

# Bazı Böcek Türlerinde Kimyasal İletişimi Sağlayan Proteinlerin Moleküler Yapıları ve Biyokimyasal Fizyolojileri

## [Molecular Structures and Biochemical Physiology of the Proteins Involved in Chemical Communications in Some Insect Species]

<sup>1</sup>Ender Büyükgüzel,  
<sup>2</sup>Hasan Tunaz,  
<sup>1</sup>Kemal Büyükgüzel

<sup>1</sup>Karaelmas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 67100, İncivez, Zonguldak  
<sup>2</sup>Kahramanmaraş Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 46100, Kahramanmaraş

### Yazışma Adresi

[Correspondence Address]

Doç. Dr. Kemal Büyükgüzel

Karaelmas Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Bölümü  
67100  
İncivez-Zonguldak, TURKEY  
Tel: 0 90 372 2574010/1126  
Fax: 0 90 372 2574181  
E-mail: buyukguzelk@hotmail.com

Kayıt tarihi 06 Şubat 2006; kabul tarihi 17 Mayıs 2006  
[Received 06 February 2006; accepted 17 May 2006]

### ÖZET

Karasal ortamda yaşayan hayvansal organizmaların koku alma duyuları (olfaktör sistem) uçucu hidrofobik molekülleri tespit ederek seçebilecek şekilde özelleşmiştir. Bu moleküllerin bazıları bitkisel kaynaklı uçucu bileşikler olup bazıları da hayvansal organizmalar tarafından salınan hidrofobik özellikte, hidrokarbon yapısında ve feromonlar olarak isimlendirilen koku molekülleridir. Böceklerin antenlerinin birincil görevi, karşı eşeyden salınan eşey feromonlarını, diğer fizyolojik ve davranışsal işlevleri gerçekleştiren semiokimyasalları ve bitkisel kaynaklı uçucu molekülleri içeren kokuları algılamaktır. Lepidoptera takımına ait güve türlerinin antenlerinde trikoid ve bazikonik olarak isimlendirilen iki olfaktör duyu almaçı (sensilyum) belirlenmiştir. Trikoid sensilyumlar feromonları algılamak üzere özelleşmiştir. Hidrofobik semiokimyasallar koku bağlayıcı proteinler tarafından bağlanarak çözünür forma dönüştürüldükten sonra sensillar lenfteki sulu ortamdan sinyal iletiminin başlatıldığı olfaktör reseptöre doğru taşınır. Bu proteinler altı adet sistein amino asidi taşıması nedeniyle benzer yapıda olup feromon bağlayan proteinler ve koku bağlayan proteinler olarak iki alt gruba ayrılır. Üç adet disülfür bağı oluşturan bu sistein amino asitleri proteinlerin üç boyutlu yapılarının kararlılığı için gereklidir. Feromonlar böcekler, diğer hayvan grupları ve insanlar tarafından kimyasal iletişimi sağlamak amacıyla salınan kokusuz, doğal moleküllerdir. Bu moleküller, dişi böceğin erkeğini kilometrelerce uzaktan bulabilmesini sağlayacak kadar etkilidir. Feromon bağlayan proteinler Lepidoptera takımına ait güveler ve diğer böcek türlerindeki çeşitli duyu organlarında bulunan, düşük moleküler ağırlığa sahip (13-17 kDa) heliks yapısında proteinlerdir. Koku bağlayan proteinler ise kimyasal duyu sensilyumlarının lenf sıvısında oldukça yoğun olarak bulunan düşük moleküler ağırlıklı (15 kDa) çözünür proteinlerdir. Diğer birçok böcek türlerinin çeşitli duyu organlarında küçük bir protein grubu daha belirlenmiştir. Dört sistein amino asidi içermesinden dolayı feromon bağlayıcı protein ve koku bağlayıcı protein ile amino asit dizilişi bakımından daha az benzerlik gösteren bu proteinler, kimyasal duyu proteinleri olarak ayrı bir gruba dahil edilir. Bunlar koku ve tat gibi kimyasal sinyallerin algılanmasından sorumlu olup çeşitli kimyasalların hava ve su ortamından reseptörlere taşınmasında rol oynar.

**Anahtar Kelimeler:** Böcekler, Feromon bağlayan proteinler, Feromonlar, Duyu almaçıları, Kimyasal duyu proteinleri, Kimyasal iletişim

### ABSTRACT

The olfactory systems of terrestrial animals are designed to trap and sample volatile hydrophobic molecules. Some of these molecules are odorants, such as volatile plant compounds and pheromones emitted from the other organisms. Insect antennae have a primary function of detecting odors including sex pheromones and plant volatiles. In moths, the organs devoted to olfactory perception have been identified in antennae as the sensilla trichoid and basiconic, the former being tuned to the perception of pheromones. The hydrophobic semiochemicals are solubilized by odorant-binding proteins and transported through an aqueous environment (sensillar lymph) to the olfactory receptors, where the signal transduction starts. These proteins, subdivided into pheromone-binding proteins and general odorant-binding proteins, all have a hallmark of six conserved cysteine residues forming three disulfide bridges which are essential for the rigidity of their three-dimensional structures. Pheromones are naturally occurring odorless chemical messenger compounds found in all insects, animals, and humans. They could attract male insects from a long distance exceeding kilometers. Pheromone-binding proteins are small helical proteins (13-17 kDa) present in several sensory organs from moth and other insect species. Odorant-binding proteins are small (15 kDa) soluble proteins, very concentrated in the lymph of chemosensory sensilla. A third class of small proteins has been identified in several sensorial organs from a number of insect orders. They have been separated into a group of chemosensory proteins, characterized by four cystein residues and with low sequence similarity to odorant-binding proteins. They are involved in chemoperception (olfaction and taste) and to play a role in chemical transport from air or water to chemosensitive receptors.

**Key Words:** Insects, Pheromone-binding proteins, Pheromones, Olfactory sensilla, Chemosensory proteins, Chemical communication

## GİRİŞ

Hayvanlar aleminde bireyler ile çevreleri arasındaki iletişim genellikle kimyasal araçlar ile düzenlenir. Omurgalılar ve omurgasızlar arasında kimyasal duyu iletişiminin sağlanması bakımından farklılıklar bulunmaktadır. Omurgalılarda koku molekülleri özelleşmiş organlardaki olfaktör duyu nöronları tarafından algılanır. Bu nöronlar, insanlarda nazal boşluğun arkasında belirli bir alanda bulunan küçük bir olfaktör epitelyumda yerleşmiştir (vomeronazal organ) (1). Böceklerde eşey feromonlarını, diğer fizyolojik ve davranışsal işlevleri gerçekleştiren semiokimyasalları ve bitkisel kaynaklı uçucu molekülleri algılayan olfaktör duyu nöronları antenlerde bulunur. Böceklerin antenlerinde bulunan koku bağlayan proteinler (OBP), feromon bağlayan proteinler (PBP) ile kimyasal duyu proteinleri (CSP) gibi küçük proteinler sıvı-hava ara yüzeylerinden olfaktör duyu nöronlarındaki koku alma reseptörlerine kendi ligandlarını taşırlar. Bu proteinler farklı fiziksel ve kimyasal yapılarıdaki ligandları bağlayabilme yeteneğine sahiptir (2). Bu özellikleri nedeniyle, hücresel düzeyde iş gören diğer düzenleyici proteinler (3) gibi tür içi ve türler arasındaki kimyasal etkileşimin organizma düzeyinde normal işleyişini düzenlerler. Bu proteinlerin basit taşıyıcılar mı oldukları veya reseptör uyarıcısı olarak mı rol oynadıkları hâlâ tartışma konusudur; fakat son verilerden bazıları bu proteinlerin reseptör uyarıcısı gibi bir işleve sahip olabileceklerini göstermektedir. Feromonlar, canlılar arasındaki etkileşimde oldukça önemli rol oynarlar. Ekofizyolojik düzeyde çeşitli davranış adaptasyonlarına aracı olan doymamış yağ asiti türevi eikosanoidlerden (4) sonra feromonlar, özellikle omurgasızlarda önemli iletişim molekülleridir. Hayvanlar aleminde, sosyal yaşamın düzenlenmesi ve türlerin birbirleri ile iletişimi, Protozoa'dan en gelişmiş canlılara kadar, feromonların da dahil olduğu uygun semiokimyasalların salınımı ile gerçekleştirilir (5,6). Semiokimyasallar doğal olarak üretilen ve organizmalar arasındaki etkileşimi sağlayan geniş bir aktiviteye sahip maddelerdir. Bunlar türler arasında ve tür içinde çekici, uzaklaştırıcı, beslenmeyi uyarıcı yada engelleyici, aralarındaki rekabeti artırıcı yada engelleyici olarak rol oynayan hidrokarbonlardır. Bir çok tür epoksi hidrokarbon, alkol, asetat, yağ asiti, aldehit, terpen, amino asit ve ketonları içeren çok çeşitli alifatik düz zincirli yada aromatik bileşikler sentezler. Değişik kimyasal yapıdaki bu feromonların işlevlerinin yapıları ile uyum gösterdiği düşünülmektedir. Ancak bu seçici görevlerin ortaya çıkmasında feromonların türe özgü bir şekilde sentezlenmeleri yanında, alıcı bireyin sensilyum sıvısındaki koku bağlayıcı proteinlerin sayısı, yapısı, reseptör özgülüğü, sentezlenen feromon karışımındaki bileşenlerin yapısı, miktarı ve oranı, feromon-feromon bağlayıcı protein kompleksi tarafından reseptörün uyarılma derecesi de etkili olmaktadır. Semio- ön eki "sinyal" anlamına gelmekte olup semiokimyasal kelimesi ise kimyasal sinyal moleküllerini ifade etmektedir. Semio-kimyasallar, sırasıyla tür içi ve türler arasında etkileşime

bağlı olarak feromonlar ve allelokimyasallar olarak iki alt bölüme ayrılır (Tablo 1). Bu maddeleri salgılayan ve algılayan bireyin yada her iki bireyin karşılıklı elde ettiği yarar dikkate alınarak bu gruplandırma yapılmaktadır. Ayrıca iki birey arasındaki ilişki de mesajı ileten kimyasalın alıcı bireyde meydana getirdiği davranışsal ve fizyolojik tepkiler de etkili olmaktadır. Bunlar ya aynı türün bireyleri (intraspesifik) yada farklı türlerin bireyleri (interspesifik) arasında iletişimi düzenlemektedir.

