

昆虫小分子量热激蛋白的研究进展*

陆明星** 徐 静 杜予州***

(扬州大学园艺与植物保护学院, 扬州大学应用昆虫研究所 扬州大学, 扬州 225009)

摘 要 昆虫小分子量热激蛋白 (Small heat shock proteins, sHSPs) 是最早被发现的热激蛋白, 但是有关它们的研究相对较少。本文对昆虫小分子量热激蛋白的最新研究成果进行了总结, 旨在引起人们对该类蛋白的关注, 以便进一步研究其功能, 探讨其可能的应用前景。目前研究表明: 昆虫小分子量热激蛋白是所有热激蛋白中最不保守的家族。同时, 它们通常拥有一个 α -晶状体结构域; 分子量范围一般在 12~43 ku; 具有分子伴侣的活性。每种昆虫体内拥有多种 sHSPs, 而且其功能也各不相同。这些热激蛋白在昆虫的生长发育、生殖以及滞育等重要生命活动中起着重要的作用; 同时在抵御不良环境以及适应性进化中也具有重要意义。随着研究的深入, 还将会有更多的昆虫 sHSPs 被鉴定, 它们更多的功能也将被逐渐发掘。

关键词 昆虫, 小分子量热激蛋白, 生长发育, 温度胁迫, 滞育

Progress in research on insect small heat shock proteins

LU Ming-Xing** XU Jing DU Yu-Zhou***

(School of Horticulture and Plant Protection, Institute of Applied Entomology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract Insect small heat shock proteins are an infrequently studied part of the superfamily of heat shock proteins. This article summarizes the latest research on these proteins and also discusses prospects for further research on their functions and possible applications. Current research demonstrates that insect small heat shock proteins are the most poorly conserved family of insect heat shock proteins. However, they usually have a conserved α -crystallin domain, a small molecular mass of 12–43 ku, and act as molecular chaperones. All insects possess many kinds of small heat shock proteins with diverse functions that play important roles in insects' development, reproduction and diapause. They also have a strong influence on insects' ability to withstand adverse environmental conditions and adaptive evolution. With further in-depth research, more and more insect small heat shock proteins and their functions will be identified.

Key words insect, small heat shock proteins, development, temperature stress, diapause

热激蛋白 (Heat shock proteins, HSPs) 是一组高度保守的蛋白质, 广泛存在于原核生物和真核生物中。目前, 按照分子量和同源性将热激蛋白划分为 HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 和小分子量热激蛋白 (Small heat shock proteins, sHSPs, 即蛋白质分子量范围在 12~43 ku) (Kim *et al.*, 1998; Sørensen *et al.*, 2003)。相对于大分子量热激蛋白, 小分子量热激蛋白的研究较

少。小分子量热激蛋白是所有热激蛋白中最不保守的家族, 而且在生物体早期的进化过程中就已经发生分化。尽管小分子量热激蛋白超级家族在序列和大小上拥有多样化, 但是绝大多数拥有共同的特征: (1) 有一个大约 90 个残基的保守 α -晶状体结构域。一般来说, 每个小分子量热激蛋白都拥有一个变异大的 N 端, 保守的 α -晶状体结构域和延伸的 C 端; (2) 分子量范围在 12~43 ku;

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31401733, 31371937); 国家 973 项目 (2012CB114100)

**第一作者 First author, E-mail: lumx@yzu.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: yzdu@yzu.edu.cn

收稿日期 Received: 2015-09-29, 接受日期 Accepted: 2015-10-13

(3) 产生数量多的低聚体；(4) 有一个动力学的四聚体结构；(5) 能被胁迫因子诱导和具有分子伴侣的活性，可以阻止变性蛋白的聚集(图 1) (Franck *et al.*, 2004；Haslbeck *et al.*, 2005)。自从 1974 年第一次发现热激可以诱导黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 体内小分子量蛋白的累积后，越来越多的研究发现小分子量热激蛋白与生物体的许多重要功能有着密切的联系，比如维持细胞骨架的完整性、参与生物体的氧化还原代谢、维持生物体的生长发育、增强细胞对环境胁迫的适应能力，还与生物体的休眠和滞育密切相关 (Tissières *et al.*, 1974；Yocum *et al.*, 1998；Garrido *et al.*, 2012；Wettstein *et al.*, 2012)。小分子量热激蛋白分子伴侣活性是实现上述功能的重要保障，而它们的作用方式又不同于大分子量

