

# miRNA 对完全变态昆虫发育的调控作用研究进展

柴连琴,王 乐,苗迎春

(河南大学 生命科学学院 棉花生物学国家重点实验室,河南 开封 475002)

**摘要:** 昆虫尤其是完全变态昆虫的发育过程是一个复杂的网络调控过程,仍有很多问题尚待解决。miRNA 是近年来发现的在真核生物中普遍存在的一类 19~25 nt 微小 RNA 分子,在转录后水平上发挥重要作用,广泛参与多种重要生物学过程。综述了近年来 miRNA 在调控完全变态昆虫(果蝇、家蚕、伊蚊、按蚊等)胚胎发育、组织分化以及变态发育等方面的研究进展,以期为深化理解昆虫变态发育机制、发现新的生物防控靶标分子奠定基础。

**关键词:** miRNA; 昆虫; 变态; 发育; 调控作用

**中图分类号:** Q964      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2015)08-0013-05

## Progress on Regulatory Role of miRNA in Complete Metamorphosis Insects Development

CHAI Lianqin, WANG Le, MIAO Yingchun

(Stage Key Laboratory of Cotton Biology, College of Life Science of Henan University, Kaifeng 475002, China)

**Abstract:** There are still many issues to be studied about the development of insects, especially complete metamorphosis insects, which is a complex network of regulatory processes. miRNA is present in eukaryotic cells and is a class of natural small regulatory RNA. Its size is 19—25 nucleotides. miRNAs play an important role in post-transcriptional gene regulation, and they can control hundreds of gene targets and regulate diverse biological processes. Here, we review recent developments of the roles of miRNAs in embryogenesis, tissue differentiation and metamorphosis of complete metamorphosis insects, such as drosophila, silkworm, aedes and anopheles, etc, in order to lay the foundation for profoundly reveal the metamorphosis developmental mechanism of insects and discover new molecular targets for prevention and control of insect pests.

**Key words:** miRNA; insect; metamorphosis; development; regulatory role

完全变态昆虫一生经历卵、幼虫、蛹和成虫 4 个不同的发育时期,而且各个发育时期的形态特征和功能各不相同,因而完全变态昆虫的发育过程是一个非常复杂的生物学过程。对于完全变态昆虫发育的研究一直以来是昆虫学的研究热点。已有的研究表明,昆虫的变态发育主要由保幼激素(juvenile hormone, JH)和蜕皮激素(ecdysone)协同调控<sup>[1-2]</sup>。蜕皮激素由昆虫前胸腺分泌,然后释放到血淋巴中,最后转化成具有生物活性的 20-羟基蜕皮酮(20-hydroxyecdysone, 20E),该多羟基甾醇的合

成是昆虫蜕皮和变态的关键<sup>[3]</sup>。保幼激素由咽侧体分泌,是一类保持昆虫幼虫性状和促进成虫卵巢发育的激素,能够抑制昆虫形态的改变及过早分化<sup>[4-6]</sup>。但至今很多完全变态的发育机制问题仍有待进一步阐明。随着 miRNA 的发现及研究的深入,越来越多的试验结果证实 miRNA 在昆虫完全变态发育过程中发挥多种重要作用。

miRNA 广泛存在于真核生物中,是一类长度为 19~25 nt 的单链非编码 RNA。成熟的 miRNA 是由较长的初级转录物经过 Drosha 酶和 Dicer 酶的剪切

收稿日期:2015-04-13  
基金项目:河南省科技厅项目(122300410127);河南省教育厅项目(2009A180002);河南大学省部共建项目(SBGJ090403)  
作者简介:柴连琴(1972-),女,鹤壁浚县人,副教授,博士,主要从事昆虫发育和先天免疫研究。  
E-mail:chailianqin02@163.com