Feromonlar hayvanlar aleminde bir bireyden diğerine bilgi iletmek için yaygın olarak kullanılan biyolojik olarak aktif maddelerdir (7). Özellikle görme ve işitme duyusu tam olarak gelişmemiş yada bu duylardan yoksun olan türlerde oldukça etkilidir (8). Feromonlar böceklerde aynı türün bireyleri arasındaki ekolojik, fizyolojik yada davranışsal değişiklikleri uyarır. Hormon taşıyıcıları anlamında kullanılan feromon, özellikle böceklerin, karşı cinslerinin davranış ve gelişimlerini etkilemek amacıyla salgıladıkları bir kimyasal maddedir. Bir çok türün cinsel ve toplumsal davranış ile üreme fizyolojisi üzerinde önemli rol oynarlar. Hormonlar gibi az miktarda salgılanmalarına ve belirli bir yaşamsal işlevi yerine getirme görevini üstlenmelerine karşın vücut dışına salınmaları onları hormonlardan ayırır. Feromonları izleyerek gerçekleşen haberleşme şekline daha çok arı, karınca, termit gibi birlikte yaşayan böceklerde rastlanır (9,10). Karıncalar yuvalarını, bal arıları da kovanlarını çok uzaklara gitseler de şaşırmadan bulurlar. Bazı böcek larvaları tehlike anında hemen bir araya toplanarak korunurlar. Sosyal yaşayan böceklerde, çoğunlukla kraliçe birey tarafından salgılanan feromonlar sayesinde, koloni içerisindeki düzen sağlanır. Bu nedenle feromonlara sosyal etki maddeleri adı da verilmektedir. Arı kovanlarındaki çalışmaların düzenli yürütülmesinde kraliçe arının kovan içinde bıraktığı feromonların büyük önemi vardır. Kovan içinde devamlı olarak hissedilmesi gereken bu feromonların varlığı, işçi arıların yumurtalıklarının gelişmesini ve dolayısıyla yeni bir ana arı yetiştirilmesini önler. Kraliçe arının salgıladığı çiftleşme feromonları ise kovan içinde çiftleşmeyi önlediği halde açık havada çiftleşme uçuşu esnasında çiftleşmeyi teşvik eder (11). Termit kolonisi içerisinde cinsiyet olarak çoğunlukta olan bireylere ait feromonların yoğunluğu, yuvanın en alt kısmında bulunan yumurtaların eşeyini belirler. Bazı karınca türlerinde, koloniyeye saldırı durumunda, asker

**Tablo 1.** Böceklerde tür içi ve türler arası iletişimde kullanılan semiokimyasallar

Allelokimyasallar	Feromonlar
1. Kairomonlar	1. Eşey
2. Allomonlar	2. Çağrı
3. Synomonlar	3. Alarm ve ikaz
	4. Ölüm
	5. Toplanma
	6. Dağılıma
	7. Takip
	8. Yer sahiplenme

bireyler tarafından salgılanan feromonlar bir alarm niteliği taşır. Etkilerine göre bu maddeler toplanma, alarm, ikaz, yumurta bırakmayı engelleyici, mekan sahiplenme, üreme ve takip feromonları gibi çeşitli gruplara ayrılırlar. Toplanma feromonları, erkek ve dişilerin bir araya toplanmasını sağlayan, göç etmeden önce toplanmayı ve gıdaların bulunduğu yerin keşfedildiğini haber vermede kullanılan bir feromondur. Scolytidae familyasından kabuk kınkanatlılarının bir dişisi, uygun bir ağaca yerleştikten sonra koloninin diğer erkek ve dişi bireylerini de buraya çekmek için bir toplanma feromonu salgılar (12). Alarm ve ikaz feromonları, yaklaşan bir tehlikeyi haber vermek için kullanılır. Bir karınca yuvası dışarıdan bozulduğunda salgılanan alarm feromonu, saldırgan karşı savunmak amacıyla bir çok karıncanın yuvaya dönmesine sebep olur. Diğer karıncalar ise kaçmak için yumurta ve larvaları toplar. Yumurta bırakmayı engelleyici feromonlar, populasyon artışını engellemek için dişi hayvanlar tarafından yayılır ve durum normale döndüğünde salınması durdurulur. Mekan sahiplenme feromonları, canlının hayatını ve faaliyet sahasını belirlemek için salgıladığı feromon çeşididir. Cinsiyet feromonları, üremek için karşı cinsi çeken, takip feromonları ise çeşitli amaçlar için yolları işaretleyen feromonlardır. Takip feromonları besin bulmak amacıyla bir yol haritası gibi kullanılır. Karınca bir miktar besin bulduktan sonra takip feromonu ile yuvasının yolunu bulur; diğerleri ise bu besin için onu takip ederler. Allelokimyasallar, farklı türlerin bireyleri arasında ilişki kurmak için organizmalar tarafından üretilen semiokimyasallardır (Tablo 1). Bunlardan allomonlar farklı türlerin bireyleri arasında uzaklaştırıcı, kairomonlar ise çekici olarak rol oynar. Synomonlar ise salgılayıcı ve alıcı tür arasında karşılıklı yarar sağlayan allelokimyasallardır (13).

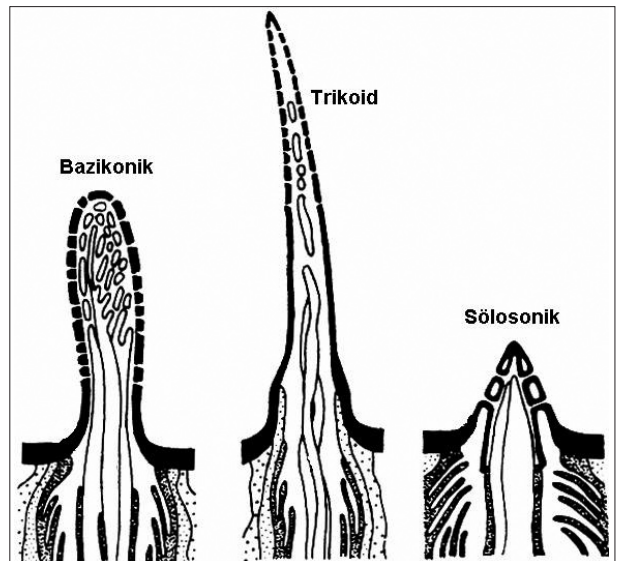
Aynı türün bireyleri arasındaki çekici özellikleri nedeniyle feromonlar, zararlı böcekler ile mücadelede çevreye ve insana olumsuz etkisi olan kimyasal insektisitlere karşı yaygın bir kullanıma sahiptir (14). Ülkemizde ve dünyada feromon aracılığı ile mücadele, tarımsal alanlara zarar veren ve ekonomik kayıplara neden olan böceklerle karşı başarılı bir şekilde uygulanan biyoteknik bir yöntemdir. Salgılanan feromonun eşey cezbedici feromon tuzağı düzeneklerine bırakılması yada kapsül içinde yerleştirilmesi suretiyle, karşı eşeyin koku yoluyla tuzağa çekilmesi sağlanmış olur (15-18). Bu şekilde zararlı böcek kitle halinde yakalanıp popülasyonu azaltılır.

Bu makalede böceklerin tür içi ve türler arası davranışsal ve fizyolojik etkileşimini düzenleyen bazı koku bağlayan proteinlerin yapıları, moleküler ve biyokimyasal fizyolojileri daha çok feromon-feromon bağlayan protein sistemleri üzerinde durularak açıklanmaya çalışılmıştır. Günümüzde birçok böcek türünün genomunu tespit etmeye yönelik çalışmalar henüz tamamlanmadığı için koku moleküllerini bağlayan proteinleri ve bu proteinlerin reseptörlerini kodlayan genlerin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar az olup her geçen gün sayısı artmaktadır. Bu nedenle bu derlemede çoğunlukla feromon

biyosentezi ve etkisinin detaylı çalışıldığı Lepidoptera takımına ait türler olmak üzere diğer böcek gruplarından iyi çalışılmış bazı türler üzerinde durulacaktır.

## OLFAKTÖR SENSİLYUMUN ve RESEPTÖRÜN YAPISI

Erkek ve dişi birey tarafından salgılanan eşey feromonları karşı eşeyin çiftleşme ile ilgili davranış fizyolojisini etkiler. Bu feromonlar çoğunlukla dişi böcekler tarafından salgılanmakta olup erkek bireyler tarafından salgılanan eşey feromonları da bulunmaktadır. Afrodizyaklar erkekler tarafından dişi bireyi çiftleşmek için uyarmak üzere salınan feromonlardır (19). Dişi yada erkek tarafından salınan feromonlar hava hareketleri ile taşınır ve diğer bireyin antenleri aracılığı ile algılanır. Böcekler tarafından algılanan koku molekülleri yada feromonlar küçük organik moleküller olup genellikle hidrofobik ve uçucudur. Bu moleküller, antenlerde bulunan, uzun dendritlere sahip olfaktör duyu nöronlarını içeren ve "sensilyum" olarak isimlendirilen özelleşmiş duyu almaçı yapıları tarafından tespit edilir. Feromonlar böcek takımları arasında en iyi Lepidoptera takımına ait türlerde araştırılmıştır. Örneğin kır tırtılı *Lymantria dispar* L.'da olduğu gibi, Lepidoptera takımındaki güve türlerinin antenlerinde bulunan koku alma sistemi farklı bir yapıya sahiptir; bu durum anten proteinleri üzerindeki çalışmalara öncülük etmektedir. Lepidoptera takımına ait güve türlerinin antenlerinde trikoid ve bazikonik olarak isimlendirilen iki olfaktör duyu almaçı belirlenmiştir. Diğer bazı böcek türlerinde ayrıca sölosonik olarak isimlendirilen üçüncü bir duyu almaçı yapısı daha belirlenmiştir. *Drosophila melanogaster* Meigen'de trikoid ve bazikonik duyu almaçlarının oluşumundan *amos* geni, sölosonik almaçların oluşumundan ise *atonal* olarak isimlendirilen nörojenik genler sorumludur (20) (Şekil 1). Bu duyu almaçlarının (sensilyumlar) yüzeyleri küçük porlar içerir. Koku molekülleri havada



Şekil 1. Böceklerde bulunan üç farklı sensilyum morfolojik yapısı (Vosshall, 2000'den alınmıştır)

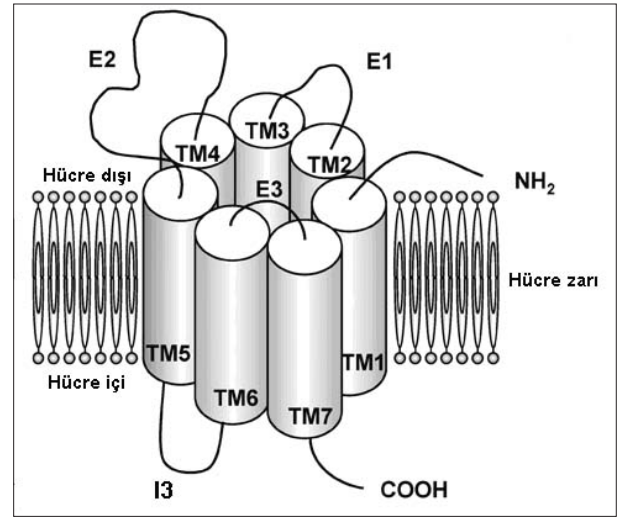
bol miktarda bulduklarından dolayı porlara doğrudan ulaşabilir. Hava akımı ile yayılan her koku molekülü, porların yüzeyine doğrudan defalarca temas eder. Hidroforbik kokular sensilyumların kütiküler yüzeyinde tutularak porlara doğru yöneltilir (21).

Bir koku uyarısına karşı sinirsel bir yanıt, ard arda meydana gelen bir takım biyofiziksel, biyokimyasal ve elektrofizyolojik işlemler ile oluşturulmaktadır. Bu işlemler sırasıyla feromonun antenlerdeki olfaktör sensilyumlara (sil) tutunması, sil duvarındaki porlara doğru sil yüzeyinden içeri difüzyonu, lipofilik özellikteki feromonun sensilyum sıvısında feromon bağlayan proteine (PBP) bağlanarak proteinde yapısal değişimin meydana gelmesi (A→B), böylece feromonun çözünür yapıya dönüştürülmesi, feromon-PBP kompleksinin hücre zarındaki reseptöre taşınması ve feromonu salan proteinin tekrar önceki yapısına dönmesi (B→A), hücre zarı ile ilişkili bir duyu nöronu zar proteininin (SNMP) feromon-PBP kompleksinin reseptör moleküle yönelmesine kılavuzluk etmesi, reseptör hücrenin zarındaki reseptör molekülünün uyarılması, fizyolojik cevabın oluşması, feromonun inaktivasyonu ve enzimatik olarak (Glutasyon S-transferaz, GST) parçalanması olarak sıralanabilir (22) (Şekil 2).

