

东亚飞蝗 *mariner* 转座子片段的克隆和序列分析*

谢 妤 何正波** 陈 斌

(重庆师范大学生命科学学院, 昆虫与分子生物学研究所 重庆 400047)

摘 要 *mariner* 转座子在昆虫中广泛存在, 转座时不需要宿主特异因子的作用, 是昆虫种系转化的有力工具. 以 *mariner* 转座酶的保守序列设计的简并引物从东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) 基因组中扩增出 7 个序列有差异的片段, 其中的 1 个片段能够翻译成为连续的氨基酸序列, 另外 6 个片段中均含有终止子或移码突变. 经同源性比对、序列特征分析, 证实东亚飞蝗基因组中存在 *mariner* 类元件, 但大部分都是无功能的假基因; 系统进化分析发现东亚飞蝗基因组中的 *mariner* 类元件有可能属于新的 *mariner* 次级家族. 图 3 参 33

关键词 东亚飞蝗; *mariner*; 转座子; 克隆; 进化分析

CLC Q969.265.203

Cloning and Analysis of *mariner*-like Element Fragment in Migratory Locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen)*

XIE Yu, HE Zhengbo** & CHEN Bin

(Institute of Entomology and Molecular Biology, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

Abstract The *mariner*-like elements (MLEs) are widely distributed in insects. Owing to their wide distribution and the ability to move from one location to another without the help of specific host factors, MLEs become powerful tools for genetic manipulation of insect species with special emphasis on insects of economic importance. In that respect, the presence of MLEs was assessed in *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) by polymerase chain reaction (PCR) using degenerate primers designed from two conserved regions of *mariner* transposase open reading frame. Seven PCR fragments with variation in sequence were identified from the locust, and among them one fragment showed a continuous amino acid sequence and the other 6 PCR fragments were pseudogenes with stop codons, frameshifts or deletions in the deduced amino acid sequences. Homologous analysis and sequence character showed that the fragment with continuous amino acid sequence was MLE and possibly belonged to a new subfamily of *mariner* family. These data suggested that *L. migratoria manilensis* possessed MLE, but mostly existed as pseudogenes in its genome. Fig 3, Ref 33

Keywords *Locusta migratoria manilensis* (Meyen); *mariner*; transposable element; cloning; phylogenetic analysis

CLC Q969.265.203

自Rubin和Spradling利用P因子成功地转化出首例转基因果蝇^[1]后, 转基因昆虫和转座载体便引起了科学家们极大的兴趣. 转座子是一类能够在基因组上“跳跃”的遗传学元件, 并能在基因组中进行自主复制和传递^[2-3]. 目前已知的可作为昆虫转基因载体的转座子主要有P转座子、*Hermes*转座子、*minos*转座子、*hobo*转座子、*piggyBac*转座子和*mariner*转座子等. *mariner*转座子是一类由DNA介导的II型转座子, 属于*Tc1/mariner*超家族的成员^[4], 首先在毛里塔尼亚果蝇 (*Drosophila mauritania*) 中发现^[5], 随后在真菌、植物、无脊椎动物和包括人在内的哺乳动物基因组中发现了大量*mariner*类元件 (*mariner*-like-elements, MLEs)^[6-7]. MLEs全长约1 300 bp, 末端为20~40 bp的反向重复序列 (Inverted terminal repeats, ITR), 中间有一个不含内含子的开放阅读框, 编码340~360个氨基酸的转座酶^[8-9]. MLEs不仅可以在

前后代中进行垂直传递, 还可以在种间进行水平转移^[6]. 从*D. mauritiana*中发现的*Mosl*转座子是具有天然转座活性的*mariner*转座子^[10], 虽然*Mosl*转座子仅存在于*D. mauritiana*和*D. simulans*中^[11], 却能够在多种昆虫中包括非果蝇昆虫中具有转座活性^[12-13], 将其作为转基因载体用于转化果蝇、蚊子 (*Aedes aegypti*) 和利什曼原虫 (*Protozoan leishmania*) 等节肢动物, 均获得了稳定遗传的后代^[14-16]. 这充分表明*mariner*类转座子转座时不需要宿主特异因子的作用, 可以有效地转座入异源物种, 是能够在不同物种间广泛进行基因定位和种系转化研究的有力工具.

东亚飞蝗*Locusta migratoria manilensis* (Meyen)是我国危害最为严重的农业害虫之一, 形成的蝗害与水灾、旱灾并列为我国农业生产的三大自然灾害. 同时, 东亚飞蝗又是昆虫形态学、生理学、发育生物学等领域研究的重要模式生物. 近年来, 已经有大量的基因被克隆, 包括EST库和miRNA序列等^[17-18]. 随着基因功能研究方法与技术的发展, RNAi已被成功地用于研究东亚飞蝗的基因功能^[19-21], 但RNAi不能稳定遗传, 也不能实现组织特异性的抑制^[22]. 因此, 筛选转座子、建立转基因技术体系对于东亚飞蝗基因功能研究和遗传控制具有重要的意义. 本研究采用PCR方法扩增东亚飞蝗

收稿日期: 2010-07-08 接受日期: 2010-07-28

*国家自然科学基金项目 (No. 30700435) 和重庆市自然科学基金项目 (No. 2009BB1387) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30700435) and the Natural Science Foundation of Chongqing, China (No. 2009BB1387)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: zhengbohe@yahoo.com.cn)

*mariner*类元件的保守序列, 并对其序列和同源性进行了分析, 结果证实东亚飞蝗基因组中存在 *mariner*类元件, 为筛选东亚飞蝗自身的转座子、建立其转基因技术体系提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

东亚飞蝗 *L. migratoria manilensis* (Meyen), 室内饲养种群, 光照周期 12: 12 h (L:D)。

1.2 *mariner*片段的PCR扩增

东亚飞蝗基因组DNA提取参照Cooper等的方法^[23]进行。*mariner* PCR扩增引物采用Robertson设计的简并引物: 5'-TGGGTNCCNCAYGARYT-3' (WVPHL) 和 5'-GGNGCNARRTCNGGNSWRTA-3' (YSPDLAP)^[6]。扩增反应的总体积为25 μ L, 其中含1 \times PCR Buffer, 200 μ mol/L dNTPs, 1.5 mmol/L MgCl₂, 1 μ mol/L简并引物, 1U Taq DNA聚合酶。温度循环参数为: 94 $^{\circ}$ C 预变性5 min, 然后94 $^{\circ}$ C 30 s, 50 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共35个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸10 min。扩增产物在含0.5 μ g/mL溴化乙锭的1%琼脂糖凝胶上电泳, 紫外灯下观察照相。

1.3 基因克隆与序列分析

PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳分离, 用DNA胶回收试剂盒(北京百泰克)回收目的片段。DNA片段连接进pMD-19T载体, 转化大肠杆菌JM109, 送华大基因科技股份有限责任公司测序, 测序结果在NCBI (<http://blast.Ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 上进行在线比对, 并从NCBI上下载 *Tc1/maT/mariner* 超家族的转座子序列, 使用Clustalx1.83软件对这些序列进行比对。采用分子进化遗传分析软件MEGA3.1构建邻接法(Neighbor joining, NJ)进化树, 并用Bootstrap 1000次重复检验分子系统树各分支的置信度。

2 结果与分析

2.1 东亚飞蝗 *mariner*类元件的克隆

以 *mariner*转座酶的保守序列设计简并引物, 以东亚飞蝗基因组DNA为模板, 进行PCR扩增, 得到约500 bp大小的特

异性片段, 与预期片段大小基本一致(图1)。切胶回收500 bp的DNA片段, 克隆进pMD-19T载体, 随机挑取15个转化子测序, 共测出12个转化子, 剔除重复序列后得到7条序列, 核酸序列长度从475~506 bp不等。为了排除序列之间的差异是由于PCR扩增或测序过程中引入的错误碱基, 随机选择了5条序列, 设计特异性引物, 以高保真酶重新进行扩增和测序, 结果发现两次测序的结果完全一致。

