

## ALLATOSTATYNY – PLEJOTROPOWE NEUROHORMONY OWADÓW

ALLATOSTATINS – PLEIOTROPIC INSECT NEUROHORMONES

Jan LUBAWY<sup>1</sup>, Elżbieta CZARNIEWSKA<sup>1</sup>,  
Mariola KUCZER<sup>2</sup>, Grzegorz ROSIŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt, Instytut Biologii  
Eksperymentalnej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza

<sup>2</sup> Zakład Chemii Organicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski

*Streszczenie:* Ważnymi czynnikami regulującymi procesy wzrostu i rozwoju, rozrodu oraz behawioru u owadów są neurohormony produkowane przez układ neuro-endokrynowy. Szybki rozwój technik analitycznych przyczynił się w ostatnich latach do odkrycia ponad 30 rodzin różniących się strukturalnie i funkcjonalnie neurohormonów peptydowych, wśród których dużą grupę stanowią allatostatyny. W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczący funkcji fizjologicznych, jakie pełnią u owadów trzy odrębne strukturalnie rodziny allatostatyn: MIP/AST, PISCF/AST oraz FGL/AST. Peptydy z tych grup wykazują gatunkowo i narządowo zróżnicowaną aktywność pleiotropową, charakteryzującą się oddziaływaniem allatoinhibicyjnym, miotropowym, kardiotropowym, czy hemocytotropowym. Ostatnio wskazano na możliwość praktycznego wykorzystania syntetycznych analogów pseudopeptydowych i peptydomimetyków allatostatyn jako bioinsektycydów w walce z niektórymi gatunkami owadów.

*Słowa kluczowe:* owady, allatostatyny, aktywność fizjologiczna

*Summary:* In insects, neurohormones produced by the neuro-endocrine system are important factors regulating processes of growth and development, reproduction and behavior. In recent years, the rapid development of analytical techniques has contributed to the discovery of more than 30 families of peptide neurohormones differing structurally and functionally of which a large group are allatostatins. In this paper, the current state of knowledge about the physiological functions of three structurally distinguished families of allatostatins MIP/AST, PISCF/AST and FGL/AST in insects is presented. Peptides from these groups have diverse pleiotropic, species and organ specific activities, causing allatotropic, myotropic, cardiotropic or haemocytotropic effects. Recently, there have been indications of practical possibilities of usage of synthetic pseudopeptide and peptidomimetic analogues of allatostatins as biopesticides against insect pests.

*Key words:* insects, allatostatins, physiological activity

## WSTĘP

Procesy fizjologiczne u owadów, takie jak wzrost i rozwój, rozród oraz funkcje narządów trzewnych regulowane są przez układ neuro-endokrynowy [46]. Kontroli neuro-endokrynowej podlegają m.in. cykl linieniowy, metamorfoza, cykl rozrodczy, aktywność kurczliwa serca, jajowodu, przewodu wytryskowego, metabolizm substancji zapasowych (lipidów, węglowodanów, białek) w tkance ciała tłuszczowego, homeostaza trehalozy i diglicerydów w hemolimfie, czy też ubarwienie ciała. Głównymi strukturami neuroendokrynowymi produkującymi różne grupy neurohormonów peptydowych są komórki neurosekrecyjne mózgu, zwoju frontalnego, systemu retrocerebralnego *corpora cardiaca/corpora allata* (CC/CA) oraz komórki neurosekrecyjne zwojów brzuszno-łancuszkowego i układu perisympatycznego [11, 35, 36].

Szybki rozwój technik analitycznych, takich jak HPLC, spektrometrii mas oraz technik biologii molekularnej przyczynił się do odkrycia ponad 30 rodzin różnych neuropeptydów. W bazie NCBI znajduje się obecnie ponad 500 zidentyfikowanych neuropeptydów owadów, które zaliczamy do kilkunastu odrębnych, różniących się strukturalnie i funkcjonalnie rodzin neurohormonów. Jedną z dużych grup zidentyfikowanych neurohormonów owadów są allatostatyny, które odkryto u karaczanów, termitów, motyli, muchówek, patyczaków, szarańczaków, pluskwiaków i świerszczy. Wśród tych neurohormonów wyróżniono trzy rodziny peptydów, różniących się między sobą strukturalnie, które jednak łączy aktywność allatostatyczna, polegająca na ich zdolności do inhibicji syntezy hormonu juwenilnego w *corpora allata* [12, 37]. Poza wywoływaniem allatoinhibicyjnego efektu wiele z tych neurohormonów wykazuje aktywność plejotropową i wpływa na szereg procesów fizjologicznych u owadów, regulując kurczliwość mięśni trzewnych, czy też syntezę enzymów trawiennych [12]. Lorenz i wsp. [32] po raz pierwszy wyróżnili wśród allatostatyn trzy odrębne rodziny peptydów i określili je literami A, B i C. W naszej pracy jednak będziemy używać nomenklatury opracowanej przez Coasta i Schooley'a [12], którzy uznali określenia literowe allatostatyn A, B i C za niefortunne, gdyż nie odnoszą się one ani do właściwości biologicznych, ani do budowy łańcucha peptydowego tych hormonów. Z tego powodu autorzy ci zaproponowali, aby typ A allatostatyn określić akronimem FGL/AST ze względu na występowanie na C-końcu łańcucha aminokwasowego motywu FGL, typ B określili jako MIP/AST z uwagi na wykazywanie przez należące do tej grupy peptydy działanie mioinhibicyjne w stosunku do mięśni trzewnych, a typ C jako PISCF/AST, wskazując na występowanie na C-końcu łańcucha aminokwasowego motywu PISCF-OH [12]. W niniejszej pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczący struktury i fizjologicznej roli allatostatyn ze wszystkich trzech rodzin. Ponadto, dla potwierdzenia plejotropowe-

go działania tych peptydów zamieszczono wyniki naszych badań pokazujące nowe aktywności fizjologiczne allatostatyny Dippu-AST1 (LYDFGLa) z rodziny FGL/AST oraz Grybi-AS B1 (GWQDLNGGwa) z rodziny MIP.

## NEUROHORMONY Z RODZINY FGL/AST

Należące do tej grupy neuropeptydy stanowią najliczniejszą rodzinę allatostatyn, obejmującą ponad 70 bioanalogów [37]. Peptydy z tej rodziny charakteryzują się specyficzną sekwencją aminokwasów, na C-końcu ich łańcucha peptydowego zawsze występują trzy aminokwasy w następującej kolejności: fenyloalanina, glicyna i leucyna. Uzyskane dotąd dane wskazują, że u pojedynczego gatunku owada może występować więcej niż jeden bioanalog z tej rodziny allatostatyn. Przykładowo, po zidentyfikowaniu pierwszej allatostatyny Dippu-AST1 (LYDFGLa) u karaczana *Diploptera punctata* [67] dalsze badania wykazały występowanie u tego owada 12 dodatkowych izoform należących do rodziny FGL/AST [7]. Peptydy te różnią się sekwencją i długością łańcucha aminokwasowego od N-końca cząsteczki (tab. 1).

