

水稻条纹病毒胁迫下灰飞虱基因的差异表达

肖冬来^{1,2}, 邓慧颖¹, 谢荔岩¹, 吴祖建^{1,*}, 谢联辉^{1,*}

(1. 福建农林大学植物病毒研究所, 福建省植物病毒学重点实验室, 福州 350002; 2. 福建省农业科学院食用菌研究所, 福州 350002)

摘要: 水稻条纹病毒(rice stripe virus, RSV)主要由介体昆虫灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 以循环增殖型方式经卵传播, 目前 RSV 与灰飞虱间的互作研究很少。为了研究 RSV 侵染对灰飞虱基因表达的影响, 采用 5 条随机引物和 3 条锚定引物, 利用 mRNA 差异显示(differential display RT-PCR, DDRT-PCR)技术分析了带毒和无毒灰飞虱种群基因表达差异。且利用正交实验优化了 DDRT-PCR 反应体系中的模板浓度、锚定引物浓度、随机引物浓度、dNTPs 浓度、镁离子浓度及 Taq 酶用量。结果表明: 最佳 DDRT-PCR 体系(25 μ L)为 cDNA 3.0 μ g, 随机引物 2.0 μ mol/L, 锚定引物 2.5 μ mol/L, dNTPs 200 μ mol/L, Mg^{2+} 2.0 μ mol/L, Taq 酶 2.0 U。mRNA 差异显示共获得 35 条差异片段, 选取其中 6 条经 RNA 斑点杂交验证, 获得了 4 条阳性差异片段。其中 3 条阳性片段为带毒灰飞虱种群特异表达, 分别与 5-羟色胺受体 1D、旋转酶 B、60S 核蛋白 L40 高度同源, 无毒灰飞虱种群中特异表达的一条阳性片段在 NCBI 核酸数据库中比对无同源序列。DDRT-PCR 优化体系的建立及部分差异片段的获得为进一步研究灰飞虱与 RSV 间的互作提供了帮助。

关键词: 灰飞虱; 水稻条纹病毒; 差异表达基因; DDRT-PCR; 正交试验

中图分类号: Q965.8 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2010)08-0914-06

Identification of differentially expressed genes in *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae) under RSV stress

XIAO Dong-Lai^{1,2}, DENG Hui-Ying¹, XIE Li-Yan¹, WU Zu-Jian^{1,*}, XIE Lian-Hui^{1,*} (1. Key Laboratory of Plant Virology of Fujian Province, Institute of Plant Virology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Institute of Edible Fungi, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Rice stripe virus (RSV) is mainly transmitted by insect vector *Laodelphax striatellus* in circulative-propagative and transovarial manners. The interaction between RSV and *L. striatellus* is largely unknown. To investigate the effects of RSV on gene expression in *L. striatellus*, viruliferous and virus-free *L. striatellus* populations were detected to reveal the differentially expressed genes with five random primers and three anchor primers by differential display RT-PCR (DDRT-PCR). Furthermore, positive-cross test was performed to find optimal conditions of DDRT-PCR by analyzing six critical parameters including cDNA template, random primer, anchor primer, dNTPs, Mg^{2+} and Taq. The results showed that the optimal conditions of DDRT-PCR (25 μ L) included cDNA template 3.0 μ g, random primer 2.0 μ mol/L, anchor primer 2.5 μ mol/L, dNTPs 200 μ mol/L, Mg^{2+} 2.0 μ mol/L, and Taq 2.0 U. Thirty-five differentially expressed cDNA fragments were isolated by DDRT-PCR. Six of them were verified by RNA dot blot hybridization, and four positive cDNA fragments were obtained. Three positive cDNA fragments were from viruliferous *L. striatellus* population and shared high homology with 5-hydroxytryptamine receptor 1D gene, gyrase B gene and 60S ribosomal protein L40 gene, respectively. The positive cDNA fragment from virus-free *L. striatellus* population had no similarity with sequences in NCBI nucleotide databases. The optimal DDRT-PCR system and the differentially expressed cDNA fragments obtained might provide a basis for further study on interaction between RSV and *L. striatellus*.