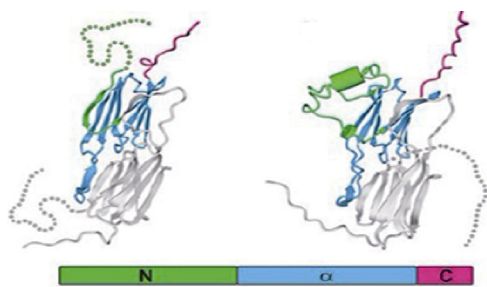


图 1 小分子量热激蛋白的结构特征
Fig. 1 Features of sHSPs structures
绿色代表 N 端，蓝色代表 α -晶状体结构域，
紫红色代表 C 端 (Haslbeck *et al.*, 2005)。
Green, N-terminal region；blue, α -crystallin domain；
magenta, C-terminal extension (Haslbeck *et al.*, 2005)。

热激蛋白，是一种 ATP 独立性的分子伴侣 (van Montfort *et al.*, 2001)。有研究认为，它们分子伴侣活性与其多聚体的产生和重排有关，越大的多聚体产生越有利于其产生分子伴侣活性 (Kim *et al.*, 2003)。例如，豌豆 *Pisum sativum* 的 HSP18.1 在正常条件下可以形成 12 亚基的多聚体，而在高温诱导下它可以聚集 13~20 个亚基形成多聚体 (Stengel *et al.*, 2010)。

1 昆虫小分子量热激蛋白基因的鉴定与分类

目前的研究发现，小分子量热激蛋白 (sHSPs) 在各种生物体中的种类和数目各不相同，例如秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 有 16 条 sHSPs 基因 (*shsps*)、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 有 19 条、人类 (*Homo sapiens*) 有 10 条 (图 2) (Franck *et al.*, 2004；Aevermann and Waters, 2008；Li *et al.*, 2009)，至于造成这种现象的原因目前尚不十分清楚。但一般认为，不同生物体在长期的进化过程中，根据自身的需求而分化出不同类型和数量的小分子量热激蛋白 (Haslbeck *et al.*, 2008)。昆虫体内也有多种 sHSPs，每种昆虫体内所含有的种类和功能也各自不同。尽管昆虫作为地球上种类最多的动物，但有关昆虫的 sHSPs 却研究甚少。目前有关 sHSPs 的研究主要集中在几种模式昆虫中，例如通过全基因组研究发现家蚕 *Bombyx mori* 体内拥

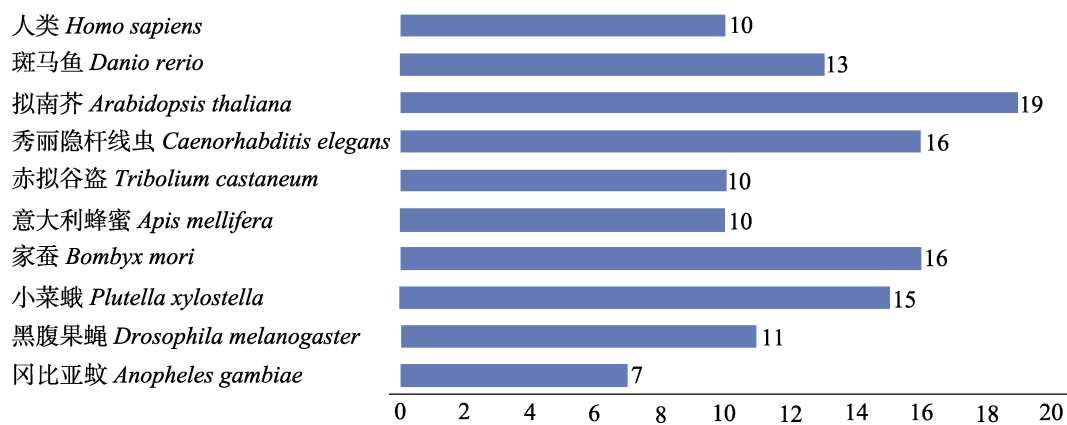


图 2 10 种代表性生物体中小分子量热激蛋白的数目
Fig. 2 The number of the small heat shock proteins of ten representative organisms

