

文章编号: 1674 - 5566(2012)05 - 0656 - 06

鱼类活性 DNA 转座子的发掘与应用概况

邹曙明, 杜雪地, 蒋霞云

(上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306)

摘要: 转座子 (transposon) 是基因组上的一段一定长度的 DNA 序列, 能在自身编码的转座酶作用下, 以“剪切 - 粘贴”的方式在基因组中进行高效转座。基于转座子的插入诱变策略, 在包括鱼类在内的脊椎动物重要性状主控基因的筛选、功能解释以及基因组学研究方面有着重要的研究前景。长期以来, DNA 转座系统在脊椎动物中的构建和应用都是空白, 直到近十来年, 随着青鳉 *Tol2*、鲑 *SB*、鳎 *Passport* 以及金鱼 *Tgf2* 等几例鱼类活性转座子的发现, 开启了利用转座子工具在斑马鱼、小鼠等脊椎动物进行转基因和基因组插入诱变研究的新领域。介绍了鱼类 DNA 转座子的类型、结构特征及应用方面的最新研究进展, 探讨了转座子在养殖鱼类重要性状主控基因的发掘、功能解释以及基因组学研究的可行性。

研究亮点: 综述了鲑 *SB*、青鳉 *Tol2* 以及金鱼 *Tgf2* 等几种重要的具有天然活性或人工改造的鱼类转座子的结构和应用情况, 及其作为遗传工具在基因组插入诱变、转基因研究方面的应用进展, 本文所涉及的研究思路有利于促进鱼类基因功能研究和育种等方面的工作。

关键词: 转座子; 基因组; 转基因; 插入诱变

中图分类号: S 917

文献标志码: A

DNA 转座子 (transposon) 是一类能在宿主基因组中变更插入位置的可移动遗传因子, 其变更插入位置的过程称为转座 (transposition)。DNA 转座子的转座遵循“剪切 - 粘贴 (cut-and-paste)”机制, 即在转座酶 (transposase) 的催化下, DNA 转座子从原始位置切离并插入到新的基因组位置, 并在靶位点处形成正向重复。1951 年, MCCLINTOCK^[1] 在研究玉米染色体重排和缺失时发现了玉米 *AC/Ds* (*Activator/Dissociator*) 转座子, 这是第一个被发现的可以移动的遗传元件, 现已在细菌和各类真核生物中均发现转座子的存在^[2-4]。

根据活性不同, 转座子可分为自主性转座子和非自主性转座子。前者自身可以编码转座酶, 而后者由于突变等原因自身不能编码转座酶, 只有在前者存在时才能发生转座。如玉米的 *AC* 转座子为自主转座子, 而 *Ds* 为非自主转座子^[1]。一些植物和低等无脊椎生物的 hAT 家族转座子

具有转座活性, 并被开发成高效的遗传分析工具^[4]。脊椎动物如鱼类中也存在 DNA 转座子, 但大多在进化过程中失活, 脊椎动物高效转座系统的建立还是近年来的事^[5-7]。本文介绍了鲑 (*salmonid species*) *SB*、青鳉 (*Oryzias latipes*) *Tol2* 以及金鱼 (*Carassius auratus*) *Tgf2* 等几种重要的鱼类转座子系统, 及其作为遗传工具在基因组插入诱变、转基因研究方面的应用进展。

1 青鳉 *Tol1*、*Tol2* 转座子

转座子的转座酶编码区大多在漫长的进化中失活, 长期以来 DNA 转座系统在脊椎动物中的建立和应用一直都是一片空白^[6]。青鳉是在东亚广泛分布的淡水硬骨鱼, 是遗传学研究的重要材料, 有 40 多种体色变异。日本名古屋大学现存的 3 种白化品系都是酪氨酸酶基因插入突变造成的, 其中 *i1* 变异是由于第一外显子中插入了 1.9 kb 的序列, *i4* 和 *i5* 分别是在第四和第五

