

DOI: 10.13376/j.cbils/2020021

文章编号: 1004-0374(2020)02-0155-07

## 家蚕热激蛋白的研究进展

陈鹏宇<sup>1</sup>, 李德臣<sup>2</sup>, 吴凡<sup>2\*</sup>

(1 江汉大学生命科学院, 武汉 430056; 2 湖北省农业科学院经济作物研究所, 武汉 430070)

**摘要:** 热激蛋白在家蚕的生长发育过程中发挥着重要的生物学作用。该文对国内外学者近几年在家蚕热激蛋白上的研究进展进行了综述, 分析了家蚕热激蛋白的分类, 概括了家蚕热激蛋白的基本性质, 介绍了家蚕热激蛋白在对温度的响应、家蚕抗逆、抗病与滞育中的作用及其他生物学功能等方面的研究现状, 提出了在家蚕热激蛋白研究上存在的问题, 展望了家蚕热激蛋白研究的发展趋势, 以期利用热激蛋白提高家蚕品种的抗逆性和深入研究家蚕以及其他鳞翅目昆虫热激蛋白的生物学功能提供参考。

**关键词:** 家蚕; 热激蛋白; 基因表达; 生物学功能

**中图分类号:** Q51; S881.24 **文献标志码:** A

## Research progress on the heat shock protein of *Bombyx mori*

CHEN Peng-Yu<sup>1</sup>, LI De-Chen<sup>2</sup>, WU Fan<sup>2\*</sup>

(1 College of Life Science, Jiangnan University, Wuhan 430056, China;

2 Industrial Crops Institute of Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China)

**Abstract:** Heat shock proteins (Hsps) play an important biological function in the growth and development of silkworms. In this paper, we describe the domestic and foreign research progress of silkworm Hsps in recent years, including their classifications, the basic properties, response to temperature, roles in silkworm stress and disease resistance, diapause as well as other biological functions. The problems existing in research of silkworm Hsps were put forward. The research trends of the development of silkworm Hsps were prospected. This study provides a reference for improving the stress resistance of silkworm varieties and further studying the biological functions of silkworm and other lepidopterans.

**Key words:** *Bombyx mori*; heat shock protein; gene expression; biological function

热激蛋白是一类高度保守的蛋白质, 又可称为热休克蛋白, 是在生物体遭遇高温、低温、不良环境或其他刺激时体内合成的一种应激蛋白。热激蛋白是 Ristossa 在 1962 年研究果蝇唾腺染色体时发现的, Tissières 等<sup>[1]</sup>进一步研究发现该蛋白是一组响应温度胁迫的特殊蛋白。热激蛋白广泛分布于各种生物体内, 在分子进化上相对比较保守, 具有保守的  $\alpha$  晶体结构域, 在细胞的生长、发育、分化和基因转录等方面具有重要的作用, 参与维持和调控细胞内多种蛋白质的构象和功能, 是生物体重要的应激抗逆蛋白, 在生物体受到胁迫时, 降低细胞的受损程度或者使细胞免于损伤。

学者们对热激蛋白的生物学功能进行了一系列

的研究, 证实热激蛋白主要参与到免疫系统中, 对生物体起重要的保护作用。Yang 等<sup>[2]</sup>研究发现, 在粉尘螨 (*Dermatophagoides farinae*) 中, 热激蛋白 HSP70 参与调控其对热的应激反应。Tarnawska 等<sup>[3]</sup>研究了不同镉浓度处理下甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 五龄幼虫中肠的应激蛋白的水平, 发现暴露于高浓度镉的甜菜夜蛾热激蛋白 HSP70 的表达最初高于

收稿日期: 2019-04-16; 修回日期: 2019-05-09

基金项目: 湖北省农业科技创新中心项目(2016-620-000-001-013)

\*通信作者: E-mail: wufan996@163.com, Tel: 027-87509001

对照,但在饲养12代后,与对照的表达水平没有差异,推测HSP70蛋白在对镉耐受性较低的昆虫中起保护作用。Gu等<sup>[4]</sup>研究发现热激蛋白HSP70和HSP90参与水稻害虫稻叶卷叶螟幼虫对高温选择的热适应过程。Zhang等<sup>[5]</sup>研究发现小热休克蛋白Ap-sHSP19.1在柞蚕的免疫应答和热耐受性中起着重要作用,其表达量在脂肪体中最高,在马氏管中最低。Liu等<sup>[6]</sup>研究发现sHSP21在柞蚕的先天免疫应答中起重要作用。也有学者发现热激蛋白还参与生物的生长发育,如Luan等<sup>[7]</sup>研究发现小热激蛋白参与了野蚕的丝腺发育或丝蛋白合成。

