

УДК 577.25

Молекулярные основы хеморецепции насекомых

Е. Л. Соколинская, Д. В. Колесов, К. А. Лукьянов, А. М. Богданов*

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия

*E-mail: noobissat@ya.ru

Поступила в редакцию 28.09.2019

Принята к печати 03.06.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11038

РЕФЕРАТ Хеморецепция – способность воспринимать специфические химические стимулы – является одной из наиболее эволюционно древних форм взаимодействия живых организмов с окружающей средой. Хеморецепторные системы обнаружены у представителей всех царств, а у высших многоклеточных животных они, наравне с системами фото- и механорецепции, создают основу для функционирования пяти «традиционных» чувств. Насекомые выработали своеобразную и одну из наиболее сложно организованных систем хеморецепции, включающую не менее трех суперсемейств рецепторов, обеспечивающих восприятие запаха и вкуса, а также химическую коммуникацию этих животных. Исключительное разнообразие физиологически релевантных соединений в окружающей среде обусловило появление широкого репертуара хеморецепторов различной специфичности. Так, у насекомых они представлены несколькими структурно и функционально различающимися классами белков и кодируются сотнями генов. В настоящем обзоре мы даем краткую характеристику хеморецепторной системы насекомых, описывая основные группы рецепторов, ее формирующих, и останавливаясь на своеобразии архитектуры и механизмов функционирования этих молекул.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА хеморецептор, катионный канал, потенциал действия, ионотропный рецептор, метаболитный рецептор, одорант, обоняние, вкусовой рецептор, насекомые.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ OSN – обонятельные чувствительные нейроны (olfactory sensory neurons); OR – обонятельные рецепторы (odorant receptors); GPCR – G-белок-сопряженный рецептор; DAG – диацилглицерин (diacylglycerol); IP3 – инозитолтрифосфат (inositol trisphosphate); IR – ионотропные рецепторы (ionotropic receptors); ATD – N-концевой домен (amino-terminal domain); GRN – вкусовые рецепторные нейроны (gustatory receptor neurons); GR – вкусовые рецепторы (gustatory receptors).

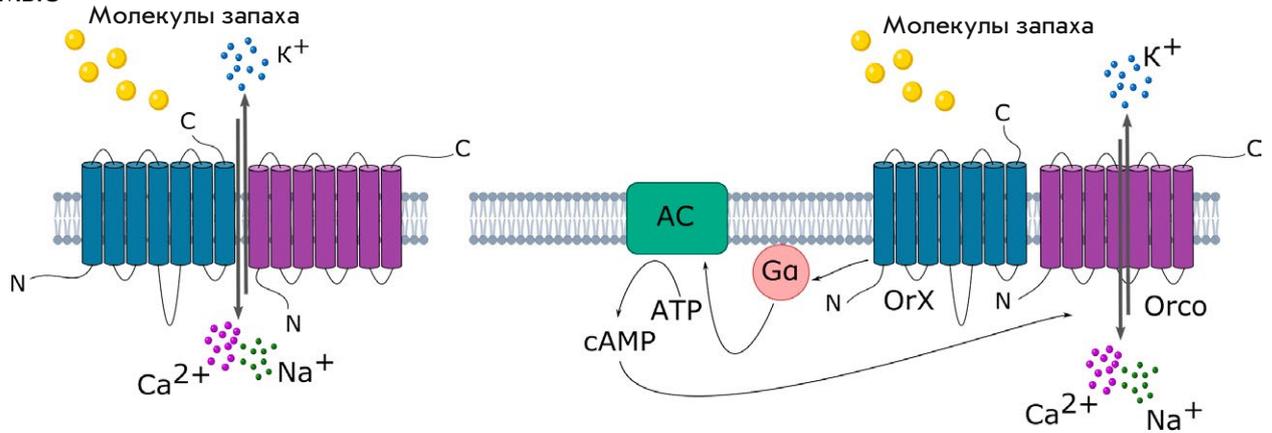
ВВЕДЕНИЕ

Живые существа получают информацию об окружающем мире при помощи органов чувств: зрения, слуха, обоняния, вкуса. Восприятие факторов внешней среды в каждой сенсорной системе происходит благодаря небольшому участку ткани, чувствительному к определенному физическому стимулу (электромагнитному излучению в случае зрения, механическим колебаниям воздуха в случае слуха, химическим веществам в случае обоняния и вкуса). Такие специализированные участки ткани многоклеточных организмов называют *рецепторами*. Рецепторные клетки преобразуют улавливаемый свет, звук или химические вещества в нервный импульс, который поступает в мозг для обработки полученной информации. Процесс преобразования физического стимула в нервный импульс называют *трансдукцией* сигнала. В ходе этого процесса рецепторные клетки (нейроны либо другие специализированные

клетки) воспринимают сигнал при помощи особых рецепторных молекул. Это приводит к изменению активности ионных каналов в мембране нейронов, а следовательно, к изменению мембранного потенциала клетки (деполяризации или гиперполяризации клеточной мембраны). Деполяризация приводит к запуску потенциала действия и инициирует передачу нервного импульса в нервной системе.

Молекулы рецепторов могут либо непосредственно воздействовать на ионные каналы (в этом случае рецептор называют ионотропным), либо запускать примембранный сигнальный каскад, приводящий к активации ионных каналов через специализированные G-белки (в этом случае рецептор называют метаболитным). Ионотропный путь трансдукции сигнала обнаруживает свои преимущества при значительной интенсивности стимула, поскольку обеспечивает максимально быстрый электрический ответ нейрона. Метаболитная трансдукция, с другой стороны, не-

Насекомые



Млекопитающие

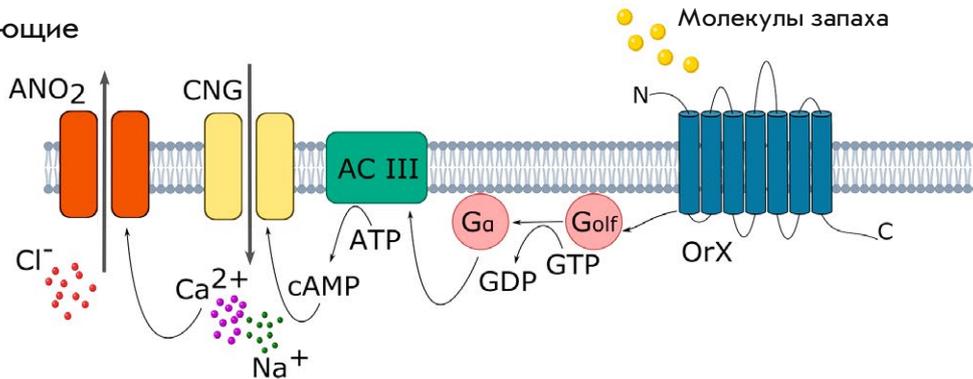


Рис. 1. Молекулярные механизмы трансдукции сигнала обонятельными рецепторами насекомых и млекопитающих. На верхней части схемы показаны основной (ионотропный) и дополнительный (метаботропный) пути функционирования обонятельных рецепторов насекомых. На нижней части схемы показан обонятельный рецептор млекопитающего и примембранный каскад, обеспечивающий трансдукцию его сигнала [2–4]. AC III – аденилатциклаза типа III; ANO2 – канал аноктамин-2; CNG – канал, связывающий циклические нуклеотиды; $G\alpha$ – α -субъединица обонятельного G-белка; OrX – запах-специфичный рецепторный обонятельный белок; Orco – константный корецепторный обонятельный белок

заменяема в случае слабых стимулов, восприятие которых требует амплификации сигнала рецепторных молекул. Органы чувств многоклеточных животных используют оба механизма, порой изящно комбинируя их.

