

## 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)

ZOU Lang-Yun, CAO Guang-Chun, ZHANG Qian, ZHANG Yan, LIANG Ge-Mei, WU Kong-Ming, GUO Yu-Yuan

- 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, 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; 接受日期: 2011-02-21

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] Ruchuon WANNA, 徐志宏, 禹海鑫. 复配杀虫剂BtA对棉铃虫的杀虫效果及对天敌中红侧沟茧蜂蛹和成虫的触杀毒性(英文)[J]. 昆虫学报, 2012, 55(8): 941-949.
- [2] 罗光华, 吴敏, 韩召军, 李晓欢, 钱路, 方继朝. 二化螟*piggyBac*类转座子的克隆与分析[J]. 昆虫学报, 2012, 55(7): 763-771.
- [3] 张彦, 梁革梅, 张丽丽, 魏纪珍. 棉铃虫幼虫取食Vip3Aa蛋白后的中肠组织病理变化[J]. 昆虫学报, 2012, 55(7): 869-876.
- [4] 王娜, 魏劲松, 党露, 王建波, 花保祯. 三种夜蛾成虫口器传感器的超微形态[J]. 昆虫学报, 2012, 55(7): 877-884.
- [5] 张帅, 崔金杰, 王春义, 雒珺瑜, 吕丽敏. 棉铃虫幼虫唾液腺cDNA文库的构建及EST分析[J]. 昆虫学报, 2012, 55(6): 625-633.
- [6] 黄琼, 胡杰, 周定刚, 王勤, 杨伟, 朱天辉. 两种色型黄粉虫抗冻蛋白cDNA克隆、序列分析与表达分析[J]. 昆虫学报, 2012, 55(6): 659-667.
- [7] 张国辉, 刘彦飞, 仵均祥. 梨小食心虫化学感受蛋白cDNA的克隆、序列分析及原核表达[J]. 昆虫学报, 2012, 55(6): 668-675.
- [8] 张学尧, 王建新, 郭艳琼, 张建珍, 马恩波. 飞蝗谷胱甘肽S-转移酶基因克隆、序列分析及表达特征[J]. 昆虫学报, 2012, 55(5): 520-526.
- [9] 刘亭亭, 刘俊峰, 王文祥, 王欢, 王子龙, 曾志将, 颜伟玉. 中华蜜蜂DNA甲基化转移酶Dnmt3基因克隆及表达谱分析[J]. 昆虫学报, 2012, 55(3): 284-290.
- [10] 刘海明, 郑桂玲, 李长友, 周洪旭. 华北大黑鳃金龟中肠丝氨酸蛋白酶cDNA克隆、序列分析及表达[J]. 昆虫学报, 2012, 55(2): 147-155.
- [11] 闫硕, 朱家林, 张璟, 朱威龙, 张青文, 刘小侠. 低剂量<sup>60</sup>Co-γ辐射对棉铃虫蛾羽化、寿命、趋光行为和性信息素滴度的影响[J]. 昆虫学报, 2012, 55(12): 1337-1344.
- [12] 杨科, 许益鹏, 董胜张, 俞晓平. 灰飞虱Bursicon基因的克隆、序列分析及在不同发育阶段的表达[J]. 昆虫学报, 2012, 55(11): 1255-1263.
- [13] 刘晓健, 张欢欢, 李大琪, 崔淼, 马恩波, 张建珍. 飞蝗可溶型海藻糖酶基因的序列分析及mRNA表达特性[J]. 昆虫学报, 2012, 55(11): 1264-1271.
- [14] 曾晶, 潘其忠, 王子龙, 吴小波, 颜伟玉, 曾志将. 中华蜜蜂*dynactin p62*基因的克隆及不同发育阶段表达分析[J]. 昆虫学报, 2012, 55(10): 1132-1141.
- [15] 魏纪珍, 郭予元, 高希武, 张涛, 梁革梅. Cry1Fa对Cry1Ac抗性棉铃虫的毒力评价[J]. 昆虫学报, 2012, 55(10): 1154-1160.

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-14