

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2023.02.003

热激蛋白在昆虫生殖中的功能及作用机制

张旺和¹, 徐进^{1,2*}, 李伟^{3*}, 叶辉⁴
¹西南林业大学云南生物多样性研究院, 云南昆明 650224; ²西南林业大学西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 云南昆明 650224; ³西南林业大学生态环境实验室, 云南昆明 650224;
⁴云南大学生态与环境学院, 云南昆明 650091

摘要: 热激蛋白(Hsp)在生殖过程中有着至关重要的作用。近年来,Hsp在昆虫生殖相关功能与机制研究方面取得了重要进展。基于此,本文主要就Hsp在昆虫精子发生和精子保护、卵成熟和卵子保护、生殖应答以及衰老进化机制等方面的研究进展进行了综述,旨在为进一步深入研究Hsp与昆虫生殖的关系提供参考,并为害虫防治和益虫利用提供新思路。

关键词: 昆虫生殖; 热激蛋白; 配子保护; 生殖应答; 衰老进化



开放科学标识码
(OSID 码)

Function and mechanism of heat shock proteins in insect reproduction

ZHANG Wanghe¹, XU Jin^{1,2*}, LI Wei^{3*}, YE Hui⁴
¹Yunnan Academy of Biodiversity, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China; ²Key Laboratory of Ministry of Education for Forest Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of China, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China; ³Ecology and Environment Laboratory, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China; ⁴School of Ecology and Environment, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China

Abstract: Heat shock proteins (Hsp) play crucial roles in reproductive processes. In recent years, substantial progress has been made in research on Hsp-related functions and mechanisms in insect reproduction. This paper reviews the progress in research of Hsp on insect spermatogenesis and sperm protection, egg maturation and egg protection, reproductive response, and aging evolution mechanisms. This review aims to provide a reference for future in-depth study of the relationship between Hsp and insect reproduction and to provide new ideas for pest control and beneficial insect utilization.

Key words: insect reproduction; heat shock protein; gamete protection; reproductive response; aging evolution

热激蛋白(heat shock proteins, Hsp)又称热休克蛋白,广泛存在于生物界并在几乎所有活细胞内起到重要作用。自1962年被发现以来,随着研究的积累,Hsp在生命科学领域已占有重要地位,处于当前新兴分子生物学前沿(Hochberg *et al.*, 2018; Son *et al.*, 2019; Wei *et al.*, 2021)。目前,该领域的研究已深入到遗传、进化和环境适应等宏观和微观世界的探索中,并在医学、农业和害虫防控等领域得到应用。

Hsp具有广泛的生物学功能,大量研究表明,Hsp与哺乳动物的生殖有着密切的关系。作为一种应激蛋白,Hsp提高了细胞对外界环境的适应能

力,在哺乳动物生殖细胞发生和胚胎早期发育中起着十分重要的作用。

前人就有关温度诱导热激蛋白的表达以及温度对昆虫生殖行为的影响进行了深入研究(蒋丰泽等, 2015),并且随着分子生物学技术的不断发展,有关Hsp对昆虫生殖的影响研究也在不断深入。基于此,本文结合目前热激蛋白对昆虫生殖方面影响的研究,总结Hsp在昆虫生殖系统、精子保护和卵子保护、生殖应答以及衰老进化机制方面的功能及作用机制,以期为探明热激蛋白对昆虫生殖的影响提供理论依据,并为害虫的绿色防治和益虫的有效利用提供新的思路。

1 Hsp 在昆虫中的研究进展

最初,Hsp 被认为是生物体遭受热激时,新合成或含量增加的一类蛋白质。后来研究表明,Hsp 不仅能被高温所诱导,还能被低温、高盐、pH、紫外线、饥饿等许多因素所诱导,因此也被称为胁迫蛋白。Hsp

的表达和调控系统是有机体对多种内外环境胁迫产生应激反应达到自我保护的物质基础。根据其分子量的不同,将 Hsp 分为 Hsp90、Hsp70、Hsp60 和小分子 Hsp (sHsp)等 4 个家族,各家族 Hsp 主要成员、分布位置及其在昆虫中的研究进展见表 1。

表 1 主要 Hsp 的分布及其在昆虫中的功能
Table 1 Distribution of major Hsp and their functions in insects

家族名称 Family name	主要成员 Key members	分布范围 Distribution range	在昆虫中的功能 Functions in insects
Hsp90	Hsp90α、Hsp90β、Grp94	胞浆、内质网 Cytoplasm, endoplasmic reticulum	参与昆虫生长发育;影响昆虫滞育现象;影响昆虫抗药性 Participates in the growth and development of insects; affects the phenomenon of diapause in insects; affects insect resistance
Hsp70	Hsp70、HSC70、GRP75、GRP78	细胞质、线粒体、内质网 Cytoplasm, mitochondria, endoplasmic reticulum	影响昆虫滞育现象;参与昆虫耐热反应;对昆虫抗衰老有影响 Affects the phenomenon of diapause in insects; participates in insect heat tolerance reactions; impacts on the anti-aging of insects
Hsp60	Cpn60、CCT	线粒体、细胞质 Mitochondria, cytoplasm	受保幼激素的调节,影响昆虫生殖 Regulates the baby hormone, affects insect reproduction
sHsp	Hsp17.6、Hsp17.9、Hsp21、Hsp22、Hsp23、Hsp22.2	细胞质、内质网、线粒体、质膜 Cytoplasm, endoplasmic reticulum, mitochondria, Plasma membrane	影响昆虫滞育现象;对昆虫生殖和生长发育具有调节作用;提高昆虫对温度的耐受性 Affects the phenomenon of diapause in insects; has a regulatory effect on insect reproduction and growth and development; improves the tolerance of insects to temperature

Hsp90 (82~96 ku)家族基因序列高度保守,真菌、植物、脊椎动物以及昆虫等不同种属 Hsp90 的同源性在 61%~79% (张珂等,2014)。Hsp90 家族成员在生殖方面具有功能多效性(Chen & Wagner, 2012; Okada *et al.*, 2014a),在精子和卵子发生、胚胎形成、生殖力及生殖-生存权衡方面均具有重要

