

# 乳腺癌转移抑制基因 *BRMS1* 在果蝇中同源基因 CG4400 的生物信息学分析

袁 圆

(北京大学生命科学学院 北京 100871)

遗传学专业 学号 10311017

**摘要:** 乳腺癌是西方国家妇女中发病率和致死率最高的癌症之一，而癌转移是导致癌症死亡率高的最主要原因，因此研究与癌症转移相关的基因具有十分重要的意义。与癌转移相关的基因分为癌转移促进基因和癌转移抑制基因。*BRMS1* 是新发现的一个乳腺癌抑制基因，由于在人和小鼠对于其分子作用机制研究的困难，所以用果蝇作为模式动物来进行研究。本文对果蝇中 *BRMS1* 基因的同源基因 *CG4400* 的蛋白质序列进行生物信息学分析，得到一些关于蛋白质结构的预测信息，以指导今后的工作。

**关键词:** 乳腺癌转移抑制基因 *BRMS1* *CG4400* 生物信息学分析

## 背景介绍

在西方国家中，乳腺癌是妇女中发病率和致死率最高的癌症之一<sup>[1]</sup>。在美国，从 1970 年至今，人群中乳腺癌的致死率几乎没有变化<sup>[2]</sup>。当肿瘤只局限在乳腺中时，乳腺癌的治愈率超过 90%。而当癌细胞发生转移时，长期的存活率就取决于癌细胞扩散的程度和位置。转移至内脏器官和脑部最为危险，五年的存活率降低至不到 20%<sup>[3]</sup>。癌转移是一个多步的过程，转移过程中癌细胞从原发肿瘤的位置扩散，并在另一个器官中形成二级肿瘤<sup>[4]</sup>。癌转移是癌症患者死亡的最主要原因。而肿瘤的发生和转移归因于细胞的遗传学改变的积累，这一观点已被人们广泛接受。因此，找到与肿瘤发生和转移相关的基因，理解其分子机制就非常必要了，这也成为当今生物学家研究的一个热点。

与乳腺癌转移相关的基因分为两类，一类为转移促进基因，其定义类似于原癌基因，促进非转移细胞发生转移，包括 *ras*, *MEK1*, *mta1*, proteinases, adhesion molecules, chemoattractants/receptors, autotaxin, PKC, S100A4, *RhoC*, osteopontin 等，其中一些基因还有原癌基因的功能，例如 *ras* 和 *MEK1*。还有一类为转移抑制基因，它们不影响原发肿瘤的生长而只抑制其转移，包括 *Nm23*, E-cadherin, TIMPs, *KiSS1*, *Kail*, *Maspin*, *MKK4*, *BRMS1* 等。这里需注意的一点是转移抑制基因与肿瘤抑制基因的区别，肿瘤抑制基因不仅减缓原发肿瘤的生长，还抑制肿瘤转移<sup>[5]</sup>。至今对于癌转移抑制基因作用的分子机制了解还很少，只有 *Nm23* 基因的研究较为清楚。研究结果表明 *NM23* 与 Ras 相关蛋白 GTPase Rad 相互作用<sup>[6]</sup>，*NM23* 家族的成员 *NM23H1* 还调控 Rho 家族的 GTPase<sup>[7]</sup>。

