

ETS1 对非洲爪蛙早期胚胎发育的影响

殷晨阳,袁芳,刘佳,郭静,袁砾*

(南京医科大学生物化学与分子生物学,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:通过在非洲爪蛙胚胎中过表达 ETS1 探讨该基因对爪蛙胚胎早期发育的影响。方法:将克隆 PCR 获得的 ETS1 全长片段连接到质粒上,获得 pCS²⁺-ETS1 质粒;利用 RT-PCR 和 Western blot 检测 ETS1 mRNA 和蛋白在胚胎发育不同时期的表达情况;显微注射 ETS1 mRNA 入爪蛙胚胎,利用整胚原位杂交、定量 PCR 检测胚层标志性基因的表达;通过 Western blot 检测过表达 ETS1 对细胞凋亡和增殖的影响。结果:ETS1 从受精卵时期即已开始表达,在器官形成期表达增强,过表达 ETS1 抑制了细胞分化以及神经胚期中胚层和外胚层标志基因表达,凋亡相关蛋白表达增加,增殖相关蛋白无明显变化。结论:ETS1 表达于非洲爪蛙胚胎发育各阶段,过表达 ETS1 抑制了中胚层和外胚层发育,促进细胞凋亡但不影响细胞增殖。

[关键词] ETS1;非洲爪蛙;胚胎发育;增殖;凋亡

[中图分类号] Q132

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)03-291-06

doi:10.7655/NYDXBNS20140304

Effects of ETS1 on early embryo development of *Xenopus laevis*

Yin Chenyang, Yuan Fang, Liu Jia, Guo Jing, Yuan Li*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:**To investigate effects of ETS1 on early embryo development of *Xenopus laevis*. **Methods:**The pCS²⁺-ETS1 plasmid was produced by ligating pCS²⁺ plasmid and ETS1 cloned according to PCR. The expressions of the ETS1 during embryogenesis were detected by RT-PCR and Western blot. After micro-injection of ETS1 mRNA into embryo, the expressions of marker genes of different embryonic layers were detected by whole mount in situ hybridization and quantitative RT-PCR. The effect of ETS1 over-expression on apoptosis and proliferation of cells was analyzed by Western blot. **Results:**The expression of ETS1 started from the period of oosperm, and increased through all periods of organogenesis. The overexpression of ETS1 inhibited differentiation of cells and expression of marker genes of mesoderm and ectoderm in neurulation. The expression of apoptosis-related proteins was increased, whereas the expression of proliferation-related proteins had no significant change. **Conclusion:**ETS1 is expressed through all periods of embryogenesis of *Xenopus laevis*. The overexpression of ETS1 inhibits the development of mesoderm and ectoderm, as well as promotes the process of apoptosis, nonetheless no change of proliferation is inspected.

[Key words] ETS1; *Xenopus laevis*; embryogenesis; proliferation; apoptosis

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(03):291-296]

ETS 家族基因最早在美国马里兰州 Frederick 国家癌症研究所分子肿瘤学实验室被发现^[1], 研究人员从鸟类白血病逆转录病毒 E26 中发现癌基因 v-ets^[2], 将其命名为 E26 转录特异序列(E26 transfection specific sequence)或 ETS, 该基因与 Δgag 和 c-myc 一起编码 1 个 135 kd 的三联核内磷酸蛋

白。随后, 研究人员在正常细胞内发现了 v-ets 的原癌基因 c-ets^[3-4]。ETS 家族的共同特点是具有 1 个保守的 DNA 结合区域^[5], 即 ETS 区。作为 ETS 家族的典型基因, ETS1 由 6 个区域构成^[6], 包括和 DNA 结合并发挥作用的 ETS 区^[7]、Pointed 区和 Exon VII 区^[8-10]。

ETS1 在许多病理和生理过程中均发挥着重要作用。作为原癌基因, ETS1 可以有效诱导基质金属蛋白酶和尿激酶型纤溶酶原激活物的表达, 进一步促进肿瘤细胞外基质的降解, 促使肿瘤细胞侵袭。此

