应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2021, 58(4): 931−937. DOI: 10.7679/j.issn.2095−1353.2021.091

亚洲玉米螟中 *stuxnet* 基因的时空表达与功能分析*

吴小宇** 杨兴卓 梁 佳 赵贤国 赵章武 杜 娟***

（中国农业大学植物保护学院，农业部作物有害生物监测与绿色防控重点实验室，北京 100193）

摘 要 **【目的】**本研究旨在鉴定亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 中 *stuxnet* (*stx*)同源基因 *Ofstuxnet* (*Ofstx*)，进一步明确 *Ofstx* 基因的功能，探索基于表观遗传调控的害虫防治新策略。**【方法】** 基于反转录技术获取亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因的全长 cDNA 序列，进行 cDNA 全长测序，分析其生物学信息；分别提取亚洲玉米螟不同发育阶段（3-5 龄期幼虫）及不同组织（头、中肠、脂肪体）中 RNA，并通过 RT-qPCR 技术检测 *Ofstx* 基因在亚洲玉米螟不同发育阶段及不同组织中的相对表达量。**【结果】** 亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因全长 2 112 bp，编码蛋白质含 703 个氨基酸，预测分子量 76.98 ku，等电点 8.30。比对其它物种 Stx 同源蛋白氨基酸序列发现其都含有 UBL 保守结构域。系统发育树分析发现与草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 所属的夜蛾科同源性较高。qPCR 结果显示 *Ofstx* 在脑内相对表达量最高，在 3-5 龄幼虫中，4 龄幼虫体内总体表达量最高。**【结论】** *Ofstx* 基因主要在亚洲玉米螟脑内表达，幼虫阶段的第 4 龄期相较第 3、第 5 龄期相对表达高，可能参与调控昆虫生长发育，具体功能有待进一步研究。

关键词 亚洲玉米螟；*stuxnet*；多梳蛋白；时空表达；功能分析

Spatiotemporal expression and functional analysis of the *Ostrinia furnacalis stuxnet* gene

WU Xiao-Yu** YANG Xing-Zhuo LIANG Jia ZHAO Xian-Guo ZHAO Zhang-Wu DU Juan***

(Key Laboratory of Crop Pest Monitoring and Green Control, Ministry of Agriculture, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract **[Objectives]** The aim of this study was to identify the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis stuxnet* (*stx*) gene, *Ofstuxnet* (*Ofstx*), clarify its function and investigate the potential of using this gene to develop a novel pest control strategy based on epigenetic regulation. **[Methods]** The full-length cDNA sequence of the *Ofstx* gene was obtained using the reverse transcription technique, and its gene sequence obtained by full-length cDNA sequencing. RNA was extracted from 3rd to 5th instar larvae and from different tissues (head, midgut, fat body), and the relative expression of the *Ofstx* gene in these age groups and tissues was detected using RT-qPCR. **[Results]** The total length of the *Ofstx* gene was 2 112 bp, The encoding protein contained 703 amino acids, has a predicted molecular weight of 76.98 ku, and an isoelectric point of 8.30. Amino acid sequence comparison of the *Ofstx* gene and homologous proteins from other species showed that they all contained an UBL conserved domain. A phylogenetic tree shows that the *Ofstx* gene is highly homologous with Noctuid *stx* genes，including that of *Spodoptera frugiperda.* qPCR results show that relative expression of *Ofstx* was highest in the head and that overall expression was highest in 4th instar larvae. **[Conclusion]** The *stx* gene is mainly expressed in the head of *O. furnacalis*, and in fourth instar larvae than in third and fifth instar larvae. This suggests that this gene may be involved in the regulation of growth and development. Further research is required to reveal its specific functions.

Key words *Ostrinia furnacalis*; *stuxnet*; polycomb-group; spatiotemporal expression; functional analysis