Allatostatyny z rodziny FGL-amidu wykazują podobieństwo do somatostatyny i galaniny, hormonów peptydowych kręgowców, które regulują motorykę przewodu pokarmowego oraz wydzielanie hormonów przez przysadkę mózgową [63]. U owadów peptydy z tej rodziny hamują biosyntezę hormonu juvenilnego w *corpora allata* świerszczy [47], termitów [68] i karaczanów [8, 65]. W przypadku karaczanów allatostatyny FGL/AST odpowiedzialne są także za regulację aktywności kurczliwej jelita oraz rytmu pracy serca [62]. U karaczana *Blattella germanica* zaobserwowano, że działanie kardioinhibicyjne tych allatostatyn wykazuje efekt dawko-zależny [62]. Martin i wsp. [38, 39] stwierdzili, że peptydy z rodziny FGL/AST wpływają na proces witelogenezy u *B. germanica*, hamując syntezę witelogenin oraz uwalnianie tych białek z ciała tłuszczowego. Są one ponadto odpowiedzialne za zwiększenie aktywności niektórych enzymów trawienych (sacharazy i  $\alpha$ amylazy) w jelicie *D. punctata* [17]. U *Drosophila melanogaster* neurony i komórki neuroendokrynowe wydzielające allatostatyny FGL/AST odpowiedzialne są za hamowanie pobierania pokarmu oraz zwiększoną awersję muszki owocowej do „niesmacznego” pożywienia [20]. Poza owadami peptydy z tej grupy zidentyfikowano również w innych grupach zwierząt bezkręgowych, takich jak skorupiaki [49] i mięczaki [55]. Badania immunocytochemiczne wykazały, że w komórkach centralnego układu nerwowego ślimaków *Bulinus globosus* (Planorbidae) oraz *Stagnicola elodes* (Lymnaeidae) występują hormony podobne do Dippu-AST1 [55]. Dotychczas jednak nie wyjaśniono, jaką funkcję pełnią te

peptydy u mięczaków, zwłaszcza gdy weźmiemy pod uwagę fakt, że zwierzęta te nie posiadają gruczołów neuro-endokrynowych *corpora allata* oraz, że nie wytwarzają hormonu juvenilnego kontrolującego procesy rozwoju i rozrodu.

TABELA 1. Sekwencje aminokwasowe allatostatyn z rodziny FGL/AST zidentyfikowanych u karaczana *Diploptera punctata*. Opracowano na podstawie Banerjee i wsp. [7], Elliot i wsp. [16], Woodhead i wsp. [67], Pratt i wsp. [50]

TABLE 1. The amino acid sequences of the allatostatins from FGL/AST family identified in cockroach *Diploptera punctata*. Prepared based on Banerjee i wsp. [7], Elliot i wsp. [16], Woodhead i wsp. [67], Pratt i wsp. [50]

AKRONIM PEPTYDU	SEKWENCJA
Dippu-AST1	LYDFGLa
Dippu-AST2	AYSYVSEYKRLPVYNFGLa
Dippu-AST3	SKMYGFGLa
Dippu-AST4	DGRMYSFGLa
Dippu-AST5	DRLYSFGLa
Dippu-AST6	ARPYSFGLa
Dippu-AST7	APSGAQRLYGFGLa
Dippu-AST8	GGSLYSFGLa
Dippu-AST9	GDGRLYAFGLa
Dippu-AST10	PVNSGRSSGSRFNFGLa
Dippu-AST11	YPQEHRSFGLa
Dippu-AST12	PFNFGLa
Dippu-AST13	IPMYDFGLa

## PEPTYDY MIP/AST

Neurohormony z rodziny peptydów MIP/AST, znane również jako allatostatyny typu B, charakteryzują się występowaniem tryptofanu w pozycji 1 i 8 od C-końca łańcucha aminokwasowego (W(X<sub>6</sub>)Wa). Podobnie jak peptydy z rodziny FGL/AST, allatostatyny z grupy MIP/AST posiadają C-koniec łańcucha zakończony resztą amidową (tab. 2).

TABELA 2. Gatunki owadów oraz sekwencje aminokwasowe zidentyfikowanych u nich allatostatyn z rodziny MIP/AST. Opracowano na podstawie: Blackburn i wsp. [9, 10]; Hua i wsp. [22]; Lorenz i wsp. [32, 34]; Predel i wsp. [51], Hoffmann i wsp. [21]; Witek i wsp. [66]; Schoofs i wsp. [56, 57]

TABLE 2. Insect species and the amino acid sequences of identified allatostatins from MIP/AST family. Prepared based on Blackburn i wsp. [9, 10]; Hua i wsp. [22]; Lorenz i wsp. [32, 34]; Predel i wsp. [51], Hoffmann i wsp. [21]; Witek i wsp. [66]; Schoofs i wsp. [56, 57]

GATUNEK	AKRONIM PEPTYDU	SEKWENCJA
<i>Periplaneta americana</i>	Peram-MIP	GWQDLQGGWa
<i>Carausius morosus</i>	Carmo-AS B1 Carmo-AS B2 Carmo-AS B3 Carmo-AS B4 Carmo-AS B5 Carmo-AS B6	AWQDLQGGWa AWQDLNTGWa GWQDLQSGWa AWQDLQGAWa AWQDLQAGWa AWQDLGSAWa
<i>Gryllus bimaculatus</i>	Grybi-AS B1 Grybi-AS B2 Grybi-AS B3 Grybi-AS B4 Grybi-AS B5	GWQDLNGGWa GWRDLNGGWa AWRDLSSGGWa AWERFHGSWa AWDQLRPGWa
<i>Locusta migratoria</i>	Locmi-MIP	AWQDLNAGWa
<i>Drosophila melanogaster</i>	Drostatin-B1 Drostatin-B2 Drostatin-B3 Drostatin-B4 Drostatin-B5	AWQSLQSSWa AWKSMNVAWa EAQGWNKFRGAWa EPTWNNLKGMWa DQWQKLHGGWa
<i>Manduca sexta</i>	Manse-MIP1 Manse-MIP2 Manse-MIP3 Manse-MIP4 Manse-MIP5 Manse-MIP6	AWQDLNSAWa GWQDLNSAWa APEKWAAFHGSWa GWNDMSSAWa GWQDMSSAWa AWSALHGAWa
<i>Bombyx mori</i>	Bommo-PTSP1 Bommo-PTSP2 Bommo-PTSP3 Bommo-PTSP4 Bommo-PTSP5 Bommo-PTSP6 Bommo-PTSP7 Bommo-PTSP8	AWQDLNSAWa AWQDMSSAWa GWQDLNSAWa AWSSLHSGWa AWSSLHSGWa GWNDISSVWa SWQDLNSVWa APEKWAAFHGSWa

