

灰飞虱高带毒 (RSV) 群体酵母双杂交cDNA文库的构建

李硕, 孙丽娟, 李醒, 熊如意, 徐秋芳, 周益军

Construction of yeast two-hybrid cDNA library of high-viruliferous (RSV-infected) populations of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae)

LI Shuo, SUN Li-Juan, LI Xing, XIONG Ru-Yi, XU Qiu-Fang, ZHOU Yi-Jun

- [摘要](#)
- [参考文献](#)
- [相关文章](#)

全文: [PDF \(4230 KB\)](#) [HTML \(1 KB\)](#) 输出: [BibTeX](#) | [EndNote \(RIS\)](#) [背景资料](#)

摘要 为了研究灰飞虱 *Laodelphax striatellus* Fallén 与水稻条纹病毒 (rice stripe virus, RSV) 互作机制, 本研究构建了灰飞虱高带毒群体酵母双杂交cDNA文库。以实验室筛选的灰飞虱高带毒群体为材料, 分离纯化mRNA, 反转录合成双链cDNA, 并连接三框型接头, 层析柱分级纯化。采用同源重组反应制备三框型cDNA入门文库, 再通过同源重组将入门文库转移到Gateway兼容载体pGADT7-DEST上, 构建获得酵母双杂交cDNA文库。检测结果表明: 文库容量为 3.68×10^7 cfu, 扩增文库滴度为 2.62×10^{10} cfu/mL; 文库重组率大于95%, cDNA插入片段平均长度 >1 kb, 达到了标准cDNA文库的要求。灰飞虱高带毒群体酵母双杂交cDNA文库的构建为开展昆虫介体与水稻条纹病毒互作机制的研究奠定了基础。

关键词: 灰飞虱 水稻条纹病毒 同源重组 cDNA文库 酵母双杂交cDNA文库

Abstract: In order to research the interaction between the small brown planthopper (*Laodelphax striatellus* Fallén, SBPH) and rice stripe virus (RSV), yeast two-hybrid cDNA library of high-viruliferous (RSV-infected) SBPH populations was constructed. SBPH infected with RSV was maintained in our laboratory. The mRNA was isolated and purified from high-viruliferous populations, and used as the template to synthesize the double-strand cDNAs. The cDNAs were ligated with three-frame adapter and purified by the cDNA size fractionation columns. By using homologous recombination reaction, the cDNA entry library was prepared and then recombined into Gateway compatible vector pGADT7-DEST to construct yeast two-hybrid cDNA library. Detection of the library indicated that it contained 3.68×10^7 independent clones, and the titer of the amplified library was 2.62×10^{10} cfu/mL. The recombination rate was above 95%, and the average size of inserts was above 1 kb in the cDNA library. The results demonstrate that the library database meets the requirements of the standard cDNA library. The yeast two-hybrid cDNA library of high-viruliferous SBPH will be useful for the future research on the interaction between insect vector and RSV.

Key words: Small brown planthopper (*Laodelphax striatellus*) rice stripe virus homologous recombination cDNA library yeast two-hybrid cDNA library

收稿日期: 2011-07-29; 接受日期: 2011-09-25

基金资助:

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(“973”计划)项目(2010CB126203); 国家自然科学基金项目(30970132); 国家公益性行业(农业)科研专项(201003031); 江苏省自然科学基金项目(BK2010018)

通讯作者: 周益军 E-mail: yjzhou@jaas.ac.cn**作者简介:** 李硕, 男, 1984年5月生, 山东淄博人, 博士研究生, 主要从事植物病毒与昆虫介体互作研究, E-mail: lishuolstonnv989@163.com; 孙丽娟, 女, 1985年6月生, 江苏盐城人, 硕士研究生, 主要从事植物病毒学研究, E-mail: 2009102016@njau.edu.cn**引用本文:**

李硕, 孙丽娟, 李醒等. 灰飞虱高带毒 (RSV) 群体酵母双杂交cDNA文库的构建[J]. 昆虫学报, 2011, 54(11): 1324-1328.

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

- ▶ [李硕](#)
- ▶ [孙丽娟](#)
- ▶ [李醒](#)
- ▶ [熊如意](#)
- ▶ [徐秋芳](#)
- ▶ [周益军](#)

没有本文参考文献

- [1] 邹朗云, 曹广春, 张谦, 张彦, 梁革梅, 吴孔明, 郭予元. 棉铃虫中肠cDNA文库的构建及EST分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(7): 739-745.
- [2] 徐广春, 顾中言, 徐德进, 许小龙. 毒死蜱亚致死剂量对灰飞虱致害性和繁殖力的影响[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 680-686.
- [3] 周丽丽, 张开军, 宋子伟, 洪晓月. 灰飞虱体内WO噬菌体和Wolbachia的侵染关系[J]. 昆虫学报, 2010, 53(9): 978-984.
- [4] 肖冬来, 邓慧颖, 谢荔岩, 吴祖建, 谢联辉. 水稻条纹病毒胁迫下灰飞虱基因的差异表达[J]. 昆虫学报, 2010, 53(8): 914-919.
- [5] 白旭, 董胜张, 庞琨, 边亚琳, 俞晓平. 灰飞虱体内一种酵母类共生菌的分子鉴定[J]. 昆虫学报, 2010, 53(6): 640-646.
- [6] 苏宏华, 王桂荣, 张永军, 梁革梅, 吴孔明, 郭予元. 利用酵母双杂交技术筛选棉铃虫触角内与G蛋白q家族 α 亚基(Gq α)互作的蛋白(英文)[J]. 昆虫学报, 2010, 53(12): 1339-1344.
- [7] 李伟, 郭慧芳, 王荣富, 刘宝生, 钟万芳, 方继朝. 不同寄主植物上灰飞虱种群生命表的比较[J]. 昆虫学报, 2009, 52(5): 531-536.
- [8] 刘玉娣, 林克剑, 韩兰芝, 侯茂林. 基于rDNA ITS1和ITS2序列的褐飞虱、白背飞虱和灰飞虱的分子鉴定[J]. 昆虫学报, 2009, 52(11): 1266-1272.
- [9] 王瑞, 翟保平, 胡高, 陈晓, 沈慧梅. 基于地统计学方法的稻田灰飞虱与蜘蛛时空动态分析[J]. 昆虫学报, 2009, 52(1): 65-73.
- [10] 王利华, 方继朝, 刘宝生. 几类杀虫剂对灰飞虱的相对毒力及田间种群的抗药性现状[J]. 昆虫学报, 2008, 51(9): 930-937.
- [11] 聂瑞娥, 杨星科, 刘志琦. 日本通草蛉cDNA文库构建及部分ESTs分析[J]. 昆虫学报, 2008, 51(8): 792-797.
- [12] 张爱民, 刘向东, 翟保平, 顾晓莹. 温度对灰飞虱生物学特性的影响[J]. 昆虫学报, 2008, 51(6): 640-645.
- [13] 陈来, 吴祖建*, 傅国胜, 林奇英, 谢联辉. 灰飞虱胚胎组织细胞的分离和原代培养技术[J]. 昆虫学报, 2005, 48(3): 455-459.
- [14] 甘波谊, 周伟国, 冯丽冰, 沈大棣, 李昌本. 沃尔巴克氏体在中国三种稻飞虱中的感染[J]. 昆虫学报, 2002, 45(1): 14-17.
- [15] 黄立华, 杜建光, 程遐年, 洪晓月. 白背飞虱、灰飞虱mariner转座子的初步研究[J]. 昆虫学报, 2001, 44(4): 402-407.

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

京ICP备05064604号