

## 细菌表达dsRNA介导的家蚕FTZ-F1基因的RNA干扰

王根洪, 祝慧敏, 罗会松, 王轲轲, 杨小波, 蒋亮, 夏庆友

### RNA interference of FTZ-F1 gene mediated by bacterially expressed dsRNA in the silkworm, *Bombyx mori*

- 摘要
- 参考文献
- 相关文章

全文: PDF (10049 KB) HTML (1 KB) 输出: BibTeX | EndNote (RIS) 背景资料

**摘要** 为探索细菌表达目标基因dsRNA介导的RNAi技术是否在家蚕*Bombyx mori*可行, 本研究引入了在其他物种中广泛应用的细菌表达dsRNA的RNAi系统: HT115细菌株和L4440质粒。利用L4440载体两端含有T7启动子的特点, 设计并构建了针对家蚕核受体FTZ-F1基因的RNA干扰(RNA interference)载体, 将构建好的质粒转入大肠杆菌*Escherichia coli* HT115, 在IPTG诱导下成功获得目标基因对应双链RNA(dsRNA)。结果显示: 通过对5龄第7天家蚕幼虫注射IPTG诱导后提取的FTZ-F1基因对应的dsRNA 25 µg, 85%的蛹变态发育过程明显延迟, 不能实现幼虫到蛹的形态完全转变。荧光定量PCR分析显示目标基因的表达得到了特异的抑制。实验结果初步表明, 通过细菌表达目标基因dsRNA介导的RNAi策略, 以其经济、高效的特点, 具有广泛应用于家蚕基因功能研究中的潜力。

**关键词:** 家蚕 RNA干扰 双链RNA L4440质粒 HT115细菌株 变态发育

**Abstract:** We developed a method of RNA interference based on bacterially expressed dsRNA in the silkworm, *Bombyx mori*. By inserting the target, FTZ-F1 gene fragment, between the two convergent T7 polymerase promoters in opposite orientation in L4440 dsRNA expression vector, the recombinant plasmid was formed. Then the recombinant plasmid was transformed into *Escherichia coli* HT115, an RNase-III deficient strain. dsRNA was extracted from the *E. coli* HT115 after being treated with isopropyl-β-D-thio-galactopyranoside (IPTG). RNAi treatment was performed by injecting the extracted dsRNA (25 µg) into body cavity of silkworm at the 7th day of 5th instar. The RNAi of FTZ-F1 gene resulted in 85% of the insects with delay of pupal metamorphosis and disablement in pupa formation. Real-time quantitative PCR analysis revealed that the expression of FTZ-F1 gene was specially inhibited after the insects were treated with dsRNA of FTZ-F1 gene. The results suggest that the bacterially expressed dsRNA has potential to be used in silkworm functional genome analysis in an economical and efficient way.

**Key words:** *Bombyx mori* RNA interference dsRNA L4440 plasmid HT115 *Escherichia coli* strain metamorphosis

收稿日期: 2010-11-26; 出版日期: 2011-05-20

通讯作者: 夏庆友 E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

**作者简介:** 王根洪, 男, 1980年生, 四川绵竹人, 讲师, 研究方向为功能基因组学及转基因遗传改良, E-mail: wanggh@cqu.edu.cn

#### 引用本文:

王根洪, 祝慧敏, 罗会松等. 细菌表达dsRNA介导的家蚕FTZ-F1基因的RNA干扰[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 596-601.

WANG Gen-Hong, ZHU Hui-Min, LUO Hui-Song et al. RNA interference of FTZ-F1 gene mediated by bacterially expressed dsRNA in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. ACTA ENTOMOLOGICA SINICA, 2011, 54(5): 596-601.

#### 链接本文:

<http://www.insect.org.cn/CN/> 或 <http://www.insect.org.cn/CN/Y2011/V54/I5/596>

#### 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

- ▶ 王根洪
- ▶ 祝慧敏
- ▶ 罗会松
- ▶ 王轲轲
- ▶ 杨小波
- ▶ 蒋亮
- ▶ 夏庆友

- [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] 汪生鹏, 孙霞, 沈小绢, 彭伟, 郭锡杰. 家蚕丝素P25蛋白基因启动子顺式作用元件的功能分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 623-633.
- [3] 杨微, 齐登伟, 余泉友, 张泽. 家蚕羧酸酯酶基因*Bmae35*的克隆、序列分析及表达[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 634-641.
- [4] 查宏贤, 刘罡, 张晨, 王彦云, 卫正国, 李兵, 陈玉华, 许雅香, 沈卫德. 家蚕丝氨酸蛋白酶抑制剂4 (serpin-4) 的基因克隆、原核表达和多克隆抗体制备[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 642-647.
- [5] 林超, 李兵, 王东, 赵国栋, 卫正国, 陈玉华, 沈卫德. 家蚕羧酸酯酶基因*BmCarE-9*的鉴定与表达分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 495-501.
- [6] 王国宝, 陈玉华, 王举梅, 卫正国, 许雅香, 李兵, 沈卫德. 家蚕蛾触角蛋白的双向电泳分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 589-595.
- [7] 王晓强, 冯伟, 谢洪霞, 周围, 张冉, 高红, 万永继. 柘叶饲养对家蚕消化液中抗核多角体病毒 (BmNPV) 相关蛋白活性的影响[J]. 昆虫学报, 2011, 54(4): 404-408.
- [8] 周启升, 于奇, 刘庆信. 转基因家蚕的研究进展及应用前景[J]. 昆虫学报, 2011, 54(2): 197-210.
- [9] 王东, 李兵, 林超, 陈玉华, 许雅香, 沈卫德. 家蚕细胞色素P450基因CYP6AE21的克隆、表达分析及亚细胞定位[J]. 昆虫学报, 2011, 54(1): 1-8.
- [10] 王文栋, 梁辉, 朱晓苏, 陶卉, 徐丽, 司马杨虎, 徐世清. 家蚕生物钟基因*Bmcry1*与*Bmcry2*的克隆及生物信息学分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(1): 9-19.
- [11] 张婷, 卫正国, 高瑞娜, 王瑞娟, 赵国栋, 李兵, 沈卫德. 芸香苷对家蚕谷胱甘肽-S-转移酶部分基因的诱导表达[J]. 昆虫学报, 2011, 54(1): 20-26.
- [12] 王东, 李兵, 林超, 陈玉华, 许雅香, 沈卫德. 家蚕细胞色素P450基因CYP6AE21的克隆、表达分析及亚细胞定位[J]. 昆虫学报, 2011, 1(1): 1-.
- [13] 王文栋, 梁辉, 朱晓苏, 陶卉, 徐丽, 司马杨虎, 徐世清. 家蚕生物钟基因*Bmcry1*与*Bmcry2*的克隆及生物信息学分析[J]. 昆虫学报, 2011, 1(1): 2-.
- [14] 周启升, 于奇, 刘庆信. 转基因家蚕的研究进展及应用前景[J]. 昆虫学报, 2011, 1(1): 6-.
- [15] 高瑞娜, 卫正国, 张婷, 王瑞娟, 赵国栋, 李兵, 沈卫德. 蜕皮激素诱导下家蚕CYP3基因家族的表达变化[J]. 昆虫学报, 2010, 53(9): 943-948.

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