家蚕作为重要的经济昆虫,是研究鳞翅目昆虫的模式生物。家蚕是变温动物,对温度尤为敏感,最适宜的饲育温度为20~30℃,温度过高或过低均会对其生长发育造成严重的影响,加之家蚕体内没有类似哺乳动物的B细胞和T细胞,体液中也缺乏免疫球蛋白及补体等,因此家蚕在面临非生物胁迫和生物胁迫时,会采取表达热激蛋白的方式来应答这些胁迫。热激蛋白在家蚕的生长发育中起到重要的作用,本文对国内外学者近几年在家蚕热激蛋白上的研究进展进行了综述,为利用热激蛋白提高家蚕品种的抗逆性和深入研究家蚕以及其他鳞翅目昆虫热激蛋白的生物学功能提供参考。

## 1 家蚕热激蛋白的鉴定与分类

热激蛋白家族按照其相对分子质量的大小、功能和结构可分为5类:HSP60、HSP70、HSP90、HSP110和小分子量热激蛋白亚族<sup>[8-9]</sup>。小分子量热激蛋白亚族广泛存在于原核和真核生物体内,通常作为分子伴侣参与生物体的各种生理活动,其相对分子质量较小,一般为15~30 kD。

研究人员很重视编码家蚕热激蛋白的基因研究,到目前为止,已经克隆和鉴定了35个家蚕热激蛋白基因。其中大分子热激蛋白有BmHSP40、BmHSP40.3、BmHSP52、BmHSP60、BmHSP68、BmHSP70、BmHSP90等18种,小分子热激蛋白有BmHSP19.9、BmHSP20.8、BmHSP20.1、BmHSP21.4、BmHSP23.7、BmHSP25.4、BmHSP27.3、BmHSP27.4等17种<sup>[10-14]</sup>。家蚕热激蛋白家族及其功能见表1。家蚕小分子热激蛋白的主要生物学功能是在极端条件下,防止细胞被降解,特别是在高于家蚕正常的饲育温度下。有研究表明,小分子热激蛋白在家蚕的精巢组织中表达量较高,对家蚕中精巢细胞的发育有重要作用<sup>[11,15-16]</sup>。

## 2 家蚕热激蛋白的研究进展

### 2.1 家蚕热激蛋白的基本性质研究

家蚕的热激蛋白基因在所有的组织中都或多或少地表达,说明其对家蚕生长发育有重要的意义。专家们对家蚕热激蛋白基因进行了鉴定和表达分析。房守敏<sup>[17]</sup>鉴定了3个家蚕热激蛋白基因,*BmHSP90A1*、*BmHSP90B1*和*BmTrap1*,这些基因的表达序列标签分析发现*BmHSP90A1*和*BmTrap1*基因在家蚕的各发育时期和组织中均表达。*BmTrap1*在五龄家蚕幼虫的精巢中表达量非常高,推测该基因参与家蚕精巢发育和精子的发生过程。Wang等<sup>[18]</sup>研究发现家蚕的小分子热激蛋白基因*BmsHSP27.4*(GenBank登录号:AK382044)位于家蚕的第5连锁群,全长为944 bp,ORF为741 bp,编码246个氨基酸。*BmsHSP27.4*在家蚕脑部、眼睛和脂肪体中的表达量很高,而且其表达量在高温胁迫下升高。Sheng等<sup>[13]</sup>鉴定了家蚕的小分子热激蛋白基因*BmHSP25.4*,其ORF为372 bp,编码了由223个氨基酸组成的序列,预测其编码的蛋白质相对分子质量为25.4 kD,Western印迹分析结果表明该基因在家蚕五龄幼虫的血液和脂肪体中表达。孙卫忠等<sup>[19]</sup>采用克隆、表达和荧光原位杂交的方法,鉴定了家蚕小分子热激蛋白基因*BmHSP20.8*的ORF为561 bp,该基因不含有内含子序列,为单拷贝基因。Li等<sup>[20]</sup>研究发现,HSP类型的*DnaJ*基因在家蚕脂肪体中的表达较高,Western blot检测*DnaJ1*蛋白在家蚕五龄幼虫的血细胞中表达最高,其次是脂肪体和头部,而且在血细胞中,*DnaJ1*主要定位于细胞质中。热激蛋白的表达贯穿于家蚕的整个生长发育过程中,起到重要的生理作用。

