

# *kitl* 非编码区突变导致 RNA 剪切异常的小鼠\*

薛整风<sup>1\*\*</sup> 陈兵<sup>1</sup> 茅慧华<sup>1</sup> 吴宝金<sup>2</sup> 李厚达<sup>1</sup>

1. 扬州大学比较医学中心, 江苏 扬州 225009

2. 扬州大学医学院, 江苏 扬州 225001

**摘要** 本文主要采用 RT-PCR 技术从 *kitl*<sup>1-*ba*</sup> 纯合子和正常 C57BL/6 (B6) 小鼠总 RNA 中扩增出 *kitl* 基因片段, 测序后与 GenBank (登录号: NM\_013598) 序列比对, 找到 mRNA 上突变部位。PCR 扩增 *kitl* 基因组 DNA 上对应部位进一步测序验证。结果发现 *kitl*<sup>1-*ba*</sup> 突变纯合子 *kitl* 基因 mRNA 缺少第 8 号外显子。在基因组 DNA 上 *kitl* 基因第 8 号内含子第 2 个碱基由 T 转换为 C, 是引起 mRNA 剪接错误的原因 [动物学报 53 (2): 332-338, 2007]。

**关键词** 乙烷基亚硝基脒 *kitl* 基因 白斑 小鼠

## A mutation in the eighth intron of the *kitl* gene leads to abnormal mRNA splicing in mice\*

XUE Zheng-Feng<sup>1\*\*</sup>, CHEN Bing<sup>1</sup>, MAO Hui-Hua<sup>1</sup>, WU Bao-Jin<sup>2</sup>, LI Hou-Da<sup>1</sup>

1. Comparative Medicine Center of Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

2. School of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225001 Jiangsu, China

**Abstract** In this paper RT-PCR was used to amplify *kitl* gene from the total RNA of *kitl*<sup>1-*ba*</sup> homozygote and normal C57BL/6 mice. Automated sequencing revealed that the exon 8 of *kitl* gene was deleted in homozygous mice and the deletion also caused a frameshift. Direct sequencing of the *kitl* genomic DNA in the homozygous mutants showed a GT to GC change at the splicing donor site of the intron 8. This mutation interfered with normal splicing and caused the skipping of exon 8 in mutant mice [Acta Zoologica Sinica 53 (2): 332-338, 2007].

**Key words** ENU, *kitl* gene, White spot, Mouse

*Kit ligand* (*kitl*) 基因编码 c-kit ligand, 为原癌基因 *c-kit* 编码蛋白的配体, 又被称为干细胞因子 (Stem cell factor, SCF), 是一种非常重要的细胞因子, 它具有广泛的生物学活性 (Flanagan and Leder, 1990)。研究发现, SCF 在造血及维持肥大细胞、黑色素细胞和精原细胞的存活、增殖和分化过程中起着重要作用 (Williams et al., 1992; Broudy, 1997; Mauduit et al., 1999)。小鼠的 SCF 是由第 10 号染色体上 *Steel* 位点编码 (Huang et al., 1990; Copeland et al., 1990), 该基因突变会导致小鼠出现不同程度的巨细胞性贫血、肥大细胞减少、毛色变白和生育能力下降或丧失等症状。在机体内, 由

于编码基因剪接位点不同, 会产生两种基因表达产物, 即 *S-kitl* 和 *MB-kitl*。*S-kitl* 包括外显子 6, 其编码蛋白中含有蛋白水解酶断裂位点, 在翻译后加工时切去形成可溶性 SCF; *MB-kitl* 缺少外显子 6, 形成膜结合型 SCF (Rajaraman et al., 2002)。这两种类型 *Kitl* (*S-kitl*, *MB-kitl*) 在不同组织中表达的比例有所不同, 如在脑组织中为 10/1, 骨髓中为 4/1, 睾丸组织中为 0.4/1 (Huang et al., 1992; Huang et al., 1993)。调控两种 *kitl* 在组织中差异的机理不明。

在先前的研究中, 采用连锁分析法, 以微卫星为连锁标记, 把乙基亚硝基脒 (ENU) 诱变获得的

2006-10-09 收稿, 2006-11-07 接受

\* 国家自然科学基金资助项目 (No.30400266、30670299) [This research was funded by the grants from the National Natural Science Foundation of China (No.30400266, 30670299)]