[基金项目] 国家自然科学基金(81200125); 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 江苏省“青蓝工程”(2010)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: yuanli@njmu.edu.cn

外,ETS1 还可以促进整联蛋白 α_v 和 c-met(HGF/SF)的表达,诱导肿瘤细胞的迁移及增殖过程^[5,11-12]。在结肠癌中,ETS1 抑制抗凋亡基因 Bcl-2 的表达,并且直接和凋亡基因 caspase1 结合,使其表达量增加,促进了凋亡的发生^[13]。

ETS1 在胚胎发育中也发挥了重要的作用。在淋巴细胞的发育过程中,ETS1 参与了 T 细胞分化^[14],影响了 B 细胞的成熟过程^[15],ETS1 也是 NK 细胞、干扰素发挥免疫作用必不可少的转录因子^[16]。在心血管生成的过程中,ETS1 通过降解细胞外基质,促进内皮细胞迁移,参与血管生成^[17]。ETS1 通过影响上皮-间质细胞转化过程,使心外膜间质形成受阻,并使心外膜起源细胞(epicardium-derived cells, EPDCs)受损,影响心脏发育^[18]。但是,ETS1 在胚胎发育早期的影响和作用知之甚少。因此,本研究以非洲爪蛙作为模式动物,研究 ETS1 在胚胎早期发育中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂

人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin,hCG)购自美国 Sigma 公司, DNase I、限制性核酸内切酶、T7 聚合酶、T4 连接酶和 RevertAid™ first strand cDNA synthesis kit 购自美国 Thermo Fermentas 公司, RNA 纯化试剂盒 RNeasy Mini Kit 购自德国 QIAGEN 公司, Dig-UTP、anti-Dig-AP、BM Purple 均购自瑞士 Roche 公司, RNA 合成试剂 SP6 mMessage™ Kit 由美国 Ambion 公司生产, Taq DNA 聚合酶、PrimeSTAR®HS DNA 聚合酶、SYBR®Premix Ex Taq™ 定量 PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司。ETS1(兔源)、 β -actin(鼠源)抗体由美国 Santa Cruz 公司生产, PCNA(兔源)抗体购自美国 Boster 公司, p-BAD(兔源)抗体来自美国 Bioworld 公司, Cleaved Caspase 3(兔源)抗体购自美国 Cell Signalling 公司。

1.1.2 引物

检测 ETS1 表达的引物序列为:上游:5'-AGGGACAGAGCGGAACTCAAC-3';下游:5'-AATTGGTCCGCTTCCTGTGTAG-3'。ETS1 克隆引物序列为:上游:5'-CCGGATCGATCCATGAAAGCT-GCGCTAGA-3';下游:5'-CCGGTCTAGA TCTATTC-ATCAGTCTGGTTTAACA-3'。内参 H4 引物序列为:上游:5'-CGGGATAACATTCAGGGTATCACT-3';下游:5'-ATCCATGGCGGTAAGTGTCTTCCT-3'。定量

PCR 引物参见文献[19]。

1.2 方法

1.2.1 质粒构建

在 NCBI 上查到 ETS1 基因序列(NM_001087613.1),据此设计克隆 PCR 引物,通过 PCR 对 ETS1 的编码区进行扩增,双酶切 PCR 产物并将其连接至 pCS2+质粒上,命名为 pCS2+-ETS1。对其测序后进行序列比对。

