

DIE PROTEINE DES WEISELFUTTERSAFTES IN DER HERSTELLUNG VON GESUNDHEITSFÖRDERNDEN ZUSATZMITTELN

J. ŠIMÚTH¹, Katarina BÍLIKOVÁ¹, Elena KOVÁČOVÁ²

¹Laboratory of Genetic Engineering, Institute of Chemistry, SK-84538 Bratislava, SLOWAKISCHE REPUBLIK

²Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences, Dubravská cesta 9, SK-84538 Bratislava, SLOWAKISCHE REPUBLIK

E-mail: chemsim@savba.sk

Resümee

Die Qualität der Produkte der Honigbienen (*Apis mellifera* L.) wurde aufgrund von statischen Eigenschaften eingeschätzt, die ihrerseits durch chemische, physikalische und instrumentelle Analysen bestimmt worden sind. Heutzutage gilt im allgemeinen, daß die Qualität der Bienenprodukte aufgrund der dynamischen Funktionen eines jeden Bestandteils bestimmt werden müßte. Der Weiselfuttersaft wurde oft als ein gesundheitsförderndes Mittel anerkannt und auch derart verwendet. Immer zahlreicher sind die wissenschaftlichen Dokumente, die behaupten, daß die anziehendsten bioaktiven Bestandteile der Bienenprodukte die Proteine des Weiselfuttersaftes sind. Die neueste Entdeckung gemäß der die Proteine des Weiselfuttersaftes physiologische Funktionen – Immunmodulatoren und Suppressoren von allergischen Reaktionen – innehaben wie auch ihre blutdrucksenkende und vermehrungsstimulierende Eigenschaften starteten eine neue Epoche für die Verwendung des Weiselfuttersaftes und des Bienenhonigs. Unser systematisches molekulares und biologisches Studium über die individuellen Proteine und Peptide des Weiselfuttersaftes ergab, daß deren multifunktionelle Eigenschaften als Marker bei der Standardisierung der Weiselfuttersaftdosierungen dienen könnten. Diese Dosierungen gehören zur täglichen Nahrung und können nach ihrem Verbrauch bestimmte physiologische Vorgänge regeln oder beeinflussen. Die medizinischen und pharmakologischen Wirkungen der Bienenprodukte könnten aufgrund der individuellen Menge der Weiselfuttersaftproteine genauer bestimmt und quantifiziert werden. Wir berichten über die Eigenschaften der individuellen Proteine des Weiselfuttersaftes und über ihre physiologischen Funktionen während der Entwicklung der Larve und als Bestandteil funktionaler Lebensmittel.

Stichwörter: Weiselfuttersaft der Honigbiene/Protein/Peptid/Läuterung/physiologische Eigenschaften

Einleitung

Das Honigbienenvolk, ein Superorganismus, das von einzelnen Zellen, eigentlich den Honigbienen, gebildet ist, widerspiegelt sich im Mechanismus mit dessen Hilfe die Sammelbienen Nektar und Pollen sammeln, verarbeiten, ablagern und der Brut das Futter sichern. Die von den Honigbienen in den Hinterkopfdrüsen synthetisierten Proteine und Peptide spielen eine bedeutende Rolle in der Fütterung und dem Beschützen der Brut vor Krankheitserregern.

Der Weiselfuttersaft ist eine Sekretion der Hinterkopfdrüsen der Ammenbienen und dient den Honigbienenlarven als Futter. Aufgrund des Prophylaxeverhaltens wird er zwischen den Individuen des Bienenvolkes verteilt (CRAILSHEIM, 1992). Der Weiselfuttersaft ist ein System von multiplen Substanzen und er enthält Proteine (12 – 15%), Wasser (60 – 70%), Gesamtzucker (10 – 12%), Lipide (3 – 7%), Mineralstoffe, Aminosäuren und Vitamine (TAKENAKA, 1982; ŠIMÚTH, 2001). Der Weiselfuttersaft ist eine einzigartige während der Entwicklung der Tiere in der Natur hergestelltes Futter.

