

Ac/Ds 转座子系统及其在玉米突变体库构建中的应用

董 雷¹, 库丽霞¹, 陈彦惠¹, 李平华^{1,2}

(1. 河南农业大学/河南粮食作物协同创新中心, 郑州 450002; 2. 山东农业大学农学院, 山东 泰安 271018)

摘 要: Ac/Ds 转座子系统是研究玉米功能基因组学的重要工具。Ac/Ds 转座子系统以其在基因组中的低拷贝、倾向插入基因外显子、可以在同一基因不同位点造成突变等独特优势, 在构建玉米突变体库和进行基因功能鉴定方面具有重要应用前景。综述了 Ac/Ds 转座子系统的插入特点、转座机制、在玉米突变体库构建中的应用以及我国玉米突变体库的现状, 并对我国玉米 Ac/Ds 突变体库的研究提出展望。

关键词: 玉米; Ac/Ds 转座子; 突变体库

中图分类号: S513.035

文献标识码: A

Ac/Ds Transposon System and Its Utilization in Mutant Library Construction in Maize

DONG Lei¹, KU Li-xia¹, CHEN Yan-hui¹, LI Ping-hua^{1,2}

(1. Collaborative Innovation Center of Henan Grain Crops, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002;

2. Agronomy College of Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: Ac/Ds transposon system is an important tool for maize functional genomics. Its distinctive properties, e.g. low copy number in the genome, insertion basis to the exons, and mutating different loci in a single gene, make it a wonderful system for mutant library construction and gene function characterization in maize. The specificity and mechanisms of Ac/Ds transposon in maize as well as the application of this system in constructing the mutant library were reviewed. The current progress of mutant library construction and further utilization of Ac/Ds in China was also discussed.

Key words: Maize; Ac/Ds transposon; Mutant library

玉米(*Zea mays* L.)是一年生禾本科草本植物, 原产于中美洲, 它不但具有重要的经济价值, 而且还是很好的遗传学研究材料。20 世纪 40~50 年代, 美国遗传学家 Barbara McClintock^[1,2]通过对玉米子粒糊粉层和植株色素形成的研究, 发现了一些具有转座能力的因子(Transposable element, TE), 并首次提出了转座子(Transposon)的概念。转座子是在基因组中可以移动的一段 DNA 序列, 并且其在移动过程中可能发生复制。后来在其他植物、细菌、真菌和动物中也发现了转座子。转座子的发现改变了人们以往

对生物体中基因组序列稳定性的认识, 突破了染色体中遗传因子位置固定的理论。Fu 等^[3]通过对两个玉米自交系 McC 和 B73 第 9 染色体 *bz* 基因区域的序列比对分析表明, 两个遗传纯合的基因组间存在大量的转座子差异, 说明了生物体基因序列都是通过不断突变而获得新序列, 原有的基因序列不断地通过插入、交换、重排而形成新的基因。

转座子在植物基因组中占据重要比例, 在草本植物基因组中约占 50%~80% 的比例, 大多数转座子都因发生沉默效应而失去功能^[4~7]。植物中转座子主要可以分为两大类: DNA 转座子和反转录转座子(Retrotransposon)。根据转座的自主性, 转座子可分为自主型转座子和非自主型转座子, 目前发现的 Ac(Activator)、Mu(Mutator)、Spm/En、Tam 和 dTph1 属于自主型转座子, Ds 属于非自主型转座子, 其中, Ac、Ds、Mu 和 Spm/En 都在玉米研究领域中得到应

收稿日期: 2014-08-08

作者简介: 董 雷(1984-), 男, 河南周口人, 博士, 主要从事作物遗传育种方向的研究。E-mail: dongleixyz@126.com
李平华为本文通讯作者。E-mail: pinghuali@sdaa.edu.cn