意义(图 1)。
根据诱导情况,Hsp70 (66~78 ku)家族分为组成型 Hsc70 (heat shock cognate protein 70)和诱导型 Hsp70。研究表明,Hsp70 在昆虫精子保护和卵子保护方面具有重要作用(房守敏,2015; Wang *et al.*, 2020)。

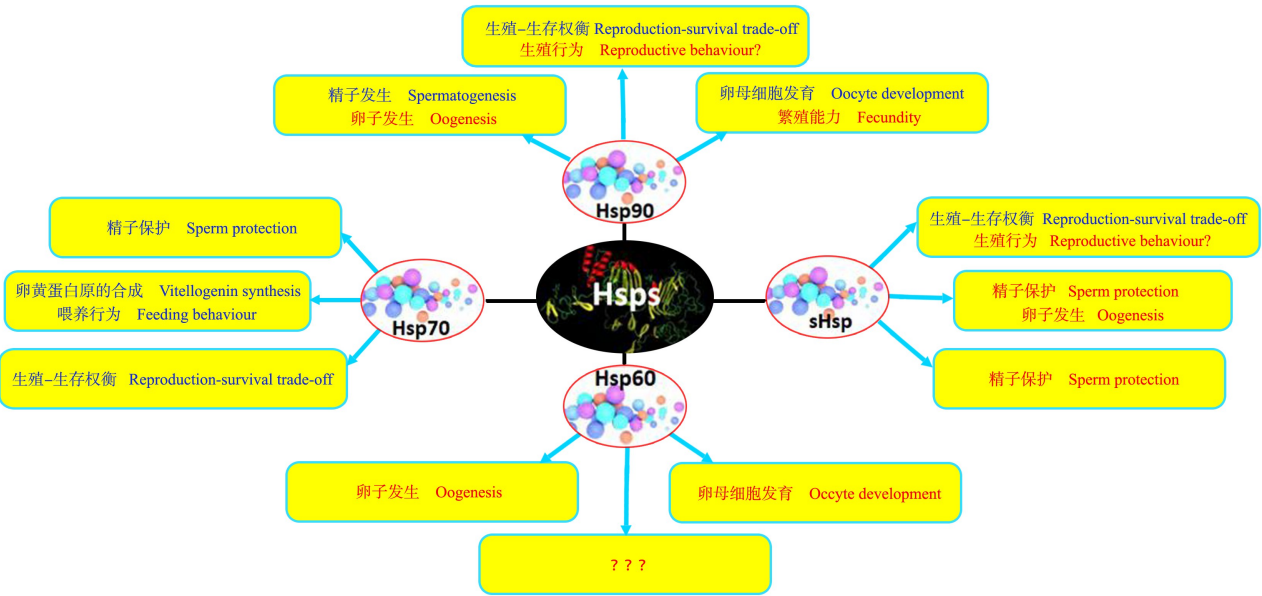


图 1 热激蛋白 (Hsp) 在昆虫生殖过程中可能承担的功能预测
Fig.1 Functional prediction of heat shock proteins (Hsps) during insect reproduction
蓝字部分为昆虫中已有例证的功能,红字部分为可能存在但有待验证和探明的功能。
The functions in the blue part have been confirmed in insects, and the functions in the red part need to be verified.

Hsp60 家族存在于线粒体和细胞质中,目前有关 Hsp60 的相关研究报道较少,这可能与其抗逆能力较差,作用时间较为迟缓有关。但已有研究发现,该家族成员存在于昆虫卵巢中并受到保幼激素的调节(Lago *et al.*, 2016a; Peng *et al.*, 2017),预示 Hsp60 与昆虫生殖也存在密切关系。

sHsp (12~43 ku) 家族是一类数量多,相对保守的蛋白家族。1974 年, sHsp 首次在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* Meigen 中被发现,经过不断深入研究发现, sHsp 与生物体的很多生理特性有联系,如维持细胞蛋白稳定、维护细胞膜的完整性和稳定性、保护信使 RNA 以及维持生物体的正常生长发育和繁殖等。sHsp 在雌雄生殖系统不同组织中特异性表达,与生殖系统特别是生殖系统的发育过程紧密相连,因此推测其在生殖过程中同样承担了重要功能(Jagla *et al.*, 2018)。

Hsp 的表达受热激转录因子(heat shock transcription factor, HSF)的直接调节。在昆虫等低等无脊椎动物种, HSF 成员较少,例如在黑腹果蝇和线虫 *Caenorhabditis elegans* 中,都只有 HSF1(郑井元等, 2008; Kihara *et al.*, 2011)。但是由于存在可变剪辑,昆虫 HSF 可通过产生多个剪辑异构体在热激转录中行使多样的调节功能(郑井元等, 2008; Kihara *et al.*, 2011)。此外,昆虫中也发现了一些协同分子伴侣,例如黑腹果蝇的 Starvin、家蚕 *Bombyx mori* Linnaeus 的 Samui 以及蓟马 *Thrips vulgatissimus* Haliday 的 Fohop,也在 Hsp 的表达过程中起到了重要的调节作用(King & MacRae, 2015b)。生殖过程中 Hsp 的表达调节机制以及与这些调节因子间的关系等方面的研究极少,有待深入。

2 Hsp 在昆虫生殖过程中的功能

Hsp 在人类及其他哺乳动物的生殖过程中起着至关重要的作用,其涉及的过程包括配子发生和成熟、配子保护和应激、生殖行为、精子-卵识别、受精、胚胎发育和分娩等(Swelum *et al.*, 2017; Widlak & Vydra, 2017; Yang *et al.*, 2019)。Hsp 相关研究成果已在人工受精等辅助生殖技术以及生殖相关疾病诊疗中得到了应用(Swelum *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2019)。在哺乳动物之外的其他物种中,虽然相关研究甚少,但从目前已有研究可以预测: Hsp 在昆虫的生殖过程中同样有着举足轻重的作用。

