

STRESZCZENIE

Interakcje gospodarz–patogen odgrywają kluczową rolę w zrozumieniu dynamiki układu odpornościowego owadów. Analiza środowiskowych modulatorów, zarówno biotycznych, jak i abiotycznych, ukierunkowuje naszą uwagę na wpływ otoczenia na skuteczność reakcji odpornościowych. Wiedza ta jest niezbędna do zrozumienia pełnego przebiegu reakcji odpornościowej owadów aktywowanej po zakażeniu patogenem. Niniejsza praca omawia mechanizmy odpornościowe owadów, ze szczególnym uwzględnieniem barciaka większego *Galleria mellonella* i zwraca uwagę na jego zdolności adaptacyjne. Omawiane procesy są nie tylko niezmiernie ciekawym obszarem naukowym, ale wskazują także na potencjał aplikacyjny w kontekście ochrony roślin, kontroli populacji szkodników czy medycyny.

WPROWADZENIE

Efektywne strategie obronne owadów stanowią kluczowy czynnik przyczyniający się do ich sukcesu ewolucyjnego, umożliwiającego skuteczną adaptację do zróżnicowanych środowisk lądowych. Na odporność owadów mają wpływ zarówno przez czynniki abiotyczne, takie jak temperatura, wilgotność czy dostępność pożywienia, jak i czynniki biotyczne, związane z ryzykiem infekcji ze strony patogenów [1]. Badania układu odpornościowego owadów, szczególnie te prowadzone z wykorzystaniem larw barciaka większego *Galleria mellonella*, pozwalają na dogłębne zrozumienie plastyczności reakcji odpornościowych. Mimo obecności jedynie wrodzonych mechanizmów odpornościowych, dowiadczania wynikające z przebiegów infekcji mogą istotnie wpływać na złożone mechanizmy obronne podczas ponownego wystąpienia infekcji [1,2]. Badania nad odpornością prowadzone z użyciem *G. mellonella* stanowią przedmiot zainteresowania zarówno biologów, jak i przedstawicieli nauk medycznych, ponieważ układ odpornościowy owadów ma wiele wspólnych elementów w wrodzonymi mechanizmami odporności człowieka, co w konsekwencji pozwala lepiej zrozumieć podstawy odporności wrodzonej u ludzi. Ponadto, związki bioaktywne znajdujące u owadów, takie jak peptydy przeciwdrobnoustrojowe często wykazują aktywność skierowaną przeciw ludzkim patogenom oraz komórkom nowotworowym, co może przyczynić się do opracowania nowych terapii.

GALLERIA MELLONELLA JAKO ORGANIZM MODELOWY W BADANIACH ODPORNOŚCIOWYCH

Barciak większy *Galleria mellonella* to gatunek kosmopolityczny rozprzestrzeniony na wszystkich kontynentach z wyjątkiem Antarktydy. Systematykę owada przedstawia tabela 1. Z uwagi na pasożytnicze właściwości względem pszczoły miodnej *Apis mellifera* oraz pszczoły wschodniej *Apis cerana* gatunek ten nazywany jest także molem woskowym. Owad wyrządza duże szkody w pszczelarstwie, odpowiadając za zjawisko nazywane galleriozą, czyli utratą rodzin pszczelich, co jest przyczyną dużych strat ekonomicznych w sektorze pszczelarstwie. Ponadto, *G. mellonella* jest wektorem przenoszącym choroby i wpływającym na populacje dzikich pszczoł [1]. W warunkach naturalnych larwy *G. mellonella* żywią się głównie miodem, woskiem pszczelim, pyłkiem i zrzuconym oskórkiem poczwerek pszczoł. Larwy mogą rozwijać się również na sztucznej diecie, składającej się z produktów zbożowych, mleka w proszku, drożdży, miodu i glicerolu [2]. Istotną rolę w diecie barciaka większego odgrywa białko, którego niedobór powoduje zaprzestanie wytwarzania oprzędu i spowalnia proces rozwojowy owada. *G. mellonella* jest typowym owadem holometabolicznym, ponieważ przechodzi cztery stadia rozwojowe w cyklu życiowym – jajo, larwa, poczwarka i imago [1]. Samce wabią samice za pomocą dwuskładnikowego feromonu (n-nonanal + n-undekanal) i emitują przy tym krótkie impulsy dźwiękowe o częstotliwości 75 kHz [3,4]. Samice mogą składać 50–150 jaj bezpo-

dr Jakub Kordaczuk✉

Katedra Immunobiologii, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

https://doi.org/10.18388/pb.2021_519

✉ autor korespondujący: jakub.kordaczuk@mail.umcs.pl

Słowa kluczowe: owady, *Galleria mellonella*, peptydy odpornościowe, odporność wrodzona

Wykaz skrótów: AMPs – peptydy odpornościowe (ang. *antimicrobial peptides*); apoLp-III – apolipoforyna III (ang. *apolipoprotein III*); PAMPs – wzorce molekularne związane z patogenami (ang. *pathogen-associated molecular patterns*); PGRP – receptory rozpoznające peptydoglikan (ang. *peptidoglycan recognition proteins*); proPO – profenoloksydaza (ang. *prophenoloxidase*)

Tabela 1. Systematyka *G. mellonella*.

Królestwo	Animalia (Zwierzęta)
Typ	Arthropoda (Stawonogi)
Podtyp	Hexapoda (sześćnogi)
Gromada	Insecta (owady)
Podgromada	Pterygota (uskrzydłone)
Nadrząd	Holometabola (skrytoskrzydłe)
Rząd	Lepidoptera (łuskoskrzydłe)
Nadrodzina	Pyraloidea
Rodzina	Pyralidae (omacniowate)
Podrodzina	Galleriinae (barciakowate)
Plemię	Galleriini
Rodzaj	Galleria
Gatunek	<i>Galleria mellonella</i>

średnio do szczelin plastrów lub na ich powierzchni, co zabezpiecza je przed usunięciem przez pszczoły. Jeśli samica nie ma dostępu do wnętrza ula, składa jaja w zagłębieniach na jego powierzchni. Jaja mają kształt sferoidalny, szorstką powierzchnię i długość około 0,5 mm, a ich barwa może być biała, cielistą lub różowa. Czas trwania stadium jaja jest odwrotnie proporcjonalny do temperatury otoczenia. W optymalnej temperaturze, tj. około 28°C trwa przeciętnie 5 dni, natomiast w temperaturze 18°C może wydłużyć się do 30 dni. Z jaj wylęgają się kremowe larwy, których długość nie przekracza zwykle 3 mm. Larwy kierują się w stronę plastrów woszczyny, na których żerują. W przypadku braku pożywienia może dochodzić między nimi do kanibalizmu. Istnieje 7 stadiów wylinkowych larw, przy czym średni czas trwania wszystkich stadiów larwalnych wynosi około 45 dni. Najintensywniejsze procesy rozwojowe przypadają na dwa ostatnie stadia larwalne [2,5-7]. Pod koniec ostatniego stadium larwa przestaje się odżywiać i przemieszcza się do miejsca, gdzie będzie budować kokon - jest to tzw. larwa wędrująca. Okres, w którym larwa barciaka większego buduje kokon jest nazywany okresem przygotowawczym [2]. Larwa otoczona kokonem przestaje się poruszać i odżywiać, a czas potrzebny do jej przeobrażenia w poczwarkę to około 5 dni. Długość trwania stadium poczwarki u *G. mellonella* mieści się w zakresie od 5 do 50 dni i uzależniona jest od warunków środowiska takich jak wilgotność, temperatura oraz pora roku. Po uwolnieniu się z kokonów dorosłe osobniki pozostają nieaktywne, dopóki ich skrzydła w pełni się nie wykształcą. Kolor cmy na początku jest jasny, a z biegiem czasu ciemnieje, przyjmując ostatecznie szarą barwę. Długość samic waha się w zakresie 15-20 mm. Samce są zwykle mniejsze i jaśniejsze [6]. Dorosłe osobniki nie są w stanie spożywać pokarmu, ponieważ ich aparaty gębowe są zdegenerowane. Długość życia dorosłej cmy mieści się w zakresie 7-30 dni i zależy od warunków środowiska [6,8].

Szkody powodowane przez *G. mellonella* w pszczelarstwie oraz szereg cech biologicznych, które wykazuje ten organizm wzbudziły zainteresowanie naukowców, którzy

uznali, że może on być dobrym modelem doświadczalnym w badaniach naukowych z dziedziny immunobiologii bezkręgowców i analizie interakcji w układzie gospodarz-patogen [9,10]. Głównymi zaletami omawianego gatunku jako modelu badawczego jest jego kosmopolityzm, krótki cykl życiowy, łatwość hodowli i jej niski koszt, a także możliwość uzyskania dużej liczby osobników w stosunkowo krótkim czasie [11]. Szczególną uwagę należy zwrócić na obecny stan wiedzy dotyczący odpowiedzi immunologicznej owadów, która wykazuje wiele cech wspólnych z wrodzoną odpornością ssaków. W kontekście tych ostatnich istotnym jest, że larwy *G. mellonella* mogą być przetrzymywane w temperaturze 37°C, co odróżnia je od pozostałych bezkręgowych organizmów modelowych takich jak *Caenorhabditis elegans* czy *Drosophila melanogaster* i pozwala na badanie mechanizmów zakażenia patogenów ludzkich [12,13]. Stosunkowo duży rozmiar larw ułatwia immunizację czynnikiem zakaźnym i pozwala na pobieranie tkanek owada do dalszych analiz [14]. Na tle stale toczącej się dyskusji związanej z aspektami etycznymi wykorzystania kręgowców w badaniach naukowych, bezkręgowce - w tym owady stanowią dobrą alternatywę pozwalającą skutecznie ominąć trudności logistyczne i formalne, związane z wykorzystaniem zwierząt w badaniach naukowych. Ważnym osiągnięciem w kontekście badań z wykorzystaniem omawianego owada jest fakt uzyskania kompletnej sekwencji genomu *G. mellonella* [15]. Owad *G. mellonella* posiada nie spotykaną zdolność trawienia polietylenu - jednego z najbardziej uciążliwych dla środowiska polimerów, który nie ulega biodegradacji. Nie ustalono jednak czy wspomniana właściwość larw jest jej naturalną cechą, czy też wynika z właściwości enzymatycznych mikroflory jelitowej owada [16]. Ostatnio przeprowadzone badania wskazują, że polietylen może być degradowany przez *Enterobacter spp.* wyizolowany z jelita *G. mellonella* [17,18].

Duże możliwości zastosowania wymuszają stałe zgłębianie i poszerzanie wiedzy na temat układu odpornościowego owadów, na który składają się mechanizmy humoralne skupiające się m.in. na syntezie peptydów i białek odpornościowych oraz mechanizmy komórkowe, w których główną rolę pełnią hemocyty odpowiedzialne za procesy fagocytozy, nodulacji i inkapsulacji [19]. Owady posiadają także bariery anatomiczno-fizjologiczne, zapewniające integralność organizmu i stanowiące pierwszą linię obrony owada.

MECHANIZMY ODPORNOŚCIOWE OWADÓW

Mimo, że w toku ewolucji owady zachowały znaczne podobieństwo reakcji odpornościowych do wrodzonych mechanizmów obronnych ssaków, to w odróżnieniu od kręgowców nie wykształciły mechanizmów odporności nabytej [20]. W toku badań prowadzonych na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat zwrócono uwagę na duże zdolności adaptacyjne układu odpornościowego owadów, a także plastyczność reakcji obronnej w odpowiedzi na zakażenie [21]. Odporność owadów może być modulowana przez czynniki biotyczne (np. wcześniejszy kontakt z patogenem, obecność symbiontów) oraz abiotyczne (m.in. temperatura, wilgotność, nasłonecznienie) [22]. Kluczowym elementem odporności wrodzonej, zabezpieczającym organizm owada przed urazami mechanicznymi i wnikaniem mikroorgani-

Tabela 2. Owadzie PGRP. Opracowanie własne, zmodyfikowane na podstawie [32-34].

Podział PGRP ze względu na długość transkryptu	Wyróżniane podgrupy PGRP	Sposób wydzielania	Typ ekspresji	Miejsce ekspresji	Główna funkcja
PGRP-L	PGRP- LAc, PGRP- LB, PGRP- LE	trans-membranowy	konstytutywna	hemocyty (PGRP-LAc) jelito (PGRP- LB) jelito/ hemolimfa (PGRP-LE)	Szlak IMD (PGRP- LAc) Funkcja amidazy (PGRP- LB) Szlak IMD, autofagia, aktywacja fenylooksydazy (PGRP-LE)
	PGRP- LAa, PGRP- LAb, PGRP-LC, PGRP- LD, PGRP- LF	sekrecyjny	konstytutywna	hemocyty	Szlak IMD (PGRP- LAa; PGRP-LAb) Szlak IMD, fagocytoza (PGRP- LC) Funkcja amidazy (PGRP-LD) Szlak IMD- negatywna regulacja (PGRP-LF)
PGRP-S	PGRP- SA, PGRP- SB1, PGRP-SB2 SB2	sekrecyjny	indukowana	ciało tłuszczowe	Szlak Toll (PGRP- SA; PGRP-SD)
	PGRP- SC1A, PGRP- SC1B, PGRP- SC2 -PGRP- SD		konstytutywna		Funkcja amidazy (PGRP-SB1; PGRP-SB2; PGRP-SC1B; PGRP-SC2) Funkcja amidazy, fagocytoza (PGRP-SC1A)

zmów jest integument – okrywa ciała, która spełnia jednocześnie rolę szkieletu zewnętrznego. Tworzą ją jednowarstwowy nabłonek pochodzenia ektodermalnego, a tuż nad nim kutykula, na którą składają się woski, kwasy tłuszczowe, sterole i która jest wysycona chityną. Białka kutykuli mogą ulegać procesom melanizacji, mineralizacji i sklerotyzacji – tworzeniu wiązań kowalencyjnych między ich grupami funkcyjnymi. Poza występowaniem w kutykuli, chityna wyściela tchawki, a także przednią i tylną część jelita, co stanowi barierę przed wniknięciem mikroorganizmów [23,24]. W jelicie środkowym występuje błona perytroficzna, która izoluje ścianę jelita od treści pokarmowej. Ponadto ochronę tego odcinka jelita zapewniają obecne w nim enzymy proteolityczne oraz wysokie pH [24]. Przerwanie integralności barier ochronnych prowadzi do zaburzenia homeostazy organizmu owada, a po rozpoznaniu czynnika zakaźnego, do uruchomienia reakcji odpornościowej, w którą zaangażowane są mechanizmy odpowiedzi humoralnej i komórkowej.