用^[8~10]。转座子的发现为研究基因功能提供了新的工具,以玉米为例,要想深入进行玉米基础研究,准确有效地发掘控制重要农艺性状的关键基因及位点,首先需对玉米进行深入的正向遗传学及反向遗传学研究,其中,基于突变体的正反向遗传学的研究将会是推动玉米基因功能研发的关键。由于当转座子插入功能基因区域或临近位点时会使插入点的基因失活并诱导其产生突变型,因此,根据这个特性可以采用转座子标签技术克隆得到相关功能基因。DNA转座子标签系统Ac/Ds的研究较为深入和广泛,Fedoroff等^[11]首次报道了利用Ac/Ds转座子标签技术从玉米中成功克隆到了*bronze*基因。随后,Ac/Ds作为外源转座子系统也陆续成功地应用在拟南芥、番茄、烟草、水稻、白杨等^[12~16]植物功能基因的克隆以及突变体库的构建。随着分子生物学技术的快速发展以及玉米基因组测序工作的完成^[17],以研究功能基因组学为代表的后基因组时代已经到来,人

们对转座子结构、功能和分子生物学机制的认识不断深入,Ac/Ds转座子系统已成为构建玉米突变体库和玉米功能基因研究的有效工具。

1 Ac/Ds结构特点及转座机制

玉米转座子Ac(Activator)是第一个被发现的可移动的遗传元件,长度约4.6 Kb,两端具有11 bp不完全的反向重复序列(inverted repeat, IR),编码一个由807个氨基酸组成蛋白,即Ac转座酶(AcTPase)。Ac能在自身AcTPase的作用下进行转座,因此Ac被称为自主性转座子。Ds(Dissociation)元件含有Ac因子中两端的IR序列和完整的转座序列,但缺失或部分缺失合成转座酶的序列,不具有AcTPase活性,所以Ds元件单独存在时不能发生转座,只有同时存在时Ds才能从原位点切离插入到新位点中,同时原位点留下足迹(Footprint),因此Ds被称为非自主性转座子^[18~20](图1)。

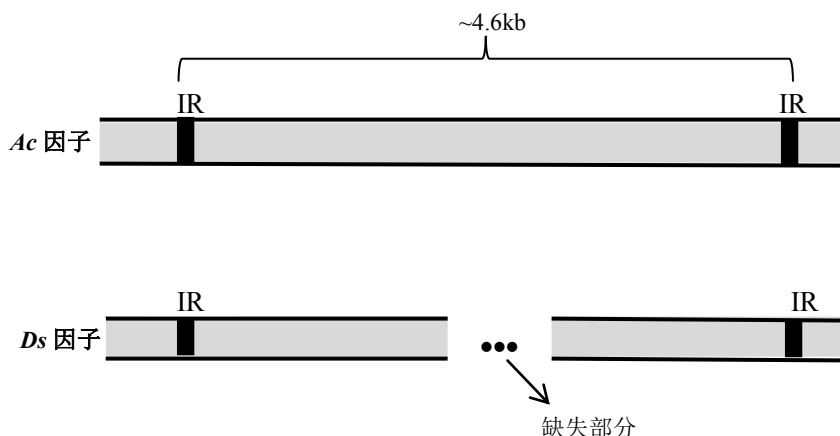


图1 Ac/Ds转座元件结构示意图

Fig.1 Schematic diagram of Ac/Ds transposon elements structure

Ac/Ds转座子发生跳跃后插入到基因组中的另外一个位点,然而,不同的植物中,转座行为也有很大的差别。从以往的研究数据中可以看出,在玉米和烟草中,Ac转座子倾向于插入与起始位点连锁的位置,其中,玉米中所占的比例是61%和59%,烟草中所占的比例为72%,而在番茄中所占的比例相对较低,为25%^[21~24]。Ac/Ds标签系统中Ac转座子伴随供体位点遗传的频率在不同的植物中也不相同,玉米中为42%,烟草为58%,拟南芥为53%。研究表明,Ac偏好插入到低甲基化、低拷贝或单拷贝序列的位点^[25]。Ds的转座频率在不同的植物中也各不相同,拟南芥中为4%,烟草中为0.37%,水稻中为5%~50%,番茄中为6%,大麦中为11.8%~17.1%,白杨中为0.24%^[26~32]。Ds偏好插入在供体位点附