2.1 Hsp 在雌雄两性生殖系统间的差异表达

诱导型 Hsp 的积累决定着真核细胞的抗逆性,且 Hsp 在生物体内的积累量与抗逆性呈正相关(库尔班·吐松等, 2016)。Hsp 诱导的抗逆性与其分子伴侣作用有关(余昊和万方浩, 2009)。在高温或其他逆境胁迫下,蛋白质的空间构象会发生改变,尤其是处于折叠状态的蛋白质更易受到损伤,但是在分子伴侣的作用下,热敏蛋白的损害会相对减少,从而使生物获得抗逆性。

研究表明, Hsp 在昆虫不同性别的生殖系统间存在差异表达(表 2)。如:家蚕 5 龄幼虫在 34 °C 高温处理后,其中肠和脂肪体中 BmsHsp27.4 在雄蚕体内表达量远高于雌蚕(金鑫等, 2014);小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 雄成虫 Hsp23 和 Hsp27 的表达量显著高于雌成虫(夏晓峰等, 2013);灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (Fallén) 体内 LsHsp90 表达存在性别差异(张青等, 2014);水稻二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 的 5 种 sHsp 表达水平也存在性别差异(Lu *et al.*, 2014a)。Hsp 在同种昆虫不同性别间的差异表达可能会导致其抵御逆境胁迫能力的差异,从而对其生长发育、生殖和寿命产生影响(金鑫等, 2014; 张青等, 2014),但是还需进一步论证。

2.2 Hsp 与精子发生和精子保护

精子的发生过程分为 3 个重要阶段:精原细胞的有丝分裂、精母细胞的减数分裂和圆形精子的发育及精子成熟期(苑金香等, 2006)。大量的转录和分化事件在不同发育阶段都会发生,因此伴随着不同的 Hsp 的表达, Hsp 对精子发生起着重要的调节作用。例如 Hsp70 是精子抗原的一种,在精-卵结合和受精过程中发挥重要作用(McNatty *et al.*, 2005); Hsp90B1 参与了第一次有丝分裂(Palep-Singh *et al.*, 2007)。研究发现,对大鼠 *Rattus norvegicus* (Bekenhout) 睾丸进行局部热激处理后, Hsp70 和 Hsp105 mRNA 的表达量上调, Hsp90 mRNA 表达量下调,由此推测 Hsp 对大鼠睾丸的生精细胞的凋亡具有一定的调控作用(李悦等, 2016)。此外, HSF 与精子发生也具有相关性,目前与精子发生相关的 HSF 家族成员主要有 HSF1 和 HSF2(秦小伟等, 2012)。

表 2 Hsp 在昆虫生殖过程中的作用及机制
Table 2 The function and mechanism of Hsp in insect reproduction

功能类别 Feature category	昆虫种类 Insect species	主要影响基因 Mainly affects genes	作用机制 Mechanism of action
基因特异性及差异表达 Gene specificity and differential expression	家蚕 <i>Bombyx mori</i>	<i>BmsHsp27.4</i>	Hsp 在昆虫生殖系统的表达存在物种特异性及性别差异性, 预示 Hsp 不同成员在生殖方面的功能和作用机制有所不同 There are species-specific and sex differences in the expression of HSP in the insect reproductive system, which indicates that the function and mechanism of action of different members of Hsp in reproduction are different
	小菜蛾 <i>Plutella xylostella</i>	<i>Hsp23</i> 、 <i>Hsp27</i>	
	灰飞虱 <i>Laodelphax striatellus</i>	<i>LsHsp90</i>	
	水稻二化螟 <i>Chilo suppressalis</i>	<i>sHsps</i>	
精子发生 Spermatogenesis	家蚕 <i>Bombyx mori</i>	<i>Bmhsp19.9</i>	精子发生过程伴随着大量转录和分化事件的发生, Hsp 通过调控其表达量从而对精巢以及生精细胞等进行保护 The spermatogenesis process is accompanied by a large number of transcription and differentiation events, and HSP regulates its expression to protect sperm nests and spermatogenic cells
	小菜蛾 <i>Plutella xylostella</i>	<i>Hsp23</i> 、 <i>Hsp27</i>	
精子保护 Sperm protection	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Hsp70</i>	
	家蚕 <i>Bombyx mori</i>	<i>sHsps</i> 、 <i>HspsBmTrap1</i>	
卵成熟 The eggs mature	赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	<i>Hsp83</i>	
	楚雄腮扁叶蜂 <i>Cephalcia chuxiongica</i>	<i>Hsp90</i>	
卵子保护 Egg protection	赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	<i>Hsp83</i>	子宫内膜中的白细胞可以产生高水平的氧自由基(ROS)和细胞因子, 这两种产物可以调节 Hsp 的表达, 从而保护子宫内膜免受损害 White blood cells in the endometrium produce high levels of oxygen radicals (ROS) and cytokines, two products that regulate the expression of Hsp, thus protecting the endometrium from damage
	豌豆蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i>	<i>Hsp83</i>	
	茧蜂 <i>Apanteles schoenobii</i>	<i>Hsp83</i>	
	根结线虫 <i>Meloidogyne</i>	<i>Hsp90</i>	
	镰形扇头蜱 <i>Rhipicephalus haemaphysaloides</i>	<i>Hsp70</i>	
生殖应答基因 Reproductive response genes	黄脸油葫芦 <i>Teleogryllusemma</i>	<i>TeHsc70</i> 、 <i>TeHsp90</i>	Hsp 可参与 20E 信号通路, 调节 JH 与 20E 的平衡, 从而影响卵子成熟、前卵母细胞的发育、卵黄生成和绒毛膜形成 Hsp can participate in the 20E signaling pathway and regulate the balance between JH and 20E, thereby affecting egg maturation, pre-oocyte development, yolk production and choriogenesis
	棉铃虫 <i>Helicoverpa armigera</i>	<i>Hsp90</i> 、 <i>HSC70</i>	
	拟黑多刺蚁 <i>Polyrhachis vicina</i>	<i>Hsp90</i>	
衰老进化 Aging evolves	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Hsp70</i> 、 <i>Hsp26</i> 、 <i>Hsp27</i>	通过过度表达 HSF 或者通过热量限制和伴随的胰岛素信号激活所有应激诱导的 Hsps, 可以延缓因蛋白质折叠引发的疾病, 延长细胞寿命 By overexpressing HSF or activating all stress-induced Hsps through calorie restriction and concomitant insulin signaling, diseases caused by protein folding can be delayed and cell lifespan prolonged
	茧蜂 <i>Apanteles schoenobii</i>	<i>Hsp83</i>	

