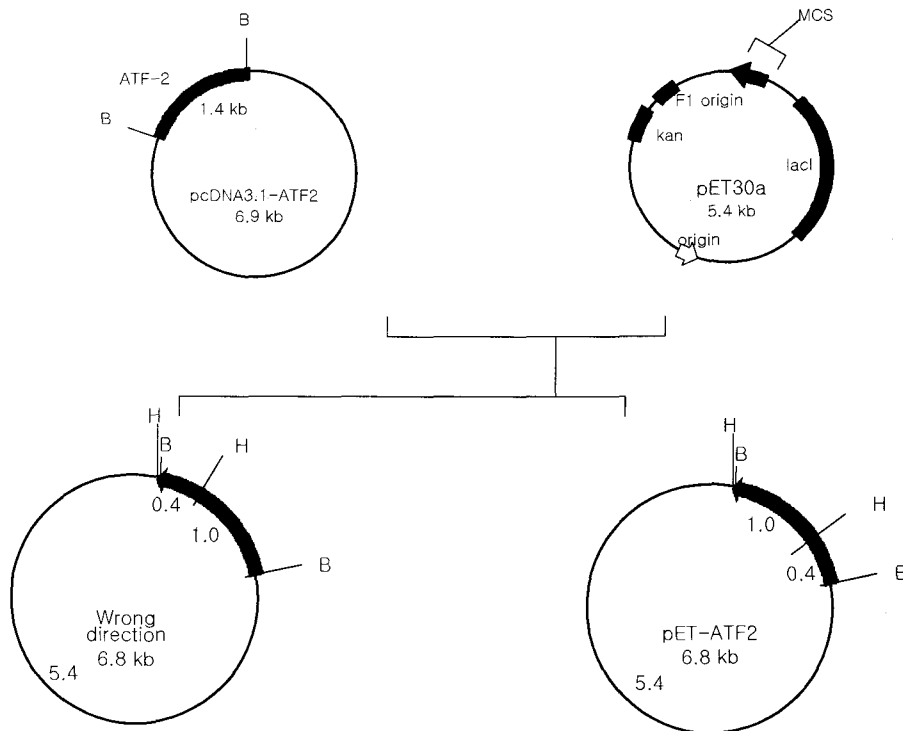


Fig. 2. Schematic diagram of recombinant plasmid, pET-ATF2. The pet 30(a) expression vector carry an N-terminal His-Tag and the cloning/expression region of coding strand is transcribed by T7 RNA polymerase.

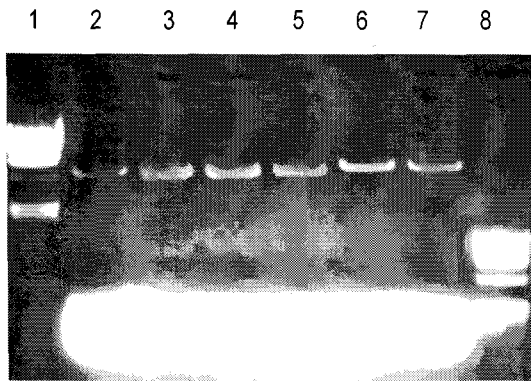


Fig. 3. *Hind* III digestion results of the recombinants containing ATF2 gene. Among the clones which contain the 1.4 kb ATF2 gene, the clones which has the correctly oriented insert showed 5.8 kb and 1.0 kb DNA fragments produced by digestion with *Hind* III restriction enzyme (lane 3, 4, 5) whereas the clone which has the incorrectly oriented insert showed 6.4 kb and 0.4 kb fragment (lane 2, 6, 7), respectively. The bands of 1.0 kb fragment of lane 3, 4, 5 were so faint that barely recognized but enough to confirm the size by comparison with $\phi\chi$ 174 / *Hae* III marker of lane 8. Otherwise the bands of 0.4 kb of lane 2, 6, 7 were migrated with the residual RNA contaminator. lane 1; standard high molecular marker(λ / *Hind* III), lane 8; low molecular marker ($\phi\chi$ 174 / *Hae* III).