Key words: *Laodelphax striatellus*; rice stripe virus (RSV); differentially expressed gene; DDRT-PCR; positive-cross test

基金项目: 国家“973”计划项目(2006CB100203); 国家自然科学基金项目(30671357); 公益性行业科研专项(nyhyzx 07-051)

作者简介: 肖冬来, 男, 1981 年生, 江苏南京人, 博士研究生, 主要从事分子病毒学研究, E-mail: xdljiansu@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: fxlh@126.com; wuzujian@126.com

收稿日期 Received: 2009-12-21; 接受日期 Accepted: 2010-07-09

由水稻条纹病毒(rice stripe virus, RSV)引起的水稻条纹叶枯病是我国水稻生产上的重要病害之一。在我国该病害分布广泛, 自从 1963 年在江苏南部发生后已在台湾、福建、浙江、上海、江苏、江西、安徽、湖北、广西、广东、云南、山东、河南、河北、北京和辽宁等地发生, 对我国的水稻种植造成了重大损失(林奇英等, 1990)。其中, 2004 - 2005 年, 江苏省每年发病面积达 170 万 hm^2 (张恒木等, 2007)。RSV 主要由介体昆虫灰飞虱 *Laodelphax striatellus* Fallen 以循环增殖型方式经卵传播(Falk and Tsai, 1998), 根据灰飞虱与 RSV 的亲合性可将灰飞虱分为高、中、低亲和性和非亲和性群体(刘海建等, 2007)。李小力等(2009)利用 RAPD 标记技术从高亲和性灰飞虱群体中筛选出一条特异性片段, 该片段是否与灰飞虱传播 RSV 有关还需进一步研究。

随着分子生物学的发展, 研究基因差异表达的技术取得了很大的突破。目前筛选差异基因的主要方法有: 基因芯片技术(DNA chip technique)、基因表达的系统分析(serial analysis of gene expression, SAGE)、差异显示 PCR(differential display RT-PCR, DDRT-PCR)、抑制消减杂交(suppression subtractive hybridization, SSH)、代表性差异分析(representational difference analysis, RDA)等技术。张晓婷等(2008)利用基因芯片技术检测了 RSV 胁迫下水稻全基因组的表达差异, 得到了 3 517 个差异表达基因, 并对差异基因进行了分类。DDRT-PCR 具有敏感性高、快速、多能性的特点, 尽管该技术的假阳性率较高, 分离的差异片段短(Liang *et al.*, 1993), 但是在昆虫学研究中, mRNA 差异显示技术也有着广泛的应用。刘红等(2004)通过比较野生型、七氟醚(麻醉药)敏感型和耐药型黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的基因差异得到了 3 条差异片段。陶杰等(2009)利用该技术筛选并克隆了一些东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* 的抗药性相关基因。

病毒与寄主间的互作一直是病毒学研究的热点之一, 目前关于 RSV 与寄主水稻和介体灰飞虱间的研究很少, 尤其是 RSV 与灰飞虱在分子水平的互作研究还未见报道。灰飞虱携带 RSV 后是否会对自身生长发育产生影响还不清楚。DDRT-PCR 技术是筛选差异表达基因快速、简便的有效手段之一, 本研究通过正交实验优化了适合灰飞虱的 DDRT-PCR 反应体系, 并初探了灰飞虱 RSV 胁迫下基因的表达差异, 以期有助于研究灰飞虱与 RSV 之间的相互关系, 同时为抗病机理、病毒防治等方面的

