

研究快报

c-myc 基因上游转录单位的研究

孙崧泉 H. Naora* 苏成芝

(第四军医大学,西安)

c-myc 是一种与禽类逆转录病毒 M-29 v-myc 同源的原癌基因。已有证据表明, c-myc 在 B 细胞瘤发生和发展过程中起着重要作用。在正常细胞中, c-myc 一般保持着低水平的表达, 而当细胞发生癌变时, c-myc 的表达则增高。然而, 在正常细胞中, 细胞是如何保证 c-myc 不发生过度表达的, 这一问题仍未得到解答。1983 年 Naora 等人对约 70 对基因分析后, 提出了基因领域效应的假说: 处在同一 DNA 链上, 且转录方向相同的两个基因, 若它们之间距离小于规定长度, 则两个基因将在转录水平互相干扰。根据这一假说, 我们提出 c-myc 基因旁侧可能存在着某种活跃的转录单位, 由于它与 c-myc 间距离很短, 从而干扰了 c-myc 基因在正常细胞中的表达。本文目的旨在验证这一推测。

实验用的 c-myc 系小鼠基因组 DNA 经 MboI 部分消化后, 克隆于 λ Ch28 载体, 经筛选所得的 λ c-myc 克隆, 该克隆含有约 13kb 的插入片段, 其中包括 c-myc 原癌基因及其 3' 和 5' 旁侧序列。实验利用来源于正常小鼠 mRNA 的 ^{32}P 标记 cDNA 探针, 以 Southern 杂交的方法, 在 c-myc 5' 上游区域检测到一段活跃转录单位, 以 v-myc 探针验证了正常细胞中 c-myc 的不表达, 这一结果在 BALB/c 小鼠的肝脏和脾脏同时被观察到。将此 5' 上游序列克隆于 Bluescribe 质粒, 构建了 pKB3.8 质粒。进一步分析 DNA 序列, 经计算机分析比较 (Gen Bank 和 EMBL) 发现, 该序列与

已知的基因序列无同源性, 提示 c-myc 5' 上游可能存在一种新的转录单位。

从正常 BALB/c 小鼠肝脏、脾脏、肾脏和脑组织中提出 poly(A)⁺RNA, 以 pKB3.8 为探针, Northern 杂交结果显示, 该转录单位在不同组织均有表达, 且转录产物为 5.8kb, 由此推断该转录单位为 15—35kb (内含子与外显子之和)。实验以 pKB3.8 为模板, 合成了不同转录方向的均一标记的 RNA 探针 (T₃ 和 T₇), 用此探针与 poly(A)⁺ RNA 进行 RNase Mapping 分析, 得出如下结果: (1) 该转录单位的转录方向与 c-myc 相同; (2) c-myc 距离这一转录单位约 2.4—3.4kb, 仅为规定长度的 18—25% (根据基因领域效应, 该转录单位, 15—35kb, 与 c-myc 基因, 5kb, 之间距离应为 13.5kb)。

本文初步证实了 c-myc 基因 5' 上游区存在着一个活跃转录的转录单位, 由于其与 c-myc 基因间距离很小, 因此, 在正常细胞中, c-myc 的表达受到了干扰, 而保持着低水平表达或不表达。根据本文结果及基因领域效应的假说, 我们推测, 在肿瘤细胞中, 可能由于染色体转位破坏了旁侧转录单位 (如伯金氏淋巴瘤等), 或原病毒插入增大了它们之间的距离 (如某些 T 淋巴瘤), 使 c-myc 基因从基因领域效应的抑制中解脱出来, 造成了 c-myc 癌基因的激活。该现象的分子机制正在研究之中。

[本文于 1987 年 12 月 12 日收到]

• 澳大利亚国立大学生物研究院分子遗传学系。