

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-16-0395****Úloha neuropeptidov a ich receptorov pri regulácii aktivity endokrinných a reprodukčných orgánov priadky morušovej (Bombyx mori)**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Ladislav Roller, PhD.**Príjemca **Ústav zoológie SAV**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav zoológie SAV

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1) Gwangju Institute of Science and Technology, Korea, Prof. Young-Joon Kim a jeho kolektív; funkčná analýza neuropeptidu AstC a jeho úloha pri produkcii juvenilného hormónu a reprodukcii mušky *D. melanogaster*. Príprava publikácie, ktorá bola publikovaná v prestížnom vedeckom časopise *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- 2) Tokyo University, Japonsko, Dr. Shinji Nagata; funkčná analýza neuropeptidov a charakterizácia receptorov u priadky morušovej, spoločná publikácia *PloS one*,
- 3) Aichi Gakuin University, Japonsko, prof. Akira Mizoguchi; príprava protilátok proti vybraným neuropeptidom. Príprava publikácie, ktorá bola zadaná do časopisu *Cell and Tissue Research*.
- 4) University of California, Riverside, USA, Dr. N. Yamanaka; identifikácia a charakterizácia receptorov pre neuropeptidy v priadke morušovej a drozofily.
- 5) Florida International University, USA, Prof. F. Noriega a jeho kolektív; meranie hladín juvenilného hormónu v modelových druhoch hmyzu. Príprava publikácie, ktorá bola publikovaná v prestížnom vedeckom časopise *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

### Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

-

### Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

- 1) Čižmár, D., Roller, L., Pillerová, M., Sláma, K., & Žitňan, D. (2019). Multiple neuropeptides produced by sex-specific neurons control activity of the male accessory glands and gonoducts in the silkworm *Bombyx mori*. *Scientific reports*, 9(1), 1-13.
- 2) Daubnerová, I., Roller, L., Satake, H., Zhang, C., Kim, Y. J., & Žitňan, D. (2021). Identification and function of ETH receptor networks in the silkworm *Bombyx mori*. *Scientific reports*, 11(1), 1-23.
- 3) Zhang, C., Daubnerova, I., Jang, Y. H., Kondo, S., Žitňan, D., & Kim, Y. J. (2021). The neuropeptide allatostatin C from clock-associated DN1p neurons generates the circadian

rhythm for oogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(4).  
4) Nouzova, M., Edwards, M. J., Michalkova, V., Ramirez, C. E., Ruiz, M., Areiza, M., DeGennaro, M., Fernandez-Lima, F., Feyereisen, R., Jindra, M. & Noriega, F. G. (2021). Epoxidation of juvenile hormone was a key innovation improving insect reproductive fitness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(45).  
5) Matsumoto, S., Kutsuna, N., Daubnerová, I., Roller, L., Žitňan, D., Nagasawa, H., & Nagata, S. (2019). Enteroendocrine peptides regulate feeding behavior via controlling intestinal contraction of the silkworm *Bombyx mori*. *PloS one*, 14(7), e0219050.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Výsledky štúdia neuropeptidov a ich receptorov nevyhnutných pre vývin a reprodukciu majú teoretický aj praktický význam. Základné mechanizmy pôsobenia týchto signálnych molekúl sú podobné u všetkých živočíchov vrátane človeka. Naše výsledky získané na modelových druhoch hmyzu prispievajú k objasneniu účinku neuropeptidov na bunkovej a molekulovej úrovni a preto je možné ich publikovanie v kvalitných zahraničných karentovaných časopisoch (*Proc Natl Acad Sci USA*, *Sci Rep*, *PLOS One*). Endokrinný systém hmyzu je intenzívne skúmaný aj ako potenciálny cieľ pre zastavenie vývinu prenášačov patogénov a hmyzích škodcov. Tento projekt prispel k objasneniu životne dôležitých mechanizmov regulácie vývinu a rozmnožovania hmyzu. Získané poznatky môžu slúžiť ako podklad pre vývoj biotechnológií, ktoré majú za cieľ zastaviť alebo zmeniť vývin hmyzu.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)**

V projekte sme študovali expresiu a funkciu signálnych molekúl ovplyvňujúcich činnosť reprodukčných orgánov a endokrinných žliaz modelových druhov hmyzu. U priadky morušovej *Bombyx mori* sme identifikovali špecifické receptory neuropeptidov v jednotlivých častiach reprodukčnej sústavy a v primozgovej žľaze. Niektoré z týchto receptorov (GPCR) sme charakterizovali, pričom sme objavili nové receptory pre neuropeptidy. Analýzou expresie vybraných receptorov sme odhalili cieľové bunky a orgány poukazujúce na nové funkcie. Opísali sme tiež bunky produkujúce ligandy pre receptory identifikované v reprodukčných orgánoch a primozgovej žľaze. Získali sme nové údaje o distribúcii a funkciách peptidov v bunkách produkujúcich receptory pre ekdýziotropné hormóny a o produkčných neurónoch a endokrinných bunkách viacerých málo známych peptidov (napr. Ast-CC). Elektrofyziologickými meraniami kontrakcií na izolovaných reprodukčných orgánoch sme ukázali, že štyri rôzne neuropeptidy produkované v pohlavne špecifických neurónoch MAN9 stimulujú alebo inhibujú ich činnosť a tým sa podieľajú na transporte semenných tekutín počas kopulácie. U mušky *D. melanogaster* sme objasnili signálnu dráhu neuropeptidu Ast-C pri diurnálnej regulácii oogenézy, pričom naše výsledky naznačujú že Ast-C je funkčným ekvivalentom somatostatínu stavovcov. Pomocou komárov s potlačenou expresiou kľúčových enzýmov v syntéze juvenilného hormónu v primozgovej žľaze sme ukázali, že epoxidácia metyl farnezoátu je kľúčovou inováciou poskytujúcou hmyzu reprodukčnú výhodu. Tieto výsledky sú dôležité pre pochopenie molekulových mechanizmov regulácie vývinu a rozmnožovania, ktoré vyžadujú zložitú neuroendokrinnú komunikáciu medzi periférnymi orgánmi a CNS.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)**

This project investigated the expression and function of signalling molecules in the regulation of reproductive organs and endocrine glands in model insect species. In the silkworm *Bombyx mori*, we identified specific neuropeptide receptors in certain parts of the reproductive system and in the endocrine glands corpora allata (CA). We have characterised some of these G-protein-coupled receptors and discovered new receptors for neuropeptides. We performed expression analyses of the receptors that revealed target cells and organs, suggesting novel roles for the neuropeptides studied. We also described cells producing ligands for receptors found in the reproductive organs and CA. Our comprehensive approach provided new data on the distribution and functions of peptides in cells producing ecdysis triggering hormone receptors, as well as in neurons and endocrine cells producing little-known neuropeptides (e.g. Ast-CC). Contraction bioassay in vitro showed that four different neuropeptides produced in the neurons innervating reproductive

organs (MAN9) stimulate or inhibit the activity of isolated reproductive organs and in this way regulate the movements of seminal fluid during copulation. In the fly *D. melanogaster*, we have elucidated the signalling pathway of the neuropeptide Ast-C in the diurnal regulation of oogenesis. Our results suggest that Ast-C is the functional counterpart of vertebrate somatostatin. Using transgenic mosquitoes with suppressed expression of specific enzymes in the synthesis of juvenile hormone in CA, we have shown that the epoxidation of methyl farnesoate is a key innovation that provides the insect with a reproductive advantage. Our results are important for understanding the molecular mechanisms underlying the regulation of development and reproduction, which require complex neuroendocrine communication between peripheral organs and the CNS.