2.2 东亚飞蝗 *mariner*类元件的序列分析

将7个片段进行两两比对, 核酸序列同源性为76%~97%, 但其中仅有一个片段能够翻译成连续的氨基酸序列(图2)。利用BLASTP进行比对, 该氨基酸序列与 *mariner*转座酶的同源性最高, 而且具有转座酶1超家族的保守结构域。因此, 将这个片段命名为东亚飞蝗 *mariner*类元件1.1 (*Lmmar1.1*)。其余6个片段中含有终止子或存在移码突变, 利用TBLASTX进行比对, 均与 *mariner*转座酶的同源性最高,

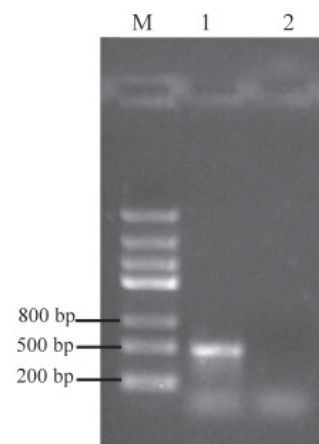


图1 东亚飞蝗 *mariner*转座子的PCR扩增
Fig. 1 PCR amplification of *mariner* transposable element from *L. migratoria manilensis*

M: 标准分子量对照; 1: 东亚飞蝗 *mariner*转座子的PCR产物; 2: 不加模板的阴性对照

M: Molecular weight marker; 1: PCR product of *mariner* transposable element of *L. migratoria manilensis*; 2: Negative control without DNA template

1	TGG	GTT	CCT	CAT	GAA	TTG	ACG	GAA	ATG	CCG	AAA	TGG	ATG	CGC	TAT	TAC	GCT	GCT	CAG
1	W	V	P	H	E	L	T	E	M	P	K	W	M	R	Y	Y	A	A	Q
58	ATG	CAC	TTG	GAG	TGC	TAT	GAG	CGC	GAA	GCA	GAG	ACA	TTC	TTA	CTC	AGT	ATC	GTA	ACA
20	M	H	L	E	C	Y	E	R	E	A	E	T	F	L	L	S	I	V	T
115	ATG	GAT	GAG	ACA	AGG	GCC	ACA	TCG	CAC	GAG	CCA	AAA	CTG	AAA	CGG	CAT	AAC	AAC	GAA
39	M	D	E	T	R	A	T	S	H	E	P	K	L	K	R	H	N	N	E
172	TGG	CGT	CAT	TAT	GGG	TCG	TCG	CGA	AAC	CCG	AGG	GCG	CGT	CAT	ATC	TCC	AGC	ATG	GTG
58	W	R	H	Y	G	S	S	R	N	P	R	A	R	H	I	S	S	M	V
229	AAA	GTT	ATG	GTG	AAT	CTC	GTG	TAC	GAG	TGT	GAT	GGT	TTT	ATC	CCA	ATA	CAT	TAC	GTT
77	K	V	M	V	N	L	V	Y	E	C	D	G	F	I	P	I	H	Y	V
286	CCA	CCC	TGG	CAG	ACC	GTC	AGT	GCA	CAG	TAT	GAC	TGT	TAC	TCG	CGT	TCA	GCT	TTG	CGA
96	P	P	W	Q	T	V	S	A	Q	Y	D	C	Y	L	R	S	A	L	R
343	AAG	AAA	CGG	CAA	CAC	TTT	AAG	CGC	AGT	CCA	CCC	ATC	ATT	TTG	CAG	GAC	AAT	GCG	CAG
115	K	K	R	Q	H	F	K	R	S	P	P	I	I	L	Q	D	N	A	Q
400	GTG	CAT	ACA	GAG	CAG	ACT	GTG	GCT	GCT	CTG	TTC	GGT	CGA	TGG	GAC	AGG	GAA	GTA	CTG
134	V	H	T	E	Q	T	V	A	A	L	F	G	R	W	D	R	E	V	L
457	TAC	CAT	CCA	CCA	TAT	ACA	CCA	GAT	TTA	GCA	CCA								
153	Y	H	P	P	Y	T	P	D	L	A	P								

