

黑斑蛙精巢组织cDNA文库的构建及泛素基因序列的分析(英文)

郑萍萍, 陈文, 李洁, 芮金龙, 聂刘旺*

安徽师范大学 生命科学学院, 安徽 芜湖 241000

收稿日期 2006-8-1 修回日期 网络版发布日期 2007-2-22 接受日期 2006-12-6

摘要 采用SMART(switching mechanism at 5'end of RNA transcript)技术构建了黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)精巢组织全长cDNA文库。一步法提取成体蛙精巢组织总RNA, 用Powerscript™反转录酶逆转录合成第一链cDNA; 再用LD-PCR合成双链cDNA; 经过*Sfi*I 酶切和Chroma spin-400柱分离后, 500 bp以上的片段与λTriplEx2载体连接, 再用Gigapack^R III Gold Packaging Extract包装蛋白包装, 即获得原始文库。原始文库进行扩增后得到扩增文库。经检测原始文库的滴度分别为 2.0×10^6 pfu/mL和 2.4×10^6 pfu/mL, 扩增后的文库滴度分别为 0.48×10^9 pfu/mL和 3.0×10^9 pfu/mL, 重组率均在90%以上。通过*E. coli* BM25.8菌株将文库转化为pTriplEx2质粒, 挑选一阳性克隆进行PCR检测, 其插入片段平均长度约为1.0 kb。挑取一阳性克隆分别从5'端和3'端进行测序, 得到一长约1 171 bp的序列。经序列分析知, 该序列含有完整的编码框, 可编码305个氨基酸, 是一全长cDNA序列。提示所建文库是可以用于全长cDNA的筛选。结果表明, 所构建的黑斑蛙精巢组织cDNA文库的各项指标均满足建库的基本要求。该文库将为蛙类及两栖类的已知或未知的功能基因及新基因的获得及其研究提供可靠资源; 另外, 该文库还将为研究蛙类动物的性别决定和分化相关基因及其表达提供直接的分子资料。

关键词 [黑斑蛙; 总RNA; SMART技术; cDNA文库; 泛素](#)

分类号 [Q959.5](#)

DOI:

通讯作者:

聂刘旺 lwnie@mail.ahnu.edu.cn

作者个人主页: [郑萍萍; 陈文; 李洁; 芮金龙; 聂刘旺*](#)

扩展功能

本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF \(695KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [参考文献\[PDF\]](#)
- ▶ [参考文献](#)

服务与反馈

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [加入引用管理器](#)
- ▶ [引用本文](#)
- ▶ [Email Alert](#)
- ▶ [文章反馈](#)
- ▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

▶ [本刊中 包含“黑斑蛙; 总RNA; SMART技术; cDNA文库; 泛素”的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

- [郑萍萍](#)
- [陈文](#)
- [李洁](#)
- [芮金龙](#)
- [聂刘旺](#)