

## RSV-寄主-介体三者间相互作用研究进展

张坤 徐红梅 张定谅 贺振 刘芳\*

(扬州大学园艺与植物保护学院,江苏扬州 225009)

**摘要** 为了解国内外关于水稻条纹病毒(Rice stripe virus, RSV)-寄主-介体三者间互作关系的研究现状,采用文献检索的方法,对研究结果进行总结和比较分析。结果表明:1)RSV自身编码蛋白间存在着较为复杂的直接互作,从而保证了病毒生命过程的有序衔接。2)RSV与寄主水稻及介体灰飞虱间的间接互作,大多与病毒造成的在植物上症状,病毒经介体卵传播等特点相吻合。3)RSV编码蛋白与介体因子间的直接互作,参与了病毒在介体中的复制,传播及抵御介体免疫等生命过程。4)RSV-寄主-介体三者间互作关系的研究已成为领域内的研究热点,国内每年高水平研究论文不断涌现。针对RSV-介体互作研究中病毒与介体遗传体系均不成熟的现状,提出以下的解决方案:加快RSV全长侵染性cDNA克隆的构建或者RSV微小复制子的构建;另外可以对现有的CRISPR/Cas9技术进行优化,尽快实现对灰飞虱进行高通量的基因敲除。

**关键词** 水稻条纹病毒; 病毒-寄主-介体互作; siRNA; 寄主因子

**中图分类号** S43 **文章编号** 1007-4333(2019)06-0104-12 **文献标志码** A

## Research progress on the tritrophic interactions of RSV-plant-vector

ZHANG Kun, XU Hongmei, ZHANG Dingliang, HE Zhen, LIU Fang\*

(College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**Abstract** To investigate the current research status of tripartite interactions of *Rice stripe virus* (RSV) -host-vector from home and abroad, recent researches are summarized and compared by literature search. The results show that: 1) The complex and direct interactions between the RSV encoded proteins ensured the orderly connections of the viral life cycle. 2) The indirect interactions of RSV-host-vector are mostly consistent with the characteristics of virus infection symptoms on the plant and virus transmission through the planthopper's eggs. 3) The direct interactions between viral proteins and vector factors participate in the life cycle of virus replication, transmission, and resistance to the planthopper's immunity. 4) The studies of RSV-host-vector interactions have already become a hot topic in plant virology and high-level researches are emerging now in China. In view of the immature genetic system of RSV and planthopper in studies of RSV-vector interactions, solutions such as accelerating the construction of the full-length cDNA infectious clone or the mini-replicon of RSV and optimizing of the existing CRISPR/Cas9 technology to achieve high-through gene knockout of planthopper are proposed.

**Keywords** *Rice stripe virus*; virus-host-vector interactions; siRNA; host factors

水稻条纹病毒(*Rice stripe virus*, RSV)是纤细病毒属(*Tenuivirus*)代表种,经灰飞虱(*Laodelphax striatellus* Fallen)进行持久循环增

殖型方式传播<sup>[1]</sup>。该病毒侵染水稻后发生水稻条纹叶枯病,被称作水稻“癌症”,曾造成东亚国家水稻严重减产<sup>[2]</sup>。自2000年始,RSV每年造成东部长江

收稿日期:2018-10-02

基金项目:国家自然科学基金青年项目(31801699);江苏省自然科学基金青年项目(BK20180904);江苏省高校自然科学基金面上项目(18KJB210012);江苏省农业科技自主创新资金重大专项(XC(16)1001)

第一作者:张坤,讲师,主要从事植物病毒学研究,E-mail:zhangkun880324@cau.edu.cn

通讯作者:刘芳,教授,主要从事植物保护学研究,E-mail:liufang@yzu.edu.cn

流域地区水稻减产 30%~40%<sup>[3]</sup>。RSV 主要侵染水稻,但也能侵染玉米、小麦、谷子和其他几种杂草<sup>[4-5]</sup>。人工接种下,也能侵染模式植物本生烟和拟南芥<sup>[6-7]</sup>。

RSV 是属于单链 RNA 病毒,其基因组含有 4 条 RNA 链(图 1),RNA1 具有负极性特征,其基因组互补链(vcRNA)编码 337 kDa 的病毒复制酶

RNA-dependent RNA polymerases, RdRp); 而 RNA2、RNA3 和 RNA4 具有双极性,其病毒基因组链(vRNA)和 vcRNA 各编码 1 个蛋白,分别称之为 NS2(p2)、NSvc2(糖蛋白)、NS3(p3)、NSvc3(核衣壳蛋白)、NS4(病害特异性蛋白)及 NSvc4(运动蛋白)<sup>[8]</sup>。

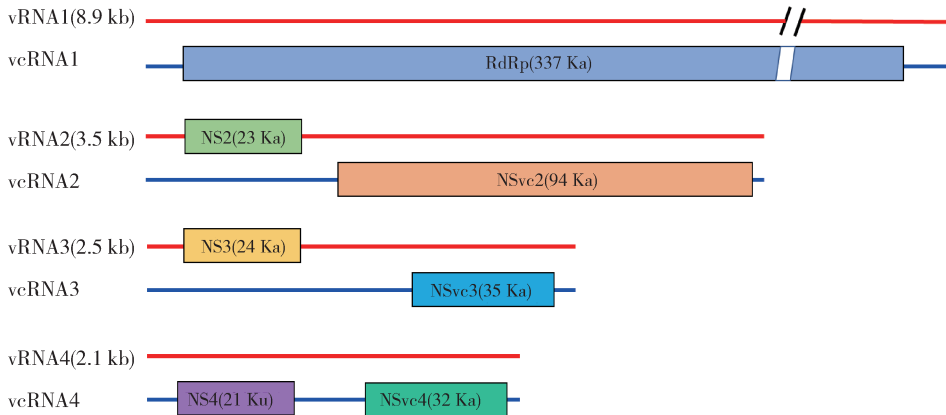


图 1 水稻条纹病毒的基因组结构

Fig. 1 Genome organization of *Rice stripe virus*

近 85% 的植物病毒病是由昆虫介体传播,昆虫介体的传毒对植物病毒田间传播及作物病害的发生流行至关重要<sup>[9]</sup>。虫传植物病毒寄主广泛,能侵染粮食作物、油料作物、蔬菜水果、药用植物、名贵林木和观赏花卉等,引起的病害数量占据植物病害的第二位,每年造成巨大的经济损失。在农业生产上,大多数虫传植物病毒病的防治都是依靠杀虫剂控制昆虫,从而控制病情爆发<sup>[10]</sup>。农药的大量使用带来如抗药性、农药残留、损伤非靶标的有益昆虫等一系列问题,且不一定能保证成功控制病毒病害<sup>[11]</sup>,急需开发环境友好的病毒病防治策略替代传统的“治虫防病”。