图2 东亚飞蝗 *Lmmar1.1*的核酸及其预测的氨基酸序列

Fig. 2 Nucleotide and predicted amino acid sequence of *Lmmar1.1* from *L. migratoria manilensis*

D, D (34) D催化基序中的第1和第2个天冬氨酸用方框标出 The first and second aspartic acids (D) of D, D(34) catalytic motif were indicated by box

说明这些片段有可能是东亚飞蝗 *mariner* 类元件的假基因。

Lmmar1.1 编码150个氨基酸(图2),与蔗蠊 (*Pycnoscelus surinamensis*) 的转座酶同源性最高,为46%,与白蜡窄吉丁虫 (*Agrilus planipennis*) 转座酶的同源性为34%,与草蛉 (*Chrysoperla plorabunda*) 的同源性为34%,与蟹 (*Pilumnus hirtellus*) 的同源性为31%,而与毛里塔尼亚果蝇、角蝇 (*Haematobia irritans*) 的同源性分别为29%和27%,与其它 *mariner* 转座子的氨基酸同源性为25%~31%不等。

mariner 转座酶的催化基序为天冬氨酸(D)三联体D,D(34)D,第一和第二个天冬氨酸位于保守基序WVPHL和YSPDLAP之间^[6]。*Lmmar1.1* 中有催化基序三联体中的第1和第2个天冬氨酸(图2)。催化三联体中的最后一个天冬氨酸通常是YSPDLAPXD(X为某个氨基酸)中的最后一个D^[4,6],由 *Lmmar1.1* 的氨基酸序列可以预测第二和第三个天冬氨酸之间间隔34个氨基酸。因此,东亚飞蝗 *mariner* 类元件转座酶的催化基序应为D,D(34)D。

2.3 东亚飞蝗 *mariner* 类元件的进化分析

将 *Lmmar1.1* 与 *Tc1/maT/mariner* 超家族21个转座子的氨基酸序列进行比对,并用邻接法(Neighbor joining, NJ)绘制了分子系统发育树,利用自举分析(Bootstrap, 1 000次重复)检验各分支的置信度。由进化树可以发现:1)除 *Lmmar1.1* 外的21个转座子的聚类关系与已经报道的结果一致^[4,6,8];2) *Lmmar1.1* 与蔗蠊 *mariner* 类元件共同形成 *mariner* 家族的一个进化分支,进一步证实 *Lmmar1.1* 属于 *mariner* 类元件;3) *Lmmar1.1* 与蔗蠊 *mariner* 类元件不属于已知的任何 *mariner* 次级家族,可能是一类新的 *mariner* 次级家族;4) *Lmmar1.1* 与蔗蠊 *mariner* 类元件的亲缘关系最近,与同源性比对结果一致(图3)。

