

斑马鱼*sat1.a*突变体的鉴定

万传璐¹, 闫一芳², 王鹏², 林宇², 曹羽², 王强^{2*}

(1. 安徽大学生命科学学院, 合肥 230601; 2. 中国科学院动物研究所膜生物学国家重点实验室, 北京 100101)

【摘要】 目的 在我们的前期研究工作中, 通过 *Tol2* 转座子介导的插入突变, 筛选到了一批组织特异性表达绿色荧光蛋白 GFP 的斑马鱼品系。其中一个品系 *Tol2*:20141221*t* 的 GFP 在神经系统中表达, 但还没有鉴定到 *Tol2* 转座子插入到基因组什么位置, 造成了哪个基因的突变。本文的主要研究目标就是对这一由 *Tol2* 转座子插入诱导的斑马鱼突变品系进行鉴定。**方法** 使用交错式热不对称 PCR (thermal asymmetric interlaced PCR, TAIL-PCR) 鉴定 *Tol2* 转座子插入的基因组位置; 利用原位杂交检测被突变的基因的时空表达是否与该品系 GFP 表达具有一致性; 筛选鉴定纯合体突变体, 并进一步分析该基因突变造成的发育缺陷。**结果** 在该品系中, *Tol2* 转座子插入到了亚精胺/精胺 N1-乙酰基转移酶 1a (*spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1a*, *sat1.a*) 的第八个内含子区域, 致使 *sat1.a* 基因转录提前终止。我们筛选到了 *sat1.a* 纯合突变体, 但是没有检测到明显的发育缺陷。**结论** 筛选鉴定的 *Tol2* 转座子介导的斑马鱼 *sat1.a* 突变体没有明显的发育缺陷, 但可以作为研究神经系统发育的有力工具。

【关键词】 斑马鱼; *Tol2* 转座子; *sat1.a*; 神经系统; 原位杂交

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2016)06-0551-07

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2016.06.001

Identification of a zebrafish *sat1.a* mutant

WAN Chuan-lu¹, YAN Yi-fang², WANG Peng², LIN Yu², CAO Yu², WANG Qiang^{2*}

(1. School of Life Science, Anhui University, Hefei, 230601, China; 2. State Key Laboratory of Membrane Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100101)

【Abstract】 Objective In our previous study, we had generated various zebrafish mutant lines with tissue-specific GFP expression by *Tol2* transposon-mediated insertional mutagenesis. Among these mutants, the *Tol2*:20141221*t* line expresses GFP in nervous system, while the position within zebrafish genome where transposon inserted has not yet been identified. The aim of this study was to identify and analyze this genetically modified mutant. **Methods** The transgenic insertion loci in the genome of *Tol2*:20141221*t* line was identified by TAIL-PCR and the spatial and temporal expression profile of the affected gene was examined by *in situ* hybridization. Homozygous mutant of *Tol2*:20141221*t* was generated for exploring related developmental defects. **Results** *Tol2* transposon was inserted into the 8th intron region of *sat1.a* gene, and induced premature transcription termination. The maternal and zygotic mutants of *Tol2*:20141221*t* was generated, while without apparent developmental defects. **Conclusions** We have generated and identified the zebrafish *sat1.a* mutant mediated by *Tol2* transposon. This gene insertion mutant exhibits no obvious developmental abnormalities, but may serve as a powerful tool to study the development of nervous system.

【Key words】 Zebrafish; *Tol2* transposon; *sat1.a*; Nervous system; *in situ* hybridization

Corresponding author: WANG Qiang, E-mail: qiangwang@ioz.ac.cn

Tol2 转座子是 Inagaki 等^[1] 在青鳉鱼 (*Oryzias latipes*) 中发现的一种具有自主转座活性的转座子

元件, 主要由末端倒位重复序列 (terminal inverted repeats, TIRs)、亚末端重复序列 (subterminal re-

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (No. 31271532) 资助。

[作者简介] 万传璐 (1988 -), 男, 硕士研究生, 研究方向: 发育生物学。Email: w.chl.chzhz@163.com

[通讯作者] 王强 (1975 -), 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事发育信号转导的研究。Email: qiangwang@ioz.ac.cn

peats, SRs)、中间倒位重复序列(internal inverted repeats, IRs)、靶位重复序列(target site duplication)和转座酶基因(transposase gene)五个部分构成。Koi-chi 等^[2]在斑马鱼基因组本身没有 *Tol2* 转座子的情 况下,使用显微注射的方法向单细胞时期的斑马鱼 胚胎中注射带有 *Tol2* 的质粒(含有 TIRs 和 SRs 序 列)和体外合成的 *Tol2* 转座酶 mRNA,发现 *Tol2* 可 以通过发生转座而整合到斑马鱼基因组中,并且能 够遗传给子代。*Tol2* 转座子通过“剪切-粘贴”机 制整合到宿主染色体上,除了需要额外生成一个 8 bp 的靶位重复序列,基本不会引起靶位点的重排和修 饰^[2]。有报道称,*Tol2* 转座子可携带长达 11 kb 的外 源插入片段,而不引起其自身转座活性的降低^[3]。