研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试虫源: 灰飞虱为本实验室于 2000 年从江苏洪泽田间采集并饲养于台中本地 1 号水稻幼苗上, 室温保持在 25 ~ 28℃, 每 4 d 更换一次水稻幼苗, 适时浇水。经 PCR 和传毒实验检测获得不携带 RSV 的无毒虫个体, 其后代连续饲养 3 代后经检测不携带 RSV, 该种群即为无毒灰飞虱种群。无毒灰飞虱个体通过饲毒、传毒筛选获得带毒虫, 带毒虫后代经反复饲毒选育获得带毒灰飞虱种群, 经 PCR 及传毒实验检测该种群带毒率达 90% 以上。

1.1.2 试剂: Taq DNA 聚合酶、核酸标准分子量(Lambda DNA/*EcoR* I, *Hind* III marker)、M-MuLV 反转录酶、RNA 酶抑制剂(RNasin)、限制性内切酶均购自 MBI 公司; QIAEX II Gel Extraction Kit 为 QIAGEN 公司产品; 克隆载体 pMD18-T 为大连宝生物公司产品。Blocking Reagent、Digoxigenin-11-dUTP 为 Roch 公司产品, 经典总 RNA 抽提试剂盒、锚定引物($(T)_{13}A$, $(T)_{13}C$, $(T)_{13}G$ 和随机引物(S6, S43, S61, S306, S360)均购自上海生工生物工程有限公司。其余试剂为国产分析纯或化学纯。

1.2 总 RNA 的提取

取 3 ~ 4 龄灰飞虱若虫 0.1 g 于液氮中研磨后, 参照试剂盒说明书进行, 稍作修改。提取的总 RNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 并用分光光度计测定 OD_{230} , OD_{260} 和 OD_{280} , 以确定 RNA 的纯度和浓度。

1.3 cDNA 第一链的合成

在 3 μg 的总 RNA 中加入 2 μL 的 3'端锚定引物 20 $\mu\text{mol/L}$, 于 75℃ 的水浴中处理 5 min, 然后迅速冰浴 5 min。继续加入 5 \times M-MuLV 反转录酶缓冲液 5 μL 、10 mmol/L 的 dNTPs 2 μL 、RNasin 0.5 μL 、无菌去离子水 7.5 μL , 37℃ 水浴 10 min, 加入 M-MuLV 反转录酶 1 μL , 然后 37℃ 水浴处理 1 h, 95℃ 水浴 5 min, 自然冷却至室温, -20℃ 保存备用。

1.4 正交法优化 DDRT-PCR 的反应体系

以模板浓度、dNTPs 浓度、镁离子浓度、随机引物浓度、锚定引物浓度和 Taq 酶用量 6 个因素, 设计 6 因素 4 水平的正交试验(表 1)。反应条件为 94℃ 预变性 1 min, 94℃ 30 s, 40℃ 2 min, 72℃ 30 s, 循环 40 次, 最后 72℃ 延伸 10 min。反应总体

积为 25 μL 。取 2 μL 产物经 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

1.5 差异片段的回收与重扩增

回收 DDRT-PCR 反应中无毒虫或带毒虫种群特异性表达的条带放入 1.5 mL 离心管中, 加入 20 μL TE 捣碎, 75 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min。12 000 g 离心 2 min, 取上清, 加入 10 μL 3 mol/L NaAc、450 μL 无水乙醇, 混匀。于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 放置 30 min。4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 g 离心 10 min。弃上清, 沉淀用预冷的无水乙醇漂洗。4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 g 离心 10 min。沉淀干燥后用 20 μL 无菌去离子水溶解。取 5 μL 做模板, 按照 1.4 中优化后的体系与反应条件进行 PCR 重扩增及电泳检测。

1.6 PCR 法标记探针与 RNA 斑点杂交

以 1.5 中的部分重扩增回收产物为模板, 通过 PCR 反应合成地高辛标记的 DNA 探针, 反应条件同重扩增 PCR。在 dNTPs 底物中, 地高辛标记的 DIG-11-UTP 与普通 dNTPs 的比例为 1:12。RNA 斑点杂交参照 Roche 公司的 DIG High Prime Labeling and Detection Start Kit I 操作手册进行。