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ХЕМОРЕЦЕПЦИИ ЖИВОТНЫХ

Хеморецепция – важный элемент процесса восприятия и последующего анализа информации из окружающего мира. Химические стимулы помогают получить информацию о вкусовых качествах, безопасности и энергетической ценности пищи, предупреждают живые организмы о присутствии потенциальных хищников или о других опасностях, направляют социальные взаимодействия. Запахи, вкусы и другие химические стимулы распознаются разнообразным набором хемосенсорных систем у различных животных. Хемосенсорная трансдукция – процесс, в ходе которого химические стимулы (запахи,

вкусы, питательные вещества, раздражители и даже газы) распознаются и вызывают изменение свойств клеточной мембраны или высвобождение нейромедиаторов и гормонов [1]. Обычно эти процессы происходят в чувствительных нейронах, которые часто содержат специализированные субклеточные компартменты – реснички или микроворсинки – оптимизированные для процесса трансдукции. В большинстве случаев хемосенсорная трансдукция представляет собой многоэтапный процесс, в ходе которого биохимический сигнал на мембране преобразуется в электрический сигнал – потенциал действия. Химические сигналы (или стимулы) – это молекулы, производимые различными источниками: почвой, растениями, животными. Вырабатываемые молекулы могут быть летучими или растворенными. В первом случае химический сигнал воспринимается обонятельными рецепторами (olfactory receptors), во втором – вкусовыми (gustatory receptors). Среди сложных хемосенсорных

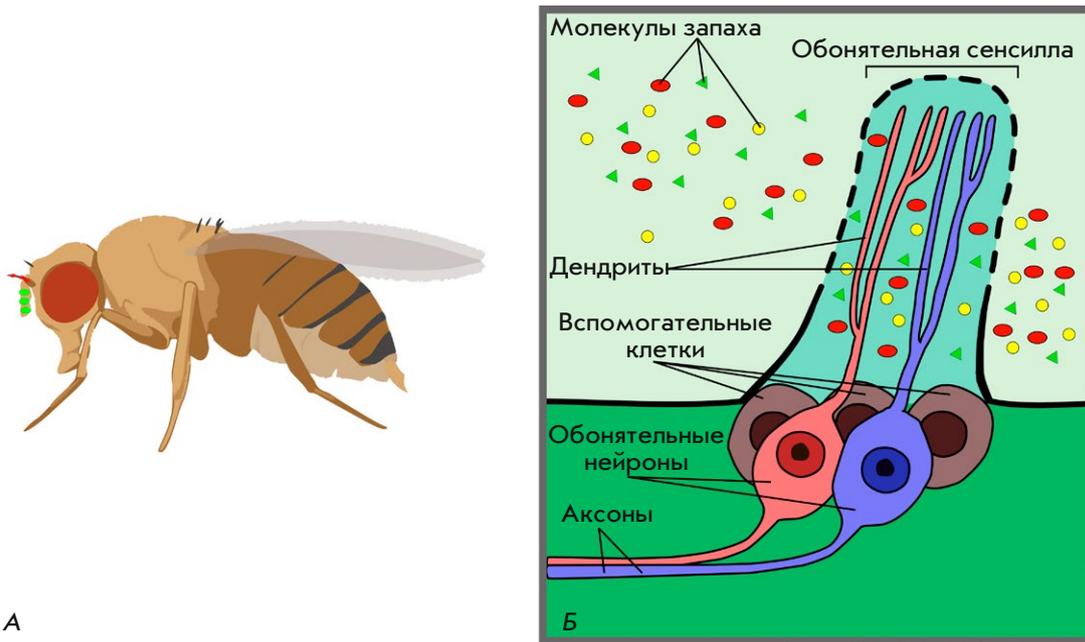


Рис. 2. Обонятельные органы *D. melanogaster*. А – основные места локализации обонятельных сенсилл на теле *Drosophila* (обозначены цветными точками). Б – путь молекул «запаха» (одоранта), попадающих на обонятельный рецептор из внешней среды. Молекулы достигают антенн мухи, снабженных многочисленными чувствительными волосками – сенсиллами. Поверхность каждой сенсиллы имеет поры, которые позволяют молекулам «запаха» проникать внутрь сенсиллы – туда, где расположены дендриты обонятельных чувствительных нейронов (OSN). На мембранах дендритов экспонированы обонятельные рецепторы, которые специфически связывают молекулы «запаха». Адаптировано из [1]

систем высших многоклеточных животных наиболее хорошо изучены на молекулярном уровне обонятельные и вкусовые анализаторы насекомых и млекопитающих. Интересно, что при восприятии химических стимулов млекопитающие полагаются в основном на метаболитные рецепторы, в то время как насекомые – на ионотропные [2] (рис. 1).

ХЕМОРЕЦЕПТОРЫ НАСЕКОМЫХ

Обонятельные рецепторы

У насекомых за восприятие запахов отвечают обонятельные чувствительные нейроны (olfactory sensory neurons – OSN), которые экспрессируют в своих дендритах обонятельные рецепторы. OSN локализуются в придатках лба, усиках (антеннах) и верхнечелюстных щупиках (рис. 2).

Обоняние насекомых обеспечивается рецепторами трех типов, представителями разных семейств трансмембранных белков. Первый тип представлен собственно обонятельными рецепторами (odorant receptors, OR), распознающими запахи пищи и феромоны. OR представляют собой гетеродимеры, состоящие из переменного запах-специфичного рецепторного белка Or и константного корецепторного белка Orco [5, 6] (рис. 3)

Подобно типичным представителям семейства G-белок-сопряженных рецепторов (GPCR), OR состоят из семи ассоциированных α -спиралей, однако отличаются от GPCR своей ориентацией в плазматической мембране: OR-белки насекомых имеют цитоплазматический N-конец и направленный во внеклеточную среду C-конец [7, 8]. Хотя элементарной функциональной единицей обонятельной системы насекомых служит гетеродимер OrX/Y-Orco, в мембранах обонятельных нейронов рецепторы, по всей видимости, функционируют в составе крупных супрамолекулярных ансамблей, состав и топология которых остаются плохо изученными. Результаты недавних исследований проливают свет на молекулярную организацию подобных комплексов. Так, получена криоэлектронная структура субъединицы Orco из *Apocrypta bakeri* [9]. Orco формирует тетрамеры, которые, если посмотреть перпендикулярно плоскости мембраны, напоминают по форме «вертушку» (рис. 4А). Тетрамер имеет приблизительно 100 Å в диаметре и 80 Å в осевом направлении. Центральная пора формируется четырьмя субъединицами. Каждая субъединица имеет семь спиральных сегментов, пронизывающих мембрану под углом $\sim 30^\circ$; при этом C-конец каждой субъединицы ориентирован наружу, а N-конец внутрь клетки (рис. 4Б). Помимо

семи основных спиралей (спирали 1–7) имеется дополнительная N-концевая спираль (спираль 0), которая в процессе упаковки помещается под петлей 4 по внешнему периметру канала. Спираль 7 расположена ближе всего к центральной оси и состоит из двух частей – цитоплазматического сегмента (7a) и трансмембранного сегмента (7b), разделенных β -шипилькой из 15 аминокислотных остатков. Спираль 7b формирует центральную пору, а 7a образует корякорного домена. Спирали 4, 5 и 6 простираются далеко за пределы клеточной мембраны (на 40 Å в цитозоль), где они окружают 7a, завершая формирование якорного домена. Трансмембранный домен каждой субъединицы стабилизируется заряженными и полярными аминокислотами спиралей 2, 4, 5 и 6, образуя плотную сеть гидрофильных взаимодействий в пределах внутриклеточного монослоя мембраны. В пределах внеклеточного монослоя спирали 1–6 расщепляются, образуя расщелину глубиной 10 Å и длиной около 20 Å. Предполагается, что подобный карман может служить сайтом связывания низкомолекулярных лигандов. Мутации, изменяющие специфичность OR к одорантам, также картируются в пределах этого кармана, указывая на потенциальное существование общего структурного локуса для связывания лиганда в Orco и Or. В структуре Orco упорядоченный участок внеклеточных петель 3–4 ограничивает доступ к карману, что может препятствовать связыванию одоранта, сохраняя тем самым специфичность к запахам в комплексах Or–Orco.