有 16 种 *shsps*, 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 有 11 种, 小菜蛾 *Plutella xylostella* 有 15 种, 冈比亚蚊 *Anopheles gambiae* 有 7 种 (Li *et al.*, 2009; 夏晓峰等, 2013)。通过转录组分析推测, 柑桔粉虱 *Dialeurodes citri* 有 18 种 *shsps* (Chen *et al.*, 2014)。Shen 等人 (2011) 在斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 体内分离克隆了 6 种 *shsps*; 在水稻二化螟 *Chilo suppressalis* 体内也获得了 5 种 *shsps* (Lu *et al.*, 2014)。此外, 研究发现, 昆虫小分子量热激蛋白可分为两大类: 一类是种特异性小分子量热激蛋白; 另一类是同源性小分子量热激蛋白 (Li *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2014)。

2 昆虫小分子量热激蛋白的主要作用

2.1 在昆虫生长发育和生殖中的调节作用

昆虫的生长发育非常复杂, 它们要经历不同的发育阶段, 同时处于不同发育阶段的昆虫在其形态上也存在着较大的差异, 尤其是完全变态昆虫。此外, 昆虫还拥有多种生殖方式, 比如两性生殖、孤雌生殖等。以黑腹果蝇为模型研究其生长发育机制时发现, *sHSPs* 发挥着重要的作用 (Michaud *et al.*, 2002; Takahashi *et al.*, 2010)。在昆虫的身体重构和变态阶段 (胚胎、幼虫、蛹) 具有更高的 *shsps* 表达水平。在发育过程中 *shsps* 的表达水平受到蜕皮激素的调节, 例如黑腹果蝇体内的 *hsp27* 和 *hsp23*, 中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 的 *hsp24.2* 和 *hsp23.0* (Amin *et al.*, 1991; Luo *et al.*, 1991; Liu *et al.*, 2014), 类似的研究结果也在斜纹夜蛾中被发现 (Shen *et al.*, 2011; Gu *et al.*, 2012)。此外, 昆虫的 *shsps* 在不同的组织和发育阶段呈现出特异性表达 (Michaud *et al.*, 1997, 2002), 例如: 黑腹果蝇的 *hsp23*、*hsp26* 和 *hsp27* 主要在神经系统和生殖腺中表达 (Glaser and Lis, 1990; Marin *et al.*, 1993); 水稻二化螟的 *hsp21.4* 和 *hsp21.7a* 在头部表达量最高 (Lu *et al.*, 2014); 大螟的 *hsp21.4* 也是在头部表达量最高 (Sun *et al.*, 2014); 而家蚕的 *hsp19.1* 和 *hsp22.6* 在头部表达量也很高 (Li

et al., 2009); 中华蜜蜂的 *hsp22.6* 在中肠表达量最高; 同时, 它的 *hsp24.2* 和 *hsp23.0* 也呈现组织差异性表达 (Liu *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014)。另外, 5 种小分子量热激蛋白基因在水稻二化螟不同发育阶段呈现出不同的表达模式, 其中 *hsp19.8*、*hsp21.4*、*hsp21.5* 和 *hsp21.7b* 在成虫期的表达量达到最高; 而 *hsp21.7a* 在一龄幼虫期表达量最高 (Lu *et al.*, 2014)。斜纹夜蛾的 *hsp19.7*, *hsp20* 和 *hsp20.7* 和苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 的 *hsp19.8* 表达也在成虫阶段达到最大值 (Garczynski *et al.*, 2011; Shen *et al.*, 2011)。相反, 斜纹夜蛾的 *hsp20.4* 和美洲斑潜蝇 *Liriomyza sativa* 的 3 个小分子量热激蛋白基因 (*hsp19.5*, *hsp20.8* 和 *hsp21.7*) 的表达量在成虫期最低 (Huang *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2011), 而铜绿蝇 *Lucilia cuprina* 的 *hsp24* 在其一龄幼虫体内的表达量最低 (Concha *et al.*, 2012)。目前的研究表明, 小菜蛾的 14 种小分子量热激蛋白基因也呈现出组织和发育阶段的特异性表达 (Chen and Zhang, 2015)。另外, 昆虫体内的小分子量热激蛋白的表达还存在性别差异, 例如小菜蛾雄成虫 *hsp23* 和 *hsp27* 的表达量显著高于雌成虫 (夏晓峰等, 2013); 水稻二化螟的 5 种小分子量热激蛋白表达水平也存在性别差异 (Lu *et al.*, 2014), 类似的现象也在蜜蜂中被发现 (Liu *et al.*, 2012)。总之, 昆虫小分子量热激蛋白具有复杂的功能, 在其生长发育和繁殖中发挥着重要作用。