1.2.2 胚胎操作及显微注射

试验前 12 h 左右注射 300~600 U hCG 诱导雌性爪蛙排卵,体外受精 30 min 后,去除受精卵外的胶质膜,在 0.1×MBSH(1×MBSH:88 mmol/L NaCl, 2.4 mmol/L NaCO₃, 1 mmol/L KCl, 0.82 mmol/L MgSO₄, 0.41 mmol/L CaCl₂, 0.33 mmol/L Ca(NO₃)₂, 10 mmol/L HEPEs, pH7.4)中培养至相应发育阶段。胚胎时期的划分依照 Nieuwkoop 和 Faber 分期^[20]。

pCS2+-ETS1 质粒用 Not I 单酶切,然后利用 SP6 mMessage™ kit 制备 mRNA,并用 RNeasy® Mini kit 进行纯化用于显微注射。对四细胞期的爪蛙胚胎注射 80 μ g/ml 的 ETS1 mRNA,以实现 ETS1 的过表达,将胚胎置于恒温培养箱中进行培养,用于表型观察及基因表达分析。

1.2.3 RT-PCR 和 qRT-PCR

收集胚胎并提取 RNA,以 DNase I 消化并用 RNeasy Mini kit 纯化,取 1 μ g 各胚胎总 mRNA 用 RevertAid™ first strand cDNA synthesis kit 逆转录为 cDNA,然后进行 RT-PCR 扩增检测 ETS1 的表达。反应条件为:95℃ 3 min 预变性,94℃ 50 s,56℃ 50 s,72℃ 50 s,30 个循环,72℃,5 min 终末延伸。

以逆转录的 cDNA 为模板,采用 TaKaRa 的 SYBR Green 试剂盒进行 qRT-PCR,每孔加样:SYBR Green Premix Ex Taq™10 μ l, ROX Reference Dye (50×)0.4 μ l, Forward Primer (10 μ mol/L)0.4 μ l, Reverse Primer(10 μ mol/L)0.4 μ l, dd H₂O 7.8 μ l, cDNA 模板 1 μ l,反应条件为 95℃ 2 min 预变性,95℃ 5 s, 60℃ 34 s,68℃ 20 s。每次实验设 3 个复孔,重复 3 次。

1.2.4 Western blot

收集目标胚胎,利用南京凯基公司生产的全蛋白试剂盒提取蛋白,10%SDS-PAGE 电泳,随后转移至 PVDF 膜上。一抗分别为 ETS1(兔源)、 β -actin(鼠源)、PCNA(兔源)、p-BAD(兔源)、Cleaved Caspase 3(兔源)抗体,抗体稀释比例均为 1:1 000。每次实验重复 3 次。

1.2.5 整胚原位杂交

将 pCS²⁺-xbra 用 *Sal* I , pCS²⁺-sox17 α 用 *Cla* I , pCS²⁺-sox3 用 *Eco*R I , pCS²⁺-Myod 用 *Not* I , pCS²⁺-edd 用 *Eco*R I 单酶切, 随后使用 T7 连接酶制备反义探针, 反应体系中加入 Dig-UTP 作为探针标记。

收集并固定爪蛙胚胎, 用梯度浓度乙醇进行再水化, 用蛋白酶 K 处理后进行杂交, 加入 anti-DIG-AP 抗体后, 与底物液 BM purple 进行显色反应。

1.3 统计学方法

定量 RT-PCR 数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间差异采用双侧 *t* 检验比较, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ETS1 在不同物种间的序列比对

针对来自人类、小鼠、鸡和非洲爪蛙的 ETS1 蛋

白序列, 采用 clustal x2 进行氨基酸序列的对比, 结果如图 1A 所示, ETS1 在这 4 个不同物种间存在高度同源性, 其在非洲爪蛙和人类间蛋白的相似性高达 88%, 和小鼠及鸡对比相似度分别为 84% 和 86%。在 ETS1 的 4 个主要功能区域中, Pointed 区共有 83 氨基酸, 其中 16 个存在物种间差异, 占 19%; TAD 区 107 个氨基酸中 26 个存在物种间差异, 占 24%; 而自抑制区 Exon 87 个氨基酸中有 12 个存在物种间差异, 占 14%; 具有特异识别并结合目的基因功能的 ETS 区保守性尤其高, 该区域共有 86 个氨基酸, 在人类、鸡和非洲爪蛙中完全一致, 仅小鼠与其他物种存在 6 个不同的氨基酸, 占 7%。

