

## UAS-Hey 转基因果蝇品系的构建与鉴定\*

刘松年, 荆凌华, 伍星, 赵鑫

(河南科技大学临床医学院/河南科技大学第一附属医院急诊科, 河南洛阳 471003)

**[摘要]** 目的 构建 UAS-Hey 转基因果蝇品系, 为研究 Hey 基因在果蝇发育中的功能提供工具。方法 利用逆转录 PCR 技术扩增果蝇 Hey 基因的编码序列, 并亚克隆至 pUAST 表达载体, 构建 pUAS-Hey 重组质粒。显微注射至野生型果蝇的胚胎, 通过 mini-white 标记筛选出 UAS-Hey 转基因红眼果蝇。将这些转基因品系分别进行平衡与定位, 并用 PCR 扩增方法鉴定。结果 成功构建了 pUAS-Hey 重组质粒, 通过显微注射及转基因果蝇的筛选与平衡, 共获得 7 个独立的转基因品系。PCR 分析证实 P[mini-white, UAS-Hey] 已整合入各转基因品系的基因组, 且处于可表达的区域。结论 成功构建了 UAS-Hey 转基因果蝇, 为运用 GAL4/UAS 系统进一步研究 Hey 基因的功能与调控奠定了基础。

**[关键词]** Hey 基因; 转基因果蝇; 显微注射; 心血管发育

**[中图分类号]** R541; Q344

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2018)05-0654-03

## Construction and identification of UAS-Hey transgenic fly strains\*

LIU Songnian, JING Linghua, WU Xing, ZHAO Xin

(Department of Emergency, College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology/  
First Affiliated Hospital, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

**[Abstract]** **Objective** To construct the UAS-Hey transgenic fly strains to provide a tool for researching the function of Hey gene in the fly development. **Methods** The Hey gene coding sequence was amplified by reverse transcription PCR and subcloned into pUAST expression vector. The pUAS-Hey recombinant plasmid was constructed and microinjected into the embryos of wild type flies. The UAS-Hey transgenic flies with red eyes were screened out with mini-white marker, then the balancing and mapping of these transgenic strains were performed. The identification was performed by using the PCR amplification method. **Results** The pUAS-Hey recombinant plasmid was successfully constructed, and seven independent transgenic strains were obtained by microinjection and transgenic fly screening and balance. PCR analysis confirmed that the P[mini-white, UAS-Hey] was integrated into genomes of transgenic strains and was in expressible region. **Conclusion** The UAS-Hey transgenic flies are successfully constructed, which lays the foundation for further studies of the function and regulation of Hey gene with GAL4/UAS system.

**[Key words]** Hey gene; transgenic fly; microinjection; cardiovascular development

Hey 基因 (Hairy/E(spl)-related with YRPW motif) 属于碱性螺旋-环-螺旋 (basic helix-loop-helix, bHLH) 转录因子超家族成员, 具有 bHLH 结构域、Orange 结构域及羧基末端的 YRPW 保守四肽。哺乳动物的 Hey 基因包括 Hey1、Hey2、HeyL 3 个成员, 在发育过程中主要表达于神经系统、心脏、血管、体节等组织, 作为 Notch 信号通路的直接靶基因参与神经发生、心血管系统形成及骨骼发育等<sup>[1-3]</sup>。有研究表明, Hey1 基因高表达与胶质瘤的病理发生和侵袭密切相关<sup>[4]</sup>; Hey2 基因敲除小鼠出现明显的心血管缺损表型, 包括法洛四联症、膜性室间隔缺损、心室肥大等畸形, 出生数天后大部分纯合缺失小鼠即死于心力衰竭<sup>[5]</sup>。系统研究 Hey 基因的功能和调控网络, 阐明其突变或异常表达的致病机制, 可以更好地揭示 Hey 基因所参与的生物学过程, 为其在临床治疗中的应用提供理论依据。然而作为哺乳动物 Hey 基因相对应的同源基因, 果蝇 Hey 基因的功能尚未系统研究<sup>[6-7]</sup>。序列比对分析发现果蝇 Hey 与哺乳动物 Hey 的 bHLH 结构域具有 97% 的序列相似性, 因此, 研究果蝇 Hey 基因的功能和调控将为哺乳动物 Hey 基因的相关研究提供借鉴。GAL4/UAS 表达系统利用组织特异性启动子或增强子活化酵母转录激活因子 GAL4 的表达, 随后 GAL4 蛋白特异性结合融合有靶基因的 UAS, 从而调控靶基因在特定组织特定时期过量表达, 因而是研究基因功能的有力工具<sup>[8]</sup>。本研究运用分子克隆和显微注射技术构建