基于 *Tol2* 的基因捕获技术是通过构造一个包 含外显子剪接接头、EGFP 编码序列及 SV40 polyA 序列的转座子基因捕获载体^[3],然后与体外合成的 *Tol2* 的转座酶 mRNA 共注射。转座子如果插到某 个基因的内含子中,EGFP 编码区与上游外显子发 生剪接,形成融合转录本,因此,EGFP 就会具有与 被捕获基因一致的表达谱^[4]。更为重要的是,*Tol2* 转座子在基因组的随机插入,会干扰被捕获基因的 正常剪接,致使其 mRNA 提前终止。进一步通过基 因鉴定和筛选获得纯合突变体,可以用于被捕获基 因的功能研究。

脊椎动物胚胎发育过程中受到多种基因和信号 通路的参与和调控。组织特异性表达的基因,往往 在相应组织器官形成和维持组织稳态中发挥重要作 用。本文鉴定到由 *Tol2* 转座子介导的基因捕获技 术捕获的 *sat1.a* 突变体。虽然我们没有发现 *sat1.a* 突变体存在明显的发育缺陷,但 *sat1.a* 在神经组织 特异表达的特点使得此突变体可以作为研究神经系 统发育的有力工具。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本实验所用野生型斑马鱼(*Danio rerio*)为 AB 品系;*Tol2*:20141221t 突变体是由本实验室在 AB 野 生型斑马鱼品系中经过 *Tol2* 转座子介导的基因捕 获获得。胚胎在 Holtfreter 缓冲液中 28.5℃ 培养至 所需时期^[5],斑马鱼幼鱼至成鱼养殖方法参见《The Zebrafish Book》(Westerfield M,2000)^[6]。

1.2 热不对称交错 PCR(TAIL-PCR)

TAIL-PCR 所需的基因组 DNA 由 *Tol2*:

20141221t 品系 F1 代剪尾(1~2 cm),使用快速碱 裂解法(去净水分后加入 10 μL 50 mmol/L NaOH, 经 95℃ 裂解 30 min,再加 1 μL 1 mol/L Tris-Cl 中 和)提取。TAIL-PCR 引物设计及实验方法参照以 前的报道^[7,8]。

1.3 探针制备和整胚原位杂交

以受精后 24 h 野生型胚胎基因组 DNA(单枚胚 胎经快速碱裂解法提取)为模板,以 *sat1.a* ProbeF: 5'-AACACCACCTCCATTGAGTTCT-3';*sat1.a* Probe R:5'-CGATTTTCTCCGCAGTCCAAAC-3' 为引物,使 用 2×Taq MasterMix(CW0682S,康为世纪)扩增出 目的片段,然后通过 T-A 克隆连接到 EZ-T 载体上。 相关质粒经线性化后,使用 RNA 合成试剂盒 ME- GAscript® Kit(AM1334, Ambion)制备反义 RNA 探 针。原位杂交实验操作参照以前的报道^[9]。

1.4 *sat1.a* 基因与 *Tol2* 转座子连锁分析

Tol2:20141221t 品系 F1 代自交后的胚胎中分 别挑选无荧光、弱荧光、强荧光胚胎个体,经快速碱 裂解法提取基因组 DNA。*Tol2* 转座子插入位点两 侧引物 *sat1.a* Insert F1:5'-GCGACTCATAAAGGTA- AGCCGA-3';*sat1.a* Insert R1:5'-ACAGG- TATATTTCTCTCCACACCTC-3';*Tol2*-3 (TAIL-PCR 引物):5'-CCT AAGTACTTGTACTTTCACTTG-3'。

1.5 体视显微镜及共聚焦显微镜拍摄

使用荧光体视显微镜(MZ10F, Leica),选择 不同发育时期的 *Tol2*:20141221t 品系 F1 代杂合突变 体自交及 F2 代纯合突变体自交产生的胚胎拍摄; 用共聚焦显微镜(LSM 510 META, Zeiss),选取受精 后 72 h F2 代纯合突变体自交产生的胚胎活体拍 照,并以同时期杂合体胚胎为对照,比较二者神经系 统发育是否存在差异。

