

Caracterización *in silico* de las proteínas del choque térmico Hsp70 y Hsp90 de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) y su posible actividad adaptativa

Eneida Torres Cabra¹ y Javier Hernández-Fernández^{2*}

¹ Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Facultad de Ciencias Agrarias, Investigadores en Reproducción Animal, Biotecnología e Inocuidad – IRABI, Carrera 11 N° 11-44 Tunja, Boyacá.

² Universidad Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería, Laboratorio de Biología Molecular, Grupo de Investigación, Genética, Biología Molecular & Bioinformática, GENBIMOL, Carrera 4 N° 22-61 Piso 6 Modulo 7A, Bogotá, Colombia. *Autor para correspondencia: javier.hernandez@utadeo.edu.co

Computational characterization of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Hsp70 and Hsp90 heat shock proteins and their adaptive activity possible

Abstract

The whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is one of the most destructive and invasive plague worldwide. It can be easily adapted to new host plants and geographical regions, suggesting the development of control mechanisms to overcome damage caused by stress factors. Hsp proteins are expressed in organisms as a defense mechanism, act as chaperones facilitating correct assembly of proteins. In this study, the Hsp70 and Hsp90 proteins sequences of *B. tabaci* were obtained (NCBI) and characterized using *in silico* tools. The determination of the profiles of hydrophobicity, polarity, accessibility and flexibility were obtained using "ProScale" from ExPASy, the antigenicity profile with JaMBW. The amino acid sequence was analyzed with SOPMA and GOR IV and the amino acid composition used ProtParam. To analyze the molecular weight, hydropathic gradient, instability and aliphatic indexes using GRAVY. The 3D structure was obtained using HHpred and ESyPred3D. To validate the proteins structure, *Procheck*, *What_check* and *errat* were used. Hsp70 and Hsp90 proteins of *B. tabaci* exhibit low hydrophobicity and high polarity, flexibility, and accessibility values, indicating that these proteins are flexible molecules with high accessibility regions. Hsp70 has a secondary structure composed of 41-45% alpha-helix, 30-43% coil regions and less than 6% folded sheet distribution and the Hsp90 is composed of 52 to 53% alpha-helix, 26-34% in coil and 6% in the folded sheet. Hsp proteins play an important role in insects, because of its size and short life cycle, due to the temperature influences the distribution and abundance of insects.

Keywords: hydrophobicity, computational model, tertiary structure, Hsp70, Hsp90, *Bemisia tabaci*.

Editora: Pataquiva-Mateus, A. Y.

Citation: Torres, C. E. y Hernández-Fernández, J. (2014). Caracterización *in silico* de las proteínas del choque térmico Hsp70 y Hsp90 de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) y su posible actividad adaptativa. *Revista Mutis* 4(1); pag. 40-50

Received: Mayo 1, 2014; **accepted:** Junio 15, 2014; **Published on line:** Junio 30, 2014

Copyright: ©2014 Torres & Hernández-Fernández. This is an open-access article, which permits unrestricted use, distributions and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

Competing Interests: The authors have no conflict of interest.

Resumen

La mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) es una de las plagas más destructivas e invasivas en el mundo, ataca una gran cantidad de cultivos. Se adapta fácilmente a plantas hospederas y a nuevas regiones geográficas, lo que sugiere el desarrollo de mecanismos de control a daños producidos por factores estresantes. Las proteínas Hsp se expresan en los organismos como mecanismo de defensa, ac-



túan como chaperonas en el correcto ensamblaje de las proteínas. En este estudio se realizó una caracterización *in silico* de las proteínas Hsp70 y Hsp90 de *B. tabaci*, secuencias obtenidas de NCBI. La determinación de los perfiles de hidrofobicidad, polaridad, accesibilidad y flexibilidad se obtuvieron con "ProScale" de ExPASy, el perfil de antigenicidad con JaMBW. La secuencia aminoacídica se analizó con GOR IV y SOPMA y la composición de aminoácidos con Protparam. Para analizar el peso molecular, índice de inestabilidad, índice alifático y gradiente hidropático, con GRAVY. La estructura terciaria se obtuvo con HHpred, y ESyPred3D. Para validar las estructuras 3D se utilizó Procheck, What_check y errat. Hsp70 y Hsp90 de *B. tabaci* presentan valores bajos de hidrofobicidad y altos de polaridad, flexibilidad y accesibilidad, características que le permiten a las proteínas extender su capacidad como chaperonas. La Hsp70 tiene una estructura secundaria compuesta por 41-45% alfa hélices, 30-43% coil y menos del 6% en hoja plegada y la Hsp90 por 52 y 53% hélices, 26-34% coil y 6% hoja plegada. Las Hsp juegan un rol importante en los insectos debido a su tamaño y corto ciclo de vida, pues la temperatura influye en su distribución y abundancia.

Palabras clave: hidrofobicidad, modelo computacional, estructura terciaria, Hsp70, Hsp90, *Bemisia tabaci*.

Introducción

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemíptero: Aleyrodidae) es un insecto plaga polífago, vector de virus en diversos cultivos alrededor del mundo. Se distribuye en ambientes cálidos con períodos cortos de temperaturas extremas, presenta mecanismos para adaptarse y expandirse a nuevas zonas. Se han identificado biotipos en diferentes áreas del mundo, lo cual sugiere que *B. tabaci* es un complejo de especies que sometidas a cambios pueden evolucionar (Muñoz *et al.*, 2013). Su resistencia a las altas temperaturas ha favorecido su expansión a nuevas regiones (Juviano, *et al.*, 2011), presenta más de 10 biotipos, se sabe que el estrés por calor genera diferencias en la expresión génica (Mahadav *et al.*, 2009), las hembras son más tolerantes que los machos al calor (Lü & Wan, 2011), la dispersión, distribución y dinámica población está relacionada con las proteínas de choque térmico (Cui *et al.*, 2008).

Las proteínas del choque térmico conocidas con la denominación Hsp (del inglés, *heat shock proteins*) son un grupo de proteínas que han sido identificadas en las células de todos los organismos tanto procariotas como eucariotas (Xu, & Wick, 1996). Son proteínas evolutivamente ancestrales y altamente conservadas en su secuencia de aminoácidos, regulación y funciones bioquímicas (Lindquist & Craig, 1988), indicativo de su función esencial en la supervivencia celular. Estas proteínas intervienen durante la síntesis proteica, uniéndose a péptidos nacientes para dirigir su plegamiento, lo que garantiza su estructura tridimensional y correcto funcionamiento (Sáenz *et al.*, 2011). Las proteínas de choque térmico son expresadas constitutivamente y en respuesta a estrés celular. En condiciones normales constituyen el 5% de las proteínas intracelulares totales y bajo condiciones de estrés pueden aumentar su nivel hasta un 15% o más (Srivastava, 2002).