---

*资助项目 Supported projects：国家自然科学基金项目（31730076）

**第一作者 First author，E-mail：wuxiaoyu@cau.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：dujuan9981@cau.edu.cn

收稿日期 Received：2020-08-17；接受日期 Accepted：2021-02-03

Polycomb group（PcG）蛋白复合体是一类通过染色质修饰调控靶基因的因子，主要通过行使转录抑制功能来保证靶基因的正确表达模式，进而保证发育进程的精准性，是表观遗传调控网络中的重要成员（Alfieri *et al.*，2013；Du *et al.*，2016）。PcG 蛋白复合体存在于所有后生动物体内，在脊椎动物中 PcG 对于维持干细胞正常功能十分重要（Gil and O'Loghlen，2014）。对于 PcG 蛋白复合体最初如何识别靶基因的状态，以及如何重新建立 PcG 介导的抑制，人们知之甚少（Alhaj *et al.*，2018）。*Stx* 是在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中发现的一种 PcG 调节因子基因，过表达 *stx* 可以诱导果蝇在发育过程中的触角向腿转化（Du *et al.*，2016）。Stx 在哺乳动物中的同源蛋白 Midnolin 被证明存在于细胞核及核仁中，且都包含泛素类的保守结构域（Tsukahara *et al.*，2000）。Stx 作为一种特异性调节因子来抑制 PcG 活性，在果蝇到脊椎动物中都是保守的（Du *et al.*，2016）。此外，*stx* 和 PcG 的级联反馈还对调节睡眠稳态至关重要。作者所在课题组最新的研究表明，*stx* 通过抑制成年果蝇脑部的多梳细胞正向调节睡眠稳态中的功能受体，进而调控黑腹果蝇的睡眠等重要生命活动（Zhao *et al.*，2021）。

亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 属鳞翅目 Lepidoptera 螟蛾科 Pyralidae，是一种杂食性害虫，主要取食玉米，严重影响玉米的产量和质量（王振营等，2000；胡志凤等，2013），大发生年份使玉米减产 30%以上（周达荣，1996）。近年来，关于害虫的遗传与行为调控的研究，国内外研究人员提出害虫治理要从杀灭防治转变为行为调控的新思路和新理念，并认为未来的研究将围绕害虫暴发成灾的遗传与行为机制等科学问题（魏佳宁等，2012）。害虫暴发成灾是由于灾害性昆虫的遗传特性及其行为的内部调节机制的复杂性（Zhu-Salzman *et al.*，2005；Kang *et al.*，2009；Guo *et al.*，2011）。通过深入研究昆虫发育过程的机理，揭示影响其正常生命活动的关键发育因子，开发基于基因治理害虫的新技术，将为有效开展害虫治理、减少化学农药做出贡献。因此，寻找调节发育过程中重要生理现象的关键基因是开发防治的最重要的一步，也是开展害虫治理的基础（King-Jones and Thummel，2005）。

在鳞翅目害虫中了解 *stx* 基因对于 PcG 的调控将有助于研究害虫的生长发育调控机制，并为通过调控害虫行为的害虫治理研究提供新思路。然而 *stx* 基因在害虫中的研究，到目前为止还未见报道。因此，本研究以亚洲玉米螟为例探索鳞翅目昆虫表观遗传调控机制，通过获取亚洲玉米螟基因 CDS 序列，从中寻找到 *stx* 同源基因，对其蛋白序列进行序列分析以及进化分析，并通过 RT-PCR 检测了 *Ofstx* 基因在玉米螟不同生长阶段和不同部位中的表达情况，该结果将为进一步探索亚洲玉米螟中 *Ofstx* 基因功能提供思路，为表观遗传调控的害虫防治新策略提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

实验所用亚洲玉米螟为中国农业科学院王振营教授赠送。亚洲玉米螟的人工饲养均在智能人工气候箱中进行，将虫卵放置在塑料养虫盒中（28 cm×20 cm×12 cm）中，孵化出的幼虫使用人工饲料饲喂。待幼虫化蛹后，将蛹从中养虫盒中挑出并收集起来，放入养虫笼中。养虫笼底部放置用浓度为 2%-3%的蜂蜜水彻底浸湿的脱脂棉，顶部放置产卵蜡纸，每 2 d 将蜡纸替换下来放到新的塑料养虫盒中待其孵化。饲养条件：温度（28±1）℃，光周期 16 L∶8 D，相对湿度控制在 60%。

1.2 样品总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

RNA 的提取：取亚洲玉米螟 3、4、5 龄幼虫，分别剪下头部，同时解剖中肠，并获取脂肪体，按照 Trizol 试剂盒说明书进行 RNA 的提取，并置于 - 80 ℃保存；反转录获得 cDNA：PrimeScripTM RT reagent Kit（Perfect Real Time）试剂盒购自 Takara 试剂公司，并按照试剂盒说明书配置反转录 1 μL RNA 的标准体系。获得的 cDNA 置于 - 20 ℃条件保存，用于后续实时荧