RSV 不能在植物与植物间通过机械摩擦产生的创口传播,只能通过介体昆虫传播<sup>[12]</sup>。RSV 在昆虫摄食过程中被获得,然后沿着昆虫的消化道移动,感染昆虫的肠表皮细胞,随后会释放至胸腔,最后由胸腔扩散至唾液腺和卵巢等组织和器官<sup>[13]</sup>。进入唾液腺的病毒,被释放至唾液管中,随着昆虫的再次取食传播至健康植株,完成病毒的水平传播;进入到生殖器官卵巢中的病毒,最终能感染卵细胞,随着受精发育遗传到下一代,完成病毒的垂直传播<sup>[14]</sup>。RSV 病毒在完成这一复杂的循环周期的过程中,其 4 条基因组 RNA 链与编码的 7 个蛋白发

挥重要的作用,参与到多层次多角度的 RSV 病毒-寄主-介体三者互作过程中。本研究拟通过归纳总结前期的系列互作研究结果,深入地理解三者互作的分子机制,建立三者互作组学网络,以期在整体上把握 RSV-寄主-介体互作的生物学功能及意义,深入了解 RSV 在田间的致病机理和流行特征,为后续虫传植物病毒的绿色防控,开发环境友好型的防控策略提供科学依据。

## 1 RNA 或蛋白介导的间接互作

RSV 病毒借助于介体灰飞虱完成其循环周期,最终侵染水稻,造成水稻条纹叶枯病害。病毒的基因组包含 4 条 RNA 链,为成功建立对寄主的系统侵染,其对寄主植物(水稻)及介体(灰飞虱)的生理生化、新陈代谢、免疫防御及生长发育等过程具有多层次、多角度的调节作用。这些调节作用也必然会涉及到病毒组与寄主或者介体之间的直接或者间接相互作用过程。对 RSV 病毒与寄主的 RNA 或蛋白的间接互作的已有研究的总结及整理见表 1。

### 1.1 RSV-寄主植物间接互作

#### 1.1.1 小分子 RNA 介导的寄主植物抗病毒策略

植物寄主对抗病毒最有效的方式主要有抗病毒的基因沉默通路<sup>[15]</sup>,先天免疫通路<sup>[16]</sup>,以及自噬介

表1 RSV与寄主/介体的间接交互总结及整理

Table 1 Summary of studies on the interactions between viral RNAs/proteins and host/vector factors

参考文献 Reference	交互对象 Interact object	年份 Year	方法 Method	内容 Content	生物学功能 Biological function
[14]	水稻	2011	SiRNA 深度测序	<i>O<sub>s</sub>DCL<sub>s</sub></i> 和 <i>O<sub>s</sub>AGO<sub>s</sub></i> 表达上调	RSV 的侵染能增强水稻 RNA 沉默的能力;
[32]	灰飞虱	2013	转录组	灰飞虱中性神经酰胺酶生物化学特征的确定;	LsnCer mRNA 的表达量和其酶活性显著上升;
[21]	水稻	2015	基于 iTRAQ 的蛋白组	1) 镁离子螯合酶显著下调; 2) 天冬氨酸蛋白酶显著上调;	抑制叶绿素的合成和活性氧爆发; 水稻叶片出现枯黄和局部细胞坏死;
[15],[16]	水稻	2015	传统方法	病毒诱导的 <i>O<sub>s</sub>AGO18</i> 发生表达;	<i>O<sub>s</sub>AGO18</i> 能结合 miRNA168 和 miRNA528 来下调 <i>O<sub>s</sub>AGO1</i> 和 <i>O<sub>s</sub>AO</i> 的表达, 而增强抗病毒的 RNAi 和 ROS 水平
[19]	水稻	2016	microRNA 组和转录组	miRNA 的表达谱发生变化;	24 个 miRNA 的靶标基因与抗病基因相关; 其中几个 miRNA 的靶标基因与叶绿体相关;
[18]	水稻	2016	miRNA 深度测序	有 6 个 miRNAs 发生上调	15 个抗病基因发生下调 (包含有 NB-LRR 结构域的蛋白)
[22]	本生烟	2016	SiRNA 深度测序	1) 有 75 个差异表达的基因; 2) 来源于病毒 RNA4 的 vsiRNA 能与 eIF4A mRNA 互补;	沉默其中 11 个差异表达基因造成植物的黄化, 这 11 个基因中有 9 个与叶绿体相关; <i>eIF4A</i> 被沉默后引起叶片的扭曲和生长缓慢;
[23]	灰飞虱	2016	转录组	消化道中的差异表达基因显著;	消化道中的涉及到溶酶体、消化、去氧化等过程的基因被激活表达; 消化道中的 MAPK、mTOR、Wnt 和 TGF-beta 信号通路的基因被抑制;
[35]	灰飞虱	2016	基于 iTRAQ 的蛋白组	共有 149 个差异表达的蛋白, 其中 98 蛋白发生上调, 49 个蛋白发生下调;	与减数分裂 (serine/threonine-protein phosphatase 2B and cyclin B3) 和有丝分裂 (cyclin B3 and dynein heavy chain) 相关的差异表达蛋白可能与带毒卵的低孵化率、发育迟钝和畸形有关
[31]	灰飞虱	2017	qRT-PCR 和 HPLC-MS/MS	灰飞虱多种鞘磷脂酶的转录发生改变; 灰飞虱鞘磷脂的含量也发生改变;	在大多数时期, 6 个鞘磷脂酶的基因发生上调;
[20]	水稻	2017	SiRNA 深度测序	<i>Osa-miR171b</i> 表达量下调;	<i>Osa-miR171b</i> 表达的下调, 造成生长缓慢、叶绿素含量下降等表型, 这与病毒侵染的症状相似; 超表达 <i>Osa-miR171b</i> , 能增强水稻对 RSV 抗性;

导抗病毒通路<sup>[17]</sup>。病毒通过不同的策略来瓦解寄主植物的抗病毒防卫机制,并最终达到对植株的系统侵染。

对 RSV 侵染的水稻植株叶片进行小 RNA 深度测序发现与抗病毒基因沉默通路相关的 *OsDCLs* 和 *OsAGOs* 表达水平选择性上调<sup>[18]</sup>,病毒侵染能增强水稻的抗病毒沉默能力。RSV 侵染水稻植株后能诱导 *OsAGO18* 蛋白的表达,*OsAGO18* 能结合水稻的 miRNA168 及 miRNA528, miRNA168 及 miRNA528 的靶标正是 *OsAGO1* 和 *OsAO* (L-抗坏血酸氧化酶),即病毒通过上调 *OsAGO18* 的表达来提高 *OsAGO1* 和 *OsAO* 的表达量,继而增强寄主植株整体的抗病毒能力<sup>[19-20]</sup>。对同属的水稻白叶病毒 (*Rice hoja blanca virus*) 的基因沉默抑制子 NS3 蛋白的研究发现,其抑制基因沉默是通过直接结合寄主 siRNA 来实现的<sup>[21]</sup>,这也暗示了 RSV 的基因沉默抑制子 NS3 蛋白是也通过类似的方式来发挥其功能的。

miRNA 是真核生物中发现的一类长度在 20~25 nt 的内源性具有调控功能的非编码 RNA。RSV 的侵染,引起寄主的少数 miRNA 的表达谱发生改变,水稻中有 6 个 miRNA 的表达量上调,而这 6 个 miRNA 的靶标是其 15 个抗性基因 (含有 NB-LRR 固定结构域),这表明水稻抗病基因也参与 RSV 的侵染过程<sup>[22]</sup>。对 RSV 侵染的水稻叶片的 miRNA 及转录组学的研究表明:在所鉴定的 560 个水稻 miRNA 中,只有 69 个 miRNA 的表达谱发生变化,13 个下调,56 个上调;其中上调的 22 个水稻 miRNA 对应的靶标 mRNA (24 个与病害抗性相关) 发生下调<sup>[23]</sup>。因此,病毒侵染能降低寄主植物的基础抗性和先天免疫防疫反应,继而增强病毒致病性。