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

© 2007 动物学报 Acta Zoologica Sinica

*kitl*<sup>1-bao</sup> 白斑突变小鼠的突变基因定位于第 10 号染色体上距着丝粒 56.8 cM 附近 (薛整风等, 2006)。在该区域附近的基因功能逐个分析过程中, *kitl* 基因引起我们浓厚的兴趣。本文对 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子小鼠 *kitl* 基因进行序列分析, 成功鉴定了 *kitl*<sup>1-bao</sup> 突变的分子机理, 现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**1.1.1 实验动物和饲养条件** *kitl*<sup>1-bao</sup> 突变纯合子雄鼠及其背景品系正常 B6 雄鼠。小鼠由扬州大学比较医学中心提供, 实验动物生产许可证为 SCXK (苏) 2002-0009, 使用许可证 SCXK (苏) 2002-0045。动物饲养在屏障环境的动物房内, 江苏协同医药公司饲料并采用<sup>60</sup>Co 照射, 自由采食和饮水, 室内温度控制在 23℃ ± 2℃, 湿度控制在 55% ± 5%, 室内照明采用 12 h:12 h 明暗交替。

**1.1.2 主要试剂及引物** RNAagents<sup>®</sup> Total RNA Isolation System 购自 Promega 公司; SuperScript<sup>™</sup> First-Strand Synthesis System for RT-PCR 购自 Invitrogen 公司; Taq plus I 聚合酶购自上海生工生物工程技术服务有限公司; Elutefast 小量胶回收试剂盒购自上海飞捷 (Fastgene) 生物技术有限工司; Pyrobest<sup>™</sup> DNA Polymerase 购自宝生物工程 (大连) 有限公司; 测序委托上海生工生物工程公司测序部进行。

RT-PCR 引物参照文献 (Rajaraman et al., 2002): 上游引物为 5'-CTATCTGCAGCCGCTGCTGG-3', 下游引物为 5'-CTGTTACCAGCCACTGTGCG-3'。

针对基因组上 *kitl* 突变部位的引物序列设计如下: 上游引物为 5'-GGTGACGGTGGCTCAGTTGC-3', 下游引物为 5'-CCTCCCTACAGATGTTAGAGTCCTG-3'。

### 1.2 方法

**1.2.1 RNA 抽提** 由于 *S-kitl* 和 *MB-kitl* 分别在小鼠脑组织与睾丸组织中表达量较高, 分别抽提正常及突变纯合子雄性小鼠脑组织与睾丸组织总 RNA, 操作方法参照 Total RNA Isolation System (Promega 公司) 说明书进行。

**1.2.2 *kitl* 基因 RT-PCR 扩增** cDNA 第一链的合成参照 Invitrogen 公司 SuperScript<sup>™</sup> First-Strand Synthesis System for RT-PCR 试剂盒说明书。PCR 反应体系为 50 μl, 其中 cDNA 模板 2 μl, 上游引物 0.5 μl (50 pmol/μl), 下游引物 0.5 μl (50 pmol/μl),

10 × Reaction buffer (含 Mg<sup>2+</sup>) 5 μl, dNTP (10 mmol/L) 1 μl, Taq plus I 聚合酶 (5 u/μl) 0.4 μl, 补灭菌超纯水至总体积 50 μl。PCR 反应条件: 94℃ 2 min 变性后 94℃ 30 s、58℃ 30 s、72℃ 1 min, 进行 35 个循环, 最后在 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物回收收集滤液, 送上海生工测序部测序。

**1.2.3 突变序列对应的基因组序列分析** 用 DNASTAR 软件将突变纯合子 *kitl* 序列与数据库中及正常 B6 小鼠的 *kitl* 序列比对, 找到突变部位。然后在基因组上找到相应的突变序列, 针对该序列在其两侧设计引物, 以 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子及正常 B6 小鼠的基因组 DNA 为模板高保真 PCR 扩增, PCR 产物回收后直接测序, 并继续采用软件分析比对, 在基因组 DNA 上找出突变碱基。

**1.2.4 蛋白质变化的预测分析** 将突变 *kitl* 基因 mRNA 序列用 DNASTAR 软件分析, 预测在蛋白水平上可能引起的氨基酸序列变化。

## 2 结果

### 2.1 RT-PCR 扩增 *kitl* 基因

通过 RT-PCR 技术, 从 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子与正常 B6 小鼠的脑组织总 RNA 中扩增出 *kitl* 基因。预期正常小鼠会扩增出 970 bp (*S-kitl*) 与 886 bp (*MB-kitl*) 两条特异性片段。PCR 产物经 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳, 结果见图 1。由于脑组织中 *MB-kitl* 表达较低, 不易标记, 故第 1 泳道采用胚胎期 8 d 左右正常 B6 小鼠扩增出的两个特异片段进行标记。第 2、3 泳道分别为 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子与正常小鼠脑组织总 RNA 的 RT-PCR 扩增产物。从图 1 中可以看出第 2 泳道中在 750 bp - 1 000 bp 间共出现了 3 个片段。

