

## LES PROTÉINES CONTENUES PAR LA GELÉE ROYALE – INSTRUMENT EMPLOYÉ DANS L'ÉLABORATION DES INGRÉDIENTS NECESSAIRES À LA SANTÉ

J. ŠIMÚTH<sup>1</sup>, Katarina BÍLIKOVÁ<sup>1</sup>, Elena KOVÁČOVÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Genetic Engineering, Institute of Chemistry, SK-84538 Bratislava,  
RÉPUBLIQUE SLOVAQUE

<sup>2</sup>Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences, Dubravska cesta 9,  
SK-84538 Bratislava, RÉPUBLIQUE SLOVAQUE  
E-mail: [chemsim@savba.sk](mailto:chemsim@savba.sk)

### Résumé

La qualité de produits de l'abeille mellifera (*Apis mellifera* L.) a été évaluée à base des propriétés statiques qu'on peut déterminer par des analyses chimiques, physiques et instrumentales. De nos jours, on accepte en général que la définition de la qualité des produits apicoles devrait être fondée sur les fonctions dynamiques de chacune de ses composantes. On a souvent accepté et utilisé la gelée royale comme une substance qui soutient la santé. Il y a de plus en plus de documents scientifiques qui viennent à l'appui de la conception selon laquelle les composantes bioactives les plus attractives des produits apicoles sont les protéines contenues par la gelée royale. La découverte récente conformément à laquelle les protéines de la gelée royale pourraient avoir des fonctions immunomodulatrices, qui suppriment les réactions allergiques, mais également des propriétés antihypertensives et de stimulation de la prolifération, a ouvert une nouvelle époque dans l'utilisation de la gelée royale et du miel d'abeille. Notre étude systématique de biologie moléculaire portant sur les protéines individuelles et sur les peptides contenues par la gelée royale a mis en évidence le fait que leur propriétés multifonctionnelles pourraient être employées comme marqueurs dans la standardisation des doses d'usage de la gelée royale, qui pourrait être consommée dans la diète quotidienne et qui, après avoir été ingérée, règle ou a de l'influence sur un certain processus physiologique. Les effets médicaux et pharmacologiques des produits apicoles seront quantifiés de façon plus exacte à la base de la quantité individuelle de protéines contenues dans la gelée royale ingérée chaque jour. On présentera les propriétés de chaque protéine contenue par la gelée royale, de même que leur fonctions physiologiques durant le développement larvaire et en tant qu'ingrédients de certains aliments fonctionnels.

**Mots-clé** : gelée royale de l'abeille mellifère / protéine / peptides / purification / propriétés physiologiques

### Introduction

La colonie d'abeilles mellifères, un super-organisme composé de cellules individuelles qui sont en fait les abeilles mellifères elles-mêmes, se reflète aussi dans les mécanismes en vertu desquelles les ouvrières butinent, transforment et conservent le nectar et le pollen et assurent la nourriture du couvain. Les protéines et les peptides synthétisées par les abeilles mellifères dans leur glandes céphaliques, jouent un rôle important dans des processus comme la nourriture et la protection du couvain contre les agents pathogènes.

La gelée royale est un produit de sécrétion des glandes céphaliques des abeilles nourrices et sert de nourriture aux abeilles mellifères. Grâce à son action prophylactique, on la distribue aux individus de la colonie (CRAILSHEIM, 1992). La gelée royale est un système de substances multiples, qui contient des protéines (12-15%), de l'eau (60-70%), des sucres complets (10-12%), des lipides (3-7%), des minéraux, de aminoacides et des vitamines (TAKENAKA, 1982 ; ŠIMÚTH, 2001). La gelée royale est considérée être un aliment nutritif unique élaborée dans la nature, tout au long de l'évolution des animaux.