1.7 差异片段序列测定和同源性分析

将 1.6 中获得的阳性差异片段连接至 pMD18-T, 转化大肠杆菌 *Escherichia coli* DH5 α 感受态细胞, 采用蓝白斑筛选阳性克隆。挑取阳性克隆送上海博亚生物技术公司测序, 测序结果用 GenBank 的

Blast 软件进行同源性比对。

1.8 数据统计与分析

通过 Gene Tools Analysis Software Version 3.03.03 分析 DDRT-PCR 正交实验各方案所能扩增出的条带数, 采用直观分析法确定条带清晰、数量最多的最适反应体系。差异片段同源性比对采用的标准是在 180 bp 重叠区域内序列的相似性 $\geq 79\%$ 或者 E 值 $\leq e^{-30}$ 。

2 结果与分析

2.1 正交法优化 DDRT-PCR 的反应体系

本试验为 6 因素、4 水平共 16 个试验组合。PCR 产物经 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染显色(图 2), 通过 Gene Tools Analysis Software 检测每个反应体系所产生的条带数。结果表明, 反应体系 8 和 12 无扩增条带; 反应体系 1~3, 5, 7, 9, 11 和 13~16 扩增条带数较少(小于 15 条); 反应体系 4, 6 和 10 能够扩增出较多条带(18~20 条), 而反应体系 10 能够获得最多的条带数(20 条)。所以 DDRT-PCR 的体系选用反应体系 10, 即 cDNA 3.0 μg , 随机引物 2.0 $\mu\text{mol/L}$, 锚定引物 2.5 $\mu\text{mol/L}$, dNTPs 200 $\mu\text{mol/L}$, Mg^{2+} 2.0 $\mu\text{mol/L}$, Taq 酶 2.0 U, 反应总体积为 25 μL 。

表 1 DDRT-PCR 反应体系的 6 因素 4 水平正交试验方案表

Table 1 Scheme of the positive-cross test of DDRT-PCR with six factors at four levels

组别 Group no.	cDNA (μg)	随机引物 Random primer ($\mu\text{mol/L}$)	dNTPs ($\mu\text{mol/L}$)	Mg^{2+} ($\mu\text{mol/L}$)	锚定引物 Anchor primer ($\mu\text{mol/L}$)	Taq (U)
1	1.0	1.5	250	1.5	2.5	2.0
2	3.0	2.5	150	1.5	1.5	1.5
3	2.0	2.5	250	2.0	1.5	2.5
4	4.0	1.5	150	2.0	2.5	1.0
5	1.0	2.0	150	2.5	3.0	2.5
6	3.0	1.0	250	2.5	2.0	1.0
7	2.0	1.0	150	1.0	2.0	2.0
8	4.0	2.0	250	1.0	3.0	1.5
9	1.0	1.0	300	2.0	1.5	1.5
10	3.0	2.0	200	2.0	2.5	2.0
11	2.0	2.0	300	1.5	2.5	1.0
12	4.0	1.0	200	1.5	1.5	2.5
13	1.0	2.5	200	1.0	2.0	1.0
14	3.0	1.5	300	1.0	3.0	2.5
15	2.0	1.5	200	2.5	3.0	1.5
16	4.0	2.5	300	2.5	2.0	2.0

