

小菜蛾钙黏蛋白 PxCR₁₀₋₁₁ 结构域的克隆、原核表达及功能分析

许 炼¹, 刘 波², 潘志针², 朱育菁², 高焕娟¹, 陈清西^{1*}

(1. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361102; 2. 福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福建 福州 350003)

摘要: 钙黏蛋白(cadherin)是一类跨膜糖蛋白, 因其在苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)的杀虫过程中作为主要的受体而受到广泛研究. 钙黏蛋白的特征之一是由若干钙黏蛋白重复单元(cadherin repeats, CR)组成的长链状蛋白, 其中靠近细胞膜的 CR 结构域被认为是钙黏蛋白与 Bt 毒素发生互作的区域. 小菜蛾(*Plutella xylostella*)钙黏蛋白由 11 个 CR 结构域和 1 个跨膜结构域组成, 其中第 10 和 11 个 CR 结构域 PxCR₁₀₋₁₁ 被认为是钙黏蛋白与 Bt 毒素的互作区域. 本研究从小菜蛾中肠 cDNA 中克隆得到小菜蛾钙黏蛋白 PxCR₁₀₋₁₁ 结构域的 DNA 片段, 并通过原核表达系统对 PxCR₁₀₋₁₁ 结构域进行表达. 配体印迹结果表明 PxCR₁₀₋₁₁ 可以特异性和 Cry2Ab 结合; 杀虫实验结果表明 PxCR₁₀₋₁₁ 能提高 Cry2Ab 对小菜蛾的毒力. 此外, 利用蛋白质同源建模和糖基化位点预测网站对 PxCR₁₀₋₁₁ 蛋白质结构进行了分析. 上述结果表明 PxCR₁₀₋₁₁ 可能参与了 Cry2Ab 毒素对小菜蛾的毒杀过程, 为后续研究小菜蛾钙黏蛋白和 Cry2Ab 的相互作用机制奠定了基础.

关键词: 钙黏蛋白; CR 结构域; 同源建模; 克隆; 原核表达; Cry2Ab; 配体印迹

中图分类号: S 433.4

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2017)01-0059-05

钙黏蛋白(cadherin)是钙依赖的细胞膜糖蛋白, 对于细胞的粘附、迁移、组织分化以及细胞骨架形成均具有重要作用; 钙黏蛋白由若干个钙黏蛋白重复(cadherin repeats, CR)结构域和一个跨膜结构域组成, 不同物种的钙黏蛋白 CR 结构域个数不同, 家蚕(*Bombyx mori*)为 9 个, 小菜蛾(*Plutella xylostella*)为 11 个, 烟草天蛾(*Manduca sexta*)则为 12 个^[1]. 在苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)Cry 毒素的杀虫过程中, 钙黏蛋白扮演了重要角色, 自 1993 年 Vadlamudi 等^[2]首次鉴定烟草天蛾的钙黏蛋白作为 Cry1Ab 毒素的受体以来, 对钙黏蛋白在 Cry 毒素杀虫过程中的作用进行了大量的研究, 结果表明在鳞翅目、鞘翅目等昆虫的中肠, 钙黏蛋白普遍作为 Cry 毒素的一级受体, 介导了 Cry 毒素的活化及寡聚化^[3]. Gahan 等^[4]发现在烟蚜夜蛾(*Heliothis virescens*)中钙黏蛋白的截短将导致烟蚜夜蛾对 Cry1Ac 毒素产生抗性, 表明钙黏蛋白可能参与了 Cry1Ac 在烟蚜夜蛾

中的杀虫作用; Xie 等^[5]通过定点突变和配体印迹(ligand blot)证明了烟蚜夜蛾的钙黏蛋白第 1 422~1 440 位氨基酸是 Cry1Ac 的结合区域. 近年来利用 RNAi 技术, 发现钙黏蛋白基因的下调能够显著引起靶标害虫对 Cry 毒素产生抗性^[6]. 已有的研究表明绝大多数的钙黏蛋白与 Cry 毒素的结合区域位于钙黏蛋白靠近细胞膜的 CR 结构域^[7]. 但是 Cry 毒素如何识别并结合钙黏蛋白的机制目前仍不清楚. 通过将钙黏蛋白的 CR 结构域分段克隆表达, 再分别研究各个 CR 结构域与 Cry 毒素的相互作用是研究钙黏蛋白的主要方法.