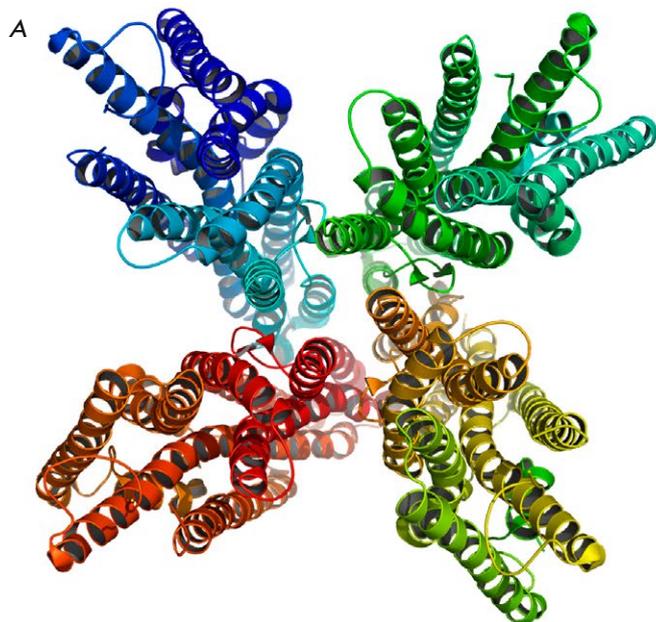


Рис. 4. Структура Orco из *Aprocypta bakeri*. А – структура гомотетрамера, вид с цитоплазматической стороны. Б – структура мономера. Номерами обозначены альфа-спирали. Структуры представлены с помощью программы PyMOL на основе PBD ID 6C70

Архитектура рецепторных комплексов Or–Orco еще не расшифрована. Предметом дискуссий является и топология самого рецепторного гетеродимера. Предполагается, что белки Or могут формировать гетеродимеры с корецептором Orco по аналогии с семиспиральным каналным родопсином, в котором пара ионного канала формируется противополож-

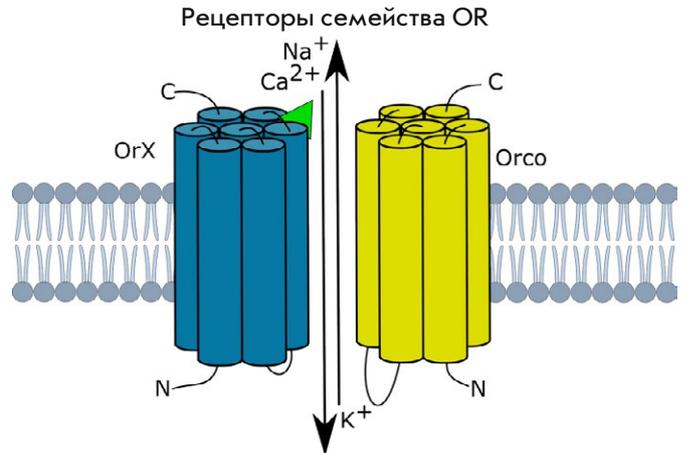


Рис. 3. Обонятельные рецепторы насекомых. OR – гетеродимеры, состоящие из константного корецептора Orco и запаха-специфичного белка Or: OrX в случае распознавания запахов пищи (также чувствителен к запахам мест откладки яиц, хищников, токсических веществ и т.д.) и OrY в случае распознавания феромонов [3]. Зеленым треугольником обозначен лиганд (молекула одоранта)

но лежащими спиральями ТМ3 и ТМ4 [10, 11]. Другой возможный вариант сборки – тетрамер, состоящий из двух димеров [12]. Относительная катионная проницаемость различных OrX варьирует [13, 14]. Мутационный анализ обонятельных рецепторов тутового шелкопряда (*Bombyx mori*) показал, что пора ионного канала OR формируется обоими типами белков – OrX и Orco [15]. Экспрессия белков Orco в отсутствие белков OrX также приводит к формированию функциональных каналов, которые не связывают молекулы запаха, но могут активироваться циклическими нуклеотидами [16] или синтетическими агонистами [17–19].

Молекулярный механизм активации рецепторов OR детально не изучен. В одних работах описан исключительно ионотропный механизм работы [13], в других ясно показан метаботропный сигнальный механизм на основе пути DAG/IP3 [20, 21]. Наконец, у гетерологично экспрессирующихся OR-белков *Drosophila* обнаружены оба сигнальных механизма [16].

Второй тип обонятельных рецепторов насекомых представлен так называемыми ионотропными рецепторами (ionotropic receptors, IR), гомологичными ионотропным глутаматным рецепторам (участвующим в формировании синаптических контактов в нервной системе позвоночных и беспозвоночных) [22]. IR проявляют чувствительность к кислотам, аминам и альдегидам. Они функционируют в виде гетеротетрамеров, состоящих из запах-специфичного рецепторного белка IRX и константного корецепторного белка IRcoY [23] (рис. 5). Однако описаны рецепторы группы IR, работающие как гетеродимеры. Так, гетеродимер IR8a-IR75a реагирует на уксусную кислоту [23–25]. Пара IR8a-IR84a, специфичность которой охарактеризована в ооцитах *Xenopus laevis*, активируется фенилацетальдегидом [24]. Обонятельные сенсиллы, экспрессирующие IR8a-IR64a, распознают кислоты и свободные протоны [24, 26]. Искусственная стимуляция IR64a-положительных нейронов вызывает поведение избегания, что соответствует роли этих нейронов в выявлении кислотных раздражителей. Доказано, что IR8a ассоциируется с IR64a, способствуя тем самым стабильности IR64a [23]. В совокупности эти результаты показывают, что в IR64a-положительных нейронах IR8a функционирует как корецептор [27].

IRcoY также несет лигандсвязывающий домен, однако его основная роль заключается, по-видимому, в локализации комплекса на клеточной мембране, а не в связывании лиганда [23].