2.2 在昆虫应对温度胁迫中的作用

随着全球气候变化, 自然条件下的温度将有可能变得越来越极端 (Diffenbaugh and Field, 2013), 因此温度将成为生物生存的最重要的胁迫因子之一。昆虫对温度胁迫的响应能力不仅仅影响昆虫个体的细胞结构、新成代谢、生理进程、生长和发育速率等 (Sinclair *et al.*, 2003), 还决定了昆虫种群的分布和密度 (Bale *et al.*, 2002)。昆虫的整个生长发育阶段必须采取相应措施面对这些极端的温度, 其中调节热激蛋白是一种重要的手段 (Hoffmann *et al.*, 2003; Sørensen *et al.*, 2003)。近年来的研究也表明, 小分子量热激蛋

白的表达可以提高昆虫的温度耐受性 (Sun and MacRae, 2005 ;Garczynski *et al.*, 2011 ;Liu *et al.*, 2012 ; King and MacRae, 2015)。例如: 高低温可以诱导中华蜜蜂的 *hsp24.2* 和 *hsp23.0* 表达; RNA 干扰技术沉默了中华蜜蜂的 *hsp22.6* 可以明显降低其高低温存活率 (Liu *et al.*, 2014 ; Zhang *et al.*, 2014); 高低温可以显著诱导小菜蛾的 12 种小分子量热激蛋白基因表达 (Chen and Zhang, 2015); 腰腹长体茧蜂 *Macrocentrus cingulum* 的 *hsp23.8* 和柞蚕 *Antheraea pernyi* 的 *hsp21* 经热激后可迅速上调表达 (Xu *et al.*, 2010 ; Liu *et al.*, 2013); 美洲斑潜蝇体内的 3 种小分子量热激蛋白基因 (*hsp19.5*, *hsp20.8* 和 *hsp21.7*) 可以被低温显著诱导 (Huang *et al.*, 2009); 斜纹夜蛾的 *hsp19.7* 和 *hsp20.7* 仅响应高温而不响应低温的诱导 (Shen *et al.*, 2011); 摇蚊 *Chironomus riparius* *hsp27* 也有类似的现象 (Martínez-Paz *et al.*, 2014)。水稻二化螟幼虫体内的 5 种小分子量热激蛋白对高低温有着不同的响应, 例如 *hsp21.5* 仅响应低温胁迫, 而 *hsp21.4* 和 *hsp21.7a* 对高低温都不响应; 高低温都可以诱导 *hsp19.8* 和 *hsp21.7b* 上调, 但是这两个热激蛋白对高温的响应更为强烈 (Lu *et al.*, 2014)。尽管热激蛋白在环境压力胁迫和热适应方面起到重要的作用 (Frydenberg *et al.*, 2003 ; Hoffmann *et al.*, 2003), 但是热激蛋白过多表达也会给生物体带来负面影响, 生物体在热激应答中需要付出相应的适合度后果和代价, 即生殖适应性降低, 产卵量下降, 直接影响种群后代的生存规模和质量。此外, 在热激过程中, 伴随着热激蛋白的迅速合成, 其他蛋白的合成将会受到抑制。所以, 在环境胁迫时昆虫必须巧妙“计算”出应对环境合成热激蛋白所需要付出的代价, 以便保证自身的生长发育和种群的延续 (Silbermann and Tatar, 2000)。昆虫体内进化出如此丰富的小分子量热激蛋白, 在昆虫应对温度变化过程中发挥着重要的作用。当然, 这么多小分子量热激蛋白的产生很有可能还和昆虫应对其他不利环境有关。

