

小鼠早期胚胎发育过程中细胞凋亡及 凋亡基因表达的检测

李 威 王连卿 苏静艳 袁丽丽 严云勤 *

(东北农业大学动物组织胚胎教研室, 哈尔滨 150030)

摘要 小鼠早期胚胎发育过程中凋亡现象大量存在, 细胞凋亡与凋亡基因表达有关。应用彗星电泳法检测小鼠早期胚胎凋亡情况; 应用巢式 RT-PCR、免疫组化的方法检测了 Bcl-2 家族成员(Bax、Bcl-2、Bak、Bcl-xl)的表达变化情况。结果显示: 随着胚胎细胞数目的增加, 凋亡比率逐渐增大; Bax 表达量在整个过程中基本不变, Bcl-2 表达量逐渐上调, Bak、Bcl-xl 的表达量逐渐降低。对小鼠早期胚胎发育过程中的基因表达研究对于揭示早期胚胎发育的机制有重大的意义。

关键词 早期胚胎发育; 凋亡; 基因表达

在哺乳动物中, 大约有 30%~70% 的胚胎在发育过程中夭折, 其中绝大部分发生在胚胎发育的早期。胚胎死亡的原因很复杂, 可能与遗传、环境等因素有关, 胚胎细胞凋亡是胚胎夭折的主要方式^[1]。诱发胚胎细胞凋亡的原因很多, 受精过程的异常^[2]、胚胎发育过程中温度的不稳定^[3]、不适宜的生长因子水平^[4]、细胞内基因的非正常表达^[5~7]等, 都可能诱发胚胎细胞发生凋亡。

在胚胎发育过程中, 发生严重凋亡的胚胎在形态上常表现为碎裂, 通过染色可以检测到凋亡小体。这与在体细胞当中凋亡的形态学特征类似, 主要是由于内源性核酸酶激活后切割 DNA, 导致染色质片段化并最终凝集形成凋亡小体^[8]。胚胎是一个多细胞的整体, 在某些形态上正常的胚胎当中也存在着凋亡细胞, 而这些胚胎与正常未发生凋亡的胚胎从外观上很难区分。由于在这些胚胎的凋亡细胞当中也同样发生了内源性核酸酶的激活及染色体的剪切, 通过彗星电泳^[9]、TUNEL 染色等方法^[11]就可以检测到这些形态正常的胚胎中的凋亡信号。

TUNEL 染色是现在公认的能够检测原位凋亡的方法之一, 其原理是通过末端转移酶, 将标记的 dUTP 连接到内源性核酸酶切割 DNA 所产生的平端上。此方法灵敏度高, 但结果容易受到坏死细胞和细胞分裂时产生的单链 DNA 的影响, 且试剂较为昂贵。彗星电泳最先被用于培养细胞中单个细胞的凋亡情况分析, 近几年逐渐被用于胚胎细胞凋亡的研究。其原理与检测细胞凋亡的传统的 DNA 梯

状条带相同, 检测的目标是凋亡所形成的 180~220 bp 或其整数倍的片段, 但克服了后者需要大量提取 DNA 缺点, 而且彗星电泳法较传统的用于凋亡检测的 TUNEL 法而言更加经济、迅速, 而且能够避免坏死细胞对结果的影响。但彗星电泳的方法在胚胎中应用也存在一定的缺点, 这种方法只能检测胚胎当中是否发生了凋亡以及凋亡发生的程度, 对于凋亡发生的位置不能够加以确定。

细胞凋亡的发生是受到一系列基因表达调控的, 胚胎细胞的凋亡同样是多个调节基因作用的共同结果^[10]。在对多种体细胞当中凋亡通路的研究发现, 尽管细胞种类及诱导凋亡发生的原因各有不同, 但凋亡的发生都与凋亡基因的表达密切相关。参与细胞凋亡的蛋白质及蛋白质家族很多, 但由于胚胎细胞数目稀少, 这些蛋白质的表达情况不容易检测。传统的 RT-PCR 的方法需要大量胚胎来提取实验所需的 mRNA 模板。Western 印记虽然灵敏性较高, 但也面临着需要消耗大量胚胎的问题。而且这种方法只能检测多个胚胎发育过程中整体的蛋白质表达状况, 对单个胚胎当中的蛋白质表达情况则无法检测。