光定量检测基因表达量。

1.3　亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因序列的生物信息学分析

通过 ProtParam（https://web.expasy.org/compute_pi/）软件完成 *Ofstx* 基因编码蛋白理化性质的预测。应用 MEGA7 软件（Kumar *et al*.，2016）对蛋白质序列数据进行分子系统进化分析，采用 Boot-strap Test of Phylogeny 界面中的邻接法（Neighbor-Joining，NJ）（Saitou and Nei，1987）1 000 次重复构建分子进化树，进行分子系统进化分析。使用 jalview 软件进行 *stx* 同源基因编码蛋白氨基酸序列的比对和保守结构域分析。

1.4　亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因全长 cDNA 片段的扩增

本实验基于美国国家生物信息中心（National Center for Biotechnology Information，NCBI）上亚洲玉米螟的全基因组序列（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=txid93504[orgn]），设计引物，通过 PCR 扩增亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因，上游引物为 rna-XM-R，下游引物为 rna-XM-F（表 1）。PCR 扩增反应条件为：95 ℃预变性 3 min；95 ℃变性 30 s，60 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 90 s，35 个循环；72 ℃延伸 10 min。将产物切胶回收并纯化，于北京擎科新业生物技术有限公司进行测序。

表 1　引物信息

Table 1　Primers used in the experiment

引物 Primer	引物序列（5′-3′） Primer sequence	引物用途 Primer use
Ofstx-F	TTACTGTTGCATGTGAGGGT	PCR
Ofstx-R	GTTGCTATTCGTGTGCACA	
q*Ofstx*-F	CGACAAGGGCTGGTAGGAC	RT-PCR
q*Ofstx*-R	TAAGAGCATGAAGCAGGAAGG	
ACTrt F	ACGGAGGTGGTAACCATCAACA	
ACTrt R	ACGCCTCCTTCTTGGTGTCG	

1.5　亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因的 qPCR 检测

采用实时荧光定量 PCR 检测 *Ofstx* 基因在亚洲玉米螟 3-5 龄期幼虫体内的时空表达，并分析其差异。上游引物为 q*Ofstx*-R，下游引物为 q*Ofstx*-F（表 1），分别以亚洲玉米螟 3-5 龄幼虫的头、中肠和脂肪体 cDNA 为模板，采用玉米螟不同阶段表达稳定的 *Actin* 基因作为内参，上游基因为 *ACTrt*-F，下游基因为 *ACTrt*-R（表 1）。使用 SuperReal PreMix Plus (SYBR Green) 试剂盒，以亚洲玉米螟各组织的 cDNA 为模板，反应体系如下：2×super-real mix 10.0 μL，50×Rox 2.0 μL，Primer F/R 0.4 μL，ddH_2O 5.2 μL，cDNA 2.0 μL。反应条件：95 ℃预变性 15 min，95 ℃ 10 s，63 ℃ 30 s（收集信号）40 个循环，72 ℃ 5 min，4 ℃暂存。

1.6　数据分析

亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因表达结果按照 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法进行数据处理，实验数据录入和作图在软件 GrapdhPad Prism5 中进行，数据差异显著性分析采用 One-way ANOVA 伴随 Tukey-Kramer HSD 多重比较。

2　结果与分析

2.1　PCR 检测 *stuxnet* 基因在亚洲玉米螟和果蝇上的同源性分析

根据 National Center for Biotechnology Information Search database 中亚洲玉米螟全基因组数据设计引物，通过 PCR 扩增获得 *Ofstx* 序列。1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物（图 1）。测序结果显示产物片段共 2 112 bp。

2.2　Ofstx 氨基酸序列比对及保守序列分析

Ofstx 编码蛋白分子量预测 76.98 ku，等电点 8.30。利用软件 jalview 分析亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因编码的氨基酸序列，并与其他几种昆虫来源的物种进行同源对比发现都含有 Ubiquitin-like domain(UBL)，其保守结构域比对结果见图 2。

2.3　亚洲玉米螟 *Ofstx* 基因的生物信息学分析

本文对 NCBI 中检索到的鳞翅目 *stx* 基因蛋白序列进行了系统进化分析，结果表明 Stx 蛋白

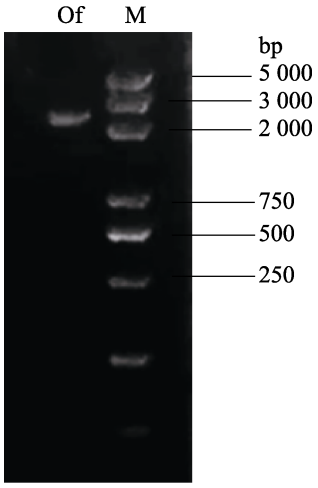

图 1　亚洲玉米螟 *stuxnet* 同源基因 PCR 鉴定

Fig. 1　PCR identification of the *stuxnet* homologous gene of *Ostrinia furnacalis*