3 讨论

mariner 转座酶中有两个非常保守的序列,即WVPHL和YSPDLAP,两序列间隔约150个氨基酸残基,Robertson利

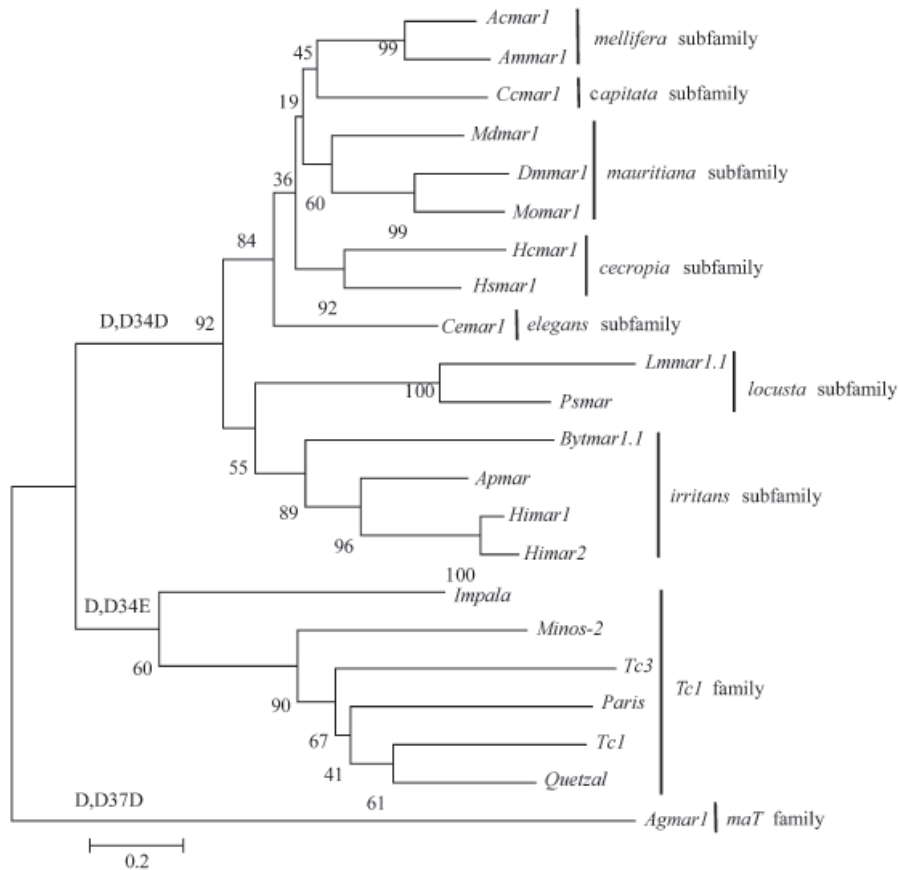


图3 东亚飞蝗 *mariner* 类元件与部分 *Tc1/maT/mariner* 超家族转座子的系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic position of MLE of *L. migratoria manilensis* in the *Tc1/maT/mariner* superfamily

构建邻接法(Neighbor joining, NJ)进化树,树枝上的数字代表Bootstrap为1 000次时的支持度值,所分析种类的相关序列GenBank登录号 A phylogenetic tree was constructed by NJ method. Bootstrap support values (in percent) based on 1 000 replicates are indicated. GenBank accession numbers related to the species analyzed.

Dmmar1: 毛里塔尼亚果蝇 *Drosophila mauritiana*, GenBank序列号 GenBank accession no. X78906; *Psmar*: 蔗蠊 *Pycnoscelus surinamensis*, AAC28159; *Acmar1*: 蜜蜂 *Apis cerana*, BAB86288; *Ammar1*: 意大利蜜蜂 *Apis mellifera*, U19902; *Apmar*: 白蜡窄吉丁虫 *Agrilus planipennis*, ADB28039; *Ccmar1*: 地中海实蝇 *Ceratitis capitata*, U40493; *Cemar1*: 秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans*, M98552; *Hcmr1*: 惜古比天蚕 *Hyalophora cecropia*, M63844; *Himar1*: 角蝇 *Haematobia irritans*, S37004; *Himar2*: *H. irritans*, L10463; *Hsmar1*: 智人 *Homo sapiens*, U52077; *Mdmr1*: 小麦黑森癭蚊 *Mayetiola destructor*, U24436; *Momar1*: *Metaseuilus occidentalis*, U12279; *Agmar1*: 冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*, AAA29359; *Tc1*: *C. elegans*, P03934; *Tc3*: *C. elegans*, P34257; *Impala*: 镰孢菌 *Fusarium oxysporum*, AAB33090; *Minos-2*: 海德果蝇 *D. hydei*, Z29098; *Quetzal*: 白魔按蚊 *Anopheles albimanus*, AAB02109; *Paris*: 黑果蝇 *Drosophila virilis*, CAA89219; *Bytmar1.1*: 螃蟹 *Bythogreaa thermydron*, AJ507219