Pierwszy peptyd z tej rodziny Lom-MIP, wyizolowany z *Locusta migratoria* wykazywał w biolesie homologicznym właściwości mioinhibycyjne w stosunku do jajowodu oraz jelita tylnego [56]. Wszystkie zidentyfikowane do tej pory peptydy z rodziny MIP/AST wykazują właściwości mioinhibycyjne względem mięśni trzewnych kilku gatunków owadów, a u świerszczy wywołują także działanie allatostatyczne i dlatego zaliczone zostały do allatostatyn [31, 32]. Biotesty przeprowadzone z wykorzystaniem sześciu allatostatyn (ManseMIP 1-6) izolowanych z *Manduca sexta* wykazały silne hamowanie przez te peptydy kurczliwości jelita tylnego (*proctodeum*) dorosłych ciem [9, 10]. Wykryta u *Periplaneta americana* allatostatyna Pea-MIP wywiera hamujący wpływ na kurczliwość jelita przedniego, jednak efekt ten występuje wyłącznie w wysokich zakresach stężeń farmakologicznych ( $10^{-5}$ - $10^{-4}$  M) peptydu [51]. Przeciwnie u drugiego karaczana *B. germanica*, trzy różne peptydy z tej rodziny (ManseMIP 2, GrybiAS B1, GrybiAS B3) działają silnie mioinhibycyjnie w stężeniach fizjologicznych ( $10^{-10}$ - $10^{-9}$  M) na kurczliwość jelita przedniego i tylnego. W biotestach heterologicznych *in vivo* stwierdzono, że iniekcja allatostatyn GrybiAS B1 oraz GrybiAS B3 powoduje u dorosłych osobników *B. germanica* zmniejszenie pobierania pokarmu [2]. Hormon o identycznej sekwencji z allatostatyną Manse-MIP1 od *M. sexta* wyizolowano także z mózgu *Bombyx mori* i wykazano hamujące działanie tego peptydu na syntezę ekdysteroidów w gruczołach protorakalnych jedwabnika morwowego [22]. Peptydy z rodziny MIP/AST biorą ponadto udział w kontroli aktywności wydzielniczej gruczołów ślinowych u kleszcza *Ixodes scapularis*. W badaniach przeprowadzonych na tym gatunku wykryto receptor dla MIP/AST, należący do grupy receptorów metabotropowych i wykazujący podobieństwo strukturalne do receptora SRP *D. melanogaster* [58]. U pluskwiaka *Rhodnius prolixus* zidentyfikowano allatostatynę RohprMIP4 o nietypowej sekwencji aminokwasowej, zawierającą motyw W(X<sub>7</sub>)W. Pomimo różnic strukturalnych peptyd ten wykazuje działanie mioinhibycyjne w stosunku do jelita tylnego *R. prolixus* [29]. W jelicie środkowym i śliniankach tego pluskwiaka wykryto także receptory wykazujące homologię z receptorem SRP [29]. Przy pomocy technik immunocytochemicznych peptydy z rodziny MIP zlokalizowano w komórkach neurosekrecyjnych mózgu oraz brzuszego łańcuszka nerwowego *L. migratoria*, *P. americana*, *D. melanogaster* oraz *R. prolixus* [29, 51, 56]. Poza owadami allatostatyn z tej rodziny odkryto także u skorupiaków, jednak ich rola w tej grupie zwierząt nie jest dokładnie znana [23, 60].

## RODZINA PISCF/AST

Trzecią grupę allatostatyn stanowią peptydy PISCF/AST (tab. 3), charakteryzujące się obecnością mostków disiarczkowych pomiędzy resztami cysteiny oraz występowaniem sekwencji PISCF na C-końcu łańcuszka peptydowego [18].

TABELA 3. Gatunki owadów oraz sekwencje aminokwasowe zidentyfikowanych u nich allatostatyn z rodziny PISCF/AST. Opracowano na podstawie: Abdel-Latif i wsp. [1]; Kaminski i wsp. [25]; Mayoral i wsp. [43]; Stemmler i wsp. [60]; Down i wsp. [14]. \* struktura przewidywana na podstawie analizy genomu

TABLE 3. Insect species and the amino acid sequences of identified allatostatins from PISCF/AST family. Prepared based on Abdel-Latif i wsp. [1]; Kaminski i wsp. [25]; Mayoral i wsp. [43]; Stemmler i wsp. [60]; Down i wsp. [14]. \* structure deduced from genom

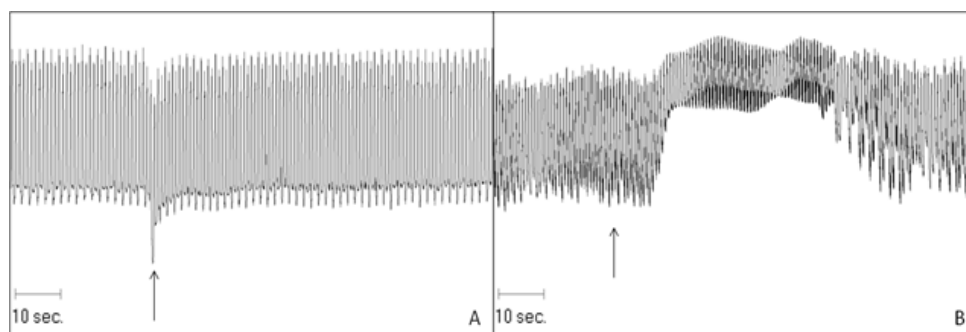
GATUNEK	AKRONIM PEPTYDU	SEKWENCJA
<i>Tribolium castaneum</i>	Trica-AS	pQSRYRQCYFNPISCF-OH
<i>Drosophila melanogaster</i>	FLT	pEVRYRQCYFNPISCF-OH
<i>Aedes aegypti</i>	Aedae-AS	pQIRYRQCYFNPISCF-OH
<i>Manduca sexta</i>	Manse-AS	pEVFRQCYFNPISCF-OH
<i>Anopheles gambiae</i>	Anoga-AS	pQIRYRQCYFNPISCF-OH
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	-	SYWKQCAFNAWSCFa *

Z uwagi na efekt jaki wywołuje jeden z peptydów (FLT) u *D. melanogaster*, polegający na szybkim i długotrwałym zatrzymaniu pracy serca, określa się je także mianem allatostatyn typu C lub peptydami FLT (ang. *Flatline peptides*) [52]. Pierwszy peptyd z tej rodziny, nazwany Manse-AS, wyizolowano z ćmy *M. sexta* w 1991 roku [27]. Peptyd ten zbudowany jest z 15 aminokwasów z zablokowaną resztą kwasu glutaminowego na *N*-końcu i wolnym *C*-końcem łańcucha peptydowego, co jest dość nietypowe dla neurohormonów owadów. Ponadto w pierwszorzędowej strukturze aminokwasowej tego peptydu pomiędzy cysteinami w pozycji 7 i 14 obecne są mostki disiarczkowe [5]. PISCF/AST regulują syntezę hormonu juwenilnego u motyli oraz komarów, powodując inhibicję czynności sekrecyjnych *corpora allata*, natomiast nie hamują one syntezy hormonu juwenilnego w *corpora allata* innych owadów [30]. Manse-AS poza kontrolą *corpora allata* odpowiada za regulację kurczliwości jelita przedniego motyli *Lacania oleracea* i *M. sexta*, zmniejszając częstotliwość skurczów tego narządu. Wraz z allatotropiną Manse-AT peptyd ten zlokalizowano w zwoju czołowym i w nerwach unerwiających jelito przednie. Jednak dokładny sposób regulacji pracy tego narządu przez oba peptydy nie jest znany [4, 15, 41]. Przeprowadzone eksperymenty *in vivo* na larwach *L. oleracea* wykazały także, że iniekcja Manse-AS powoduje zmniejszenie zdolności do pobierania pokarmu oraz przeżywalności żerujących larw tego motyla [6]. Receptory błonowe dla PISCF/AST pierwszy raz zidentyfikowano u *D. melanogaster*, stwierdzając że należą one do klasy receptorów metabotropowych, których funkcjonowanie sprzężone jest z białkami G [28]. Geny kodujące allatostatyny PISCF/AST

