



## ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LA PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO HSP21 de *Triatoma infestans* Klug, 1834 (HEMIPTERA: REDUVIIDAE), VECTOR DE *Trypanosoma cruzi*

---

Ignacio Martínez<sup>1</sup> y Bertha Espinoza<sup>1</sup>

Aceptado: 22 de noviembre 2022  
Publicado: 31 de agosto 2023





# ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LA PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO HSP21 de *Triatoma infestans* Klug, 1834 (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) VECTOR DE *Trypanosoma cruzi*

Ignacio Martínez<sup>1</sup>✉ y Bertha Espinoza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Departamento de Inmunología. Av. Universidad 3000, Col. Universidad Nacional Autónoma de México. Alcaldía Coyoacán. C.P. 04510, Ciudad de México. [imm@iibiomedicas.unam.mx](mailto:imm@iibiomedicas.unam.mx)✉, [besgu@iibiomedicas.unam.mx](mailto:besgu@iibiomedicas.unam.mx)

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Departamento de Inmunología. Av. Universidad 3000, Col. Universidad Nacional Autónoma de México. Alcaldía Coyoacán. C.P. 04510, Ciudad de México. [imm@iibiomedicas.unam.mx](mailto:imm@iibiomedicas.unam.mx), [di\\_paulina@yahoo.com](mailto:di_paulina@yahoo.com), [mgs\\_edgar\\_mgs@hotmail.com](mailto:mgs_edgar_mgs@hotmail.com), [besgu@iibiomedicas.unam.mx](mailto:besgu@iibiomedicas.unam.mx)  
✉Autor de correspondencia: [besgu@iibiomedicas.unam.mx](mailto:besgu@iibiomedicas.unam.mx)

**RESUMEN.** *Triatoma infestans* es un insecto hematófago que se enfrenta a condiciones de estrés térmico tanto ambiental como durante su alimentación. Para ello presenta proteínas de respuesta a choque térmico, como Hsp70. Sin embargo, otras proteínas de esta familia no se han analizado *in silico*, *in vitro* o *in vivo*. En este trabajo se realizó el análisis bioinformático de una proteína de choque térmico de bajo peso molecular, se estableció un modelo por homología y se identificaron posibles motivos de chaperona.

**Palabras clave:** proteína de choque térmico, *Triatoma infestans*,  $\alpha$ B-crystallin.

## Bioinformatic analysis of heat shock protein HSP21 from *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera: Reduviidae) vector of *Trypanosoma cruzi*

**ABSTRACT.** *Triatoma infestans* is a blood-sucking insect that confronts heat stress conditions both in the environment and during feeding. To cope with these conditions, it has proteins that respond to heat shock, such as Hsp70. However, other proteins in this family have not been tested *in silico*, *in vitro*, or *in vivo*. In this work, a bioinformatic analysis of a small heat shock protein was performed, a 3D model by homology was established and possible chaperone motifs were identified.

**Keywords:** small heat shock protein, *Triatoma infestans*,  $\alpha$ B-crystallin.

## INTRODUCCIÓN

El hemíptero *Triatoma infestans* (Hemiptera:Triatomidae) es un insecto hematófago presente en diversos países de Sudamérica, donde se ha reconocido como un importante vector transmisor de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, la cual afecta a un importante número de personas en el continente americano (Espinoza-Echeverría et al., 2017). Se ha documentado que *T. infestans* se enfrenta a diversas condiciones de estrés térmico ambiental y tiene capacidad de aclimatación (Belliard et al., 2019; Mello et al., 2001). Aunque no se ha demostrado, este vector también podría sufrir estrés térmico durante su alimentación, como se reporta en otros insectos hematófagos asociados a mamíferos (Benoit et al., 2011).

La resistencia de *T. infestans* al choque térmico, al igual que otros organismos, se facilita por la presencia de diversas proteínas de respuesta a estrés (Belliard et al., 2019). Una de las familias más importante es la de proteínas de choque térmico “Heat Shock Proteins” (HSPs), cuyo miembro más conocido es la HSP70 (Kampinga et al., 2009).

Algunos miembros de esta familia son proteínas de choque térmico de bajo peso molecular (sHSP) con rango de 10-40 kDa, las cuales se unen a sus proteínas blanco para evitar su agregación y degradación durante un evento de estrés térmico, evitando el daño celular y la apoptosis (Haslbeck *et al.*, 2019). Estas sHSP están presentes a lo largo de la escala evolutiva, desde bacterias hasta eucariontes superiores y algunas de ellas pueden actuar como enzimas y segundos mensajeros intracelulares (Fakruddin *et al.*, 2000). Estructuralmente estas proteínas se caracterizan por un dominio alfa-cristalino, formado por varias láminas beta, en las cuales se encuentran los dominios de interacción con las proteínas blanco. Se sabe que debido a la interacción de las láminas beta, las sHSP pueden formar dímeros (la forma funcional de las proteínas) y oligómeros (estructuras de reserva) que son las formas más abundantes en el citoplasma de las células (Haslbeck *et al.*, 2019).