Las Hsp se asocian a condiciones de estrés térmico, estrés ambiental (radiación ultravioleta, metales pesados), patológico (infección o malignidad) y estímulos fisiológicos (factores de crecimiento o diferenciación celular) entre otros, fenómeno conocido como respuesta al estrés (Tsan & Gao, 2004). Este fenómeno involucra la inhibición de muchos de los genes de expresión constitutiva y activación de genes de estrés, los cuales, o no se transcriben o lo hacen a niveles muy bajos (Verbeke *et al.*, 2001; Gao *et al.*, 2004).

La clasificación de las Hsp se ha realizado dentro de grupos de acuerdo a su filogenia y estructura (Sghaier *et al.*, 2004). Entre las Hsp de alto peso molecular (≥ 100 kD) se encuentran la Hsp90 (81 a 90 kD) y Hsp70 (65 a 80 kD) (Macario & Conway, 2005). Las Hsp70 son las más conservadas en la evolución, son constitutivas y participan en procesos de maduración y transporte de otras proteínas celulares, eliminación de proteínas desnaturalizadas y actividad ATPasa (Xu & Wick, 1996), mientras las Hsp90 son responsables del montaje y la regulación de muchos sistemas de señalización en eucariotas, el déficit de su función produce alteraciones en la evolución del ciclo celular (Ali *et al.*, 2006).

En el caso particular de los insectos, en diversos órdenes (dípteros, lepidópteros, coleópteros, hemípteros e himenópteros) se ha observado que a diferencia de la mayoría de las respuestas al estrés, en las

que todas las proteínas de choque térmico aumentan su expresión, durante la diapausa, algunas formas aumentan su expresión (Hsp70, Hsp60 y las Hsp pequeñas), mientras que otras (Hsp90) disminuyen su expresión. Esto sugiere una doble función de ciertos tipos de Hsp bajo estas dos condiciones (Rinehart *et al.*, 2007).

En este estudio se analizó la estructura primaria, se predijo la estructura secundaria, y se elaboraron modelos de estructura terciaria de las proteínas Hsp70 y Hsp90 de mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemíptero: Aleyrodidae). Se presentan evidencias de la importancia de estas Hsp en la adaptación de este insecto plaga a diferentes ambientes.

Materiales y métodos

Se obtuvieron las secuencias aminoacídicas para las proteínas Hsp70 (ADG03468.1) y Hsp90 (ADO14474.1) en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) utilizadas en este estudio.

Análisis de la estructura primaria y alineamiento

Para la determinación de los perfiles de hidrofobicidad, polaridad, accesibilidad y flexibilidad se utilizó el programa "ProScale" de ExPASy (Gasteiger *et al.*, 2005). La obtención de los perfiles de hidrofobicidad fue realizada mediante el algoritmo de Kyte-Doolittle, el cual emplea una escala que otorga valores de hidrofobicidad para cada uno de los aminoácidos con variaciones entre 3,5 (glutamato) y 4,2 (valina). Para la obtención de los perfiles de polaridad se empleó el algoritmo de Zimmerman, que utiliza una escala que asigna valores de polaridad para cada uno de los aminoácidos, con variaciones entre 0,0 (alanina) y 52 (arginina). En el caso del porcentaje de accesibilidad fue utilizada una escala que asigna porcentajes a cada uno de los aminoácidos, con variaciones entre 0,3 (lisina) y 0,9 (cisteína) y finalmente para la flexibilidad fue utilizada la escala de Bhaskaran, la cual otorga valores de flexibilidad para cada uno de los aminoácidos, con variaciones entre 0,300 y 0,540 (Gasteiger *et al.*, 2005). En todos los casos los algoritmos consideraron ventanas de 9 aminoácidos. Para la predicción del perfil de antigenicidad se utilizó el programa JaMBW Chapter 3.1.7, este utiliza una escala asignándole un valor a cada uno de los aminoácidos, con variaciones entre 3,4 (triptófano) y 3,0 (arginina) (Hopp & Woods, 1981).

Predicción de la estructura secundaria y caracterización fisicoquímica de Hsp70 y Hsp90

La predicción de la estructura secundaria se realizó utilizando "Proteomics and Sequence Analysis Tools" de ExPASy (Gasteiger *et al.*, 2005). Las secuencias de aminoácidos de Hsp70 y Hsp90 se analizaron con los programas de predicción de estructura secundaria: GOR IV y SOPMA y se compararon entre sí. GOR IV se utilizó para entender la presencia de regiones hélice, hoja plegada y coil en la estructura de la proteína (Garnier *et al.*, 1996). Se optimizó la predicción con el alineamiento SOPMA para analizar los componentes estructurales (Geourjon & Deleage, 1995). El programa ProtParam permite el cálculo de parámetros fisicoquímicos como: el peso molecular, punto isoeléctrico (pI), tiempo de vida, índice alifático, promedio general de hidropaticidad (GRAVY), índice de inestabilidad (II) y estabilidad de la molécula (Gasteiger *et al.*, 2005).

Predicción de la estructura terciaria de las Hsp

Se obtuvo el archivo PDB de las Hsp de *B. tabaci* utilizando el servidor ESyPred3D (Lambert *et al.*, 2002). Para la predicción de la estructura terciaria se empleó el programa HHpred (Soding, 2005). Para visualizar la estructura tridimensional, se emplearon los programas Swiss-pdb Viewerversión 4.0.1 (spdbv 4.0.1) (Guex & Peitsch, 1997) y RasMol 2.6 (Sayle & Milner, 1995). Para validar la proteína se utilizó el servidor SAVS (Structure Analysis and Verification Server, <<http://nihserver.mbi.ucla.edu/SAVS/>>) se validó la estructura 3D obtenida de las proteínas con los programas *Procheck*, *What_check* y *errata* (Herrera *et al.*, 2008).

