



# 基因打靶技术在现代生物学研究中的应用

杨 晓

(蛋白质组学国家重点实验室,军事医学科学院生物工程研究所发育和疾病遗传学研究室,北京 100071)

【中图分类号】R332 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2011)10、11-0030-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.10、11.008

尽管基因打靶技术的先驱者2007年才获得诺贝尔生物学或医学奖,基因打靶技术在现代生物学研究中的应用却已经有25年的时间。基因打靶技术的发明和应用革命性地改变了现代生物医学研究的面貌,催生了许多生物医学和药物研发领域的前沿研究,并直接导致了生物医学研究领域中的许多突破性进展。基因打靶技术的发明使得科学家第一次能对关于特定基因生理功能的假设进行实验验证,并通过基因打靶研究真正建立基因和疾病间的因果关系。近年来,基因打靶技术在现代生物学研究中的应用日益深入和广泛。本文将简要介绍相关领域的部分新进展,以及我们实验室在利用基因打靶技术研究转化生长因子- $\beta$ 信号通路维持组织稳态和抑制疾病发生的生理功能和机制方面的新发现。

## 1 基因打靶技术在基因组功能研究中的应用

在过去的二十年中,基因打靶技术已经帮助研究者揭示了大约5000种哺乳动物基因的生理功能<sup>[1]</sup>。这些研究极大地促进了人类对哺乳动物发育和稳态维持过程中生理和病理现象及其调控机制的认识。从来没有一种技术像基因打靶技术这样全面而深刻地影响了几乎所有生物学和医学研究领域的进展。仅以近两年为例,通过对组织特异性表达活化型RAS突变体转基因小鼠以及多种基因敲除小鼠的分析,Tang等研究者发现RAS调节的ERK1/2通路通过控制有丝分裂纺锤体角度决定肺管的形状<sup>[2]</sup>。Fujiwara等人通过对nephronectin基因敲除小鼠的研究,发现毛囊膨隆处的干细胞通过表达nephronectin创造平滑肌细胞的niche,并行使

立毛肌肌腱细胞的功能<sup>[3]</sup>。多个课题组通过对Pdgfrb基因敲除小鼠的研究,发现了周细胞维持血脑屏障的重要生理功能<sup>[4,5]</sup>。Goetz等人通过对caveolin-1基因敲除小鼠的研究,发现基质细胞中的caveolin-1通过调节微环境生物应力重塑促进肿瘤侵袭和转移<sup>[6]</sup>。

近年来,基因敲除技术开始揭示细胞内一种重要的非编码RNA-miRNA在哺乳动物发育和稳态维持过程中的生理功能。miRNA是一种大小约为21~23个碱基的单链小分子RNA,由具有发夹结构的约70~90个碱基大小的单链RNA前体经过Dicer酶加工后生成<sup>[7]</sup>。这些非编码小分子RNA与靶基因mRNA分子的3'端非编码区域(3'UTR)或者编码区互补配对后,主要通过降低mRNA分子稳定性和翻译抑制两种方式参与靶基因表达调控<sup>[8,9]</sup>。miRNA基因敲除小鼠的研究结果显示,miRNA能够决定特定发育过程的转换,但更多的时候对特定发育过程或者细胞功能起到精细调节的作用<sup>[10,11]</sup>。相当数量的miRNA基因敲除小鼠没有易观察的表型,或者仅在应激或者损伤时表现出与野生型不同<sup>[12-14]</sup>。可以预期,未来更多miRNA或者其他非编码RNA基因打靶小鼠的研制和分析将有助于解析非编码RNA的作用模式及其生理功能。

为了高效而迅速地解析全基因组编码基因的生理功能,研究者一直致力于全基因组诱变策略的探索。用于小鼠全基因组诱变的策略和技术方法包括ENU化学诱变、转座子诱变和基因诱捕。利用基因诱捕构建的随机插入诱变的胚胎干细胞,大约覆盖基因组中一半的编码基因。然而,基因诱捕等位基因无法被精确设计,且在胚胎干细胞中表达的