本文主要讨论的是乳腺癌转移抑制基因*BRMS1* (Breast metastasis suppressor 1)。这个基因最早是用差异显示 (differential display) 的方法, 通过比较转入具有抑制癌转移功能的人类11号染色体的MDA-MB-435细胞和其亲代具有转移能力的细胞得到的, 这个基因定位于人类染色体的11q13.1-q13.2区域, 该区域在晚期的乳腺癌细胞中经常发生改变。稳定转染*BRMS1*能显著降低 MDA-MB-435 和 MDA-MB-231乳腺癌细胞的转移能力而不影响其肿瘤的发生<sup>[8]</sup>。在鼠的乳腺细胞系和人的黑素瘤细胞系中这个基因也同样表现出抑制转移的活性<sup>[5]</sup>。迄今的研究结果表明, *BRMS1*在MDA-MB-435细胞中的表达可以改变细胞间的间隙连接(gapjunction),使其类似于正常的乳腺细胞<sup>[9]</sup>。*BRMS1*会与PBP1 (Retinoblastoma-binding Protein 1) 以及mSin3 • HDAC (Histone Deacetylase Complex) 形成复合物来抑制某些基因的转录, 转录调控可能是*BRMS1*抑制癌细胞转移的机制<sup>[10]</sup>。但是对于*BRMS1*抑制癌转移的作用机制仍不清楚。*BRMS1*基因高度保守, 在氨基酸水平上鼠的*BRMS1*基因与人的同源性高达95%<sup>[5]</sup>, 由此给我们一个启示, 即用经典的较低等的模式动物, 如果蝇来进行*BRMS1*作用的分子机制的研究。以往所得到的研究结果都是在人类乳腺癌细胞系或小鼠中研究得到的, 由于伦理道德等的原因, 我们不可能用人进行活体试验, 这样就并非真正意义上的体内试验, 所得到的结果与实际情况会有一定的偏差; 而小鼠的遗传背景较为复杂, 试验的成本也较高, 因此用果蝇来研究高度保守的基因的作用机制有很多优势, 比如遗传工具繁多, 遗传背景清楚, 生活周期短, 成本低等。对人类乳腺癌转移的研究可以借鉴果蝇中的研究成果。之前也曾有用果蝇来进行肿瘤抑制基因研究和癌转移抑制基因筛选的报道<sup>[11,12,13]</sup>。本文的目的就是对果蝇中的*BRMS1*基因的同源基因进行一些生物信息学分析, 以期能够指导将来的研究工作。

## 方法与结果

首先, 根据最先发现人类*BRMS1*基因的文章所提供的提交在NCBI上的该基因cDNA的序列号AF159141从NCBI上调出该cDNA序列, 如下:

```
>gi|9828166|gb|AF159141.1|AF159141 Homo sapiens breast cancer metastasis-suppressor 1  
(BRMS1) mRNA, complete cds  
AGAAAAGGGAGCCGCGCAGCGCCTACGGGAGTCCGGCGGCAGCAGCCGGTACCGGC  
AACCACGGGCAGCTCTCAGGGAATCTCCGTCGTGAGGCCAGAGGCTCCAGTCCCCGC  
GAGTCCAGATGCCTGTCCAGCCTCCAAGCAAAGACACAGAAGAGATGGAAGCAGAG  
GGTGATTCTGCTGCTGAGATGAATGGGGAGGAGGAAGAGAGTGAGGAGGAGCGGAG  
CGGCAGCCAGACAGAGTCAGAAGAGGAGAGCTCCGAGATGGATGATGAGGACTATG  
AGCGACGCCGAGCGAGTGTGTGTCAGTGAGATGCTGGACCTAGAGAAGCAGTTCTCGG  
AGCTAAAGGAGAAGTTGTTTCAGGGAACGACTGAGTCAGCTGCGGTTGCGGCTGGAGG  
AAGTGGGGGCTGAGAGAGCCCCTGAATACACGGAGCCCCTTGGGGGGCTGCAGCGG
```

```

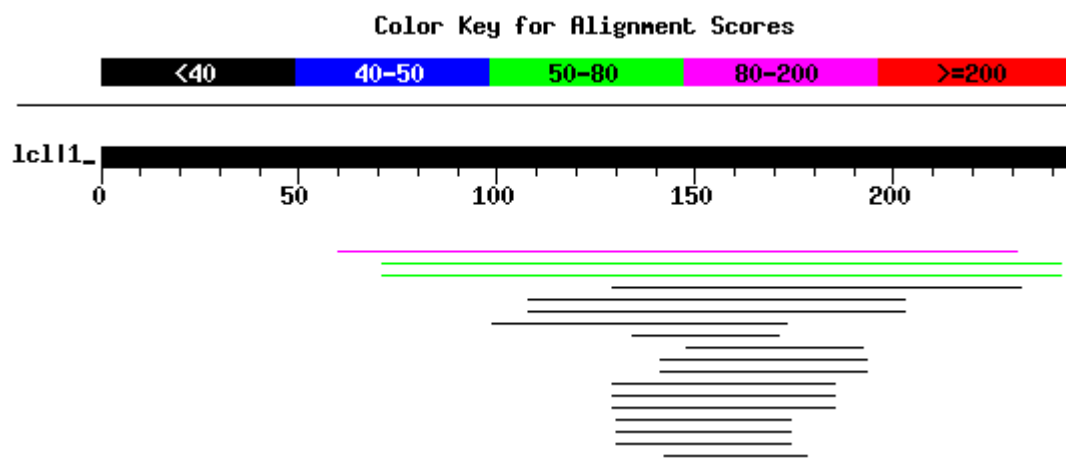
AGCCTCAAGATTCGCATTCAGGTGGCAGGGATCTACAAGGGCTTCTGTCTGGATGTG
ATCAGGAATAAGTACGAATGTGAGCTGCAGGGAGCCAAACAGCACCTGGAGAGTGA
GAAGCTGCTGCTCTATGACACGCTGCAGGGGGAGCTGCAGGAGCGGATCCAGAGGCT
GGAGGAGGACCGCCAGAGCCTGGACCTCAGCTCTGAATGGTGGGACGACAAACTGC
ACGCCAGAGGCAGCTCCAGGTCTTGGGACTCCCTGCCGCCAGCAAGAGGAAGAAGG
CACCTCTGGTTTCTGGCCATACATCGTGTACATGCTTCAAGAGATCGACATCCTGGA
GGACTGGACAGCCATCAAAAAGGCTAGGGCAGCTGTGTCCCCTCAGAAGAGAAAATC
GGATGGACCTTGACCCTGCTGTTACAGCCAGGGGGACCCTCAGAGCAGCTGGCACT
GCACCCAGGATTCTCGTCTTCCCTCCTGCAGACAGGCGGACCCACAGGCCCTCAGGGT
CTGCCAGCCAGGCTCCTGTGGTGTGCTGCTGGGCCCTCCACTCCATCTGGCACTGGCC
TGGACTCCTCCTCGCCCTCCTCGAGGCCTGCACAGCTGTGGCCGTGGAGCTGACCTG
ACCAGGCAAGGCTGCTGTCTCCATCCCTGAGCCGCTGCCACCTCCACTCCTGAAGA
TCCATCTCTTGGGGCTCCCTGACAGAGAAGACAGCCGAAGTCAAAGCCACATCCTC
TTGCTGATGTTGGATGCAGGCTGTCCAGCCTCAGGGCCAGGGAGCCAAGTTTCCACTG
TGCGGGAACTCTGAGTCAGAACGTTGATTATCTGGGGGTCTTGTCCACCCTGGCTGGA
TCTGGAGGCAAGATGCCAGGCCCCCAAGGTGTTCTCAGGGCAAGTTCTTGGTGTCTG
CTTTCTCAGATTCCAAGGACTGGAATTAACCTTTCTGGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAA
    
```