2.3 在昆虫滞育中的作用

滞育是某些生物生长发育过程中的一个特

殊阶段, 大体上可以分为三个过程, 即滞育的启动、维持、解除和静止期 (Košťál, 2006)。昆虫的滞育通常分为兼性滞育和专性滞育两类, 多数昆虫的滞育属于兼性滞育。谈到昆虫的滞育, 我们总是要和昆虫的耐寒性相联系。昆虫的耐寒性与滞育的关系大体上分为三种类型: 滞育与其耐寒性完全独立; 滞育与耐寒性部分独立; 耐寒性与其滞育紧密相关 (Bale and Hayward, 2010)。越来越多的研究表明: 昆虫滞育是对季节性和环境条件提前响应的基因调控的特殊发育阶段, 这是对环 境相适应的一种“休眠” (Denlinger, 2002)。在所有已研究的与滞育相关的基因中, 热激蛋白被认为是与滞育关系最为密切的基因 (Rinehart *et al.*, 2007)。例如: 肉蝇 *Sarcophaga crassipalpis* 体内的 *hsp23* 与其滞育密切相关, 即滞育起始阶段 *hsp23* 含量明显增加, 在整个滞育过程中一直维持高的含量, 滞育的终止期含量下降 (Yocum *et al.*, 1998 ; Hayward *et al.*, 2005); 红头丽蝇 *Calliphora vicina* 的 *hsp23* 和 *hsp26* 在其滞育幼虫体内含量增加 (Fremdt *et al.*, 2013); 金小蜂 *Nasonia vitripennis* 滞育幼虫体内的 *hsp23* 蛋白水平高于非滞育幼虫 (Wolschin and Gadau, 2009); 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 滞育蛹大脑中的 *hsp20.7* 蛋白水平下降, 而 *hsp21.4* 蛋白水平上升 (Chen *et al.*, 2009 ; Lu and Xu, 2010); 西非蛀茎夜蛾 *Sesamia nonagrioides* 的 *hsp19.5* 在其滞育过程中维持稳定的水平, 而在其深度滞育时 *hsp20.8* 表达量下调, 滞育终止时其表达量上调 (Gkouvtas *et al.*, 2008); 家蚕滞育卵中的 *hsp20.4* 和 *hsp20.8* 的表达水平没有变化, 而 *hsp20.8A* 的表达明显上调 (Hwang *et al.*, 2005 ; Saravanakumar *et al.*, 2008)。但一些昆虫的 *shsps* 不参与滞育调控, 例如果蝇 *Drosophila triauraria* 的 *hsp23* 和 *hsp26* 就不参加滞育调节 (Goto and Kimura, 2004)。由此可见, 同种昆虫不同的小分子量热激蛋白对其滞育的贡献不尽相同; 不同昆虫的相同小分子量热激蛋白却存在着种的特异性, 对滞育的影响也不尽相同。对于大多数昆虫来说, 滞育和耐寒能力的提高是其安全越冬的重要方式, 而小分子量热激蛋白对昆虫的滞育与

耐寒能力的提高都有着重要的贡献 (Rinehart *et al.*, 2007; Clark and Worland, 2008)。

3 结语

尽管目前有关昆虫小分子量热激蛋白的研究还相对较少,但是随着测序技术的不断发展以及测序成本的不断降低,将鉴定出越来越多的昆虫小分子量热激蛋白基因序列。这些序列的鉴定将揭示该类蛋白在昆虫中的进化过程,也为昆虫的系统进化研究提供新的视野。同时,这也将为后续研究昆虫小分子量热激蛋白的功能提供了必要的基础。值得我们注意的是,目前有关昆虫小分子量热激蛋白的研究绝大多数还仅仅局限于其基因水平,所以要进一步了解其功能,还要发展可靠的技术方法从多个水平去研究。利用 RNAi 技术分析这些小分子量热激蛋白潜在的功能;从蛋白水平上,可以通过表达与纯化这些蛋白,将纯化后的小分子量热激蛋白进行分子伴侣活性分析,还可将纯化后的小分子量热激蛋白制备抗体进行蛋白质印迹分析;利用酵母双杂交技术分析小分子量热激蛋白的互作蛋白。值得注意的是,对昆虫小分子量热激蛋白功能的研究,也必须与昆虫的生理与生长发育相联系,以了解这些蛋白在昆虫的生理和发育过程中的各自不同作用。通过某种昆虫各个小分子量热激蛋白功能的研究,也将客观地解释小分子量热激蛋白的“冗余”现象。最终,能够利用这类蛋白研究全球气候变暖背景下昆虫响应的行为机制以及控制昆虫的发生、发展和暴发。

参考文献 (References)