### 2.2 家蚕热激蛋白对温度的响应

家蚕是变温动物,其生长发育需要在适宜的温湿度条件下,温度的变化对家蚕生长发育的影响很大。特别是在成虫母蛾的产卵过程中,如果接触超过30℃的高温,其受精过程被扰乱,所产卵多为不受精卵和死卵。在应对温度变化时,家蚕热激蛋白在其中起到非常重要的作用。金鑫等<sup>[21]</sup>检测了高温条件下,耐高温家蚕品种7532和高温较敏感的普通家蚕品种皓月中*BmsHSP27.4*基因的表达变化,发现在高温诱导下,*BmsHSP27.4*基因在脂肪体、丝腺和中肠中的表达均增加,推测该基因为高温敏感基因,参与家蚕对高温的耐受。唐芬芬等<sup>[22]</sup>对家蚕五龄幼虫进行42℃热激15 min处理,结果发

表1 已鉴定的家蚕热激蛋白家族及其功能

热激蛋白家族	成员	相对分子质量(kD)	生物学功能
HSP60	BmHSP40、BmHSP40.3、BmHSP60、 BmHSP52	40~60	参与家蚕的滞育过程和抗逆过程
HSP70	BmHSP68、BmHSP70、BmHSP70-3、 BmHSP70-5、BmHSP70-14、BmHSP70A1、 BmHSP70A2、BmHSP70B、BmHSP75	68~75	参与家蚕的变态发育过程、滞育 调节和抗逆过程
HSP90	BmHSP83、BmHSP90、BmHSP90A1、 BmHSP90B1、BmHSP97	83~97	参与家蚕的生长发育、滞育和 抗病过程
HSP110	未鉴定出	—	—
小分子 热激蛋白	BmHSP1、BmHSP10、BmHSP12.2、 BmHSP19.5、BmHSP19.8、BmHSP19.9、 BmHSP20.1、BmHSP20.4、BmHSP20.8、 BmHSP20.8A、BmHSP21.4、BmHSP22.6、 BmHSP23.7、BmHSP25.4、BmHSP27.3、 BmHSP27.4、BmHSP33	1~33	在家蚕体内组成性表达, 具有分子 伴侣活性、参与家蚕的抗逆和抗 病过程及对高温的应激反应

现小分子热激蛋白 BmHsp25.4 在家蚕五龄幼虫中肠组织中的表达量与对照相比显著升高。Xia 等<sup>[23]</sup>研究发现, 家蚕的小分子热激蛋白基因 *BmHsp19.9* 的表达量也在高温刺激下升高。Li 等<sup>[24]</sup>研究发现家蚕在高温下饲养, 其体内的热激蛋白 HSP19.9 和 HSP20.4 的表达升高, 而 HSP70 的表达下降。

Sheng 等<sup>[13]</sup>研究发现, 小分子热激蛋白 BmHSP25.4 主要分布在细胞质中, 在家蚕受到热激后, BmHSP25.4 由细胞质转移到细胞膜上, 但热激后 3 h, BmHSP25.4 又回到细胞质中。李斌等<sup>[15]</sup>研究了小分子热激蛋白基因 *BmHsp19.9* 在家蚕五龄幼虫受到热刺激后的表达变化, 发现其表达量在后部丝腺、脂肪体和精巢中显著增加, 推测该基因可保护家蚕抵御高温胁迫和外界环境刺激。Li 等<sup>[25]</sup>研究比较了热处理后, 耐热品种 932 和热敏感品种 HY 的蛋白质表达差异, 发现在热处理的早期, 热激蛋白基因 *HSP19.9*、*HSP23.7*、*HSP40-3*、*HSP90*、*HSP70* 及其结合蛋白的表达量升高, 热处理 24 h 后, 其表达量下降, 除 *HSP70* 以外, 其余热激蛋白基因在 932 品种中的转录水平高于 HY, 表明热激蛋白在家蚕耐高温胁迫中发挥重要作用。Guo 等<sup>[26]</sup>分析了不同温度下 (13 °C、25 °C、37 °C) 家蚕品种的转录组, 发现在 13 °C 和 37 °C 下, 有 8 个热激蛋白基因 (*hsp19.5*、*hsp19.9*、*hsp20.4*、*hsp23.7*、*hsp70A1*、*hsp70A2* 和 *hsp70A3*) 的表达量升高, 说明热激蛋白在家蚕抵御高温和低温胁迫中发挥重要作用。Li 等<sup>[27]</sup>研究发现家蚕雄蛹在 45 °C 热激 30 min 后, 热激蛋白基因 *HSP19.9*、*HSP20.4*、*HSP25.4* 的表达增加, 在热激处理 24 h

后达到最高。Wang 等<sup>[28]</sup>发现高温处理后, 雌蚕和雄蚕脂肪体内热激蛋白基因表达上调, 但是在雄蚕脂肪体中 *Hsp25.4* 的表达下降。