IR могут формировать тетрамеры, состоящие из двух димеров IRcoY-IRX или из одной субъединицы IRcoY и трех разных IRX-белков. У *Drosophila* корецепторные IR-белки представлены IR8a и IR25a

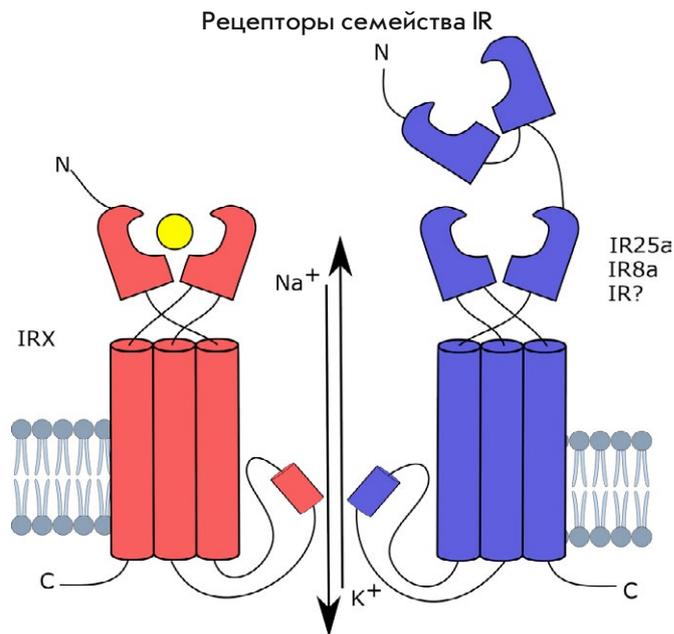


Рис. 5. Ионотропные рецепторы (IR) – гетеротетрамеры, состоящие из корецепторного белка IRcoY и рецепторного белка IRX [3]

[11]. Как IRcoY, так и IRX состоят из трех трансмембранных спиралей, разделенных внеклеточным участком, содержащим лигандсвязывающий домен (ligand-binding domain, LBD). IRcoY также имеют в своем составе массивный N-концевой домен (amino-terminal domain, ATD). IR являются неселективными катионными каналами, при активации они проводят ионы Na^+ и K^+ , а некоторые также ионы Ca^{2+} [23].

IR и OR распознают запахи с комплементарной специфичностью – их лиганды не перекрываются. Показано, что OR-экспрессирующие обонятельные нейроны *Drosophila* лучше адаптируются к фоновым запахам, чем IR-экспрессирующие нейроны, что позволяет насекомым отслеживать изменения запаха в широком диапазоне концентраций и обнаруживать другие запахи даже при наличии определенного фона. В то же время, не имея способности к адаптации, IR точнее определяют абсолютную концентрацию запаха, что позволяет *Drosophila* эффективно отследить местонахождение пищи, полового партнера или хищников [28, 29]. Большинство рецепторов группы IR специфично активируются аминами и кислотами, рецептор IR76b специфичен к низкой концентрации NaCl [30].

Третий тип обонятельных рецепторов представлен специализированными вкусовыми рецепторами (gustatory receptors – GR), чувствительными к углекислому газу [31]. Как и OR, GR принадлежат к семейству семиспиральных рецепторов (seven-transmembrane domain receptors, 7TM receptors) с противоположной GPCR-белкам ориентации

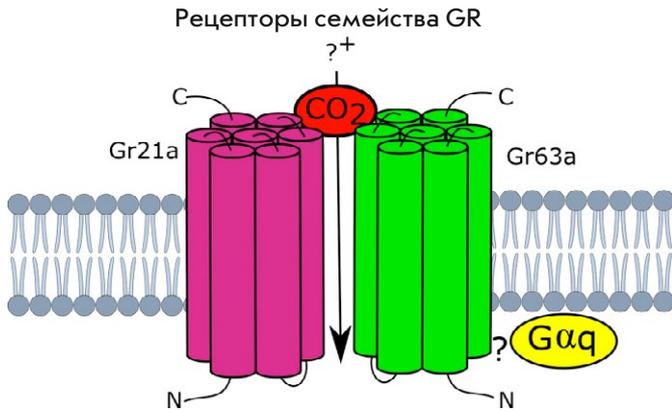


Рис. 6. Вкусные рецепторы (GR), чувствительные к углекислому газу, – гетеродимеры, состоящие из субъединиц Gr3 и Gr1/Gr2. Имеют структуру и ориентацию на мембране, сходную с OR [3]

ей на плазматической мембране. Обнаружено три *Gr*-гена, кодирующих рецепторы, чувствительные к углекислому газу [32]. Эти рецепторы также являются гетеродимерами, состоящими из субъединиц Gr1/2 и Gr3 (рис. 6), которые у *Drosophila* представлены белками Gr21a и Gr63a соответственно [31, 33].

Gr21a и Gr63a у *Drosophila* образуют комплекс с $G\alpha_q$ -белками, активирующими фосфолипазу C, которая, в свою очередь, активирует ионные каналы TRP-семейства посредством фосфоинозитидного гидролиза [34–36]. Кислотные запахи и высокие концентрации углекислого газа (> 5%) распознаются рецептором IR-семейства, а именно IR64a [26].

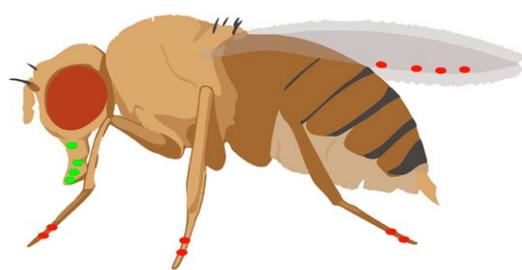
Вкусные рецепторы

В целом, для насекомых характерна сложная вкусовая сенсорная система. Главные вкусовые орга-

ны – вкусовые сенсиллы – располагаются в основном на лапках и крыльях (рис. 7А). Рецепторные клетки представляют собой чувствительные нейроны, большая часть которых ассоциирована со вкусовыми сенсиллами [37] (рис. 7Б). Каждая сенсилла содержит несколько вкусовых рецепторных нейронов (gustatory receptor neurons – GRN), в дендритах которых экспрессируются вкусовые рецепторы – GR (gustatory receptors).

Обнаружение в 2000 году генов семейства GR [38–40] послужило настоящим прорывом в изучении вкусового поведения насекомых и физиологии их вкусового восприятия. В геноме *Drosophila* насчитывается 68 *Gr*-генов [41], некоторые из которых высококонсервативны среди членистоногих [42]. Гены *Gr* можно разделить на две большие группы. Первая группа включает большинство *Gr*-генов (около 35), которые экспрессируются в нейронах, распознающих горький и соленый вкус [43]. Вторая группа состоит из восьми генов, экспрессия которых ограничивается нейронами, чувствительными к сладкому вкусу [44] (рис. 8).

Gr-рецепторы сладкого вкуса. Сладкий вкус сахаров – наиболее изученная форма восприятия вкуса у *Drosophila*. В отличие от млекопитающих, где единственный гетеродимерный G-белок-сопряженный рецепторный комплекс опознает все сахара и даже белки, имеющие сладкий вкус [45, 46], в организме *Drosophila* найдено восемь *Gr*-белков, участвующих в определении сладкого вкуса: они кодируются генами *Gr5a*, *Gr61a* и кластером из шести генов *Gr64a–Gr64f* [44]. Все гены *Gr*-рецепторов, чувствительных к сладкому вкусу, экспрессируются в лапках, за исключением *Gr64a*, который экспрессируется в губных щупиках [44]. Функциональные рецепторы слад-