其翻译所得的蛋白质序列（NCBI序列号AAG00075）为：

```

>gi|9828167|gb|AAG00075.1|AF159141_1 breast cancer metastasis-
suppressor 1 [Homo sapiens]
MPVQPPSKDTEEMEAEGDSAAEMNGEEEESEEEERSGSQTESEEEESSEMDDDEDYERRRSECVSEMLDLEK
QFSELKEKLFRRERLSQLRLRLEEVEGAERAPEYTEPLGGLQRSLKIRIQVAGIYKGFCLDVIRNKYECEL
QGAKQHLESEKLLLYDTLQGELQERIQRLEEDRQSLDLSSEWWDDKLHARGSSRSWDSLPPSKRKKAPL
VSGPYIVYMLQEIDILEDWTAIKKARAAVSPQKRKSDGP
    
```

然后所得到的蛋白质在 Flybase 果蝇基因组数据库用 Blastp 命令、选择 Swissprot and TREMBL proteins (AA) 数据库进行蛋白质序列比对，其结果如下：



<a href="#">Sequences</a> producing significant alignments:	Score	E Value
<a href="#">Q9VYI2</a> CG4400 protein (LD14895p).	<u>127</u>	5e-30
<a href="#">Q8MS11</a> RE74901p.	<u>62</u>	5e-10
<a href="#">Q9VWG2</a> CG14220 protein.	<u>62</u>	5e-10
<a href="#">Q9VHG1</a> CG8454 protein (RE66051p).	<u>35</u>	0.060
<a href="#">Q9V385</a> Pnut protein (LD37170P).	<u>32</u>	0.39
<a href="#">Pnut DROME</a> Peanut protein.	<u>32</u>	0.39
<a href="#">Q9V951</a> CG9945 protein (AT18160p).	<u>28</u>	4.3
<a href="#">Q9VTS7</a> CG6793 protein.	<u>28</u>	4.3
<a href="#">KL61 DROME</a> Bipolar kinesin KRP-130 (Kinesin-like protein Klp61F).	<u>28</u>	4.3
<a href="#">AAF47436</a> CG18214-PA (CG18214-PC).	<u>28</u>	5.6
<a href="#">Q9WLO1</a> RHO family guanine nucleotide exchange factor TRIO (Guanine-	<u>28</u>	5.6
<a href="#">Q8IGY6</a> RE05346p (Fragment).	<u>28</u>	7.3
<a href="#">Q9VUA3</a> CG32137 protein.	<u>28</u>	7.3
<a href="#">Q8SWR2</a> RE18568p (CG32137 protein).	<u>28</u>	7.3
<a href="#">Q8IMX3</a> CG6129-PC.	<u>27</u>	9.5
<a href="#">Q9VCD1</a> CG6129-PB.	<u>27</u>	9.5
<a href="#">Q8IQ08</a> CG2808-PA.	<u>27</u>	9.5
<a href="#">Q8MSN3</a> AT16851p.	<u>27</u>	9.5
<a href="#">Q9VEF5</a> CG7379 protein (GH01429p).	<u>27</u>	9.5

