

大麦黄矮病毒分子生物学的研究进展*

282-289
韩志勇 赵章杏 朱睦元**

(杭州大学生命科学院, 杭州 310012)

Advances of Research on Molecular Biology of
Barley Yellow Dwarf Virus

Han Zhiyong Zhao Zhangxing Zhu Muyuan

(College of Life Science, Hangzhou University, Hangzhou 310012)

关键词 大麦黄矮病毒, 黄矮病毒组, 分子生物学

Key words Barley yellow dwarf virus, Luteovirus, Molecular biology

大麦黄矮病毒(Barley Yellow Dwarf Virus, BYDV)是黄矮病毒组(Luteovirus)中的一员。它只能通过蚜虫传播,广泛流行于北美、欧洲、东亚的大麦产区。大麦黄矮病主要引起大麦矮化,抑制分蘖,减少穗数,造成不孕以至不能结实。除大麦外,大麦黄矮病毒还可以侵染小麦、燕麦、玉米等多种禾谷类经济作物和牧草。其中,以大麦、小麦受害最为严重。在流行年份,可使大麦产量损失40%,小麦也有20%的损失,因此引起了各流行国家和地区的高度重视。近年来关于大麦黄矮病毒的分子生物学研究有了很大进展,现作一简单评述。

1 大麦黄矮病毒的形态结构、核酸组分和分类

BYDV的病毒粒子由正链ssRNA和分子量约为22 kDa的外壳蛋白组成,呈正20面体球形,直径24~30 nm。病毒的基因组由约5.7 kb核苷酸组成,3'末端没有poly(A)尾,属于第二亚组的BYDV株系基因组的5'端附有一个小蛋白Vpg。

根据蚜虫宿主种类和血清学关系,大麦黄矮病毒被分为MAV、PAV、SGV、RPV、RMV、GPV六个株系,其中GPV目前只在中国发现^[1]。黄矮病毒组依据基因组结构、血清学特性分为两个亚组,第一亚组包括BYDV的PAV、MAV、SGV株系;第二亚组包括BYDV的RPV、RMV株系,甜菜西方黄化病毒(BWYV)、马铃薯卷叶病毒(PLRV)等。

2 大麦黄矮病毒的基因组结构和亚基因组RNA

2.1 大麦黄矮病毒的基因组结构

BYDV-PAV的基因组RNA有6个开放阅读框(ORF)^[2](图1)。ORF1编码一个39 kDa

收稿日期:1997-08-18,修回日期:1998-01-15

* 本研究得到国家教委优秀青年教师基金、国家和浙江省自然科学基金、浙江省科委资助

** 联系作者

蛋白。这个 ORF 与 ORF2 有 13 个碱基的重叠,这样,ORF1 和 ORF2 通过移码作用编码病毒的依赖 RNA 的 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerases, RdRp)。ORF3 编码病毒的外壳蛋白(CP),其中含有一个完全重叠的编码 17 kDa 蛋白的 ORF4。紧接 ORF3 的 ORF5 可以和前者发生通读,产生 72 kDa 的通读蛋白(Raethrough protein, RTP)。ORF6 编码一个 6.7 kDa 的蛋白

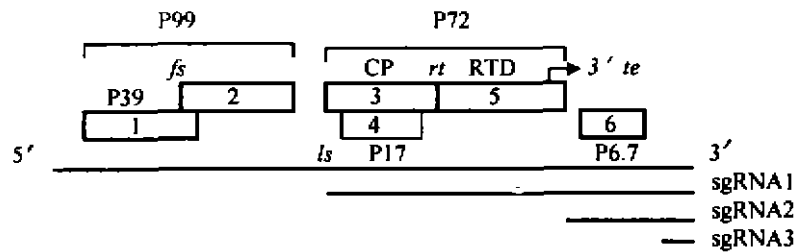


图1 BYDV-PAV 株系的遗传图谱。开阅读框用标有数字和蛋白质产物大小的矩形表示。图中标出了移码(*fs*)、遗漏扫描(*ls*)、通读(*rt*)和3'翻译增强子(3'*te*)的位置。直线代表RNA。

Fig.1 Genetic map of BYDV-PAV. Open reading frames are indicated by number inside the box and by size of protein product outside box. Sites of translational events are abbreviated as follows: *fs*, frameshift; *ls*, leaky scanning; *rt*, readthrough; 3'*te*, 3' translation enhancer. Bold lines indicate genomic and subgenomic RNA.

