

# 臺灣二〇〇七年國際科學展覽會

科 別：生物化學

作 品 名 稱：口蹄疫病毒鞘蛋白 rVP1 誘發 Prohibitin 之遷移

得 獎 獎 項：佳作

學 校 / 作 者：臺北市立建國高級中學

蘇勤方

## 作者簡介：



在升國中的暑假，從日本回來的小阿姨，送我一堆生物科普書籍的擁抱，自此，我沉醉於生物的曼妙旋律之中。在興趣驅使之下，高一的时候參與了中研院的培育計畫，因此有了高中生涯中最重要的轉捩點。為科學研究奔波勞碌，為研究報告焚膏繼晷，不僅僅培養出良好的時間利用能力，更重要的是學習如何面對壓力。不管往後的路有多顛簸、多麼崎嶇，我相信自己能堅定信念，步履昂揚。

目錄：

壹、作品摘要.....	p.1
貳、前言.....	p.2 ~ p.3
參、實驗器材及藥品.....	p.4
肆、研究方法與過程.....	p.5 ~ p.8
伍、研究結果.....	p.9 ~ p.14
陸、討論.....	p.15
柒、結論與未來展望.....	p.16
捌、參考文獻.....	p.16

## 壹、作品摘要

### 一、Abstract

Apoptosis can lead some specific cells to programmed death, thus, it is a major way for creatures to control their cells amounts. If we can command the mechanism of apoptosis, we may use it as a therapy for cancer by artificial regulation of apoptosis.

VP1 is one of the capsid proteins of Foot and Mouth Disease Virus (FMDV). A research (2.) has indicated that the recombinant VP1 (rVP1) can result in dephosphorylation of Akt in BHK-21, and then lead the cells to apoptosis. However, in their follow-up experiments, they discovered that even if they expressed great amount of phospho-Akt in BHK-21, it still couldn't reverse the apoptosis induced by rVP1.

Therefore, this experiment takes the advantage of two-dimension protein electrophoresis (2D) in order to find apoptotic proteins excluded from the Akt pathway.

I have found that Prohibitin exports from nucleus to cytosol after rVP1 treatment. Furthermore, I eliminate the possibility that Prohibitin's may be located in Akt pathway. The results of Western Blot also shows that protein amount of Prohibitin in BHK-21 increase after rVP1 treatment, hence the purpose of nuclear export of Prohibitin might not be to degrade it. It might have some much more important function in the process of exportation. Besides, Prohibitin exports to cytosol in quite a short time after rVP1 treatment. According to this phenomenon, I suppose that Prohibitin has a role as a regulator of apoptotic up-stream reactions.

### 二、中文摘要

細胞凋亡具有控制生物體細胞數目之功能，能讓特定的細胞走向死亡，因此若能掌握其作用機制，便可能藉由調控細胞凋亡的發生，進而應用於癌症治療。

前人研究(2.)指出，經基因重組技術純化之口蹄疫病毒鞘蛋白 rVP1，會導致 BHK-21 的 Akt 蛋白質去活化，引起細胞凋亡的現象。然而在其後續的研究中，卻發現到在 BHK-21 中大量表現磷酸化的 Akt 蛋白質，並無法反轉由 rVP1 所誘發之細胞凋亡。

因此本實驗利用二維蛋白質電泳，尋找 Akt pathway 以外之細胞凋亡相關蛋白質。目前已證明 Prohibitin 此一蛋白質，在由 rVP1 所引起之細胞凋亡中，有自細胞核移動至細胞質的現象。此外，亦經由實驗排除 Prohibitin 位於 Akt pathway 的可能性。Western Blot 之結果更顯示，經 rVP1 處理後，Prohibitin 在很短的時間內便出現遷移的現象，故推測其具有調控細胞凋亡上游反應的功能。

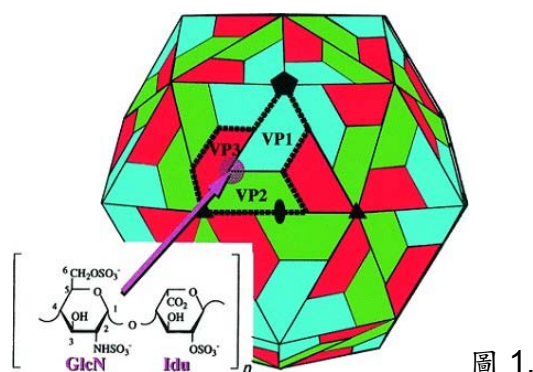
## 貳、前言

在細胞的世界中，細胞分裂與細胞死亡間的微妙平衡影響著細胞數目的多寡，而細胞凋亡 (apoptosis) 便是其最常用的細胞死亡機制。細胞凋亡有別於一般的細胞壞死，它在生物體中扮演著極重要的角色。像是胚胎發育過程中肢體的形成、原始免疫淋巴球的篩選、植物根部細胞的逆境反應，甚至是剔除生物個體中的危險性細胞 (如癌細胞)，細胞凋亡皆參與其中。因此若能夠掌握其中的重要機制，我們或許可以以人工的方式調控細胞凋亡的發生，進而應用於癌症等疾病的治療。

一般來說細胞凋亡，是由一些細胞間的訊號或是一些特殊的刺激而啟動。典型的細胞凋亡會有染色質濃縮、細胞萎縮、細胞膜蛋白訊號傳遞、創蛋白酶的活化和去氧核糖核酸降解等現象的發生。

在前人的研究中 (5) 發現 Akt 蛋白質在神經元細胞的生存上扮演著非常重要的角色。他們指出藉由增加細胞中具有活性的磷酸化 Akt 蛋白質的表現量，可以抑制細胞凋亡的發生，並推測 Akt 蛋白質以調控粒線體蛋白質的方式來控制細胞凋亡的發生。

口蹄疫病毒 (Foot and Mouth Disease Virus, FMDV) 呈球狀正 20 面體，表面鞘蛋白由 P1 三角狀蛋白質單元所構成，分別為 VP1、VP2、VP3 及 VP4 (圖 1.)。其中 VP1 上的一段胺基酸序列為口蹄疫病毒和細胞進行結合的位置，以進入宿主細胞。(1)



