

转座子及其相关技术的研究

黄春, 张万江

■背景资料

转座子是生物进化的基础, 有自发突变且有重要表型的基因都源于转座子的可动性。转座子的发现和利用是遗传方法学的革命。

黄春, 张万江, 石河子大学医学院病理生理学教研室/石河子大学新疆地方与民族高发病省部共建教育部重点实验室 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

国家自然科学基金资助课题, No. 30460129

通讯作者: 张万江, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市, 石河子大学医学院病理生理学教研室/石河子大学新疆地方与民族高发病省部共建教育部重点实验室. zwj1117@sina.com

电话: 0993-2057100

收稿日期: 2006-03-14 接受日期: 2006-05-08

摘要

本综述目的在于对转座子及其相关技术成果进行归纳总结。人们已经用各种方法, 在生物界各个领域证实了转座子系统广泛存在。利用转座子特有的转座功能, 将带有标记的转座子插入目的基因甚至基因组, 产生转座子标签技术、转座子定点杂交技术、转座子基因打靶技术和非病毒载体基因增补技术。结果, 人们利用这些技术, 可以确定基因组的功能, 基因组间的功能差异; 可以改变目的基因的活性, 获得转基因生物; 可以阻断毒力基因, 获得基因疫苗; 可以促进基因整合, 进行基因治疗等。转座子及其相关技术是后基因组时代, 人们解开基因组功能之谜的强有力武器。

关键词: 转座子系统; 转座子相关技术

黄春, 张万江. 转座子及其相关技术的研究. 世界华人消化杂志 2006;14(17):1714-1720

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1714.asp>

0 引言

“睡美人”转座子系统(sleeping beauty transposon system)于1930年由McClintock^[1]提出, 因该系统自然状态下发生转座的能力不足, 大多数突变基因处于抑制“睡眠”状态而得名。现已证实, 该系统普遍存在于生物基因组中, 甚至在人类细胞中也有发现^[2]。他对基因设计和基因调节有很大影响。作为基因工具, 已大量用于基因功能的研究^[3]。由此发展起来的转座子标签技术, 已实现人工插入突变而不破坏原有基因功能的目的; 转座子定点杂交技术, 可全面确定微生物必需基因组功能差异; 转座子基因打靶技术, 能阻断毒力基因并鉴定他们在感染过程中的功能

及其机制; 非病毒载体基因增补技术即转座子“睡美人苏醒”技术, 克服了基因治疗中缺乏转入基因整合, 阻碍长期表达的难题。本文就转座子及其相关技术应用做一综述。

转座子(transposon)是存在于DNA上可自主复制和移位的基本单位。McClintock^[1]首次在玉米中发现, 从此改变了人们对基因组序列稳定性的认识, 打破了遗传物质在染色体上呈线性固定排列的传统理论。转座子插入新的位点后, 该位点附近的基因即受到抑制呈现隐性的“睡美人”表型。一旦转座子在转座酶的作用下从这一位点上转走, 该位点的基因隐性表型又恢复为显性表型, 即“睡美人苏醒”。调控转座酶和转座子活性的系统称为青蛙王子(Frog Prince)。目前认为, 多数生物体有自发突变且有重要表型效应出现的原因, 都源于转座子的可动性, 并且可以导致宿主基因组发生从点突变到染色体重排的一系列变化。转座子在进化上为建立宿主基因特性起着重要作用。用特异的开放阅读框捕获技术, 可以使自然散在的转座酶编码基因高表达, 人为催化激活转座子使其苏醒, 执行插入、黏贴、切除等任务, 目前已经应用于微生物、昆虫、植物、动物及人类基因组功能的研究^[4]。例如蛙类基因组含有Tc1水手转座子超家族, 呈自然失活状态, 转座酶与转座增强子序列末端结合, 在HMGB1蛋白协助下, 激活转座子, 使睡美人转座子苏醒^[5]。

转座子学说使McClintock荣获1983年诺贝尔生理医学奖^[6]。需要指出的是, 并不是所有具有转座子基因的个体都可以发生转座子转座。转座能力个体间有很大差别, 通常情况下需要一个激活因子Ac。当细胞中有Ac时转座子才发生转座, 细胞中无Ac时转座子处于静止状态, 他所控制的基因不能突变, 细胞中的染色体突变现象也就停止下来。转座子的转座活动控制着结构基因的活性, 造成不同细胞内基因活性状态的差异。这就为生物体发育和分化研究提供了新线索, 也为认识远缘杂交后代及组织培养中出现大量不稳定的变异类型提供了创建新技

术的平台. 转座子学说首次在生物学史上提出基因调控模型^[7], 对后来法国著名分子生物学家 Monod 提出操纵子学说提供了重要启示.

1 转座子

1.1 各种生物转座子的研究情况

1.1.1 病毒基因组 转座子可以直接插入病毒基因组, 重组病毒克隆以确定病毒繁殖必需、非必需基因^[8]. 例如, 转座子 Tn3 插入巨细胞病毒基因序列可以稳定复制而不影响大多数基因功能^[9].