由于 *MB-kitl* 在睾丸组织中表达比例相对较高, 为获得相对多的 *MB-kitl*, 对 *MB-kitl* 分析时, 改用提取正常 B6 与 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子雄鼠睾丸总 RNA 进行 RT-PCR 扩增, 正常与纯合子小鼠都扩增出两条特异片段, 但从图 2 中可以看出扩增的白斑纯合子片段较正常小鼠相应片段要短。

### 2.2 RT-PCR 产物测序结果

分别回收图 1 中第 2 泳道中第 2 条片段及第 3 泳道第 1 条片段 *S-kitl* 后直接测序, 测序结果用 DNASTAR 软件与 GenBank (登录号: NM\_013598) 中的 *S-kitl* 序列进行了比对分析, 结果显示: 正常小鼠 *S-kitl* 序列与 GenBank 相同, 而 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子片段与 GenBank 中 *S-kitl* 序列相比缺少 68 个碱基 (图

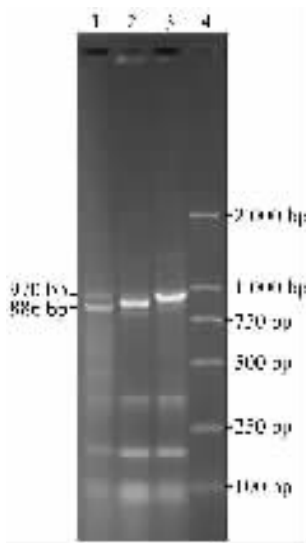


图 1 脑组织中 *kitl* 基因 RT-PCR 扩增结果  
第 1 泳道为胚胎期 8 d 左右正常 B6 小鼠胚胎总 RNA 扩增产物，第 2、3 泳道分别为 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子与正常 B6 小鼠脑组织总 RNA 扩增产物，第 4 泳道为 DL2 000 DNA marker。

**Fig.1 Electrophoresis picture of *kitl* RT-PCR products from brain**

Lane 1: RT-PCR product from a wildtype B6 8-day embryo total RNA. Lanes 2 and 3: RT-PCR products from brains of *Kitl*<sup>1-bao</sup> homozygote and normal B6 mouse respectively. Lane 4: DL2 000 DNA marker.

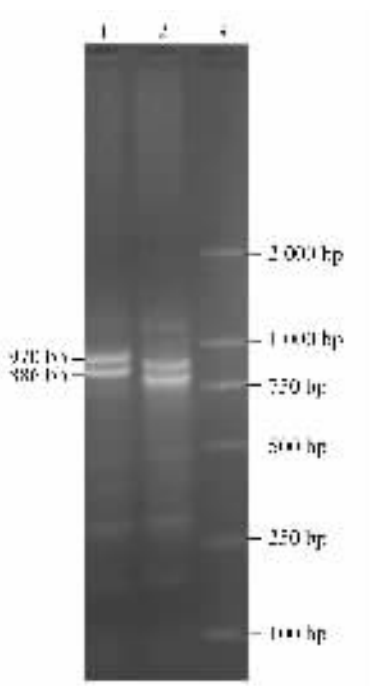


图 2 睾丸组织中 *kitl* 基因 RT-PCR 扩增结果  
第 1 泳道为正常 B6 小鼠睾丸总 RNA 扩增产物，第 2 泳道为纯合子睾丸总 RNA 扩增产物，第 3 泳道为 DL2 000 DNA marker。

**Fig.2 Electrophoresis picture of *Kitl* RT-PCR products from testicle**

Lane 1: RT-PCR product from normal B6 testicle total RNA. Lane 2: RT-PCR product from *Kitl*<sup>1-bao</sup> homozygous mutant testicle total RNA. Lane 3: DL2 000 DNA marker.

3); 进一步分析发现所缺的 68 个碱基正好为 *kitl* 基因的第 8 号外显子所包含的全部序列，从此可以初步判定第 2 泳道中第 3 条片段为 *MB-kitl* 缺失第 8 号外显子后的产物。另外测序结果显示对第 2 泳道片段测序的峰图上的基线较高，说明存在 DNA 污染，分析为正常 *MB-kitl* (886 bp)。其与突变的 *S-kitl* (902 bp) 只相差 16 个碱基，普通琼脂糖电泳较难区分，在回收过程中被少量地带入。

分别回收图 2 中第 1、2 泳道第 2 条片段，测序后与 GenBank 中 *MB-kitl* 比对，发现正常小鼠 *MB-kitl* 序列没有差异，而 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子同样缺少第 8 号外显子。