### 1.1.2 小分子 RNA 参与病毒症状的形成

miRNA 组学测序结果显示 RSV 侵染产生的 miRNA 能定向作用于多种叶绿体相关的基因,特别是影响玉米黄素循环通路,造成叶绿体内囊体膜的不稳定和激素脱落酸的合成障碍<sup>[23]</sup>,最终决定 RSV 侵染症状的形成。RSV 侵染的水稻叶片中 *Osa-miR171b* 的表达量急剧的下降,该 miRNA 对应的靶标 *OsSCL6-IIa*, *OsSCL6-IIb*, *OsSCL6-IIc* 的表达量却提高了,最终导致植株叶片叶绿素含量降低出现黄化,生长迟缓;相反,超表达 *Osa-miR171b* 的水稻植株表现出叶绿素含量的提高,植株营养生

长的延长,其圆锥花序变长且出现更多的小穗,并且与顶端发育相关的 5 个正调节子 (*Ehd1*, *Ehd2*, *Ehd3*, *Ehd4*, *Hd3a*) 的表达量均上调了,而负调节子 (*Ghd7*) 却下调了,对 RSV 病毒的抗性也提高了<sup>[24]</sup>。这些研究表明 RSV 的侵染能造成一些 miRNA 的表达发生改变,造成最终 RSV 侵染的症状。

使用基于 iTRAQ 的定量蛋白组学研究 RSV 侵染的水稻作物,也发现在 RSV 的感染后,水稻中合成叶绿素的镁离子螯合酶 *ChI* 和 *ChID* 表达量的确发生下调,这与 RSV 侵染诱导水稻产生的 miRNA 能靶标其多种叶绿体相关基因的结论相符<sup>[23]</sup>,最终植株表现黄化;与此同时,与细胞坏死相关的天冬氨酸蛋白酶的表达式上调,与 RSV 侵染造成地叶片坏死表型相对应<sup>[25]</sup>。蛋白组学研究结果揭示了 RSV 侵染水稻造成叶片黄化和坏死分子机理。

对 RSV 侵染的模式作物本生烟转录组测序发现,共有 75 个差异表达基因,分别对这些基因沉默,其有 11 个基因能造成本生烟的萎黄,且进一步验证发现这 11 个基因均是叶绿体功能相关基因<sup>[24]</sup>,其中发现 RSV 病毒 RNA4 上产生的一个热点 vi-siRNA 能与 eIF4A 的 mRNA 序列完全匹配,造成 eIF4A 基因沉默,表现出 RSV 侵染造成的叶片扭曲及发育迟缓症状<sup>[26]</sup>。

综上所述,无论是在天然寄主水稻上,还是模式植物本生烟上,使用 miRNA 和转录组学,或者蛋白组学技术的研究结果系统地阐明了 RSV 系统侵染所产生症状的分子机理。

## 1.2 RSV 与介体灰飞虱的间接交互

### 1.2.1 RSV 抑制介体的免疫反应

RSV 的侵染可造成水稻减产甚至是绝产。依靠介体灰飞虱对病毒的复制及传播是其成功侵染构成危害的关键,灰飞虱的消化道及唾液腺在此过程中发挥了重要作用。对灰飞虱不同组织器官进行转录组测序分析,带毒的灰飞虱与健康的相比较发现:在消化道中,参与溶酶体、蛋白消化降解及解毒的基因被激活,而参与 DNA 复制及修复的基因被抑制<sup>[27]</sup>;在唾液腺中,与 RNA 运输相关的信号通路被激活了,这可能有利于病毒 RNA 在介体内的扩散及顺利地通过组织屏障;MAPK 信号通路、mTOR 信号通路、Wnt 信号通路及 TGF- $\beta$  信号通路则被抑制,这有利于病毒更好的在介体内建立系统感染<sup>[27]</sup>。因此,RSV 的侵染激活了灰飞虱唾液腺中

的模式识别分子和 Toll-like 信号通路等免疫过程,最终的免疫反应在灰飞虱的消化道中被抑制<sup>[27]</sup>,说明最初介体是能识别病毒的侵染,只是后续的免疫效应阶段被病毒组分通过不同策略给抑制了。

### 1.2.2 RSV 增强自身侵染及复制

病毒的复制往往需要依靠细胞内膜系统完成,病毒通过重塑细胞内膜系统来建立复制位点<sup>[28]</sup>。在这个过程中,磷脂作为非常重要的膜组成分子,对于细胞膜的重塑及病毒复制位点的建立至关重要,鞘磷脂作为磷脂中的一类,在维持真核生物膜结构完整性和功能发挥中具有重要的作用<sup>[29]</sup>,能调节细胞的增殖、分化和凋亡等生物学过程<sup>[30]</sup>。研究表明由鞘磷脂向神经酰胺代谢的过程对许多病毒的复制和侵染有极大的影响<sup>[31-34]</sup>。

在不同龄期带毒(RSV 感染)的灰飞虱体内有 6 个基因发生上调,分别是 *LsCGT1*、*LsNAGA1*、*LsSGPP*、*LsSMPD4*、*LsSMS* 和 *LsSPT*,这些基因编码的酶直接参与了鞘磷脂和神经酰胺的代谢合成过程,神经酰胺 Cer18:0、Cer20:0 和 Cer22:0 在感染病毒的灰飞虱中的表达量确实是上升的<sup>[35]</sup>,神经酰胺合酶在感染 RSV 的灰飞虱中的确是上调的<sup>[36]</sup>。RSV 侵染也能影响鞘磷脂向神经酰胺类物质的代谢,这暗示着 RSV 也可能通过调节介体的磷脂代谢过程,重塑细胞内膜系统继而增强自身在介体中的复制和增殖;也可能影响神经递质的合成,影响灰飞虱的神经系统,最终影响其行为。

### 1.2.3 RSV 对介体产卵调控的分子机制

RSV 是经典的虫传植物病毒,能经灰飞虱卵垂直传播给子代,约能传 40 代<sup>[14]</sup>。这意味着 RSV 能系统地感染雌性灰飞虱的生殖器官卵巢及其产生的卵细胞。从产卵前期到产卵后 7 d,RSV 病毒能在卵细胞中持续增殖和积累。

RSV 的侵染能减少灰飞虱产卵量,同时也降低了带毒卵的孵化率,且带毒卵的孵化时间更长,后期卵发育出现迟缓甚至是畸形或缺陷<sup>[37]</sup>。使用 iTRAQ 的定量蛋白组学对带毒与不带毒的灰飞虱卵细胞蛋白表达情况分析,发现有 147 个差异表达的蛋白,其中与健康的卵细胞比,有 98 个蛋白表达上调了,49 个蛋白表达发生下调。其中,与减数分裂相关的丝/苏氨酸磷酸酶 2B,周期蛋白 B3 和与有丝分裂相关的细胞周期蛋白 B3,动力蛋白重链的表达也发生变化,这些蛋白表达谱的变化可能与带毒

