

· 研究快报 · 文章编号: 1000-2790(2000)02-0253-02

## 原癌基因 *c-myc* 产物在小鼠早期胚胎中的表达

李艳红<sup>1</sup>, 姚元庆<sup>1</sup>, 姚兵<sup>2</sup>, 黄威权<sup>2</sup>, 杨梦庚<sup>1</sup>

(1 第四军医大学唐都医院妇产科, 陕西 西安 710038, 2 第四军医大学基础部组织胚胎学教研室)

关键词: 原癌基因蛋白 *c-Myc*; 胚胎; 免疫组织化学

中图分类号: Q492.6 文献标识码: A

**0 引言** 原癌基因 *c-myc* 的表达产物, 是一种与DNA结合的磷酸化蛋白, 具有转录调控因子的作用。 *c-Myc* 蛋白通常和Max结合, 二者形成异二聚体后再和DNA核心序列结合, 控制DNA转录, 从而发挥基因调控的作用<sup>[1]</sup>。 以往研究发现 *c-Myc* 蛋白在小鼠卵母细胞、精子细胞及孕中期胚胎中存在。 利用RT-PCR方法在着床前胚胎发育过程中可以检测到 *c-myc* 原癌基因转录。 最早在小鼠胚胎基因组激活期即2胚细胞期<sup>[2]</sup>。 早期胚胎能否表达 *c-Myc* 蛋白, 未见报道。 本研究用免疫组织化学ABC法探讨了 *c-Myc* 蛋白能否在着床前小鼠胚胎中表达, 为 *c-Myc* 对着床前小鼠胚胎发育的功能意义提供形态学依据。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 孕马血清促性腺激素(PMSG)、人绒毛膜促性腺激素(hCG)由宁波第二激素厂提供, *c-Myc* 单克隆抗体由北京中山生物技术有限公司提供, ABC试剂盒为武汉博士德生物工程有限公司提供。 小鼠早期胚胎的获取: 选用本校实验动物中心提供的健康昆明种小白鼠鼠龄(45±5)d, 体质量(25±5)g。 雌鼠于下午16:00 PMSG 10 IU ip, 48 h后hCG 10 IU ip, 当晚与雄鼠2:1合笼。 次日晨检查阴栓, 将有阴栓者分别于注射hCG后32~34, 48, 72, 94 h颈椎脱臼法处死, 解剖显微镜下收集2细胞、4细胞、8细胞、桑椹胚及早期囊胚等各个不同时期胚胎<sup>[3]</sup>。 将胚胎细胞置于铬钒明胶处理过的载玻片上, Bouin's液固定。

**1.2 方法** 将固定过的组织切片用PBS洗涤, 5 min, 3次; 甲醇双氧水处理30 min, 以抑制内源性过氧化物酶活性; PBS洗5 min, 3次; 加入小鼠单克隆抗体(1:100稀释), 4过夜; PBS洗5 min, 3次; 二抗为生物素标记的羊抗小鼠IgG

收稿日期: 1999-03-19; 修回日期: 1999-08-15

作者简介: 李艳红(1970-), 女(汉族), 甘肃省甘谷县人。 硕士生(导师杨梦庚), 医师。 Tel (029) 3577367 (H) Email zhwlyh@fmmu.edu.cn

(1:200稀释), 室温孵育1 h; PBS洗5 min, 3次; ABC复合物(1:100稀释)孵育30 min; PBS洗涤, DAB-双氧水显色10 min, 终止反应。 37℃温箱烘干, 二甲苯透明, 封片。 以生理盐水代替一抗作为阴性对照。

**2 结果** 免疫组织化学结果显示, *c-Myc* 蛋白免疫反应阳性细胞呈深棕色, 背景不着色, 阳性细胞很易辨认。 小鼠着床前胚胎从2细胞期、4细胞期(图1)、6细胞期(图2)、8细胞期(图3)及囊胚期(图4)均呈 *c-Myc* 蛋白免疫反应阳性, 阳性物质分布于胞质和胞核中。 细胞核 *c-Myc* 蛋白的免疫染色较胞质的强, 本实验也发现, 在不同时期的胚胎中存在表达上的差异性, 在8细胞期以前的早期胚胎中 *c-Myc* 表达较强, 各个细胞均有较强表达, 而在8细胞至囊胚期表达强度减弱, 而且同一胚胎的不同细胞其 *c-Myc* 蛋白免疫染色的强度也不同, 有些细胞中免疫染色较强, 有些细胞信号很弱, 甚至没有阳性着染(图4)。 阴性对照试验呈阴性反应(图5)。