对进化树的分析进一步显示了 ETS1 基因在不同物种间的保守性, 鸡与人类相距最近, 人类和小鼠以及爪蛙在进化上距离较远(图 1B)。

2.2 ETS1 在非洲爪蛙胚胎发育不同时期的表达



A: 人类、小鼠、鸡、爪蛙的 ETS1 蛋白序列对比; B: ETS1 在人类、小鼠、鸡、爪蛙间的进化树分析。has: 人类; mmu: 小鼠; gga: 鸡; xla: 非洲爪蛙。

图 1 ETS1 在不同物种间的同源性和保守性比较

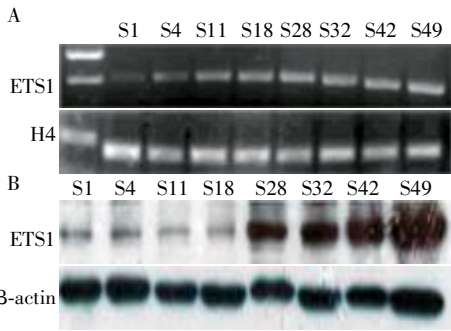
Figure 1 Comparison of amino acid sequence of ETS1 among various species

为研究 ETS1 在非洲爪蛙胚胎发育过程中的表达情况, 收集受精卵期(S1)、卵裂期(S4)、原肠胚期(S11)、神经胚期(S18)、尾芽期(S28、S32)和蝌蚪期(S42、S49)的胚胎, 利用 RT-PCR 检测其在 mRNA 水平上的表达情况, 结果如图 2A 显示, ETS1 自受精卵形成即已有所表达, 并随着发育的进展逐渐增加。为进一步研究 ETS1 蛋白的表达水平, 选取同时期的胚胎, 提取总蛋白, 利用 Western blot 进行检测(图 2B)。结果显示, ETS1 的蛋白表达自受精卵期

即已开始, 并且其表达量随时间呈逐步递增趋势, 在器官形成时期表达量明显增高。

2.3 过表达 ETS1 影响胚胎早期发育

为研究 ETS1 在早期胚胎发育中的作用, 利用显微注射方法将 ETS1 mRNA 注射入四细胞期的胚胎以实现过表达。为验证过表达效果, 在注射胚胎发育至 S18 期时, 收集胚胎, 提取 mRNA 和蛋白, 利用定量 RT-PCR 和 Western blot 检测 ETS1 在核酸及蛋白水平的表达。结果显示, 与对照相比, 注射