一個針對 VP1 的研究 (2) 指出經基因重組技術純化出之 VP1 (rVP1) 會導致倉鼠腎細胞 BHK-21 的 Akt 蛋白質去活化，並加強一些和細胞凋亡有關的機制，進而引起細胞凋亡的現象 (圖 2.)。然而在後來的研究中卻發現，以 rVP1 處理大量表現磷酸化 Akt 蛋白質的 BHK-21，其細胞活性並不能有效地恢復 (圖 3.)。

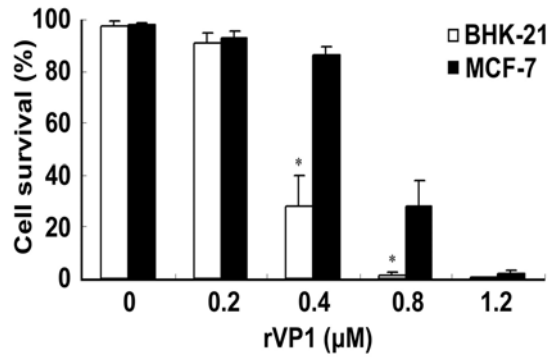


圖 2.

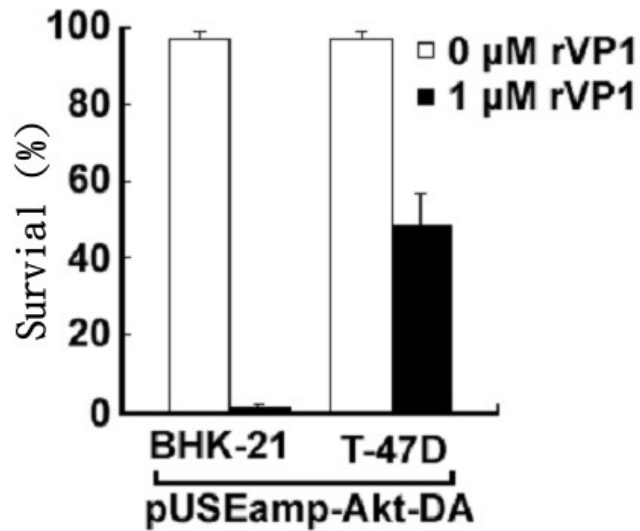


圖 3.

因此我推測 rVP1 在引起細胞凋亡的訊息傳導途徑中，除了 Akt 以外可能還有其他蛋白扮演著更關鍵的角色，假若可以找到這一個關鍵的蛋白質，找出它的作用機制，便有機會利用它抑制或是促進細胞凋亡的特性，應用於癌症的治療上。本實驗將利用二維蛋白質電泳(2D electrophoresis)，針對倉鼠腎細胞 BHK-21 尋找 Akt pathway 以外參與誘發細胞凋亡的蛋白質，並進一步探討其性質。

## 參、實驗器材及藥品

### 一、器材：

細胞研磨杵、高速離心機、光電二極體分光光度計、蛋白質電泳槽、鑄膠器、半乾式西方墨點法轉印器、幫浦、震盪機、二維電泳系統、二維電泳槽、SYPRO RUBY 掃描器、超音波震碎器、微電腦精密震盪器、真空濃縮機。

### 二、藥品：

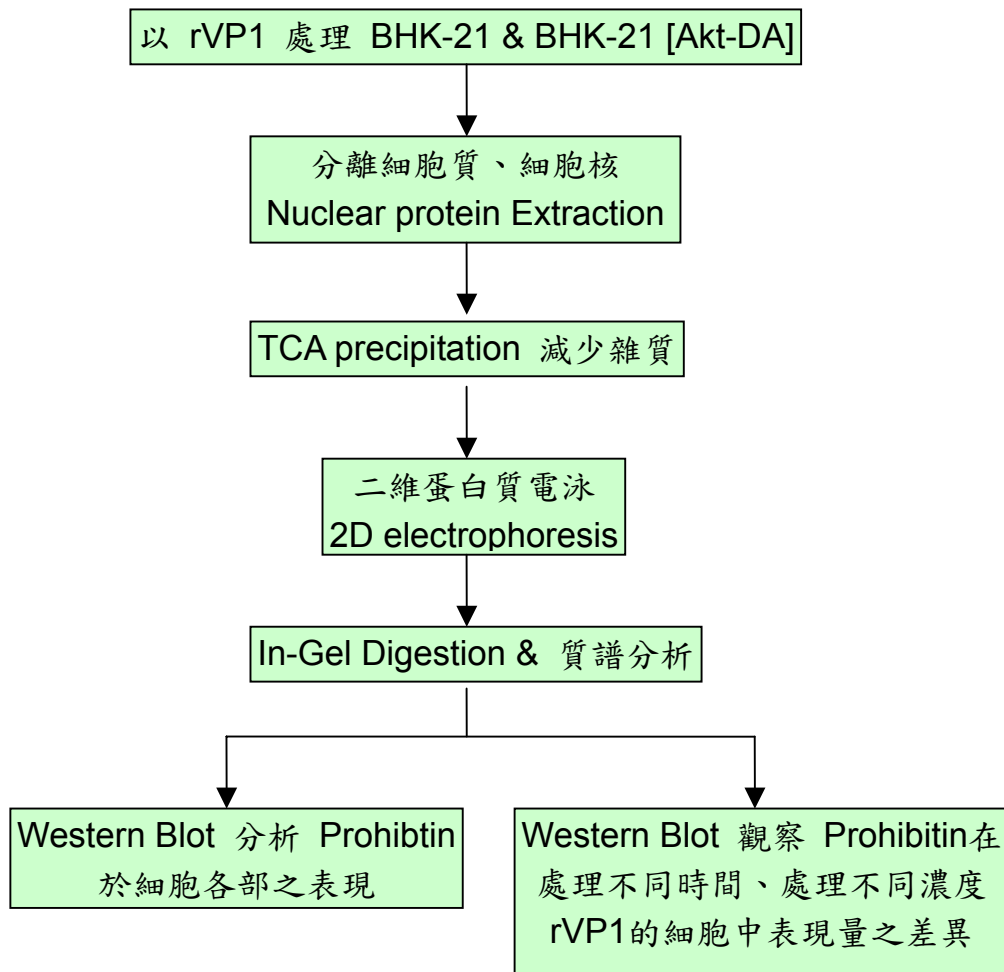
基因重組純化之 rVP1 蛋白質、胰蛋白酶、轉染溶液組 (cat#301425, QIAGEN)、粒線體蛋白萃取組 (cat#K256-100, BioVision)、三氯乙酸 (TCA)、丙酮、 $\beta$ -mercaptoethanol、蛋白質定量溶液組 (cat#500-0006, Bio-RAD)、復水緩衝液、尿素、CHAPS、Ampholyte、溴瑞香草藍、4 x LDS Sample Buffer、Iodocacetamide、還原劑、蛋白質分解酶抑制劑、pH 梯度膠條、Dry Strip Cover Fluid、Tris-Glycine gel、SDS Running Buffer、SYPRO RUBY 染劑 (cat#C-27028, Molecular probe)、乙醇、Tris 1.5 M (pH 8.8)、Tris 1.0 M (pH 6.8)、30% 丙烯醯胺、甘油、10% SDS、10% APS、催化劑 TEMED、10 x 電泳緩衝液、2 x 蛋白質緩衝液、Prestained protein ladder、PVDF 轉印膜、Transfer Buffer、5% 脫脂牛奶、10 x PBS、10 x PBST、TMB、膠內 peptide 萃取溶液組 (cat#PP0100, SIGMA)。

