

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2019.02.003

miRNA 调控昆虫与病毒互作的研究进展

鲁莎¹, 郭建洋², 席羽³, 万方浩^{1,2,3*}

¹青岛农业大学植物医学学院, 山东 青岛 266109; ²中国农业科学院植物保护研究所植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193; ³中国农业科学院深圳农业基因组研究所, 广东 深圳 518120

摘要: miRNA 是一类重要的非编码小分子 RNA, 可在转录后水平调控基因表达, 参与并调控机体的生长发育、细胞分化、细胞凋亡、抗病毒、激素分泌、神经系统等重要生物过程。本文介绍了 miRNA 的合成途径及其生物学功能, 并重点阐述 miRNA 在昆虫宿主与病毒互作中的调控作用: 通过 mRNA 剪切或抑制靶标蛋白的翻译负调控靶标基因, 实现基因沉默, 调控约 50% 的蛋白质编码基因的表达, 许多 miRNA 已被发现在人体和植物中参与调控病毒的复制侵染, 因此也有可能控制害虫对病毒抗性的产生, 恢复病毒对害虫的防控作用。最近有研究将害虫特异的 miRNA 转入植物, 干扰昆虫蜕皮过程导致幼虫的死亡, 作为 Bt 转基因作物的替代, 成为抗虫基因工程的新选择。研究 miRNA 在昆虫对病毒抗性产生中的作用, 将为昆虫抗病毒机制的研究提供新的思路, 为害虫生物防治措施的应用及改进提供理论参考。

关键词: miRNA; 昆虫; 病毒; 宿主与病毒互作

Research on miRNA regulation on the interaction between insect host and virus

LU Sha¹, GUO Jianyang², XI Yu³, WAN Fanghao^{1,2,3*}

¹College of Plant Health and Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China; ²State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; ³Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen, Guangdong 518120, China

Abstract: miRNAs are a class of important non-coding small RNAs that regulate gene expression at the post-transcriptional level. They participate in many important biological processes including growth and development, cell differentiation, apoptosis, antiviral reactions, hormone secretion, and the functioning of the nervous system. This paper introduces the synthetic pathway of miRNA, regulation mechanism and its biological functions. We focus on the illustration of miRNA regulation on the interaction between insect host and virus, gene silencing is achieved by mRNA cleavage or inhibition of translation of the target protein to negatively regulate the target gene, and regulate expression of approximately 50% of the protein-coding gene. Many miRNAs have been found to be involved in the regulation of viral replication in humans and plants. Therefore, it is also possible to control the production of virus resistance by pests and restore the control effect of viruses on pests. Recently, studies have been carried out to transfer pest-specific miRNAs into plants, which interfere with insect molting processes leading to larval death. As a substitute for Bt transgenic crops, it has become a new choice for insect-resistant genetic engineering. Studying the role of miRNAs in the development of insect resistance to viruses will provide new ideas for the study of insect antiviral mechanisms and provide theoretical references for the application and improvement of pest biological control measures.

Key words: miRNA; insect; virus; host-virus interaction

作为非编码 RNA 家族重要成员之一的 miRNA 是一类长度为 18~25 个碱基的小 RNA 分子, 在基因的转录后调控中发挥重要作用, 可以通过 mRNA 剪切或者抑制蛋白质翻译的方式负调控靶标基因 (Floris *et al.*, 2016; Krauss *et al.*, 2018)。Lee *et al.* (1993) 在秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 中发

收稿日期 (Received): 2018-10-13 接受日期 (Accepted): 2018-11-28
基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31801803); 深圳市科技计划项目基础研究 (JCYJ20160530191934833)
作者简介: 鲁莎, 女, 硕士研究生。研究方向: 农业昆虫与害虫防治。E-mail: 983410304@qq.com
* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: wanfanghao@caas.cn