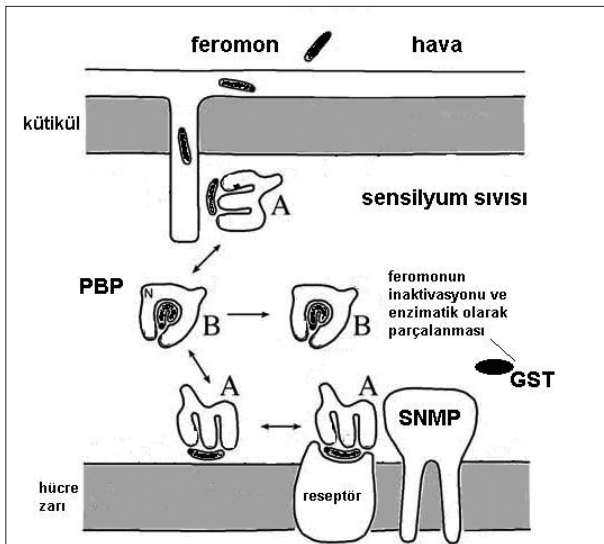
Sensilyumlarda yüksek konsantrasyonlarda koku bağlayan proteinler (OBP) mevcuttur. Bu proteinler yardımcı hücreler tarafından üretilir. Sensilyumun yüzeyinde bulunan porlar koku moleküllerinin lümenine ulaşması ve bağlayıcı proteinler ile etkileşimleri için geniş bir yüzey sağlar. Bazı böceklerde koku alma reseptörlerinin çoğunlukla sensilyum zarına yerleştiği belirlenmiştir (23). *Bombyx mori* L.'nin sensilyum zarlarında  $\mu\text{m}^2$  de en az 3000 adet reseptör molekülü bulunmaktadır (24). Bunlar G-proteini ile eşleştirilmiş reseptör (GPCR) ailesine ait olup zarı yedi kez katadan heliks (transmembran heliksler, TM1-TM7) yapısından oluşmaktadır (25,26). Koku alma reseptörleri, yedi adet  $\alpha$ -heliksten oluşan ve

G-proteini ile eşleşen reseptör ailesine aittir (Şekil 3). Bu reseptörleri oluşturan helikslerin hücre dışı bölgede ligand bağlayan (E1, E2, E3) ve hücre içi bölgede G proteini ile eşleşen (I1, I2, I3) üç adet bağlayıcı bölgeleri mevcuttur. Bu sınıf reseptör ailesinin ligand bağlayıcı bölgesi (E2), hücre dışı amino ucu bölgesinin büyük bir bölümünü kapsamaktadır (27,28).

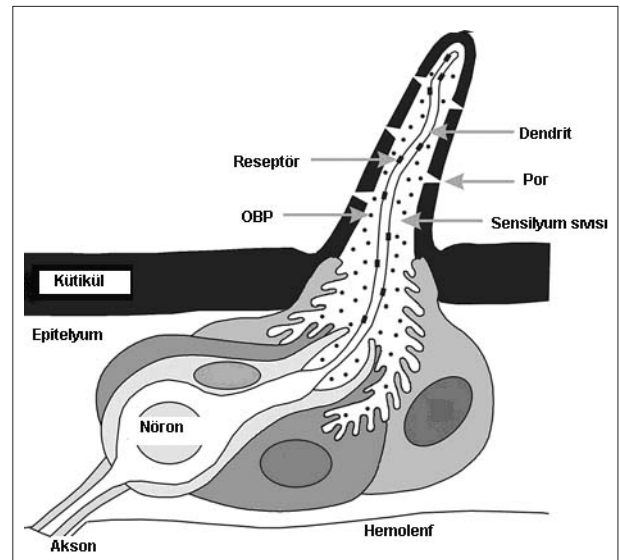
Her sensilyum, sıvı ile doldurulmuş bir boşluk içeren kütiküler duvardan oluşur. Bu yapı hava ve sıvı arasındaki haberleşmeyi sağlayan çok sayıda por içermektedir. Bu boşluklara duyu nöronlarının dendritleri uzanmakta olup, bu dendritlerin zarlarına koku alma reseptörleri yerleşmiştir. Bir olfaktör sensilyum üç destek hücresi tarafından çevrelenmiş 2 yada 3 adet olfaktör duyu nöron içerir. Olfaktör nöronların dendritleri kütikül ile çevrelenmiş saç benzeri bir yapının (sil) sıvı dolu lümenine uzanır (Şekil 4). Sensilyumun lümeni bir hücrel



Şekil 3. G-proteini ile eşleşen feromon ve kokuyu bağlayan reseptörün şematik yapısı (Jacquin-Joly and Merlin 2004'den alınmıştır).



Şekil 2. Bir koku uyarısına karşı sinirsel bir yanıtın oluşumu ve son bulması sırasında sensilyum lümeninde meydana gelen fizyolojik olaylar (Kaissling, 2004'den alınmıştır).



Şekil 4. Böceklerde koku alma duyusuna ait bir sensilyumun şematik yapısı (Steinbrech et al., 1992'den alınmıştır).

engel ile hemolenften ayrılmaktadır (29). Duyu nöronlarının aksonları ise merkezi sinir sistemindeki antennal lob ile bağlantı yapmıştır.

## FEROMON BİYOSENTEZİ

Özellikle Lepidoptera takımına ait türler olmak üzere birçok böcek türlerinin dişileri tarafından üretilen eşey feromonları çoğunlukla yağ asitleri türevidir. Feromon biyosentezinde öncü moleküller olarak doymuş ve doymamış yağ asitleri kullanılır. Lepidoptera takımındaki bazı güve türleri, feromon biyosentezinde linoleik (Z9,Z12-oktadekadienoik asit, Z9,Z12-18:Ac) ve linolenik (Z9,Z12,Z15-oktadekatrienoik asit, Z9,Z12,Z15-18:Ac) asitleri kullanırlar (30). Ancak Lepidoptera takımına ait türlerin bu iki yağ asitini de sentezleyemediği bilindiğinden konak bitkilerden veya diğer besin kaynaklarından aldıkları bu yağ asitlerini feromon biyosentezi için öncü olarak kullandıkları düşünülür (31). Bazı güve türlerinde ise amino asitlerden türeyen karbon iskeletinin kullanılması ile yağ asiti zinciri uzatılarak feromon sentezlenir (32). Bunların dışında konak bitkilerden besin kaynağı olarak alınan alkaloidler ve izoprenoidler de böcek feromonlarının sentezinde öncü olarak kullanılır (33). Lepidoptera takımının yaklaşık olarak 120 türünde eşey feromonlarının yapıları bilinmektedir. Birçok tür hidrokarbon, epoksi hidrokarbon, alkol, asetat, aldehit ve ketonları içeren alifatik düz zincirli bileşikler sentezler (34). Lepidoptera takımına ait türlerin eşey feromonlarının karbon sayısı genellikle 10 ile 20 arasındadır. Diptera takımının birçok eşey feromonları yağ asitlerinden türemiş hidrokarbonlardır (35). Coleoptera ve diğer takımların eşey feromonları daha da çeşitlidir. Lepidoptera takımına ait olan bazı böcek türlerinde aşırı doymamış yağ asitlerinin türevi olan çeşitli prostaglandinlerin sentezinin yapıldığı bilindiğinden (36) bu maddelerin de feromon olarak böcekler tarafından kullanılabilirliği düşünülmektedir.

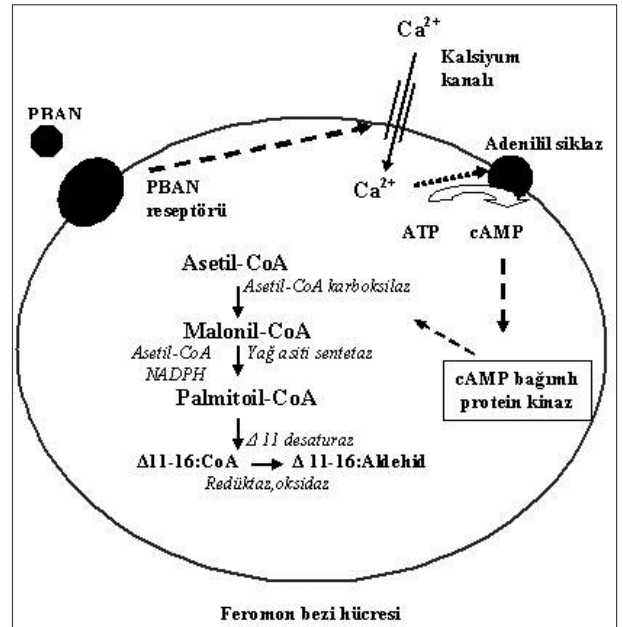
Böceklerde feromon biyosentezi üç farklı hormonal sinyal iletim mekanizması ile düzenlenir. Hamamböceğinin dahil olduğu takımdaki (Blattodea) bazı türler ile bazı kın kanatlı böceklerin feromon sentezi izoprenoid sesquiterpen yapısında olan juvenil hormon III (JH III) ile uyarılır (37). Kara sinek, *Musca domestica* L. ve Diptera takımına ait diğer bazı türlerin dişilerinin ovariolünde üretilen steroid bir hormon, 20-hidroksiekdizon (20-E) hormonu açil-CoA'yı uzatan bir yada daha fazla enzimin (elongaz enzimleri) aktivitesine etki ederek eşey feromonunun sentezini düzenlemektedir (38). Lepidoptera takımına ait türlerin eşey feromonu biyosentezi ise 33 yada 34 amino asitten oluşan "feromon biyosentezini aktifleştiren nöropeptid (PBAN)" olarak isimlendirilen peptid yapısında bir nörohormon tarafından düzenlenir (39). Mısır koçan kurdu *Helicoverpa zea* (Boddie)'nın feromon biyosentezini aktifleştiren nöropeptidi (PBAN) dişi ve erkek bireylerin subözofagal gangliyonu tarafından üretilen ve 33 amino asitten oluşan bir peptiddir (40).

Benzer nöropeptidler *B. mori* ve *L. dispar* gibi Lepidoptera takımına ait çeşitli türlerden de izole edilmiştir. Bu peptidlerin amino asit dizilişi bakımından % 80 oranında benzerlik göstermekte olup C-uçları amidlenmiş FS-PRL (fenilalanin-serin-prolin-arjinin-lösin-NH<sub>2</sub>) amino asitlerinden oluşan bir dizi içermektedir (Şekil 5). Bu dizi, nöropeptidin feromon biyosentezini uyarabilmesi için gerekli biyolojik aktiviteden sorumludur (41). JH ve 20-E, hücre içi reseptörleri ile etkileşerek biyosentetik yolun bazı kilit enzimlerinin genlerini uyarması sonucu feromon biyosentezi üzerinde etkisini gösterir. Örneğin, JH III isoprenoid yapısında olan toplanma feromonunun sentezinde kilit bir enzim olan 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA redüktaz mRNA'sının sentezini artırarak transkripsiyon seviyesinde etkili olmaktadır. Buna karşılık PBAN, ikincil haberciler aracılığıyla biyosentetik enzimlerin aktivitelerini artırması nedeniyle etkisini biyokimyasal düzeyde gerçekleştirir.

*H. zea*'da feromon biyosentezini aktifleştiren nöropeptidin etkisi, bu nöropeptidin feromon bezindeki özel bir reseptöre bağlanması ile başlamaktadır (Şekil 6). Liganın bağlanması ile reseptörde gerçekleşen konformasyon değişimi sonucu zaradaki kalsiyum kanalları açılarak hücreye kalsiyum iyonlarının girişi sağlanır. Kalsiyum

Hez-PBAN	LSDDMPATPADQEMYRGDPEQIDSRKYFSPRL-NH <sub>2</sub>
Bom-PBAN	LSEDDMPATPADQEMYQPDPEEMESRTRYFSPRL-NH <sub>2</sub>
Lyd-PBAN	LADDMPATMADQEWYRPEPEQIDSRNKYFSPRL-NH <sub>2</sub>

Şekil 5. *H. zea*, *B. mori* ve *L. dispar*'ın feromon biyosentezini aktifleştiren nöropeptidlerin (PBAN) amino asit dizileri. Proteinlerin amino asit dizisi bakımından benzerlik gösteren bölgeleri koyu ve daha büyük yazı tipi ile gösterilmiştir. (Tillman et al., 1999 ve Roelofs and Jurenka, 1997'den değiştirilerek alınmıştır).



