

研究快报

FMR-1 同源基因在大鼠脑发育过程中持续表达*

季红 黄涛 沈岩 吴冠芸

(中国医学科学院基础医学研究所, 医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005)

摘要 以克隆的人 FMR-1 cDNA 片段为探针, 进行 RNA 印迹杂交, 检测发育过程中大鼠脑组织 FMR-1 同源基因的表达。结果显示从胚胎早期至出生后一个月该基因有持续表达, 其中在胚胎发育晚期表达量较高, 提示 FMR-1 基因可能参与胎脑发育的调节。

关键词 FMR-1 基因, 脑发育, 表达

脆性 X 综合征是最常见的遗传性智力低下疾病, 其遗传学特点为 Xq27.3 处叶酸敏感脆性位点。在该位点已克隆到脆性 X 智力低下基因-1 (fragile X mental retardation-1, FMR-1), 其 cDNA 长 4.5 kb^[1]。FMR-1 基因在不同种属中高度保守。小鼠的同源基因 fmr-1 与人 FMR-1 基因的氨基酸序列有 98% 的相似性^[2], 在胚胎期中枢神经系统 (CNS) 也存在着与 FMR-1 基因类似的表达方式^[3]。敲除 (knock out) fmr-1 基因的小鼠表现许多与人类脆性 X 综合征类似的症状, 包括学习缺陷^[4], 提示 FMR-1 基因与 CNS 发育, 特别是发育晚期密切相关。大鼠是研究神经系统发育常用的动物模型, 便于精细取材。为了研究 FMR-1 基因在 CNS 发育过程中的作用, 我们应用从人的胎盘组织中克隆的 FMR-1 基因的 cDNA 片段作为探针, 检测不同发育时期大鼠脑组织中该同源基因的表达。

从正常分娩的人胎盘组织中提取 mRNA 并合成 cDNA 第一链 (Pharmacia mRNA 提取及 cDNA 第一链合成试剂盒), PCR 扩增目的片段 (引物为 27XM7: 5' -CAGCACCCATT-TTTCTCAACCTAACAGTAC-3', 27X31:

5' -ATCTGAAAATTGTTGC TTATGGC-CAATACC-3'), 与 pBS-KS (一) 载体连接后转化 DH5 α 宿主菌。筛选阳性克隆经测序证明与已发表序列一致。取胚胎早期至出生后 1 个月 (胎龄 7 d、12 d、16 d、18 d、出生当天、出生后 30 d 等) 6 个时间点的大鼠脑组织, 用异硫氰酸胍-酚一步提取法^[5]提取总 RNA。经甲醛变性凝胶电泳后, 转至尼龙膜, 紫外交联固定。随机引物法标记 FMR-1 cDNA 片段, 与此膜杂交。同时, 用 3-磷酸-甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 基因片段作为内对照探针, 以排除加样误差的干扰。

已有证据表明 FMR-1 及其同源基因在胚胎发育过程的多种组织中表达, 并具有组织特异性和时间特异性的高表达, 表明 FMR-1 基因参与发育过程的调节。Abitol 等^[6]及 Hinds 等^[3]应用组织切片原位杂交技术研究了该基因表达的空间特异性, 发现在人类和小鼠胚胎脑组织发育过程有 FMR-1 或同源基因的高表

* 国家自然科学基金和国家教委《跨世纪优秀人才计划》基金资助。

收稿日期: 1995-08-16, 修回日期: 1995-09-22

达. 本实验对不同发育时期大鼠脑组织 FMR-1 同源基因的表达进行了检测. 结果显示, 从胚胎早期至出生后 1 个月大鼠脑有 FMR-1 基因的持续表达, 其中在胚胎发育晚期 (E12-E18) 表达较高 (见图 1 及表 1), 支持该基因在脑发育过程中的作用.

