

植物中微型反向重复转座元件(MITEs) 在作物遗传研究中的应用进展

侯锦娜,刘永娟,安素妨,常丽,李保全
(河南省农业科学院作物设计中心,郑州 450002)

摘要: MITEs (Miniature Inverted-repeat Transposable Elements), 是最近发现的几乎在所有生物基因组中广泛分布的一类非自主型 DNA 转座元件, 对基因组的结构和基因表达都有重要的影响。研究发现 MITEs 的插入影响了许多重要农艺性状, 在作物遗传研究中的应用价值也逐渐显现。为了更好地将这一转座元件利用于作物遗传研究和改良过程, 文章概述了 MITEs 的发现及结构特点, 对根据其特点进行预测的分析软件和数据库进行了总结; 对 MITEs 在基因组中的分布特点进行了归纳, 发现其在基因组中拷贝数众多, 并多在近基因区分布; 总结了 MITEs 同其来源的自主型转座子间的对应关系及转座活性的激活和在基因组中的扩增模式; MITEs 对基因表达调控主要通过两种途径: 即通过插入改变基因的结构从而影响基因表达和表观遗传水平的调控途径。同时对目前已有的 MITEs 在作物遗传分析, 如开发分子标记, 改良性状, 构建突变体库等方面进行了总结归纳。

关键词: MITEs; 来源; 转座机理; 基因调控; 作物遗传

中图分类号: S5-3, S565.4

文献标志码: A

论文编号: casb16080112

Miniature Inverted-repeat Transposable Elements (MITEs) in Plants Applied in Crop Genetics Research

Hou Jinna, Liu Yongjuan, An Sufang, Chang Li, Li Baoquan

(Crop Designing Centre, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002)

Abstract: MITEs are novel non-autonomous DNA transposable elements and exist in almost all organisms. They play important roles in genome structure and gene expression. Research results demonstrate that MITEs affected many important agricultural characters, and their value in crop genetics research is also revealed. In order to apply MITEs to crop genetics research and improvement process well, we introduced the discovery and structural characteristics of MITEs, summarized software and database which predicted MITEs characteristics, and concluded the distribution of MITEs in genome. We found that many copies of MITEs appeared in genome, and distributed in recent genetic area. We also reviewed the corresponding relations between MITEs and its autonomous transposable element, the activation of transposition activity and the amplification mode in the genome. MITEs regulated gene expression through two different ways: MITEs insertion changing gene structure and epigenetic regulation. Finally, we summarized MITEs application in crop genetic analysis, for instance, molecular marker development, agricultural traits improvement, mutant pool construction etc.

Key words: MITEs; origination; transposition mechanism; gene regulation; crop genetics

基金项目: 国家自然科学基金“转座子 *Monkey King* 在芸薹属中的活动及其介导的邻近基因的表达调控研究”(31501341)。

第一作者简介: 侯锦娜, 女, 1982 年出生, 河北唐山人, 助理研究员, 博士, 研究方向: 油菜分子生物学。通信地址: 450002 河南省郑州市金水区花园路 116 号 河南省农业科学院作物设计中心, Tel: 0371-65867618, E-mail: houjinna_1982@163.com。

通讯作者: 李保全, 男, 1963 年出生, 河南济源人, 研究员, 研究方向: 作物分子设计遗传育种和农业科技管理。通信地址: 450002 河南省郑州市金水区花园路 116 号 河南省农业科学院作物设计中心, Tel: 0371-65721718, E-mail: lbq308@126.com。

收稿日期: 2016-08-25, **修回日期:** 2016-10-18。

0 引言

转座子由美国科学家 Barbara McClintock 发现的,在基因组中能够移动的特殊因子。在高等动植物基因组中,转座子不仅是基因组结构和功能的重要组成部分,同基因组构成和基因表达调控相关,同时还在进化过程中基因组结构的变异和新基因的形成等方面起到重要的作用^[1-5]。根据扩增模式不同,转座子可分为两类:RNA 转座子(反转座子, class I)和 DNA 转座子(Class II)^[6]。RNA 转座子以“复制-粘贴”的方式进行转座,能够在短时间内激活转录,从而在基因组中积累大量拷贝;DNA 转座子以“剪切-粘贴”的方式进行转座,拷贝数通常较 RNA 转座子低。MITEs 不编码转座酶,属于非自主性 DNA 转座子^[7-8],但又同 RNA 转座子类似,在基因组中以高拷贝数存在。

MITEs 发现时间短,研究者发现其在基因组中拷贝数众多,随着越来越多的新家族的发现,对其结构特点的认识逐步扩展;特别是近年来基因组学研究和分析技术的进步,发现 MITEs 在基因组进化和基因调控中具有重要作用。但是多数研究是利用生物信息学分析,如各种分析软件 and 同源比对方法发现 MITEs,利用全基因组基因表达水平和 MITEs 插入的相关性分析 MITEs 对毗邻的基因表达的影响。而对 MITEs 在基因组中扩增和调控基因表达的机理缺乏深入的研究和坚实的实验证据。关于 MITEs 在作物遗传研究中的应用,许多研究者也提出了可能的策略,但目前还缺乏广泛的应用。因此,本研究对 MITEs 在植物基因组中的研究现状进行综述,并对其在作物遗传研究和育种过程潜在的价值进行探讨。

