

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: RNDr. Dušan Žitňan, DrSc.	Evidenčné číslo projektu: APVV-51-039105
Názov projektu: Expresia a funkcia neuropeptidov a ich receptorov v hmyze a kliešťoch	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Ústav zoológie, SAV
	Ústav experimentálnej endokrinológie, SAV
	Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, SAV
	Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie, LFUK
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Department of Entomology, University of California, Riverside, USA
	National Institute of Agrobiological Science, Tsukuba, Japan
	Department of Integrated Biosciences, University of Tokyo, Chiba 277-8562, Japan

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	Žitňan D, Kim Y-J, Žitňanová I, Roller L, Adams ME (2007) Complex steroid-peptide-receptor cascade controls insect ecdysis. <i>Gen. Comp. Endocrinol.</i> 153, 88–96
	Roller L, Yamanaka N, Watanabe K, Daubnerová I, Žitňan D, Kataoka H, Tanaka Y (2008) The unique evolution of neuropeptide genes in the silkworm <i>Bombyx mori</i> . <i>Insect Biochem Mol Biol.</i> 38, 1147-57.
	Daubnerová I., Roller L., Žitňan D. (2009) The transgenesis approaches for functional analysis of peptidergic cells in the silkworm <i>Bombyx mori</i> . <i>Gen. Comp. Endocrinol.</i> 162, 36-42.
	Šimo L., Slovák M, Park Y, Žitňan D (2009a) Identification of a complex peptidergic neuroendocrine network in the hard tick, <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> . <i>Cell Tiss Res.</i> 335, 639-655.
	Šimo L, Žitňan D, Park Y (2009b) Two novel neuropeptides, myoinhibitory peptide and SIFamide, innervate the salivary glands of the blacklegged tick <i>Ixodes scapularis</i> . <i>J. Comp. Neurol. in press</i>
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	Naše výsledky sú významným príspevkom k objasneniu funkcie a mechanizmu účinkov neuropeptidov a ich receptorov hmyzu. Tiež sme prispeli k objasneniu regulácie prenosu bioaktívnych látok a patogénov zo slinných žliaz kliešťov do hostiteľa.

Charakteristika výsledkov

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Použili sme metódy molekulárnej biológie na identifikáciu génov kódujúcich všetky známe neuropeptidy a ich receptory zo skupiny GPCR u modelových druhov motýľov *Bombyx mori* a *Manduca sexta*. Pomocou imunohistochemie a in situ hybridizácie sme podrobne opísali expresiu väčšiny neuropeptidov v nervových a endokrinných orgánoch týchto druhov. In situ hybridizácie a RT-PCR sme použili na detekciu expresie všetkých známych receptorov pre neuropeptidy u *B. mori*. Podrobná analýza expresie týchto receptorov v rôznych orgánoch priniesla nové a veľmi zaujímavé poznatky o ich funkcii počas vývinu *B. mori*. Vylučovanie neuropeptidov z CNS a Inka buniek *B. mori* a *M. sexta* sme sledovali imunohistochemickými technikami a kvantitatívnou enzýmovou imunoanalýzou. Na štúdium funkcie neuropeptidov a ich receptorov pri zvlíkaní sme použili metódy molekulárnej biológie, elektrofyziologické techniky a v priebehu posledných dvoch rokov aj bakulovírusový expresný systém. Elektrofyziologickými metódami sme zistili, že zmesi viacerých neuropeptidov vylúčených z rôznych typov neurónov regulujú jednotlivé časti zvlíkania.

Ako prví sme imunohistochemickými metódami opísali viaceré doteraz neznáme centrálné a periférne neuróny, neurosekrečné orgány a endokrinné bunky kliešťov. Jedným z najzaujímavejších výsledkov je veľmi zložitá a špecifická inervácia slinných žliaz niekoľkými neurónmi zo synganglia (mozgu). Pomocou hmotovej spektrometrie (MALDI-TOF) a molekulárnych metód sme identifikovali z týchto neurónov dva neuropeptidy (myoinhibičný peptid a SIFamid) a ich gény u kliešťa *Ixodes scapularis*. Z uvedených výsledkov vyplýva, že produkcia rôznych aktívnych látok a prenos patogénov zo slinných žliaz počas sania kliešťov na hostiteľovi je regulovaná špecifickými neuropeptidmi z centrálnych neurónov.

Vytýčené ciele sme splnili a navyše sme dosiahli aj ďalšie zaujímavé výsledky, ktoré sa priamo týkajú tohto projektu a prispievajú k objasneniu nových funkcií bioaktívnych látok a ich receptorov.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

We used molecular biology techniques to identify genes encoding all known neuropeptides and their receptors from GPCR family in moth model species *Bombyx mori* and *Manduca sexta*. Immunohistochemistry and in situ hybridizations were used for detailed description of neuropeptide expression in nervous and endocrine organs of these species. In situ hybridization and RT-PCR were utilized to detect expression of all known neuropeptide receptors in *B. mori*. Detailed analysis of receptor expression in various organs led to novel and interesting findings regarding their function during development of *B. mori*. We used immunohistochemistry and quantitative enzyme immunoassays to detect neuropeptide release from the CNS and Inka cells of *B. mori* and *M. sexta*. To determine function of neuropeptides and their receptors in ecdysis, we used molecular biology and electrophysiology techniques, and also the baculovirus expression system during the last two years. Electrophysiology techniques revealed that a mixture of several neuropeptides released from different types of neurons control each behavioral phase of ecdysis.

Using immunohistochemical techniques we discovered multiple central and peripheral neurons, neurosecretory organs and endocrine cells of ticks. The most intriguing discovery is elaborate and specific innervation of salivary glands by several neurons from the synganglion (brain). The mass spectrometry (MALDI-TOF) and molecular methods were used to identify two neuropeptides (myoinhibitory peptide and SIFamide) and their genes expressed in these neurons in the tick *Ixodes scapularis*. Our results indicate that production of various active compounds and transmission of pathogens from salivary glands during blood feeding of ticks on the host is regulated by specific neuropeptides from central neurons.

We accomplished all specific aims and obtained additional interesting results complementing this project. This project revealed important novel functions of bioactive molecules and their receptors.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa:



Dátum: 28. 5. 2009

Podpis štatutárneho zástupcu:

Pečiatka: