

MARIOLA ANDREJKO¹, MAGDALENA MIZERSKA-KOWALSKA², BARBARA ZDZISIŃSKA²

¹Zakład Immunobiologii

Instytut Biologii i Biochemii

²Zakład Wirusologii i Immunologii

Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii

Wydział Biologii i Biotechnologii UMCS

Akademicka 19, 20-033 Lublin

E-mail: mariola.andrejko@poczta.umcs.lublin.pl

magdalena.mizerska-dudka@poczta.umcs.lublin.pl

basiaz@poczta.umcs.lublin.pl

RECEPTORY ZWIĄZANE Z BIAŁKAMI G W ODPORNOŚCI WRODZONEJ BEZKRĘGOWCÓW

BUDOWA, MECHANIZM PRZEKAZYWANIA SYGNAŁU ORAZ PODRODZINY RECEPTORÓW ZWIĄZANYCH Z BIAŁKAMI G

Ważną cechą wszystkich organizmów żywych jest zdolność do reagowania na sygnały docierające z otaczającego środowiska. Przez wiele lat naukowcy zastanawiali się, w jaki sposób komórki odbierają i odpowiadają na docierające do nich sygnały. Hipoteza, że w każdej komórce istnieją struktury, które przenikają przez błonę komórkową i pośredniczą w przekazywaniu różnych sygnałów do wnętrza komórki, została początkowo odrzucona przez środowisko naukowe (patrz LEFKOWITZ 2013). Dopiero po wieloletnich badaniach udowodniono, że takie struktury, określane mianem receptorów, istnieją i występują we wszystkich organizmach żywych, począwszy od jednokomórkowych, do złożonych organizmów wielokomórkowych. Obecność receptorów w komórkach umożliwia im nie tylko odbieranie sygnałów ze środowiska zewnętrznego, ale odpowiada również za sygnalizację międzykomórkową, niezbędną do utrzymania homeostazy organizmu wielokomórkowego. Większość z poznanych dotychczas receptorów należy do dużej i zróżnicowanej rodziny receptorów określanych jako receptory związane z białkami G (ang. G-protein-coupled receptors, GPCRs). GPCRs występują u bakterii, grzybów i zwierząt, a

nawet w roślinach. Wykazano, że ludzki genom koduje ponad 800 GPCRs. Natomiast u rybki danio przegowanego (*Danio rerio*) zidentyfikowano geny dla ponad 700 takich receptorów. Imponująca liczba ponad 1000 GPCRs jest kodowana w genomie wolnożyjącego nicienia *Caenorhabditis elegans*. Równie dużą liczbę GPCRs, ponad 1300, wykryto u myszy. Z kolei w genomie muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) kodowanych jest ponad 200 GPCRs, natomiast u śluzowca *Dictyostelium discoideum* ponad 50. Co ciekawe, w genomach drożdży wykryto tylko nieliczne geny kodujące GPCRs, np. u *Saccharomyces cerevisiae* tylko 3, zaś u *S. pombe* 9 (FREDRIKSSON i SCHIÖTH 2005, PRABHU i EICHINGER 2006).

Wszystkie GPCRs mają charakterystyczną budowę, która pozwala na odróżnienie ich od innych typów receptorów błonowych. Są one zbudowane z pojedynczego łańcucha polipeptydowego, który jest zwinięty w taki sposób, że siedmiokrotnie przechodzi przez błonę komórkową, wchodząc do wnętrza komórki i wychodząc na zewnątrz (stąd inna nazwa tych receptorów to 7TMRs, ang. seven transmembrane receptors). Fragment aminowy łańcucha (N-koniec) znajduje się na zewnątrz komórki, natomiast fragment karboksylowy (C-koniec) umiejscowiony jest w cytoplazmie. Fragmenty łańcucha przechodzące przez błonę komórkową mają budowę α -helisy. Są one połączone naprzemiennie

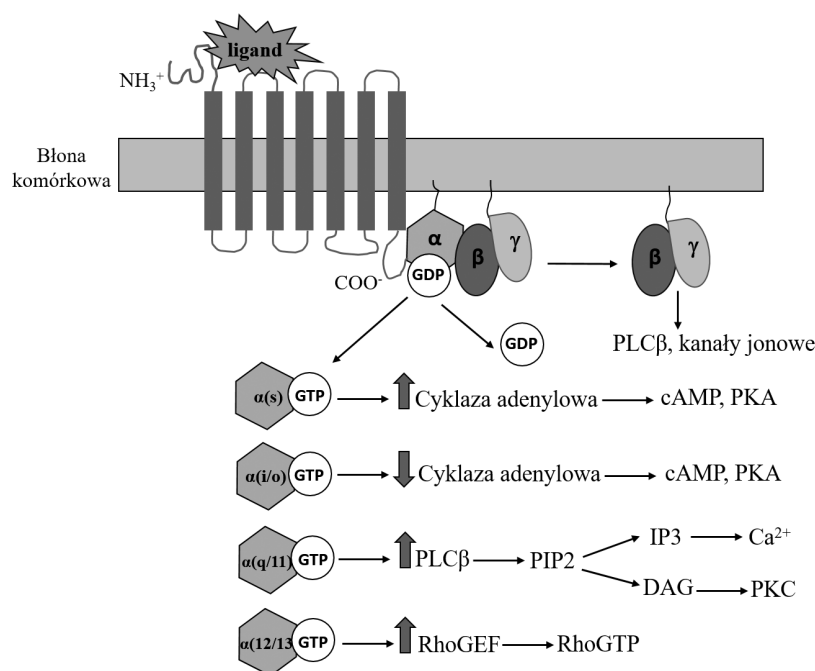
Słowa kluczowe: bezkręgowce, odporność wrodzona, receptory związane z białkami G (GPCRs)

trzema pętlami łańcucha na zewnątrz komórki i trzema w jej wnętrzu. N-koniec (zawierający zwykle miejsca glikozylacji) i pętle zewnątrzkomórkowe są odpowiedzialne za wiązanie różnych struktur, tzw. ligandów. Natomiast C-koniec (zawierający miejsca fosforylacji) wraz z trzecią pętlą cytoplazmatyczną wchodzi w interakcje z grupą białek cytoplazmatycznych, zwanych białkami G (Ryc. 1) (LEFKOWITZ 2013, ZHANG i współaut. 2015).

Związanie receptora z odpowiednim ligandem, czyli jego aktywacja, skutkuje zapoczątkowaniem kaskady sygnałowej wewnątrz komórki, która „tłumaczy” sygnał zewnętrzny i przenosi go na tzw. układy efektorowe (wtórne przekaźniki), odpowiedzialne za realizację odpowiedzi na dany sygnał. Pierwszymi elementami tej kaskady wewnątrz komórki są heterotrimeryczne białka G, zbudowane z trzech podjednostek: α , β i γ . Organizmy kodują wiele typów każdej z podjednostek, które mogą tworzyć heterotrimery w postaci różnych kombinacji, aktywujących określone szlaki przekazywania sygnałów. Podjed-

nostki $G\alpha$ są zwykle zakotwiczone w błonie komórkowej i są GTP-azami, czyli katalizują hydrolizę GTP (guanozyny-5'-trifosforanu) do GDP (guanozyny-5'-difosforanu). Również podjednostki $G\gamma$ mogą być związane z błoną komórkową. Natomiast podjednostki $G\beta$ nie kotwiczą się w błonie komórkowej, przylegają za to ściśle do białek $G\gamma$ i poprzez interakcje hydrofobowe tworzą z nimi dimery.