近,也可以插入在其他的染色体中^[33]。

Ac/Ds转座子系统能够造成主要染色体重排(Major chromosomal rearrangements, MCRs)。Zhang等^[34]研究了含有Ac转座子元件末端紧密连锁的玉米染色体重排现象,结果在MCRs中发现有17个相互易位和两个倒置,这19个断点处均为Ac末端和靶位点的8个重复碱基,表明MCRs是由Ac转座子末端相连锁元件精确转座反应而产生的。Xuan等^[35]报道了*OsRLG5*位点中或附近基因组重排的遗传情况,在34个重排事件中有22个可以遗传,另外12个位于体细胞组织,在这22个可遗传事件当中有15个包含着缺失,表明在*OsRLG5*位点的两个反向Ds元件主要诱导基因组产生缺失现象。Yu等^[36]介绍了Ac转座酶激发的末端反向Ac/Ds转基因水稻的染色

体变化,发现在转基因后代有25个独立的基因在3个不同的染色体位点发生重排,染色体重排包括缺失、倒位和易位。有研究报道,一些转座子还能直接诱导产生串联序列重复,发生直接串联重复的频率为0.5%~1%^[37]。紧密连锁的Ac/Ds转座子能够诱导染色体的断裂,Yu等^[38]以15个玉米等位基因为对象,每个等位基因在侧翼位点都包含着一个固定的缺陷型Ac(frantured Ac, fAc)和一个紧密连锁的全长Ac,结果发现,末端带有不同元件的成对Ac/fAc能够诱导染色体的断裂;相反,在等位基因包含成对Ac/fAc的外部末端发生转座的情况下没有发现染色体断裂。在发生染色体断裂的机构中,断裂频率与发生相互作用的Ac/Ds末端的距离呈负相关性,这为人们对转座诱导的染色体断裂机制的认识提供了一个新的观点。

2 Ac/Ds转座子系统在玉米突变体库构建中的应用

2.1 玉米Ac/Ds突变体库研究进展

要想深入进行玉米基因组学的基础研究,准确又有效地发掘玉米基因组中控制重要农艺性状的关键基因及位点,首先需要对玉米进行深入全面的正向遗传学及反向遗传学研究,其中,基于突变体的正向遗传学将是推动玉米基因功能研究的关键。目前,已构建突变体库的主要方法有化学与辐射诱导突变和插入突变,化学诱变或者辐射诱导主要采用EMS、NMU、中子、 γ -射线以及离子束辐射等方法^[39-41],插入突变主要采用转座子突变法和T-DNA插入突变法^[42]。

玉米突变体库主要有两种类型:基于EMS诱变的TILLING(Targeting Induced Local Lesions in Genomes)突变体库及基于转座子系统的突变体库。TILLING在基因组范围造成点突变,在拟南芥等小基因组上应用良好。但玉米基因组较大,基因组内部有大量的冗余重复序列,再加上突变体的鉴定费用较高,这些都加大了TILLING技术在玉米中应用的难度。目前用于构建玉米突变体库的转座子系统主要有Mutator(Mu)系统和Ac/Ds系统。和Mu相比,Ac在玉米基因组中的拷贝数较低,更有利于分离和鉴定突变体中的侧翼序列^[43]。由于Ac/Ds更倾向于插入到邻近的连锁位点,因此,可以利用该特点创造局部区域突变事件,对目的基因进行定向突变^[44]。Ac/Ds突变体库与Mu突变体库互为补充,成为玉米功能基因研究的有效工具。