由此结果可知，黑腹果蝇中 CG4400 基因为人 BRMS1 基因的同源基因。在 Flybase 中查找 CG4400 基因的信息，得知 CG4400 定位于果蝇的 X 染色体的 11D1 区域，其蛋白质序列为：

```
>CG4400-PA type=protein; loc=X:complement(12639007..12639348,12639596..12639840,12639908..12640097); ID=CG4400-PA; name=CG4400-PA; db_xref=FlyBase:FBpp0073526,GB_protein:AAF48213.2,FlyBase:FBgn0030434,FlyBase:CG4400-PA; len=259
MPVKNGESDGEDEVSGGESEHSNSSQPHDTSDEEEANECDSDSSSELDASEIDRRRAEHIEDLLSLERQ
FNELREQYYVERINLIERQLAEVRSRGRSEEFVQPQKELDKKYRTRIEVADVLRKYRLQNIHKEYQSEEQ
AAVQHFESEKHMALDNLREEFMERIRRLEEDRHNVDISWADWGTDKRQSKVRGPGRKKAVTVTGPYVVY
MLREEDIMEDWTIIRKALKRSSSSATAAGTVTPTSGVSVSLSGLPAMAGASG
```

接着对于 CG4400 的蛋白质序列用 Unix 进行基本的蛋白质信息分析：

首先，用 pepstats 分析氨基酸组成，其结果如下：

```
Molecular weight = 29560.36           Residues = 259
Average Residue Weight = 114.133     Charge = -13.5
Isoelectric Point = 4.6782
A280 Molar Extinction Coefficient = 26030
```

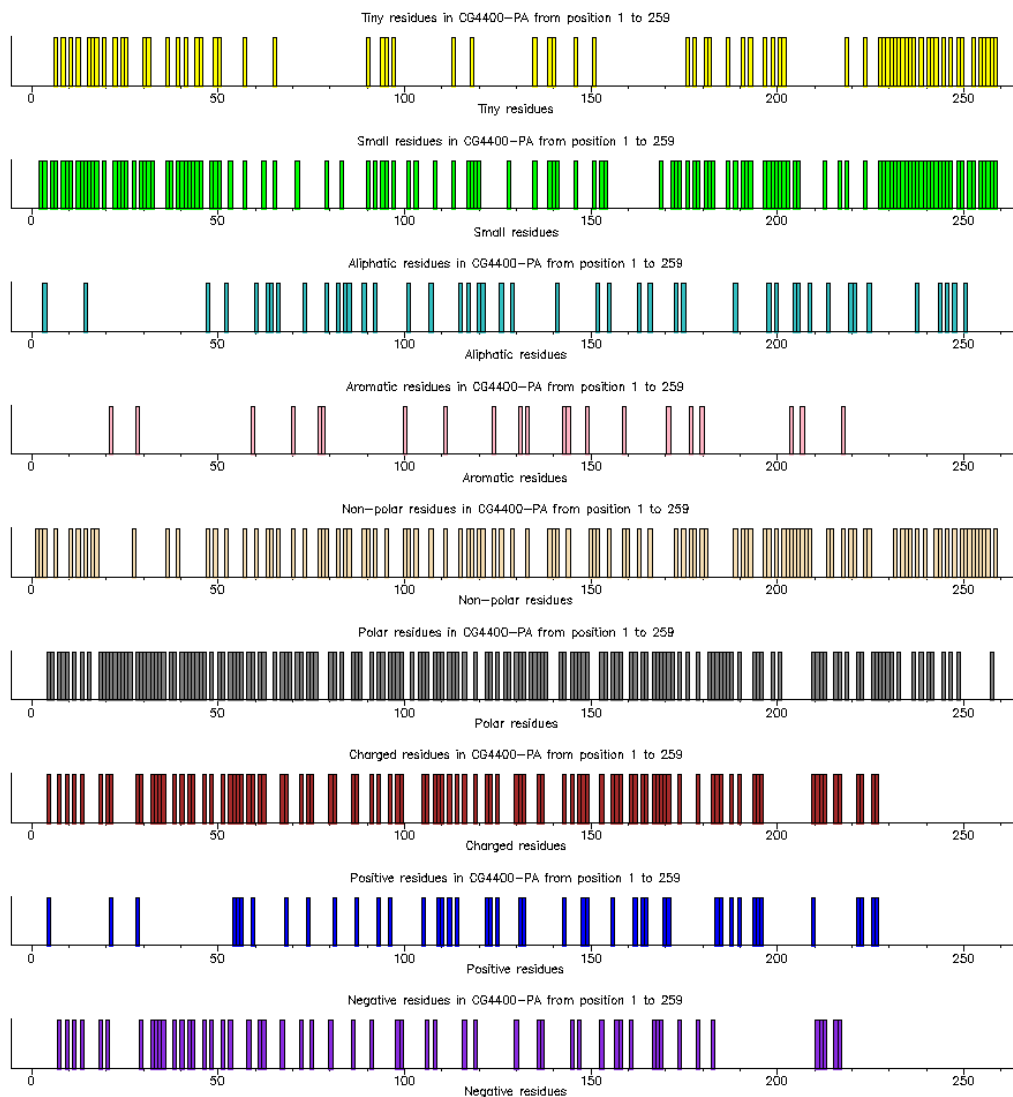
A280 Extinction Coefficient 1mg/ml = 0.88