小菜蛾钙黏蛋白已经被报道作为 Cry1A 毒素的受体, 但是是否作为 Cry2A 的受体仍未见报道. 本研究克隆得到了小菜蛾钙黏蛋白近膜区的 CR 结构域 PxCR₁₀₋₁₁ DNA 片段, 利用原核表达系统表达并纯化 PxCR₁₀₋₁₁ 蛋白. 通过同源建模构建 PxCR₁₀₋₁₁ 的蛋白质 3D 模型并对 PxCR₁₀₋₁₁ 的糖基化位点进行分析. 利用配

收稿日期: 2016-03-07 录用日期: 2016-06-02

基金项目: 国家自然科学基金(31371999, 31370059)

*通信作者: chenqx@xmu.edu.cn

引文格式: 许炼, 刘波, 潘志针, 等. 小菜蛾钙黏蛋白 PxCR₁₀₋₁₁ 结构域的克隆、原核表达及功能分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2017, 56(1): 59-63.

Citation: XU L, LIU B, PAN Z Z, et al. Cloning, prokaryotic expression and functional analysis of PxCR₁₀₋₁₁ domain in *Plutella xylostella* cadherin[J]. J Xiamen Univ Nat Sci, 2017, 56(1): 59-63. (in Chinese)



<http://jxmu.xmu.edu.cn>

体印迹证明了 P_xCR₁₀₋₁₁ 能特异性识别 Cry2Ab, 进一步通过杀虫实验表明 P_xCR₁₀₋₁₁ 能够提高 Cry2Ab 对小菜蛾的毒力. 这些研究均表明 P_xCR₁₀₋₁₁ 可能介导了 Cry2Ab 对小菜蛾的杀虫作用.

1 材料与方 法

1.1 材 料

小菜蛾中肠 cDNA、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 菌株 DH5 α 、BL21 (DE3) 感受态细胞、原核表达载体 pGEX4t-1、纯化的 Bt 毒素 Cry2Ab 蛋白均由厦 门大学生命科学院酶学实验室保存; 小菜蛾 (三龄幼虫)、昆虫人工饲料购自科云生物有限公司.

1.2 主要试剂

扩增小菜蛾钙黏蛋白 P_xCR₁₀₋₁₁ 的引物由福州铂尚生物有限公司合成; 质粒小提试剂盒和琼脂糖凝胶回收试剂盒购自天根生化科技有限公司; 限制性内切酶 *Eco*R I 和 *Xho* I、PrimeSTAR[®] Max 高保真 DNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶、pMD19-T 载体购自大连宝生物工程有限公司; 谷胱甘肽巯基转移酶 (GST) 标签抗体、Cry2A 抗体、辣根过氧化物酶 (HRP) 兔抗鼠二抗购自碧云天生物技术有限公司; GST 琼脂糖预装柱 (1 mL) 购自上海生工生物工程有限公司.

1.3 方 法

1.3.1 小菜蛾钙黏蛋白 P_xCR₁₀₋₁₁ 的 DNA 片段克隆

根据 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 小菜蛾钙黏蛋白基因 (GenBank 登录号: GU901158) 设计 1 对特异性引物:

P_xCR₁₀₋₁₁ F (5'-CGGAATTCATGGCTGTGGA-CCTCAA-3', 下划线为 *Eco*R I 酶切位点) 和 P_xCR₁₀₋₁₁ R (5'-CGCTCGAGGTACTGCTCCACTTG-CG-3', 下划线为 *Xho* I 酶切位点).

以小菜蛾中肠 cDNA 为模板, 通过 PCR 扩增得到 P_xCR₁₀₋₁₁ DNA 片段, PCR 程序为 95 °C 5 min; 98 °C 10 s, 55 °C 10 s, 72 °C 10 s, 35 个循环; 72 °C 7 min. PCR 产物经琼脂糖凝胶回收试剂盒回收, 连接 pMD19-T 载体后测序.

