

УДК 577.171-577.152.3

Балобанова С.П., Клунова С.М.

Московский педагогический государственный университет

**ЭФФЕКТ ДОЗЫ АНАЛОГА ЮВЕНИЛЬНОГО ГОРМОНА – ПРЕПАРАТА
«МАНТА», НА АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДОГИДРОЛАЗ ТКАНЕЙ
И ОРГАНОВ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА *BOMBYX MORI L***

S. Balobanova, S. Klunova

Moscow State Pedagogical University

**THE DOSE EFFECT OF “MANTA”, THE JUVENILE HORMONE ANALOGUE,
ON PEPTIDOHYDROLASE ACTIVITY IN TISSUES AND ORGANS
OF SILKWORM *BOMBYX MORI L*.**

Аннотация. Изучено влияние различных концентраций аналога ювенильного гормона (АЮГ) на активность ферментов протеолитического комплекса гемолимфы, фибринового и серицинового отдела шелкоотделительной железы. Выявлено, что биохимический эффект АЮГ тканеспецифичен и имеет для большинства энзимов бимодальный характер зависимости. Наибольшие изменения в исследуемых тканях претерпевает активность аспартатных и цистеиновых протеиназ с рН-оптимумом 3,0; 3,6 и 6,2. Предполагается, что бимодальный характер зависимости активности пептидаз от дозы АЮГ определяется множественностью большинства компонентов сигнал-трансдукторных систем насекомых.

Ключевые слова: протеолитические ферменты, *Bombyx mori L.*, аналог ювенильного гормона, экдизон, продуктивность насекомых.

Abstract. The effect of juvenile hormone analogue (JHA) concentrations on the proteolytic complex enzyme activity in hemolymph, anposterior and posterior silk gland was studied. The study revealed that the effect of JHA (или JHA effect) was tissue specific and had a bimodal dependence on most of the enzymes. The greatest changes in the tissue undergo active aspartate and cysteine proteases with a pH of 3.0, 3.6 and 6.2. It is supposed that the bimodal character of the dependence is determined by a plurality of most components of the signal-transductor systems of insects.

Key words: proteolytic enzyme complex, *Bombyx mori L.*, juvenile hormone analogue (JHA), ecdysone, productivity.

Одним из важных направлений развития современной эндокринологии насекомых является разработка вопроса о влиянии гормонов на активность (А) ферментов насекомых. Многочисленные исследования в этой области нашли широкое применение и стали теоретической базой для сельскохозяйственной энтомологии, в которой возникает принципиально новое направление, такое, как повышение продуктивности хозяйственно-полезных видов при посредстве регуляторов роста и развития гормональной природы. Для практики шелководства наиболее перспективным среди синтетических аналогов ювенильных гормонов (АЮГ) оказался препарат «Мантa», разработанный на основе метапрена сотрудниками фирмы Zoexon (США) специально для повышения продуктивности тутового шелкопряда [1; 2; 3; 4]. Несмотря на значительные успехи в понимании действия гормона на ферментные системы насекомых [5; 9], сведения о регуляторных эффектах как ювенильных гормонов, так и их аналогов, на процессы перестройки белков, катализируемых протеолитическими ферментами, в ходе шелкообразования и метаморфоза коконопрядающих насекомых, исследованы крайне неполны и ограничены. Целью настоящей работы явилось изучение влияния концентрации АЮГ, препарата «Мантa», на активность протеолитических ферментов (ПФ) в

© Балобанова С.П., Клунова С.М., 2011.

функционально-связанных тканях и органах – гемолимфе, серициновом и фиброиновом отделах шелкоотделительной железы (ШЖ)-тутового шелкопряда.

Методы исследования

Для изучения влияния концентрации АЮГ, препарата «Манта» на активность ПФ проводили топикальную обработку личинок 3-го дня V возраста тутового шелкопряда раствором, содержащим различные количества препарата. Для работы были выбраны следующие концентрации (С) препарата «Манта»: $0,0312 \times 10^{-4}$ мг активного вещества метапрена на 1 особь (Сх0,01); $0,312 \times 10^{-4}$ мг (Сх0,1); $1,56 \times 10^{-4}$ (Сх0,5); $3,12 \times 10^{-4}$ (Сх1); $4,68 \times 10^{-4}$ (Сх1,5); $6,24 \times 10^{-4}$ (Сх2); $7,8 \times 10^{-4}$ (Сх2,5); $9,36 \times 10^{-4}$ (Сх3). Через 24 часа после обработки личинок тутового шелкопряда препаратом АЮГ из его организма выделяли ткани и органы; экстрагировали из последних растворимые белки и определяли в полученных образцах общую протеолитическую активность методами Ансона и Кунитца [3].