基因更容易中靶。

近年来,条件基因打靶技术因为能够对基因打靶进行时间和空间上的精确调控,迅速取代了传统的完全基因敲除技术,成为在生物整体水平上进行基因和基因组功能研究的主流。为了克服基因诱捕技术的缺陷,研究者建立了高通量的条件基因打靶策略,构建全基因组范围内所有编码基因的报告基因标记的条件基因打靶等位基因。迄今为止,已经构建了 12000 打靶载体,筛选到 9000 种条件中靶 C57BL/6N 胚胎干细胞<sup>[1]</sup>。通过囊胚注射检测了数百种中靶胚胎干细胞整合到生殖系的能力,结果显示 65% 的中靶胚胎干细胞可以整合到嵌合体小鼠的生殖系<sup>[15]</sup>。这种高通量的条件基因敲除小鼠资源库的构建为研究者在动物整体水平上解析基因功能提供了便利,也为高通量大规模表型分析提供了可能性。

## 2 基因打靶技术在人类疾病模型研究中的应用

遗传修饰小鼠疾病模型的应用极大地推动了转化医学研究进展。通过基因打靶技术研制的人类疾病小鼠模型保守估计也有数百种。通过对人类疾病小鼠模型的表型研究,可以揭示疾病发生的病理学和分子机制;可以快速解析各种编码基因以及非编码基因在疾病病理过程中的作用及其机制,为相关疾病的预防、诊断和治疗提供分子靶标。同时,人类疾病小鼠模型也可以作为药物筛选与评价的强有力的工具。例如,最近研究者通过对 p63 基因敲除小鼠的研究,发现食管癌的癌前病变 Barrett 食管起源于一种独特的胚胎上皮细胞。这种上皮细胞位于鳞状上皮和柱状上皮的交界处,鳞状上皮的损伤将诱发这种上皮细胞向相邻的特化的鳞状细胞迁移,并发展为 Barrett 食管。这一发现为理解食管癌的发生提供了全新的病理机制<sup>[16]</sup>。利用人类疾病小鼠模型结合高通量筛选技术发现了很多疾病的诊断标志分子。研究者利用 PTEN 基因敲除导致前列腺癌的小鼠模型高通量筛选差异分子,发现 TGF $\beta$ /BMP-SMAD4 信号通路激活。进一步敲除 Smad4 导致前列腺癌侵袭和转移。深入研究结果发现 cyclin D1, SPP1, PTEN 和 SMAD4 可以作为前列腺癌发生和致命转移的诊断标志分子<sup>[17]</sup>。研究者最近还报道了利用小鼠模型成功地筛选到可用于阿尔茨海默病诊断的候选 IgG 生物标志分子<sup>[18]</sup>。利用一种遗传修饰的急性髓性白血病小鼠模型,研

究者从 shRNAs 文库中筛选到并确定 Brd4 (bromodomain-containing 4) 可作为有效治疗白血病的靶分子。抑制 Brd4 表达促进髓系终末分化并消除白血病干细胞<sup>[19]</sup>。这一研究又一次确证了人类疾病小鼠模型在药物筛选中的价值。利用一种血友病 B 小鼠模型,研究者证实锌指核酶能够在小鼠肝脏中介导特异位点的基因置换,有效改善疾病症状<sup>[20]</sup>。该研究显示有可能通过基因组编辑治疗遗传病,这为血友病以及其他遗传病的治疗提供了一种全新的可能性。研究者利用 *Pdx1* 基因敲除导致胰腺发育不全的小鼠,在其囊胚中注射大鼠多能干细胞,成功地在嵌合体小鼠体内发育成了正常行使功能的大鼠胰腺<sup>[21]</sup>。这一研究证实可以通过种间囊胚补偿在异种生理环境下获得供体多能干细胞来源的组织器官,为干细胞治疗提供了激动人心的新机会。

基因打靶在除小鼠之外的模式生物中也陆续获得成功,为研制更理想的人类疾病动物模型提供了新的机会。长期以来,因为缺乏能进种系的大鼠胚胎干细胞,利用同源重组技术对大鼠的基因组进行修饰一直没有获得成功。直到最近,研究者才报道了肿瘤抑制基因 p53 基因敲除大鼠的研制和鉴定<sup>[22]</sup>。结合大鼠在生理学和药理学研究方面的优势,基因敲除大鼠将为人类深刻理解疾病发生的病理和分子机制提供新的平台。

