

О. М. Андрієвський¹, к. б. н., професор

Ю. Ю. Подзолкова³, спеціаліст

І. Л. Рижко², к. б. н., старший викладач

С. Л. Пастернак³, аспірант

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
біологічний факультет,

¹кафедра біохімії,

²кафедра гідробіології та загальної екології,

³кафедра генетики та молекулярної біології

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: i.l.ryzhko@onu.edu.ua

ОНТОГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ТРИПСИНОПОДІБНИХ ФЕРМЕНТІВ У ОСОБИН ЛАБОРАТОРНИХ ПОПУЛЯЦІЙ *DROSOPHILA* *MELANOGASTER* ТА *DROSOPHILA VIRILIS*

Досліджували онтогенетичне варіювання показників маси тіла та активності трипсиноподібних ферментів у особин лабораторних популяцій двох видів плодових мушок: *Drosophila melanogaster* та *Drosophila virilis*. За даними окремих особин складено криві мінливості маси тіла для личинок, лялечок та імаго. Визначено онтогенетичні зміни індивідуальної відносної та питомої активності трипсиноподібних ферментів на популяційному рівні. Розраховано середні показники маси тіла та активності трипсиноподібних ферментів для кожної стадії постембріонального розвитку дрозофіл. Визначено діапазони варіювання досліджуваних показників за стаціонарних умов культивування дрозофіл. Встановлено, що найбільші показники маси тіла особин та їх протеолітична активність (за даними виду *melanogaster*) співпадають з личинковою фазою розвитку. Обговорюються можливі причини індивідуальних відмінностей в експресії активності трипсиноподібних ферментів.

Ключові слова: трипсиноподібні ферменти; експресивність; онтогенез; *Drosophilidae*.

Розвиток зародка комах супроводжується великомасштабними процесами перебудови білкових тіл в ході лізису запасних білків яйця та побудови тканин майбутньої личинки [9]. Це забезпечується наявністю в ембріонах як специфічних протеолітичних ферментів, так і систем контролю їх активності. Протеоліз – ключовий процес ембріогенезу комах. Завдяки запрограмованості процесу протеолізу доля кожного білкового компонента жовтка та зародка, який розвивається, строго індивідуальна [4]. Протеолітичні ферменти виконують різноманітні фізіологічні функції в живому організмі, починаючи з переварювання білків та закінчуючи специфічними регуляторними процесами, такими як активація зимогенів, утворення гормонів і інших фізіологічно

активних пептидів з їх попередників, транспорт білків, захисні реакції [4, 6]. Прояв активності протеолітичних ферментів в онтогенезі може слугувати важливим показником фізіологічного стану тієї або іншої системи організму, що зазнає вікових змін.

Серед протеолітичних ферментів кишкового тракту важливу роль відіграють трипсиноподібні ферменти. Наразі з'ясовано, що геном дрозофіл містить 11 генів-паралогів трипсину (альфа-, бета-, гама-, дельта-, епсилон-, зета-, ета-, тета-, йота-, каппа-, та лямбда-трипсини), які складають тандемний кластер у другій парі гомологічних хромосом *Drosophila melanogaster*. Згідно з даними профілів експресії бази «Fly Base» відомо, що найбільш високий рівень експресії має ген альфа-трипсину на стадії імаго та бета-трипсину на стадії личинки. Гени дельта-, зета- та тета-трипсинів мають декілька нижчий рівень експресії. Інші гени кластеру виявляють слідову експресію, окрім лямбда-трипсину, ген якого має надзвичайно високий рівень експресії на ембріональній стадії [8]. Таким чином, говорячи про протеолітичну (у даному разі трипсиноподібну активність), ми маємо на увазі сукупну активність продуктів генів трипсинового кластеру, головним чином альфа- та бета-трипсинів.

Метою роботи було дослідити рівень коливання трипсин-пептидгідролазної активності на різних етапах онтогенезу у окремих особин лабораторних популяцій *Drosophila virilis* і *Drosophila melanogaster* та порівняти показники активності у досліджуваних видів.

Для досягнення мети вирішували наступні завдання:

1. Встановити рівень коливання маси тіла у окремих особин лабораторних популяцій *D. virilis* та *D. melanogaster* на стадіях постембріонального розвитку;
2. Визначити ступінь коливання активності трипсиноподібних ферментів у особин лабораторних популяцій *D. virilis* та *D. melanogaster* на стадіях личинки, лялечки та імаго;
3. Дослідити онтогенетичні зміни активності трипсиноподібних ферментів в популяціях дрозофіл;
4. Порівняти показники активності трипсиноподібних ферментів у *D. virilis* та *D. melanogaster*.

Матеріали і методи дослідження

Матеріалом дослідження слугували 3-добові личинки, лялечки та імаго двох видів дрозофіл, які культивувалися на стандартному живильному середовищі в затемненому термостаті при +25 °C. Відібраних особин зважували на аналітичних вагах («Zakłady mechaniki precyzyjnej», Польща) з точністю до 0,1 мг і окремо гомогенізували в 100 мкл 0,1 М гліцин-*NaOH* буфера (pH 9,0). В індивідуально отриманих гомогенатах визначали загальну активність трип-

синоподібних ферментів з використанням специфічного субстрату *N*-бензоїл-*DL*-аргінін-*n*-нітроаніліда гідрохлориду (БАПНА), який в концентрації 1 мМ додавали до кожної проби, включаючи контрольну, в кількості 0,5 мл.

Ферментативний гідроліз БАПНА здійснювали в лужному середовищі у присутності пептидгідролаз. З цією метою ферментвмістні розчини в об'ємі 0,1 мл передінкубували протягом 5–10 хв в 0,1 М гліцин-*NaOH* буфері, *pH* 9,0, узятому в об'ємі 2,4 мл.

Після налаштування спектрофотометра СФ-26 за довжини хвилі 382,5 нм по контрольній пробі, що не містила гомогенату, визначали показники екстинкції дослідних проб у «нульовий» час. Подальший процес розщеплювання субстрату реєстрували через 60 хв інкубації. З урахуванням вказаного тимчасового інтервалу визначали динаміку оптичної щільності (ΔE) при $\lambda = 382,5$ нм [3].

Розрахунок відносної активності ферментів проводили на підставі отриманих значень екстинкції за формулою:

$$BA = \frac{\Delta E \cdot V \cdot 1000}{v \cdot t \cdot k},$$

де BA – відносна активність ферментів, виражена в міліодинаціях (МО), віднесених до 1 мл гомогенату. За 1 МО активності приймали кількість пептидгідролаз, що призводять до утворення 1 мкМ ароматичного продукту – *n*-нітроаніліну за 1 хв при +25 °C;

ΔE – різниця екстинкцій дослідної і контрольної проб;

V – кінцевий об'єм інкубаційної суміші (мл);

1 000 – коефіцієнт переведення одиниць в міліодинації;

v – об'єм ферментного розчину в інкубаційному середовищі (мл);

t – тривалість ферментативного гідролізу субстрату (хв);

k – коефіцієнт переведення одиниць екстинкції в мікромолі *n*-нітроаніліну, що утворився при гідролізі БАПНА (в наших дослідах він дорівнював 10).

Питому активність знаходили за формулою:

$$PA = \frac{BA}{m},$$

де PA – питома активність ферментів, виражена в міліодинаціях (МО) в розрахунку на 1 мг маси тіла личинки, лялечки або імаго;

BA – відносна активність ферментів;

m – маса тіла однієї особини (личинки, лялечки або імаго), виражена в мг.

Отримані первинні дані були опрацьовані статистично за допомогою комп'ютерної програми «*Excel*» та оформлені у вигляді варіаційних кривих та гістограм.

Результати дослідження та їх обговорення

В процесі індивідуального розвитку дрозоділи відбуваються значні зміни практично всіх показників фенотипу, як то гістологічні, фізіологічні, а також біохімічні [5]. Одним із найбільш важливих показників є маса тіла окремо взятої особини. Цей показник певною мірою залежить від функціонування травної системи, ферменти якої перш за все забезпечують накопичення пластичних речовин, які використовуються в процесах росту та розвитку досліджуваного організму. Слід зазначити, що в цьому випадку найбільш важливу функцію виконують протеолітичні ферменти кишкового тракту [1].

Досліджуючи цей показник (маса тіла (рис. 1)) в онтогенезі *Drosophila virilis* та *D. melanogaster*, ми з одного боку вивчали зміни цієї ознаки впродовж постембріонального розвитку дрозоділи, а з іншого – використовували дані маси тіла для розрахунків питомої активності у окремо відібраних личинок, лялечок та імаго.

У зв'язку з цим було встановлено, що на різних стадіях розвитку у досліджуваних форм дрозоділ показники маси тіла змінюються не тільки в залежності від фази онтогенезу, а також варіюють на рівні популяції. Так, показники маси тіла у личинок третьої доби розвитку *D. melanogaster* варіюють у діапазоні від мінімального значення 1 мг до максимального – 3 мг; в той же час, у *D. virilis* цей показник варіює від 3 мг до 5,6 мг. При визначенні маси тіла у 20-ти відібраних лялечок *D. melanogaster* було встановлено коливання цього показника в межах від 1,2 мг до 3 мг, а у *D. virilis* – від 2,5 мг до 3,7 мг. Що стосується маси тіла дорослих мух, то вона варіювала в діапазоні від 1 до 1,8 мг – у *D. melanogaster* та від 2 до 3,6 мг – у *D. virilis* (рис. 1). Як представлено на рисунку 2 за середніми показниками маси тіла *D. virilis* переважає *D. melanogaster* на всіх етапах онтогенезу. Отже, найбільшу масу тіла в обох випадках мали личинки; лялечки характеризувалися проміжним показником маси тіла, тоді як дорослі мухи мали найменший показник цієї ознаки.

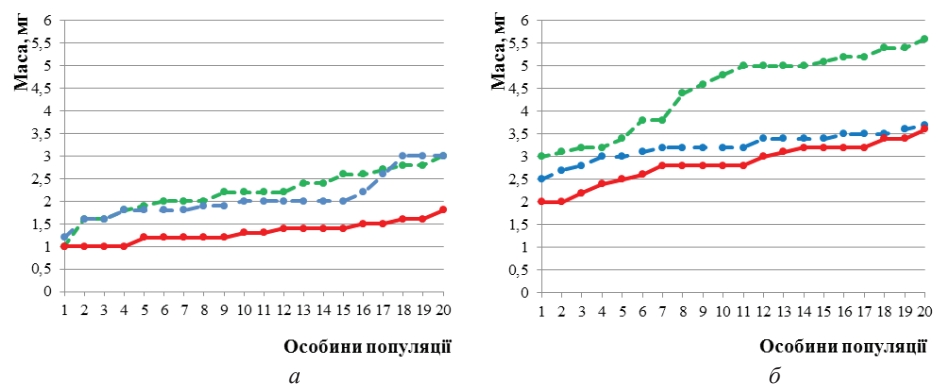


Рис. 1. Показники маси тіла *Drosophila melanogaster* (а) та *Drosophila virilis* (б) на етапах онтогенезу: --- — личинки, --- — лялечки, --- — імаго: 1 – 10 – самці, 11 – 20 – самки.