Результаты и обсуждения

Экспериментальные данные, представленные на рисунке, свидетельствуют о том, что топикальная обработка личинок тутового шелкопряда вызывает дозозависимое увеличение активности ПФ в исследуемых тканях и органах. Полученные результаты доказывают, что пептидогидролазы 3-го дня заключительного этапа личиночного развития насекомого чувствительны к АЮГ, используемого нами в виде препарата «Манта». Биохимический эффект ювеноида на активность пептидаз [8] тканеспецифичен и в большинстве случаев имеет бимодальный характер в пределах исследуемых концентраций гормонального препарата. Исключение составляет лишь влияние дозы АЮГ на активность группы сериновых и цистеиновых протеиназ фиброинового и серицинового отделов ШЖ, функционирующих при рН 6,2, кривая эффекта зависимости А от [С] кото-

рых характеризуется наличием всего одного слабо выраженного пика.

Максимальный ответ на аппликацию АЮГ, выражающийся в увеличении активности ферментов в тканях насекомого в опыте по сравнению с контролем, выявлен при концентрации препарата «Манта» равной $0,132 \times 10^{-4}$ мг на особь (Сх1). При этом эффект влияния АЮГ на каждый из исследуемых ферментов строго индивидуален. Так, при отмеченной концентрации препарата возрастание активности пептидаз в серициновом отделе ШЖ в опыте по сравнению с контролем составляет для энзимов с оптимумами рН 2,6-112,87%, рН 3,0-129,68%, рН 3,6-222,12% и рН 6,2-142,6%. В гемолимфе при данной концентрации ювеноида происходит стимулирование активности тех же энзимов, только в иных пропорциях (ферменты с оптимумами рН действия 2,6 - 231,69%, рН 3,0 - 276,94%, рН 3,6 - 528,62% и рН 6,2 - 154,56%).

Второй максимум энзиматической активности выявляется при использовании концентрации препарата «Манта» Сх0,1 ($0,312 \times 10^{-4}$ мг на особь) как в серициновом отделе, так и в гемолимфе, однако увеличение активности пептидаз в данной точке менее значительно. Тканевая специфичность ответа на воздействие АЮГ в фиброиновом отделе ШЖ по сравнению с другими тканями проявляется в смещении максимума кривой зависимости А от [С] в зону меньших концентраций препарата (Сх0,5 и Сх0,1). Сходная закономерность отмечена при исследовании сверхмалых доз биологически активных пептидов на метаболизм белков и нуклеиновых кислот у насекомых [6].

Из анализа данных следует, что наиболее существенные изменения под воздействием разных доз используемого нами препарата в большинстве исследуемых тканей тутового шелкопряда претерпевает активность одних и тех же энзимов – аспартатных и цистеиновых протеиназ с рН-оптимумом действия 3,0; 3,6 и 6,2. Известно, что первые из них участвуют в гидролизе запасных белков на разных этапах онтогенеза насекомого [4; 8; 9]. Не исключено, что бимодальный характер