UAS-Hey 转基因果蝇, 为运用 GAL4/UAS 系统过量表达 Hey 基因, 进一步研究 Hey 基因在发育中的功能和调控机制奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** W1118 野生型果蝇、elav-GAL4 果蝇品系、B1/CyO; TM2/TM6B 双平衡果蝇品系和 pUAST 载体为本实验室保存, 兔抗 Hey 多克隆抗体由本实验室制备。cDNA 合成试剂盒、高保真 PCR 扩增试剂盒、限制酶 EcoR I 和 Xho I、碱性磷酸酶、T4 连接酶、DNA 相对分子质量 Marker、凝胶回收试剂盒、DH5 $\alpha$  感受态细胞、质粒纯化试剂盒等购自 TaKaRa 公司; 组织裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、蛋白相对分子质量 Marker、硝酸纤维素膜 (NCM)、HRP 标记的羊抗兔 IgG、DAB 显色试剂盒等购自 Sangon 公司; 兔抗  $\beta$ -Tubulin 单克隆抗体 (ab179513) 购自 Abcam 公司; TRIzol 试剂等购自 Invitrogen 公司; PCR 纯化试剂盒、质粒 Midi 提取试剂盒等购自 QIAGEN 公司; 卤烃油 700 购自 Sigma 公司。其他化学试剂为国产分析纯。

## 1.2 方法

**1.2.1 果蝇胚胎总 RNA 提取与质检** 收集胚胎时, 将野生型 W1118 果蝇转至卵收集笼, 供给涂有酵母的葡萄汁培养基。收集 20 h 后用尼龙膜网收集卵, 50% 次氯酸钠溶液处理 2 min 去除几丁质外壳, 然后用蒸馏水充分冲洗。取 100 枚胚胎置于

1.50 mL 离心管中,加入 1.00 mL TRIzol 试剂后冰上迅速匀浆,然后按照厂家的说明书提取,总 RNA 样品于-80 °C 保存备用。Nanodrop 检测 RNA 样品的浓度和纯度,1% 琼脂糖凝胶电泳评估样品的完整性。

**1.2.2 pUAS-Hey 重组质粒构建** 取质检合格的 RNA 样品作为模板,按照 cDNA 合成试剂盒的说明书进行逆转录反应合成第 1 链 cDNA。然后以 cDNA 合成反应液作为模板,利用 PCR 技术扩增果蝇 Hey 基因的编码序列,并在两端分别加上 EcoR I 和 Xho I 酶切位点,正向引物:GCC GAATTC ATG GAT CAC AAC ATG;反向引物:TAA CTCGAG TCA ATA GGC CAT CTC,由 GENEWIZ 公司合成。PCR 反应体系(50.00 μL)包括:10×缓冲液(含有 Mg<sup>2+</sup>)5.00 μL,dNTP 混合液(2.50 mmol/L)4.00 μL,正、反向引物(10.00 μmol/L)各 1.00 μL,模板 cDNA(100.00 ng/μL)1.00 μL,DNA 聚合酶(5 U/μL)0.25 μL,灭菌蒸馏水 37.75 μL。PCR 扩增程序为 94 °C 解链 4 min;94 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min 30 s,共 35 个循环;72 °C 延伸 8 min。PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。pUAST 载体和纯化的 PCR 产物分别用 EcoR I 和 Xho I 于 37 °C 酶切 2 h,酶切产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳,然后利用凝胶回收试剂盒分别回收目的片段。回收产物于 20 °C 在 T4 连接酶作用下连接 4 h,连接产物通过热休克法转化 DH5α 感受态细胞,然后涂板培养并进行筛选和扩增。(1)从 LB/Amp 培养板上挑选单菌落接种至 LB/Amp 培养液中,37 °C 振荡培养 2 h,以菌液作为模板进行菌落 PCR 筛选。(2)将阳性菌落培养液转移至锥形瓶中扩大培养,37 °C 振荡过夜,利用质粒纯化试剂盒提取阳性菌落所包含的质粒,然后用 EcoR I 和 Xho I 进行酶切鉴定。经过酶切验证后送至 TaKaRa 公司测序,测序正确后利用质粒 Midi 提取试剂盒抽提,得到高浓度和高纯度的 pUAS-Hey 重组质粒,用于显微注射。