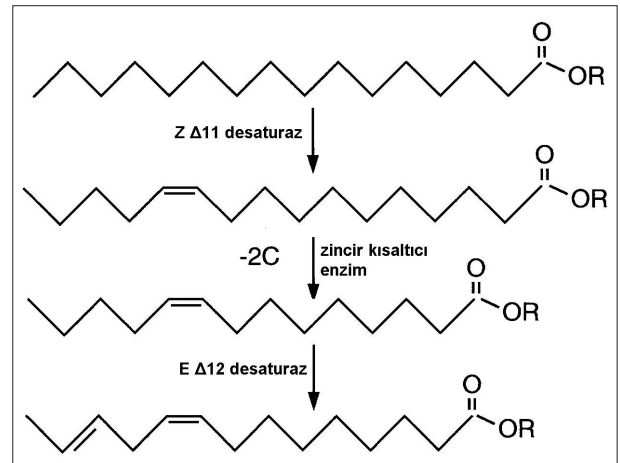
Şekil 6. *H. zea*'da feromon biyosentezini aktifleştiren nöropeptidin (PBAN) etki mekanizması (Tillman et al. 1999'den değiştirilerek alınmıştır).

iyonları, ikincil haberci molekülü olan adenozin 3,5-hal-kasal monofosfatı (cAMP) oluşturarak feromon biyosentezini uyarır (42). cAMP bağımlı protein kinaz enzimi ile asetil-CoA karboksilaz enzimi aktifleştirilerek malonil-CoA üzerinden feromonun öncü yağ asiti olan palmitoil-CoA sentezlenir. Daha sonra feromon biyosentezinin önemli aşamaları olan zincir kısalması, desaturasyon, ve indirgenme reaksiyonları meydana gelir.

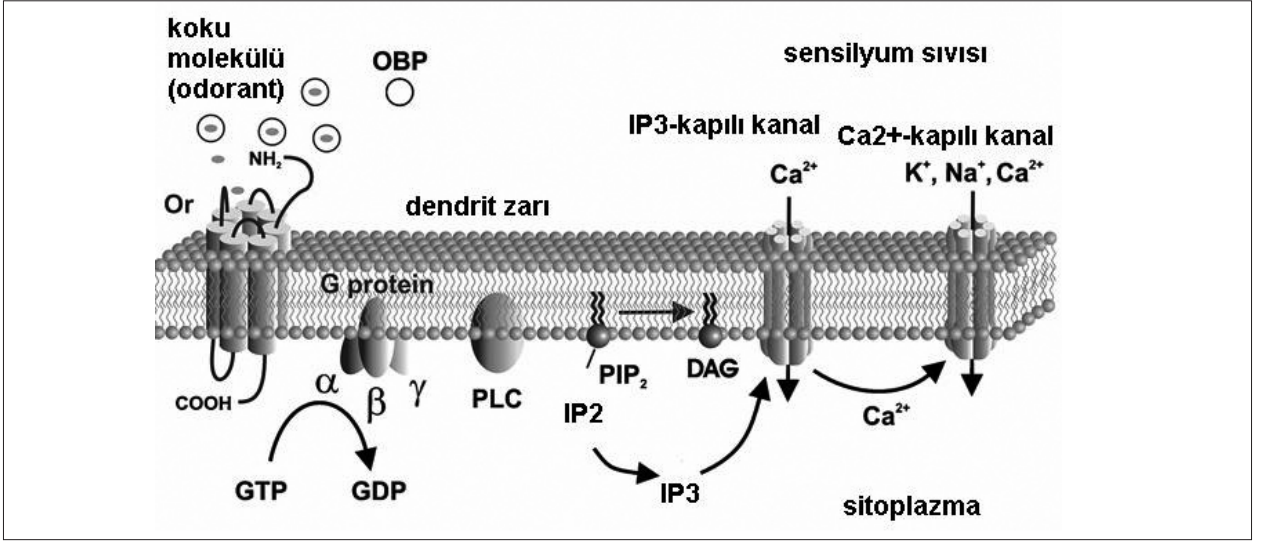
Feromon bileşiklerindeki dişilerde abdomenin posterior ucundaki ovipozitöre yakın bulunan feromon bezinde, erkeklerde ise kanatlardaki yada abdomendeki bezlerde sentezlenir (43). Bu bez *H. zea*'nın dişilerinde halka şeklinde olup son abdominal segmentlerde (8-10. segmentler) yerleşmiştir. Silindirik hücrelere sahip olan bez hücrelerinde bol miktarda lipid granülleri ile birlikte düz endoplazmik retikulum bulunur. Bu yapı bez hücrelerinin lipid yapısında madde salgıladıklarını açıkça gösterir. Bez hücrelerinin aralarında fazla miktarda desmozom ve ara kanallar mevcuttur (44). Bu bezlerde yağ asiti öncülerinden zincir uzunluğu, doymamışlık derecesi, fonksiyonel grubu ve üretilen feromon sayısı bakımından değişen türe özgü feromon karışımı sentezlenir. Farklı güve türlerindeki feromon biyosentez yolu Bjostad ve Roelofs (45)'un çalışmaları ile belirlenmeye başlanmıştır. Feromon biyosentezi öncelikle palmitik asit (16C) ve stearik asit (18C) gibi doymuş yağ asitlerinin bu bezlerde üretilmesi ile başlar. Feromon biyosentezinde rol oynayan önemli enzimler bulunmaktadır. Bunlardan ikisi, 16C ve 18C'lu yağ asitlerinin sentezini gerçekleştiren asetil-CoA karboksilaz ve yağ asiti sentetaz enzimleridir. Diğer enzimler arasında ise tek ve çift doymamış yağ asitlerinin sentezinde rol oynayan özel desaturazlar, istenilen uzunlukta yağ asiti elde etmek için zincir kısaltıcı enzimler, özel türlerin feromonlarının fonksiyonel gruplarını oluşturan redüktaz, asetiltransferaz ve oksidazlar bulunmaktadır (46). İki farklı güve türü *Cadra cautella* (Walker) ve *Spodoptera exigua* (Hubner) 'da, iki adet çift bağ içeren bir feromon olan (Z,E) -9,12-tetradekadienil asetatın biyosentezi incelenmiştir (47). Bu türler birbirini izleyen indirgenme ve asetillenme reaksiyonları ile asetat esteri feromonlarını sentezler (Şekil 7). Onaltı karbonlu yağ asitleri (16C) bu biyosentez yolunda başlatıcı yağ asitleri olarak kullanılır. İlk aşamada  $\Delta 11$  desaturaz enzimi ile 11. karbondan bir çift bağ oluşturularak 16 C'lu yağ asiti esterinden Z11-16C yağ asiti esteri meydana getirilir. Daha sonra zincir kısaltıcı enzim ile bu doymamış yağ asiti esteri 2C kısaltılarak 14C uzunluğunda bir yağ asiti esteri oluşturulur. Böylece çift bağın konumu 9. C'a yer değiştirir. Bu güvelerin feromon bezinde bulunan bir  $\Delta 12$  desaturaz enzimi ile ikinci bir çift bağ oluşarak iki adet çift bağa sahip işlevsel feromon (Z-E) -9,12 tetradekadienil asetat sentezlenir.  $\Delta 12$  desaturaz enzimi bu böceklerde Z9-14:CoA'yı substrat olarak kullanır ve yalnızca feromonların trans (E) izomerini oluşturur. Güve türlerinin bir çoğu farklı feromonların biyosentezinde  $\Delta 12$  desaturaz enziminin dışında  $\Delta 5$ ,  $\Delta 9$ ,  $\Delta 10$ ,  $\Delta 11$ ,  $\Delta 13$  ve  $\Delta 14$  gibi belirli desaturaz enzimlerini de kullanır (39).

## KOKU VE FEROMONU BAĞLAYAN PROTEİNLER (OBP ve PBP)

Kır tırtılı *L. dispar* L.'nin antenlerindeki sensilyum sıvısında çözünür formdaki bazı proteinlerin (10-20 kDa) yüksek konsantrasyonlarda ( $\approx 10$  mM) bulunduğu tespit edilmiştir. Bu proteinler feromon ve koku moleküllerini bağlayabilme yeteneğine sahip olmaları sebebiyle sırasıyla feromon bağlayan (PBP) ve koku bağlayan (OBP) proteinler olarak tanımlanmıştır (48,49). Bu proteinlerin bağlayıcı özelliğe sahip olmaları, aynı zamanda taşıma işlevine sahip olabileceklerini de işaret etmektedir. PBP ve OBP, sensilla'daki porlardan giren kimyasal habercileri bağlayabilir. Bu porlar, havadaki kimyasal habercilerin sensilyum sıvısını içeren bölmedeki reseptörlere ulaşmasını sağlar. Bir kimyasal haberci molekülün GPCR (G proteini ile eşleşen reseptör ailesi) ile etkileşiminin, ikincil habercilerin (cAMP, cGMP ve İnozitol 1,4,5 trifosfat) üretiminden sorumlu biyokimyasal olaylar zincirini başlattığı ve sonuç olarak bir katyon kanalının açılmasına sebep olduğu gösterilmiştir (50). Koku reseptörleri 7 adet transmembran bölgesi olan G-proteini ile eşleşen proteinlerdir (28). Koku molekülü ve koku bağlayan proteinin oluşturduğu kompleksin (Koku-OBP) reseptörle birleşmesi G-proteinini aktifleştirir. Aktifleşen G-proteini fosfolipaz C (PLC) enzimi ile etkileşir. PLC, fosfotidil inozitol bifosfat'ı (PIP2) parçalayarak hücre içi ikincil haberciler olan inozitol trifosfat (IP3) ve diaçilgliserolü (DAG) oluşturur. Böylece seçici olmayan katyon kanallarını harekete geçiren ve sonuçta dendritin depolarizasyonuna sebep olan geçici bir IP3 sinyali oluşur (51) (Şekil 8). IP3 sinyalinin ani bir şekilde sonlanması DAG tarafından aktifleştirilen fosfokinaz C (PKC) enzimi ile gerçekleştirilir. İyon kanalları G-proteinleri aracılığıyla doğrudan koku reseptörüyle (Or) birleşebilir. Kalsiyum ( $Ca^{2+}$ ) ve voltaja bağlı potasyum ( $K^{+}$ ) kanalları dendritin repolarizasyonuna katkıda bulunur (52). Bir cAMP yolu, potasyum kanallarını açar ve böylece dendriti aşırı derecede polarize (hiperpolarizasyon) ederek koku nöronlarında aşırı koku yarattığı inhibisyonun meydana gelmesini sağlar.