用这两个保守区域设计简并引物, 从6个目的10种昆虫中扩增出目的片段, 证实 *mariner* 转座子广泛分布于昆虫中^[6]。随后, 采用相同的策略从线虫、蜜蜂 (*Apis cerana japonica*)、家蚕 (*Bombyx mori*)、白背飞虱 (*Sogatella furcifera*) 和灰飞虱 (*Laodelphax striatellus*) 等物种中分离鉴定出了 *mariner* 类元件^[8, 24-26]。本研究以东亚飞蝗基因组为模板, 用该简并引物扩增出了7个片段。 *mariner* 元件不同亚族的核苷酸同源性和氨基酸同源性为23%~45%^[6]。 *Lmmar1.1* 与蔗螟 *mariner* 类元件的同源性最高, 与其他 *mariner* 类元件的同源性介于25%~34%不等。因此, *Lmmar1.1* 属于东亚飞蝗 *mariner* 类元件的部分序列, 东亚飞蝗基因组中存在 *mariner* 类元件。

mariner 转座子属于 *Tc1/mariner* 超家族。根据序列相似性, *mariner* 家族可以分为 *mauritanica*、*cecropia*、*mellifera*、*irritans*、*capitata*、*elegans* 和 *rosa* 等亚族^[27-30]。将 *Lmmar1.1* 与 *Tc1/mariner* 超家族的21个转座子的氨基酸编码序列进行系统发育分析, *Lmmar1.1* 能够归入 *mariner* 家族, 但不能归入上述任何亚家族 (图3)。系统发育分析结果进一步证实扩增到的 *Lmmar1.1* 片段属于 *mariner* 家族, 有可能是一类新的 *mariner* 亚家族。本研究只是克隆了两个保守基序之间的序列, 并用这段序列进行的同源性分析和系统分析, 其结果还有待进一步的证实。

mariner 类元件在微生物、植物和动物中广泛存在, 其中大部分 *mariner* 类元件都是以假基因存在^[29]。从东亚飞蝗基因组中扩增得到的7个片段, 仅 *Lmmar1.1* 能翻译成连续的氨基酸序列, 其余6个片段中含有终止子或移码突变, 属于假基因, 说明东亚飞蝗基因组中存在 *mariner* 类元件, 但大部分都属于假基因。假基因的形成与转座子的种间水平转移和种内垂直传递失活有关^[8, 29]。 *Lmmar1.1* 与蔗螟 *mariner* 类元件的同源性最高, 蔗螟和东亚飞蝗之间是否存在 *mariner* 类元件的水平转移现象? 或蔗螟和东亚飞蝗的 *mariner* 类元件是否具有共同的祖先? 这些还有待进一步的研究。

迄今为止, 仅发现3个 *mariner* 类元件有转座活性, 包括 *Mos1*、*Himar1* 和 *Famar1*^[14, 31-32]。 *Mos1* 转座子在异源物种中也具有转座活性, 并成功构建了稳定遗传的转基因体系, 说明 *mariner* 类元件是潜在的种系转化研究的有力工具^[14-16]。东亚飞蝗不但是重要的农业害虫, 而且是形态学、发育生物学等的模式物种, 建立东亚飞蝗的转基因体系对于其基因功能研究和遗传控制具有重要的意义。在种系转化体系构建过程中, 内源性的转座酶对转座载体的转座活性有影响^[33]。因此, 筛选和鉴定东亚飞蝗的 *mariner* 类元件, 是利用 *mariner* 类元件建立种系转化体系的基础工作。本研究仅克隆了一个能够连续翻译的片段, 而没有扩增全长序列。因此, 东亚飞蝗是否具有转座活性的 *mariner* 类元件, 还需要深入研究。