Die Jungbienen befassen sich mit der Pflege und der Fütterung der ausgeschlüpften Larven. Durch die Sekretionen ihrer Hinterkopfdrüsen versorgen sie die Larve der künftigen Bienenkönigin mit Weiselfuttersaft, die der künftigen Arbeiterin mit Arbeiterinnenfuttersaft und die des künftigen Drohns mit Drohnenfuttersaft. Vom Standpunkt der chemischen Zusammensetzung ihrer Hauptbestandteile, wie Proteine, Kohlenhydrate und Lipide, unterscheiden sich diese Futtersaftarten überhaupt nicht. Der wesentliche Unterschied besteht darin, daß der Weiselfuttersaft im Vergleich zu dem Arbeiterinnenfuttersaft ein Bestandteil enthält, der bestimmt, was ein von genetischem Standpunkt gleichwertiges diploides Ei wird: eine Königin oder, in Abwesenheit dieses Bestandteils, eine Arbeiterin. Leider wurde dieser Bestandteil noch nicht identifiziert. Der Schlüssel dieses Regelungsmechanismus liegt verschlüsselt in den speziellen Genen der Honigbiene. Zu Beginn der Larvenentwicklung der künftigen Königin wird er aktiviert oder, im Falle der Arbeiterinlarve, unterdrückt. Es handelt sich hier um die sogenannte differenzierte Genäußerung, die oft hormonal geregelt wird, und welche auch an der Regelung anderer Genäußerungen teilnimmt. Es werden verschiedene phänotypische Signale befreit, die die Königin von der Arbeiterin unterscheiden. Dank dieser Unterscheidung und der Tatsache, daß die Königin zeit ihres Lebens mit Weiselfuttersaft gefüttert wird, lebt sie viel länger. Die Königinnen leben 4 bis 5 Jahre, die Arbeiterinnen hingegen nur 3 bis 4 Wochen. Dieses liegt der Idee zugrunde, daß der Weiselfuttersaft das Mittel sein könnte, das dem Menschen ein langes Leben verleiht. Obwohl diese Hypothese wissenschaftlich noch nicht belegt ist, haben neueste wissenschaftliche Entdeckungen suggeriert, daß vor allem die Proteine des Weiselfuttersaftes der Revitalisierungsfaktor in der Ernährung des Menschen sein könnten. Die von den Honigbienen in ihre Produkte eingeschlossenen Sekretionen erfüllen verschiedene Funktionen bei der Bildung optimaler Entwicklungsbedingungen des Bienenvolkes. Die Hypopharynx-, Mandibel- und Speicheldrüsen sind die Quellen der bedeutendsten Proteine der Honigbienen. In diesen Drüsen werden Hunderte von verschiedenen Proteine und Peptide synthetisiert, die eine unersetzbare Rolle in der Fütterung und

Differenzierung der Brut, in der Verarbeitung des Blütenpollens in Pollenhöschen und danach in Bienenbrot und in der einzigartigen Verarbeitung von Nektar in Honig spielen. Diese Proteine, *exogene* Sekretionen der Honigbienen, ermöglichen den direkten Kontakt mit der Futterquelle (Kohlenhydrate im Nektar, Proteine im Pollen) und den notwendigen Schutz (Schutzschranke gegen Krankheitserreger).

Exogene Proteine der Honigbienen

Klassifizierung der von den Honigbienen in den Weiselfuttersaft und seine Nebenprodukte sekretierten Proteine

Eine bedeutende Menge des Weiselfuttersaftes besteht aus Proteinen, d.h. fast 50% der Trockensubstanz des Weiselfuttersaftes (ŠIMŮTH, 2001). Die Hauptproteine bilden 90% der Gesamtproteine mit einer Molekularmasse von 49 – 87 kDa, die einem Protein und einer Genfamilie angehören (HANES und ŠIMŮTH, 1992; SCHMITZOVÁ et al., 1988; MALECOVÁ et al., 2003). Die weniger bedeutenden Proteine des Weiselfuttersaftes bestehen aus Proteinen und Peptiden mit verschiedenen Funktionen, einschließlich antimikrobieller und antifungischer Eigenschaften (FUJIWARA et al., 1990; BILIKOVÁ et al., 2001; BILIKOVÁ et al., 2002; BACHANOVÁ et al., 2002).

Aufgrund ihrer Funktionen können die exogenen Proteine und Peptide der Honigbienen folgenderweise klassifiziert werden:

technologische Enzyme – sie nehmen an der Umwandlung von Nektar in Honig teil: α -Glukosoxidase, Glukosoxidase, Katalase und Amylase;

Nutritionsproteine – werden in das Larvenfutter sekretiert und stellen die bedeutendste Proteinquelle der Honigbienenlarven dar;

Schutzproteine und –peptide – werden von den Honigbienen in ihre Produkte sekretiert und beschützen die sich entwickelnde Brut vor Krankheitserregern;

physiologisch aktive Proteine und Peptide – erfüllen verschiedene Funktionen im Rahmen des Bienenvolkes und beeinflussen Vorgänge in Tiergewebekulturen unter *in-vitro*-Bedingungen.