**3 讨论** 近年来, 国外学者研究发现, 着床前小鼠胚胎中可检测到 *c-erbB1*, *c-fms*, *c-ras*, *c-myc* 等原癌基因呈阶段特异性表达<sup>[3]</sup>。 有研究发现 *c-Myc* 蛋白在小鼠卵母细胞、精子细胞、孕中期的胚胎中存在。 随后在着床前胚胎中应用RT-PCR方法检测到 *c-myc* mRNA。<sup>[2]</sup> 小鼠胚胎基因组在2细胞期开始激活, 而在晚2细胞期可检测到 *c-myc* mRNA, 可见 *c-myc* 是胚胎基因组中最早开始转录的基因之一, 同时也发现 *c-myc* 基因从胚胎基因组中以较高水平发生转录。 不同发育阶段 *c-myc* 表达水平不同, 在4细胞期其mRNA最高达100~1000拷贝/胚胎, 相比之下, 母体(卵母细胞)的转录水平很低<sup>[1]</sup>。

实验结果表明, *c-Myc* 蛋白在小鼠着床前胚胎各个时期均有表达。 *c-myc* 的表达对胚胎发生的功能意义及作用机制研究较少, Naz等<sup>[2]</sup>认为, *c-myc* 原癌基因不仅有表达, 而且对着床前胚胎发育起作用, 在早期卵裂过程中有十分重要的促进作用。 *c-myc* 基因有促进DNA复制的作用, 有人以微注射技术向细胞内注射 *c-Myc* 蛋白能刺激细胞DNA合成。 已证实, *c-myc* 的表达与细胞增生率及促有丝分裂信号转导密切相关<sup>[2]</sup>。 *c-myc* 转录产物作为一种转录因子, 参与细胞内其他基因尤其是那些与细胞增生有关的基因的转录调控。 另有人认为 *c-myc* 原癌基因产物在许多细胞中起介导生长因子的作用<sup>[4,5]</sup>。 我们推测, 早期鼠胚表达的 *c-Myc* 蛋白可能也通过参与信号转导和介导生长因子等机制对早期胚胎的增殖发育起促进作用, 但是这个问题尚需进一步功能性的研究加以证实。 同时, 我们也观察到在着床前小鼠胚胎不同发育时期存在着表达上的差异性, 这也显示出 *c-Myc* 蛋白在不同时期所起作用的不同。 可能在8细胞以前表达水平较高, 其促进胚胎生长发育的作用较强, 而在8细胞以后这种作用有所减弱。 据此推测 *c-Myc* 蛋白表达水平的高低可能与其对胚胎发育的调控作用的强弱有关, 在早期这一作用也许更强一些。 但确切的作用机制仍需进一步研究加以说明。