А

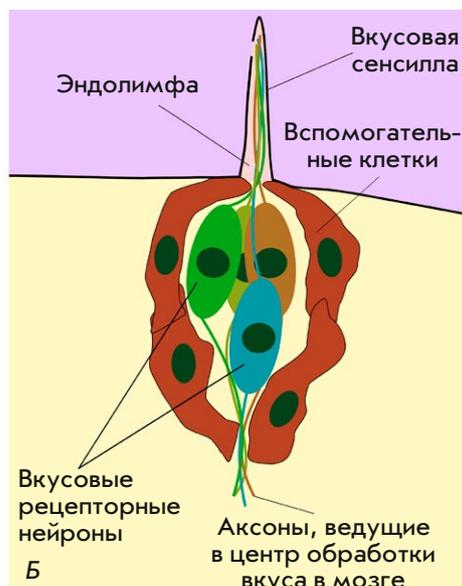


Рис. 7. Вкусные органы *D. melanogaster*. А – основные места локализации вкусовых сенсилл на теле *Drosophila* (обозначены цветными точками). Б – схема клеточной организации вкусовой сенсиллы. Адаптировано из [1]

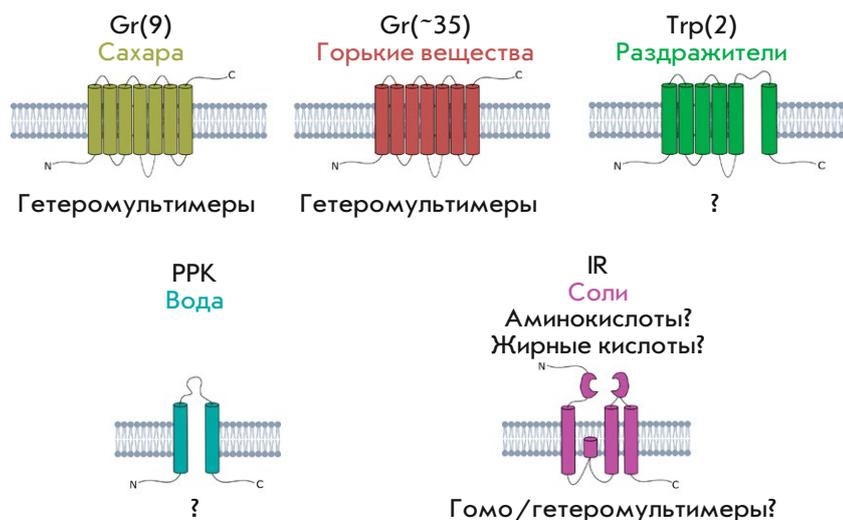


Рис. 8. Структура различных вкусовых рецепторов у взрослых особей *D. melanogaster*. Во вкусовых нейронах обнаружено как минимум четыре типа вкусовых рецепторов. Более 40 из 68 *Gr*-генов кодируют рецепторы горького и сладкого вкуса. Показано, что два гена TRP кодируют рецепторы, чувствительные к вкусовым раздражителям (аристололовая кислота и аллилизотиоцианат). Как минимум один канал (PPK28) используется для определения вкуса воды. Роль *IR*-генов в восприятии вкуса плохо изучена, однако 15 из них экспрессируются во вкусовых нейронах. Описана вкусовая специфичность как минимум одного рецептора – IR76b, чувствительного к вкусу поваренной соли. Адаптировано из [1]

кого вкуса являются гетеродимерами [47]. Однако известны рецепторы (*Gr43a*), которые могут функционировать самостоятельно – в качестве гомомультимеров или мономеров [48]. Ниже представлена краткая характеристика *Gr*-генов, кодирующих рецепторы сладкого вкуса (табл. 1) [1]. Данные о специфичности получены на основе нокаутов соответствующих генов.

***Gr*-рецепторы горького вкуса.** Подобно млекопитающим, *Drosophila* и другие насекомые имеют системы, хорошо настроенные на детекцию потенциально опасных веществ, обычно горьких и не имеющих какой-либо питательной ценности. Насекомые сталкиваются с широким спектром горьких веществ из различных источников. Например, многие растения

продуцируют горькие вещества в качестве вторичных метаболитов, которые они используют для защиты от травоядных насекомых [1]. Для *Drosophila* и других насекомых, употребляющих плоды растений, источником опасных горьких веществ зачастую являются микроорганизмы, населяющие гниющие плоды. Горькие вещества представлены широким набором компонентов с разнообразной структурой, таких, как алкалоиды, терпеноиды и фенолы. Поэтому большинство вкусовых рецепторов (порядка 35) чувствительны к горьким веществам [49]. Однако только четыре *Gr*-рецептора горького вкуса охарактеризованы функционально. Эти рецепторы представлены в табл. 2.

Предполагается, что *Gr*-рецепторы горького вкуса состоят из нескольких субъединиц. Коровыми субъе-

Таблица 1. Краткая характеристика *Gr*-генов, кодирующих рецепторы сладкого вкуса

Ген	Лиганд	Белок-партнер
<i>Gr5a</i>	Трегалоза	<i>Gr64f</i>
<i>Gr61a</i>	Глюкоза	?
<i>Gr64a</i>	Мальтоза Фруктоза	<i>Gr64e</i>
<i>Gr64b</i>	Глицерин	<i>Gr64e</i>
<i>Gr64c</i>	Сахароза Мальтоза Арабиноза	?
<i>Gr64e</i>	Глицерин	<i>Gr64a/Gr64b</i>
<i>Gr64f</i>	Глюкоза Сахароза Фруктоза Мальтоза Трегалоза Мелицитоза	<i>Gr5a</i>
<i>Gr43a</i>	Фруктоза Сахароза	Отсутствует

Таблица 2. *Gr*-рецепторы горького вкуса

Ген	Лиганд	Белок-партнер
<i>Gr8a</i>	<i>L</i> -канаванин	?
<i>Gr66a</i>	Кофеин Диэтилтолуамид Папаверин Стрихнин Лобелин	?
<i>Gr93a</i>	Кофеин	?
<i>DmRX</i>	<i>L</i> -канаванин	Отсутствует

Примечание: *L*-канаванин – непротеиногенная аминокислота, содержащаяся в некоторых бобовых растениях; является инсектицидом. Диэтилтолуамид – искусственно синтезированное органическое соединение, обладающее репеллентным и инсектицидным действием.

диницами таких мультимерных рецепторов являются Gr33a и Gr66a [49, 50].

Трансдукция вкусового сигнала. Сигнальный механизм вкусовых Gr-рецепторов изучен недостаточно. Существуют две причины недостатка знаний в этой области. Во-первых, вкусовые нейроны *Drosophila* не поддаются электрофизиологическим исследованиям методом пэтч-кламп, что не позволяет изучать нейрофизиологические процессы, лежащие в основе активации рецепторов. Во-вторых, большинство попыток экспрессировать вкусовые рецепторы в гетерологичной системе оказались неудачными. Исключение составляют представители так называемой Gr43a-подобной клады, семейства рецепторов, которое филогенетический анализ относит к вкусовым рецепторам фруктозы [51].

Имеющиеся данные дают основания предположить, что рецепторы, принадлежащие к Gr43a-подобной кладе (консервативной у многих насекомых с полным превращением), представляют собой ионотропные гомосубъединичные хеморецепторы. Ортологами гена *DmGr43a* *D. melanogaster* являются *VmGr9* у *B. mori*, *HarmGr4* у *Helicoverpa armigera* и *AmGr3* у *Apis mellifera*. Паралоги *DmGr43a* обнаружены недавно у *Tribolium castaneum* (*TcGr20*) и *B. mori* (*VmGr10*). В 2011 году японским ученым удалось осуществить гетерологичную экспрессию гена *VmGr9* тутового шелкопряда (*B. mori*) и его ортолога *DmGr43a* из *Drosophila*, белковые продукты которых связывают *D*-фруктозу [52]. Ген *VmGr9* экспрессировали в клетках эмбриональной почки человека (линия НЕК293Т) и в ооцитах *Xenopus*; *DmGr43a* – в клеточной линии COS-7 (фибробластоподобные клетки из почки обезьяны). При помощи метода пэтч-кламп показано, что лигандом *VmGr9* и *DmGr43a* служит *D*-фруктоза. Запись динамики флуоресценции кальциевого индикатора при добавлении лиганда подтвердила результаты электрофизиологических опытов. Показано, что рецептор *VmGr9* функционирует как лиганд-зависимый катионный канал: ингибирование G-белкопосредованной сигнализации при помощи агента U73122 (ингибитор фосфолипазы C) не препятствовало входу ионов Ca^{2+} при аппликации фруктозы на клетки, экспрессирующие *VmGr9*. Кроме того, добавление аналога циклических нуклеотидов и активатора аденилатциклазы (необходимых участников сигнализации, сопряженной с G-белком) не привело к появлению кальциевого ответа у клеток, экспрессирующих рецептор.