现了第一个 *miRNA*: *lin-4*, 负调控 *lin-14* 基因表达, 使其在翻译水平上受到抑制。随后第二个 *miRNA* 分子 *let-7* 也在线虫中被成功鉴定, 与 *lin-4* 调控机制相似 (Reinhart *et al.*, 2000)。此后被鉴定的 *miRNA* 的数量快速增长, 截至 2018 年 3 月, 在 *miRNA* 序列数据库 *miRBase* (<http://www.mirbase.org/>) 第 22 版中收录 *miRNA* 前体 38589 个, 共计产生 48885 个成熟 *miRNA*, 涵盖了 271 个物种, 其中包括 33 种昆虫、35 种病毒; 另有一专门针对病毒 *miRNA* 的数据库 *Vir-Mir* (<http://alk.ibms.sinica.edu.tw/cgi-bin/miRNA/miRNA.cgi>) 统计获得病毒 *miRNA* 前体 30439 个, 其中双链 DNA 病毒 (*dsDNA*) 26339 个, 昆虫中主要存在的杆状病毒 *miRNA* 前体 1683 个。研究表明, *miRNA* 可以调节大约 50% 的蛋白编码基因, 参与包括生长发育、细胞分化、细胞凋亡、激素分泌等多种生理过程 (Taft *et al.*, 2010), 以及包括肺癌、结肠癌、病毒感染等多种病理过程 (Gangaraju & Lin, 2009; Katsushima & Kondo, 2014)。

病毒是害虫生物防治中的一种主要防治措施, 然而, 随着病毒制剂的不断应用, 昆虫与病毒之间相互作用、协同进化, 昆虫发展出对病毒的抗性, 而病毒也相应发展出应对这种抗性的对策。近年来, 随着 *miRNA* 不断被发现, 昆虫与病毒中产生的 *miRNA* 研究热度增大, 其在两者互作中的调控作用也成为关注热点。宿主昆虫与病毒的基因组都能编码 *miRNA*, 这些 *miRNA* 能调控大量基因的表达。研究表明, 病毒侵染后的昆虫, 其体内的 *miRNA* 表达水平发生显著变化 (Wu *et al.*, 2013), 引起差异表达的原因可能是宿主自身产生的免疫应答反应, 也可能是病毒感染所诱导的调控因子导致; 另一方面, 病毒编码的 *miRNA* 也可调控自身复制相关基因或直接作用于宿主免疫相关基因。本文从 *miRNA* 的生成、调控机制及其功能等方面综述 *miRNA* 的生物学特性, 重点阐述其在昆虫和病毒互作中的调控作用, 为害虫生物防治提供新的思路。

1 *miRNA* 的生成机制

成熟 *miRNA* 的形成过程包括若干步骤: 首先, 编码 *miRNA* 的基因在 RNA 聚合酶 II 启动子的指导下被转录成初始 *miRNA* (primitive *miRNA*, *pri-miRNA*) (Lee *et al.*, 2004)。在细胞核内, *pri-miRNA* 经 RNase III 家族的 Droscha 内切酶剪切后, 形成带有茎环结构的长 70~100 nt 的前体 *miRNA* (precursor *miRNA*,

pre-miRNA) (Lee *et al.*, 2003), 这一过程中 Pasha 蛋白作为辅助蛋白与 Droscha 形成复合体 (Yeom *et al.*, 2006)。加工好的 *pre-miRNA* 再由转运蛋白 Exportin-5 从细胞核主动运输到细胞质中。Exportin-5 可特异性识别经 RNase III (Droscha) 剪切后在 3' 末端有 2 个未配对核苷酸的 *pre-miRNA*, 并保护 *pre-miRNA* 从核内到胞质的完整性 (Zeng & Cullen, 2004)。转运到细胞质中的 *pre-miRNA* 再进一步被 Dicer (RNase III 家族中专门消化双链 RNA 的酶分为 dicer 1 和 dicer 2, 将长链 *dsRNA* 剪切成约 21 nt 的短链 *dsRNA*) 及其辅助因子 TRBP 切割成 18~25 个核苷酸长度的双链 *miRNA*: *miRNA** 分子。*miRNA** 双体中成熟 *miRNA* 链会选择性地整合到 RISC (RNA induced silencing complex) 中识别靶基因, 通过与靶标 mRNA 的特定序列互补或不完全互补结合 (Trujillo *et al.*, 2010), 诱导靶标 mRNA 剪切或阻止其翻译, 从而调控靶基因表达; 另一条链 *miRNA** 或许会快速降解 (Lee *et al.*, 2003)。还有一些来源和上述过程不同的 *miRNA*, 称为 *mirtron* (Du & Zamore, 2005; Ghildiyal *et al.*, 2010)。*mirtron* 由一些小的内含子经过剪接和去分支后, 可不经 Droscha 酶切而直接形成 *pre-miRNA*, 再进一步加工为成熟的 *miRNA* (Yang *et al.*, 2014)。