早期胚胎发育过程中的凋亡现象及蛋白质表达规律对于胚胎的发育过程至关重要, 直接影响到胚胎发育方向。为此, 我们着力于改进实验方法, 对早期胚胎发育过程中的凋亡情况以及在胚胎发育过

收稿日期: 2005-11-04 接受日期: 2006-04-14

* 通讯作者。Tel: 0451-55190846, E-mail: yanyunqin@sohu.com

程中蛋白质的表达规律做了进一步的研究。以昆明白小鼠胚胎为实验模型, 对小鼠早期胚胎细胞凋亡情况以及在胚胎发育早期表达的4个Bcl-2家族分子(Bax、Bcl-2、Bak、Bcl-xl, 其中Bax和Bak为促凋亡基因; Bcl-2和Bcl-xl为抑凋亡基因)的表达情况进行检测, 研究了它们在早期胚胎发育过程中的表达规律。

1 材料与方法

1.1 实验动物及处理

本试验所用小鼠为昆明白品系, 6~8周龄性成熟雌鼠, 购自哈尔滨医科大学第二附属医院实验动物中心。动物饲养于人工控制条件下, 室温22℃, 光照周期为14 h光照(6:00~20:00), 10 h黑暗, 可以自由取食、饮水。所用雄鼠均单笼饲养, 供试雌鼠于下午15:00腹腔注射5 IU孕马血清促性腺激素(PMSG)间隔48 h腹腔注射5 IU人绒毛膜促性腺激素(HCG)进行超数排卵处理。

1.2 各阶段胚胎获取

雌鼠注射HCG后, 立即与雄鼠合笼, 第二天早晨检出阴道栓的为已受精小鼠。根据胚胎发育时程, 分别于注射(HCG)后42、55、66、80、90 h从雌性小鼠的输卵管及子宫中冲取2细胞、4细胞、8细胞、桑椹胚、早期囊胚。

1.3 彗星电泳

用磨石将载玻片一面磨成磨沙面。然后在载片上滴100 μ l, 1%正常熔点琼脂糖。盖上盖玻片4℃使其凝固。揭去盖玻片, 滴加40 μ l 0.8%低熔点琼脂糖, 用口吸管取各时期形态正常胚胎, 逐个点入未凝固的琼脂糖中, 4℃使其凝固。再滴加0.5%低熔点琼脂糖, 盖上盖玻片4℃使其凝固。揭去盖玻片, 将载片置于酸性台氏液中10 min, 去透明带, 然后PBS浸洗5 min。再将载玻片放置于裂解液中(2.5 mol/L NaCl、100 mmol/L EDTA Na₂、10 mmol/L Tris、1%十二烷基肌氨酸钠、1% TritonX-100、10 μ g/ml蛋白酶K)4℃, 2 h。而后PBS浸洗5 min。将载玻片放置于电泳槽内, 电泳前置于TAE缓冲液中平衡30 min, 然后15 V电泳20 min。电泳完毕后, PBS浸洗5 min。PI染色10 min, 荧光显微镜观察, 统计拖尾比率。

1.4 胚胎总RNA的提取:

实体镜下按照胚胎发育时期, 每个时期拣取15个形态正常的胚胎。放入酸性台氏液(1.37 mol/L

NaCl、27 mmol/L KCl、5 mmol/L CaCl₂、0.5 mmol/L 葡萄糖、pH2.0)中处理1 min, 去透明带。放入事先用1%DEPC浸泡24 h, 而后高压灭菌烘干的薄壁离心管中, 在向其中加入4 μ l裂解液[0.5% NP40、10 mmol/L Tris (pH 8.0)、10 mmol/L NaCl、3 mmol/L MgCl₂, DEPC灭菌水配制]、1 μ l DNase、1 μ l DNase 缓冲液、1 μ l RNA酶抑制剂, 37℃温育40 min。65℃10 min灭活DNA酶, 消化后的产物即为总RNA模板。

