

# 酵母双杂交筛选灰飞虱体内水稻黑条矮缩病毒 p10 的互作蛋白

徐秋芳 陈晴晴 张金凤 李硕 倪海平 周益军\*

(江苏农业科学院 植物保护研究所/江苏省植物病毒病诊断检测中心, 南京 210014; \* 通讯联系人, E-mail: yjzhou@jaas.ac.cn)

## Screening of RBSDV p10 Interacting Proteins in Small Brown Planthoppers by Yeast Two Hybrid System

XU Qiu-fang, CHEN Qing-qing, ZHANG Jin-feng, LI Shuo, NI Hai-ping, ZHOU Yi-jun\*

(Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Technical Service Center of Diagnosis and Detection for Plant Virus Diseases, Nanjing 210014, China; \* Corresponding author, E-mail: yjzhou@jaas.ac.cn)

XU Qiufang, CHEN Qingqing, ZHANG Jinfeng, et al. Screening of RBSDV p10 interacting proteins in small brown planthoppers by yeast two hybrid system. *Chin J Rice Sci*, 2013, 27(6): 633-638.

**Abstract:** To reveal protein factors in *Laodelphax striatellus* Fallen(the small brown planthopper, SBPH) that related to *Rice black-streaked dwarf virus* (RBSDV) transmission, the outer capsid protein p10 encoded by RBSDV S10 was selected as bait to screen the SBPH cDNA library. RBSDV *p10* gene was inserted to pGBKT7 vector and the bait plasmid pGBKT7-p10 was constructed. The result of auto-activation test showed that p10 could not autonomously activate the expression of reporter genes in yeast and had no toxicity to yeast cell. To obtain the interacting proteins with p10, the pGADT7-cDNA library plasmids were transformed to the yeast AH109 which contains pGBKT7-p10. Three hundred and twenty-six positive clones were acquired. The sequencing results show that these positive clones encode 14 proteins, including Actin 1, GAPDH and RACK. These interacting proteins were involved in several processes such as endocytosis, exocytosis and membrane fusion. The interactions between p10 and these proteins may be related to the viral circulation and proliferation in insect vector.

**Key words:** *Rice black-streaked dwarf virus*; capsid protein; interacting protein; yeast two hybrid

徐秋芳, 陈晴晴, 张金凤, 等. 酵母双杂交筛选灰飞虱体内水稻黑条矮缩病毒 p10 的互作蛋白. 中国水稻科学, 2013, 27(6): 633-638.

**摘要:** 为获取灰飞虱体内传播 RBSDV 相关介体因子, 以 RBSDV 编码的外层外壳蛋白 p10 为诱饵, 采用酵母双杂交方法从灰飞虱 cDNA 文库中筛选与 RBSDV p10 互作的蛋白。将 RBSDV *p10* 基因构建至 pGBKT7 载体获得诱饵表达载体 pG-BKT7-p10。自激活实验结果表明, p10 蛋白对酵母细胞无毒性, 也不具有自激活活性。通过 pGADT7-cDNA 文库质粒转化含有 pGBKT7-p10 的酵母 AH109 筛选获得灰飞虱 cDNA 文库中与 p10 互作的蛋白。文库筛选共获得 326 个阳性克隆。测序结果表明这些阳性克隆编码 14 种不同的互作蛋白, 包括 Actin 1, GAPDH, RACK 等。这些互作蛋白参与胞吞胞吐作用和膜融合等过程, 可能与病毒在介体内的循环和增殖相关。

**关键词:** 水稻黑条矮缩病毒; 外壳蛋白; 互作蛋白; 酵母双杂交

中图分类号: S435.112<sup>+</sup>.3; S435.111.4<sup>+</sup>9

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2013)06-0633-06

水稻黑条矮缩病毒(*Rice black streaked dwarf virus*, RBSDV)为呼肠孤病毒科斐济病毒属(*Fiji-virus*)成员, 可侵染水稻、玉米、小麦、大麦、高粱、燕麦等禾本科植物。在我国, RBSDV 不仅危害水稻引起水稻黑条矮缩病, 同时也是引起玉米粗缩病的病原<sup>[1-4]</sup>。RBSDV 主要通过介体灰飞虱以增殖型持