昆虫在遭受逆境胁迫时,其体内 Hsp 的诱导表达会对雄虫的精子或精子储存器进行有效保护。如家蚕在抵御应激胁迫时,其体内的 Bmhsp19.9 在许多组织中都会大量表达,其中在脂肪体与精巢中表达最为显著(李斌等,2005)。全基因组测序结果显示,其他 Hsp 在家蚕的精巢中也大量表达(Li *et al.*, 2009)。黑腹果蝇经敌敌畏处理后,精巢中的 Hsp70 被显著诱导(Gupta *et al.*, 2007a, 2007b)。通过不同高温处理黑腹果蝇成虫,发现 Hsp70 的表达使原本对高温敏感的初生精子细胞具备耐热性(Dahlgaard *et al.*, 1998)。与黑腹果蝇精子形成相关的 2 个基因 *Hsp23* 和 *Hsp27* 在小菜蛾雄虫中的表达量也要高于雌虫,表明 Hsp23 和 Hsp27 对小菜蛾的精子形成也会产生影响(夏晓峰等,2013)。综合目前关于 Hsp 对哺乳动物和昆虫精子形成及精子保护相关的研究结果可以看出, Hsp 与昆虫的精子形成和保护具有高度相关性,但具体的功能及作用机制有待进一步深入研究。

2.3 Hsp 与卵子保护和卵成熟

Hsp 可以保护细胞免于由细胞因子引起的细胞毒性损伤(Tabibzadeh *et al.*, 1996)。子宫内膜中的白细胞可以产生高水平的氧自由基(ROS)和细胞因子,这 2 种产物可以调节 Hsp 的表达(Jacquier-Sarlin *et al.*, 1994)。若白细胞和细胞因子(如肿瘤坏死因子 TNF-α)在分泌期间急剧聚集,此时 Hsp 表达量发生变化可能是为了保护子宫内膜免受白细胞积聚和细胞因子释放所造成的细胞损害(Jäättelä, 1993; Tabibzadeh *et al.*, 1996)。当细胞转染 Hsp70 后,可以保护细胞免于 TNF-α 引起的毒性损害(Jäättelä, 1993)。此外, Hsp70 可能可以防止细胞 DNA 链断裂,从而保护线粒体的结构和功能,并由此抑制细胞凋亡。

研究表明, Hsp 在卵细胞的发育过程中扮演着重要角色,如李全杰和徐钢春(2015)在研究 Hsp 对鱼的生殖研究进展中发现,雌性鱼不论正常排卵还是异常排卵,在其输卵管中均可检测到不同的

Hsp, 并且在排卵后, 大量的 Hsp27、Hsp60 和 HSC70 在排卵腔中表达。Hsp70 表达量的增加可以有效抑制囊状卵泡的凋亡, 进而使囊状卵泡持续存在, 从而形成卵巢的多囊样改变(吴庚香等, 2015)。在对大鼠早孕、假孕以及人工蜕膜化模型对大鼠子宫中 Hsp 表达的影响进行研究发现, 在大鼠的子宫和蜕膜中均有 Hsp 的表达(苑金香等, 2006)。

随着有关 Hsp 与生殖的相关研究逐渐深入, 关于 Hsp 对卵细胞保护的报道日益增加, 为 Hsp 对昆虫卵子保护和卵成熟的研究提供了参考依据。在赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* Herbst 中, Hsp90 家族成员 Hsp83 在卵母细胞中的不同时期会有差异表达, 并可对环境信号做出响应。通过 RNA 干扰, 抑制 Hsp83 的表达后, 赤拟谷盗雌虫无法产出成熟的卵细胞, 并且该基因可能与卵子发生和卵成熟有关(Xu & Zhang, 2010; Knorr & Vilcinskas, 2011b; Erlejman *et al.*, 2014)。RNA 干扰 Hsp83 在豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Harris) 体内的表达后, 不仅降低了后代的数量, 同时也增加了卵在卵巢中过早孵化的情况, 因此该基因与胚胎发育及孵化有关(Will *et al.*, 2017b)。在茧蜂 *Peristenus spretus* Chen *et van Achterberg* 中也发现 Hsp83 蛋白存在于整个卵巢的卵腔中(Tian *et al.*, 2021)。根结线虫取食表达其 Hsp90 dsRNA 的转基因作物后, 其产卵量下降了 46%(Lourenco-Tessutti *et al.*, 2015a)。在镰形扇头蜱 *Rhipicephalus haemaphysaloides* Supino 中, Hsp70 基因沉默不仅抑制雌虫吸血和卵黄蛋白原的表达, 而且还增加了雌虫的死亡率, 并发现该基因的表达受到 RH36(免疫调节蛋白)的调节(Wang *et al.*, 2020b)。

目前, 关于 Hsp 对卵细胞的保护研究主要集中在哺乳动物上, 对昆虫卵细胞保护的相关报道还较为匮乏。昆虫生殖行为, 包括雄虫求偶、雌虫召喚、交配和产卵等行为与性成熟特别是卵成熟有关(Ringo, 1996)。例如鳞翅目昆虫雌虫卵成熟程度与其召喚行为及对雄虫吸引力有密切关系(徐进和陈鹏, 2018), 因此, Hsp 在卵成熟等方面的功能将直接或间接影响昆虫生殖行为, 值得进一步探明。