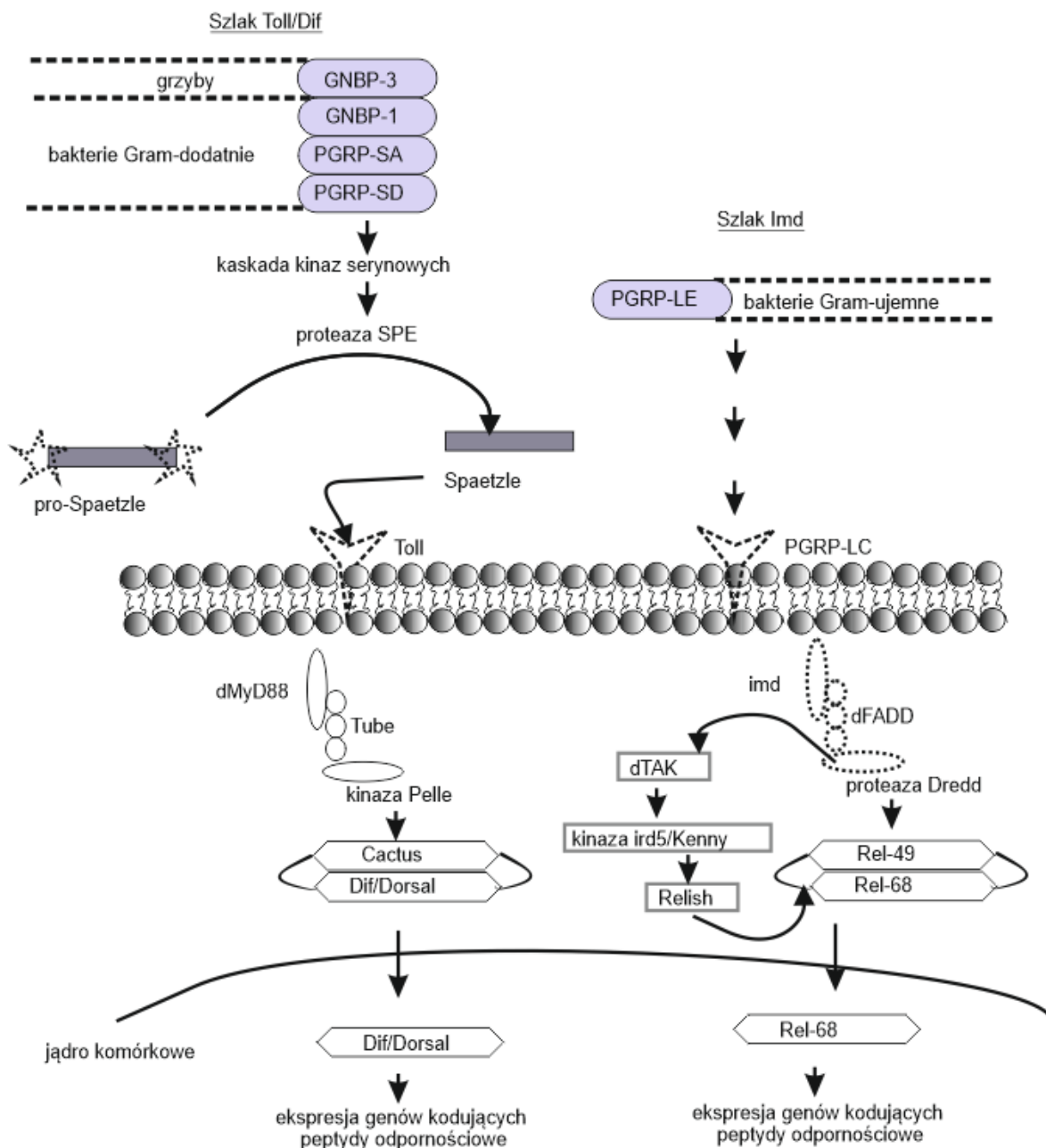
ROZPOZNANIE CZYNNIKA OBCEGO I AKTYWACJA SZLAKÓW SYGNAŁOWYCH

Wzorce molekularne związane z patogenami PAMPs (ang. *pathogen-associated molecular patterns*) to struktury charakterystyczne dla mikroorganizmów, ale niewystępujące fizjologicznie w strukturach ciała żywiciela. Należą do nich przede wszystkim lipopolisacharyd, kwasy lipoteichojoye, zymosan, β -1,3-glukan, flagellina i peptydoglikan [26,27]. Struktury te są rozpoznawane przez receptory rozpoznające zwane PRR (ang. *pattern recognition receptors*), odpowiedzialne za wykrycie infekcji i aktywację kolejnych elementów układu odpornościowego, prowadząc w konsekwencji do wywołania odpowiedzi immunologicznej [27,28]. Do receptorów PRR zalicza się receptory rozpoznające peptydoglikan PGRP (ang. *peptidoglycan recognition proteins*). Głównymi miejscami indukcji i ekspresji genów kodujących PGRP są komórki tkanek zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną owadów [29]. Ze względu na rozmiar transkryptów wśród PGRP wyróżniono 2 klasy:

- S-PGRP (S od ang. *short*; krótkie PGRP), mające charakter receptorów zewnątrzkomórkowych. Ich cechą charakterystyczną jest zdolność do wiązania peptydoglikanu typu lizynowego, charakterystycznego dla większości bakterii Gram-dodatnich.
- L-PGRP (L od ang. *long*; długie PGRP), do których należą transbłonowe PGRP. Ich cechą charakterystyczną jest zdolność do wiązania peptydoglikanu typu diaminopimelinowego charakterystycznego dla większości bakterii Gram-ujemnych. Tabela 2 prezentuje PGRP zidentyfikowane w organizmach owadów.

Ponadto wyróżnia się grupę receptorów GGBP (ang. *Gram-negative binding protein*), do której należy GGBP-1 uczestniczący w rozpoznawaniu bakterii Gram-dodatnich oraz GGBP-3 odpowiedzialny za wiązanie β -1,3-glukanu charakterystycznego dla ściany komórkowej grzybów [30].

Szlaki przekazywania sygnałów regulujące ekspresję genów kodujących peptydy odpornościowe zostały najdokładniej opisane u *D. melanogaster*. Rozpoznanie przez określone typy receptorów PRR wzorców molekularnych patogenów bakterii Gram-dodatnich lub grzybów prowadzi do aktywacji szeregu proteaz serynowych obecnych w hemolimfie owadów, odpowiedzialnych za uruchomienie szlaku Toll/Dif. Schemat szlaku przedstawia rycina 1. Kaskadowa aktywacja proteaz serynowych prowadzi do aktywacji proteolitycznego enzymu SPE (ang. *Spaetzle processing enzyme*), którego funkcją jest proteolityczne przecięcie nieaktywnej formy cytokiny pro-Spaetzle, i powstanie formy aktywnej - Spaetzle. Cytokina ta zdolna jest do oddziaływania z transbłonowym receptorem Toll, występującym na powierzchni hemocytów i komórek ciała tłuszczowego. Opisana interakcja prowadzi do dimeryzacji receptora Toll i uruchomienia kaskady sygnałowej wewnątrz komórek, w skład której wchodzi Tube, MyD88 oraz kinaza Pelle. Powstanie kompleksu tych białek (tzw. kompleks adaptacyjny) prowadzi do uwolnienia od inhibitora Cactus czyn-

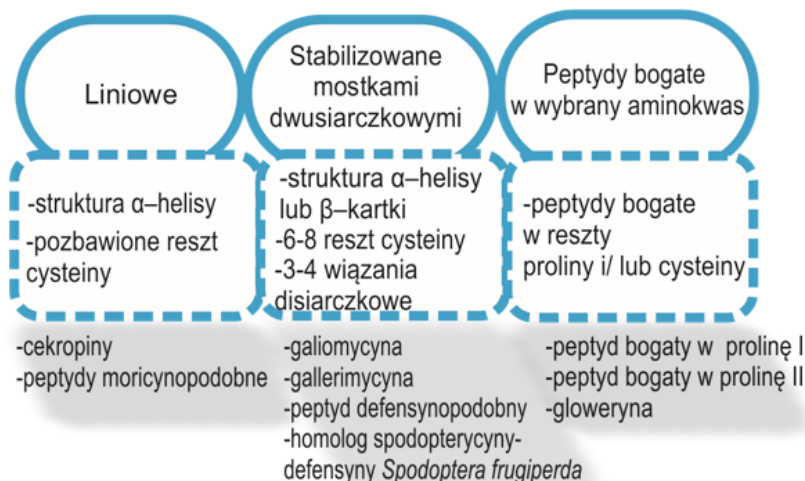


Rycina 1. Szlaki przekazywania sygnałów u *D. melanogaster*. GNBPs-1 - receptor uczestniczący w rozpoznawaniu bakterii Gram-dodatnich; GNBPs-3 - receptor odpowiedzialny za wiązanie β -1,3-glukanu charakterystycznego dla ściany komórkowej grzybów; PGRP-SA - receptor rozpoznający peptydoglikan typu lizynowego. Do jego aktywacji wymagane jest utworzenie kompleksu receptorowego z innymi PGRP; PGRP-SD - receptor rozpoznający peptydoglikan typu lizynowego, niewymagający do działania dodatkowego receptora; PGRP-LE - receptor rozpoznający peptydoglikan typu diaminopimelinowego, niezwiązany z błoną i krążący w hemolimfie owada. Opracowanie własne, zmodyfikowane na podstawie [31-33,139].

ników transkrypcyjnych należących do rodziny $\text{NF-}\kappa\text{B}$ -Dif i Dorsal. Białko Dif bierze udział w odpowiedzi immunologicznej owadów natomiast białko Dorsal jest zaangażowane w rozwój embrionalny. W trakcie odpowiedzi immunologicznej w cytoplazmie dochodzi do fosforylacji inhibitora Cactus i uwolnienia białka Dif, a następnie jego translokacji do jądra komórkowego, gdzie aktywuje on ekspresję genów kodujących peptydy odpornościowe [31]. W przypadku interakcji PGRP ze wzorcami molekularnymi (PAMPs) bakterii Gram-ujemnych, dochodzi do aktywacji drugiego szlaku sygnałowego - Imd/Relish, przedstawionego na rycinie 1. Interakcja transbłonowych receptorów PGRP z białkiem Imd prowadzi do aktywacji kinazy dFADD (ang.

FAS-associated death domain), proteazy Dredd (ang. *Death-related ced-3/Nedd2-like protein*) i kinazy białkowej dTAK1 (ang. *Drosophila homologue of transforming growth factor activated kinase 1*). Kinaza dTAK1 rekrutuje kinazę IKK, następnie ma miejsce fosforylacja białka Relish. Aktywne dFADD, Dredd i dTAK1 tworzą wspólnie kompleks czynników tnących ufosforylowane białko Relish co prowadzi do jego rozdzielenia na dwie podjednostki: Rel-68, należącej do rodziny $\text{NF-}\kappa\text{B}$, która ulega translokacji do jądra komórkowego i reguluje ekspresję genów kodujących peptydy odpornościowe, oraz pozostającą w cytoplazmie Rel-49 o aktywności inhibitorowej $\text{I}\kappa\text{B}$ [32]. *D. melanogaster* dysponuje także szlakiem sygnałowym JAK/STAT, którego aktywacja

Peptydy odpornościowe *Galleria mellonella*



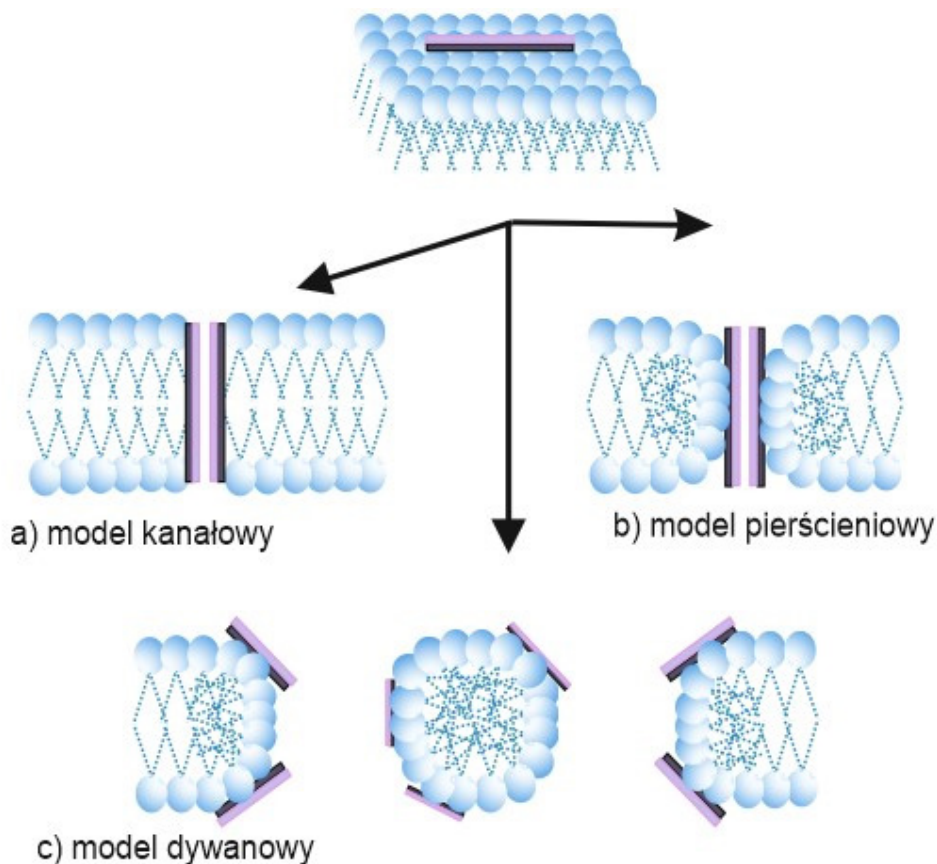
Rycina 2. Podział peptydów odpornościowych *G. mellonella* w zależności od budowy. Opracowanie własne, zmodyfikowane na podstawie [41].

następuje w przypadku zakażenia bakteriami lub wirusami, generalnie warunkach stresu. Do aktywacji szlaku dochodzi w wyniku interakcji cytokiny z rodziny UDP (ang. *unpaired*) z receptorem Domeless, w wyniku czego aktywowana jest kinaza JAK (ang. *janus kinase*) odpowiedzialna za aktywację czynnika transkrypcyjnego STAT (ang. *signal transducer and activator of transcription*). Rolą czynnika STAT jest aktywacja ekspresji genów kodujących cytokiny, białka stresu, a także polipeptydy biorące udział w regulacji powstawania hemocytów [33]. Należy zaznaczyć, że ogólna zasada działania i szereg elementów biorących udział w opisanych powyżej szlakach sygnałowych odpowiedzialnych za ekspresję genów kodujących peptydy odpornościowe *D. melanogaster* jest podobna u innych owadów, w tym *G. mellonella*. Barciak większy dysponuje receptorami PGRP-A oraz PGRP-B, które są zdolne do rozpoznawania peptydoglikanu bakteryjnego, a także receptorem β -GRPs (ang. β -1,3-glucan recognition proteins) odpowiedzialnym za rozpoznawanie determinant molekularnych grzybów. U *G. mellonella* zidentyfikowano także receptory Toll oraz oddziaływujące z nim białko Spatzle [34]. W procesie rozpoznawania zakażenia poza wspomnianymi receptorami PGRP, biorą udział także peptydy i białka odpornościowe – w tym hemolina i apolipoforyna III oraz białko GmCP8 [35]. Opisane wyżej szlaki przekazywania sygnałów komórkowych regulują ekspresję głównych efektorów odpowiedzi humoralnej tj. peptydów odpornościowych.