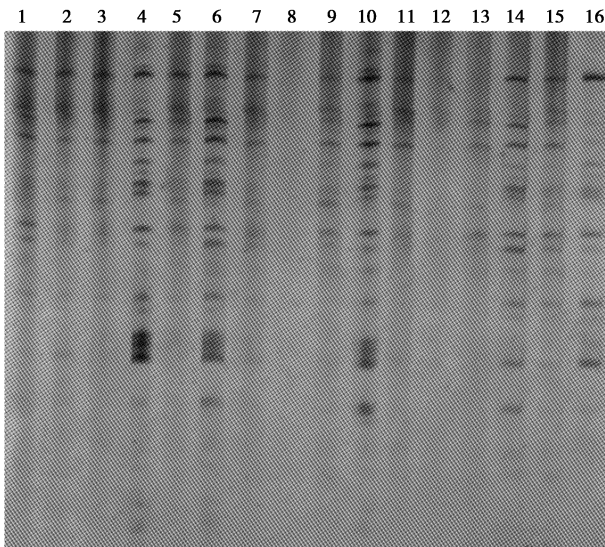


图1 16组不同 DDRT-PCR 反应体系正交试验银染结果

Fig. 1 The positive-cross test results of sixteen different DDRT-PCR conditions by silver staining

1-16; 表1中的16组不同 DDRT-PCR 反应体系 Group numbers of sixteen different DDRT-PCR conditions as in Table 1.

2.2 差异显示分析

利用5条随机引物和3条锚定引物组合对带毒灰飞虱和无毒灰飞虱种群进行了15组PCR扩增。从图2可以看出差异表达的基因来源有3种情况:(1)只在带毒灰飞虱种群中特异表达;(2)只在无毒灰飞虱种群中特异表达;(3)在2个种群中均有表达,但表达量上存在差异。本实验只回收带毒或无毒种群中特异表达的片段,共获得35条。其中只在带毒灰飞虱种群中特异表达的有20条,只在无毒灰飞虱种群中特异表达的有15条。

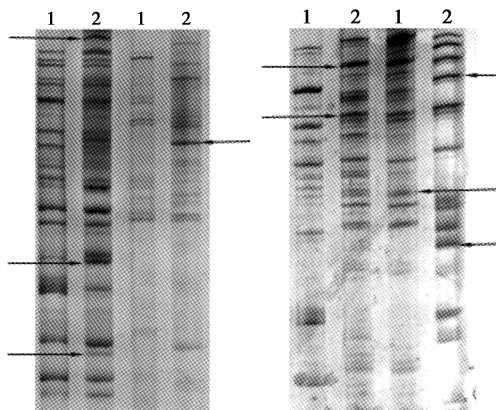


图2 带毒与无毒灰飞虱基因的 mRNA 差异显示结果

Fig. 2 Results of mRNA differential display of genes from viruliferous and virus-free *Laodelphax striatellus* populations

箭头所示为差异片段 Arrows indicated the differential bands; 1: 带毒灰飞虱种群 Viruliferous *L. striatellus* population; 2: 无毒灰飞虱种群 Virus-free *L. striatellus* population.

2.3 差异片段的斑点杂交鉴定和同源性分析

在所获得的35条差异片段中随机选取6条以PCR法进行地高辛探针标记,分别与不同灰飞虱种群RNA进行斑点杂交验证。结果表明DD2, DD3, DD4和DD5片段为阳性克隆。其中DD4来自无毒灰飞虱种群,其余来自带毒灰飞虱种群。将差异基因克隆至pMD18-T,并进行测序和同源性比对(表2),结果显示,DD2片段与人类 *Homo sapiens* 5-羟色胺受体1D基因片段同源性高达98%, DD3片段与大肠杆菌 *E. coli* 的旋转酶B基因片段的同源性为100%, DD4片段与已知的基因序列同源性较低(重叠区域小于30 bp),推测该片段可能为一新基因。DD5片段与白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 60S核蛋白L40部分基因有89%的同源性。

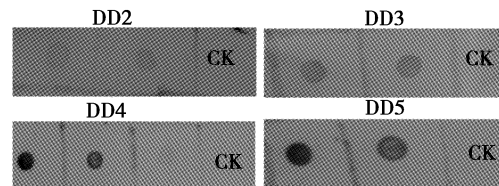


图3 带毒与无毒灰飞虱种群中差异表达基因的 RNA 斑点杂交结果

Fig. 3 Results of RNA dot blot hybridization of differentially expressed genes in viruliferous and virus-free *Laodelphax striatellus* populations