right orientation의 경우는 lane 3, 4, 5의 경우로서 *E.coli* BL21의 형질전환을 위하여 선택되었다. 선택된 colony의 right orientation의 확인은 발현되기 전이라도 sequencing으로 가능하다. 100 μ l cell solution으로 Purdue Genomics Core Facility (WSLR-West Lafayette, IN, <http://www.genomics.purdue.edu>)에서 확인한 결과 ATF2 유전자임이 확인되었으며 deduced된 amino acid sequencing 결과는 His 6 tag를 가진 정확한 방향성의 ATF2 fusion 단백질임이 증명되었다. 계속된 ATF2의 expression은 correct orientation이 확인된 clone의 mini prep을 통하여 얻은 DNA로서 transform시킨 *E. coli* BL21 (DE3)에서 수행되었다.

ATF2 발현과 정제

ATF2의 발현은 *E. coli* BL21 (DE3)에서 이루어졌으며 발현된 융합단백질의 분리는 Ni-NTA Protein Purification System으로 수행되었다. *E. coli* BL21 (DE3)는 lambda DE3 lysogen으로서 *lacUV5* promoter하에 T7 RNA polymerase gene을 포함하고 있으므로 pET나 pRSET을 이용하여 bacteriophage T7 promoter하에 clone된 gene의 발현에 효과적이다. Sequencing으로 correct insertion을 갖는 것으로 확인된 *E.coli* DH5는 LB/Kanamycin medium에서 배양되었으며 여기에서 추출된 plasmid는 다시 *E. coli* BL21(DE3)을 transformation 시키는데 사용되었다. LB/kanamycin plate

에서 선택된 colony는 앞에서 기술한 방법에 따라 5 ml의 overnight 전배양을 거쳐 50 ml LB/kanamycin에서 2시간 배양된 후 IPTG로 유도되었다. pET vector는 *lacI* gene을 포함하고 있지만 IPTG에 의하여 repressor는 제거되고 clone된 단백질의 발현은 유도된다. 발현된 ATF2는 N-terminal에 6개의 연속적인 histidine을 갖게 되므로 nitrilotriacetic acid에 결합된 nickel ion에 흡착되어 분리된다. Fig. 4의 lane 5는 이와 같은 과정을 거친 His6x-ATF2/Ni-NTA agarose beads에 imidazole을 처리하여 흡착된 단백질을 분리한 후 SDS (95°C, 5 min)로 denature시켜 12.5% PAGE로 전기영동한 것이다. 발현된 ATF2는 89 kDa의 serum albumin보다 약간 빨리 이동함으로써 예상되는 크기(80-85 kDa)와 일치한다. control로서 사용한 BATF, c-Jun, c-Fos등도 각각 31 kDa, 36 kDa, 53 kDa의 예상되는 위치에 있다.

AP-1 전사인자들과의 결합

bZIP 단백질은 루신 지퍼부위를 이용하여 동형이량체는 물론이며 다양한 조합의 이형이량체를 형성할 수 있다. ATF2의 AP-1 전사인자와의 결합은 실험방법에서 설명한 pull-down assay 절차에 따라 transcription/translation 반응액과 His-ATF2/Ni-NTA agarose beads를 사용하였다. ³⁵S methionine으로 표식된 ATF2를 비롯한 AP-1 family의 BATF, c-Fos, c-Jun은 제각각 6XHis-ATF2와 혼합되어 pull-down되었으며 이때 사용된 방사능 표식 단백질의 1/10이 전기영동의 대조군으로 함께 사용 되었다(Fig. 5, lane 1-4). Fig. 5는 ATF2의

