湖南农业大学学报(自然科学版)　2016, 42(1):20–26. DOI:10.13331/j.cnki.jhau.2016.01.005
Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)

投稿网址：http://xb.ijournal.cn

水稻干尖线虫翻译控制肿瘤蛋白基因的克隆及表达分析

王步勇，李丹蕾，王峰，马玲*，陈俏丽，王博文

(东北林业大学林学院，黑龙江 哈尔滨 150040)

摘　要：根据转录组测序结果，结合 RT–PCR 及 RACE 技术，从水稻干尖线虫中克隆出翻译控制肿瘤蛋白(The translationally controlled tumor protein，TCTP)基因 *Ab–TCTP*。该基因序列全长 810 bp，开放阅读框长度为 546 bp，编码 181 个氨基酸，预测蛋白相对分子质量为 20 930，等电点为 4.68；Ab–TCTP 蛋白属于稳定性蛋白，没有信号肽和跨膜区域，亚细胞定位于细胞核中；该蛋白功能区域的氨基酸序列较为保守，含有 TCTP 保守结构域，属于 TCTP 超家族(TCTP superfamily)。多序列比对分析结果表明，Ab–TCTP 蛋白与秀丽隐杆线虫 TCTP 蛋白(XP_003112086.1)的覆盖度为 100%，相似度为 78%。系统进化树分析结果表明，该蛋白与秀丽隐杆线虫 TCTP 蛋白(XP_003112086.1)在同一分支上，亲缘关系较近。原位杂交试验结果显示，杂交处理后的线虫在其食道腺附近颜色加深，*TCTP* 基因主要在水稻干尖线虫的食道腺附近表达。利用鱼藤酮对水稻干尖线虫进行药剂处理试验，24 h 时 LC_{50} 值为 2.20 μg/mL。实时荧光定量 PCR 结果显示，鱼藤酮处理 12 h 和 24 h 后，*TCTP* 基因的表达均上调，且处理 24 h 时的表达量大于处理 12 h 时的表达量。推测该基因参与了水稻干尖线虫的应激反应。

关　键　词：水稻干尖线虫；翻译控制肿瘤蛋白基因(*TCTP*)；基因克隆；原位杂交；基因表达

中图分类号：S435.111.48；S432.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1007–1032(2016)01–0020–07

Clone and expression analysis on the gene of translationally controlled tumor protein from *Aphelenchoides besseyi*

Wang Buyong, Li Danlei, Wang Feng, Ma Ling*, Chen Qiaoli, Wang Bowen

(School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Based on transcriptome re-sequence, the translationally controlled tumor protein gene from *Aphelenchoides besseyi*, named *Ab–TCTP,* was cloned using RT–PCR and RACE. The coding sequence was 810 bp with 546 bp open reading frame (ORF), and encoded a protein with 181 amino acids. The putative protein molecular weight was 20 930 and its theoretical isoelectric point (*PI*) was 4.68, belonged to a stable proteins, and located in nucleus without signal peptide and transmembrane structure. The amino acid sequence of the Ab–TCTP protein in function areas tended to be conservative, contained TCTP conservative domain structure, and belonged to the TCTP superfamily. The results from multiple sequence alignment showed that the query coverage between protein Ab–TCTP and *Caenorhabditis elegans* TCTP (XP_001891979.1) was 100%, with a similarity of 78%. The results from phylogenetic tree analysis indicated that the Ab–TCTP protein was very close to TCTP of *C. elegans*. The results from in situ hybridization test indicated that the enhanced hybridization signals were mainly observed in dorsal esophageal gland of *A. besseyi*. The pharmaceutical experiment with rotenone showed that the value of LC_{50} was 2.20 μg/mL after 24 h, and the results from real-time quantitative PCR presented that the expression of *Ab–TCTP* was up-regulated, which the expression quantity in 24 h was larger than that in 12 h. Therefore, the *Ab–TCTP* gene was speculated to participate in the stress response of *A. besseyi*.