1.1.2 细菌基因组 转座子广泛存在于细菌基因组中^[10]. 转座子 Tn5 用于发现新基因、分析基因功能和形成突变基因文库. 随着成功构建具有活性的转座酶 Tnp EK/LP, 以及对 Tnp 催化中心三维结构的深入研究, 转座子 Tn5 的转座机制已阐明^[11]. 转座子研究最多的革兰氏阳性菌是结核杆菌^[12-17]. 利用 Himar1 水手转座子^[18]的插入, 不但确定了不同分枝菌的基因功能^[19], 而且还确定了在体外、体内经过巨噬细胞吞噬后, 残存结核杆菌必需基因的功能^[20]. 目前发现, 分枝杆菌属中生存必需基因呈遗传同质性, 即具有高度保守的同源序列^[21]. 用标示碱性磷酸酶的转座子分析革兰氏阳性菌分泌蛋白的编码基因^[22]时发现, 转座子在分析基因调控、蛋白分泌和细菌毒力方面有重要价值. 在需氧环境, 用他插入化脓性链球菌发现, 编码分泌蛋白的基因表达增高^[22]. 确定了链球菌属编码输出蛋白的基因^[23], 表皮葡萄球菌特征性的非黏液样蛋白和膜内蛋白编码基因^[24], 葡萄球菌的肠毒素基因组^[25], 金黄色葡萄球菌参与脓肿形成的71条毒力基因^[26]. 用转座子相关技术, 找到单核细胞增多性李氏菌在高渗下不能生长的关键基因——rel 基因^[27].

对革兰氏阴性菌的研究发现, 人们既可以根据目的基因的不同设计和修饰转座子, 也可以用转座子多重插入突变分步骤研究基因组^[28]. 大肠杆菌的遗传物质中存在大量转座进化形成的 REP 序列, 保守、简单、规律性很强^[29], 在营养丰富培养基中生长, 有620条保守的必需基因^[30]. 插入肠球菌基因组确定了万古霉素抗药性基因 oriT^[31]. 沙门氏菌需要490条必需基因^[32], 致病毒力岛1在维持全身感染中起重要作用, 而持续感染是由于特定的毒力基因在感染的特定时间顺时表达的原故^[33]. 幽门螺旋杆菌感染中, 不仅有 IS605 的插入突变, 还存在其他转座子基因成分参与致病岛的分割^[34], 其中有4.5%的基因与毒

力相关^[35]. 绿脓杆菌插入转座子分析发现有400条必需基因^[36]. 淋病双球菌铁代谢相关基因有203条, 30%操纵子级联调控铁代谢^[37], 确定了该菌5个与微小移动元件相关的基因^[38], 以及菌毛素糖化作用和转变的特征性基因^[39]. 流感嗜血杆菌侵袭必需基因有25条, 其中11条基因参与主要代谢酶的编码^[40]. 痢疾杆菌致病毒力岛均携带有可移动遗传元件, 他与侵袭性大质粒之间在进化及调控方面关系密切^[41]. 副溶血性弧菌的研究是转座子插入单基因突变的例证^[42]. 研究厌氧菌脱硫弧菌的脱硫作用认为, 微小转座子 Tn10 连接 pBSL180 载体插入基因组, 可检测厌氧菌生存必需基因^[43]. 水手转座子 Himar1 插入双曲钩端螺旋体确定了 FecA 和 FeoB 基因参与的铁离子运输系统^[44]. 通过全基因组插入转座子序列确定了疏螺旋体表型突变的必需基因^[45].

1.1.3 真菌基因组 大量可移动的真菌 DNA 片段分布、插入位置、拷贝数有显著不同, 导致真菌菌株或群体内的多样性. 以丝状真菌研究为例, 目前已在19个丝状真菌中发现了52个不同类型的转座子^[46]. 通用微小 Tn7 衍生的转座子插入酵母基因组, 既可以断裂基因造成单基因突变, 也可以构建酵母突变基因文库^[47]. 原虫的研究中, 用微小 Tn5 衍生的转座子克隆注入疟原虫虫体内, 开创了研究寄生虫必需基因组的方法^[48], 新杆状线虫基因组特征也得到确认^[49].

1.1.4 昆虫基因组 目前已经用基因组学区分了果蝇常染色质中的不同转座子^[50]. 果蝇质粒 P 因子是目前受到关注的 DNA 转座子, 该因子具有易动性和对内部序列的强烈修饰作用, 可用于确认、克隆基因以及安置基因回到基因组. 将目的基因置于 P 因子中, 在转座酶的作用下插入前胚盘染色体上可产生转基因果蝇^[51].

1.1.5 植物基因组 转座子不仅能在植物本基因组中转座, 也能转入其他植物使基因失活, 诱导产生表型突变株. 小麦中发现有黑麦的一条异源转座子导入, 推测异源转座在生物中广泛存在^[52]. 玉米的 Ac/Ds 转座子家族是研究较为深入的植物转座子^[53]. 水稻中发现有极高活性的转座子, 对建立水稻基因克隆和探测功能、诱发突变有很大促进作用^[54]. 通过正反双向转座子插入突变株的方法, 确定牵牛花 B、C 和 D 花器的功能与 SEPALLATA 样 MADS 基因家族有关^[55]. 结合基因芯片、差异显示技术确定依赖茉莉花素的花药基因^[56].