2 *miRNA* 的调控机制

miRNA 与 RISC 结合形成 *miRISC* 效应复合物后才能够调控靶标基因的表达。通常由 *miRNA* 的种子序列 (5' 第 2~8 位核苷酸) 来识别靶基因, 有 2 种机制来调控靶基因的表达: mRNA 剪切和翻译抑制。*miRNA* 与其靶基因的互补程度决定了它以何种机制沉默靶基因, 当其靶基因几乎完全互补时就会使 mRNA 降解; 当其靶基因不完全互补时则会引起 mRNA 的翻译抑制。尽管这个模型已被许多实验证实, 但在后续的研究中发现了例外, 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (L.) 中 *miRNA*-172 尽管与靶标基因 *APETALA2* 有近乎完全的碱基配对, 却通过抑制靶标基因的翻译而行使功能 (Chen, 2004); 哺乳动物的 *miRNA*-196 与靶标基因 *HOXB8* 的 3' 端非翻译区 (3'-UTR) 几乎完全互补, 却导致靶基因的降解 (Kawasaki & Taira, 2004)。而 *miRNA* 与靶标基因结合的位点也存在多种结合方式: 早些时候认为 *miRNA* 的靶标位点位于靶基因的 3'-UTR 区, 但 Schnall-Levin *et al.* (2010) 利用软件 MinoTar (

//www.minotar.csail.mit.edu) 预测并通过实验证实,在 mRNA 的编码区和 5'-UTR 区也有很多 miRNA 的结合位点。Lytle *et al.* (2007) 研究发现,let-7 不仅靶向 3'-UTR,同时靶向 5'-UTR。miRNA 对基因的表达调控是一个十分复杂的机制,往往不是一对一的对应关系,有可能一个靶基因由多个 miRNA 共同调控,也有可能一个 miRNA 调控多个靶基因表达(Legeai *et al.* 2010; Yu *et al.*, 2007)。

3 miRNA 的功能研究

从第一个 miRNA 发现至今,已经有数以万计的 miRNA 在不同的生物中被发现,miRNA 在生物体中发挥的功能越来越引起人们的重视。目前对于其功能的研究主要还是通过基因突变或在 miRNA 的靶位点上引入突变来抑制 miRNA 的作用,通过观察生物体的表型变化来推测 miRNA 的功能,这是一种反向遗传学的研究方法(Jackson & Standart, 2007)。另外一种推测 miRNA 功能的方法是对相应的 miRNA 进行过量表达。但是很多生物体的表型变化特征不明显,因而人们开始利用表达谱分析和生物信息学方法预测靶基因来研究其相对应的 miRNA 功能。

对已发现的一些 miRNA 的功能研究表明,miRNA 几乎参与了生物体的整个生命过程,主要调控生理和病理 2 个方面。生理方面如细胞生长发育、组织分化、胚胎发育、细胞增殖、细胞凋亡及形态发生等。病理方面包括 miRNA 的异常表达会引起人类的各种疾病发生,如癌症、心血管紊乱、艾滋病、白血病、糖尿病等(Kloosterman & Plasterk, 2006)。实验表明,miRNA 在生物抵抗外界不良环境中起着十分重要的作用,miRNA 的异常表达受环境压力的影响,当 miRNA 表达量变化时可以影响相应的靶基因表达,从而使生物体更好地适应环境改变(Lema & Cunningham, 2010)。例如,当寄生蜂 *Glyptapanteles flavicoxis* (Marsh) 寄生舞毒蛾 *Lymantria dispar* L. 后,舞毒蛾体内相关 miRNA 发生显著变化,从中发现 miRNA 对昆虫适应环境变化起到了积极的促进作用(Gundersen-Rindal & Pedroni, 2010)。