Keywords: *Aphelenchoides besseyi*; translationally controlled tumor protein gene(*TCTP*); gene clone; in situ hybridization; gene expression

---

翻译控制肿瘤蛋白(the translationally controlled tumor protein，TCTP)又名 P21[1]、P23[2]、HRF[3]和

收稿日期：2015–10–26　　修回日期：2015–11–27

基金项目：国家自然科学基金项目(31570637)；黑龙江省自然科学基金项目(ZD201404)；中央高校基本科研业务专项基金项目(2572015AA09，2572015EY02，DL13BA01，2572015CA09)

作者简介：王步勇(1989—)，男，山东泰安人，博士研究生，主要从事植物病理学研究，wangbuyong89@163.com；*通信作者，马玲，博士，教授，主要从事森林保护学研究，maling63@163.com

Fortilin[4]，是一类广泛存在于各类真核生物中且在进化上高度保守的蛋白[5–10]。因其在鼠腹水瘤细胞中的表达量高于在正常细胞中的表达量，且在翻译水平上受到高度调控，Gross 等[11]将其命名为 TCTP。随着研究的不断深入，在植物、线虫、寄生虫和酵母等真核生物的正常细胞中都发现了 TCTP 的存在[12–15]。TCTP 蛋白在生物生命活动中具有调节炎症反应[16]、抗细胞凋亡[17]、参与应激反应[18]、调节细胞增殖和分化[19]等多种重要的生物功能。水稻干尖线虫(*Aphelenchoides besseyi*，white–tip nematode)是水稻(*Oryza sativa*)的重要病原物之一。由水稻干尖线虫病引起的水稻减产量高达 10%～30%[20–21]。随着生物技术的不断发展，利用生物技术防治线虫已成为植物寄生线虫研究的热点。*TCTP* 基因受到了植物寄生线虫研究人员的关注[22–24]。Gnanasekar[22]发现马来丝虫 TCTP 蛋白是一种抗氧化性蛋白。印楝素 A 处理 SL 细胞后引起 *TCTP* 表达量上调，*TCTP* 高表达的疟原虫对青蒿素的抗药性较大[25]。这些都显示 TCTP 潜在的药用和应用价值。关于水稻干尖线虫 TCTP 的研究较少。笔者从水稻干尖线虫中克隆得到 *TCTP* 基因，通过生物信息学分析初步了解其结构与功能，并利用原位杂交对基因进行定位分析。通过实时荧光定量 PCR 分析，发现经鱼藤酮处理后，*Ab–TCTP* 基因的表达上调，推测 *Ab–TCTP* 基因参与了水稻干尖线虫的应激反应。对 *Ab–TCTP* 基因功能的初步研究结果可为水稻干尖线虫病分子生物技术防治提供参考依据。

1　材料与方法

1.1　材料

所用水稻干尖线虫种群为 NCBI 国际生物标本注册种群(SAMN02420038)[25]。用贝尔曼漏斗法分离、收集室内人工培养的水稻干尖线虫，经 M9 Buffer 洗虫后，－80 ℃储存，备用。

1.2　方法

1.2.1　总 RNA 的提取和第一链 cDNA 的合成

将备用线虫液氮研磨，采用 Invitrogen 的 Trizol Reagent RNA 提取试剂盒，按照试剂盒操作说明提取总 RNA，经 TaKara 的 DNase I 消化试剂盒消化后得到总 RNA。用紫外分光光度计和 1.0%凝胶电泳检测其质量。采用 TaKara 的 HiScriptTM 1st Strand cDNA Synthesis Kit 反转录试剂盒进行第一链 cDNA 合成，－20 ℃储存，备用。

1.2.2　*Ab–TCTP* 基因克隆

1) 目的基因片段克隆。 根据水稻干尖线虫反转录测序筛选序列信息，用 Primer 5.0 软件设计特异性引物 *Ab–TCTP*–F(5′–TTGGCTTCGGATTCTTT–3′)和 *Ab–TCTP*–R(5′–CGATTGCGACTTGACCT–3′)，以反转录合成的 cDNA 为模板，进行目的基因片段 PCR 扩增。PCR 扩增产物经 1.2%凝胶检测，再经 TaKara 胶回收试剂盒切胶回收，连接至 pGEM–T Easy Vector 载体，转化到大肠杆菌(*Escherichia coli*)DH5α 感受态细胞，IPTG–X–Gal 平板培养，随机挑取阳性菌落克隆测序。

2) 3′ RACE 扩增和 5′ RACE 扩增。 利用 Clontech 的 SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit 试剂盒合成 cDNA。根据测序获得的片段序列设计特异引物 *Ab–TCTP*–3GSP(5′–GTGTTGCTCG TCATCAATGTCGCC–3′)和 *Ab–TCTP*–5GSP(5′–GG CGACATTGATGACGAGCAACAC–3′)，进行 RACE PCR 扩增。PCR 反应程序按照 RACE 试剂盒使用说明书进行。PCR 产物经 1.2%凝胶检测，再经切胶回收，T 载体克隆、测序。