Białko G jest nieaktywne, gdy podjednostka $G\alpha$ związana jest z cząsteczką GDP. Taki białkowy kompleks ($G\alpha$ -GDP, $\beta\gamma$) dokuje w nieaktywnym GPCR lub dryfuje w błonie komórkowej. Przyłączenie liganda do GPCR stymuluje uwolnienie GDP z podjednostki $G\alpha$ i białko G pozbawione nukleotydu guanylowego wiąże się z wysokim powinowactwem do receptora. Wkrótce po związaniu białka G z receptorem, do wolnej „kieszki” w podjednostce $G\alpha$ zostaje przyłączony GTP, co indukuje dysocjację białka G (równoznaczną z jego aktywacją) na podjednostkę $G\alpha$ -GTP oraz $G\beta\gamma$. Uwolnione podjednostki ($G\alpha$ -GTP oraz $G\beta\gamma$) mogą następnie inicjować różne szlaki sygnałowe prowadzące do



Ryc. 1. Schemat przedstawiający budowę receptora zawiązanego z białkami G (GPCR) oraz ogólny model aktywacji szlaków sygnałowych po związaniu liganda. Pokazane są podklasy białek $G\alpha$ i aktywowane przez nie szlaki sygnałowe oraz cząsteczki efektorowe aktywowane przez dimer $G\beta\gamma$ (wg LIN 2013, zmieniona).

cAMP, cykliczny adenozyno-3',5'-monofosforan; DAG, 1,2-diacylglicerol; GDP, guanozyny-5'-difosforan; GEF, białko zaangażowane w wymianę GDP na GTP; GTP, guanozyny-5'-trifosforan; IP3, inozytolo-(1,4,5)-trifosforan; PKA, kinaza białkowa A; PKC, kinaza białkowa C; PLC β , fosfolipaza C typu β ; PIP2, fosfatydyloinozytolo-(4,5)-bisfosforan; Rho, białko należące do nadrodziny Ras, małych białek G o aktywności GTP-az.

powstania wielu wtórnych przekaźników i białek efektorowych. Aktywne białko G wraca do stanu nieaktywnego w momencie, gdy dojdzie do hydrolizy związanego z podjednostką $G\alpha$ GTP do GDP i nastąpi ponowne połączenie (reasocjacja) $G\alpha$ -GDP z $G\beta\gamma$. Proces hydrolizy GTP zachodzi z udziałem samej podjednostki $G\alpha$ (wykazuje aktywność GTP-azy) oraz białek wspomagających, tzw. białek regulujących działanie białek G (ang. regulators of G protein signaling, RGS). Reasocjacja pełnego kompleksu białka G ($G\alpha$ -GDP, $\beta\gamma$) pozwala na zapoczątkowanie nowego cyklu sygnałowego (VÖGLER i współaut. 2008, LIN 2013, HANLON i ANDREW 2015).

Istnieje kilka mechanizmów oddziaływania GPCRs z ligandami. Ligandy o niewielkich rozmiarach wiążą się z receptorem w szczególnie utworzonej przez region śródbłonowy. Natomiast ligandy będące białkami lub peptydami oddziałują z N-końcem lub domenami zewnątrzkomórkowymi receptora. Z kolei PARs (ang. protease-activated receptors)

stanowią grupę GPCRs aktywowanych przez tzw. „związane” (ang. „tethered”) ligandy. Ligandy te powstają w wyniku działania proteaz serynowych (różnego pochodzenia) na N-koniec GPCR. Skutkuje to odsłonięciem nowego N-końca, który staje się wewnątrzcząsteczkowym ligandem oddziałującym z drugą pętlą zewnątrzkomórkową znajdującą się w obrębie tego samego receptora (SHPA-COVITCH i współaut. 2007, LIN 2013).

Wśród białek $G\alpha$ wyróżnia się 4 podklasy: $G\alpha(s)$, $G\alpha(i/o)$, $G\alpha(q/11)$ i $G\alpha(12/13)$, z których każda zapoczątkowuje specyficzny dla niej szlak sygnałowy. $G\alpha(s)$ i $G\alpha(i/o)$ regulują aktywność cyklicznych adenozyn-3',5'-monofosforan (cAMP) z adenozy-5'-trifosforanu (ATP). $G\alpha(s)$ stymuluje ich aktywność, podczas gdy $G\alpha(i)$ i $G\alpha(o)$ są jej inhibitorami. cAMP jest uniwersalnym wtórnym przekaźnikiem wewnątrzkomórkowym, regulującym wielu procesów komórkowych. Może on aktywować kinazę białkową A (PKA), która poprzez fosforylację aktywuje z kolei wiele białek stymulujących transkrypcję genów. Trzecia podklasa, białka $G\alpha(q/11)$, aktywują fosfolipazę C typu β (PLC β), która rozkłada błonowy fosfolipid fosfatydyloinozytolo-(4,5)-bisfosforan (PIP2) do kolejnych wtórnych przekaźników, tj. inozytolo-(1,4,5)-trifosforanu (IP3) oraz 1,2-diacylglicerolu (DAG). IP3 dyfunduje w cytoplazmie, wiąże się do wewnątrzkomórkowych kanałów wapniowych na powierzchni siateczki śródplazmatycznej i inicjując ich otwarcie, doprowadza do zwiększenia stężenia jonów wapnia w cytoplazmie. Poziom jonów wapnia w komórce odpowiada z kolei za regulację różnych procesów życiowych, takich jak wzrost, podział czy różnicowanie. Natomiast hydrofobowy DAG pozostaje w wewnętrznej warstwie błony cytoplazmatycznej i aktywuje kinazę białkową C (PKC). Ostatnia podklasa białek G, $G\alpha(12/13)$, poprzez białka regulatorowe GEFs (ang. guanine nucleotide exchange factor) aktywuje małe białka Rho o aktywności GTP-az, które regulują z kolei przekształcenia cytoszkieletu aktynowego, wpływając tym samym na procesy migracji komórek. Również odłączony od białkowego kompleksu dimer $G\beta\gamma$ może niezależnie indukować różne szlaki sygnałowe i aktywować cząsteczki efektorowe, np. PLC β czy kanały jonowe (Ryc. 1). GPCRs są zdolne do aktywacji różnych rodzajów białek G, bez preferowania określonego typu tych białek (LIN 2013, BRUST i współaut. 2015).

Aktywność GPCRs może być modulowana poprzez różne mechanizmy. Wykazano, że receptory te mogą ulegać fosforylacji przez kinazy GRKs (ang. G-protein-coupled receptor kinases). Te same zmiany kon-

formacji, których wynikiem jest dysocjacja hetrotrimerycznego białka G, pozwalają na fosforylację receptora. $G\beta\gamma$ rekrutują GRKs, które fosforylują reszty serynowe lub treoninowe w trzeciej pętli cytoplazmatycznej receptora lub fragment C-końcowy aktywowanego receptora. Fosforylacja GPCR skutkuje przyłączeniem w ufosforylowanym regionie cytozolowego białka β -arestyny i zahamowaniem aktywności receptora, określanym jako odczulanie. GPCRs po odczuleniu ulegają internalizacji (endocytozie). W procesie tym β -arestyna wiąże kolejne białko, klatrynę (tworzącą płaszczyznę pęcherzyka endocytarnego) i jej białko adaptorowe AP-2. Niektóre GPCRs, tzw. klasa A, po internalizacji łatwo tracą β -arestynę, ulegają defosforylacji i mogą szybko powrócić na powierzchni komórki. Klasa B GPCRs, po internalizacji utrzymuje związaną β -arestynę, co z kolei stymuluje proces ich ubikwitynacji, po którym są kierowane do degradacji w lizosomach. Istnieją również białka, tzw. związane z GPCRs białka sortujące (ang. GPCR-associated sorting protein, GASP), które wspomagają podjęcie decyzji, czy receptor ma zostać zdegradowany czy powrócić na powierzchnię komórki (FERGUSON 2001, HANLON i ANDREW 2015).