zidentyfikowano u dwóch gatunków ciem *Pseudaletia unipuncta* [24] i *Spodoptera frugiperda* [1] oraz u *D. melanogaster*, jednak u muszki owocowej kodowany hormon różni się od Manse-AS jednym aminokwasem w pozycji czwartej, gdzie zamiast fenyloalaniny znajduje się tyrozyna [52]. Hormony należące do PISCF/AST wykryto nie tylko w komórkach mózgu, ale również w jelicie środkowym. Fakt ten, a także podobieństwo receptorów allatostatyn sprzężonych z białkami G do receptorów dla somatostatyny kręgowców sugeruje, że peptydy te ogólnie są inhibitorami mogącymi pełnić podobne funkcje w organizmie owada, jak w przypadku somatostatyny u kręgowców [28].

## DZIAŁANIE FIZJOLOGICZNE ALLATOSTATYN U CHRZĄSZCZY

Badania nad aktywnością allatostatyn prowadzone były w wielu układach homologicznych i heterologicznych. Wpływ tych peptydów testowany był m.in. u karaczanów, świerszczy, motyli oraz termitów [17, 22, 30, 47]. Natomiast nic do tej pory nie wiadomo o fizjologicznej roli tych neurohormonów w największej grupie owadów – chrząszczy. W tej pracy prezentowane są dane dotyczące kardiotropowej i hemocytotropowej aktywności dwóch syntetycznych allatostatyn Dippu-AST1 (LYDFGLa) oraz Grybi-AS B1 (GWQDLNGGWa) w układzie heterologicznego biotestu z chrząszczem *Tenebrio molitor*. Eksperymenty *in vitro* na pół-izolowanych preparatach serca 4-tygodniowych chrząszczy wykazały zróżnicowane działanie obu badanych allatostatyn. Stwierdzono, że peptyd GrybiAS B1 wykazuje

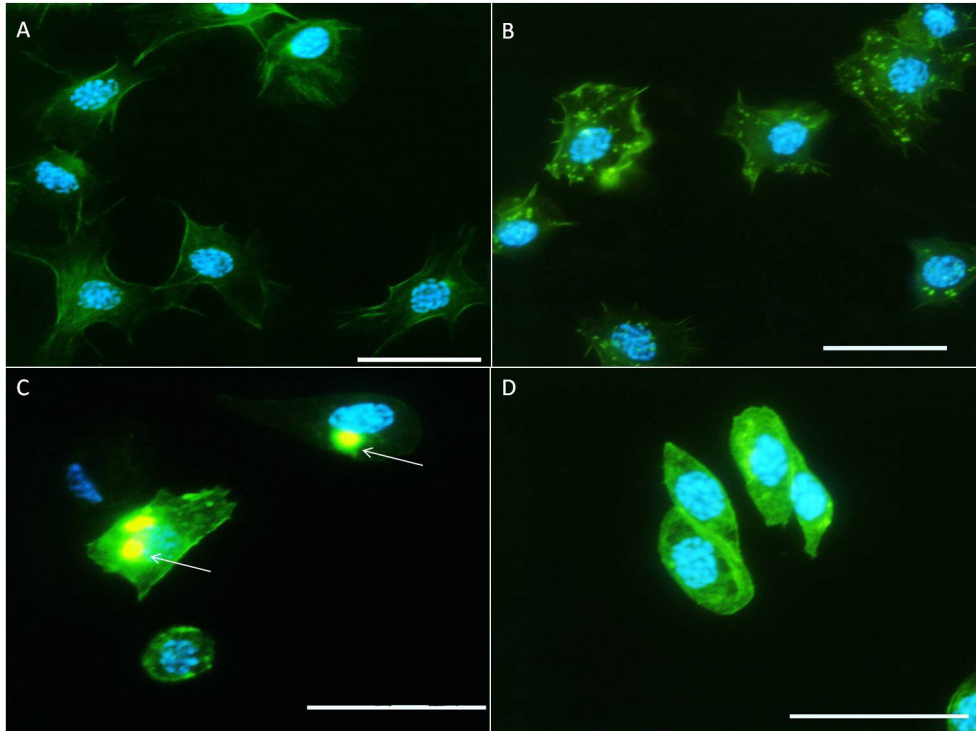


RYCINA 1. Akcja serca chrząszcza *T. molitor* po aplikacji peptydu Dippu-AST1 (A) oraz Grybi-AS B1 (B) w stężeniu  $10^{-6}$  M. Miokardiogramy zarejestrowano za pomocą techniki mikrodensytometrycznej Rosińskiego i Gäde [53]. Strzałka wskazuje czas aplikacji peptydu

FIGURE 1. The heart rate of *T. molitor* beetle after peptide application of Dippu-AST 1 (A) and Grybi-AS B1 (B) at a concentration of  $10^{-6}$  M (B). Myocardiograms recorded using a microdensitometric technique of Rosinski and Gäde [53]. The arrow indicates the time of the peptide application