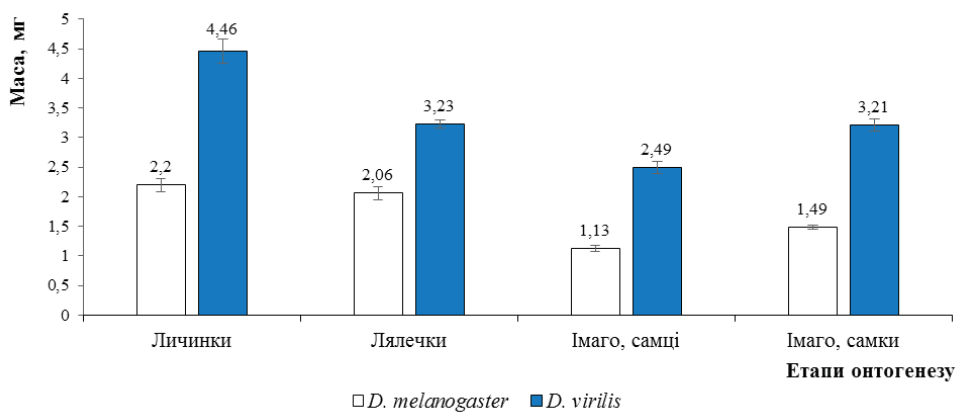


Рис. 2. Порівняння середніх показників маси тіла *Drosophila melanogaster* та *Drosophila virilis* на етапах онтогенезу: личинки, лялечки – $n = 20$, імаго – $n = 10$.

Таким чином, в ході онтогенезу спостерігались суттєві зміни показників маси тіла з найбільшим вираженням на стадії личинки та найменшим – на стадії імаго.

Визначення відносної та питомої активностей трипсиноподібних ферментів у 20-ти відібраних личинок, лялечок та імаго популяцій *D. virilis* та *D. melanogaster* дало змогу виявити індивідуальні коливання цієї ознаки та порівняти прояв активності досліджуваних ферментів мух, які є представниками двох різних видів дрозофіл (рис. 3, 4).

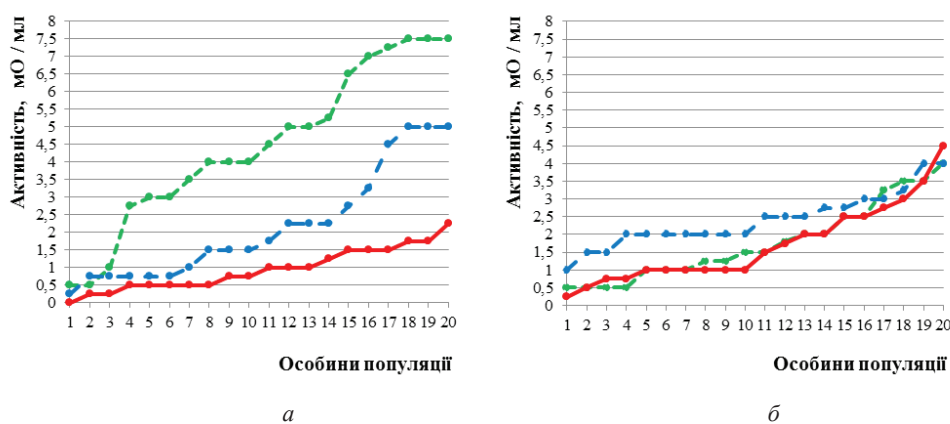


Рис. 3. Показники відносної активності трипсиноподібних ферментів *Drosophila melanogaster* (а) та *Drosophila virilis* (б) на етапах онтогенезу: — личинки, — лялечки, — імаго: 1 – 10 – самці, 11 – 20 – самки.