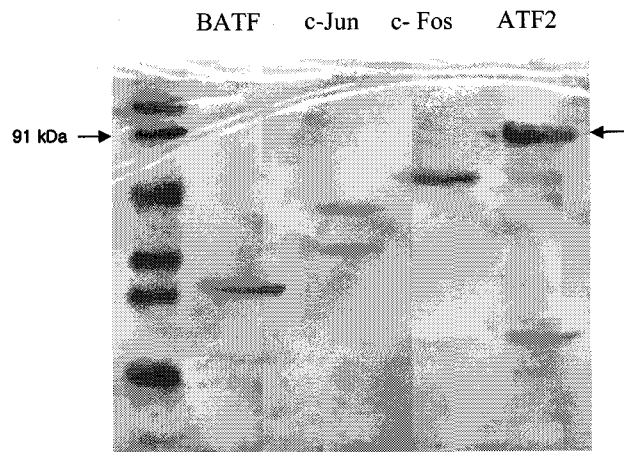


Fig. 4. Expression of ATF2. The transformed cells were sonicated and 10 µl solution of the 6xHis ATF2 fusion protein bound to nickel agarose beads were boiled at 95°C for 5 min in the presence of SDS sample loading buffer. The expression of ATF2 was confirmed by SDS 12.5% PAGE electrophoresis. M; Molecular marker (Bio-Rad prestained SDS-PAGE standards, Low range (cat 161- 0305). lane 1; BATF, lane 2; c-Jun, lane 3; c-Fos, lane 4; ATF2.

다른 전사인자들과의 다양한 결합양상을 보여주고 있다. lane 8은 bZIP 단백질로서 예상되는 homodimer의 형성을 보여주며 다른 인자와의 heterodimer의 형성은 BATF와의 사이에 가장 명백하다(lane 5). Jun과의 결합은 명백하지만

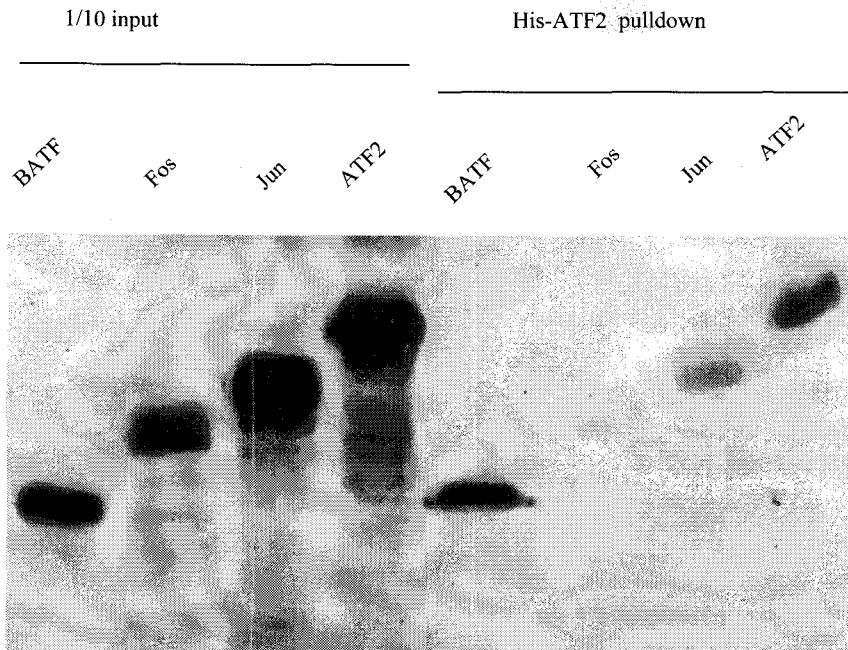


Fig. 5. Pull down assay between ATF2 and AP-1 factors. The 6XHis-ATF2 fusion protein bound to nickel agarose beads was incubated with *in vitro* synthesized, [³⁵S]-labeled c-Fos, c-Jun, BATF, or ATF2. 1/10 volume of each labeled protein was used as a control.