1 MITEs 的结构及预测

1.1 MITE 的发现及结构特点

Bureau 和 Wessler^[9]在对玉米糯质基因 *Waxy* (*Wx*) 的突变等位基因 *wx-B2* 的研究中,发现了插入到 *wx-B2* 第 11 个外显子中的一段长 128 bp 的片段,经过分析确定该片段为一类新的转座子,定义为 *Tourist* MITE。随后的大量研究表明,在几乎所有的生物基因组,包括真菌,昆虫,线虫和人类基因组中都有 MITEs 的分布^[10-12],在植物基因组(如小麦、玉米、水稻及油菜等)中更是广泛存在^[13-16]。

MITEs 具有典型的结构特征,两端为长 10~30 bp 的反向重复序列(TIR),使其倾向于形成特定的单链二级结构^[9];TIR 侧翼为一段重复的 TSD,是划分 MITEs 家族的重要依据,2 个主要的家族 *Tourist*-like 和 *Stowaway*-like 的 TSD 分别为 3 bp (TAA/TTA)和 2 bp (TA),同一家族的 MITEs 具有相对保守的 TIR^[17];中间

为长度比较短(通常 50~600 bp)的一段富含碱基 A/T、缺乏完整蛋白质编码能力的主体序列。最近的研究又在基因组中发现了新的家族的 MITEs 因子,如 Lu 等^[18]在对水稻基因组的分析中,发现了 TSD 长度为 8 bp 的 *hAT*-like 家族,Sampath 等^[19-20]在对芸薹属作物白菜和甘蓝的基因组序列分析中,发现了 TSD 长度为 9 bp 的 *Mutator*-like 家族。

1.2 MITEs 的分析判定

1.2.1 MITEs 预测软件 MITEs 的结构特点使得对其的分析预测相对于基因更加简单。软件 FINDMITE^[21]和 MITE Uncovering SysTem (MUST)^[22],均是基于结构的预测方法,通过对 TSD、TIR 的参数设定以及 MITEs 长度的限定,从而确定 MITEs 的存在;这 2 种方法存在着假阳性率高的缺点。后来的研究中,Han 等^[23]和 Yang^[24]又开发出 MITE hunter 和 MITE digger 等软件,这 2 个软件综合基于结构的分析方法和 *de novo* 预测方法,有效降低了结果的假阳性,同时可以对基因组数据进行 MITEs 预测;但进行全基因组 MITEs 预测时,会遗漏部分 MITEs 家族。另外还有研究者开发出 MITE analysis kit (MAK), DomainOrganizer, TRANSPO 等 MITEs 预测软件^[25-27],都难以最大程度的挖掘基因组中的 MITEs 元件。近期,Ye 等^[28]开发出了一款最新的 MITEs 预测程序—*detectMITE*,该软件较以前的方法,可以更准确、全面、高效的预测基因组中存在的 MITEs 元件。

1.2.2 MITEs 数据库 随着越来越多的基因组序列的公布,对基因组中转座元件及 MITEs 的分析注释的相关信息也越来越丰富,有很多的数据库对这些已经注释的基因组中的 MITEs 收录,并提供 MITEs 的预测和检索分析,比如 Repbase 和 P-MITE。Repbase^[29]作为使用最广泛的真核生物基因组重复序列和转座因子的数据库,其中收录了多个物种的 MITEs 家族的序列。Chen 等^[30]构建的 P-MITE 数据库,收录了已测序的 41 个植物基因组中的 3527 个 MITE 家族共 2000000 条 MITEs 相关序列。另外,还有专门对芸薹属作物中的转座元件,包括 MITEs 收录的数据库—BrassicaTED^[31]。

这一系列的工具,使得在植物基因组研究中对 MITEs 的判断更为便捷和准确。

2 MITEs 在基因组中的分布特点

2.1 在基因组中拷贝数众多

MITEs 在基因组中以高拷贝数存在,构成基因组重要的组分。在已经测序完成的植物基因组,如拟南芥、水稻、玉米中,MITEs 分别占整个基因组成分的 3.3%、6%和 0.3%^[32-33]。而由于 MITEs 长度通常比较

短,因此拷贝数均达到数万甚至数十万。Santiago等^[34]的研究发现,拟南芥基因组中,仅*Emigrant*家族的拷贝数有150多个;Lu等^[18,35]在水稻基因组中发现了338个家族的MITEs,拷贝数多达178533个,其中36个*Stowaway-like*家族的拷贝数超过22000个;玉米基因组中仅*mPIF*元件的拷贝数就多达6000^[36-37];Yaakov等^[38]对小麦基因组中的*Stowaway*家族的分析发现,18个家族的该类MITEs的总序列达1.3 Mb,总拷贝数达18217个,仅分布在3条7号染色体(7A,7B和7D)上的拷贝数为2026个。

2.2 多在近基因区分布

MITEs倾向于分布在基因组中的常染色质区域,这也是MITEs不同于其他类型的转座子的重要特征。插入位置为基因组中A/T富集,同时低拷贝存在的碱基排列处,距离基因编码区通常<5 kb^[39-41]。Yaakov等^[38]的研究发现,小麦全基因组中63%的*Stowaway*插入到邻近转录基因100bp以内的位置,76个拷贝插入到基因的内含子、3'和5'非翻译区的位置。玉米中对*mPIF*、*ZmV1*以及*Zead8*等3个家族的MITEs研究表明,70%以上的拷贝均插入近基因编码区5 kb以内^[37]。Sampath等^[19]对芸薹属基因组*BRAMI-1*家族的分析发现,78.6%的拷贝数分布在邻近基因3 kb的区域内,10.2%位于基因的内含子区域,40.3%的拷贝数分布在邻近基因1 kb的区域。对芸薹科*Monkey King*家族、水稻全基因组MITEs以及葡萄*mPifvine-3.1*家族等已知的MITEs的分析中,都显示出相同的分布趋势^[18,42-43]。分布在基因附近众多的MITEs,对基因的表达调控起到重要的作用或潜在的