2.4 Hsp 与生殖应答

自 20 世纪 70 年代起, 随着昆虫行为学的迅速发展, 对昆虫生殖相关的研究也在不断深入, 目前已发现一些基因对昆虫的生殖行为具有重要调控

作用, 例如性肽(SP)、信息素生物合成激活神经肽(PBAN)、类激素肽(NTL)及其它们所对应的受体, 这些基因的发现为害虫的防治提供了新的思路(Lu *et al.*, 2015, 2017; Wang *et al.*, 2021)。截至目前, 对昆虫生殖应答基因的研究报道极为有限, 例如对经典模式生物果蝇的生殖应答基因认知也相对不足。因此, 对生殖应答基因的功能和调控机制的研究探索已成为当前分子层面生殖行为研究的重点, 在该领域突破对于昆虫的益虫利用和害虫防治都具有关键作用。

近年来, 对除黑腹果蝇外的一些昆虫, 也开展了交配后雌性生殖应答基因表达模式的研究, 如鳞翅目昆虫的家蚕和玉米螟 *Pyrausta nubilalis* Hubern (Al-Wathiqui *et al.*, 2016)、双翅目昆虫的橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* Hendel (Zheng *et al.*, 2016) 和埃及伊蚊 *Aedes aegypti* L. (Al-Wathiqui *et al.*, 2016), 以及膜翅目昆虫的欧洲雄蜂 *Bombus dahlbomii* L. (Barribeau & Schmid-Hempel, 2017) 和意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* Spinola (Wu *et al.*, 2014) 等。

与生殖有关的生理变化通常受内分泌控制, 如保幼激素(juvenile hormone, JH)、胰岛素(insulin INS)和蜕皮激素(ecdysteroid hormone, EH)。JH 和 20-羟基蜕皮激素(20E)之间的平衡对于卵子成熟、前卵母细胞的发育、卵黄生成和绒毛膜形成等方面具有非常重要的作用(Roy *et al.*, 2018; Wyatt & Davey, 1996)。Hsp 作为分子伴侣在生物应激状态下具有重要地位, 金文杰等(2018)在敲低黄脸油葫芦 *Teleogryllus emma* Ohmachi & Matsuura 精巢内 TeHsc70 和 TeHsp90 基因表达后发现, TeHsc70 和 TeHsp90 参与 20E 信号通路, 并且对 20E 信号通路维持精巢的发育和形态建成具有重要作用; Cai *et al.* (2014) 发现外源性 20E 可上调棉铃虫 *Helicoverpa armigera* Hübner 表皮细胞中的 Hsp90 mRNA 的表达, 若在培养基中添加 20E 和 Hsp90 可导致 Hsp90 的表达量下调; HSC70 通过与 USP1 结合并介导 EcRB1、USP1 和 1 组 20E 应答基因的表达, 参与 20E 信号转导途径(Zheng *et al.*, 2010)。超气孔蛋白(ultraspiracle protein, USP)为 20E 相关基因, RNA 干扰拟黑多刺蚁 *Polyrhachis vicina* Smith 体内 Hsp90 mRNA 的表达后发现, Hsp90 与 USP 具有一定的关联(樊瑾瑛等, 2015)。上述研究结果表明, Hsp 可以作为生殖应答基因对昆虫的生殖行为产

生影响,但是具体的应答机制还有待进一步研究。

2.5 Hsp 与衰老进化机制

作为分子伴侣,Hsp 在蛋白质稳态中起着核心作用,可以保护蛋白质构象和折叠,协助蛋白质复合物的组装和分解以及蛋白质降解。通过结合非天然多肽,将底物维持在一种能够进行后续折叠的状态;在折叠不成功时,通过泛素-蛋白酶体系统(Urushitani *et al.*, 2004)或通过自噬(Carra *et al.*, 2008)降解底物。因此,Hsp 被认为是可以有效防止蛋白质衰老的一类蛋白(Morimoto, 2008; Morrow & Tanguay, 2003)。通过过度表达 HSF (Morimoto, 2008)或者通过热量限制和伴随的胰岛素信号(Hsu *et al.*, 2003)激活所有应激诱导的 Hsp,可以延缓因蛋白质折叠引发的疾病,延长细胞寿命(Vos *et al.*, 2016)。

当基因在早期繁殖和后期特定年龄段死亡率之间具有拮抗作用时,可能会引起衰老的进化,但该模型尚未从特定基因位点上得到验证。由于 Hsp 在生长发育和生殖方面的重要性,因此 Hsp 被作为目标基因用于验证该模型。人们通过研究果蝇等模式生物的衰老现象,发现 Hsp 与衰老过程密切相关。在黑腹果蝇中,热诱导成虫 Hsp70 蛋白表达可降低特定年龄段的死亡率,但会引起雌性生殖力下降(Silbermann & Tatar, 2000b)。同样在黑腹果蝇中,干扰产卵雌虫中 6 个 Hsp 基因(含 3 个 sHsp)的表达增加了雌虫的存活率,但单独敲除其中 5 个基因则降低了雌虫的早期繁殖(Okada *et al.*, 2014a)。在分离研究黑腹果蝇长寿基因的多重胁迫试验中发现,果蝇寿命的延长与繁殖力的下降有关,当 Hsp26 和 Hsp27 基因表达量上调时,果蝇的寿命延长了 30%,但其繁殖力和 4 d 内的产卵数均出现下降(Wang *et al.*, 2004)。茧蜂在受到外界热激胁迫后,体内 Hsp83 转录丰度急剧波动,最大值出现在 35 ℃,此时对茧蜂的化蛹率、羽化率、性比及发育历期均无显著影响,但对其寿命有显著影响(Tian *et al.*, 2021)。这些结果表明,Hsp 可能介导了早期繁殖和晚期存活之间的权衡,但 Hsp 之间可能存在协同或拮抗多效性,有待进一步研究。

3 总结与展望

Hsp 作为分子伴侣,参加生物体的许多复杂的生理活动,在细胞的生长、发育、分化、基因转录、蛋白质合成以及折叠分散等方面发挥着重要作用。当前有关昆虫 Hsp 功能的深入研究主要还是以模