1.5 反转录

取所有消化后得到的RNA, 向其中加入1 μ l 500 μ g/ml oligodt, 70℃温育5 min, 而后迅速至于冰上放置10 min, 然后向其中加入: 1 μ l(50 U) M-MLV反转录酶、4 μ l 5×反转录酶缓冲液、4 μ l 2.5 mmol/L dNTP、2 μ l 0.1 mol/L DTT、1 μ l Rnase抑制剂, 总体积控制在20 μ l。37℃温育1 h时, 95℃加热5 min灭活反转录酶活性, 结束反应。

1.6 巢式PCR

由于胚胎当中总RNA量较少, 所以本试验采用巢式PCR的方法进行基因表达的检测, 即设计内外两对引物, 以外引物扩增产物为模板进行第二次扩增。PCR反应体系(50 μ l): 取提取的2 μ l胚胎总RNA为一次扩增模板、上下游外引物(50 mmol/L)各1 μ l、5 μ l 10×PCR缓冲液、3 μ l 25 mmol/L MgCl₂、4 μ l 2.5 mmol/L dNTP、1 μ l Taq酶、加三蒸水至总体积50 μ l, 覆盖40 μ l轻质石蜡油。按照常规PCR反应步骤, 根据不同引物设计不同的退火温度, 外引物扩增25个循环。取外引物扩增产物1 μ l为二次扩增的模板, 上下游内引物(50 mmol/L)各1 μ l、5 μ l 10×PCR缓冲液、3 μ l 25 mmol/L MgCl₂、4 μ l 2.5 mmol/L dNTP、1 μ l Taq酶、加三蒸水至总体积50 μ l。根据不同引物设计不同的退火温度, 内引物扩增30个循环。扩增产物用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.7 引物序列

见表1。

1.8 免疫组化

取处于不同发育时期的形态正常胚胎, 4%多聚甲醛固定30 min, PBS洗涤3次, 每次5 min, 37℃, 10%马血清封闭1 h; 加入兔抗鼠多抗(Bcl-2、Bax、Bak), 4℃温育过夜。PBS洗涤3次, 加入生物素化标记的山羊抗兔二抗, 室温温育30 min。PBS洗涤3次, 加入碱性磷酸酶标记的卵白

表1 引物序列

mRNA	引物类型	引物序列(5'~3')	循环温度(℃)	产物大小(bp)	GenBank
GAPDH	外引物	S: ACCACAGTCCATGCCATCAC A: TCCACCACCCTGTTGCTGTA	55	452	XM486720
	内引物	S: GGAAAGCTGTGGCGTGAT A: AAGGTGGAAGAGTGGTGAGT	53	307	
Bax	外引物	S: GACAGGGGCCTTTTGTGTTAC A: AAAGAATTCGCTAGCAAAG	58	319	L22472
	内引物	S: CCAGGATGCGTCCACCAA A: AAGTAGAAGAGGGCAACCAC	53	194	
Bcl-2	外引物	S: TACCGTCGTGACTTCGCAGAG A: GGCAGGCTGAGCAGGGTCTT	58	350	M16506
	内引物	S: AACTCTTCAGGGATGGGG A: GCCGGTTCAGGTACTCAG	51	144	
Bak	外引物	S: ACGCTTTAGCAAACAGGC A: GGGAAATGGACGATGAGG	53	415	Y13231
	内引物	S: CTCCACCAGCAGGAACAG A: CCAGACGGTAGCCAAAGC	50.5	288	
Bcl-xl	外引物	S: AGGCAGGCGATGAGTTTGAAC A: GAACCACACCAGCCACAGTCA	55	398	L35049
	内引物	S: ACATCCCAGCTTCACATAAC A: AATCCGACTCACCAATACC	52	174	

PCR 反应所用内外引物应用 prime 5.0 软件设计。

素-链亲和素三抗, 室温温育 30 min。PBS 冲洗洗涤三次, 加入显色底物(显色底物按 AP Red 试剂盒说明配制), 室温显色 8 min; 使用水溶性封片剂封片, 镜检拍照。

2 结果

2.1 各发育时期胚胎凋亡情况分析(彗星电泳)