działanie kardiotropowe w zakresie stężeń farmakologicznych ( $10^6$ - $10^{-5}$  M), wywołując w czynności kurczliwej serca *T. molitor* znaczący efekt inotropowo-ujemny, z równoczesnym przesunięciem akcji tego narządu do fazy systolicznej w cyklu skurczowo-rozkurczowym (ryc. 1). Sposób oddziaływania Grybi-AS B1 na serce *T. molitor* jest odmienny od tego powodowanego przez klasyczny kardiostymulator – pentapeptyd proktolinę, a bardziej podobny do indukowanej odpowiedzi w czynności miokardium przez nonapeptyd CCAP [54, 64]. Grybi-AS B1 jest jednak słabszym kardioaktywnym peptydem niż proktolina i CCAP, które modyfikują już czynności miokardium *T. molitor* w niskich zakresach stężeń fizjologicznych  $10^{-10}$ - $10^{-9}$  M. Peptyd ten powodując w wyższych stężeniach efekt inotropowo-ujemny osłabia siłę skurczu miokardium i tym samym efektywność przepływu hemolimfy w hemocelu. Fakt przesunięcia akcji kurczliwej w aktywności mechanicznej serca do fazy systolicznej w cyklu skurczowo-rozkurczowym wskazuje, że allatostatyna ta może w aktywności bioelektrycznej miokardium hamować całkowitą repolaryzację komórek bodźcotwórczych poprzez oddziaływanie na kanały potasowe i modyfikowanie w tych komórkach prawidłowego prądu potasowego. Głębsze wyjaśnienie mechanizmu oddziaływania Grybi-AS B1 na endogenną aktywność bioelektryczną miokardium możliwe będzie po przeprowadzeniu badań elektrofizjologicznych i farmakologicznych z użyciem specyficznych blokerów kanałów jonowych. W przeciwieństwie do Grybi-AS B1, drugi peptyd nie powodował żadnych zmian w aktywności kurczliwej serca *T. molitor*. Brak oddziaływania Dippu-AST1 na serce *T. molitor* przy wykazanym hamowaniu akcji serca u karaczana *B. germanica* [62] wskazuje, że aktywność kardioinhibicyjna tej allatostatyny jest gatunkowo specyficzna. Nieaktywna kardiotropowo u *T. molitor* allatostatyna Dippu-AST1 wykazuje jednak u tego chrząszcza aktywność hemocytotropową, powodując *in vivo* zmiany morfologii hemocytów w hemolimfie (ryc. 2). Iniekcja peptydu w końcowej ilości 5 i 50 nmoli blokowała zdolność plazmatocytów i granulocytów do tworzenia filopodiów (ryc. 2C i 2D), co równocześnie związane było z powstawaniem większych skupisk F-aktyny w cytoplazmie tych komórek. Miejsca agregacji F-aktyny były silnie znakowane falloidyną sprzężoną z barwnikiem fluorescencyjnym (ryc. 2C). Po iniekcji mniejszych ilości tej allatostatyny (500 pmoli) struktura morfologiczna hemocytów była podobna do struktury komórek hemolimfy owadów kontrolnych. Zaobserwowane zmiany w morfologii hemocytów dla trzech iniekowanych ilości allatostatyny Dippu-AST1 wskazują, że działanie hemocytotropowe tego peptydu jest dawkowo-zależne i zaznacza się w górnym zakresie stężeń fizjologicznych. Blokowanie procesu tworzenia filopodiów przez hemocyty w efekcie modyfikowania przez ten peptyd cytoszkieletu F-aktynowego może ograniczać zdolności hemocytów do fagocytozy, nodulacji i enkapsulacji. Zdolność Dippu-AST1 do wywoływania hemocytotropowej odpowiedzi sugeruje, że peptyd ten lub jego homologi występujące u *T. molitor* mogą pełnić ważną rolę w regulacji zdolności adhezyjnych hemocytów oraz pełnionych



RYCINA 2. Hemocyty chrząszcza *Tenebrio molitor* po iniekcji allatostatyny Dippu-AST1 w stężeniu 500 pmoli (B), 5 nmoli (C) i 50 nmoli (D) oraz po iniekcji płynu fizjologicznego dla *T. molitor* (A; kontrola). Hemocyty wybarwiono według metody opisanej przez Czarniewską i wsp. [13]. Na kolor niebieski wybarwione zostały jądra komórkowe za pomocą fluorochromu DAPI. Na kolor zielony wybarwiono fluorochromem Oregon Green® 488 Phalloidin (Invitrogen) cytoszkielet aktynowy hemocytów. Strzałkami zaznaczono miejsca agregacji F-aktyny. Zaznaczona skala wynosi 20  $\mu\text{m}$

FIGURE 2. Haemocytes of *Tenebrio molitor* beetle after injection of Dippu-AST1 at concentration of 500 pmole (B), 5 nmole (C) and 50 nmole (D) and after injection of saline for *T. molitor* (A; control). Haemocytes were stained by the method described by Czarniewska i wsp. [13]. The color blue shows nuclei which were stained with DAPI fluorochrome. The color green shows actin cytoskeleton of haemocytes stained with fluorochrome Oregon Green®488 Phalloidin (Invitrogen). Arrows indicate the places of F-actin aggregation. The selected scale is 20  $\mu\text{m}$

przez nie funkcji obronnych przed patogenami. Komórkami docelowymi dla działania Dippu-AST1 są dwie klasy hemocytów – plazmatocyty i granulocyty, ale też nie można wykluczyć, że te, jak i inne klasy hemocytów produkują i/lub transportują allatostatyny u *T. molitor*: Obecność allatostatyno-podobnych peptydów stwierdziłi Skinner i wsp. [59] za pomocą techniki immunocytochemicznej w hemocytach karaczana *D. punctata*, jednak autorzy ci nie wskazali jaką rolę pełnią te peptydy w funkcjonowaniu hemocytów. Przeprowadzone przez nas badania w układzie

testów heterologicznych potwierdziły fakt plejotropowego działania Dippu-AST1 i Grybi-AS B1. Uzyskane w tej pracy wyniki po raz pierwszy wykazały aktywność fizjologiczną allatostatyn u chrząszczy. Stwierdzone zaś działanie hemocytotropowe Dippu-AST1 jest nowym rodzajem aktywności dla tej grupy neurohormonów owadów.

## ALLATOSTATYNY JAKO POTENCJALNE BIOINSEKTYCYDY

Obecnie sugeruje się, że syntetyczne analogi allatostatyn pod postacią pseudopeptydów i peptydomimetyków mogą zostać wykorzystane do walki ze szkodliwymi gatunkami owadów, takimi jak mszyce, komary lub innymi bezkręgowcami będącymi wektorami chorób, jak np. kleszcze. Badania Matthews i wsp. [42] oraz Downa i wsp. [14] wykazały, że allatostatyny *M. sexta* oraz ich homologi podawane drogą pokarmową mszycom *Acyrtosiphon pisum* i *Myzus persicae* wpływają negatywnie na rozwój mszyc, hamują przyrost masy ciała, zwiększają ich śmiertelność, a także zaburzają procesy rozrodcze u tych owadów, co skutkuje brakiem potomstwa [14, 42]. Mechanizm działania Manse-AS na żywotność mszyc nie jest dokładnie poznany, choć sugeruje się, że peptyd ten negatywnie wpływa na funkcjonowanie pompy ślinowo-gardzielowej, zmniejszając zdolność tych owadów do pobierania pokarmu [14, 42]. Z kolei neurohormony z rodziny MIP/AST upośledzają działanie gruczołów ślinowych kleszcza *Ixodes scapularis* [58], a peptydy należące do FGL/AST wywołują u *D. melanogaster* efekt awersji do pokarmu. Piułachs i wsp. [48] zaprojektowali metylowaną pochodną allatostatyny BLAST-2 od *B. germanica*, uzyskując analog tego peptydu o zwiększonej odporności na peptydazy w hemolimfie karaczana. Wykazali oni, że analog ten był bardziej aktywny od natywnego peptydu w inhibicji syntezy hormonu juwenilnego *in vivo*. Garside i wsp. [19] prowadzili badania nad oddziaływaniem kilku syntetycznych analogów allatostatyn na rozwój oocytów u karaczana *D. punctata*. Autorzy ci stwierdzili, że iniekcje pseudopeptydowych analogów znacząco zmniejszają wielkość oocytów terminalnych oraz hamują syntezę hormonu juwenilnego u *D. punctata*, co wynikało ze zwiększonej odporności testowanych związków na degradację enzymatyczną [19]. Ostatnio Audsley i wsp. [3] w przeprowadzonych doświadczeniach *in vitro* bez obecności enzymów trawiennych wykazali zdolność syntetycznych analogów cydiastatyny i cydiastatyny 4 $\alpha$  do przechodzenia przez komórki nabłonka w jelicie środkowym i tylnym *M. sexta*.