1.3.2 小菜蛾钙黏蛋白 P_xCR₁₀₋₁₁ 原核表达载体的构建

利用限制性内切酶 *Eco*R I 和 *Xho* I 分别对小菜蛾钙黏蛋白 P_xCR₁₀₋₁₁ DNA 序列和原核表达载体

pGEX4t 进行双酶切, 使其露出黏性末端, 在 T4 DNA 连接酶的作用下形成重组载体 pGEX4t-P_xCR₁₀₋₁₁. 通过热击法将 pGEX4t-P_xCR₁₀₋₁₁ 转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞并筛选阳性克隆; 提取 pGEX4t-P_xCR₁₀₋₁₁ 重组载体并转化 BL21 (DE3) 感受态细胞. 载体构建过程中所涉及的 PCR 技术和质粒提取、纯化、酶切、连接、转化等基本操作均参考《分子克隆实验指南》^[8] 和试剂盒说明书.

1.3.3 小菜蛾钙黏蛋白 P_xCR₁₀₋₁₁ 的原核表达及纯化

吸取带有重组质粒 pGEX4t-P_xCR₁₀₋₁₁ 的 BL21 (DE3) 菌液, 接种到 LB 液体培养基 (氨苄青霉素终质量浓度为 50 μ g/mL) 振荡过夜. 次日按 1% (体积分数) 重新接种到 LB 液体培养基 (氨苄青霉素终质量浓度为 50 μ g/mL), 调整转速为 220 r/min, 37 °C 培养 3 h, 加入异丙基- β -D 硫代半乳糖苷 (IPTG) 至终浓度为 0.2 mmol/L, 在转速 180 r/min、温度 30 °C 的条件下振荡培养 3 h, 诱导小菜蛾钙黏蛋白 P_xCR₁₀₋₁₁ 表达, 利用 GST 标签抗体, 通过蛋白质免疫印迹 (Western blot) 检测 P_xCR₁₀₋₁₁ 蛋白的表达. 根据 GST 琼脂糖预装柱说明书进行 P_xCR₁₀₋₁₁ 蛋白的纯化.

1.3.4 配体印迹分析

纯化的 P_xCR₁₀₋₁₁ 经 10% (质量分数) 的十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 转移到聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜; 加入 Bt Cry2Ab 蛋白 (终质量浓度 5 ng/mL) 孵育过夜, 利用 Cry2A 鼠单抗通过配体印迹检测 P_xCR₁₀₋₁₁ 是否和 Cry2Ab 蛋白发生相互作用. 以纯化的 GST 蛋白为对照, 配体印迹参照 Contreras 等^[9] 的方法.

1.3.5 P_xCR₁₀₋₁₁ 对 Cry2Ab 毒素的增效研究

选择三龄小菜蛾为靶标害虫, 采用平板饲喂法研究 P_xCR₁₀₋₁₁ 对 Cry2Ab 毒力的影响. 将人工饲料平铺于 12 孔板内, 自然晾干. 15 μ g Cry2Ab 蛋白和 5 μ g P_xCR₁₀₋₁₁ 蛋白混匀后溶解于 100 μ L 碳酸钠缓冲液 (50 mmol/L, pH 9.5), 平铺在人工培养基表面, 自然晾干. 每孔加入 10 头健康的三龄小菜蛾, 于 48 h 后统计死亡率, 实验重复 3 次, 通过 SPSS 19.0 软件的单因素方差分析对结果进行统计分析. 分别以只加 Cry2Ab 蛋白、只加 P_xCR₁₀₋₁₁ 蛋白和只加碳酸钠缓冲液的培养基作为对照, 研究 P_xCR₁₀₋₁₁ 是否能提高 Cry2Ab 对小菜蛾的杀虫毒力.

1.3.6 小菜蛾钙黏蛋白 P_xCR₁₀₋₁₁ 基因序列分析及同源建模分析

利用 NetNGlyc 1.0 Server (<http://www.cbs.dtu>.