久性方式传播。介体传毒是病害发生和流行的根本原因<sup>[5]</sup>。然而, 对该病毒和由该病毒引起的病毒病研究主要局限在病毒基因组功能、病毒与寄主植物互作等方面<sup>[6-12]</sup>, 对 RBSDV 介体传播的分子机制知之甚少。RBSDV 不能通过机械接种和汁液传播, 必须借助介体内的一些因子来完成病毒的复制、

收稿日期: 2013-04-27; 修改稿收到日期: 2013-05-17。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31000841); 公益性行业(农业)科研专项(201003031); 江苏省农业科学技术自主创新资金项目[CX(13)5019]。

增殖、循环，并最终侵染植物。因此，本研究通过获取灰飞虱体内的病毒互作因子作为突破口来解析灰飞虱传播RBSDV的分子机制。

在呼肠孤病毒科中，传播机制研究最为深入的是植物呼肠孤病毒属的水稻矮缩病毒(*rice dwarf virus*, RDV)。RDV编码的外层衣壳蛋白是病毒通过膜融合机制进入昆虫细胞的关键蛋白<sup>[13]</sup>。P2同时也是介体传播的重要因子。缺失P2蛋白的RDV粒子不能侵染昆虫细胞也不能被介体获毒，将其注入昆虫血腔后，病毒不能复制，也不能进行传播<sup>[14-16]</sup>，表明P2蛋白在介体传毒及病毒复制过程中具有决定性作用。RBSDV病毒粒子为二十面体结构，具有双层衣壳，病毒基因组由10条双链dsRNA组成，按期在变性凝胶上的电泳迁移率由慢到快依次称为S1~S10。RBSDV p10是病毒的外层衣壳蛋白，在病毒粒子的最外层<sup>[10]</sup>，RBSDV病毒粒子的结构与RDV相似，推测RBSDV p10可能具有类似RDV P2的功能而在介体传毒过程中起重要作用。

对病毒的传毒机制研究表明病毒的外壳蛋白在介体传毒过程中具有重要作用。吴云锋等<sup>[17]</sup>将CMV高蚜传病毒株系(HAT)的RNA和低蚜传病毒株系(PAT)的CP体外组装在一起时，桃蚜传毒能力大大下降，若用RNA-PAT与CP-HAT组合则产生了高传毒率，当给非蚜传病毒的烟草花叶病毒(TMV)的RNA包装上CMV的外壳蛋白后，则TMV也能够被蚜虫传毒，表明病毒粒子的CP特性决定能否被蚜虫传播。葡萄扇叶病毒(*Grapevine fanleaf virus*, GFLV)的外壳蛋白是介体传播的决定因子<sup>[18]</sup>。因此，本研究选取了RBSDV外层外壳蛋白p10作为诱饵筛选灰飞虱体内的互作因子，以期获得一些与灰飞虱传播RBSDV相关的介体因子。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

RBSDV小麦病株采自江苏建湖。灰飞虱cDNA文库由本实验室构建保存；酵母菌AH109、酵母表达载体pGADT7、pGBK7及各种酵母培养基购自Clontech公司；TRIzol购自Invitrogen公司；PMD-18T载体、PrimerScript逆转录试剂盒、*Nde*I、*Bam*H I购自TaKaRa公司；质粒小量制备试剂盒、胶回收试剂盒购自AXYGEN公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 p10基因的扩增和诱饵载体pGBK7-p10的构建

提取RBSDV小麦病株的RNA后，采用PrimerScript逆转录试剂盒进行反转录，获得含有RBSDV基因组的cDNA。根据已登录的RBSDV S10序列(基因登录号NC\_003733)设计p10基因引物RBSDV p10-F(5'-GCATATGGCTGACATAAGA CTC-3'，划线部分为*Nde*I位点)和RBSDV p10-R(5'-CGAACCTCATCTTGTCACTTTGTTA-3'，划线部分为*Bam*H I位点)。以RBSDV p10-F/RBSDV p10-R为引物，含有RBSDV基因组的cDNA为模板，PCR扩增p10基因。扩增产物经割胶回收后连接pMD-18T载体，转化大肠杆菌Top10，通过PCR和测序获取阳性克隆，并命名为pMD18T-p10。利用*Nde*I、*Bam*H I双酶切pMD18T-p10重组质粒，酶切产物经割胶回收后连接至pGBK7载体，通过PCR、双酶切和序列测定筛选获得诱饵载体的阳性克隆，命名为pGBK7-p10。