## 3 TGF- $\beta$ 信号通路维持组织稳态的生理功能和机制

我们实验室近年来一直研究 TGF- $\beta$ /Smad4 信号通路维持组织稳态抑制疾病的生理功能和机制。首先,我们建立了基于 Cre-LoxP 系统的小鼠条件基因打靶技术平台,自主研制了 13 种组织特异性表达 Cre 重组酶的转基因小鼠<sup>[23-47]</sup>,包括在国际上首先报道的脑血管内皮细胞<sup>[23,24]</sup>、肥大型软骨细胞<sup>[25]</sup>和胃顶细胞<sup>[26]</sup>特异性表达 Cre 重组酶的转基因小鼠,以及在国内首先研制的血管内皮细胞<sup>[28,29]</sup>、平滑肌细胞<sup>[29,30]</sup>、心肌细胞<sup>[31,32]</sup>、肺上皮细胞<sup>[23]</sup>、胃上皮壁细胞<sup>[33]</sup>、角质细胞<sup>[34-37]</sup>、胰腺细胞<sup>[38]</sup>、肝细胞<sup>[39]</sup>、成骨细胞和成牙本质细胞<sup>[40-43]</sup>、早期成骨细胞<sup>[44]</sup>、软骨细胞<sup>[45-47]</sup>表达 Cre 重组酶的转基因小鼠。利用组织特异性条件基因敲除技术,发现了 Smad4 通过调节组织干细胞动员和自我更新、细胞增殖和分化、细胞-细胞间相互作用,抑制皮肤癌、食

管癌、骨质疏松、心肌肥厚、颅内出血等疾病的重要生理功能和机制<sup>[23-47]</sup>。

最近,我们报道了世界上首例脑血管内皮细胞特异性条件基因敲除小鼠的研制和分析<sup>[24]</sup>。通过对脑血管内皮细胞 Smad4 基因敲除导致颅内出血小鼠模型的表型分析,阐明了脑血管内皮-周细胞相互作用维持血脑屏障和脑血管稳态的重要生理功能及其调控机制,为理解新生儿颅内出血和成人脑中风的发生机制提供了全新的理论基础和实验模型。此前的研究虽然揭示了周细胞维持血脑屏障和微血管稳定性的生理功能,然而,人们对内皮细胞-周细胞相互作用的遗传调控机制仍然知之甚少。我们的研究显示,脑血管内皮细胞 Smad4 缺失的小鼠因颅内出血死于围产期。该小鼠脑血管的通透性显著增强,其血脑屏障功能下降。脑血管内皮细胞增殖能力显著增加,其特化和分化正常,但与周细胞不能紧密接触,造成血管扩张和血管瘤的形成。体外的共培养实验证实内皮细胞的 Smad4 信号缺失导致内皮细胞-周细胞的相互作用缺陷。进一步的机制研究发现,Smad4 通过与 Notch 的胞内段共同结合在 N-cadherin 启动子的 RBP-J 结合位点发挥对 N-cadherin 的转录调节作用,进而稳定脑血管内皮细胞-周细胞的相互作用并维持脑血管的完整性。

我们的工作还揭示了受 TGF- $\beta$  信号调节的非编码小 RNA 调节成肌分化和心脏稳态的功能和机制,为理解 TGF- $\beta$  信号维持组织稳态的生理功能提供了新的表观遗传机制<sup>[48,49]</sup>。我们利用心肌细胞特异性 Smad4 基因敲除导致心肌肥厚小鼠的心脏及其对照小鼠的心脏通过 miRNA 芯片杂交进行差异 miRNA 筛选,发现 miR-24、miR-27b 等 miRNA 在心肌肥厚小鼠心脏组织中表达显著上调。进一步的研究发现 miR-24 在成肌分化过程中显著上调并能被 TGF- $\beta$ 1 所抑制,并证明了 miR-24 在调节 TGF- $\beta$ 1 依赖的成肌分化抑制作用中的关键功能<sup>[48]</sup>。体外体内的研究结果都证明 miR-27b 过表达导致心肌肥厚。体外实验显示 miR-27b 的表达能被 TGF- $\beta$ 1。miR-27b 过表达导致心肌细胞肥大性生长,而降低 miR-27b 表达可以显著抑制由苯肾上腺素(PE)或者 miR-27b 过表达导致的心肌细胞肥大性生长。进一步动物整体水平的研究结果表明,心肌细胞特异性表达 miR-27b 足以诱发转基因小鼠发生心脏肥大和功能失调。分子机制上,发现 miR-27b 直接靶向