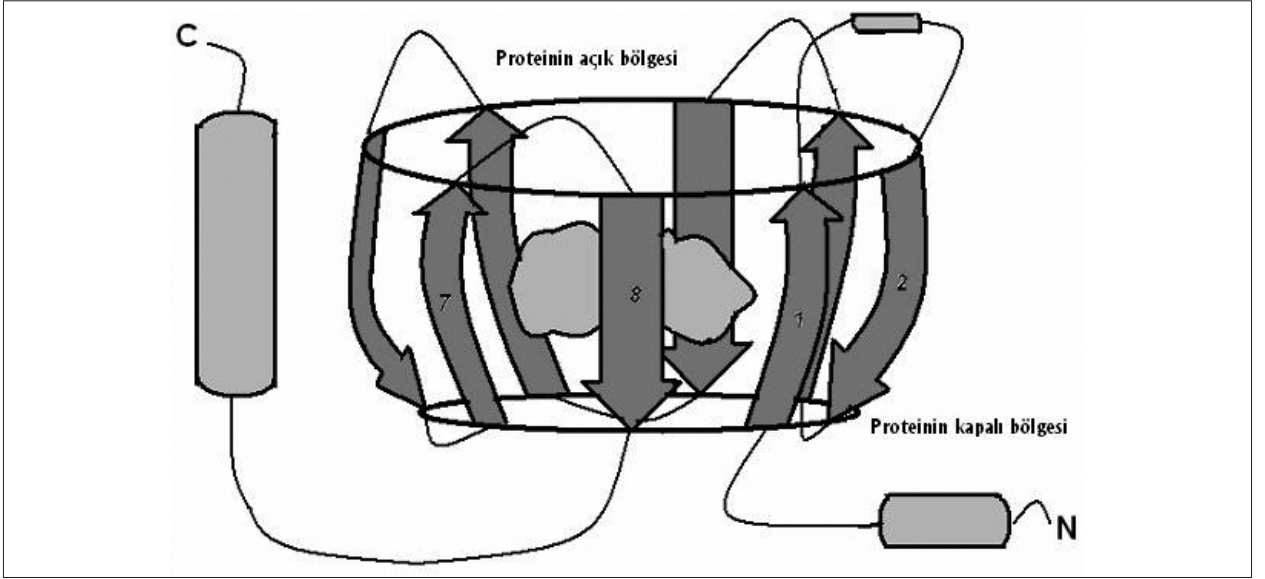
Şekil 7. *C. cautella* ve *S. exigua*'da (Z,E) -9,12 tetradekadienil asetat'ın sentezi (Jurenka, 1997'den alınmıştır).



Şekil 8. Koku molekölünün reseptöre bağlanması ile birlikte bir olfaktör duyu nöronunda meydana gelen sinyal iletimi ve sonlanması (Jacquin-Joly ve Merlin, 2004'den alınmıştır).

Koku-OBP kompleksi muhtemelen reseptör tarafından hızlı bir şekilde okside edilir. Okside edilmiş koku-OBP kompleksi reseptör moleküllerini daha fazla uyarmaz. Sonuçta koku molekölü enzimler tarafından parçalanır. Olfaktör duyu nöronlarının etrafında bulunan destek hücrelerinin sitoplazmasında ksenobiyotikleri inaktive eden bazı enzimler bulunur. Bu enzimlerden en önemlisi bir biyotransformasyon enzimi olan glutatyon *S*-transferazdır (GST) (53). Destek hücrelerinde sentezlenen bu enzimler sensilyumun lümenine salınır. *A. polyhemus* gibi bazı güve türlerinde esterazlar (feromon parçalayan enzim, PDE) ve aldehid oksidazlar olmak üzere koku molekölü parçalayan iki tip enzim vardır. Koku molekölülerinin devamlı olarak uzaklaştırılmasının genel olarak iki sebebi bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, koku molekölülerinin aşırı miktarda depolanacak olurlarsa yanlış sinyal oluşturacaklarından olfaktör sistemin duyarlılığını azaltmalarıdır. Aşırı miktarda koku molekölüleri ile karşılaşıldığında yada uzun süre maruz kaldığında kokuya karşı duyarlılık azalır ve gittikçe ortadan kalkar. Diğer taraftan, bazı kokular toksik olduğundan uzun süre maruz kaldığında zarar verebilir. Bu sebepten dolayı enzimlerce zengin olan olfaktör nöronların dendritlerini saran yapılar, nöronlar ve destek hücreleri, bu koku molekölülerini parçalayarak uzaklaştırabilir. Ksenobiyotikler dört farklı tip enzim ile daha polar maddelere dönüştürülür. İlk basamak, bir sitokrom P450 aracılığı ile meydana getirilen hidroksilasyon veya epoksidasyon reaksiyonlarıdır. Daha sonra epoksid hidrolaz, GST ve UDP-glukoz transferaz enzimleri, oluşan bu oksidasyon ürününü ileri düzeyde değiştirir (54). Tütün kurdu *Manduca sexta* L.'nin antenlerinde bulunduğu tespit edilen GST enziminin iki yönlü görevinin olduğu tespit edilmiştir. Bu enzim, olfaktör dokulara tutunan ksenobiyotikleri detoksifiye ederken ayrıca, aldehid yapısındaki cinsiyet feromonunu konjuge ederek bu feromonun etkisinin sonlanmasına da aracılık etmektedir (55).

Moleküler klonlama çalışmaları, omurgalılarda OBP'in vücut sıvılarındaki küçük lipofilik moleküller için taşıyıcı görevini gören ve "lipokalin" adı verilen protein ailesine ait olduğunu ortaya koymuştur (56). Koku bağlayan bu proteinler, böceklerin OBP'leri ile işlevsel benzerlik göstermekte olup enkapsulinler olarak isimlendirilir. Bu proteinler hücre dışında bulunan küçük proteinlerdir (57). Bunlar küçük hidrofobik moleküllere ve hücre yüzeyindeki özel proteinlere bağlanabilir ve çözünür makromoleküller ile kompleks oluşturabilir. Bu proteinler retinol taşınması, koku molekölünün algılanması, feromon taşınması ve prostaglandin sentezi gibi fizyolojik olaylarda önemli rollere sahiptir. Omurgalılardaki bu proteinler, yapılarındaki 8 adet  $\beta$ -tabakasının antiparalel konumunda birbirlerine hidrojen bağı ile bağlanarak koni şeklinde ( $\beta$ -barrel motif) üç boyutlu bir yapı oluşturmuştur. Bu yapının ortasındaki boşluğa hidrofobik ligandlar bağlanmaktadır (Şekil 9). Böceklerin OBP ve kimyasal duyu proteinleri (CSP)  $\alpha$ -heliks alanları içermekte ve farklı katlanmalar göstermektedir. Amino asit dizisi bakımından da aralarında benzerlik bulunmamaktadır. OBP'ler genellikle türler arasında ve aynı tür içinde bile bazı durumlarda % 8 gibi çok düşük oranda bir benzerlik gösterebilmektedir. Bunun tersine, filogenetik olarak birbirine yakın olmayan türlerde dahi CSP'ler % 50 ve daha fazla oranda amino asit benzerliği taşımaktadır. Farklı türlerden izole edilen PBP'lerin ise amino asit dizisi bakımından oldukça değişken olduğu, aralarında ancak % 32-77 oranında benzerlik bulunduğu tespit edilmiştir. PBP'ler çoğunlukla erkek bireylerin feromona özgü duyu nöronlarında bulunur. OBP'ler ise genel kokulara tepki veren olfaktör nöronlarla ilişkili olarak her iki eşeyde de mevcuttur. Bir türde gen duplikasyonu ürünleri olarak farklı OBP'lerin bulunması bir sensilyuma ulaşan çok çeşitli koku molekölülerinin OBP'lere seçici bir şekilde bağlanabildiğini açıkça göstermektedir. Omurgalılar ve böceklerdeki OBP'lerin



Şekil 9. Koku bağlayan bir proteinin şematik yapısı. Sekiz β-tabakasından oluşan fıçı (β-barrel motif) yapısı ve hidrofobik küçük bileşikleri bağlayan boşluk (Breer, 2003'den değiştirilerek çizilmiştir).

amino asit dizilişi bakımından oldukça farklı olduğu bilinmektedir. Genom çalışmaları, böcek türleri arasında koku reseptörü (Or) genlerine ait nükleotid dizilerinin de oldukça düşük oranda benzerlik gösterdiğini, böcekler ile omurgalılar arasında da koku reseptörü genleri bakımından önemli bir benzerlik bulunmadığını ortaya çıkarmıştır (2).

Haberci molekülün reseptör ile doğrudan etkileşip etkileşmediği yada reseptörü uyaran taşıyıcı-haberci protein kompleksinin oluşup oluşmadığı henüz bilinmemektedir. Dizi analizi tamamlanan organizmaların genomlarında OBP veya PBP'nin farklı nükleotid dizilerine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu diziler *D. melanogaster*'de 38, *Anopheles gambiae*'de 29 kopya halinde tekrarlanmıştır. *Lush* genine sahip olmayan *Drosophila* mutantlarının koku alma davranışında özel bazı kusurlar saptanmıştır (58,59). Bu genin ürünü olan *Lush* proteini enzim olarak işlev görmeyen bir protein olup kısa zincirli n-alkoller bağlama özelliğine sahiptir. Thr57, Ser52, ve Thr48 konumundaki amino asitler, protein ve alkol arasında hidrojen bağı oluşturarak alkol bağlama ilgisini arttıran yapısal bir motif meydana getirir (59). Böceklerin koku moleküllerini bağlayan proteinleri, duyu sensilyumlarında bulunan küçük molekül ağırlığına sahip çeşitli proteinlerden oluşan büyük bir aileden oluşmaktadır. *Drosophila* genomu, bu ailenin en az 32 üyesini içermekte olup bu sayı, bu türdeki koku reseptörü sayısına eşittir. İncelenen 62 tür içerisinde *Drosophila*'da bu dizi tekrarının oldukça yüksek olması şaşırtıcıdır. PBP ve OBP, 120-150 amino asit içeren proteinler olup, üç disülfür bağı oluşturan ve benzer konumda bulunan 6 adet sistein amino asitine sahiptir (60) (Şekil 10). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, OBP ve PBP'nin kimyasal habercilerin algılanması, ligandların ayırt edilmesi ve muhtemelen reseptörlerin uyarılmasında önemli bir role sahip olduklarını ileri sürmüştür.

Ateş karıncası *Solenopsis invicta* (Buren) kolonilerindeki sosyal polimorfizm, PBP'yi kodlayan *Gp9* geninin iki allelinden birinin bulunmasına bağlıdır (61). Daha önce vurgulandığı gibi, mutasyona uğramış *Lush* geni içeren *Drosophila*'ların OBP'yi sentezleyemediklerinden dolayı kısa zincirli alkollere karşı duyarlılıkları artmaktadır. Bağlayıcı proteinlerin üçüncü sınıfı olan kimyasal duyu proteinleri (CSP) (62) birçok böcek türünün duyu organlarından izole edilen ve her ortamda çözünebilen küçük moleküllerdir. OBP ve PBP ile karşılaştırıldığında CSP daha geniş bir doku yayılışına sahiptir. CSP daha kısa olup iki adet disülfür bağı oluşturan 4 sistein amino asitine sahiptir. CSP'nin bu özelliğiyle, üç disülfür bağı içeren OBP ve PBP ailesiyle evrimsel olarak yakın ilişkili olmadığı görülmektedir (63).