### 三、生物材料：

BHK-21(倉鼠腎細胞株)

## 肆、研究過程與方法

### 一、研究流程圖



### 二、研究方法

#### 1. 細胞核蛋白萃取：

利用 Nuclear/Cytosol Fractionation Kit (cat#K266-100. BioVision)、

A、加入 0.4 ml 細胞質萃取緩衝液 A，以刮刀將細胞刮下，移入微量離心管中，以震盪器最高速震盪 15 秒。靜置冰上 10 分鐘。

B、加入 22  $\mu$ l 細胞質萃取緩衝液 B，最高速震盪 5 秒。置於冰上 1 分鐘。

C、最高速震盪 5 秒，以 16000 xg 離心 5 分鐘，4  $^{\circ}$ C。

D、保存上清液為細胞質蛋白萃取液。

E、懸浮沉澱物於 200  $\mu$ l 細胞核萃取緩衝液。

F、以最高速震盪 15 秒，靜置冰上 10 分鐘，重複 4 次。

G、以 16000 xg 在 4  $^{\circ}$ C 離心 10 分鐘。

H、收集上清液為細胞核蛋白萃取液。



## 2. TCA 沉澱：

- A、加入 5%~20%的 TCA。
- B、在 4 °C 靜置 1 小時。
- C、以 15000 rpm 在 4 °C 離心 15 分鐘，移除上清液。
- D、加入 1 ml 丙酮-0.07%  $\beta$ -mercaptoethanol，用小夾子打散沉澱物，靜置於 4 °C，5 分鐘。
- E、以 15000 rpm 在 4 °C 離心 15 分鐘，移除上清液。
- F、加入 1 ml 丙酮-0.07%  $\beta$ -mercaptoethanol，用小夾子打散沉澱物，靜置於 4 °C 5 分鐘。
- G、以 15000 rpm 在 4 °C 離心 15 分鐘，移除上清液。
- H、風乾。

## 3. 二維蛋白質電泳 2D electrophoresis：

溶液	藥品配方
Pre-rehydration buffer	尿素 6 g + CHAPS 加二次水到 11.625 ml
DTT	DTT 50 mg + 5 ml 1x NuPAGE LDS 緩衝液
125 mM (IAA)	Iodocacetamide 116 mg
0.5%瓊脂膠溶液	洋菜膠 0.025g + 5 ml Tris-Glycine running buffer

- A、將 TCA 沉澱後的蛋白質溶於 200  $\mu$ l Pre-rehydration buffer。
  - B、加入 2  $\mu$ l 蛋白酶抑制劑 (protease inhibitor)，4  $\mu$ l DTT，以震盪器 1000 rpm，搖晃 10 分鐘。
  - C、以 14000 rpm 常溫離心 15 分鐘，取上清液為實驗用蛋白質。
- 等電聚焦電泳 (IEF) 溶液

	Invitrogen 7 cm pH 梯度膠條	Amersham 13 cm pH 梯度膠條
蛋白質量 ( $\mu$ g)	60	200
蛋白溶液體積 ( $\mu$ l)	60/x	200/x
復水緩衝液 ( $\mu$ l)	148-60/x	227.5-200/x
PH 梯度形成劑 ( $\mu$ l)	0.8	2.5
溴瑞香草藍 ( $\mu$ l)	3.2	5
還原劑 ( $\mu$ l)	6.4	10
蛋白酶抑制劑 ( $\mu$ l)	1.6	5
蛋白質濃度 ( $\mu$ g/ $\mu$ l)	x	X
溶液總量 ( $\mu$ l)	160	250

- A、將溶液、pH 梯度膠條放入 IEF 電泳槽中，並在膠條上加上一層油。
- B、靜置 16 小時。
- C、進行等電聚焦電泳 (IEF) 500 V, 30 min + 1000 V, 30 min + 8000 V, 5 hrs
- D、膠條浸於 2 ml 37 °C 還原劑 DTT 15 分鐘。
- E、膠條浸於 2 ml 37 °C 125 mM IAA 15 分鐘。
- F、將 pH 梯度膠條朝上推入膠體縫細。
- G、以瓊脂膠密封電泳膠體上方。
- H、使用 running buffer，125 V 2 hrs (7 cm)，20 mA 20 hrs (13 cm)，進行電泳。
- I、電泳完畢以 SYPRO RUBY 或 Colloidal Blue Stain 染色。經圖譜分析後，將有變化的 spot 取下，進行 In-Gel Digestion。

#### 4. 螢光染色 SYPRO RUBY Stain :

- 5. 在蛋白質固定液浸泡 30 分鐘
- 6. 以 SYPRO RUBY 浸泡染色 16 小時
- 7. 用清洗緩衝液清洗 2 次，5 分鐘，1 次 50 分鐘。
- 8. 用一次水清洗 10 分鐘。
- E、使用 SYPRO RUBY 掃描器 Typhoon 9200 掃描。