Na podstawie badań filogenetycznych w nadrodzinie GPCRs u człowieka wydzielono 5 rodzin: receptory glutaminergiczne (ang. glutamate), rodopsyno-podobne (ang. rhodopsin-like), adhezyjne (ang. adhesion), Frizzled i smakowe (ang. Frizzled/taste) oraz sekretyno-podobne (ang. secretin-like). Jest to tzw. klasyfikacja GRAFS (FREDRIKSSON i współaut. 2003). Istnieje również podział na 6 rodzin, oparty na podobieństwie funkcjonalnym oraz homologii sekwencji, w którym wyróżnia się: rodzinę A (receptory podobne do rodopsyny), B (receptory podobne do sekretyny), C (receptory glutaminergiczne i feromonowe), D (receptory feromonów grzybów), E (receptory cAMP) oraz F (receptory Frizzled/smoothened) (KOLAKOWSKI 1994). Każda z rodzin GPCRs wiąże charakterystyczną dla niej grupę naturalnych ligandów. Na przykład, większość glutaminergicznych GPCRs wiąże aminokwasy, kationy lub małe związki organiczne (m.in. feromony). Z kolei receptory sekretyno-podobne reagują przeważnie z peptydami czy hormonami białkowymi. Receptory rodopsyno-podobne mogą wiązać natomiast tak różne substancje jak fotony, odoranty, nukleotydy, związki lipido-podobne, peptydy i białka, w tym enzymy. Ta ostatnia rodzina receptorów jest też największą rodziną GPCRs u większości organizmów. Adhezyjne GPCRs wchodzi z kolei w interakcje z powierzchnią komórki, białkami macierzy zewnątrzkomórkowej, a

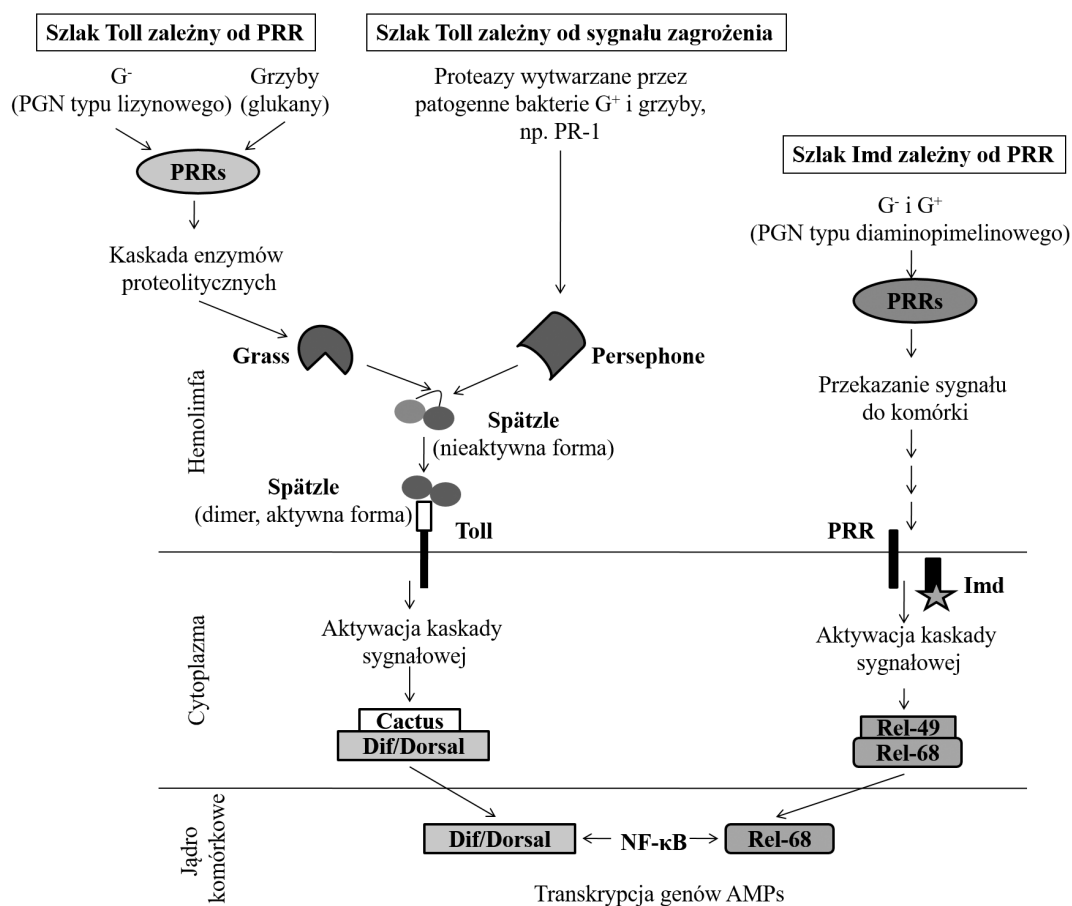
nawet z ligandami pochodzącymi z mikroorganizmów. Receptory Frizzled wiążą natomiast lipoglikoproteiny z rodziny Wingless (Wnt). Pomimo wieloletnich badań, ligandy dla wielu GPCRs nie zostały zidentyfikowane, dlatego takie receptory określa się mianem receptorów sierocych (LIN 2013).

GPCRs uczestniczą niemal w każdym aspekcie życia organizmów, odpowiadając za funkcje fizjologiczne takie jak: zdolność widzenia, smak, węch, aktywność neuronów, metabolizm czy rozmnażanie. Ponadto interakcje GPCR-ligand regulują wiele mechanizmów związanych z odpowiedzią immunologiczną, w związku z czym receptory te są zaangażowane również w odporność organizmów na zakażenia patogenami (WETSCHURECK i OFFERMANN 2005). O ile udział GPCRs w reakcjach odpornościowych u krę-

gowców jest szeroko opisywany w literaturze, ich zaangażowanie w mechanizmy odporności u organizmów bezkręgowych jest tematem, jak dotychczas, niewielu publikacji. W związku z powyższym w niniejszej pracy skupimy się na przybliżeniu informacji na temat roli GPCRs w mechanizmach odporności u trzech modelowych organizmów z tej grupy, tj. skrzypłocza atlantyckiego (*Limulus polyphemus*), muszki owocowej (*D. melanogaster*) i nicienia *C. elegans*.

