

НЕЙРОПЕПТИДЫ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ*

Проблема прямого применения нейропептидов в качестве препаратов для регуляции численности насекомых заключается в их низкой устойчивости к действию пептидаз. С целью повышения химической устойчивости нейропептидных агонистов разработаны псевдопептиды на основе замен некоторых аминокислотных остатков в молекуле. Такие псевдопептиды обладают повышенной биодоступностью, устойчивостью к пептидазной деградации и успешно применены для контроля численности насекомых-вредителей (Nachman et al., 2001; 2002; 2008; 2009).

Известно, что ингибирование нейропептида PBAN у насекомых может привести к ингибированию биосинтеза нейропептида SP (sex peptide). Было показано, что циклические формы нейропептидов могут выступать в качестве антагонистов GPCR-рецепторов у насекомых (Nachman et al., 1991; Zeltser et al., 2001). На основе этой идеи был разработан метод управления численностью моли *Heliothis peltigera* путем применения ВВС-NBA антагониста (backbone cyclic neuropeptide-based antagonist) GPCR-рецептора PBAN, созданного на основе зацикливания молекулы нейропептида PBAN. Было показано, что нейропептид PBAN в циклической форме приобрел устойчивость к деградации пептидазами и полностью ингибировал биосинтез нейропептида SP у моли *Heliothis peltigera* в концентрации 1 нмоль (Altstein et al., 1999). В результате этого моль перестала размножаться. В дальнейшем была разработана система ингибирования экспрессии нейропептида SP на основе циклических нейропептидных ВВС-NBA антагонистов GPCR-рецептора PK/PBAN для другого вида моли *Spodoptera littoralis* (Altstein, 2004; Ben-Aziz et al., 2006; Altstein et al., 2007; Nachman et al., 2001). Таким образом, путем применения антагонистов GPCR-рецепторов нейропептидов PBAN и PK/PBAN были разработаны механизмы контроля размножения некоторых видов моли на основе ингибирования биосинтеза нейропептида SP.

*Окончание. Начало см. №6, 2018.

В дальнейшем был разработан способ повышения биодоступности нейропептидов насекомых на основе создания их циклических форм (backbone cyclic — ВВС). Было показано, что циклические формы нейропептида PK/PBAN независимо от их длины и полярности характеризуются повышенной биодоступностью и могут быстро проникать через кутикулу насекомых и активировать целевой орган при нанесении их на поверхность тела в водных и органических растворителях (Hariton et al., 2009a; Hariton et al., 2009b; Hariton et al., 2010). Сходные исследования с использованием циклических ВВС нейропептидных антагонистов GPCR-рецепторов нейропептидов NPY (neuropeptide Y) и GAL (galanin) были проведены на млекопитающих — лабораторных мышцах *Mus musculus musculus* — и клетках нейробластомы человека SMS-KAN и SK-N-MC (Rist et al., 1996; Green et al., 2013). Следовательно, механизм действия циклических ВВС нейропептидных антагонистов GPCR-рецепторов нейропептидов универсален и может быть использован для разных таксонов животных.

Возможно, что на основе анализа структуры ВВС-NBA антагонистов будут созданы новые высокоэффективные антагонисты не пептидной природы, способные взаимодействовать с GPCR-рецепторами нейропептидов и регулировать размножение насекомых в очень низких концентрациях. Данный подход позволит разработать дешевые и экологически безопасные препараты для лечения пчел и управления численностью насекомых-вредителей, таких как малый ульево-й жук *Aethina tumida*, большая восковая моль *Galleria mellonella*, малая восковая моль *Achroia grisella* и шершень обыкновенный *Vespa crabro*, а также паразитических паукообразных: *Varroa destructor*, *Varroa jacobsoni* и *Acarapis woodi*.