#### 5. In-Gel Digestion :

利用 In-gel digestion Kit (cat#PP0100, SIGMA)將 spot 中的蛋白質分解為 peptide，並送質譜儀分析。

- A、以 tip 將有變化的蛋白質取下，放入 650  $\mu$ l 的微量離心管中
- B、加入 200  $\mu$ l 退染溶液，在 37°C 反應 30 分鐘，移除溶液。
- C、重複步驟 2。
- D、加 100  $\mu$ l 100% acetonitrile，反應 5 分鐘，10000 xg 離心 1 分鐘，移除上清液。
- E、真空濃縮機乾燥膠體，30 分鐘。
- F、加 20  $\mu$ l 胰蛋白酶溶液。
- G、加 50  $\mu$ l 胰蛋白酶反應緩衝液。
- H、壓碎膠體。稍微離心一下，靜置於 37°C 反應 16 小時。

## 6. Western Blot :

根據質譜儀分析結果，針對目標蛋白質分析各個胞器表現變化。

加入 15 ~ 20  $\mu\text{g}$  蛋白質、sample buffer、蛋白酶抑制劑和 DTT。

沸水煮 5 分鐘，冰 1 分鐘。

於電泳緩衝液中，140 V 跑 1.5 小時。

將膠體、PVDF 轉印膜、3M 濾紙浸於 Transfer Buffer 中 5 分鐘。

以 25 V、200 mA，轉印 80 分鐘。

在 5 ml 5% PBS - skim milk 中，室溫 Blocking 1 小時。

在 5 ml 5% PBST - skim milk 中加入 anti-Prohibitin (1:500)、anti-Actin (1:2000)，4 °C 搖晃 16 小時。

在 5 ml 5% PBST - skim milk 中加入 Goat anti mouse IgG HRP-linked (1:2000)，室溫搖晃 2 小時。

I、TMB 呈色或螢光壓片。

## 7. SDS 電泳膠體製作 SDS Page :

下膠 Resolving Gel 5 ml (1 片膠) 上膠 Stacking Gel 1 ml (1 片膠)

藥品名稱 (ml)	12%	藥品名稱 (ml)	體積
二次水	1.6	二次水 ddH <sub>2</sub> O	0.68
30% 丙烯醯胺	2.0	30% 丙烯醯胺	0.17
1.5 M Tris pH8.8	1.3	1.5 M Tris pH6.8	0.13
10% SDS	0.05	10% SDS	0.01
Ammonium persulfate	0.05	Ammonium persulfate	0.01
催化劑 TEMED	0.002	催化劑 TEMED	0.001

A、將玻璃片、鋁版、夾板 (spacer) 固定於鑄膠器。

B、將下膠溶液加入鑄膠器。

C、用 95% 酒精加入夾縫中。

D、等待凝固。

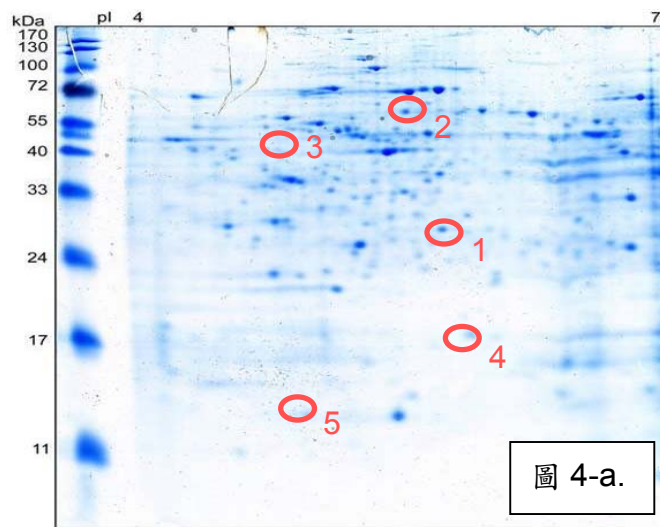
E、倒掉酒精，加入上膠溶液，插入間隔版 (comb) 等其凝固。

## 伍、研究結果

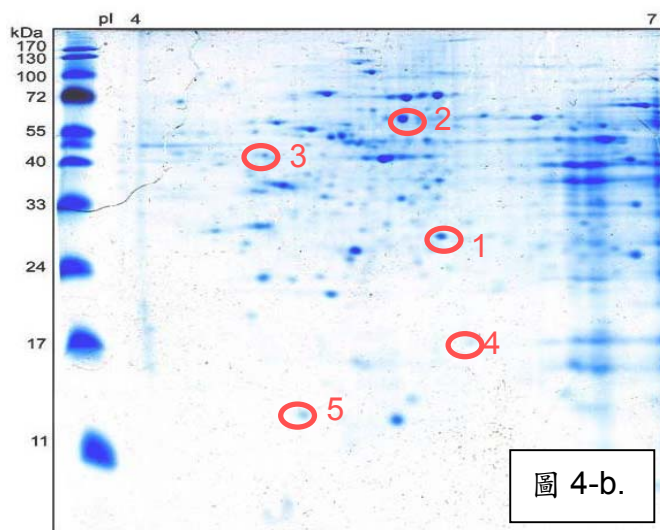
一、將 BHK-21 以 2  $\mu$ M rVP1 處理 6 小時後，利用 2D electrophoresis 發現細胞質中蛋白質（表 1.）表現量的變化（圖 4.）

表 1. protein amount differences after rVP1 treatment

No	蛋白質	變化
1	prohibitin	上升
2	60 kDa heat shock protein (Hsp60)	上升
3	unknown	上升
4	Transgelin 2	上升
5	Unknown	上升



Cytoplasm (no nucleus) of BHK-21 13 cm pH 4-7 rVP1 0  $\mu$ M 6 h



Cytoplasm (no nucleus) of BHK-21 13 cm pH 4-7 rVP1 2  $\mu$ M 6 h

圖 4-a. 2D result of BHK-21 after 0  $\mu$ M rVP1 treatment for 6 h

圖 4-b. 2D result of BHK-21 after 2  $\mu$ M rVP1 treatment for 6 h

將 BHK-21 以 2  $\mu$ M rVP1 處理 6 小時後，分離細胞質和細胞核，經由 2D 分析，可觀察到細胞質中許多蛋白質表現量有差異。處理前後 Prohibitin 表現量：圖 5-a. (0  $\mu$ M 6 h)、圖 5-b. (2  $\mu$ M 6 h)、圖 6.。