基因调控功能,并为自然选择提供了丰富的资源。

3 MITEs的来源及在基因组中的扩增

3.1 MITEs的来源

MITEs的来源有2个途径:自主转座子起源途径和*de novo*起源途径。自主转座子在特定的条件下,其内部编码转座酶的DNA序列部分缺失,侧翼的TIR和存留下来的部分DNA进行拼接,形成MITEs(如图1)。这一理论已经得到了研究的证实:拟南芥基因组中*Lem1*家族来源于*pogo-like*自主型转座子^[44-45],玉米基因组中*Tourist-like*和水稻基因组中*Stowaway-like*家族多来源于*PIF/Harbinger*和*Tc1/mariner*自主型转座子^[9,16]。Feschotte等对水稻基因组中两万多个拷贝的*Stowaway-like*和36个家族的*mariner-like*自主型转座子的序列进行分析,发现后者很可能是前者的原始祖先^[44];关于MITEs的来源分析表明,其最初可能来源于一个或很少的几个祖先自主型转座子,通过不同的内部缺失和积累的序列变异才形成了现在基因组中成百上千的拷贝^[46]。

(1)同一自主型转座子内部序列的缺失方式不同,可以形成1至多个MITEs(如MITE1、MITE2和MITE-X),这些MITEs组成同一家族,每一类MITE称为一个亚家族。(2)MITE在特定的条件下被转座酶激活,在基因组中扩增并积累大量的拷贝。(3)在漫长的进化过程中,TIR的序列可能发生碱基变异并在每一代中积累,逐渐同初始阶段激活其转座的转座酶识别的序列差异越来越大(如TIR1和TIR2),以致原来的转座酶不能够识别,还有一些MITE可能被另外的MITE插入,形成多聚体,从而使MITE失去在基因组中转座的

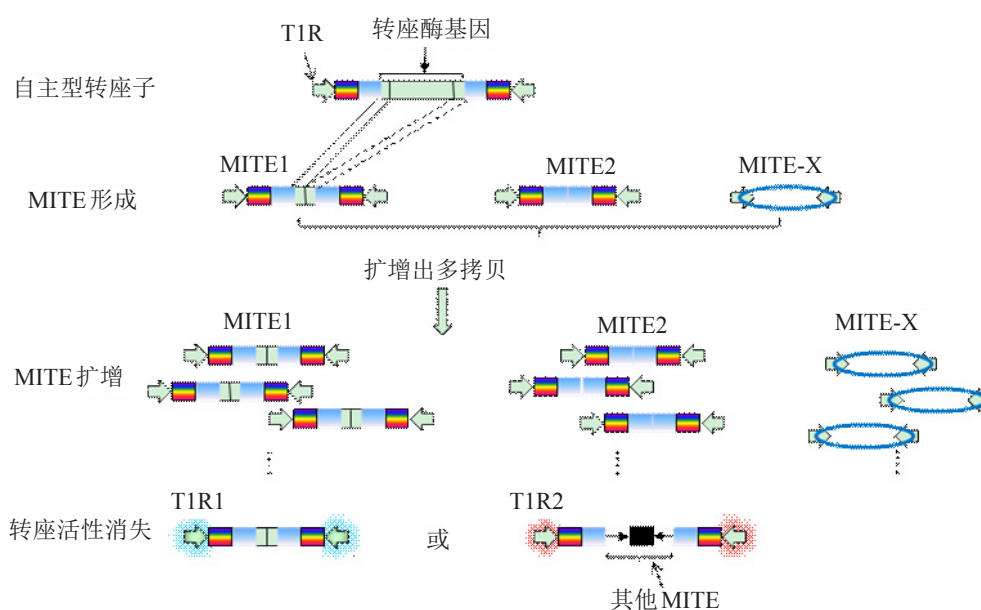


图1 MITEs的起源及其在基因组中的活动

能力。

根据 TIR 序列的匹配程度和内部缺失后仍然存留的部分序列同自主型转座子的对应关系,将目前已知的 MITE 同已知自主型转座子间的对应关系进行了总结(如表 1)。

促使自主型转座子部分缺失从而形成 MITEs 的机制目前仍不得而知;同时,大量的基因组序列的公布和分析还发现很大一部分 MITEs 无法同已知的转座子找到对应关系,如拟南芥中的 *Hairpin* 家族^[47]和水稻中的 *Snap* 家族^[48],推测这些家族来源于 *De novo* 的

