

## 棉铃虫中肠cDNA文库的构建及EST分析

邹朗云, 曹广春, 张谦, 张彦, 梁革梅, 吴孔明, 郭予元

中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京100193

cDNA library construction and EST analysis of the larval midgut of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)

- 摘要
- 参考文献
- 相关文章

全文: [PDF \(6135 KB\)](#) [HTML \(1 KB\)](#) 输出: [BibTeX](#) | [EndNote \(RIS\)](#) [背景资料](#)

**摘要** 中肠是苏云金芽孢杆菌*Bacillus thuringiensis* (Bt)发挥作用的主要部位, 中肠上很多蛋白被认为是Bt毒素的结合蛋白。为了探索棉铃虫*Helicoverpa armigera*对Bt的抗性机制, 我们运用RNA转录过程中的5'末端转换机制(Switching Mechanism at 5' end of the RNA Transcript, SMART)技术构建了棉铃虫中肠的cDNA文库。先提取棉铃虫5龄幼虫中肠组织的总RNA, 合成双链cDNA, 经过均一化处理后, 酶切、连接载体、转化到大肠杆菌*Escherichia coli*感受态细胞, 最后进行滴度测试、文库扩增并进行EST序列测定。对该文库质量分析表明: 文库滴度为 $2 \times 10^6$  pfu/mL, 重组率为100%, 平均插入片段大于1 kb, 全长率为50%。最终成功得到1 098条表达序列标签(expressed sequence tags, ESTs)序列, 经Phrap程序聚类拼接后得到789条单基因簇(unigene), 包括132个重叠群(congtigs)和657个单拷贝(singlets)。将聚类拼接后的789条ESTs序列在NT, NR和SWISSPORT库中进行本地化搜索, 比对后发现: 218条序列(27.62%)没有注解; 119条序列(15.08%)注解不明确; 452条序列(57.29%)有功能注解, 并表达300多种基因产物。构建的文库各项指标均达到要求, 该文库的构建为棉铃虫中肠各类基因的克隆及功能分析奠定了基础。

**关键词:** 棉铃虫 中肠 cDNA文库 表达序列标签(EST) 序列分析

**Abstract:** Midgut is the main target for *Bacillus thuringiensis* (Bt) action, and a number of insect midgut proteins have been proposed as putative Bt toxin receptors. In order to study the resistance mechanism of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* to Bt, we constructed a larval midgut cDNA library of the cotton bollworm using the Switching Mechanism at 5' end of the RNA Transcript (SMART) technique. The total RNA of 5th instar larval midgut was extracted and the double-stranded cDNA synthesized. After the normalization treatment, cDNAs were digested and ligated into vector, and then the recombinants were transformed into competent cells. The titer was tested and the cDNA library was amplified and sequenced. The quality evaluation showed that the library had a complexity of  $2 \times 10^6$  pfu/mL, and the recombination rate was 100%. The average length of inserted cDNA fragments was over 1 000 bp, and 50% fragments were in the full-length form. A total of 1 098 expressed sequence tags (ESTs) were generated successfully after editing and trimming the vector and ambiguous sequences, and 789 unigene sequences were identified, including 132 contigs and 657 singlets. The assembled 789 ESTs were analyzed with Blast in NT, NR and SWISSPORT database of NCBI. The Blast analysis showed that 218 ESTs (27.62%) had no comparable sequences in databases, 119 ESTs (15.08%) had no definite annotations, and the rest 452 ESTs (57.29%) had high homologies with the available sequences, which had definite annotation with over 300 protein products. Through this study, a high-quality cDNA library of the larval midgut of *H. armigera* has been constructed, which will be a useful tool for studying gene functions in *H. armigera* midgut.