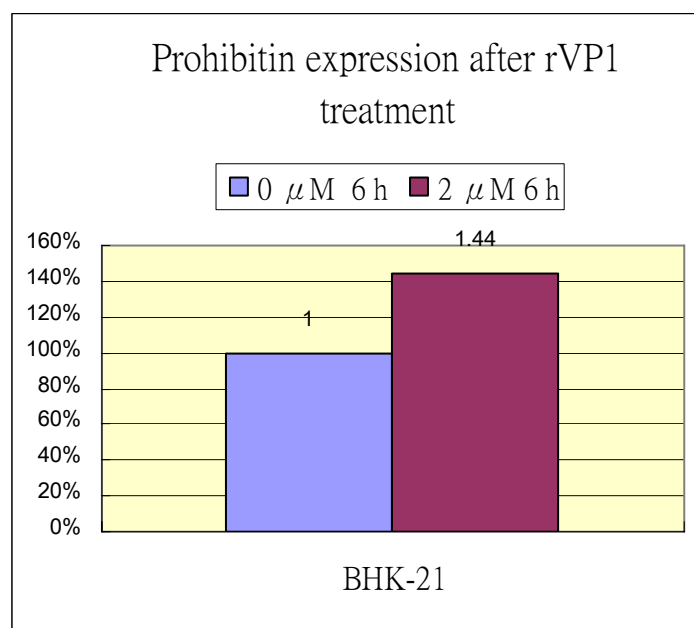
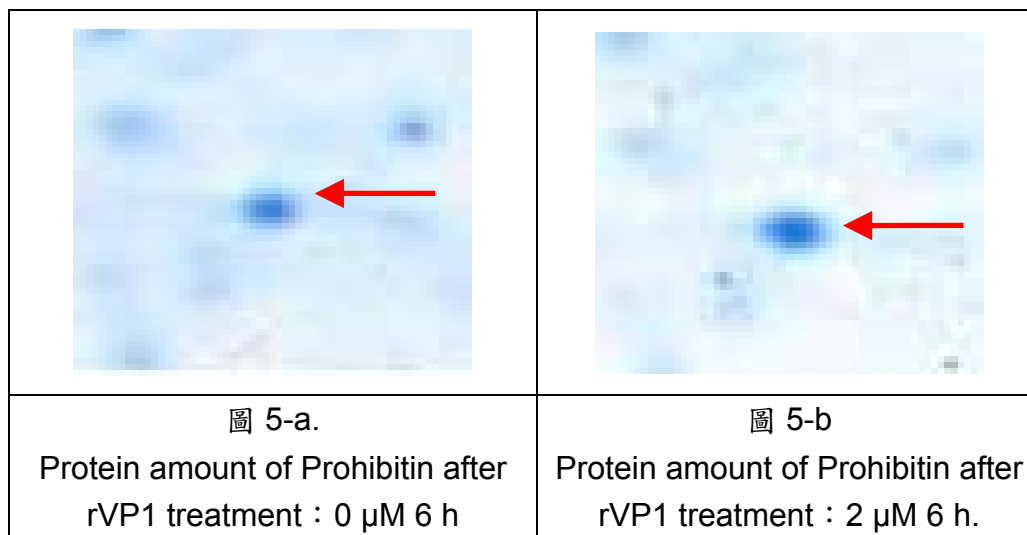
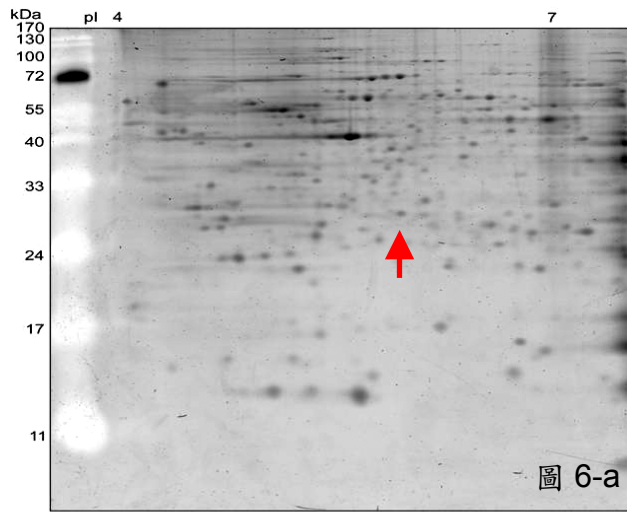
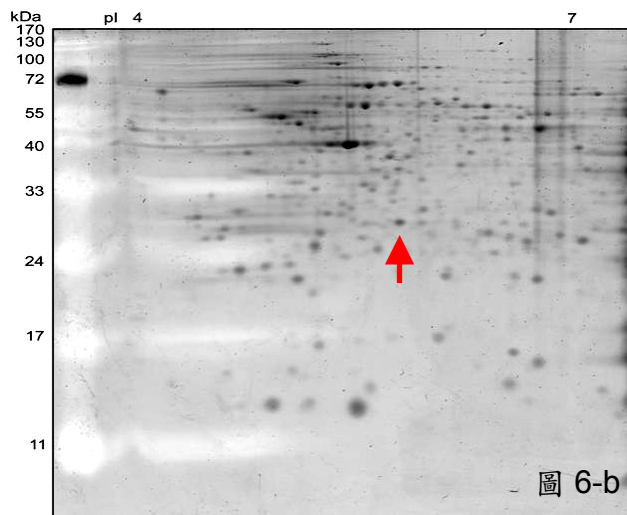
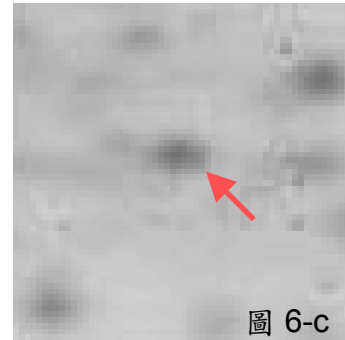


圖 6. protein amount of Prohibitin

二、在大量表現磷酸化 Akt 蛋白質的 BHK-21 [Akt-DA] 以 2  $\mu$ M rVP1 處理 6 小時後，進行二維蛋白質電泳觀察 Prohibitin 在大量表現磷酸化 Akt 蛋白質的細胞之細胞質中，對於 rVP1 的刺激所引起之表現增加現象，依然存在（圖 6、圖 7。）。