式昆虫果蝇为主,其他类群昆虫的研究主要集中在 Hsp 基因的克隆及转录水平检测方面,这对于探究 Hsp 在昆虫抵御温度胁迫及其他胁迫中所发挥的作用是远远不够的(King & MacRae, 2015)。此外,当前 Hsp 对昆虫生殖方面的影响研究主要集中在单一因素胁迫下 Hsp 表达量变化对其生殖过程的影响。因此,未来对于 Hsp 在昆虫生殖功能及作用机制的研究中可以倾向于探究多种影响因素共存时,昆虫体内 Hsp 作用于生殖方面的相关机制,如昆虫在经历近亲繁殖、不同交配次数或取食不同种食物等处理后,在抵御外界胁迫的过程中对其生殖的影响,以期更加深入地了解 Hsp 与昆虫生殖之间的关系。

Hsp 作为重要的分子伴侣以及抗逆蛋白,可以作为防治害虫的新靶标,对其研究具有重要的理论意义和应用前景。近年来,随着分子生物学技术的不断发展,未来对于昆虫 Hsp 的研究可以在转录水平研究的基础上转移至蛋白质水平,并可以利用免疫学相关技术手段验证其功能,以期研究 Hsp 在昆虫生殖中甚至整个生命系统中的功能,尤其是其分子演化过程与昆虫物种所经历的环境变迁之间的相关性,结合上述多种影响因素共存条件下,研究 Hsp 在昆虫生殖过程中的功能与作用机制,从而为害虫防治或昆虫物种多样性保护提供一定理论参考。

参考文献

- 樊瑾璞,应琼琼,党亮,奚耕思, 2015. 拟黑多刺蚁 *hsp90* 基因的 RNA 干扰及其对 *EcR* 和 *USP* 基因 mRNA 表达的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 43(4): 191-196.
- 房守敏, 2015. 家蚕热激蛋白 HSP90 的鉴定、进化与表达模式. 蚕学通讯, 35(4): 7-13.
- 蒋丰泽,郑灵燕,郭技星,张古忍, 2015. 温度对昆虫繁殖力的影响及其生理生化机制. 环境昆虫学报, 37(3): 653-663.
- 金文杰,谭娥,王桂荣,纪艳青,薛竞雄,奚耕思, 2018. 黄脸油葫芦精巢 *TeHsc70* 和 *TeHsp90* 敲低对 20E 相关基因表达的影响. 陕西师范大学学报(自然科学版), 46(3): 87-93.
- 金鑫,鲍忠赞,王华,王立鹏,朱文娟,徐世清,司马杨虎, 2014. 高温(34 ℃)条件下家蚕热激蛋白基因 *BmsHSP27.4* 的表达变化. 蚕业科学, 40(4): 620-626.
- 库尔班·吐松,陆雪莹,刘小宁,马纪, 2016. 准噶尔小胸鳖甲短时低温胁迫响应的转录组分析. 昆虫学报,

- 59(6): 581–591.
- 陆明星, 徐静, 杜予州, 2015. 昆虫小分子量热激蛋白的研究进展. *应用昆虫学报*, 52(6): 1326–1332.
- 李斌, 夏庆友, 藤井博, 伴野丰, 鲁成, 2005. 低分子量热激蛋白 *Bmshp19.9* 基因的表达. *农业生物技术学报*, 13(2): 195–201.
- 李娟, 杨惠, 周元国, 2008. 热激蛋白 90 与热激应答. *生命的化学*, 28(3): 299–301.
- 李全杰, 徐钢春, 2015. 热休克蛋白在鱼类生殖中的作用研究进展. *安徽农业科学*, 43(12): 145–147.
- 李悦, 何萌萌, 张婷婷, 郭健, 2016. 局部热激对大鼠睾丸生精细胞影响的研究. *中日友好医院学报*, 30(3): 161–165, 202.
- 秦小伟, 李振, 任有蛇, 张春香, 吕丽华, 2012. 精子发生过程中相关基因的研究进展. *中国草食动物科学*, 32(5): 65–69.
- 吴庚香, 杨菁, 尹太郎, 徐望明, 李维, 余楠, 邹宇洁, 张博, 王雅琴, 2015. PCOS 及 PCOS 伴 2 型糖尿病大鼠卵巢热休克蛋白 70 的研究. *生殖医学杂志*, 24(4): 311–315.
- 王薇, 韩岚岚, 赵奎军, 2009. 昆虫热休克蛋白 Hsp70 的研究进展. *东北农业大学学报*, 40(11): 129–132.
- 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.
- 徐进, 陈鹏, 2018. 地中海粉螟繁殖生物学研究. 北京: 中国林业出版社.
- 余昊, 万方浩, 2009. B 型烟粉虱和温室白粉虱热激蛋白 90 基因 (*hsp90*) 的全长 cDNA 克隆与系统发育分析. *昆虫学报*, 52(4): 363–371.
- 苑金香, 李衍森, 冯道俊, 2006. 热休克蛋白及其在生殖中的作用. *潍坊学院学报*, 6(6): 87–89.
- 张珂, 翁群芳, 付昊昊, 2014. 昆虫热激蛋白 90 的研究进展. *生物技术通报* (2): 15–23.
- 张青, 陆明星, 祝树德, 2014. 灰飞虱热激蛋白 *Hsp90* 基因的克隆、序列分析与表达模式. *昆虫学报*, 57(7): 777–786.
- 郑井元, 黎定军, 成新跃, 杨宇红, 谢丙炎, 2008. 动物热激转录因子的进化类型及其功能研究进展. *生物技术通报* (3): 17–24.
- AL-WATHIQI N, DOPMAN E B, LEWIS S M, 2016. Post-mating transcriptional changes in the female reproductive tract of the European corn borer moth. *Insect Molecular Biology*, 25(5): 629–645.
- BARRIBEAU S M, SCHMID-HEMPEL P, 2017. Sexual healing: mating induces a protective immune response in bumblebees. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(1): 202–209.
- CAI M J, LI X R, PEI X Y, LIU W, WANG J X, ZHAO X F, 2014. Heat shock protein 90 maintains the stability and function of transcription factor Broad Z7 by interacting with its Broad-Complex-Tramtrack-Bric-a-brac domain. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 23(6): 720–732.
- CARRA S, SEGUIN S J, LANDRY J, 2008. HspB8 and Bag3: a new chaperone complex targeting misfolded proteins to macroautophagy. *Autophagy*, 4(2): 237–239.
- CHEN B, WAGNER A, 2012. Hsp90 is important for fecundity, longevity, and buffering of cryptic deleterious variation in wild fly populations. *BMC Evolutionary Biology*, 12(1): 25.
- DAHLGAARD J, LOESCHCKE V, MICHALAK P, JUSTES-EN J, 1998. Induced thermotolerance and associated expression of the heat-shock protein Hsp70 in adult *Drosophila melanogaster*. *Functional Ecology*, 12(5): 786–793.
- ERLEJMAN A G, LAGADARI M, TONEATTO J, PIWIEN-PILIPUK G, GALIGNIANA M D, 2014. Regulatory role of the 90-kDa-heat-shock protein (Hsp90) and associated factors on gene expression. *Biochimica et Biophysica Acta Gene Regulatory Mechanisms*, 1839(2): 71–87.
- GUPTA S C, SIDDIQUE H R, MATHUR N, MISHRA R K, SAXENA D K, CHOWDHURI D K, 2007a. Adverse effect of organophosphate compounds, dichlorvos and chlorpyrifos in the reproductive tissues of transgenic *Drosophila melanogaster*: 70 kDa heat shock protein as a marker of cellular damage. *Toxicology*, 238(1): 1–14.
- GUPTA S C, SIDDIQUE H R, MATHUR N, VISHWAKARMA A L, MISHRA R K, SAXENA D K, CHOWDHURI D K, 2007b. Induction of hsp70, alterations in oxidative stress markers and apoptosis against dichlorvos exposure in transgenic *Drosophila melanogaster*: modulation by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1770(9): 1382–1394.
- HOCHBERG G K A, SHEPHERD D A, MARKLUND E G, SANTHANAGOPLAN I, DEGIACOMI M T, LAGANOWSKY A, ALLISON T M, BASHA E, MARTY M T, GALPIN M R, STRUWE W B, BALDWIN A J, VIERLING E, BENESCH J L P, 2018. Structural principles that enable oligomeric small heat-shock protein paralogs to evolve distinct functions. *Science*, 359: 930–934.
- HSU A L, MURPHY C T, KENYON C, 2003. Regulation of aging and age-related disease by DAF-16 and heat-shock factor. *Science*, 300: 1142–1145.
- JÄÄTTELÄ M, 1993. Overexpression of major heat shock protein hsp70 inhibits tumor necrosis factor-induced activation of phospholipase A2. *Journal of Immunology*, 151(8): 4286–4294.
- JACQUIER-SARLIN M R, FULLER K, DINH-XUAN A T, RICHARD M J, POLLA B S, 1994. Protective effects of