Le couvain éclos est soigné et nourri par les jeunes abeilles mellifères qui, par les sécrétions de leur glandes céphaliques, fournissent de la gelée royale à la larve de la future reine, de la gelée d'ouvrière à la future ouvrière et de la gelée de bourdon à la larve du futur bourdon. Ces types de gélées ne diffèrent l'un de l'autre du point de vue de la composition chimique des composantes de base, à savoir les protéine, les carbohydrates et les lipides. La différence essentielle consiste dans le fait qu'à la différence de la gelée d'ouvrière, la gelée de reine contient une composante qui détermine ce que deviendra un œuf diploïde égale du point de vue génétique : une reine ou, dans l'absence de cette composante, une ouvrière. On n'a pourtant pas encore identifié cette composante. La clef de ce mécanisme de réglage se trouve codifiée dans les gènes spéciaux de l'abeille mellifère, qui sont activés au stade initial de développement larvaire de la

future reine et réprimées chez la larve de la future ouvrière. Il s'agit de la soi-disante manifestation différenciée des gènes, qui est souvent réglée sur des bases hormonales et qui est impliquée aussi dans le réglage de l'apparition d'autres gènes responsable de différents signaux phénotypiques qui différencient la reine de l'ouvrière. Grâce à cette différenciation et au fait que les abeilles mellifères nourrissent la reine avec de la gelée royale pendant toute sa vie, la reine a une plus longue durée de vie. Les reines vivent pour une période de 4 à 5 ans, tandis que les ouvrières ne vivent que 3 ou 4 semaines. Ce phénomène se trouve à la base de l'idée que la gelée royale serait la source de la longévité des gens. Bien que cette hypothèse n'ait pas été prouvée par les expérimentations, les récentes découvertes scientifiques suggèrent que, surtout les protéines contenues par la gelée royale, agiraient comme facteur de revitalisation dans la nutrition de l'homme. Les protéines sécrétées par les abeilles mellifères, entrant la composition de leur produits, ont des fonctions différentes dans la création des conditions optimales de développement de la colonie d'abeilles mellifères. Les glandes hypopharyngiennes, mandibulaires et salivaires représentent la source des plus importantes protéines d'abeilles mellifères. C'est dans ces glandes que sont concentrées des centaines de différentes protéines et peptides qui jouent un rôle essentiel dans la nourriture du couvain et dans sa différenciation, de même que dans la transformation du pollen floral dans des petites pelotes de pollen qui aboutissent finalement à la pain de pollen, et aussi dans la technologie unique de transformation du nectar en miel. Ces protéines, en tant que sécrétion *exogène* des abeilles mellifères, facilitent le contact direct avec la source de nourriture (les carbohydrates du nectar, les protéines du pollen) et de protection (la barrière de protection contre les agents pathogènes).

### **Les protéines exogènes de l'abeille mellifère**

#### ***La classification des protéines sécrétées par l'abeille mellifère en gelée royale et les produits qui en dérivent***

Une bonne quantité de la gelée royale est faite de protéines qui en constituent 50% environ de la masse sèche (ŠIMŮTH, 2001). Les protéines importantes constituent 90% de la quantité totale des protéines, ayant une masse moléculaire de 49-87 kDa attribuée à une protéine et une famille de gène (HANES et ŠIMŮTH, 1992; SCHMITZOVÁ et al., 1998; MALECOVÁ et al., 2003). Les protéines mineures contenues dans la gelée royale sont composées de protéines ayant de différentes fonctions, y compris des propriétés antimicrobiennes et antifongiques (FUJIWARA et al., 1990; BÍLIKOVÁ et al., 2001; BÍLIKOVÁ et al., 2002; BACHANOVÁ et al., 2002).

Selon leur fonctions, les protéines et les peptides exogènes des abeilles mellifères peuvent être classées comme il suit :

Les enzymes technologiques – impliqués dans la transformation du nectar en miel : la glucosidase, la glucosidase-oxydase, la catalase et l'amylase.

Les protéines nutritives – sont sécrétées dans la nourriture larvaire, étant la principale source protéique des larves de l'abeille mellifère.

Les protéines et les peptides de protection – sont sécrétées par les abeilles mellifères dans leur produits et protègent le couvain contre les agents pathogènes, tout au long de leur période de développement.

Les protéines et les peptides physiologiquement actives – remplissent des fonctions différentes dans le cadre de la colonie d'abeilles et agissent dans les processus des cultures de tissus des cellules des animaux, dans des conditions *in vitro*.