Позднее показали, что рецептор *VmGr10*, ген которого является паралогом *VmGr9*, чувствительный к *мио*- и *эпи*-инозитолу, также относится к лиганд-

Таблица 3. Gr-рецепторы сладкого вкуса с изученным механизмом трансдукции сигнала

Рецептор	Лиганд	Природный источник	Ссылка
VmGr9	<i>D</i> -фруктоза	<i>B. mori</i> (тутовый шелкопряд)	[52]
VmGr10	<i>мио</i> -инозитол <i>эпи</i> -инозитол	<i>B. mori</i> (тутовый шелкопряд)	[53]
TcGr20	Маннитол Сорбитол	<i>T. castaneum</i> (хрущак малый булавоусый)	[54]

зависимым катионным каналам [53]. На ионотропный характер работы рецептора указывает также входящий кальциевый ток, наблюдаемый при применении ингибитора G-белковых каскадов (U73122).

Gr-рецепторы насекомых активно изучаются. Так, недавно показали, что рецептор *TcGr20* *T. castaneum* чувствителен к сорбитолу и маннитолу [54]. *T. castaneum* (хрущак малый булавоусый), распространенный вредитель сухих сыпучих продуктов, имеет 207 Gr-генов. По-видимому, такой широкий репертуар вкусовых рецепторов необходим видам, которые относятся к универсальным потребителям (поедают различные типы продуктов и не привязаны к определенному источнику питания) (табл. 3) [54].

Таким образом, представители клады Gr43a являются вкусовыми рецепторами насекомых с наиболее хорошо изученным механизмом функционирования. Более того, возможность гетерологичной экспрессии их генов и такие свойства этих хеморецепторов, как ионотропность и гомосубъединичность, позволяют подробно изучать их в различных модельных системах *in cellulo* и *in vitro* и даже разрабатывать электрофизиологические инструменты на их основе.

Особенности экспрессии генов хеморецепторов насекомых

Насекомые и позвоночные животные различаются не только строением хеморецепторов, но и стратегиями экспрессии их генов. Так, в каждом из приблизительно 10 млн обонятельных нейронов позвоночного экспрессируется строго один ген рецептора. Выполнение правила «один рецептор – один нейрон» обеспечивается регуляцией на уровне транскрипции. Предполагается, что после выбора функционального типа рецептора, экспрессируемого в конкретной клетке, транскрипция остальных генов рецепторов подавляется по принципу обратной связи [55]. Механизм, благодаря которому нейрон «выбирает» свой обонятельный рецептор и блокирует экспрессию рецепторов всех остальных специфичностей,

до сих пор плохо понятен [56]. Скорее всего, соблюдение правила «один рецептор – один нейрон» важно для точного «декодирования» обонятельных сигналов, при котором одна популяция обонятельных нейронов реагирует на ограниченное число одорантов, а обонятельный центр однозначно идентифицирует происхождение поступающих сигналов [56].

У *Drosophila* большая часть из ~2600 имеющих обонятельных нейронов экспрессирует два гена обонятельных рецепторов: один – специфичный к клеточному типу (вариабельная субъединица Or), второй – ген *Or83b* (константная субъединица Orco). Димеризация белкового продукта *Or83b* со специфическим рецептором обеспечивает транспорт функционального комплекса в обонятельные сенсиллы [6]. Этот принцип на первый взгляд кажется синонимичным описанному выше правилу «один рецептор – один нейрон» позвоночных, однако у *Drosophila* условия экспрессии более гибкие. Например, в шести из восьми классов обонятельных нейронов антенн экспрессируются два гена вариабельной субъединицы Or в дополнение к *Or83b* [57]. При этом все нейроны конкретной сенсиллы всегда экспрессируют один и тот же вариабельный рецепторный ген, хотя подавления экспрессии остальных генов по принципу обратной связи, свойственного позвоночным, у *Drosophila* не обнаружено [58].

В геноме *Drosophila* семейство OR-белков кодируется 60 генами и несколькими псевдогенами. Семейство состоит из 62 рецепторных белков (при этом в результате альтернативного сплайсинга мРНК *Or46a* и *Or69a* образуются по два белка [41]). Некоторые OR-гены сгруппированы в кластеры по два или три гена (вероятно, потому что они появились в результате дубликации), но большинство генов все же широко рассредоточено по геному [41]. Показано, что 45 представителей семейства OR-генов экспрессируются в антеннах и верхнечелюстных щупиках взрослых животных, в то время как 25 генов функционируют только в обонятельной системе личинки [57].

Интересно, что рецепторы семейства OR обнаружены только у летающих насекомых. Предполагается, что двойная система трансдукции, характерная для OR, является приспособлением к распознаванию источника запаха в полете [59, 60].

Семейство генов IR-рецепторов чрезвычайно дивергентно, идентичность кодируемых ими аминокислотных последовательностей варьирует от 10 до 70%. Подобно генам OR-рецепторов, IR-гены разбросаны по геному *Drosophila*, в основном, в форме индивидуальных генов, однако некоторые также формируют кластеры [22]. Геномный анализ *Drosophila* выявил 66 генов семейства IR, включая 9 предполагаемых

псевдогенов [22]. При этом 16 представителей семейства экспрессируются в обонятельных нейронах антенн (IR-рецепторы, чувствительные к органическим кислотам и аминам), а 44 во вкусовых органах (32 на стадии личинки, 27 во взрослом организме) – в сосательных лопастях, лапках, передних крыльях, трубке пищевода [61].

Геном *Drosophila* содержит также 60 генов семейства GR, в результате альтернативного сплайсинга которых образуются 68 белков [61]. Соответствующие белки чрезвычайно дивергентны по аминокислотной последовательности (идентичность 8%). Гены семейства GR экспрессируются во вкусовых органах взрослых животных (сосательные лопасти, лапки, передние крылья, трубка пищевода), во вкусовых органах личинок, а также в различных тканях взрослых животных, включая антенны, верхнечелюстные щупики, энтероэндокринные клетки кишечника, мультидендритные клетки брюшной стенки тела, в нейронах, иннервирующих репродуктивные органы, и даже в мозге [61].

На экспрессию хеморецепторов влияет физиологическое состояние насекомого, зависящее, в свою очередь, от воздействия внешних средовых факторов. Так, изучение уровней мРНК 21 рецептора IR, 12 GR и 43 OR в антеннах восточной плодовой мухи *Bactrocera dorsalis* выявило существенную зависимость экспрессии от пищевого и полового поведения насекомых и даже от времени суток [62]. Интересно, что направление регуляции и ее количественные характеристики у рецепторов разного типа и особой разного пола оказались совершенно непохожими. Эти данные, предположительно, иллюстрируют динамическую адаптацию физиологии насекомого к изменению внешних условий, обеспечивающую известную гибкость в реализации поведенческих программ.