Strukturelle Eigenschaften des Weiselfuttersaftes

Im allgemeinen wird der Weiselfuttersaft als eine Emulsion definiert. Seine Untersuchung mit einem elektronischen Rastermikroskop (SEM) ermöglichte die Visualisierung seiner einzigartigen Strukturmerkmale (ŠIMŮTH, 2001).

Mit SEM konnten in einigen Zonen der Weiselfuttersaftschicht ziemlich große kugelförmige Partikel gesichtet werden (Abb.1). Ihre Größe schwankte zwischen 20 und 80 μm . Diese Partikeln waren miteinander durch ein System von fadenartigen Kanälen verbunden. Ihr Durchmesser betrug ungefähr 2 μm , die Länge war unterschiedlich. Bei einem weiteren Vergrößern wurde sichtbar, daß diese Fäden von der muschelähnlichen Oberfläche der Kugel ausstrahlten. Es wurde die Hypothese aufgestellt, daß die feine Struktur des Weiselfuttersaftes von den Hypopharynxdrüsen der Honigbienen erzeugt wird.

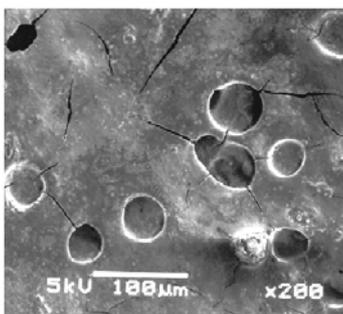


Abb.1 – SEM-Ansicht der typischen kugelförmigen Partikeln des natürlichen Weiselfuttersaftes.

Eine Königinnenzelle mit einer 2 Tage alten Larve (*Apis mellifera carnica* L.) wurde auf dem Bienenstand des Verfassers aus einer Wabe herausgeschnitten. Die Larve wurde entfernt und der Weiselfuttersaft aus der Zelle bei -20°C tiefgefroren, um mit SEM die Strukturmerkmale des Weiselfuttersaftes zu bestimmen. Damit die Originalstrukturen des Weiselfuttersaftes nicht zerstört werden, wurde auf die Fixierung verzichtet. Die Weiselfuttersaftproben stammten von den tiefgefrorenen Proben. Sie verblieben 72 Stunden bei Raumtemperatur und konnten auf den Aluminiumscheiben (1,2 cm Durchmesser) eine feine Schicht bilden. Danach wurden die Proben mit Cu in einem luftleeren Raum bei 10^{-3} Pascal negativ gefärbt und mit SEM untersucht (Jeol, Modell JSM-580, Japan).

Präparierung der Proteine aus dem Weiselfuttersaft in natürlicher Form

Zur Isolierung der Weiselfuttersaftproteine in einer möglichst natürlichen Form erarbeiteten wir eine Fraktionierungsmethode des Weiselfuttersaftes durch Ultraschleuderung (ŠIMŮTH, 2001). Wir erhielten auf diese Weise drei Schichten, die sich physikalisch klar unterschieden. Die obenaufschwimmende Fraktion war eine grünlich-gelbe Flüssigkeit, Plasma genannt, die 61% (w/v) des natürlichen Weiselfuttersaftes ausmachte. Die Mittelschicht war eine gelblich-braune zähe Schicht von gelatinartiger Konsistenz, Futtersaft genannt. Diese Fraktion machte 32% (w/v) des Weiselfuttersaftes aus. Der weiße Niederschlag [7% (w/v)]

des Weiselfuttersaftes schien eine fast stabile Substanz zu sein. Bedeutende Mengen von fetten Säuren waren in Fraktionen mit einem niedrigeren Wassergehalt konzentriert. Bei der Ultraschleuderung erhielten wir ein halbfestes gelblich-goldenes bernsteinähnliches Gel. Die biochemischen Analysen ergaben, daß es sich um ein bedeutendes Protein des Weiselfuttersaftes handelte, früher MRJP1 genannt, eine Albuminart, weshalb es *Apalbumin- α* benannt wurde. Deshalb scheint es normal, daß aus der Interaktion von Apalbumin- α und den Fettsäuren eine wasserunlösliche Proteinfraction des Weiselfuttersaftes entsteht. Interessant ist, daß andere Proteine des Weiselfuttersaftes, die vor allem in der obenaufschwimmenden Fraktion vorkamen, wie Apalbumin- β (früher MRJP2 genannt) und Apalbumin- γ (früher MRJP3 genannt), kein Gel bilden können, obwohl sie große Ähnlichkeiten mit Apalbumin- α aufweisen (SCHMITZOVÁ et al., 1998).