RUBY stain 950410-(7)  
Cytoplasm (no nucleus) of BHK-21 [Akt-DA] 13 cm pH4-7 : control



RUBY stain 950410-(7)  
Cytoplasm (no nucleus) of BHK-21 [Akt-DA] 13 cm pH4-7 : rVP1 2  $\mu$ M 6 h

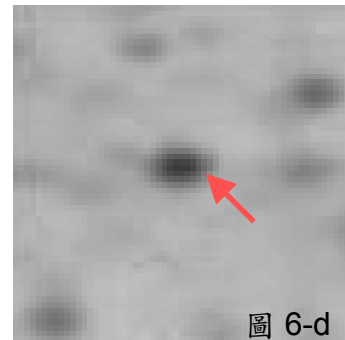


圖 6-a. 2D result of BHK-21 [Akt-DA] after 0  $\mu$ M rVP1 treatment for 6 h

圖 6-b. 2D result of BHK-21 [Akt-DA] after 2  $\mu$ M rVP1 treatment for 6 h

圖 6-c. Protein amount of Prohibitin after 0  $\mu$ M rVP1 treatment for 6 h

圖 6-d. Protein amount of Prohibitin after 2  $\mu$ M rVP1 treatment for 6 h

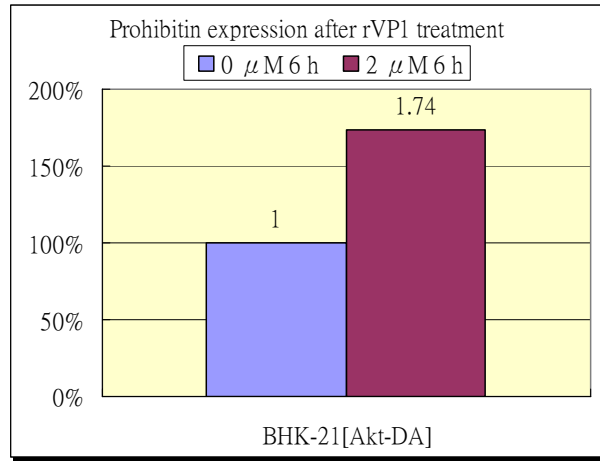


圖 7. protein amount of Prohibitin

三、利用 Western Blot 觀察以 2  $\mu$ M rVP1 處理 6 小時後，細胞各部 Prohibitin 的表現變化。其中細胞總表現量上升，細胞質中表現增加，細胞核表現量大幅減少，粒線體變化不明顯，細胞膜表現量下降。

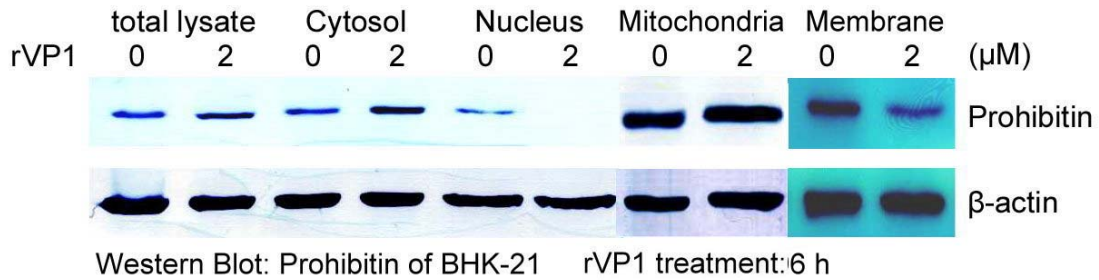


圖 8.

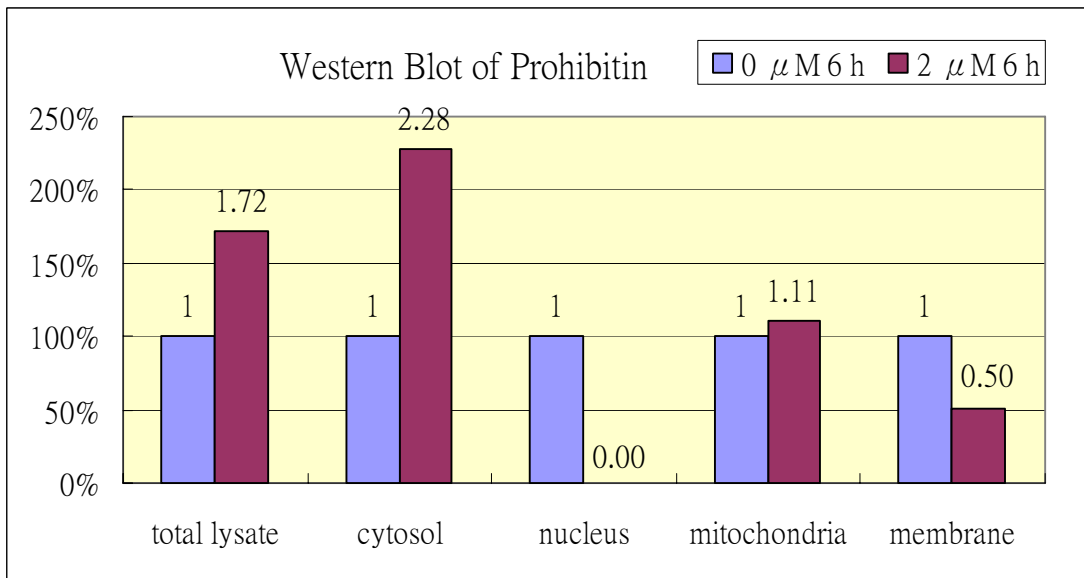


圖 9.

圖 8.、圖 9.