**1.2.3 显微注射与转基因果蝇筛选、平衡和定位** 注射前 1 d 将约 200 只 W1118 果蝇转至卵收集笼,供给涂有酵母的葡萄汁培养板进行适应。第 2 天供给新鲜的葡萄汁培养板,避光环境下于 25 °C 收集胚胎 40 min。室温下用次氯酸钠溶液处理胚胎去除外壳,去离子水充分冲洗,然后于 18 °C 在显微镜下将卵呈线性排列,通过双面胶粘在载玻片上。在胚胎表面涂一层卤烃油 700 保湿,置于倒置显微镜下将显微注射针插入胚胎尾端极细胞部位,注入显微注射液后迅速退出。其中显微注射液的配制为 pUAS-Hey 重组质粒 25.00 μg,Δ2-3 辅助质粒 5.00 μg,注射用缓冲液 50.00 μL。将显微注射后的胚胎置于琼脂培养基上 18 °C 培养,在注射后 36~72 h 挑取已孵化的幼虫转至玉米培养基,于 18 °C 再培养 3~4 d,然后转至 25 °C 培养 5 d,这段时间及时挑出羽化的雄蝇和处女蝇,分别与 W1118 品系的处女蝇和雄蝇杂交。杂交后置于 25 °C 培养,约 10 d 后观察其子代。mini-white 标记基因的表达可使野生型 W1118 果蝇的复眼由白色变为红色,因此通过观察子代复眼是否变红,即可明确目的基因有没有整合入基因组且处于可表达的区域。筛选出的 UAS-Hey 转基因红眼果蝇分别与 B1/CyO、TM2/TM6B 双平衡品系杂交,进行定位和平衡,从而获得稳定遗传的转基因品系,见图 1。

**1.2.4 转基因果蝇的 PCR 验证** 分别提取转基因果蝇和野生型 W1118 果蝇的基因组 DNA 作为模板,选择 pUAST 载体通用引物进行 PCR 扩增,正向引物:5'-GCT TCG TCT ACG GAG CGA CAA TTC AAT TCA AAC-3',反向引物:5'-GCA GTA GCC TCA TCA TCA CTA GAT GGC ATT TCT TC-3',由 GENEWIZ 公司合成。PCR 反应体系包括(50.00 μL):

10×缓冲液(含有 Mg<sup>2+</sup>)5.00 μL,dNTP 混合液(2.50 mmol/L)4.00 μL,正、反向引物(10.00 μmol/L)各 1.00 μL,模板 DNA(150.00 ng/μL)1.00 μL,DNA 聚合酶(5 U/μL)0.25 μL,灭菌蒸馏水 37.75 μL。PCR 扩增程序为 94 °C 解链 4 min;94 °C 变性 30 s,60 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 2 min,共 35 个循环;72 °C 延伸 8 min。PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