## PROTEİNLERİN MOLEKÜLER YAPILARI ve BAĞLANMA ÖZELLİKLERİ

İlk tanımlanan feromon, ipek böceği *B. mori*'nin bombikol [(E,Z) -10-12 hexadekadien-1-ol] olarak isimlendirilen eşey feromonudur. Bu feromon erkek bireylerin kanat çırpması, yürümesi ve kanatları üzerinde dönmesi gibi cinsel cazibe davranışlarını tek başına uyatabilmektedir (64). Bombikolün bu uyarıcı davranışları ancak bombikal ile birlikte bulduklarında önlenir. Bombikal, bombikolün reseptör ile etkileşimi için gerekli eşik konsantrasyonunu 1000 katına kadar çıkararak reseptör düzeyinde bombikolün etkisini önleyebilir. Her bir güve türünün 3 yada 4 feromondan oluşan özel bir karışıma sahip olduğu, aynı türde farklı feromon bağlayan proteinlerin tespit edilmesi ile anlaşılmıştır (65). Kristal yapısı ortaya çıkarılan ilk feromon bağlayan protein, ipek böceği *B. mori*'nin feromon bağlayan proteini (BmorPBP) (66). Bu protein bombikol feromonu ile



(a)

1	50
<b>DmelOBP</b> ..MTMEQFLT SLDM.RSG <b>C</b> APKFKLKT... EDLDRLRVG DFNFPSSQDL	
<b>BmorPBP</b> SQEVMKNLSL NFGKA.LDE <b>C</b> KKEMTLTDAI NEDFYNFWKE GYEIK .NRET	
51	100
<b>DmelOBP</b> MC <b>Y</b> TK <b>C</b> VSLMAGTVNKKGEF NAPKALA .QL PHLVP.PEMM EMSRK .SVEA	
<b>BmorPBP</b> GC <b>A</b> IM <b>C</b> LSTK LNMLDPEGNL HHGNAMEFAK KHGAD.ETMA QQLID. IVHG	
101	148
<b>DmelOBP</b> <b>C</b> R .DTHKQFK ES <b>C</b> ERVYQTA <b>K</b> CFSENADGQ FMWP.....	
<b>BmorPBP</b> <b>C</b> E .KSTPAND DK <b>C</b> IWTLGVA <b>T</b> CFKAEIH .K LNWAPSMDVA VGEILAEV	

(b)

1	50
<b>MbraCSP</b> EDKYTDKYDN INLDEILANK RLLVAYV <b>N</b> C <b>V</b> MER <b>G</b> K <b>C</b> SP <b>E</b> G ELKEHLQDA	
51	100
IENG <b>C</b> KK <b>C</b> TE NQEKGAYRVI EHLIKNEIEI WRELTAKYDP TGNWRKKYED	
101	112
RAKAAGWIP EE	

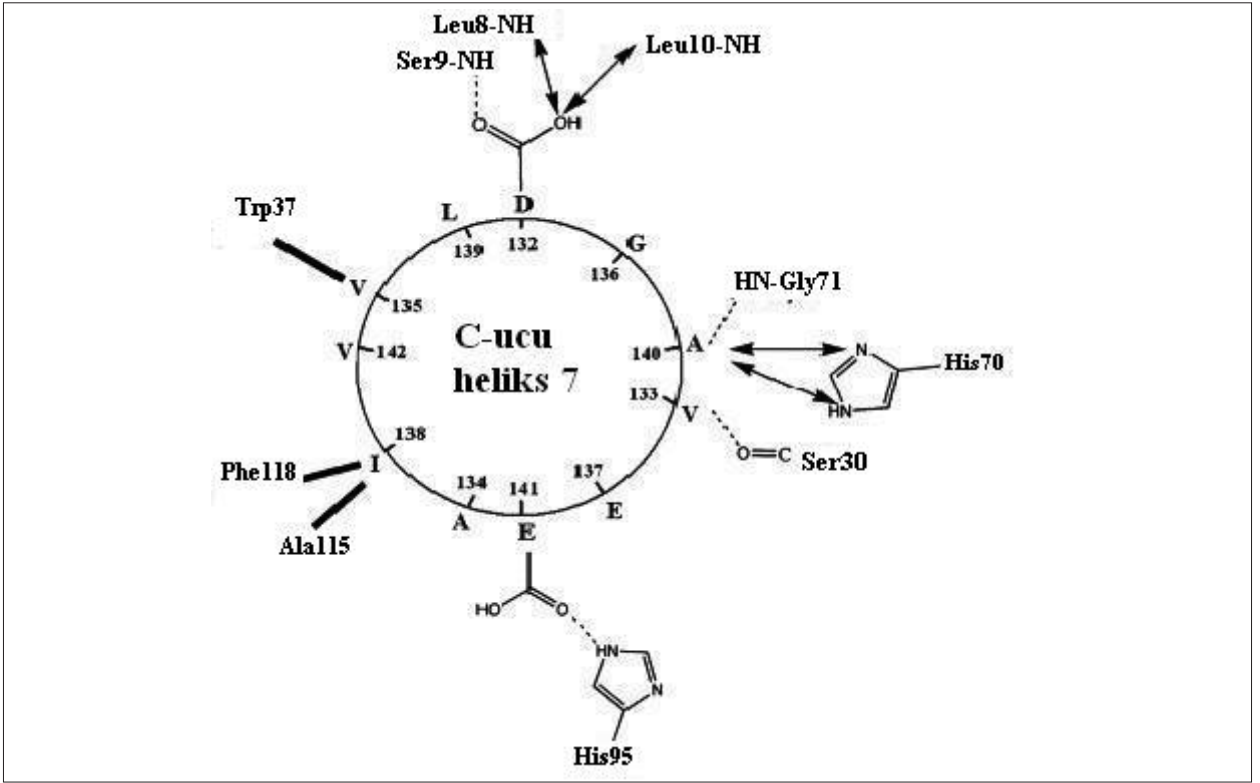
**Şekil 10.** Böceklerdeki 3 boyutlu yapıları bilinen feromon bağlayan protein (PBP), koku bağlayan protein (OBP) ve kimyasal duyu proteininin (CSP) amino asit dizisi. (a) DmelOBP: *D. melanogaster* koku bağlayan proteini ve BmorPBP: *B. mori* feromon bağlayan proteini, Lush. Bu iki proteinin benzer yönü aynı konumda 6 sistein amino asiti içermesidir. Bu iki protein böceklerin farklı sınıflarına ait olduğu için, amino asit dizilişi bakımından benzerlik oldukça düşüktür. (b) MbraCSP: *Mamestra brassicae* kimyasal duyu proteini (CSP-A6). PBP ve OBP'nin tersine CSP'lerde dört sistein amino asiti bulunmaktadır. Proteinlerde benzer konumda bulunan sistein amino asitleri koyu olarak belirtilmiştir (Tegoni et al., 2004'den alınmıştır).

birleşmiş olarak izole edilmiş olup 4 tanesi antiparalel dizilmiş ( $\alpha$  1,  $\alpha$  4,  $\alpha$  5 ve  $\alpha$  6) 6 tane  $\alpha$  heliksten oluşmuştur. Bu yapı, feromonu barındıran konik bir boşluğu oluşturur. Heliks-3, iki adet disülfür bağı içermektedir (cis19 – cis 54 ve cis 50–cis 109). Bu disülfür bağlarının heliks-3'ü, heliks-1 ve -6'ya bağlayarak oluşturdukları yapı, feromonu barındıran koninin tabanını oluşturur. Üçüncü disülfür bağı (cis 97–cis 117) ise heliks-6 ve -5'i birbirine yakınlştırarak bu yapıyı daha kararlı bir duruma getirir (67,68).

Bombikol çengel şeklinde yapıya sahip olup BmorPBP'nin bağlayıcı boşluğunun duvarını kaplayan amino asitlerin düz yan zincirleri ile etkileşir. Bombikol, bağlayıcı proteindeki boşluğun girişine yakın bulunan 56. serin köküne hidrojen bağıyla bağlanır (69). Her ne kadar proteindeki bu boşluk dar bir kanal aracılığı ile ortama açılrsa da  $\alpha$  heliks-3 ve  $\alpha$ -4 ile birleşen 60. ve 69. amino asitler arasında oluşan halka yapısının hareketinin bu boşluğun dışarı olan açılımını genişletebileceği ve bombikolü serbest bırakabileceği ileri sürülmüştür. Asit ve nötral pH'da serbest proteinlerin NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) yöntemi ile yapıları detaylı olarak ortaya çıkarılmıştır. Nötral pH'da bu proteinlerin yapısında oluşan en önemli farklılık, C ucundaki (karboksil grubunun bulunduğu uç) heliks-2 ve -3 arasında oluşan halka yapısındaki düzensizliğin artmasıdır. Asit pH'da ise (pH: 4.5) N ucundaki (amino grubunun bulunduğu uç) heliks-1'in yapısı bozulur ve C ucundaki 131. ve 142. kökler arasında bulunan amino asitlerin dizisi primer yapıdan,  $\alpha$ -heliks yapısında 7. bir helikse dönüşür.

Heliks-7, bombikolü bağlayan boşluğa doğru yönelir. C ucundaki bu yapısal değişikliğin ligandın reseptör zarına doğru yaklaşmasını sağlayan etkili bir mekanizma olduğu ileri sürülür. Heliks-7 üç adet asidik amino asit dışında (D132, E137 ve E141) çoğunlukla polar olmayan amino asitleri içerir (70). Bu üç asidik amino asit heliksin bir yüzeyinde bulunarak helikse amfipatik özellik kazandırır. Bu yapı reseptörden feromonun salınması ile ilişkili olarak proteinde konformasyonel bir değişimin oluşmasında önemli rol oynar (Şekil 11). Heliks-7 bağlayıcı boşluktaki Leu8, Ser9, Leu10, Ser30, Trp37, His70, Gly71, Ile91, His95, Ala115 ve Phe118 amino asit kökleri ile kararlı etkileşimler yapar. Heliksin özellikle His70 ve His95 ile etkileşimi, feromonun bağlayıcı boşluğa ulaşımını sağlar. Ancak asidik pH'da, bombikolün kendisini bağlayan proteindeki bu değişen yapıya olan ilgisi henüz tam olarak açıklanamamıştır (66). BmorPBP'de olduğu gibi ortamın pH değerine bağlı olarak gerçekleşen değişikliklerin PBP'lerin hepsi için geçerli olması beklenmemektedir.

*Antheraea polyphemus*'un feromon bağlayan proteini ApolPBP1, ikincil ve üçüncül yapı bakımından BmorPBP proteinine benzer. ApolPBP, 5 histidin amino asidi içermekte olup asidik pH'daki yapısı henüz bilinmemektedir. Bir hamamböceği türü *Leucophea maderae* (LmadPBP), bal arısı *Apis mellifera* L. (Amel-ASP1) ve meyve sineği *D. melanogaster*'in koku (Lush proteini), feromon ve alkol bağlayan proteinleri BmorPBP den oldukça farklılık gösterir. Lush proteini yalnızca iki histidin, Amel-ASP1 ise bir histidin bulundururken LmadPBP hiç histidin



Şekil. 11. Heliks-7'nin yapısı ve proteinin bağlayıcı boşluğundaki amino asit kökleri ile etkileşimi (Lautenschlager et al., 2005'den alınmıştır).

bulundurmaz. Memelilerin retinol bağlayıcı proteinlerinde olduğu gibi böceklerin bu proteinlerinde bulunan histidin amino asidinin protonlanması yada protonlarını kaybetmesi ile meydana gelen pH değişiminin ligandın zara doğru olan hareketini uyardığı ileri sürülmüştür (71).

Lahana güvesi *M. brassicae*'nin antenlerinde bulunan kimyasal duyu proteini, MbraCSP'nin yapısı, 6 adet alfa-heliksten ( $\alpha$ -1- $\alpha$ -6) oluşmakla beraber, PBP ve OBP'nin yapısından farklı olarak yeni bir katlanma gösterir. Helikslerden  $\alpha$ -1- $\alpha$ -2 ile  $\alpha$ -4- $\alpha$ -5 "V" şeklinde yapılar oluştururlar. Bu yapılar birbirinden 12 Å mesafe ile ayrılan 2 paralel düzlemden oluşur. Heliks-3 bu iki düzleme diktir ve V yapılarının dört ucunun arasında yerleşmiştir. Heliks-6 V düzlemine paraleldir ve protein merkezinin dışında  $\alpha$ -4- $\alpha$ -5'den oluşan yapıya sarılmıştır. Helikslerden  $\alpha$ -1 ve  $\alpha$ -4 iki V şeklindeki kanalın arasında 14 Å'lık dar hidrofobik bir kanal oluşturur. Proteinin doğal yapısında, bu kanalı yan yana yerleşmiş altı adet su molekülü doldurur. Bunlardan en altta bulunan su molekülleri, kanalın tabanını oluşturan 26. tirozin kökünün yan zincirine bağlanmıştır (63,72). Modelleme çalışmaları, bu kanalın şeklinin yağ asitleri yada yağ alkolleri gibi uzun alkil zincirlerine sahip ligandları bağlayabilmek için uygun olduğunu göstermiştir.