PEPTYDY ODPORNOŚCIOWE

Synteza peptydów odpornościowych może zachodzić w różnych tkankach, ale głównym miejscem ich powstawania w odpowiedzi systemowej jest ciało tłuszczowe, z którego są wydzielane do hemolimfy [36]. Część z nich jest syntetyzowana konstytutywnie, jednak większość jest syntetyzowana w odpowiedzi na zakażenie. Na poziom syntezy danego peptydu może wpływać rodzaj patogenu i jego dawka, a także stężenie innych białek i peptydów przeciwdrobnoustrojowych w organizmie owada Wyka-

zano, że niektóre z peptydów przeciwdrobnoustrojowych mogą działać synergistycznie ze sobą. Dzięki temu, owad zużywa mniej energii potrzebnej do wytworzenia większej ilości cząsteczek efektorowych, osiągając bardzo dobry efekt obronny [37]. Peptydy odpornościowe są cząsteczkami zbudowanymi najczęściej z 8–100 aminokwasów, a w ich budowie wyróżnia się regiony hydrofobowe i hydrofilowe, co nadaje im charakter amfipatyczny. Peptydy przeciwdrobnoustrojowe wyróżnia szerokie spektrum działania i szybkość. Ponadto charakteryzuje je selektywność działania dzięki czemu nie uszkadzają komórek gospodarza. W przeciwieństwie do antybiotyków nie powodują oporności. Peptydy przeciwdrobnoustrojowe mogą być naładowane ujemnie lub dodatnio, bądź mieć charakter obojętny, jednak większość z nich posiada ładunek dodatni [38]. Ze względu na rodzaj zakażającego patogenu lub komórek, na który działać mogą peptydy odpornościowe wyróżnia się cząsteczki o właściwościach przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych, przeciw pasożytniczych, przeciwnowotworowych, a także przeciwwirusowych. Ze względu na różnice w budowie peptydów o charakterze kationowym występujących w organizmie *G. mellonella* podzielono je na trzy podgrupy przedstawione na rycinie 2. Ze względu na właściwości amfipatyczne peptydów przeciwdrobnoustrojowych, a także kationowy charakter przeważającej liczby tych cząsteczek, mogą one oddziaływać z ujemnie naładowanymi grupami LPS bakterii Gram-ujemnych lub anionowymi grupami LTA bakterii Gram-dodatnich, tworzących dwuwarstwę fosfolipidową błony komórkowej patogenów. Peptydy wypierają jony wapnia, odpowiadające za stabilizację błony komórkowej [39]. Dochodzi do wytworzenia agregatów i zaburzenia ciągłości błony komórkowej, prowadząc w konsekwencji do zwiększenia jej przepuszczalności i zakłócenia procesów metabolicznych komórki patogenu [40]. Aby działanie peptydów było skuteczne muszą one osiągnąć stężenie progowe. Istnieje kilka różnych modeli obrazujących mechanizm działania owadzich peptydów odpornościowych z błoną komórkową bakterii, które nie wykluczają się wzajemnie. Poglądowy schemat obrazujący



Rycina 3. Poglądowy model oddziaływań peptydów odpornościowych z błonami komórkowymi bakterii. Ciemny kolorem fioletowym zaznaczono hydrofilową część peptydu, natomiast jasnym kolorem fioletowym część hydrofobową. Opracowanie własne, zmodyfikowane na podstawie [41].

mechanizmy zaburzania integralności błon komórkowych przedstawiono na rycinie 3 [38]. Model kanałowy (Ryc. 3A) polega na wnikanii peptydów do błony komórkowej bakterii, ich ścisłym przyleganiu i formowaniu kanałów [38,40]. W modelu pierścieniowym (Ryc. 3B) peptyd zmienia położenie fosfolipidów błonowych, które uginają się i zwracają swoją częścią hydrofilową do światła uformowanego kanału, który tworzą wraz z peptydami [40]. Model dywanowy (Ryc. 3C) polega na układaniu się peptydów na powierzchni błony komórkowej bakterii. Po przekroczeniu stężenia progowego peptydów dochodzi do oddziaływań z częścią hydrofilową błony, jej destabilizacji i utworzenia miceli [39]. Wyróżnia się także model formowania agregatów, zgodnie z którym peptydy nieregularnie osadzają się na powierzchni błony pod różnymi kątami, prowadząc w konsekwencji do jej destabilizacji i zaburzenia ciągłości [39,41]. Należy zwrócić uwagę na fakt, że poza opisanymi mechanizmami oddziaływania zidentyfikowano peptydy, które mogą wykazywać odmienny sposób działania, przenikając do komórki mikroorganizmu i zakłócając na przykład syntezę kwasów nukleinowych i białek, prowadząc tym samym do zaburzenia podstawowych procesów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu takich jak replikacja materiału genetycznego, jego transkrypcja, translacja lub jego obróbka potranslacyjna [39].

Barciak większy zdolny jest do syntezy wielu peptydów i białek, których rolą jest udział w mechanizmach odpornościowych i czynna obrona przed atakiem patogenów. Poni-

żej przedstawiono opis głównych grup peptydów odpornościowych, które dotychczas zidentyfikowano w organizmie tego owada. Cekropiny należą do liniowych i α -helikalnych peptydów odpornościowych. W wyniku analizy transkryptomu *G. mellonella* zidentyfikowano cztery transkrypty cekropin, spośród których wyróżnić należy trzy cekropiny A oraz cekropinę D [34]. Dotychczas przeprowadzone badania nad cekropiną D wykazały, że posiada ona szerokie spektrum aktywności wobec bakterii Gram-dodatnich a także Gram-ujemnych. Działanie cekropiny D zaobserwowano wobec grzyba nitkowatego *Aspergillus niger* [42]. Dotychczas z hemolimfy larw *G. mellonella* zakażonych *Escherichia coli* wyizolowano dwie cekropiny. Obie zidentyfikowane cekropiny posiadają masę około 4,3 kDa, przy czym pierwsza z nich wykazuje wysokie podobieństwo do cekropiny *Manduca sexta*, natomiast druga wykazuje homologię do cekropiny A *Hyalophora cecropia* [43]. Obie wykryte cekropiny wykazują szerokie spektrum aktywności wobec bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich [37,42,43]. Do peptydów liniowych zaliczane są także peptydy moricynopodobne. W hemolimfie *G. mellonella* wykryto obecność czterech peptydów należących do tej grupy: A, B, C3 i D. Sekwencjonowanie genomu *G. mellonella* ujawniło, że owad posiada osiem genów kodujących peptydy moricynopodobne: A, B, C1-C5 oraz D. Geny te kodują siedem peptydów ze względu na identyczność transkryptów C4 i C5 [44]. Inne dane literaturowe uzyskane podczas analizy transkryptomu *G. mellonella* wykazały obecność sześciu transkryptów dla

peptydów moricyNOPodobnych [34]. Peptydy moricyNOPodobne wykazują szerokie spektrum aktywności przeciw bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym. Polipeptydy należące do omawianej grupy charakteryzują się aktywnością wobec wybranych grzybów entomopatogennych: *Metharizium anisopliae* i *Beauveria bassiana*, a w przypadku moricyNY A, także wobec *Candida albicans* [44].

Defensynopodobne stanowią kolejną grupę peptydów, których geny zidentyfikowano u *G. mellonella*. Cechą charakterystyczną cząsteczek wchodzących w skład tej grupy jest obecność motywów α/β stabilizowanych mostkami dwusiarczkowymi ze względu na bogactwo w cząsteczce reszt cysteiny [45]. Wśród peptydów *G. mellonella* należących do defensyn wyróżnić należy gallerimycynę, której masa molekularna to 6,4 kDa [37]. Gallerimycyna wykazuje aktywność przeciwko grzybowi entomopatogennemu *M. anisopliae*. Nie wykazano aktywności wspomnianego peptydu wobec bakterii *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* oraz *E. coli* oraz drożdży *Saccharomyces cerevisiae* [46]. Analiza ekspresji genu kodującego gallerimycynę wykazała wzrost ilości transkryptów w ciele tłuszczowym pobranym od larw *G. mellonella* uprzednio immunizowanych komórkami *C. albicans* [47], blastosporami *B. bassiana* [48], a także po podaniu lipopolisacharydu [46]. Kolejnym peptydem zaliczanym do defensyn jest galiomycyna o masie molekularnej 4,7 kDa [45]. Peptyd ten wykazuje działanie przeciw grzybom nitkowatym i drożdżakom [42,45]. W ciele tłuszczowym larw *G. mellonella* poddanych zakażeniu *E. coli* [45], *B. bassiana* [48], a także *C. albicans* [47] wykazano wzrost ekspresji genu kodującego omawiany peptyd. U *G. mellonella* zidentyfikowano także spodopterycynę, należącą do defensyn, wykazującą homologię do spodopterycyny *Spodoptera frugiperda*, której masa molekularna wynosi około 4 kDa [34]. Ponadto w organizmie barciaka większego zidentyfikowano peptyd defensynopodobny o masie molekularnej 4,9 kDa, posiadający aktywność przeciw grzybom, należącym do drożdżaków i grzybom nitkowatym oraz wobec Gram-dodatniej bakterii *Sarcina lutea* [42]. W organizmie *G. mellonella* zidentyfikowano dwa peptydy prolinowe: peptyd prolinowy I oraz peptyd prolinowy II, posiadające masę molekularną odpowiednio 4,3 kDa oraz 4,9 kDa. Cechą charakterystyczną tych cząsteczek jest obecność w strukturze pierwszorzędowej licznych reszt proliny. Oba omawiane peptydy prolinowe wykazują aktywność przeciwko wybranym bakteriom Gram-dodatnim. Ponadto peptyd prolinowy I posiada aktywność przeciwko drożdżakom [42]. Głoweryny to peptydy odpornościowe, których cechą charakterystyczną jest obecność w strukturze pierwszorzędowej wielu reszt glicyny oraz brak cystein. Głoweryny wykazują aktywność przeciw bakteriom Gram-ujemnym oraz wybranym bakteriom Gram-dodatnim, drożdżom, a także wirusom. Analiza transkryptomu *G. mellonella* wykazała obecność pięciu transkryptów głoweryn [34]. Wszystkie opisane powyżej peptydy odpornościowe wykazują charakter kationowy, należy jednak zauważyć, że w organizmie *G. mellonella* zidentyfikowano peptydy o charakterze anionowym ze względu na obecność w ich sekwencji reszt kwasu asparaginowego lub kwasu glutaminowego. Do tej grupy należy peptyd anionowy 1 oraz peptyd anionowy 2 posiadające odpowiednio masy molekularne 4,8 i 6,98 kDa. Cząsteczki te nie wykazują homologii do innych znanych

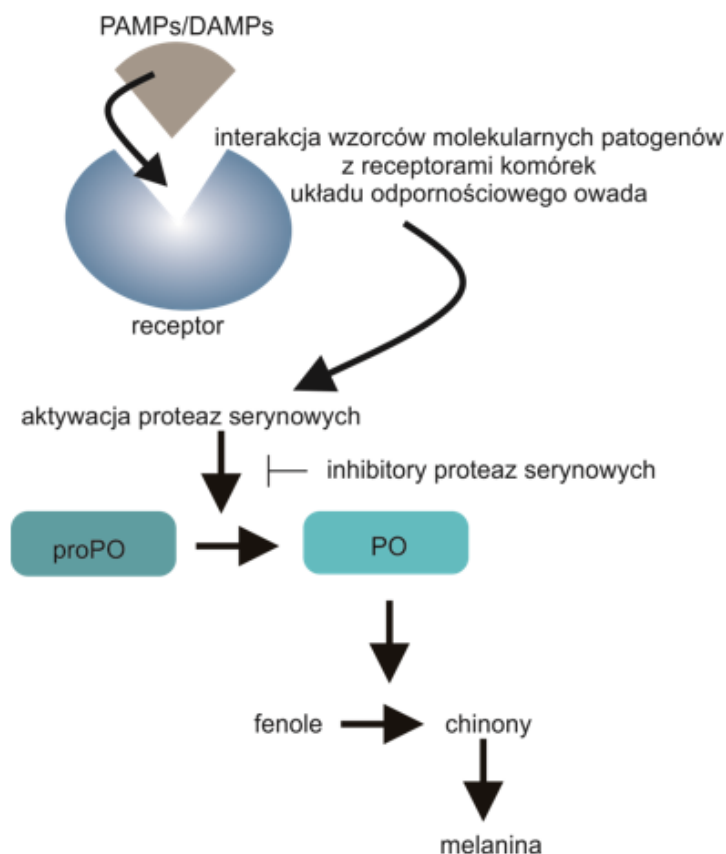
peptydów i białek przeciwdrobnoustrojowych [42,50]. Peptyd prolinowy I posiada aktywność przeciwko bakterii Gram-dodatniej *S. lutea*, a także wybranym drożdżakom i grzybom nitkowatym, natomiast peptyd anionowy II wykazuje aktywność wobec wybranych bakterii Gram-dodatnich i grzybów nitkowatych [42]. Wykazano, że peptydy te działają synergistycznie z lizozymem i apolipoforyną III wobec Gram-ujemnych bakterii *E. coli* i drożdżaka *C. albicans* [49].