收稿日期: 2012-05-02 修回日期: 2012-06-11

基金项目: “十二五”国家“八六三”计划主题项目(2011AA100403); “十二五”国家支撑计划(2012BAD26B02); 公益性行业(农业)科研专项(200903045, 201203086)

作者简介: 邹曙明(1972—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: smzou@shou.edu.cn

外显子中插入了 4.7 kb 序列^[8]。这些插入序列都具有 DNA 转座子的典型特征,即末端反向重复序列和靶位点正向重复序列。1.9 kb 的序列被命名为青鳉 *Toll*,即 Transposable element of *Oryzias latipes*, number 1,而 4.7 kb 的序列则命名为 *Tol2*^[9]。青鳉 *Toll* 和 *Tol2* 转座子与果蝇的 *hobo* 转座子、玉米 *Ac* 转座子以及金鱼草 *Tam3* 转座子具有类似的切离和随机插入特征,属于 *hAT* 超家族转座子^[6]。尽管 KOGA 等早在 1995 年就发现了青鳉 DNA 转座子 *Toll*,并证明 *Toll* 的插入是造成酪氨酸酶基因失活的原因,但一直没有找到一例有活性的 *Toll* 转座子^[10]。

与青鳉 *Toll* 不同的是,青鳉 *Tol2* 发现后不久,研究者即发现其在青鳉的胚胎发育过程中会发生剪切^[6]。之后,日本国立遗传研究所的 KAWAKAMI 课题组证明青鳉 *Tol2* 在斑马鱼胚胎发育过程中也具有剪切活性^[11]。因此,青鳉 *Tol2* 转座子是人类发现的第一个具有天然转座活性的脊椎动物转座子。通过 RACE 的方法,研究者克隆到了 *Tol2* 的两种转录本^[12]。青鳉 *Tol2* 转座酶识别的是转座子末端反向重复序列和亚末端重复序列,当上述区域突变之后,其转座效率会明显下降^[13]。根据其转座的机理,URASAKI 等^[13]运用转座子的左右末端构建了转基因载体,该载体具有 EF-1 α 启动子和绿色荧光蛋白报告基因。研究者利用显微共注射的方法,将转基因载体和体外转录的 *Tol2* 转座酶 mRNA 共同显微注射到 1~2 细胞期的受精卵,相继发现青鳉 *Tol2* 在爪蟾、罗非鱼、小鼠、鸡、人细胞及果蝇^[14-15]中均具有转座活性,而且 *Tol2* 可以有效插入到基因组并遗传到子代,遗传效率高达 50%,即使携带 10 kb 的基因片段进行转座也不影响其转座活性^[14]。

2006 年,TSUTSUMI 等^[16]在日本名古屋大学保存的青鳉白化品系中发现了回复突变,这些个体的所有组织中均可观察到色素细胞,他们对回复突变体的酪氨酸酶基因进行分析,发现插入序列已经从该基因中解离。2007 年,KOGA 等分离得到了有活性的 *Toll* 转座子,该拷贝长 4.4 kb,转录形成 2.9 kb 的 mRNA,编码的蛋白质可以催化非自主 *Toll* 转座子在人和小鼠细胞中进行转座^[17]。之后实验相继证明 *Toll* 在非洲爪蟾^[18]和线虫^[19]中都能进行转座,这表明 *Toll* 转座子的

转座没有宿主特异性。青鳉 *Toll* 转座子左末端的 157 bp 和右末端的 106 bp 是其转座所必需的,其携带 22.1 kb 的插入片段进行转座时的效率仍能达到携带小片段转座时效率的 20%^[20]。因此,青鳉 *Toll* 转座子是携带大片段进行转基因的优良载体。