Respecto a su papel en la fisiología de los insectos, se considera una sobreexpresión en condiciones de estrés térmico ambiental (aumento o disminución de temperatura), por lo que se ha planteado su papel en la protección contra condiciones ambientales desfavorables y durante la diapausa (el periodo de latencia de los insectos que sobreviven al invierno) (Rinehart *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2019). También se ha demostrado que algunas sHSP se expresan diferencialmente durante las etapas del desarrollo de algunos insectos, por lo que se ha propuesto que tienen un papel en la regulación de este proceso (Samanta *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2019). Asimismo, se ha demostrado que la expresión de algunas de estas proteínas varía entre los diversos tejidos del insecto por lo que se ha planteado que tienen un papel en las funciones específicas de cada tejido (Yang *et al.*, 2019). Adicionalmente, algunas de las sHSP se han propuesto como componentes importantes en el núcleo de las células de insectos, donde pueden interactuar con otras proteínas y participar en los procesos de transcripción y de remodelación de la cromatina (Moutaoufik & Tanguay, 2021).

En el caso de *T. infestans*, se ha demostrado que la alimentación induce cambios transcripcionales en la proteína HSP70 de su intestino medio (Kollien & Billingsley, 2002). Sin embargo, hasta el momento se desconoce el papel que tienen otras HSP, incluidas las de bajo peso molecular, en la fisiología del vector y en su respuesta al estrés térmico. En el GenBank se registran secuencias de probables sHSP, obtenidas del transcriptoma salival de *T. infestans*, pero estas proteínas no tienen caracterización (*in silico*, *in vitro* o *in vivo*), por ello se carece de una propuesta sobre su papel en la fisiología de este insecto (Schwarz *et al.*, 2014).

Debido a esto, en el presente trabajo se analizó la secuencia de una proteína de choque térmico de 21 kDa reportada en el Genbank, se establecieron algunas de sus propiedades físico-químicas, se generó un modelo por homología y se identificaron posibles motivos de chaperona.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Secuencias empleadas

La secuencia de una probable HSP de 21 kDa de *T. infestans* (JAC18522.1) fue reportada en el GenBank en 2014 (Schwarz *et al.*, 2014). Otras secuencias empleadas fueron obtenidas del GenBank: HSP23 de *Drosophila melanogaster* (CAA27525.1), HSP21 de *C. lectularius* (XP\_014253813.1), HSP21 de *Bemisia tabaci* (AVL92584.1), HSP22 de *Laodelphax striatellus* (AYP00114.1), HSP21 de *Nilaparvata lugens* (QIB84795.1), HSP20 de *Triatoma dimidiata* (JAP03064.1), HSP20 de *Pastrongilus megistus* (JAC85817.1), HSP20 de *Rhodnius neglectus* (JAI56113.1), HSP21.6 de *Plutella xylostella* (AHW45924.1), HSP20 de *Centipeda periodontii* (WP006307775.1), HSP16 de *Mycobacterium tuberculosis* (KDA15745.1), HSP16 de *Trypanosoma cruzi* (AAY78951.2), HSP16 de *Bodo saltans* (AXL08066.1), HSP23 de *Apis cerana* (AEH05930.1), HSP23 de *Lissorhoptus oryophilus* (AHE77382.1), HSP20 de *Panstrongylus lignarius* (JAW13376.1), HSP25 de *Mus musculus* (AAA37862.1) y  $\alpha$ B-crystallin de *Homo sapiens* (2YGD, Protein Data Bank).

### **Características, filogenia y similitud con otras sHSP**

El peso molecular, punto isoeléctrico y carga neta de la proteína fueron determinados mediante el software Pepstats versión 6.6.0 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/services/web>). La predicción de los dominios conservados para identificación de familia proteica se realizó mediante el programa en línea SMART (Simple Modular Architecture Research Tool) (<http://smart.embl-heidelberg.de/>). La comparación entre proteínas para establecer similitudes e identificación de motivos funcionales se realizó mediante el alineamiento de las secuencias usando el software T-coffee (<http://tcoffee.crg.cat/apps/tcoffee/do:expresso>) (Di Tommaso et al., 2011). La filogenia fue establecida mediante un análisis de Neighbor joining, por el método estadístico de Bootstrap (10, 000 réplicas), empleando el Software Mega6 (Tamura et al., 2013). Para el análisis solo se consideraron aquellas posiciones con una cobertura del 95%. Los cladogramas resultantes fueron visualizados mediante el Software FigTree Ver 1.4.3.