UKŁAD OKSYDAZY FENOLOWEJ

Oksydaza fenolowa PO (ang. *phenoloxidase*) to białko, które w organizmach owadów występuje w formie nieaktywnej, tj. profenoloksydazy proPO (ang. *prophenoloxidase*). U *G. mellonella* miejscem przechowywania proPO są oenocytydy [50]. Poglądowy schemat mechanizmu regulacji aktywności oksydazy fenolowej został przedstawiony na rycinie 4. Do uruchomienia kaskadowej reakcji aktywacji proteaz serynowych odpowiedzialnych za przekształcenie profenoloksydazy w formę aktywną dochodzi w wyniku wykrycia wzorców molekularnych patogenów w organizmie owada oraz w przypadku zidentyfikowania uszkodzonych fragmentów komórek gospodarza DAMPs (ang. *damage-associated molecular patterns*) [50,51]. Wszystkie receptory, proteazy i ich inhibitory odpowiedzialne za regulację aktywacji oksydazy fenolowej określa się mianem układu oksydazy fenolowej proPO-AS (ang. *proPO activating system*) [51]. Główną rolą aktywnej oksydazy fenolowej jest kataliza reakcji utleniania fenoli do chinonów, stanowiących substrat w procesie syntezy melaniny. Jak wcześniej wspomniano, mechanizm syntezy melaniny aktywowany jest w odpowiedzi na sygnał pochodzący najprawdopodobniej z miejsca zranienia oskórka lub innej tkanki. Należy jednak zaznaczyć, że melanizacja jest także procesem fizjologicznym, którego celem jest zapewnienie odpowiednio twardego oskórka, stanowiącego barierę dla patogenów ze szczególnym uwzględnieniem grzybów entomopatogennych [36,50,51]. Kumulowanie melaniny w miejscu zranienia jest elementem mechanizmu odpowiedzialnego za proces gojenia ran [52,53]. Melanina może być odkładana na powierzchni patogenu, dzięki czemu zostaje on odseparowany do organizmu owada i pozbawiony dostępu do substancji odżywczych. Z uwagi na fakt, że w procesie powstawania melaniny syntetyzowane są reaktywne formy tlenu toksyczne dla organizmu gospodarza, niezwykle ważna jest rola serpin – inhibitorów proteaz serynowych, odpowiedzialnych za regulowanie działania układu oksydazy fenolowej [54]. Z drugiej strony reaktywne formy tlenu jak i inne produkty pośrednie wytwarzane w procesie syntezy melaniny są wykorzystywane jako narzędzia do walki z patogenami. Melanizacja może uzupełniać procesy odpowiedzi komórkowej, tj. inkapsulację i nodulację wpływając pozytywnie na ich przebieg [53,55].

LIZOZYMY

Lizozymy to grupa białek, które posiadają zdolność do hydrolizy wiązań glikozydowych obecnych między cząsteczką kwasu N-acetylmuraminowego a N-acetyloglukozaminą peptydoglikanu, stanowiącego składnik ściany komórkowej bakterii. Polipeptydy należące do tej grupy zidentyfikowano zarówno u kręgowców jak i bezkręgowców.



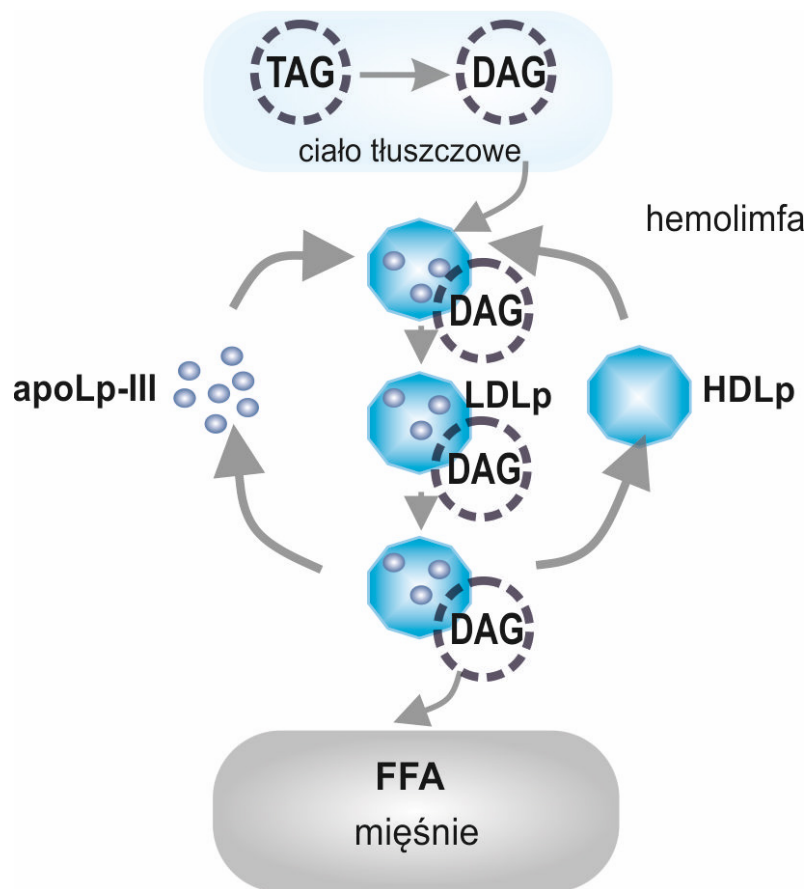
Rycina 4. Uproszczony schemat regulacji aktywności układu oksydazy fenolowej. PAMPs – wzorce molekularne patogenów; DAMPs – wzorce molekularne uszkodzonych komórek; proPO – profenoloksydaza; PO – oksydaza fenolowa. Opracowanie własne.

Lizozymy owadów są zdolne do rozkładu ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. W organizmie *G. mellonella* zidentyfikowano 5 lizozymów, cztery typu c (ang. *chicken type lysozyme*) oraz jeden typu i (ang. *invertebrate type lysozyme*) [34,56]. Spośród nich do tej pory udało się oczyścić jeden z lizozymów typu c. Polipeptyd ten zbudowany jest ze 121 aminokwasów, a jego masa wynosi 14,027 kDa [57]. Wykazano, że ten typ lizozymu występuje konstytutywnie w hemolimfie owada, a w przypadku urazu, zakażenia patogenem grzybiczym lub bakteryjnym dochodzi do wzrostu jego stężenia [49,58]. Lizozym powoduje enzymatyczny rozkład ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich [59]. Lizozym *G. mellonella* wykazuje także niską aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec bakterii Gram-ujemnych [60]. Istnieją doniesienia o nieenzymatycznej aktywności lizozymu wobec grzybów, charakteryzującej się podobnym sposobem działania do kationowych peptydów odpornościowych [49,59]. Wykazano, że w organizmie *G. mellonella* lizozym może działać synergistycznie z peptydem anionowym II, a także z cekropiną. Ponadto, lizozym posiada zdolność do hamowania aktywności fenolooksydazy, a w konsekwencji regulacji syntezy melaniny i zapobiegania nadmiernej melanizacji w organizmie owada [61,62].

APOLIPOFORYNY

Apolipoforyny to kompleksy białkowo-lipidowe krążące w hemolimfie owadów, których podstawową funkcją jest transport lipidów i związanych z nimi cząsteczek z cia-

ła tłuszczowego do mięśni, gdzie lipidy służą jako źródło energii niezbędnej podczas lotu [63]. U *G. mellonella* wyróżnia się trzy apolipoforyny: apolipoforynę I (apoLp-I), apolipoforynę II (apoLp-II) oraz apolipoforynę III (apoLp-III), których masy cząsteczkowe wynoszą odpowiednio około 250 kDa, 80 kDa i 18 kDa. Apolipoforyny te tworzą wspólnie kompleks owadziej lipoforyny [35,64]. Kiedy zapotrzebowanie energetyczne owada zwiększa się, dochodzi do regulowanego przez hormony adipokinetyczne przekształcenia triacylogliceroli (TAGs) do diacylogliceroli (DAGs). Jednocześnie do kompleksu składającego się z apoLp-I i apoLp-II, tzw. apolipoforyny wysokiej gęstości HDLp (ang. *high-density lipophorin*), dołączona zostaje apoLp-III, prowadząc do utworzenia kompleksu apolipoforyny niskiej gęstości LDLp (ang. *low-density lipophorin*) [65]. Dzięki obniżeniu hydrofobowości kompleksu, mogą do niego zostać przyłączone cząsteczki DAG. Cząsteczki LDLp są transportowane do mięśni, gdzie przenoszone przez nie DAGs poddawane są hydrolizie w wyniku czego uwolnione zostają cząsteczki kwasów tłuszczowych FFAs (ang. *free fatty acids*). Uwolnienie przenoszonej cząsteczki prowadzi do rozpadu kompleksu na HDLp i cząsteczkę apoLp-III, które wracają do hemolimfy i zdolne są do włączenia się w kolejny cykl przenoszenia tłuszczu [35,66]. Poszczególne etapy opisanego procesu przedstawiono na rycinie 5. Apolipoforyna III odgrywa także istotną rolę w procesach odpornościowych owadów. Białko to bierze udział w modulacji aktywności układu fenolooksydazy



Rycina 5. Mechanizm transportu lipidów przy udziale owadzych apolipoproteinów. TAG – triacyloglicerol; DAG – diacyloglicerol; apoLp-III – apolipoproteina-III (przedstawiona jako małe kule); HDLp – lipoproteina wysokiej gęstości (przedstawiona jako niebieskie kształty) LDLp – lipoproteina niskiej gęstości (kompleksy apoLp-III i HDLp); FFA – wolne kwasy tłuszczowe. Opracowanie własne, zmodyfikowane na podstawie [35].

i zaangażowane jest proces koagulacji hemolimfy. Uczestniczy w sieciowaniu skrzepu, dzięki czemu możliwe jest zabezpieczenie miejsca zranienia owada i jego izolacja od środowiska zewnętrznego [67,68]. Ponadto, apoLp-III może tworzyć kompleksy z kwasami nukleinowymi mogącymi pełnić rolę wzorców molekularnych uszkodzonych komórek DAMPs, w konsekwencji stymulując procesy krzepnięcia i gojenia ran [50]. Ponadto apoLp-III może działać jako receptor dla wzorców molekularnych patogenów, tj.: lipopolisacharydu, kwasu lipoteichoowego i β -1,3-glukanu [69,70]. Wykazano, że apoLp-III zwiększa zdolności adhezyjne hemocytów i zaangażowana jest w regulację procesu inkapsulacji w odpowiedzi na zakażenia grzybicze [71]. Ze względu na swoje właściwości opsonizujące apoLp-III zaangażowana jest w procesy fagocytozy i nodulacji [72]. Dowiedziono, że apoLp-III wykazuje właściwości przeciwbakteryjne zarówno wobec bakterii Gram-ujemnych jak i Gram-dodatnich [73]. Częsteczki apoLp-III mogą działać synergistycznie z innymi peptydami odpornościowymi, np. ciekropiną i lizozymem obecnymi w hemolimfie owada, prowadząc tym samym do skuteczniejszej reakcji odpornościowej gospodarza [74,75]. Poza tym, apoLp-III może bezpośrednio zabijać bakterie, a wraz z apoLp-I i apoLp-II może neutralizować toksyny bakteryjne [75,76]. Ze względu na mnogość procesów w jakie zaangażowane jest apoLp-III jest także nazywana białkiem wielofunkcyjnym [77].

INHIBITORY PROTEAZ

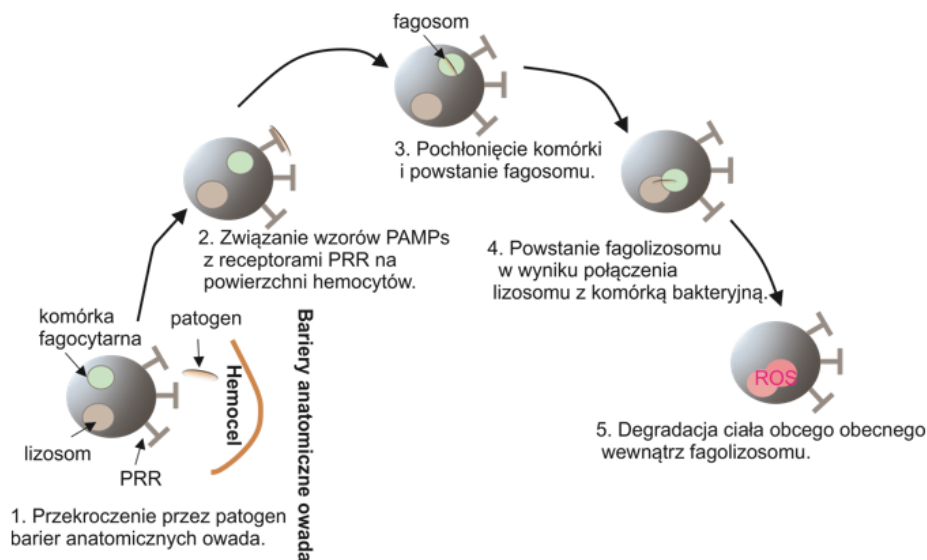
Poza opisanymi wcześniej peptydami i białkami odpornościowymi *G. mellonella*, układ odpornościowy owada wyposażony jest także w inne narzędzie wspomagające jego walkę z patogenami poprzez hamowanie aktywności proteaz wydzielanych przez patogeny [78]. W roku 1998 w hemolimfie *G. mellonella* wykryto peptydowy, specyficzny inhibitor metaloproteaz, nazwany IMPI (ang. *inhibitor of metalloproteinases from insects*) [79]. Jego masa molekularna wynosi około 8 kDa. Polipeptyd ten cechuje termostabilność, a w jego budowie wyróżnić należy mostki dwusiarczkowe, stabilizujące jego strukturę. Warto podkreślić, że jest to pierwszy zidentyfikowany, peptydowy, inhibitor metaloproteaz [79,80]. W jego budowie wyróżnia się domenę o homologii do domeny inhibitorów trypsyny TIL (ang. *trypsin inhibitor-like domain*). W toku przeprowadzonych badań nie zidentyfikowano aby polipeptyd ten wykazywał aktywność inhibitora trypsyny [81,82]. Wykazano obecność ośmiu genów kodujących homologi IMPI u *G. mellonella* [34,83]. Gen IMPI koduje dwa inhibitory metaloproteaz: IMPI-1 i IMPI-2. IMPI-1 posiada aktywność inhibitora termolizyny i zdolny jest do hamowania aktywności oksydazy fenolowej w warunkach *in vitro*. Sugeruje to, że może on zapobiegać nadmiernej aktywacji układu oksydazy fenolowej w odpowiedzi na zakażenia patogenami [84]. Do ekspresji genu kodującego IMPI może dochodzić w wyniku rozpoznania przez receptory obecności w hemolimfie owada, krótkich

fragmentów peptydowych białek gospodarza (<3 kDa), tzw. „protrags”, których obecność jest wynikiem hydrolizy polipeptydów hemolimfy owada przez metaloproteazy drobnoustrojów [85]. IMPI-1 zostaje wydzielany do hemolimfy *G. mellonella* w odpowiedzi na zakażenie bakteryjne i grzybicze co przemawia za jego zaangażowaniem w reakcje odpornościowe owada [79]. Ponadto wykazano, że w odpowiedzi na zakażenie larw *G. mellonella* grzybami *B. bassiana* dochodzi do wzrostu ekspresji genu kodującego IMPI, co może wskazywać na jej rolę w reakcji układu odpornościowego owada w odpowiedzi na zakażenia grzybicze [86]. IMPI-2 koduje inhibitor metaloproteaz macierzy pozakomórkowej MMP (ang. *matrix metalloproteinase*), a jego produkt białkowy zaangażowany jest w mechanizmy związane z przeobrażeniem zupełnym *G. mellonella* [87]. W trakcie metamorfozy owada dochodzi do stymulacji jego układu odpornościowego [82,84]. W organizmie *G. mellonella* wykryto jeszcze trzy inne polipeptydy należące do rodziny inhibitorów proteaz serynowych ISPI-1, ISPI-2 oraz ISPI-3 (ang. *inducible serine protease inhibitors*). Wymienione polipeptydy charakteryzuje masa cząsteczkowa wynosząca około 10 kDa. Inhibitory ISPI-1 oraz ISPI-3 nie wykazują homologii względem żadnych z dotychczas poznanych polipeptydów [34,88]. W przypadku inhibitora ISPI-2 wykazano homologię z inhibitorami z rodziny Kunitz, których mechanizm działania polega na wiązaniu się substratem, a następnie uleganiu powolnej hydrolizie. Substrat cały czas zostaje związany, przez co nie może być aktywny, a po całkowitej hydrolizie inhibitora zostaje on związany przez kolejną jego cząsteczkę [34]. Wykazano, że ISPI mogą pełnić funkcję opsonin a także posiadają zdolność do hamowania aktywności trypsyny i proteaz Pr1 i Pr2 wyizolowanych z grzyba *Metarhizium anisopliae* [88,89].