1.1.6 动物基因组 DNA 转座子已用于脊椎动物

■ 研发前沿

转座子技术是后基因组时代发展最快的技术之一, 可确定必需基因组功能并有望用于基因修复治疗. 目前正试图用于克隆转基因生物.

■相关报道

转座子使基因标记成为现实,为研究基因以及基因组打开了方法的大门。有大量文献报道该技术用于研究基因组功能、鉴别基因群体多样性和基因修复治疗等方面。

功能基因组学的研究^[57]。大量无功能的假基因存在于动物基因组中,目前认为是整合了大量反转录转座子的结果^[58]。自然选择没有把他们清除,原因是有利于基因组进化。反转录转座子是插入突变、多态性和重复序列产生的原因,也是基因组保持可塑性的原因。斑马鱼基因组插入转座子可迅速确定其必需基因^[59-60]。

1.1.7 人类基因组 研究发现,类人猿的tRNA 76个核苷酸序列中有47个与人类Alu家族核苷酸序列相似。在演化过程中发生基因突变,使类人猿tRNA形成了更类似于Alu家族的结构,揭示了转座子在高等动物基因组中的作用^[61]。用转座子相关技术,确定了在人类视网膜优先表达的特异性基因^[62]。

总之,生物进化从分子水平讲,其实质就是DNA的扩增和重组。转座是生物进化的重要手段。对于转座的机制,长期以来形成了一种固定模式,即转座是通过反向转录酶的中介作用,以DNA为实体插入转座子的模式。其形式有2种:(1)RNA→DNA→插入点;(2)DNA→RNA→DNA→插入点。这种理论解释了长序列基因的转座。而对于大量的短片段的、亚基因的转座却是以RNA为中介的调控反应结果,又称为调控转座,即先有调控后有转座,转座是调控反应的结果。所以有学者认为,转座的实体应当是RNA,而不是DNA,并且不一定要通过反向转录酶为中介。

1.2 转座子特征与分类 基因转座时发生的插入作用有一个普遍的特征,那就是受体分子中有一段3-12 bp的靶序列DNA会自我复制,使插入的转座子位于两个重复的靶序列之间。不同转座子的靶序列长度不同,但对于一个特定的转座子来说,他所复制的靶序列长度都是一样的。如IS1两翼总有9个碱基对的靶序列,而Tn3两端总有5 bp的靶序列。转座子分为简单转座子和复合式转座子。因没有任何宿主基因,简单转座子被直接称为插入序列,是染色体或质粒DNA的正常组成部分。插入序列都是可以独立存在的单元,带有协助自身移动的蛋白。复合式转座子是另一类带有某些抗药性基因或其他宿主基因的转座子,其两翼往往是两个相同或高度同源的插入序列。一旦形成复合转座子,其功能即被修饰,插入序列就只能作为复合体移动。

2 转座子相关技术

2.1 转座子分离方法 有4种方法用来分离转座

子:(1)转座子诱捕法,此法适用于分离具有相当高的整合和切割频率的转座子。硝酸盐还原酶基因特别适用于这种方法,转座子可以通过PCR扩增来分离。(2)Southern杂交法,此种方法需要有适当的探针,用于检测已知的转座子。(3)重复DNA序列鉴定法,适用于高拷贝数的无论是否有活性的转座子。(4)PCR扩增法,对已知序列的转座子可以设计引物直接PCR扩增。

2.2 转座子标签技术 是根据转座子随机插入引起突变的特性而发展起来的分离未知基因的方法。转座子整合进入启动子或编码区,使基因突变失活,产生一种新的表型,再根据转座上设计的已知序列标签克隆失活的基因,分离转座子和突变基因的侧翼区鉴定该基因,是定向研究基因的有效方法^[63-66],也是目前开展基因定位及其功能研究,特别是一系列调控基因研究的首选方法^[67]。转座子标签的设计基本原则是:只保留转座上完成转座过程的必需片段,同时加入筛选标记与报道基因。该技术具有快速、准确、规模化寻找与某一表型相关基因的特点。

2.3 转座子定点杂交技术 2001年,哈佛大学Sas-setti *et al*^[68]将转座子标签技术和基因芯片技术结合起来,创建转座子定点杂交技术(transposon site hybridization)。原理是:在一个突变体系中,将所有的转座子插入靶序列,同时用DNA基因芯片绘图技术,确定不同条件下的样本全基因组之间的差别,迅速地判断其功能特征的技术。通过对需要比较的两个样本全基因组含有T和A的碱基之间,随机插入人工合成的转座子序列标签,酶切含有标签的各种靶序列。将已知样本制备成基因芯片探针,与未知样本定点杂交,层级聚类数据分析得到有功能差异的基因分析图^[69-70]。转座子定点杂交技术的特点是:转座子插入使基因片段断裂均匀化而利于杂交,克服了单纯使用芯片时,基因片段过大或不均匀,导致杂交困难和杂交不完全的缺点。