Benzer katlanmaya sahip olmalarına rağmen, OBP ve PBP grubu proteinler,  $\alpha$ -helikslerin uzunluğu, konumu, yönelimi ve karboksil (-COOH) ucu bakımından önemli yapısal farklılıklar gösterir. Bu yapısal farklılıklar

sensillar sıvının ulaşımı için şekil, konum ve boyut olarak çeşitli boşluklar oluşturur. Proteinlerdeki bağlayıcı boşlukların çeşitli olması iç bölgelerindeki amino asitlerin farklı olmalarından kaynaklanır. PBP ve OBP'nin yapısındaki ilk iki disülfür bağının konumları korunmuştur, fakat üçüncüsü çok fazla değişiklik göstermektedir. Disülfür bağları proteinler üzerinde yapısal bir baskıya sebep olur, bu yüzden farklı ligandların bağlanması çoğunlukla boşluğun iç yüzeyini döşeyen amino asitlerin yan zincirlerinin hareketiyle sağlanır. BmorPBP'de gözlemlendiği gibi büyük hareketler proteinin yalnızca disülfür bağının bulunmadığı karboksil ucunda meydana gelebilir. BmorPBP'ne bağlı feromon heliks-7'nin bulunduğu bölgeden pH'a bağlı bir mekanizma ile serbest bırakıldığı ileri sürülmektedir. Bu mekanizma muhtemelen uzun zincirli (C14-C16) hidrofobik alkil feromonlarını bağlayan proteinlere (PBP) sahip olan Lepidoptera takımına ait diğer güve türleri için de geçerlidir. Ancak bu mekanizma diğer böcek gruplarının feromon bağlayan proteinleri için doğrudan geçerli değildir. BmorPBP ile karşılaştırıldığında *L. dispar*'ın feromon bağlayan proteini (LmaPBP), *D. melanogaster*'in koku bağlayan proteini (DmelOBP) ve *A. mellifera*'nın feromon bağlayan proteini (AmelPBP) daha kısa karboksil ucu bölgelerine sahiptir (73,74). Bu farklılıktan dolayı reseptöre koku yada feromon molekülünün farklı bir mekanizma ile bağlanabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Feromonların kimyasal yapıları, proteinlerde farklı yapısal değişimlere sebep olabilir. Eğer ligand hidrofobik

ise proteinden ayrılması yüksek miktarda enerji gerektirir (75). Son zamanlarda, *A. polyphemus* ve *B. mori* sensilyumları üzerindeki elektrofizyolojik çalışmalar, ApolPBP ve BmorPBP'lerin koku reseptörlerinin aktifleştirilmesine ve bu aktifleştirme işleminin bir reseptör, bir feromon bağlayıcı protein ve feromondan oluşan üçlü özel komplekse bağlı olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak bu proteinlerin pasif bir taşıyıcı rolünden çok, aktif bir reseptör uyarıcısı gibi işleve sahip oldukları da görülmektedir.

Feromon-PBP kompleksinin reseptöre yönelmesini sağlayan SNMP proteini, CD36 olarak adlandırılan bir zar proteini ailesinin üyesidir. Hücre gelişimini sağlayan proteinleri içine alan bu protein ailesi omurgalılarda da bulunur. Örneğin insan, sığır, siçan, kedi gibi omurgalılarda, CD36 proteini monosit, makrofaj, eritroblast, adiposit gibi hücrelerin zarlarında bulunmakta olup hücre adezyonu, apoptotik hücrelerin fagositozu ve sinyal iletimi gibi fizyolojik olaylarda rol oynamaktadır (76). SNMP'ler tek hücreli ökaryotik canlılardan meyve sineğine, fareden insana kadar amino asit dizilişi bakımın-

dan benzerlik göstermektedir (Tablo 2). Bunların ortak özelliği protein yapısındaki ligandları bağlamalarıdır. Bu grup proteinler hücre zarını iki defa geçen bir bölge ile büyük bir hücre dışı alana sahiptir. Bu bölgeler hücre zarı ile etkileşecek olan hücre dışındaki protein moleküllerinin zara yaklaşmalarını sağlar. SNMP, *A. polyphemus*'un olfaktör duyu nöronu zarında fazla miktarda bulunmakta olup reseptör molekülüne feromon-PBP kompleksinin yerleşmesini sağlar (77).

Sonuç olarak, bağlayıcı proteinlerin moleküler yapıları ve fizyolojik rollerinin birkaç böcek türünün yapısal genomundan RNA'larına kadar çeşitli yaklaşımlar kullanılarak araştırıldığı görülmektedir. PBP, OBP ve CSP proteinlerinin yapılarıyla ilgili çalışmalar, bu proteinlerdeki tek bir katlanma yada yapının bilinmesinin değişik koku, feromon ve kimyasal uyarıcı moleküllerin moleküler fizyolojilerinin anlaşılması için yetersiz olduğunu ortaya koymuştur. Bu proteinlerin moleküler yapı ve biyokimyasal fizyolojileri arasındaki ilişkilerin tam olarak ortaya çıkarılması için farklı böcek türleri ile ilgili detaylı moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Tablo 2.** Değişik organizmalardaki CD36 zar proteini ailesinin üyeleri.

Protein	Organizma	Bulunduğu yer	Görevi
CD36	İnsan, sığır, siçan, kedi, köpek	Monosit, makrofaj, eritroblast, adiposit, endotelial hücreler, myokardial dokular, retina ve meme bezi epiteli	Hücre adezyonu, apoptotik hücrelerin fagositozu, sinyal iletimi, yağ asiti taşıyıcısı, lipoprotein reseptörü
SR-BI	Fare, hamster	Akciğer, karaciğer, ovaryum, adrenal bez	Lipoprotein reseptörü
LIMP II	İnsan, siçan	Lizozomal zarlar, karaciğer	Hücre adezyonu
EMP	Meyve sineği	Embriyonik epitelial hücreler, larval kanatların imaginal diski	Gelişme ile ilgili
DdLIMP	Ameba	Vakuol ve veziküller, hücre yüzeyindeki halka benzeri yapılar	Fosfotidilinositol taşıyıcısı
SNMP-1	İpek böceği	Olfaktör nöron	Koku, feromon algılanması

## Kaynaklar

- [1] Buck LB. (2000) The Molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals. *Cell*, 100, 611-618.
- [2] Breer H. (2003) Olfactory receptors: molecular basis for recognition and discrimination of odors. *Anal. Biochem.* 377, 27-433.
- [3] Büyükgüzel K. (1999) Ökaryotlardaki Transkripsiyon Düzenleyici Proteinler. *Turk J. Biology*, 24, 1-531.
- [4] İçen E., Büyükgüzel K. (2002) Eikosanoitlerin omurgasızlardaki biyokimyasal fizyolojisi. *Turk J. Biochemistry*, 27, 175-186.
- [5] Jurenka RA, Roelofs WL. (1989) Characterization of the acetyltransferase involved in pheromone biosynthesis in moths: specificity for the Z isomer in Tortricidae. *Insect Biochem.* 19, 639-644.
- [6] Breer H. (1994) Signal recognition and chemo-electrical transduction in olfaction. *Biosens. Bioelectron.* 9, 625-632.
- [7] Karlson P, Lüscher M. (1959) "Pheromones" A new term for a class of biologically active substances. *Nature (Lond.)*, 183, 55-56.
- [8] Ali MF, Morgan ED. (1990) Chemical communication in insect communities: a guide of insect pheromones with special emphasis on social insects. *Biol. Rev.* 65, 227-247.
- [9] Keeling CI, Slessor KN, Higo HA, Winston ML. (2003) New components of the honey bee (*Apis mellifera* L.) queen retinue pheromone. *Proc Nat Acad Sci USA*, 100, 4486-4491.
- [10] Kaib M, Jmhasly P, Wilfert L, Durka W, Franke S, Francke W, Leuthold RH, Brandl R. (2004) Cuticular hydrocarbons and aggression in the Termite *Macrotermes subhyalinus*. *J. Chem Ecol.* 30, 365-385.
- [11] Doğaroğlu M. (1993). Bal arılarında hormonlar ve feromonlar. T. Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları. Genel Yayın No. 164. Derleme No: 16. Tekirdağ.
- [12] Byers JA. (1995) Host tree chemistry affecting colonization in bark beetles. *Chemical Ecology of Insects Volume 2* (Derleyen: Cardé R.T., Bell W. J.), s. 154-213, Chapman and Hall, New York.
- [13] Ruther J, Meiners T, Steidle JLM. (2002) Rich in phenomena-lacking in terms. A classification of kairomones. *Chemoecology*, 12, 161-167.
- [14] Burkholder WE, Ma M. (1985) Pheromones for monitoring and control of stored product insects. *Annu.Rev. Entomol.* 30, 257-272.