На основе регуляции экспрессии нейропептидов, а также применения нейропептидных препаратов агонистов и антагонистов GPCR-рецепторов можно положительно регулиро-

вать развитие интересующих признаков, например: повышать медовую продуктивность и опылительную деятельность пчелиных семей, снижать агрессивность, усиливать гигиеническое поведение пчел. Применение технологии Crispr/Cas9 редактирования генов нейропептидов и их GPCR-рецепторов позволяет создать линии пчел с улучшенными хозяйственно полезными признаками. Показано, что технология Crispr/Cas9 дает возможность сократить время и затраты, связанные с созданием линий пчел и других полезных насекомых с необходимыми признаками (Chen et al., 2016; Nay et al., 2017).

Нейропептиды насекомых образуются в результате процессинга более крупных пре-пропептидов, обычно содержат до 80 аминокислотных остатков и могут продуцироваться нейросекреторными клетками центральной нервной системы, интернейронами, сенсорными и эффекторными нейронами (Nässel, 2002; Nässel, Homberg, 2006). Показано, что при процессинге нейропептидов используются не все имеющиеся сайты расщепления препропептидов (Taghert, Veenstra, 2003; Baggerman et al., 2005). Секреторные нейроны насекомых, производящие нейропептиды, содержат хорошо развитый комплекс Гольджи, а их аксоны заканчиваются аксовазальными синапсами. Разные нейропептиды могут синтезироваться разным числом нейронов, и их число различается у разных видов насекомых. Известно, что различные нейроны могут транскрибировать различное число нейропептидов, которые могут быть дифференциально распределены в одной и той же клетке.

Нейропептиды насекомых также могут быть экспрессированы вне центральной нервной системы: в эндокринных клетках кишечного тракта, нейроэндокринном комплексе *corpus cardiacum-corpora allata* (CC/CA), нейрогемальных и перивисцеральных органах, окончаниях аксонов на передней аорте, периферических нервах и мышцах тела и кишечника (Ewer, Reynolds, 2002; Nässel, 2002; Predel et al., 2004). Часто нейропептиды насекомых представлены несколькими различающимися формами — изопептидами (23 изопептида FMRFa у *Periplaneta americana*), хотя иногда бывают представлены и в единственной форме (Predel et al., 2004). Точное число нейропептидов насекомых может быть определено только на основе анализа пептидома методами масс-спектрометрии (Hummon et al., 2006).

Гены некоторых нейропептидов могут быть потеряны в ходе эволюции у разных видов, а других — диверсифицированы с образованием множества ортологов. Так, одни нейропептиды и их GPCR-рецепторы отсутствуют у разных видов насекомых, а другие — встречаются в нескольких изоформах в пределах одного вида. Некоторые нейропептиды могут активировать несколько GPCR-рецепторов. Кроме того, одна и та же молекула рецептора может соединяться с различными G-белками в разных типах клеток, что может привести к разным результатам. В конечном итоге в интернейронах проходит формирование сложной устойчивой нейропептидной сети, которая соединяет все сенсорные и эффекторные нейроны. На основе подобных интернейронных нейропептидных сетей происходит процесс обучения и формирование памяти у насекомых.

Информация о всех известных нейропептидах насекомых и их GPCR-рецепторах депонирована в специализированную базу данных нейропептидов насекомых (Database for Insect Neuropeptide Research — DINeR) (<http://www.neurostresspep.eu/diner/>). Нейропептиды 400 видов насекомых в базе данных DINeR классифицированы по 50 семействам и имеют стандартизованную номенклатуру (Yeoh et al., 2017).

Знания о механизмах функционирования нейропептидов могут быть полезны при разработке препаратов нейропептидной природы для регуляции жизненно важных функций организма. Большие достижения в изучении нейропептидов и их GPCR-рецепторов были получены в фармацевтике при разработке лекарственных препаратов для человека на основе нейропептидов млекопитающих. Предполагается, что в дальнейшем разработки фармацевтики в области нейропептидов могут быть использованы для создания высокоактивных и экологически безопасных лекарств для медоносной пчелы и средств борьбы с насекомыми — вредителями пчел и паразитическими паукообразными — переносчиками вирусов пчел (Altstein, Nässel, 2010). Сейчас в России изучению нейропептидов пчел уделяется очень мало внимания. Обзор литературы показал, что практически нет русскоязычной литературы по данной тематике. Надеемся, что данная статья усилит интерес к проблеме.