Of：亚洲玉米螟总 cDNA 中 *Ofstx* 条带；

M：Trans2K Plus DNA 标记。

Of: The *Ofstx* band in the total cDNA of *Ostrinia furnacalis*; M: Trans2K Plus DNA Marker.

氨基酸序列进化树中草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 和斜纹夜蛾 *Spodoptera litura Fabricius* 等夜蛾科的 Stx 聚为一支，与亚洲玉米螟聚为一大簇，鳞翅目中蝶类聚为一大簇，其它双翅目、膜翅目等分别聚为一簇（图 3）。以上这些聚类关系均符合理论上的进化关系。

2.4　*Ofstx* 基因在亚洲玉米螟幼虫中的时空表达

qPCR 结果显示，*Ofstx* 基因在亚洲玉米螟的头、中肠、脂肪体中都有表达（图 4）。在同一生长发育阶段，头部 *Ofstx* 基因的表达量显著高于中肠和脂肪体（$P<0.05$），而中肠和脂肪体的相对表达量无显著差异。4 龄幼虫的头和中肠内 *stx* 基因相对表达量显著高于 3 龄和 5 龄幼虫的。

3　讨论

动物的生长发育和行为受基因的表达与调控的影响，而蛋白质是动物生命活动的物种基础。在哺乳动物中 Stx 的同源蛋白是中脑核仁蛋白 Midnolin（Tsukahara *et al.*，2000）。Midnolin 主要集中在细胞核和核仁中，而非在细胞质中，它编码的蛋白质包含一个 UBL 结构域，参与核仁中神经发生相关基因的调控（Hofmeister-Brix *et al.*，2013）。Midnolin 与人类帕金森氏病的发生有强烈遗传关联，是帕金森氏病普遍公认的遗传危险因子（Obara and Ishii，2018）。研究表明，Midnolin 可以通过调节 mRNA 在细胞中的运输来控制牛的发育（Zielak *et al.*，2008）。Tsukahara 等（2000）指出 Midnolin 蛋白存在于小鼠胚胎中脑，其功能可能是通过 mRNA 在核仁中的转运来调控参与小鼠胚胎中脑发育基因的表达。本研究结果表明 *Ofstx* 在亚洲玉米螟幼虫脑中表达量最高，这和上述研究结果相类似，*Ofstx* 极有可能通过调节亚洲玉米螟行为从而影响亚洲玉米螟的发生，因此对该基因的深入研究有助于为

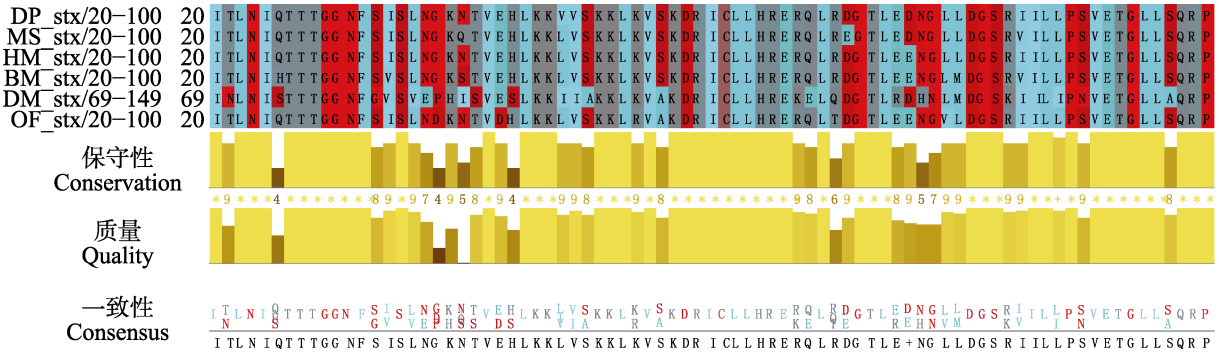

图 2　亚洲玉米螟 *Ofstx* 编码蛋白与其它几种 Stx 同源蛋白的氨基酸序列比对

Fig. 2　Amino acid comparison of *Ostrinia furnacalis Ofstx* with several other Stx homologous proteins