4 miRNA 在昆虫与病毒互作中的作用

4.1 病毒编码的 miRNA 在宿主—病毒互作中的作用

目前,已确定 300 种能编码 miRNA 的病毒,这

些病毒包括疱疹病毒、杆状病毒、腺病毒、多瘤病毒、囊泡病毒和主要侵染鳞翅目昆虫的 Nudivirus (Bellutti *et al.*, 2015; Kozomara & Griffiths-Jones, 2014; Liu *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2014)。miRNA 已经在不同的杆状病毒如斜纹夜蛾核型多角体病毒(SpltNPV)、苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(AcMNPV)和家蚕核型多角体病毒(BmNPV)中被预测,其中一些已在实验中证实:Kharbanda *et al.* (2015) 预测了 48 个新的 SpltNPV 编码的 miRNA, 其中 10 个在 Sf21 细胞中进行了验证;AcMNPV-miR-1 被证实在 AcMNPV 感染的细胞中表达,调节靶标基因的表达以达到促进病毒自身感染的目的(Zhu *et al.*, 2013, 2016)。为了揭示由 BmNPV 编码的 miRNA 并阐明它们在 BmNPV 和宿主互作中产生的作用, Singh *et al.* (2010) 通过检测中肠和脂肪体组织中病毒 miRNA 的表达谱报道了 4 种 BmNPV 编码的 miRNA。其中一种 miRNA: BmNPV-miR-3, 可调节 DNA 结合蛋白的表达,在病毒侵染阶段发挥重要作用。BmNPV-miR-3 在 BmNPV 侵染早期阶段表达,并对 DNA 结合蛋白进行负调控,使用锁核酸技术(locked nucleic acid, LNA)抑制 BmNPV-miR-3 的表达后, DNA 结合蛋白的表达量增加,同时病毒量增加,而过表达 BmNPV-miR-3 则导致其表达量减少,病毒量也相应减少。

随着对 miRNA 的深入研究,病毒来源的 miRNA 在调节病毒—宿主互作中发挥的重要作用被更多发现。病毒 miRNA 可直接改变宿主生理机制,干扰宿主与病毒互作中的宿主防御机制。一些病毒 miRNA, 如 KUN-miR-1 和 OvHV-2-miR-5 直接与昆虫宿主靶标基因相互作用,直接调控病毒感染和病毒复制(Hussain *et al.*, 2012; Riaz *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2016)。BmNPV-miR-1 通过调节输出蛋白-5 辅因子 Ran 来抑制其宿主 miRNA 的表达,从而导致病毒增殖增强(Singh *et al.*, 2012)。AcMNPV-miR-1 是一种由 AcMNPV 编码的 miRNA,其碱基序列与病毒基因 ODV-E25 的编码区完全匹配,通过下调 ODV-E25 mRNA 的表达削弱病毒的产生(Zhu *et al.*, 2013)。Zhu *et al.* (2016) 将 Ac18 和 Ac95 鉴定为 AcMNPV-miR-1 的 2 个新靶点,尽管 AcMNPV-miR-1 与 ac18 和 ac95 显示不完全匹配,但它可同时调节它们的表达,总之,ac18 的轻度表达和 ac95 的下调表达意味着 AcMNPV-miR-1 通过上调 Ac18 同时下调

Ac95 来抑制细胞感染和病毒复制。基于上述报道,可以认为病毒 miRNA 可能靶向大量细胞转录物和病毒,利用 miRNA 作为调节细胞环境的有效手段,构建病毒适宜生长的内部环境。