Resultados y discusión

Análisis de la estructura primaria

La mosca blanca *B. tabaci*, se caracteriza por presentar una alta tolerancia al calor, es así como los niveles de expresión de la Hsp70 después de un choque térmico a 44 °C aplicado a individuos de esta especie fue mayor en machos que en hembras, disminuyendo la tasa de supervivencia de estas últimas. La tasa de supervivencia de las hembras y machos no mostró cambios significativos después de haber sido alimentados con Hsp90 (Lü & Wan, 2011). La secuencia de la proteína Hsp70 de *B. tabaci* tiene un tamaño de 653 aminoácidos y la Hsp90 de 720.

En cuanto a la hidrofobicidad y polaridad los perfiles obtenidos para Hsp70 y Hsp90 muestran valores bajos de hidrofobicidad y altos de polaridad (Figura 1), de esta manera, esta proteína tiene pocas regiones hidrofóbicas relacionándose con los perfiles de polaridad. Presenta altos valores de flexibilidad y accesi-

bilidad, indicando que son moléculas flexibles y con regiones de alta accesibilidad (Figura 2), es claro que las Hsp tienen función de chaperonas moleculares, dado que la flexibilidad les permite adaptarse más fácilmente a las proteínas sustrato a las que se unen para protegerlas (Sáenz *et al.*, 2011).

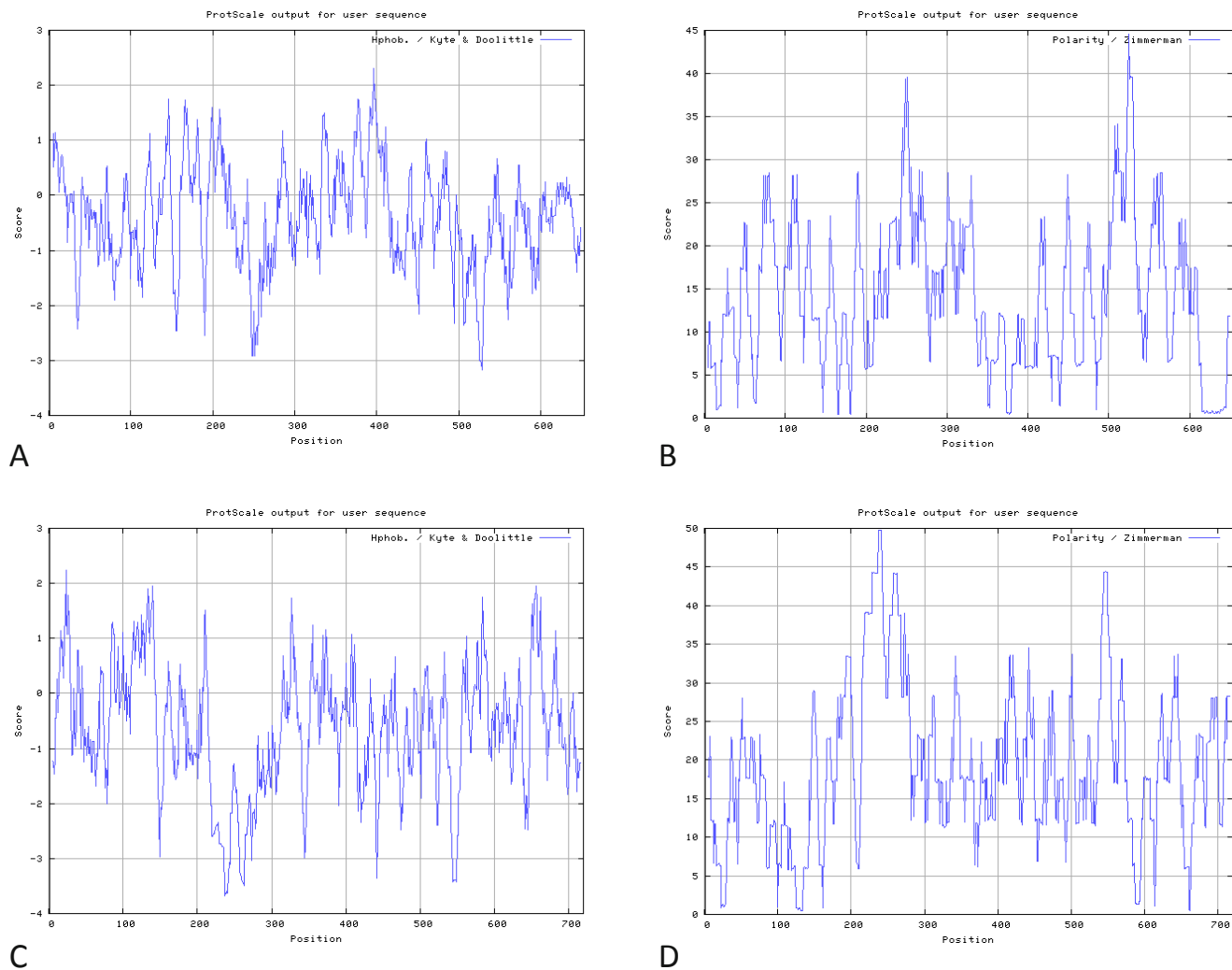


Figura 1. Perfiles de hidrofobicidad y polaridad. Hidrofobicidad según algoritmo de Kyte-Doolittle A: Hsp70, B: Hsp90. Polaridad según algoritmo de Zimmerman C: Hsp70, D: Hsp90.

Respecto a los perfiles de antigenicidad, se considera que los picos de la curva están asociados a determinantes antigénicos (Hopp & Woods, 1981). Los perfiles obtenidos se muestran en la Figura 3, se observan regiones antigénicas de la proteína Hsp70 entre los aminoácidos en posición 135-145, 275-285 y 555-560; y para Hsp90 en posición 85-105 y 210-220. Estos perfiles proporcionan información sobre zonas antigénicas de utilidad en corto plazo para la síntesis de péptidos útiles en la pro-

ducción de anticuerpos para realizar ensayos de inmunodetección y cuantificación de la proteína estudiada (Sáenz *et al.*, 2011), dato que puede ser relevante para la producción de plantas con anticuerpos anti-Hsp de *B. tabaci*, teniendo en cuenta que la inyección intracelular de anticuerpos anti-Hsp incrementa la susceptibilidad al choque térmico, el fenotipo termotolerante puede quedar reducido por bloqueo de la síntesis de Hsp a nivel de la transcripción genética (Johnston & Kucey, 1988).