由此可见, 家蚕热激蛋白可以被高温或低温诱导表达, 参与家蚕的应激反应, 帮助家蚕适应剧烈的环境温度变化, 克服其对家蚕带来的伤害, 以保护机体免受损伤。热激蛋白基因可以作为提高家蚕品种抗性的一个候选基因, 对其基因进行过表达或者基因编辑, 从而提高家蚕品种的耐高温特性。

### 2.3 热激蛋白在家蚕抗逆、抗病性中的作用

家蚕的热激蛋白在生长发育和免疫机制中发挥重要作用, 可被一些非生物因素 (高温、恶劣环境) 和生物因素 (病毒、细菌、真菌) 诱导表达。很多研究者发现, 热激蛋白参与家蚕对抗核型多角体病毒 (BmNPV) 和质型多角体病毒 (BmCPV) 的感染过程。Wu 等<sup>[29]</sup>分析了感染 BmNPV 家蚕和正常家蚕的幼虫中肠中基因表达变化情况, 发现家蚕感染 BmNPV 后中肠中热激蛋白基因 *BmHsp23.7* 的表达量增加。Iwanaga 等<sup>[30]</sup>研究了家蚕感染 BmNPV 后, 家蚕热激同源蛋白 BmHSC70-4 的作用, 发现该蛋白在 BmNPV 感染整个过程中表达量变化不大, 但是在感染后期, 该蛋白在 BmNPV 感染细胞的细胞核中的表达量增加。Cheng 等<sup>[31]</sup>研究了家蚕感染 BmNPV 后中肠蛋白的表达变化, 发现热激蛋白 BmHSP60 参与感染后家蚕中肠细胞的凋亡过程。Hu 等<sup>[32]</sup>在 BmN 细胞感染 BmNPV 后, 采用质谱法 (MS) 鉴定了其蛋白质和胆固醇, 发现 HSP 90 作为结合蛋白参与了 BmNPV 的侵袭过程。Guo 等<sup>[33]</sup>

研究发现家蚕感染 BmNPV 后, 70-kD 家族 (HSC/HSP70) 的热激同源蛋白参与了宿主细胞中聚集体的形成过程。Kolliopoulou 等<sup>[34]</sup>研究了家蚕在感染 BmCPV 后, 其二龄和四龄幼虫中肠组织中的转录组, 发现家蚕的热激蛋白 HSP19.9、HSP20.8、HSP70、sHSP19.5、sHSP23.8 等参与家蚕对 BmCPV 的免疫反应。而 Guo 等<sup>[35]</sup>的研究结果表明热激蛋白 Bmhsp20.1 的表达量在家蚕感染 BmCPV 后下降。Li 等<sup>[36]</sup>还发现家蚕感染脓核病毒 (BmBDV) 后, 热激蛋白 HSP90 可以与病毒编码的蛋白质相结合。

热激蛋白还参与家蚕对非生物的胁迫应激过程。Zhang 等<sup>[37]</sup>用腐败菌素 A(DA) 处理家蚕 Bm12 细胞, 发现处理后的家蚕 Bm12 中, 热激蛋白基因 *BmHSP70-3*、*BmHSP75*、*BmHSP83* 和 *BmHSCP* 的表达显著升高。Gong 等<sup>[38]</sup>比较分析了 O<sub>2</sub> 或 HCl 处理后家蚕卵的转录组, 发现经 O<sub>2</sub> 和 HCl 处理后热激蛋白基因 *BmHSP70*、*BmHSP60* 和 *BmHSP83* 表达升高, 表明这些基因与胁迫耐受性有关。Chen 等<sup>[39]</sup>发现在氟化钠 (NaF) 的胁迫下, 家蚕热激蛋白的表达上调。

#### 2.4 热激蛋白在家蚕滞育中的作用

家蚕是一种滞育昆虫, 通过滞育调节生长繁殖时间, 以适应季节变化, 滞育后必须经过一段时间的滞育代谢, 才能解除滞育, 但是家蚕滞育的具体机制目前还未解析, 目前已经确定家蚕热激蛋白参与了对滞育的调控。Sirigineedi 等<sup>[40]</sup>分析了家蚕滞育诱导卵和非滞育卵中热激蛋白的表达, 发现在滞育诱导卵中, *BmHSP40* 和 *BmHSP70* 基因的表达升高, 推测这两个基因在家蚕卵滞育诱导中发挥重要作用。另外, 还有学者的研究也证实 *BmHSP70* 基因参与对家蚕卵的滞育诱导调控过程<sup>[41-44]</sup>。Fan 等<sup>[45]</sup>比较了家蚕滞育卵和非滞育卵中基因表达的变化, 证实热激蛋白基因 *BmHSP19.9*、*BmHSP20.1*、*BmHSP20.4*、*BmHSP20.8*、*BmHSP21.4*、*BmHSP23.7*、*BmHSP70*、*BmHSP90* 在滞育和非滞育卵中均有表达。Ponnuvel 等<sup>[46]</sup>的研究也发现, 热激蛋白基因 *BmHSP20.4*、*BmHSP40*、*BmHSP70* 和 *BmHSP90* 在家蚕滞育卵和非滞育卵胚胎发育的所有阶段均有不同程度的表达, 表明热激蛋白基因对家蚕胚胎的早期发育过程非常重要。