Dp：帝王蝶（XP_032510760.1）；Ms：高粱蚜（XP_025195592.1）；Hm：诗神袖蝶；Bm：家蚕（XP_004924785.1）；Dm：黑腹果蝇（Q8SXD4.1）；Of：亚洲玉米螟（XP_028166729.1）。

Dp: *Danaus plexippus* (XP_032510760.1); Ms: *Melanaphis sacchari* (XP_025195592.1); Hm: *Heliconius_melpomene*; Bm: *Bombyx mori* (XP_004924785.1); Dm: *Drosophila melanogaster* (Q8SXD4.1); Of: *Ostrinia furnacalis* (XP_028166729.1).

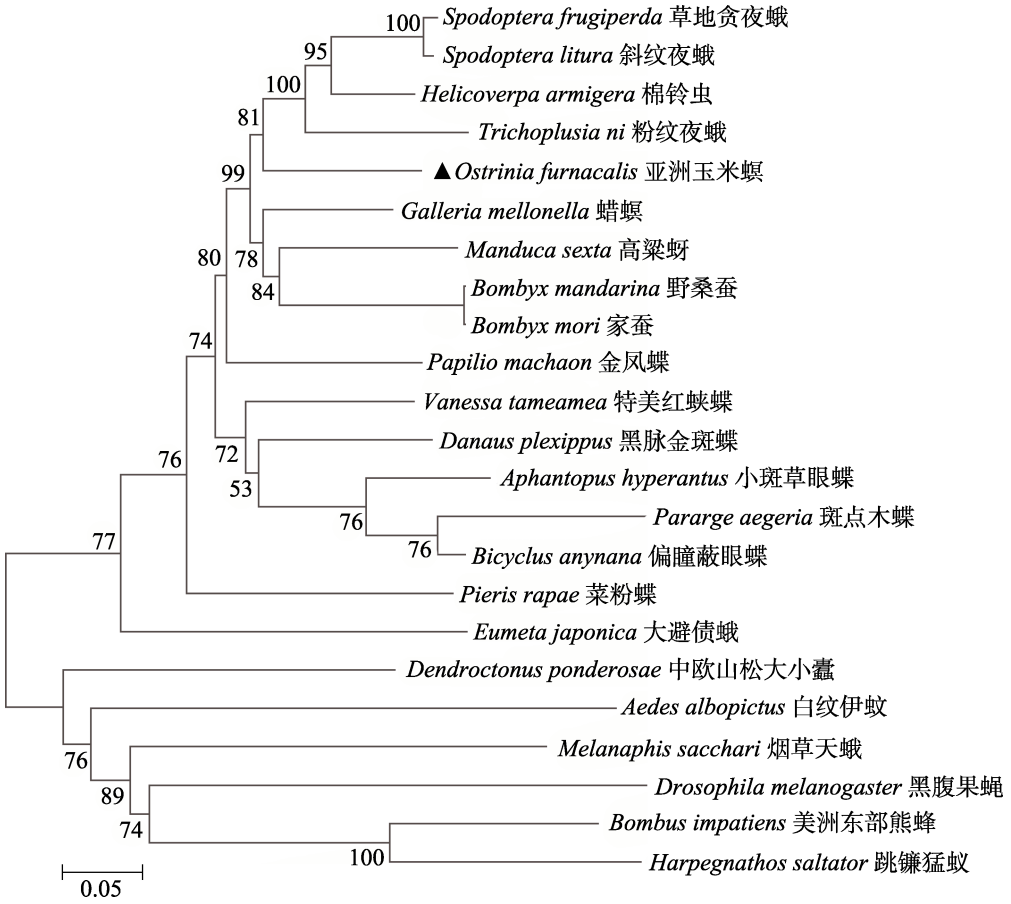

图 3　基于邻接法构建 Stx 氨基酸序列系统发育树

Fig. 3　Phylogenetic tree of Stx amino acid sequence based on Neighbor-Joining method

▲代表本研究物种。

▲ indicates species in this study.