Работа была проведена при поддержке Совместной исследовательской программы развития сельского хозяйства и технологий (Cooperative Research Program for Agriculture Science

and Technology Development) (номера проектов: PJ012285 и PJ012526), а также стипендии для научных исследований докторов наук Инчхонского национального университета Южной Кореи (postdoctoral fellowships of Incheon National University, Incheon, South Korea).

*^{1,2}Р.А.ИЛЬЯСОВ, ²Г.Ю.ХАН, ²Д.Х.СОНГ, ²С.Х.ЛИМ,
¹Л.Р.ГАЙФУЛЛИНА, ¹Е.С.САЛТЫКОВА,
¹А.Г.НИКОЛЕНКО, **²Х.В.КВОН

¹Институт биохимии и генетики
Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук;

²Колледж естественных наук и биоинженерии
Инчхонского национального университета,
Отдел наук о жизни Инчхон, Южная Корея;

*E-mail: apismell@hotmail.com

**E-mail: hwkwon@inu.ac.kr

Нейропептиды насекомых участвуют в регуляции поведения, размножения, развития, роста и метаболизма. Нейропептиды играют жизненно важную функцию в пчелиной семье, обеспечивая социальное поведение и кастовую дифференциацию особей. В статье рассмотрены современные данные о классификации, строении, функциях и распространении нейропептидов у пчел и других насекомых. Также описаны особенности биосинтеза, процессинга и экспрессии нейропептидов насекомых. Показано, что нейропептиды могут быть успешно использованы для лечения пчел, для борьбы с насекомыми – вредителями и переносчиками болезней пчел. Вся доступная современная информация о нейропептидах пчел и других насекомых и их GPCR-рецепторах депонирована в специализированную базу данных нейропептидов насекомых DINeR.

Ключевые слова: медоносная пчела, насекомые, нейропептиды, G протейн-сопряженные рецепторы (GPCR), классификация нейропептидов, процессинг нейропептидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Altstein M., Nässel D.R. Neuropeptide signaling in insects // *Neuropeptide systems as targets for parasite and pest control*. USA, New York: Springer Science+Business Media, LLC Landes Bioscience. — 2010. — V. 692.
2. Hauser F., Cazzamali G., Williamson M., Blenau W., Grimmekhuijzen C. J.P. A review of neurohormone GPCRs present in the fruitfly *Drosophila melanogaster* and the honey bee *Apis mellifera* // *Progress in Neurobiology*. — 2006. — V. 80. — No. 1. DOI: 10.1016/j.pneurobio. — 2006. — 07. — 005.
3. Hay E.A., Knowles C., Kolb A., MacKenzie A. Using the CRISPR/Cas9 system to understand neuropeptide biology and regulation // *Neuropeptides*. — 2017. — V. 64. DOI: 10.1016/j.npep.2016.11.010.
4. Hewes R.S., Taghert P.H. Neuropeptides and neuropeptide receptors in the *Drosophila melanogaster* genome // *Genome Research*. — 2001. — V. 11. — No. 6. DOI: 10.1101/gr.169901.
5. Jorgensen E.M. Animal evolution: looking for the first nervous system // *Current Biology*. — 2014. — V. 24. — No. 14. DOI: 10.1016/j.cub.2014.06.036.
6. Nachman R.J., Ben Aziz O., Davidovitch M., Zubrzak P., Isaac R.E., Strey A., Reyes-Rangel G., Juaristi E., Williams H.J., Altstein M. Biostable b-amino acid PK/PBAN analogs: agonist and antagonist properties // *Peptides*. — 2009. — V. 30. — No. 3. DOI: 10.1016/j.peptides.2008.11.007.