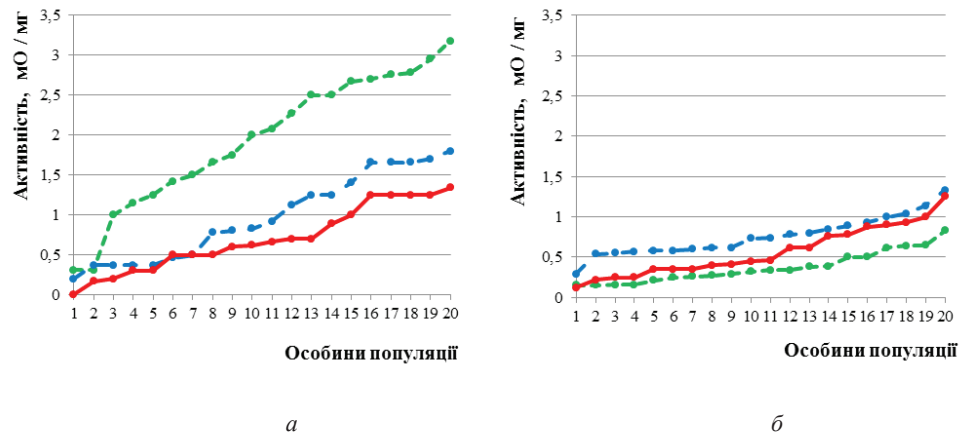


Рис. 4. Показники питомої активності трипсиноподібних ферментів *Drosophila melanogaster* (а) та *Drosophila virilis* (б) на етапах онтогенезу: — личинки, — лялечки, — імаго: 1–10 – самці, 11–20 – самки.

Як видно з рисунку 4, питома активність трипсиноподібних ферментів 3-денних личинок популяції *D. melanogaster* варіює в межах від 0,3 до 3,18 мО/мг маси тіла. Такий рівень прояву активності відображає стан протеолітичної системи в період підвищеного функціонування травної системи саме на цьому етапі онтогенезу.

Подібна динаміка варіювання рівня питомої активності спостерігається і на етапі лялечки. Активність на цій стадії розвитку лялечок *melanogaster* коливалася в значно меншому діапазоні: від 0,3 до 1,34 мО/мг маси тіла, що представлено на рисунку 4. Це пояснюється тим, що на цьому етапі онтогенезу відбувається повна перебудова травної системи, пов'язана з гістолізом личинкових органів (насамперед, кишковників) та формуванням імагінальних органів.

Таким чином, зміна фаз розвитку викликає суттєві зміни в функціонуванні всієї протеолітичної системи комахи: спостерігається зменшення експресії головних протеолітичних ферментів травної системи, відповідальних за деградацію харчових протеїнів.

На стадії імаго у *D. melanogaster* в залежності від відносної активності (рис. 3) та маси тіла (рис. 1, 2) спостерігаються суттєві індивідуальні зміни питомої активності трипсиноподібних ферментів. При цьому, коливання цього показника представлені в діапазоні від 0,2 до 1,4 мО в розрахунку на 1 мг маси тіла (рис. 4).

З наведених вище даних видно, що максимальний прояв питомої активності трипсиноподібних ферментів спостерігається у трьох-добових личинок *melanogaster*, що свідчить про їх інтенсивне харчування, в процесі якого важливу функцію відіграє трипсин кишечника. Досить різке зниження зазначеної

активності співпадає зі стадією лялечки. Саме в цей період розвитку дрозофіли відбувається кардинальна перебудова травної системи з глибоким пригніченням протеолітичних ферментів кишкового тракту. Відновлення досліджуваної активності трипсиноподібних ферментів спостерігається на стадії дорослої мухи, але, як показано у попередніх дослідженнях [1], рівень активності трипсину у імаго *Drosophila melanogaster* ніколи не досягає рівня тої ж активності у личинок. Насамперед це пояснюється особливостями харчування дорослих мух, які у якості основного харчового продукту використовують не білки, а вуглеводи.