2 结果

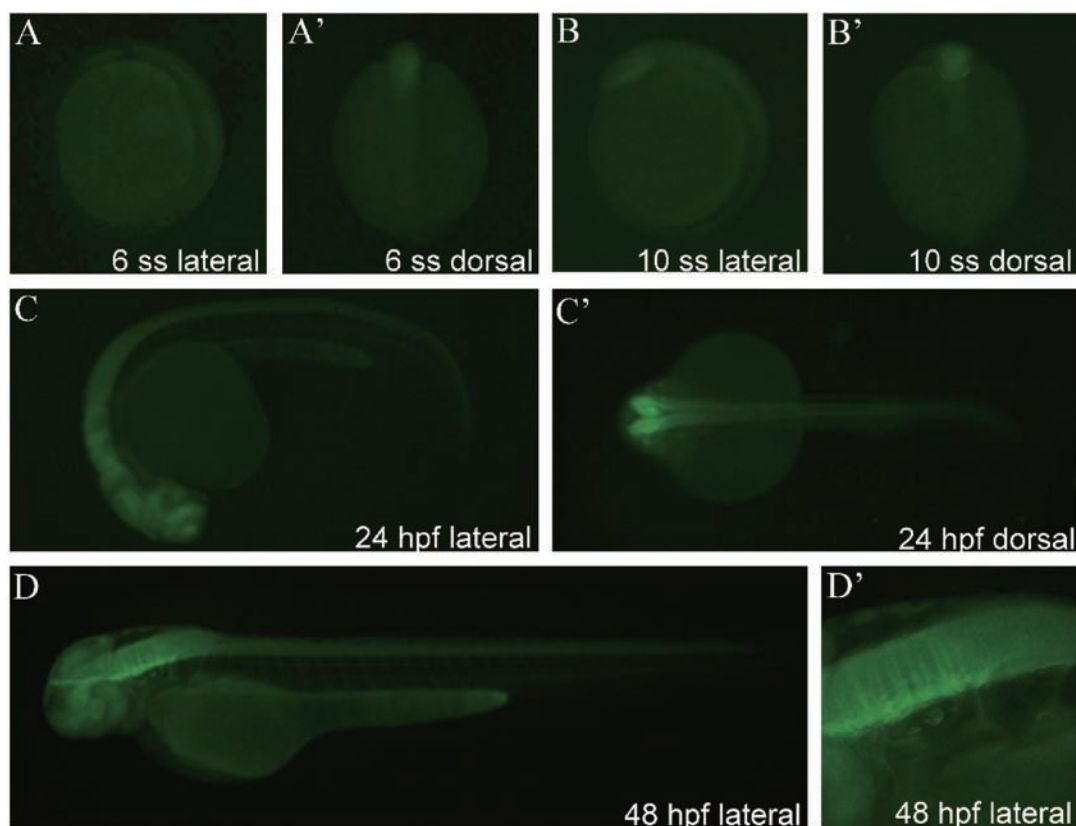
2.1 检测 *Tol2*:20141221t 品系胚胎中 GFP 在不同 发育时期的表达图式

在荧光体视显微镜下,选择 *Tol2*:20141221t 品 系 F1 代杂合突变体与野生型交配产生的有荧光的 胚胎,在 6 体节(6ss)、10 体节(10 ss)、受精后 24 h (24 hpf)、及受精后 48 h(48 hpf)等时期检测绿色荧 光蛋白的表达情况。

Tol2:20141221t 荧光表达起始于神经系统发育 初期,6 体节时期,我们可以看到有少量的荧光出 现,主要集中在胚胎头部(图 1-A 和 A');10 体节时

期,发现荧光由头部沿着体轴向尾部延伸,荧光区域进一步扩大(图 1-B 和 B');受精后 24 h 荧光已经扩展到整个体轴,在脑部(前脑、中脑、后脑)和脊椎上方的主要神经系统上表达(图 1-C),而在脊髓中

却没有表达(图 1-C');受精后 48 h 在脑部、咽部和躯干处可以非常明显的看到荧光特异表达在神经组织(图 1-D 和 D')。



注:(A,A')分别为 6 体节时期侧面观和背面观;(B,B')分别为 10 体节时期侧面观和背面观;(C,C')分别为受精后 24 h 的侧面观和背面观;(D)为受精后 48 h 侧面观;(D')为受精后 48 h 侧面观放大图。

图 1 *Tol2*:20141221t 品系在不同发育时期的 GFP 表达图式

Note: (A, A') 6 somite stage, lateral view and dorsal view; (B, B') 10 somite stage, lateral view and dorsal view; (C, C') 24 hpf, lateral view and dorsal view; (D) 48 hpf, lateral view; (D') Higher magnification of head region of the embryos at 48 hpf, lateral view.