Physikalische und chemische Eigenschaften von Apalbumin- α

Es wurde bewiesen, daß Apalbumin- α eine Untereinheitstruktur bildete (ŠIMÚTH, 2001). Die grundlegende Untereinheit hat ungefähr 420 kDa und entstand aus einem 55 kDa Monomer. Die Mikroskopuntersuchungen zeigten, daß Apalbumin- α in wässrigen Lösungen ähnliche Strukturen bildet wie diejenigen, die im Weiselfuttersaft vorkommen. Abhängig von der Konzentration von Apalbumin- α wurden verschiedene Strukturen mit einer regelmäßigen Wiederholung gebildet (Abb.2). Es handelt sich um eine selbstbauende Struktur des Proteins, ein Ergebnis der Oligomerisierung seiner Untereinheiten. Interessant ist, daß andere Proteine des Weiselfuttersaftes diese Eigenschaft der Oligomerisierung nicht besitzen, obwohl sie einen hohen Ähnlichkeitsgrad mit den Sequenzen von Apalbumin- α aufweisen.

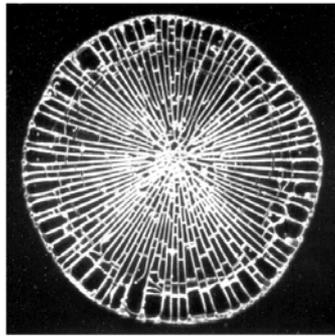


Abb. 2 – Selbstbau der regelmäßigen Fadenstruktur von Apalbumin- α
Ansicht mit Lichtmikroskop, 20 Minuten nach dem Auftragen eines Apalbumin- α -Tropfens (3 μ l) (80 mg/1 ml Wasser) auf das Deckglas.

Welche ist die Funktion des selbstbauenden Apalbumins- α im Bienenvolk? Zahlreiche Proteine sind viel stabiler in supramolekularen Strukturen als in Monomerformen. Nimmt man den hohen Proteingehalt des Weiselfuttersaftes in Betracht, kann theoretisch nicht angenommen werden, daß alle Nährproteine des Weiselfuttersaftes sofort metabolisiert werden. Die hohe Konzentration an Aminosäuren würde einen unverhältnismäßig hohen Osmosedruck im Verdauungstrakt der Larve verursachen. Wir stellten außerdem fest, daß Apalbumin- α auch im Bienenhonig und im Pollen vorkommt. Bei der Verwandlung des Pollenkorns in Pollenhöschen kann die Honigbiene die Struktureigenschaften von Apalbumin- α verwenden. Es scheint, daß die Honigbiene den Pollen in Apalbumin wie einen Sandwich einwickelt. Das Apalbumin- α spielt im Weiselfuttersaft den gewebebildenden Faktor. Diese Rolle spielt es aber auch in den Kosmetikartikeln, die Weiselfuttersaft enthalten. Es scheint, daß Apalbumin- α außer ihrer ernährenden Rolle auch andere mehrere Funktionen in der Entwicklung der Larve erfüllt.

Physiologische Eigenschaften der Proteine des Weiselfuttersaftes

Einige Verallgemeinerungen über die physiologischen Eigenschaften der Hauptproteine des Weiselfuttersaftes können gemacht werden. Die suggestiven Verhaltensweisen sagen nicht direkt aus, ob die Hauptproteine des Weiselfuttersaftes sowohl im zeitigen als auch im späten Stadium der Larvenentwicklung die gleichen Funktionen erfüllen. Die Untersuchung der Proteinspaltung im Mitteldarm der Larve (TSAO und SHUEL, 1968) ergab, daß einige Proteine des Weiselfuttersaftes ohne jedwelcher Veränderung durch das Darmepithelium dringen können. Der hohe Gehalt an wesentlichen Aminosäuren bestimmte ihre Nährrolle im Rahmen des Bienenvolkes.