### **Les propriétés structurales de la gelée royale**

De façon générale, on définit la gelée royale comme étant une émulsion. L'investigation de la gelée royale à l'aide du microscope électronique de balayage (SEM) a relevé ses caractéristiques structurales uniques (ŠIMÚTH, 2001).

L'analyse au SEM a montré que, dans certaines zones, la couche de gelée royale contient des particules sphériques globulaires relativement grandes (Figure 1). Leur dimension varie entre 20 et 80  $\mu\text{m}$ . Ces "globules" étaient connectées entre elles par un système de canaux filamenteux. Le diamètre des filaments était de 2  $\mu\text{m}$  environ, et leur longueur variait. Agrandissant un globule encore davantage, on a observé irradiations à la surface en forme de coquille, les filaments qui irradiaient. On a émis l'hypothèse que la structure fine de la gelée royale était générée par les grandes hypopharyngiennes de l'abeille mellifère.

### **La préparation naturelle des protéines de la gelée royale**

Dans le but d'isoler les protéines d'une manière autant naturelle que possible, on a mis au point une méthode de fractionnement de la gelée royale par ultracentrifugation (ŠIMÚTH, 2001). On a obtenu de cette manière trois couches distinctes du point de vue physique. La fraction surnageante était un fluide vert-jaunâtre, nommé le plasma, qui représentait 61% (w/v) de la gelée royale originaire. Une fraction visqueuse de couleur jaunâtre-marron, nommée gelée, qui représentait la couche intermédiaire, ayant une consistance gélatineuse, représentait 32% de la quantité de gelée royale (w/v). Le sédiment blanc du fond (7% w/v de la gelée royale) semblait être une substance presque stable. Il y avait des quantités significatives d'acides gras concentrés dans des fractions à une teneur plus basse en eau. Lors de l'ultracentrifugation, on a obtenu une gelée semi-solide de couleur jaune dorée, qui ressemblait à l'ambre jaune. Les analyses biochimiques ont montré que c'était une protéine importante de la gelée royale (antérieurement nommée MRJP1) de type albumine, et par conséquent on lui a donné le nom d'*apalbumine-á*. Il est donc naturel de suggérer que de l'interaction entre l'*apalbumine-á* et les acides gras a résulté en la fraction protéique insoluble dans l'eau de la gelée royale. Il est intéressant à noter que d'autres protéines de la gelée royale, localisées surtout dans la fraction surnageante, à savoir l'*apalbumine-* (antérieurement nommée MRJP2) et l'*apalbumine-* (antérieurement nommée MRJP3) ne peuvent pas former un gel, bien qu'elles soient très ressemblantes à l'*apalbumine-* (SCHMITZOVÁ et al., 1998).

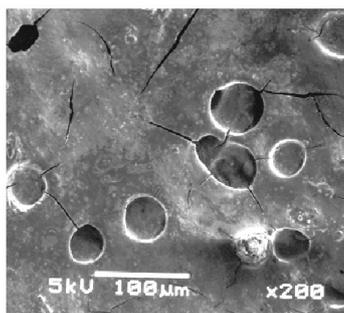


Fig. 1 – La visualisation au SEM des particules globulaires typiques de la gelée royale naturelle. Une cellule de reine contenait une larve âgée de 2 jours (*Apis mellifera carnica* L.) a été pris dans un rayon du rucher privé de l'auteur. La larve a été enlevée et la gelée royale de la cellule a été congelée à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  pour étudier en grand lignes avec le SEM les caractéristiques structurales de la gelée royale. Pour empêcher la destruction de la structure originare de la gelée royale on a omis les procédures de fixation. On a prélevé les spécimens de gelée royale des échantillons congelés. On les a exposés à la température de la chambre pendant 72 heures, de façon qu'ils puissent former une couche mince sur les disques en aluminium ayant un diamètre de 1,2 cm. Les échantillons ont été par la suite colorés sur le négatif avec du Cu dans une chambre à vide à 10–3 Pascal et examinés avec le SEM (Jeol, modèle JSM-580, Japon).