相关研究人员进一步防控防治亚洲玉米螟提供新的方式方法。

泛素（Ubiquitin）是一类真核细胞内广泛存在的小分子蛋白质，泛素间可以通过酶促反应相互连接，进而介导靶蛋白降解（Vasilopoulou *et al.*，2021）。结合氨基酸序列比对和系统发育分析，发现在多种昆虫中都含有 *stx* 同源基因，且具有 UBL 保守结构域，UBL 保守结构域是不依赖泛素调控靶标蛋白降解的功能蛋白（Du *et al.*，2016）。Stx 在其 N 端包含一个 UBL 结构域，越来越多的证据表明 N 端聚集 ubl 结构域的蛋白质，如 Rad23 和 Parkin 蛋白，它们与 19S 的调控亚基 Rpn10 相互作用（Hiyama *et al.*，1999；Sakata*et al.*，2003）。Proteasome-interacting motif（PIM）存在于 UBL 结构域的表面与 26S 蛋白酶体相互作用，连接底物进入降解机制，完成对靶标蛋白的特异性降解（Upadhya and Hegde，2003）。由其氨基酸序列结构的保守性可以推断其功能很可能是相似的。即 *Ofstx* 也是通过不依赖于泛素特异性地降解靶标蛋白，保证发育的正常进行。在后续的研究中，有必要探寻影响 OfStx 的信号活性和在生理环境中 Stx-Pc 的相互作用（Wu，2016）。

stx 在亚洲玉米螟 3-5 龄幼虫中的时空表达结果显示，同一龄期在头部中 *Ofstx* 相对表达量最高，表明 *Ofstx* 很有可能参与头部神经系统的发育和睡眠稳态的形成。4 龄幼虫的头和中肠较 3 龄和 5 龄幼虫高，说明 4 龄是幼虫头部神经系统发育最为关键的时期，如果在这个时期通过 *Ofstx* 扰乱害虫神经系统及睡眠稳态或许能有效