由于胚胎内发生凋亡的细胞内源性核酸酶被激活, DNA 被剪切为 180~220 bp 或其整数倍的小片段。琼脂糖凝胶电泳结果为连续的梯状条带, 彗星电泳则表现为拖尾。按照本试验结果, 并参考 Dusan 等^[11]实验, 我们对胚胎分为三类, 无拖尾或拖尾的长度小于胚胎直径的为正常胚胎; 有拖尾且拖尾长度大于胚胎直径, 胚胎内染色质分布致密的为轻度凋亡胚胎; 有拖尾且拖尾长度大于胚胎直径, 胚胎内染色质降解严重, 并且 DNA 大片段的拖尾较少或没有, 只有 DNA 小片段拖尾的为重度凋亡胚胎。拖尾的长短由细胞凋亡的程度决定, 凋亡程度越深, 染色质降解越严重, 拖尾越长。在研究单细胞凋亡情况的实验中, 可以用拖尾的长度来确定凋亡发生的程度。但在胚胎当中, 由于凋亡细胞在胚胎内的位置及所占比例不能确定, 所以只能用拖尾表征凋亡的发生, 胚胎整体凋亡的程度则用胚胎染色质的致密程度来检测(图 1)。

正常体内发育的小鼠胚胎, 在胚胎发育的各个时期都检测到了一定比例的彗星电泳阳性胚胎。各时期彗星电泳阳性比率统计如下图 2 所示。

从图 2 可以看出, 2 细胞胚胎 95% 以上均为正常细胞, 很少发生凋亡, 随着早期胚胎发育进程和胚胎细胞数的增加, 胚胎发生凋亡的比例也逐渐增加, 到桑椹胚和囊胚期时, 正常胚胎只有 30%~40%, 其他为不同程度的凋亡胚胎。

2.2 RT-PCR 检测早期胚胎各时期 Bcl-2 家族基因 mRNA 表达

采用 RT-PCR 检测小鼠早期胚胎各时期 Bcl-2 家族基因 mRNA 表达, 从图 3 结果可以看出, 在早期胚胎发育过程中, 随着胚胎发育的进程, Bcl-2 家族基因表达呈现不同的表达规律。Bax 基因在从 2 细胞期到囊胚期都有表达, 且表达量很高, 无明显变化(图 3A); Bcl-2 基因在从 2 细胞期到 8 细胞期表达量较少, 而在桑椹胚和囊胚期表达量较高(图 3B); Bak 基因在从 2 细胞期到桑椹胚期都有表达, 且表达量逐渐下降, 在囊胚期不表达(图 3C); Bcl-xl 基因在从 2 细胞期到 8 细胞期都有表达, 而在桑椹胚期和囊胚期不表达(图 3D)。由此可见, 促凋亡基因 Bax 和 Bak 的表达有差异, 随着胚胎的发育, Bax 基因表达无明显变化, 而 Bak 基因表达则逐渐下降; 抑凋亡基因 Bcl-2 和 Bcl-xl 的表达也有差