加工而产生,随后组装进 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC),通过碱基互补配对的方式识别靶标 mRNA,并根据互补程度的不同指导沉默复合体降解靶标 mRNA 或者阻遏其翻译,从而在转录后水平上调基因表达<sup>[7-8]</sup>。第 1 个被报道的 miRNA 是 1993 年在秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)中发现的 lin-4<sup>[9]</sup>。随后的研究证实,miRNA 在动物、植物和病毒等多物种间具有保守性,其表达具有时序性和组织特异性,对胚胎发育、组织分化、细胞增殖、细胞凋亡和形态发生等很多生物学过程都具有调节作用。目前许多完全变态昆虫中也已鉴定出大量的 miRNA,如果蝇(*Drosophila melanogaster*)、家蚕(*Bombyx mori*)、棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)、烟草天蛾(*Manduca sexta*)以及蚊子和蜜蜂等。miRNA 在昆虫生长和发育过程中所起到的多种调节作用越来越受到人们的关注<sup>[10]</sup>。为此,综述了近年来 miRNA 对完全变态昆虫发育调控作用的研究进展,将丰富人们对 miRNA 作用的认识,使人们对于基因表达调控网络的理解提高到一个新的水平,同时也将为发现新的生物防控靶标分子奠定基础。

## 1 miRNA 对果蝇发育的调控作用

近期研究结果表明,果蝇的发育是由部分 miRNA 与蜕皮激素和保幼激素的相互协调作用来完成的<sup>[11-12]</sup>。Broad 基因是蜕皮激素信号通路的关键基因,let-7 是果蝇保守的 miRNA,在发育的晚期阶段特异性表达,可以促进果蝇幼虫向成虫转变,利用 Northern blotting 技术分析发现,20E 和 Broad 复合体(Broad-complex, BR-C)可调控 let-7 的表达,证实 let-7 在果蝇中的瞬时表达受 20E 和 BR-C 转录因子活性的共同作用<sup>[13]</sup>。Sempere 等<sup>[12]</sup>选取果蝇发育表达图谱中的 24 个 miRNA,研究 20E 和 JH 处理对果蝇 miRNA 表达的影响,发现这 24 个 miRNA 中有 7 个能够调节果蝇变态发育,如 20E 处理后 let-7、miR-100 和 miR125 瞬时表达上调,miR-34 表达下调,而 JH 的作用则与 20E 正好相反。随后的研究发现,20E 及其受体 EcR 可以直接激活 let-7 复合体(let-7-complex, let-7-C)转录生成 let-7、miR-100、miR-125,生成的这 3 个 miRNA 转录后调控靶基因的表达,并受 20E 调控<sup>[14]</sup>。以上这些结果说明,let-7、miR-100、miR-125 和 miR-34 可能对 20E 和 JH 信号转导途径发挥作用,从而参与果蝇的变态发育过程。还有一些 miRNA 如 miR-14,它的靶基因是蜕皮激素受

体 EcR,其可以通过抑制 EcR 表达调控 20E 信号通路,而 20E 也能通过降低 miR-14 的表达来减弱其对 EcR 的抑制作用,可见 miR-14 通过调节 20E 信号通路从而参与果蝇的变态发育<sup>[15]</sup>。上述研究都证实 miRNA 参与果蝇的变态发育,还有研究发现有些 miRNA 参与了果蝇的胚胎发育、神经发育等。miR-184 在雌性果蝇和受精卵中均有表达,且它可能通过 DPP 受体、gurken 转录因子 K10 和转录抑制子 Tramtracks 69 调节受精卵的产生和早期胚胎发育等<sup>[16]</sup>。在果蝇胚胎发生阶段,Dystroglycan(Dg)基因是肌腱结形成的关键,miR-9a 能调控细胞外基质(ECM)受体 Dg 基因,miR-9a 的缺失影响果蝇胚胎的正常存活和中胚层基因的表达,说明 miR-9a 可能调控胚胎发生<sup>[17]</sup>。miR-124 是果蝇中一个非常保守的 miRNA,Weng 等<sup>[18]</sup>通过研究 miR-124 对果蝇中枢神经系统发育的影响,发现基因 anachronism 可能作为 miR-124 靶基因维持果蝇幼虫神经元祖细胞正常增殖。有些 miRNA 与果蝇的肌肉发育相关,如 miR-1 在肌肉和中胚层的特异性表达是通过 Twist 和 Mef2 转录因子来实现的,果蝇发育形成和生理功能上可能不需要 miR-1 参与,但是 miR-1 对果蝇幼虫肌肉有丝分裂后的快速生长是必需的,它可以调节 notch 信号途径,控制果蝇肌肉细胞、心脏细胞的起源和分化等<sup>[19-21]</sup>。这些研究都表明 miRNA 对果蝇发育具有至关重要的作用。