2.2 大麦黄矮病毒的亚基因组 RNA

BYDV-PAV 有三个亚基因组 RNA(Subgenomic RNA, sgRNA)。在被感染的植物中,sgRNA3 的转录量大于其它种类 RNA。sgRNA1 和 sgRNA2 的转录量则与 BYDV 的种类有关。但在提纯的病毒粒子中 sgRNA3 的含量却与基因组 RNA 相同,因此我们推测只有一小部分 sgRNA3 被包入病毒颗粒中。

PAV 株系澳大利亚分离种 2.9 kb 的 sgRNA1 的 5' 末端起始于第 2 670 nt^[3]。sgRNA1 用于表达 ORF3、ORF4 和 RTP。0.8 kb 的 sgRNA2 的 5' 端起始于第 4 809 nt。有趣的是,sgRNA1 和 sgRNA2 的 5' 末端核酸序列的特征几乎相同,都含有 GUGAAG 序列,这种特征在其它植物病毒中也有过报道。这种病毒 sgRNA5' 末端的保守序列有可能是为合成正链 RNA 的病毒转录酶提供识别负链的标志。sgRNA2 只用于表达 ORF6。

由 329 个核苷酸组成的 sgRNA3 的 5' 末端与基因组 RNA 不一样,并且与 sgRNA1 和 sgRNA2 相差很大^[3]。还没有报道证明 sgRNA3 有基因产物,通过测序表明它的 cDNA 是基因组 RNA 的 3' 末端最后 329 个核苷酸的直接拷贝,且 sgRNA3 是普遍存在于检测过的每一个 PAV 株系澳大利亚分离种中。因此我们可以相信 sgRNA3 是一个真正的 sgRNA 而不是缺损干扰 RNA,而且联系到它在感染过程中的大量转录,可以推测它可能有重要的调控作用。

3 大麦黄矮病毒基因组表达的方式、调控机制和基因产物的功能

大麦黄矮病毒的基因产物并不多,却使用了一些不寻常的翻译调节机制表达基因。其中包括 a-1 核糖体移码、终止密码子通读、遗漏扫描、3' 翻译增强子等。由于 BYDV 只存在于植物的韧皮部,而且浓度极低,难于提取,所以它的分子生物学研究开展较晚。到目前为止,它的个别基因产物的功能还不为人所知。

3.1 ORF1 和 ORF2 产物的表达和功能

BYDV-PAV 的 ORF1 和 ORF2 通过基因组 RNA 表达。ORF1 产物的功能还不清楚,但知道它是病毒 RNA 转录所必需的。ORF1 的翻译受 3' 翻译增强子的调控。这个翻译增强子位于碱基 4 513~5 009 之间,是一个长距离调控元件,它能强烈地刺激 BYDV 无帽 RNA 的翻译。它的缺失可以使 ORF1 的翻译下降 30 倍,其原因可能是 3' 翻译增强子能够增加 mRNA 的稳定性,具有 5' 帽子的作用^[4]。

BYDV 由 ORF2 和 ORF1 通过 a-1 核糖体移码机制产生 99 kDa 的病毒 RNA 聚合酶,它含有 RdRp 共有的 GXXXTXN(X)₂₀₋₄₀GDD 核心序列(X 代表任何核苷酸)。缺失实验表明在移码区域上游有一段核酸序列是移码必需的,这个序列包括 GGUUUUUA(1 152~1 159 nt) 8 个核苷酸,其中的 UUUUA 序列是许多病毒的移码区域共有的^[5]。紧接着移码位点的上游是一个大的茎-环结构,这种结构也是很多病毒所共有的,但现在认为这个结构并不参与移码机制。