卵的孵化率低和发育缺陷及迟缓有关;与呼吸链和营养代谢相关蛋白的表达差异可能与后续的胚胎发育畸形相关<sup>[38]</sup>。

## 2 蛋白间的直接互作

蛋白与蛋白间的互作是生物体完成复杂的系列生命代谢过程,实现生命活动多样性的基础。病毒因其基因组较小和编码能力较弱决定了其编码的蛋白必然会参与到与寄主或介体的多重互作过程中,继而劫持或调整寄主的生理生化、免疫防御和新陈代谢,创造条件满足病毒自身的高效高速复制和增殖过程。RSV-寄主-介体三者间蛋白质互作网络是由蛋白之间互作构成,通过具体的蛋白间互作来参与生物体内的信号传递、寄主或者介体基因表达的调节、能量和物质代谢及细胞周期调控等生命过程和环节。了解和分析 RSV 编码的蛋白在生物系统中的相互作用关系,对了解生物系统中 RSV 编码蛋白的作用机制,了解病毒病害等特殊生理状态下生物信号和能量物质代谢的反应机制,以及了解病毒蛋白之间的功能联系都有重要意义

### 2.1 RSV 自身编码蛋白间直接互作

RSV 病毒共编码 7 个蛋白,自身编码蛋白间的互作目前发现共有 6 对,本研究从对互作的组合、证据及生物学功能等方面进行了归纳总结(表 2)。

鹿连明<sup>[39]</sup>通过酵母双杂交证明了病毒的外壳蛋白 NSvc3 (PC3) 能发生自身互作,这可能与病毒粒子的组装成熟有关。之后发现 RSV 编码的 NS3 (P3) 蛋白为基因沉默抑制子后,纯化的 NS3 蛋白能形成二聚体及多聚体<sup>[40]</sup>,表明 NS3 蛋白可能发生自身互作。近期研究使用酵母双杂交及双分子荧光互补试验进一步证明了 NS3 蛋白的确发生自身互作并形成二聚体,该二聚体结合 siRNA 是其抑制子功能发挥的必要条件<sup>[41]</sup>。酵母双杂交试验证明了基因沉默抑制子 NS3 蛋白能与症状特异性蛋白 SP 发生直接的互作<sup>[42]</sup>,这可能与 RSV 侵染水稻细胞后形成的大的纤维状内含物的病理学结构有关。(此处是互作的生物学意义的可能性,是观点,因此不能删除)

RSV 编码的糖蛋白 NSvc2 (PC2) 在感病的水稻及灰飞虱中只能检测到 N 端蛋白,不能检测到 C 端蛋白,在介体内可能存在 NSvc2 (PC2) 蛋白加工过程。序列比较发现 NSvc2 (PC2) 与布尼亚病毒科的膜蛋白存在着同源性<sup>[43]</sup>,暗示 NSvc2 (PC2)

表 2 RSV 编码蛋白间直接互动总结及整理

Table 2 Summary of the direct interactions between viral proteins

参考文献 Reference	病毒蛋白 Viral protein	方法 Method	互作蛋白 Interact protein	生物学功能 Biological function	年份 Year
[39]	NSvc3 (PC3) (外壳蛋白)	Y2H	NSvc3 (PC3) 外壳蛋白	病毒粒子的组装	2008
[40]	NS3 (P3)	蛋白纯化,	NS3 (P3)	二聚体的形成	2010
[41]	(RNA 沉默抑制子)	BiFC, Y2H	病毒编码的 RNA 沉 默抑制子	结合 siRNA 来抑制寄主的 RNA 沉默	
[42]	NS3 (P3) (RNA 沉默抑制子)	Y2H	NS4 (P4) 症状相关蛋白, SP	功能未知	2012
[44]	NSvc2 (PC2) (糖蛋白)	Y2H, FRET	NSvc2 (PC2) 糖蛋白	推测参与病毒介导的膜融合过 程	2013
[45]	NS4 (P4) (症状相关蛋白, SP)	激光扫描共聚焦 显微镜(LSCM)	NSvc3 (PC3) 外壳蛋白	有助于病毒在昆虫体内的扩散	2015
[46]	NSvc1 (PC1) (依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶)	Co-IP, BiFC	NSvc3 (PC3) 外壳蛋白	NSvc3 与 RdRp 互作有利于感染 初期的病毒 RNA 合成	2015

蛋白也能加工形成两个膜糖蛋白,侯艳玲<sup>[44]</sup>发现 NSvc2 (PC2) 蛋白预测的 2 个糖基化成熟蛋白(Gc 和 Gn)能发生直接的互作,可能与病毒进入昆虫细胞过程中介导病毒粒子与昆虫细胞膜发生融合的功能有关。

RSV 编码的 NS4 (P4) 蛋白是一个症状特异性蛋白(Disease-specific protein, SP),它与 RSV 感染造成的寄主症状发生相关,在介体中该蛋白能与 RSV 的外壳蛋白 NSvc3 (PC3) 形成的 RNP (Ribonucleoprotein) 发生共定位,也是直接互作<sup>[45]</sup>。RSV 编码的复制酶 NSvc1 (PC1) 能与病毒的外壳蛋白发生直接互作<sup>[46]</sup>,这种互作对 RSV 病毒基因组的复制极为重要。

## 2.2 RSV 编码蛋白与植物寄主因子间的直接互作

RSV 能感染多种单子叶植物,如水稻、玉米、小麦等。通过人工接种也能感染拟南芥,本生烟等双子叶植物。RSV 的感染造成叶片的扭曲、卷叶、黄化、及局部坏死等症状,这与病毒编码蛋白参与寄主诸多生理生化过程相关(表 3)。探究这些过程的分子机理,对理解 RSV 对植物的致病性至关重要。

已有研究通过酵母双杂交及免疫共沉淀技术证明了 RSV 编码的运动蛋白 NSvc4 (Pc4) 能与水稻

的 RNB5 及 RNB8 发生直接互作<sup>[47]</sup>。OsRNB5 及 OsRNB8 是水稻的 2 个小分子热激蛋白(sHSP20),推测 HSP20 蛋白能维持 NSvc4 形成的 RNP 相关组分保持可溶的运动状态,当 RNP 进入临近细胞,这些 HSP20 能使得病毒运动相关组分立即变性,进而帮助病毒在相邻细胞快速建立复制位点,由运动转向复制<sup>[47]</sup>。酵母双杂交及双分子荧光互补试验证实了 RSV 编码的 NS2 (P2) 蛋白能与水稻或拟南芥的 SGS3 蛋白发生直接互作,继而干扰寄主抗病毒 RNA 沉默信号的放大过程<sup>[48]</sup>,后发现 NS2 (P2) 蛋白与烟草的 Fib2 能发生直接互作<sup>[49]</sup>,证明了 NS2 蛋白能劫持寄主的 Fib2 参与到 RSV 的长距离运动中。