- Aevermann BD, Waters ER, 2008. A comparative genomic analysis of the small heat shock proteins in *Caenorhabditis elegans* and *briggsae*. *Genetica*, 133 (3): 307–319.
- Amin J, Mestrlil R, Voellmy R, 1991. Genes for *Drosophila* small heat shock proteins are regulated differently by ecdysterone. *Mol. Cell Biol.*, 11(12): 5937–5944.
- Bale JS, Hayward SAL, 2010. Insect overwintering in a changing climate. *J. Exp. Biol.*, 213(6): 980–994.
- Bale JS, Masters GJ, Hodgkinson ID, Awmack C, Bezemer TM, Brown VK, Butterfield J, Buse A, Coulson JC, Farrar J, Good JEG, Harrington R, Hartley S, Jones TH, Lindroth RL, Press MC, Symnioudis I, Watt AD, Whittaker JB, 2002. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biol.*, 8(1): 1–16.
- Chen EH, Wei DD, Shen GM, Yuan GR, Bai PP, Wang JJ, 2014. De novo characterization of the *Dialeurodes citri* transcriptome: mining genes involved in stress resistance and simple sequence repeats (SSRs) discovery. *Insect Mol. Biol.*, 23(1): 52–66.
- Chen L, Ma W, Wang X, Niu C, Lei C, 2009. Analysis of pupal head proteome and its alteration in diapausing pupae of *Helicoverpa armigera*. *J. Insect Physiol.*, 56(3): 247–252.
- Chen XE, Zhang YL, 2015. Identification of multiple small heat-shock protein genes in *Plutella xylostella* (L.) and their expression profiles in response to abiotic stresses. *Cell Stress Chaperon.*, 20(1): 23–35.
- Clark MS, Worland MR, 2008. How insects survive the cold: molecular mechanisms-a review. *J. Comp. Physiol. B*, 178(8): 917–933.
- Concha C, Edman RM, Belikoff EJ, Schiemann AH, Carey B, Scott MJ, 2012. Organization and expression of the Australian sheep blowfly (*Lucilia cuprina*) *hsp23*, *hsp24*, *hsp70* and *hsp83* genes. *Insect Mol. Biol.*, 21(2): 169–180.
- Denlinger DL, 2002. Regulation of diapause. *Annu. Rev. Entomol.*, 47: 93–122.
- Diffenbaugh NS, Field CB, 2013. Changes in ecologically critical terrestrial climate conditions. *Science*, 341(6145): 486–492.
- Franck E, Madsen O, van Rheede T, Ricard G, Huynen MA, de Jong WW, 2004. Evolutionary diversity of vertebrate small heat shock proteins. *J. Mol. Evol.*, 59(6): 792–805.
- Fremdt H, Amendt J, Zehner R, 2013. Diapause-specific gene expression in *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae)-a useful diagnostic tool for forensic entomology. *Int. J. Legal Med.*, 128(6): 1001–1011.
- Frydenberg J, Hoffmann AA, Loeschke V, 2003. DNA sequence variation and latitudinal associations in *hsp23*, *hsp26* and *hsp27* from natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Mol. Ecol.*, 12(8): 2025–2032.
- Garczynski SF, Unruh TR, Guédot C, Neven LG, 2011. Characterization of three transcripts encoding small heat shock proteins expressed in the codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Insect Sci.*, 18(5): 473–483.
- Garrido C, Paul C, Seigneux R, Kampinga HH, 2012. The small heat shock proteins family: The long forgotten chaperones. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 44(10): 1588–1592.
- Gkouvitsas T, Kontogiannatos D, Kourti A, 2008. Differential expression of two small Hsps during diapause in the corn stalk