3.2 ORF3 和 ORF4 产物的表达和功能

ORF3 编码的 CP 不但参与外壳的组装,而且游离的 CP 也是病毒的 RNA 转录所需要的。属于第二亚组的黄矮病毒的 ORF4 目前被认为编码 Vpg 蛋白。但 PAV 株系可以不含有 Vpg, ORF4 也不是它的 RNA 复制所必需的^[6]。1996 年,Miller 等^[7]证明了 PAV 的 ORF4 编码的 17 kDa 蛋白是病毒在植物中扩散所必需的。因此,在 PAV 株系中 17 kDa 蛋白实际上是负责病毒扩散的运动蛋白(movement protein, MP)。最近, J. Schmitz 等人的实验证明第二亚组中的 PLRV 的 17 kDa 蛋白实际上也是 MP^[8],因此在第二亚组中 ORF4 是否编码 Vpg 蛋白值得怀疑,或许在整个黄矮病毒组中 ORF4 都编码 MP。MP 通过与胞间连丝相互作用来增加大分子的排阻限度,加速病毒在邻近细胞的扩散。

在体外, ORF4 和 ORF3 产物的比例在 10:1 至 1:1 之间,而且与翻译体系中 MgCl₂ 和醋酸钾的浓度有关^[9]。在体内, ORF4 的翻译大约是 ORF3 的 10%,但相对于 ORF4 起始密码子所处的位置来说这个起始水平是高的。ORF4 的高水平翻译可能是由于它的 AUG 较 CP 而言处于一个更有利于翻译起始的核酸序列背景之中。实际上,通过对两个不同 ORF 中含有非常接近的起始密码子的 10 种植物病毒(包括 4 种黄矮病毒)的比较,发现所有下游 AUG 都在一个更好的翻译起始背景之中,这与遗漏扫描模型相一致(所谓遗漏扫描模型,即核糖体经常在第一个 AUG 起始翻译,但如果第二个 AUG 处于一个更适合的背景之中,也会在第二个 AUG 才起始翻译)^[10]。人们推测 CP 的 AUG 可能处于一个不利于核糖体接触的茎-环结构之中,这个二级结构降低了核糖体和 CP 起始密码子接触的几率,从而提高了 ORF4 的翻译水平。

3.3 ORF3 和 ORF5 的通读翻译

ORF3 和 ORF5 经通读机制产生病毒 72 kDa 的 RTP^[11]。在体外通过改变 MgCl₂ 和醋酸钾的浓度可以使 RTP 的量明显增加,而在体内 BYDV 表达 RTP 的几率平均为 0.8%。RTP 可以被 CP 的抗体识别,但它的抗体却不能与 CP 发生反应。从植物中提取的病毒粒子,所含的 RTP 缺失了由 ORF5 编码的 C' 末端,因此实际上在病毒外壳中是一个 58 kDa 蛋白^[12]。RTP 中由 ORF5 N' 端编码的通读区域(readthrough domain, RTD)被认为暴露于病毒粒子表面,与蚜虫细胞组分发生反应。已经证明 RTP 是病毒传播所必需的,缺失了 RTP 的 BYDV 不能被蚜虫传播,它的序列中很可能含有可以介导蚜虫副唾液腺上皮细胞识别和内吞病毒粒子的受体因子,因此 BYDV 高度的蚜虫宿主特异化应该与 RTP 有关^[13]。ORF5 编码的蛋白

序列的 C'端部分在黄矮病毒组中变化比较大,但是它的 N'端部分有很多保守序列,其中包括一个连接 CP 和 RTP 其它部分的脯氨酸丰富区。Bruyere 等^[14]在 BWYV 的 ORF5 中用缺失实验证明,ORF5 序列不同部位有不同的功能:保守序列(即 N'端部分)的缺失会影响到 RTP 的表达、RTP 嵌入病毒粒子和病毒的传播;非保守序列(即 C'端部分)的缺失会影响到病症的表现。因此 RTP 是一个影响到病毒传播、病毒在植物中的积累量和病症表现的多功能蛋白。