RSV 编码的症状特异性蛋白 SP (NS4, P4) 在酵母中能与水稻叶绿体 PsbP 互作, GST-pull down 及 BiFC 试验也证明蛋白间的直接互作,说明病毒通过自身蛋白 SP 将寄主编码的 PsbP 从叶绿体招募至细胞质中,导致叶绿体发育畸形和叶片黄化,继而形成病毒感染的症状<sup>[50]</sup>。RSV 编码的运动蛋白 NSvc4 (PC4) 能与烟草和水稻的 REM1 蛋白直接互作,通过互作干扰 REM1 蛋白的 S-棕榈酰修饰,影响 REM1 蛋白亚细胞定位的分布,来增强胞间连

表3 RSV 编码蛋白与寄主因子间直接互作总结及整理

Table 3 Summary of the direct interactions between viral protein and host factors

参考文献 Reference	病毒蛋白 Viral protein	方法 Method	寄主因子 Host factor	生物学功能 Biological function	年份 Year
[47]	NSvc4 (PC4) (运动蛋白)	Y2H, Co-IP	OsRNB5 OsRNB8 (sHSP)	推测: Hsp20 能维持变性的运动蛋白的结构, 这种结构刚好是结合有病毒运动相关组分, 且是可溶的; 当病毒的运动组分进入到相邻细胞, 出现的 Hsp20 能立即有效的复性运动蛋白, 继而释放相应的病毒组分, 为病毒在此细胞中的复制做准备	2009
[48]	NS2 (P2)	Y2H, BiFC	OsSGS3	P2 被证明是 RNA 沉默抑制子	2011
[50]	NS4 (P4) (病症相关蛋白)	Y2H, GST-pull down, BiFC	OsPsbP	分析细胞成分发现, 大部分的 PsbP 蛋白被招募至细胞质 最终导致叶绿体结构与功能的改变	2014
[49]	NS2 (P2)	BiFC 共定位 分析	NbFib2	P2 蛋白可能会通过招募和操作核仁的功能继而促进病毒的侵染	2015
[52]	NS3 (P3) (RNA 沉默抑制子)	BiFC, Co-IP	OsDRB1	NS3 蛋白能挟持 miRNA 加工复合物的关键组分 OsDRB1 来增强病毒对水稻的侵染和致病性	2017
[51]	NSvc4 (PC4) (运动蛋白)	Y2H, Co-IP, BiFC 共定位 分析	NbREM1 OsREM1.4	NSvc4 蛋白与 NbREM1 蛋白的 C 端互作, 继而干扰其 C 端的 S-棕榈酰化, 影响 NbREM1 蛋白的亚细胞定位, 干扰植株对 RSV 的抗性	2018

丝的通透性,使得 RSV 顺利地通过胞间连丝,达到促进病毒的胞间运动的目的<sup>[51]</sup>。RSV 编码的 NS3 (P3) 蛋白能与水稻细胞核的 DRB1 互作,干扰寄主植株的 Pri-mRNA 的剪接,影响 miRNA 表达谱,下调水稻的抗性相关蛋白的表达,继而提高 RSV 在水稻上的致病性<sup>[52]</sup>。

### 2.3 RSV 编码蛋白与介体灰飞虱蛋白因子间的直接互作

RSV 造成的水稻的减产甚至于绝收,归其原因,灰飞虱应该发挥了重要的作用。RSV 的田间扩散主要依靠灰飞虱介导的水平传播及卵垂传播,即健康水稻植株的感病不能脱离灰飞虱传毒。因此,了解灰飞虱与 RSV 的互作关系(表 4),如何打破灰飞虱—RSV 互作的稳态,可为后续灰飞虱的田间防治,开发环境友好型防治策略提供参考。

国内在筛选与 RSV 互作蛋白研究方面做了大量工作:通过 Far-western 技术,双向电泳后鉴定到了与 RSV 病毒粒子结合的蛋白点,5 个互作蛋白点经 LC/MS(液相色谱—质谱联用仪)鉴定,分别是

GAPDH、RACK、RPL5、RPL7a 和 RPL8,经酵母双杂交进一步验证,发现只有后 3 个核糖体蛋白能与 RSV 的外壳蛋白 NSvc3 (PC3) 互作,GAPDH 和 RACK 蛋白只能与病毒粒子互作<sup>[53]</sup>,因此,GAPDH 和 RACK 蛋白可能参与 RSV 侵入灰飞虱细胞的内吞作用相关,而其中的 3 个核糖体蛋白可能在 RSV 对灰飞虱感染及复制增殖中发挥重要作用。也有研究通过应用 GST-pull down 技术证明了外壳蛋白 NSvc3 (PC3) 能与卵黄原蛋白 (Vitellogenin, Vg) 直接互作,RSV 的 RNP (核糖核蛋白复合物) 结合 Vg 后,通过内吞作用进入卵巢,依赖于 Vg 蛋白的转运机制,进一步通过滋养丝进入到卵细胞,实现卵细胞带毒<sup>[14]</sup>,揭示了 RSV 在灰飞虱中经卵传播的分子机制。

依靠膜系统的酵母双杂交技术,使用外壳蛋白 NSvc3 (PC3) 为饵大规模的筛选灰飞虱的蛋白,最终确定的 5 个与 NSvc3 互作的蛋白,通过免疫共沉淀及 GST-pull down 技术再次证明了它们之间的直接互作;深入研究其中的表皮蛋白 CPR1,发现它

表 4 RSV 编码蛋白与介体因子直接互作总结及整理

Table 4 Summary of the direct interactions between viral proteins and insect factors

参考文献 Reference	病毒蛋白 Viral protein	方法 Method	互作因子 Interacted factor	生物学功能 Biological function	年份 Year
[53]	NSvc3 (PC3) (运动蛋白)	Far-western, Y2H	GAPDH, RACK RPL5 RPL7a, RPL8	参与病毒粒子在表皮上的反式内吞作用 鉴定到的三种蛋白对 RSV 在介体细胞 中的侵染和繁殖发挥了潜在重要的作用	2011
[14]	NSvc3 (PC3) (运动蛋白)	GST-pull down	Vitellogenin (Vg)	RSV RNPs 可能与 Vg 蛋白结合, 然后通 过内吞作用进入到卵巢的滋养细胞, 最 终沿着营养索进入卵细胞, 与 Vg 蛋白输 送保持着相同的路径	2014
[54]	NSvc3 (PC3) (外壳蛋白)	Y2H, Co-IP GST-pull down	表皮蛋白(CPR1) Jagunal, NAC 结构 域蛋白 Vitellogenin (Vg), Atlasin	在介体中 CPR1 蛋白直接结合 RSV, 来 稳定病毒在淋巴液中的浓度, 可能有助 于保护病毒和帮助病毒像唾液腺的移动 其他的蛋白推测可能参与病毒的运动、 复制及经卵传播	2015
[55]	NS3 (P3) (RNA 沉默抑制子)	Y2H	RPN3	NS3 蛋白能通过与其灰飞虱 26S 蛋白酶体 的 RPN3 亚基直接互作来致弱介体的免 疫防卫反应	2015
[56]	NSvc3 (PC3) (外壳蛋白)	Y2H, Co-IP GST-pull down	G 蛋白通路抑制子 2 (GPS2)	外壳蛋白能竞争性的结合 GPS2 蛋白, 继 而抑制 JNK 通路。JNK 通路的激活, 能 促进 RSV 在介体中的复制, 而抑制 JNK 通路能显著下降病毒含量, 延迟寄主症 状发生的时间	2017
[57]	NSvc3 (PC3) (外壳蛋白)	Y2H, Co-IP	(糖转运蛋白 6) LsST6	外壳蛋白能与灰飞虱糖转运蛋白 6 发生 直接互作, 帮助 RSV 突破飞虱中肠表皮 屏障, 实现对虫体的系统侵染	2018