References

- Rubin GM, Spradling AC. Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vector. *Science*, 1982, **218**: 348-352
- Robertson HM, Lampe DJ. Distribution of transposable elements in arthropods. *Ann Rev Entomol*, 1995, **40**: 333-357
- Kidwel MG, Lisch DM. Transposable elements and host genome evolution. *Trends Ecol Evol*, 2000, **15**: 95-99
- Bui QT, Delaurière L, Casse N, Nicolas V, Laulier M, Chénais B. Molecular characterization and phylogenetic position of a new *mariner*-like element in the coastal crab, *Pachygrapsus marmoratus*. *Gene*, 2007, **396** (2): 248-256
- Jacobson JW, Medhora MM, Hartl DL. Molecular structure of a somatically unstable transposable element in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **3**: 8684-8868
- Robertson HM. The *mariner* transposable element is widespread in insects. *Nature*, 1993, **362**: 241-245
- Robertson HM. Evolution of DNA transposons in eukaryotes. Mobile DNA II. Washington DC, USA: ASM Press, 2002. 1093-1110
- Leroy H, Leroy F, Augé-Gouillou C, Castagnone-Sereno P, Vanlerberghe-Masutti F, Bigot Y, Abad P. Identification of *mariner*-like elements from the root-knot nematode *Meloidogyne* spp. *Mol Biochem Parasitol*, 2000, **107** (2): 181-190
- Plasterk RH, Izsvak Z, Ivics Z. Resident aliens the *Tc1/mariner* superfamily of transposable elements. *Trends Genet*, 1999, **15**: 326-332
- Medhora MM, MacPeck AH, Hartl DL. Excision of the *Drosophila* transposable element *mariner*: identification and characterization of the *Mos* factor. *EMBO J*, 1988, **7**: 2185-2189
- Capy P, Koga A, David JR, Hartl DL. Sequence analysis of active *mariner* elements in natural populations of *Drosophila simulans*. *Genetics*, 1992, **130**: 499-506
- Lindholm DA, Lohe AR, Hartl DL. The transposable element *mariner* mediates germline transformation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1993, **134**: 859-868
- Lohe AR, Hartl DL. Germline transformation of *Drosophila virilis* with the transposable element *mariner*. *Genetics*, 1996, **143**: 365-374
- Medhora M, Maruyama K, Hartl DL. Molecular and functional analysis of the *mariner* mutator element *Mos1* in *Drosophila*. *Genetics*, 1991, **128** (2): 311-318
- Gueiros-Filho FJ, Beverley SM. Trans-kingdom transposition: mobilization of the *Drosophila* element *mariner* within the protozoan *Leishmania*. *Science*, 1997, **276**: 716-719
- Coates CJ, Jasinskiene N, Miyashiro L, James AA. *Mariner* transposition and transformation of yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 3748-375
- Kang L, Chen XY, Zhou Y, Liu BW, Zheng W, Li RQ, Wang J, Yu J. Analysis of large-scale gene expression correlated to the phase changes of the migratory locust. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 17611-17615
- Wei YY, Chen S, Yang PC, Ma ZY, Kang L. Characterization and comparative profiling of the small RNA transcriptomes in two phases of locust. *Genome Biol*, 2009, **10**: R6
- He ZB, Cao YQ, Xia YX. Optimization of parental RNAi conditions for hunchback gene in *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). *Insect Sci*, 2010, **17**: 1-6
- He ZB, Cao YQ, Yin YP, Wang ZK, Chen B, Peng GX, Xia YX. Role of *hunchback* in segment patterning of *Locusta migratoria manilensis* revealed by parental RNAi. *Dev Growth Differ*, 2006, **48**: 439-445