### 2.3 基因组 DNA 分析

在基因组上以 *kitl* 基因第 8 号外显子为中心，扩增 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子与正常 B6 小鼠的鼠尾 DNA 标本，预测扩增片段长度为 271 bp。经 1.5% 琼脂糖电泳确认扩增结果特异 (图 4)，胶回收后送上海生工测序。正常小鼠测 1 只，白斑纯合子测 2 只。测序比较后发现正常小鼠序列 (B6-N) 与 GenBank (登录号: NC\_000076) 中一致，而 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子小鼠的第 8 号内含子第 2 个碱基由 T 转换为 C (图 5)。

### 2.4 *kitl*<sup>1-bao</sup> 突变碱基引起蛋白水平的变化预测

正常小鼠的 *kitl* 基因共有 9 个外显子，从第七号外显子的最后三个碱基开始到终止密码子编码 *kitl* 蛋白的胞浆区，该区域由 36 个氨基酸组成 (Brannan et al., 1992; Kapur et al., 1999)，用 DNASTAR 软件对缺失后的序列进行氨基酸预测，发现 36 个氨基酸由 28 个新的氨基酸所取代 (除了第 1 个氨基酸赖氨酸，第 9 个氨基酸精氨酸和第 24 个氨基酸丝氨酸氨基酸相同外)。

## 3 讨论

### 3.1 ENU 引起碱基突变的机制

ENU 是一种人工合成的能导致多种生物随机、单碱基突变的化合物。ENU 能不依赖于任何代谢过程而通过烷化反应将其乙烷基转移到 DNA 碱基的氧原子或氮原子上，导致碱基错配或碱基置换 (Balling, 2001)。这种由 ENU 转移来的乙烷基并不直接形成突变，但这种加合了乙烷基的碱基在复制中会被细胞复制系统错误地识别进而导致错配。经过两轮的复制，不能被细胞修复系统有效识别的单碱基突变就形成了。ENU 诱变效率在雄性小鼠减数分裂前的精原干细胞中达到最高。单位点的突变