### **Modelaje por homología e identificación de los motivos funcionales**

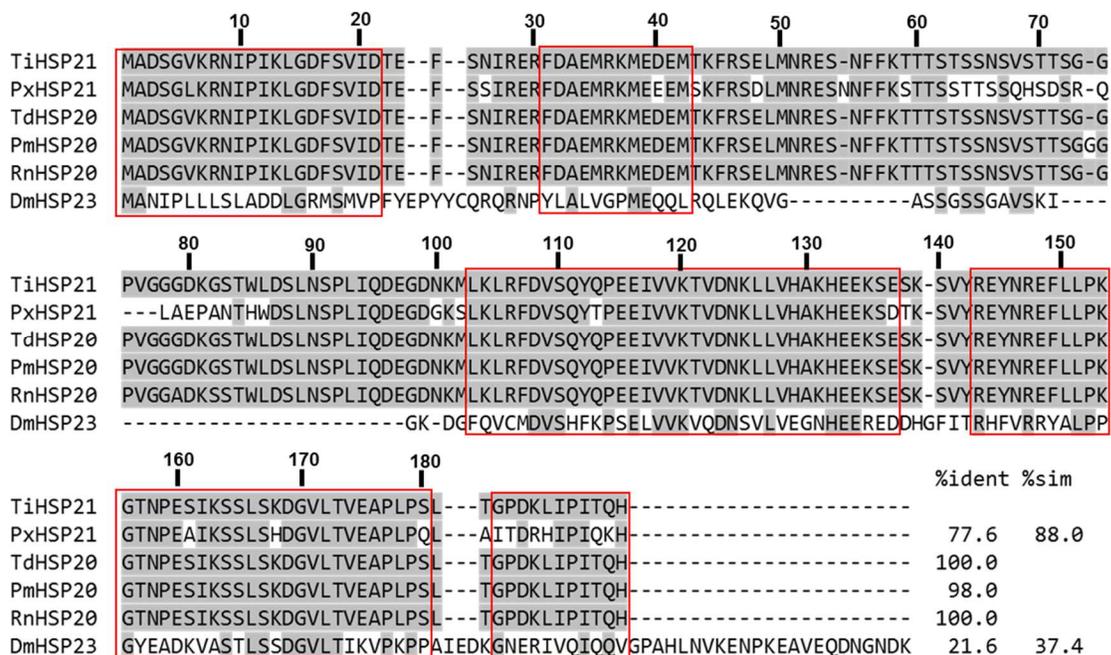
El modelaje por homología, para establecer la estructura del monómero, dímero y oligómero de la proteína, se realizó mediante la plataforma en línea Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) (Waterhouse et al., 2018). La disposición estérica de los aminoácidos y la confiabilidad del modelo fueron validados mediante el programa Procheck, mientras que la tasa general de frecuencias de error fue establecida mediante el software ERRAT, ambos incluidos en la paquetería SAVES v6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>). Todos los modelos fueron visualizados y comparados utilizando el software PyMol Molecular Graphics System Ver. 2.4.0 (Janson et al., 2017). La identificación de los motivos funcionales se realizó a partir de la comparación con la chaperona  $\alpha$ B-crystallin humana (2YGD), mediante el alineamiento descrito líneas arriba, y con motivos reportados previamente en la literatura (Ghosh et al., 2007; Nahomi et al., 2015).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Con base en los análisis, se determinó que el peso molecular de la proteína fue 21.3 kDa con un punto isoeléctrico de 5.39 y una carga eléctrica de -2.5. El establecimiento de estos parámetros es importante pues facilita caracterizar o purificar la proteína mediante algunas técnicas bioquímicas, como la separación mediante geles de acrilamida en doble dimensión, debido a que en esta técnica las proteínas se separan primero por el punto isoeléctrico y posteriormente por el peso molecular. De esta manera se han caracterizado algunas variantes de sHSP en células de mamífero y de algunos parásitos (Benndorf et al., 2018; Pérez-Morales et al., 2012). Asimismo, la carga eléctrica neta se ha explorado menos, pero se sabe que en algunas sHSP la carga negativa en el extremo C-terminal de la proteína es importante para la función de chaperona, ya que cuando se realizan mutaciones dirigidas que cambian dicha carga a un estado más neutro, dicha función se pierde (Fernando et al., 2002).

Por sus características se decidió llamar a esta proteína TiHSP21. La comparación de su secuencia con otras sHSP de varias especies de insectos de la familia Triatominae muestra una alta similitud entre ellas y con la proteína HSP21.6 de *P. xilostella*, con la que comparte una similitud del 88% (Figura 1). Previamente se ha descrito que la expresión de esta última se induce bajo condiciones de estrés térmico, por lo que se podría esperar lo mismo de TiHSP21 (Chen & Zhang, 2015). El alto porcentaje de similitud entre TiHSP21 y la proteína sHSP de *P. xilostella* también podría implicar que TiHSP21 al igual que aquella tuviera un papel en la respuesta del insecto a pesticidas como la beta-cipermetrina, pues se ha documentado que la sHSP de *P. xilostella* se incrementa en presencia de esta molécula (Chen & Zhang, 2015).

Aunque las secuencias de sHSP de triatomíneos son muy similares entre sí, difieren de la secuencia de *D. melanogaster*, particularmente en la región amino terminal. Esto no es completamente inesperado dado que se ha documentado que esta región presenta una alta variabilidad en secuencia y longitud entre diversos miembros de esta familia de proteínas (Haslbeck *et al.*, 2019).