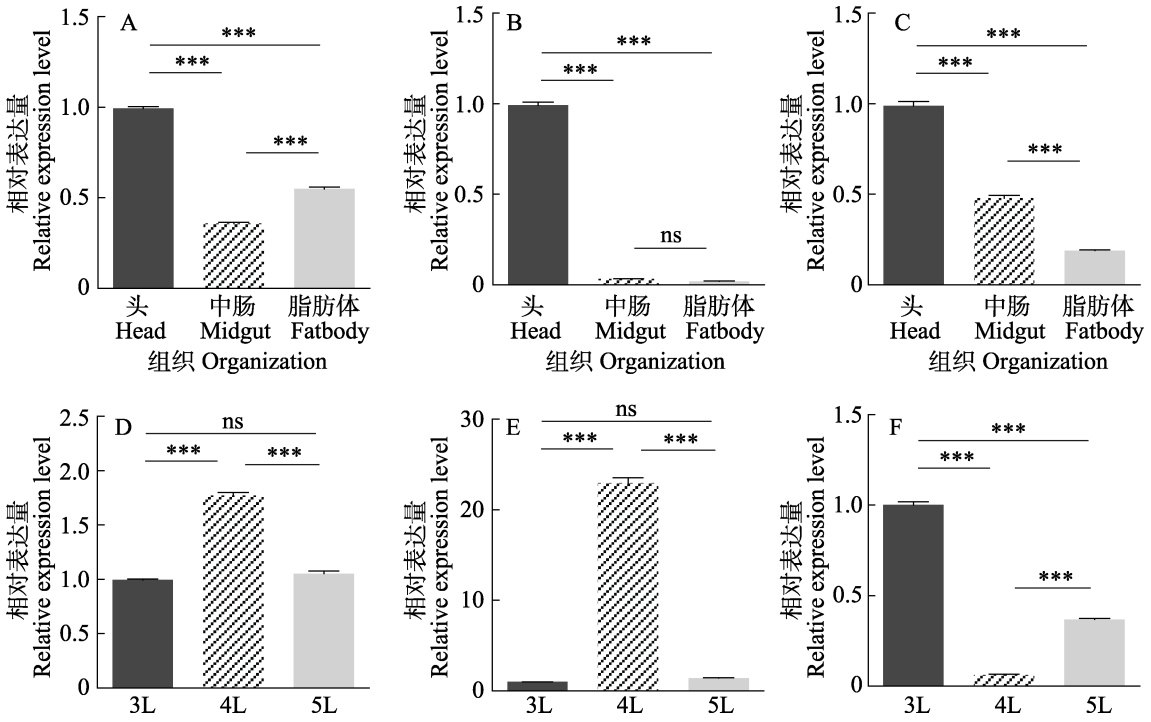

图 4 *Ofstx* 在亚洲玉米螟中相对表达量分析

Fig. 4 Analysis of the relative expression of *Ofstx* in *Ostrinia furnacalis*

A. *stx* 在 3 龄幼虫各组织的表达分析；B. *stx* 在 4 龄幼虫各组织的表达分析；C. *stx* 在 5 龄幼虫各组织的表达分析；D. 3-5 龄幼虫头中 *stx* 的表达分析；E. 3-5 龄期幼虫中肠内 *stx* 的表达分析；F. 3-5 龄期幼虫脂肪体内 *stx* 的表达分析。3L：3 龄幼虫；4L：4 龄幼虫；5L：5 龄幼虫。图中数值为平均值±标准误，*代表相对表达量在 0.05 水平上差异显著，**代表相对表达量在 0.01 水平上差异显著，***代表相对表达量在 0.001 水平上差异显著，ns 相对表达量代表差异不显著。

A. Expression analysis of *stx* in tissues of the 3 instar larvae; B. Expression analysis of *stx* in tissues of the 4 instar larvae; C. Expression analysis of *stx* in tissues of the 5 instar larvae; D. Expression analysis of *stx* in the head of 3-5 instar larvae; E. Analysis of *stx* expression in midgut of 3-5 instar larvae; F. Analysis of *stx* expression in fat of larvae at 3-5 instars. 3L: 3rd instar larvae; 4L: 4th instar larvae; 5L: 5th instar larvae. Date in the figure are mean ± SE, * indicates significant difference of relative expression at the 0.05 level, ** indicates significant difference of relative expression at the 0.01 level, *** indicates significant difference of relative expression at the 0.001 level, ns indicates no significant difference of relative expression.

抑制害虫的暴食期的正常发展。4 龄中肠内基因表达量的增加，一定程度上表征其中肠的大幅度发育，消化系统发育更加完善，此时 *Ofstx* 的大量表达以促进某些基因的表达。这个发育阶段是为 5 龄暴食期做准备。因此通过调控 *Ofstx* 基因来抑制中肠及消化系统的正常发育，从而影响害虫暴食期食量，是降低害虫暴食期危害的有效途径之一。

在表观遗传水平上通过基因调控干扰害虫的生长发育，是一种害虫治理新思路，表观遗传调控在基因调控中处于比较上游的位置，干扰这一调控便于对多个基因或通路同时调控。本研究从 *stx* 基因入手，鉴定出亚洲玉米螟的同源基因，并对其氨基酸结构和功能进行了预测。建议未来可通过 RNAi 的手段进一步明确 Ofstx 基因的具体功能及其在亚洲玉米螟中的调控机制。这将有助于研究人员通过干扰亚洲玉米螟脑内神经系统的稳定和正常的生长发育，降低其生活力和危害性，为开发新的治理新措施提供参考。

参考文献 (References)

Alfieri C, Gambetta MC, Matos R, Glatt S, Sehr P, Fraterman S, Wilm M, Müller J, Müller CW, 2013. Structural basis for targeting the chromatin repressor Sfmbt to Polycomb response

elements. *Genes Development*, 27(21): 2367–2379.

Alhaj AJ, Ghotbi E, Ye P, Frolov A, Benes J, Jones RS, 2018. De novo recruitment of Polycomb-group proteins in *Drosophila* embryos. *Development*, 145(23): dev165027.

Du J, Zhang JZ, He T, Li YJ, Su Y, Tie F, Liu M, Harte PJ, Zhu AJ, 2016. Stuxnet facilitates the degradation of polycomb protein during development. *Developmental Cell*, 37(6): 507–519.

Guo W, Wang X, Ma Z, 2011. CSP and takeout genes modulate the switch between attraction and repulsion during behavioral phase change in the migratory locust. *PLoS Genetics*, 7(2): e1001291.

Hiyama H, Yokoi M, Masutani C, Sugasawa K, Maekawa T, Tanaka K, Hoeijmakers JH, Hanaoka F, 1999. Interaction of hHR23 with S5a. The ubiquitin-like domain of hHR23 mediates interaction with S5a subunit of 26 S proteasome. *Journal of Biological Chemistry*, 274(39): 28019–28025.

Hofmeister-Brix A, Kollmann K, Langer S, Schultz J, Lenzen S, Baltrusch S, 2013. Identification of the ubiquitin-like domain of midnolin as a new glucokinase interaction partner. *Journal of Biological Chemistry*, 288(50): 35824–35839.