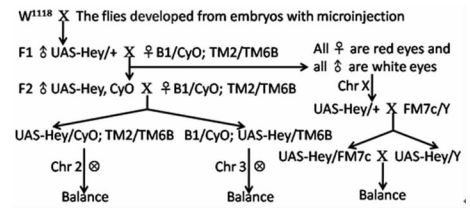


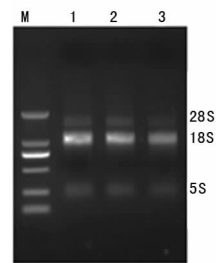
图 1 UAS-Hey 转基因果蝇的平衡和定位

**1.2.5 Western blot 检测 Hey 蛋白表达水平** 将构建好的 UAS-Hey 转基因果蝇与 elav-GAL4 果蝇品系杂交,使 Hey 基因靶向表达于神经系统。分别选取 UAS-Hey 果蝇品系、elav-GAL4/UAS-Hey 果蝇品系的成虫,将其脑组织切下后立即加入组织裂解液匀浆,冰上孵育 20 min,14 000×g 离心 10 min,收集上清液蛋白样品。采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定其浓度,与蛋白上样缓冲液混合后 100 °C 变性 5 min,上样进行蛋白电泳。电泳结束后将蛋白转移至 NCM,5% 脱脂奶粉 37 °C 封闭 2 h。然后加入抗 Hey 抗体(1:1 000)或抗 β-Tubulin 抗体(1:2 000),4 °C 孵育过夜,HRP 标记羊抗兔 IgG(1:1 000),37 °C 孵育 1 h,DAB 显色后采用凝胶成像系统进行图像采集和灰度分析,生物学重复 3 次。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 总 RNA 样品质量检测结果** 提取的 RNA 质量直接影响后续的实验结果,因此对总 RNA 样品首先进行纯度和完整性的检测。本次实验所提取的 3 个总 RNA 样品的浓度分别为 258.04、238.15、215.88 ng/μL;OD<sub>260/280</sub> 分别为 2.03、1.98、2.02,纯度符合标准;琼脂糖凝胶电泳结果如图 2 所示,18S 条带宽而亮,无拖尾和弥散等情况,表明总 RNA 样品是完整的,也不存在基因组和盐成分等污染。另外,Agilent 生物分析仪检测电泳图的基线均平整。因此,所提取的 3 个总 RNA 样品均可用于后续的逆转录 PCR 扩增。

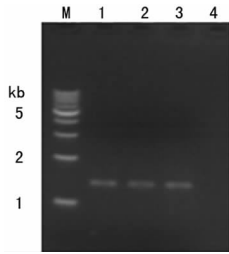


M: 分子量 Marker;1~3: 总 RNA 样品

图 2 总 RNA 样品的琼脂糖凝胶电泳

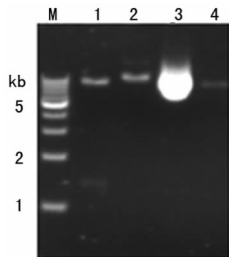
**2.2 pUAS-Hey 重组质粒构建结果** 利用逆转录 PCR 技术扩增果蝇 Hey 基因编码序列,并在两端分别添加 EcoR I 和 Xho I 酶切位点,琼脂糖凝胶电泳结果显示,特异性扩增的 PCR 产物大小与理论值 1.296 kb 相符(图 3)。pUAST 载体和 PCR 产物分别用 EcoR I 和 Xho I 双酶切,回收的酶切产物进行连接、转化和涂板培养。提取 PCR 筛选阳性菌落的质粒

DNA 进行酶切分析, EcoR I 和 Xho I 双酶切后得到 1.296 kb 的目的片段(图 4)。并对阳性质粒进一步测序鉴定, 测序结果与数据库比对未发现点突变和移码突变, 所构建的 pUAS-Hey 重组质粒与理论相符。



M: 相对分子质量 Marker; 1~3: 逆转录 PCR 扩增产物; 4: 无模板阴性对照

图 3 逆转录 PCR 扩增 Hey 基因编码序列

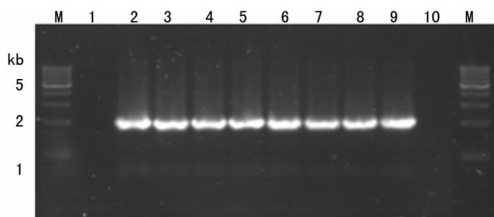


M: 相对分子质量 Marker; 1: pUAS-Hey 重组质粒 EcoR I 和 Xho I 双酶切; 2: pUAS-Hey 重组质粒 Xho I 单酶切; 3: 未经酶切的 pUAS-Hey 重组质粒; 4: pUAST 质粒 EcoR I 单酶切