终止密码子的通读作为翻译控制策略被许多病毒采用。通读的机制目前还不清楚。人们只知道一些可以抑制终止密码子的 tRNA 和信号参与了通读过程^[15,16]。在 BYDV 中也发现了类似的信号。在 CP 终止密码子 15 个碱基之后,有一个 C 丰富区,其中包含 16 个 CCNNNN 的纵列重复。缺失实验证明这个区域是通读所必需的^[17],前 5 个重复起决定作用,它们的缺失会使通读大大降低。而删除其中 14 个重复会使通读完全消失,而且在黄矮病毒组中至少有一个重复是 COCCA,但这个序列被认为与通读无关。用碱基插入和替代实验(用 U 插入或用 UU 替代 CC)证明,C 丰富区的调控功能不需要编码脯氨酸或在一个特定的阅读框内就能实现。另外,一个在终止密码子约 700 个碱基之后(4 155~4 219 nt)的远距离信号也被认为是通读必需的,而且这个信号在所有的黄矮病毒中都是保守的^[17]。这个信号的作用机理还不知道,但由于其中包含两个 GG 重复,因此有人推测它可能与 C 丰富区形成碱基配对而起作用。

3.4 ORF6 产物的表达

ORF6 通过 sgRNA2 表达。对来自不同地方 PAV 分离种的核苷酸序列分析表明,ORF6 在 PAV 株系中普遍编码一个 4.5 kDa 的蛋白,而不是以往认为的 6.7 kDa 蛋白^[3]。ORF6 普遍存在于 PAV 的分离种中,只是在大小和核苷酸组成上略有不同,而且大多数的核苷酸变化都发生在密码子的第三位碱基上,这似乎表明 ORF6 编码一个功能蛋白^[18]。

4 大麦黄矮病毒各株系的同源性

大麦黄矮病毒株系间及株系中的分化相当复杂,就基因组结构来说,第一亚组和第二亚组是不同的,在第二亚组中没有 3'末端 6.7 kDa 的 ORF6,但多了一个 5'末端约 30 kDa 的 ORF^[19,20]。PAV 的 RNA 聚合酶基因与 Carnoviruses 的同源性相对比其它黄矮病毒更高些,而其它株系的 RNA 聚合酶则与 Sobemoviruses 十分接近^[21,22]。从血清学关系来看,PAV 与同属第一亚组的 MAV 的血清学关系较近,与 SGV 则较远^[23,24]。而在我国发现的 GPV 株系在血清学上与国外 5 个株系均无反应。BYDV 各株系间 CP 核苷酸和氨基酸的同源性关系见表 1^[25,26]。从 CP 的同源性来看,GPV、RPV 与 BWYV 及 PLRV 的同源性更高一些。BYDV 各株系中的分化也十分明显,例如 SGV 的两个分离种 NY-SGV 和 TX-SGV(分别来自 New York 和 Texas)不但存在着血清学和核苷酸序列差别,而且宿主范围也有差异^[27]。随着对大

表 1 黄矮病毒 CP 核苷酸(nt)和氨基酸(aa)序列的同源性

Table 1 Nucleotide(nt) and deduced amino acid (aa) sequence homology between CP of luteoviruses

	MAV		P-PAV		RPV		GPV	
	nt	aa	nt	aa	nt	aa	nt	aa
RPV	54.8%	47.8%	56.4%	50.7%	-	-	83.7%	77.5%
Vic-PAV	76.1%	71.8%	95.0%	97.0%	55.2%	48.8%	56.9%	44.1%
BWYV	57.0%	48.1%	57.4%	48.1%	65.4%	66.2%	63.0%	58.1%
MAV	-	-	76.5%	72.6%	54.8%	47.8%	53.2%	43.8%
PLRV	53.0%	46.9%	57.6%	47.4%	69.4%	65.6%	68.6%	63.5%