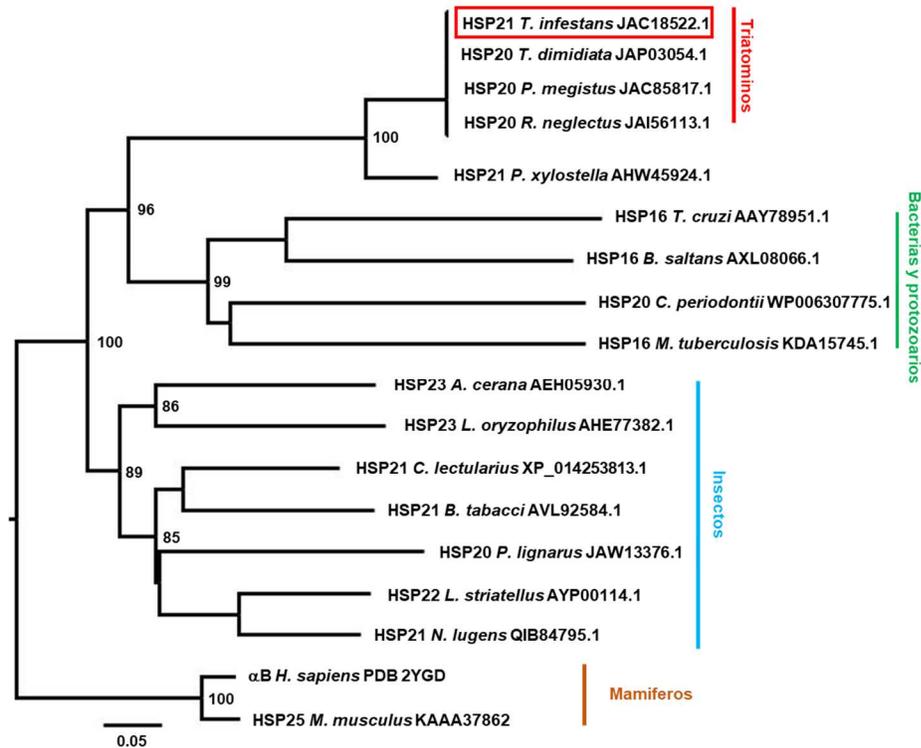


**Figura 1.** Alineamiento de TiHSP21 con otras sHSP. Se realizó el alineamiento, mediante T-coffee, de la sHSP de *T. infestans* (TiHSP21) con las proteínas sHSP de *P. xilostella* (PxHSP21), *T. dimidiata* (TdHSP20), *P. megistus* (PmHSP20), *R. neglectus* (RnHSP20) y *D. melanogaster* (DmHSP23). Los aminoácidos sombreados en gris son idénticos entre las secuencias comparadas. Las cajas rojas señalan regiones con aminoácidos idénticos o equivalentes a la secuencia de *D. melanogaster* que pueden considerarse regiones conservadas. La numeración en la parte superior corresponde a la posición de los aminoácidos en la secuencia de TiHSP21. El porcentaje de identidad (%ident) o de similitud (%sim) entre TiHSP21 y las otras proteínas se indica en las columnas finales

La alta similitud entre TiHSP21 y las otras sHSP se corroboró mediante un análisis de Neighbor joining, de forma similar a lo descrito en otras sHSP caracterizadas en insectos. Para este análisis se utilizaron secuencias pertenecientes a la subfamilia HSP20 de diversos organismos. Cabe señalar que esta subfamilia está compuesta por miembros que se encuentran en un rango de 16 a 27 kDa. Se observó que la proteína TiHSP21 se agrupa con las secuencias de los otros triatomíneos y mantiene su cercanía con *P. xilostella* (Figura 2). Interesantemente, mantiene claras diferencias en su secuencia con sHSP de otros insectos, lo cual podría deberse a las diferencias en el Orden al que pertenecen, tal como se ha observado al analizar algunas sHSP de insectos como *Apis cerana* (Liu *et al.*, 2012).