图 4 pUAS-Hey 重组质粒的酶切鉴定

**2.3 显微注射和转基因果蝇平衡与定位** 本实验显微注射了约 1 000 枚 W1118 果蝇胚胎, 约 10% 孵化成幼虫, 最终有 60 只发育至成虫。这些成虫分别与 W1118 品系杂交, 根据复眼是否变红, 在它们的子代中筛选出 7 个转基因红眼品系。分别与双平衡系杂交进行平衡与定位, 结果发现 6 个转基因果蝇品系, 其 P[mini-white, UAS-Hey] 整合入第 3 号染色体, 另 1 个果蝇品系插入到第 2 号染色体, 纯化后建立稳定遗传的品系。

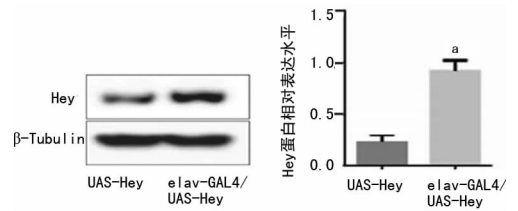
**2.4 转基因果蝇的 PCR 分析结果** 分别以 W1118 果蝇品系和转基因果蝇品系的基因组 DNA, 以及 pUAS-Hey 重组质粒为模板进行 PCR 扩增检测。以 W1118 品系的 DNA 为模板未扩增出产物, 以转基因果蝇的基因组和 pUAS-Hey 重组质粒为模板均扩增出 1.885 kb 的目的片段(图 5)。进一步测序发现该 PCR 产物包含了 Hey 基因的编码序列, 且未发现点突变和移码突变。



M: 相对分子质量 Marker; 1: W1118 野生型果蝇; 2: pUAS-Hey 重组质粒; 3~9: 转基因果蝇; 10: 无模板阴性对照

图 5 UAS-Hey 转基因果蝇品系的 PCR 分析

**2.5 Hey 蛋白在果蝇脑组织的表达水平** 分别提取 UAS-Hey 果蝇品系、elav-GAL4/UAS-Hey 果蝇品系成虫脑组织总蛋白, 通过 Western blot 检测 Hey 蛋白的表达水平, 与 UAS-Hey 果蝇相比, elav-GAL4/UAS-Hey 果蝇成虫脑组织中的 Hey 蛋白表达明显上调( $P < 0.05$ ), 见图 6。



$n: P < 0.05$ , 与 UAS-Hey 比较

图 6 Hey 蛋白在成虫脑组织的表达水平

### 3 讨论

GAL4/UAS 系统最早是在果蝇中建立的, GAL4 基因与融合有 UAS 的靶基因分别位于不同的果蝇品系中, 即 GAL4 表达品系和 UAS-靶基因品系。当这两个品系杂交使二者处于子代的同一基因组时, GAL4 蛋白才能特异结合 UAS, 促进其下游靶基因过表达。GAL4/UAS 系统可用于基因过量表达、RNA 干扰筛选、基因表达模式描绘、遗传突变挽救等, 广泛应用于神经系统、心血管系统、视网膜和肌肉等组织的发育研究<sup>[8-10]</sup>。目前 GAL4/UAS 系统已应用到了多个生物类型, 包括小鼠、斑马鱼、拟南芥等, 被证明是高效的基因功能研究技术, 对基因功能注释发挥着重要作用<sup>[11-12]</sup>。