表2 克隆序列的同源性比较

Table 2 Homology comparison of cloned cDNA fragments

片段 Sequence	片段长度(bp) Fragment length	比对结果(GenBank 登录号) Blast result (GenBank accession no.)
DD2	244	<i>Homo sapiens</i> 5-hydroxytryptamine receptor 1D (NM_000864.3)
DD3	419	<i>Escherichia coli</i> isolate 077 gyrase B (gyrB) gene (AY832972.1)
DD4	555	None
DD5	237	<i>Aedes albopictus</i> 60S ribosomal protein L40 mRNA (AY826155.1)

3 讨论

在进行差异显示试验时,应选择发育时期、饲养条件一致或比较接近的灰飞虱作为供试材料,以减少由于选材差异造成的非相关基因的检测。在预实验中从20条随机引物中筛选了8条可以扩增出明显差异片段的引物,其中4条引物其差异片段回收后的重扩增效果较差,干扰了后续的验证,而

另外 4 条引物重扩增效果较好,说明随机引物的不同对差异显示的结果有一定的影响,所以在进行差异显示 PCR 扩增效果不好的时候,可以考虑更换随机引物,本实验从上述 8 条随机引物中选取了 4 条重扩增效果较好及 1 条部分重扩增较好的引物进行 DDRT-PCR 分析。通过正交试验优化了 DDRT-PCR 的反应体系,明确了适合于灰飞虱的优化组合,不仅提高了实验质量,也缩短了实验时间。

病毒的侵染会带来宿主细胞转录组的变化。通常,病毒侵染后宿主基因表达量上调可能有两种作用:一是这些基因为病毒复制所必需。大多数病毒只编码有限的几个基因,为完成其复制周期,病毒需要利用一系列的宿主因子。在转录水平上提高这些基因的表达可能是病毒长期进化过程中发展出来的一种策略(Maule *et al.*, 2002)。本研究所鉴定的 DD3 和 DD5 可能属于这一情况。DD3 与旋转酶 B 高度同源,表明它可能具有解螺旋功能域,在病毒的复制或转录中具有一定作用(Schröder, 2010)。DD5 可能编码核糖体大亚基 L40。通常,病毒都不能编码自身翻译所需的组分,而是依赖宿主的翻译机器(Kneller *et al.*, 2006)。在长期演化过程中,病毒发展了一系列不同的机制以与宿主竞争翻译组分(Pestova *et al.*, 2007)。病毒侵染后提高核糖体基因的表达可能是加强自身蛋白翻译的一种机制(Komarova *et al.*, 2009)。一些转录谱实验也表明很多的 RNA 病毒在侵染植物后会带来核糖体基因表达的上调(Yang *et al.*, 2007)。另外,在果蝇中进行的系列 RNAi 筛选实验表明,很多病毒对核糖体基因的表达水平十分敏感。在核糖体基因表达降低的果蝇中,这些病毒的复制严重受损,尽管宿主自身所受的影响并不大,但这些病毒均具有内部核糖体结合位点(internal ribosome entry site, IRES)(Cherry *et al.*, 2005; Balvay *et al.*, 2009)。目前,没有证据表明 RSV 具有 IRES,因此对该病毒为何要提高核糖体基因表达还需要进一步的研究。宿主基因表达量上调也可能是宿主对病原物入侵的一种应答反应。比如病毒侵染后会引发寄主的某些防御反应,这些防御反应又会引起一系列基因表达的上调(Satoh *et al.*, 2010)。二是病毒的侵染会对细胞的正常生理造成一定的影响,并偶然启动一些信号传导途径而引发某些基因表达的上调。DD2 的上调可能是灰飞虱对 RSV 侵染的一种反应,5-羟色胺受体可能与动物的行为有关(Fineberg *et al.*, 2010)。为了进行更为有效的传播,病毒的侵染有时会改变