过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )从而促进心肌肥大。特别有意义的是,在一种压力负荷导致心肌肥厚的小鼠模型中用 antagomir 阻断 miR-27b 的表达可以显著上调 PPAR- $\beta$  的表达,减轻心脏肥大和功能失调。这些结果证明了受 TGF- $\beta$  信号通路调节的 miR-27b 在心肌肥厚中的作用,并提示 miR-27b 可作为心脏肥大治疗的有效靶标<sup>[49]</sup>。

这些在动物整体水平上开展的系统研究,证明了 TGF- $\beta$ /Smad4 重要信号通路失调导致组织稳态失衡及其与疾病发生间的因果联系,为理解多种重要疾病的发生机制奠定了新的理论基础。

#### 参考文献:

- [1] Skarnes WC, Rosen B, West AP, Koutourakis M, Bushell W, Iyer V, Mujica AO, Thomas M, Harrow J, Cox T, Jackson D, Severin J, Biggs P, Fu J, Nefedov M, de Jong PJ, Stewart AF, Bradley A: A conditional knockout resource for the genome-wide study of mouse gene function [J]. *Nature*, 2011, 474(7351): 337-342.
- [2] Tang N, Marshall WF, McMahon M, Metzger RJ, Martin GR: Science: Control of mitotic spindle angle by the RAS-regulated ERK1/2 pathway determines lung tube shape [J]. *Nature*, 2011, 474(7351): 342-345.
- [3] Fujiwara H, Ferreira M, Donati G, Marciano DK, Linton JM, Sato Y, Hartner A, Sekiguchi K, Reichardt LF, Watt FM: The basement membrane of hair follicle stem cells is a muscle cell niche [J]. *Cell*, 2011, 144(4): 577-589.
- [4] Armulik A, Genové G, Mäe M, Nisancioglu MH, Wallgard E, Niaudet C, He L, Norlin J, Lindblom P, Strittmatter K, Johansson BR, Betsholtz C: Pericytes regulate the blood-brain barrier [J]. *Nature*, 2010, 468(7323): 557-561.
- [5] Daneman R, Zhou L, Kebede AA, Barres BA: Pericytes are required for blood-brain barrier integrity during embryogenesis [J]. *Nature*, 2010, 468(7323): 562-566.
- [6] Goetz JG, Minguet S, Navarro-Lérida I, Lázcano JJ, Samaniego R, Calvo E, Tello M, Osteso-Ibáñez T, Pellinen T, Echarri A, Cerezo A, Klein-Szanto AJ, Garcia R, Keely PJ, Sánchez-Mateos P, Cukierman E, Del Pozo MA: Biomechanical remodeling of the microenvironment by stromal caveolin-1 favors tumor invasion and metastasis [J]. *Cell*, 2011, 146(1): 148-163.
- [7] Carthew RW, Sontheimer EJ: Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs [J]. *Cell*, 2009, 136: 642-655.
- [8] Bushati N and Cohen SM: microRNA functions [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23: 175-205.
- [9] Elcheva I, Goswami S, Noubissi FK and Spiegelman VS: CRD-BP Protects the Coding Region of bTrCP1 mRNA from miR-483-Mediated Degradation [J]. *Molecular Cell*, 2009, 35: 240-246.