- 21 Zhang W, Yin YP, Zhang BS, Wang ZK, Peng GX, Cao YQ, Xia YX. Cloning of a novel protease required for the molting of *Locusta migratoria manilensis*. *Dev Growth Differ*, 2007, **49** (7): 611~621
- 22 He ZB (何正波), Chen B (陈斌), Feng GZ (冯国忠). RNA interference and its application in entomology. *Chin Bull Entomol* (昆虫知识), 2009, **46** (4): 525~532
- 23 Cooper SJB, Hewitt GM. Nuclear DNA sequence divergence between parapatric subspecies of the grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Insect Mol Biol*, 1993, **2** (3): 185~194
- 24 Yomita S. Cloning and characterization of a *mariner*-like element in silkworm, *Bombyx mori*. *Genes Genet Syst*, 1997, **72**: 219~228
- 25 Huang LH (黄立华), Du JG (杜建光), Cheng XN (程遐年), Hong XY (洪晓). The *mariner* transposable element of *Sogatella furcifera* and *Laodelphax striatellus*. *Acta Entomol Sin* (昆虫学报), 2001, **44** (4): 402~407
- 26 Sumitani M, Lee JM, Hatakeyama M, Oishi K. Cloning and characterization of *Acmarl*, a *mariner*-like element in the asiatic honey bee, *Apis cerana japonica* (Hymenoptera, Apocrita). *Arch Insect Biochem & Physiol*, 2002, **50**: 183~190
- 27 Robertson HM, MacLeod EG. Five major subfamilies of *mariner* transposable elements in insects, including the Mediterranean fruit fly, and related arthropods. *Insect Mol Biol*, 1993, **2**: 125~139
- 28 Sedensky MM, Hudson SJ, Everson B, and Morgan PG. Identification of a *mariner*-like repetitive sequence in *C. elegans*. *Nucleic Acids Res*, 1994, **22** (9): 1719~1723
- 29 Hartl DL, Lohe AR, Lozovskaya ER. Modern thoughts on an ancient *mariner*: Function, evolution, regulation. *Annu Rev Genet*, 1997, **31**: 337~3581
- 30 Gomulski LM, Torti C, Bonizzoni M, Moralli D, Raimondi E, Cappy P, Gasperi G, Malacrida AR. A new basal subfamily of *mariner* elements in *Ceratitis rosa* and other tephritid flies. *J Mol Evol*, 2001, **53** (6): 597~606
- 31 Lampe DJ, Akerley BJ, Runbin EJ, Mekalanos JJ, Robertson HM. Hyperactive transposase mutants of the *Himar1 mariner* transposon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 11428~11443
- 32 Barry EG, Witherspoon DJ, Lampe DJ. A bacterial genetic screen identifies functional coding sequences of the insect *mariner* transposable element *Famar1* amplified from the genome of the Earwig, *Forficula auricularia*. *Genetics*, 2004, **166**: 823~833
- 33 Ashburner M, Hoy MA, Peloquin JJ. Prospects for the genetic transformation of arthropods. *Insect Mol Biol*, 1998, **7**: 201~213



生物营养强化农产品开发和应用

[美] G.S. 巴纽埃洛斯 林治庆 编著 尹雪斌 李飞 刘颖 周守标 译 科学出版社出版 (2010年11月)
ISBN 978-7-03-029334-3 ¥60.00 B5开本 平装

内容简介

我国农业历了从高产到无公害,再到绿色有机的发展阶段。但是,安全仅仅是对食品要求的一个方面,在中国科学院农业领域战略研究组编撰的《中国至2050年农业科技发展战略图》中,食品的营养化和功能化已被提上日程,代表了我国未来农业发展的新方向。

本书从生物营养强化的概念出发,寻求目前世界上普遍存在的营养失衡的解决之道。本书的撰稿人均是在农产品生物营养强化领域有经验的科学家。他们从缺乏现象最为普遍的硒、铁、锌、碘出发,着力于通过品种选育、肥料施用、农艺管理以及现代基因工程等技术手段来改善或解决这个问题,对改善我国民众的微量营养水平和提高我国有关研究、实践均有着非常重要的启发意义。

本书适合生命科学、农学等相关方向的研究人员参考使用。

外来入侵物种法律法规汇编

曹坳程 张国良 主编 科学出版社出版 (2010年11月) ISBN 978-7-03-029487-6 ¥75.00 16开本 精装

内容简介

本书汇编了26部联合国、欧洲联盟、美国、澳大利亚、日本等组织和国家与外来入侵生物管理有关的法律、法规及防控体系,包括《生物多样性公约》、《国际植物保护公约》、《濒危野生动植物种国际贸易公约》、《联合国海洋法公约》、《关于特别是作为水禽栖息地的国际重要湿地公约》、《卫生与植物检疫措施实施协议》、《21世纪议程——生物多样性的保护》、《外来生物防治剂进口及释放行为守则》、《防止外来入侵物种导致生物多样性丧失的指南》等,涉及外来入侵物种的预防、监测、根除和控制等措施以及早期预警与紧急应对策略等内容。

本书可作为各级农林部门技术人员、高等院校师生及科研院所专业人员的参考书。

联系人: 科学出版社科学销售中心 周文宇 电话: 010-64031535 E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购: <http://shop.sciencepress.cn>

科学出版中心生物分社 电话: 010-64012501 网址: www.lifescience.com.cn E-mail: lifescience@mail.sciencep.com