### 1.2.2 诱饵载体pGBK7-p10转化酵母AH109及自激活检测

重组诱饵质粒pGBK7-p10通过热激法转化酵母AH109。转化产物涂于SD/-Trp平板上，30℃下恒温倒置培养3~5d，观察记录转化菌的生长情况。挑取平板上生长良好的酵母菌落，转接至SD/-Trp液体培养基中培养，并提取质粒。以此质粒为模板，p10-F/p10-R为引物进行PCR扩增，分析诱饵载体pGBK7-p10是否成功转化至AH109。

为分析pGBK7-p10对酵母是否具有自激活活性及对酵母菌生长的影响，挑取成功转化的pGBK7-p10酵母单菌落分别划线于SD/-Trp/X- $\alpha$ -Gal和SD/-His平板上，30℃下恒温倒置培养3~5d，观察记录酵母菌的生长情况。

### 1.2.3 与p10互作灰飞虱蛋白的筛选

采用顺序转化法筛选灰飞虱中的p10互作蛋白。将pGBK7-p10转化至酵母AH109后，以含有pGBK7-p10的酵母菌AH109制备感受态细胞。提取连接至pGADT7的cDNA文库质粒，并转化含有pGBK7-p10的酵母菌AH109。转化产物涂布于SD/-Leu/-Trp/-His平板上，30℃下恒温倒置培养3~5d。挑取生长良好的单菌落接种至SD/-Ade/-Leu/-Trp/-His/X- $\alpha$ -Gal平板上，30℃下恒温倒置

培养 3~5 d, 观察酵母的生长及显色情况。

#### 1.2.4 阳性菌落中 pGADT7 插入片段的扩增和测序

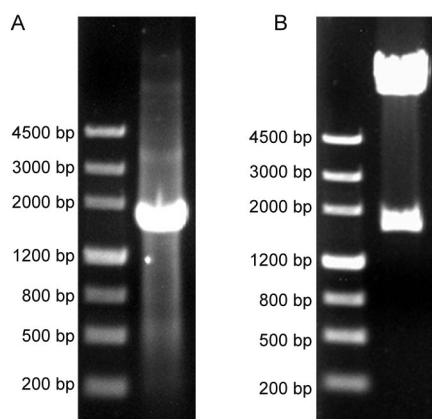
挑取 SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp/X- $\alpha$ -Gal 平板上生长良好且显现蓝色的阳性菌落, 转接至 SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp 液体培养基中培养, 并提取质粒。

以阳性克隆质粒为模板, T7 测序引物(5'-TAA TACGACTCACTATAAGGGC-3') 和 3'-AD 测序引物 (5'-AGATGGTGCACGATGCACAG-3') 为引物, PCR 扩增阳性酵母中 cDNA 的插入片段。将通过 PCR 可以扩增出插入片段的质粒转化大肠杆菌 Top10, 测序分析插入片段序列。测序结果在 NCBI 数据库进行 BLAST 序列比对, 明确这些基因的身份。

## 2 结果与分析

### 2.1 诱饵载体的构建及转化酵母 AH109

以 RBSDV 小麦病株 cDNA 为模板, PCR 扩增 RBSDV *p10* 基因。电泳结果显示, PCR 可以特异性扩增到约 1700 bp 的片段(图 1-A), 与预期大小一致。PCR 扩增产物经割胶回收纯化后连接至 pMD18T 载体, 获得 pMD18T-p10 阳性克隆。测序验证序列正确后, 通过 *Nde* I/*Bam* H I 双酶切, 将 RBSDV *p10* 构建至酵母表达载体 pGBKT7, 获



A—*p10* 基因扩增产物; B—pGBKT-p10 质粒的双酶切鉴定。

A, PCR product of RBSDV *p10*; B, Double digestion of plasmid pGBKT-p10.