<http://jxmu.xmu.edu.cn>

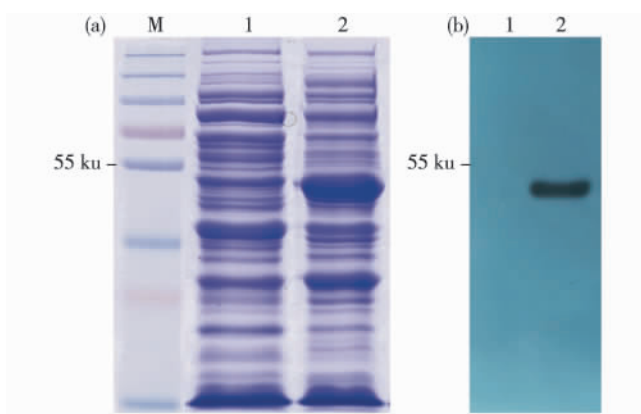
dk/services/NetNGlyc/) 和 NetOGlyc 4.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc-4.0/>) 分别预测小菜蛾钙黏蛋白 PxCR₁₀₋₁₁ 的 N-糖基化位点和 O-糖基化位点。利用蛋白质同源建模程序 I-TASSER (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>) 进行 PxCR₁₀₋₁₁ 的同源建模。

2 结果与分析

2.1 小菜蛾钙黏蛋白 PxCR₁₀₋₁₁ 的原核表达

通过 PCR 扩增获得 633 bp 的 PxCR₁₀₋₁₁ 片段,经测序鉴定无误后连接到 pGEX4t 载体得到 pGEX4t-PxCR₁₀₋₁₁ 重组质粒,并转化 BL21 (DE3) 原核表达菌株。

SDS-PAGE 结果(图 1(a))显示,实验组(经 IPTG 诱导)在 55 ku 下方有特异性条带而对照组(未加 IPTG 诱导)在该区域没有条带出现,蛋白条带大小与 GST-PxCR₁₀₋₁₁ 融合蛋白分子质量(约 49 ku)相符。Western blot 的结果(图 1(b))表明实验组在 55 ku 下方有明显的黑色条带而对照组在该区域没有显示出条带,证明了表达的蛋白是小菜蛾钙黏蛋白融合蛋白 GST-PxCR₁₀₋₁₁。



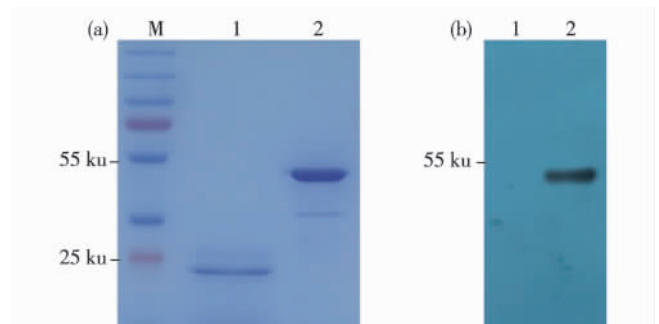
(a) PxCR₁₀₋₁₁ 蛋白原核表达 SDS-PAGE 检测;
(b) Western blot 验证 PxCR₁₀₋₁₁ 蛋白。
M. 蛋白分子质量标准; 1. 未加 IPTG 诱导;
2. 0.2 mmol/L IPTG 诱导。

图 1 PxCR₁₀₋₁₁ 原核表达及 Western blot 验证
Fig. 1 Prokaryotic expression and Western blot identification of PxCR₁₀₋₁₁ protein

2.2 小菜蛾钙黏蛋白 PxCR₁₀₋₁₁ 特异性结合 Cry2Ab 蛋白

利用 GST 凝胶柱成功纯化得到 GST-PxCR₁₀₋₁₁

蛋白(图 2(a)).配体印迹(图 2(b))的结果显示,GST-PxCR₁₀₋₁₁ 泳道在 55 ku 下方检测到明显条带,而 GST 泳道在 23 ku 附近则没有条带出现,表明 PxCR₁₀₋₁₁ 能和 Cry2Ab 蛋白特异性结合。