表 1 MITEs 同其来源的自主型转座子间的对应关系

可能来源的自主转座子类型	序列的相似水平	物种	家族	拷贝数	TSD 的序列	TIR 的长度/bp	MITE 的长度/bp	
<i>Tc1/mariner D39D mariner-like</i>	3	开花植物	<i>Stowaway</i>	ND	TA	>10	70~350	
	2,3	水稻	Various <i>Stowaway</i>	40000	TA	20~150	100~350	
	4	拟南芥	Various <i>Stowaway</i>	300	TA	25~100	200~300	
<i>pogo-like</i>	1	拟南芥	<i>Emigrant</i>	250	TA	24	550	
	2,3	禾本科	Various <i>Tourist</i>	>5000	TWA	13~100	100~400	
	3	玉米	<i>Hbr</i>	4000	TWW	14	310	
	3	玉米	<i>Zm-Mpif</i>	6000	TWA	13	350	
	3	玉米	<i>B2</i>	1000	TWA	14	130	
	3	水稻	<i>Castaway</i>	1000	TWA	13	350	
	3	水稻	<i>Ditto</i>	2000	TWA	15	300	
	3	水稻	<i>Wanderer</i>	4000	TWA	10	300	
	3	水稻	<i>Gaijin</i>	3000	WWW	17	180	
	3	水稻	<i>Explorer</i>	2000	TWA	13	240	
	2	水稻	<i>Os-mPIF2</i>	150	WWW	14	260	
	3	拟南芥	<i>MathE1</i>	50	TWA	25	400	
	<i>PIF/Harbinger</i>	3	拟南芥	<i>ATTIRX1</i>	70	TWA	16~40	350~400
3		拟南芥	<i>ATTIR16T3A</i>	100	TWA	16	500	
3		拟南芥	Various <i>Tourist</i>	>300	TWA	>14	300~500	
2		拟南芥	<i>At-mPIF2</i>	20	TWA	14	400	
4		茄科	<i>Alien</i>	2400	TWA	25	400	
<i>hAT</i>		1,3	水稻	Various <i>hAT-like</i>	2000	8bp	12~15	100~600
		3	拟南芥	<i>MatbE3</i>	<100	8bp	70~135	300~1200
		1,3	拟南芥	Various <i>hAT-like</i>	20~200	8bp	12~20	250~800
<i>Mutator-like</i>		2,3	水稻	Various <i>Os-mMu</i>	3000	9bp	10~300	100~700
		2,3	拟南芥	Various <i>At-mMu</i>	<100	9bp	~300	1000
	4	蒺藜苜蓿	<i>Bigfoot</i>	10 ³ ~10 ⁴	9bp	38	175	

注:1:MITEs 的全部序列均同其来源的自主型转座子间都有很高的同源性,MITEs 几乎是自主型转座子的中间部分缺失形成的。2:MITEs 同其来源的自主型转座子之间仅在 MITEs 的末端及近末端区域有很高的同源性。3:MITEs 的 TIRs 序列仅和同一基因组内的自主型转座子之间一致或基本一致。4:MITEs 的 TIRs 序列同其他物种基因组中的自主型转座子序列基本一致。W=碱基 A/T;ND:Not determined。

途径。

3.2 MITEs 转座活性的激活和扩增

为了维持基因组的稳定性,大多数的转座因子包括 MITEs 在基因组中都是处于沉默状态的。2003 年 3 个研究小组分别通过生物信息学方法及长期的细胞培

养,花药培养以及在 γ 射线辐射诱变种子的等方法^[49-51],从不同的途径同时揭示水稻基因组中仍活动着的 MITE—*mPing*,研究者才发现 MITEs 不仅能够像 DNA 转座子那样以“剪切-粘贴”的模式在基因组内进行扩增,同时在每一代的基因组中以很高的效率进行积

累^[52]。

TIRs是转座酶识别的主要位点,两者结合后促使转座子进行转座^[53]。由于同一家族的MITEs具有相对保守的TIRs序列,根据MITEs同自主型转座子的起源关系,可以推测MITEs的激活和在基因组内的扩增受其来源的自主型转座子(或其相近家族的自主型转座子)编码的转座酶的介导。Teramoto等^[54]的研究表明,水稻胚胎发育早期(授粉后3~5天),*mPing*活跃扩增同其对应的自主型转座子*Ping*的表达量升高有关,*Ping*编码的转座酶激活了*mPing*的表达。Yang等^[55]利用酵母,对水稻基因组中*Mariner-like*自主转座子编码的转座酶同17个家族的*Stowaway-like*的相互作用进行研究,结果表明这些*Stowaway-like*同其来源的自主转座子之间并不存在直接的对应关系。而且在TIR序列的同源性较低的情况下,转座酶同样能够激活MITEs的活性,激发转座。MITEs甚至能够主动搜寻亲缘关系较远的自主型转座子编码的转座酶,同时利用本身包含特定的增强转座活性的序列,在基因组内进行扩增。

MITEs的形成同其在基因组中进行扩增通常不是在同一时间内发生的。MITEs形成后在特定转座酶的识别和作用下,在短时间内以爆发的形式在基因组进行扩增。不同家族在基因组中扩增的时期和模式均有差异。Naito等^[52]以相互之间有衍生关系的水稻品系—Gimbozu EG4及其来源的亲本品种Gimbozu、Aikoku和从Gimbozu EG4中利用 γ -射线诱变所得株系IM294为材料,对水稻中仍然活跃着的*mPing*的扩增模式进行研究。认为*mPing*在基因组中的扩增主要分为两个阶段:第一个阶段:在热带和温带粳稻品种中拷贝数从1增加到50的阶段;第二个阶段:在几个温带品种的基因组中拷贝数由50增加到1000的阶段。Lu等^[18]随机选取水稻基因组中的37个MITEs家族(拷贝数为43~1613个)进行序列比对分析,发现不同家族的在基因组中的扩增时间不同,*mPing*一直在活动扩增,而*OsT18*的扩增是在19.8MYA;同时有些家族在基因组中仅有1次扩增,有些进行了2至多次扩增。Zerjal等^[57]对玉米中3个MITEs家族进行分析,发现*mPIF*仅在1MYA进行了一次扩增,而*ZmV1*和*Zead8*除了1MYA的扩增外,在0.4MYA还进行过另一轮扩增。