Fig. 1 The GFP expression patterns of *Tol2*:0141221t line in different developmental stages

2.2 鉴定到 *Tol2*:20141221t 品系中 *Tol2* 转座子捕获到的基因为 *sat1.a*

TAIL-PCR 是一种染色体步移技术,利用随机简并引物与由已知序列设计的特异引物组合进行嵌套式 PCR,选择性扩增出特定序列的侧翼未知序列。

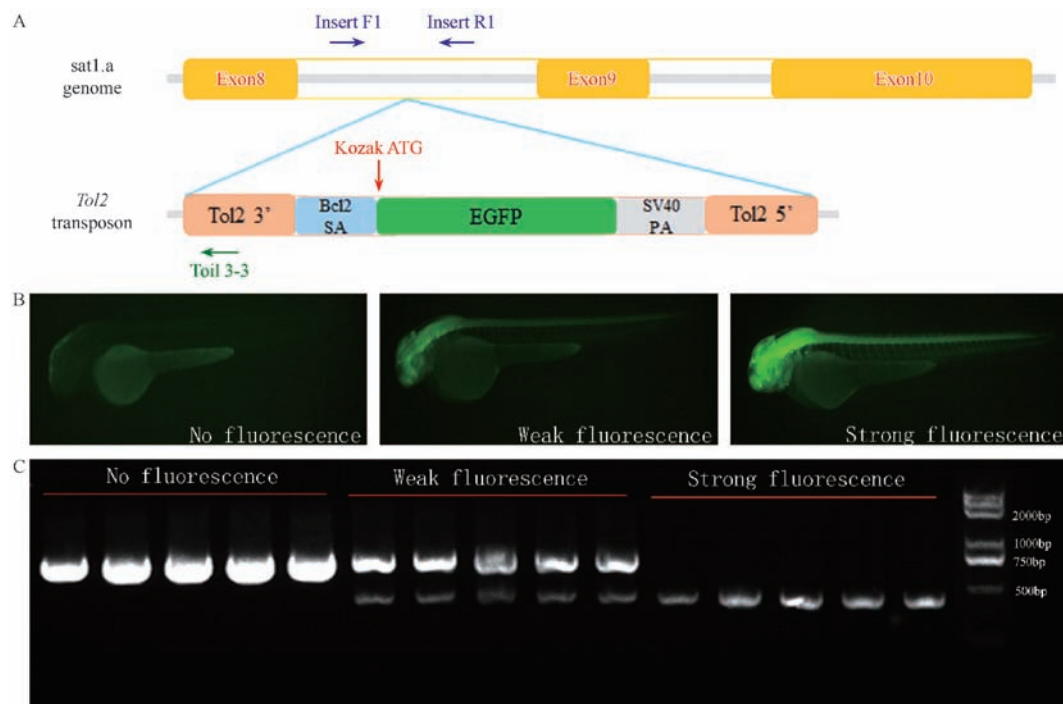
根据文献报道,我们使用 2 × Taq MasterMix 经过 3 轮嵌套 PCR,经 1% 琼脂糖凝胶电泳,最终在 *Tol2* 5' end 方向获得一段 DNA 片段,以 *Toil* 5-3 (*Tol2* 转座子 3' 端第 3 轮特异引物)为引物测序。测序结果在 Ensembl 上比对,发现所得序列与 *sat1.a* 基因的匹配相似度为 100%,插入位点位于 *sat1.a* 基因的第 8 个内含子内部(图 2-A)。

为了进一步验证 *sat1.a* 基因内部确实插入了

Tol2 转座子,我们做了 *sat1.a* 基因与 *Tol2* 转座子的基因连锁分析实验。首先,在 *Tol2*:20141221t 品系 F1 代杂合突变体自交产生的斑马鱼胚胎无荧光、弱荧光和强荧光三种胚胎(图 2-B),数目比例大致为 1:2:1,符合孟德尔遗传定律。随后,我们使用 PCR 的方法对 *sat1.a* 基因与 *Tol2* 转座子的进行了连锁分析。预先设计的引物按 1:1:1 加入 PCR 体系,Insert F1 和 Insert R1 可以扩增出野生型片段长度约为 750 bp 的片段,Insert F1 和 *Toil*3-3 可以扩增出突变型片段约 500 bp(图 2-A)。PCR 结果显示无荧光的胚胎只能扩增出野生型片段,强荧光的只能扩增到插入出突变型片段,弱荧光既可以扩增出野生型片段也可以扩增出突变型片段(图 3-C)。