可以稳定病毒在血淋巴中的浓度, 可能在保护病毒, 促进病毒进入唾液腺过程中发挥重要的作用<sup>[54]</sup>。另外几个互作蛋白, 可能参与到病毒的运动、复制及水平传毒过程<sup>[54]</sup>。RSV 的基因沉默抑制子蛋白 NS3 (P3) 能与灰飞虱 26S 蛋白酶体的 RPN3 直接互作, 通过互作劫持灰飞虱的 26S 蛋白酶体来致弱介体的免疫防疫反应, 增强 RSV 对灰飞虱的致病性<sup>[55]</sup>。RSV 的外壳蛋白 NSvc3 (PC3) 发现能与灰飞虱 G 蛋白通路抑制子 2 (G protein pathway suppressor, GPS2) 直接互作, 导致 JNK 免疫通路被激活, JNK 通路的激活能促进病毒在介体中的复制, 增强 RSV 对灰飞虱的致病性; 相反, 当 JNK 通路被抑制时, 造成病毒含量下降, 同时也延缓了在寄主上的症状<sup>[56]</sup>。RSV 的外壳蛋白 NSvc3 (PC3) 能与灰飞虱的糖转运蛋白 (LsST6) 发生互作, 暗示

RSV 可突破灰飞虱中肠屏障, 实现对虫体系统感染的分子机理<sup>[57]</sup>。

### 3 存在问题与研究展望

本研究总结并归纳分析了 RSV-寄主-介体三者互作的最新研究结果, 结果发现: RSV-寄主互作中涉及到病毒的 5 种蛋白, 而 RSV-介体只有 2 种; 所使用的互作鉴定方法上 RSV-寄主互作中使用了 5 种, 而 RSV-介体只有 4 种; 针对互作蛋白, RSV-寄主互作中有 4 种, 而 RSV-介体互作中只有 1 种。综上所述, 由于寄主遗传背景清楚, 研究方法也更成熟, 所以相对于 RSV-介体互作的研究, RSV-寄主互作研究更为深入。

与病毒互作的对象主要是指寄主植物和介体昆虫。研究植物基因功能的方法有多种, 例如: 遗传学



上,对某一基因进行敲除的 TALEN<sup>[58]</sup>、常规化应用的 CRISPR/Cas9<sup>[59-60]</sup> 及快速的 VIGS (Virus-induced gene silencing system) 沉默系统<sup>[61-62]</sup>。研究昆虫功能基因目前比较有效的为 dsRNA 介导的干扰沉默<sup>[63]</sup>, CRISPR/Cas9 技术的运用一直比较局限,直到最近才有所突破<sup>[64]</sup>。因此,开发基于虫传植物病毒的超表达及沉默载体系统,建立介体昆虫的功能基因组学的突变体库,或者优化 CRISPR/Cas9 技术在特定介体昆虫中的运用条件等,都会有助于进一步的昆虫基因功能研究。

RSV 是双义负链 RNA 病毒,对其反向遗传学载体的构建也显得尤为重要。对带毒灰飞虱的深度测序揭示了 RSV 基因组 RNA1 和 RNA2 的 3' 末端分别存在 16 和 15 nt 的延伸<sup>[65]</sup>,这个发现为侵染性克隆的构建提供了可能。总之,病毒-寄主-介体三者互作的深入研究中,获得反向遗传学试验证据才能进一步证实蛋白的生物学功能,从分子水平阐明三者之间互作机理。

## 参考文献 References

- [1] King A M Q, Adams M J, Eric B Carstens, Lefkowitz E J. *Virus Taxonomy; Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*[M]. San Diego: Elsevier Press, 2011
- [2] Hibino H. Biology and epidemiology of rice viruses[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1996, 34(1): 249-274
- [3] Wu S J, Zhong H, Zhou Y, Zou H, Zhou L H, Zhu J Y, Ji C Q, Gu S L, Gu M H, Liang G H. Identification of QTLs for the resistance to *Rice stripe virus* in the indica rice variety Dular[J]. *Euphytica*, 2009, 165(3): 557-565
- [4] Falk B W, Tsai J H. Biology and molecular biology of viruses in the genus *Tenuivirus*[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1998, 36(1): 139-163
- [5] Lian S, Jonson M G, Cho W K, Choi H S, Je Y H, Kim K H. Generation of antibodies against *Rice stripe virus* proteins based on recombinant proteins and synthetic polypeptides[J]. *Plant Pathology Journal*, 2011, 27(1): 37-43
- [6] Xiong R Y, Wu J X, Zhou Y J, Zhou X P. Characterization and subcellular localization of an RNA silencing suppressor encoded by *Rice stripe tenuivirus*[J]. *Virology*, 2009, 387(1): 29-40
- [7] Sun F, Yuan X, Zhou T, Fan Y J, Zhou Y J. *Arabidopsis* is susceptible to *Rice stripe virus* infections [J]. *Journal of Phytopathology*, 2011, 159(11-12): 767-772
- [8] Cui F, Zhao W, Luo L, Kang L. Rice responses and resistance to planthopper-borne viruses at transcriptomic and proteomic levels[J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2016, 19: 43-52
- [9] Blanc S, Waigmann E, Heinlein M. Virus transmission-getting out and in[M]. In: David G R, Peter N, eds. *Plant Cell Monographs*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2007, 7: 1-28
- [10] Nicoletti M, Murugan K, Benelli G. Emerging insect-borne diseases of agricultural, medical and veterinary importance [M]. In: Nicoletti M, Murugan K, Benelli G, eds. *Insecticides Resistance*, London: IntechOpen; 2016, 219-241
- [11] Fernández-Calvino L, López-Abella D, López-Moya J J. Integrated management of insect borne viruses by means of transmission interference as an alternative to pesticides[M]. In: Ciancio A, Mukerji K G, eds. *General Concepts in Integrated Pest and Disease Management*, Dordrecht: Springer Netherlands, 2007, 269-293
- [12] Zhao W, Yang P C, Kang L, Cui F. Different pathogenicities of *Rice stripe virus* from the insect vector and from viruliferous plants[J]. *New Phytologist*, 2016, 210(1): 196-207
- [13] Hogenhout S A, Ammar E D, Whitfield A E, Redinbaugh M G. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2008, 46(1): 327-359
- [14] Huo Y, Liu W W, Zhang F J, Chen X Y, Li L, Liu Q F, Zhou Y J, Wei T Y, Fang R X, Wang X F. Transovarial transmission of a plant virus is mediated by vitellogenin of its insect vector[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(3): e1003949
- [15] Rosa C, Kuo Y W, Wuriyanghan H, Falk B W. RNA interference mechanisms and applications in plant pathology [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2018, 56(1): 581-610
- [16] Monteiro F, Nishimura M T. Structural, functional, and genomic diversity of plant NLR proteins: an evolved resource for rational engineering of plant immunity[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2018, 56(1): 243-267
- [17] Clavel M, Michaeli S, Genschik P. Autophagy: A double-edged sword to fight plant viruses[J]. *Trends in Plant Science*, 2017, 22(8): 646-648
- [18] Du P, Wu J G, Zhang J Y, Zhao S Q, Zheng H, Gao G, Wei L P, Li Y. Viral infection induces expression of novel phased microRNAs from conserved cellular microRNA precursors[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(8): e1002176
- [19] Wu J G, Yang Z R, Wang Y, Zheng L J, Ye R Q, Ji Y H, Zhao S S, Ji S Y, Liu R F, Xu L, Zheng H, Zhou Y J, Zhang X, Cao X