MITEs在基因组中分布模式的不同,形成物种内的多态性,为驯化和自然选择提供了丰富的资源。物种驯化中选择压力倾向于基因及邻近区域,提示MITEs插入可能通过影响全基因组的基因表达网络,从而使植物获得了更多的适应性。

4 MITEs调控基因表达的分子机理

由于植物基因组缺乏对初始mRNA中较长内含子的有效剪切机制,而MITEs较短的长度和缺乏完整的编码能力的特点,恰恰适合插入到基因编码区,同时尽可能小的影响基因的功能,从而容易在选择中被保留下来^[9,56]。

4.1 改变基因的结构

由于MITEs倾向于插入常染色质基因富集区域,使其更易于参与基因调控,MITEs的主体结构中富含碱基A/T,形成多个增强基因表达的motifs,如TATA-box及CAAT-box等。许多研究证明MITEs插入在不同程度上影响了附近基因的表达^[57]。*mPing*插入到水稻*Hd1*的内含子中,降低了*Hd1*的表达量,从而影响抽穗期^[58];水稻粒形相关基因*slg*(*slender glume*)第四外显子中一处长433 bp的MITE插入多态性,造成了粒形的差异^[51]。水稻*rubq2*(*ubiquitin2*)基因启动子区的*Kiddo*插入能够使*rubq2*表达量增强20%^[59]。玉米抗病基因*hm*的3'UTR插入Hbr后,基因功能丧失^[60]。*Monkey King*是甘蓝型油菜中*Tourist-like*家族的MITE,在甘蓝型油菜物种形成以后的扩增活动插入到开花基因*BnFLC.A10*上游,使基因的表达量在春化阶段的降低速率减慢,起源于地中海地区的甘蓝型油菜从而获得了春化需求,将油菜的种植区域扩大到欧洲北部和北美的寒冷地带^[61]。

4.2 表观遗传水平的调控

基因组内众多的MITEs,可以随基因一起转录,在*DICER-LIKE3*(*DCL3*)和*RNA-dependent RNA polymerase 2*(*RDR2*)的作用下生成siRNA,从而调控基因表达。Kuang等^[62]在茄科全基因组MITEs的研究中发现,MITEs相关的小RNA在*DCL3*和*RDR2*的作用下形成大量长度24 nt的siRNA,从而通过转录后修饰抑制基因的表达。水稻中24 nt的siRNA主要来源于MITEs^[18]。Wei等^[63]利用水稻*osdcl3*的突变体研究,发现*osDCL3*介导产生的24 nt siRNA主要来源于MITEs,这些siRNA能够介导邻近基因的表达量降低;突变体中24 nt siRNA的降低,油菜素甾醇合成途径的基因*OsGSR1*和*OsBR6ox*基因5'端H3K9me2水平降低(DNA甲基化程度不变),基因表达量升高。Yang等^[59]对水稻*rubq2*的研究表明,基因上游MITE因子—*Kiddo*的DNA去甲基化能够提高*rubq2*的基因表达量,认为MITE调控基因表达同RNA介导的DNA甲基化有关。春化过程伴随着*Monkey King*中DNA甲基化程度的降低和*BnFLC.A10*组蛋白H3K27me3的变化^[64]。

5 MITEs在作物遗传改良中的应用

5.1 开发分子标记

由于MITEs在农作物基因组中的大量随机插入,造成种间和种内的多态性,这些多态性的标记可用于开发分子标记。Roffler等^[16]分析亚洲稻和非洲稻两基因组间转座子插入/缺失造成的多态性,发现大部分转座子相关的多态性是由 *Mariner* 和 *Harbinger* 家族的MITEs插入/缺失造成的。Naito等^[52]利用转座子展示技术,对水稻中 *mPing* 的拷贝数进行检测,发现其在不同品种间存在非常丰富的多态性;Monden等^[65]开发 *mPing* 插入/缺失的分子标记,发现其多态性非常高,设计的183对引物中存在150个多态性。Nouroz等^[66]对芸薹属基因组中的MITEs进行分析,并设计分子标记对芸薹属中的3个基本种、3个复合种和六倍体中的MITE插入多态性进行检测。Sampath等^[20]对白菜和甘蓝基因组中的20个MITEs家族进行了分析,选择其中289个MITEs拷贝设计引物,发现这些标记在种内和种间的多态性分别为52%和23%。MITEs插入/缺失标记较其他类型的标记的多态性更为丰富,同物种进化和驯化改良有着密切的关系,是遗传学和进化研究中很好的标记类型。

5.2 改良性状

MITEs多和基因相连,通过调控基因的表达从而影响农艺性状。Beery等^[38]的研究发现,在小麦中MITEs相关的基因包括抗病、物质转运、细胞分裂以及转录调控等;Wei等^[63]发现MITEs插入到油菜素甾醇和赤霉素合成途径基因后,会影响水稻株高和旗叶夹角等性状。玉米中, *NAC* 基因启动子区插入一段82 bp的MITEs后,显著增强了玉米在苗期的抗旱能力^[67];MITE插入到 *Vgt1* 上游后使花期显著提前^[68]。在油菜中, *BnFLC.A10* 启动子区插入MITEs后,使其获得春化特性,扩大了种植区域^[61,64]。由于MITEs多同性状有着紧密的联系,因此研究者利用MITEs进行农作物的遗传改良。Yasuda等^[69]在水稻中的研究表明, *mPing* 插入到水稻耐盐和抗冷的基因上游后,能够增强基因在逆境胁迫下的表达量,但在正常生长条件下,含有 *mPing* 的基因表达量不发生改变。如果能够利用MITEs产生的多态性进行作物的性状改良,从而避免遗传转化等复杂的操作过程,将极大的简化作物遗传改良的过程,提高性状改良的效率。