MECHANIZMY ROZPOZNAWANIA PATOGENÓW PRZEZ BEZKRĘGOWCE

Ze względu na brak odporności nabytej, bezkręgowce wykorzystują mechanizmy odporności wrodzonej, aby bronić się przed infekcjami. Pierwszym krokiem w ich uru-



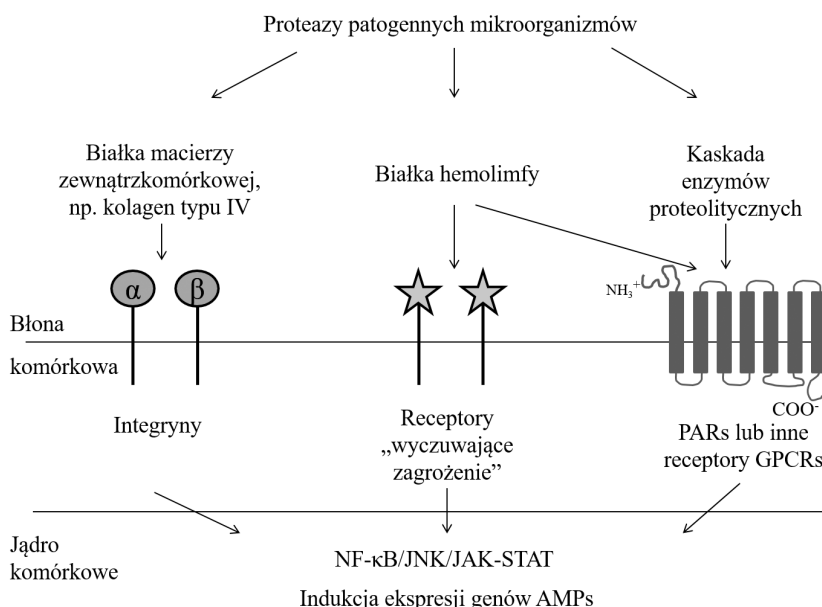
Ryc. 2. Schemat aktywacji szlaków sygnałowych Toll i Imd *D. melanogaster*, prowadzących do zależnej od NF-κB aktywacji transkrypcji genów peptydów przeciwdrobnoustrojowych. Przedstawione zostały mechanizmy zależne od rozpoznawania przez receptory rozpoznające wzorce (PRRs) struktur PAMPs (wzorców molekularnych związanych z patogenami) oraz mechanizmy zależne od rozpoznania sygnałów zagrożenia lub uszkodzenia, DAMPs.

AMPs, peptydy przeciwdrobnoustrojowe; Cactus, białko inhibitorowe Dif/Dorsal, odpowiednik IκB ssaków; Dif/Dorsal, czynnik transkrypcyjny szlaku Toll; Grass i Persephone, proteazy serynowe kaskady proteolitycznej aktywacji czynnika Spätzle; NF-κB, czynnik transkrypcyjny zidentyfikowany w limfocytach B zaangażowany w ekspresję łańcucha lekkiego typu kappa immunoglobulin; PGN, peptydoglikan; Rel-68, czynnik transkrypcyjny szlaku Imd; Rel-49, białko inhibitorowe czynnika Rel-68; Spätzle, ligand receptora Toll.

chomieniu jest rozpoznanie przez organizm sygnałów świadczących o „obcości” czynnika atakującego lub/i „niebezpieczeństwie” wynikającym z jego obecności. Mikroorganizmy posiadają na swojej powierzchni charakterystyczne substancje, które nie występują w organizmach wyższych, są więc dla nich „obce”. Określa się je mianem wzorców molekularnych związanych z patogenami (ang. pathogen-associated molecular patterns, PAMPs). Rozpoznanie PAMPs za pomocą odpowiednich receptorów, którymi dysponują bezkręgowce, może zapoczątkować reakcję obronną organizmu. Taki sposób uruchomienia mechanizmów odporności jest często określane jako SNS (ang. self non-self) lub INS (ang. infectious non-self). Odpowiedź odpornościową mogą również zapoczątkować sygnały zagrożenia lub uszkodzenia przez ciało obce komórek gospodarza (ang. danger/damage-associated molecular patterns, DAMPs) (MATZINGER 2002).

U bezkręgowców opisano szereg receptorów związanych z rozpoznawaniem PAMPs, określanymi (podobnie jak u kręgowców), jako receptory rozpoznające wzorce (ang. pattern recognition receptors, PRRs). Należą do nich m. in. białka rozpoznające peptydoglikan (ang. peptidoglycan recognition proteins, PGRPs) i białka wiążące bakterie Gram-ujemne (ang. Gram-negative binding proteins, GNBP). Receptory te, po rozpo-

znaniu specyficznych dla siebie struktur PAMPs, uruchamiają dwa główne szlaki sygnałowe, Toll i Imd, zaangażowane w kontrolę mechanizmów odporności bezkręgowców, związanych m.in. z syntezą peptydów przeciwdrobnoustrojowych (ang. antimicrobial peptides, AMPs). Szlaki te wykazują podobieństwo do szlaku sygnałowego receptorów Toll-podobnych (ang. Toll-like receptors, TLRs) u ssaków i prowadzą do aktywacji określonego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, odpowiedzialnego za transkrypcję genów kodujących odpowiednio cytokiny u ssaków i AMPs u bezkręgowców (KURATA i współaut. 2006, VALANNE i współaut. 2011). U ssaków TLRs pełnią funkcję receptorów rozpoznających bezpośrednio PAMPs, natomiast u bezkręgowców pobudzenie receptora Toll wymaga aktywacji czynnika Spätzle, który jest bezpośrednim ligandem dla tego receptora (VALANNE i współaut. 2011, KRAUTZ i współaut. 2014). Po pierwsze, w wyniku rozpoznania przez receptory PGRP-SA i PGRP-SD peptydoglikanu (PGN) typu lizynowego (PAMP bakterii G⁺) lub po rozpoznaniu przez GNBP-3 grzybowych wzorców, czyli glukanów, uruchomione zostają kaskady enzymów proteolitycznych. Konsekwencją tego procesu jest aktywacja proteazy serynowej Grass, która na drodze proteolizy aktywuje czynnik Spätzle (Ryc. 2) (VALANNE i współaut. 2011). Drugi z mechanizmów aktywacji receptora



Ryc. 3. Schemat udziału proteaz wytwarzanych przez patogeniczne mikroorganizmy w generowaniu sygnałów „zagrożenia” i aktywacji szlaków transkrypcji genów AMPs po rozpoznaniu DAMPs u *G. mellonella* (wg ALTINCICEK i współaut. 2007, zmieniona).

AMPs, peptydy przeciwdrobnoustrojowe; DAMPs, sygnały zagrożenia lub uszkodzenia; NF- κ B, czynnik transkrypcyjny zidentyfikowany w limfocytach B zaangażowany w ekspresję łańcucha lekkiego typu kappa immunoglobulin; JAK, kinaza Janusa; JNK, kinaza białkowa fosforylująca N-koniec białka c-Jun; PARs, receptory aktywowane przez proteazy; STAT, białka przekazujące sygnał i aktywujące transkrypcję.

Toll związany jest z udziałem proteaz, wytwarzanych przez drobnoustroje, jako czynniki wirulencji. Przykładem takiego czynnika jest proteaza PR-1, wytwarzana przez grzyby patogenne. Enzym ten na drodze proteolizy aktywuje proteazę Persphone, a ta z kolei czynnik Spätzle (Ryc. 2) (VALANNE i współaut. 2011). Natomiast aktywacja szlaku Imd syntezy AMPs u bezkręgowców odbywa się po rozpoznaniu przez receptory PGRP-LC i PGRP-LE peptydoglikanu typu diaminopimelinowego, czyli struktury PAMP bakterii G⁻ i G⁺ z rodzaju *Bacillus* i *Clostridium* (Ryc. 1) (KURATA i współaut. 2006, VALANNE i współaut. 2011). Badania przeprowadzone na gąsienicach barciaka większego (*Galleria mellonella*) dowodzą ponadto, że w wyniku aktywności endo- i egzogennych enzymów proteolitycznych w hemolimfie powstają (z białek macierzy zewnątrzkomórkowej lub białek hemolimfy) fragmenty peptydowe, które poprzez receptory „wyczuwające sygnały zagrożenia”, np. integryny lub GPCRs, aktywują geny odpowiedzi immunologicznej. Enzymy te mogą brać również udział w bezpośredniej inicjacji kaskady aktywacji receptorów PARs (Ryc. 3) (GRIESCH i współaut. 2000, ALTINCICEK i VILCINSKAS 2006, ALTINCICEK i współaut. 2007). Różnorodny charakter ligandów GPCRs oraz możliwość ich aktywacji na drodze proteolizy powoduje, że receptory te mogą być zaangażowane u bezkręgowców w uruchamianie mechanizmów odporności poprzez „wyczuwanie” DAMPs.

UDZIAŁ GPCRs W MECHANIZMACH ODPORNOŚCI *L. POLYPHEMUS*

Pierwsze informacje dotyczące udziału GPCRs w mechanizmach obronnych bezkręgowców związane są z badaniami dotyczącymi krzepnięcia krwi u skrzyplacza atlantyckiego (*L. polyphemus*), w obecności bakterii G (REBOUL i EWBank 2016). W badaniach tych zaobserwowano, że amebocyty (komórki hemolimfy) pod wpływem lipopolisacharydu (LPS) wydzielają na drodze egzocytozy szereg czynników obronnych, m. in. koagulogen (białko prekursorowe tworzącej skrzep koaguliny), a także przeciwbakteryjny peptyd tachyplezynę. Wykazano, że LPS jest rozpoznawany przez powierzchniowe białko komórek krwi skrzyplacza, tzn. nieaktywny czynnik C, będący proteazą serynową w formie zymogenu. Po związaniu LPS zymogen ten ulega autoaktywacji (OSAKI i KAWABATA 2004, KURATA i współaut. 2006). Przypuszcza się, że forma aktywna czynnika C, poprzez odcięcie N-końca, aktywuje następnie niezidentyfikowany do tej pory GPCR, na co wskazuje aktywacja szlaków sygnałowych zależnych od PLC i egzocytoza hemocytów

po wpływie LPS (KURATA i współaut. 2006, REBOUL i EWBank 2016). Obecność należącego do GPCRs receptora aktywowanego przez proteazy (PARs) u skrzyplacza sugeruje również fakt, że wewnątrzcząsteczkowe ligandy ludzkiego receptora PAR1 i mysiego receptora PAR2 indukują egzocytozę hemocytów tego bezkręgowca (ARIKI i współaut. 2004). Ponadto wykazano, że tachyplezyna wydzielana z amebocytów aktywowanych LPS wzmacnia egzocytozę tych komórek na drodze dodatniego sprzężenia zwrotnego, poprzez szlak sygnałowy związany z białkami G. Wyniki badań *in vitro* wskazują, że w tym przypadku mechanizm działania związany jest z bezpośrednim oddziaływaniem tachyplezyny z białkami G (Gα(o) i Gα(i)), a nie z aktywacją GPCR (OSAKI i współaut. 2005). Co ciekawe, stwierdzono, że taki sam sposób działania wykazują podczas aktywacji komórek tucznych u ssaków defensyny, należące, podobnie jak tachyplezyna, do przeciwbakteryjnych peptydów kationowych (BEFUS i współaut. 1999).

ROLA GPCRs W MECHANIZMACH ODPORNOŚCI *D. MELANOGASTER*

Mechanizmy odporności *D. melanogaster* znajdują się pod kontrolą dwóch głównych szlaków sygnałowych, Toll i Imd (aktywujących szlaków NF-κB), odpowiedzialnych za ekspresję genów kodujących AMPs. W oparciu o przesiewowe badania genomu komórek linii S2 muszki owocowej z użyciem interferencyjnego RNA (RNAi), wykazano obecność nowych czynników zaangażowanych w regulację szlaku Toll, a tym samym mechanizmów odporności tego owada. Wśród nich jest białko CG31660, wykazujące homologię z ludzkim białkiem GPCR158 należącym do glutaminergicznych GPCRs. Co więcej, badania te wskazały na istnienie u *D. melanogaster* konserwatywnego ewolucyjnie regulatora szlaku sygnałowego NF-κB, białka Gprk2, wykazującego znaczne podobieństwo sekwencji aminokwasowej z białkiem GRK5 kręgowców. Jak stwierdzono, białko Gprk2 reguluje szlak sygnałowy Hedgehog (regulujący m. in. tworzenie endosomów sygnałowych pod wpływem uracylu bakteryjnego) oraz oddziałuje z białkiem Cactus (inhibitorem białek Dorsal i Dif tworzących NF-κB), co angażuje je w odporność przeciwdrobnoustrojową muszki owocowej zależną od szlaku sygnałowego Toll/NF-κB (VALANNE i współaut. 2010, LEE i współaut. 2015). Podobnie jak u innych zwierząt, powierzchnia jelita *D. melanogaster* stanowi miejsce kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym, a więc i z czynnikami potencjalnie patogennymi. Ponadto, w jelicie muszki owocowej występuje naturalna, au-

tochtownicza mikroflora bakteryjna. Stwierdzono, że lokalne mechanizmy obronne warunkujące właściwy skład flory bakteryjnej jelita tego owada są zależne od dwóch szlaków sygnałowych. Pierwszy z nich związany jest z powstawaniem toksycznych, reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS) przy udziale oksydazy DUOX, należącej do rodziny oksydaz NADPH. Natomiast drugi szlak, Imd, związany jest z produkcją AMPs. Jak dowiedziono ROS i AMPs wykazują synergistyczne i uzupełniające się nawzajem działanie przeciwbakteryjne (KIM i LEE 2014). Mechanizm aktywacji szlaku sygnałowego Imd nie pozwala na odróżnienie patogenów od symbiontów znajdujących się w jelicie *D. melanogaster*. Zapewnia to jednak system związany z oksydazą DUOX. Jak dowiedziono, uracyl wytwarzany przez patogenne bakterie stanowi sygnał „zagrożenia” dla układu odpornościowego i uruchamia aktywację oksydazy DUOX (KIM i LEE 2014). Ze względu na fakt, że ROS wykazują działanie toksyczne również dla komórek gospodarza, działanie tej oksydazy jest ściśle regulowane zarówno na poziomie aktywności enzymatycznej, jak i ekspresji białka (KIM i LEE 2014, LEE i współaut. 2015). Liczne badania wykazały, że pod wpływem uracylu w komórkach jelita *D. melanogaster* aktywowane są endosomalne szlaki sygnałowe zależne od PLC i PKC. Aktywna PLC β powoduje uwalnianie Ca²⁺ z siateczki śródplazmatycznej, czego rezultatem jest aktywacja DUOX do syntezy ROS. Udział PLC β i PKC, związanych z układem endosomalnym, wskazuje na zaangażowanie w te procesy niezidentyfikowanego dotychczas receptora GPCR. Co więcej, badania wskazują, że ten szlak sygnałowy jest również zaangażowany w regulację ekspresji białka DUOX poprzez aktywację szlaku kinazy p38 MAP (ang. mitogen-activated protein kinase, MAPK) (KIM i LEE 2014, LEE i współaut. 2015).

UDZIAŁ GPCRS W REAKCJACH ODPORNOŚCIOWYCH *C. ELEGANS*

Nicień *C. elegans* żyje w środowisku bogatym w drobnoustroje, w glebach i kompostach, a jego głównym pożywieniem są bakterie, np. *E. coli*. Jednak niektóre gatunki drobnoustrojów, z którymi nicien jest styka, są dla niego patogenne. W związku z tym, przetrwanie *C. elegans* w środowisku naturalnym zależy w dużej mierze od jego umiejętności odróżniania nieszkodliwych bakterii od potencjalnych patogenów.

W wielu badaniach wykazano, że szlak sygnałowy Toll/NF- κ B, tak ważny w rozpoznawaniu patogenów u większości organizmów, nie funkcjonuje zarówno u *C. ele-*

gans, jak i innych nicieni. U *C. elegans* stwierdzono obecność jednego receptora TLR, TOL-1, ale wydaje się, że nie pełni on bezpośredniej roli w obronie gospodarza, chociaż pośrednio może wpływać na interakcje między nicieniem a bakteriami. Wykazano, że gen *tol-1* jest zaangażowany w końcowe etapy różnicowania neuronów służących do wykrywania poziomu CO₂. Jak każda metabolicznie aktywna bakteria również patogeny mogą wytwarzać CO₂ i lokalnie obniżać poziom O₂. Uważa się, że *C. elegans* „mierzy” poziom O₂ i CO₂ w otoczeniu, co pozwala mu kierować się w stronę bakterii. Ponadto, nicien ten przy udziale chemoreceptorów z rodziny GPCRs, odpowiedzialnych za zmysł odróżniania substancji „apetycznych” od „odstraszających”, może również rozpoznawać „dobry” i „zły” pokarm. *C. elegans* posiada więc mechanizmy pomagające w poszukiwaniu i wybieraniu pokarmu na podstawie zmiany stosunku CO₂/O₂ w kombinacji z wieloma innymi czynnikami, w tym zdolnością do wyczuwania substancji chemicznych (SHTONDA i AVERY 2006, BRANDT i RINGSTAD 2015, LI i LIBERLES 2015, EWBANK i PUJOL 2016).

Zaobserwowano, że wszystkie osobniki *C. elegans* posiadają dobrze funkcjonujący system wyczuwania (ang. chemosensory system), dzięki któremu potrafią identyfikować i odróżniać duży „repertuar” bodźców zapachowych, w tym również produkty metabolizmu bakterii. Podobnie jak u ssaków, w odbieraniu wrażeń węchowych u *C. elegans* pośredniczą GPCRs. Genom *C. elegans* koduje ponad 1000 różnych typów receptorów należących do tej rodziny, z których wiele jest chemoreceptorami, co sugeruje, że rozróżnianie zapachów jest ważne dla przetrwania nicienia. Geny kodujące GPCRs stanowią około 5% genomu tego organizmu. Spośród 100 chemoreceptorów, których ekspresję przeanalizowano, około 60% ulega ekspresji wyłącznie lub głównie w neuronach odpowiedzialnych za wyczuwanie związków chemicznych. *C. elegans* ma trzy pary takich neuronów, tj. AWA, AWB i AWC, które odgrywają główną rolę w detekcji zapachów, a także, podobnie jak inne neurony sensoryczne, mogą wykrywać rozpuszczalne w wodzie związki chemiczne: feromony, O₂, CO₂, czy też bodźce nocycytywne (bólowe). Chemoreceptory *C. elegans* są spokrewnione z najliczniejszą klasą receptorów GPCRs - receptorami podobnymi do rodopsyny (BARGMANN 2006).

GPCRs występujące u *C. elegans* w neuronach wykrywających związki chemiczne są zaangażowane przede wszystkim w odpowiedź behawioralna, pozwalającą tym organizmom skutecznie unikać drobnoustrojów

patogennych. Na przykład, neurony chemosensoryczne AWB wyczuwają w środowisku obecność specyficznego surfaktantu (ang. serrawettin W2), wydzielanego przez patogenną dla nicienia bakterię *Serratia marcescens*, który działa jak repelent, odstraszaając *C. elegans*. W konsekwencji, nicienie oddala się od zgrupowania bakterii, nawet jeśli wyczuwa przywabiającą go zmianę stężenia CO₂ w otoczeniu. Na powierzchni neuronów AWB występuje wiele różnych GPCRs, które wiążąc substancje chemiczne aktywują białko ODR-3 [podobne do białka Ga(i)]. W funkcjonowaniu tych receptorów uczestniczy również kinaza GRK-2. Wykazano, że mutanty *odr-3* lub *grk-2* nie są w stanie unikać bakterii *S. marcescens* pomimo obecności w otoczeniu charakterystycznego metabolitu, co wskazuje na udział jednego lub więcej receptorów GPCRs w tego typu zachowaniu, pozwalającym unikać patogenów (PRADEL i współaut. 2007).

Również patogenna bakteria *Pseudomonas aeruginosa*, często spotykana w środowisku bytowania nicieni, wydziela szereg wtórnych metabolitów, m.in.: karboksamid fenazy i piochelinę. Są one wykrywane przez nieopisane jeszcze GPCRs, które aktywują białka Ga, GPA-2 i GPA-3. Jedną z konsekwencji reakcji wyczuwania tych związków chemicznych jest wzrost wydzielania w organizmie *C. elegans* czynnika DAF-7, spokrewnionego z cytokiną TGF- β (ang. transforming growth factor β), który modyfikuje odpowiedź nicieni na poziom O₂ w otoczeniu w taki sposób, że opuszczają one zgrupowanie bakterii pomimo tego, że w normalnych warunkach taki poziom tlenu byłby dla nich atrakcyjny (MEISEL i współaut. 2014).

Ponadto wykazano, że niektóre GPCRs występujące u *C. elegans* uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej po zakażeniu nicienia patogenami. W dwóch niezależnych badaniach zaobserwowano, że u nicienia występuje należący do GPCRs receptor neuropeptydowy NPR-1, podobny do ssaczego neuropeptydowego receptora Y (NPY). Receptor ten jest niezbędny podczas zakażenia organizmu bakterią *P. aeruginosa*. Niektórzy autorzy sugerują, że NPR-1 w sposób bezpośredni moduluje u nicienia ekspresję genów odporności (związanych z mechanizmami odporności w jelicie), których ekspresja jest również regulowana przez kinazę p38 MAP, PKM-1. Natomiast, według innych badaczy, NPR-1 tylko w sposób pośredni wpływa na reakcje obronne organizmu, poprzez oddziaływanie na zależne od tlenu behawioralne unikanie patogenów. Istotnie, wykazano, że mutanty *npr-1* wytwarzają kilka behawioralnych fenotypów, wykazujących różnice w wyczuwaniu stężenia CO₂ i O₂, co wpływa na

zdolność nicieni do unikania drobnoustrojów patogennych (KAWLI i współaut. 2010, CARILLO i współaut. 2013, KIM i EWBANK 2015).

Istotnym składnikiem wrodzonej odpowiadzi odpornościowej *C. elegans* na patogenne bakterie jest należący do GPCRs receptor FSHR-1 (ang. follicle stimulating hormone receptor-1), będący homologiem ssaczego receptora hormonu folikulotropowego (FSH). Zaobserwowano, że odgrywa on kluczową rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej w jelicie nicieni zainfekowanych różnymi patogenami, m.in. bakterią *P. aeruginosa*. Należy zaznaczyć, że receptor ten ma zasadnicze znaczenie nie tylko dla przeżycia organizmu, ale bierze też udział w regulacji genów odporności gospodarza na metale ciężkie i stres oksydacyjny, tym samym przyczyniając się do utrzymania lub przywrócenia homeostazy organizmu po infekcji. Ponadto stwierdzono, że FSHR-1 obniża odporność *C. elegans* na niską temperaturę, ponieważ mutanty pozbawione genu *fshr-1* przeżywają stres zimna lepiej niż nicienie typu dzikiego (REBOUL i EWBANK 2016). Na receptor FSHR-1 zwrócono pierwotnie uwagę ze względu na jego budowę, ponieważ zawiera elementy typowe zarówno dla receptorów GPCRs, jak i domeny bogate w leucynę (ang. leucine-rich repeat, LRRs). U kręgowców LRRs są często spotykane w receptorach związanych z odpornością wrodzoną, m.in. w TLRs, oraz w większości receptorów NOD-podobnych (ang. NOD-like receptors, NLRs), gdzie pośredniczą w bezpośrednim rozpoznawaniu odpowiednich PAMPs. U bezkręgowców te zewnątrzkomórkowe domeny raczej nie pełnią takiej roli, lecz prawdopodobnie przylączają endogenne białka cytokino-podobne (POWELL i współaut. 2009).

Kolejnym GPCR, zaangażowanym w reakcje obronne nicienia, jest receptor DCAR-1, funkcjonujący w organizmie jako receptor DAMP. Pierwotnie został on opisany u *C. elegans* jako transmembranowe białko występujące w neuronach chemosensorycznych, będące przypuszczalnie receptorem dla niskocząsteczkowego kwasu dihydrokafeinowego, DHCA, repelentu pochodzenia roślinnego. DCAR-1 jest uznawany za pierwszy zidentyfikowany receptor smaku w tych neuronach. Obecnie wiadomo, że DCAR-1 występuje również w naskórku nicieni, gdzie może być aktywowany przez pochodną tyrozyny, HPLA (kwas 4-hydroksyfenylowy). Jest to endogenny ligand, który gromadzi się w organizmie nicienia po zranieniu lub zainfekowaniu grzybem *Drechmeria coniospora*. Pobudzenie DCAR-1 przez HPLA skutkuje aktywacją białka Ga – GPA-12, które pobudza z kolei dwa enzymy PLC β , tj. PLC-3 i EGL-8. Enzymy te hydrolizują PIP2 do IP3

i DAG. Ten ostatni aktywuje następnie PKC (TPA-1), która uruchamia szlak sygnałowy p38 MAPK, prowadząc ostatecznie do aktywacji czynnika transkrypcyjnego podobnego do STAT (ang. signal transducer and activator of transcription) i ekspresji genów kodujących AMPs. Odkrycia te wskazują, że receptor DCAR-1 oraz jego ligand HPLA mają istotne znaczenie jako czynniki uruchamiające wrodzoną odpowiedź odpornościową w naskórku *C. elegans* i podkreślają rolę GPCRs w obronie gospodarza. U nicieni, podobnie jak i u wielu innych zwierząt, naskórek znajduje się w stałym kontakcie ze środowiskiem i stanowi pierwszą linię obrony przed patogenami i uszkodzeniem (ZIEGLER i współaut. 2009, ZUGASTI i współaut. 2014, REBOUL i EWBANK 2016).

PODSUMOWANIE

Przedstawione powyżej najnowsze informacje wskazują na istotny udział GPCRs w odporności wrodzonej bezkręgowców. Na obecnym etapie badań trudno jest jednoznacznie przypisać poszczególnym receptorom specyficzną rolę w reakcjach obronnych gospodarza. Z tego względu poważnym wyzwaniem na przyszłość pozostaje określenie, które z GPCRs pełnią funkcję receptorów rozpoznających odpowiednie struktury PAMPs lub DAMPs u bezkręgowców.

Streszczenie

Receptory związane z białkami G (GPCRs) stanowią najliczniejszą i bardzo zróżnicowaną grupę receptorów błonowych odpowiedzialnych za przekazywanie sygnałów ze środowiska zewnętrznego do wnętrza komórki. GPCRs uczestniczą niemal w każdym aspekcie życia organizmów, regulując m. in. mechanizmy związane z odpowiedzią immunologiczną, zarówno u kręgowców, jak i bezkręgowców. W pracy opisano ogólną budowę i klasyfikację GPCRs, mechanizmy aktywacji i przekazywania sygnału przez te receptory oraz sposoby regulacji ich aktywności. Ponadto zamieszczono podstawowe informacje na temat mechanizmów rozpoznawania patogenów przez bezkręgowce. W zasadniczej części pracy zaprezentowano wyniki najnowszych badań dotyczące zaangażowania GPCRs w reakcje obronne bezkręgowców, na przykładzie wybranych organizmów modelowych, tj. skrzydłocza atlantyckiego (*Limulus polyphemus*), muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) oraz nicienia (*Caenorhabditis elegans*).

LITERATURA

- ALTINCICEK B., VILCINSKAS A., 2006. *Metamorphosis and collagen-IV-fragments stimulate innate immune response in the greater wax moth, Galleria mellonella*. Dev. Comp. Immunol. 30, 1108-1118.
- ALTINCICEK B., LINDER M., LINDER D., PREISSNER K. T., VILCINSKAS A., 2007. *Microbial metalloproteinases mediate sensing of invading pathogens and activate innate immune responses in the lepidopteran model host Galleria mellonella*. Infect. Immun. 75, 175-183.
- ARIKI S., KOORI K., OSAKI T., MOTOYAMA K., INAMORI K., KAWABATA S., 2004. *A serine protease zymogen functions as a pattern-recognition receptor for lipopolysaccharides*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 27, 953-958.
- BARGMANN C. I., 2006. *Chemosensation in C. elegans*. [W]: *The Online Review of C. elegans*. Biology WormBook.
- BEFUS A. D., MOWAT C., GILCHRIST M., HU J., SOLOMON S., BATEMAN A., 1999. *Neutrophil defensins induce histamine secretion from mast cells: mechanisms of action*. J. Immunol. 15, 947-953.
- BRANDT J. P., RINGSTAD N., 2015. *Toll-like receptor signaling promotes development and function of sensory neurons required for a C. elegans pathogen-avoidance behavior*. Curr. Biol. 25, 2228-2237.
- BRUST T. F., CONLEY J. M., WATTS V. J., 2015. *Ga(i/o)-coupled receptor-mediated sensitization of adenylyl cyclase: 40 years later*. Eur. J. Pharmacol. 763(Pt B), 223-232.
- CARILLO M. A., GUILLERMIN M. L., RENGARAJAN S., OKUBO R. P., HALLEM E. A., 2013. *O₂-sensing neurons control CO₂ response in C. elegans*. J. Neurosci. 33, 9675-9682.
- EWBANK J. J., PUJOL N., 2016. *Local and long-range activation of innate immunity by infection and damage in C. elegans*. Curr. Opin. Immunol. 38, 1-7.
- FERGUSON S. S., 2001. *Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling*. Pharmacol. Rev. 53, 1-24.
- FREDRIKSSON R., LAGERSTRÖM M. C., LUNDIN L. G., SCHIÖTH H. B., 2003. *The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints*. Mol. Pharmacol. 63, 1256-1256.
- FREDRIKSSON R., SCHIÖTH H. B., 2005. *The repertoire of G-protein-coupled receptors in fully sequenced genomes*. Mol. Pharmacol. 67, 1414-1425.
- GRIESCH J., WEDDE M., VILCINSKAS A., 2000. *Recognition and regulation of metalloproteinase activity in the haemolymph of Galleria mellonella: a new pathway mediating induction of humoral immune responses*. Insect Biochem. Mol. Biol. 30, 461-472.
- HANLON C. D., ANDREW D. J., 2015. *Outside-in signaling—a brief review of GPCR signaling with a focus on the Drosophila GPCR family*. J. Cell Sci. 128, 3533-3542.
- KAWLI T., HE F., TAN M. W., 2010. *It takes nerves to fight infections: insights on neuroimmune interactions from C. elegans*. Dis Model. Mech. 3, 721-731.
- KIM D. H., EWBANK J. J., 2015. *Signaling in the innate immune response*. [W]: *The C. elegans Research Community*. WORMBook, 1-51.
- KIM S. H., LEE W. J., 2014. *Role of DUOX in gut inflammation: lessons from Drosophila model of gut-microbiota interactions*. Front. Cell. Infect. Microbiol. 10, 116.
- KOLAKOWSKI L. F. JR., 1994. *GCRDb: a G-protein-coupled receptor database*. Receptors Channels 2, 1-7.
- KRAUTZ R., AREFIN B., THEOPOLD U., 2014. *Damage signals in the insect immune response*. Front. Plant Sci. 11, 342.
- KURATA S., ARIKI S., KAWABATA S., 2006. *Recognition of pathogens and activation of immune re-*