果蝇 Hey 基因是基于小鼠 Hey1 基因的序列, 通过检索表达序列标签(EST)数据库而鉴定出来。序列分析发现 Hey 具有 bHLH 结构域和 Orange 结构域, 因此将 Hey 归类于 bHLH 超家族中的 Hes/Hey 亚家族。哺乳动物的 Hey 基因表达组织广泛, 通常接受 Notch 通路的转导信息, 作为转录抑制物结合在靶基因的启动子区抑制其转录活性, 参与心脏发育、血管发生与重建、神经发生等过程<sup>[1,3,13]</sup>。原位杂交实验发现果蝇 Hey 基因的 mRNA 主要表达于中枢神经系统的脑和腹神经索; 免疫染色表明 Hey 蛋白主要定位于有丝分裂后的新生神经元和神经胶质细胞, 初步的功能分析发现果蝇 Hey 作为 Notch 信号的靶基因参与神经节母细胞的不对称细胞分裂, 具体分子机制有待进一步阐明<sup>[7]</sup>。本实验结果表明, 成功构建了 pUAS-Hey 重组质粒, 与  $\Delta 2-3$  辅助质粒共同显微注射至野生型果蝇的胚胎, 然后通过 mini-white 标记筛选出了 UAS-Hey 转基因红眼果蝇, 并分别进行平衡与定位。pUAST 载体包含 5 个串联的 UAS 序列, 能够高效结合 GAL4 转录激活因子, 其后依次为 hsp70 启动子, 多克隆位点, SV40 小 T 抗原内含子和 SV40 多聚腺苷酸加尾信号。这些特征序列被引入 P 因子, 仅包含了 P 因子的 3' 末端和 5' 末端, 因此不能编码转座酶, 但是两端含有转座酶结合位点。 $\Delta 2-3$  辅助质粒是改造的缺陷型果蝇 P 因子, 能够编码转座酶, 但是自身不能移动。在  $\Delta 2-3$  辅助质粒作用下, pUAS-Hey 重组质粒中的 P[mini-white, UAS-Hey] 可以发生转座, 并插入果蝇的基因组中。PCR 扩增分析证实了 P[mini-white, UAS-Hey] 已整合入 7 个独立转基因品系的基因组, 且处于可表达的区域, 从而使果蝇的复眼表现为红色。另外, 本课题组将构建好的 UAS-Hey 转基因品系与 GAL4 品系杂交, 发现转基因品系在 GAL4 蛋白作用下能够促使 Hey 基因过表达, 并且出现了异位刚毛感觉器官等异常表型, 表明 Hey 的过量表达干扰了神经系统的正常发育, 本课题组将继续探索该表型的具体机制。

综上所述, UAS-Hey 转基因果蝇品系的成功构建为应用 GAL4/UAS 系统过量表达 Hey 基因, 进一步研究 Hey 基因在发育过程中的功能及调控机制奠定了基础, 也对哺乳动物 Hey 基因的相关研究提供参考和借鉴。

### 参考文献

[1] WEBER D, WIESE C, GESSLER M. Chapter(下转第 659 页)

(1)要认识到患者感知医疗服务质量的重要性,真正做到以患者为中心,着力解决患者就医过程中最关心、最直接的问题,努力做到让患者方便、有效就医,改善看病就医的感受;(2)采取综合措施提高患者感知医疗服务质量水平,充分利用对满意度和行为意向的影响作用,提高患者的满意度和后续行为意向和忠诚度,从而提升医院的核心竞争力。

#### 参考文献

- [1] 吴亚薇,于丽玲.某三甲医院医疗服务质量患者感知要素调查[J].中国医院管理,2013,33(12):15-17.
- [2] 陈学涛.患者忠诚意向模型的理论及实证研究[D].重庆:第三军医大学,2009.
- [3] 谭光明,叶宁,罗先琼,等.服务质量模型在医院的实践研究[J].中国卫生事业管理,2014,31(10):743-745.
- [4] CHANG C S, CHEN S Y, LAN Y Y. Service quality, trust, and patient satisfaction in interpersonal-based medical service encounters[J]. BMC Health Serv Res, 2013, 13(1):1-11.
- [5] 吴明隆.结构方程模型:AMOS的操作与应用[M].重庆:重庆大学出版社,2009:37-71.
- [6] 温忠麟,刘红云,侯杰泰.调节效应和中介效应分析[M].北京:教育科学出版社,2012:70-76.
- [7] 李茂能.图解 AMOS 在学术研究中的应用[M].重庆:重庆大学出版社,2011:186-188.