A: RT-PCR 检测 ETS1 的表达; B: Western blot 检测 ETS1 蛋白的表达。
图 2 ETS1 在胚胎发育不同时期的表达

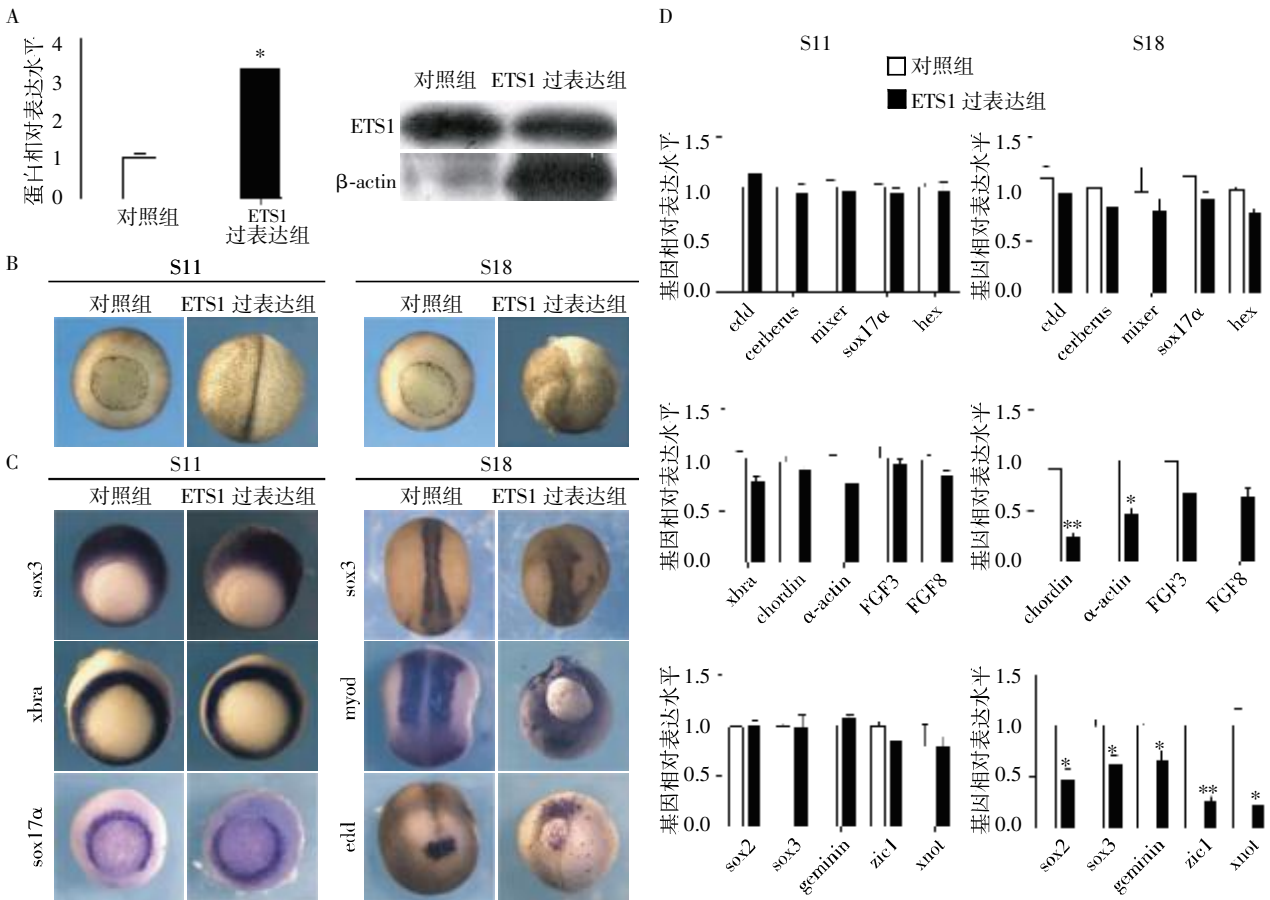
Figure 2 Temporal expression of ETS1 during development

ETS1 mRNA 的胚胎中 ETS1 mRNA 和蛋白表达量明显增加(图 3A)。

在对过表达 ETS1 胚胎发育过程的观察中发现,当对照胚胎生长至原肠胚期(S11 期)时,ETS1 过表达胚胎与对照组相比其表型没有发生变化(图 3B)。为进一步研究 ETS1 对原肠胚期表达的基因是否存在影响,选择内、中、外胚层标志基因进行整胚

原位杂交实验(图 3C),与对照组相比,过表达模型的内胚层基因 *sox17 α* 、中胚层基因 *Xbra*、和外胚层基因 *sox3* 的表达没有变化。进一步采用实时定量 PCR 检测其他内、中、外胚层的标志性基因的表达情况,对照组和过表达组也没有出现明显变化(图 3D),提示过表达 ETS1 在原肠胚期并未产生明显作用。

然而在神经胚期(S18 期)时,ETS1 过表达胚胎出现明显表型,胚胎严重畸形(图 3B),表现为胚胎整体形态扭曲,形状不规则,神经脊弯曲且未闭合,甚至胚孔尚未收缩,胚胎在 S22 期左右逐渐死亡。整胚原位杂交实验结果显示,与对照组相比,过表达组内、中、外胚层标志基因表达分布异常且不规则(图 3C)。实时定量 PCR 结果表明,与对照组相比,内胚层标志基因表达无明显改变,外胚层标志基因 *sox2*、*sox3*、*geminin*、*xnot*、*zic1* 的表达受到严重抑制,中胚层基因 *chordin*、 α -actin 表达明显减少(图 3D)。以上结果提示过表达 ETS1 抑制神经胚期的中胚层和外胚层基因表达。