Die Proteinfraction des von den Honigbienen sekretierten Weiselfuttersaftes enthält zahlreiche wertvolle Bestandteile und biologisch aktive Substanzen. Außer den Hauptproteinen werden im Weiselfuttersaft auch weniger bedeutende Proteine angetroffen, wie z.B. Peptide (FUJIWARA et al., 1990; BILIKOVÁ et al., 2001; BILIKOVÁ et al., 2002). Von besonderer Bedeutung sind die bioaktiven Proteine und Peptide, die in der Aminosäure-Sequenz der Proteine aus dem Futter vorkommen. Diese Proteine, die in der

parentalen Proteinsequenz nicht aktiv sind, können von der enzymatischen Proteolyse befreit werden, z.B. während der Verdauung im Verdauungstrakt oder bei der Herstellung des Futters. Einmal in den Körper befreit, können diese bioaktiven Peptide ähnlich den Hormonen wie regelnde Bestandteile wirken. Die Strukturen der biologisch aktiven Sequenzen konnten noch nicht erhalten werden und deshalb beschäftigt sich die Forschung weiterhin mit der enzymatischen Verdauung *in vitro* und/oder der Verdauung der betreffenden Proteine *in vivo* im Verdauungstrakt.

Die bioaktiven Bestandteile des Weiselfuttersaftes sind nicht vollständig eingeschätzt, aber ein neueres *in-vitro*-Studium beweist, daß einige Hauptproteine des Weiselfuttersaftes äußerst bedeutende physiologische Prozesse beeinflussen. Die bioaktiven Peptide des Weiselfuttersaftes und seiner bedeutendsten Proteine müssen als potentielle Modulatoren der verschiedenen Regelungsvorgänge im Organismus betrachtet werden. Das Verhältnis zwischen Aktivität und Struktur und dem Mechanismus, anhand dessen die bedeutenden Proteine des Weiselfuttersaftes ihre immunitätsmodellierenden Wirkungen ausüben, ist noch nicht bekannt. Die Ergebnisse, die mit 350 kDa und 55 kDa Proteine des Weiselfuttersaftes erzielt wurden, suggerieren, daß die Hauptproteine die bedeutenden Zellprozesse negativ beeinflussen können. Die 350 kDa Proteine mit einer Aminosäurefrequenz mit N-Terminal, wie z.B. Apalbumin- α (SCHMITZOVÁ et al., 1998), stimulieren die Vermehrung der humanen Monozyten (Linie der U 397 Zellen) und der human-humanen Hybridome (Linie der HB4C5 Zellen) (KIMURA et al., 1995). Die zitierten Verfasser entdeckten, daß die Strukturen der Zuckerketten mit N-Verbindung des Proteins 350 kDa eigentlich die typische Struktur der Manose (Man9-GlcNAc2) aufweisen, die gewöhnlich in Tieren, Pflanzen und Insekten vorkommt. Das 55 kDa Protein des Weiselfuttersaftes mit N-Terminal der Aminosäuresequenz, das mit dem zweitbedeutendsten Protein des Weiselfuttersaftes, d.h. Apalbumin- β , identisch ist (SCHMITZOVÁ et al., 1998; BILIKOVÁ et al., 1999), erhält die hohe Viabilität der primären Ratten-Zellkulturen, fördert aber die Vermehrung der humanen Monozyten nicht (KIMURA et al., 1996). Die Einschätzung der chemischen Struktur der bioaktiven Hauptproteine des Weiselfuttersaftes ist der erste Schritt zur Entdeckung des Molekularmechanismus, das ihre physiologische Tätigkeiten in Synergie mit anderen bioaktiven Bestandteilen des Weiselfuttersaftes koordiniert.

Vom Standpunkt der physiologischen Tätigkeit nehmen die zahlreichen Albuminproteine des Weiselfuttersaftes die erste Stelle ein: saures Apalbumin- α (ŠIMŮTH, 2001) und basisches Apalbumin- β (BILIKOVÁ et al., 1999), die auch im Gehirn der Honigbiene vorkommen (KIMURA et al., 1995; KUCHARSKI und MALESZKA, 2002). Diese Entdeckungen wie auch die Ähnlichkeiten des Immunsystems der Insekten und der Säugetiere (DUSHAY et al., 1966; IMLER und HOFFMANN, 2001; BAUD und KARIN, 2001) sind ein Hinweis dafür, daß die Proteine des Weiselfuttersaftes der Faktor sein könnten, der an der Regelung von bedeutenden physiologischen Prozessen teilnimmt. Dieses wurde indirekt auch durch die Entdeckung bewiesen, daß eine 1%ige Lösung eines echten Honigs das TNF α von 6 nicht primären Zellen befreit, was ein künstlicher Honig nicht macht (TONKS et al., 2001).