3) 全长 cDNA 拼接与验证。 用 DNAman 软件将扩增得到的 3 段基因片段进行拼接，获得 *Ab–TCTP* 基因序列全长。根据拼接结果设计特异性引物 *Ab–TCTP*–2F(5′–CACGCATGGATTGAGAGCGA–3′)和 *Ab–TCTP*–2R(5′–GTTCTTGCTGGCTCCAATCC–3′)，以合成的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 产物经 1.2%凝胶检测后切胶回收，再进行 T 载体克隆、测序。

1.2.3　*Ab–TCTP* 基因生物信息学分析

对 NCBI ORF–Finder 翻译编码蛋白氨基酸序列进行开放阅读框分析；用 ExPASy ProtParam 软件预测蛋白的基本理化特性；亚细胞定位、磷酸化位点、

信号肽、跨膜结构域等分别利用 PSORT Prediction、NetPhos 2.0 Server、SignalP 4.1、TM pred 等软件进行预测与分析[26–27]；用 NCBI CDD 及 Prosite 对 Ab–TCTP 蛋白保守区进行预测分析；用 Bioedit 软件进行多序列比对分析，用 MEGA 6.0 软件根据 Bioedit 多序列的比对结果，用 N–J 法构建系统发育树，1 000 次重复。用 SWISS–MODEL 构建三维模型。

1.2.4 *Ab–TCTP* 基因的表达定位分析

通过原位杂交试验对 *Ab–TCTP* 基因进行表达定位分析。选用 Roche 公司的 DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit I 原位杂交试剂盒，根据基因序列设计引物 *Ab–TCTP*–N(5′–CGATTGCGACTTGACCT–3′)和 *Ab–TCTP*–P(5′–TTGGCTTCGGATTCTTT–3′)，按照原位杂交试剂盒使用说明合成原位杂交探针。探针经预杂交、杂交，制作玻片标本，Olympus 显影检测。

1.2.5 鱼藤酮对水稻干尖线虫影响的毒理试验

试验采用浸泡生测法。取 24 孔细胞培养板，在每个孔中挑入均一活泼的成虫 20 头。设置处理组和对照组，每组 3 个重复。处理组的鱼藤酮浓度分别为 2、3、4 μg/mL。对照组加入等量的 ddH_2O。待处理 6、12、24 h 后显微观察线虫，并记录死亡的线虫数。采用 SPSS 计算，ANOVA 单因子分析线虫的死亡率。

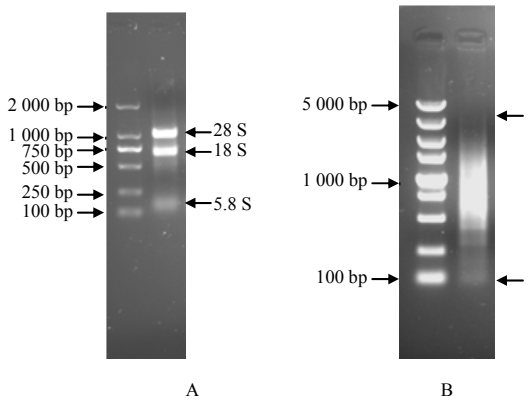
1.2.6 *Ab–TCTP* 基因的表达分析

提取对照(ddH_2O)和 1.85 μg/mL 的鱼藤酮处理 12、24 h 后的线虫总 RNA，用 Dnase I 消除 DNA，反转录合成 cDNA。实时荧光定量 PCR 试剂盒为 TOYOBO 公司的 KOD SUBR qPCR Mix。根据 *Ab–TCTP* 基因序列设计 Q–PCR 引物 QF(5′–CAACGTGAATTCCCTCTCTCTT–3′)和 QR(5′–CGTTCCTTGTCTGTGTTGTTTC–3′)。*Actin* 为内参基因，引物为 *Action*–F(5′–TTGGAACAATCGGAAACGGG–3′)和 *Actin*–R(5′–CTTCAGACCAATCGTTGTGC–3′)。PCR 反应程序：95 ℃预变性 2 min；95 ℃变性 15 s，58 ℃退火 15 s，72 ℃延伸 45 s，35 个循环。溶解曲线测定温度为 60~95 ℃。设置 3 个重复。采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 计算目的基因的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 RNA 及 cDNA 质量检测

应用 TRIzol 提取线虫总 RNA(图 1–A)，紫外分光光度计检测结果($OD_{260\ nm}/OD_{280\ nm}$=1.94，$OD_{260\ nm}/OD_{230\ nm}$=1.89)符合标准，RNA 质量较好。凝胶检测 cDNA 呈弥散带(图 1–B)，cDNA 质量好，满足试验要求。