- borer *Sesamia nonagrioides* (Lef.). *J. Insect Physiol.*, 54(12): 1503–1510.
- Glaser RL, Lis JT, 1990. Multiple, compensatory regulatory elements specify spermatocyte-specific expression of the *Drosophila melanogaster hsp26* gene. *Mol. Cell. Biol.*, 10(1): 131–137.
- Goto SG, Kimura MT, 2004. Heat-shock-responsive genes are not involved in the adult diapause of *Drosophila triauraria*. *Gene*, 326: 117–122.
- Gu J, Huang LX, Shen Y, Feng QL, 2012. Hsp70 and small Hsps are the major heat shock protein members involved in midgut metamorphosis in the common cutworm, *Spodoptera litura*. *Insect Mol. Biol.*, 21(5): 535–543.
- Haslbeck M, Franzmann T, Weinfurter D, Buchner J, 2005. Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 12(10): 842–846.
- Haslbeck M, Kastenmueller A, Buchner J, Weinkauff S, Braun N, 2008. Structural dynamics of archaeal small heat shock proteins. *J. Mol. Biol.*, 378(2): 362–374.
- Hayward SA, Pavlides SC, Tammariello SP, Rinehart JP, Denlinger DL, 2005. Temporal expression patterns of diapause-associated genes in flesh fly pupae from the onset of diapause through post-diapause quiescence. *J. Insect Physiol.*, 51(6): 631–640.
- Hoffmann AA, Sorensen JG, Loeschcke V, 2003. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: bringing together quantitative and molecular approaches. *J. Therm. Biol.*, 28(3): 175–216.
- Huang LH, Wang CZ, Kang L, 2009. Cloning and expression of five heat shock protein genes in relation to cold hardening and development in the leaf miner, *Liriomyza sativa*. *J. Insect Physiol.*, 55(3): 279–285.
- Hwang JS, Go HJ, Goo TW, Yun EY, Choi KH, Seong SI, Lee SM, Lee BH, Kim I, Chun T, Kang SW, 2005. The analysis of differentially expressed novel transcripts in diapausing and diapause-activated eggs of *Bombyx mori*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 59(4): 197–201.
- Kim R, Lai LH, Lee HH, Cheong GW, Kim KK, Wu Z, Yokota, Marqusee S, Kim SH, 2003. On the mechanism of chaperone activity of the small heat-shock protein of *Methanococcus jannaschii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 100(14): 8151–8155.
- Kim KK, Kim R, Kim S, 1998. Crystal structure of small heat-shock protein. *Nature*, 394(6693): 595–599.
- King AM, MacRae TH, 2015. Insect heat shock proteins during stress and diapause. *Annu. Rev. Entomol.*, 60: 4.1–4.17.
- Košťál V, 2006. Eco-physiological phases of insect diapause. *J. Insect Physiol.*, 52(2): 113–127.
- Li ZW, Li X, Yu QY, Xiang ZH, Kishino H, Zhang, 2009. The small heat shock protein (sHSP) genes in the silkworm, *Bombyx mori*, and comparative analysis with other insect sHSP genes. *BMC Evol. Biol.*, 9: 215.
- Liu QN, Zhu B, Dai LS, Fu WW, Lin KZ, Liu CL, 2013. Overexpression of small heat shock protein 21 protects the Chinese oak silkworm *Antheraea pernyi* against thermal stress. *J. Insect Physiol.*, 59(8): 848–854.
- Liu ZH, Yao PB, Guo XQ, Xua BH, 2014. Two small heat shock protein genes in *Apis cerana cerana*: characterization, regulation, and developmental expression. *Gene*, 545(2): 205–214.
- Liu Z, Xi D, Kang, Guo, Xu B, 2012. Molecular cloning and characterization of Hsp27.6: the first reported small heat shock protein from *Apis cerana cerana*. *Cell Stress Chaperon.*, 17(5): 539–551.
- Lu YX, Xu WH, 2010. Proteomic and phosphoproteomic analysis at diapause initiation in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *J. Proteome Res.*, 9(10): 5053–5064.
- Lu MX, Hua J, Cui YD, Du YZ, 2014. Five small heat shock protein genes from *Chilo suppressalis*: characteristics of gene, genomic organization, structural analysis, and transcription profiles. *Cell Stress Chaperon.*, 19(1): 91–104.
- Luo Y, Amin J, Voellmy R, 1991. Ecdysterone receptor is a sequence-specific transcription factor involved in the developmental regulation of heat shock genes. *Mol. Cell. Biol.*, 11(7): 3660–3675.
- Marin R, Valet JP, Tanguay RM, 1993. Hsp23 and hsp26 exhibit distinct spatial and temporal patterns of constitutive expression in *Drosophila* adults. *Dev. Genetics.*, 14(1): 69–77.
- Martínez-Paz P, Morales M, Martín R, Martínez-Guitarte JL, Morcillo G, 2014. Characterization of the small heat shock protein Hsp27 gene in *Chironomus riparius* (Diptera) and its expression profile in response to temperature changes and xenobiotic exposures. *Cell Stress Chaperon.*, 19(4): 529–540.
- Michaud S, Marin R, Tanguay RM, 1997. Regulation of heat shock gene induction and expression during *Drosophila* development. *Cell. Mol. Life Sci.*, 53(1): 104–113.
- Michaud S, Morrow G, Marchand J, Tanguay RM, 2002. *Drosophila* small heat shock proteins: cell and organelle-specific chaperones? *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, 28: 79–101.
- Rinehart JP, Li A, Yocum GD, Robich RM, Hayward SA, Denlinger DL, 2007. Up-regulation of heat shock proteins is essential for cold survival during insect diapause. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 104(27): 11130–11137.
- Saravanakumar R, Ponnuvel KM, Qadri SMH, 2008. Expression of metabolic enzyme genes and heatshock protein genes during embryonic development in diapause and non-diapause egg of