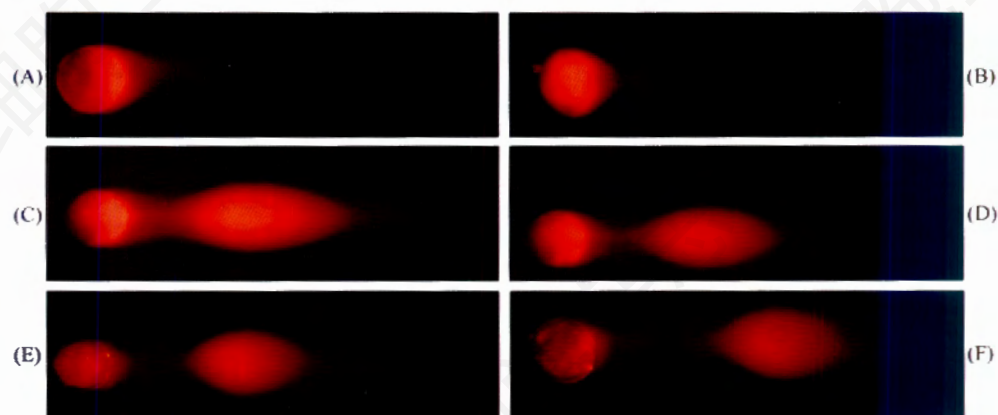


图1 发育至囊胚期胚胎彗星电泳结果

A 和 B 为正常未发生凋亡的胚胎，C 和 D 为轻度凋亡胚胎，E 和 F 为严重凋亡胚胎。

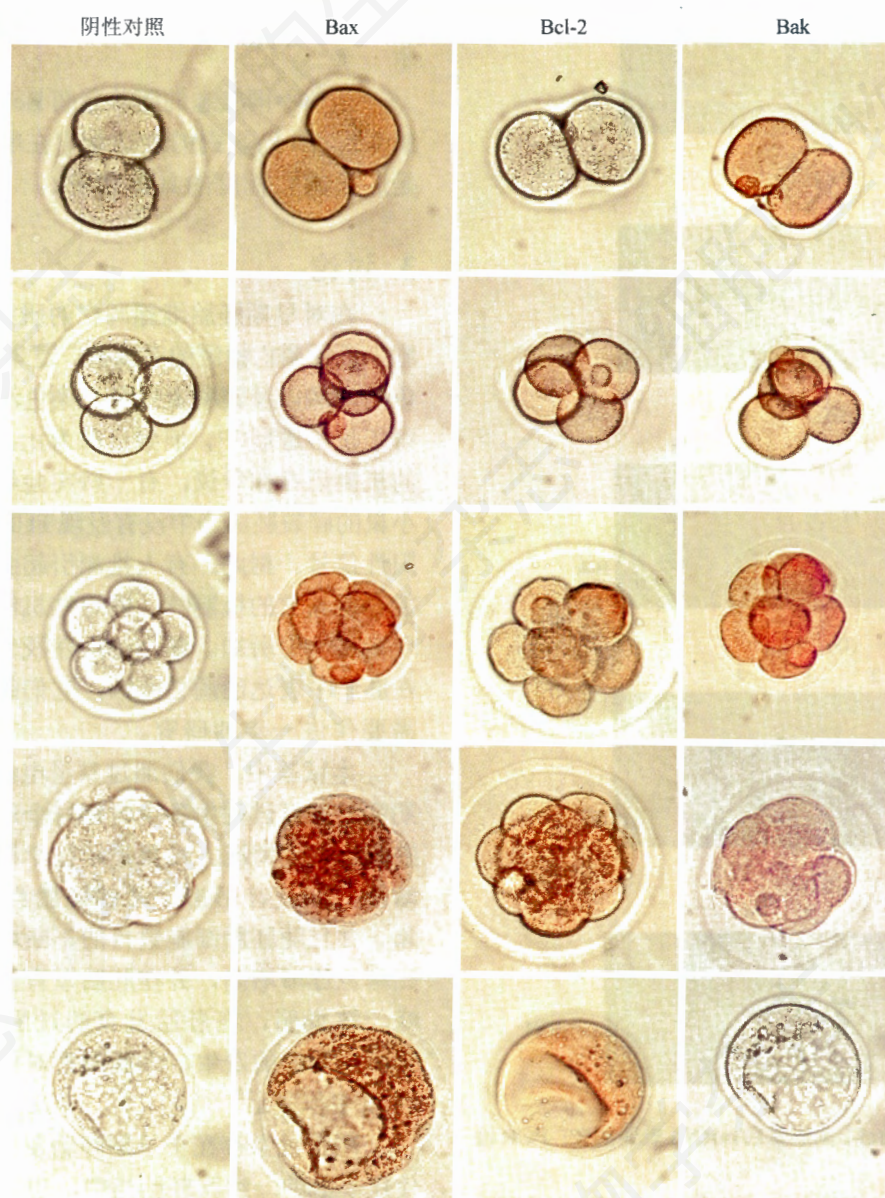


图4 小鼠早期胚胎 Bcl-2 家族蛋白表达的免疫组化结果

1~5 为 2 细胞期、4 细胞期、8 细胞期、桑椹胚期和囊胚期的胚胎；A1~A5 为未加一抗的阴性对照，B1~B5 为各时期 Bax 表达情况，C1~C5 为各时期 Bcl-2 表达情况，D1~D5 为各时期 Bak 表达情况。红色为蛋白质阳性信号。