5.3 构建突变体库

Hancock等^[70]利用 *mPing* 的转座特性,将 *mPing* 及编码其转座酶的 *Ping* 基因同时转化大豆基因组中, *mPing* 受 *Ping* 的激活进行转座。对 *mPing* 的插入位点

进行序列分析发现,84%的拷贝插入到距基因编码区5 kb的区域内,其中插入到基因上、下游2.5 kb的范围内的拷贝数分别为55.2%和17.9%。其中有的拷贝插入到60S核糖体编码基因的外显子区,另外一些拷贝插入到钙离子结合蛋白、同源异形盒基因、过氧化物酶以及功能未知的基因的内含子区和非翻译区,都可能会影响基因的功能。MITEs转座子的这一利用方法,为对转化效率低的农作物进行基因组学研究和基因功能的解析提供了很好的策略。

5.4 进化分析和研究

MITEs在基因组中的活动会留下痕迹,插入位点与没有插入的位点间形成对应的空缺位点(related-empty site)^[46],而MITEs转座之后,在原位点会留下印记,如TSD序列或者部分MITEs序列。同一家族不同拷贝间序列的同源性及其变异,能够反映MITEs活动的年代。Dai等^[43]对芸薹属中 *Monkey King* 家族的MITEs进行分析,发现其扩增发生在芸薹属和拟南芥从共同祖先分离以后。Faisal Nouroz等^[66]在芸薹属中的研究发现, *BrSTOW1-1* 和 *BrMuMITE1-1* 在A基因组特异分布, *BoSTOW3-1*、*BoSTOW4-1* 和 *BoMuMITE4-2* 则在A、C基因组特异,B基因组中不存在。这些MITEs在基因组构成和物种分化中的作用还需要进一步解析。

6 展望

由于MITEs是最近才发现的一类转座元件,对其起源,进化,扩增模式以及功能的认识都还比较少。这是因为如此,才吸引了越来越多的研究者投身到MITEs的研究领域。随着研究技术的进步,未来的研究将对MITEs产生、扩增的进化过程和调控基因表达的分子机理进行探索。

在作物遗传研究中,随着越来越多的物种基因组序列的释放,同源物种和同源基因组间MITEs分布模式得以揭示,通过比较将更清楚地阐明MITEs在基因组起源和进化中的意义。越来越多的控制特定性状基因克隆,随之会发现更多的位于控制某一性状的基因附近的MITEs,从而更广泛的解析MITEs对基因调控的意义和对农艺性状的影响。MITEs在物种内存在多态性,开发出丰富的分子标记,应用这些信息进行基因定位和对特定的性状进行控制和改良也将是研究的方向。

参考文献

- [1] Kazazian H H. Mobile DNA: Finding Treasure in Junk[M]. US: Financial Times Press, 2011.