- multivoltine silkworm *Bombyx mori*. *Biologia*, 63(5): 737–744.
- Shen Y, Gu J, Huang LH, Zheng SC, Liu L, Xu WH, Feng QL, Kang L, 2011. Cloning and expression analysis of six small heat shock protein genes in the common cutworm, *Spodoptera litura*. *J. Insect Physiol.*, 57(7): 908–914.
- Silbermann R, Tatar M, 2000. Reproductive costs of heat shock protein in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 54(6): 2038–2045.
- Sinclair BJ, Vernon P, Klok CJ, Chown SL, 2003. Insects at low temperatures: an ecological perspective. *Trends Ecol. Evol.*, 18(5): 257–262.
- Sørensen JG, Kristensen TN, Loeschcke V, 2003. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. *Ecol. Lett.*, 6(11): 1025–1037.
- Stengel F, Baldwin AJ, Painter AJ, Jaya N, Basha E, Kay LE, Vierling E, Robinson CV, Benesch JLP, 2010. Quaternary dynamics and plasticity underlie small heat shock protein chaperone function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 107(5): 2007–2012.
- Sun M, Lu MX, Tang XT, Du YZ, 2014. Characterization and expression of genes encoding three small heat shock proteins in *Sesamia inferens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Int. J. Mol. Sci.*, 15(12): 23196–23211.
- Sun Y, MacRae TH, 2005. Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function. *Cell. Mol. Life Sci.*, 62(21): 2460–2476.
- Takahashi KH, Rako L, Takano-Shimizu T, Hoffmann AA, Lee SF, 2010. Effects of small Hsp genes on developmental stability and microenvironmental canalization. *BMC Evol. Biol.*, 10: 284.
- Tissi  res A, Mitchell HK, Tracy UM, 1974. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *J. Mol. Biol.*, 84(3): 389–398.
- van Montfort RLM, Basha E, Friedrich KL, Slingsby C, Vierling E, 2001. Crystal structure and assembly of a eukaryotic small heat shock protein. *Nat. Struct. Biol.*, 8(12): 1025–1030.
- Wettstein G, Bellaye PS, Micheau O, Bonniaud P, 2012. Small heat shock proteins and the cytoskeleton: An essential interplay for cell integrity? *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 44(10): 1680–1686.
- Wolschin F, Gadau J, 2009. Deciphering proteomic signatures of early diapause in *Nasonia*. *PLoS ONE*, 4(7): e6394.
- Xia XF, Lin HL, Zheng DD, Yang G, You MS, 2013. Identification and expression patterns of heat shock protein genes in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Acta Entomologica Sinica*, 56(5): 457–464. [夏晓峰, 林海兰, 郑丹丹, 杨广, 尤民生, 2013. 小菜蛾热休克蛋白基因的鉴定及其表达模式分析. 昆虫学报, 56(5): 457–464]
- Xu P, Xiao J, Liu L, Li T, Huang D, 2010. Molecular cloning and characterization of four heat shock protein genes from *Macrocentrus cingulum* (Hymenoptera: Braconidae). *Mol. Biol. Rep.*, 37(5): 2265–2272.
- Yocum GD, Joplin KH, Denlinger DL, 1998. Upregulation of a 23 kDa small heat shock protein transcript during pupal diapause in the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 28(9): 677–682.
- Zhang YY, Liu YL, Guo XL, Li YL, Gao HG, Guo XQ, 2014. sHsp22.6, an intronless small heat shock protein gene, is involved in stress defence and development in *Apis cerana cerana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 53: 1–12.