### **Les propriétés physiques et chimiques de l'*apalbumine-á***

L'apalbumine- a formé une structure subunitaire (ŠIMÚTH, 2001). La subunité de base a 420 kDa environ et est apparue du monomère de base 55 kDa. Les observations au microscope ont montré que l'apalbumine- forme dans des solutions aqueuses des structures similaires à celles rencontrées dans la gelée royale. En fonction de la concentration de l'apalbumine-, on a généré de différentes structures qui se répètent de façon régulière (Figure 2). Il s'agit d'une structure autoassemblante de la protéine, résultat de l'oligomérisation de ces subunités. Il est à noter que d'autres protéines de la gelée royale n'ont pas l'habileté d'oligomérisation, bien qu'elles disposent d'un haut degré de ressemblances séquentielles avec l'apalbumine-.

Quelle est la fonction des structures autoformatrices de l'apalbumine- dans la colonie d'abeilles mellifères? Il y a de nombreuses protéines beaucoup plus stables à l'intérieur des structures supramoléculaires que dans des formes monomériques. Si l'on prend en considération le contenu riche en protéines de la gelée royale, du point de vue théorique on ne peut donc pas supposer que toutes les protéines nutritives de la gelée royale sont immédiatement métabolisées. La concentration élevée d'acides aminés induirait une grande pression osmotique disproportionnée dans le tractus digestif de la larve. On a également constaté que l'apalbumine- apparaît également dans le miel et dans la pelote de pollen. L'abeille mellifère peut utiliser les propriétés structurales de l'apalbumine- dans la transformation du pollen floral en pelote de pollen. Il semble que l'abeille mellifère enveloppe le pollen dans l'albumine, comme s'il était un sandwich. L'apalbumine- est un facteur qui crée la texture de la gelée royale et des produits cosmétiques contenant de la gelée royale. Il semble que pendant le développement larvaire, l'apalbumine- remplit plusieurs fonctions que son rôle nutritionnel.

### **Les propriétés physiologiques des protéines contenues dans la gelée royale**

Peu de généralisations peuvent être faites sur les propriétés physiologiques des protéines importantes de la gelée royale. Bien que suggestives, les évidences comportementales n'indiquent pas de manière claire si les protéines majeures de la gelée royale ont les mêmes fonctions dans le stade du début ou dans celui tardif du développement larvaire. L'étude de la division de la protéine de la gelée royale dans l'intestin moyen de la larve (TSAO et SHUEL, 1968) a montré que certaines protéines de la gelée royale ont pu passer par l'épithélium sans avoir été soumises à un changement quelconque. La teneur élevée d'acides aminés essentiels leur a fixé le rôle nutritionnel à l'intérieur de la colonie d'abeilles.

La fraction protéique de la gelée royale produite par les abeilles mellifères contient de nombreuses composantes de valeur et des substances actives du point de vue biologique. Au-delà des protéines majeures de la gelée royale, elle contient plusieurs protéines mineures dans des quantités plus réduites, les peptides antibiotiques y compris (FUJIWARA et al., 1990 ; BÍLIKOVÁ et al., 2001 ; BÍLIKOVÁ et al., 2002).

Un intérêt particulier présentent les protéines et les peptides bioactives se trouvant dans la séquence acide aminé des protéines de la nourriture. Ces peptides, inactives dans le cadre de la séquence de la protéine parentale, peuvent être relâchées par la protéolyse enzymatique, par exemple pendant la digestion gastro-intestinale ou dans le processus de transformation de la nourriture. Une fois relâchées dans le corps, les peptides bioactives peuvent agir comme composantes régulatrices, ayant une activité semblable à celle des hormones. On n'a pas encore abouti à trouver les structures des séquences actives du point de vue biologique, et il est toujours nécessaire de continuer la recherche de la digestion enzymatique *in vitro* et / ou de la digestion gastro-intestinale *in vivo* des protéines spécifiques.