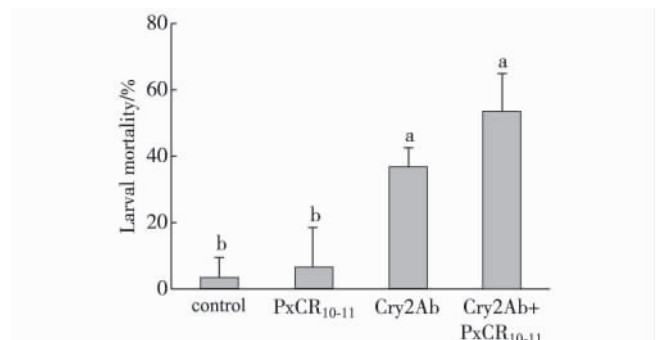


(a) GST-PxCR₁₀₋₁₁ 纯化蛋白;(b) 配体印迹验证 PxCR₁₀₋₁₁ 与 Cry2Ab 蛋白的结合。M. 蛋白分子质量标准; 1. GST 纯化蛋白; 2. GST-PxCR₁₀₋₁₁ 纯化蛋白。

图 2 配体印迹分析体外 Cry2Ab 与 PxCR₁₀₋₁₁ 蛋白的结合
Fig. 2 *In vitro* binding analysis between Cry2Ab and PxCR₁₀₋₁₁ with ligand blot

2.3 PxCR₁₀₋₁₁ 提高 Cry2Ab 蛋白对小菜蛾的杀虫毒力

杀虫实验的结果如图 3 所示:添加 PxCR₁₀₋₁₁ 组小菜蛾的致死率为 6.67%,和对照组(3.33%)无显著差异($p < 0.05$),表明 PxCR₁₀₋₁₁ 对三龄小菜蛾是无毒的;添加 Cry2Ab 组和添加 Cry2Ab+PxCR₁₀₋₁₁ 组虽然在统计结果上不存在显著差异($p > 0.05$),但是添加 Cry2Ab+PxCR₁₀₋₁₁ 组小菜蛾的致死率(53.33%)仍比添加 Cry2Ab 组小菜蛾的致死率(36.67%)提高 45.43%,表明 PxCR₁₀₋₁₁ 在一定程度上能提高 Cry2Ab 对小菜蛾的杀虫毒力。



不同字母表示有显著性差异($p < 0.05$)。

图 3 PxCR₁₀₋₁₁ 蛋白对 Cry2Ab 毒素的增效研究
Fig. 3 Synergistic analysis of PxCR₁₀₋₁₁ on Cry2Ab toxins

1~60 MAVDLKNEGC TADAGDCYSV YYRIVSDISE SFKVDAEKNI ISLTRELDRA DGVRHIVTVA
 61~120 ASNQPDATDN PTNVLTVTVF VREANPRPIF ENEVYTAGIS TMDSINRELF TVKATRTEML
 ▲ ▲
 121~180 SIKYTIDPSS MVADTSLQSV QGSFELDAD SGVLTLLKIKP TASMRGMFEF EVIATDTEQA
 181~240 TDRAEVKYYI VSDNNRVSFL FQNQLTQVEQ Y

N-糖基化位点用▲标出。

图 4 PxCR₁₀₋₁₁ 氨基酸序列及糖基化位点

Fig 4 Amino acid sequence and glycosylation site of PxCR₁₀₋₁₁

2.4 小菜蛾钙黏蛋白 PxCR₁₀₋₁₁ 结构特征分析

小菜蛾钙黏蛋白 PxCR₁₀₋₁₁ DNA 序列全长 633 bp, 编码 211 个氨基酸, 分子质量为 23 376.1 u, 等电点为 4.48, 有 2 个 N-糖基化位点(N⁷⁰ 和 N¹¹⁹), 没有 O-糖基化位点(图 4)。