Dooner等^[45]以玉米9号染色体上断裂点附近的

*wx*为标记,得到了37个trAcs与*bz*供体不连锁的突变库。Cowperthwaite等^[46]以9号染色体上的突变位点*wx-m7(Ac)*为供体构建了1 225个独立转座的Ac插入文库,并从中鉴定了46个tac(transposed Ac)位点。Kolkman等以*P1-vv*和*bti97156:Ac*为供体,得到了大约400个转座系,并且在重组自交系群体连锁图谱中精细定位了41个[47]建立了在4S染色体上一个以与su1紧密连锁的Ac转座系统,构建并鉴定了208个独立的长距离Ac转座系,1/3的tr-Acs侧翼序列被分析到并且在玉米基因组中定位。以前的研究发现,tr-Acs更倾向于插入到基因序列中,tr-Acs的分布并不是随机的。在Wang的研究中发现,tr-Acs倾向于插入到1、2、9、10号染色体上。之后,他们又进一步改善Ac/Ds突变系统^[48],采用9号染色体长臂的*apt1-m1(Ac)*作为Ac供体创造了Ac插入突变体库,从1 083个F₁穗中共获得了9 625个转座事件。同时,还采用改进的基于PCR技术的基因组步移策略,该策略在分离转座子侧翼序列时比现有的方法效率更高。

2.2 两轮测交法策略构建玉米Ac/Ds突变体库

对于传统的Ac系统,Ac不断自主转座,使转座植株难以稳定,不利于获得理想的突变体库。美国丹佛斯植物科学中心(Donald Danforth Plant Science Center)的Brutnell教授等利用Ac/Ds二元转座子,在玉米自交系W22遗传背景下,采用两轮测交法策略富集可遗传的与Ds原始供体位置不连锁的新Ds插入位点,构建覆盖10条染色体的Ds群体,设计新颖有效;他们利用末端具有10 bp缺失的Ac构建二元载体,此Ac元件能够合成转座酶帮助Ds转座,但本身缺失转座序列,丧失了转座能力,称为非移动Ac(Ac immobilized, Ac-im);Ac-im位于第7号染色体,影响糊粉层色素合成,Ac杂合条件下,糊粉层显现紫色斑点;Ds供体位于第10号染色体,插入在控制子粒花青素合成的位点r1(r1-sc:m3);Ds的插入影响花青素的合成,因而子粒为黄色(colorless),如果Ds从该位点跳走,即r1位点回复突变,恢复了花青素合成,从而玉米子粒为蓝紫色。因此,通过糊粉层斑点及子粒颜色,可以推断Ac是否存在及Ds是否转座。

两轮测交法策略中,先将子粒上呈紫色斑点的供体植株Ac-im/+, r1-sc:m3/r1-sc:m3与植株+/+, r1-sc:m3/r1-sc:m3测交,在后代中,如果Ds发生转座,从r1位点切离(Ds切离后可能插入基因组中别的新的位点),R1位点功能就会恢复,从而产生花青素,子粒呈现蓝紫。为了将从原始供体r1位置切离

后可能插入基因组中别的新位点的Ds(transposed Ds, tr-Ds)富集,使其可以在后代继续遗传,并且与Ac-im分离以保持tr-Ds的稳定性(不存在Ac情况下,Ds无法转座),两轮测交法策略的第二步是将第一步测交中呈现蓝紫色的子粒继续与植株+/+,r1-sc;m3/r1-sc;m3测交;在测交后代中,如果第一轮测交中呈现蓝紫色的子粒中携带Ac,那么经过第二轮测交,Ac将产生分离,黄色(colorless)子粒将被挑选出来;在测交后代中,如果第一轮测交中呈现蓝紫色的子粒中不携带Ac,那么经过第二轮测交,将会产生蓝紫色及黄色子粒。这些被挑出的黄色(colorless)子粒可能富含插入基因组其他位置的tr-Ds,并且这些tr-Ds不会再次转座,可以稳定遗传,同时,两轮测交法还避免了体细胞转座造成的干扰^[49]。

随着新一代测序技术的快速发展,Brutnell已经开始利用这个平台完成了大量的测序工作。他们对Ds引物进行改造,加入bar-code及Illumina测序接头,从而可以在IPCR后,同时测定大量样品,大大减少了工作量,节约了测序时间,提高了测序精度并减少了测序成本^[50]。目前,仅利用r1位点作为Ds供体,Brutnell及其合作者已定位了2 000个Ds,覆盖了玉米的10条染色体。这些Ds主要分布于富含基因的染色体区域,如基因外显子及内含子,并且根据B73玉米基因组测序结果计算,85%的玉米在其周围4 cM区域至少存在一个Ds。