Probability of expression in inclusion bodies = 0.757

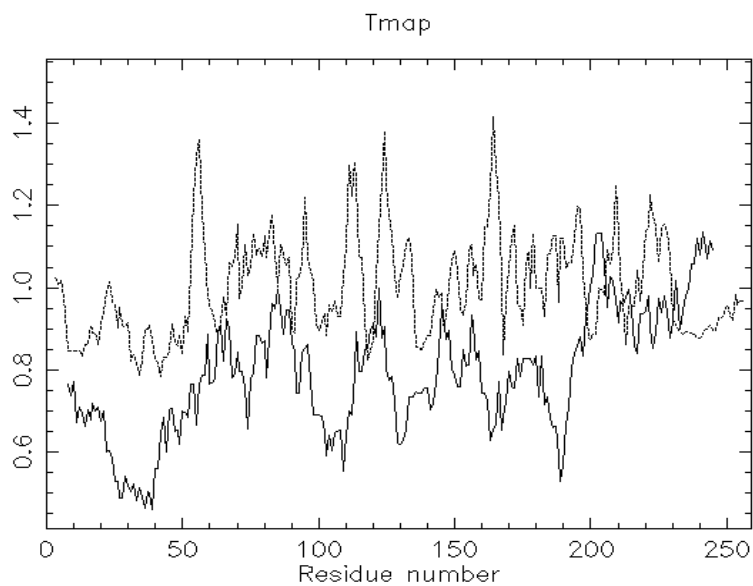
Residue	Number	Mole%	DayhoffStat
A = Ala	17	6.564	0.763
B = Asx	0	0.000	0.000
C = Cys	1	0.386	0.133
D = Asp	19	7.336	1.334
E = Glu	35	13.514	2.252
F = Phe	4	1.544	0.429
G = Gly	15	5.792	0.689
H = His	7	2.703	1.351
I = Ile	11	4.247	0.944
K = Lys	13	5.019	0.761
L = Leu	17	6.564	0.887
M = Met	6	2.317	1.363
N = Asn	8	3.089	0.718
P = Pro	7	2.703	0.520
Q = Gln	11	4.247	1.089
R = Arg	24	9.266	1.891
S = Ser	27	10.425	1.489
T = Thr	10	3.861	0.633
V = Val	17	6.564	0.995
W = Trp	3	1.158	0.891
X = Xaa	0	0.000	0.000
Y = Tyr	7	2.703	0.795
Z = Glx	0	0.000	0.000