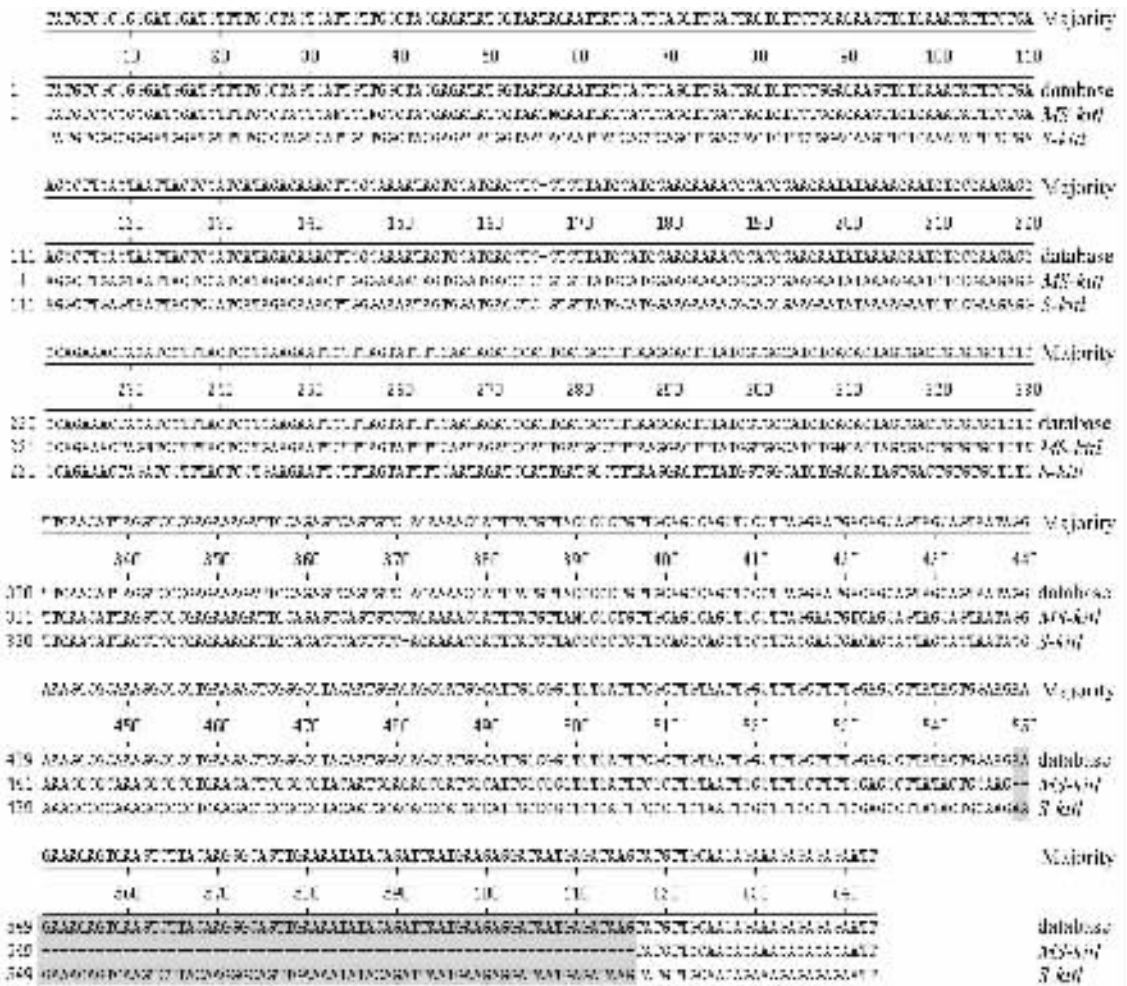


图3 突变 *S-kitl* 测序结果与正常及 GenBank 中 *S-kitl* 比较

阴影部为缺失的 68 个碱基, database 代表 GenBank 中 *S-kitl* 序列, *MS-kitl* 为突变纯合子小鼠的 *S-kitl* 序列, *S-kitl* 为正常 B6 小鼠的 *S-kitl* 序列。

**Fig.3 Alignment of mutant *kitl* sequence with normal B6 mouse and GenBank note**

Shadow region indicates a 68 bp deletion in the *kitl*<sup>1-*baa*</sup> mutant. Database: *S-kitl* sequence of GenBank. *MS-kitl*: mutant *S-kitl* sequence in the *kitl*<sup>1-*baa*</sup> homozygote. *S-kitl*: *S-kitl* sequence of normal B6 mouse.

频率可达  $(6 - 1.5) \times 10^{-3}$ , 相当于对于任何特定的位点筛选 175 - 655 个配子便有可能得到一个携带点突变的配子 (Justice et al., 1999; Woychik et al., 1998; Shedlovsky et al., 1993)。用 ENU 处理的雌性小鼠产生突变的概率比雄性小鼠低得多。对 ENU 诱变产生的 62 个经生殖系统遗传的突变进行的分析表明, ENU 在鼠中主要引起 A /T 到 T/A 的颠换 (44%), A /T 到 G/C 的转换 (38%), G /C 到 C/G 颠换 (3%), A /T 到 C/G 的转换 (5%) 和 G /C 到 T /A 的转换 (2%)。这些突变在蛋白质水平上导致 64% 的错义突变、10% 的无义突变和 26% 的拼接错误 (Justice et al., 1999; 孙岩松、杨晓, 2001)。*kitl*<sup>1-*baa*</sup> 小鼠为基因组上 *kitl* 基因第 8 号内含子第 2 个碱基由 T/A 到 C/G 的转换, 从而引起

mRNA 水平上的拼接错误, 导致第 8 号外显子的缺失, 是 ENU 诱导突变产生的较常见的结果。

**3.2 关于引起 mRNA 水平上的拼接错误的分析**

mRNA 的拼接与内含子的边界顺序有关。通过比较大量的真核生物的内含子, 发现它们的两侧边界均有一对保守序列为 GT-AG 内含子, 即 5'端为 GT, 3'端为 AG, 这类称为 GT-AG 的内含子均以相同方式剪切。但在不同的真核生物中, 内含子的一致顺序有不少变化 (杨金水, 2002)。研究发现也存在着另外一些不同的内含子, 主要的类型是 GC-AG (Thanaraj et al., 2003; 章国卫等, 2004), 但 GC 供体位点要弱于 GT 供体位点。*kitl*<sup>1-*baa*</sup> 纯合子 *kitl* 基因组上第 8 号内含子第 2 个碱基由 T 转换为 C, 这就使内含子类型由 GT-AG 型转变为 GC-AG

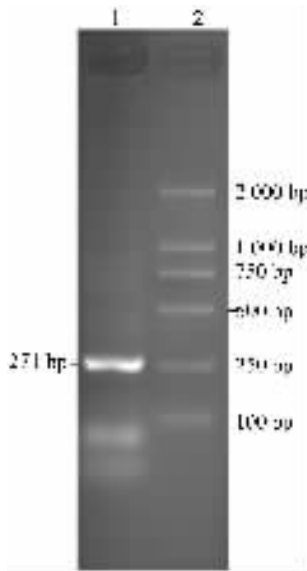


图4 *kitl* 基因组扩增产物

第1泳道为 *kitl* 基因组扩增产物，第2泳道为 DL2 000 DNA marker。

#### Fig.4 Electrophoresis picture of genomic DNA amplification

Lane 1: PCR product from *kitl* genomic DNA. Lane 2: DL2 000 DNA marker.