2.4 转座子基因打靶技术 是将转座子作为核酸诱变剂插入目的片段,再将这些突变的基因片段导入生物体中,通过同源重组使基因组中相应的基因发生突变的技术。大规模的转座子突变直接应用于内源和外源转座子控制的生物中,用以阻断病原微生物毒力相关基因,并确定他们在感染过程中的功能及致病机制。对于序列已知的目的基因,可先用转座子插入目的片段,通过转导将该片段引入宿主细胞内,然后筛选突变的DNA序列替换野生型亲本DNA序列,通

通过对突变基因的测试来研究相关基因的功能^[71]。

2.5 基因增补技术即非病毒转座子“睡美人苏醒”技术 “睡美人”转座子系统中含有两个倒置重复/直接重复(IR/DR)序列。导入基因插在两个IR/DR之间, 携带导入基因的非病毒质粒载体连接在IR/DR的末端作为转座酶的作用位点, 定位于IR/DR之外的转座酶活化, 催化导入基因整合入宿主基因组, “睡美人”苏醒, 在两个IR/DR末端切除DNA产生环状转座子/转座酶复合物, “睡美人”转座子整合入宿主靶基因组DNA中, 并在每个IR/DR末端带上特征性TA标志。该技术的特点是: 利用了能与DNA特异性识别位点相连并切割转座子的重组转移酶即转座子/转座酶复合物, 为稳定转入并整合长期表达提供了基础, 使基因永久修复成为可能^[72]。

3 转座子技术的应用

3.1 确定微生物基因组功能 应用转座子及其相关技术, 全面确定了微生物基因组功能特征, 特别是分支菌属基因组功能。例如, 结核分支杆菌模式菌株的必需基因组及其相关功能均用此类方法得到确认^[73-74]。

3.2 鉴别菌株及群体多样性 转座子通常限制性地分布于特定的真菌菌株或群体中, 可以作为特定菌株的诊断工具。已用于丝状真菌群体多样性分析^[46]。在医药工业方面已用于有益菌株的鉴别, 在植物病理学方面已用于鉴别特定的病原体。

3.3 生态环境污染的生物修复 由于基因的可变性及转座子的遗传调控, 许多微生物能够利用人工合成的化学物质^[75], 与微生物分解代谢相关的基因往往与插入元件相连^[76]。当环境污染时, 转座子转移频率提高, 增加了微生物种群的生物降解潜力^[77]。

3.4 转基因生物的克隆 在细胞工程中, 转座子可作为有力的工具和基因载体系统用于克隆转基因生物。基因组插入质粒P因子已成功克隆转基因果蝇^[51]。通常认为, 转座子的插入能引起新的突变体形成, 但其副作用也许会抵消由转基因提供的任何优势, 以可移动DNA片段作为载体尚存在转移基因结果的不稳定现象和内源跳跃基因的相互影响。因此, 这方面的应用还处于探索阶段。

3.5 基因修复与转座子的基因治疗 胚胎干细胞同源重组、基因突变定位已发展成为研究人类疾病动物模型的有效研究工具。干细胞的多向

分化性结合“睡美人”转座子的定向点特异性修复能力, 使基因修复且无需进行体外细胞培养治疗多种疾病成为可能。基于双链Tn5转座子插入的染色体缺失系统可用于少量基因组制备和必需基因的分析^[78]。Dupuy *et al*^[79]用鼠胚胎干细胞中的“睡美人”转座子作为细菌诱变鼠的遗传分析工具, 非同源片段插入子代基因位点导致基因修复。Yant *et al*^[80]用“睡美人”转座子整合于血友病成年鼠体细胞染色体功能基因中, 用IX因子转座子的供体质粒和“睡美人”转座酶辅助质粒组成的反转录系统, 可使IX因子稳定在治疗水平。Paul *et al*^[81]目前正尝试应用顺式质粒转移系统, 使“睡美人”转座子在人类脐带血干细胞中稳定表达。干细胞基因修复涉及单核苷酸多态性改变而可能治疗癌变。此外, 利用胎儿体内直接注射或体外控制胚胎干细胞发育进行宫内基因修复, 也为此类疾病的预防和治疗提供了可能^[82]。目前, 基因修复技术已用于镰状细胞贫血和地中海贫血等血液病的治疗^[83]。