- [2] Parisod C, Alix K, Just J, et al. Impact of transposable elements on the organization and function of allopolyploid genomes[J]. *New Phytologist*, 2010,186(1):37-45.
- [3] Rayan N A, Rosario R C H D, Prabhakar S. Massive contribution of transposable elements to mammalian regulatory sequences[M]. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 2016.
- [4] Rebollo R, Romanish M T, Mager D L. Transposable elements: an abundant and natural source of regulatory sequences for host gene [J]. *Annual Review of Genetics*, 2012,46:21-42.
- [5] Rey O, Danchin E, Mirouze M, et al. Adaptation to Global Change: A Transposable Element- Epigenetics Perspective[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2016,31(7):514-526.
- [6] Curcio M J, Derbyshire K M. The outs and ins of transposition: from mu to kangaroo[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2003,4(11):865-877.
- [7] Seberg O, Petersen G. A unified classification system for eukaryotic transposable elements should reflect their phylogeny[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009,10(4):276.
- [8] Wicker T, Sabot F, Hua-Van A, et al. A unified classification system for eukaryotic transposable elements[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2007,8(12):973-982.
- [9] Bureau T E, Wessler S R. Tourist: a large family of small inverted repeat elements frequently associated with maize genes[J]. *Plant Cell*, 1992,4(10):1283-1294.
- [10] 韩民锦.家蚕MITE转座子的鉴定、进化和功能以及家蚕转座子的进化动力学研究[D].重庆:西南大学, 2013.
- [11] Smit A F, Riggs A D. Tiggers and DNA transposon fossils in the human genome[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996,93(4):1443-1448.
- [12] Yeaton P J, Catcheside D E. Guest: a 98 bp inverted repeat transposable element in *Neurospora crassa*[J]. *Molecular and General Genetics*, 1995,247(1):105-109.
- [13] Surzycki S A, Belknap W R. Characterization of repetitive DNA elements in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1999,48(6):684-691.
- [14] Garbus I, Romero J R, Valarik M, et al. Characterization of repetitive DNA landscape in wheat homeologous group 4 chromosomes[J]. *BMC Genomics*, 2015,16(1):1-16.
- [15] Lee S I, Kim N S. Transposable Elements and Genome Size Variations in Plants[J]. *Genomics and Informatics*, 2014,12(3):87-97.
- [16] Roffler S, Wicker T. Genome- wide comparison of Asian and African rice reveals high recent activity of DNA transposons[J]. *Mobile DNA*, 2015,6(1):1-14.
- [17] Bureau TE, Wessler SR. Stowaway: a new family of inverted repeat elements associated with the genes of both monocotyledonous and dicotyledonous plants[J]. *Plant Cell*, 1994,6(6):907-916.
- [18] Lu C, Chen J, Zhang Y, et al. Miniature inverted- repeat transposable elements (MITEs) have been accumulated through amplification bursts and play important roles in gene expression and species diversity in *Oryza sativa*[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2012,29(3):1005-1017.
- [19] Sampath P, Lee S C, Lee J, et al. Characterization of a new high copy Stowaway, family MITE, BRAMI -1 in Brassica, genome[J]. *BMC Plant Biology*, 2013,13(2):1-13.
- [20] Sampath P, Murukarthick J, Izzah N K, et al. Genome- wide comparative analysis of 20 miniature inverted-repeat transposable element families in Brassica rapa and B. oleracea[J]. *PLoS One* 2014,9(4):e94499.
- [21] Tu Z. Eight novel families of miniature inverted repeat transposable elements in the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001,98(4):1699-1704.
- [22] Chen Y, Zhou F, Li G, et al. MUST: a system for identification of miniature inverted-repeat transposable elements and applications to *Anabaena variabilis* and *Haloquadratum walsbyi*[J]. *Gene*, 2009,436(1-2):1-7.
- [23] Han Y, Wessler S R. MITE- Hunter: a program for discovering miniature inverted- repeat transposable elements from genomic sequences[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(22):e199.
- [24] Yang G. MITE Digger, an efficient and accurate algorithm for genome wide discovery of miniature inverted repeat transposable elements[J]. *BMC Bioinformatics*, 2013,14:186.
- [25] Tempel S, Giraud M, Lavenier D, et al. Domain organization within repeated DNA sequences: application to the study of a family of transposable elements[J]. *Bioinformatics*, 2006,22(16):1948-1954.
- [26] Waldmeier L, Hellmann I, Gutknecht C K, et al. Transpo- mAb display: Transposition- mediated B cell display and functional screening of full-length IgG antibody libraries[J]. *MABs*, 2016,8(4): 726-740.
- [27] Yang G, Hall T C. MAK, a computational tool kit for automated MITE analysis[J]. *Nucleic Acids Research*, 2003,31(13):3659-3665.
- [28] Ye C, Ji G, Liang C. detectMITE: A novel approach to detect miniature inverted repeat transposable elements in genomes[J]. *Scientific Reports*, 2016,6:19688.
- [29] Jurka J, Kapitonov V V, Pavlicek A, et al. Repbase Update, a database of eukaryotic repetitive elements[J]. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 2005,110(1-4):462-467.
- [30] Chen J, Hu Q, Zhang Y, et al. P- MITE: a database for plant miniature inverted-repeat transposable elements[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013,42(Database issue):D1176-1181.
- [31] Murukarthick J, Sampath P, Lee S C, et al. BrassicaTED — a public database for utilization of miniature transposable elements in Brassica species[J]. *BMC Research Notes*, 2014, 7:379.
- [32] Hu T T, Pattyn P, Bakker E G, et al. The *Arabidopsis lyrata* genome sequence and the basis of rapid genome size change [J]. *Nature Genetics*, 2006,43(5):476-481.
- [33] Paterson A H, Bowers J E, Bruggmann R, et al. The Sorghum bicolor genome and the diversification of grasses[J]. *Nature* 2009, 457(7229):551-556.
- [34] Santiago N, Herraiz C, Goni J R, et al. Genome-wide analysis of the Emigrant family of MITEs of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2002,19(12):2285-2293.
- [35] 卢辰.微小反向重复转座子(MITE)对水稻基因表达和基因组分化