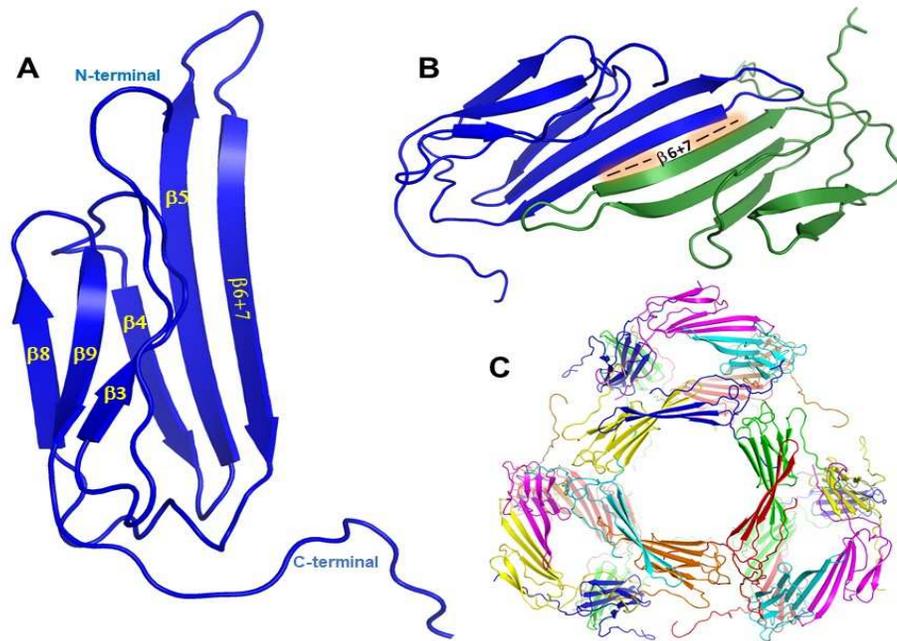
Las diferencias observadas en algunas regiones de las secuencias sHSP empleadas en las figuras 1 y 2 no tendrían necesariamente un impacto negativo en la posible función de TiHSP21, pues diferencias similares se observan al comparar más de un centenar de sHSP de organismos pertenecientes a toda la escala evolutiva (desde bacterias hasta metazoarios). En esos trabajos se reporta que al conservarse el dominio  $\alpha$ -cristalino, las regiones flanqueantes (N-terminal y C-terminal) presentan una amplia variación de secuencias primarias (composición de aminoácidos) dentro de la superfamilia, así como diferencias dependientes de *taxa*. Esta condición favorece la variabilidad estructural de las sHsps, permitiendo la unión a blancos específicos dentro de cada organismo, sin comprometer su funcionalidad como chaperonas (Kriehuber *et al.*, 2010).

Por otro lado, una característica importante de las proteínas de choque térmico de bajo peso molecular es que su estructura tridimensional está formada por varias láminas beta antiparalelas, cuyo arreglo se conoce como dominio alfa cristalino. En este trabajo se presenta por primera vez un modelo de TiHSP21 generado por homología. Este fue validado mediante la gráfica de Ramachandran, la cual mostró que el 91.2% de los residuos se encuentran en la región favorable, indicando una buena fiabilidad de la estructura. Mientras que la gráfica de ERRAT mostró un factor del 92.48%, lo que indica una buena calidad del modelo. En el modelo generado puede observarse la presencia de 6 láminas beta formando el dominio  $\alpha$ -cristalino, característico de esta familia de proteínas (Figura 3A). Cabe señalar la presencia de una lámina  $\beta_{6+7}$  característica de sHSP de eucariontes, la cual se sabe que puede interactuar con la misma lámina de otro monómero para formar homodímeros de la proteína, lo cual también fue modelado (Figura 3B).



**Figura2.** Filogenia de TiHSP21. En el análisis de Neighbor joining se utilizaron las secuencias de sHsp y procedimientos referidos en materiales y métodos. Los valores de Bootstrap en los nodos se obtuvieron a partir de 10,000 réplicas. Las distancias genéticas para el análisis evolutivo se determinaron por el método *p*-distance. La escala representa el número de diferencias en aminoácidos por sitio en la secuencia. Un total de 111 posiciones se usaron en la construcción del cladograma.

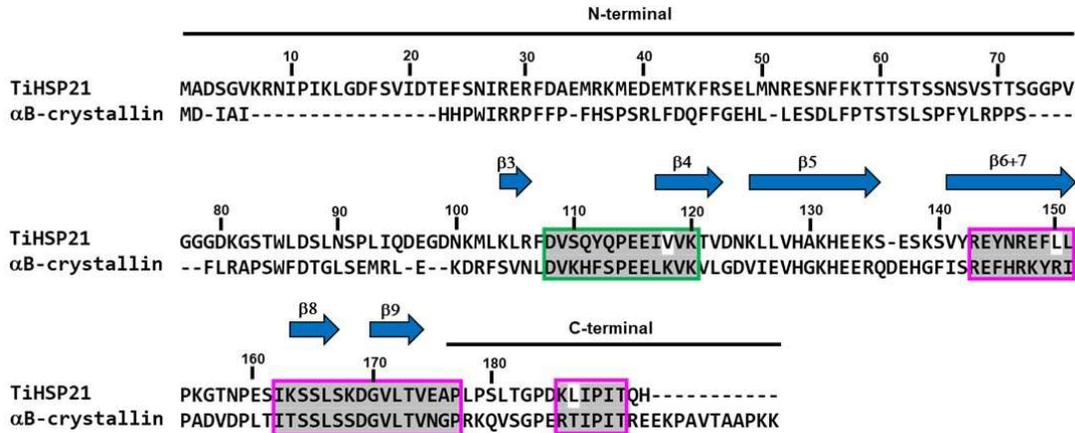
El modelo de dímero propuesto para TiHSP21 es importante, pues se ha planteado que son estas estructuras las que interactúan con los sustratos para protegerlos (Santhanagopalan et al., 2018). Hasta ahora solo se había propuesto un modelo similar para una sHSP de *D. melanogaster* (Moutaoufik et al., 2017). Adicionalmente, el modelo de oligómero sugiere que esta proteína podría formar estructuras agregadas de hasta 24 unidades (Figura 3C). La posibilidad de que esta proteína forme oligómeros tiene relevancia, dado que en la literatura se ha descrito que en el citoplasma celular son los oligómeros la forma en que estas proteínas se encuentran presentes (Dabbaghizadeh & Tanguay, 2020).