2 鱼类 *Tc1/mariner* 超家族转座子

睡美人转座子 *SB* 是在生物信息学基础上人工重建的转座子,由美国明尼苏达大学 IVICS 等构建^[6]。在此之前,人们已经发现 *Tc1* 样转座子 (*TcEs*, *Tc1* like Elements) 在鱼类基因组中分布十分广泛,但都由于进化过程中突变的积累而失去了转座活性^[21-22]。1997 年,IVICS 等对 8 种鱼中的 12 个类鲑鱼亚家族 *TcE* 进行了序列比对,并对 5 个保守结构域进行了重建,又在此基础上选择鲑鱼 *TcE* 的 IR/DR 作为转座酶特异识别的序列,从而唤醒了其转座活性。由于该转座子是通过生物信息学重建而成,因此,命名为鲑“睡美人”(sleeping beauty, *SB*) 转座子^[6]。

鲑鱼 *SB* 转座酶识别的末端反向重复序列大约长 230 bp,由外侧的反向重复序列 (IR) 和内侧的同向重复序列 (DR) 及两者间的序列组成^[23]。已有的研究表明 *SB* 转座子不仅能在体外培养的细胞中发生转座,还可以介导外源基因在动物体内的稳定整合和长期表达^[24]。整合的外源基因可以通过生殖细胞稳定地遗传给子代,并在子代中表达外源基因^[6,23]。随后,德国 Max Delbruck 分子医学中心研究人员又通过生物信息学方法重建了蛙 (*Rana pipiens*) *Frog Prince* (*FP*) 高活性的转座子^[25],并对鲑 *SB* 转座子的末端序列和转座酶优化,使 *SB* 的转座效率有了较大幅度的提高^[26]。2009 年,美国明尼苏达大学的 CLARK 等在欧洲鳎鱼 (*Pleuronectes platessa*) 中分离到了一个天然的、有自主转座活性的转座子 *Passport*^[27],鳎 *Passport* 在脊椎动物细胞中具有转座活性,该转座子能将细胞转基因技术的整合率提高 40 倍,并表现出有明显的插入位点偏好性,*Passport* 是第一例有自主转座活性的脊椎动物 *Tc1/mariner* 超家族转座子。

3 活性金鱼 *Tgf2* 转座子

2008 年来,笔者所在的实验室根据玉米 *Ac*

与青鳉 *Tol2* 转座子序列保守区设计一对引物, 先后在近 20 种养殖鱼类和 8 品系金鱼中进行筛选, 最后发现此类 *hAT* 家族转座子仅在我国一些金鱼品系中存在, 根据转座子国际命名法则, 命名为金鱼 *Tgf2* 转座子^[28]。金鱼 *Tgf2* 转座子序列全长为 4 720 bp, 包括 4 个阅读框(ORF), 第 1 个内含子的 1 453 bp 到 2 091 bp 区域为反向重复序列, 其长度为 307 和 331 bp, 这两个单元中 93% 的核苷酸序列相同, 可形成“十”字结构^[28], 明显有别于青鳉 *Tol2* 转座子形成的茎环结构, 这些区域与转座活性密切相关。

我们进一步分离得到金鱼 *Tgf2* 转座酶的 7 个 mRNA 转录本, 这些转录本的 3' 端序列完全相同, 差异主要体现在 5' 端序列的长度和序列来源。*Tgf2* 转座酶 7 个转录本可分别编码 686、650 和 577 个氨基酸残基的 3 种不同长度的转座酶^[7]。成熟卵子中存在的内源性 *Tgf2* 转座酶具有转座活性, 能使自身携带的转座子进行转座。*Tgf2* 转座酶介导的带有 *Tgf2* 左右臂的供体质粒的转座效率超过 30%, 而采用供体质粒和 5' 加帽转座酶 mRNA 共注射, 1 龄转基因后代的插入频率则超过 90%^[7]。*Tgf2* 转座子的插入位点均存在一个典型的 8-bp 的正向重复。此外, 在金鱼 *Tgf2* 转座子中还发现存在一些非自主转座子, 它们通常带有大片段的缺失, 除了缺失位点外, 这些非自主 *Tgf2* 转座子与金鱼自主转座元件几乎检测不到突变, 表明该转座子是通过水平转移进入金鱼基因组的, 进入金鱼基因组的时间并不长^[7]。