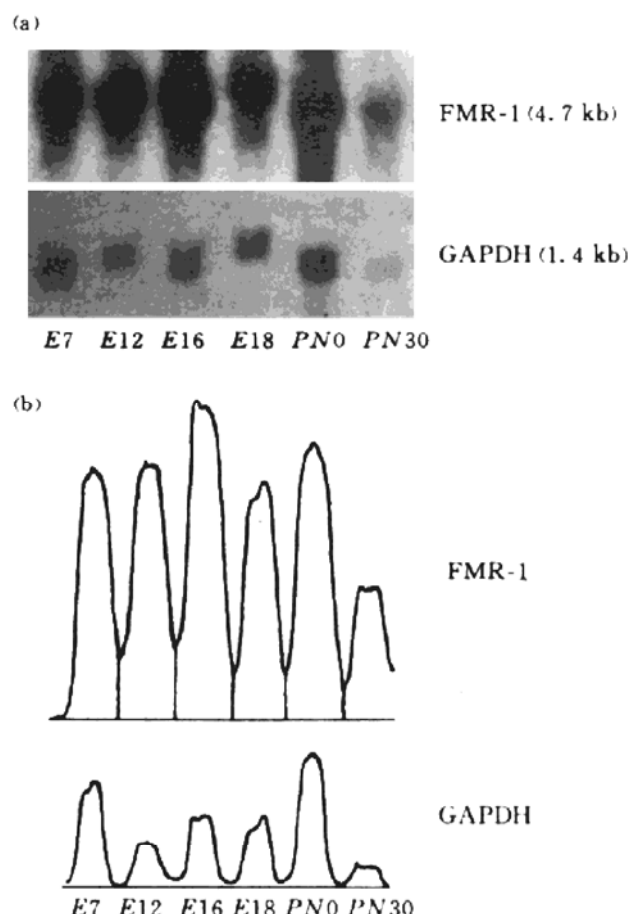


图 1 RNA 印迹杂交检测不同时相大鼠脑组织 FMR-1 基因表达

(a) RNA 印迹杂交显示 FMR-1 基因表达 (上) 及内对照 GAPDH (下); (b) 激光光密度仪扫描 RNA 印迹杂交结果. E: 胎龄/d, PN: 出生后/d.

表 1 激光光密度仪扫描 RNA 印迹杂交结果

扫描面积/mm ²	龄/d	E7	E12	E16	E18	PN0	PN30
FMR-1		3.72	4.17	5.47	3.63	4.81	2.23
GAPDH		0.63	0.28	0.48	0.43	0.90	0.15
比值		5.90	14.90	11.40	8.44	5.34	14.87

FMR-1 同源基因在胚胎发育晚期相对较高的表达提示其可能在胎脑发育后期起着更为重要的作用, 这与 FMR-1 基因的表达下调虽导致脆性 X 综合征患者的智力异常, 但并不引起其大脑明显解剖学异常的现象相吻合. 我们还发现 FMR-1 基因的表达可一直持续至成年大鼠 (在此未显示数据), 这些都支持 FMR-1 基因可能同时也是一个管家基因的假说. 总之, 本实验为进一步检测大鼠不同脑区 FMR-1 同源基因特异性及克隆大鼠 FMR-1 同源基因提供了实验依据.

参 考 文 献

- 1 黄 涛, 沈 岩, 吴冠芸. 生理科学进展, 1995; 26 (3): 218
- 2 Ashley C T, Sutcliffe J S, Kunst C B *et al.* Nature Genet., 1993; 4: 244
- 3 Hinds H L, Ashley C T, Sutcliffe J S *et al.* Nature Genet., 1993; 3: 36
- 4 The Dutch-Belgian Fragile X Consortium. Cell, 1994; 78: 23
- 5 Chomczynski P, Sacchi N. Anal Biochem, 1987; 62: 56
- 6 Abitol M, Menini C, Delezoide A L *et al.* Nature Genet., 1993; 4: 1417

Continuous Expression of FMR-1 Homologous Gene During Rat Brain Development. Ji Hong, Huang Tao, Shen Yan, Wu Guanyun (National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, PUMC & CAMS, Beijing 100005, China).

Abstract The expression of FMR-1 homologous gene was investigated in rat brains from fetus to postnatal one month by Northern blot hybridization. The continuous transcribing during the whole stage and the higher expression level in late developing stage supported that FMR-1 gene plays an important role during the late CNS development in embryo.

Key words FMR-1 gene, brain development, expression