同源建模结果如图 5 所示: 1~82 位氨基酸(左侧结构域)为 CR₁₀, 83~211 位氨基酸(右侧结构域)为 CR₁₁; 预测的 N-糖基化位点残基 N⁷⁰ 和 N¹¹⁹ 用箭头标出, 这些糖基化位点可能在钙黏蛋白识别 Cry 毒素的过程中发挥重要的作用。

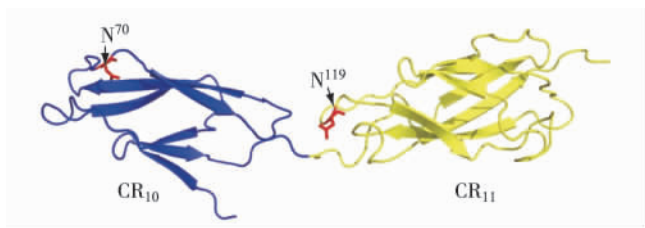


图 5 PxCR₁₀₋₁₁ 蛋白质 3D 结构

Fig 5 3D structure of PxCR₁₀₋₁₁ protein

3 讨论与结论

昆虫钙黏蛋白作为 Bt Cry 毒素在昆虫中肠的功能性受体而得到广泛研究^[3,5], 其重要意义在于钙黏蛋白能介导 Cry 毒素 Domain I α₁ 螺旋的切除及 Cry 毒素寡聚化^[3]. 现有研究表明钙黏蛋白与 Cry 毒素的结合区域是在跨膜结构域以及与跨膜结构域相连的 CR 结构域. 在黄粉虫(*Tenebrio molitor*)中 CR₁₂ 被报道作为 Cry3 的受体^[7]; 在棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)钙黏蛋白 CR₁₀₋₁₁ 结构域被报道作为 Cry1Ac 的结合区域, 该蛋白片段不仅能促进 Cry1Ac 寡聚化, 而且能增强 Cry1Ac 与棉铃虫中肠刷状缘膜囊泡蛋白的结合^[10].

本研究通过配体印迹证明 GST-PxCR₁₀₋₁₁ 能与 Cry2Ab 蛋白特异性结合. 杀虫实验的结果也表明 PxCR₁₀₋₁₁ 能够提高 Cry2Ab 对小菜蛾的毒力, 这可能是由于钙黏蛋白能促进 Cry2Ab 的寡聚化, 进而增强其杀虫毒力. 已有的研究表明 Cry 毒素可能通过识别受体表面的糖基与受体蛋白发生相互作用^[11-12]. 因此, 研究钙黏蛋白表面的糖基化位点是研究 Bt 毒素-受体相互作用机制的关键. 通过糖基化位点预测网站在线预测了 PxCR₁₀₋₁₁ 的 N-糖基化位点和 O-糖基化位点, 结果显示 PxCR₁₀₋₁₁ 没有 O-糖基化位点而含有 2 个 N-糖基化位点, 分别位于 CR₁₀ 的 N⁷⁰ 和 CR₁₁ 的 N¹¹⁹, 这 2 个糖基化位点可能是 PxCR₁₀₋₁₁ 和 Cry2Ab 的结合位点. 本研究结果表明 PxCR₁₀₋₁₁ 可能作为 Cry2Ab 的功能性受体, 将在后续研究中通过定点突变和 RNAi 进一步加以验证。

本研究克隆得到了小菜蛾钙黏蛋白的近膜区 CR 结构域 PxCR₁₀₋₁₁, 通过原核表达系统表达 PxCR₁₀₋₁₁ 蛋白, 并初步进行了功能研究, 进一步通过蛋白质同源建模构建了 PxCR₁₀₋₁₁ 的蛋白质结构并预测了 PxCR₁₀₋₁₁ 的糖基化位点, 为开展钙黏蛋白和 Bt 毒素的相互作用机制提供了基础指导。

参考文献:

[1] PIGOTT C R, ELLAR D J. Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2007, 71(2): 255-281.
 [2] VADLAMUDI R K, JI T H, BULLA L A. A specific binding protein from *Manduca sexta* for the insecticidal toxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268(17): 12334-12340.
 [3] SOBERÓN M, PARDO-LÓPEZ L, LÓPEZ I, et al. Engineering modified Bt toxins to counter insect resistance[J]. *Science*, 2007, 318(5856): 1640-1642.
 [4] GAHAN L J, GOULD F, HECKEL D G. Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*