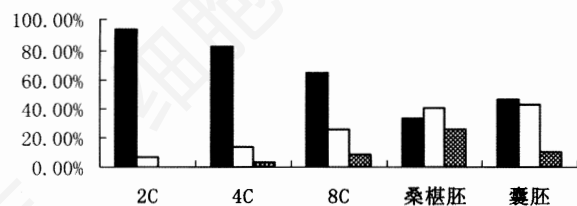


图2 体内发育小鼠胚胎凋亡情况统计

各时期取胚胎个数: 2C(85)、4C(87)、8C(92)、桑椹胚(78)、囊胚(97)。■: 正常胚胎(所占比率 %); □: 轻度凋亡胚胎(所占比率 %); ▨: 严重凋亡胚胎(所占比率 %)。

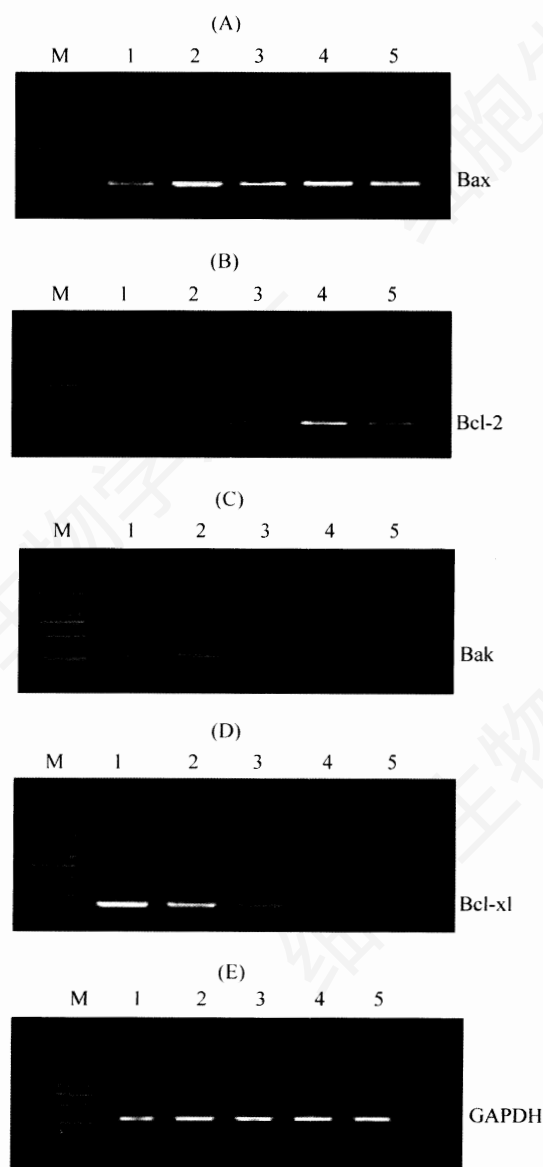


图3 小鼠早期胚胎Bcl-2家族基因mRNA表达的RT-PCR检测结果

M: 分子2000 marker; 1: 二细胞; 2: 四细胞; 3: 八细胞; 4: 桑椹胚; 5: 囊胚。A: Bax; B: Bcl-2; C: Bak; D: Bcl-xl; E: GAPDH。图E最右侧为未加M-MLV的阴性对照。

异, 随着胚胎的发育, Bcl-2 基因表达逐渐增加, 而 Bcl-xl 基因表达逐渐下降。

2.3 免疫组化检测早期胚胎各时期 Bcl-2 家族蛋白表达

采用免疫组化方法检测了小鼠正常早期胚胎各时期 Bcl-2 家族基因蛋白表达。从图 4 可以看出, 在表型正常的胚胎中, Bak 蛋白在 2 细胞期到囊胚期都有红色阳性信号表达, 且表达量无明显变化(图 4, B1~B5); Bcl-2 蛋白在 2 细胞期无表达, 而在 4 细胞期到囊胚期有红色阳性信号表达(图 4, C1~C5); Bak 蛋白在从 2 细胞期到桑椹胚期都有红色阳性信号表达, 且表达量呈下降趋势, 而在囊胚期无信号表达(图 4, D1~D5)。这个检测结果与 RT-PCR 结果基本一致。

