

УДК 619:616

Стибель В.В., Сварчевський О.А.Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій ім. С. З. Гжицького**Антонюк В.О., Закальська О.М., Гончар М.В. ©**

Інститут біології клітини НАН України, м. Львів

**ВПЛИВ ЛЕКТИНУ РИЦИНИ ТА ЕРИТРОАГЛЮТИНІНУ КВАСОЛІ
ЗВИЧАЙНОЇ НА РОЗВИТОК НЕМАТОДИ *CAENORHABDITIS ELEGANS***

C. elegans - маленька напівпрозора нематода, розміром близько 1 мм, яка у природних умовах живе у ґрунті і живиться ґрунтовими бактеріями, а в лабораторних умовах може підтримуватися в агаризованому середовищі на газоні бактерії *Escherichia coli*. Ця нематода – добре вивчений організм у морфологічному, фізіологічному і молекулярно-генетичному аспектах і розглядається як зручний об'єкт у вивченні клітинно-біологічних та молекулярно-генетичних основ функціонування багатоклітинних організмів. *C. elegans* складається із 959 соматичних клітин, 302 із яких утворюють нервову систему. Гельмінти володіють м'язовою, нервовою і репродуктивною системами. Дорослі особини представлені двома формами - гермафродитами і самцями. Повний цикл розвитку становить приблизно 3 дні, що суттєво полегшує дослідження життєдіяльності паразитичних нематод та впливу на них різноманітних речовин [1].

Лектини - група білків неіммунного походження, що володіють властивостями оборотно і вибірково зв'язувати вуглеводи і вуглеводні детермінанти біополімерів без змін їх ковалентної структури. Вони відіграють важливу роль у процесах розпізнавання в різноманітних біологічних системах [2]. У рослин, які є джерелом одержання більшості відомих на сьогодні лектинів, таке розпізнавання може бути важливим у симбіозі між азот-фіксуєчими бактеріями і кореневими волосками бобових рослин, у забезпеченні специфічності взаємодії між пилком і маточкою квітки рослин одного виду, оскільки пилок одного виду не здатний запліднювати маточку іншого виду [3], а також у захисті від шкідливих бактерій, комах і хижих тварин.

Метою нашої роботи було дослідити токсичний вплив лектинів на нематоду *C. elegans*.

Матеріали і методи досліджень. У роботі було використано наступні лектини: лектин насіння рицини (рицин RC-60), і еритроаглютинін квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* ФГА-Е, виділений і очищений НВК "ЛектиноТест" (м. Львів). *Caenorhabditis elegans*, штам 58570 №2 (ancestral) був наданий проф. Роде і Вінські (Інститут біохімії ім. Ненцкі, Варшава).

Нематоли вирощували на поверхні агару в чашках Петрі діаметром 9 см з обмеженим постачанням *Escherichia coli* (штам DH5α) як харчового субстрату. Склад ростового середовища (в г на 1л): пептон - 16, екстракт дріжджів - 10, натрій хлористий - 5, агар - 15. На поверхню агару наносили аліквати стерильні

розчину лектину у кількості 1, 1,5 і 2 мг. Потім на поверхню агаризованого середовища петлею вносили *E. coli* і витримували у термостаті за температури 37°C протягом ночі. При цьому пригнічення росту бактерій не спостерігалось. У контрольні чашки вносили дистильовану воду. Після цього в чашку Петрі поміщали 10 дорослих нематод. На 3 добу визначали під біокулярною лупою кількість особин на чашку. Статистичний аналіз проводили на основі обстеження 5 чашок для кожного варіанту експерименту.

Результати досліджень та їх обговорення. Одержані результати (див. табл. 1) свідчать, що випробувані лектини є токсичними для *C. elegans*. Так, рицин в дозі 2 мг на чашку приводив до повної загибелі нематода, а лектин ФГА-Е володів дещо меншою токсичністю. Це, можливо, пояснюється різним механізмом токсичного впливу. Серед випробуваних лектинів рицин RC-60 виявився найтоксичнішим. Молекула рицину складається з двох поліпептидних ланцюгів (А та В). Вуглевод-зв'язуючий ланцюг В взаємодіє з рецептором (глікокон'югатом) на поверхні клітини і стимулює проникнення ланцюга А всередину клітини. Після входження молекули рицину в клітину ланцюг А каталітично інактивує еукаріотичні рибосоми. Лектини подібного типу надзвичайно отруйні для всіх еукаріотів, зокрема для вищих тварин, включаючи людей. Їх називають рибосома-інактивуючими білками типу 2 (RIPs-2). Відомо, що комахи реагують диференційно на годівлю RIPs типу 2. Рицин є сильно отруйний для твердокрилих *Callosobruchus maculatus* і *Anthonomus grandis*, але не має ніякого впливу на метеликів *Spodoptera litoralis* і *Heliothis virescens* [4]. Той факт, що деякі комахи виживають на рицин-вмісній дієті, вказує на те, що вони або можуть інактивувати токсин, або його не зв'язують. Інший RIPs типу 2, а саме лектин зимового аконіту (*Eranthis hyemalis*) [5], є дуже отруйний для личинок *Diabrotica undecimpunctata* (головний шкідник кукурудзи).