麦黄矮病毒认识的深入,有必要对它进行重新分类和命名。

5 大麦黄矮病毒的卫星 RNA

BYDV-RPV 中含有卫星 RNA(sBYDV)。它是 ssRNA,由 322 个碱基组成^[28]。Rasochova 等^[29]发现 BWYV 同样能携带 sBYDV,又因为 Sobemoviruses 与 BYDV-RPV 和 BWYV 的 RNA 聚合酶非常相似,所以 sBYDV 的宿主范围很可能不仅仅局限于黄矮病毒的第二亚组中。sBYDV 通过滚环机制复制,而后通过自裂解切割成单体。sBYDV RNA 的正链和负链都可以自裂解,具有核酶的性质。负链自裂解相当迅速,而且象核酶一样在切割位点侧面有一个锤头结构(图 2. A)。sBYDV 的正链切割位点的侧面也有一个锤头结构(图 2. B)。但相对于典型的锤头结构而言,这个锤头结构有三个不同点:(1)在切割位点 5'端的三核苷酸是 AUA,而不是在其它锤头结构几乎共有的 GUC;(2)一个未配对的胞嘧啶(C-24)出现在单链保守序列 CUGANGA 的 3'端,在保守序列 GAAAN 的 5'端也出现了一个未配对的腺嘌呤(A-73),而在其它所有例子中,在这两个位置都通过氢键形成螺旋的第一个配对;(3)最值得注意的是通过 GCGCG:CGCGC 的配对可以使锤头结构变形成假结(图 2. C)。用阻止这个配对形成的核酸替代可以使锤头结构的裂解速率增加 400 倍,而用恢复配对的补偿替代会使锤头结构裂解速率按与配对区域稳定性成一定比例的方式降低^[30]。这个螺旋可能是作为一个控制 RNA 裂解速率和其它可能功能转换的分子开关。由于上述裂解速率最快的 sBYDV 正链突变体,也还是远远慢于它的负链和其它卫星 RNA 的正链,并已证明 AUA 替代 GUC 并不会明显降低锤头结构的裂解速率,因此我们推定,主要是 C-24 和 A-73 不配对造成了 sBYDV 正链很慢裂解。

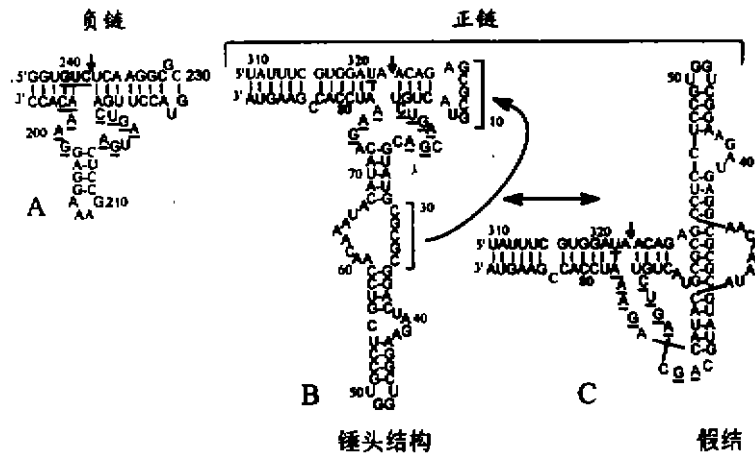


图 2 BYDV 卫星 RNA 切割位点的结构。小箭头表示切割位点的位置,加下划线的碱基在所有锤头结构中都是保守的。(A)负链的锤头结构。(B)正链的锤头结构。方框内的碱基表示可以配对的碱基。(C)正链由于 GCGCG:CGCGC 的配对形成假结。引自 Miller W. Allen 等。

Fig. 2 Structures at cleavage sites. Small, bold arrow indicates cleavage site. Underlined are conserved among all hammerheads. (A) Minus strand hammerhead structure. (B) Plus strand structure. Boxes indicate that bases can pair. (C) Plus strand cleavage site drawn to show pseudoknot formed by the GCGCG:CGCGC helix between the right hand and the vertical stem in B From Miller W. Allen *et al.*

6 大麦黄矮病毒与蚜虫宿主细胞组分的分子反应

大麦黄矮病毒高度的蚜虫宿主特异化,表明病毒粒子和蚜虫细胞组分之间存在着特异的反应。Gillow 和 Rochow 已经建立一个 BYDV 在蚜虫体内运输的一般模型^[31]。这个模型表明至少有两个屏障决定 BYDV 的可传播性。第一个是细胞内吞 BYDV,使之从后肠上皮细胞进入血腔才能传播。只有黄矮病毒组的病毒能被转运进血腔,并且这种转运是无特异性的;第二个是蚜虫副唾液腺(Accessory salivary gland, ASG)周围的基膜对不同株系病毒粒子的识别,基膜是区别可传播性或非传播性株系的选择性障碍。