Z uwagi na plejotropowy charakter działania allatostatyn ważne jest dokładne poznanie fizjologicznej roli jaką pełnią one w organizmie owadów. Równie istotne jest zrozumienie, w jaki sposób te peptydy oddziałują na komórki i dlatego istnieje potrzeba dokładniejszego scharakteryzowania receptorów, przez które oddziałują

one na czynności różnych narządów. Chemiczne insektycydy są cały czas preferowane jako środki do zwalczania owadów, jednak ich stosowanie powoduje szeroką gamę niepożądanych skutków ubocznych. Niektórzy autorzy sugerują, że obiecującym kierunkiem badań w poszukiwaniu nowych alternatywnych środków do zwalczania szkodników owadzi jest możliwość wykorzystania pseudopeptydów i peptydomimetyków, będących analogami kilku grup neuropeptydów, w tym również allatostatyn [26, 40, 44]. Obecnie prowadzone są badania nad oddziaływaniem u owadów syntetycznych analogów różnych neurohormonów podawanych nie tylko drogą pokarmową, ale również za pomocą metody topikalnej, polegającej na przechodzeniu tych związków przez kutikulę [61]. Związki te w przyszłości mogą mieć zastosowanie jako bioinsektycydy lub repelenty [45].

## PODSUMOWANIE

W ostatnich latach dzięki szybkiemu rozwojowi technik analitycznych, molekularnych oraz opracowaniu nowych biotestów *in vitro* i *in vivo* znacząco poszerzyła się nasza wiedza na temat fizjologicznej roli allatostatyn u zwierząt bezkręgowych, głównie owadów. Przeprowadzone badania dowodzą, że allatostatyny należące do wszystkich trzech grup FGL/AST, MIP/AST i PISCF/AST nie tylko są neurohormonami hamującymi syntezę hormonu juwenilnego w *corpora allata* owadów, ale również cechują się właściwościami plejotropowymi o szerokim spektrum fizjologicznego działania. Neurohormony z tej grupy regulują procesy łaknienia, hamują syntezę enzymów trawiennych w przewodzie pokarmowym, działają mioinhibycyjnie na endogenną aktywność kurczliwą mięśni jelita, jajowodu i serca oraz hamują syntezę witelogenin w ciele tłuszczowym i uwalnianie tych białek do hemolimfy.

## LITERATURA

- [1] ABDEL-LATIEF M, MEYERING-VOS M, HOFFMANN KH. Molecular characterisation of cDNAs from the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* encoding *Manduca sexta* allatotropin and allatostatin preprohormone peptides. *Insect Biochem Mol Biol* 2003; **33**: 467-476
- [2] AGUILAR R, MAESTRO JL, BELLES X. Effects of myoinhibitory peptides on food intake in the German cockroach. *Physiol Entomol* 2006; **31**: 257-261
- [3] AUDSLEY N, MATTHEWS J, NACHMAN RJ, WEAVER RJ. Transepithelial flux of an allatostatin and analogs across the anterior midgut of *Manduca sexta* larvae in vitro. *Peptides* 2008; **29**: 286-294
- [4] AUDSLEY N, MATTHEWS J, WEAVER RJ. Neuropeptides associated with the frontal ganglion of larval Lepidoptera. *Peptides* 2005; **26**: 11-21
- [5] AUDSLEY N, VANDERSMISSEN HP, WEAVER R, DANI P, MATTHEWS J, DOWN R, VUERINCKX K, KIM YJ, VANDEN BROECK J. Characterisation and tissue distribution of the PISCF allatostatin receptor in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem Mol Biol* 2013; **43**: 65-74

- [6] AUDSLEY N, WEAVER RJ, EDWARDS JP. In vivo effects of *Manduca sexta* allatostatin and allatotropin on larvae of the tomato moth, *Lacanobia oleracea*. *Physiol Entomol* 2001; **26**: 181-188
- [7] BANERJEE M, MEYEROWITZ E, HUANG C, MOHANTY S. Probing the conformation and dynamics of allatostatin neuropeptides: A structural model for functional differences. *Peptides* 2008; **29**: 375-385
- [8] BELLES X, MAESTRO JL, PIULACHS MD, JOHNSEN AH, DUVE H, THORPE A. Allatostatic neuropeptides from the cockroach *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera, Blattellidae). Identification, immunolocalization and activity. *Regul Pept* 1994; **53**: 237-247
- [9] BLACKBURN MB, JAFFE H, KOCHANSKY J, RAINA AK. Identification of four additional myoinhibitory peptides (MIPs) from the ventral nerve cord of *Manduca sexta*. *Arch Insect Biochem Physiol* 2001; **48**: 121-128
- [10] BLACKBURN MB, WAGNER RM, KOCHANSKY JP, HARRISON DJ, THOMAS-LAEMONT P, RAINA AK. The identification of two myoinhibitory peptides, with sequence similarities to the galanins, isolated from the ventral nerve cord of *Manduca sexta*. *Regul Pept* 1995; **57**: 213-219
- [11] CHAPMAN RF. The insects: structure and function. In: Chapman RF ed. *Nervous system & Endocrine system*. Cambridge: Cambridge University Press, 2006; 533-582
- [12] COAST GM, SCHOOLEY DA. Toward a consensus nomenclature for insect neuropeptides and peptide hormones. *Peptides* 2011; **32**: 620-631
- [13] CZARNIEWSKA E, MROWCZYNSKA L, KUCZER M, ROSINSKI G. The pro-apoptotic action of the peptide hormone Neb-colloostatin on insect haemocytes. *J Exp Biol* 2012; **215**: 4308-4313
- [14] DOWN RE, MATTHEWS HJ, AUDSLEY N. Effects of *Manduca sexta* allatostatin and an analog on the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) and degradation by enzymes from the aphid gut. *Peptides* 2010; **31**: 489-497
- [15] DUVE H, AUDSLEY N, WEAVER RJ, THORPE A. Triple co-localisation of two types of allatostatin and an allatotropin in the frontal ganglion of the lepidopteran *Lacanobia oleracea* (Noctuidae): innervation and action on the foregut. *Cell Tissue Res* 2000; **300**: 153-163
- [16] ELLIOTT KL, CHAN KK, TEESCH L, CLOR O, STAY B. Identification of Phe-Gly-Leu-amide type allatostatin-7 in *Reticulitermes flavipes*: Its localization in tissues and relation to juvenile hormone synthesis. *Peptides* 2009; **30**: 495-506
- [17] FUSE M, ZHANG JR, PARTRIDGE E, NACHMAN RJ, ORCHARD I, BENDENA WG, TOBE SS. Effects of an allatostatin and a myosuppressin on midgut carbohydrate enzyme activity in the cockroach *Diploptera punctata*. *Peptides* 1999; **20**: 1285-1293
- [18] GADE G, GOLDSWORTHY GJ. Insect peptide hormones: a selective review of their physiology and potential application for pest control. *Pest Manag Sci* 2003; **59**: 1063-1075
- [19] GARSIDE CS, NACHMAN RJ, TOBE SS. Injection of Dip-allatostatin or Dip-allatostatin pseudopeptides into mated female *Diploptera punctata* inhibits endogenous rates of JH biosynthesis and basal oocyte growth. *Insect Biochem Mol Biol* 2000; **30**: 703-710
- [20] HERGARDEN AC, TAYLER TD, ANDERSON DJ. Allatostatin-A neurons inhibit feeding behavior in adult *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; **109**: 3967-3972
- [21] HOFFMANN KH, LORENZ MW, WITEK G. Neuropeptides that influence juvenile hormone (JH) biosynthesis in *Gryllus bimaculatus*. *Ann N Y Acad Sci* 1998; **839**: 297-300
- [22] HUA YJ, TANAKA Y, NAKAMURA K, SAKAKIBARA M, NAGATA S, KATAOKA H. Identification of a prothoracicostatic peptide in the larval brain of the silkworm, *Bombyx mori*. *J Biol Chem* 1999; **274**: 31169-31173
- [23] HUYBRECHTS J, NUSBAUM MP, BOSCH LV, BAGGERMAN G, DE LOOF A, SCHOOF L. Neuropeptidomic analysis of the brain and thoracic ganglion from the Jonah crab, *Cancer borealis*. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **308**: 535-544
- [24] JANSONS IS, CUSSON M, MCNEIL JN, TOBE SS, BENDENA WG. Molecular characterization of a cDNA from *Pseudaletia unipuncta* encoding the *Manduca sexta* allatostatin peptide (Mas-AST). *Insect Biochem Mol Biol* 1996; **26**: 767-773