Property	Residues	Number	Mole%
Tiny	(A+C+G+S+T)	70	27.027
Small	(A+B+C+D+G+N+P+S+T+V)	121	46.718
Aliphatic	(I+L+V)	45	17.375
Aromatic	(F+H+W+Y)	21	8.108
Non-polar	(A+C+F+G+I+L+M+P+V+W+Y)	105	40.541
Polar	(D+E+H+K+N+Q+R+S+T+Z)	154	59.459
Charged	(B+D+E+H+K+R+Z)	98	37.838
Basic	(H+K+R)	44	16.988
Acidic	(B+D+E+Z)	54	20.849

然后用 pepinfo 命令分析氨基酸残基的信息，结果如下：



接着用 tmap 命名查看该蛋白是否有跨膜区（结果如下图所示），可见该蛋白没有明显的跨膜区域。



最后再用 garnier 命令显示蛋白质二级结构，其结果如下：

```

      10      20      30      40      50
      MPVKNGESDGEEDVSGGEGSEHSNSSQPHDTSDEEEANECDSDSSELDAS
helix          HHHHHHHHHH HHHHHHHH
sheet EE
turns          TT          TTTT          TT
coil  CCCCCC CCCCCCCC CCCCCC
      60      70      80      90      100
      EIDRRRAEHIEDLLSLERQFNELREQYYVERINLIERQLAEVRSGRSEEF
helix          HHHHHHHHHHHHHHHHHHH HH HHHHHHHHHHHHHHHHHH HH
sheet
turns          T          T
coil  C          CCCCC
      110     120     130     140     150
      VQPQKELDKYRTRIEVADVLRYRLQNIHKYQSEEQAQVQHFSEKHM
helix          HHHHHHHH HHH HHHHHHHHHHHH H HHHHHHHHHHHHHHHH
sheet          EEE
turns          T
coil  C CCCCC
      160     170     180     190     200
      ALDNLREEFMERIRLEEDRHNVDISWADWGTDKRQSKVRGPRGKAVTV
helix          HHHHHHHHHHHHHHHHHHH
sheet          E          E          EEEEE
turns          TTTT T T TT TTTTT T TT T
coil  C C C C CC C
      210     220     230     240     250
      TGPYVVYMLREEDIMEDWTIIRKALKRSSSSATAAGTVPTSGVSVLSG
helix          HHHHHHHHHHHHHHHHHH
sheet EEEEEEE          EEEEE EEEEE
turns          TT          T
coil  C CCCCCC          C CC
0
LPAMAGASG
helix  HHHH
sheet EE
turns
coil  C CC

```

Residue totals: H:137 E: 34 T: 32 C: 56  
 percent: H: 56.4 E: 14.0 T: 13.2 C: 23.0

通过以上分析，得到了关于该蛋白的一些基本的信息。

接下来在Prosites数据库中用ScanProsites程序（参数选项均为默认值）预测该蛋白中有哪些特征序列，结果预测出有8个酪蛋白激酶II (CKII) 磷酸化位点，1个天冬酰胺N末端糖基化位点，3个蛋白激酶C磷酸化位点、1个酪氨酸激酶磷酸化位点、1个双向核定位序列、2个cAMP和cGMP依赖性的蛋白激酶磷酸化位点、1个Amidation位点、1个N末端十四烷基化位点。具体结果如下：

**PS00006 CK2\_PHOSPHO\_SITE Casein kinase II phosphorylation site :**

- 8 - 11:** SdgE
- 15 - 18:** SggE
- 30 - 33:** TsdE
- 31 - 34:** SdeE
- 45 - 48:** SelD
- 50 - 53:** SeiD