**Key words:** *Helicoverpa armigera* midgut cDNA library expressed sequence tags sequence analysis

收稿日期: 2010-11-08; 出版日期: 2011-07-20

基金资助:

国家重点基础研究发展规划(“973”计划)项目(2007CB109204); 国家自然科学基金项目(30971921)

**作者简介:** 邹朗云, 女, 1985年生, 四川绵阳人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生理生化与分子生物学, E-mail: zoulangyun@sina.com

引用本文:

### 服务

- ▶ 把本文推荐给朋友
- ▶ 加入我的书架
- ▶ 加入引用管理器
- ▶ E-mail Alert
- ▶ RSS

### 作者相关文章

- ▶ 邹朗云
- ▶ 曹广春
- ▶ 张谦
- ▶ 张彦
- ▶ 梁革梅
- ▶ 吴孔明
- ▶ 郭予元

链接本文:

<http://www.insect.org.cn/CN/> 或 <http://www.insect.org.cn/CN/Y2011/V54/I7/739>

没有本文参考文献

- [1] 钟金凤, 曹广力, 薛仁宇, 贡成良. 家蚕Aly/REF的基因克隆、序列分析及其细胞定位[J]. 昆虫学报, 2011, 54(7): 746-753.
- [2] 陈永, 龚亮, 左洪亮, 钟国华. 斜纹夜蛾线粒体复合物III Fe-S蛋白基因克隆、序列分析及在不同发育阶段的表达特征[J]. 昆虫学报, 2011, 54(7): 762-768.
- [3] 张天涛, 邹朗云, 李科明, 冯纪年, 张永军, 郭予元. 棉铃虫化学感受蛋白HarmCSP6二聚体的组织表达分析及气味结合特征[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 615-622.
- [4] 周琼, 魏美才, 欧晓明. 环氧苍耳素 I 对菜青虫中肠消化酶和羧酸酯酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 729-733.
- [5] 周志军, 尚娜, 黄原, 石福明, 韦仕珍. 斑翅草蛉线粒体基因组序列测定与分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 548-554.
- [6] 李珣, 刘晶晶, 龚亮, 陈永, 钟国华. 小菜蛾气味受体蛋白PlxyOr83b基因的克隆及表达[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 502-507.
- [7] 潘洪生, 赵秋剑, 赵奎军, 张永军, 吴孔明, 郭予元. 中红侧沟茧蜂对不同龄期棉铃虫幼虫及其为害棉株的趋性反应[J]. 昆虫学报, 2011, 54(4): 437-442.
- [8] 曹伟平, 王刚, 甄伟, 王容燕, 杜立新, 宋健, 王金耀, 冯书亮. 球孢白僵菌不同感染方式侵染棉铃虫幼虫的毒性比较及组织病理变化[J]. 昆虫学报, 2011, 54(4): 409-415.
- [9] 秦峰, 付文博, 周善义. 基于CO I 和Cyt b基因序列的风蝶科六属分子系统学研究[J]. 昆虫学报, 2011, 54(3): 339-351.
- [10] 刘小民, 李杰, 郭巍, 徐大庆, 张霞. 棉铃虫围食膜肠粘蛋白基因HM72的克隆、表达及其蛋白组织定位[J]. 昆虫学报, 2011, 54(2): 127-135.
- [11] 于彩虹, 梁晓贺, 卢丹, 王晓军, 姜辉, 林荣华. 几种植物源化合物对棉铃虫海藻糖酶活性及相关碳水化合物含量的影响[J]. 昆虫学报, 2011, 54(1): 41-49.
- [12] 谭显胜, 王志明, 李兰芝, 袁哲明. 基于支持向量回归的棉铃虫蛹发育历期估测[J]. 昆虫学报, 2011, 54(1): 83-88.
- [13] 谭显胜, 王志明, 李兰芝, 袁哲明. 基于支持向量回归的棉铃虫蛹发育历期估测[J]. 昆虫学报, 2011, 1(1): 2-.
- [14] 刘小民, 李杰, 郭巍, 徐大庆, 张霞. 棉铃虫围食膜肠粘蛋白基因HM72的克隆、表达及其蛋白组织定位[J]. 昆虫学报, 2011, 1(1): 6-.
- [15] 李红亮, 倪翠侠, 姚瑞, 高其康, 商晗武. 中华蜜蜂化学感受蛋白基因Acer-CSP1克隆与表达特征分析[J]. 昆虫学报, 2010, 53(9): 962-968.

版权所有 © 2010 《昆虫学报》编辑部

地址: 北京市朝阳区北辰西路1号院5号中国科学院动物研究所 邮编: 100101

电话: 010-64807173 传真: 010-64807099 E-mail: kcxb@ioz.ac.cn 网址: <http://www.insect.org.cn>

本系统由北京玛格泰克科技发展有限公司设计开发 技术支持: [support@magtech.com.cn](mailto:support@magtech.com.cn)

京ICP备05064604号