4 参考文献

- 1 McClintock B. A cytological demonstration of the location of an inter change between two non-homologous chromosomes of zea mays. *Proc Natl Acad Sci USA* 1930; 16: 791-796
- 2 Ivics Z, Hackett PB, Plasterk RH, Izsvak Z. Molecular reconstruction of Sleeping Beauty, a Tc1-like transposon from fish, and its transposition in human cells. *Cell* 1997; 91: 501-510
- 3 Schmidt T. LINEs, SINEs and repetitive DNA: non-LTR retrotransposons in plant genomes. *Plant Mol Biol* 1999; 40: 903-910
- 4 Miskey C, Izsvak Z, Plasterk RH, Ivics Z. The Frog Prince: a reconstructed transposon from *Rana pipiens* with high transpositional activity in vertebrate cells. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 6873-6881
- 5 Ivics Z, Kaufman CD, Zayed H, Miskey C, Walisko O, Izsvak Z. The Sleeping Beauty transposable element: evolution, regulation and genetic applications. *Curr Issues Mol Biol* 2004; 6: 43-55
- 6 McClintock B. The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proc Natl Acad Sci USA* 1950; 36: 344-355
- 7 Izsvak Z, Ivics Z, Plasterk RH. Sleeping Beauty, a wide host-range transposon vector for genetic transformation in vertebrates. *J Mol Biol* 2000; 302: 93-102
- 8 Vilen H, Aalto JM, Kassinen A, Paulin L, Savilahti H. A direct transposon insertion tool for modification and functional analysis of viral genomes. *J Virol* 2003; 77: 123-134
- 9 Lee M, Abenes G, Zhan X, Dunn W, Haghighi E, Tong T, Tam A, Chan K, Liu F. Genetic analyses of gene function and pathogenesis of murine cytomegalovirus by transposon-mediated mutagenesis. *J Clin Virol* 2002; 25 Suppl 2: S111-122
- 10 Hayes F. Transposon-based strategies for microbial functional genomics and proteomics. *Annu Rev*