A: ETS1 过表达的验证; B: ETS1 过表达胚胎在 S11 和 S18 期的表型; C: 整胚原位杂交检测 ETS1 过表达后 S11 和 S18 期内、中、外胚层标志基因的表达; D: 定量 PCR 检测 ETS1 过表达后 S11 和 S18 期的内、中、外胚层基因的表达。与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

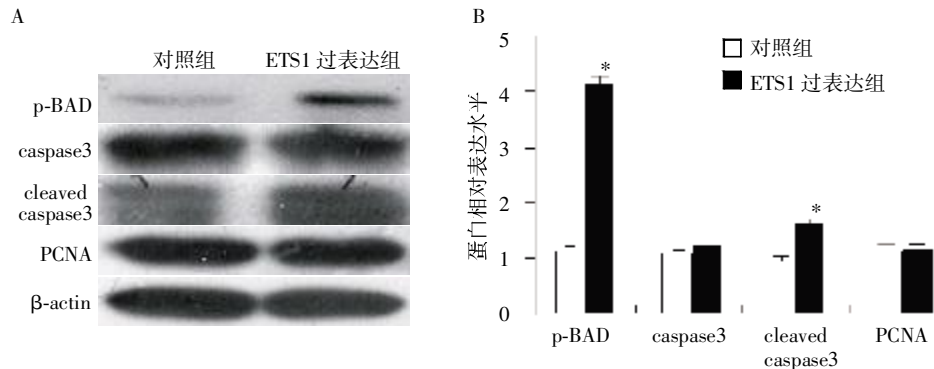
图 3 ETS1 对胚胎早期发育的影响

Figure 3 The effect of ETS1 on the early development of embryos

2.4 ETS1 在早期发育过程中不影响细胞增殖,但促进细胞凋亡

为研究 ETS1 在胚胎发育中是否对细胞增殖和凋亡产生作用,我们从对照和过表达胚胎中提取全蛋白,进行 Western blot 试验检测。图 4 中结果显示,增殖的标志基因 PCNA 在对照组和过表达胚胎

中的表达没有差异。凋亡基因效应 caspase3 需要被激活为 cleaved caspase3 才能发挥作用,从图中可见,ETS1 显然促进了这一过程的发生。另一促凋亡基因 p-BAD 的表达也发生上调,提示 ETS1 在爪蛙胚胎细胞发育中没有对细胞增殖造成影响,但是促进了细胞凋亡的发生。



A: ETS1 过表达后凋亡和增殖基因的蛋白表达变化; B: Western blot 图像的灰度值分析。与对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图 4 ETS1 对细胞增殖和凋亡的影响

Figure 4 The effect of ETS1 on proliferation and apoptosis

3 讨论

ETS1 是 ETS 家族的典型基因,其蛋白由 441 个氨基酸构成,作为转录因子,其 ETS 区域形成螺旋-转角-螺旋蛋白,特异识别包含 GGAA/T 的 DNA 序列。ETS1 N 端 38 位苏氨酸是磷酸化激活位点,可以极强地增加 ETS1 的活性^[21],而其 exon VII 区的 N 端具有钙依赖性磷酸化位点,用于调节该区 C 端对 ETS 区结合能力的抑制作用。本研究通过蛋白序列比对发现,ETS1 在非洲爪蛙和其他物种间存在较高同源性,其主要功能区域 pointed、TAD、exon VII 和 ETS 区在不同物种间差异较小,尤其 ETS 功能区在各物种间几乎完全相同,提示 ETS1 具有较强的保守性。