图 1 RBSDV *p10* 基因 PCR 扩增及重组质粒 pGBKT-p10 双酶切鉴定

Fig.1. PCR amplification of RBSDV *p10* gene and double digestion identification of recombinant plasmid pGBKT-p10.

得诱饵载体 pGBKT-p10。pGBKT-p10 经双酶切检验, 可以观察到大小为 1700 bp 左右的目的片段(图 1-B), 表明诱饵载体 pGBKT-p10 构建成功。

本研究采用顺序转化法来筛选 *p10* 的互作蛋白。诱饵载体 pGBKT-p10 质粒通过热激法转化酵母菌 AH109。为验证 pGBKT-p10 质粒是否成功转入酵母细胞, 提取 SD/-Trp 平板上生长良好的单克隆菌落的酵母菌质粒并进行 PCR 检测。电泳结果显示, 转化的菌落中可以检测到 1700 bp 的目的条带, 表明诱饵载体 pGBKT-p10 成功转化至酵母菌 AH109, 可以此酵母菌制备感受态进行后续的文库筛选。

### 2.2 pGBKT7-p10 的自激活检测

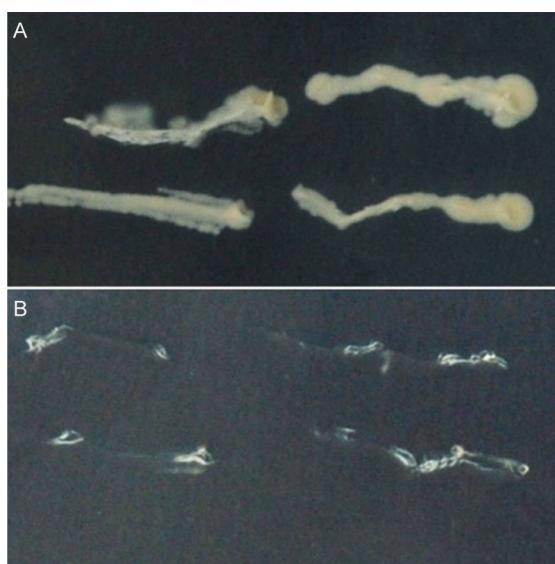
在进行酵母双杂交文库筛选之前, 为了分析 *p10* 基因是否适合作为诱饵蛋白, 我们分析了 pGBKT7-p10 融合蛋白对酵母菌株生长是否有影响以及 *p10* 蛋白是否具有自激活活性。将转化 pGBKT7-p10 重组质粒的酵母菌 AH109 分别划线接种在 SD/-Trp/X- $\alpha$ -Gal 和 SD/-His 平板上, 于 30℃ 下恒温培养箱中放置 3 d, 观察酵母菌的生长情况。结果表明, 转化 pGBKT7-p10 的酵母菌能在 SD/-Trp/X- $\alpha$ -Gal 的平板上正常生长, 但不显蓝色(图 2-A), 说明 pGBKT7-p10 融合蛋白对酵母菌 AH109 的细胞生长无毒性且不具有自激活活性。转化 pGBKT7-p10 的 AH109 酵母菌不能在 SD/-His 的选择性平板上生长(图 2-B), 说明表达的融合蛋白不具有激活报告基因(HIS3)的作用。这些结果表明 *p10* 可以作为诱饵蛋白筛选与之互作的基因。

### 2.3 筛选灰飞虱中与 *p10* 互作的蛋白

提取灰飞虱 cDNA 表达文库质粒, 转化含有诱饵质粒 pGBKT-p10 的 AH109 感受态细胞, 转化产物涂布于 SD/-His/-Leu/-Trp 营养缺陷型培养基, 培养 3~5 d 后, SD/-His/-Leu/-Trp 营养缺陷型培养基有若干个生长良好的菌落。挑取三缺平板上生长状态良好的单克隆菌落转接至 SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp/X- $\alpha$ -Gal 平板上, 观察菌落生长及显蓝情况。统计结果显示, 生长状况良好且显示蓝色的菌落共有 455 个。