宿主的行为,比如促进其取食或繁殖等(James *et al.*, 2006)。因此 DD2 的上调可能是 RSV 为其更有效传播引起的。

就病毒而言,与宿主争夺细胞中各种资源的最为有效的策略就是抑制宿主基因的表达(Aranda and Maule, 1998),这种抑制既可在转录水平上发生又可在翻译水平上体现。病毒侵染后抑制宿主基因表达的例子很多,其中与 RSV 具有亲缘关系的布尼亚病毒科的多种病毒已被证明会抑制宿主基因的转录,如裂谷热病毒(rift valley fever virus, RVFV) S 片段编码的非结构蛋白(non-structure proteins, NSs),能进入细胞核并特异地与一个与转录有关的宿主因子互作,从而抑制宿主基因的转录(May *et al.*, 2004)。除争夺有限的资源外,病毒抑制宿主基因转录的另一种作用就是抑制宿主的防御反应。比如 NSs 能有效地抑制干扰素途径相关基因的转录(Billecocq *et al.*, 2004)。因此 DD4 的下调很可能反映了 RSV 对宿主基因转录的抑制或者该基因是防御相关基因,但序列比对表明它不与任何已知的基因同源,其具体作用需进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- Aranda M, Maule A, 1998. Virus-induced host gene shutoff in animals and plants. *Virology*, 243(2): 261–267.
- Balvay L, Soto RR, Ricci EP, Decimo D, Ohlmann T, 2009. Structural and functional diversity of viral IRESes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1789(9–10): 542–557.
- Billecocq A, Spiegel M, Vialat P, Kohi A, Weber F, Bouloy M, Haller O, 2004. NSs protein of Rift Valley fever virus blocks interferon production by inhibiting host gene transcription. *J. Virol.*, 78(18): 9798–9806.
- Cherry S, Doukas T, Armknecht S, Whelan S, Wang H, Sarnow P, Perrimon N, 2005. Genome-wide RNAi screen reveals a specific sensitivity of IRES-containing RNA viruses to host translation inhibition. *Genes Dev.*, 19(4): 445–452.
- Falk BW, Tsai JH, 1998. Biology and molecular biology of viruses in the genus *Tenuivirus*. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 36: 139–163.
- Fineberg NA, Potenza MN, Chamberlain SR, Berlin HA, Menzies L, Bechara A, Sahakian BJ, Robbins TW, Bullmore ET, Hollander E, 2010. Probing compulsive and impulsive behaviors, from animal models to endophenotypes: a narrative review. *Neuropsychopharmacology*, 35(3): 591–604.
- James CK, Falk BW, 2006. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 44: 183–212.
- Kneller EL, Rakotondrafara AM, Miller WA, 2006. Cap-independent translation of plant viral RNAs. *Virus Res.*, 119(1): 63–75.
- Komarova AV, Haenni AL, Ramirez BC, 2009. Virus versus host cell