## 2 miRNA 对家蚕发育的调控作用

家蚕具有较高的经济价值,人们也常把它作为鳞翅目的模式生物。通过家蚕基因组数据库 SDB(<http://silkworm.genomics.org.cn/>)预测及 miRNA 测序,并通过 qRT-PCR、微阵列和 Northern blotting 技术,证实多个 miRNA 的表达具有时序性<sup>[22-25]</sup>,推测 miRNA 可能在家蚕胚胎发育、幼虫蜕皮及变态发育中发挥重要功能。Bm-miR-2998 和 Bm-miR-2766 是在蛹期特异表达的 miRNA,通过生物信息学预测,其调控的靶基因分别为保幼激素酸甲基转移酶(JH acid methyltransferase, JHAMT)和保幼激素酯酶(JH esterase, JHE),JHAMT 和 JHE 是 JH 合成过程中不可缺少的 2 类酶,直接影响 JH 在体内的滴度,这些结果暗示在家蚕变态发育过程中 JH 的表达水平可能受到 miRNA 的调节<sup>[26-27]</sup>。Bm-let-7 是家蚕 miRNA 中研究较为透彻的一个。Bm-let-7 的表达也具有较强的时序性,和 20E 类似,在家蚕发育后期特别是蛹期高表达,Bm-let-7 表达量改

变时,会影响家蚕蛹的发育。用20E诱导家蚕后发现,低浓度的20E上调Bm-let-7的表达,而高浓度的20E则抑制Bm-let-7的表达,说明20E可以调控Bm-let-7的表达;进一步利用转基因miR-SP技术获得转基因家蚕,发现Bm-let-7的靶标为FT2-F1和Eip74EF(E74),它们是家蚕20E信号转导途径中关键的调控因子,Bm-let-7通过其靶基因调控家蚕的变态,以上试验结果证实,20E通过调控Bm-let-7,而Bm-let-7通过负调控FT2-F1和Eip74EF(E74)的表达,直接参与家蚕的变态发育<sup>[28-29]</sup>。Bm-miR-281是一类保守的昆虫miRNA,在家蚕中能够调节EcR。BmEcR基因能够编码3种亚型:BmEcR-A、BmEcR-B1和BmEcR-B2,使用HEK293T细胞双荧光素酶活性试验证实Bm-miR-281能抑制BmEcR-B的转录,同时在幼虫到蛹的变态阶段20E也能抑制Bm-miR-281的表达,说明Bm-miR-281也像Bm-let-7在家蚕的变态过程中发挥重要作用。除此之外,Bm-miR-281还能通过抑制BmEcR-B的表达参与家蚕马氏管的发育调控<sup>[30]</sup>。

### 3 miRNA对按蚊和伊蚊发育的调控作用

蚊子是许多病原体的载体,其发育分子机制也受到越来越多的关注。但miRNA在调控蚊子变态发育中的研究远落后于前2类模式生物——果蝇和家蚕,目前研究主要集中在对miRNA的鉴定发现和表达分析上。通过对白蚊伊蚊(*Aedes albopictus*) miRNA研究发现,miR-998和miR-184在发育各个阶段表达,为组成型表达;miR-M1和miR-286b在卵期表达;miR-9a在发育前期表达量较高,在卵和成虫中表达量低;let-7、miR-1891和miR-210在发育后期表达,幼虫成蛹之前不表达,成蛹及羽化为蚊后才开始表达,暗示这些miRNA可能在白蚊伊蚊的生长及变态发育中起重要调控作用<sup>[31-32]</sup>。在斯氏按蚊(*Anopheles stephensi*)中,利用测序分析的方法共克隆和鉴定到27个miRNA,其中23个是保守的miRNA,新发现的miRNA有4个,对它们进行研究发现,miR-x2只在雌蚊成虫卵巢中表达,而miR-14在蚊虫的所有阶段都表达,暗示miR-x2可能在斯氏按蚊生殖过程中发挥作用<sup>[33]</sup>。在嗜人按蚊(*Anopheles anthropophagus*)中,利用Northern blotting技术检测发现,miR-2943仅在受精卵中表达,miR-989只在雌性成蚊中高表达,而在雄性蚊子中几乎检测不到,表明miR-989