金鱼 *Tgf2* 转座子是迄今发现的第一例鲤科鱼类自主活性转座元件。金鱼 *Tgf2* 转座元件具有转基因整合的高效性, 在鲤科养殖鱼类中的转基因胚胎期的整合率大于 50%, 在幼鱼或成鱼阶段的转基因整合率可达 30% ~ 50%, 较日本学者发现的青鳉 *Tol2* 转座子的转基因效率提高约 10%。可实现精确切离和整合, 且具有后代畸形率低, 整合位点检测方便等特点^[7,29], 是当前进行鱼类转基因研究的高效和先进方法。尤其适合于显微注射成活率低的和粘性、浮性、沉性等不同鱼卵类型的海、淡水养殖鱼类开展转基因或基因组插入诱变研究。

4 转座子在转基因和基因捕获研究中的应用

2008 年 7 月, 国家首批启动了作物和蓄养动

物的转基因研究重大专项, 表明通过转基因技术获得抗病、抗逆和生长性能优良的水产养殖品种将成为一个重要的研究方向。传统转基因是通过注射线性化质粒 DNA 到受精卵, 通过外源基因的整合遗传给子代, 但是, 这种方法的效率是很低的, 大约只有 5% 的注射过的斑马鱼能产生转基因子代^[30]。大量外源质粒拷贝的存在会使得受精卵发育异常, 后代大量畸形, 而且整合效率低, 整合位点检测困难。因此, 难以在产不同类型卵子的养殖鱼类中建立转基因新品系^[29]。利用转座子进行转基因除了转基因效率高的优点外, 转座子可以作为被插入基因的序列标签, 利用反向 PCR 的方法可方便进行外源基因插入位点的检测, 结合 Cre/lox 技术可进行转基因高效定点靶位操作。另外, 基因组计划产生了大量的基因序列, 但多数基因的功能却尚不了解或不确定, 通过转座子插入诱变来进行基因捕获是获得基因功能信息的有效方法, 已成为分子遗传学研究的重要内容。

基因捕获是一种将带有报告基因的重组载体随机整合到基因组中, 使插入基因被激活或失活, 然后通过检测报告基因的表达和利用一些基于 PCR 的分子生物学技术来研究基因功能的新方法^[31]。随着研究的不断深入, 转座子被广泛应用于基因捕获研究, 如 KAWAKAMI 等^[32]报道了利用 *Tol2* 转座子对斑马鱼进行基因捕获的研究, 他们通过反向 PCR 的方法鉴定了捕获载体插入位点上下游的基因组序列, 且利用 RACE 的方法获得了 8 种报告基因与内源基因的融合转录本。ASAKAWA 和 KAWAKAMI^[33]构建的基因捕获载体巧妙利用了上游激活序列(upstream activating sequence, UAS) 的转录激活因子 Gal4FF, 当有内源基因被捕获时转录激活因子得以表达, 而当基因捕获个体与纯和报道品系 UAS-GFP 杂交时, 转录激活因子刺激报道基因强烈表达。BALCIUNAS 等^[34]利用 *SB* 转座子在斑马鱼中进行增强子捕获研究, 建立了 9 个在不同组织和器官表达报告基因的家系, 其中一些报告基因的表达模式是以前所未见的。GEURTS 等^[35]利用 *SB* 转座子在小鼠中的研究, 证实基因捕获可作为检测内源基因表达的手段, 并且可以和生物发光检测相结合来鉴定具有组织特异性表达模式的内源基因。