Western Blot result of protein amount of Prohibitin in different parts of cells

四、以 2  $\mu$ M rVP1 分別處理細胞 1、2、4、6 小時，Western Blot 結果顯示不論時間長短，細胞質中 Prohibitin 表現量皆有上升的現象；細胞核中表現量則皆下降。

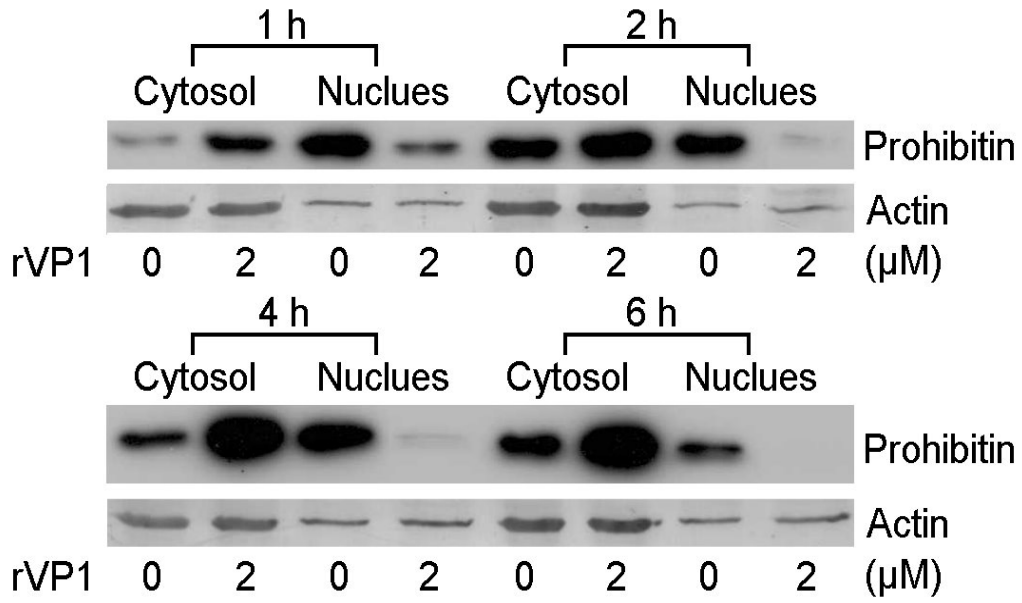


圖 10.

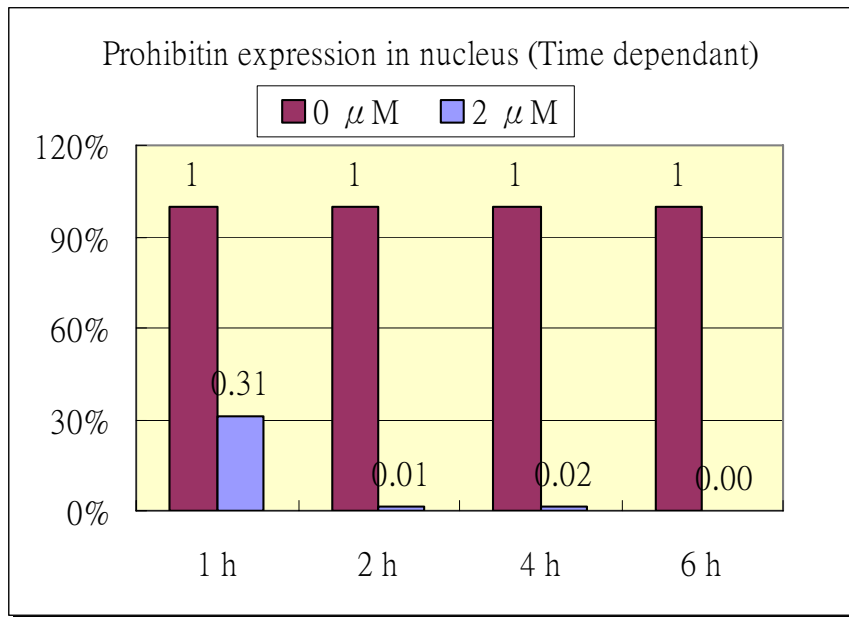


圖 11.

圖 10.、圖 11.

Western Blot result of protein amount of Prohibitin after different length of rVP1 treatment



五、以 0.5 ~ 2  $\mu$ M rVP1 處理 BHK-21 6 h，其細胞核中 Prohibitin 的表現皆下降

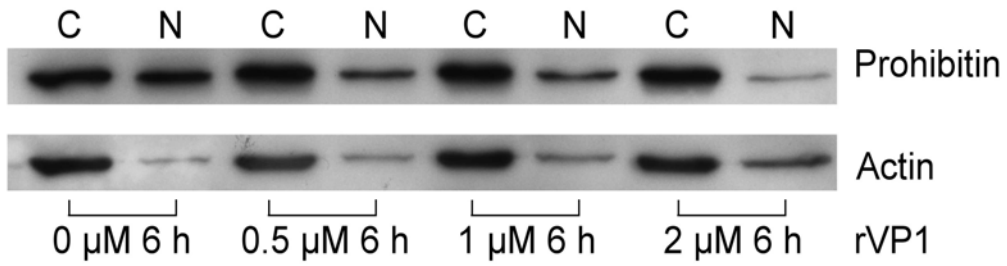


圖 12

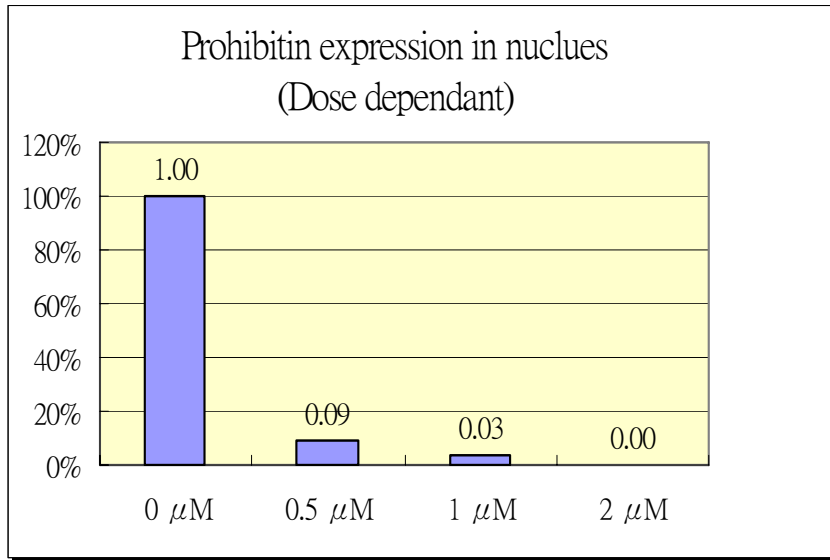


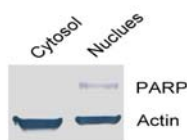
圖 13.

圖 12.、圖 13.