동형조합에서의 결합력보다 약한 것을 알 수 있다(lane 7). 그러나 lane 6은 예상부위에 약간의 흔적만 보임으로서 c-Fos와는 안정된 결합을 이루지 못하고 있음을 알 수 있다. 이와 같은 다양한 결합력의 차이는 같은 종류의 다른 인자사이에서도 서로 다른 결합력을 나타내는 것을 감안할 때 당연한 결과라고 생각된다. ATF2는 CREB/ATF에 속하는 전사인자로서 CRE와 결합하지만 AP-1 전사인자들은 TRE와 결합하며 이들 사이에서 선택적인 interfamily heterodimer를 형성하였을 때는 다양한 조합에 의한 전사 조절의 다양한 변화를 예상 할 수 있다.

본 pull-down binding assay의 결과는 ATF2 전사인자는 homodimer는 물론 AP-1그룹의 c-Jun, BATF 등과 함께 heterodimer를 이루어 선택적인 interfamily 이형이량체를 형성함으로써 전사 조절에 있어서 다양한 메카니즘을 제공할 수 있음을 보여준다. 본 실험의 결과를 바탕으로 CRE 혹은 TRE 등 다양한 target DNA를 이용하는 Electric Mobility Shift Assay (EMSA)는 선택적인 interfamily heterodimer 형성이 전사인자 사이의 경쟁 혹은 협력을 통한 target gene의 발현에 미칠 수 있는 영향을 이해하게 함으로써 ATF2의 세포내 기능을 좀 더 명확히 이해할 수 있게 할 것이다.

요 약

ATF2는 c-Fos와 c-Jun과 같은 전사인자이며 이들은 루신지퍼 단백질이다. 루신지퍼 단백질은 동형이합체 혹은 이형이합체를 형성하며 promoter 영역에 결합하여 전사조절에 중요한 역할을 한다. 세포의 전사인자 ATF2는 ATF/CRE site에 결합하며 특히 선택적인 interfamily 이형이량체를 형성함으로써 전사 조절에 있어서 다양한 메카니즘을 제공할 수 있다. 본 연구에서는 ATF2 cDNA를 6xHis를 가진 expression vector에 subcloning 하여 *E.coli* BL21에서 발현시켰다. 6xHis tag은 nickel-chelating chromatography를 가능하게 하였다. 발현된 ATF2는 *In vitro* binding pull-down assay에서 동형이합체를 이룰 뿐만 아니라 AP-1 그룹의 인자들과 선택적인 이형이합체를 형성함을 보여 주었다. BATF와는 강하게 결합하였으며 c-Jun과도 안정된 이합체를 형성하였다. 그러나 c-Fos와는 이합체를 형성하지 않으므로써 AP-1그룹내에서도 이합체 형성이 선택적으로 이루어짐을 알 수 있다.

감사의 글

본 연구를 위하여 모든 지원을 아끼지 않은 Purdue Cancer Center (Purdue University)의 Dr. Elizabeth J. Taparowsky 께 감사의 말씀을 드립니다.