- sponses in *Drosophila* and horseshoe crab innate immunity. *Immunobiology* 211, 237-249.
- LEE K. A., KIM B., BHIN J., KIM D. H., YOU H., KIM E. K., KIM S. H., RYU J. H., HWANG D., LEE W. J., 2015. Bacterial uracil modulates *Drosophila* DUOX-dependent gut immunity via Hedgehog-induced signaling endosomes. *Cell Host Microbe* 11, 191-204.
- LEFKOWITZ R. J., 2013. A brief history of G-protein coupled receptors (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 52, 6366-6378.
- LI Q., LIBERLES S. D., 2015. Aversion and attraction through olfaction. *Curr. Biol.* 25, 120-129.
- LIN H. H., 2013. G-protein-coupled receptors and their (Bio) chemical significance win 2012 Nobel Prize in Chemistry. *Biomed. J.* 36, 118-124.
- MATZINGER P., 2002. The danger model: a renewed sense of self. *Science* 12, 301-305.
- MEISEL J. D., PANDA O., MAHANTI P., SCHROEDER F. C., KIM D. H., 2014. Chemosensation of bacterial secondary metabolites modulates neuroendocrine signaling and behavior of *C. elegans*. *Cell* 159, 267-280.
- OSAKI T., KAWABATA S., 2004. Structure and function of coagulogen, a clottable protein in horseshoe crabs. *Cell. Mol. Life Sci.* 61, 1257-1265.
- OZAKI A., ARIKI S., KAWABATA S., 2005. An antimicrobial peptide tachyplesin acts as a secondary secretagogue and amplifies lipopolysaccharide-induced hemocyte exocytosis. *FEBS J.* 272, 3863-3871.
- POWELL J. R., KIM D. H., AUSUBEL F. M., 2009. The G protein-coupled receptor *FSHR-1* is required for the *Caenorhabditis elegans* innate immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 2782-2787.
- PRABHU Y., EICHINGER L., 2006. The *Dictyostelium* repertoire of seven transmembrane domain receptors. *Eur. J. Cell Biol.* 85, 937-946.
- PRADEL E., ZHANG Y., PUJOL N., MATSUUYAMA T., BARGMANN C. I., EWBANK J. J., 2007. Detection and avoidance of a natural product from the pathogenic bacterium *Serratia marcescens* by *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 2295-2300.
- REBOUL J., EWBANK J. J., 2016. GPCRs in invertebrate innate immunity. *Biochem. Pharmacol.* 15, 82-87.
- SHPACOVITCH V., FELD M., BUNNETT N. W., STEINHOFF M., 2007. Protease-activated receptors: novel PARTners in innate immunity. *Trends Immunol.* 28, 541-550.
- SHTONDA B. B., AVERY I., 2006. Dietary choice behavior in *Caenorhabditis elegans*. *J. Exp. Biol.* 209, 89-102.
- VALANNE S., MYLLYMÄKI H., KALLIO J., SCHMID M. R., KLEINO A., MURUMÄGI A., AIRAKSINEN L., KOTIPELTO T., KAUSTIO M., ULVILA J., ESFAHANI S. S., ENGSTRÖM Y., SILVENNOINEN O., HULTMARK D., PARIKKA M., RÄMET M., 2010. Genome-wide RNA interference in *Drosophila* cells identifies G protein-coupled receptor kinase 2 as a conserved regulator of NF-kappaB signaling. *J. Immunol.* 184, 6188-6198.
- VALANNE S., WANG J. H., RÄMET M., 2011. The *Drosophila* Toll signaling pathway. *J. Immunol.* 15, 649-656.
- VÖGLER O., BARCELÓ J. M., RIBAS C., ESCRIBÀ P. V., 2008. Membrane interactions of G proteins and other related proteins. *Biochim. Biophys. Acta* 1778, 1640-1652.
- WETTSCHURECK N., OFFERMANN S., 2005. Mammalian G proteins and their cell type specific functions. *Physiol. Rev.* 85, 1159-1204.
- ZHANG D., ZHAO Q., WU B., 2015. Structural studies of G protein-coupled receptors. *Mol. Cells* 38, 836-842.
- ZIEGLER K., KURZ C.L., CYPOWYJ S., COUILLAUD C., POPHILLAT M., PUJOL N., EWBANK J. J., 2009. Antifungal innate immunity in *C. elegans*: PKCdelta links G protein signaling and a conserved p38 MAPK cascade. *Cell Host Microbe* 5, 341-352.
- ZUGASTI O., BOSE N., SQUIBAN B., BELOUGNE J., KURZ C. L., SCHROEDER F. C., PUJOL N., EWBANK J. J., 2014. Activation of a G protein-coupled receptor by its endogenous ligand triggers the innate immune response of *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Immunol.* 15, 833-838.

KOSMOS Vol. 66, 4, 553-562, 2017

MARIOLA ANDREJKO¹, MAGDALENA MIZERSKA-KOWALSKA², BARBARA ZDZISIŃSKA²

¹Department of Immunobiology, ²Department of Virology and Immunology, Maria Curie-Skłodowska University, Akademicka 19, 20-033 Lublin,

E-mail: mariola.andrejko@poczta.umcs.lublin.pl, magdalena.mizerska-dudka@poczta.umcs.lublin.pl, basiaz@poczta.umcs.lublin.pl

G-PROTEIN-COUPLED RECEPTORS IN INVERTEBRATE INNATE IMMUNITY

Summary

The G-protein-coupled receptors (GPCRs) form the largest and most diverse group of membrane receptors engaged in extracellular signals transduction. GPCRs are involved in almost all aspects of vertebrates and invertebrates' life, including regulation of the immune response mechanisms. The paper describes the general structure and classification of GPCRs. Moreover, it presents the mechanisms of GPCR activation and signal transduction as well as the regulation of GPCR activity. Furthermore, basic information about the mechanisms of pathogen recognition by invertebrates is included. The main part of this review shows the most recent data about the involvement of GPCRs in defense mechanisms of invertebrates such as the horseshoe crab (*Limulus polyphemus*), fruit fly (*Drosophila melanogaster*), and nematode (*Caenorhabditis elegans*).

Key words: G-protein-coupled receptors (GPCRs), innate immunity, invertebrate