6.1 诵读蛋白与蚜虫共生蛋白 SymL 的反应

许多细菌、动物、植物病毒的感染循环依靠分子伴侣蛋白。例如,许多 *E. coli* 噬菌体的病毒粒子外壳装配和 CP 的折叠要求 GroEL 伴侣的存在。在蚜虫血腔中大量存在着一种由蚜虫特异化细胞所藏的内共生菌产生的共生蛋白 SymL。SymL 是分子伴侣 cpn60 家族中的成员,与 *E. coli* 的 GroEL 伴侣蛋白有进化上的联系,由于它在氨基酸水平上与 GroEL 伴侣有 84% 的同源性,可以推测 SymL 也是由 14 个亚基组成的圆柱状结构。已经证明, BYDV 的 RTP 的 RTD 可以与 SymL 发生结合反应^[32]。SymL-RTD 的连接有可能是为了防止病毒粒子在血腔中降解。由于在蚜虫副唾液腺中也发现了 SymL,因此它也有可能是运输 BYDV 进入副唾液腺的载体分子。但这种 SymL-RTD 结合没有特异性,这与 BYDV 可以在血腔中无特异性地积累相一致。实验还发现,用抗生素处理蚜虫,杀死或抑制内共生菌,不但使蚜虫丧失传播 PLRV 的能力,而且还会使 PLRV 结构蛋白发生降解^[33]。由此可见,蚜虫体内共生蛋白的合成是黄矮病毒传播的基本因素,但它显然不决定 BYDV 的蚜虫宿主特异性。

6.2 BYDV 粒子与 ASG 基膜的结合

BYDV 只有穿过基膜进入 ASG 才能被传播^[34]。蚜虫 ASG 基膜是多功能复合结构,它起着细胞支持、连接的作用,也有分子筛的功能。它的主要成分是层粘连蛋白和糖蛋白。基膜在控制黄矮病毒的传播方面扮演一个重要的角色。ASG 基膜可以和 BYDV 粒子结合,但这种结合仅限于这种蚜虫可传播的 BYDV 株系,而且只有可发生结合的 BYDV 株系才能被传播^[35]。BYDV 粒子和非宿主蚜虫的 ASG 基膜不发生结合。同时实验还证明 BYDV 与不同的蚜虫宿主 ASG 基膜的亲和力有差异,这个发现表明 ASG 不但具有选择性作用,而且也参与传播效率的控制。BYDV 通过基膜可能分两个步骤:首先病毒结合到基膜上,而后基膜的渗透性发生改变使病毒通过。无疑基膜表面存在可以识别病毒和促成基膜结构改变的受体组分,基膜表面的糖蛋白可能就充当这个角色,在与分子伴侣 SymL 发生接触时可能被折叠的 RTP 也许就是它的识别对象。

7 结束语

大麦黄矮病毒的分子生物学研究,不仅可增加对它本身和某些分子生物学现象的了解,更重要的是可以为我们提供防治 BYDV 的方法。虽然我们可以利用 CP 或 RNA 聚合酶基因培育抗病植株,但鉴于 BYDV 的 CP 和 RNA 聚合酶复杂的同源性,而且 BYDV 的交叉保护又仅局限于第一亚组,在第二亚组中或两亚组之间则没有^[36],因此这种做法的实际价值值得怀疑。目前较可行的方法可能是运用含有 CP 和 RNA 聚合酶基因中高度保守序列的双抗反义 RNA 培育抗病品种。利用双抗基因的好处是可以培育出具有广谱抗性的转基因植株,并可以使病毒对转基因抗性植株产生耐受性的概率降低。已经有报道说利用反义 RNA 获得的抗性对大

麦黄矮病毒组的病毒非常有效^[37]。另外,1993年 Mglysheno 等把 TMV 的缺失 MP 导入烟草后,所得到的植株表现出抗 TMV 的特性,联系到 BYDV 可能都产生 MP,因此利用 BYDV 的 MP 也是一个很有希望的策略。