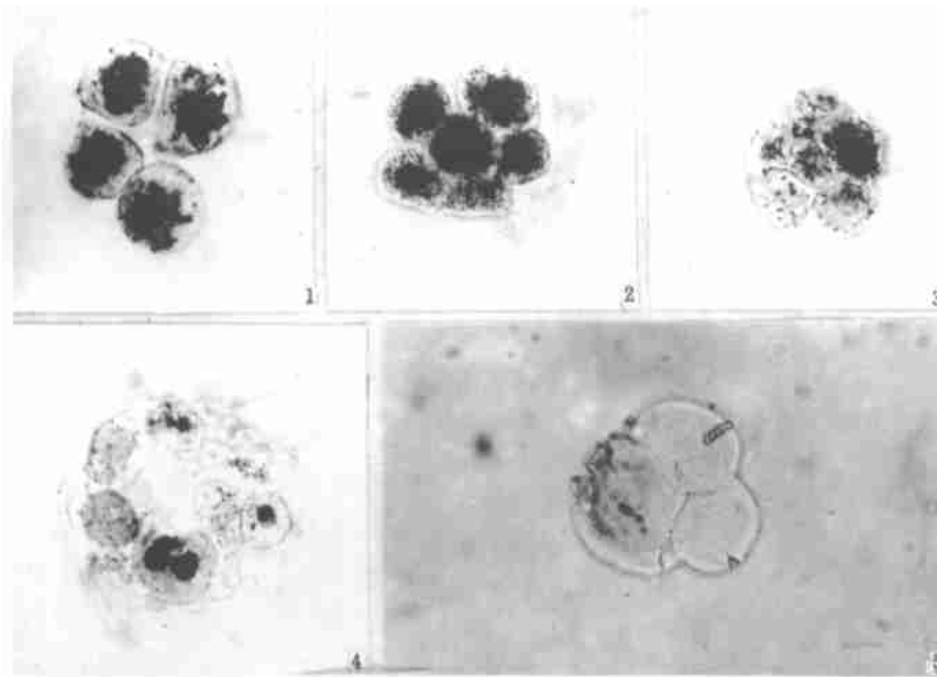


图 1 c-Myc 在小鼠着床前胚胎 4 细胞期阳性表达 ×400  
 图 2 c-Myc 在小鼠着床前胚胎 6 细胞期阳性表达 ×400  
 图 3 c-Myc 在小鼠着床前胚胎 8 细胞期阳性表达 ×400  
 图 4 c-Myc 在小鼠着床前胚胎囊胚期阳性表达 ×400  
 图 5 阴性对照呈阴性反应 ×400

参考文献

[1] Pal SK, Crowell R, Kiessling AA *et al*. Expression of proto-oncogenes in mouse egg and preimplantation embryos[J]. *Mol Reprod Dev*, 1993; 35(1): 8- 15.  
 [2] Naz RK, Kumar G, Minhas BS. Expression and role of c-myc protooncogene in murine preimplantation embryonic development [J]. *J Assist Reprod Genet*, 1994; 11(4): 208- 216  
 [3] Ahmad K and Naz RK. Presence and possible role of c-ras and

nuclear (c-fos and c-jun) protooncogene product in preimplantation embryonic development in mice[J]. *Mol Reprod Dev*, 1993; 36(3): 297- 306  
 [4] Evan GI, Littlewood TD. The role of c-myc in cell growth[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1993; 3(1): 44- 49  
 [5] Cole MD. The myc oncogene: Its role in transformation and differentiation[J]. *Annu Rev Genet*, 1986; 20(2): 361- 384

编辑 王小仲

· 研究快报 · 文章编号: 1000-2790(2000)02-0254-02

### 鼻息肉中转化生长因子 α 及其受体的表达

陈福权, 黄维国, 乔 莉, 姜鸿彦  
(第四军医大学西京医院耳鼻咽喉科, 陕西 西安 710033)

关键词: 鼻息肉; 转化生长因子 α 受体, 表皮生长因子; 增殖细胞核抗原; 免疫组织化学  
中图分类号: R765. 25 文献标识码: A

收稿日期: 1999-10-26; 修回日期: 1999-11-01  
作者简介: 陈福权(1968-), 男(汉族), 福建省仙游县人 主治医师, 硕士 Tel (029) 3375385 Email chenfa@fmmu.edu.cn

**0 引言** 转化生长因子 α(TGFα)在许多恶性上皮肿瘤及某些正常组织和细胞如正常人类皮肤角细胞和活化的巨噬细胞、嗜酸性粒细胞中表达 TGFα和表皮生长因子(EGF)竞争表皮生长因子受体(EGFR),对多种组织来源的上皮细胞有促增殖活性,对间质细胞的增殖和血管内皮细胞的迁移有促进作用<sup>[1]</sup>。我们研究 TGFα及其受体 EGFR、增殖细胞核抗原(PCNA)在鼻息肉组织中的表达,探讨 TGFα在鼻息肉发病机制中的作用

**1 材料和方法** 鼻息肉组织标本 20 例来自我科接受经鼻内窥镜鼻息肉切除术的患者,男 12 例,女 8 例,年龄 25~ 54 岁,6 例正常下鼻甲组织来自接受鼻整形手术患者 所有标本均用 100 mL · L<sup>-1</sup>中性福尔马林固定,石蜡包埋,作 5 μm 厚的连续切片。鼠抗 TGFα 单克隆抗体、鼠抗 PCNA 单克隆抗体为美国 Calbiochem 公司产品,兔抗 EGFR 多克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品(博士德公司提供,即用型),SABC 试剂