**Figura 3.** Modelos propuestos para TiHSP21. A) Monómero de la proteína. Puede observarse la disposición de las láminas  $\beta 3$ - $\beta 9$ . B) Dímero en el que puede observarse la interacción de dos monómeros (azul y verde) a través de las láminas  $\beta 6+7$ . C) Oligómero de TiHsp21 formado por 24 unidades de la proteína.

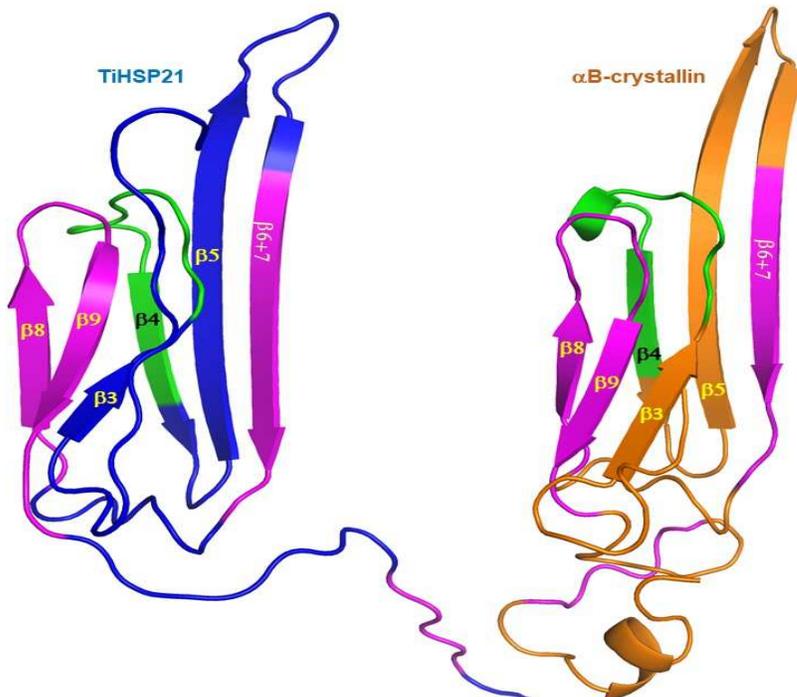
Debido a la escasa información publicada sobre las características de sHSP de insectos, y dado que el análisis por medio del software SMART sugirió cierta similitud en algunos motivos con la chaperona  $\alpha B$ -crystallin humana, se decidió comparar la secuencia de ésta última con TiHSP21 para encontrar motivos compartidos (Figura 4). Se identificó un motivo (D108-K120) en el dominio  $\alpha$ -cristalino, que comparte un 92% de similitud con una secuencia de la proteína  $\alpha B$ -crystallin humana, que confiere propiedades anti-apoptóticas a esta chaperona y a las proteínas HSP20 y HSP27 (Nahomi *et al.*, 2015). Esta similitud sugiere la posible participación de TiHSP21 en la regulación del proceso apoptótico en las células de *T. infestans*.

Asimismo, se identificaron tres motivos (R143-L151, I162-P177, K186-T191) que comparten 88%, 100% y 83% de similitud con secuencias homólogas en  $\alpha B$ -crystallin. Trabajos previos han establecido que estas secuencias de la proteína humana interactúan con las proteínas blanco (Ghosh *et al.*, 2007). La similitud encontrada en las secuencias de TiHSP21 y  $\alpha B$ -crystallin, sugiere que estos motivos podrían ser conservados en diferentes especies debido a su importancia para conferir propiedades de chaperona. Esto explicaría un reporte previo en el que se documentó la capacidad de interacción entre  $\alpha B$ -crystallin humana y proteínas de *D. melanogaster* (Tue *et al.*, 2012).



**Figura 4.** Análisis de la secuencia de aminoácidos de TiHSP21. Las láminas β3-β9 del dominio α-cristalino se señalan con flechas. En fondo gris se indican los aminoácidos similares entre TiHSP21 y αB-crystallin humana en los motivos con posible actividad antiapoptótica (caja verde) y funciones de chaperona (cajas rosa).

Para corroborar que la disposición espacial de los motivos funcionales de TiHSP21 y αB-crystallin era similar, se les identificó en el modelo propuesto (Figura 5). Se encontró que la disposición de todos los motivos era similar en ambas proteínas. Este resultado abre la posibilidad de que ambas proteínas puedan reconocer blancos similares. Hasta ahora se ha reportado que αB-crystallin tiene alta afinidad por el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), insulina y β-catenina (Ghosh et al., 2007). Aunque en *T. infestans* aún no se han descrito homólogos de estas proteínas, si se han documentado en otros insectos (Lin & Smaghe, 2019; Sohr et al., 2019; Tsai & Galko, 2019).



**Figura 5.** Disposición de los motivos funcionales de TiHSP21. Se comparó la disposición espacial de los motivos con función anti-apoptótica (verde) y de chaperona (rosa) de TiHSP21 (izquierda) y αB-crystallin humana (derecha). Las láminas β3-β9 se identifican en cada caso.