#### 2.5 家蚕热激蛋白的其他生物学功能

热激蛋白除对家蚕的免疫系统起保护作用外, 还参与家蚕的很多生命活动, 在其中扮演着重要角色。王瑞娴等<sup>[47]</sup>发现 *BmHSP19.9* 基因在中肠、脂肪体和马氏管中的转录水平在家蚕的中肠受到刺

激后增加, 推测该基因在家蚕中肠组织的应激系统中发挥重要作用。Wu 等<sup>[48]</sup>分析了 *BmHSP20.8* 在家蚕体内的亚细胞定位情况, 发现该蛋白是一种线粒体蛋白, 具有分子伴侣活性, 对线粒体的生长发育具有重要作用。Chen 等<sup>[49]</sup>采用蛋白质组学方法分析了三龄家蚕体内的蛋白质表达变化, 发现 *BmHSP70* 的表达与家蚕体内 1-脱氧野尻霉素 (DNJ) 的积累呈负相关, 但相关性较弱。Zhang 等<sup>[50]</sup>分析了家蚕蛾睾丸的蛋白质组成, 发现其中有 32 个热激蛋白构成睾丸中最丰富的蛋白质组, 表明热激蛋白对家蚕生殖细胞的存活、发育和分化至关重要。Luan 等<sup>[7]</sup>对多个不同产丝家蚕个体进行了转录组比较分析, 发现编码小热激蛋白的基因 *BGIBMGA005780* 与茧层量显著相关, 该蛋白在家蚕丝腺发育和丝蛋白的合成中起重要作用。Ohsawa 等<sup>[51]</sup>鉴定了家蚕热休克同源 70 互作蛋白, 发现其在家蚕的性腺和脂肪体中表达量较高, 与 *BmHSC70* 相互作用, 具有 E3 连接酶活性。Tian 等<sup>[52]</sup>研究了二氧化钛纳米粒子处理后家蚕脂肪体的基因表达变化, 发现有 7 个热激蛋白基因 (*hsp68*、*hsp70*、*hsp1*、*hsp16.1/hsp16.11*、*hsp90*、*hsp20.8* 和 *hsp20.4*) 的表达水平增加, 其中 *hsp68*、*hsp70*、*hsp90* 的上调表达与蛋白质代谢增强呈正相关。Liu 等<sup>[53]</sup>比较了在家蚕单性生殖热诱导和双性生殖系中卵母细胞的基因表达差异, 发现热激蛋白 HSP68 在两种处理中存在表达差异。

热激蛋白在家蚕的生长发育中发挥重要的生物学作用, 参与家蚕的抗逆性、滞育、胚胎发育、生殖器官的形成、应激反应等重要的生命活动, 在提高家蚕对高温、细菌感染的抵抗力方面起到重要作用, 可以稳定细胞结构和维持细胞正常功能, 但是具体的作用机制还有待于进一步研究。

### 3 问题与展望

热激蛋白参与昆虫多种重要的生物学功能, 包括维持蛋白质活性、确保蛋白质正确折叠、降解、易位和组装、参与热激免疫反应和作为分子伴侣等功能, 在昆虫的抗逆性和对环境的适应性等方面起到重要的作用。Zhang 等<sup>[54]</sup>研究发现柞蚕小热激蛋白 Ap-sHSP25.4 参与柞蚕对抗 NPV 的感染, 可以提高柞蚕的免疫力。Zhang 等<sup>[55]</sup>研究证实小热激蛋白 Ap-sHSP20.8 在柞蚕的免疫应答中发挥重要作用。Si 等<sup>[56]</sup>鉴定了中华按蚊 (*Anopheles sinensis*) 的 72 个 HSP 基因, 发现在拟除虫菊酯的胁迫下, 热激蛋白 AsHSP90AB、AsHSP70-2 和 AsHSP21.7 的表

达均显著升高, 推断 HSP90、sHSP 和 HSP70 家族参与中华按蚊对拟除虫菊酯的胁迫反应。Reitmayer 等<sup>[57]</sup>发现蜜蜂暴露于柴油废气中 3.5 h, 热激蛋白 HSP70 的表达量与暴露时间呈显著正相关。还有研究证实, 小分子量热激蛋白在果蝇的生长发育过程中发挥积极作用, 参与神经系统、生殖系统和肌肉的发育<sup>[58]</sup>。由此可见, 热激蛋白对昆虫的生长发育起到至关重要的作用。

热激蛋白参与家蚕的许多生理生化过程, 无论家蚕处于正常状态还是抗逆状态, 热激蛋白都在家蚕重要而复杂的生物学过程中起到不可或缺的作用。到目前为止, 研究人员已经对家蚕热激蛋白进行了比较系统的研究, 但是对其研究主要集中在高温胁迫、耐热性和抗逆性等方面, 而对家蚕热激蛋白其他的生物学功能知之甚少。业内专家对家蚕小分子量热激蛋白的研究比较集中和系统, 但是对于家蚕小分子量热激蛋白在机体中发挥作用的具体分子机制还不是很清楚, 而且小分子量热激蛋白在家蚕中是否还存在其他的生物学功能和作用机制也未知。加之, 家蚕体内热激蛋白的具体种类以及每种热激蛋白在家蚕生命活动中所起的具体作用和分子机制等等还未知, 有待于我们进一步研究和探索。相信随着研究的不断深入, 家蚕热激蛋白的功能会逐渐地被发现和揭示, 这将为进一步利用其功能提高家蚕品种的抗性和丝质提供基础和理论参考, 同时也为农林鳞翅目害虫的防治提供新的分子生物学技术和参考价值。

### [参 考 文 献]

- [1] Tissières A, Mitchell HK, Tracy UM. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *J Mol Biol*, 1974, 84: 389-98
- [2] Yang R, Niu D, Zhao Y, et al. Function of heat shock protein 70 in the thermal stress response of *Dermatophagoides farinae* and establishment of an RNA interference method. *Gene*, 2019, 705: 82-9
- [3] Tamawska M, Kafel A, Augustyniak M, et al. Microevolution or wide tolerance? Level of stress proteins in the beet armyworm *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) exposed to cadmium for over 150 generations. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 178: 1-8
- [4] Gu LL, Li MZ, Wang GR, et al. Multigenerational heat acclimation increases thermal tolerance and expression levels of Hsp70 and Hsp90 in the rice leaf folder larvae. *J Therm Biol*, 2019, 81: 103-9
- [5] Zhang J, Li Q, Sun Y, et al. Molecular cloning and functional analysis of small heat shock protein 19.1 gene from the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. *Arch Insect Biochem Physiol*, 2018, 99: e21516
- [6] Liu QN, Liu Y, Xin ZZ, et al. A small heat shock protein 21 (sHSP21) mediates immune responses in Chinese oak silkworm *Antheraea pernyi*. *Inter J Biol Macromol*, 2018, 111: 1027-31
- [7] Luan Y, Zuo W, Li C, et al. Identification of genes that control silk yield by RNA sequencing analysis of silkworm (*Bombyx mori*) strains of variable silk yield. *Inter J Mol Sci*, 2018, 19: E3718
- [8] Kim KK, Kim R, Kim SH. Crystal structure of a small heat-shock protein. *Nature*, 1998, 394: 595-9
- [9] Hoffmann AA, Sørensen JG, Loeschcke V. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: bringing together quantitative and molecular approaches. *J Therm Biol*, 2003, 28: 175-216
- [10] Sakano D, Li B, Xia Q, et al. Genes encoding small heat shock proteins of the silkworm, *Bombyx mori*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, 70: 2443-50
- [11] Li ZW, Li X, Yu QY, et al. The small heat shock protein (sHSP) genes in the silkworm, *Bombyx mori*, and comparative analysis with other insect sHSP genes. *BMC Evol Biol*, 2009, 9: 215
- [12] Sosalegowda AH, Kundapur RR, Boregowda MH. Molecular characterization of heat shock proteins 90 (HSP83?) and 70 in tropical strains of *Bombyx mori*. *Proteomics*, 2010, 10: 2734-45
- [13] Sheng Q, Xia J, Nie Z, et al. Cloning, expression, and cell localization of a novel small heat shock protein gene: BmHSP25.4. *Appl Biochem Biotechnol*, 2010, 162: 1297-305
- [14] 罗素娟, 杨慧鹏, 李轶女, 等. 家蚕小热激蛋白家族成员 Hsp23.7 基因的克隆与分析. *昆虫知识*, 2010, (3): 467-71
- [15] 李斌, 夏庆友, 藤井博, 等. 低分子量热激蛋白 Bmhsp19.9 基因的表达. *农业生物技术学报*, 2005, 13: 195-201
- [16] 聂红毅, 钟晓武, 衣启营, 等. 家蚕精巢中小热激蛋白在不同发育时期的蛋白质组学分析. *中国农业科学*, 2011, 44: 1923-30
- [17] 房守敏. 家蚕热激蛋白 HSP90 的鉴定、进化与表达模式. *蚕学通讯*, 2015, 35: 7-13
- [18] Wang H, Fang Y, Bao Z, et al. Identification of a *Bombyx mori* gene encoding small heat shock protein BmHsp27.4 expressed in response to high-temperature stress. *Gene*, 2014, 538: 56-62
- [19] 孙卫忠, 李斌, 王彦文, 等. 家蚕 HSP20.8 基因体外表达及荧光原位杂交研究. *蚕业科学*, 2007, 33: 14-9
- [20] Li Y, Bu C, Li T, et al. Cloning and analysis of DnaJ family members in the silkworm, *Bombyx mori*. *Gene*, 2016, 576: 88-98
- [21] 金鑫, 鲍忠赞, 王华, 等. 高温 (34°C) 条件下家蚕热激蛋白基因 BmsHSP27.4 的表达变化. *蚕业科学*, 2014, 40: 620-6
- [22] 唐芬芬, 郑亚强, 白兴荣, 等. 短时热激后家蚕对核型多角体病毒的抗性及相关抗菌肽和热激蛋白基因表达水平的变化. *昆虫学报*, 2017, 60: 505-12
- [23] Xia Q, Cheng D, Duan J, et al. Microarray-based gene expression profiles in multiple tissues of the domesticated silkworm, *Bombyx mori*. *Genome Biol*, 2007, 8: R162