■创新盘点

本文系统介绍了转座子及其相关技术的原理和应用, 对该领域的最新成果进行了归纳总结。

■应用要点

- 作为基因工具, 转座子技术主要用于基因组功能的研究, 生态环境污染的生物修复, 基因治疗的基础研究, 目前有助于克隆转基因生物的趋势。
- 11 Genet 2003; 37: 3-29
 - 12 唐江涛, 何勇强, 唐纪良. 细菌转座子Tn5转座机理的研究进展. 广西农业生物科学 2003; 4: 316-321
 - 13 Flores AR, Parsons LM, Pavelka MS Jr. Characterization of novel Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium smegmatis mutants hypersusceptible to beta-lactam antibiotics. *J Bacteriol* 2005; 187: 1892-1900
 - 14 Ruley KM, Ansede JH, Pritchett CL, Talaat AM, Reimschuessel R, Trucksis M. Identification of Mycobacterium marinum virulence genes using signature-tagged mutagenesis and the goldfish model of mycobacterial pathogenesis. *FEMS Microbiol Lett* 2004; 232: 75-81
 - 15 Malaga W, Perez E, Guilhot C. Production of unmarked mutations in mycobacteria using site-specific recombination. *FEMS Microbiol Lett* 2003; 219: 261-268
 - 16 Hotter GS, Wards BJ, Mouat P, Besra GS, Gomes J, Singh M, Bassett S, Kawakami P, Wheeler PR, de Lisle GW, Collins DM. Transposon mutagenesis of Mb0100 at the ppe1-nrp locus in Mycobacterium bovis disrupts phthiocerol dimycocerosate (PDIM) and glycosylphenol-PDIM biosynthesis, producing an avirulent strain with vaccine properties at least equal to those of M. bovis BCG. *J Bacteriol* 2005; 187: 2267-2277
 - 17 Sasseti CM, Boyd DH, Rubin EJ. Genes required for mycobacterial growth defined by high density mutagenesis. *Mol Microbiol* 2003; 48: 77-84
 - 18 Waddell SJ, Chung GA, Gibson KJ, Everett MJ, Minnikin DE, Besra GS, Butcher PD. Inactivation of polyketide synthase and related genes results in the loss of complex lipids in Mycobacterium tuberculosis H37Rv. *Lett Appl Microbiol* 2005; 40: 201-206
 - 19 Robinson KA, Goyard S, Beverley SM. *In vitro* shuttle mutagenesis using engineered mariner transposons. *Methods Mol Biol* 2004; 270: 299-318
 - 20 Stewart GR, Patel J, Robertson BD, Rae A, Young DB. Mycobacterial mutants with defective control of phagosomal acidification. *PLoS Pathog* 2005; 1: 269-278
 - 21 Lamichhane G, Zignol M, Blades NJ, Geiman DE, Dougherty A, Grosset J, Broman KW, Bishai WR. A postgenomic method for predicting essential genes at subsaturation levels of mutagenesis: application to Mycobacterium tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 7213-7218
 - 22 Lamichhane G, Tyagi S, Bishai WR. Designer arrays for defined mutant analysis to detect genes essential for survival of Mycobacterium tuberculosis in mouse lungs. *Infect Immun* 2005; 73: 2533-2540
 - 23 Gibson CM, Caparon MG. Alkaline phosphatase reporter transposon for identification of genes encoding secreted proteins in gram-positive microorganisms. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 928-932
 - 24 Clancy A, Lee MH, Jones AL, Rubens CE. Construction and characterization of transposon TnphoZ for the identification of genes encoding exported proteins in Streptococcus agalactiae. *FEMS Microbiol Lett* 2004; 241: 257-264
 - 25 Knobloch JK, Nedelmann M, Kiel K, Bartscht K, Horstkotte MA, Dobinsky S, Rohde H, Mack D. Establishment of an arbitrary PCR for rapid identification of Tn917 insertion sites in Staphylococcus epidermidis: characterization of biofilm-negative and nonmucoid mutants. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 5812-5818
 - 26 Sergeev N, Volokhov D, Chizhikov V, Rasooly A. Simultaneous analysis of multiple staphylococcal enterotoxin genes by an oligonucleotide microarray assay. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2134-2143
 - 27 Bae T, Banger AK, Wallace A, Glass EM, Aslund F, Schneewind O, Missiakas DM. Staphylococcus aureus virulence genes identified by bursa aurealis mutagenesis and nematode killing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 12312-12317
 - 28 Okada Y, Makino S, Tobe T, Okada N, Yamazaki S. Cloning of rel from Listeria monocytogenes as an osmotolerance involvement gene. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 1541-1547
 - 29 Kang Y, Durfee T, Glasner JD, Qiu Y, Frisch D, Winterberg KM, Blattner FR. Systematic mutagenesis of the Escherichia coli genome. *J Bacteriol* 2004; 186: 4921-4930
 - 30 刘仁元, 刘吉元, 廖端芳. 大肠杆菌REP序列的进化机理及其对调控、转座机制的证明. 南华大学学报·医学版 2002; 30: 260-268
 - 31 Gerdes SY, Scholle MD, Campbell JW, Balazsi G, Ravasz E, Daugherty MD, Somera AL, Kyrpides NC, Anderson I, Gelfand MS, Bhattacharya A, Kapatral V, D'Souza M, Baev MV, Grechkin Y, Mseeh F, Fonstein MY, Overbeek R, Barabasi AL, Oltvai ZN, Osterman AL. Experimental determination and system level analysis of essential genes in Escherichia coli MG1655. *J Bacteriol* 2003; 185: 5673-5684
 - 32 Tomita H, Ike Y. Genetic analysis of transfer-related regions of the vancomycin resistance Enterococcus conjugative plasmid pHTbeta: identification of oriT and a putative relaxase gene. *J Bacteriol* 2005; 187: 7727-7737
 - 33 Knuth K, Niesalla H, Hueck CJ, Fuchs TM. Large-scale identification of essential Salmonella genes by trapping lethal insertions. *Mol Microbiol* 2004; 51: 1729-1744
 - 34 Lawley TD, Chan K, Thompson LJ, Kim CC, Govoni GR, Monack DM. Genome-wide screen for salmonella genes required for long-term systemic infection of the mouse. *PLoS Pathog* 2006; 2: e11
 - 35 刘炯, 许国铭, 李兆申, 屠振兴, 李淑德, 龚燕芳. 插入序列IS605与cag致病岛分割在中国人幽门螺杆菌中的不一致性. 第二军医大学学报 2002; 23: 170-172
 - 36 Salama NR, Shepherd B, Falkow S. Global transposon mutagenesis and essential gene analysis of Helicobacter pylori. *J Bacteriol* 2004; 186: 7926-7935
 - 37 Jacobs MA, Alwood A, Thaipisuttikul I, Spencer D, Haugen E, Ernst S, Will O, Kaul R, Raymond C, Levy R, Chun-Rong L, Guenther D, Bovee D, Olson MV, Manoil C. Comprehensive transposon mutant library of Pseudomonas aeruginosa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 14339-14344
 - 38 Ducey TF, Carson MB, Orvis J, Stintzi AP, Dyer DW. Identification of the iron-responsive genes of Neisseria gonorrhoeae by microarray analysis in defined medium. *J Bacteriol* 2005; 187: 4865-4874
 - 39 Snyder LA, Davies JK, Saunders NJ. Microarray genotyping of key experimental strains of Neisseria gonorrhoeae reveals gene complement diversity and five new neisserial genes associated with Minimal Mobile Elements. *BMC Genomics* 2004; 5: 23
 - 40 Power PM, Roddam LF, Rutter K, Fitzpatrick SZ,