以往研究报道,利用原位杂交技术在爪蛙胚胎四细胞期可检测到 ETS1 表达。本研究检测了在不同发育阶段 ETS1 mRNA 和蛋白的表达情况,发现其从受精卵形成即有表达,并随发育呈逐步递增趋势,提示其在胚胎发育过程中可能发挥一定的作用^[22]。

研究显示,ETS1 不仅对于肿瘤细胞的迁移、侵袭,血管的生成和发生具有重要作用,而且参与了 T 细胞和 B 细胞的发育分化^[14-15, 23-25]及心血管系统的发育过程^[17-18]。本研究发现在过表达 ETS1 后,神经胚期的胚胎发育畸形,且中胚层和外胚层的标志基

因表达普遍下降,提示 ETS1 抑制了胚胎的分化。

ETS1 对细胞凋亡也有影响,但具体作用取决于细胞类型,在结肠癌中,ETS1 有促凋亡作用^[13, 26];在乳腺癌中,ETS1 具有促增殖功能^[27];ETS1 也促进了干细胞凋亡^[28];在 T 细胞中 ETS1 抑制凋亡发生^[29]。发现 ETS1 提高了促凋亡基因 p-BAD 和 cleaved caspase3 的表达,从而促进细胞凋亡,但对增殖没有影响。

综上所述,在非洲爪蛙胚胎的早期发育过程中,过表达 ETS1 导致神经胚期胚胎发育异常,可能是通过抑制胚胎细胞分化,促进细胞凋亡而对胚胎发育起到了阻碍作用,但具体作用机制仍有待进一步研究和探讨。

[参考文献]

- [1] Papas TS, Watson DK, Sacchi N, et al. ETS family of genes in leukemia and Down syndrome[J]. Am J Med Genet Suppl, 1990, 7(1): 251-261
- [2] Leprince D, Gégonne A, Coll J, et al. A putative second cell-derived oncogene of the avian leukaemia retrovirus E26[J]. Nature, 1983, 306(5941): 395-397
- [3] Ghysdael J, Gégonne A, Gégonne A, et al. Identification and preferential expression in thymic and bursal lymphocytes of a c-ets oncogene-encoded Mr 54,000 cytoplasmic protein[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1986, 83(6): 1714-1718