Western Blot result of protein amount of Prohibitin under dose dependant rVP1 treatment

## 陸、討論

- 一、Prohibitin 在細胞中分布廣泛、扮演多種角色，並被認為和細胞凋亡有關的蛋白質(3)，在經 rVP1 處理後表現量上升，故選擇 Prohibitin 進行進一步的分析。
- 二、由於在細胞凋亡的進程中，Akt 會去活化而停止作用，因此在大量表現磷酸化 Akt 蛋白質的細胞株中，Prohibitin 在以 rVP1 處理細胞後，其表現量依舊上升(圖 6)。這意味著，Prohibitin 對於細胞凋亡的生理作用，可能不經由 Akt 之調控；換而言之，Prohibitin 在細胞凋亡訊息傳遞過程，不位在 Akt pathway 上。符合預設之目的：尋找 Akt pathway 以外的細胞凋亡相關蛋白質。
- 三、圖 8 顯示細胞質中的 Prohibitin 在 rVP1 處理後，表現減少，足以證明二維蛋白質電泳所發現之現象具有再現性。由於細胞核中的 Prohibitin 在 rVP1 處理後，表現量大幅減低，推測在 rVP1 誘發細胞凋亡的過程中，細胞核中的 Prohibitin 會有遷移至細胞質的現象。目前已有研究(4)指出，Prohibitin 具有蛋白質自細胞核移動至細胞質所需之 NES(nuclear export sequence)，其 NES 為 ITYLPAGQSVLLQL。因此 rVP1 促使 Prohibitin 遷移至細胞質中是可能發生的現象。此外，細胞以 rVP1 處理後，Prohibitin 的總表現量上升，推測其自細胞核的遷移，並不是為了送至細胞質中分解，而是有其確切的功能存在。由於分布於細胞膜上之 Prohibitin，被認為和 IgM receptor 有交互作用，因此其表現量的下降，可能是為了減少和 IgM 抗體結合的機會，進而避免遭到吞噬細胞吞噬。
- 四、圖 12 顯示，僅需要低濃度的 rVP1 便足以引起 Prohibitin 自細胞核遷移至細胞質中；同時圖 10 亦說明了，細胞接觸 rVP1 後，在一小時之內便發生了 Prohibitin 的移動，甚至在 2 小時以內便幾乎完全遷徙至細胞質中。據此推測，Prohibitin 在 rVP1 誘發細胞凋亡的過程中，Prohibitin 遷移的現象發生的十分迅速，可能為細胞凋亡的上游反應之一。
- 五、未來可利用 pull-down 的方式，尋找 prohibitin 在細胞質中有交互作用的蛋白質，和其於細胞核中作用蛋白有何不同，進而探討其移動至細胞質之生理意義。
- 六、本實驗最初以 PARP 作為細胞核的 marker(圖 14.)，然在後來的實驗中，發現 PARP 在 rVP1 處理 6 小時後會開始降解，只適合當做 6 小時實驗內的細胞核 marker，反之 Actin 在細胞核中的表現雖較其他胞器為少，但是卻十分穩定，因此本實驗除了 PARP 外也使用 Actin 作為 Western Blot 之對照組，確保各組之蛋白質量相同。可能的話，將以  $\alpha$ -tubulin 作為細胞質之 marker，以 Lamin B1 或 Histone 2B 作為細胞核



之 marker，確保分離出來之胞器的品質。

圖 14.

## 柒、結論與未來展望

### 一、結論：

1. 以 rVP1 處理細胞後，細胞核中之 Prohibitin 有遷移至細胞質中的現象。
2. 在細胞中大量表現磷酸化 Akt 蛋白質，並不能反轉由 rVP1 所引起的 Prohibitin 移動現象，推測 Prohibitin 非位於 Akt pathway 之中。
3. 在處理 rVP1 後，細胞中 Prohibitin 之表現量上升，推測其遷移至細胞質中的目的，並非為了將其降解，而可能有更重要的生理意義存在。
4. 在細胞凋亡的過程中，Prohibitin 移出細胞核現象發生地十分迅速，推測 Prohibitin 具有反應上游的調控功能。

### 二、應用：

在人類乳癌細胞 (T-47D) 中，大量表現磷酸化的 Akt 蛋白質，可以大幅提高其對 rVP1 的抵抗能力。由此可見人類乳癌細胞十分依賴 Akt pathway 保護其免於細胞凋亡。然而在 BHK-21 中，大量表現磷酸化的 Akt 蛋白質，卻無法有效抵抗 rVP1，因此，不同的細胞對於 Akt pathway 的依賴程度亦不相同。假若 Prohibitin 具有保護細胞免於凋亡的功能，我們是否能抑制癌細胞所依賴的 Akt pathway，並以 Prohibitin 保護正常細胞，再以 rVP1 一類之藥物誘發癌細胞的細胞凋亡，期待在不傷害正常組織的前提下，針對癌症進行治療。

## 捌、參考文獻

- 一、余玉林 (民 86 年)。認識口蹄疫及提昇全民防疫共識與責任。  
<http://www.sinica.edu.tw/as/weekly/86/617/yu.txt>
- 二、Jei-Ming Peng, Shu-Mei Liang, and Chi-Ming Liang (2004) . VP1 of Foot-and-Mouth Disease Virus Induces Apoptosis via the Akt Signaling Pathway. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 2004(279)52168-52174 December.
- 三、Mishra, S., Murphy, L., Murphy L. (2005). The prohibitins: emerging roles in diverse functions. J Cell Mol Med, 2006 Apr-Jun;10(2):353-63.
- 四、Rastogi, S., Joshi, B., Fusaro, G., Chellappan, S.(2006) . Camptothecin induces nuclear export of prohibitin preferentially in transformed cells through a CRM-1-dependent mechanism. J Biol Chem. 2006 Feb 3;281(5):2951-9.
- 五、Zhou H, Li XM, Meinkoth J, Pittman RN (2000) . Akt regulates cell survival and apoptosis at a postmitochondrial level. J Cell Biol. 2000 Oct 30; 151 (3) , 483-494.

## 評語

VP1 蛋白對 BHK-21 細胞造成 apoptosis 利用 2D-PAGE 發現 prohibitin 會從細胞核轉移至細胞質，然而對於這個分子現象的變化，未能給予生理意義的解釋。