以上实验表明 *Tol2* 转座子和 *sat1.a* 基因在位置上是连锁的, *Tol2* 转座子确实是插入到 *sat1.a* 基

因内部, 而且根据 GFP 表达的有无和强弱可以区分野生型及杂合和纯合突变体胚胎。



注: (A) *Tol2* 转座子插入 *sat1.a* 基因的示意图及基因连锁分析引物位置; (B) *Tol2*:20141221t 系 F1 代自交, 受精后 48 h 的无荧光、弱荧光和强荧光胚胎; (C) 对无荧光、弱荧光和强荧光胚胎的基因连锁分析。

图 2 *Tol2*:20141221t 品系中 *Tol2* 转座子插入的基因为 *sat1.a*

Note: (A) The schematic diagram of *Tol2* transposon inserted into *sat1.a* gene and the primer loci we designed for gene linkage analysis; (B) The no fluorescence, weak fluorescence and strong fluorescence embryos at 48hpf; (C) Gene linkage analysis of *sat1.a* gene and *Tol2* transposon in the embryos with no fluorescence, weak fluorescence and strong fluorescence.

Fig. 2 Fluorescence intensity and gene linkage analysis

2.3 *sat1.a* 基因具有与 *Tol2*:20141221t 品系 GFP 相似的表达图式

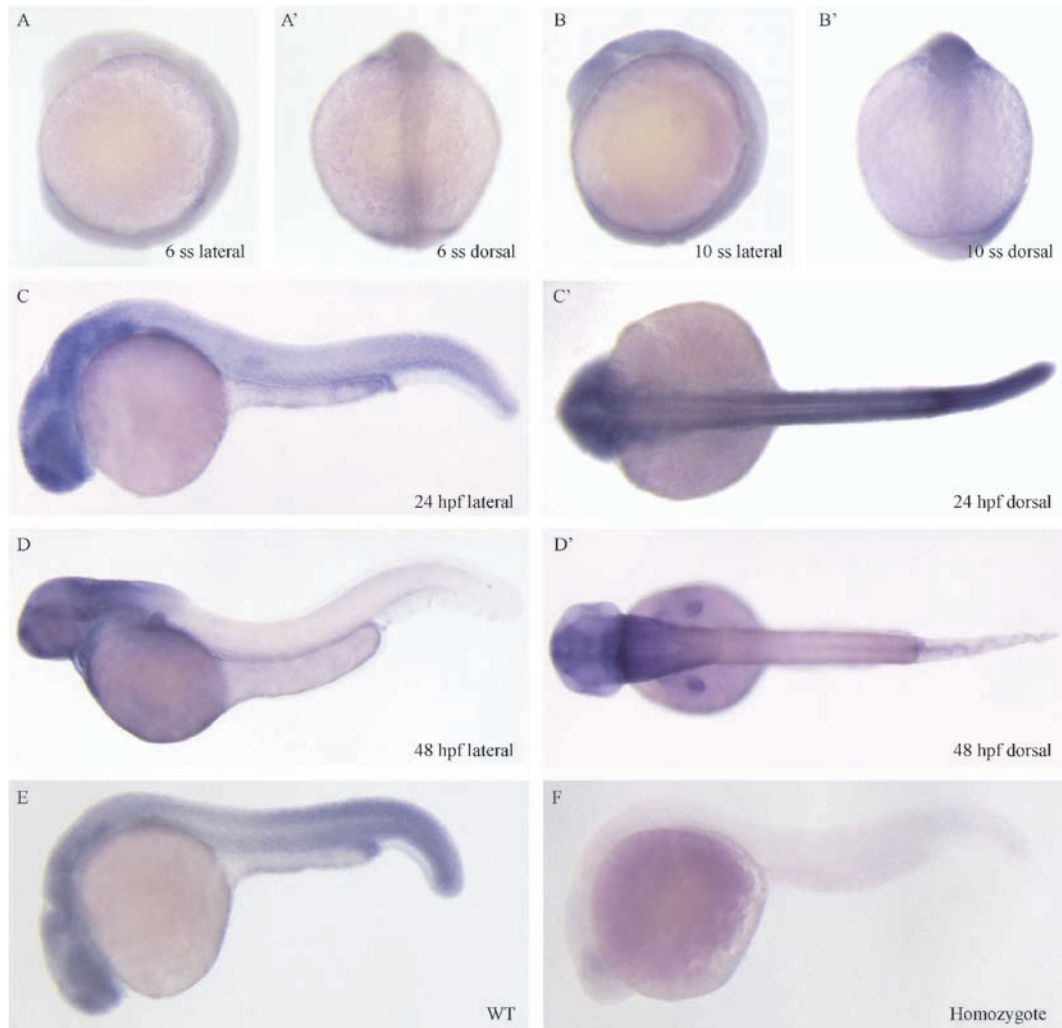
虽然通过基因连锁分析实验已经证明了 *Tol2*:20141221t 品系中 *Tol2* 转座子插入到 *sat1.a* 基因内部, 但是 *sat1.a* 基因的表达情况还不清楚。我们选择了 6 体节 (图 3-A 和 A')、10 体节 (图 3-B 和 B')、受精后 24 h (图 3-C 和 C') 和受精后 48 h (图 3-D 和 D') 的野生型胚胎, 通过原位杂交技术检测 *sat1.a* 基因的表达图式。通过与图 1 中 GFP 的表达进行比较, 发现 *sat1.a* 基因 mRNA 和 *Tol2*:20141221t 品系中 GFP 的表达在时间和空间上具有相似性。例如 10 体节时期在头部均检测到明显的信号 (图 3-B 和 B'); 受精后 24 h, GFP 和 *sat1.a* mRNA 主要位于正在发育的前脑、中脑、后脑以及脊椎上方的神经组织 (图 3-C 和 C')。但两者的表达也有明显的区别, 如在 6 体节时期 GFP 在头部有明显的表达, 而原位杂交显示 *sat1.a* 在此时期表达水平较低 (图 3-A 和 A'); 受精后 GFP 荧光表达在从