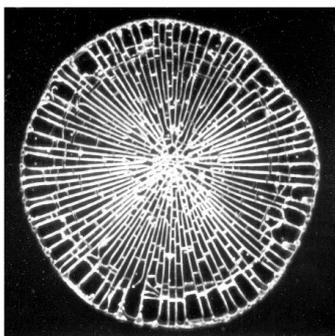


Fig. 2 – L'autoassemblage des structures filamenteuses régulières de l'apalbumine- $\alpha$ . La visualisation au microscope en lumière s'est effectuée à 20 minutes après avoir appliqué une goutte (3  $\mu$ l) d'apalbumine- $\alpha$  (80 mg per 1 ml d'eau) sur la lamelle couvre-objet.

Un intérêt particulier présentent les protéines et les peptides bioactives se trouvant dans la séquence aminoacide des protéines de la nourriture. Ces peptides, inactives dans le cadre de la séquence de la protéine parentale, peuvent être relâchées par la protéolyse enzymatique, par exemple pendant la digestion gastro-intestinale ou dans le processus de transformation de la nourriture. Une fois relâchées dans le corps, les peptides bioactives peuvent agir comme composantes régulatrices, ayant une activité semblable à celle des hormones. On n'a pas encore abouti à trouver les structures des séquences actives du point de vue biologique, et il est toujours nécessaire de continuer la recherche de la digestion enzymatique *in vitro* et / ou de la digestion gastro-intestinale *in vivo* des protéines spécifiques.

On n'a pas complètement évalué les composantes bioactives de la gelée royale ; toutefois, des études récentes *in vitro* démontrent que certaines protéines majeures de la gelée royale influent sur des processus physiologiques très importantes. On devrait prendre en considération les peptides bioactives de la gelée royale et de ses protéines les plus importantes comme des modulateurs potentiels de différents processus régulateurs de l'organisme. La relation existante entre l'activité et la structure et le mécanisme par lequel les protéines majeures de la gelée royale exercent leur effets immunomodulateurs n'ont pas encore été établis. Toutefois, les résultats obtenus en analysant les protéines 350 kDa et 55 kDa de la gelée royale, suggèrent l'idée que les protéines majeures de la gelée royale pourraient affecter les processus cellulaires importants. Les protéines 350 kDa, ayant une séquence aminoacide à terminal N, à savoir l'apalbumine- (SCHMITZOVÁ et al., 1998), stimulent la prolifération des monocytes humaines (la lignée de cellules U 937) et les hybridomes humain-humain (la lignée de cellules HB4C5) (KIMURA et al., 1995). Les auteurs cités ont découvert que les structures des chaînes de sucre à liaisons N de la protéine 350 kDa ont en réalité la structure typique de la mannose (Man9-GlcNAc2), qu'on rencontre de façon habituelle chez les animaux, les plantes, les insectes. La protéine 55 kDa de la gelée royale à terminal N de la séquence aminoacide, qui est identique à la deuxième protéine, importante du point de vue de l'abondance, qu'on rencontre dans la gelée royale, à savoir l'apalbumine- (SCHMITZOVÁ et al., 1998 ; c et al., 1999), maintient la variabilité élevée de la culture primaire de cellules de rat, mais ne stimule pas la prolifération des monocytes humaines (KIMURA et al., 1996). L'estimation des structures chimiques des protéines bioactives majeures de la gelée royale est le premier pas dans la découverte du mécanisme moléculaire des activités physiologiques en synergie avec d'autres composantes bioactives de la gelée royale.

Du point de vue de l'activité physiologique, la position dominante appartient aux protéines des albuminoïdes les plus abondantes dans la gelée royale : l'apalbumine- acide (ŠIMÚTH, 2001) et l'apalbumine- basique. (SCHMITZOVÁ et al., 1999), qui se trouvent également dans le cerveau de l'abeille mellifère (KIMURA et al., 1995; KUCHARSKI et MALESZKA, 2002). Ces découvertes auxquelles s'ajoutent les similarités entre le système immunitaire des insectes et celui des mammifères (DUSHAY et al., 1966; IMLER et HOFFMANN, 2001; BAUD et KARIN, 2001), ont montré que les protéines de la gelée royale pourrait être le facteur impliqué dans le réglage des processus physiologiques importants.