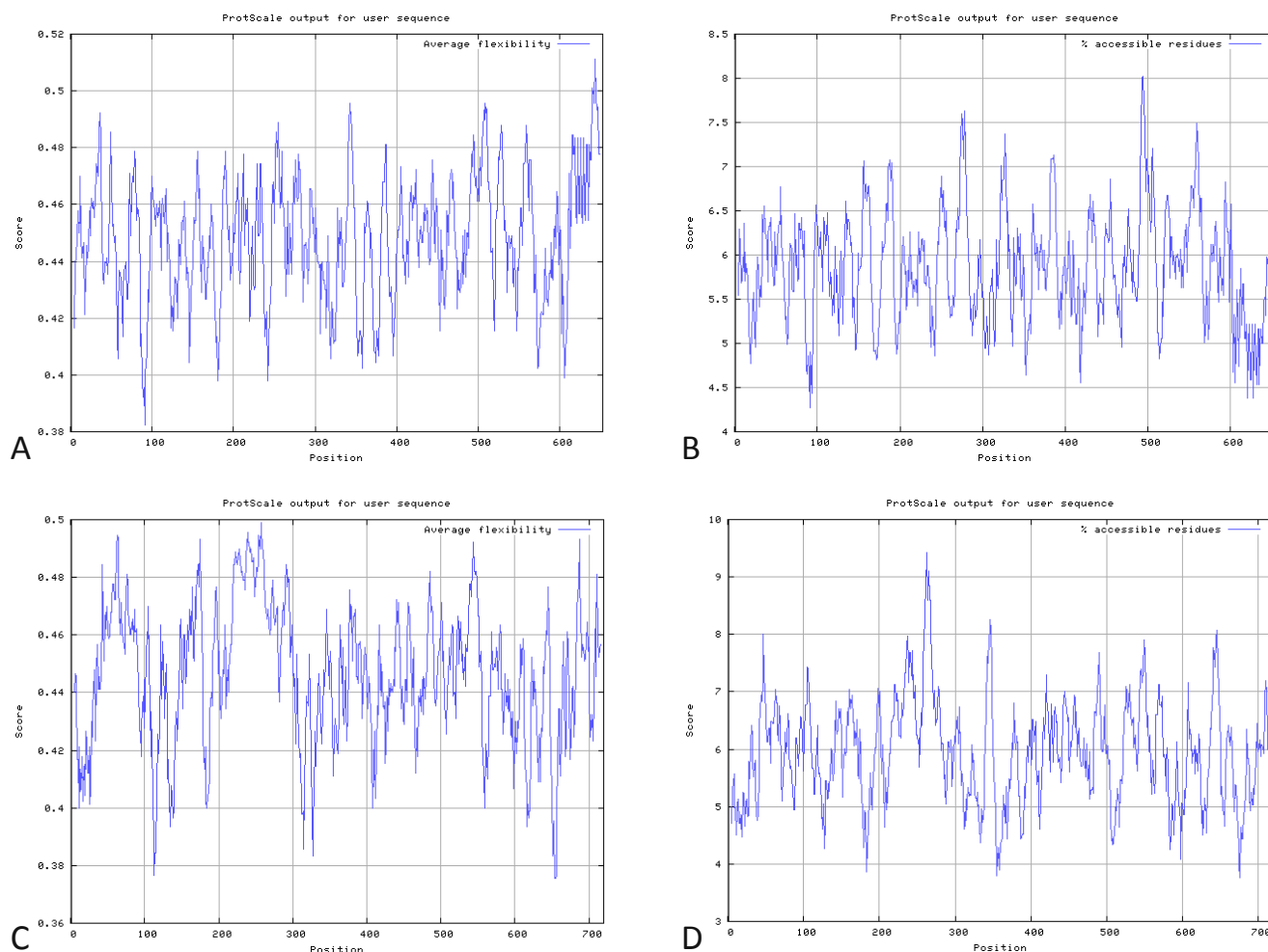


Figura 2. Perfiles de flexibilidad y accesibilidad. Flexibilidad según algoritmo de Bhaskaran A: Hsp70, B: Hsp90. Porcentaje de accesibilidad C: Hsp70, D: Hsp90.

Las Hsp son importantes para el desarrollo de *B. tabaci* en situaciones de estrés como baja intensidad luminosa, altas temperaturas y extrema humedad (DAISIE, 2012). Por lo tanto, una alta termotolerancia de *B. tabaci* a los choques térmicos, evidencia la plasticidad de la especie para sobrevivir a un amplio rango de temperaturas (≥ 25 °C), lo cual contribuye a explicar la expansión de la distribución del biotipo B en áreas y estaciones con períodos de temperaturas extremas altas (Oliveira, 2001). Esto sugiere el desarrollo de mecanismos de protección

y control de este insecto plaga, reconociendo que es un vector de enfermedades virales principalmente del género *Begomovirus* como el virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) y el virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGMV) (Oliveira *et al.*, 2001, Brown & Czosnek, 2002). Se ha observado que la Hsp70 desempeña un papel inhibitorio en la transmisión del virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV), lo que podría relacionarse con la protección contra el begomovirus (Götz *et al.*, 2012).

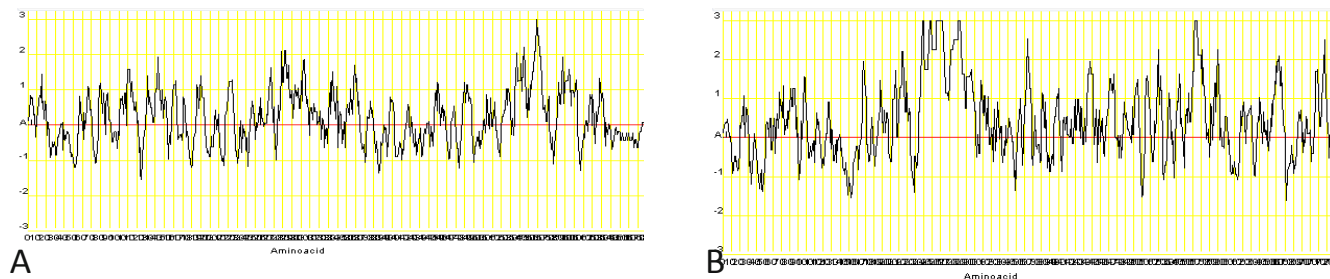


Figura 3. Perfiles de antigenicidad de la proteína de *Bemisia tabaci* Hsp70 y Hsp90. A: Hsp70, se señalan regiones antigénicas comprendidas entre los aminoácidos en posición 135-145 (azul), 275-285 (fucsia) y 555-560 (verde). B: Hsp90, 85-105 se señalan regiones antigénicas comprendidas entre los aminoácidos en posición (azul) y 210-220 (verde).