- [25] KAMINSKI S, ORLOWSKI E, BERRY K, NICHOLS R. The effects of three *Drosophila melanogaster* myotropins on the frequency of foregut contractions differ. *J Neurogenet* 2002; **16**: 125-134
- [26] KEELEY LL, HAYES TK. Speculations on biotechnology applications for insect neuroendocrine research. *Insect Biochem* 1987; **17**: 639-651
- [27] KRAMER SJ, TOSCHI A, MILLER CA, KATAOKA H, QUISTAD GB, LI JP, CARNEY RL, SCHOOLEY DA. Identification of an allatostatin from the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Proc Natl Acad Sci US A* 1991; **88**: 9458-9462
- [28] KREIENKAMP HJ, LARUSSON HJ, WITTE I, ROEDER T, BIRGUL N, HONCK HH, HARDER S, ELLINGHAUSEN G, BUCK F, RICHTER D. Functional annotation of two orphan G-protein-coupled receptors, Drostar1 and -2, from *Drosophila melanogaster* and their ligands by reverse pharmacology. *J Biol Chem* 2002; **277**:39937-39943
- [29] LANGE AB, ALIM U, VANDERSMISSEN HPP, MIZOGUCHI A, VANDEN BROECK J, ORCHARD I. The distribution and physiological effects of the myoinhibiting peptides in the kissing bug, *Rhodnius prolixus*. *Front Neurosci* 2012; **6**: 98
- [30] LI Y, HERNANDEZ-MARTINEZ S, NORIEGA FG. Inhibition of juvenile hormone biosynthesis in mosquitoes: effect of allatostatic head factors, PISCF- and YXFGL-amide-allatostatins. *Regul Pept* 2004; **118**: 175-182
- [31] LORENZ MW, GADE G, HOFFMANN KH. Interspecific actions of allatostatins. *M D Gesell Allg Ange* 1997; **11**:549-553
- [32] LORENZ MW, KELLNER R, HOFFMANN KH. A family of neuropeptides that inhibit juvenile-hormone biosynthesis in the cricket, *Gryllus bimaculatus*. *J Biol Chem* 1995; **270**: 21103-21108
- [33] LORENZ MW, KELLNER R, HOFFMANN KH. Allatostatins in *Gryllus bimaculatus* (Ensifera: Gryllidae): New structures and physiological properties. *Eur J Entomol* 1999; **96**: 267-274
- [34] LORENZ MW, KELLNER R, HOFFMANN KH, GADE G. Identification of multiple peptides homologous to cockroach and cricket allatostatins in the stick insect *Carausius morosus*. *Insect Biochem Mol Biol* 2000; **30**:711-718
- [35] MARCINIAK P, PACHOLSKA-BOGALSKA J, SZYMCZAK M, ROSIŃSKI G. Molecular and physiological characterization of the pyrokinin insect neuropeptide family. *Post Biochem* 2011; **57**: 365-371
- [36] MARCINIAK P, SZYMCZAK M, ROSIŃSKI G. Aktualny stan badań nad peptydami miotropowymi owadów: tachykininy, sulfakininy, i FMRFa-pokrewne peptydy. *Post Biol Kom* 2007; **34**: 241-249
- [37] MARCINIAK P, SZYMCZAK M, ROSIŃSKI G. Hormony peptydowe owadów – przegląd najważniejszych rodzin. *Post Biol Kom* 2011; **38**: 43-63
- [38] MARTIN D, PIULACHS MD, BELLES X. Inhibition of vitellogenin production by allatostatin in the German cockroach. *Mol Cell Endocrinol* 1996; **121**: 191-196
- [39] MARTIN D, PIULACHS MD, BELLES X. Allatostatin inhibits vitellogenin release in a cockroach. *Ann NY Acad Sci* 1998; **839**: 341-342
- [40] MASLER EP, KELLY TJ, MENN JJ. Insect neuropeptides – discovery and application in insect management. *Arch Insect Biochem Physiol* 1993; **22**: 87-111
- [41] MATTHEWS HJ, AUDSLEY N, WEAVER RJ. Interactions between allatostatins and allatotropin on spontaneous contractions of the foregut of larval *Lacanobia oleracea*. *J Insect Physiol* 2007; **53**: 75-83
- [42] MATTHEWS HJ, DOWN RE, AUDSLEY N. Effects of *Manduca sexta* allatostatin and an analogue on the peach-potato aphid *Myzus persicae* and degradation by enzymes in the aphid gut. *Arch Insect Biochem Physiol* 2010; **75**: 139-157
- [43] MAYORAL JG, NOUZOVA M, BROCKHOFF A, GOODWIN M, HERNANDEZ-MARTINEZ S, RICHTER D, MEYERHOF W, NORIEGA FG. Allatostatin-C receptors in mosquitoes. *Peptides* 2010; **31**: 442-450
- [44] NACHMAN RJ, HOLMAN GM, HADDON WF. Leads for insect neuropeptide mimetic development. *Arch Insect Biochem Physiol* 1993; **22**: 181-197
- [45] NACHMAN RJ, TEAL PA, GARSIDE CS, TOBE SS. Mimetic insect allatostatin analogs for insect control. 2006; US 7.078.384 B2