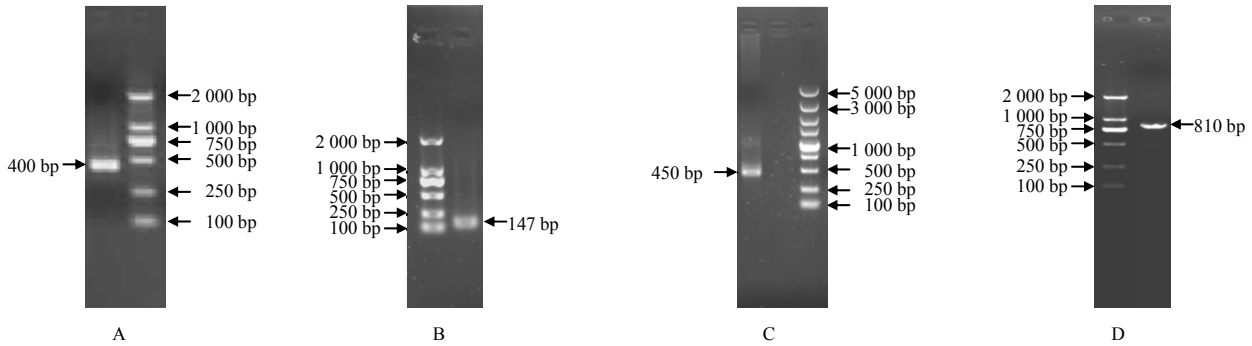
A RNA 样；B cDNA 样。

图 1 RNA 与 cDNA 的凝胶电泳结果

Fig. 1 Gel electrophoretogram of RNA and cDNA

2.2 *Ab–TCTP* 基因克隆及生物信息学分析

以水稻干尖线虫 cDNA 为模板，以 *Ab–TCTP*–F 和 *Ab–TCTP*–R 为引物进行 PCR 扩增，获得 400 bp 的目的片段(图 2–A)，Blast 比对分析属于 *TCTP* 基因。利用 RACE 试剂盒及引物 *Ab–TCTP*–5GSP 和 *Ab–TCTP*–3GSP 进行 5′ RACE、 3′ RACE 扩增。5′ RACE PCR 产物为 147 bp(图 2–B)，3′ RACE PCR 产物为 450 bp(图 2–C)。利用 DNAman 拼接 3 个序列片段，得到 810 bp 的基因全长。根据拼接序列结果，采用 Primer 5.0 设计引物，PCR 扩增得到约 800 bp 的序列片段(图 2–D)。经测序验证，所得序列与拼接序列大小一致。

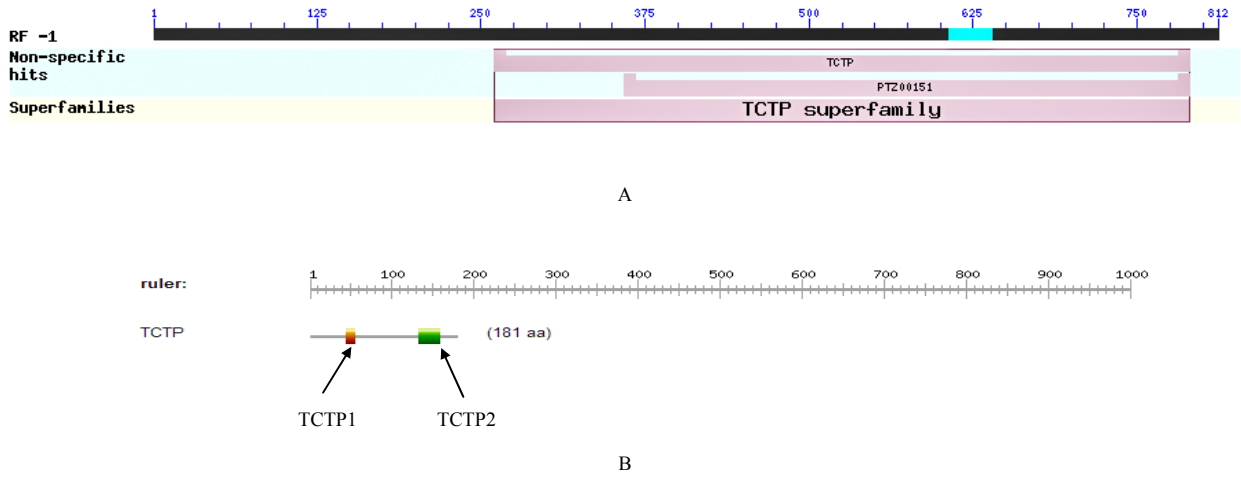


A　目的片段；B　5′RACE 产物；C　3′RACE 产物；D　cDNA 全长产物。

图 2　水稻干尖线虫 *Ab–TCTP* PCR 产物的电泳结果

Fig. 2　The result of electrophoresis from *Ab–TCTP*

Ab–TCTP 基因全长为 810 bp，包含 1 个 546 bp 的开放阅读框，编码 181 个氨基酸。用 ExPASy ProtParam 软件对 Ab–TCTP 蛋白基本理化特性进行分析，发现该蛋白的相对分子质量为 20 930，等电点为 4.68，不稳定系数为 16.36，属于稳定性蛋白。ProtScale 亲水性预测分析结果表明，Ab–TCTP 蛋白的最强疏水性峰值为 1.822，最强亲水性峰值为－2.989，蛋白总平均疏水指数为－0.521，属于亲水性蛋白。SignalP 4.1 预测该蛋白无信号肽存在，TM Pred 预测该蛋白无跨膜结构域。PSORT Prediction 预测 Ab–TCTP 蛋白定位于细胞核中。NetPhos 2.0 Server 对 Ab–TCTP 蛋白进行磷酸化位点分析，显示该蛋白含有 3 个丝氨酸磷酸化位点和 3 个络氨酸磷酸化位点。利用 NCBI Conserved Domains 及 Prosite 对 Ab–TCTP 蛋白进行保守区预测分析(图 3)，发现 Ab–TCTP 蛋白含有典型的“TCTP1”和“TCTP2”结构域，属于 TCTP。TCTP1 特征序列为“...AGSNPSAEGED...”，TCTP2 特征序列为“...FKNLQFFIGENMAEGREEGQVAIVEY...”。



A　利用 NCBI CDD 的预测结果；B　利用 Prosite 的预测结果。

图 3　Ab–TCTP 保守区域的预测结果

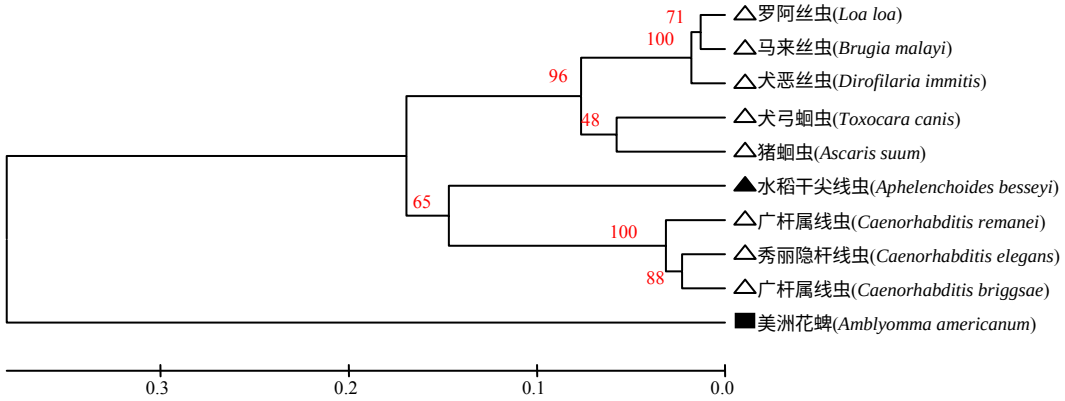
Fig.3　Domains of conservation region of Ab–TCTP

2.3　Ab–TCTP 的多序列比对及系统进化树分析

通过 NCBI BLAST 对水稻干尖线虫 Ab–TCTP 蛋白的氨基酸序列进行在线比对，筛选出了 9 条同源序列，Bioedit 软件比对结果显示，Ab–TCTP 蛋白与美洲花蜱 *Amblyomma americanum*(AAY67700.1)、猪蛔虫 *Ascaris suum*(ABF69505.1)、犬弓蛔虫 *Toxocara canis*(KHN75998.1)、罗阿丝虫 *Loa loa*(XP_003135973.1)、马来丝虫 *Brugia malayi*(XP_001897741.1)、犬恶丝虫 *Dirofilaria immitis*(AGI74995.1)、广杆属线虫 *Caenorhabditis remanei*(XP_003112086.1)、广杆属线虫 *Caenorhabditis briggsae*(XP_002639808.1)、秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans*(NP_492767.1)的一致性为 45%～78%。Ab–TCTP 与其他 9 个同源序列在非保

守区域存在差异，在 TCTP 结构域上的保守性较高，表明 TCTP 蛋白在进化上高度保守，这些物种间存在共同起源。

Ab–TCTP 蛋白与广杆属线虫(*C. remanei*)TCTP 蛋白(XP_003112086.1)、秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)TCTP 蛋白(NP_492767.1)、广杆属线虫(*C. briggsae*)TCTP 蛋白(XP_002639808.1)在同一分支上，遗传距离小，亲缘关系较近；Ab–TCTP 蛋白与美洲花蜱(*A. americanum*)TCTP 蛋白(AAY67700.1)不在同一分支上，遗传距离较大，亲缘关系较远。美洲花蜱 TCTP 蛋白序列为 Ab–TCTP 蛋白的远源外属对照序列。水稻干尖线虫及其他 8 种线虫同属线虫动物门，美洲花蜱属于节肢动物门，表明该基因进化速率与物种进化速率一致。



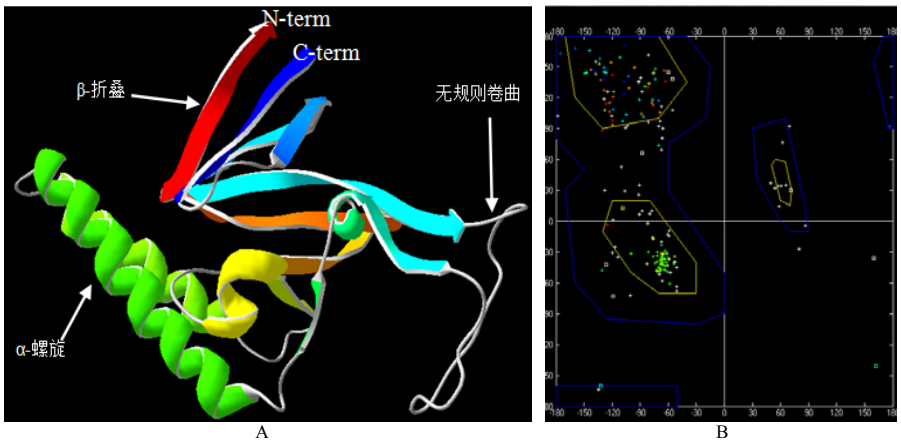
10 个序列来源于 NCBI。

图 4 Ab–TCTP 的系统进化树

Fig.4 Phylogenetic tree of Ab–TCTP

2.4 Ab–TCTP 蛋白结构分析

应用 SWISS–MODEL 软件，在 PDB 中寻找 Ab–TCTP 同源蛋白，对 Ab–TCTP 蛋白进行三维模型构建，结果(图 5–A)显示，α–螺旋(α–Helix)含量最高，β–折叠(β–Sheet)次之，无规则卷曲(Random coil)最少，α–螺旋和 β–折叠是其主要结构元件。用 Swiss–PdbViewer 分析同源建模结果，预测的蛋白残基二面角位于黄色核心区域(图 5–B)，模拟的三维空间结构比较稳定。



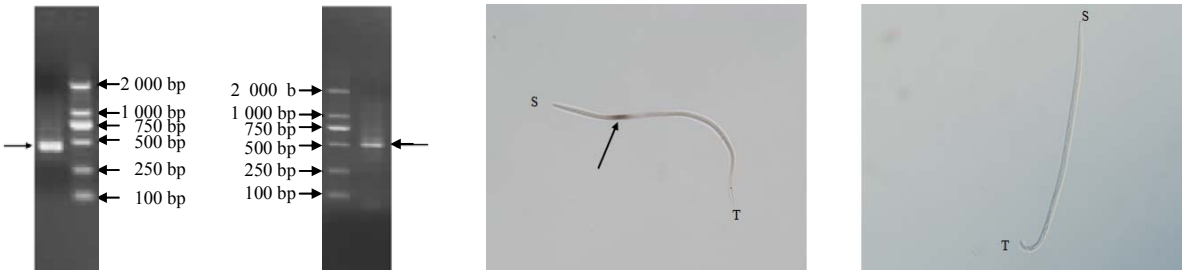
A SWISS–MODEL 优化构建的三维结构；B Ab–TCTP 蛋白模型拉氏构象图。