- hsp70 in inflammation. *Experientia*, 50(11/12): 1031–1038.
- JAGLA T, DUBINSKA-MAGIERA M, POOVATHUMKADAVIL P, DACZEWSKA M, JAGLA K, 2018. Developmental expression and functions of the small heat shock proteins in *Drosophila*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11): 3441.
- KIHARA F, NIIMI T, YAMASHITA O, YAGINUMA T, 2011. 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 Biochemistry and Molecular Biology*, 41(11): 843–851.
- KING A M, MACRAE T H, 2015. Insect heat shock proteins during stress and diapause. *Annual Review of Entomology*, 60(1): 59–75.
- KNORR E, VILCINSKAS A, 2011. Post-embryonic functions of HSP90 in *Tribolium castaneum* include the regulation of compound eye development. *Development Genes and Evolution*, 221(5/6): 357–362.
- LAGO D C, HUMANN F C, BARCHUK A R, ABRAHAM K J, HARTFELDER K, 2016. Differential gene expression underlying ovarian phenotype determination in honey bee, *Apis mellifera* L., caste development. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 79: 1–12.
- LI Z W, LI X, YU Q Y, XIANG Z H, KISHINO H, ZHANG Z, 2009. The small heat shock protein (sHSP) genes in the silkworm, *Bombyx mori*, and comparative analysis with other insect sHSP genes. *BMC Evolutionary Biology*, 9: 215.
- LOURENCO-TESSUTTI I T, ANTONINO SOUZA JUNIOR J D, MARTINS-DE-SA D, BARBOSA VIANA A A, DECHECHI GOMES CAMEIRO R M, TOGAWA R C, DE ALMEIDA-ENGLER J, NOGUEIRA BATISTA J A, MATTAR SILVA M C, FRAGOSO R R, GROSSI-DE-SA M F, 2015. Knock-down of heat-shock protein 90 and isocitrate lyase gene expression reduced root-knot nematode reproduction. *Phytopathology*, 105(5): 628–637.
- LU M X, HUA J, CUI Y D, DU Y Z, 2014. Five small heat shock protein genes from *Chilo suppressalis*: characteristics of gene, genomic organization, structural analysis, and transcription profiles. *Cell Stress & Chaperones*, 19(1): 91–104.
- LU Q, HUANG L Y, CHEN P, YU J F, XU J, DENG J Y, YE H, 2015. Identification and RNA Interference of the pheromone biosynthesis activating neuropeptide (PBAN) in the common cutworm moth *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 108(3): 1344–1353.
- LU Q, HUANG L Y, LIU F T, WANG X F, CHEN P, XU J, DENG J Y, YE H, 2017. Sex pheromone titre in the glands of *Spodoptera litura* females: circadian rhythm and the effects of age and mating. *Physiological Entomology*, 42(2): 156–162.
- MCNATTY K P, JUENGEL J L, READER K L, LUN S, MYLLYMAA S, LAWRENCE S B, WESTERN A, MEERASHIB M F, MOTTERSHEAD D G, GROOME N P, RITVOS O, LAITINEN M P, 2005. Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 cooperate to regulate granulosa cell function. *Reproduction*, 129(4): 473–480.
- MORIMOTO R I, 2008. Proteotoxic stress and inducible chaperone networks in neurodegenerative disease and aging. *Genes & Development*, 22(11): 1427–1438.
- MORROW G, TANGUAY R M, 2003. Heat shock proteins and aging in *Drosophila melanogaster*. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 14(5): 291–299.
- OKADA Y, TERAMURA K, TAKAHASHI K H, 2014. Heat shock proteins mediate trade-offs between early-life reproduction and late survival in *Drosophila melanogaster*. *Physiological Entomology*, 39(4): 304–312.
- PALEP-SINGH M, PICTON H M, VROTSOU K, MARUTHINI D, BALEN A H, 2007. South Asian women with polycystic ovary syndrome exhibit greater sensitivity to gonadotropin stimulation with reduced fertilization and ongoing pregnancy rates than their Caucasian counterparts. *European Journal of Obstet & Gynecology and Reproductive Biology*, 134(2): 202–207.
- PENG L, WANG L, YANG Y F, ZOU M M, HE W Y, WANG Y, WANG Q, VASSEUR L, YOU M S, 2017. Transcriptome profiling of the *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) ovary reveals genes involved in oogenesis. *Gene*, 637: 90–99.
- RINGO J, 1996. Sexual receptivity in insects. *Annual Review of Entomology*, 41: 473–494.
- ROY S, SAHA T T, ZOU Z, RAIKHEL A S, 2018. Regulatory pathways controlling female insect reproduction. *Annual Review of Entomology*, 63: 489–511.
- SILBERMANN R, TATAR M, 2000. Reproductive costs of heat shock protein in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 54(6): 2038–2045.
- SON Y O, KIM H E, CHOI W S, CHUN C H, CHUN J S, 2019. RNA-binding protein ZFP36L1 regulates osteoarthritis by modulating members of the heat shock protein 70 family. *Nature Communications*, 10: 77.
- SWELUM A A A, HASHEM N M, ABO-AHMED A I, ABDEL-HACK M E, ABDO M, 2017. The role of heat shock