Hu ZF, Su WP, Cong B, Dong H, Qian HT, Zhang ZT, 2013. Research advance on biological control of *Ostrinia furnacalis*. *Heilongjiang Agricaltural Sciences*, (10): 145–149. [胡志凤, 孙文鹏, 丛斌, 董辉, 钱海涛, 张祝亭, 2013. 亚洲玉米螟生物防治研究进展. 黑龙江农业科学, (10): 145–149.]

Gil J, O' Loghlen A, 2014. PRC1 complex diversity: Where is it taking us? *Trends in Cell Biology*, 24(11): 632–641.

Kang L, Chen B, Wei JN, Liu TX, 2009. Roles of thermal adaptation and chemical ecology in Liriomyza distribution and control. *Annual Review of Entomology*, 54: 127–145.

King-Jones K, Thummel CS, 2005. Developmental biology. Less steroids make bigger flies. *Science*, 310(5748): 630–631.

Kumar S, Stecher G, Tamura K, 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870–1874.

Obara Y, Ishii K, 2018. Transcriptome analysis reveals that Midnolin regulates mRNA expression levels of multiple Parkinson's disease causative genes. *Biological Pharmaceutical Bulletinl*, 41(1): 20–23.

Sakata E, Yamaguchi Y, Kurimoto E, Kikuchi J, Yokoyama S, Yamada S, Kawahara H, Yokosawa H, Hattori N, Mizuno Y, Tanaka K, Kato K, 2003. Parkin binds the Rpn10 subunit of 26S proteasomes through its ubiquitin-like domain. *EMBO Reports*, 4(3): 301–306.

Saitou N, Nei M, 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4): 406–25.

Tsukahara M, Suemori H, Noguchi S, Ji ZS, Tsunoo H, 2000. Novel nucleolar protein, midnolin, is expressed in the mesencephalon during mouse development. *Gene*, 254(1/2): 45–55.

Upadhya SC, Hegde AN, 2003. A potential proteasome-interacting motif within the ubiquitin-like domain of parkin and other proteins. *Trends Biochem. Science*, 28(6): 280–283.

Vasilopoulou MA, Ioannou E, Roussis V, Chondrogianni N, 2021. Modulation of the ubiquitin-proteasome system by marine natural products. *Redox Biology*, 41: 101897.

Wang ZY, Lu X, He KL, Zhou DR, 2000. Review of history, present situation and prospect of the Asian maize borer research in China. *Shenyang Journal of Agricultural*, 31(5): 402–412. [王振营, 鲁新, 何康来, 周大荣, 2000. 我国研究亚洲玉米螟历史、现状与展望. 沈阳农业大学学报, 31(5): 402–412.]

Wei JN, Wang XZ, Sun YC, Lu M, Zhang YJ, Wang GR, Xu WH, Kang L, 2012. Mechanisms for controlling insects by manipulating their genetics and behavior from gene to ecosystem. *Chinese Journal of Applicd Entomology*, 49(2): 299–308. [魏佳宁, 王宪辉, 孙玉诚, 鲁敏, 张永军, 王桂荣, 徐卫华, 康乐, 2012. 害虫的遗传与行为调控. 应用昆虫学报, 49(2): 299–308.]

Wu X, 2016. Stuxnet detected, Pc breaks down. *Science China Life Sciences*, 59(11): 1202–1203.

Zhao ZW, Zhao XG, He T, Wu XY, Lv PF, Zhu AJ, Du J, 2021. Epigenetic regulator Stuxnet modulates octopamine effect on sleep through a Stuxnet-Polycomb-Octβ2R cascade. *EMBO Reports*, 22(2): e47910.

Zhou DR, 1996. The occurrence, control and research progress of *Ostrinia furnacalis* in China. *China Plant Protection*, 16(2): 38–40. [周达荣, 1996. 我国玉米螟的发生、防治与研究进展. 中国植保导刊, 16(2): 38–40.]

Zhu-Salzman K, Bi JL, Liu TX, 2005. Molecular strategies of plant defense and insect counter-defense. *Insect Science*, 12(1): 3–15.

Zielak AE, Canty MJ, Forde N, Coussens PM, Smith GW, Lonergan P, Ireland JJ, Evans AC, 2008. Differential expression of genes for transcription factors in theca and granulosa cells following selection of a dominant follicle in cattle. *Molecular Reproduction Development*, 75(5): 904–914.