Les données portant sur les propriétés physiologiques des protéines de la gelée royale, à savoir la stimulation de la prolifération des monocytes humaines (KIMURA et al., 1995), ou les propriétés immunomodulatrices de la gelée royale (ŠVER et al., 1996), l'élimination des réactions allergiques (OKA et al., 2001), ou l'activité antihypertensive des peptides bioactives de la gelée royale (MATSUI et al., 2002) agrandissent son potentielle application en pharmaceutique et indiquent leur fonction naturelle dans l'évolution de l'abeille mellifère, où elles peuvent jouer le rôle d'induction du mécanisme de défense durant le développement larvaire. Si cette présupposition s'avère être correcte, les protéines de la gelée royale pourraient induire la production de biorégulateurs du type de la cytokine, qui ont une fonction importante dans le système immunitaire, dans les processus inflammatoires, pouvant prendre part au contrôle de la prolifération, de la différenciation et de l'apoptose des cellules. A cette présupposition se sont ajoutée nos expérimentations préliminaires, où on a détecté l'induction de cytokines par les protéines de la gelée royale dans les macrophages murins. Nos observations indiquent le fait que les protéines de la gelée royale sont responsables de la stimulation de la production de TNF- dans les monocytes humaines *in vitro* par 1% de solution aqueuse de miel (TONKS et al., 2001). Elles indiquent également que l'action des protéines d'abeilles mellifères peut stimuler un système spécifique (le réseau de cytokines) qui active les gènes responsables de la production de substances défensives, avant l'apparition de l'infection bactérienne.

L'abeille mellifère, comme d'autres insectes d'ailleurs, réagit aux infections bactériennes en induisant une plus grande quantité de gènes codifiés pour les peptides antimicrobiennes, qui sont par la suite sécrétées dans l'hémolymphe. Une telle réaction immunitaire est très rapide (surgit au bout de quelques heures), mais le plus souvent, non-spécifique (CASTEELS, 1997 ; ZASLOFF, 2002). Certaines peptides antimicrobiennes des abeilles mellifères (l'apidaecine, l'abaecine et l'hymenoptaecin) sont induites de façon spécifique et relâchées dans l'hémolymphe seulement après la disparition de l'infection bactérienne, tandis que la royalisine de défense (FUJIWARA et al., 1990) et l'apisimine (BILIKOVA et al., 2002) découvertes dans la gelée royale, sont probablement synthétisées tout au long de la vie de l'abeille mellifère. Les protéines et les peptides de la gelée royale peuvent participer au mécanisme de défense de l'abeille mellifère contre les agents pathogènes par une inactivation directe des microorganismes se trouvant dans les produits apicoles, tout comme par l'induction de cytokines qui participent au réglage de la transcription des protéines défensives et des peptides.

Les données obtenues à base des propriétés biochimiques et biologiques des protéines de la gelée royale serviront de fondement pour les génomes fonctionnels du système de défense de l'abeille mellifère contre les maladies ; aussi comprendra-t-on mieux les propriétés physiologiques des produits apicole en tant que composantes de la nourriture fonctionnelle. Il est difficile encore d'évaluer l'efficacité clinique de la gelée royale, mais on espère que les recherches découvrent les conditions d'activité de la gelée royale, le mécanisme d'action ou les doses appropriées et leur période d'application. Cette étude expérimentale au niveau moléculaire sur les protéines sécrétées par les abeilles mellifères dans leur produits est une tentative de définir la bioactivité des protéines et des peptides de la gelée royale, en tant que nutriments d'une réelle importance.