头部到躯干部的神经组织, 而原位杂交显示 *sat1.a* 只表达在头部 (图 3-D 和 D')。GFP 和 *sat1.a* mRNA 表达的差异可能是 *sat1.a* 与 GFP 蛋白的稳定性不同造成的。

另外, 我们还通过原位杂交比较了野生型和纯合突变体胚胎的 *sat1.a* mRNA 表达情况, 发现正常的野生型胚胎可以被染色而同时期纯合突变体无法被染色 (图 3-E 和 F)。推测可能是 *sat1.a* 纯合突变体中由于 *Tol2* 转座子的插入, 阻断了 *sat1.a* 基因中插入位点下游序列的转录, 而我们的设计的反义 mRNA 探针靶向的序列就位于这一区域。这些实验结果表明, *Tol2* 插入的基因为 *sat1.a*, 造成了 *sat1.a* mRNA 转录的提前终止。

2.4 *sat1.a* 突变体没有明显的发育缺陷

由于 *sat1.a* F1 代突变体自交产生的胚胎中, 其纯合突变体没有明显的发育缺陷。我们推测可能有母源的 *sat1.a* 发挥作用。因此, 我们进一步筛选出 F2 代纯合体。这些 F2 代纯合体自交产生的胚胎为



注: (A, A') 分别为 6 体节时期侧面观和背面观; (B, B') 分别为 10 体节时期侧面观和背面观; (C, C') 分别为受精后 24 h 的侧面观和背面观; (D, D') 分别为受精后 48 h 的侧面观和背面观; (E) 为受精后 22 h 野生型胚胎; (F) 为受精后 22 h *sat1.a* 纯合突变体胚胎。

图 3 整胚原位杂交显示 *sat1.a* 在不同发育时期的表达图式

Note. (A, A') 6-somite stage, lateral view and dorsal view; (B, B') 10-somite stage, lateral view and dorsal view; (C, C') 24 hpf, lateral view and dorsal view; (D, D') 48 hpf, lateral view and dorsal view; (E) 22 hpf, WT embryo; (F) 22 hpf stage, *sat1.a* homozygote mutant.