## CONCLUSIÓN

Los resultados del análisis *in silico* sugieren que TiHSP21 comparte motivos de chaperona con la proteína  $\alpha$ B-crystallin humana por lo que podría unirse a otras proteínas para actuar como chaperona. También podría participar en la protección de proteínas frente a un evento de estrés térmico o frente al pesticida beta-cipermetrina. Será importante corroborar experimentalmente si esta proteína aumenta su expresión frente a un incremento de temperatura, si está presente en el citoplasma celular en forma de oligómeros y si tiene la capacidad de interactuar con proteínas para evitar su agregación durante eventos de estrés térmico. Para ello podría utilizarse el ensayo de inhibición de agregación de la malato deshidrogenasa, que es un modelo ampliamente usado para caracterizar la actividad de estas moléculas.

## LITERATURA CITADA

- Belliard, S. A., De la Vega, G. J., & Schilman, P. E. (2019, Jun 27). Thermal tolerance plasticity in Chagas disease vectors *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) and *Triatoma infestans*. *J Med Entomol*, 56(4), 997-1003. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz022>
- Benndorf, R., Gilmont, R. R., Hirano, S., Ransom, R. F., Jungblut, P. R., Bommer, M., Goldman, J. E., & Welsh, M. J. (2018, Sep). Small heat shock protein speciation: novel non-canonical 44 kDa HspB5-related protein species in rat and human tissues. *Cell Stress Chaperones*, 23(5), 813-826. <https://doi.org/10.1007/s12192-018-0890-5>
- Benoit, J. B., Lopez-Martinez, G., Patrick, K. R., Phillips, Z. P., Krause, T. B., & Denlinger, D. L. (2011, May 10). Drinking a hot blood meal elicits a protective heat shock response in mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(19), 8026-8029. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105195108>
- Chen, X., & Zhang, Y. (2015, Jan). Identification of multiple small heat-shock protein genes in *Plutella xylostella* (L.) and their expression profiles in response to abiotic stresses. *Cell Stress Chaperones*, 20(1), 23-35. <https://doi.org/10.1007/s12192-014-0522-7>
- Dabbaghizadeh, A., & Tanguay, R. M. (2020, Apr 20). Structural and functional properties of proteins interacting with small heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones*. <https://doi.org/10.1007/s12192-020-01097-x>
- Di Tommaso, P., Moretti, S., Xenarios, I., Orobítg, M., Montanyola, A., Chang, J. M., Taly, J. F., & Notredame, C. (2011, Jul). T-Coffee: a web server for the multiple sequence alignment of protein and RNA sequences using structural information and homology extension. *Nucleic Acids Res*, 39(Web Server issue), W13-17. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr245>
- Espinoza-Echeverria, J., Rodriguez, A. N., Cortez, M. R., Diotaiuti, L. G., & Gorla, D. E. (2017, Feb 2). Spatial and temporal distribution of house infestation by *Triatoma infestans* in the Toro Toro municipality, Potosi, Bolivia. *Parasit Vectors*, 10(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-1984-0>
- Fakruddin, J. M., Biswas, S., & Sharma, Y. D. (2000, Mar). Metalloprotease activity in a small heat shock protein of the human malaria parasite *Plasmodium vivax*. *Infect Immun*, 68(3), 1202-1206. <https://doi.org/10.1128/iai.68.3.1202-1206.2000>
- Fernando, P., Abdulle, R., Mohindra, A., Guillemette, J. G., & Heikkila, J. J. (2002, Sep). Mutation or deletion of the C-terminal tail affects the function and structure of *Xenopus laevis* small heat shock protein, hsp30. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 133(1), 95-103. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(02\)00110-0](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(02)00110-0)

- Ghosh, J. G., Shenoy, A. K., Jr., & Clark, J. I. (2007, May 29). Interactions between important regulatory proteins and human alphaB crystallin. *Biochemistry*, 46(21), 6308-6317. <https://doi.org/10.1021/bi700149h>
- Haslbeck, M., Weinkauff, S., & Buchner, J. (2019, Feb 8). Small heat shock proteins: Simplicity meets complexity. *J Biol Chem*, 294(6), 2121-2132. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV118.002809>
- Janson, G., Zhang, C., Prado, M. G., & Paiardini, A. (2017, Feb 1). PyMod 2.0: improvements in protein sequence-structure analysis and homology modeling within PyMOL. *Bioinformatics*, 33(3), 444-446. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw638>
- Kampinga, H. H., Hageman, J., Vos, M. J., Kubota, H., Tanguay, R. M., Bruford, E. A., Cheetham, M. E., Chen, B., & Hightower, L. E. (2009, Jan). Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress and Chaperones*, 14(1), 105-111. <https://doi.org/10.1007/s12192-008-0068-7>
- Kollien, A. H., & Billingsley, P. F. (2002, Dec). Differential display of mRNAs associated with blood feeding in the midgut of the bloodsucking bug, *Triatoma infestans*. *Parasitol Res*, 88(12), 1026-1033. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0705-5>
- Kriehuber, T., Rattei, T., Weinmaier, T., Bepperling, A., Haslbeck, M., & Buchner, J. (2010, Oct). Independent evolution of the core domain and its flanking sequences in small heat shock proteins. *Faseb j*, 24(10), 3633-3642. <https://doi.org/10.1096/fj.10-156992>
- Lin, X., & Smagghe, G. (2019, Dec). Roles of the insulin signaling pathway in insect development and organ growth. *Peptides*, 122, 169923. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2018.02.001>
- Liu, Z., Xi, D., Kang, M., Guo, X., & Xu, B. (2012, Sep). Molecular cloning and characterization of Hsp27.6: the first reported small heat shock protein from *Apis cerana cerana*. *Cell Stress Chaperones*, 17(5), 539-551. <https://doi.org/10.1007/s12192-012-0330-x>
- Mello, M. L., Tavares, M. C., Dantas, M. M., Rodrigues, V. L., Maria-Engler, S. S., Campos, S. P., & Garcia, N. L. (2001). Cell death and survival alterations in Malpighian tubules of *Triatoma infestans* following heat shock. *Biochem Cell Biol*, 79(6), 709-717. <https://doi.org/10.1139/o01-136>
- Moutaoufik, M. T., Morrow, G., Maaroufi, H., Féraud, C., Finet, S., & Tanguay, R. M. (2017, Jul). Oligomerization and chaperone-like activity of *Drosophila melanogaster* small heat shock protein DmHsp27 and three arginine mutants in the alpha-crystallin domain. *Cell Stress Chaperones*, 22(4), 455-466. <https://doi.org/10.1007/s12192-016-0748-7>
- Moutaoufik, M. T., & Tanguay, R. M. (2021, Jan). Analysis of insect nuclear small heat shock proteins and interacting proteins. *Cell Stress Chaperones*, 26(1), 265-274. <https://doi.org/10.1007/s12192-020-01156-3>
- Nahomi, R. B., Di Mauro, M. A., Wang, B., & Nagaraj, R. H. (2015, Jan 1). Identification of peptides in human Hsp20 and Hsp27 that possess molecular chaperone and anti-apoptotic activities. *Biochem J*, 465(1), 115-125. <https://doi.org/10.1042/bj20140837>
- Pérez-Morales, D., Lanz-Mendoza, H., Hurtado, G., Martínez-Espinosa, R., & Espinoza, B. (2012). Proteomic analysis of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes subjected to heat shock. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 902803. <https://doi.org/10.1155/2012/902803>
- Rinehart, J. P., Li, A., Yocum, G. D., Robich, R. M., Hayward, S. A., & Denlinger, D. L. (2007, Jul 3). Up-regulation of heat shock proteins is essential for cold survival during insect diapause. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(27), 11130-11137. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703538104>
- Samanta, S., Barman, M., Chakraborty, S., Banerjee, A., & Tarafdar, J. (2021, Apr). Involvement of small heat shock proteins (sHsps) in developmental stages of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* and its

- expression pattern under abiotic stress condition. *Heliyon*, 7(4), e06906. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06906>
- Santhanagopalan, I., Degiacomi, M. T., Shepherd, D. A., Hochberg, G. K. A., Benesch, J. L. P., & Vierling, E. (2018, Dec 21). It takes a dimer to tango: Oligomeric small heat shock proteins dissociate to capture substrate. *J Biol Chem*, 293(51), 19511-19521. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.005421>
- Schwarz, A., Medrano-Mercado, N., Schaub, G. A., Struchiner, C. J., Bargues, M. D., Levy, M. Z., & Ribeiro, J. M. (2014, Dec). An updated insight into the Sialotranscriptome of *Triatoma infestans*: developmental stage and geographic variations. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(12), e3372. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003372>
- Sohr, A., Du, L., Wang, R., Lin, L., & Roy, S. (2019, May 6). Drosophila FGF cleavage is required for efficient intracellular sorting and intercellular dispersal. *J Cell Biol*, 218(5), 1653-1669. <https://doi.org/10.1083/jcb.201810138>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013, Dec). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Tsai, C. R., & Galko, M. J. (2019, Oct 2). Casein kinase 1 $\alpha$  decreases  $\beta$ -catenin levels at adherens junctions to facilitate wound closure in *Drosophila* larvae. *Development*, 146(20), 1-11. <https://doi.org/10.1242/dev.175133>
- Tue, N. T., Shimaji, K., Tanaka, N., & Yamaguchi, M. (2012). Effect of  $\alpha$ B-crystallin on protein aggregation in *Drosophila*. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 252049. <https://doi.org/10.1155/2012/252049>
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F. T., de Beer, T. A. P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., & Schwede, T. (2018, Jul 2). SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res*, 46(W1), W296-W303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
- Yang, W. J., Xu, K. K., Cao, Y., Meng, Y. L., Liu, Y., & Li, C. (2019, May 15). Identification and expression analysis of four small heat shock protein genes in cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (Fabricius). *Insects*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/insects10050139>