从2007年到现在,该Ac/Ds项目大约为72家研究单位提供大约250个突变体群体,大大方便了玉米基因功能的研究。研究者可以在<http://www.plantgdb.org/prj/AcDsTagging/>查看相关信息。

2.3 Ac/Ds突变体的优越性

Ac/Ds的拷贝数极低,并且倾向于插入原始供体附近位置,曾极大地限制了其在玉米随机突变体库构建中的应用,但这曾经不被看好的特性恰恰是其建立区域范围内突变体库的极大优势。目前,85%的玉米在其周围4 cM区域至少存在一个Ds存在,利用这些Ds,可以对附近有Ds的基因进行定向突变,为正反向遗传学研究提供材料。

首先,在反向遗传学方面:①如果从其他物种中知道某一基因控制重要的农艺性状,希望了解其玉米的相似部位是否行使相同或相似功能并期望加以利用,或者从全基因组关联分析中推断某一基因可能具有重要功能的话,可以利用Ac/Ds系统将Ds转座插入目的基因,通过调控Ac的存在与否,在目的基因多个位点造成一系列突变并使之稳定遗传,从

而可以观察表型,深入了解基因功能;②玉米中有些重要基因,如C₄光合关键基因CA(Carbonic anhydrase)存在串联重复,在这种情况下,Ds可以插入第一个基因后,再切离转座插入第二个基因。Ds的切离会造成8 bp的足印,影响氨基酸编码,从而造成突变,因此,Ds在两个基因间的连续转座可以很容易造成串联基因的双突变,这是普通杂交及Mu突变所不可能完成的;③对于任何一个玉米基因,只要其附近存在Ds,就可以针对此基因构建Ds插入突变体,观察突变体表型以揭示其生物学功能。

其次,在正向遗传学方面,通过两轮测交法,Brutnell及其合作者得到Ds随机插入10条染色体的Ds群体,并且这一群体还在继续扩大。对这一大规模突变体库的筛选观察,对有表型的植株可以通过IPCR的方法快速鉴定突变基因,从而可以进一步帮助了解基因功能并克隆基因。

从拟南芥及水稻的研究可以看出,对基因功能的研究离不开突变体及突变体库。目前用于构建玉米突变体库的转座子系统主要有Mutator(Mu)系统和Ac/Ds系统。但Mu突变体遗传背景复杂,对Mu活性进行遗传控制不容易导致大量体细胞转座的发生等因素,极大限制了其在基因功能鉴定方面的应用。另外,根据玉米Ac/Ds突变体库的构建及tr-Ds的鉴定,与Mu系统相比,Ac/Ds二元转座子具有3个优点:①转座子供体植株为自交系W22遗传背景,所有工作均在W22遗传背景下进行,保证了遗传背景的纯度,避免了Mu突变体库遗传背景复杂的短处;②转座子拷贝数低,在突变体库中,每个株系仅有1~2个新的Ds插入,避免了转座子拷贝数高,其他位点转座子对目标基因的干扰;③Ac/Ds可造成基因敲除突变,Ds插入热点在基因外显子,因此容易造成功能完全丧失的基因敲除突变。Mu的插入热点在启动子区域,容易造成基因功能削弱突变。Ac/Ds突变体作为Mu突变体库的有益补充,可以有效帮助广大玉米研究工作者利用正反向遗传学的策略深入挖掘基因功能。

3 我国玉米Ac/Ds突变体库研究现状及应用前景

我国对玉米功能基因的研究落后于国外,育种种质资源狭窄,研究基础薄弱,缺乏具有自主专利和知识产权的基因,因此,要想解决这些问题,急需建立以玉米突变体为核心的基因功能研究体系。目前,我国玉米Ac/Ds突变体库研究鲜有报道,近几年,上海大学王飞、宋任涛等^[51]报道了以玉米第4号