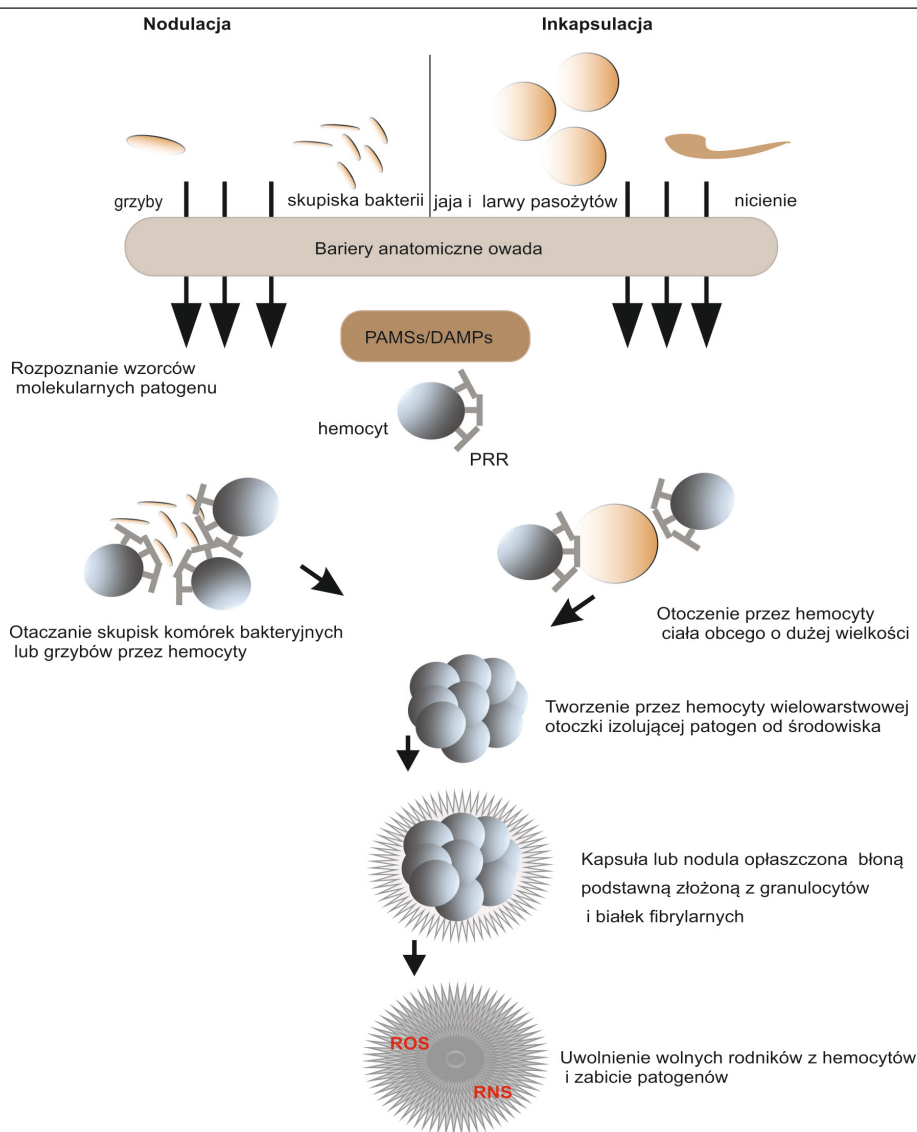
ODPOWIEDŹ KOMÓRKOWA

Odpowiedź komórkowa to obok odpowiedzi humoralnej druga gałąź wrodzonych mechanizmów odpornościowych owadów. W komórkowy typ reakcji odpornościowej owadów zaangażowane są hemocyty. U *G. mellonella* wyróżnia się prohemocyty, plazmatocyty, oenocytoidy, sferulocyty i granulocyty [90]. Prohemocyty to komórki pnia o dużych zdolnościach proliferacyjnych, z których rozwijają się inne typy hemocytów. Komórki te mają okrągły kształt, a ich średnica mieści się w przedziale 6–13 µm. Posiadają słabo rozwiniętą siateczkę śródplazmatyczną szorstką, niewiele rybosomów i duże jądro. W hemolimfie występują w stosunkowo niewielkiej ilości i nie wykazują zdolności do adhezji [91,92]. Granulocyty zaangażowane są w procesy fagocytozy i nodulacji. Ich średnica mieści się w zakresie od 10 do 17 µm. Komórki granulocytów wyróżnia obecność licznych ziarnistości, a także duże, centralnie umieszczone jądro, zajmujące połowę objętości komórki [90,91]. Plazmatocyty zaangażowane są w procesy fagocytozy i inkapsulacji oraz proces krzepnięcia hemolimfy i gojenia ran. Ich średnica mieści się w zakresie 13–15 µm a kształt przypomina wrzeciono. Hemocyty te posiadają dobrze rozwiniętą siateczkę śródplazmatyczną szorstką i dużo rybosomów. W hemolimfie występują w dużej ilości i wykazują zdolności adhezyjne [19,91]. Oenocytoidy są miejscem składowania elementów układu oksydazy fenolowej. Komórki te są zaangażowane w proces krzepnięcia i melanizacji hemolimfy.

Ich średnica wynosi powyżej 19 µm, a kształt przypomina wrzeciono. Ten typ komórek posiada słabo rozwiniętą siateczkę śródplazmatyczną szorstką, mitochondria i aparat Golgiego. W ich cytoplazmie zaobserwować można występowanie dużej ilości rybosomów, mikrotubule i peryferyjne położenie jądra komórkowego. Oenocytoidy nie posiadają zdolności adhezyjnych [52,93]. Sferulocyty to komórki odpowiedzialne za dostarczanie składników potrzebnych do tworzenia kutykuli. Ich średnica wynosi około 8 µm. Cechą charakterystyczną tych komórek jest obecność licznych ziarnistości w cytoplazmie. Sferulocyty nie posiadają zdolności adhezyjnych [90,94]. Procentowy udział poszczególnych rodzajów hemocytów różni się zależnie od stanu fizjologicznego gospodarza, dlatego komórki te mogą być wskaźnikiem infekcji toczących się w organizmie owada [93,95]. Do podstawowych mechanizmów odpornościowych, w które zaangażowane są hemocyty zalicza się fagocytozę, nodulację i inkapsulację. Fagocytoza to proces eliminacji niewielkich ciał obcych takich jak komórki bakteryjne czy kapsydy wirusów, które zakażyły organizm gospodarza [26]. Pierwszym etapem fagocytozy jest rozpoznanie i ewentualnie opsonizacja ciał obcych. Za proces opsonizacji u *G. mellonella* odpowiada m. in. hemolina, która wiąże się do PAMPs takich jak lipopolisacharyd czy kwas lipotejchowy [47,96]. Białko to posiada właściwości przeciwdziałające sklepaniu hemocytów oraz stymulujące proces fagocytozy [61]. W opsonizację zaangażowana może być opisana wcześniej apolipoforyna III, a także peptyd GmCP8 (ang. *Galleria mellonella cationic protein 8*), wiążący się z lipopolisacharydem, kwasami lipotejchowymi oraz β-1,3-glukanem [43]. Obecne na powierzchni hemocytów lektyny i integryny, pełnią rolę receptorów dla wymienionych wcześniej opsonin lub bezpośrednio dla wzorców molekularnych patogenów. W wyniku rozpoznania dochodzi do endocytozy ciała obcego przez komórkę fagocytarną i utworzenia fagosomu, który w następstwie połączenia się z lizosomem tworzy fagolizosom. Obecność w lizosomie licznych enzymów trawiennych prowadzi do rozkładu pochłoniętego ciała obcego. W utworzonym fagolizosomie dochodzi do uwolnienia reaktywnych form tlenu ROS (ang. *reactive oxygen species*) i proteaz, co prowadzi do zabicia patogenu [47,97]. Efektywność procesu fagocytozy zależy od szeregu czynników takich jak wiek owada, gatunek patogenu, a także liczba drobnoustrojów atakujących organizm gospodarza [27]. Uproszczony schemat procesu fagocytozy przedstawia rycina 6. W przypadku zbyt rozległej infekcji lub dużej wielkości patogenów zakażających organizm, proces fagocytozy może okazać się niewystarczający do jej opanowania. W takiej sytuacji dochodzi do uruchomienia któregoś z pozostałych mechanizmów odpowiedzi komórkowej. Inkapsulacja polega na tworzeniu kapsuł wokół jaj lub larw pasożytów, nicieni i pierwotniaków, których wielkość uniemożliwia fagocytozę, natomiast proces nodulacji prowadzi do utworzenia otoczek wokół skupisk bakterii czy grzybów. Jak przedstawiono na rycinie 7 oba procesy zachodzą w podobny sposób, a ich początkowym etapem jest rozpoznanie przez receptory zlokalizowane na granulocytach, obecnych w organizmie gospodarza ciał obcych poprzez interakcję z determinantami molekularnymi patogenów. Interakcja ta prowadzi do degranulacji granulocytów i uwolnienia peptydu PSP (ang. *plasmacyte spreading peptide*), który odpowiada za rekruta-



Rycina 6. Uproszczony schemat fagocytozy. PRR – receptory rozpoznające wzorce molekularne patogenów; PAMPs – wzorce molekularne patogenów; ROS – wolne rodniki tlenu. Opracowanie własne.



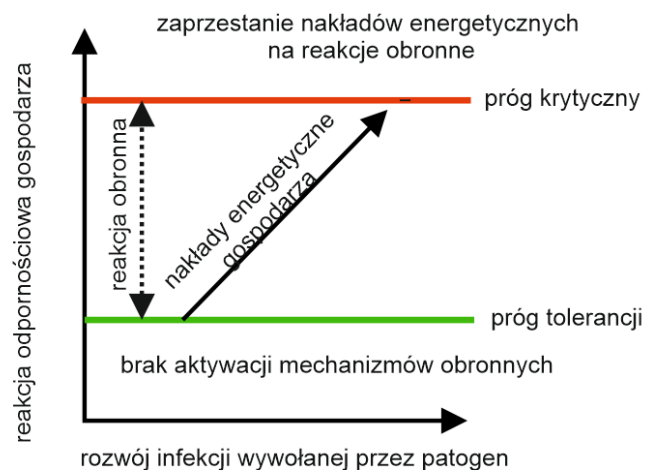
Rycina 7. Uproszczony schemat przebiegu procesu nodulacji i inkapsulacji. DAMPs – wzorce molekularne uszkodzonych komórek; PAMPs – wzorce molekularne patogenów; PRR – receptory rozpoznające wzorce molekularne patogenów; ROS – wolne rodniki tlenu; RNS – wolne rodniki azotu. Opracowanie własne.

cję kolejnych plazmatocytów. Hemocyty otaczają patogeny tworząc wielowarstwową otoczkę izolującą drobnoustroje od środowiska zewnętrznego. Do powstałych kompleksów mogą także dołączać się oenocytoidy, odpowiedzialne za proces melanizacji w utworzonych agregatach. Wraz ze wzrostem grubości otoczki, spada liczba rekrutowanych plazmatocytów. Ostatecznie utworzona kapsuła lub noduła opłaszczona zostaje otoczką złożoną z granulocytów, białek fibrylarnych, białek macierzy i proteoglikanów. Do zabicia zamkniętych w nodulach i kapsułach patogenów może dochodzić dzięki uwolnieniu wolnych rodników tlenu, ROS (ang. *reactive oxygen species*) i azotu, RNS (ang. *reactive nitrogen species*), a także chinonów [44,98-102].

INTERAKCJE GOSPODARZ-PATOGEN

Analiza mechanizmów interakcji zachodzących pomiędzy gospodarzem i atakującym go patogenem ma szczególnie ważne znaczenie z punktu widzenia nauk biologicznych, medycyny i weterynarii. Dokładna znajomość takich oddziaływań pozwala na skuteczniejszą walkę z patogenami, projektowanie nowych cząsteczek bioaktywnych i zapobieganie rozwojowi infekcji [103]. W roku 1973 Van Valen [104] opracował hipotezę Czerwonej Królowej (ang. *Red Queen Hypothesis*) według której, śmierć określonych gatunków jest determinowana przez warunki ekologiczne. Zgodnie z hipotezą Czerwonej Królowej, wszystkie gatunki posiadają określony zestaw cech adaptacyjnych z powodu narażenia na zagrożenia ze strony innych organizmów. Oddziaływania pomiędzy patogenem a gospodarzem opierają się o ewolucyjny model „wyścigu zbrojeń” zaproponowany przez Dawkinsa i Krebsa [105] opisujący część ogólnej teorii Czerwonej Królowej. Według zaproponowanego modelu drapieżnik i ofiara działają na siebie wzajemnie jako czynniki presji selekcyjnej. Każde z nich stara się rozwinąć nowe strategie, które pomogą im przezwyciężyć konkurenta [106]. Siłą napędową ciągłej ewolucji populacji gospodarza i patogenu jest przekazywanie potomstwu zestawu cech pozwalających na adaptację do stale zmieniającego się środowiska. Dobór płciowy jest jedną z najważniejszych strategii rozrodczych wpływających na odniesienie sukcesu w wyścigu zbrojeń. Niedawno przeprowadzone badania wskazują, że poza rywalizacją przedkopulacyjną duże znaczenie ma także rywalizacja postkopulacyjna [107,108]. U *D. melanogaster* zaobserwowano zjawisko poliandrii – kopulacji samicy z kilkoma samcami, celem czego jest rywalizacja ejakulatów o zapłodnienie komórki jajowej. Prowadzi to do zapłodnienia komórki jajowej najsilniejszym materiałem genetycznym, czyli pochodzącym od samca, którego cechy zostają przekazane i w konsekwencji wyeliminowania genów, które przekazywane są przez pozostałe, słabsze osobniki [103,107,108]. Zmiany te mogą mieć charakter szybko wprowadzanych zarówno na poziomie genetycznym jak i epigenetycznym. Nowe allele „genów adaptacji” przekazywane są zarówno w populacji drapieżnika i ofiary, prowadzą kierunkową selekcję pozytywną, a cykliczność procesu prowadzi do nieustannej presji na każdego z przeciwników [106,109]. Ze względu na dużą skalę nakładów energetycznych do prowadzenia ciągłego „dobzbrajania” każdego z przeciwników „wyścig zbrojeń” nie może być procesem trwającym w nieskończoność. Do jego zakończenia może dojść w przypadku wyginięcia jednego