参 考 文 献

- 1 张淑香,周广和. 一种由麦二叉蚜、禾缢管蚜非专化性传毒的小麦黄矮病毒株系鉴定. 植物病理学报,1987,17(2):102-105
- 2 Miller WA, Waterhouse PM, Gerlach WL. Sequence and organization of Barley Yellow Dwarf Virus genomic RNA. Nucleic Acid Res, 1988, 16:6097-6111
- 3 Kelly L, Gerlach WL, Waterhouse PM. Characterization of the subgenomic RNAs of an Australian isolate of Barley Yellow Dwarf Luteovirus. Virology, 1994, 202:565-573
- 4 Wang SP, Miller WA. A sequence located 4.5 to 5 kilobases from the 5' end of the Barley Yellow Dwarf Virus (PAV) genome strongly stimulates translation of uncapped mRNA. The J Bio Chemistry, 1995, 270(22):13446-13452
- 5 Mohan BR, Dinesh-Kumar SP, Miller WA. Genes and cis-acting sequences involved in replication of Barley Yellow Dwarf Virus-PAV RNA. Virology, 1995, 212:186-195
- 6 Reutenauer A, Ziegler-Gray V, Lot H *et al* . Identification of Beet Western Yellows Luteovirus genes implicated in viral replication and particle morphogenesis. Virology, 1993, 195:692-699
- 7 Chay CA, Gunasinge UB, Dinesh-Kumar SP *et al* . Aphid transmission and systemic plant infection determinants of Barley Yellow Dwarf Luteovirus-PAV are contained in the coat protein readthrough domain and 17-kDa protein, respectively. Virology, 1996, 219:57-65
- 8 Schmitz J, Stussi-Garand C, Tacke E *et al* . *In situ* localization of putative movement protein (pr17) from Potato Leafroll Luteovirus (PLRV) transgenic potato plants. Virology, 1997, 235:311-322
- 9 Dinesh-Kumar SP, Brault V, Miller WA. Precise mapping and *in vitro* translation of a trifunctional subgenomic RNA of Barley Yellow Dwarf Virus. Virology, 1992, 187:711-722
- 10 Kozak M. Regulation of protein synthesis in virus-infected animal cells. Adv Virus Res, 1986, 31:229-292
- 11 Cheng SL, Domier LL, D'Arcy CJ. Detection of the readthrough protein of Barley Yellow Dwarf Virus. Virology, 1994, 202:1003-1006
- 12 Babner I, Lamb J, Mayo MA *et al* . Expression of the genome of potato leafroll virus readthrough of the coat protein termination codon *in vitro* . J Gen Virol, 1990, 71:2251-2256
- 13 Wang JY, Chay C, Gildow FE *et al* . Readthrough protein associated with virions of Barley Yellow Dwarf Luteovirus and its potential role in regulating the efficiency of aphid transmission. Virology, 1995, 206:954-962
- 14 Brauyere A, Brault V, Ziegler-Graff V *et al* . Effects of mutations in the Beet Western Yellows Virus readthrough protein on its expression and packaging and on virus accumulation, symptoms, and aphid transmission. Virology, 1997, 230:323-334
- 15 Beier H, Braciszewska M, Sickinger HD. The molecular basis for the differential translation of TMV RNA in tobacco protoplasts and wheat germ extracts. EMBO J, 1984, 3:1091-1096
- 16 Yoshinaka Y, Katoh I, Copeland TD *et al* . Murine leukemia virus protease is encoded by the *gag-pol* gene and is synthesized through suppression of an amber termination codon. Proc Natl Acad Sci USA, 1985, 82:1618-1622
- 17 Brown CM, Miller WA, Dinesh-Kumar SP. Local and distant sequences are required for efficient readthrough of the Barley Yellow Dwarf Virus PAV coat protein stop codon. J Gen Virol, 1996, 70(9):5884-5892
- 18 Chalhoub BA, Kelly L, Robaglia C *et al* . Sequence variability in the genomic 3' terminal region of BYDV for 10 geographically distinct PAV-like isolates of Barley Yellow Dwarf Virus: analysis of the ORF6 variation. Archives of Virology, 1994, 139:403-416
- 19 Ueng PP, Vincent JR, Kaera EE *et al* . Nucleotide sequence analysis of the genomes of the MAV-SI and P-PAV isolate of