4.2 昆虫编码的 miRNA 在宿主—病毒互作中的作用

研究表明,病毒感染可诱导宿主 miRNA 表达谱的变化。miRNA 微芯片测序结果表明,棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 感染棉铃虫核型多角体病毒 (HaSNPV) 后脂肪体内有 127 个差异表达的宿主 miRNA (张松斗, 2017)。埃及伊蚊 *Aedes aegypti* (L.) 感染登革热病毒 (DENV) 会改变 miRNA 表达谱,在感染后第 9 天,23 种 miRNA 表达量发生变化 (Campbell *et al.*, 2014)。白纹伊蚊 *Aedes albopictus* Skuse 感染 DENV 病毒后,miR-252 在血淋巴中表达增加,并且抑制此 miRNA 导致病毒拷贝增加,而 miRNA 的过表达则抑制病毒繁殖 (Yan *et al.*, 2014)。埃及伊蚊感染 ZIKV (一种主要由埃及伊蚊传播的黄病毒) 时,感染组织与未感染组织相比较,其 17 种 miRNA 表达量发生变化,其中 aae-miR-2940-3p 和 aae-miR-1-5p 明显上调表达 (Saldaña *et al.*, 2017)。感染 BmCPV 的家蚕 *Bombyx mori* L. 和正常家蚕比较,有 58 个 miRNA 表达差异显著,10 个差异表达的 miRNA 通过 qRT-PCR 方法进一步被证实 (施莉莉, 2016),它们在病毒感染后表达水平的改变意味着可能在病毒—宿主互作中起作用。而杆状病毒感染时 sfrmiR-184 下调 4 种不同基因的表达 (Mehrabadi *et al.*, 2013)。斜纹夜蛾 *Prodenia litura* (Fabricius) 幼虫受到杆状病毒感染后,大多数宿主 miRNA 表达水平下降,但在 Sf9 细胞中的 miRNA、Bantam 增加 (Shi *et al.*, 2016)。

有些种类的病毒能够利用宿主细胞的 miRNA 促进自身复制 (Jopling *et al.*, 2005),而其他的一些宿主 miRNA 却能阻止病毒增殖 (Sanghvi & Steel, 2012)。Wolbachia 能够利用埃及伊蚊 miRNA 调控宿主的基因 (如 *metalloprotease*、*MCT1*、*MCM6* 和 *methyltransferase*) 表达来抑制登革热病毒的复制或促进自身增殖 (Osei-Amo *et al.*, 2012)。当白纹伊蚊感染登 DENV 后,miR-252 表达增加,并且当加入此 miRNA 抑制剂时导致病毒复制,而加入类似物时抑制病毒复制,推断 miR-252 对 DENV 的复制感染具有抑制作用 (Yan *et al.*, 2014)。HaSNPV 能够

操纵棉铃虫 miR-14 下调 *Ha-ECR* 基因的表达,从而调节宿主幼虫的生长发育以促进自身的复制 (Jayachandran *et al.*, 2013)。谷实夜蛾 *Helicoverpa zea* (Boddie) 中的 Hz-miR-24 负调控编码 DNA 依赖性 RNA 聚合酶家族的 HvAV-3e 的转录物 DdRP 和 DdRPβ,从而对病毒复制起到调控作用 (Hussain & Asgari, 2010)。

5 总结与展望

miRNA 的发现让研究者对基因转录后调控机制的理解又进了一层。有关在昆虫免疫方面起作用的 miRNA 报道极少, Kayvan *et al.* (2013) 证实小菜蛾 *Plutella xylostella* L. miR-8 正向调节丝氨酸蛋白酶抑制剂 *serpin27* 的转录水平, *serpin27* 调节 Toll 途径的激活和参与昆虫黑化反应的酚氧化酶,在被半闭弯尾姬蜂 *Diadegma semiclausum* Hellen 寄生后, miR-8 表达水平降低,导致 *serpin27* 转录水平显著下降,作为宿主免疫应答的一部分, miR-8 及其靶标基因 *serpin27* 在寄生后下调表达来激活宿主免疫系统。Yuan *et al.* (2017) 报道了 *serpin-5* 和 *serpin-9* 在棉铃虫感染杆状病毒后上调表达,抑制黑化反应,降低棉铃虫的存活率。棉铃虫核型多角体病毒 (HearNPV) 是近几十年来越来越多地被用作害虫防治的生物杀虫剂,在杆状病毒杀死害虫之前,它必须侵入并躲避宿主的免疫反应。