- [J]. Science, 2001, 293(5531): 857-860.
- [5] XIE R, ZHUANG M, ROSS L S, et al. Single amino acid mutations in the cadherin receptor from *Heliothis virescens* affect its toxin binding ability to Cry1A toxins [J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(9): 8416-8425.
- [6] QIU L, HOU L, ZHANG B, et al. Cadherin is involved in the action of *Bacillus thuringiensis* toxins Cry1Ac and Cry2Aa in the beet armyworm, *Spodoptera exigua* [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2015, 127: 47-53.
- [7] FABRICK J, OPPERT C, LORENZEN M D, et al. A novel *Tenebrio molitor* cadherin is a functional receptor for *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa toxin [J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(27): 18401-18410.
- [8] SAMBROOK J, RUSSELL D W. 分子克隆实验指南 [M]. 黄培堂, 王栋梁, 周晓薇, 等译. 3 版. 北京: 科学出版社, 2002: 1217-1255.
- [9] CONTRERAS E, SCHOPPEMEIER M, REAL M D, et al. Sodium solute symporter and cadherin proteins act as *Bacillus thuringiensis* Cry3Ba toxin functional receptors in *Tribolium castaneum* [J]. Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(25): 18013-18021.
- [10] LIU C, WU K, WU Y, et al. Reduction of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxicity against *Helicoverpa armigera* by a soluble toxin-binding cadherin fragment [J]. Journal of Insect Physiology, 2009, 55(8): 686-693.
- [11] HUI F, SCHEIB U, HU Y, et al. Structure and glycolipid binding properties of the nematocidal protein Cry5B [J]. Biochemistry, 2012, 51(49): 9911-9921.
- [12] ZÚÑIGA-NAVARRETE F, GÓMEZ I, PEÑA G, et al. A *Tenebrio molitor* GPI-anchored alkaline phosphatase is involved in binding of *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa to brush border membrane vesicles [J]. Peptides, 2013, 41: 81-86.

Cloning, Prokaryotic Expression and Functional Analysis of PxCR₁₀₋₁₁ Domain in *Plutella xylostella* Cadherin

XU Lian¹, LIU Bo², PAN Zhizhen², ZHU Yujing², GAO Huanjuan¹, CHEN Qingxi^{1*}

(1. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China;

2. Agricultural Bio-resources Research Institute, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou 350003, China)

Abstract: Cadherin, formed by a number of characteristic cadherin repeats (CR) domains, is a chain-like membrane glycoprotein. It was widely reported that cadherin in insect midgut played an essential role in the insecticidal activities of *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxins. The CR domain near the cell membrane was documented as an interaction region with Bt toxins. *Plutella xylostella* cadherin PxCR was formed by 11 CR domains and a transmembrane domain. The 10th and 11th CR domains (PxCR₁₀₋₁₁) in PxCR were regarded as a potential interaction region with Bt toxins. In this study, PxCR₁₀₋₁₁ domain was cloned from *Plutella xylostella* midgut cDNA, and then a prokaryotic expression vector pGEX4t-PxCR₁₀₋₁₁ was constructed and the fusion protein GST-PxCR₁₀₋₁₁ was induced to express. Ligand blot indicated that PxCR₁₀₋₁₁ could specially bind to Cry2Ab and the bioassay revealed that PxCR₁₀₋₁₁ had synergistic effect on Cry2Ab against *Plutella xylostella* larvae. Furthermore, homologous modeling of PxCR₁₀₋₁₁ was conducted and the glycosylation sites in PxCR₁₀₋₁₁ were predicted. These results indicate that PxCR₁₀₋₁₁ is involved in the processing of Cry2Ab against *Plutella xylostella* larvae, which lays the foundation for the interaction mechanism of PxCR₁₀₋₁₁ with Cry2Ab toxins.

Key words: cadherin; CR domain; homologous modeling; clone; prokaryotic expression; Cry2Ab; ligand blot