Анализ транскриптомов эусоциальных насекомых, в частности термитов *Reticulitermes speratus*, выявил дифференциальную экспрессию генов OR, IR и GR, связанную с полом, возрастом и специализацией (кастовой принадлежностью) исследуемых индивидов [63]. Вероятно, подобные особенности экспрессии могут быть характерны и для других общественных насекомых (муравьев, пчел и др.), а архитектура хеморецепторной системы играет важную роль в формировании полиэтизма и построении сообщества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Насекомые обладают сложно организованной системой хеморецепции, построенной на основе белков из трех суперсемейств (табл. 4). Для этой системы характерно нестрогое соответствие типа рецептора его функциональной роли. Так, ионотропные рецепторы (IR) вовлечены как в обоняние (кислотные запа-

Таблица 4. Сравнительные характеристики трех основных групп хеморецепторов насекомых

Суперсемейство хеморецепторов	OR (odorant receptors)	IR (ionotropic receptors)	GR (gustatory receptors)
Роль в хеморецепторной системе насекомых	Распознавание запахов пищи и феромонов	Распознавание запахов (кислоты и амины) и слабого вкуса NaCl	Распознавание вкуса и углекислого газа в воздухе
Четвертичная структура/олигомерный статус	Гетеродимеры	· Гетеротетрамеры · Гетеродимеры (кислотные запахи)	· Мономеры (Gr43a-подобные) · Гетеродимеры (сладкий вкус, углекислый газ)
Механизм реализации ответа	Ионотропный + метаботропный	Ионотропный	· Ионотропный (Gr43a-подобные) · Метаботропный (рецепторы углекислого газа)
Тип чувствительных нейронов, ответственных за передачу сигнала в центральной нервной системе	Обонятельные чувствительные нейроны (olfactory sensory neurons – OSN)		Вкусовые рецепторные нейроны (gustatory receptor neurons – GRN)
Локализация чувствительных нейронов в организме насекомого	Придатки лба, антенны, верхнечелюстные щупики		Лапки и крылья
Модельные системы, на которых проводились исследования	· «Пустой» нейрон* <i>D. melanogaster</i> · Ооцит <i>X. laevis</i> · Клетки млекопитающих (НЕК293 и др.)	· «Пустой» нейрон* <i>D. melanogaster</i> · Ооцит <i>X. laevis</i>	· «Пустой» нейрон* <i>D. melanogaster</i> · Ооцит <i>X. laevis</i> · Клетки млекопитающих (НЕК293 и др.)

*Обонятельный нейрон *D. melanogaster*, не экспрессирующий эндогенные обонятельные рецепторы.

хи, запахи аминов), так и в восприятие вкуса (низкие концентрации хлорида натрия). Аналогичная ситуация и с рецепторами GR, которые, соответствуя своему названию, задействованы в основном во вкусовом восприятии (горький и сладкий вкус), но вместе с тем участвуют и в обонянии (углекислый газ). Только рецепторы OR являются строго обонятельными.

Архитектура хемосенсорной системы отражает выработку ряда эволюционных адаптаций, позволяющих насекомым точно и адекватно реагировать на внешнюю химическую стимуляцию. Так, рецепторы GR и IR проявляют комплементарную чувствительность в отношении углекислого газа и кислотных запахов: низкие концентрации углекислоты распознаются гетеродимерами GR (например, Gr21a и Gr63a у дрозофилы), а высокие – гетеродимерами IR (у дрозофилы IR8a–IR64a). Обонятельные рецепторы семейств IR и OR, в свою очередь, проявляют комплементарную специфичность и неодинаковую способность к сенситизации, которые, по всей вероятности, дают насекомым возможность точно определять изменение концентрации специфических одорантов даже в присутствии широкого спектра «фоновых» молекул.

К эволюционным адаптациям, вероятно, можно отнести и необычные механизмы трансдукции сигнала, характерные для хеморецепторов насекомых. Так, обонятельные рецепторы OR используют одновременно и ионотропный, и метаботропный пути

трансдукции «химического» сигнала. Первый, по-видимому, важен для быстрой реакции на высокие концентрации одоранта, тогда как второй обеспечивает амплификацию сигнала при распознавании слабых запахов. Молекулярные механизмы функционирования рецепторов IR и GR изучены существенно хуже, но имеющиеся данные в целом говорят о предпочтительно ионотропном пути трансдукции их сигнала. Это, впрочем, не исключает и альтернативных механизмов. Так, для рецепторов углекислого газа из суперсемейства GR характерен метаботропный ответ, опосредованный G α_q -белками и активирующий ионные каналы семейства TRP. Предполагается, что обонятельные рецепторы IR также могут взаимодействовать с G-белками [64].

Ионотропный путь трансдукции сигнала в той или иной степени характерен для всех типов хеморецепторов насекомых. Этот факт определяет существенное своеобразие их хемосенсорной системы. Отметим, однако, что на «хеморецепторной карте» членистоногих в целом и насекомых в частности остается значительное количество белых пятен. И специфичность, и молекулярная структура, и сигнальные пути этих рецепторов активно изучаются. ●