Predicción de la estructura secundaria y caracterización fisicoquímica de Hsp70 y Hsp90

La predicción de la estructura secundaria a través de SOPMA y GOR IV de Hsp70 y Hsp90 de *B. tabaci*. (Tabla 1) presentó regiones aminoacídicas con disposición en hélice, hoja plegada y coils (Ezomo *et al.*, 2010). Los programas sugieren que Hsp70 de *B. tabaci*

tiene una estructura secundaria compuesta por 42 y 45% en hélice, 30 y 43% en coil y 6 % en hoja plegada. Mientras, Hsp90 de *B. tabaci* tiene una estructura secundaria compuesta por 52 y 53% en hélice, 26 y 34% en coil y 6% en hoja plegada. Las regiones compuestas en hélice dominan sobre las otras formas en las Hsp analizadas.

Tabla 1. Predicción de la estructura secundaria de las proteínas Hsp70 y Hsp90

Proteína	Organismo	Número Accesoión	GOR IV			SOPMA			
			Hh	Ee	Cc	Hh	Tt	Ee	Cc
Hsp 70	<i>Bemisia tabaci</i>	ADG03468.1	41.65	15.77	42.57	44.87	6.28	18.22	30.63
Hsp 90	<i>Bemisia tabaci</i>	ADO14474.1	51.53	14.86	33.51	52.08	6.11	16.11	25.69

Hh: α -hélice (%), Ee: Extensión de la cadena, Cc: Giros (%), Tt: β -plegada (%)

Las proteínas Hsp70 y Hsp90 presentan un peso molecular entre 10,000 y 100,000 Da, generalmente los compuestos que tienen este peso, con índices de estabilidad menores de 40 son moléculas eficaces en el desencadenamiento de una respuesta inmune (Khan, 2009) y presentan un índice de estabilidad que las clasifica como estables (Tabla 2).

El punto isoeléctrico es el pH para el cual una proteína presenta carga neta compensada (igual número de cargas positivas que negativas) y la solubilidad de la proteína es mínima durante ensayos experimentales, facilitando su aislamiento en un campo eléctrico (Werner, 2007). Como muestra la Tabla 2, el pI de Hsp70 y Hsp90 es ácido y los genes de las Hsp tienden a expresarse preferentemente en medio ácido (Freitas *et al.*, 2011).

El tiempo de vida hace referencia al tiempo *in vitro* en tres organismos (humanos, levadura y *Escherichia coli*) permitiendo extrapolar el resultado a organismos similares. El resultado del tiempo de vida de Hsp70 y Hsp90 puede ser útil para la identificación de su residuo N terminal por medio de métodos experimentales (Jinling *et al.*, 2011). El índice alifático define el volumen relativo ocupado por las cadenas laterales alifáticas (alanina, valina, isoleucina y leucina), condición que se puede relacionar con una alta termoestabilidad de las proteínas (Hooda, 2011), característica que podría explicar la estabilidad sobre un amplio rango de temperaturas de *B. tabaci*.

El índice de hidropatía es una medida de la energía (kJ/mol) que se debe usar para transferir un segmento de secuencia de longitud definida de un medio hidrofóbico a un medio hidrofílico, permitiendo obtener indicios sobre la topología, dominios transmembranales y probables sitios antigénicos expuestos en la superficie de la proteína (Werner, 2007). Las Hsp70 y Hsp90 pueden encontrarse altamente hidratadas en medios acuosos, teniendo en cuenta que a más bajo GRAVY hay mayor posibilidad de establecer dicha interacción, esto indica que la Hsp90 (-0,660), es estable a mayor interacción con el agua (Lieberman & Marks, 2009).

Tabla 2. Características bioquímicas de las proteínas Hsp70 y Hsp90 de *B. tabaci* y nueve insectos plaga

Propiedades fisicoquímicas	Hsp70	Hsp90
Peso molecular (Da)	70981.3	82983.3
Punto isoeléctrico	5.39	4.96
Tiempo de vida (horas)	30	30
Índice alifático	81.29	80.14
Promedio general de hidropatía (GRAVY)	-0.385	-0.660
Índice de inestabilidad	39.61	37.38
Estabilidad	Estable	Estable

Predicción de la estructura terciaria

Con los alineamientos realizados en HHpred se obtuvo la secuencia 3D2F del banco de datos de proteínas (pdb, por sus siglas en inglés) correspondiente a la estructura cristalina de un complejo de Hsp70 y secuencias similares a la molécula estudiada, y la secuencia 2CG9 pdb estructura cristalina de un comple-

jo de Hsp90. La predicción de la estructura terciaria se obtuvo a partir de los alineamientos para detectar fragmentos homólogos, que fueron unidos empleando el programa Swiss-pdbViewer. Con ESyPred3D se obtuvieron las proteínas modeladas en 3D (Figura 4), la estructura terciaria de Hsp70 obtenida presenta una identidad del 64.9% con la secuencia en estudio; y el modelo de la estructura 3D de la proteína Hsp90 comparte identidades de 58,5%.