- [10] van Rooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J and Olson EN: Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA[J]. *Science*, 2007, 316: 575 – 579.
- [11] Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, van Dongen S, Grocock RJ, Das PP, Miska EA et al: Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function[J]. *Science*, 2007, 316: 608 – 611.
- [12] Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, Qi X, Richardson JA, Bassel-Duby R and Olson EN: microRNA-433a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart[J]. *Genes Dev*, 2008, 22: 3242 – 3254.
- [13] Williams AH, Valdez G, Moresi V, Qi X, McAnally J, Elliott JL, Bassel-Duby R, Sanes JR and Olson EN: MicroRNA-206 delays ALS progression and promotes regeneration of neuromuscular synapses in mice[J]. *Science*, 2009, 326: 1549 – 1554.
- [14] Jin ZB, Hirokawa G, Gui L, Takahashi R, Osakada F, Hiura Y, Takahashi M, Yasuhara O and Iwai N: Targeted deletion of miR-182, an abundant retinal microRNA[J]. *Mol Vis*, 2009, 15: 523 – 533.
- [15] Prosser HM, Koike-Yusa H, Cooper JD, Law FC, Bradley A: A resource of vectors and ES cells for targeted deletion of microRNAs in mice[J]. *Nat Biotechnol*, 2011, Epub ahead of print.
- [16] Wang X, Ouyang H, Yamamoto Y, Kumar PA, Wei TS, Dagher R, Vincent M, Lu X, Bellizzi AM, Ho KY, Crum CP, Xian W, McKeon F: Residual embryonic cells as precursors of a Barrett's-like metaplasia[J]. *Cell*, 2011, 145(7): 1023 – 1035.
- [17] Ding Z, Wu CJ, Chu GC, Xiao Y, Ho D, Zhang J, Perry SR, Labrot ES, Wu X, Lis R, Hoshida Y, Hiller D, Hu B, Jiang S, Zheng H, Stegh AH, Scott KL, Signoretti S, Bardeesy N, Wang YA, Hill DE, Golub TR, Stampfer MJ, Wong WH, Loda M, Mucci L, Chin L, DePinho RA: SMAD4-dependent barrier constrains prostate cancer growth and metastatic progression. *Nature*, 2011, 470(7333): 269 – 273.
- [18] Reddy MM, Wilson R, Wilson J, Connell S, Gocke A, Hynan L, German D, Kodadek T: Identification of candidate IgG biomarkers for Alzheimer's disease via combinatorial library screening[J]. *Cell*, 2011, 144(1): 132 – 142.
- [19] Zuber J, Shi J, Wang E, Rappaport AR, Herrmann H, Sison EA, Magoon D, Qi J, Blatt K, Wunderlich M, Taylor MJ, Johns C, Chicas A, Mulloy JC, Kogan SC, Brown P, Valent P, Bradner JE, Lowe SW, Vakoc CR: RNAi screen identifies Brd4 as a therapeutic target in acute myeloid leukaemia[J]. *Nature*, 2011, Epub ahead of print.
- [20] Li H, Haurigot V, Doyon Y, Li T, Wong SY, Bhagwat AS, Malani N, Anguela XM, Sharma R, Ivanciu L, Murphy SL, Finn JD, Khazi FR, Zhou S, Paschon DE, Rebar EJ, Bushman FD, Gregory PD, Holmes MC, High KA: In vivo genome editing restores haemostasis in a mouse model of haemophilia [J]. *Nature*, 2011, 475(7355): 217 – 221.