### 2.4 阳性菌落中 pGADT7 插入片段的扩增和测序

挑取 SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp/X- $\alpha$ -Gal 平板上生长良好且显现蓝色的阳性菌落, 转接至 SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp 液体培养基中培养, 并提取质



转化 pGBKT7-p10 的酵母菌 AH109 能在 SD/-Trp/X- $\alpha$ -Gal 平板上生长(A),不能在 SD/-His 平板生长(B)。

AH109 transformed with pGBKT7-p10 grew on SD/-Trp/X- $\alpha$ -Gal plate(A) and don't grow on SD/-His plate (B).

图 2 pGBKT7-p10 的自激活检测

Fig. 2. Test of auto-activated activity of pGBKT7-p10.

粒,PCR 分析 cDNA 插入片段的大小。结果表明 cDNA 插入片段的大小在 500~2000 bp 的范围内。将通过 PCR 可以扩增出插入片段的质粒转化大肠杆菌 Top10,测序分析插入片段序列。测序得到的

序列在 NCBI 中进行 BLAST 比对,查找同源序列,根据同源序列的注释信息明确所筛选到的阳性克隆基因。

由于部分阳性菌落不能成功提取质粒或质粒成功提取但测序没有成功,455 个阳性克隆最终成功测序的共有 326 个克隆。其中,311 个克隆的测序序列可以直接用核酸序列进行核苷酸 BLAST 获得同源基因,另外 15 个克隆的测序序列比对后没有获得同源序列。将进行核苷酸 BLAST 没有得到同源基因的 15 个克隆序列翻译成蛋白序列,进行蛋白质 BLAST 分析,获得同源的蛋白序列。序列比对分析后,除去重复的克隆,所测定的阳性克隆共对应 14 种不同的基因。克隆数最多的基因是 *Actin 1* 基因,其次是表皮蛋白基因(tweedle motif cuticular protein 1, TWDL1)和激活的蛋白激酶 C 受体基因(activated protein kinase C receptor, RACK)。这三种基因的克隆数共计 301 个,占阳性克隆总数的 92.3%。由于 GenBank 中灰飞虱的序列信息较少,比对结果所获得的同源序列只有 RACK 和 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)来自灰飞虱。序列分析结果见表 1。

### 3 讨论

灰飞虱是一种重要的媒介昆虫,不仅可以传播

表 1 酵母双杂交筛选到的灰飞虱中与 RBSDV p10 互作的基因列表

Table 1. List of RBSDV p10 interactors screened by yeast two hybrid.

编号 Number	基因名称/功能 Gene name or description	基因序列登录号 Gene accession number	蛋白序列登录号 Protein accession number	物种 Species	一致率 Identity /%	克隆数 Number of clones
1	Actin 1	EU179846		<i>Nilaparvata lugens</i>	88	167
2	Tweedle motif cuticular protein 1	NM_001142608		<i>Nasonia vitripennis</i>	80	95
3	Activated protein kinase C receptor	HQ385972		<i>Laodelphax striatellus</i>	99	39
4	Serpin peptidase inhibitor 3		EFA12666	<i>Tribolium castaneum</i>	38	8
5	Himetobi P virus genomic RNA	AB183472			99	3
6	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	HQ385974		<i>Laodelphax striatellus</i>	99	3
7	$\beta$ -fructofuranosidase protein	AB125971		<i>Arthrobacter globiformis</i>	84	2
8	Tropomyosin 1	NM_001159873		<i>Nasonia vitripennis</i>	86	1
9	AIF-like mitochondrial oxidoreductase (Nfrl)		EFY96732	<i>Metarrhizium anisopliae</i>	73	1
10	Prefoldin subunit 2-like		XP_001600260	<i>Nasonia vitripennis</i>	56	1
11	Similar to 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 8		XP_971959	<i>Tribolium castaneum</i>	71	1
12	Putative 40S ribosomal protein SA	DQ673408		<i>Diaphorina citri</i>	77	1
13	Ribosomal protein L4e		CAJ17227	<i>Biphyllus lunatus</i>	65	1
14	Hypothetical protein		ENN75524	<i>Dendroctonus ponderosae</i>	30	3