可能参与雌蚊子成虫的发育<sup>[34]</sup>。miRNA在蚊子发育过程中的作用机制仍需要进一步的深入研究。

### 4 miRNA对其他完全变态昆虫发育的调控作用

对于miRNA在完全变态昆虫发育中的功能,除了在以上几种代表昆虫中研究较多,在危害性较大的鳞翅目害虫如棉铃虫及重要益虫如蜜蜂中也取得了一定的研究进展。Jayachandran等<sup>[35]</sup>在棉铃虫中鉴定到1个miRNA(har-miR-2002b),发现其在棉铃虫幼虫中特异表达,并负调控胰蛋白酶样丝氨酸蛋白酶Ha-TLP,表明其可能对棉铃虫幼虫生长发育及免疫应答方面发挥重要作用。Ge等<sup>[36]</sup>通过深度测序和同源性分析等方法,使用家蚕miRNA的数据库作为参考分别在棉铃虫和斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)中鉴定到97个和91个保守的miRNA,选取2个棉铃虫和斜纹夜蛾都有的miRNA(miR-2a、miR-34)和2个各自特有的miRNA(har-miR-2796-3p、sli-miR-11),利用qRT-PCR技术研究发现,miR-2a和sli-miR-11在蛹期高表达,miR-34和har-miR-2796-3p在成虫期高表达,暗示这些miRNA可能参与棉铃虫和斜纹夜蛾的生长和变态发育。烟草天蛾miRNA的研究较少,2012年研究人员对烟草天蛾4个不同发育时期(卵、4龄幼虫、蛹和成虫)进行Illumina测序,鉴定到163个miRNA,其中13个为烟草天蛾特有,通过比较不同发育阶段的miRNA表达图谱,推测这些miRNA可能参与烟草天蛾的发育调控<sup>[37]</sup>。蜜蜂是重要的社会性经济昆虫,Greenberg等<sup>[38]</sup>利用高通量测序从采集蜂(forager)和保育蜂(nurse)头部共鉴定到97个miRNA,其中17个是新发现的miRNA,通过Northern blotting技术分析发现,miR-184和miR-2796在采集蜂头部表达上调,miR-1和miR-275在保育蜂头部表达上调,通过预测miR-2796靶基因发现,其与磷脂酶C(phospholipase C, PLC)有相同的作用,推测其可能参与蜜蜂神经系统的发育。

### 5 小结

miRNA的发现是RNA研究领域的一个突破,miRNA对细胞分化、胚胎发育和生长变态等很多发育过程起着关键调控作用,已经成为生命科学领域研究的一个新热点。昆虫种类繁多,在生物圈中扮演重要的角色。随着生物技术的不断发展,越来越多的昆虫miRNA被发现和鉴定出来,深入研究miRNA在完全变态昆虫变态发育过程中的调控作