当然不同状态的胚胎之间 Bcl-2 家族成员(Bax、Bcl-2、Bak)蛋白的表达量存在明显差异。同时也是胚胎凋亡程度的具体表现。

3 讨论

在对早期胚胎细胞凋亡的研究中, 许多在体细胞中进行凋亡检测的手段被广泛采用, 如 TUNEL 染色的方法以及膜联蛋白荧光染色法进行研究, 也取得了很多进展^[12]。但到目前为止, 对早期胚胎凋亡的机制还存在争议, 有一些实验结果表明, 在人和小鼠的碎裂胚胎当中没有发现 TUNEL 及膜联蛋白的阳性信号。据此, 有人推测引起胚胎的碎裂过程可能存在其它的机制^[13]。而这些机制作用的分子机制现在还一无所知。即使是现在我们已经发现的确定在胚胎中表达的凋亡基因, 它们的具体信号通路还需要作进一步的研究。

本试验中, 我们通过彗星电泳的方法检测了早期胚胎发育过程中各个时期每个形态正常胚胎当中的凋亡发生情况。结果显示在早期胚胎发育的各个时期, 即使在形态正常的胚胎当中也存在凋亡现象。并且随胚胎细胞数目的不断增加, 发生凋亡的比率也逐渐增高, 并在胚胎发育至桑椹胚时达到高峰。这说明, 在胚胎发育的过程当中, 一直伴随有凋亡现象的发生, 细胞凋亡对胚胎的生长起重要的调节作用。

凋亡现象存在于早期胚胎发育的各个时期, 即使在小鼠的一细胞胚胎当中, 也发现了由于细胞凋亡所形成的碎裂胚胎^[5]。此时, 合子 RNA 的转录还没有开始, 人们猜测, 此时所发生的凋亡是由于

胞质中存在的母源性物质所造成的, 要证实这一猜测, 就要对早期胚胎发育过程中的基因表达情况进行检测。但是, 由于胚胎数目上的稀少, 造成了模板 RNA 量的不足, 给我们检测早期胚胎基因的表达状况造成了困难。在本试验中, 我们改进了胚胎总 RNA 的提取方案, 并分别应用巢式 RT-PCR 及免疫组化的方法检测了 4 种 Bcl-2 家族分子的表达情况。实验结果证明, 即使使用少量胚胎(15 个左右)也可以进行 RT-PCR 检测, 且本实验 RT-PCR 过程重复 2~3 次, 并设立了一个未加 M-MLV 的阴性对照来确定反应系统和提取的 RNA 没有受到 DNA 的污染, 提高了试验的可信度。

对于细胞当中蛋白质表达的检测, 常用 Western 印记的方法进行检测。但在胚胎发育过程中检测蛋白质表达的变化需要的胚胎数目很多, 往往一次实验取得的胚胎数目要在 200 个胚胎以上。我们应用免疫组化染色的方法, 严格控制显色时间, 依据不同胚胎中蛋白质表达量的差异, 并将着色深浅分为几个等级, 通过数据统计来检测胚胎当中蛋白质的表达变化情况。

我们对 Bcl-2 家族 4 个成员的基因表达进行研究后发现, 在早期胚胎发育过程中, 抑凋亡基因 Bcl-2 和 Bcl-xl 的表达呈现不同的表达规律, 随着胚胎发育的进程, Bcl-2 基因表达逐渐增加, 而 Bcl-xl 基因表达逐渐下降; 促进凋亡基因 Bax 和 Bak 表达也有差异, 随着胚胎发育的进程, Bax 基因表达无明显变化, 而 Bak 表达则逐渐下降。Bcl-2 的高表达通常被认为能够抑制细胞的凋亡, 它的表达量的升高应该导致胚胎细胞凋亡比率的降低, 这与彗星电泳的结果, 胚胎细胞凋亡比率随着胚胎发育进程不断增加, 似乎矛盾。Bak 基因表达逐渐下降, 也说明这一问题。我们的看法是, 随着胚胎发育进程, 胚胎细胞数量不断增多, 胚胎总体处于快速增殖时期, Bcl-2 的表达不断增加和 Bak 表达逐渐下降是有利于胚胎生长和发育的。但是另一方面, 一些发育异常细胞必须要通过细胞凋亡被清除, 通过