- [4] Watson DK, McWilliams-Smith MJ, Nunn MF, et al. The ets sequence from the transforming gene of avian erythroblastosis virus, E26, has unique domains on human chromosomes 11 and 21; both loci are transcriptionally active [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1985, 82 (21): 7294-7298
- [5] Shaikh Ibrahim ZN. Wernert, ETS transcription factors and prostate cancer; the role of the family prototype ETS-1 (review) [J]. Int J Oncol, 2012, 40(6): 1748-1754
- [6] Dittmer J. The biology of the Ets1 proto-oncogene [J]. Mol Cancer, 2003, 2: 29
- [7] Donaldson LW, Petersen JM, Graves BJ, et al. Secondary structure of the ETS domain places murine Ets-1 in the superfamily of winged helix-turn-helix DNA-binding proteins [J]. Biochemistry, 1994, 33(46): 13509-13516
- [8] Rabault B, Ghysdael J. Calcium-induced phosphorylation of ETS1 inhibits its specific DNA binding activity [J]. J Biol Chem, 1994, 269(45): 28143-28151
- [9] Slupsky CM, Gentile LN, Donaldson LW, et al. Structure of the Ets-1 pointed domain and mitogen-activated protein kinase phosphorylation site [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(21): 12129-12134
- [10] Wasylyk C, Kerckaert JP, Wasylyk B. A novel modulator domain of ets transcription factors [J]. Genes Dev, 1992, 6(6): 965-974
- [11] Kita D, Takino T, Nakada M, et al. Expression of dominant-negative form of Ets-1 suppresses fibronectin-stimulated cell adhesion and migration through down-regulation of integrin alpha5 expression in U251 glioma cell line [J]. Cancer Res, 2001, 61(21): 7985-7991
- [12] Gambarotta G, Boccaccio C, Giordano S, et al. Ets up-regulates MET transcription [J]. Oncogene, 1996, 13(9): 1911-1917
- [13] Pei H, Li C, Adereth Y, et al. Caspase-1 is a direct target gene of ETS1 and plays a role in ETS1-induced apoptosis [J]. Cancer Res, 2005, 65(16): 7205-7213
- [14] Giese K, Kingsley C, Kirshner JR, et al. Assembly and function of a TCR alpha enhancer complex is dependent on LEF-1-induced DNA bending and multiple protein-protein interactions [J]. Genes Dev, 1995, 9 (8): 995-1008
- [15] Maier H, Colbert J, Fitzsimmons D, et al. Activation of the early B-cell-specific mb-1 (Ig-alpha) gene by Pax-5 is dependent on an unmethylated Ets binding site [J]. Mol Cell Biol, 2003, 23(6): 1946-1960
- [16] Glimcher LH, Townsend MJ, Sullivan BM, et al. Recent developments in the transcriptional regulation of cytolytic effector cells [J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4 (11): 900-911
- [17] Sato Y. Role of ETS family transcription factors in vascular development and angiogenesis [J]. Cell Struct Funct, 2001, 26(1): 19-24
- [18] Lie-Venema H, Gittenberger-de Groot AC, van Empel LJ, et al. Ets-1 and Ets-2 transcription factors are essential for normal coronary and myocardial development in chicken embryos [J]. Circ Res, 2003, 92(7): 749-756
- [19] Cao Y, Siegel D, Knochel W. Xenopus POU factors of subclass V inhibit activin/nodal signaling during gastrulation [J]. Mech Dev, 2006, 123(8): 614-625
- [20] Nieuwkoop PD. The "organization centre": 3 segregation and pattern formation in morphogenetic fields [J]. Acta Biotheor, 1967, 17(4): 178-194
- [21] Wasylyk C, Bradford AP, Gutierrez-Hartmann A, et al. observed mechanisms of Ras regulation of evolutionary related transcription factors, Ets1 and Pointed P2 [J]. Oncogene, 1997, 14(8): 899-913
- [22] Meyer D, Durliat M, Senan F, et al. Ets-1 and Ets-2 proto-oncogenes exhibit differential and restricted expression patterns during *Xenopus laevis* oogenesis and embryogenesis [J]. Int J Dev Biol, 1997, 41(4): 607-620
- [23] Barton K, Muthusamy N, Fischer C, et al. The Ets-1 transcription factor is required for the development of natural killer cells in mice [J]. Immunity, 1998, 9(4): 555-563
- [24] Eyquem S, Chemin K, Fasseu M, et al. The Ets-1 transcription factor is required for complete pre-T cell receptor function and allelic exclusion at the T cell receptor beta locus [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(44): 15712-15717
- [25] Moisan J, Grenningloh R, Bettelli E, et al. Ets-1 is a negative regulator of Th17 differentiation [J]. J Exp Med, 2007, 204(12): 2825-2835
- [26] Li R, Pei H, Watson DK, et al. EAP1/Daxx interacts with ETS1 and represses transcriptional activation of ETS1 target genes [J]. Oncogene, 2000, 19(6): 745-753
- [27] Zhang Y, Yan LX, Wu QN, et al. miR-125b is methylated and functions as a tumor suppressor by regulating the ETS1 proto-oncogene in human invasive breast cancer [J]. Cancer Res, 2011, 71(10): 3552-3562
- [29] Xu D, Wilson TJ, Chan D, et al. Ets1 is required for p53 transcriptional activity in UV-induced apoptosis in embryonic stem cells [J]. EMBO J, 2002, 21(15): 4081-4093
- [30] Bories JC, Willerford DM, Grevin D, et al. Increased T-cell apoptosis and terminal B-cell differentiation induced by inactivation of the Ets-1 proto-oncogene [J]. Nature, 1995, 377(6550): 635-638