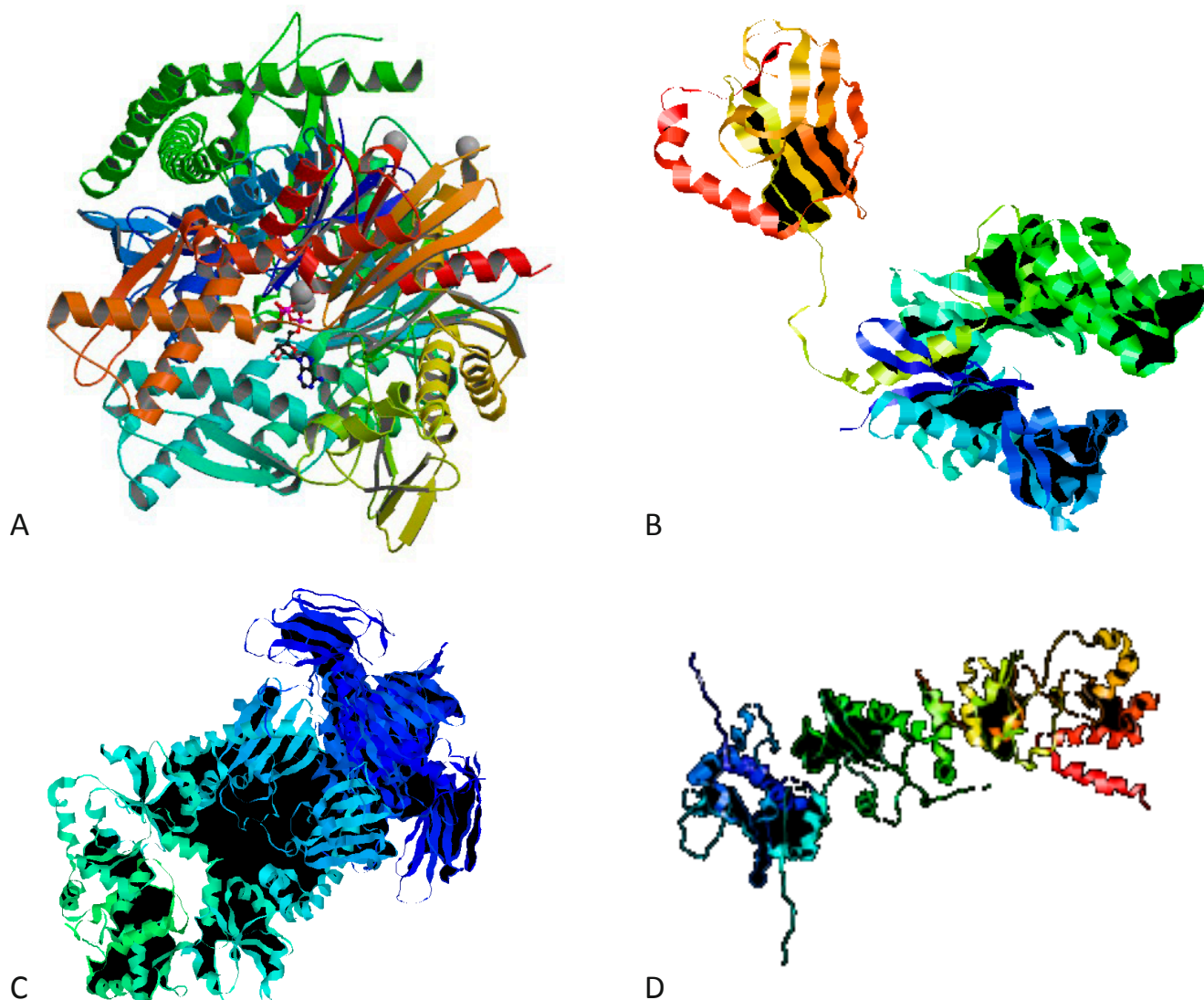


Figura 4. Modelo de la estructura 3D de las proteínas 70 y 90 del choque térmico de *B. tabaci*. (A). Hsp 70 de la secuencia 3D2F de *Sacharomyce cerevisiae*. (B). Hsp70 de *Bemisia tabaci*. (C). Modelo de la estructura 3D de la proteína Hsp90 de la cadena 2CG9 de *Saccharomyces cerevisiae*. (D). Hsp90 *B. tabaci*.

El criterio de validación de la estructura 3D de las proteínas es el de conformación, siendo el Ramachandran la mejor herramienta para la validación. Dado que el rango permitido de ángulos dentro de una estructura es muy restrictivo, los principales ángulos de torsión de la cadena permiten una aproximación a la

probabilidad de la conformación estructural de la proteína (Tosatto & Battistutta, 2007). El análisis Ramachandran (Figura 5) para la Hsp70 valida el modelo, teniendo en cuenta que cumplió esencialmente los parámetros estereoquímicos de una estructura estable con 87,6% de residuos aminoacídicos en la zona

favorecida, con 11,0% de residuos en la zona permitida, y tan solo con 0,8% de residuos fuera de regiones favorecidas. De igual manera, para Hsp90 presenta el

89,1% de los residuos en la zona favorecida, el 9,7% en la zona permitida y el 0,6% fuera de regiones favorecidas.

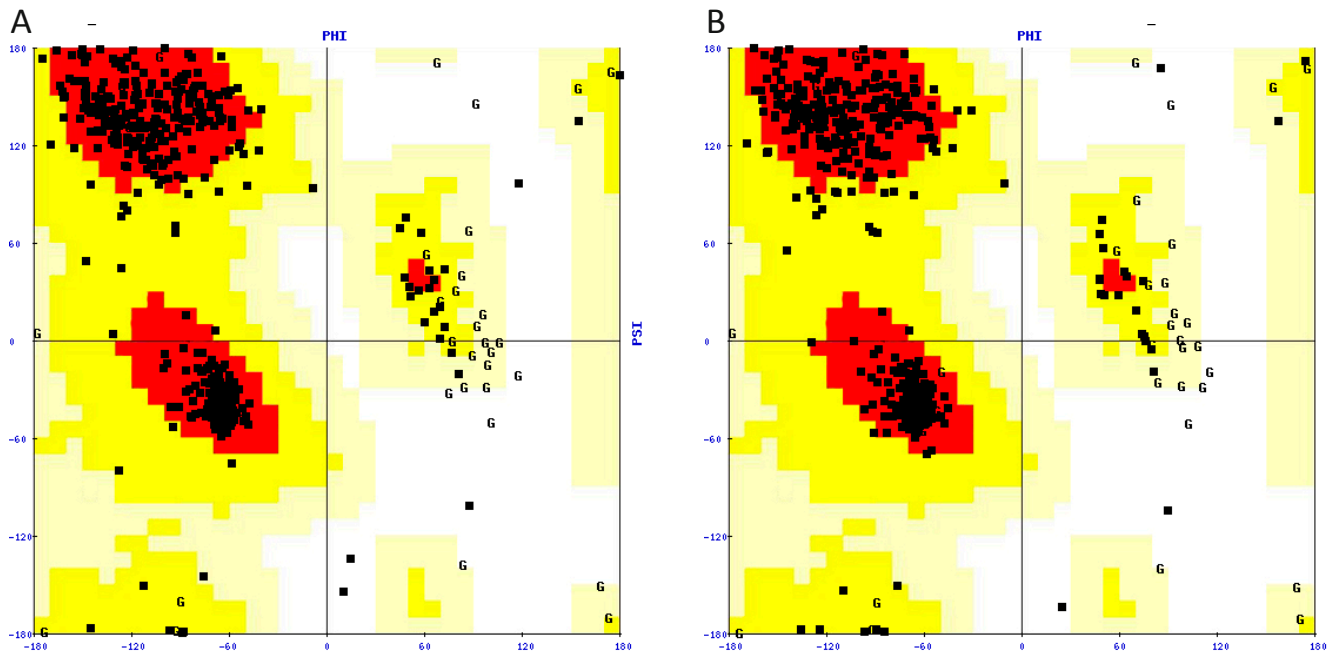


Figura 5. Mapa de Ramachandran para el modelo basado en la estructura cristalográfica. (A). Hsp70 de la secuencia 3D2F (*Saccharomyces cerevisiae*). (B). Hsp90 de la cadena 2CG9 (*Saccharomyces cerevisiae*).