z konkurentów lub osiągnięcia przez jeden ze konkurujących gatunków stanu optimum przy jednoczesnej niemożności uzyskania takiego stanu przez przeciwnika [110]. Zarówno drapieżnik jak i ofiara mogą osiągnąć stan wzajemnego optimum jeśli przestają prowadzić wobec siebie presję selekcyjną. Długotrwale prowadzony wyścig zbrojeń może zmienić swój charakter na wprowadzanie rzadkich zmian kontradaptacyjnych przez każdego z przeciwników. Proces ten nazywany jest cyklem koewolucyjnym. Działania podejmowane przez drapieżnika i ofiarę przypominają „wojnę pozycyjną” (ang. *trench warfare*) polegającą na pozostaniu „w okopach” i wprowadzaniu rzadkich adaptacji przez konkurujące organizmy [111]. Pojawienie się „genu wirulencji” w populacji drapieżnika/patogenu pozwala na skuteczne atakowanie ofiary. Częstotliwość „genu wirulencji” w populacji drapieżnika zwiększa się. W odpowiedzi, w populacji ofiary pojawia się „gen odporności”, którego częstotliwość w populacji wzrasta, w skutek czego posiadanie przez drapieżnika „genu wirulencji” nie przynosi mu korzyści i częstotliwość jego występowania w populacji spada. Wraz ze wzrostem liczby osobników danej populacji posiadających allel niosący cechę kontradaptacyjną, przewaga zmniejsza się [109,111]. Analizując strategię owada w odpowiedzi na zakażenie patogenem, szczególną uwagę należy zwrócić na wydatki energetyczne jakie musi ponieść gospodarz, aby przeprowadzić skuteczną obronę organizmu. Zgodnie z teorią zaproponowaną przez Van Baalena, której główne założenia zobrazowano na rycinie 8, w przypadku gdy poziom infekcji nie przekracza progu tolerancji na patogen, gospodarzowi „nie opłaca się” wydatkować energii na aktywację mechanizmów obronnych. W sytuacji gdy próg tolerancji zostanie przekroczony, owad aktywuje mechanizmy obronne, ponosząc tym samym nakład energetyczny. W przypadku gdy infekcja rozwija się i osiąga próg krytyczny, powyżej którego prowadzenie skutecznej walki z patogenem jest niemożliwe, owad „woli” przeznaczyć energię na reprodukcję aby przedłużyć ciągłość gatunku, ponieważ „wie”, że ostatecznie przegra i zginie [112]. Teoria zaproponowana przez Van Baalena odpowiada modelowi tolerancji zgodnie, z którym możliwe są cztery warianty odpowiedzi na zakażenie [113]. W sytuacji gdy szkody wywołane infekcją przez patogen nie przekra-



Rycina 8. Główne założenia modelu nakładów energetycznych zaproponowane przez Van Baalena [112].

cząją wartości progowej, gospodarz nie podejmuje walki. Stan ten określany jest mianem tolerancji (ang. *tolerance*). Jeśli szkody wywołane infekcją patogenu przekroczą wartość progową, gospodarz aktywuje mechanizmy obronne. Dochodzi do aktywnego atakowania patogenu i likwidacji szkód wywołanych zakażeniem. W konsekwencji dochodzi do osiągnięcia stanu odporności (ang. *resistance*) przez organizm gospodarza. W przypadku rozwijającej się infekcji i braku postępów ze strony gospodarza dochodzi do osiągnięcia wartości krytycznej zakażenia, co w konsekwencji prowadzi do śmierci owada. W tym wariancie obserwuje się unikanie przez patogen mechanizmów obronnych aktywowanych przez gospodarza. Czwarty wariant polega na aktywnym hamowaniu reakcji odpornościowej, aktywowanej po przekroczeniu progu tolerancji na infekcję patogenem, co w konsekwencji prowadzi do rozwoju zakażenia w organizmie owada i jego zabicia [113]. Mechanizmy obronne jakie podejmuje owad w odpowiedzi na zakażenie patogenem warunkowane są ograniczeniami związanymi z nakładami energetycznymi jakimi dysponuje. W tym kontekście optymalne z perspektywy gospodarza wydaje się prowadzenie strategii obronnych o niskim nakładzie energetycznym przeciwko patogenom o niskim potencjalne wirulencji, a także dysponowanie skutecznymi jednak wysokoenergetycznymi strategiami obronnymi przeciwko rzadkim patogenom o wysokim potencjalne wirulencji. Owad „musi” również posiadać zaplecze energetyczne związane z wykonywaniem podstawowych czynności fizjologicznych. Nierzadko działania obronne jakie podejmuje gospodarz mogą mieć negatywny wpływ na jego organizm. W kontekście interakcji owad-patogen niezwykle istotne wydają się zdolności adaptacyjne układu odpornościowego, polegające na jego plastyczności. Mogą to być mechanizmy polegające na „zapamiętywaniu” zakażenia i uruchomieniu skuteczniejszej reakcji po powtórny kontakt z patogenem [22,114].

ŚRODOWISKOWE MODULATORY UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO OWADÓW

Na przebieg zakażenia mają wpływ warunki środowiskowe takie jak temperatura, wilgotność powietrza czy nasłonecznienie [115]. Horsfall i Cowlinga opracowali model trójkąta chorobowego opisującego zależność, w którym przebieg choroby stanowi wypadkową wrażliwości owada na atakujący go patogen, zdolności patogenu do infekowania gospodarza, oraz czynników środowiskowych. Wśród środowiskowych modulatorów układu odpornościowego owadów, wyróżnia się czynniki biotyczne i abiotyczne [116].

CZYNNIKI BIOTYCZNE

Do czynników biotycznych zalicza się zachowania pomiędzy owadami żyjącymi w grupie, obecność symbiontów w organizmie owada, a także historię przebytych wcześniej infekcji [117]. W ostatnich latach zwraca się szczególną uwagę na rolę mikrobiomu w przebiegu interakcji między gospodarzem a patogenem. W organizmie owada, jelito jest miejscem bytowania większości mikroorganizmów symbiotycznych. Sprzyjające bakterie wspomagają procesy detoksyfikacji i trawienia, a także uczestniczą w syntezie wielu witamin niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania

organizmu gospodarza [118,119]. Ponadto zasiedlanie jelit przez sprzyjające mikroorganizmy, zapobiega rozwojowi organizmów patogennych. Wiele symbiontów zdolnych jest do wytwarzania antybiotyków skierowanych wobec patogennych szczepów bakterii. Z drugiej strony organizm gospodarza musi regulować ilość i skład swojego naturalnego mikrobiomu, zwłaszcza, że wiele bakterii jelitowych, po dostaniu się do hemocelu, może powodować zaburzenie homeostazy organizmu gospodarza, prowadząc do poważnych zakażeń i jego śmierci [120,121]. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem owadów pozbawionych naturalnego mikrobiomu, wskazały na niższy poziom aktywacji układu odpornościowego owada, ze szczególnym uwzględnieniem poziomu syntezy peptydów odpornościowych [119,121,122]. Według Pradeu i Cooper (2012) organizm gospodarza zdolny jest do tolerowania obecności organizmów symbiotycznych ponieważ te ostatnie nie powodują zniszczenia komórek i tkanek gospodarza przez co nie aktywują mechanizmów reakcji odpornościowej [123]. Z drugiej strony zaobserwowano, że w odpowiedzi na powtórny kontakt z patogenem układ odpornościowy owadów może działać bardziej efektywnie. Mechanizm ten wiąże się z pojęciem plastyczności układu odpornościowego owadów, które wykształciły strategię adaptacyjną polegającą na „wyuczeniu zapamiętywania” przebytego zakażenia [124]. Zjawisko to określane jest mianem piętnowania immunologicznego (ang. *immune priming*). Pierwsze doniesienia dotyczące piętnowania immunologicznego zostały opublikowane w 1992 przez Faulhabera i Karpa którzy wykazali, że owady immunizowane najpierw martwymi komórkami *Pseudomonas aeruginosa* wykazują ochronę przed powtórny zakażeniem tą samą bakterią [125]. Odkrycie to zapoczątkowało szereg badań dotyczących piętnowania immunologicznego owadów. W przypadku *G. mellonella* potwierdzono, że owad ten jest bardziej odporny na *Candida albicans*, jeśli wcześniej narażony był na działanie subletalnej dawki *C. albicans* (piętnowanie homologiczne) lub *Saccharomyces cerevisiae* (piętnowanie heterologiczne), a także po uprzednim podaniu składników ściany komórkowej [47]. Zwiększenie odporności wykazano także po ponownym podaniu owadom konidiów *Aspergillus fumigatus* [126] oraz po zakażeniu termicznie zabitymi komórkami *Photorhabdus luminescens*, jak również termicznie zabitymi komórkami *B. thuringiensis* [121,127]. Dowiedziono, że podanie subletalnej dawki bakterii *B. thuringiensis* larwom owadów *G. mellonella* prowadzi do wzrostu odporności na badany szczep bakterii po podaniu dawki letalnej [128]. Aktualnie w literaturze naukowej trwają dyskusje, w których przypadkach zwiększonej odporności można mówić o zapamiętywaniu infekcji, a w których możemy mówić o tzw. protekcji [114]. W kontekście omawianego zagadnienia warto zwrócić uwagę na zjawisko piętnowania immunologicznego między pokoleniami, TGIP (ang. *transgenerational immune priming*) polegające na zwiększeniu odporności potomstwa, gdy rodzice lub jeden z nich został zarażony tym samym (piętnowanie homologiczne między pokoleniami) lub innym (piętnowanie heterologiczne między pokoleniami) patogenem [129,130]. Badania dotyczące mechanizmów leżących u podstaw TGIP dostarczyły dowodów na kluczowy udział matki w omawianym mechanizmie. Wykazano, że bakterie lub ich fragmenty mogą być przenoszone bezpośrednio do jaj poprzez

białka żółtka [131,132]. Inni autorzy wskazują na rolę zmian epigenetycznych, które mogą odpowiadać za obserwowane zwiększenie odporności u potomstwa na drodze piętnowania międzypokoleniowego, co wyjaśniałoby przekazywanie zwiększonej odporności przez samców [133]. Piętnowanie międzypokoleniowe jest procesem kosztownym energetycznie - wykazano, że przekazanie odporności potomstwu, było związane także, że spadkiem jego zdolności reprodukcyjnych w kolejnych pokoleniach [130,134]. Istnieje coraz więcej doniesień naukowych dotyczących transstadialnego piętnowania immunologicznego (ang. *transstadial immune priming*). Mechanizm ten polega na przekazywaniu odporności pomiędzy stadiami rozwojowymi owadów i dotychczas wykazany został u komarów. Dowiedziono, że *Anopheles gambiae*, które przeżyły zakażenie bakteriami *E. coli* w stadium larwy, wykazywały zwiększoną odporność na ten sam szczep bakteryjny w stadium *imago* [114,135]. Poznanie podstaw tego mechanizmu wymaga jednak dalszych badań.

CZYNNIKI ABIOTYCZNE

Jak wcześniej wspomniano, do czynników środowiskowych wpływających na modulację układu odpornościowego owadów należą także czynniki abiotyczne, do których zalicza się m. in. dostępność pokarmu, temperaturę i wilgotność. Rodzaj pożywienia i dostępność składników odżywczych ma bardzo duży wpływ na poziom reakcji odpornościowej [121]. Na przykład u *D. melanogaster* wykazano, że wraz ze spadkiem dostępności pożywienia, spada szybkość syntezy peptydów odpornościowych [135]. Owady jako zwierzęta zmiennocieplne, nie mogą regulować temperatury ciała poprzez procesy metaboliczne. Najprostszym działaniem jakie mogą podjąć aby doprowadzić do jej podwyższenia jest ekspozycja ciała na światło słoneczne lub tworzenie skupisk z innymi owadami, zwiększając temperaturę osobników. Zjawisko regulacji temperatury przez zmianę środowiska nazywa się „gorączką behawioralną” (ang. *behavioural fever*) [136]. Proces ten może zwiększyć zdolności odpornościowe owadów. Wykazano, że narażenie na stres temperaturowy jako czynnik abiotyczny może pozytywnie wpływać na reakcje odpornościowe owadów [36]. W wyniku narażenia na wysoką temperaturę w organizmie owadów dochodzi do aktywacji szeregu genów kodujących białka szoku cieplnego Hsp (ang. *heat shock proteins*). Poza tym, że jednym z zadań Hsp jest odpowiedź na stres temperaturowy, białka te zaangażowane są w ochronę składników komórki przeciwko innym czynnikom stresowym [137]. Białka Hsp mogą pełnić funkcję sygnałów niebezpieczeństwa, informując o uszkodzeniu komórek i tkanek owada. Białko Hsp90 jest jednym z kluczowych elementów zaangażowanych w aktywację odpowiedzi na zakażenie oraz na stres temperaturowy. Jego działanie jest przykładem mechanizmu *cross-tolerance*, polegającego na równoczesnej aktywacji danego czynnika efektorowego przez różne szlaki sygnałowe [22,138,139]. Poza tym, wyróżnia się także mechanizm *cross-talk* występujący, gdy dany czynnik efektorowy syntetyzowany w odpowiedzi na jeden typ stresu wykazuje działanie protekcyjne wobec innego rodzaju stresu. W wyniku narażenia owada na stres temperaturowy, dochodzi do ekspresji genów kodujących Hsp, dzięki czemu zapewniona jest dodatkowa ochrona

organizmu gospodarza przed szkodami wywoływanymi przez patogen [22,140].

PODSUMOWANIE

Owady, mimo posiadania jedynie wrodzonych mechanizmów obronnych, doskonale radzą sobie z infekcjami dzięki plastyczności ich układu odpornościowego. Synergistycznie działanie białek i peptydów hemolimfy, sprawia że owady potrafią dostosować „repertuar” peptydów, maksymalnie zwiększając aktywność odpornościową. Szczególne znaczenie ma to w przypadku piętnowania. Te cechy układu odpornościowego owadów przyczyniły się do ich ogromnego sukcesu ewolucyjnego. Zdolności adaptacyjne ich mechanizmów odpornościowych mogą stanowić kluczową broń w walce z patogenami. W kontekście przyszłych badań nad układem odpornościowym owadów, istnieje fascynująca perspektywa zgłębienia mechanizmów adaptacyjnych owadów. Nowe odkrycia w dziedzinie biologii molekularnej oraz immunobiologii owadów przybliżają nas do lepszego zrozumienia fundamentalnych procesów zachodzących w układzie odpornościowym owadów i przynoszą nowe spojrzenie na ogół mechanizmów obronnych w świecie przyrody.