7. Nässel D.R., Homberg U. Neuropeptides in interneurons of the insect brain // *Cell and Tissue Research*. — 2006. — V. 326. — No. 1. DOI: 10.1007/s00441-006-0210-8.

8. Predel R., Wegener C., Russell W.K., Tichy S.E., Russell D.H., Nachman R.J. Peptidomics of CNS-associated neurohemal systems of adult *Drosophila melanogaster*: a mass spectrometric survey of peptides from individual flies // *Journal of Comparative Neurology*. — 2004. — V. 474. — No. 3. DOI: 10.1002/cne.20145.

9. Schoofs L., De Loof A., Van Hiel M.B. Neuropeptides as regulators of behavior in insects // *Annual Review of Entomology*. — 2017. — V. 62. — No. 1. DOI: 10.1146/annurev-ento-031616-035500.

10. Xu G., Gu G.X., Teng Z.W., Wu S.F., Huang J., Song Q.S., Ye G.Y., Fang Q. Identification and expression profiles of neuropeptides and their G protein-coupled receptors in the rice stem borer *Chilo suppressalis* // *Scientific Reports*. — 2016. — V. 6. — No. 1. DOI: 10.1038/srep28976.

11. Yew J.Y., Wang Y., Barteneva N., Dikler S., Kutz-Naber K.K., Li N., Kravitz E.A. Analysis of neuropeptide expression and localization in adult *Drosophila melanogaster* central nervous system by affinity cell-capture mass spectrometry // *Journal of Proteome Research*. — 2009. — V. 8. — No. 3. DOI: 10.1021/pr800601x.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ: Ильясов Рустем Абузарович, д-р биол. наук, ст. науч. сотр., тел.: +7 (347) 235-60-88; Хан Ги Юн, магистр, Web: <http://life.inu.ac.kr>, тел.: +82-32-835-8090, e-mail: bkdgy93@gmail.com; Сонг Джун Хун, магистр, e-mail: whdgn4218@naver.com; Лим Су Хо, магистр, e-mail: 93sooho@gmail.com; Гайфуллина Луиза Римовна, канд. биол. наук, науч. сотр., тел.: +7 (347) 235-60-88, e-mail: lurim78@mail.ru; Салтыкова Елена Станиславовна, д-р биол. наук, ст. науч. сотр., e-mail: saltykova-e@yandex.ru; Николенко Алексей Геннадьевич, д-р биол. наук, проф., зав. лабораторией биохимии адаптивности насекомых, тел.: +7 (347) 235-60-88, e-mail: a-nikolenko@yandex.ru; Квон Хюн Вук, д-р биол. наук, проф., зав. лабораторией сенсорной нейробиологии и биомоделирования, директор научно-исследовательского центра насекомых — переносчиков болезней Инчхонского национального университета, e-mail: hwkwon@inu.ac.kr.

NEUROPEPTIDES IN THE HONEYBEE

R.A.Ilyasov, Han G.Y., Song J.H., Lim S.H., L.R.Gaifullina,
E.S.Saltykova, A.G.Nikolenko, Kwon H.W.

Neuropeptides of insects involved in the regulation of the behavior, reproduction, development, growth and metabolism. Neuropeptides play a vital role in the life of a honeybee colonies, providing social behavior and caste differentiation of individuals. In this paper, current data on the classification, structure, functions, and distribution of neuropeptides in insects have reviewed. Also, the article describes the features of biosynthesis, processing and expression of honeybee and other insect neuropeptides. We have shown that neuropeptides can be used successfully to the treatment of bees and also to control pest-insects of honeybees and parasitic arachnids - bee disease vectors. All available up-to-date information of honeybee and other insect neuropeptides and their GPCR receptors deposited into the specialized database of insect neuropeptides DINeR (Database for Insect Neuropeptide Research). Keywords: honeybee, insects, neuropeptides, G protein-coupled receptors, GPCR, classification of neuropeptides, processing of neuropeptides.