Таблиця 1

Вплив лектинів на виживання нематод *C. elegans*

Лектин	Кількість лектину на чашку Петрі, мг	Початкова кількість нематод	Кількість нематод на 3-й день, $M \pm m$
ФГА-Е	1	10	$145 \pm 8,7$
	1,5	10	$97 \pm 7,7$
	2	10	$90 \pm 7,5$
RC-60	1	10	$31 \pm 4,5$
	1,5	10	20 ± 3
	2	10	Не відмічалось
контроль		10	190 ± 9

Еритроаглютинін квасолі (ФГА-Е) є значно менш токсичним для живих організмів, і його токсичність є диференційною для різних типів клітин і тканин організму та пов'язана з їхньою вуглеводною специфічністю.

Є багато відомостей щодо токсичності лектинів квасолі звичайної. Вони для організму ссавців хоча і не є явно токсичними, проте вживання сирих насінин, які їх містять, несприятливо впливає на розвиток організму. За спостереженнями у природі щурі і миші сиру квасоллю намагаються не вживати навіть у найбільший голод. При примусовому згодовуванні ФГА у щурів спостерігалась затримка росту, зниження засвоєння азоту та порушення

всмоктування в кишківнику. Вважається, що лектин взаємодіє з глікокаліксом ентероцитів та викликає їх пошкодження, що призводить до порушення всмоктування слизовою кишківника [6]. Лектин квасолі є токсичним для личинок деяких жуків, що поїдають насіння злаків та бобових [7].

Висновки. Нематоди, які відносяться до первиннопорожнинних червів, часто є паразитами рослин і тварин. Тому, очевидно, деякі з рослин у процесі еволюції розвинули захисні механізми проти них. Проведені експерименти свідчать, що лектини можуть претендувати на роль молекул, які обумовлюють захист рослин від паразитичних червів.

Розроблено чашковий тест для визначення токсичної дії лектинів на *C. elegans* з використанням як харчового субстрату культури *E. coli*. Така тест-система може бути використана для скринінгу антипаразитарних препаратів на моделі нематоди *C. elegans*.

Література

1. Burglin T.R., Lobos E., Blaster M.L. *Caenorhabditis elegans* as a model for parasitic nematodes. // Intern. J. Parasitol.-1998.-Vol.28.-P. 395-411.
2. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела.-Львів: ПП "Кварт", 2005.-554 с.
3. Голынская Е.Л. Фитогемагглютинины генеративных органов и их возможное участие в реакции распознавания при взаимодействии пыльцы и пестика // Молекулярная биология.-Киев: Наукова думка.-1979.-С.34-41.
4. Barbieri L., Batteli M. G., Stirpe F. Ribosome-inactivating proteins from plants // Biochim. Biophys. Acta.- 1993.- Vol. 1154.- P. 237-282.
5. Gatehouse A.M.R., Barbieri L., Stirpe F., Croy R. R. D. Effects of ribosome-inactivating proteins on insect development: differences between Lepidoptera and Coleoptera // Entomol. Exp. Appl.-1990.-Vol. 54.-P. 43-51.
6. Puztai A., Watt W.B., Stewart J.C. Erythro- and lymphoagglutinins of *Phaseolus acutifolius* // Phytochemistry.-1987 .-Vol. 26, №4 .-P. 1009-1013.
7. Gatehouse A. M. R., Dewey F. M., Dove I., Fonton K., Puztai A. Effect of seed lectins from *Phaseolus vulgaris* on development of larvae of *Callosobruchus maculatus*, mechanism of toxicity // J. Sci. Food and Agr." 1984.-Vol. 35, №4.-P. 373-380.

Summary

V.V. Stybel, O.A. Svarchevsky, V.O. Antonyuk, O.M. Zakalska, M.V. Gonchar.
INFLUENCE RICIN SEED LECTIN AND ERYTHROAGGLUTININS
OF PHASEOLUS ACUTIFOLIUS ON DEVELOPMENT OF NEMATODA
CAENORHABDITIS ELEGANS

Caenorhabditis elegans is used as a popular model system for study of Metazoa, as this nematode can be easily cultivated on Petry dish, as has the short development cycle and is well studied in morphological and genetic aspects. It was shown that among lectins, the toxin isolated from ricin seeds is the most toxic. The developed experimental model for study of lectins influence on nematode, cultivated on microbial plates, can be used in study antiparasitic drugs.

Key words: *Caenorhabditis elegans*, lectins, erythroagglutinins of *phaseolus acutifolius* ricin seed toxin.

Рецензент – д.вет.н., професор Гуфрій Д.Ф.