5 转座子在养殖鱼类基因组研究方面的价值

自主转座活性的 DNA 转座子的发现,开创了遗传学研究的新领域,使转座子逐渐成为遗传学研究的新手段和工具。基于转座子插入诱变(insertional mutagenesis)策略符合正向遗传学(从突变性状到基因)原理,通过基因组水平的转座子插入诱变,高通量获得表型性状发生突变的后代,进而快速、准确地捕获目标性状主控基因^[23,36]。由于转座子本身的可示踪性,避免了ENU 化学诱变或逆转录病毒介导的插入诱变方法所带来的突变位点定位困难的缺点。很多不同的转座子(如 *P* 因子和 *Mos1*)介导的基因组插入诱变已被作为大规模遗传筛选的工具,不仅在单细胞生物如细菌和酵母中,而且在多细胞生物包括蠕虫、果蝇和拟南芥的研究中都被证明是成功的,它们为发现和解码这些生物的性状主控基因作出了巨大的贡献^[2-3]。令人遗憾的是,由于存在种属特异性,采用低等生物转座子难以在脊椎动物(包括鱼类)中进行插入诱变,尽管也有以昆虫转座子 *piggyBac* 开展小鼠插入诱变的报道^[4]。

养殖鱼类生殖、生长、抗病和抗逆等基因的调控网络非常复杂^[37-38],加上全基因组信息、精密遗传图谱缺乏及基因调控机制在不同生物间存在差异,目标性状的主控基因或调控元件很难通过候选基因克隆法或比较基因组学方法鉴别。因此,现阶段需进一步探索新的适合养殖鱼类的正向遗传学策略,它应能在鱼类基因组内系统高效地产生突变,进而快速筛选出与目标性状密切相关的优良突变体和主控基因。转座子转基因体系不仅可以用于转基因,还可以有效地开展插入诱变来发现新基因^[39-40]。目前,日本学者 KAWAKAMI 开发的 *Tol2* 转座子插入诱变技术已在不同的国家申请了系列发明专利(如美国专利号:US7741301)。金鱼 *Tgf2* 转座子相关技术也申请了 4 项国家发明专利,可建立大容量转座子插入诱变库,并发掘出主控基因,同时可供养殖鱼类重要性状分子育种研究。

参考文献:

- [1] MCCLINTOCK B. Chromosome organization and gene expression [J]. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology, 1951, 16(3):13-17.
- [2] COOLEY L, KELLEY R, SPRADLING A. Insertional mutagenesis of the *Drosophila* genome with single *P* elements [J]. Science, 1988, 239:1121-1128.
- [3] BOULIN T, BESSEREAU J L. *Mos1*-mediated insertional mutagenesis in *Caenorhabditis elegans* [J]. Nature Protocols, 2007, 2:1276-1287.
- [4] RAD R, RAD L, WANG W, et al. *PiggyBac* transposon mutagenesis: a tool for cancer gene discovery in mice [J]. Science, 2010, 330:1104-1107.
- [5] KOGA A, SUZUKI M, INAGAKI H, et al. Transposable element in fish [J]. Nature, 1996, 383: 30.
- [6] IVICS Z, HACKETT P B, PLASTERK R H, et al. Molecular reconstruction of *Sleeping Beauty*, a *Tc1*-like transposon from fish, and its transposition in Human cells [J]. Cell, 1997, 91:501-510.
- [7] JIANG X, DU X, TIAN Y, et al. Goldfish transposase *Tgf2* presumably from recent horizontal transfer is active [J]. FASEB Journal, 2012, 26(7):2743-2752.
- [8] FU L, MAMBRINI M, PERROT E, et al. Stable and full rescue of the pigmentation in a medaka *albino* mutant by transfer of a 17 kb genomic clone containing the medaka tyrosinase gene [J]. Gene, 2000, 241:205-211.
- [9] KOGA A, HORI H. The *Tol2* transposable element of the medaka fish: an active DNA-based element naturally occurring in a vertebrate genome [J]. Genes and Genetic Systems, 2001, 76(1):1-8.
- [10] KOGA A, INAGAKI H, BESSHO Y, et al. Insertion of a novel transposable element in the tyrosinase gene is responsible for an albino mutation in the medaka fish, *Oryzias latipes* [J]. Molecular and General Genetics, 1995, 249(4): 400-405.
- [11] KAWAKAMI K, KOGA A, HORI H, et al. Excision of the *Tol2* transposable element of the medaka fish, *Oryzias latipes*, in zebrafish, *Danio rerio* [J]. Gene, 1998, 225: 17-22.
- [12] KOGA A, SUZUKI M, MARUYAMA Y, et al. Amino acid sequence of a putative transposase protein of the medaka fish [J]. FEBS Letters, 1999, 461: 295-298.
- [13] URASAKI A, MORVAN G, KAWAKAMI K. Functional dissection of the *Tol2* transposable element identified the minimal *cis*-sequence and a highly repetitive sequence in the subterminal region essential for transposition [J]. Genetics, 2006, 174(2):639-649.
- [14] KAWAKAMI K. *Tol2*: a versatile gene transfer vector in vertebrates [J]. Genome Biology, 2007, 8(1): 7.
- [15] FUJIMURA K, KOCHER T D. *Tol2*-mediated transgenesis in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture, 2011, 319:342-346.
- [16] TSUTSUMI M, IMAI S, KYONO-HAMAGUCHI Y, et al. Color reversion of the albino medaka fish associated with spontaneous somatic excision of the *Tol-1* transposable