型，使得剪接体对第8号内含子识别能力变弱，导致第8号外显子不能被正常剪接而“跳过”。但是本文前面也提到在 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子脑组织中还保留少部分正常的 *kitl* 序列，但在睾丸组织中的 *kitl* 基因 RT-PCR 电泳结果显示只存在两种突变的序列。先

前的研究发现不同组织中的 (*S-kitl*: *MB-kitl*) 是不同的，在脑组织中约为 10/1，睾丸中约为 0.4/1，这些数据显示在脑组织中对第6号外显子剪接能力较睾丸组织中要“强”。本研究结果也表明，在脑组织中剪接体对白斑纯合子的第8号内含子还存在部分剪切能力，导致少量正常的 *S-kitl* 与 *MB-kitl* 的存在，而睾丸组织中则没有这种剪切能力，这也说明剪接体对脑组织中第8号内含子剪切能力要比睾丸中“强”。这纯属巧合？还是由于这两种剪接结果存在相同机制？有待进一步研究。

### 3.3 *kitl* 蛋白胞浆区的功能及其序列改变导致白斑表型的原因分析

在体内研究中，对 *kitl* 蛋白胞浆区的功能的认识始于 *kitl*<sup>sd</sup> 突变小鼠的出现，该小鼠在 *kitl* 基因组序列上存在基因内 4 kb 碱基的缺失，导致 *kitl* 编码缺少跨膜区与胞浆区而只能形成功能几乎正常的可溶性蛋白产物，此突变小鼠不能发挥 *MB-kitl* 的功能，导致其黑色素缺乏、贫血及纯合子不育 (Bedell et al., 1996a)。另一个突变小鼠 *kitl*<sup>sd-17H</sup> 的出现加深了人们对胞浆区功能的了解。有趣的是 *kitl*<sup>sd-17H</sup> 小鼠与 *kitl*<sup>1-bao</sup> 白斑小鼠突变很相似，同为缺少第8号外显子导致胞浆区缺失，但目前看来其与 *kitl*<sup>1-bao</sup> 小鼠存在以下差异：(1) 在基因组上 *kitl*<sup>sd-17H</sup> 是由于第7号内含子上 3' 剪切位从 T-A 颠换，引起 mRNA 水平上的拼接错误；(2) 文献报道 *kitl*<sup>sd-17H</sup> 突变纯合子雄鼠无生殖能力，并且其纯合子是纯白毛

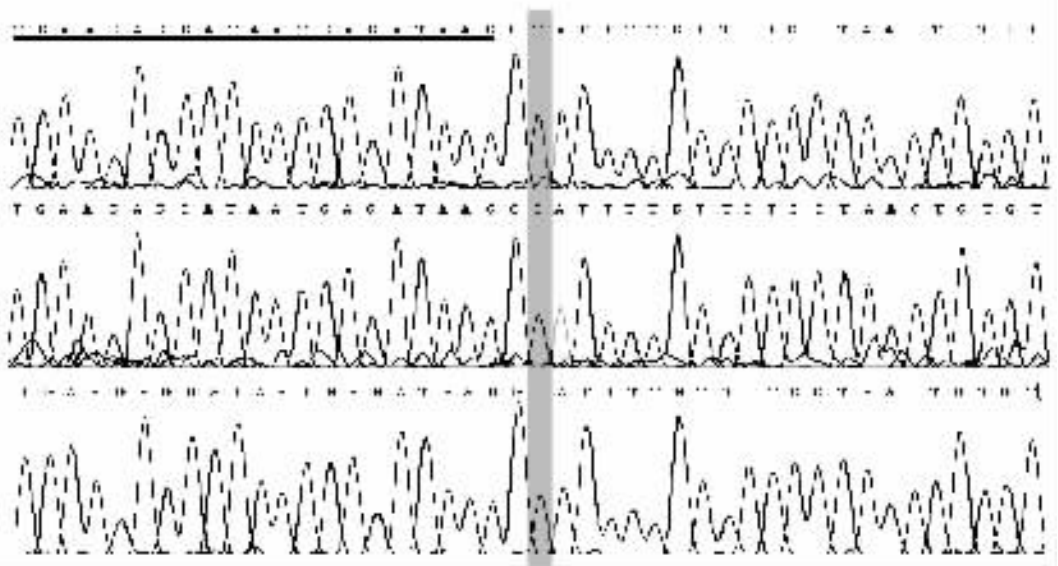


图5 *kitl* 基因测序峰图

上列为正常 B6 测序图，中间与下列为两个 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子测序峰图，左侧横线处为第8号外显子部分序列。

#### Fig.5 Comparison of the *kitl* genomic sequence between mutant and control

Top: normal B6. Middle and bottom: *kitl*<sup>1-bao</sup> homozygotes. Underlined region: part of exon 8 sequence.