Las proteínas se validaron también con el programa *errata* (Figura 6). Las barras negras en la gráfica de *errata* indican que hay errores estructurales de la Hsp70 entre los residuos 90 a 110, 148 y 290 de la proteína. La Hsp90 presenta errores, igualmente entre los residuos 90 a 110, 190 y 200-220 de la proteína.

mas estructurales. El factor de calidad global muestra el porcentaje de la proteína que tiene valores de error por debajo del 95%. Mientras menos problemas estructurales presente la proteína, mayor es el valor de este parámetro. Las estructuras de alta resolución con pocos problemas estructurales generalmente tienen valores por arriba de 95%, mientras que para las de baja resolución (2.5 a 3 Å) cae alrededor del 91% (Herrera *et al.*, 2008).

Las dos líneas horizontales en la Figura 6 indican límites de confianza para identificar regiones con proble-

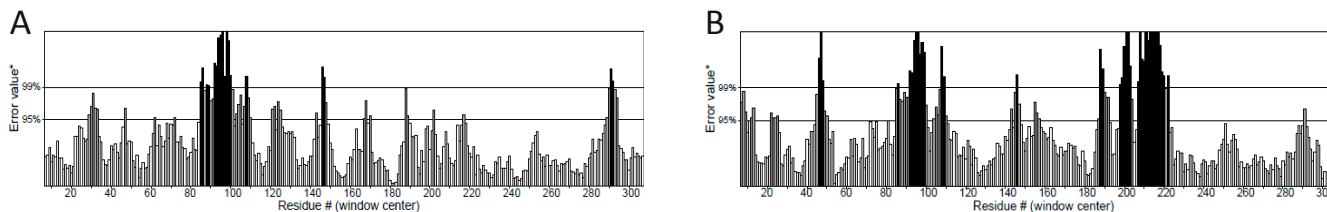


Figura 6. Gráfico generado con el programa *errata* para el modelo basado en la estructura cristalográfica (A): 3D2F pdb y (B): 2CG9 pdb.

El reconocimiento de la estructura tridimensional de una proteína es útil para predecir su funcionamiento, en el caso específico de los insectos las Hsp juegan un papel importante en la regulación de la temperatura, debido a su tamaño y corto ciclo de vida, pues la temperatura es el principal factor que influye en la distribución y abundancia de estos individuos, en el caso de *B. tabaci* el biotipo B presenta una rápida dis-

persión en áreas cálidas, lo que sugiere el desarrollo de mecanismos de protección a daños producidos por temperaturas estresantes. El nivel de termotolerancia en cada población está condicionado por el nivel de plasticidad fenotípica y no por el régimen de selección térmica. Esto explica el potencial invasivo de esta plaga en ambientes tropicales y su expansión mundial (Díaz *et al.*, 2013).

Merece especial atención el control de poblaciones de *B. tabaci*, este insecto plaga se expande hacia nuevos ambientes, con diferencias de temperaturas importantes, lo que explica la rápida distribución, adaptación y desarrollo en zonas cálidas del trópico de esta mosca. Es evidente la tolerancia a altas temperaturas, explicando así la habilidad de la especie para sobrevivir y proliferar en condiciones de estrés térmico (Juvinao *et al.*, 2011). De tal manera, estudios que revelen el mecanismo de acción de la funcionalidad de las proteínas Hsp70 y Hsp90 en *B. tabaci* podrían ser la base para entender los mecanismos que proporcionan una respuesta al estrés fisiológico en estos insectos plaga.

Conclusiones

En las proteínas Hsp70 y Hsp90 de *B. tabaci* dominan las regiones en hélices alfa desde 42 a 53% con respecto a la lámina beta de 6%. Se elaboraron modelos computacionales de las estructuras secundarias y terciarias de las proteínas Hsp70 y Hsp 90. A través de la estructura primaria se encontró que la hidrofobicidad, polaridad, flexibilidad y % accesibilidad, les confieren la propiedad a esta proteína de adaptarse más fácilmente a las proteínas sustrato para protegerlas.

Se propone el primer modelo tridimensional de las proteínas Hsp70 y Hsp90 de *B. tabaci*, con las regiones funcionales, las cuales podrían utilizarse en estudios comparativos con las estructuras 3D, de estas mismas proteínas de otros insectos plaga para explicar la adaptación de *B. tabaci* a condiciones ambientales extremas de temperatura.