彗星电泳法, 可以清楚地观察到。由于这些凋亡细胞相对整个胚胎细胞数量较少, 因此对整个胚胎凋亡基因的表达(RT-PCR 检测)无明显影响, 而免疫组化结果可以看出同一胚胎中不同细胞之间的凋亡基因表达有很大差异, 决定了细胞是存活或凋亡。需要说明的是彗星电泳阳性的胚胎未必就不能够正常发育, 也就是说只有多数细胞发生凋亡的胚胎才会夭折。其次, 细胞凋亡的过程是一个复杂的过程, 我们不能够依赖于某一个基因的表达变化来确定胚胎整体的发育方向, 实际上, 除了 Bcl-2 家族蛋白之外, 其他凋亡基因, 如 Fas/Fas-L^[14]、p53、IAPs 家族蛋白等等与细胞凋亡有关的基因都在早期胚胎发育过程中发挥作用^[15]。这有待以后进一步研究。

在胚胎发育过程中, 一些生长因子能够通过调节早期胚胎的基因表达来调节胚胎的发育^[16~18], 在体外培养条件下对胚胎细胞的基因表达产生影响的因素更多^[11]。这些影响胚胎发育或诱发细胞凋亡的因素, 可能通过不同信号通路发挥作用, 因此对胚胎细胞凋亡不能一概而论。

参考文献 (References)

- [1] Hardy K et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 1655
- [2] Jurisicova A et al. *Mol Hum Reprod*, 1998, **4**: 139
- [3] Paula-Lopes FF et al. *Biol Reprod*, 2002, **66**: 1169
- [4] Spanos S et al. *Biol Reprod*, 2000, **63**: 1413
- [5] Carayannopoulos MO et al. *Endocrinology*, 2004, **145**: 1435
- [6] Civico S et al. *Mol Hum Reprod*, 2002, **8**: 919
- [7] Gjourret JO et al. *Biol Reprod*, 2003, **69**: 1193
- [8] Taga M et al. *Jpn J Cancer Res*, 2000, **91**: 994
- [9] Fabian D et al. *Theriogenology*, 2003, **60**: 691
- [10] Spanos S et al. *Reproduction*, 2002, **124**: 353
- [11] Dusan F et al. *Theriogenology*, 2004, **61**: 745
- [12] Cui XS et al. *Theriogenology*, 2005, **63**: 1070
- [13] Civico S et al. *Mol Hum Reprod*, 2002, **8**: 919
- [14] Kawamura K et al. *Mol Hum Reprod*, 2001, **7**: 431
- [15] Jurisicova A et al. *Mol Hum Reprod*, 2003, **9**: 133
- [16] Brison DR et al. *Biol Reprod*, 1998, **59**: 136
- [17] Herrler A et al. *Biol Reprod*, 1998, **59**: 1302
- [18] Kolle S et al. *Mol Reprod Dev*, 2002, **61**: 180

Apoptosis and Expression of Apoptosis Genes during Mouse Early Embryonic Development

Wei Li, Lian-Qing Wang, Jing-Yan Su, Li-Li Yuan, Yun-Qin Yan*

(Animal Histology and Embryology Unit, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

Abstract There are a lot of apoptosis in early embryo of mouse, and it is induced by expression of apoptotic genes. In our experiment, we used Comet assay to observe the apoptosis during mouse early embryonic development, and nested RT-PCR and Immunocytochemistry to observe the expression of Bcl-2 family members (Bax, Bcl-2, Bak, Bcl-xl). The result shows that the ratio of apoptosis gradually increase, while the cell number increase. In the whole process, Bax doesn't change much, the expression of Bcl-2 increase, while the expression of Bak, Bcl-xl decrease. The research on the expression of apoptotic genes during mouse early embryonic development has great significance to discover the mechanism of embryonic development.

Key words early embryonic development; apoptosis; gene expression

Received: November 4, 2005

Accepted: April 14, 2006

*Corresponding author. Tel: 86-451-55190846, E-mail: yanyunqin@sohu.com