水稻黑条矮缩病毒引起水稻黑条矮缩病和玉米粗缩病,还可以传播水稻条纹病毒(*Rice stripe virus*, RSV)和小麦丛矮病毒(*Wheat rosette stunt virus*, WRSV)引起水稻条纹叶枯病和小麦丛矮病。解析灰飞虱传播病毒的分子机制对灰飞虱传播的病毒病的防控具有重要意义。本研究以 RBSDV 外层衣壳蛋白 p10 为诱饵,通过酵母双杂交方法筛选介体灰飞虱体内与 RBSDV 的互作蛋白,通过文库筛选共获取了 14 种互作蛋白,这些蛋白可能在 RBSDV-灰飞虱互作中起重要作用。在这些互作蛋白中,三种蛋白 Actin 1、TWDL1 和 RACK 的克隆数占到了阳性克隆总数的 92.3%,而其他互作蛋白的克隆相对较少,这可能与互作蛋白在细胞内的丰度有关。

已有研究表明,肌动蛋白(Actin)、RACK 和 GAPDH 在病毒与介体互作过程中具有重要作用。Actin 对于病毒在介体细胞内的转运具有重要作用。病毒可以通过胞吞作用侵入介体细胞。胞吞作用受 Actin 细胞骨架结构和激活的蛋白激酶 C (activated protein kinase C, PKC) 活性的调控<sup>[19]</sup>。Actin 通过连接类似肌球蛋白马达(myosin-like motor)将病毒转运至细胞内<sup>[20]</sup>。病毒侵染细胞的方式除胞吞作用外,还可以通过微胞饮(macropinocytosis)作用进入细胞。微胞饮需要 Actin 驱动的细胞膜折叠,Actin 微丝在上皮细胞内吞作用中起到了关键作用,它为细胞膜通过内陷进入内吞囊泡提供了能量<sup>[21]</sup>。许多病毒包括水稻条纹病毒 RSV 沿着 Actin 微丝进行转运<sup>[22-23]</sup>。

RACK 为 G 蛋白  $\beta$  亚基的同系物,是一类含有 WD-40 重复结构的蛋白家族,广泛存在于真核和原核生物中。RACK 作为 PKC 的受体蛋白,在多个信号转导途径中起重要作用<sup>[24-25]</sup>。RACK 通过与 PKC 结合,锚定至细胞骨架上和细胞膜<sup>[26-28]</sup>。已有研究表明,PKC 可以通过磷酸化作用调控病毒的胞吞转运<sup>[29]</sup>。因此,RACK 可能与 PKC 形成膜复合物,参与病毒的胞吞和胞吐作用。

GAPDH 是糖酵解途径中的一种关键酶,催化 3-磷酸甘油醛转变为 1,3-二磷酸甘油醛,同时以 NAD<sup>+</sup> 为受体生成 NADH。GAPDH 不仅参与糖酵解途径,还在微管聚合、细胞内吞、膜融合、tRNA 转运等过程中起重要作用。已有研究表明,GAPDH 在膜融合和膜转运过程中有重要作用。Glaser 等<sup>[30]</sup>分离出具有膜融合活性的 GAPDH,它先与微管分离后再经修饰催化膜融合,但它没有糖酵解功能。未被磷酸化的 GAPDH 高度亲和  $\alpha$  微管蛋白,在 PKC 磷酸化 GAPDH 后,GAPDH 高度亲和  $\beta$  微管蛋白,GAPDH 可能经 PKC 磷酸化修饰后与  $\beta$

微管蛋白高亲和而参与囊泡运输<sup>[31]</sup>。野生型的甜菜西黄病毒(*beet western yellows virus*, BWYV)能与介体蚜虫膜蛋白组分中的 GAPDH 结合,而不与来源于蚜虫可溶蛋白组分中的 GAPDH 结合,推测 GAPDH 可能参与了病毒跨膜过程<sup>[28]</sup>。