- element from the tyrosinase gene [J]. *Pigment Cell Research*, 2006, 19(3):243-247.
- [17] KOGA A, SHIMADA A, KUROKI T, et al. The *Toll* transposable element of the medaka fish moves in human and mouse cells [J]. *Journal of Human Genetics*, 2007, 52(7): 628-635.
- [18] HIKOSAKA A, KOGA A. PCR detection of excision suggests mobility of the medaka fish *Toll* transposable element in the frog *Xenopus laevis* [J]. *Genetics Research*, 2007, 89(4): 201-206.
- [19] KODAMA K, TAKAGI S, KOGA A. The *Toll* element of the medaka fish, a member of the hAT transposable element family, jumps in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Heredity*, 2008, 101(3):222-227.
- [20] KOGA A, HIGASHIDE I, HORI H, et al. The *Toll* element of medaka fish is transposed with only terminal regions and can deliver large DNA fragments into the chromosomes [J]. *Journal of Human Genetics*, 2007, 52(12):1026-1030.
- [21] IVICS Z, IZSVAK Z, MINTER A, et al. Identification of functional domains and evolution of *Tc1*-like transposable elements [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(10): 5008-5013.
- [22] IZSVAK Z, IVICS Z, HACKETT P B. Characterization of a *Tc1*-like transposable element in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Molecular and General Genetics*, 1995, 247(3): 312-322.
- [23] IVICS Z, LI M A, MATES L, et al. Transposon-mediated genome manipulation in vertebrates [J]. *Nature Methods*, 2009, 6(6):415-422.
- [24] YERGEAU D A, JOHNSON-HAMLET H M R, KULIYEV E, et al. Transgenesis in *Xenopus* using the *Sleeping Beauty* transposon system [J]. *Developmental Dynamics*, 2009, 238(7):1727-1743.
- [25] MISKEY C, IZSVAK Z, PLASTERK R H, et al. The *Frog Prince*: a reconstructed transposon from *Rana pipiens* with high transpositional activity in vertebrate cells [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31: 6873-6881.
- [26] MATES L, CHUAH M K, BELAY E, et al. Molecular evolution of a novel hyperactive *Sleeping Beauty* transposase enables robust stable gene transfer in vertebrates [J]. *Nature Genetics*, 2009, 41(6):753-761.
- [27] CLARK K J, CARLSON D F, LEAVER M J, et al. Passport, a native *Tc1* transposon from flatfish, is functionally active in vertebrate cells [J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37: 1239-1247.
- [28] 邹曙明, 袁剑, 杜雪地. 金鱼 *hAT* 家族转座子 *Tgf2* 的克隆及其结构[J]. *遗传*, 2010, 32(12): 1263-1268.
- [29] 邹曙明, 蒋霞云. 鱼类转座子介导的转基因和基因捕获策略 [M]//孙效文, 徐鹏. 水产基因组技术与研究进展, 北京: 海洋出版社, 2011.
- [30] AMSTERDAM A, LIN S, HOPKINS N. The *Aequorea victoria* green fluorescent protein can be used as a reporter in live zebrafish embryos [J]. *Developmental Biology*, 1995, 171(1):123-129.
- [31] SPRINGER P S. Gene traps: tools for plant development and genomics [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(7):1007-1020.
- [32] KAWAKAMI K, TAKEDA H, KAWAKAMI N, et al. A transposon-mediated gene trap approach identifies developmentally regulated genes in zebrafish [J]. *Developmental Cell*, 2004, 7(1):133-144.