- [8] KAZEMI N, EHSANI P, ABDI F, et al. Measuring hospital service quality and its influence on patient satisfaction: an empirical study using structural equation modeling[J]. Manag Sci Lett, 2013, 3(7):2125-2136.
- [9] ZAREI E, DANESHKOHAN A, POURAGHA B, et al. An empirical study of the impact of service quality on patient satisfaction in private hospitals, Iran[J]. Global J Health Sci, 2014, 7(1):1-9.
- [10] 张洁,陈彤斌,倪平.住院服务质量对患者满意度、忠诚度的影响研究[J].中国卫生统计,2016,33(4):684-686.
- [11] 谭华伟,陈菲,张培林,等.服务质量及其对患者满意度的影响——基于重庆市 20 家民营医院的调查[J].中国卫生事业管理,2015,32(12):896-898,948.
- [12] DEBATA B R, PATNAIK B, MAHAPATRA S S, et al. Interrelations of service quality and service loyalty dimensions in medical tourism[J]. Benchmarking, 2015, 22(1):18-55.
- [13] 谢琴红,赖佳,何静,等.患者后续行为意向及其与信任度的关系[J].医学与哲学,2015,36(10):91-93.
- [14] 董恩宏,鲍勇,彭梅.患者质量感知中介医疗服务质量影响患者行为的作用[J].中国医院管理,2016,36(4):29-31.

(收稿日期:2017-07-15 修回日期:2017-09-24)

(上接第 656 页)

- eight-Hey bHLH transcription factors[J]. Curr Top Dev Biol, 2014(110):285-315.
- [2] WEBER D, HEISIG J, KNEITZ S, et al. Mechanisms of epigenetic and cell-type specific regulation of Hey target genes in ES cells and cardiomyocytes[J]. J Mol Cell Cardiol, 2015, 79(1):79-88.
- [3] 颜君,郭安源,贾海波,等.HEY 转录因子的研究进展[J].现代生物医学进展,2013,13(4):763-768.
- [4] HULLEMAN E, QUARTO M, VERNELL R, et al. A role for the transcription factor HEY1 in glioblastoma[J]. J Cell Mol Med, 2009, 13(1):136-146.
- [5] KOKUBO H, MIYAGAWA -TOMITA S, NAKAZAWA M, et al. Mouse hesr1 and hesr2 genes are redundantly required to mediate Notch signaling in the developing cardiovascular system[J]. Dev Biol, 2005, 278(2):301-309.
- [6] KOKUBO H, LUN Y, JOHNSON R L. Identification and expression of a novel family of bHLH cDNAs related to Drosophila hairy and enhancer of split[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 260(2):459-465.
- [7] MONASTIRIOTI M, GIAGTZOGLU N, KOUMBANAKIS K A, et al. Drosophila hey is a target of notch in asymmetric divisions during embryonic and larval neurogenesis[J]. Development, 2010, 137(2):191-201.

- [8] ORFANOS Z. Transgenic tools for Drosophila muscle research[J]. J Muscle Res Cell Motil, 2008, 29(6/8):185-188.
- [9] JONES W D. The expanding reach of the GAL4/UAS system into the behavioral neurobiology of Drosophila [J]. BMB Rep, 2009, 42(11):705-712.
- [10] SUN M K, ZENG X K, XIE W. Temporal and spatial expression of Drosophila Neurexin during the Life cycle visualized using a DNRX-Gal4/UAS-reporter[J]. Sci China Life Sci, 2016, 59(1):68-77.
- [11] WAKI T, MIYASHIMA S, NAKANISHI M, et al. A GAL4-based targeted activation tagging system in Arabidopsis thaliana[J]. Plant J, 2013, 73(3):357-367.
- [12] KAWAKAMI K, ASAKAWA K, HIBI M, et al. Gal4 driver transgenic zebrafish: powerful tools to study developmental biology, organogenesis, and neuroscience [J]. Adv Genet, 2016, 95(1):65-87.
- [13] FISCHER A, GESSLER M. Delta-Notch——and then? protein interactions and proposed modes of repression by hes and hey bHLH factors[J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35(14):4583-4596.

(收稿日期:2017-06-18 修回日期:2017-10-11)