和第9号染色体上的 $su1$ 和 $apt1-m1$ 为Ac供体,创造了一些突变体库。河南农业大学陈彦惠教授课题组正在利用杂交的方法将Ac/Ds系统导入我国育种材料郑58、K17、豫82、豫87-1和LD9801中,以期获得建立于中国玉米种质基础上的突变体库,为我国玉米基础研究及育种提供遗传学工具。同时,也希望得到政府支持,从合作者Dr. Brutnell实验室引进Ac/Ds突变体材料并进一步扩大,为我国广大玉米研究者提供材料。

我国玉米育种种质资源狭窄,基因资源匮乏,研究基础薄弱,这些状况极大地限制了我国玉米育种的发展及国际竞争力。利用Ac/Ds突变体库丰富基因资源的重要性日益增加,一方面,对Ac/Ds突变体库进行的表型观察可以帮助寻找鉴定控制重要农业形状的优势基因;另一方面,可以帮助克隆目的基因的功能鉴定,并明确基因对农业性状的控制,这些都可以为我国的育种提供准确可靠信息和基因资源。如果将Ac/Ds突变体库通过杂交的方法整合到我国的育种核心种质中,还可以在我国优势品种上进一步确定克隆对农艺性状有益的基因,并对其进行进一步改造,进一步发掘并扩大我国玉米育种基因资源并在育种上加以利用,培育适合我国地理气候状况的高产新品种。另外,由于基因功能的研究涉及专利和知识产权,因而对一个国家的长远发展起战略性的作用。目前,具有我国自主知识产权的玉米基因很少,这种情况严重制约我国玉米育种的发展。因此,构建Ac/Ds突变体库并加以改造利用,获得一批功能明确、具有自主知识产权、控制玉米重要农业性状的关键基因,为我国玉米育种提供丰富的基因来源,显得尤为重要,并具有重大意义。

参考文献:

- [1] MCCLINTOCK B. Mutable loci in maize[J]. Carnegie Inst Wash Year Book, 1948, 47: 155-169.
- [2] MCCLINTOCK B. Chromosome organization and gene expression[J]. Cold Spring Harbor Symp, 1951, 16: 131.
- [3] Fu H H, Dooner H K. Intraspecific violation of genetic colinearity and its implications in maize[J]. Proc. Natl. Acad. Sci., 2002, 99(14): 9573-9578.
- [4] San M P, Bennetzen J L. Evidence that a recent increase in maize genome size was caused by the massive amplification of intergenet-retrotransposons[J]. Ann. Bot., 1998, 81: 37-44.
- [5] Vicient C M, Suoniemi A, Anamthawat-Jonsson K, et al. Retrotransposon BARE-1 and its role in genome evolution in the genus *Hordeum*[J]. Plant Cell, 1999, 11(9): 1769-1784.
- [6] Meyers B C, Tingey S V, Morgante M. Abundance, distribution, and transcriptional activity of repetitive elements in the maize genome[J]. Genome Res., 2001, 11(10): 1660-1676.
- [7] Lisch D. Epigenetic regulation of transposable elements in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2009, 60: 43-66.
- [8] Feschotte C, Jiang N, Wessler S R. Plant transposable elements: where genetics meets genomics[J]. Nat. Rev. Genet., 2002, 3(5): 329-341.
- [9] Schmutz J, Cannon S B, Schlueter J, et al. Genome sequence of the palaeopolyploidsoybean[J]. Nature, 2010, 463(7178): 178-183.
- [10] Lazarow K, Doll M L, Kunze R. Molecular biology of maize Ac/Ds elements: an overview[J]. Methods Mol. Biol., 2013, 1057: 59-82.
- [11] Fedoroff N V, Furtek D B, Nelson O E. Cloning of the bronze locus in maize by a simple and generalizable procedure using the transposable controlling element Activator(Ac)[J]. Proc. Natl. Acad. Sci., 1984, 81(12): 3825-3829.
- [12] Kuromori T, Hirayama T, Kiyosue Y, et al. A collection of 11 800 single-copy Ds transposon insertion lines in *Arabidopsis*[J]. Plant Journal, 2004, 37: 897-905.
- [13] Jones D A, Thomas C M, Hammond-Kosack K E, et al. Isolation of the tomato *Cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging[J]. Science, 1994, 4: 789-793.
- [14] Whitham S, Dinesh-Kumar S P, Choi D, et al. The product of the tabacomosaicvirus resistance gene N: similarity to toll and the interleukin-1 receptor[J]. Cell, 1994, 78: 1-20.
- [15] Qu S, Desai A, Wing R, et al. A versatile transposon-based activation tag vector system for functional genomics in cereals and other monocot plants[J]. Plant Physiol, 2008, 146: 189-199.
- [16] Fladung M, Polak O. Ac/Ds-transposon activation tagging in poplar: a powerful tool for gene discovery[J]. BMC Genomics, 2012, 13: 61.
- [17] Schnable P S, Ware D, Fulton R S, et al. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics[J]. Science, 2009, 326: 1112-1115.
- [18] Becker H A, Kunze R. Maize Activator transposase has abipartite DNA bindingdomain that recognizes subterminal sequencesand the terminal inverted repeats[J]. Mol. Gen. Genet., 1997, 254: 219-230.
- [19] Coupland G, Baker B, Schell J, et al. Characterizationof the maizetransposable element Ac by internal deletions[J]. EMBO J., 1988, 7: 3653-3659.
- [20] Houba-Herlin N, Becker D, Post A, et al. Excision of aDs-like maizetransposable element(Ac delta) in a transient assay in Petunia is enhanced by a truncated codingregion of the transposable element Ac[J]. Mol. Gen. Genet., 1990, 224: 17-23.
- [21] Greenblatt I M. A chromosome replication pattern deduced from pericarp phenotypes resulting from movements of the transposable element, modulator, in maize[J]. Genetics, 1984, 108(2): 471-485.
- [22] Dooner H K, Belachew A. Transposition pattern of the maize element Ac from the Bz-M2(ac) Allele[J]. Genetics, 1989, 122 (2): 447-457.
- [23] Dooner H K, Keller J, Harper E, et al. Variable patterns of transposition of the maize element activator in tobacco[J]. Plant Cell, 1991, 3(5): 473-482.
- [24] Keller J, Lim E, James D W, et al. Germinal and somatic activity of the maize element Activator(Ac) in *Arabidopsis*[J]. Genetics, 1992, 131(2): 449-459.
- [25] Zhang J B, Zhang F, Peterson T. Transposition of reversed Ac ele-