PIŚMIENNICTWO

1. Kwadha C, Ong'amo G, Ndegwa P, Raina S, Fombong A (2017) The Biology and Control of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. Insects 8(2): 61
2. Desai AV, Siddhapara MR, Patel PK (2019) Biology of greater wax moth, *Galleria mellonella*. On artificial diet. J Exp Zool India 22: 1267–1272
3. Spangler HG (1985) Sound production and communication in the greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae). Ann Entomol Soc Am 78: 54–61
4. Spangler HG (1986) Functional and temporal analysis of sound production in *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). J Comp Physiol A 159: 751–756
5. Ellis JD, Graham JR, Mortensen A (2013) Standard methods for wax moth research. J Apic Res 52: 1–17
6. Hosamani V, Hanumantha Swamy BC, Kattimani KN (2017) Studies on biology of greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). Int J Curr Microbiol App Sci 6: 3811–3815
7. Rahman A, Bharali P, Borah L (2017) Postembryoni development of *Galleria mellonella* L. and its management strategy. J Entomol Zool Stud 5: 1523–1526
8. Opoosun OO, Odebiyi JA (2009) Life Cycle Stages of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). Nigerian Journal of Entomology 26: 21–27
9. Cook SM, McArthur JD (2013) Developing *Galleria mellonella* as a model host for human pathogens. Virulence 4 (5): 350–353
10. Champion OL, Wagley S, Titball RW (2016) *Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research. Virulence 7 (7): 840–84
11. Cotter G, Doyle S, Kavanagh K (2000) Development of an insect model for the in vivo pathogenicity testing of yeasts. FEMS Immunol Med Microbiol 27: 163–169
12. Brennan M, Thomas DY, Whiteway M, Kavanagh K (2002) Correlation between virulence of *Candida albicans* mutants in mice and *Galleria mellonella* larvae. FEMS Immunol Med Microbiol 34 (2): 153–157
13. Desalermos A, Fuchs B, Mylonakis E (2012) Selecting an Invertebrate Model Host for the Study of Fungal Pathogenesis. PLoS Pathogens 8(2): e1002451

14. Andrejko M (2016) Modułacja humoralnej odpowiedzi odpornościowej gąsienic *Galleria mellonella* przez enzymy proteolityczne bakterii *Pseudomonas aeruginosa*. Postępy Mikrobiologii 55 (3): 255–267
15. Langen G, Imani J, Altincicek B, Kieseritzky G, Kogel KH, Vilcinskas A (2006) Transgenic expression of gallerimycin, a novel antifungal insect defensin from the greater wax moth *Galleria mellonella*, confers resistance to pathogenic fungi in tobacco. Biol Chem 387: 549–557
16. Bombelli P, Howe CJ, Bertocchini F (2017) Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. Curr Biol 27: 292–293
17. Ren Bono LM, Draghi JA, Turner PE (2020) Evolvability Costs of Niche Expansion. Trends Genet 36(1):14–23
18. Pivato AF, Miranda GM, Prichula J, Lima JEA, Ligabue RA, Seixas A, Trentin DS, (2022) Hydrocarbon-based plastics: Progress and perspectives on consumption and biodegradation by insect larvae. Chemosphere 293: 133600
19. Kavanagh K, Reeves EP (2004) Exploiting the potential of insects for *in vivo* pathogenicity testing of microbial pathogens. FEMS Microbiol Rev 28 (1): 101–112
20. Vilmos P, Kurucz E (1998) Insect immunity: evolutionary roots of the mammalian innate immune system. Immunol Lett 62(2): 59–66
21. Chambers MC, Schneider DS (2012) Pioneering immunology: insect style. Curr Opin Immunol 24: 10–14
22. Sinclair BJ, Ferguson LV, Salehipour-shirazi G, MacMillan HA, (2013) Crosstolerance and Cross-talk in the Cold: Relating Low Temperatures to Desiccation and Immune Stress in Insects. Integr Comp Biol 53(4): 545–556
23. Klowden M (2013) Physiological systems in insects. Amsterdam: Academic Press
24. Moussian B (2010) Recent advances in understanding mechanisms of insect cuticle differentiation. Insect Biochem Mol Biol 40(5): 363–375
25. Hegedus D, Erlandson M, Gillott C, Toprak U (2009) New insights into peritrophic matrix synthesis, architecture, and function. Ann Rev Entomol 54 (1): 285–302
26. Hultmark D (2003) *Drosophila* immunity: paths and patterns. Curr Opin Immunol 15: 12–19
27. Gliński Z, Buczek K, Marć M (2011) Zjawiska i mechanizmy odporności przeciwzakaznej pszczoły miodnej – nowe osiągnięcia. Życie Weterynaryjne 86 (9): 687–694
28. Neyen C, Runchel C, Schüpfer F, Meier P, Lemaitre B (2016) The regulatory isoform rPGRP-LC induces immune resolution via endosomal degradation of receptors. Nat Immunol 17(10): 1150–1158
29. El Chamy L, Leclerc V, Caldelari I, Reichhart JM (2008) Sensing of 'danger signals' and pathogen-associated molecular patterns defines binary signaling pathways 'upstream' of Toll. Nat. Immunol 9: 1165–1170
30. Kim Y, Ryu J, Han S, Choi K, Nam K, Jang I (2000) Gram-negative Bacteria-binding Protein, a Pattern Recognition Receptor for Lipopolysaccharide and β -1,3-Glucan That Mediates the Signaling for the Induction of Innate Immune Genes in *Drosophila melanogaster* Cells. J Biol Chem 275(42): 32721–32727
31. Khush RS, Leurier F, Lemaitre B (2003) Pathogen surveillance – the flies have it. Science 296: 273–277
32. Charroux B, Royet J (2010) *Drosophila* immune response: From systemic antimicrobial peptide production in fat body cells to local defense in the intestinal tract. Fly 1: 40–47
33. Myllymäki H, Rämet M (2014) JAK-STAT Pathway in *Drosophila* Immunity. Scand J Immunol 79(6): 377–385
34. Vogel H, Altincicek B, Glöckner G, Vilcinskas A (2011) A comprehensive transcriptome and immune-gene repertoire of the lepidopteran model host *Galleria mellonella*. BMC Genomics 12: 308
35. Weers P, Ryan R (2006) Apolipophorin III: Role model apolipoprotein. Insect Biochem Mol Biol 36(4): 231–240
36. Wojda I (2017) Immunity of the greater wax moth *Galleria mellonella*. Insect Science 24(3): 342–357
37. Bolouri Moghaddam MR, Tonk M, Schreiber C, Salzig D, Czermak P, Vilcinskas A, Rahnamaeian M (2016) The potential of the *Galleria mellonella* innate immune system is maximized by the copresentation of diverse antimicrobial peptides. Biol Chem 397 (9): 939–945
38. Wojda I, Cytryńska M, Zdybicka-Barabas A, Kordaczuk J (2020a) Insect Defense Proteins and Peptides. Subcell Biochem 94:81–121
39. Cruz J, Ortiz C, Guzmán F, Fernández-Lafuente R, Torres R (2014) Antimicrobial peptides: promising compounds against pathogenic microorganisms. Curr Med Chem 21: 1–23
40. Silva PM, Gonçalves S, Santos NC (2014) Defensins: antifungal lessons from eukaryotes. Front Microbiol 5 (97): 1–17
41. Wojda I, Staniec B, Sulek M, Kordaczuk J (2020b) The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies. Pathog Dis 78(9): ftaa057
42. Cytryńska M, Mak P, Zdybicka-Barabas A (2007) Purification and characterization of eight peptides from *Galleria mellonella* immune hemolymph. Peptides 28: 533–46
43. Kim CH, Lee JH, Kim I, Seo SJ, Son SM, Lee KY, Lee IH (2004) Purification and cDNA Cloning of a Cecropin-like Peptide from the Great Wax Moth, *Galleria mellonella*. Molecules Cells 17(2): 262–266
44. Brown SE, Howard A, Kasprzak AB, Gordon KH, East PD (2008) The discovery and analysis of a diverged family of novel antifungal moricin-like peptides in the wax moth *Galleria mellonella*. Insect Biochem Mol Biol 38: 201–212
45. Lee YS, Yun EK, Jang WS, Kim I, Lee JH, Park S, Ryu KS, Seo SJ, Kim CH, Lee IH (2004) Purification, cDNA cloning and expression of an insect defensin from the great wax moth, *Galleria mellonella*. Insect Mol Biol 13 (1): 65–72
46. Schuhmann B, Seitz V, Vilcinskas A, Podsiadlowski L (2003) Cloning and Expression of Gallerimycin, an Antifungal Peptide Expressed in Immune Response of Greater Wax Moth Larvae, *Galleria mellonella*. Arch Insect Biochem Physiol 53: 125–133
47. Bergin D, Murphy L, Keenan J, Clynes M, Kavanagh K (2006) Pre-exposure to yeast protects larvae of *Galleria mellonella* from a subsequent lethal infection by *Candida albicans* and is mediated by the increased expression of antimicrobial peptides. Microbes Infect 8: 2105–2112
48. Wojda I, Kowalski P, Jakubowicz T (2009) Humoral immune response of *Galleria mellonella* larvae after infection by *Beauveria bassiana* under optimal and heat-shock conditions. J Insect Physiol 55: 525–531
49. Sowa-Jasilek A, Zdybicka-Barabas A, Stączek S, Wydrych J, Mak P, Jakubowicz T, Cytryńska M (2014) Studies on the role of insect hemolymph polypeptides: *Galleria mellonella* anionic peptide 2 and lysozyme. Peptides 53: 194–201
50. Altincicek B, Linder M, Linder D, Preissner K, Vilcinskas A (2006) Microbial Metalloproteinases Mediate Sensing of Invading Pathogens and Activate Innate Immune Responses in the Lepidopteran Model Host *Galleria mellonella*. Infect Immun 75(1): 175–183
51. Cerenius L, Lee B, Söderhäll K (2008) The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. Trends Immunol 29(6): 263–271
52. Iwama R, Ashida M (1986) Biosynthesis of prophenoloxidase in hemocytes of larval hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*. Insect Biochem 16(3): 547–555
53. Kay S, Edwards J, Brown J, Dixon R (2019) *Galleria mellonella* Infection Model Identifies Both High and Low Lethality of *Clostridium perfringens* Toxigenic Strains and Their Response to Antimicrobials. Front Microbiol 10: 1281
54. Krachler AM, Sirisaengtaksin N, Monteith P, Paine CET, Coates CJ, Lim J (2021) Defective phagocyte association during infection of *Galleria mellonella* with *Yersinia pseudotuberculosis* is detrimental to both insect host and microbe. Virulence (1): 638–653
55. Trevijano-Contador N, Zaragoza O (2018) Immune Response of *Galleria mellonella* against Human Fungal Pathogens. J Fungi 5(1): 3
56. Jollès J, Schoentgen F, Croizier G, Croizier L, Jollès P (1979) Insect lysozymes from three species of lepidoptera: Their structural relatedness to the c (chicken) type lysozyme. J Mol Evol 14(4): 267–271

