

植物保护

黄瓜花叶病毒辣椒分离物侵染性克隆构建

廖乾生, 杜志游, 张华荣, 吴 鹏, 朱丽萍, 陈集双

浙江理工大学生物工程研究所<sup>1</sup>

收稿日期 2007-4-23 修回日期 网络版发布日期 2008-7-21 接受日期

**摘要** 【目的】鉴定引起辣椒产生褪绿黄化症状的病原物, 构建侵染性克隆。【方法】大田辣椒样品通过ELISA检测, 结合病毒外壳蛋白SDS-PAGE及病毒RNA分析, 初步确定辣椒中病原物为黄瓜花叶病毒(CMV) Phy株系。以辣椒病毒粒子RNA为模板, 采用含T7启动子的不同正向引物通过RT-PCR扩增CMV-Phy全长基因组RNA1、RNA2和RNA3。PCR产物经过双酶切后连接到pUC118载体, 并分别比较5种(DH5 $\alpha$ 、HB101、JM109、LE392和NM522)感受态细胞的转化效率。体外转录CMV-Phy的基因组cDNA克隆(pUC-P1、pUC-P2和pUC-P3)成RNA分子(P1P2P3), 分析其转录效率和侵染活性。P1P2P3与CMV的卫星RNA进行假重组, 进一步确定CMV-Phy侵染性克隆的成功构建。【结果】引起辣椒产生褪绿黄化症状病原物为CMV, 携带卫星RNA; 心叶烟接种辣椒病毒粒子后同样产生褪绿黄化症状。HB101感受态细胞最适合CMV-Phy基因组转化。CMV-Phy基因组及其卫星RNA的大小如下: RNA1为3 356 nt、RNA2为3 048 nt和RNA3为2 220 nt, 卫星RNA Pz-satRNA为384 nt(序列登陆号分别为: DQ402477, DQ412731, DQ412732 EF363688)。CMV-Phy的cDNA克隆体外转录在5'端添加G有利于提高转录效率, 但影响其侵染活性; P1P2P3在莧色藜和心叶烟产生的症状与其病毒粒子产生的症状相一致。除了Pz-satRNA, P1P2P3还能作为T1-satRNA、Rs-satRNA和Tsh-satRNA辅助病毒; T1-satRNA可加重CMV-Phy在心叶烟症状反应, 而其它3个卫星RNA则对此起减弱作用。【结论】以病毒粒子RNA为模板, 采用touch-up PCR扩增参数在1个反应管中同时获得CMV-Phy基因组RNA1、RNA2和RNA3; CMV-Phy RNA1、RNA2和RNA3的5'端添加1个G最有利于侵染性克隆构建。

**关键词** [黄瓜花叶病毒](#) [全长基因组](#) [侵染性克隆](#) [假重组](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

陈集双 [Chenjs@zist.edu.cn](mailto:Chenjs@zist.edu.cn)

作者个人主页: [廖乾生](#); [杜志游](#); [张华荣](#); [吴 鹏](#); [朱丽萍](#); [陈集双](#)

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF](#) (563KB)

▶ [\[HTML全文\]](#) (OKB)

▶ [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](#)

相关信息

▶ [本刊中 包含“黄瓜花叶病毒”的  
相关文章](#)

▶ [本文作者相关文章](#)

· [廖乾生](#)

· [杜志游](#)

· [张华荣](#)

· [吴 鹏](#)

· [朱丽萍](#)

· [陈集双](#)