越来越多的昆虫或病毒的 miRNA 被发现和鉴定出来, miRNA 在昆虫宿主与病毒互作中调控作用的研究也成为热点。昆虫 miRNA 能够调控靶标基因抑制病毒在其体内的大量复制增殖,而病毒 miRNA 则利用宿主 miRNA 或自身产生的 miRNA 提高自身的增殖能力,从 miRNA 的角度揭示了昆虫与病毒之间的相互作用影响与协同进化关系。进一步探索 miRNA 在昆虫与病毒互作中的调控作用,可以为害虫生物防治提供新思路与新方法;研究 miRNA 在昆虫—病毒中的作用机制,可以为病毒制剂的研发提供理论基础。

参考文献

- 张松斗, 2017. 核型多角体病毒诱导棉铃虫幼虫上爬行为的分子机制研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学.
- 施莉莉, 2016. 家蚕 microRNA Novel-31* 对家蚕溶血素基因的表达的调控. 硕士学位论文. 镇江: 江苏科技大学.
- BELLUTTI F, KAUER M, KNEIDINGER D, LION T, KLEIN

- R, 2015. Identification of RISC-associated adenoviral microRNAs, a subset of their direct targets, and global changes in the targetome upon lytic adenovirus 5 infection. *Journal of Virology*, 89(3): 1608–1627.
- CAMPBELL C L, HARRISON T, HESS A M, EBEL G D, 2014. MicroRNA levels are modulated in *Aedes aegypti* after exposure to Dengue-2. *Insect Molecular Biology*, 23: 132–139.
- CHEN X, 2004. A microRNA as a translational repressor of APETALA2 in *Arabidopsis* flower development. *Science*, 303: 2022–2025.
- DU T, ZAMORE P D, 2005. MicroPrimer: the biogenesis and function of microRNA. *Development*, 132: 4645–4652.
- FLORIS I, KRAFT J D, ALTOSAAR I, 2016. Roles of microRNA across prenatal and postnatal periods. *International Journal of Molecular Sciences*, 17: 1–12.
- GANGARAJU V K, LIN H, 2009. MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10(2): 116–125.
- GHILDIYAL M, XU J, SEITZ H, WENG Z, ZAMORE P D, 2010. Sorting of *Drosophila* small silencing RNAs partitions microRNA* strands into the RNA interference pathway. *RNA*, 16(1): 43–56.
- GUNDERSEN-RINDAL D E, PEDRONI M J, 2010. Larval stage *Lymantria dispar* microRNAs differentially expressed in response to parasitization by *Glyptapanteles flavicoxis* parasitoid. *Archives of Virology*, 155(5): 783–787.
- HUSSAIN M, ASGARI S, 2010. Functional analysis of a cellular microRNA in insect host-ascovirus interaction. *Journal of Virology*, 84(1): 612–620.
- HUSSAIN M, TORRES S, SCHNETTLER E, FUNK A, GRUNDHOFF A, PIJLMAN G P, KHROMYKH A A, ASGARI S, 2012. West Nile virus encodes a microRNA-like small RNA in the 3' untranslated region which up-regulates GATA4 mRNA and facilitates virus replication in mosquito cells. *Nucleic Acids Research*, 37(2): 2210–2223.
- JACKSON R J, STANDART N, 2007. How do microRNAs regulate gene expression? *Sciences Stke Signal Transduction Knowledge Environment*, 367: 1–13.
- JAYACHANDRAN B, HUSSAIN M, ASGARI S, 2013. Regulation of *Helicoverpa armigera*, ecdysone receptor by miR-14 and its potential link to baculovirus infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, 114(2): 151–157.