Referencias

- Ali, M. M., Roe, S. M., Vaughan, C. K., Meyer, P., Panaretou, B., Piper, P. W., & Pearl, L. H. (2006). Crystal structure of an Hsp90–nucleotide–p23/Sba1 closed chaperone complex. *Nature*, *440*(7087), 1013-1017.
- Brown, J. K., & Czosnek, H. (2002). Whitefly transmission of plant viruses. *Advances in botanical research*, *36*, 65-100.
- Cui, X., Wan, F., Xie, M., & Liu, T. (2008). Effects of heat shock on survival and reproduction of two whitefly species, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* biotype B. *Journal of Insect Science*, *8*.
- Daisie, European Invasive Alien Species gateway, *Bemisia tabaci*. Consultado 26 de Junio, 2014. Disponible en: <http://www.europe-aliens.org/pdf/Bemisia_tabaci.pdf>
- Díaz, F., Muñoz, V., Juvinao, D., Cárdenas, H., Toro, N., Manzano, M., & González, R. (2013). Componentes de varianza fenotípica y heredabilidad de termotolerancia basal e inducida en poblaciones de la mosca blanca *Bemisia tabaci* biotipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). 40° Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá.
- Ezomo, O. F., Takahashi, K., Horie, Y., Mustak, M. S., & Meshitsuka, S. (2010). Circular Dichroism Studies on C-terminal Zinc Finger Domain of Transcription Factor GATA-2. *Yonago. Acta Medica*, *53*(1), 25-28.
- Freitas, J. S., Silva, E. M., Leal, J., Gras, D. E., Martínez-Rossi, N. M., dos Santos, L. D., & Rossi, A. (2011). Transcription of the Hsp30, Hsp70, and Hsp90 heat shock protein genes is modulated by the PalA protein in response to acid pH-sensing in the fungus *Aspergillus nidulans*. *Cell Stress and Chaperones*, *16*(5), 565-572.
- Gao, H., Wang, Y., Liu, X., Yan, T., Wu, L., Alm, E., & Zhou, J. (2004). Global transcriptome analysis of the heat shock response of *Shewanella oneidensis*. *Journal of Bacteriology*, *186*(22), 7796-7803.
- Garnier, J., Gibrat, J. F., Robson, B., & Doolittle, R. (1996). GOR secondary structure prediction method version IV. *Methods in Enzymology*, *266*, 540-553.
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2005). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. In: *The proteomics protocols handbook* (pp. 571-607). Humana Press.
- Geourjon, C., & Deleage, G. (1995). SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments. *Computer applications in the biosciences: Cabios*, *11*(6), 681-684.
- Götz, M., Popovski, S., Kollenberg, M., Gorovits, R., Brown, J. K., Cicero, J. M., & Ghanim, M. (2012). Implication of *Bemisia tabaci* heat shock protein 70 in Begomovirus-whitefly interactions. *Journal of Virology*, *86*(24), 13241-13252.

- Guex, N., & Peitsch, M. C. (1997). SWISS-MODEL and the Swiss-Pdb Viewer: an environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis*, 18(15), 2714-2723.
- Herrera, O. F., Gómez, J. L. R., Montes, F. M., Sánchez, G. G., Campos, E. S., & Pardo, J. P. (2008). Las herramientas del modelado molecular. *Mensaje bioquímico*, 32.
- Hooda, V. (2011). Physicochemical, Functional and structural characterization of wheat germin using in silico methods. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 3(1), 35-41.
- Hopp, T. P., & Woods, K. R. (1981). Prediction of protein antigenic determinants from amino acid sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(6), 3824-3828.
- Jinling, C., Dandan, Z., Pei, S., Wei, S., Gengfu, X., Yinong, D., & Ying, Z. (2011). Bioinformatics analysis on ORF1 protein of Torque teno virus (SANBAN isolate). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(11), 850-856.
- Johnston, R. N., & Kucey, B. L. (1988). Competitive inhibition of hsp70 gene expression causes thermosensitivity. *Science*, 242(4885), 1551-1554.
- Juvinao, D., Díaz, F., Toro, N., Cárdenas, H., Manzano, M., & González, R. (2011). Análisis de la termotolerancia basal e inducida de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotipo B a partir de rasgos implicados en el "fitness". *Revista De La Asociación Colombiana De Ciencias Biológicas* vol. 23 (1), p. 126.
- Khan, F. H. (2009). *The elements of immunology*. Pearson Education India.
- Lambert, C., Léonard, N., De Bolle, X., & Depiereux, E. (2002). ESYPred3D: Prediction of proteins 3D structures. *Bioinformatics*, 18(9), 1250-1256.
- Lieberman, M., & Marks, A. D. (2009). *Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Lindquist, S., & Craig, E. A. (1988). The heat-shock proteins. *Annual Review of Genetics*, 22(1), 631-677.
- Lü, Z. C., & Wan, F. H. (2011). Using double-stranded RNA to explore the role of heat shock protein genes in heat tolerance in *Bemisia tabaci* (Gennadius). *The Journal of Experimental Biology*, 214(5), 764-769.
- Macario, A. J., & de Macario, E. C. (2005). Sick chaperones, cellular stress, and disease. *New England Journal of Medicine*, 353(14), 1489-1501.
- Mahadav, A., Kotsedalov, S., Czosnek, H., & Ghanim, M. (2009). Thermotolerance and gene expression following heat stress in the whitefly *Bemisia tabaci* B and Q biotypes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39(10), 668-676.
- Muñoz-Valencia, V., Díaz-González, F., Manzano-Martínez, M. D. R., Toro-Perea, N., & Cardenas-Henao, H. (2013). Basal and induced thermotolerance to heat shocks in *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 39(1), 18-25.
- Oliveira, M. R. V., Henneberry, T. J., & Anderson, P. (2001). History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, 20(9), 709-723.
- Rinehart, J. P., Li, A., Yocum, G. D., Robich, R. M., Hayward, S. A., & Denlinger, D. L. (2007). Up-regulation of heat shock proteins is essential for cold survival during insect diapause. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(27), 11130-11137.
- Sáenz-Suárez, H., Lareo, L. R., Oribio-Quinto, C., Martínez-Mendoza, J., & Chávez-Zobel, A. (2011). Predicción computacional de estructura terciaria de las proteínas humanas Hsp27, α B-cristalina y HspB8. *Universitas Scientiarum*, 16(1), 15-28.
- Sayle, R. A., & Milner-White, E. J. (1995). RASMOL: biomolecular graphics for all. *Trends in Biochemical Sciences*, 20(9), 374-376.
- Sghaier, H., Ai, T. L. H., Horiike, T., & Shinozawa, T. (2004). Molecular chaperones: proposal of a systematic computer-oriented nomenclature and construction of a centralized database. *In Silico Biology*, 4(3), 311-322.

- Söding, J. (2005). Protein homology detection by HMM–HMM comparison. *Bioinformatics*, 21(7), 951-960.
- Srivastava, P. (2002). Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, 2(3), 185-194.
- Tosatto, S. C., & Battistutta, R. (2007). TAP score: torsion angle propensity normalization applied to local protein structure evaluation. *BMC Bioinformatics*, 8(1), 155.
- Tsan, M. F., & Gao, B. (2004). Cytokine function of heat shock proteins. *American Journal of Cell Physiology*, 286(4), C739-C744.
- Verbeke, P., Fonager, J., Clark, B. F., & Rattan, S. I. (2001). Heat shock response and ageing: mechanisms and applications. *Cell Biology International*, 25(9), 845-857.
- Werner, M. S. (2007). *Biología: Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida*. Reverté. Barcelona, España.
- Xu, Q., & Wick, G. (1996). The role of heat shock proteins in protection and pathophysiology of the arterial wall. *Molecular Medicine Today*, 2(9), 372-379.