- [33] ASAKAWA K, KAWAKAMI K. The *Tol2*-mediated Gal4-UAS method for gene and enhancer trapping in zebrafish [J]. *Methods*, 2009, 49(3):275-281.
- [34] BALCIUNAS D, DAVIDSON A E, SIVASUBBU S, et al. Enhancer trapping in zebrafish using the *Sleeping Beauty* transposon [J]. *BMC Genomics*, 2004, 5(1): 62.
- [35] GEURTS A M, WILBER A, CARLSON C M, et al. Conditional gene expression in the mouse using a *Sleeping Beauty* gene trap transposon [J]. *BMC Biotechnology*, 2006, 6(1):30.
- [36] LAWSON N D, WOLFE S A. Forward and reverse genetic approaches for the analysis of vertebrate development in the zebrafish [J]. *Developmental Cell*, 2011, 21(1): 48-64.
- [37] 桂建芳. 鱼类品种改良的遗传和发育基础研究的现状和将来[J]. *生命科学*, 2005, 17(2): 112-118.
- [38] SHEN R, JIANG X, PU J, et al. *HIF-1 α* and *-2 α* genes in a hypoxia-sensitive teleost species *Megalobrama amblycephala*: cDNA cloning, expression and different responses to hypoxia [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, 2010, 157: 273-280.
- [39] ZHU Z, LI G, HE L, et al. Novel gene transfer into the fertilized eggs of goldfish (*Carassius auratus* L. 1758) [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 1985, 1: 31-34.
- [40] LIAO H, WANG Y, WATT K E N, et al. *Tol2* gene trap integrations in the zebrafish amyloid precursor protein genes *appa* and *aplp2* reveal accumulation of secreted APP at the embryonic veins [J]. *Developmental Dynamics*, 2012, 241: 415-425.

Overview of fish DNA transposon discovery and into application

ZOU Shu-ming, DU Xue-di, JIANG Xia-yun

(Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Transposon is a DNA sequence with a certain length in the genome. DNA transposons are transposable elements which can move within their host genomes by changing their insertional positions in a process called transposition. The transposition can efficiently mediate by its transposase on “cut-paste” approach. The strategy based on transposon insertional mutagenesis will be extremely powerful tool for trapping the target genes that control important trait in fish species. For a long time, the construction and application of DNA transposon system is blank in vertebrates. Recently, the powerful transposon tools has been developed for new area of research such as transgenesis and insertion mutagenesis in zebrafish, mice and other vertebrates, with the discovery of the active medaka *Tol2*, salmon *SB*, flounder *Passport* and goldfish *Tgf2* and other cases of fish activity transposon. This article describes the latest progress of the fish DNA transposon, its structural characteristics and applications, and explores the feasibility of the transposon in mastering gene screening for important traits, functional explanation and genomics research in aquacultural fish species.

Key words: transposon; genome; transgenesis; insertional mutagenesis