- 的作用及番茄特有 miRNA 基因的演化[D].武汉:华中农业大学, 2013.
- [36] Naito K, Monden Y, Yasuda K, et al. mPing: The bursting transposon [J]. *Breeding Science*, 2014, 64(2):109-114.
- [37] Zerjal T, Joets J, Alix K, et al. Contrasting evolutionary patterns and target specificities among three Tourist-like MITE families in the maize genome [J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 71(1-2):99-114.
- [38] Yaakov B, Ben-David S, Kashkush K. Genome-wide analysis of Stowaway-like MITEs in wheat reveals high sequence conservation, gene association, and genomic diversification [J]. *Plant Physiology*, 2012, 161(1):486-496.
- [39] Macko-Podgorni A, Nowicka A, Grzebelus E, et al. DeSto: carrot Stowaway-like elements are abundant, diverse, and polymorphic [J]. *Genetica*, 2013, 141(4-6):255-267.
- [40] Sarilar V, Marmagne A, Brabant P, et al. BraSto, a Stowaway MITE from Brassica: recently active copies preferentially accumulate in the gene space[J]. *Plant Molecular Biology*, 2011, 77(1-2):59-75.
- [41] Shirasawa K, Hirakawa H, Tabata S, et al. Characterization of active miniature inverted-repeat transposable elements in the peanut genome [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 124(8):1429-1438.
- [42] Benjak A, Boue S, Forneck A, et al. Recent amplification and impact of MITEs on the genome of grapevine (*Vitis vinifera* L.) [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2009, 1:75-84.
- [43] Dai S, Hou J, Long Y, et al. Widespread and evolutionary analysis of a MITE family Monkey King in Brassicaceae [J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15:149.
- [44] Feschotte C, Mouches C. Evidence that a family of miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) from the *Arabidopsis thaliana* genome has arisen from a pogo-like DNA transposon [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2000, 17(5):730-737.
- [45] Loot C, Santiago N, Sanz A, et al. The proteins encoded by the pogo-like Lem1 element bind the TIRs and subterminal repeated motifs of the *Arabidopsis* Emigrant MITE: consequences for the transposition mechanism of MITEs [J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(18):5238-5246.
- [46] Le Q H, Wright S, Yu Z, et al. Transposon diversity in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(13):7376-7381.
- [47] Ade J, Belzile FJ. Hairpin elements, the first family of foldback transposons (FTs) in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Journal*, 1999, 19(5):591-597.
- [48] Song W Y, Pi L Y, Bureau T E, et al. Identification and characterization of 14 transposon-like elements in the noncoding regions of members of the Xa21 family of disease resistance genes in rice [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 1998, 258(5):449-456.
- [49] Jiang N, Bao Z, Zhang X, et al. An active DNA transposon family in rice [J]. *Nature*, 2003, 421(6919):163-167.
- [50] Kikuchi K, Terauchi K, Wada M, et al. The plant MITE mPing is mobilized in anther culture [J]. *Nature*, 2003, 421(6919):167-170.
- [51] Nakazaki T, Okumoto Y, Horibata A, et al. Mobilization of a transposon in the rice genome [J]. *Nature*, 2003, 421(6919):170-172.
- [52] Naito K, Cho E, Yang G, et al. Dramatic amplification of a rice transposable element during recent domestication [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(47):17620-17625.
- [53] Jiang N, Feschotte C, Zhang X, et al. Using rice to understand the origin and amplification of miniature inverted repeat transposable elements (MITEs) [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7(2): 115-119.
- [54] Teramoto S, Tsukiyama T, Okumoto Y, et al. Early embryogenesis-specific expression of the rice transposon Ping enhances amplification of the MITE mPing [J]. *PLoS Genetics*, 2014, 10(6): e1004396.
- [55] Yang G, Nagel D H, Feschotte C, et al. Tuned for transposition: molecular determinants underlying the hyperactivity of a Stowaway MITE [J]. *Science*, 2009, 325(5946):1391-1394.
- [56] Lorkovic Z J, Wiczyk Kirk D A, Lambermon M H, et al. Pre-mRNA splicing in higher plants [J]. *Trends in Plant Science*, 2000, 5(4):160-167.
- [57] Oki N, Yano K, Okumoto Y, et al. A genome-wide view of miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) in rice, *Oryza sativa* ssp. Japonica [J]. *Genes and Genetic Systems*, 2008, 83(4):321-329.
- [58] Yano M, Katayose Y, Ashikari M, et al. Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS* [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(12):2473-2484.
- [59] Yang G, Lee Y H, Jiang Y, et al. A two-edged role for the transposable element Kiddo in the rice ubiquitin2 promoter [J]. *Plant Cell*, 2005, 17(5):1559-1568.
- [60] Casa A M, Brouwer C, Nagel A, et al. The MITE family heartbreaker (Hbr): molecular markers in maize [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(18):10083-10089.
- [61] Hou J, Long Y, Raman H, et al: A Tourist-like MITE insertion in the upstream region of the *BnFLC.A10* gene is associated with vernalization requirement in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12:238.
- [62] Kuang H, Padmanabhan C, Li F, et al. Identification of miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) and biogenesis of their siRNAs in the Solanaceae: new functional implications for MITEs [J]. *Genome Research*, 2009, 19(1):42-56.
- [63] Wei L, Gu L, Song X, et al. Dicer-like 3 produces transposable element-associated 24-nt siRNAs that control agricultural traits in rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(10):3877-3882.
- [64] 侯锦娜.甘蓝型油菜开花 QTL-qFT10-4 的图位克隆及候选基因 *BnFLC.A10* 的表达调控研究[D].武汉:华中农业大学,2013.
- [65] Monden Y, Naito K, Okumoto Y, et al. High potential of a transposon mPing as a marker system in japonica x japonica cross in rice [J]. *DNA Research*, 2009, 16(2):131-140.

-
- [66] Nouroz F, Noreen S, Heslop-Harrison JS. Evolutionary genomics of miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) in Brassica [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2015,290(6):2297-2312.
- [67] Mao H, Wang H, Liu S, et al. A transposable element in a NAC gene is associated with drought tolerance in maize seedlings [J]. *Nature Communication*, 2015,6:8326.
- [68] Castelletti S, Tuberosa R, Pindo M, et al. A MITE transposon insertion is associated with differential methylation at the maize flowering time QTL Vgt1 [J]. *G3 (Bethesda)*, 2014,4(5):805-812.
- [69] Yasuda K, Ito M, Sugita T, et al. Utilization of transposable element mPing as a novel genetic tool for modification of the stress response in rice [J]. *Molecular Breeding*, 2013,32:505-516.
- [70] Hancock C N, Zhang F, Floyd K, et al. The rice miniature inverted repeat transposable element mPing is an effective insertional mutagen in soybean [J]. *Plant Physiology*, 2011,157(2):552-562.