- [15] Serez M. (1983) Türkiye orman zararlı böceklerinden *Ips sexdentatus* (Börner) savaşında ilk feromon denemeleri. K.T.Ü. Orman Fakültesi Dergisi. 2, 251-256.
- [16] Arthur FH, Highland HA, Mullen MA. (1991) Efficiency and longevity of two commercial sex pheromone lures for Indianmeal moth and almond moth (Lepidoptera: Pyralidae). J. Econ. Entomol. 26, 64-68.
- [17] Tinzaara W, Gold CS, Kagez GH, Dicke M, Van Huis A, Nankinga CM, Tushemereirwe W, Ragama PE. (2005) Effects of two pheromone trap densities against banana weevil, *Cosmopolites sordidus*, populations and their impact on plant damage in Uganda. J. Appl. Entomol. 129, 265-271.
- [18] Kumral NA, Kovanci B, Akbudak B. (2005) Pheromone trap catches of the olive moth, *Prays oleae* (Bern.) (Lep., Plutellidae) in relation to olive phenology and degree-day models. J. Appl. Entomol. 129, 375-381.
- [19] Meinwald J. (1990) Alkaloids and isoprenoids as defensive and signalling agents among insects. Pure Appl. Chem. 62, 1325-1328.
- [20] Vosshall LB. (2000) Olfaction in *Drosophila*. Curr. Opin. Neurobiol. 10, 498-503.
- [21] Kaissling K-E. (1996) Peripheral mechanisms of pheromone reception in moths. Chem. Senses. 21, 257-268.
- [22] Kaissling KE. (2004) Physiology of the pheromone reception in insects (an example of moths). Anie-Avnp, 62, 73-91.
- [23] Graham LA, Davies PL. (2002) The odorant-binding proteins of *Drosophila melanogaster*: annotation and characterization of a divergent gene family. Gene. 292, 43-55.
- [24] Kaissling KE. (2001). Olfactory perireceptor and receptor events in moths: A kinetic model. Chem. Senses, 26, 125-150.
- [25] Bette S, Breer H, Krieger J. (2002) Probing a pheromone binding protein of the silkmoth *Antheraea polyphemus* by endogenous tryptophan fluorescence. Insect Biochem. Molec. 32, 241-246.
- [26] Jacquin-Joly E. and Merlin C. (2004) Insect olfactory receptors: Contributions of molecular biology to chemical ecology. J. Chem. Ecol. 30, 2359-2397.
- [27] Plettner E, Lazar J, Prestwich EG, Prestwich GD. (2000) Discrimination of pheromone enantiomers by two pheromone binding proteins from the gypsy moth *Lymantria dispar*. Biochemistry, 39, 8953-8962.
- [28] Hill CA, Fox AN, Pitts RJ, Kent LB, Tan PL, Chrystal MA, Cravchik A, Collins FH, Robertson HM, Zwiebel LJ. (2002) G protein-coupled receptors in *Anopheles gambiae*. Science. 298, 176-178.
- [29] Steinbrecht RA, Ozaki M, and Ziegelberger G. (1992) Immunocytochemical localization of pheromone-binding protein in moth antennae. Cell Tissue Res. 270, 287-302.
- [30] Rule GS, Roelofs WL. (1989) Biosynthesis of sex pheromone components from linolenic acid in arctiid moths. Arch. Insect Biochem. Physiol. 12, 89-97.
- [31] Blomquist GJ, Borgeson CE, Vundla M. (1991) Polyunsaturated fatty acids and eicosanoids in insects. Insect Biochem. 21, 99-106.
- [32] Charlton RE, Roelofs WL. (1991) Biosynthesis of a volatile, methyl-branched hydrocarbon sex pheromone from leucine by arctiid moths (*Holomelina* spp.). Arch. Insect Biochem. Physiol. 18, 81-97.
- [33] Hendry LB, Piatek B, Browne LE, Wood DL, Byers JA, Fish RH, Hicks RA. (1980) In vivo conversion of a labelled host plant chemical to pheromones of the bark beetle *Ips paraconfusus*. Nature, 284, 485-487.
- [34] Tillman JA, Seybold SJ, Jurenka Russell A, Blomquist GJ. (1999) Insect pheromones-an overview of biosynthesis and endocrine regulation. Insect Biochem. Molec. Biol. 29, 481-514.
- [35] Choi MY, Groot A, Jurenka RA. (2005) Pheromone biosynthetic pathways in the moths *Heliothis subflexa* and *Heliothis virescens*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 59, 53-58.
- [36] Büyükgüzel K, Tunaz H, Putnam SM and Stanley DW. (2002) Prostaglandin biosynthesis by midgut tissue isolated from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, Insect Biochem. Molec. Biol. 32, 435-443.
- [37] Schal C, Holbrook GL, Bachmann JAS, Seva VL. (1997a) Reproductive biology of the German cockroach, *Blattella germanica*. Juvenile hormone as a pleiotropic master regulator. Arch. Insect Biochem. Physiol. 35, 405-426.
- [38] Blomquist GJ, Dillwith JW, Adams TS. (1987) Biosynthesis and endocrine regulation of sex pheromone production in Diptera. Pheromone Biochemistry. (Derleyen: Blomquist G.J., Prestwich G.D.), s. 217-250, Academic Press, Orlando, Florida.
- [39] Raina AK, Jaffe H, Klun JA, Ridgway RL, Hayes DK. (1987) Characteristics of a neurohormone that controls sex pheromone production in *Heliothis zea*. J. Insect Physiol. 33, 809-814.
- [40] Roelofs WL and Jurenka RA. (1997) Interaction of PBAN with biosynthetic enzymes. Insect Pheromone Research: New Directions. (Derleyen: Carde R.T., Minsk A.K.), s. 42-45, Chapman and Hall, New York.
- [41] Raina AK, Jaffe H, Kepme TG, Keim P, Blacher RW, Fales HM, Riley CT, Klun JA, Ridgway RL, Hayes DK. (1989). Identification of a neuropeptide hormone that regulates sex pheromone production in female moth, Science, 244, 796-798.
- [42] Jurenka RA, Jacquin E, Roelofs WL. (1991) Stimulation of sex pheromone biosynthesis in the moth *Helicoverpa zea*: Action of a brain hormone on pheromone glands involves Ca<sup>2+</sup> and cAMP as second messengers. Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A. 88, 8621-8625.
- [43] Percy-Cunningham JE, MacDonald JA. (1987) Biology and ultrastructure of sex pheromone-producing glands. Pheromone Biochemistry (Derleyen: Blomquist G.J., Prestwich G.D.), s. 27-75, Academic Press, Orlando, Florida.
- [44] Fukuzawa M, Fu X, Tatsuki S, Ishikawa Y. (2006) cDNA cloning and in situ hybridization of  $\Delta 11$  -desaturase, a key enzyme of pheromone biosynthesis in *Ostrinia scapularis* (Lepidoptera: Crambidae). J. Insect Physiol. 52, 125-130.
- [45] Bjostad LB, Roelofs WL. (1981) Sex pheromone biosynthesis from radiolabeled fatty acids in the redbanded leafroller moth. J. Biol. Chem. 256, 7936-7940.
- [46] Blomquist GJ, Vogt RG. (2003) Biosynthesis and detection of pheromones and plant volatiles-introduction and overview. Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology (Derleyen: Blomquist G.J., Vogt R.G.), s. 3-18, Elsevier Academic Press, London.
- [47] Jurenka RA. (1997). Biosynthetic pathway for producing the sex pheromone component (Z,E) -9,12-tetradecadienyl acetate in moths involves a  $\Delta 12$  desaturase. Cell. Mol. Life Sci. 53, 501-505.
- [48] Campanacci V, Mosbah A, Bornet O, Wechselberger R, Jacquin-Joly E, Cambillau C, Darbon H, Tegoni M. (2001a) Chemosensory protein from the moth *Mamestra brassicae*: Expression and secondary structure from 1H and 15N NMR. Eur. J. Biochem. 268, 4731-4739.
- [49] Campanacci V, Krieger J, Bette S, Sturgis JN, Lartigue A, Cambillau C, Breer H, Tegoni M. (2001b) Revisiting the Specificity of *Mamestra brassicae* and *Antheraea polyphemus* Pheromone-binding Proteins with a Fluorescence Binding Assay. J. Biol. Chem. 276, 20078-20084.
- [50] Krieger J, Breer H. (2003) Transduction mechanisms of olfactory sensory neurons. Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology (Derleyen: Blomquist G. J., Vogt R. G.), s. 593-607, Elsevier Academic Press, London.

- [51] Fadool DA, Ache BW. (1992) Plasma membran inositol 1, 4, 5-triphosphate-activated channels mediate signal transduction in lobster receptor neurons. *Neuron*. 9, 907-918.
- [52] Zufall F, Hatt H, Keil TA. (1991) A calcium-activated nonspecific cation channel from olfactory receptor neurons of the silkmoth *Anthera polyphemus*. *J. Exp. Biol.* 161, 455-468.
- [53] Vogt RG, Riddiford LM. (1981) Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*. 293, 161-163.
- [54] Graham SM, Prestwich GD. (1994) Synthesis and inhibitory properties of pheromone analogs for the epoxide hydrolase of the gypsy moth. *J. Org. Chem.* 59, 2956-2966.
- [55] Rogers ME, Jani MK, Vogt RG. (1999) An Olfactory-specific glutathione-S-transferase in the sphinx moth *Manduca sexta*. *J. Experimental Biol.* 202, 1625-1637.
- [56] Darren RF. (1996) The lipocalin protein family: structure and function. *Biochemical J.* 318, 1-14.
- [57] Vogt RG. (2005) Molecular basis of pheromone detection in insects. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology, Volume 3. Endocrinology* (Derleyen: Gilbert L.I K., Gill I. S.), s. 753-804. Elsevier, London.
- [58] Kim MS, Smith DP. (2001) The invertebrate odorant-binding protein LUSH is required for normal olfactory behavior in *Drosophila*. *Chem. Senses*. 26, 195-199.
- [59] Kruse SW, Zhao R, Smith DP, Jones DNM. (2003) Structure of a specific alcohol-binding site defined by the odorant binding protein LUSH from *Drosophila melanogaster*. *Nat. Struct. Biol.* 10, 694-700.
- [60] Ban L, Scaloni A, Brandazza A, Angeli S, Zhang L, Yan Y, Pelosi P. (2003) Chemosensory proteins of *Locusta migratoria*. *Insect Molec.* 12, 125-134.
- [61] Krieger MJ, Ross KG. (2002) Identification of a major gene regulating complex social behavior. *Science*. 295, 328-332.
- [62] Tegoni M, Campanacci V, and Cambillau C. (2004) Structural aspects of sexual attraction and chemical communication in insects. *Trends in Biochem. Sci.* 29, 257-264.
- [63] Mosbach A, Campanacci V, Lartigue A, Tegoni M, Cambillau C, Darbon H. (2003) Solution structure of a chemosensory protein from the moth *Mamestra brassicae*. *Biochem. J.* 369, 39-44.
- [64] Kramer DL. (1986) Turbulent diffusion and pheromone triggered anemotaxis. *Mechanisms In Insect Olfactions* (Derleyen: Payne T. L., Birch M. C., Kennedy C. E. J.), s. 58-67, Oxfords Univ. Pres, Oxfords.
- [65] Maida R, Krieger J, Gebauer T, Lange U, Ziegelberger G. (2000) Three pheromone-binding proteins in olfactory sensilla of the two silkmoth species *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi*. *Eur. J. Biochem.* 267, 2899-2908.
- [66] Lee D, Damberger FF, Peng G, Horst R, Güntert P, Nikonova L, Leal WS, Würthrich K. (2002) NMR structure of the unliganded *Bombyx mori* pheromone-binding protein at physiological pH. *FEBS Lett.* 531, 314-318.
- [67] Lartigue A, Gruez A, Spinelli S, Rivière S, Brossut R, Tegoni M, Cambillau C. (2003) The crystal structure of a cockroach pheromone-binding protein suggests a new ligand binding and release mechanism. *J. Biol. Chem.* 278, 30213-30218.
- [68] Lartigue A, Gruez A, Briand L, Blon F, Bézirard V, Walsh M, Pernollet JC, Tegoni M, Cambillau C. (2004) Sulfur Single-wavelength Anomalous Diffraction Crystal Structure of a Pheromone-Binding Protein from the Honeybee *Apis mellifera* L. *J. Biol. Chem.* 279, 4459-4464.
- [69] Sandler BH, Nikonova L, Leal WS, Clardy J. (2000) Sexual attraction in the silkworm moth: structure of the pheromone-binding-protein-bombykol complex. *Chem. Biol.* 7, 143-151.
- [70] Lautenschlager C, Leal WS, Clardy J. (2005) Coil-to-helix transition and ligand release of *Bombyx mori* pheromone-binding protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 335, 1044-1050.
- [71] Noy N. (2000) Retinoid-binding proteins: mediators of retinoid action. *Biochem. J.* 348, 481-495.
- [72] Campanacci V, Lartigue A, Hällberg BM, Jones TA, Giudici-orticoni M-T, Tegoni M, Cambillau C. (2003) Moth chemosensory protein exhibits drastic conformational changes and cooperativity on ligand binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100, 5069-5074.
- [73] Briand L, Nespoulous C, Huet JC, Takahashi M, Pernollet JC. (2001) Ligand binding and physico-chemical properties of ASP2, a recombinant odorant-binding protein from honeybee (*Apis mellifera* L.). *Eur. J. Biochem.* 268, 752-760.
- [74] Briand L, Swasdipan N, Nespoulous C, Bezirard V, Blon F, Huet J-C, Ebert P, Pernollet J-C. (2002) Characterization of a chemosensory protein (ASP3c) from honeybee (*Apis mellifera* L.) as a brood pheromone carrier. *Eur. J. Biochem.* 269, 4586-4596.
- [75] Horst R, Damberger F, Luginbühl P, Peng G, Nikonova L, Leal WS, Würthrich K. (2001) NMR structure reveals intramolecular regulation mechanism for pheromone binding and release. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98, 14374-14379.
- [76] Rogers ME, Krieger J, Vogt RG. (2001) Antennal SNMPs (Sensory Neuron Membrane Proteins) of Lepidoptera define a unique family of invertebrate CD36-like proteins. *J Neurobiol* 49, 47-61.
- [77] Rogers ME, Steinbrecht RA, Vogt RG. (2001) Expression of SNMP-1 in olfactory neurons and sensilla of male and female antennae of the silkmoth *Antheraea polyphemus*. *Cell Tissue Res.* 303, 433-446.