核糖体蛋白是核糖体的主要成分,能够在细胞质中催化蛋白的合成。Li 等<sup>[32]</sup>通过病毒覆盖方法发现灰飞虱的 RACK、GAPDH 和 3 个核糖体蛋白(RPL5、RPL7a 和 RPL8)能与 RSV 互作。本研究筛选到两个与 RBSDV p10 互作的核糖体蛋白(putative 40S ribosomal protein SA 和 ribosomal protein L4e),推测核糖体蛋白对病毒在灰飞虱体内的复制具有重要作用。RBSDV 和 RSV 均为循回增殖型病毒,通过介体灰飞虱进行传播,两者均能与 RACK、GAPDH 和核糖体蛋白互作,表明灰飞虱在传播这两种病毒的分子机制上存在一定的相似性。RSV 和 RBSDV 可能均需借助与 RACK 和 GAPDH 互作,实现病毒跨膜和在介体内转运。

## 参考文献:

- [1] 方守国,于嘉林,冯继东,等.我国玉米粗缩病株上发现的水稻黑条矮缩病毒.农业生物技术学报,2000,8(1): 12.
- [2] Fang S, Yu J, Feng J, et al. Identification of rice black-streaked dwarf fijivirus in maize with rough dwarf disease in China. *Arch Virol*, 2001, 146(1): 167-170.
- [3] Zhang H M, Chen J P, Lei J L, et al. Sequence analysis shows that a dwarfing disease on rice, wheat and maize in China is caused by rice black-streaked dwarf virus. *Eur J Plant Pathol*, 2001, 107(5): 563-567.
- [4] Bai F W, Yan J, Qu Z C, et al. Phylogenetic analysis reveals that a dwarfing disease on different cereal crops in China is due to rice black streaked dwarf virus (RBSDV). *Virus Genes*, 2002, 25(2): 201-206.
- [5] Wang H D, Chen J P, Wang A G, et al. Studies on the epidemiology and yield losses from rice black-streaked dwarf disease in a recent epidemic in Zhejiang province, China. *Plant Pathol*, 2009, 58(5): 815-825.
- [6] 陈声祥,张巧艳.我国水稻黑条矮缩病和玉米粗缩病研究进展.植物保护学报,2005, 32(1): 97-103.
- [7] Zhang H M, Chen J P, Adams M J. Molecular characterisation of segments 1 to 6 of rice black-streaked dwarf virus from China provides the complete genome. *Arch Virol*, 2001, 146 (12): 2331-2339.
- [8] Wang X F, Zhou G H. Identification of a protein associated with circulative transmission of barley yellow dwarf virus from cereal aphids, *Schizaphis graminum* and *Sitobion avenae*. *Chin Sci Bull*, 2003, 48(19): 2083 - 2087.
- [9] Zhang L D, Wang Z H, Wang X B, et al. Two virus-encoded RNA silencing suppressors, P14 of *Beet necrotic yellow vein virus* and S6 of *rice black streak dwarf virus*. *Chin Sci Bull*, 2005, 50(4): 305-310.
- [10] Liu H J, Wei C H, Zhong Y W, et al. Rice black-streaked