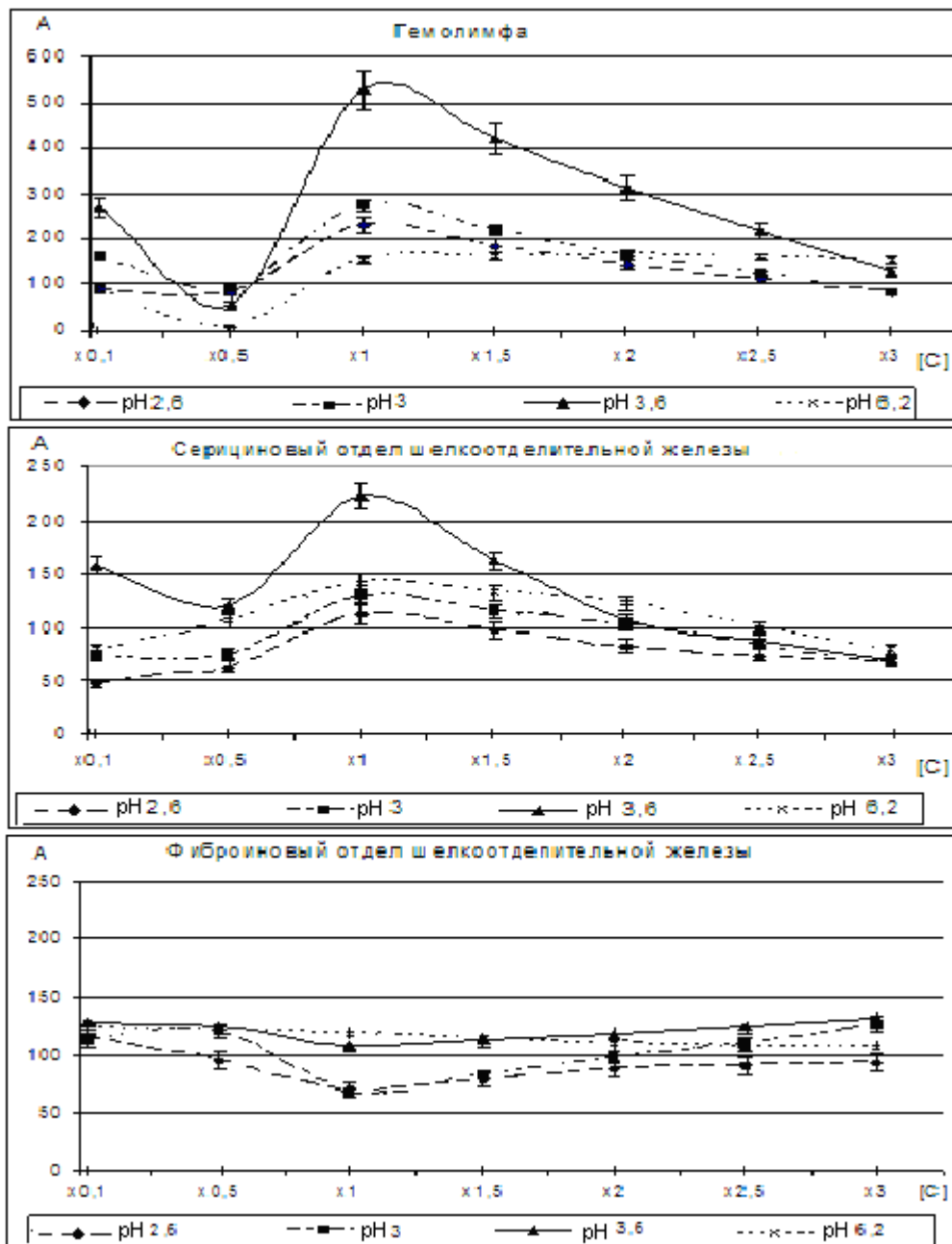


Рис. 1. Зависимость активности протеолитических ферментов от концентрации ЮАГ, препарата «Манта». По оси абсцисс – концентрация препарата «Манта»; по оси ординат – отклонение активности ферментов от контроля, %

зависимости активности пептидаз тутового шелкопряда от дозы АЮГ определяется множественностью большинства компонентов сигнал-трансдукторных систем насекомых. Доказано существование гетерогенных популяций стероидных, ювенильных и пептидных гормонов насекомых, их агонистов и

рецепторов. Известно, что регуляторные соединения образуют в организме насекомых сложную, взаимозависимую иерархическую систему. Предполагают, что ювенильные гормоны выполняют в ней функцию модификатора экдизона [7]. Тем не менее, можно полагать, что именно благодаря гетерогенности

компонентов сигнальных путей и различиям в величине сродства компонентов к определенным лигандам в тканях насекомого возникают определенные суммарные эффекты, обеспечивающие специфичность процессов катаболизма белков в них и создание уникальных для каждой из тканей фондов исходных структурных единиц для построения новых белков.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Богословский В.В. Биохимические тесты прогнозирования продуктивности и гетерозиса у тутового шелкопряда // Вестник Рос. академии с-х наук. 2009. № 2. С. 84-86.
2. Клунова С.М. Ферменты белкового обмена коконопряда насекомых: автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2005. 48 с.
3. Клунова С.М., Балобанова С.П. Изучения влияния аналога ювенильного гормона на активность протеолитического комплекса ферментов тканей и органов тутового шелкопряда *Bombyx mori* L. на заключительном этапе его личиночного развития // Вестник МГОУ. 2010. № 4. С. 77-81.
4. Клунова С.М., Ярыгин Д.В. Внутриклеточный протеолиз и его регуляция у насекомых: монография. М.: МПГУ, 2001. 104 с.
5. Кутузова Н.М. Гормональная регуляция активности некоторых ферментных систем насекомых: автореф. докт. биол. наук.-М.: ГОУ ВПО МПГУ, 2006. 48 с.
6. Минькова Н.О. Влияние лей-энкефалина и его синтетического аналога даларгина на метаболизм белков и нуклеиновых кислот у насекомых: автореф. к.б.н. М.: ГОУ ВПО МПГУ, 1999. 15 с.
7. Митрофанов В.Г. Молекулярно-генетические механизмы действия гормонов развития у насекомых // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 5. С. 330-344.
8. Немова Н.Н., Бондарева Л.А. К вопросу об эволюции протеолитических ферментов // Биомедицинская химия. 2008. Т. 54. Вып. 1. С. 42-57.
9. Bayer C., Zhou X., Zhou B. et al. Evolution of the broad locus: the *Manduca sexta* broad Z4 isoform has biological activity in *Drosophila* // Devel. Genes Evol. 2003. V. 213. № 10. P. 471-476.