## REFERENCES

- Bachanová K., Klauđiny J., Kopernický J., Šimúth J. (2002) Identification of honeybee peptide active against *Paenibacillus* larvae larvae through bacterial growth-inhibition assay on polyacrylamide gel. *Apidologie* 33, 259-269
- Baud V., Karin M. (2001) Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends in Cell Biology* 11, 372-377
- Bíliková K., Klauđiny J., Šimúth J. (1999) Characterization of the basic major royal jelly protein MRJP2 of honeybee (*Apis mellifera* L.) and its preparation by heterologous expression in *E.coli*. *Biológia*, Bratislava 54, 733-739
- Bíliková K., Wu G., Šimúth J. (2001) Isolation of peptide fraction from honeybee royal jelly as antifaulbrood factor. *Apidologie* 32, 275-283
- Bíliková K., Hanes J., Nordhoff E., Saenger W., Klauđiny J., Šimúth J. (2002) Apisimin, a new serine valin-rich peptide from honeybee (*Apis mellifera* L.) royal jelly: purification and molecular characterization. *FEBS Letters* 528, 125-129
- Casteels P. (1997) Immune response in Hymenoptera, in: Molecular mechanisms of immune responses in insects. Breay, P. T., 24. Hultmark, D. (ed), Chapman and Hall, London, 92-110

- Crailsheim K. (1992) The flow of jelly within a honeybee colony. *J. Comp. Physiol. B.* 162, 681-689
- Dushay M. S., Asling B., Hultmark D. (1966) Origin of immunity: Relish, a compound Rel-like gene in the antibacterial defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 1034-1047
- Fujiwara S., Imai J., Fujiwara J., Yaeshima T., Kawashima T., Kobayashi K. (1990) A potent antibacterial protein in royal jelly. *J. Biol. Chem.* 265, 11333-11337
- Hanes J., Šimúth J. (1992) Identification and partial characterization of the major royal jelly protein of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *J. Apic. Res.* 31, 22 - 26
- Imler J. L., Hoffmann J. A. (2001) Toll receptors in innate immunity. *Trends in Cell Biology* 11, 304-310
- Kimura Y., Washino N., Yonekura M. (1995) N-linked sugar chains of 350 kDa royal jelly glycoprotein. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59, 507-509
- Kimura Y., Kajiyama S., Kanaeda J., Izukawa T., Yonekura M. (1996) N-linked sugar chain of 55 kDa royal jelly glycoprotein. *Biosci. Biotech. Biochem.* 12, 2099-2102
- Kucharski R., Maleszka R. (2002) Evaluation of differential gene expression during behavioral development in the honeybee using microarrays and northern blots. *Genome Biology* 3, research 0007.1-0007.9.
- Malecová B., Ramser J., O'Brien J. K., Janitz M., Júdová J., Lehrach H., Šimúth J. (2003) Honeybee (*Apis mellifera* L.) mrjp gene family: computational analysis of putative promoters and genomic structure of mrjp1, the gene coding for the most abundant protein of larval food. *Gene* 303, 165-175
- Matsui T., Ykiyoshi A., Doi S., Sugimoto H., Yamada H., Matsumoto K. (2002) Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive activity. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 80-86
- Oka H., Emori Y., Kobayashi N., Hayashi Y., Nomoto K. (2001) Suppression of allergic reactions by royal jelly in association with the restoration of macrophage function and improvement of Th1/Th2 cells responses. *International Immunopharmacology* 1, 521-532
- Schmitzová J., Klaudivy J., Albert Š., Schröder W., Schreckengost W., Hanes J., Šimúth J. (1998) A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. *Cell Mol. Life. Sci.* 54, 1020-1030
- Šimúth J. (2001) Some properties of the main protein honeybee (*Apis mellifera* L.) royal jelly. *Apidologie* 32, 69-80
- Šver L., Oršolič N., Tadič Z., Njari I. B., Vaplotič I., Bašič I. (1996) A royal jelly as a new potential immunomodulator in rats and mice. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 19, 31-38
- Takenaka T. (1982) Chemical composition of royal jelly. *Honeybee Sci.* 3, 69-74
- Tonks A., Cooper R. A., Price P. C., Molan P. C., Jones K. P. (2001) Stimulation of TNF $\alpha$ -release in monocytes by honey. *Cytokine* 14, 240-242
- Tsao W., Shuel R. W. (1968) Breakdown of royal jelly protein in the midgut of the larval honeybee. *J. Apic. Res.* 7 119-128
- Zaslöf M. (2002) Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 415, 389-395