- dwarf virus outer capsid protein P10 has self-interactions and forms oligomeric complexes in solution. *Virus Res*, 2007, 127(1): 34-42.
- [11] Wang Q, Tao T, Zhang Y J, et al. Rice black-streaked dwarf virus P6 self-interacts to form punctate, viroplasm-like structures in the cytoplasm and recruits viroplasm-associated protein P9-1. *Virol J*, 2011, 8(1): 8-24.
- [12] Jia M A, Li Y, Lei L, et al. Alteration of gene expression profile in maize infected with a double-stranded RNA fijivirus associated with symptom development. *Mol Plant Pathol*, 2012, 13(3): 251-262.
- [13] Zhou F, Pu Y Y, Wei T Y, et al. The P2 capsid protein of the nonenveloped rice dwarf phytoreovirus induces membrane fusion in insect host cells. *Proc Natl Acad Sci*, 2007, 104(49): 19547-19552.
- [14] Yan J, Tomaru M, Takahashi A, et al. P2 protein encoded by genome segment S2 of rice dwarf phytoreovirus is essential for virus infection. *Virology*, 1996, 224(2): 539-541.
- [15] Tomaru M, Maruyama W, Kikuchi A, et al. The loss of outer capsid protein P2 results in nontransmissibility by the insect vector of rice dwarf phytoreovirus. *J Virol*, 1997, 71(10): 8019-8023.
- [16] Omura T, Yan J, Zhong B X, et al. The P2 protein of rice dwarf phytoreovirus is required for adsorption of the virus to cells of the insect vector. *J Virol*, 1998, 72(11): 9370-9373.
- [17] 吴云峰, 杜菊花, 魏宁生. 三种非持久性病毒蚜虫传播专化性研究. 西北农业学报, 1996, 5(1): 39-42.
- [18] Marmonier A, Schellenberger P, Esmenjaud D, et al. The coat protein determines the specificity of virus transmission by *Xiphinema diversicaudatum*. *J Plant Pathol*, 2010, 92(1): 275-279.
- [19] Deckert M, Ticchioni M, Bernard A. Endocytosis of GPI-anchored proteins in human lymphocytes: Role of glycolipid-based domains, actin cytoskeleton, and protein kinases. *J Cell Biol*, 1996, 133(4): 791-799.
- [20] Lanier L M, Volkman L E. Actin binding and nucleation by *Autographa californica M nucleopolyhedrovirus*. *Virology*, 1998, 243(1): 167-177.
- [21] Gottlieb T A, Ivanov I E, Adesnik M, et al. Actin microfilaments play a critical role in endocytosis at the apical but not the basolateral surface of polarized epithelial cells. *J Cell Biol*, 1993, 120(3): 695-710.
- [22] Harries P A, Schoelz J E, Nelson R S. Intracellular transport of viruses and their components: Utilizing the cytoskeleton and membrane highways. *Mol Plant Microbe*, 2010, 23(11): 1381-1393.
- [23] Yuan Z J, Chen H Y, Chen Q, et al. The early secretory pathway and an actin-myosin III motility system are required for plasmodesmatal localization of the NSvc4 protein of Rice stripe virus. *Virus Res*, 2011, 159(1): 62-68.
- [24] Liedtke C M, Yun C C, Kyle N, et al. PKC-dependent regulation of CFTR involves binding to RACK1, a receptor for activated C kinase, and RACK1 binding to NHERF1. *J Biol Chem*, 2002, 277:22925-22933.
- [25] McCahill A, Warwick J, Bolger G B, et al. The RACK1 scaffold protein: A dynamic cog in cell response mechanisms. *Mol Pharmacol*, 2002, 62(6): 1261-1273.
- [26] Ron D, Mochly-Rosen D. An autoregulatory region in protein kinase C: The pseudoanchoring site. *Proc Natl Acad Sci*, 1995, 92(2): 492-496.
- [27] Ron D, Jiang Z, Yao L N, et al. Coordinated movement of RACK1 with activated  $\beta$ IIPKC. *J Biol Chem*, 1999, 274(38): 27039-27046.
- [28] Seddas P, Boissinot S, Strub J M, et al. Rack-1, GAPDH3, and actin: Proteins of *Myzus persicae* potentially involved in the transcytosis of beet western yellows virus particles in the aphid. *Virology*, 2004, 325(2): 399-412.
- [29] Sieczkarski S B, Whittaker G R. Dissecting virus entry via endocytosis. *J Gen Virol*, 2002, 83(7): 1535-1545.
- [30] Glaser P E, Han X, Gross R W. Tubulin is the endogenous inhibitor of the glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase isoform that catalyzes membrane fusion: Implications for the coordinated regulation of glycolysis and membrane fusion. *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99(22): 14104-14109.
- [31] 尚海旭, 井然, 贾弘湜, 等. GAPDH 功能多样性. 生理科学进展, 2011, 42(5): 371-374.
- [32] Li S, Xiong R Y, Wang X F, et al. Five proteins of *Laodelphax striatellus* are potentially involved in the interactions between rice stripe virus and vector. *PloS One*, 2011, 6(10): e26585.