- [24] Li J, Moghaddam SHH, Du X, et al. Comparative analysis on the expression of inducible HSPs in the silkworm, *Bombyx mori*. Mol Biol Rep, 2012, 39: 3915-23
- [25] Li QR, Xiao Y, Wu FQ, et al. Analysis of midgut gene expression profiles from different silkworm varieties after exposure to high temperature. Gene, 2014, 549: 85-96
- [26] Guo H, Huang C, Jiang L, et al. Transcriptome analysis of the response of silkworm to drastic changes in ambient temperature. Appl Microbiol Biotechnol, 2018, 102: 10161-70
- [27] Li J, Wei G, Wang L, et al. KPNA3-knockdown eliminates the second heat shock protein peak associated with the heat shock response of male silkworm pupae (*Bombyx mori*) by reducing heat shock factor transport into the nucleus. Gene, 2016, 575: 452-7
- [28] Wang H, Fang Y, Wang L, et al. Transcriptome analysis of the *Bombyx mori* fat body after constant high temperature treatment shows differences between the sexes. Mol Biol Rep, 2014, 41: 6039-49
- [29] Wu P, Wang X, Qin GX, et al. Microarray analysis of the gene expression profile in the midgut of silkworm infected with cytoplasmic polyhedrosis virus. Mol Biol Rep, 2011, 38: 333-41
- [30] Iwanaga M, Shibano Y, Ohsawa T, et al. Involvement of HSC70-4 and other inducible HSPs in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection. Virus Res, 2014, 179: 113-8
- [31] Cheng Y, Wang XY, Hu H, et al. A hypothetical model of crossing *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus through its host midgut physical barrier. PLoS One, 2014, 9: e115032
- [32] Hu X, Zhu M, Liang Z, et al. Proteomic analysis of BmN cell lipid rafts reveals roles in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection. Mol Genet Genomics, 2017, 292: 465-74
- [33] Guo ZJ, Tao LX, Dong XY, et al. Characterization of aggregate/aggresome structures formed by polyhedrin of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. Sci Rep, 2015, 5: 14601
- [34] Koliopoulou A, Van Nieuwerburgh F, Stravopodis DJ, et al. Transcriptome analysis of *Bombyx mori* larval midgut during persistent and pathogenic cytoplasmic polyhedrosis virus infection. PLoS One, 2015, 10: e0121447
- [35] Guo R, Wang S, Xue R, et al. The gene expression profile of resistant and susceptible *Bombyx mori* strains reveals cypovirus-associated variations in host gene transcript levels. Appl Microbiol Biotechnol, 2015, 99: 5175-87
- [36] Li G, Zhou Q, Hu Z, et al. Determination of the proteins encoded by BmBDV VD1-ORF4 and their interacting proteins in BmBDV-infected midguts. Curr Microbiol, 2015, 70: 623-9
- [37] Zhang H, Hu W, Xiao M, et al. Destruxin A induces and binds HSPs in *Bombyx mori* Bm12 cells. J Agr Food Chem, 2017, 65: 9849-53
- [38] Gong J, Tian S, Zhou X, et al. Transcriptional response of silkworm (*Bombyx mori*) eggs to O<sub>2</sub> or HCl treatment. Inter J Mol Sci, 2016, 17: 1838
- [39] Chen L, Chen H, Yao C, et al. The toxicity of NaF on BmN cells and a comparative proteomics approach to identify protein expression changes in cells under NaF-stress: impact of NaF on BmN cells. J Hazard Materials, 2015, 286: 624-31
- [40] Sirigineedi S, Vijayagowri E, Murthy GN, et al. Molecular characterization of DnaJ 5 homologs in silkworm *Bombyx mori* and its expression during egg diapause. Insect Sci, 2014, 21: 677-86