- Srikhanta YN, Jennings MP. Genetic characterization of pilin glycosylation and phase variation in *Neisseria meningitidis*. *Mol Microbiol* 2003; 49: 833-847
- 40 Herbert MA, Hayes S, Deadman ME, Tang CM, Hood DW, Moxon ER. Signature Tagged Mutagenesis of *Haemophilus influenzae* identifies genes required for *in vivo* survival. *Microb Pathog* 2002; 33: 211-223
- 41 刘红, 杨帆, 张笑冰, 张继瑜, 杨国威, 董杰, 薛颖, 侯云德, 袁正宏, 闻玉梅, 徐建国, 陈洪松, 马大龙, 王宇, 杨剑, 沈岩, 强伯勤, 吴洪涛, 贺秉坤, 吕渭川, 金奇. 痢疾杆菌全基因组序列及基因组岛的分析. *中国工程科学* 2002; 4: 40-47
- 42 Stewart BJ, McCarter LL. Lateral flagellar gene system of *Vibrio parahaemolyticus*. *J Bacteriol* 2003; 185: 4508-4518
- 43 Groh JL, Luo Q, Ballard JD, Krumholz LR. A method adapting microarray technology for signature-tagged mutagenesis of *Desulfovibrio desulfuricans* G20 and *Shewanella oneidensis* MR-1 in anaerobic sediment survival experiments. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71: 7064-7074
- 44 Louvel H, Saint Girons I, Picardeau M. Isolation and characterization of FecA- and FeoB-mediated iron acquisition systems of the spirochete *Leptospira biflexa* by random insertional mutagenesis. *J Bacteriol* 2005; 187: 3249-3254
- 45 Stewart PE, Hoff J, Fischer E, Krum JG, Rosa PA. Genome-wide transposon mutagenesis of *Borrelia burgdorferi* for identification of phenotypic mutants. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 5973-5979
- 46 张欣, 谢艺贤. 丝状真菌转座子研究进展. *热带农业科学* 2004; 24: 64-69
- 47 Kumar A, Seringhaus M, Biery MC, Sarnovsky RJ, Umansky L, Piccirillo S, Heidtman M, Cheung KH, Dobry CJ, Gerstein MB, Craig NL, Snyder M. Large-scale mutagenesis of the yeast genome using a Tn7-derived multipurpose transposon. *Genome Res* 2004; 14: 1975-1986
- 48 Sakamoto H, Thiberge S, Akerman S, Janse CJ, Carvalho TG, Menard R. Towards systematic identification of *Plasmodium* essential genes by transposon shuttle mutagenesis. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: e174
- 49 Williams DC, Boulin T, Ruaud AF, Jorgensen EM, Bessereau JL. Characterization of Mos1-mediated mutagenesis in *Caenorhabditis elegans*: a method for the rapid identification of mutated genes. *Genetics* 2005; 169: 1779-1785
- 50 Kaminker JS, Bergman CM, Kronmiller B, Carlson J, Svirskas R, Patel S, Frise E, Wheeler DA, Lewis SE, Rubin GM, Ashburner M, Celniker SE. The transposable elements of the *Drosophila melanogaster* euchromatin: a genomics perspective. *Genome Biol* 2002; 3: RESEARCH0084
- 51 解生勇. 果蝇P转座因子的研究进展. *遗传* 2000; 22: 437-440
- 52 罗培高, 张怀渝, 张怀琼, 任正隆. 异源转座子存在的证据. *分子植物育种* 2004; 2: 829-832
- 53 Peacock WJ, Dennis ES, Rhoades MM, Pryor AJ. Highly repeated DNA sequence limited to knob heterochromatin in maize. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 4490-4494
- 54 王文明, 邢少辰, 郑先武, 赵显峰, 朱立煌. 水稻双子房突变体中类copia逆转座子同源序列的研究. *植物学报* 2000; 42: 43-49
- 55 Vandenbussche M, Zethof J, Souer E, Koes R, Tornielli GB, Pezzotti M, Ferrario S, Angenent GC, Gerats T. Toward the analysis of the petunia MADS box gene family by reverse and forward transposon insertion mutagenesis approaches: B, C, and D floral organ identity functions require SEPALLATA-like MADS box genes in petunia. *Plant Cell* 2003; 15: 2680-2693
- 56 Mandaokar A, Kumar VD, Amway M, Browse J. Microarray and differential display identify genes involved in jasmonate-dependent anther development. *Plant Mol Biol* 2003; 52: 775-786
- 57 Miskey C, Izsvak Z, Kawakami K, Ivics Z. DNA transposons in vertebrate functional genomics. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 629-641
- 58 Brosius J. How significant is 98.5% 'junk' in mammalian genomes? *Bioinformatics* 2003; 19 Suppl 2: II35
- 59 Golling G, Amsterdam A, Sun Z, Antonelli M, Maldonado E, Chen W, Burgess S, Haldi M, Artzt K, Farrington S, Lin SY, Nissen RM, Hopkins N. Insertional mutagenesis in zebrafish rapidly identifies genes essential for early vertebrate development. *Nat Genet* 2002; 31: 135-140
- 60 Amsterdam A. Insertional mutagenesis in zebrafish. *Dev Dyn* 2003; 228: 523-534
- 61 Okada N. Transfer RNA-like structure of the human Alu family: implications of its generation mechanism and possible functions. *J Mol Evol* 1990; 31: 500-510
- 62 Chowers I, Gunatilaka TL, Farkas RH, Qian J, Hackam AS, Duh E, Kageyama M, Wang C, Vora A, Campochiaro PA, Zack DJ. Identification of novel genes preferentially expressed in the retina using a custom human retina cDNA microarray. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 3732-3741
- 63 Berg P, Singer MF. The recombinant DNA controversy: twenty years later. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9011-9013
- 64 Kim Y, Harker AR. Cloning and characterization of the regulatory genes phlR1 and phlR2 involved in phenol metabolism from *Alcaligenes eutrophus* JMP134. *Mol Cells* 1997; 7: 620-629
- 65 Vermeij P, Wietek C, Kahnert A, Wuest T, Kertesz MA. Genetic organization of sulphur-controlled aryl desulphonation in *Pseudomonas putida* S-313. *Mol Microbiol* 1999; 32: 913-926
- 66 McNamara PJ, Milligan-Monroe KC, Khalili S, Proctor RA. Identification, cloning, and initial characterization of rot, a locus encoding a regulator of virulence factor expression in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 2000; 182: 3197-3203
- 67 De Pina K, Desjardin V, Mandrand-Berthelot MA, Giordano G, Wu LF. Isolation and characterization of the nikR gene encoding a nickel-responsive regulator in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1999; 181: 670-674
- 68 Sassetti CM, Boyd DH, Rubin EJ. Comprehensive identification of conditionally essential genes in mycobacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 12712-12717
- 69 Belosludtsev YY, Bowerman D, Weil R, Marthandan N, Balog R, Luebke K, Lawson J, Johnston SA, Lyons CR, Obrien K, Garner HR, Powdermill TF. Organism identification using a genome sequence-independent universal microarray probe set. *Biotechniques* 2004; 37: 654-658, 660
- 70 Karaman MW, Groshen S, Lee CC, Pike BL, Hacia