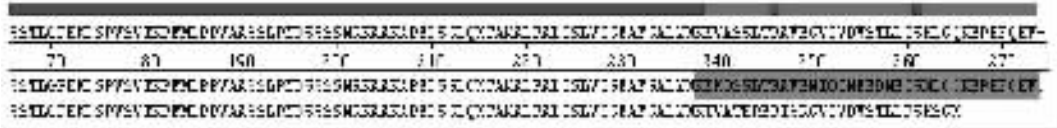


图 6 碱基突变引起氨基酸序列的改变

图中灰色区为由正常胞浆区的 36 个氨基酸。

Fig. 6 Changes in amino acid sequence caused by the *kitl*<sup>1-bao</sup> mutation

Shadow region indicates the 36aa cytoplasmic region of the Kit Ligand protein.

白眼, 而 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子雄鼠有生殖能力并且其纯合子是花斑头白眼 (薛整风等, 2006), 突变表型较 *kitl*<sup>sl-17H</sup> 轻; (3) *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子小鼠脑组织中还存在正常的 *kitl* mRNA, 说明在某些组织中对第 8 号外显子存在选择性剪接, 这可能是 *kitl*<sup>1-bao</sup> 纯合子表型突变较轻的原因。前人研究发现正常胞浆区对蛋白与细胞膜的稳定结合起着非常重要的作用, 胞浆区突变可降低蛋白与细胞膜结合能力, 而结合能力的大小与胞浆区前几个氨基酸所带正电荷多少有关, *kitl*<sup>sl-17H</sup> 及 *kitl*<sup>1-bao</sup> 突变使得正常胞浆区前三个氨基酸带电情况从 Lys-Lys-Lys (+3) 变为 Lys-Tyr-Ala (+1), 从而削弱其与细胞膜结合的能力, 影响了 MB-kitl 正常功能 (Kapur et al., 1999)。

### 3.4 目前已发现的 *kitl* 突变小鼠及本突变鼠的价值

突变是研究基因功能的一种很好的方法, 同一种基因的一系列不同类型突变小鼠可以加深人们对该基因整体及各个部分功能的认识。目前全世界已向 MGI 数据库提交的 *kitl* 基因突变小鼠共有 45 种, 归纳一下, 有以下几种类型: (1) 基因组上 *kitl* 区段完全缺失的突变, 如 *kitl*<sup>sl-gb</sup> (包括 *kitl* 在内的附近 120 kb 缺失)、*kitl*<sup>sl-10H</sup> (包括 *kitl* 在内的附近 680 kb 缺失) (Rajaraman et al., 2002); (2) 由于染色体重排导致 *kitl* 基因的组织特异性表达的突变系小鼠, 如 *kitl*<sup>sl-pan</sup> 与 *kitl*<sup>sl-con</sup> (Bedell et al., 1996b); (3) 编码区内某个碱基突变引起蛋白功能区构象、结构改变或部分氨基酸缺失的突变系小鼠, 关于这种类型突变 Rajaraman et al. (2002) 报道了 5 种 (*kitl*<sup>sl-30R</sup>、*kitl*<sup>sl-42R</sup>、*kitl*<sup>sl-31R</sup>、*kitl*<sup>sl-22R</sup>、*kitl*<sup>sl-28R</sup>)。 *kitl*<sup>sl-d</sup>、*kitl*<sup>sl-17H</sup> 及 *kitl*<sup>1-bao</sup> 也属于这种类型。这些突变系小鼠是深入全面的研究 *kitl* 基因功能非常宝贵的材料。本研究意义在于提供了一种 *kitl* 新的等位基因, 为 *kitl* 蛋白胞浆区的功能研究提供了一种新的材料, 并为 mRNA 选择性拼接机制研究提供了素材。