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 18-34-20087.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Frank Z., Munger S. Chemosensory transduction: the detection of odors, tastes, and other chemostimuli. London (UK): Elsevier, 2016. 404 p.
2. Silbering A.F., Benton R. // *EMBO Rep.* 2010. V. 11. № 3. P. 173–179.
3. Wicher D. // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2015. V. 130. P. 37–54.
4. Kaupp U.B. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2010. V. 11. № 3. P. 188–200.
5. Larsson M.C., Domingos A.I., Jones W.D., Chiappe M.E., Amrein H., Vosshall L.B. // *Neuron.* 2004. V. 43. № 5. P. 703–714.
6. Neuhaus E.M., Gisselmann G., Zhang W., Dooley R., Störtkuhl K., Hatt H. // *Nat. Neurosci.* 2005. V. 8. № 1. P. 15–17.
7. Benton R., Sachse S., Michnick S.W., Vosshall L.B. // *PLoS Biol.* 2006. V. 4. № 2. P. 240–257.
8. Lundin C., Käll L., Kreher S.A., Kapp K., Sonnhammer E.L., Carlson J.R., von Heijne G., Nilsson I. // *FEBS Lett.* 2007. V. 581. № 29. P. 5601–5604.
9. Butterwick J.A., Märmol J., Kim K.H., Kahlson M.A., Rogow J.A., Walz T., Ruta V. // *Nature.* 2018. V. 560. № 7719. P. 447–452.
10. Kato H.E., Zhang F., Yizhar O., Ramakrishnan C., Nishizawa T., Hirata K., Ito J., Deisseroth K., Nureki O. // *Nature.* 2012. V. 482. № 7385. P. 369–374.
11. Müller M., Bamann C., Bamberg E., Kühlbrandt W. // *J. Mol. Biol.* 2011. V. 414. № 1. P. 86–95.
12. Penna A., Demuro A., Yeromin A.V., Zhang S.L., Safrina O., Parker I., Cahalan M.D. // *Nature.* 2008. V. 456. № 7218. P. 116–120.
13. Sato K., Pellegrino M., Nakagawa T., Nakagawa T., Vosshall L.B., Touhara K. // *Nature.* 2008. V. 452. № 7190. P. 1002–1006.
14. Rinker D.C., Zwiebel L.J., Pask G.M., Jones P.L., Rützler M. // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 12. P. 4–10.
15. Nakagawa T., Pellegrino M., Sato K., Vosshall L.B., Touhara K. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 3. P. 1–9.
16. Wicher D., Stensmyr M.C., Heller R., Heinemann S.H., Scha R., Hansson B.S. // *Nature.* 2008. V. 452. № 7190. P. 1007–1012.
17. Jones P.L., Pask G.M., Rinker D.C., Zwiebel L.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. № 21. P. 8821–8825.
18. Chen S., Luetje C.W. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 5. P. 1–9.
19. Taylor R.W., Romaine I.M., Liu C., Murthi P., Jones P.L., Waterson A.G., Sulikowski G.A., Zwiebel L.J. // *ACS Chem. Biol.* 2012. V. 7. № 10. P. 1647–1652.
20. Stengl M. // *J. Comp. Physiol. A.* 1994. V. 174. № 2. P. 187–194.
21. Krieger J., Breer H. // *Science.* 1999. V. 286. № 5440. P. 720–723.
22. Benton R., Vannice K.S., Gomez-Diaz C., Vosshall L.B. // *Cell.* 2009. V. 136. № 1. P. 149–162.
23. Abuin L., Ulbrich M.H., Isacoff E.Y., Kellenberger S., Benton R. // *Neuron.* 2011. V. 69. № 1. P. 44–60.
24. Silbering A.F., Rytz R., Grosjean Y., Abuin L., Ramdya P., Jefferis G.S., Benton R. // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. № 38. P. 13357–13375.
25. Prieto-Godino L.L., Rytz R., Bargeton B., Abuin L., Arguello J.R., Peraro M.D., Benton R. // *Nature.* 2016. V. 539. № 7627. P. 93–97.
26. Ai M., Min S., Grosjean Y., Leblanc C., Bell R., Benton R., Suh G.S.B. // *Nature.* 2010. V. 468. № 7324. P. 691–695.
27. Rimal S., Lee Y. // *Insect. Mol. Biol.* 2018. V. 27. № 1. P. 1–7.
28. Cao L., Jing B., Yang D., Zeng X., Shen Y., Tu Y. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015. V. 113. № 7. P. 902–911.
29. Getahun M.N., Wicher D., Hansson B.S., Olsson S.B., Fontanini A., Brook S. // *Front. Cell Neurosci.* 2012. V. 6. № 54. P. 1–11.
30. Zhang Y.V., Ni J., Montell C. // *Science.* 2013. V. 340. № 6138. P. 1334–1338.
31. Jones W.D., Cayirlioglu P., Kadow I.G., Vosshall L.B. // *Nature.* 2007. V. 445. № 7123. P. 86–90.
32. Robertson H.M., Kent L.B. // *J. Insect. Sci.* 2009. V. 9. № 19. P. 1–14.
33. Kwon J.Y., Dahanukar A., Weiss L.A., Carlson J.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 9. P. 3574–3578.
34. Yao C.A., Carlson J.R. // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. № 13. P. 4562–4572.
35. Sturgeon R.M., Magoski N.S. // *J. Neurosci.* 2018. V. 38. № 35. P. 7622–7634.
36. Badsha F., Kain P., Prabhakar S., Sundaram S., Padinjat R., Rodrigues V., Hasan G. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 11. P. 1–11.
37. Stocker R.F. // *Cell Tissue Res.* 1994. V. 275. № 1. P. 3–26.
38. Clyne P.J., Warr C.G., Carlson J.R. // *Science.* 2000. V. 287. № 5459. P. 1830–1834.
39. Scott K., Brady R., Cravchik A., Morozov P., Rzhetsky A., Zuker C., Axel R. // *Cell.* 2001. V. 104. № 5. P. 661–673.
40. Dunipace L., Meister S., Mcnealy C., Amrein H. // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. № 11. P. 822–835.
41. Robertson H.M., Warr C.G., Carlson J.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. P. 14537–14542.
42. Kent L.B., Robertson H.M. // *BMC Evol. Biol.* 2009. V. 9. № 41. P. 1–20.
43. Weiss L.A., Dahanukar A., Kwon J.Y., Banerjee D., Carlson J.R. // *Neuron.* 2011. V. 69. № 2. P. 258–272.
44. Fujii S., Yavuz A., Slone J., Jagge C., Song X., Amrein H. // *Curr. Biol.* 2015. V. 25. № 5. P. 621–627.
45. Nelson G., Hoon M.A., Chandrashekar J., Zhang Y., Ryba N.J., Zuker C.S. // *Cell.* 2001. V. 106. № 3. P. 381–390.
46. Montmayeur J., Liberles S.D., Matsunami H., Buck L.B. // *Nat. Neurosci.* 2001. V. 4. № 5. P. 492–498.
47. Yavuz A., Jagge C., Slone J., Amrein H. // *Fly (Austin).* 2015. V. 8. № 4. P. 189–196.
48. Miyamoto T., Slone J., Song X., Amrein H. // *Cell.* 2012. V. 151. № 5. P. 1113–1125.
49. Moon S.J., Lee Y., Jiao Y. // *Curr. Biol.* 2009. V. 19. № 19. P. 1623–1627.
50. Lee Y., Jun S., Montell C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. № 11. P. 4495–4500.
51. Smadja C., Shi P., Butlin R.K., Robertson H.M. // *Mol. Biol. Evol.* 2008. V. 26. № 9. P. 2073–2076.
52. Sato K., Tanaka K., Touhara K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. № 28. P. 11680–11685.
53. Kikuta S., Endo H., Tomita N., Takada T., Morita C., Asaoka K., Sato R. // *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 2016. V. 74. P. 12–20.
54. Takada T., Sato R., Kikuta S. // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 10. P. 1–16.
55. Serizawa S., Miyamichi K., Nakatani H., Suzuki M., Saito M., Yoshihara Y., Sakano H. // *Science.* 2003. V. 302. № 5653. P. 2088–2094.
56. Touhara K., Vosshall L.B. // *Annu. Rev. Physiol.* 2009. V. 71. P. 307–332.
57. Couto A., Alenius M., Dickson B.J. // *Curr. Biol.* 2005. V. 15. № 17. P. 1535–1547.
58. Dobritsa A.A., van der Goes van Naters W., Warr C.G., Steinbrecht R.A., Carlson J.R., Haven N., Vic C. // *Neuron.* 2003. V. 37. № 5. P. 827–841.
59. Missbach C., Dweck H.K.M., Vogel H., Vilcinskas A., Stensmyr M.C., Hansson B.S., Grosse-Wilde E. // *eLife.* 2014. V. 3. P. 1–22.
60. Getahun M.N., Thoma M., Lavista-Llanos S., Keesey I., Fandino R.A., Knaden M., Wicher D., Olsson S.B., Hansson B.S. // *J. Exp. Biol.* 2016. V. 219. № 21. P. 3428–3438.
61. Joseph R.M., Carlson J.R. // *Trends Genet.* 2015. V. 31. № 12. P. 683–695.
62. Jin S., Zhou X., Gu F., Zhong G., Yi X. // *Front. Physiol.* 2017. V. 8. № 627. P. 1–12.
63. Mitaka Y., Kobayashi K., Mikheyev A., Tin M.M.Y., Watanabe Y., Matsuura K. // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 1. P. 1–16.
64. Byrne J.H. *The Oxford Handbook of Invertebrate Neurobiology.* Oxford (UK): Oxford University Press, 2017. 792 p.