- JOPLING C L, YI M K, LANCASTER A M, LEMON S M, SARNOW P, 2005. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA. *Science*, 309: 1577–1581.
- KATSUSHIMA K, KONDO Y, 2014. Non-coding RNAs as epigenetic regulator of glioma stem-like cell differentiation. *Frontiers in Genetics*, 5: 1–8.
- KAWASAKI H, TAIRA K, 2004. MicroRNA-196 inhibits HOXB8 expression in myeloid differentiation of HL60 cells. *Nucleic Acids Symposium Series*, 48: 211–212.
- KHARBANDA N, JALALI S K, OJHA R, BHATNAGAR R K, 2015. Temporal expression profiling of novel *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus-encoded microRNAs upon infection of Sf21 cells. *Journal of General Virology*, 96: 688–700.
- KAYVAN E, SASSAN A, 2013. Conserved microRNA miR-8 blocks activation of the toll pathway by upregulating serpin 27 transcripts. *RNA Biology*, 10(8): 1356–1364.
- KLOOSTERMAN W P, PLASTERK R H A, 2006. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Developmental Cell*, 11(4): 441–450.
- KOZOMARA A, GRIFFITHS-JONES S, 2014. MiRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Research*, 42: 68–73.
- KRAUSS R H, PHIPSON B, OSHLACK A, PRASAD-GUPTA N, CHEUNG M M, SMOLICH J J, PEPE S, 2018. Shifts in ovine cardiopulmonary microRNA expression in late gestation and the perinatal period. *PLoS ONE*, 13: e0204038.
- LEE R C, FEINBAUM R L, AMBROS V, 1993. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*, 75(5): 843.
- LEE Y, AHN C, HAN J, CHOI H, KIM J, YIM J, LEE J, PROVOST P, RADMARK O, KIM S, KIM V N, 2003. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 425: 415–419.
- LEE Y, KIM M, HAN J, YEOM K H, LEE S, BAEK S H, KIM V N, 2004. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO Journal*, 23: 4051–4060.
- LEGEAI F, RIZK G, WALSH T, EDWARDS O, GORDON K, LAVENIER D, LETERME N, MEREAU A, NICOLAS J, TAGU D, JAUBERPOSSAMAI S, 2010. Bioinformatic prediction, deep sequencing of microRNAs and expression analysis during phenotypic plasticity in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *BMC Genomics*, 11(1): 281–290.
- LEMA C, CUNNINGHAM M J, 2010. MicroRNAs and their implications in toxicological research. *Toxicology Letters*, 198(2): 100–105.
- LIANG H, WANG X, 2013. A microRNA encoded by *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus regulates expression of viral gene ODV-E25. *Journal of Virology*, 87: 13029–13034.
- LIU X, HAPPEL C, ZIEGELBAUER J M, 2017. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNAs target GADD45B to