- F, Xie L H, Wu Z J, Qi Y J, Li Y. Viral-inducible Argonaute18 confers broad-spectrum virus resistance in rice by sequestering a host microRNA[J]. *eLife*, 2015, 4: e05733
- [20] Wu J G, Yang R X, Yang Z R, Yao S Z, Zhao S S, Wang Y, Li P C, Song X W, Jin L, Zhou T, Lan Y, Xie L H, Zhou X P, Chu C C, Qi Y J, Cao X F, Li Y. ROS accumulation and antiviral defence control by microRNA528 in rice[J]. *Nature Plants*, 2017, 3(1): 16203
- [21] Hemmes H, Kaaij L, Lohuis D, Prins M, Goldbach R, Schnettler E. Binding of small interfering RNA molecules is crucial for RNA interference suppressor activity of rice *Hoja blanca virus* NS3 in plants[J]. *Journal of General Virology*, 2009, 90(7): 1762-1766
- [22] Lian S, Cho W K, Kim S M, Choi H, Kim K H. Time-course small RNA profiling reveals rice miRNAs and their target genes in response to *Rice stripe virus* infection[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0162319
- [23] Yang J, Zhang F, Li J, Chen J P, Zhang H M. Integrative analysis of the microRNAome and transcriptome illuminates the response of susceptible rice plants to *Rice stripe virus*[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146946
- [24] Tong A Z, Yuan Q, Wang S, Peng J J, Lu Y W, Zheng H Y, Lin L, Chen H R, Gong Y F, Chen J P, Yan F. Altered accumulation of osa-miR171b contributes to *Rice stripe virus* infection by regulating disease symptoms[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(15): 4357-4367
- [25] Wang B, Hajano J U D, Ren Y D, Lu C T, Wang X F. iTRAQ-based quantitative proteomics analysis of rice leaves infected by *Rice stripe virus* reveals several proteins involved in symptom formation[J]. *Virology journal*, 2015, 12(1): 99
- [26] Shi B B, Lin L, Wang S H, Guo Q, Zhou H, Rong L L, Li J M, Peng J J, Lu Y W, Zheng H Y, Yang Y, Chen Z, Zhao J P, Jiang T, Song B A, Chen J P, Yan F. Identification and regulation of host genes related to *Rice stripe virus* symptom production [J]. *New Phytologist*, 2016, 209(3): 1106-1119
- [27] Zhao W, Lu L X, Yang P C, Cui N, Kang L, Cui F. Organ-specific transcriptome response of the small brown planthopper toward *Rice stripe virus*[J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 70: 60-72
- [28] Netherton C L, Wileman T. Virus factories, double membrane vesicles and viroplasm generated in animal cells[J]. *Current Opinion in Virology*, 2011, 1(5): 381-387
- [29] Hannun Y A, Obeid L M. Principles of bioactive lipid signalling; Lessons from sphingolipids [J]. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 2008, 9(2): 139-150
- [30] Phan V H, Herr D R, Panton D, Fyrst H, Saba J D, Harris G L. Disruption of sphingolipid metabolism elicits apoptosis-associated reproductive defects in *Drosophila* [J]. *Developmental Biology*, 2007, 309(2): 329-341
- [31] Umehara T, Sudoh M, Yasui F, Matsuda C, Hayashi Y, Chayama K, Kohara M. Serine palmitoyltransferase inhibitor suppresses HCV replication in a mouse model[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 346(1): 67-73
- [32] Katsume A, Tokunaga Y, Hirata Y, Munakata T, Saito M, Hayashi H, Okamoto K, Ohmori Y, Kusanagi I, Fujiwara S, Tsukuda T, Aoki Y, Klumpp K, Tsukiyama Kohara K, El Gohary A, Sudoh M, Kohara M. A serine palmitoyltransferase inhibitor blocks *Hepatitis C virus* replication in human hepatocytes[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(4): 865-873
- [33] Schneider-Schaulies J, Schneider-Schaulies S. Sphingolipids in viral infection[J]. *Biological Chemistry*, 2015, 396(6-7): 585-595
- [34] Hayashi Y, Nemoto-Sasaki Y, Tanikawa T, Oka S, Tsuchiya K, Kouta Z M, Mitsutake S, Sugiura T, Yamashita A. Sphingomyelin synthase 2, but not sphingomyelin synthase 1, is involved in HIV-1 envelope-mediated membrane fusion [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(44): 30842-30856
- [35] Jiao W J, Li F Q, Bai Y L, Shi X X, Zhu M F, Zhang M J, Mao C G, Zhu Z R. *Rice stripe virus* infection alters mRNA levels of sphingolipid-metabolizing enzymes and sphingolipids content in *Laodelphax striatellus* [J]. *Journal of Insect Science*, 2017, 17(1): 16
- [36] Zhou Y, Lin X W, Zhang Y R, Huang Y J, Zhang C H, Yang Q, Li H Y, Yuan J Q, Cheng J A, Xu R, Mao C, Zhu Z R. Identification and biochemical characterization of *Laodelphax striatellus* neutral ceramidase [J]. *Insect Molecular Biology*, 2013, 22(4): 366-375
- [37] Li S, Wang S J, Wang X, Li X L, Zi J Y, Ge S S, Cheng Z B, Zhou T, Ji Y H, Deng J H, Wong S M, Zhou Y J. *Rice stripe virus* affects the viability of its vector offspring by changing developmental gene expression in embryos [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 7883
- [38] Liu B B, Qin F L, Liu W W, Wang X F. Differential proteomics profiling of the ova between healthy and *Rice stripe virus*-infected female insects of *Laodelphax striatellus* [J]. *Scientific*