- Barley Yellow Dwarf Virus. *J Gen Virol*, 1992, 73:487-492
- 20 Vincent JR, Lister RM, Larkins BA. Nucleotide sequence analysis and genomic organization of the NY-RPV isolate of Barley Yellow Dwarf Virus. *J Gen Virol*, 1991, 72:2347-2355
 - 21 Ceidt I, Lot H, Leiser M *et al*. Nucleotide sequence of Beet Western Yellows Dwarf Virus RNA. *Nucleic Acid Res*, 1988, 16:9917-9932
 - 22 Habili N, Symons R. Evolutionary relationships between luteoviruses and other RNA plant viruses based on sequence motifs in their putative RNA polymerases and nucleic acid helicase. *Nucleic Acid Res*, 1989, 17:9543-9555
 - 23 Rochow WF, Duffus JE. Relationship between Barley Yellow Dwarf Virus and Beet Western Yellows Viruses. *Phytopathol*, 1978, 68:51-58
 - 24 Vincent JR, Ueng PP, Lister RM *et al*. Nucleotide sequences of coat protein genes for three isolates of Barley Yellow Dwarf Virus and their relationship to other luteovirus coat protein sequences. *J Gen Virol*, 1990, 71:2791-2799
 - 25 成卓敏, 何小源, 吴茂森等. 黄矮病毒 GPV 外壳蛋白基因序列分析及其植物表达质粒的构建. *中国科学(C辑)*, 1996, 26(3):250-256
 - 26 Rizzo TM, Gray SM. Cloning and sequence analysis of a cDNA encoding the capsid protein of the MAV isolate of Barley Yellow Dwarf Virus. *Nucleic Acid Res*, 1990, 18(15):4625
 - 27 Lei CH, Lister RM, Vincent JR *et al*. SGV serotype isolates of Barley Yellow Dwarf Virus differing vectors and molecular relationships. *Phytopathol*, 1995, 85:820-826
 - 28 Miller WA, Hercus T, Waterhouse PM *et al*. A satellite RNA of Barley Yellow Dwarf Virus contains a novel hammerhead structure in the self-cleavage domain. *Virology*, 1991, 183:711-720
 - 29 Rasochova L, Passmore BK, Falk BW *et al*. Satellite RNA of Barley Yellow Dwarf Virus-RPV is supported by Beet Western Yellow Virus in dicotyledonous protoplast and plants. *Virology*, 1997, 231:182-191
 - 30 Miller WA, Silver SL. Alternative tertiary structure attenuates self-cleavage of the ribozyme in the satellite RNA of Barley Yellow Dwarf Virus. *Nucleic Acid Res*, 1991, 19(19):5313-5320
 - 31 Gildow FE. Evidence for receptor-mediated endocytosis regulating luteovirus acquisitions by aphids. *Phytopathol*, 1993, 83:270-277
 - 32 Filichkin SA, Brumfield S, Filichkin TP *et al*. *In vitro* interactions of the aphid endosymbiotic SymL chaperonin with Barley Yellow Dwarf Virus. *J Virol*, 1997, 71(1):567-577
 - 33 Van DH, Verbeek M, Van DWF. Endosymbiotic bacteria associated with circulative transnission of Potato Leafroll Virus by *Myzus persicae*. *J Gen Virol*, 1994, 75:2559-2565
 - 34 Alberts B, Bray D, Lewis *et al*. The extracellular matrix. In: *Molecular biology of the cell*. New York: Garland. 1989. 802-822
 - 35 Peiffer ML, Gildow FE, Gray SM. Two distinct mechanisms regulate luteovirus transmission efficiency and specificity at the aphid salivary gland. *J Gen Virol*, 1997, 78:495-503
 - 36 Wen F, Lister RM, Fatouh FA. Cross-projection among strains of Barley Yellow Dwarf Virus. *J Gen Virol*, 1991, 72:791-799
 - 37 Golwnboski DB. Plant transformed with a Tobacco Mosaic Virus nonstructural gene sequence are resistant to the virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 87:6311-6315