Die Daten über die physiologischen Eigenschaften des Weiselfuttersaftes, wie Stimulierung der Vermehrung humaner Monozyten (KIMURA et al., 1995), Immunitätsmodulierung (ŠVER et al., 1996), Unterdrückung der allergischen Reaktionen auf Weiselfuttersaft (OKA et al., 2001), blutdrucksenkende Tätigkeit der bioaktiven Peptide des Weiselfuttersaftes (MATSUI et al., 2002), erweitern seinen Anwendungsbereich in der Pharmazie und sind Beweise seiner natürlichen Funktion in der Evolution der Honigbiene. In der Honigbiene sind sie die Auslöser des Abwehrmechanismus während der Larvenentwicklung. Ist diese Vermutung korrekt, dann könnten die Proteine des Weiselfuttersaftes die Herstellung von Bioreglern der Zytokinart verursachen. Diese Regler nehmen eine bedeutende Funktion im Rahmen des Immunitätssystems und der Entzündungsprozesse ein und könnten auch an der Kontrolle von Vermehrung, Differenzierung und Apoptosis der Zellen beteiligt sein. Diese Vermutung wurde von unseren vorlaufenden Versuchen bestätigt, bei welchen wir die Induktion von Zytokinen in den Murinmakrophagen durch die Proteine des Weiselfuttersaftes festgestellt hatten. Unsere Beobachtungen ergaben, daß die Weiselfuttersaftproteine für die *in-vitro*-Stimulierung der Produktion von TNF- α in den humanen Monozyten durch eine 1%-ige wässrige Honiglösung verantwortlich sind (TONKS et al., 2001), und daß die Aktion der Honigbienenproteine ein spezifisches System (Zytokinnetz) stimulieren kann, das seinerseits die Genen aktiviert, die für die Herstellung von Abwehrsubstanzen noch vor der bakteriellen Infektion verantwortlich sind.

Genau wie andere Insekten reagiert die Honigbiene auf bakterielle Infektionen durch eine gesteigerte Produktion von verschlüsselten Genen der antimikrobiellen Peptide, die dann in die Hämolymphe sekretiert werden. Eine solche „Immunantwort“ erfolgt sehr rasch (in einigen Stunden), ist aber oft nicht spezifisch (CASTEELS, 1997; ZASLOFF, 2002). Bestimmte antimikrobielle Peptide der Honigbienen (Apidaecin, Abaecin und Hymenoptaecin) werden spezifischerweise hergestellt und in die Hämolymphe erst nach der bakteriellen Infektion sekretiert, während Defensin-Royalinyne (FUJIWARA et al., 1990) und Apisimina (BILIKOVÁ et al., 2002), die ebenfalls im Weiselfuttersaft entdeckt worden sind, während der Lebensdauer der Honigbienen synthetisiert werden. Die Proteine und Peptide des Weiselfuttersaftes können am Abwehrmechanismus der Honigbienen gegen Krankheitserreger beteiligt sein, u. zwar durch eine direkte Inaktivierung der Mikroorganismen, die in den Honigbienenprodukten erscheinen, und durch die Bildung von Zytokinen, die an der Regelung der Transkription von Abwehrproteinen und –peptiden teilnehmen.

Die anhand der biochemischen und biologischen Eigenschaften des Weiselfuttersaftes erhaltenen Daten dienen als Grundlage für die funktionalen Genome des Abwehrmechanismus der Honigbiene gegen Krankheiten wie auch für eine bessere Verständnis der physiologischen Eigenschaften der Bienenprodukte, Bestandteile einer funktionalen Nahrung. Die Wirksamkeit der klinischen Wirkung des Weiselfuttersaftes kann momentan schwer eingeschätzt werden, doch besteht die Hoffnung, daß die Forschungen die Bedingungen für die Aktivität des Weiselfuttersaftes, seiner Wirkungsmechanismen oder geeigneten Dosen und ihre Anwendungsperiode entdecken werden. Die Darstellung unseres auf Molekulárniveau unternommenen experimentellen Studiums über die von den Honigbienen in ihre Produkte sekretierten Proteine ist ein Versuch zur Definierung der Bioaktivität der Proteine und Peptide des Weiselfuttersaftes als ein bedeutendes Nahrungsmittel.

LITERATUR

- 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
- Bílíková 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*. *Biología*, Bratislava 54, 733-739
- Bílíková K., Wu G., Šimúth J. (2001) Isolation of peptide fraction from honeybee royal jelly as antifaulbrood factor. *Apidologie* 32, 275-283
- Bílíková 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., Klauđiny 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 α -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