- Reports, 2016, 6(1): 27216
- [39] 鹿连明. 利用酵母双杂交系统研究水稻条纹病毒与寄主水稻之间的互作[D]. 福州: 福建农林大学, 2014
- Lu L M. Study on the interaction between *Rice stripe virus* and host rice by Yeast two-hybrid system [D]. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University, 2014 (in Chinese)
- [40] Shen M, Xu Y, Jia R, Zhou X P, Ye K Q. Size-independent and noncooperative recognition of dsRNA by the *Rice stripe virus* RNA silencing suppressor NS3 [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2010, 404(4): 665-679
- [41] Kim H, Cho W K, Lian S, Kim K H. Identification of residues or motif(s) of the *Rice stripe virus* NS3 protein required for self-interaction and for silencing suppressor activity[J]. *Virus Research*, 2017, 235: 14-23
- [42] 牛晓庆, 鹿连明, 吴建. 酵母双杂交技术研究 NS3 蛋白及其与 CP, SP, NSvc4 之间的互作[J]. 热带作物学报, 2012, 33(9): 1642-1646
- Niu X Q, Lu L M, Wu Z J. Study on the interaction between NS3 of *Rice stripe virus* and CP, SP, NSvc4 and itself [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2012, 33(9): 1642-1646 (in Chinese)
- [43] Takahashi M, Toriyama S, Hamamatsu C, Ishihama A. Nucleotide sequence and possible ambisense coding strategy of *Rice stripe virus* RNA segment 2 [J]. *Journal of General Virology*, 1993, 74(4): 769-773
- [44] 侯艳玲. 水稻条纹病毒 NSvc2-N 与 NSvc2-C 蛋白互作白研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2013
- Hou Y L. Study on the interaction of *Rice stripe virus* NSvc2-N and NSvc2-C [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2013 (in Chinese)
- [45] Wu W, Zheng L M, Chen H Y, Jia D S, Li F, Wei T Y. Nonstructural protein NS4 of *Rice stripe virus* plays a critical role in viral spread in the body of vector insects [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88636
- [46] Zhao S L, Hao J H, Xue Y N, Liang C Y. Intracellular localization of *Rice stripe virus* RNA-dependent RNA polymerase and its interaction with nucleocapsid protein [J]. *Virus Genes*, 2015, 51(3): 423-429
- [47] Lu L M, Du Z G, Qin M L, Wang P, Lan H H, Niu X Q, Jia D S, Xie L Y, Lin Q Y, Xie L H, Wu Z J. Pc4, a putative movement protein of *Rice stripe virus*, interacts with a type I DnaJ protein and a small Hsp of rice [J]. *Virus Genes*, 2009, 38(2): 320-327
- [48] Du Z G, Xiao D L, Wu J G, Jia D S, Yuan Z J, Liu Y, Hu L Y, Han Z, Wei T Y, Lin Q Y, Wu Z J, Xie L H. p2 of *Rice stripe virus* (RSV) interacts with OsSGS3 and is a silencing suppressor [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2011, 12(8): 808
- [49] Zheng L P, Du Z G, Lin C, Mao Q Z, Wu K C, Wu J G, Wei T Y, Wu Z J, Xie L H. *Rice stripe tenuivirus* p2 may recruit or manipulate nucleolar functions through an interaction with fibrillarin to promote virus systemic movement [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 16(9): 921-930
- [50] Kong L F, Wu J X, Lu L N, Xu Y, Zhou X P. Interaction between *Rice stripe virus* disease-specific protein and host PsbP enhances virus symptoms [J]. *Molecular Plant*, 2014, 7(4): 691-708
- [51] Fu S, Xu Y, Li C Y, Li Y, Wu J X, Zhou X P. *Rice stripe virus* interferes with S-acylation of remorin and induces its autophagic degradation to facilitate virus infection [J]. *Molecular Plant*, 2017, 11(2): 269-287
- [52] Zheng L J, Zhang C, Shi C N, Yang Z R, Wang Y, Zhou T, Sun F, Wang H, Zhao S S S, Qin Q Q Q, Qiao R, Ding Z M M, Wei C H H, Xie L H H, Wu J G, Li Y. *Rice stripe virus* NS3 protein regulates primary miRNA processing through association with the miRNA biogenesis factor OsDRB1 and facilitates virus infection in rice [J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(10): e1006662
- [53] Li S, Xiong R Y, Wang X F, Zhou Y J. Five proteins of *Laodelphax striatellus* are potentially involved in the interactions between *Rice stripe virus* and vector [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26585
- [54] Liu W W, Gray S, Huo Y, Li L, Wei T Y, Wang X F. Proteomic analysis of interaction between a plant virus and its vector insect reveals new functions of hemipteran cuticular protein [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2015, 14(8): 2229
- [55] Xu Y, Wu J X, Fu S, Li C Y, Zhu Z R, Zhou X P. *Rice stripe tenuivirus* nonstructural protein 3 hijacks the 26S proteasome of the small brown planthopper via direct interaction with regulatory particle non-ATPase subunit 3 [J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(8): 4296-4310
- [56] Wang W, Zhao W, Li J, Luo L, Kang L, Cui F. The c-Jun N-terminal kinase pathway of a vector insect is activated by virus capsid protein and promotes viral replication [J]. *eLife*, 2017, 6:
- [57] Qin F L, Liu W W, Wu N, Zhang L, Zhang Z K, Zhou X P, Wang X F. Invasion of midgut epithelial cells by a persistently

- transmitted virus is mediated by sugar transporter 6 in its insect vector[J]. *PLoS Pathogens*, 2018, 14(7): e1007201
- [58] Li T, Liu B, Spalding M H, Weeks D P, Yang B. High-efficiency TALEN-based gene editing produces disease-resistant rice[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(5): 390-392
- [59] Jiang W Z, Zhou H B, Bi H H, Fromm M, Yang B, Weeks D P. Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in *Arabidopsis*, tobacco, sorghum and rice [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(20): e188
- [60] Ma X L, Zhang Q Y, Zhu Q L, Liu W, Chen Y, Qiu R, Wang B, Yang Z F, Li H Y, Lin Y R, Xie Y Y, Shen R X, Chen S F, Wang Z, Chen Y L, Guo J X, Chen L T, Zhao X C, Dong Z C, Liu Y G. A robust CRISPR/Cas9 system for convenient, high-efficiency multiplex genome editing in monocot and dicot plants [J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(8): 1274-1284
- [61] Ding X S, Rao C S, Nelson R S. Analysis of gene function in rice through virus-induced gene silencing[M]. In: Pamela R C, eds. *Plant-Pathogen Interactions: Methods and Protocols*. New Jersey: Humana Press, 2007, 145-160
- [62] Purkayastha A, Mathur S, Verma V, Sharma S, Dasgupta I. Virus-induced gene silencing in rice using a vector derived from a DNA virus[J]. *Planta*, 2010, 232(6): 1531-1540
- [63] Zhang C F, Xue J, Ye Y X, Jiang Y Q, Zhuo J C, Huang H J, Cheng R L, Xu H J, Zhang C X. Efficient RNAi of rice planthoppers using microinjection [J]. *Protocol Exchange*, 2015, 12(4): 739-747
- [64] Kanakala S, Ghanim M. RNA interference in insect vectors for plant viruses[J]. *Viruses*, 2016, 8(12): 329
- [65] Zhao W, Xu Z T, Zhang X M, Yang M L, Kang L, Liu R Y, Cui F. Genomic variations in the 3'-termini of *Rice stripe virus* in the rotation between vector insect and host plant [J]. *New Phytologist*, 2018, 219(3): 1085-1096

责任编辑：杨爱东