- proteins in reproductive functions // MACPHEE D. *The role of heat shock proteins in reproductive system development and function*. Dordrecht: Springer; 1–21.
- TABIBZADEH S, KONG Q F, SATYASWAROOP P G, BABAKNIA A, 1996. Heat shock proteins in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Human Reproduction*, 11(3): 633–640.
- TIAN M, XIA Y, CAI D, MAO J, LUO S, 2021. Proteomic investigation of *Peristenus spretus* ovary and characterization of an ovary-enriched heat shock protein. *Bulletin of Entomological Research*, 111(3): 270–281.
- URUSHITANI M, KURISU J, TATENO M, HATAKEYAMA S, NAKAYAMA K, KATO S, TAKAHASHI R, 2004. CHIP promotes proteasomal degradation of familial ALS-linked mutant SOD1 by ubiquitinating Hsp/Hsc70. *Journal of Neurochemistry*, 90(1): 231–244.
- VOS M J, CARRA S, KANON B, BOSVELD F, KLAUKE K, SIBON O C, KAMPINGA H H, 2016. Specific protein homeostatic functions of small heat-shock proteins increase lifespan. *Aging Cell*, 15(2): 217–226.
- WANG F, WANG Y, WANG G, ZHANG H, KUANG C, ZHOU Y, CAO J, ZHOU J, 2020. Ovary proteome analysis reveals RH36 regulates reproduction via vitellin uptake mediated by HSP70 protein in hard ticks. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10: 93.
- WANG H D, KAZEMI-ESFARJANI P, BENZER S, 2004. Multiple-stress analysis for isolation of *Drosophila* longevity genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(34): 12610–12615.
- WANG X F, CHEN Z, WANG X B, XU J, CHEN P, YE H, 2021. Bacterial-mediated RNAi and functional analysis of Natalisin in a moth. *Scientific Reports*, 11(1): 4662.
- WEI Y, ZHU B, LIU W, CHENG X, LIN D, HE C, SHI H, 2021. Heat shock protein 90 co-chaperone modules fine-tune the antagonistic interaction between salicylic acid and auxin biosynthesis in cassava. *Cell Reports*, 34(5): 108717.
- WIDLAK W, VYDRA N, 2017. The role of heat shock factors in mammalian spermatogenesis // MACPHEE D J. *Role of heat shock proteins in reproductive system development and function*. Berlin: Springer-Verlag; 45–65.
- WILL T, SCHMIDTBERG H, SKALJAC M, VILCINSKAS A, 2017. Heat shock protein 83 plays pleiotropic roles in embryogenesis, longevity, and fecundity of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Development Genes and Evolution*, 227(1): 1–9.
- WU X, WANG Z, ZHANG F, SHI Y, ZENG Z, 2014. Mating flight causes genome-wide transcriptional changes in sexually mature honeybee queens. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(1): 37–43.
- WYATT G, DAVEY K, 1996. Cellular and molecular actions of juvenile hormone. II. Roles of juvenile hormones in adult insects. *Advances in Insect Physiology*, 26: 1–155.
- XU J, SHU J, ZHANG Q, 2010. Expression of the *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) *hsp83* gene and its relation to oogenesis during ovarian maturation. *Journal of Genetics and Genomics*, 37(8): 513–522.
- YAN C, WANG P, DEMAYO J, DEMAYO F J, ELVIN J A, CARINO C, PRASAD S V, SKINNER S S, DUNBAR B S, DUBE J L, CELESTE A J, MATZUK M M, 2001. Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function. *Molecular Endocrinology*, 15(6): 854–866.
- YANG Y W, CHEN L, YANG C X, 2019. Heat shock protein 90 and reproduction in female animals: ovary, oocyte and early embryo // ASEA A A A, KAUR P. *Heat shock protein 90 in human diseases and disorders*. Cham: Springer International Publishing; 507–531.
- ZHENG W, LUO D, WU F, WANG J, ZHANG H, 2016. RNA sequencing to characterize transcriptional changes of sexual maturation and mating in the female oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*. *BMC Genomics*, 17: 194.
- ZHENG W W, YANG D T, WANG J X, SONG Q S, GILBERT L I, ZHAO X F, 2010. Hsc70 binds to ultraspiracle resulting in the upregulation of 20-hydroxyecdysone-responsive genes in *Helicoverpa armigera*. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 315(1/2): 282–291.

(责任编辑:陈晓雯)