- [21] Tong C, Li P, Wu NL, Yan Y, Ying QL: Production of p53 gene knockout rats by homologous recombination in embryonic stem cells[J]. *Nature*, 2010, 467(7312): 211 – 213.
- [22] Kobayashi T, Yamaguchi T, Hamanaka S, Kato-Itoh M, Yamazaki Y, Iyata M, Sato H, Lee YS, Usui J, Knisely AS, Hirabayashi M and Nakauchi H: Generation of rat pancreas in mouse by interspecific blastocyst injection of pluripotent stem cells[J]. *Cell*, 2010, 142: 787 – 799.
- [23] Meng F, Shi L, Cheng X, Hou N, Wang Y, Teng Y, Meng A, Yang X: Surfactant protein A promoter directs the expression of Cre recombinase in brain microvascular endothelial cells of transgenic mice[J]. *Matrix Biol*, 2007, 26(1): 54 – 57.
- [24] Li F, Lan Y, Wang Y, Wang J, Yang G, Meng F, Han H, Meng A, Wang Y and Yang X: Endothelial Smad4 maintains cerebrovascular integrity by activating N-cadherin through cooperation with Notch[J]. *Dev Cell*, 2011, 15; 20(3): 291 – 302.
- [25] Yang G, Cui F, Hou N, Cheng X, Zhang J, Wang Y, Jiang N, Gao X, Yang X: Transgenic mice that express Cre recombinase in hypertrophic chondrocytes[J]. *Genesis*, 2005, 42(1): 33 – 36.
- [26] Zhao Z, Sun Y, Hou N, Teng Y, Wang Y, Yang X: Capn8 promoter directs the expression of Cre recombinase in gastric pit cells of transgenic mice[J]. *Genesis*, 2009, 47(10): 674 – 679.
- [27] Li WL, Cheng X, Tan XH, Zhang JS, Sun YS, Chen L, Yang X: Endothelial cell – specific expression of Cre recombinase in transgenic mice[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(9): 909 – 915.
- [28] Lan Y, Liu B, Yao H, Li F, Weng T, Yang G, Li W, Cheng X, Mao N, Yang N: Essential role of endothelial Smad4 in vascular remodeling and integrity[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(21): 7683 – 7692.
- [29] 杨蕾蕾, 吴壮, 程萱, 徐军, 杨晓: 平滑肌细胞特异表达 Cre 重组酶转基因小鼠的建立[J]. *军事医学科学院院刊*, 2005, 29(3): 219 – 222.
- [30] Qi X, Yang G, Yang L, Lan Y, Weng T, Wang J, Wu Z, Xu J, Gao X and Yang X: Essential role of Smad4 in maintaining cardiomyocyte proliferation during murine embryonic heart development[J]. *Dev Biol*, 2007, 311(1): 136 – 146.
- [31] 王剑, 张莉, 毛春明, 程萱, 侯宁, 吕娅歆, 杨晓: 心脏组织特异性表达 Cre 重组酶转基因小鼠的建立[J]. *军事医学科学院院刊*, 2005, 29(1): 38 – 40.
- [32] Wang J, Xu N, Feng X, Hou N, Zhang J, Cheng X, Yang Y, and Yang X: Targeted disruption of Smad4 in cardiomyocytes results in cardiac hypertrophy and heart failure[J]. *Circ Res*, 2005, 97(8): 821 – 828.
- [33] Zhao Z, Hou N, Sun Y, Teng Y, Yang X: Atp4b promoter directs the expression of Cre recombinase in gastric parietal cells of transgenic mice[J]. *J Genet Genomics*, 2010, 37(9): 647 – 652.