- ment ends generates novel chimeric genes in maize[J]. *PLoS Genetics*, 2006(2): 1535–1540.
- [26] Bancroft I, Dean C. Transposition pattern of the maize element *Ds* in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Genetics*, 1993(134): 1221–1229.
- [27] Biezen E F, Chung H Y, Nijkamp H J J, et al. Frequency and distance of transposition of a modified Dissociation element in transgenic tobacco[J]. *Transgenic Research*, 1996(5): 343–357.
- [28] Upadhyaya N M, Zhou X, Zhu Q H, et al. An *iAc/Ds* gene and enhancer trapping system for insertional mutagenesis in rice[J]. *Func. Plant Biol.*, 2002(29): 547–559.
- [29] Greco R, Ouwerkerk P B, Taal A J, et al. Early and multiple *Ac* transpositions in rice suitable for efficient insertional mutagenesis[J]. *Plant Mol. Biol.*, 2001(46): 215–227.
- [30] Nakagawa Y, Machida C, Machida Y, et al. Frequency and pattern of transposition of the maize transposable element *Ds* in transgenic rice plants[J]. *Plant Cell Physiol*, 2000(41): 733–742.
- [31] Briza J, Pavingerova D, Niedermeierova H, et al. Germinal excision and reinsertion frequencies of the mobile element *Ds* transposed from two unlinked T-DNA loci in tomato[J]. *Biol. Plantarum*, 2000(43): 185–192.
- [32] Singh J, Zhang S, Chen C, et al. High-frequency *Ds* remobilization over multiple generations in barley facilitates gene tagging in large genome cereals[J]. *Plant Mol. Biol.*, 2006(62): 937–950.
- [33] Kolkman J M, Conrad L J, Farmer P R. Distribution of Activator (*Ac*) throughout the maize genome for use in regional mutagenesis[J]. *Genetics*, 2005(169): 981–995.
- [34] Zhang J B, Yu C H, Pulletikurti V, et al. Alternative *Ac/Ds* transposition induces major chromosomal rearrangements in maize[J]. *Genes Dev.*, 2009, 23(6): 755–765.
- [35] Xuan Y H, Zhang J B, Peterson T, et al. *Ac/Ds*-induced chromosomal rearrangements in rice genomes[J]. *Mobile Genetic Elements*, 2012, 2(2): 67–71.
- [36] Yu C H, Han F P, Zhang J B, et al. A transgenic system for generation of transposon *Ac/Ds*-induced chromosome rearrangements in rice[J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2012, 125(7): 1449–1462.
- [37] Zhang J B, Zuo T, Peterson T. Generation of tandem direct duplications by reversed-ends transposition of maize *Ac* Elements[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(8): 1003691.
- [38] Yu C H, Zhang J B, Pulletikurti V, et al. Spatial configuration of transposable element *Ac* termini affects their ability to induce chromosomal breakage in maize[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(3): 744–754.
- [39] Henikoff S, Comai L. Single-nucleotide mutations for plant functional genomics[J]. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2003(54): 375–401.
- [40] Shikazono N, Yokota Y, Tanaka A, et al. Molecular analysis of carbon ion-induced mutations in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Genes Genet Syst*, 1998, 73(3): 173–179.
- [41] Shikazono N, Tanaka A, Watanabe H, et al. Rearrangements of the DNA in carbon ion-induced mutants of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Genetics*, 2001, 157(1): 379–387.
- [42] Twyman R M, Kohli A. Insertional and transposon mutagenesis[J]. *Genetic Modification*, 2003: 369–377.
- [43] Fedoroff N V, Furtek D B, Nelson O E. Cloning of the bronze locus in maize by a simple and generalizable procedure using the transposable controlling element Activator(*Ac*)[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1984(81): 3825–3829.
- [44] Ma Z, Dooner H K. A mutation in the nuclear-encoded plastid ribosomal protein S9 leads to early embryo lethality in maize[J]. *Plant Journal*, 2004, 37(1): 92–103.
- [45] Dooner H K, Belachew A, Burgess D, et al. Distribution of unlinked receptor sites for transposed *Ac* elements from the *bx-mZ* (*Ac*) allele in maize[J]. *Genetics*, 1994(136): 261–279.
- [46] Cowperthwaite M, Park W, Xu Z, et al. Use of the transposon *Ac* as a gene-searching engine in the maize genome[J]. *The Plant Cell*, 2002(14): 713–726.
- [47] Wang F, Li Z Y, Fan J, et al. An *Ac* transposon system based on maize chromosome 4S for isolating long-distance-transposed *Ac* tags in the maize genome[J]. *Genetica*, 2010(138): 1261–1270.
- [48] Wang F, Li P, Tang Y, et al. Characterization of an *Ac* transposon system based on *apt1-m1(Ac)* on the long arm of maize chromosome 9[J]. *Genetica*, 2012, 140(7–9): 337–347.
- [49] Vollbrecht E, Duvick J, Schares J P, et al. Genome-wide distribution of transposed Dissociation elements in maize[J]. *The Plant Cell*, 2010(22): 1667–1685.
- [50] Wang L, Si Y Q, Dedow L K, et al. A low-cost library construction protocol and data analysis pipeline for Illumina-Based Strand-Specific Multiplex RNA-Seq[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): 26426.
- [51] Fan J, Li P F, Song R T, et al. Generation of insertional mutation library in maize based on Activator tightly-linked with *su1*[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2012, 20(4): 1–8.

(责任编辑:朴红梅)