用,对于深入揭示昆虫发育与变态的分子机制具有重要意义,同时也将为发现新的害虫防控分子靶标及进行益虫繁殖奠定基础。

#### 参考文献:

- [1] Truman J W, Riddiford L M. The origins of insect metamorphosis[J]. Nature, 1999, 401(6752): 447-452.
- [2] Dubrovsky E B. Hormonal cross talk in insect development[J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2005, 16(1): 6-11.
- [3] Gilbert L I, Rybczynski R, Warren J T. Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway[J]. Annual Review of Entomology, 2002, 47(1): 883-916.
- [4] Dubrovsky E B, Dubrovskaya V A, Berger E M. Juvenile hormone signaling during oogenesis in *Drosophila melanogaster*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2002, 32(11): 1555-1565.
- [5] Riddiford L M. How does juvenile hormone control insect metamorphosis and reproduction? [J]. General and Comparative Endocrinology, 2012, 179(3): 477-484.
- [6] Yamamoto R, Bai H, Dolezal A G, et al. Juvenile hormone regulation of *Drosophila* aging[J]. BMC Biology, 2013, 11(1): 85-98.
- [7] Lee I, Ajay S S, Yook J I, et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites [J]. Genome Research, 2009, 19(7): 1175-1183.
- [8] Filipowicz W, Bhattacharyya S N, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: Are the answers in sight? [J]. Nature Reviews Genetics, 2008, 9(2): 102-114.
- [9] Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854.
- [10] Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, et al. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes[J]. Cell, 2005, 120(1): 21-24.
- [11] Kwon C, Han Z, Olson E N, et al. MicroRNA1 influences cardiac differentiation in *Drosophila* and regulates Notch signaling[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(52): 18986-18991.
- [12] Sempere L F, Sokol N S, Dubrovsky E B, et al. Temporal regulation of microRNA expression in *Drosophila melanogaster* mediated by hormonal signals and Broad-Complex gene activity[J]. Developmental Biology, 2003, 259(1): 9-18.
- [13] Sempere L F, Dubrovsky E B, Dubrovskaya V A, et al. The expression of the *let-7* small regulatory RNA is controlled by ecdysone during metamorphosis in *Drosophila melanogaster*[J]. Developmental Biology, 2002, 244(1): 170-179.
- [14] Chawla G, Sokol N S. Hormonal activation of *let-7-C* microRNAs via EcR is required for adult *Drosophila melanogaster* morphology and function [J]. Development, 2012, 139(10): 1788-1797.
- [15] Varghese J, Cohen S M. MicroRNA miR-14 acts to modulate a positive autoregulatory loop controlling steroid hormone signaling in *Drosophila* [J]. Genes & Development, 2007, 21(18): 2277-2282.
- [16] Iovino N, Pane A, Gaul U. miR-184 has multiple roles in *Drosophila* female germline development [J]. Developmental Cell, 2009, 17(1): 123-133.
- [17] Yatsenko A S, Shcherbata H R. *Drosophila* miR-9a targets the ECM receptor Dystroglycan to canalize myotendinous junction formation [J]. Developmental Cell, 2014, 28(3): 335-348.
- [18] Weng R, Cohen S M. *Drosophila* miR-124 regulates neuroblast proliferation through its target anachronism [J]. Development, 2012, 139(8): 1427-1434.
- [19] Sokol N S, Ambros V. Mesodermally expressed *Drosophila* microRNA-1 is regulated by Twist and is required in muscles during larval growth[J]. Genes & Development, 2005, 19(19): 2343-2354.
- [20] Förstemann K, Tomari Y, Du T, et al. Normal microRNA maturation and germ-line stem cell maintenance requires Loquacious, a double-stranded RNA-binding domain protein[J]. PLoS Biology, 2005, 3(7): e236.
- [21] Xu P, Vernooij S Y, Guo M, et al. The *Drosophila* microRNA mir-14 suppresses cell death and is required for normal fat metabolism [J]. Current Biology, 2003, 13(9): 790-795.
- [22] Tong C Z, Jin Y F, Zhang Y Z. Computational prediction of microRNA genes in silkworm genome [J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2006, 7(10): 806-816.
- [23] Yu X, Zhou Q, Li S C, et al. The silkworm (*Bombyx mori*) microRNAs and their expressions in multiple developmental stages[J]. PLoS One, 2008, 3(8): e2997.
- [24] Zhang Y, Zhou X, Ge X, et al. Insect-specific microRNA involved in the development of the silkworm *Bombyx mori*[J]. PLoS One, 2009, 4(3): e4677.
- [25] He P A, Nie Z, Chen J, et al. Identification and characteristics of microRNAs from *Bombyx mori*[J]. BMC Genomics, 2008, 9(1): 248-264.
- [26] Sheng Z, Ma L, Cao M X, et al. Juvenile hormone acid methyl transferase is a key regulatory enzyme for juvenile hormone synthesis in the Eri silkworm, *Samia cynthia ricini*[J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2008, 69(3): 143-154.