图 5 Ab–TCTP 蛋白的三维结构预测结果

Fig.5 The predicted 3D structure of Ab–TCTP

2.5　*Ab–TCTP* 基因表达定位分析

利用 PCR 扩增法得到杂交探针，凝胶电泳检测亮度条带大小约为 500 bp (图 6–A，图 6–B)。紫外分光光度计检测符合杂交试验要求。反义链探针杂交处理的线虫(处理试验)在食道腺附近颜色变深，有杂交信号(图 6–C)；正义链探针处理的线虫(对照试验)无杂交信号存在(图 6–D)。结果表明该基因主要在水稻干尖线虫的食道腺附近表达。



A　　B　　C　　D

A　模板扩增结果；B　反义链探针检测结果；C　处理试验结果，箭头所指位置为水稻干尖线虫的食道腺部位；D　对照试验结果；S　口针；T　尾部。

图 6　探针检测与原位杂交结果

Fig. 6　SDS–PAGE of hybridization probe and the results of ISH

2.6　药剂处理下 *Ab–TCTP* 基因的响应

质量浓度为 2、3、4 μg/mL 的鱼藤酮对水稻干尖线虫均有一定程度的毒力作用。在同一处理时间，随着药液浓度的增大，水稻干尖线虫的存活率呈降低趋势；在同一处理浓度，随着药液处理时间的增大，存活率也呈降低趋势。通过 POLO 软件计算出：鱼藤酮处理 24 h 时，LC_{50} 值为 2.20 μg/mL，LC_{30} 值为 1.85 μg/mL。

以质量浓度为 1.85 μg/mL 的鱼藤酮 (24 h–LC_{30} 值为 1.85 μg/mL)分别对水稻干尖线虫处理 12、24 h，以 ddH_2O 处理作为对照。提取各自 RNA，采用实时荧光定量 PCR 研究 *Ab–TCTP* 基因对鱼藤酮药剂处理的响应模式，结果表明，鱼藤酮质量浓度为 1.85 μg/mL 时，随着处理时间的增加，*Ab–TCTP* 基因的相对表达量呈上升趋势。12 h 的表达量为对照组的 1.9 倍，24 h 的表达量为对照组的 4.8 倍，表达量差异均显著($P<0.05$)。24 h 时的相对表达量上升趋势比 12 h 时的上升趋势高。以上结果表明，*Ab–TCTP* 基因的转录受到鱼藤酮药剂处理的诱导。

3　结论

利用 RT–PCR 及 RACE 技术从水稻干尖线虫中获得了 *TCTP* 基因。CDD 显示 Ab–TCTP 蛋白含有典型的 TCTP 结构域。水稻干尖线虫 TCTP 与其他线虫的 TCTP 有着较高的同源性，在进化上高度保守。原位杂交试验结果显示，*Ab–TCTP* 基因主要在水稻干尖线虫食道腺附近表达。实时荧光定量 PCR 结果表明，经鱼藤酮处理后，水稻干尖线虫 *Ab–TCTP* 基因表达呈上升趋势，推测 *TCTP* 基因参与了水稻干尖线虫的应激反应，在线虫抗药性反应中起重要作用。通过了解 *Ab–TCTP* 基因的结构和功能，有助于寻找水稻干尖线虫新的作用靶标，为利用分子生物技术防治水稻干尖线虫病提供参考依据。

参考文献：

[1] Chitpatima S T，Makrides S，Bandyopadhyay R，et al. Nucleotide sequence of a major messenger RNA for a 21 kilodalton polypeptide that is under translational control in mouse tumour cells[J]. Nucleic Acids Research，1988，16(5)：2350.

[2] Böhm H，Benndorf R，Gaestel M，et al. The growth-related protein P23 of the Ehrlich ascites tumor：translational control，cloning and primary structure[J]. Biochemistry International，1989，19(2)：277–286.

[3] Yoon T，Jung J，Kim M，et al. Identification of the self-interaction of rat TCTP/IgE-dependent histamine-releasing factor using yeast two-hybrid system[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics，2000，384(2)：379–382.

[4] Li F，Zhang D，Fujise K. Characterization of fortilin，a novel antiapoptotic protein[J]. The Journal of Biological Chemistry，2001，276(50)：47542–47549.

[5] Bommer U A，Thiele B J. The translationally controlled

tumour protein (TCTP)[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology，2004，36(3)：379–385.

[6] Meyvis Y，Houthoofd W，Visser A，et al. Analysis of the translationally controlled tumour protein in the nematodes *Ostertagia ostertagi* and *Caenorhabditis elegans* suggests a pivotal role in egg production[J]. International Joural for Parasitology，2009，39(11)：1205–1213.