### 参考文献 (References)

- Balling R, 2001. ENU mutagenesis: analyzing gene function in mice. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2: 463–492.
- Bedell MA, Cleveland LS, O' Sullivan TN, Copeland NG, Jenkins NA, 1996a. Deletion and interallelic complementation analysis of *steel* mutant mice. *Genetics* 142 (3): 935–944.
- Bedell MA, Copeland NG, Jenkins NA, 1996b. Multiple pathways for Steel regulation suggested by genomic and sequence analysis of the murine *steel* gene. *Genetics* 142 (3): 927–934.
- Brannan CI, Bedell MA, Resnick JL, Eppig JJ, Handel MA, Williams DE, Lyman SD, Donovan PJ, Jenkins NA, Copeland NG, 1992. Developmental abnormalities in *Steel*<sup>17H</sup> mice result from a splicing defect in the steel factor cytoplasmic tail. *Genes Dev.* 6 (10): 1832–1842.
- Broudy VC, 1997. Stem cell factor and hematopoiesis. *Blood* 90 (4): 1345–1364.
- Copeland NG, Gilbert DJ, Cho BC, Donovan PJ, Jenkins NA, Cosman D, Anderson D, Lyman SD, Williams DE, 1990. Mast cell growth factor maps near the *steel* locus on mouse chromosome 10 and is deleted in a number of *steel* alleles. *Cell* 63 (1): 175–183.
- Flanagan JG, Leder P, 1990. The kit ligand: a cell surface molecule altered in *steel* mutant fibroblasts. *Cell* 63 (1): 185–194.
- Huang E, Nocka K, Beier DR, Chu TY, Buck J, Lahm HW, Wellner D, Leder P, Besmer P, 1990. The hematopoietic growth factor KL is encoded by the Sl locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the W locus. *Cell* 63 (1): 225–233.
- Huang EJ, Nocka KH, Buck J, Besmer P, 1992. Differential expression and processing of two cell associated forms of the kit-ligand: KL-1 and KL-2. *Mol. Biol. Cell* 3 (3): 349–362.
- Huang EJ, Manova K, Packer AI, Sanchez S, Bachvarova RF, Besmer P, 1993. The murine *steel* panda mutation affects kit ligand expression and growth of early ovarian follicles. *Dev. Biol.* 157 (1): 100–109.
- Justice MJ, Noveroske JK, Weber JS, Zheng B, Bradley A, 1999. Mouse ENU mutagenesis. *Hum. Mol. Genet.* 8 (10): 1955–1963.
- Kapur R, Cooper R, Xiao X, Weiss MJ, Donovan P, Williams DA, 1999. The presence of novel amino acids in the cytoplasmic domain of stem cell factor results in hematopoietic defects in *Steel*<sup>17H</sup> mice. *Blood* 94 (6): 1915–1925.
- Mauduit C, Hamamah S, Benahmed M, 1999. Stem cell factor/c-kit system in spermatogenesis. *Hum. Reprod. Update.* 5 (5): 535–545.
- Rajaraman S, Davis WS, Mahakali-Zama A, Evans HK, Russell LB, Bedell MA, 2002. An allelic series of mutations in the *kit* ligand gene of mice. I. Identification of point mutations in seven ethylnitrosourea-induced *kit* alleles. *Genetics* 162: 331–340.
- Shedlovsky A, McDonald JD, Symula D, Dove WF, 1993. Mouse models of human phenylketonuria. *Genetics* 134 (4): 1205–1210.
- Sun YS, Yang X, 2001. ENU induced mutagenesis large scale study of gene mutagenesis and function. *Chinese Journal of Biotechnology* 17 (4): 365–370 (In Chinese).
- Thanaraj TA, Clark F, Muilu J, 2003. Conservation of human alternative splice events in mouse. *Nucleic Acids Res.* 31 (10): 2544–2552.
- Williams DE, de Vries P, Namen AE, Widmer MB, Lyman SD, 1992. The steel factor. *Dev. Biol.* 151 (2): 368–376.
- Woychik RP, Klebig ML, Justice MJ, Magnuson TR, Avner ED, 1998.

- Functional genomics in the post-genome era. *Mutat. Res.* 400 (1 - 2): 3 - 14.
- Xue ZF, Chen B, Mao HH, Wu BJ, Li HD, 2006. Two kinds of white spot mice and mapping of their mutation genes. *Sichuan Journal of Zoology* 25 (3): 468 - 472 (In Chinese).
- Yang JS, 2002. *Genomics*. Beijing: Higher Education Press, 152 (In Chinese).
- Zhang GW, Song HD, Chen Z, 2004. Molecular mechanism of mRNA alternative splicing. *Acta Genetica Sinica* 31 (1): 102 - 107.
- 孙岩松, 杨 晓, 2001. ENU 诱导点突变——大规模基因突变和功能研究. *生物工程学报* 17 (4): 365 - 370.
- 薛整风, 陈 兵, 茅慧华, 吴宝金, 李厚达, 2006. 两种白斑小鼠突变基因的染色体定位. *四川动物* 25 (3): 468 - 472.
- 杨金水, 2002. *基因组学*. 北京: 高等教育出版社, 152.
- 章国卫, 宋怀东, 陈 竺, 2004. mRNA 选择性剪接的分子机制. *遗传学报* 31 (1): 102 - 107.