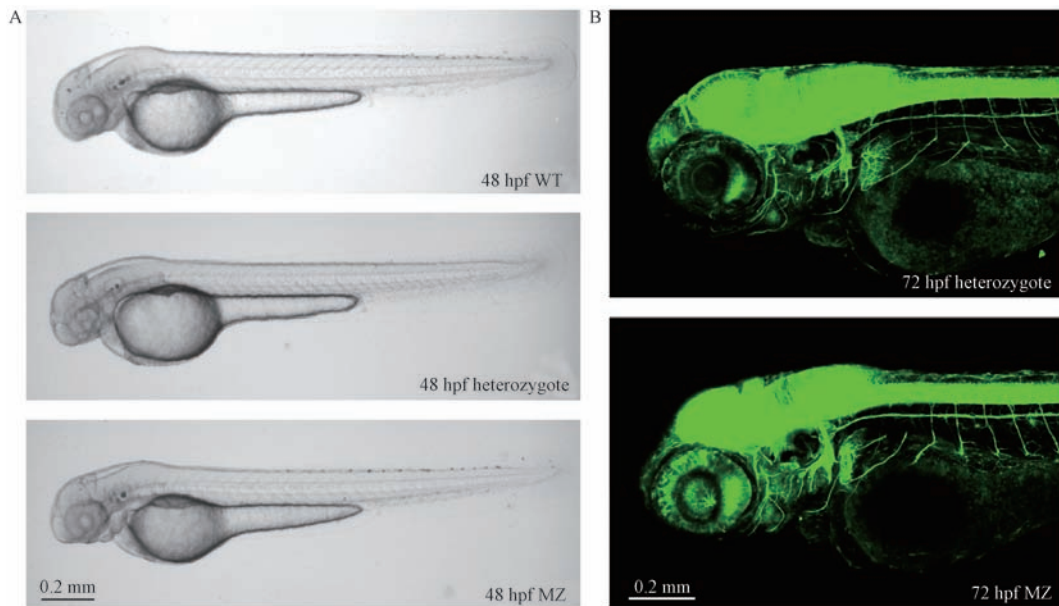
Fig. 3 The expression patterns of *sat1.a* in different developmental stages

F3 代母源合子纯合突变体。与同一发育时期的野生型胚胎以及杂合突变体胚胎相比, *sat1.a* 母源合子纯合突变体 (maternal and zygote, MZ) 从形态上观察, 也没有呈现显著的发育缺陷 (图 4-A)。因为 GFP 荧光特异表达在神经系统中, 所以我们进一步检测了该纯合突变体神经系统是否存在发育缺陷。在共聚焦显微镜 20 倍物镜下观察受精后 72 h 的母源合子纯合突变体体和杂合突变体胚胎, 发现二者在脑部、咽部及躯干部的神经细胞在数量、分布及形态等各个方面并没有明显的区别 (图 4-B)。因此, *sat1.a* 突变体在早期胚胎发育过程中并没有明显的

缺陷。

3 讨论

精脒/精胺 N1-乙酰基转移酶 (SAT 或 SSAT) 由 *sat1* 基因编码^[10], 是多胺分解代谢途径中的限速酶^[11], 催化精脒和精胺的乙酰化, 参与调节细胞内多胺的浓度及其转运出细胞, 在维持体内多胺代谢平衡中起着重要作用^[12]。有报道称, SSAT 的过表达可能会促进肿瘤发生^[13], 而 SSAT 诱导型过表达会通过亚精胺和精胺的耗竭^[14-16], 触发线粒体介导的肿瘤细胞凋亡^[17]。SSAT 还可以通过多胺代谢循



注:(A)明场表型观察受精后 48 h 的野生型、杂合突变体和母源合子纯合突变体胚胎;(B)共聚焦显微镜下观察受精后 72 h 的杂合突变体和母源合子纯合突变体胚胎。

图 4 突变体表型分析

Note. (A)The phenotype observation of wild type embryo, heterozygote embryo and MZ mutant embryos 48 hpf in bright-field; (B)The confocal microscopic observation of heterozygote and MZ homozygote embryo at 72 hpf.

Fig. 4 Phenotypic analysis of the mutant

环影响成骨细胞的成骨机制和骨的重塑。在 SSAT 过表达小鼠中,受损的成骨会出现皮质壁变薄和骨小梁数量增加的现象^[18]。

SSAT 是脊椎动物所特有的。与哺乳动物相比,斑马鱼包含了 3 个同源基因,分别为 *sat1.a*、*sat1.b*、*sat1.c*^[19]。*sat1.a* 突变体胚胎没有明显的发育缺陷,可能是由于斑马鱼三个 SSAT 基因在胚胎发育过程中存在功能冗余性。因此,*sat1* 基因的发育功能还需进一步的实验验证,例如制备 *sat1.a*、*sat1.b*、*sat1.c* 三基因敲除的突变体。*sat1.a* 在神经组织中特异表达,是一个很好的分子标记,可以作为研究神经系统发育的有力工具。

此外,在自杀死亡的抑郁症患者的大脑中,发现额叶的部分区域 *sat1* 基因表达量降低^[20],这种基因表达的下调与 *sat1* 启动子区域序列插入/删除有关^[21],有研究表明,在这些自杀者的大脑中,发现有 miRNA 参与了 *sat1* 的转录后的调控^[22]。*sat1* 参与神经性疾病的功能与其在神经系统特异表达具有一致性。限于实验室的研究条件,我们并没有检测斑马鱼 *sat1.a* 突变体是否具有神经系统变异导致的行为异常。

参 考 文 献

[1] Inagaki H, Bessho Y, Koga A, et al. Expression of the tyrosi-

nase-encoding gene in a colorless melanophore mutant of the medaka fish, *Oryzias latipes* [J]. *Gene*, 1994, 150(2): 319 - 324.