- translation; love and hate stories. *Adv. Virus Res.*, 73: 99 – 170.
- Li XL, Wei BQ, Zhou YJ, 2009. Preliminary study on RAPD markers dealing with compatibility of the *Laodelphax striatellus* and rice stripe virus. *Jiangsu Agricultural Sciences*, (1): 23 – 25. [李小力, 魏邦庆, 周益军, 2009. 灰飞虱与水稻条纹病毒亲和性相关的 RAPD 标记研究. *江苏农业科学*, (1): 23 – 25]
- Liang P, Averboukh L, Pardee AB, 1993. Distribution and cloning of eukaryotic mRNAs by means of differential display: refinements and optimization. *Nucleic Acids Res.*, 21(14): 3269 – 3275.
- Lin QY, Xie LH, Zhou ZJ, Xie LY, Wu ZJ, 1990. Studies on rice stripe disease I. Distribution and losses caused by the disease. *Journal of Fujian Agricultural College*, 19(4): 373 – 379. [林奇英, 谢联辉, 周仲驹, 谢莉妍, 吴祖建, 1990. 水稻条纹叶枯病的研究 I: 病害的分布和损失. *福建农学院学报*, 19(4): 373 – 379]
- Liu H, Ren XM, Chen LY, Liu J, 2004. Cloning of the genes related to inhaled anesthetic action in *Drosophila melanogaster*. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 26(4): 385 – 391. [刘红, 任笑蒙, 陈兰英, 刘进, 2004. 果蝇吸入麻醉药麻醉作用相关基因的克隆. *中国医学科学院学报*, 26(4): 385 – 391]
- Liu HJ, Cheng ZB, Wang Y, Wei BQ, Ren CM, Zhou YJ, Fan YJ, 2007. Preliminary study on transmission of rice stripe virus by small brown planthopper. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 23(5): 492 – 494. [刘海建, 程兆榜, 王跃, 魏邦庆, 任春梅, 周益军, 范永坚, 2007. 灰飞虱传递水稻条纹病毒研究初报. *江苏农业学报*, 23(5): 492 – 494]
- Maule A, Leh V, Lederer C, 2002. The dialogue between viruses and hosts in compatible interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 5: 279 – 284.
- May NL, Dubaele S, Santis LD, Billecocq A, Bouloy M, Egly J, 2004. TFIIF transcription factor, a target for the Rift Valley hemorrhagic fever virus. *Cell*, 116(4): 541 – 550.
- Pestova TV, Lorsch JR, Hellen CU, 2007. The mechanism of translation initiation in eukaryotes. In: Mathews MB ed. *Translational Control in Biology and Medicine*. CSHL Press, New York. 87 – 128.
- Satoh K, Kondoh H, Sasaya T, Shimizu T, Choi IR, Omura T, Kikuchi S, 2010. Selective modification of rice (*Oryza sativa*) gene expression by rice stripe virus infection. *J. Gen. Virol.*, 91(1): 294 – 305.
- Schröder M, 2010. Human DEAD-box protein 3 has multiple functions in gene regulation and cell cycle control and is a prime target for viral manipulation. *Biochem. Pharmacol.*, 79(3): 297 – 306.
- Tao J, Shan Y, Jing YJ, Lü XY, Li DS, Xie JJ, Zhang J, 2009. Screening and cloning of oriental migratory locust-related resistance gene by mRNA differential display. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 42(1): 107 – 111. [陶杰, 单颖, 荆迎均, 吕宪禹, 李德森, 谢建军, 张杰, 2009. mRNA 差异显示法筛选和克隆东亚飞蝗抗药性相关基因. *南开大学学报*, 42(1): 107 – 111]
- Yang C, Guo R, Jie F, Nettleton D, Peng JQ, Carr T, Yeakley JM, Fan JB, Whitham SA, 2007. Spatial analysis of *Arabidopsis thaliana* gene expression in response to turnip mosaic virus infection. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 20: 358 – 370.
- Zhang HM, Sun HR, Wang HD, Chen JP, 2007. Advances in the studies of molecular biology of rice stripe virus. *Acta Phytophylacica Sinica*, 34(4): 436 – 440. [张恒木, 孙焕然, 王华弟, 陈剑平, 2007. 水稻条纹病毒分子生物学研究进展. *植物保护学报*, 34(4): 436 – 440]
- Zhang XT, Xie LY, Lin QY, Wu ZJ, Xie LH, 2008. Transcriptional profiling in rice seedlings infected by rice stripe virus. *Acta Laser Biology Sinica*, 17(5): 620 – 629. [张晓婷, 谢荔岩, 林奇英, 吴祖建, 谢联辉, 2008. 水稻条纹病毒胁迫下的水稻全基因组表达谱. *激光生物学报*, 17(5): 620 – 629]

(责任编辑: 赵利辉)