113 - 116: TriE

176 - 179: SwaD

**PS00001 ASN\_GLYCOSYLATION** *N-glycosylation site* :

23 - 26: NSSQ

**PS00005 PKC\_PHOSPHO\_SITE** *Protein kinase C phosphorylation site* :

94 - 96: SgR

146 - 148: SeK

182 - 184: TdK

**PS00007 TYR\_PHOSPHO\_SITE** *Tyrosine kinase phosphorylation site* :

105 - 111: Kel.Dkk.Y

**PS00015 NUCLEAR** *Bipartite nuclear targeting sequence* :

109 - 125: KKyrtrievadvlrkyr

**PS00004 CAMP\_PHOSPHO\_SITE** *cAMP- and cGMP-dependent protein kinase phosphorylation site* :

184 - 187: KRqS

226 - 229: KRsS

**PS00009 AMIDATION** *Amidation site* :

192 - 195: pGRK

**PS00008 MYRISTYL** *N-myristoylation site* :

243 - 248: GVsvSL

再用Unix软件的water命令，比对人类BRMS1和果蝇CG4400序列，以找到保守区域，参数的设置为Matrix: EBLOSUM62, Gap\_penalty: 10.0, Extend\_penalty: 0.5。结果如下：

```

Length:      235      Identity:   92/235 (39.1%)      Similarity:  147/235 (62.6%)
Gaps: 14/235 ( 6.0%)      Score:      434.0
CG4400-PA      1 MPVKNGESDGEEDVSGGESEHSNSSQPHDTSDEEEANECDS-DDSSELDA      49
                |||:....|.|...:|.|...:.....:|...:|::|||:|.
                1 MPVQPPSKDTEEMEAEGDSSAAEMNGEEEESEERSGSQTESEESSEMDD      50

CG4400-PA      50 SEIDRRRAEHIEDLLSLERQFNELREQYYVERINLIERQLAEVRSRSEE      99
                ..:|||:|.:.:.|.||:|:|:|.:.|.||:..:|.||.:.|:.|
                51 EDYERRRSECVSEMLDLEKQFSELKEKLFRRERLSQLRLRLEEVAERAPE      100

CG4400-PA      100 FVQPQKELDKKYRTRIEVADVLRYRLQNIHKYQSEEQAQVQHFSEKH      149
                :.:|...|.:.:.|.||:|.:.:.|.|.:.||:|.|.|.|||.
                101 YTEPLGGLQRSLKIRIQVAGIYKGFCLDVIRNKYECELQGAQHLESEKL      150

CG4400-PA      150 MALDNLREEFMERIRRLEEDRHVDISWADWGTDKRQSKVRGPG-----      193
                :..|.|:|.|.|||:|||||.:.:|:|::|..||..:|..
                151 LLYDTLQGELQERIQRLEEDRQSLDLS-SEWDDKLHA--RGSSRSWDSL      197
    
```

```
CG4400-PA      194 ----RKKAVTVTGPYVVYMLREEDIMEDWTIIRKA      224
                |||..|:|:|:|:|:|.||:|:|:|. |:|
                198 PPSKRKKAPLVSGPYIVYMLQEIDILEDWTAIKKA      232
```

最后利用Swiss-Model数据库预测该蛋白的三维结构，设Lower BLAST limit=0.00001。结果没有找到与已知三维结构的蛋白一致性高于25%的蛋白，故无法预测其结构。又用3D-pssm和PredictProtein预测该蛋白三维结构，找到的与已知三维结构的蛋白质最高的一致性为21%，故无法较为准确地预测该蛋白三维结构。

## 讨论

该蛋白基本信息的分析，对于今后工作中该蛋白的分离纯化提供了非常有用的信息。由跨膜区分析和特征序列的分析结果可知，该蛋白中没有明显的跨膜区，而且有双向核定位序列，这点与人类BRMS1蛋白可能定位在核内并调控转录这点相一致。对人类BRMS1蛋白进行同样的特征序列分析，发现也有酪蛋白激酶II磷酸化位点、cAMP和cGMP依赖性的蛋白激酶磷酸化位点、蛋白激酶C磷酸化位点以及十四烷基化位点。这暗示着果蝇CG4400蛋白与人类BRMS1蛋白可能有相似的分子作用和调控机制，而且经序列比对，果蝇CG4400基因与人类BRMS1基因蛋白序列有39.1%的一致性，62.6%的相似性，可见该序列高度保守。这样利用果蝇的遗传学研究优势，在果蝇中研究所得的结果将会指导人类乳腺癌转移的研究，所以我们的工作非常有意义。但是通过进行人类BRMS1蛋白和果蝇CG4400蛋白的序列比对分析，发现序列各区域保守性的高低似乎与这些特征序列没有明显的联系，根据我们现在普遍接受的观点，即认为保守性越高的区域功能越保守，可知也许是由于信息不足，所以分析出的结果不是很准确所致，但具有一定的指导意义。另外从各种蛋白质高级结构的分析结果来看，现在对于这种蛋白还所知甚少，只有通过各种试验证据和信息的积累，人们才能逐渐了解这个现在还很陌生的基因。而生物信息学分析将会和试验相辅相成，大大加快该基因的研究脚步。