[2] Kawakami K, Shima A, Kawakami N, et al. Identification of a functional transposase of the *Tol2* element, an Ac-like element from the Japanese medaka fish, and its transposition in the zebrafish germ lineage [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(21): 11403 - 11408.

[3] Urasaki A, Morvan G, Kawakami K, et al. 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, (2): 639 - 649.

[4] Kawakami K, Takeda H, Mishina M, et al. A transposon-mediated gene trap approach identifies developmentally regulated genes in zebrafish [J]. *Dev Cell*, 2004, 7(1): 133 - 144.

[5] Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, et al. Stages of embryonic development of the zebrafish [J]. *Dev Dyn*, 1995, 203(3): 253 - 310.

[6] Westerfield M. The Zebrafish Book. A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (*Danio rerio*) [M]. Univ of Oregon Press, Eugene, 2000.

[7] Parinov S, Kondrichin I, Korzh V, et al. *Tol2* transposon-mediated enhancer trap to identify developmentally regulated zebrafish genes in vivo [J]. *Dev Dyn*, 2004, 231(2): 449 - 459.

[8] Liu YG, Whittier RF. Thermal asymmetric interlaced PCR: automatable amplification and sequencing of insert end fragments

- from P1 and YAC clones for chromosome walking [J]. *Genomics*, 1995, 25:674 – 681.
- [9] 樊竑治, 彭忠禄, 谢华平, 等斑马鱼整体原位杂交的技术改良 [J]. *激光生物学*, 2010, 19(1): 115 – 119.
- [10] Bewley MC, Graziano V, Jiang J, et al. Structures of wild-type and mutant human spermidine/spermine N1-acetyltransferase, a potential therapeutic drug target [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 2063 – 2068.
- [11] Pegg AE. Spermidine/spermine-N(1)-acetyltransferase: a key metabolic regulator [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294:E995 – E1010.
- [12] Wallace HM, Fraser AV, Hughes A. A perspective of polyamine metabolism [J]. *Biochem J*, 2003, 376:1 – 14.
- [13] Tucker JM, Murphy JT, Kisiel N, et al. Potent modulation of intestinal tumorigenesis in *Apc^{min/+}* mice by the polyamine catabolic enzyme spermidine/spermine N1-acetyltransferase [J]. *Cancer Res*, 2005, 65: 5390 – 5398.
- [14] Sun H, Liu B, Liu XX, et al. Adenovirus-mediated expression of SSAT inhibits colorectal cancer cell growth in vitro [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008 May, 29(5):606 – 13.
- [15] Liu B, Xin JX, Liu XX, et al. Adenovirus vector-mediated up-regulation of spermidine/spermine N1-acetyltransferase impairs human gastric cancer growth in vitro and in vivo [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(11):2126 – 2132.
- [16] Tian Y, Wang S, Wang B, et al. Overexpression of SSAT by DENSPM treatment induces cell detachment and apoptosis in glioblastoma [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27: 1227 – 1232.
- [17] Mandala S, Mandala A, Parka MH. Depletion of the polyamines spermidine and spermine by overexpression of spermidine/spermine N1-acetyltransferase1 (SAT1) leads to mitochondria-mediated apoptosis in mammalian [J]. *Cell Biochem J*, 2015, 468(3): 435 – 447.
- [18] Pirmes-Karhu S, Määttä J, Uimari A, et al. Overexpression of spermidine/spermine N1-acetyltransferase impairs osteoblastogenesis and alters mouse bone phenotype [J]. *Transgenic Res*, 2015, 24(2):253 – 265.
- [19] Lien YC, Ou TY, Lin YT, et al. Duplication and diversification of the spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1 genes in zebrafish [J]. *PLoS One*. 2013, 8(1):e54017.
- [20] Sequeira A, Gwady FG, Casero RA Jr, et al. Implication of SSAT by gene expression and genetic variation in suicide and major depression [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2006, 63:35 – 48.
- [21] Fiori LM1, Mechawar N, Turecki G. Identification and characterization of spermidine/spermine N1-acetyltransferase promoter variants in suicide completers [J]. *Biol Psychiatry*, 2009 Sep, 66(5):460 – 467.
- [22] Lopez JPI, Fiori LM, Gross JA, et al. Regulatory role of miRNAs in polyamine gene expression in the prefrontal cortex of depressed suicide completers [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2014, 17(1): 23 – 32.

[收稿日期] 2016 – 04 – 28