同行评价

本文介绍了转座子相关研究进展, 可以为广大科研工作者进行基因调控研究提供新的研究路线和参考。

- JG. Comparisons of substitution, insertion and deletion probes for resequencing and mutational analysis using oligonucleotide microarrays. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: e33
- 71 Copeland NG, Jenkins NA, Court DL. Recombinering: a powerful new tool for mouse functional genomics. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 769-779
- 72 Richardson PD, Augustin LB, Kren BT, Steer CJ. Gene repair and transposon-mediated gene therapy. *Stem Cells* 2002; 20: 105-118
- 73 Lee PS, Lin DC, Moriya S, Grossman AD. Effects of the chromosome partitioning protein Spo0J (ParB) on oriC positioning and replication initiation in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* 2003; 185: 1326-1337
- 74 Rengarajan J, Bloom BR, Rubin EJ. Genome-wide requirements for *Mycobacterium tuberculosis* adaptation and survival in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 8327-8332
- 75 Tsuda M, Minegishi K, Iino T. Toluene transposons Tn4651 and Tn4653 are class II transposons. *J Bacteriol* 1989; 171: 1386-1393
- 76 Lauf U, Muller C, Herrmann H. The transposable elements resident on the plasmids of *Pseudomonas putida* strain H, Tn5501 and Tn5502, are cryptic transposons of the Tn3 family. *Mol Gen Genet* 1998; 259: 674-678
- 77 Asturias JA, Diaz E, Timmis KN. The evolutionary relationship of biphenyl dioxygenase from gram-positive *Rhodococcus globulus* P6 to multicomponent dioxygenases from gram-negative bacteria. *Gene* 1995; 156: 11-18
- 78 Goryshin IY, Naumann TA, Apodaca J, Reznikoff WS. Chromosomal deletion formation system based on Tn5 double transposition: use for making minimal genomes and essential gene analysis. *Genome Res* 2003; 13: 644-653
- 79 Dupuy AJ, Clark K, Carlson CM, Fritz S, Davidson AE, Markley KM, Finley K, Fletcher CF, Ekker SC, Hackett PB, Horn S, Largaespada DA. Mammalian germ-line transgenesis by transposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 4495-4499
- 80 Yant SR, Wu X, Huang Y, Garrison B, Burgess SM, Kay MA. High-resolution genome-wide mapping of transposon integration in mammals. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 2085-2094
- 81 Paul DS, Harmon AW, Winston CP, Patel YM. Calpain facilitates GLUT4 vesicle translocation during insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes. *Biochem J* 2003; 376: 625-632
- 82 Kaneda H, Hayashi J, Takahama S, Taya C, Lindahl KF, Yonekawa H. Elimination of paternal mitochondrial DNA in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4542-4546
- 83 Zanjani ED, Flake AW, Rice H, Hedrick M, Tavassoli M. Long-term repopulating ability of xenogeneic transplanted human fetal liver hematopoietic stem cells in sheep. *J Clin Invest* 1994; 93: 1051-1055

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》,荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》,俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

本刊主要报道食管癌、胃癌、肝癌、大肠癌、病毒性肝炎、幽门螺杆菌、中医中药、中西医结合等胃肠病学和肝病学的进展及原创性等基础或临床研究的文章。

《世界华人消化杂志》2006年由北京报刊发行局发行,国际标准刊号ISSN 1009-3079,国内统一刊号CN 14-1260/R,邮发代号82-262,出版日期8, 18, 28日,月价72.00,年价864元。欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023 北京市2345信箱,世界胃肠病学杂志社。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wcjd@wjgnet.com; 网址: www.wjgnet.com。