- protect infected cells from cell cycle arrest and apoptosis. *Journal of Virology*, 91(3): e02045
- LYTLE J R, YARIO T A, STEITZ J A, 2007. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5'UTR as in the 3'UTR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104: 9667–9672.
- MEHRABADI M, HUSSAIN M, ASGARI S, 2013. MicroRNAome of *Spodoptera frugiperda* cells (SF9) and its alteration following baculovirus infection. *Journal of General Virology*, 94: 1385–1397.
- OSEI-AMO S, HUSSAIN M, ONEILL S L, ASGARI S, 2012. Wolbachia-induced aae-miR-12 miRNA negatively regulates the expression of MCT1 and MCM6 genes in Wolbachia-infected mosquito cell line. *PLoS ONE*, 7: e50049.
- REINHART B J, SLACK F J, BASSON M, PASQUINELLI A E, BETTINGER J C, ROUGVIE A E, HORVITZ H R, RUVKUN G, 2000. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 403: 901–906.
- RIAZ A, DRY I, LEVY C S, HOPKINS J, GREY F, SHAW D J, DALZIEL R G, 2014. Ovine herpesvirus-2 encoded microRNAs target virus genes involved in virus latency. *Journal of General Virology*, 95: 472–480.
- SALDANA M A, ETEBARI K, HART C E, WIDEN S G, WOOD T G, 2017. Zika virus alters the microRNA expression profile and elicits an RNAi response in *Aedes aegypti* mosquitoes. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 11(7): e0005760.
- SANGHVI V R, STEEL L F, 2012. RNA silencing as a cellular defense against HIV 1 infection: progress and issues. *Faseb Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 26: 3937–3945.
- SCHNALL-LEVIN M, ZHAO Y, PERRIMON N, BERGER B, 2010. Conserved microRNA targeting in *Drosophila* is as widespread in coding regions as in 3'UTRs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107: 15751–15756.
- SHI X, RAN Z, LI S, YIN J, ZHONG J, 2016. The effect of microRNA bantam on baculovirus AcMNPV infection *in vitro* and *in vivo*. *Viruses*, 8(5): 136–147.
- SINGH C P, SINGH J, NAGARAJU J, 2012. A baculovirus-encoded microRNA (miRNA) suppresses its host miRNA biogenesis by regulating the exportin-5 cofactor ran. *Journal of Virology*, 86: 7867–7879.
- TAFT R J, PANG K C, MERCER T R, DINGER M, MAT-TICK J S, 2010. Non-coding RNAs: regulators of disease. *Journal of Pathology*, 220(2): 126–139.
- TRUJILLO R D, YUE S B, TANG Y, O'GORMAN W E, CHEN C Z, 2010. The potential functions of primary microRNAs in target recognition and repression. *Embo Journal*, 29: 3272–3285.
- WU P, HAN S, CHEN T, QIN G X, LI L, GUO X J, 2013. Involvement of microRNAs in infection of silkworm with *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus (BmCPV). *PLoS ONE*, 8: e68209.
- WU P, QIN G, QIAN H, CHEN T, GUO X, 2016. Roles of miR-278-3p in IBP2 regulation and *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus replication. *Gene*, 575: 264–269.
- YAN H, ZHOU Y, LIU Y, DENG Y, PUTHIYAKUNNON S, CHEN X, 2014. MiR-252 of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* regulates dengue virus replication by suppressing the expression of the Dengue virus envelope protein. *Journal of Medical Virology*, 86(8): 1428–1436.
- YANG J S, SMIBERT P, WESTHOLM J O, JEE D, MAURIN T, LAI E C, 2014. Intertwined pathways for Argonaute-mediated microRNA biogenesis in *Drosophila*. *Nucleic Acids Research*, 42(3): 1987–2002.
- YEOM K H, LEE Y, HAN J, SUH M R, KIM V N, 2006. Characterization of DGCR8/Pasha, the essential cofactor for Drosha in primary miRNA processing. *Nucleic Acids Research*, 34: 4622–4629.
- YUAN C, XING L, WANG M, WANG X, YIN M, WANG Q, HU Z, ZOU Z, 2017. Inhibition of melanization by serpin-5 and serpin-9 promotes baculovirus infection in cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *PLoS Pathogens*, 13: e1006645.
- YU Z, JIAN Z, SHEN S H, PURISIMA E, WANG E, 2007. Global analysis of microRNA target gene expression reveals that miRNA targets are lower expressed in mature mouse and *Drosophila* tissues than in the embryos. *Nucleic Acids Research*, 35(1): 152–164.
- ZENG Y, CULLEN B R, 2004. Structural requirements for pre-microRNA binding and nuclear export by Exportin 5. *Nucleic Acids Research*, 32: 4776–4785.
- ZHU M, WANG J, DENG R, WANG X, 2016. Functional regulation of an *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus-encoded microRNA, AcMNPV-miR-1, in baculovirus replication. *Journal of Virology*, 90: 6526–6537.
- ZHU M, WANG J, DENG R, XIONG P, LIANG H, WANG X, 2013. A microRNA encoded by *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus regulates expression of viral gene ODV-E25. *Journal of Virology*, 87: 13029–13034.