57. Mak P, Zdybicka-Barabas A, Cytryńska M (2010) A different repertoire of *Galleria mellonella* antimicrobial peptides in larvae challenged with bacteria and fungi. *Dev Comp Immunol* 34: 1129–1136
58. Mohamed AA, Zhang I, Dorrah MA, Elmogy M, Yousef HA, Bassal TTM, Duvic B (2016) Molecular characterization of a c-type lysozyme from the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). *Dev Comp Immunol* 60: 60–69
59. Sowa-Jasilek A, Zdybicka-Barabas A, Stączek S, Wydych J, Skrzypiec K, Mak P, Deryło K, Tchórzewski M, Cytryńska M (2016) *Galleria mellonella* lysozyme induces apoptotic changes in *Candida albicans* cells. *Microbiol Res* 193: 121–131
60. Yu K, Kim K, Lee J, Lee H, Kim S, Cho K, Nam M, Lee I (2002) Comparative study on characteristics of lysozymes from the hemolymph of three lepidopteran larvae, *Galleria mellonella*, *Bombyx mori*, *Agrius convolvuli*. *Dev Comp Immunol* 26: 707–713
61. Zdybicka-Barabas A, Mak P, Jakubowicz T, Cytryńska M (2014a) Lysozyme and defense peptides as suppressors of phenoloxidase activity in *Galleria mellonella*. *Arch Insect Biochem Physiol* 87(1): 1–12
62. Zdybicka-Barabas A, Palusińska-Szys M, Gruszecki WI, Mak P, Cytryńska M, (2014b) *Galleria mellonella* apolipophorin III – an apolipoprotein with anti-*Legionella pneumophila* activity. *Biochim Biophys Acta* 1838(10): 2689–2697
63. Ryan RO, Van der Horst DJ (2000) Lipid transport biochemistry and its role in energy production. *Ann Rev Entomol* 45: 233–260
64. Narajanaswami V, Kiss RS, Weers PM (2010) The helix bundle: a reversible lipid binding motif. *Comp. Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 155(2): 123–133
65. Dettlöff M, Kaiser B, Wiesner A (2001) Localization of injected apolipophorin III *in vivo* – new insights into the immune activation process directed by this protein. *J Insect Physiol* 47: 789–797
66. Niere M, Dettlöff M, Maier T, Ziegler M, Wiesner A (2001) Insect immune activation by apolipoprotein III is correlated with the lipid-binding properties of this protein. *Biochemistry* 40: 11502–11508
67. Contreras E, Rausell C, Real MD (2013) *Tribolium castaneum* apolipophorin-III acts as an immune response protein against *Bacillus thuringiensis* Cry3Ba toxic activity. *J Invertebr Pathol* 113(3): 209–213
68. Adamo SA (2017) The stress response and immune system share, borrow, and reconfigure their physiological network elements: evidence from the insects. *Hormones Behav* 88: 25–30
69. Wen D, Wang X, Shang L, Huang Y, Li T, Wu C, Zhang R, Zhang J (2016) Involvement of a versatile pattern recognition receptor, apolipophorin-III in prophenoloxidase activation and antibacterial defense of the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. *Dev Comp Immunol* 65: 124–131
70. Zindel J, Kubes P (2020) DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol* 15: 493–518
71. Whitten MM, Tew IF, Lee BL, Ratcliffe NA (2004) A novel role for an insect apolipoprotein (apolipophorin III) in beta-1,3-glucan pattern recognition and cellular encapsulation reactions. *J Immunol* 172(4): 2177–2185
72. Dunphy GB, Oberholzer U, Whiteway M, Zakarian RJ, Boomer I (2003) Virulence of *Candida albicans* mutants toward larval *Galleria mellonella* (Insecta, Lepidoptera, Galleridae). *Can J Microbiol* 49: 514–524
73. Zdybicka-Barabas A, Cytryńska M (2011) Involvement of apolipophorin III in antibacterial defense of *Galleria mellonella* larvae. *Comp Biochem Physiol* 158 (1): 90–98
74. Park SY, Kim CH, Jeong WH, Lee JH, Seo SJ, Han YS, Lee IH (2005) Effects of two hemolymph proteins on humoral defense reactions in the wax moth, *Galleria mellonella*. *Dev Comp Immunol* 29(1): 43–51
75. Zdybicka-Barabas A, Stączek S, Mak P, Skrzypiec K, Mendyk E, Cytryńska M (2013) Synergistic action of *Galleria mellonella* apolipophorin III and lysozyme against Gram-negative bacteria. *Biochim Biophys Acta* 1828: 1449–1456
76. Kim BY, Jin BR (2015) Apolipophorin III from honeybees (*Apis cerana*) exhibits antibacterial activity. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 182:6–13
77. Taszłow P, Wojda I (2015) Changes in the hemolymph protein profiles in *Galleria mellonella* infected with *Bacillus thuringiensis* involve apolipophorin III. The effect of heat shock. *Arch Insect Biochem Physiol* 88 (2): 123–143
78. Shaik HA, Sehna F (2009) Hemolin expression in the silk glands of *Galleria mellonella* in response to bacterial challenge and prior to cell disintegration. *J Insect Physiol* 55 (9): 781–787
79. Wedde M, Weise C, Kopacek P, Franke P, Vilcinskas A (1998) Purification and characterization of an inducible metalloprotease inhibitor from the hemolymph of greater wax moth larvae *Galleria mellonella*. *Eur J Biochem* 255(3): 535–543
80. Griesch J, Wedde M, Vilcinskas A (2000) Recognition and regulation of metalloproteinase activity in the haemolymph of *Galleria mellonella*: a new pathway mediating induction of humoral immune responses. *Insect Biochem Mol Biol* 30: 461–472
81. Clermont A, Wedde M, Seitz V, Podsiadlowski L, Lenze D, Hummel M, Vilcinskas A (2004) Cloning and expression of an inhibitor of microbial metalloproteinases from insects contributing to innate immunity. *Biochem J* 382: 315–322
82. Wedde M, Weise C, Nuck R, Antilcicek A, Vilcinskas A (2007) The insect metalloproteinase inhibitor gene of the lepidopteran *Galleria mellonella* encodes two distinct inhibitors. *Biol Chem* 388: 119–127
83. Joop G, Vilcinskas A (2016) Coevolution of parasitic fungi and insect hosts. *Zoology* 119(4): 350–358
84. Asai M, Sheehan G, Li , Robertson BD, Kavanagh K, Langford PR, Newton SM (2021) Innate Immune Responses of *Galleria mellonella* to *Mycobacterium bovis* BCG Challenge Identified Using Proteomic and Molecular Approaches. *Front Cell Infect Microbiol* 9(11): 619981
85. Altincicek B, Vilcinskas A (2006) Metamorphosis and collagen-IV-fragments stimulate innate immune response in the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Dev Comp Immunol* 30(12): 1108–1118
86. Vertyporokh L, Wojda I (2017) Expression of the insect metalloproteinase inhibitor IMPI in the fat body of *Galleria mellonella* exposed to infection with *Beauveria bassiana*. *Acta Biochim Pol* 64(2): 273–278
87. Parasa VR, Muvva JR, Rose JF, Braian C, Brighenti S, Lerm M (2017) Inhibition of Tissue Matrix Metalloproteinases Interferes with *Mycobacterium tuberculosis*-Induced Granuloma Formation and Reduces Bacterial Load in a Human Lung Tissue Model. *Front Microbiol* 5,8: 2370
88. Fröbuis AC, Kanost MR, Götz P, Vilcinskas A (2000) Isolation and characterization of novel inducible serine protease inhibitors from larval hemolymph of the greater wax moth *Galleria mellonella*. *Eur J Biochem* 267: 2046–2053
89. Ling E, Yu X (2005) Prophenoloxidase binds to the surface of hemocytes and is involved in hemocyte melanization in *Manduca sexta*. *Insect Biochem Mol Biol* 35(12): 1356–1366
90. Price C, Ratcliffe N (1974) A reappraisal of insect haemocyte classification by the examination of blood from fifteen insect orders. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 147(4): 537–554
91. Brehelin M (1986) Immunity in Invertebrates. Cells, Molecules, and Defense Reactions. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag
92. Lavine M, Strand M (2002) Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochem Mol Biol* 32(10): 1295–1309
93. Strand M (2008) The insect cellular immune response. *Insect Science* 15(1): 1–14
94. Sass M, Kiss A, Locke M (1994) Integument and Hemocyte Peptides. *J Insect Physiol* 40(5): 407–421
95. Bergin D, Brennan M, Kavanagh K (2003) Fluctuations in haemocyte density and microbial load may be used as indicators of fungal pathogenicity in larvae of *Galleria mellonella*. *Microbes Infect* 5(15): 1389–1395
96. Rasmuson T, Boman HG (1979) Insect immunity – V. Purification and some properties of immune protein P4 from haemolymph of *Hyalophora cecropia* pupae. *Insect Biochem* 9(3): 259–264
97. Choi J, Whitten M, Cho M, Lee K, Kim M, Ratcliffe, Lee B (2002) Calreticulin enriched as an early-stage encapsulation protein in wax moth *Galleria mellonella* larvae. *Dev Comp Immunol* 26(4): 335–343
98. Pech LL, Strand MR (1996) Granular cells are required for encapsulation of foreign targets by insect haemocytes. *J Cell Sci* 109: 2053–2060

99. Clark KD, Pech LL, Strand MR (1997) Isolation and identification of a plasmacyte-spreading peptide from the hemolymph of the lepidopteran insect *Pseudoplusia includens*. *J Biol Chem* 272: 23440–23447
100. Marmaras V, Lampropoulou M (2009) Regulators and signalling in insect haemocyte immunity. *Cell Signal* 21(2): 186–195
101. Srikanth K, Park J, Stanley DW, Kim Y (2011) Plasmacyte-spreading peptide influences hemocyte behavior via eicosanoids. *Arch Insect Biochem Physiol* 78 (3): 145–160
102. Dubovskiy IM, Kryukova NA, Glupov VV, Ratcliffe NA (2016) Encapsulation and nodulation in insects. *Invertebrate Survival Journal* 13: 229–246
103. Grether GF, Okamoto KW (2022) Eco-evolutionary dynamics of interference competition. *Ecol Lett* 25(10): 2167–2176
104. Van Valen L (1973) A New Evolutionary Law. *Evolutionary Theory* 1: 1–3
105. Dawkins R, Krebs JR (1979) Arms races between and within species. *Proc of R Soc Lond B Biol Sci* 205: 489–511
106. Hall AR, Scanlan PD, Morgan AD, Buckling A (2011) Host-parasite coevolutionary arms races give way to fluctuating selection. *Ecol Lett* 14(7): 635–642
107. Morimoto J, McDonald GC, Smith E, Smith DT, Perry JC, Chapman T, Pizzari T, Wigby S (2019) Sex peptide receptor-regulated polyandry modulates the balance of pre- and post-copulatory sexual selection in *Drosophila*. *Nat Commun* 10(1): 283
108. Zhao Y, Lu GA, Yang H, Lin P, Liufu Z, Tang T, Xu J (2021) Run or Die in the Evolution of New MicroRNAs – Testing the Red Queen Hypothesis on *De Novo* New Genes. *Mol Biol Evol* 38(4): 1544–1553
109. Flores-Ponce M, Vallebuena-Estrada M, González-Orozco E, Ramos-Aboites HE, García-Chávez JN, Simões N, Montiel R (2017) Signatures of co-evolutionary host-pathogen interactions in the genome of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *BMC Evol Biol* 17(1): 108
110. Kosiol C, Vinar T, da Fonseca RR, Hubisz MJ, Bustamante CD, Nielsen R, Siepel A (2008) Patterns of positive selection in six Mammalian genomes. *PLoS Genet* 4(8): e1000144
111. Tellier A, de Vienne DM, Giraud T, Hood ME, Réfrégier G (2010) Theory and Examples of Reciprocal Influence Between Hosts and Pathogens. From Short Term to Long Term Interactions: Coevolution, Cospeciation and Pathogen Speciation Following Host Shifts. W: AW Barton, Host-Pathogen Interactions: Genetics, Immunology, and Physiology. New York: Nova Science Publishers Inc
112. Van Baalen M (1998) Coevolution of recovery ability and virulence. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 265: 317–325
113. Moreno-García M, Condé R, Bello-Bedoy R, Lanz-Mendoza H (2014) The damage threshold hypothesis and the immune strategies of insects. *Infect Genet Evol* 24: 25–33
114. Sulek M, Kordaczuk J, Wojda I (2021) Current understanding of immune priming phenomena in insects. *J Invertebr Pathol* 185: 107656
115. Ortiz-Urquiza A, Keyhani NO (2013) Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi *versus* the Insect Cuticle. *Insects* 4: 357–374
116. Horsfall JG, Cowling EB (1980) How Plants Defend Themselves. W: JG Horsfall, Plant Disease. An Advanced Treatise, volume V. New York: Academic Pres
117. El-Seedi HR, Ahmed HR, El-Wahed AAA, Saeed A, Algethami AF, Attia NF, Guo Z, Musharraf SG, Khatib A, Alsharif SM, Naggat YA, Khalifa SAM, Wang K (2022) Bee Stressors from an Immunological Perspective and Strategies to Improve Bee Health. *Vet Sci* 9(5): 199
118. Paramasiva I, Shouche Y, Kulkarni GJ, Krishnayya PV, Akbar SM, Sharma HC (2014) Diversity in gut microflora of *Helicoverpa armigera* populations from different regions in relation to biological activity of *Bacillus thuringiensis* δ endotoxin Cry1Ac. *Arch Insect Biochem Physiol* 87(4): 201–213
119. Gupta A, Nair S (2020) Dynamics of Insect-Microbiome Interaction Influence Host and Microbial Symbiont. *Front Microbiol* 11: 1357
120. Lewis Z, Lizé A (2015) Insect behaviour and the microbiome. *Curr Opin Insect Sci* 9: 86–90
121. Wu G, Xu L, Yi Y (2016) *Galleria mellonella* larvae are capable of sensing the extent of priming agent and mounting proportionate cellular and humoral immuneresponses. *Immunol Lett* 174: 45–52
122. Abrudan MI, Smakman F, Grimbergen AJ, Westhoff S, Miller EL, van Wezel GP, Rozen DE (2015) Socially mediated induction and suppression of antibiosis during bacterial coexistence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112 (35): 11054–11059
123. Pradeu T, Cooper EL (2012) The danger theory: 20 years later. *Front Immunol* 3: 1–9
124. Sheehan G, Farrell G, Kavanagh K (2020) Immune priming: the secret weapon of the insect world. *Virulence* 11: 238–246
125. Faulhaber LM, Karp RD (1992) A diphasic immune response against bacteria in the american cockroach. *Immunol* 75: 378–381
126. Fallon JP, Troy N, Kavanagh K (2012) Pre-exposure of *Galleria mellonella* larvae to different doses of *Aspergillus fumigatus* conidia causes differential activation of cellular and humoral immune responses. *Virulence* 2: 413–421
127. Wu G, Zhao Z, Liu C, Qiu L (2014) Priming *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae with heat-killed bacterial cells induced an enhanced immune protection against *Photobacterium luminescens* TT01 and the role of innate immunity in the process. *J Econom Entomol* 107: 559–569
128. Taszlow P, Vertyporokh L, Wojda I (2017) Humoral immune response of *Galleria mellonella* after repeated infection with *Bacillus thuringiensis*. *J Invertebrate Pathol* 149: 87–96
129. Bozler J, Kacsoh BZ, Bosco G (2020) Maternal Priming of Offspring Immune System in *Drosophila*. *G3 (Bethesda)* 10: 165–175
130. Vilcinskis A (2021) Mechanisms of transgenerational immune priming in insects. *Dev Comp Immunol* 124: 104205
131. Herren JK, Paredes JC, Schüpfer F, Lemaitre B (2013) Vertical transmission of a *Drosophila* endosymbiont *via* cooption of the yolk transport and internalization machinery *MBio* 4: 1–8
132. Freitag D, Schmidtberg H, Dickel F, Lochnit G, Vogel H, Vilcinskis A (2014) The maternal transfer of bacteria can mediate trans-generational immune priming in insects. *Virulence* 5(4): 547–554
133. Eggert H, Kurtz J, Diddens-de Buhr MF (2014) Different effects of paternal trans-generational immune priming on survival and immunity in step and genetic offspring. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 281: 20142089
134. Schulz NKE, Sell MP, Ferro K, Kleinholting N, Kurtz J (2019) Trans-generational Developmental Effects of Immune Priming in the Red Flour Beetle *Tribolium castaneum*. *Front Physiol* 10: 98
135. Brown LD, Shapiro LLM, Thompson GA, Estevez-Lao TY, Hillyer JF (2019) Transstadial immune activation in a mosquito: Adults that emerge from infected larvae have stronger antibacterial activity in their hemocoel yet increased susceptibility to malaria infection. *Ecol Evol* 9: 6082–6095
136. Pletcher SD, Libert S, Skorupa D (2005) Flies and their golden apples: the effect of dietary restriction on *Drosophila* aging and age-dependent gene expression. *Ageing Res Rev* 4: 451–480
137. Anderson RD, Blanford S, Jenkins NE, Thomas MB (2013) Discriminating fever behavior in house flies. *PLoS One* 8 (4): 1–4
138. Jee H (2016) Size dependent classification of heat shock proteins: a mini-review. *J Exerc Rehab* 12(4): 255–259
139. Cytryńska M (2009) O odporności bez przeciwciał... *Postępy biologii komórki* 36(2): 309–324
140. Mattson MP, Calabrese EJ (2010) Hormesis: a revolution in biology, toxicology and medicine. Springer, Dordrecht

Insect immunity – adaptive mechanisms and survival strategies

Jakub Kordaczuk✉

Department of Immunobiology, Institute of Biological Sciences, Maria Curie-Skłodowska University in Lublin

✉corresponding author: jakub.kordaczuk@mail.umcs.pl

Keywords: insects, *Galleria mellonella*, antimicrobial peptides, innate immunity

ABSTRACT

Host–pathogen interactions play an important role in understanding the dynamics of the insect immune system. The analysis of environmental modulators, both biotic and abiotic, directs our attention to the impact of the surroundings on the effectiveness of immunological responses. This knowledge is essential for the comprehensive understanding of insect's immune reaction after infection with a pathogen. This article discusses the role of the immune system in insect, with a special emphasis on greater wax moth *Galleria mellonella* and highlights its adaptive capabilities. The processes are not only extremely interesting area of scientific research but also indicate potential practical applications in the context of plant protection, pest population control and medicine.