- 491-494.
- [12] 周丽,梁新乐,励建荣.类胡萝卜素抗氧化作用研究进展[J].食品研究与开发,2003,24(2):21-23.
- [13] Aqil F,Zahin M,El Sayed K A,*et al.* Antimicrobial, antioxidant, and antimutagenic activities of selected marine natural products and tobacco cembranoids[J]. Drug and Chemical Toxicology, 2011, 34(2):167-179.
- [14] 周昆,周清明,胡晓兰.烤烟香气物质研究进展[J].中国烟草科学,2008,29(2):58-61.
- [15] Chotinuchit P, Vorabhleuk S. Studies of phenolic compounds in thai flue-cured tobacco[J]. Thai Journal of Agricultural Science, 1986, 19(3):147-154.
- [16] 黄永成,宫长荣,郭瑞,等.烤烟中色素与香味物质的关系研究进展[J].河南农业科学,2008(2):5-9.
- [17] 李永富.美拉德反应产物的抗氧化功能[J].安徽农业科学,2008,36(32):13936-13937.
- [18] 季学军,张国,王道支,等.皖南不同土壤类型烤烟抗氧化能力差异分析[J].中国烟草科学,2011,32(6):26-31.
- [19] 史宏志,李志,刘国顺,等.皖南不同质地土壤烤后烟叶中性香气成分含量及焦甜香风格的差异[J].土壤,2009,41(6):980-985.
- [20] 王战义,代丽,宋朝鹏,等.植物生长调节剂对烤烟叶致香物质的影响[J].浙江农业科学,2009,50(6):1159-1162.
- [21] 王可,刘静静,刘强,等.调亏灌溉对成熟期烤烟中性致香物质的影响[J].中国农学通报,2011,27(19):105-109.

(上接第 16 页)

- [27] Jagadeeswaran G, Zheng Y, Sumathipala N,*et al.* Deep sequencing of small RNA libraries reveals dynamic regulation of conserved and novel microRNAs and microRNA-stars during silkworm development[J]. BMC Genomics, 2010, 11(1):52-69.
- [28] Liu S, Xia Q, Zhao P,*et al.* Characterization and expression patterns of let-7 microRNA in the silkworm (*Bombyx mori*) [J]. BMC Developmental Biology, 2007, 7(1):88-104.
- [29] Ling L, Ge X, Li Z,*et al.* MicroRNA Let-7 regulates molting and metamorphosis in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 53:13-21.
- [30] Jiang J, Ge X, Li Z,*et al.* MicroRNA-281 regulates the expression of ecdysone receptor (EcR) isoform B in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2013, 43(8):692-700.
- [31] 郑培明,吴锦雅,顾金保,等.白纹伊蚊 miRNA 的分离、鉴定及表达谱的初步分析[J].南方医科大学学报,2010,30(4):677-680.
- [32] Puthiyakunnon S, Yao Y, Li Y,*et al.* Functional characterization of three microRNAs of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* [J]. Parasit & Vectors, 2013, 6(1):230-239.
- [33] Mead E A, Tu Z. Cloning, characterization, and expression of microRNAs from the Asian malaria mosquito, *Anopheles stephensi* [J]. BMC Genomics, 2008, 9(9):244-256.
- [34] Liu W, Huang H, Xing C,*et al.* Identification and characterization of the expression profile of microRNAs in *Anopheles anthropophagus* [J]. Parasites & Vectors, 2014, 7(1):159-166.
- [35] Jayachandran B, Hussain M, Asgari S. An insect trypsin-like serine protease as a target of microRNA: Utilization of microRNA mimics and inhibitors by oral feeding [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2013, 43(4):398-406.
- [36] Ge X, Zhang Y, Jiang J H,*et al.* Identification of microRNAs in *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura* based on deep sequencing and homology analysis [J]. International Journal of Biological Sciences, 2013, 9(1):1-15.
- [37] Zhang X, Zheng Y, Jagadeeswaran G,*et al.* Identification and developmental profiling of conserved and novel microRNAs in *Manduca sexta* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 42(6):381-395.
- [38] Greenberg J K, Xia J, Zhou X,*et al.* Behavioral plasticity in honey bees is associated with differences in brain microRNA transcriptome [J]. Genes, Brain and Behavior, 2012, 11(6):660-670.