[7] Bonnet C，Perret E，Dumont X，et al. Identification and transcription control of fission yeast genes repressed by an ammonium starvation growth arrest[J]. Yeast，2000，16(1)：23–33.

[8] Macdonald S M，Bhisutthibhan J，Shapiro T A，et al. Immune mimicry in malaria：plasmodium falciparum secretes a functional histamine-releasing factor homolog in vitro and in vivo[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，2001，98(19)：10829–10832.

[9] Bhisutthibhan J，Pan X Q，Hossler P A，et al. The Plasmodium falciparum translationally controlled tumor protein homolog and its reaction with the antimalarial drug artemisinin[J]. Journal of Biological Chemistry，1998，273(26)：16192–16198.

[10] Gnanasekar M，Rao K V，Chen L，et al. Molecular characterization of a calcium binding translationally controlled tumour protein homologue from the filarial parasites *Brugia malayi* and *Wuchereria bancrofti*[J]. Molecular and Biochemical Parasitology，2002，121(1)：107–118.

[11] Gross B，Gaestel M，Böhm H，et al. cDNA sequence coding for a translationally controlled human tumour protein[J]. Nucleic Acids Research，1989，17(20)：8367.

[12] Johansson H，Vizlin–hodzic D，simonsson T，et al. Translationally controlled tumor protein interacts with nucleophosmin during mitosis in ES cells[J]. Cell Cycle，2010，9(11)：2160–2169.

[13] Cheng X，LI J，Deng J，et al. Translationally controlled tumor protein (TCTP) downregulates *Oct4* expression in mouse pluripotent cells[J]. BMB Reports，2012，45(1)：20–25.

[14] Susini L，Besse S，Duflaut D，et al. TCTP protects from apoptotic cell death by antagonizing bax function[J]. Cell Death & Differentiation，2008，15(8)：1211–1220.

[15] Diraison F，Hayward K，Sanders K L，et al. Translationally controlled tumour protein (TCTP) is a novel glucose-regulated protein that is important for survival of pancreatic beta cells[J]. Diabetologia，2011，54(2)：368–379.

[16] Yeh Y C，Xie L，Langdon J M，et al. The effects of overexpression of histamine releasing factor(HRF) in a transgenic mouse model[J]. PLoS One，2010，5(6)：e11077.

[17] Liu H，Peng H W，Cheng Y S，et al. Stabilization and enhancement of the antiapoptoic activity of mcl–1 by TCTP[J]. Molecular and Cellular Biology，2005，25(8)：3117–3126.

[18] Taulan M，Paquet F，Argiles A，et al. Comprehensive analysis of the renal transcriptional reponse to acute uranyl nitrate exposure[J]. BMC Genomics，2006，7：2.

[19] Chen S H，Wu P S，Chou C H，et al. A knockout mouse approach reveals that TCTP functions as an essential factor for cell proliferation and survival in a tissue-or cell type-specific manner[J]. Molecular Biology of the Cell，2007，18(7)：2525–2532.

[20] Duncan L W，Moens M. Migratory endoparasitic nematodes[C]// Moens M，Perry R N. Plant Nemaology. CABI：Wallingford，2006：123–152.

[21] 王步勇，王峰，李丹蕾，等. 水稻干尖线虫氨基肽酶基因克隆及功能初步分析[J]. 华北农学报，2015，30(4)：1–7.

[22] Gnanasekar M，Ramaswamy K. Translationally controlled tumor protein of *Brugia malayi* functions as an antioxidant protein[J]. Parasitolology Research，2007，101(6)：1533–1540.

[23] 陈玉芹，王喆之. 植物翻译控制肿瘤蛋白的分子结构特征与功能预测分析[J]. 生物技术通报，2008(2)：105–112.

[24] Anuradha A，Annadurai R S，SHASHIDHARA L S. Actin cytoskeleton as a putative target of the neem limonoid Azadirachtin A[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology，2007，37(6)：627–634.

[25] Wang F，LI D，Wang Z，et al. Transcriptomic analysis of the rice white tip nematode，*Aphelenchoides besseyi* (Nematoda：Aphelenchoididae)[J]. PLoS One，2014，9(3)：e91591.

[26] 张梅娟，沙伟，刘博，等. 东亚砂藓类萌发素蛋白基因 *RjGLP* 的克隆及表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版)，2015，41(1)：47–52.

[27] 邹智，杨礼富. 橡胶树半胱氨酸蛋白酶基因 *HbCP3* 的克隆与表达特性分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版)，2015，41(1)：53–57.

责任编辑：王赛群
英文编辑：王 库