- [41] Sasibhushan S, Ponnuvel KM, Vijayaprakash NB. Diapause specific gene expression in the eggs of multivoltine silkworm *Bombyx mori*, identified by suppressive subtractive hybridization. Compar Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2012, 161: 371-9
- [42] Kihara F, Itoh K, Iwasaka M, et al. Glycerol kinase activity and glycerol kinase-3 gene are up-regulated by acclimation to 5 °C in diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. Insect Biochem Mol Biol, 2009, 39: 763-9
- [43] Kihara F, Niimi T, Yamashita O, et al. Heat shock factor binds to heat shock elements upstream of *heat shock protein 70a* and *Samui* genes to confer transcriptional activity in *Bombyx mori* diapause eggs exposed to 5 °C. Insect Biochem Mol Biol, 2011, 41: 843-51
- [44] Moribe Y, Oka K, Niimi T, et al. Expression of heat shock protein 70a mRNA in *Bombyx mori* diapause eggs. J Insect Physiol, 2010, 56: 1246-52
- [45] Fan L, Lin J, Zhong Y, et al. Shotgun proteomic analysis on the diapause and non-diapause eggs of domesticated silkworm *Bombyx mori*. PLoS One, 2013, 8: e60386
- [46] Ponnuvel KM, Murthy GN, Awasthi AK, et al. Differential gene expression during early embryonic development in diapause and non-diapause eggs of multivoltine silkworm *Bombyx mori*. Indian J Exp Biol, 2010, 48: 1143-51
- [47] 王瑞娟, 高瑞娜, 张婷, 等. 外源物质诱导家蚕小分子热激蛋白基因 HSP19.9的组织表达活性分析. 农业科学, 2010, 36: 780-4
- [48] Wu C, Wang C, Li D, et al. BmHSP20.8 is localized in the mitochondria and has a molecular chaperone function *in vitro*. J Insect Sci, 2015, 15: 99
- [49] Chen H, Liu Y, Wang W, et al. Proteomic-based approach to the proteins involved in 1-deoxynojirimycin accumulation in silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). J Insect Sci, 2018, 18: 42
- [50] Zhang Y, Dong Z, Gu P, et al. Proteomics analysis of adult testis from *Bombyx mori*. Proteomics, 2014, 14: 2345-9
- [51] Ohsawa T, Fujimoto S, Tsunakawa A, et al. Cloning and characterization of carboxyl terminus of heat shock cognate 70-interacting protein gene from the silkworm, *Bombyx mori*. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2016, 201: 29-36
- [52] Tian J, Hu J, Li F, et al. Effects of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on nutrition metabolism in silkworm fat body. Biol Open, 2016, 5: 764-9
- [53] Liu P, Wang Y, Du X, et al. Transcriptome analysis of thermal parthenogenesis of the domesticated silkworm. PLoS One, 2015, 10: e0135215
- [54] Zhang C, Zhu B, Shang Dai L, et al. Nucleopolyhedroviruses (NPV) induce the expression of small heat shock protein 25.4 in *Antheraea pernyi*. Gene, 2016, 591:

- 327-32
- [55] Zhang CF, Dai LS, Wang L, et al. Eicosanoids mediate sHSP 20.8 gene response to biotic stress in larvae of the Chinese oak silkworm *Antheraea pernyi*. *Gene*, 2015, 562: 32-9
- [56] Si FL, Qiao L, He QY, et al. HSP superfamily of genes in the malaria vector *Anopheles sinensis*: diversity, phylogenetics and association with pyrethroid resistance. *Malaria J*, 2019, 18: 132
- [57] Reitmayer CM, Ryalls JM, Farthing E, et al. Acute exposure to diesel exhaust induces central nervous system stress and altered learning and memory in honey bees. *Sci Rep*, 2019, 9: 5793
- [58] Jagla T, Dubińska-Magiera M, Poovathumkadavil P, et al. Developmental expression and functions of the small heat shock proteins in *Drosophila*. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3441