## 致谢

感谢罗静初老师和陈新老师教给我生物信息学分析方法，给我的工作带来了很大的帮助。感谢杨勇飞同学对于本文的中肯建议。

## 参考文献

1. Minna Allinen, Rameen Beroukhim, Li Cai, Cameron Brennan, Jaana Lahti-Domenici, Haiyan Huang, Dale Porter, Min Hu, Lynda Chin, Andrea Richardson, Stuart Schnitt, William R. Sellers,

and Kornelia Polyak, **Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer**, *Cancer Cell*, 2004, 6: 17–32

2. Susan E Clare, Faina Nakhlis and John Carl Panetta, **Molecular biology of breast cancer metastasis: The use of mathematical models to determine relapse and to predict response to chemotherapy in breast cancer**, *Breast Cancer Res*, 2000, 2:430–435

3. Danny R Welch, Patricia S Steeg and Carrie W Rinker-Schaeffer, **Molecular biology of breast cancer metastasis: Genetic regulation of human breast carcinoma metastasis**, *Breast Cancer Res*, 2000, 2:408–416

4. Jing Yang, Sendurai A. Mani, Joana Liu Donaher, Sridhar Ramaswamy, Raphael A. Itzykson, Christophe Come, Pierre Savagner, Inna Gitelman, Andrea Richardson and Robert A. Weinberg, **Twist, a Master Regulator of Morphogenesis, Plays an Essential Role in Tumor Metastasis**, *Cell*, 2004, 117:927 – 939

5. Michael T. Debies and Danny R. Welch, **Genetic Basis of Human Breast Cancer Metastasis**, *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2001, vol. 6, no. 4:441–451

6. Jianhua Zhu, Yu-Hua Tseng, Jason D. Kantor, Christopher J. Rhodes, Bruce R. Zetter, Julie S. Moyers, and C. Ronald Kahn, **Interaction of the Ras-related protein associated with diabetes Rad and the putative tumor metastasis suppressor NM23 provides a novel mechanism of GTPase regulation**, *PNAS*, 1999, vol. 96 no. 26:14911–14918

7. Yoshiro Otsuki, Masamitsu Tanaka, Shigeto Yoshii, Nobuko Kawazoe, Kazuyasu Nakaya and Haruhiko Sugimura, **Tumor metastasis suppressor nm23H1 regulates Rac1 GTPase by interaction with Tiam1**, *PNAS*, 2001, vol. 98 no. 8:4385 – 4390

8. M. Javed Seraj, Rajeev S. Samant, Michael F. Verderame, and Danny R. Welch, **Functional Evidence for a Novel Human Breast Carcinoma Metastasis Suppressor, BRMS1, Encoded at Chromosome 11q13**, *Cancer Res*, 2000, 60:2764 – 2769

9. Marnie M. Saunders, M. Javed Seraj, Zhongyong Li, Zhiyi Zhou, Cathy R. Winter, Danny R. Welch, and Henry J. Donahue, **Breast Cancer Metastatic Potential Correlates with a Breakdown in Homospecific and Heterospecific Gap Junctional Intercellular Communication**, *Cancer Res*, 2001, 61:1765 – 1767

10. William J. Meehan, Rajeev S. Samant, James E. Hopper, Michael J. Carrozza, Lalita A. Shevde, Jerry L. Workman, Kristin A. Eckert, Michael F. Verderame, and Danny R. Welch, **Breast Cancer Metastasis Suppressor 1 (BRMS1) Forms Complexes with Retinoblastoma-binding Protein 1 (RBP1) and the mSin3 Histone Deacetylase Complex and Represses Transcription**, *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, Vol. 279 No. 2:1562 – 1569,

11. David Bilder, Min Li, Norbert Perrimon, **Cooperative Regulation of Cell Polarity and Growth by *Drosophila* Tumor Suppressors**, *Science*, 2000, 289:113–116

12. Raymond A. Pagliarini and Tian Xu, **A Genetic Screen in *Drosophila* for Metastatic Behavior**, *Science*, 2003, 302:1227–1331

13. Elisa C. Woodhouse, Amy Fisher, Russell W. Bandle, Bianca Bryant–Greenwood, Lula Charboneau, Emanuel F. Petricoin, and Lance A. Liotta, ***Drosophila* screening model for metastasis: Semaphorin 5c is required for l(2)gl cancer phenotype**, *PNAS*, 2003, vol. 100 no. 20:11463 – 11468

本文中分析用到的站点:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://flybase.bio.indiana.edu/>

<http://cn.expasy.org/prosite/>

<http://swissmodel.expasy.org/>

<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~3dpssm/>

<http://www.cbi.pku.edu.cn/predictprotein/>

部分分析工作在SSH Secure Shell Client软件中完成