- [46] NASSEL DR. Neuropeptides in the nervous system of *Drosophila* and other insects: multiple roles as neuromodulators and neurohormones. *Prog Neurobiol* 2002; **68**: 1-84
- [47] NEUHAUSER T, SORGE D, STAY B, HOFFMANN KH. Responsiveness of the adult cricket (*Gryllus bimaculatus* and *Acheta domestica*) retrocerebral complex to allatostatin-1 from a cockroach, *Diploptera punctata*. *J Comp Physiol [B]* 1994; **164**: 23-31
- [48] PIULACHS MD, VILAPLANA L, BARTOLOME JM, CARRENO C, MARTIN D, GONZALEZ-MUNIZ R, HERRANZ R, GARCIA-LOPEZ MT, ANDREU D, BELLES X. Ketomethylene and methyleneamino pseudopeptide analogues of insect allatostatins inhibit juvenile hormone and vitellogenin production in the cockroach *Blattella germanica*. *Insect Biochem Mol Biol* 1997; **27**: 851-858
- [49] POLANSKA MA, TUCHINA O, AGRICOLA H, HANSSON BS, HARZSCH S. Neuropeptide complexity in the crustacean central olfactory pathway: immunolocalization of A-type allatostatins and RFamide-like peptides in the brain of a terrestrial hermit crab. *Mol Brain* 2012; **5**: 29
- [50] PRATT GE, FARNSWORTH DE, FOK KF, SIEGEL NR, MCCORMACK AL, SHABANOWITZ J, HUNT DF, FEYERISEN R. Identity of a second type of allatostatin from cockroach brains: an octadecapeptide amide with a tyrosine-rich address sequence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; **88**: 2412-2416
- [51] PREDEL R, RAPUS J, ECKERT M. Myoinhibitory neuropeptides in the American cockroach. *Peptides* 2001; **22**: 199-208
- [52] PRICE MD, MERTE J, NICHOLS R, KOLADICH PM, TOBE SS, BENDENA WG. *Drosophila melanogaster* flatline encodes a myotropin orthologue to *Manduca sexta* allatostatin. *Peptides* 2002; **23**: 787-794
- [53] ROSINSKI G, GADE G. Hyperglycemic and myoactive factors in the corpora cardiaca of the mealworm, *Tenebrio molitor*. *J Insect Physiol* 1988; **34**: 1035-1042
- [54] ROSINSKI G, KONOPINSKA D. Neurohormonal mechanisms of regulation of insect heart contractile activity. *Pesticides* 2004; **3-4**: 51-56
- [55] RUDOLPH PH, STAY B. Cockroach allatostatin-like immunoreactivity in the central nervous system of the freshwater snails *Bulinus globosus* (Planorbidae) and *Stagnicola elodes* (Lymnaeidae). *Gen Comp Endocrinol* 1997; **106**: 241-250
- [56] SCHOOF L, HOLMAN GM, HAYES TK, NACHMAN RJ, DE LOOF A. Isolation, identification and synthesis of locustamyoinhibiting peptide (LOM-MIP), a novel biologically active neuropeptide from *Locusta migratoria*. *Regul Pept* 1991; **36**: 111-119
- [57] SCHOOF L, VEELAERT D, BROECK JV, DE LOOF A. Immunocytochemical distribution of locustamyoinhibiting peptide (Lom-MIP) in the nervous system of *Locusta migratoria*. *Regul Pept* 1996; **63**: 171-179
- [58] SIMO L, KOCI J, PARK Y. Receptors for the neuropeptides, myoinhibitory peptide and SIFamide, in control of the salivary glands of the blacklegged tick *Ixodes scapularis*. *Insect Biochem Mol Biol* 2013; **43**: 376-387
- [59] SKINNER JR, FAIRBAIRN SE, WOODHEAD AP, BENDENA WG, STAY B. Allatostatin in hemocytes of the cockroach *Diploptera punctata*. *Cell Tissue Res* 1997; **290**: 119-128
- [60] STEMMLER EA, BRUNS EA, CASHMAN CR, DICKINSON PS, CHRISTIE AE. Molecular and mass spectral identification of the broadly conserved decapod crustacean neuropeptide pQIRYHQCYFNPISCF: the first PISCF-allatostatin (*Manduca sexta*- or C-type allatostatin) from a non-insect. *Gen Comp Endocrinol* 2010; **165**: 1-10
- [61] TEAL PE, MEREDITH JA, NACHMAN RJ. Development of amphiphilic mimics of insect neuropeptides for pest control. *Ann N Y Acad Sci* 1999; **897**: 348-360
- [62] VILAPLANA L, MAESTRO JL, PIULACHS MD, BELLES X. Modulation of cardiac rhythm by allatostatins in the cockroach *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera, Blattellidae). *J Insect Physiol* 1999; **45**: 1057-1064
- [63] WANG C, CHIN-SANG I, BENDENA WG. The FGLamide-allatostatins influence foraging behavior in *Drosophila melanogaster*. *PLoS ONE* 2012; **7**: e36059
- [64] WASIELEWSKI O, SKONIECZNA M. Pleiotropic effects of the neuropeptides CCAP and myosuppressin in the beetle, *Tenebrio molitor* L. *Journal of Comparative Physiology* 2008; **178**: 877-885

- [65] WEAVER RJ, FREEMAN ZA. Regulation of juvenile-hormone biosynthesis by brain allatostatins in adult stages of the cockroach *Periplaneta americana*. *Sci Update* 1992: 83-100
- [66] WITEK G, VERHAERT P, LORENZ MW, HOFFMANN KH. Immunolocalization of two types of allatostatins in the central nervous system of the cricket *Gryllus bimaculatus* (Ensifera: Gryllidae). *Eur J Entomol* 1999; **96**: 279-285
- [67] WOODHEAD AP, STAY B, SEIDEL SL, KHAN MA, TOBE SS. Primary structure of four allatostatins: neuropeptide inhibitors of juvenile hormone synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; **86**: 5997-6001
- [68] YAGI KJ, KWOK R, CHAN KK, SETTER RR, MYLES TG, TOBE SS, STAY B. Phe-Gly-Leu-amide allatostatin in the termite *Reticulitermes flavipes*: Content in brain and corpus allatum and effect on juvenile hormone synthesis. *J Insect Physiol* 2005; **51**: 357-365

*Redaktor prowadzący – Michał Nowicki*

*Otrzymano: 11.03.2013*

*Przyjęto: 28.06.2013*

*Jan Lubawy*

*Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt*

*Wydział Biologii UAM*

*ul. Umultowska 89*

*61-614 Poznań*

*tel.: 505831983*

*e-mail: gross57@gmail.com*