References

1. Abate, C., L. Patel, F. J. Rauscher and T. Curran. 1990. Redox regulation of fos and jun DNA-binding activity in vivo. *Science* **249**, 1157-1161.
2. Angel, P., M. Imagawa, R. Chiu, B. Stein, R.J. Imbra, H. J. Rahmsdorf, C. Jonat, P. Herrlich and M. Karin. 1987. Phorbol ester-inducible genes contain a common cis element recognized by a TPA-modulated trans-acting factor. *Cell* **49**, 729-739.
3. Blank, V. and N. C. Andrews. 1997. The Maf transcription factors: regulators of differentiation. *Trends Biochem Sci* **22**, 437-441.
4. Cantley, L. C., K. R. Auger, C. Carpenter, B. Duckworth, A. Graziani, R. Kapeller, and S. Soltoff. 1991. "Oncogenes and signal transduction." *Cell*, **64**, 281-302.
5. Cowell, I. G. 2002. E4BP4/NFIL3, a PAR-related bZIP factor with many roles. *Bioessays* **24**, 1023-1029.
6. Deborah R E. and E. J. Taparowsky. 2000. BATF functions as a negative regulator of AP-1 mediated transcription and blocks cellular transformation by Ras and Fos. *Oncogene* **19**, 1752-1763.
7. Gupta, S., D. Campbell, B. Derijard, and R. J. Davis. 1995. Transcription factor ATF2 regulation by the JNK signal transduction pathway. *Science* **267**, 389-393.
8. Herrlich, P. and M. Karin. 1987. Phorbol ester-inducible genes contain a common cis element recognized by a TPA-modulated trans-acting factor. *Cell* **49**, 729-739.
9. Hurst, H. C. 1995. Transcription factors 1: bZIP proteins. *Protein profile* **2**, 101-168.
10. Karin, M. and T. Smeal. 1992. Control of transcription factors by signal transduction pathways: the beginning of the end. *Trends Biochem Sci* **17**, 418-422.
11. Karin, M., Z. G. Liu and E. Zandi. 1997. AP-1 function and regulation. *Current Opinion Cell Biology* **9**, 240-246.
12. Landschulz, W. H., P. F. Johnson and S. L. Mcknight. 1988. The leucine zipper: a hypothetical structure common to a new class of DNA binding proteins. *Science* **240**, 1759-1764.
13. Maniatis, T., E. F. Fritsch and J. Sambrook. 1982. Molecular cloning, *Cold spring Harbor Laboratory*, New York,
14. Montminy, M. R., K. A. Sevarino, G. Mandel and R. H. Goodman. 1986. Identification of cyclic-AMP-responsive element within the rat somatostatin gene. *Proc Natl Acad Sci U. S. A* **83**, 6682-6686.
15. Nomura, N., Y.-L. Zu, T. Maekawa, S. Tabata, T. Akiyama and S. Ishii, S. 1993. Isolation and characterization of a novel member of the gene family encoding the cAMP response element-binding protein CRE-BP1. *J. Biol. Chem.* **268**, 4259-4266.
16. O'Shea, E. K., J. D. Klemm, P. S. Kim, and T. Alber. 1991. X-ray structure of the GCN4 leucine zipper, a two-stranded, parallel coiled coil. *Science* **254**, 539-544.
17. Pu, W. T. and K. Struhl. 1991. The leucine zipper symmetrically positions the adjacent basic regions for specific

- DNA binding. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* **88**, 6901-6905.
18. Tsonwin H. And T. Curran. 1991. Cross-family dimerization of transcription factors Fos/ Jun and ATF/CREB alters DNA binding specificity, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* vol. **88**, 3720-3724.
 19. Tupler, R., G. Perini and M. R Green. 2001. Expressing the human genome. *Nature* **409**, 832-833.
 20. van Dam, H., S. Huguier, K. Kooistra, J. Baguet, E. Vial, A.J. Eb, P. Herrlich, P. Angel and M. Castellazzi. 1998. Autocrine growth and anchorage independence: two complementing Jun-controlled genetic programs of cellular transformation, *Genes & Development* **12**, 1227-1239.
 21. Vincon, C. R., T. Hai and S. M. Boyd. 1993. Dimerization specificity of the leucine zipper-containing bZIP motif on DNA binding: prediction and rational design. *Genes & Dev.* **7**, 1047-1058.
 22. Vinson, C. R., P. B. Sigler and S. L. Mcknight. 1989. A scissors-grip model for DNA recognition by a family of leucine zipper proteins. *Science* **246**, 911-916.
 23. Vogt, P. K. 1994. Oncogenic transformation by Jun. In *The Fos and Jun families of transcription factors* (ed. P.E. Angel and P.A. Herrlich), pp. 203-219, CRC Press, Boca-Raton, FL.
 24. Whitmarsh, A. J. and R. J. Davis. 1996 . Transcription factor AP-1 regulation by mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways. *Journal of Molecular Medicine* **74**, 589-607.
 25. Williams, S. C., C. A. Cantwell and P. F. Johnson 1991. A family of C/EBP-related proteins capable of forming covalently linked leucine zipper dimers in vitro. *Genes Dev* **5**, 1553-1567.
 26. Xanthoudakis, S., and T. Curran. 1994. Analysis of c-Fos and c-Jun redox-dependent DNA binding activity. *Methods Enzymol* **234**, 163-174.