(下转第 29 页)

景清晰(近交系)、致敏暴露途径适合(经口给予致敏原)、是高免疫球蛋白(尤其是 IgE)应答品系、并且 BN 大鼠过敏血清与人类过敏病人血清识别相似的食物致敏原。

## 6 结语

以上我们从 5 个方面阐述了食品安全和实验动物的关系,最后,我们用一个实例来进一步说明二者的关系。相信大家对 2008 年在我国发生的三聚氰胺事件仍然记忆犹新。让我们来回顾一下我们处理这次食品安全事件的过程。首先我们要对三聚氰胺进行风险评估,通过毒理学的方法对其危害

进行识别和特征描述,确定了三聚氰胺的每日耐受摄入量(TDI)。这个健康指导值的确定是通过一个 90 d 喂养动物实验来推导出来的,而这个动物试验所用的动物是大鼠。至此,大家可以看到食品安全和实验动物联系在一起了。

总之,在可预见的将来,动物试验仍是食品安全风险评估中危害识别和危害特征描述的重要组成部分;当然,将实验动物数减少到大家一致认同的最小量,用最少的实验动物来获取最多的信息是一个必然的趋势。

(修回日期)2011-09-07

(上接第 33 页)

- [34] 毛春明,杨晓,程萱,吕娅歆,周江,黄翠芬:角质细胞特异性表达 Cre 重组酶转基因小鼠的建立[J]. 遗传学报,2003,30(5):407-413。
- [35] Yang L, Wang L, Yang X: Disruption of Smad4 in mouse epidermis leads to depletion of follicle stem cells[J]. Mol Biol Cell, 2009, 20(3): 882-890. [36] Teng Y, Sun AN, Pan XC, Yang G, Yang L, Wang M and Yang X: Synergistic function of Smad4 and PTEN in suppressing forestomach squamous cell carcinoma in the mouse[J]. Cancer Res, 2006, 66(14): 6972-6981.
- [37] Yang L, Mao C, Teng Y, Li W, Zhang J, Cheng X, Li X, Deng H, Yang X: Targeted disruption of Smad4 in mouse epidermis results in failure of hair follicle cycling and formation of skin tumors[J]. Cancer Res, 2005, 65(19): 8671-8678.
- [38] Zhou J, Cheng X, Lu Y, Huang C, Yang X: A transgenic mouse that targets the expression of Cre recombinase in pancreatic tissue[J], Chinese Journal of Biotechnology, 2002, 18(3): 286-290.
- [39] 王友亮,程萱,崔芳,程竞,吕娅歆,杨晓:肝细胞组织特异性表达 Cre 重组酶转基因小鼠的建立[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(3): 163-166。
- [40] 程萱,翁士军,谭晓红,侯宁,王健,林福玉,黄培堂,杨晓:成骨细胞特异性表达 Cre 重组酶转基因小鼠的建立[J]. 遗传, 2007, 29(10): 1237-1242。
- [41] Weng T, Mao F, Wang Y, Sun Q, Li R, Yang G, Zhang X, Luo J, Feng G, Yang X: Osteoblastic molecular scaffold Gab1 is required for maintaining bone homeostasis[J]. J Cell Sci, 2010, 123(5): 682-689.
- [42] Gao Y, Yang G, Weng T, Du J, Wang X, Zhou J, Wang S, Yang X: Disruption of Smad4 in odontoblasts causes multiple keratocystic odontogenic tumors and tooth malformation in mice[J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(21): 5941-5951.
- [43] Tan X, Weng T, Zhang J, Wang J, Li W, Wan H, Lan Y, Cheng X, Hou N, Liu H, Ding J, Lin F, Yang R, Gao X, Chen D, Yang X: Smad4 is required for maintaining normal murine postnatal bone homeostasis[J]. J Cell Sci, 2007, 120(Pt 13): 2162-2170.
- [44] Zha L, Hou N, Wang J, Yang G, Gao Y, Chen L, Yang X: Collagen1alpha1 promoter drives the expression of Cre recombinase in osteoblasts of transgenic mice[J]. J Genet Genomics, 2008, 35(9): 525-530.
- [45] 郝振明,杨晓,程萱,周江,黄翠芬:软骨组织特异性表达 Cre 重组酶转基因小鼠的研制和鉴定[J]. 遗传学报,2002,29(5):424-429。
- [46] Yang G, Sun Q, Teng Y, Li F, Weng T, Yang X: PTEN deficiency causes dyschondroplasia in mice by enhanced hypoxia-inducible factor 1alpha signaling and endoplasmic reticulum stress[J]. Development, 2008, 135(21): 3587-3597.
- [47] Zhang J, Tan X, Li W, Wang Y, Wang J, Cheng X and Yang X: Smad4 is required for the normal organization of the cartilage growth plate[J]. Dev Biol, 2005, 284(2): 311-322.
- [48] Sun Q, Zhang Y, Yang G, Chen X, Zhang Y, Cao G, Wang J, Sun Y, Zhang P, Fan M, Shao N and Yang X: Transforming growth factor-beta regulated miR-24 promotes skeletal muscle differentiation[J], Nucleic Acids Research, 2008, 36(8): 2690-2699.
- [49] Wang J, Song Y, Zhang Y, Xiao H, Sun Q, Hou N, Guo S, Wang Y, Fan K, Zhan D, Zha L, Cao Y, Li Z, Cheng X, Zhang Y and Yang X: Cardiomyocyte overexpression of miR-27b induces cardiac hypertrophy and dysfunction in mice[J], Cell Research, 2011, epub ahead of print.

(修回日期)2011-09-14