Дослідження онтогенетичних змін прояву активності трипсиноподібних ферментів особин іншого виду дрозофіл – *Drosophila virilis* – виявило як риси схожості, так і відмінності цього біохімічного показника у порівнянні з таким у *Drosophila melanogaster*. А саме: на стадії личинкового розвитку питома активність трипсиноподібних ферментів коливалася в межах від 0,15 до 0,83 мО/мг маси тіла. При цьому, максимальний показник мух *virilis* майже в 4 рази був нижчим ніж показник у мух *melanogaster*. Виявлені міжвидові розбіжності в рівнях активності на стадії личинки можна пояснити особливостями динаміки процесу харчування залежно від експресії протеолітичних ферментів. У зв'язку з цим максимум експресії ферментів може співпадати з попереднім часом розвитку личинки. Визначені нами коливання досліджуваної активності у личинок на популяційному рівні представлені на рисунку 4.

На відміну від прояву активності трипсиноподібних ферментів на стадії личинки, діапазони коливань цієї біохімічної ознаки у лялечок та імаго мух *D. virilis* практично співпадають з аналогічними показниками у мух *D. melanogaster*. Отримані експериментальні дані представлені на рисунку 4.

Визначення індивідуальних показників відносної та питомої активності трипсиноподібних ферментів двох різних видів дрозофіл дозволило нам встановити середні показники рівня експресії досліджуваних ферментів в процесі індивідуального розвитку *D. melanogaster* та *D. virilis*.

Як видно на рисунку 5, показники відносної активності трипсиноподібних ферментів (в розрахунку на 1 мл гомогенату тканин) різних видів суттєво відрізняються. Так, активність пептидгідролаз личинок *melanogaster* приблизно в 2,5 рази перевищує той же показник у личинок *virilis*. В той же час на стадії лялечки та імаго показники відносної активності трипсиноподібних ферментів різних видів практично не відрізняються. Також, схожість в середніх показниках експресії ферментів спостерігається і в порівнянні стадії лялечки зі стадією імаго.

Що стосується питомої активності трипсиноподібних ферментів (в розрахунку на 1 мг маси тіла), то її середні показники упродовж індивідуального розвитку двох різних видів свідчать про те, що максимальний рівень експресії пептидгідролаз спостерігається на стадії личинки у *D. melanogaster*. Причому, він в декілька разів перевищує рівень експресії трипсиноподібних ферментів у

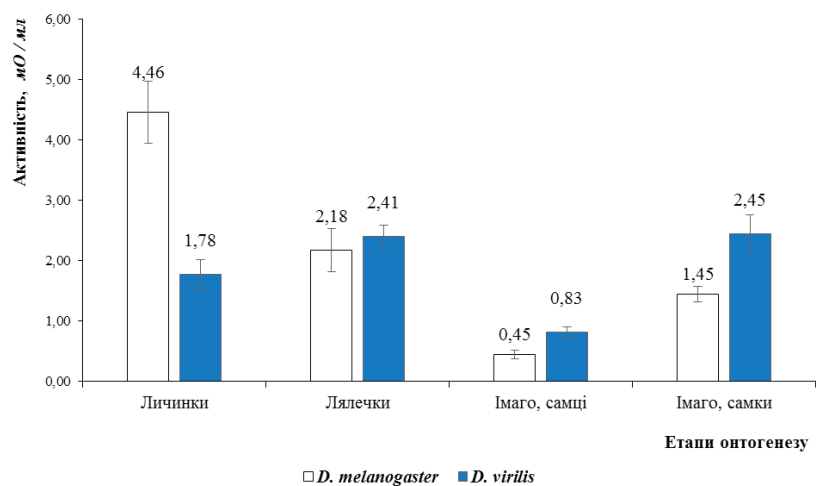


Рис. 5. Порівняння середніх показників відносної активності трипсиноподібних ферментів *Drosophila melanogaster* та *Drosophila virilis* на етапах онтогенезу: личинки, лялечки – $n = 20$, імаго – $n = 10$.

D. virilis. На стадіях лялечки та імаго міжвидові відмінності в прояві питомої активності трипсиноподібних ферментів досить достовірні. До того ж, рівні експресії цих ферментів за середніми даними у обох видів дрозофіл на стадії лялечки та імаго практично не відрізняються лише у самців. Описані результати представлені на рисунку 6.

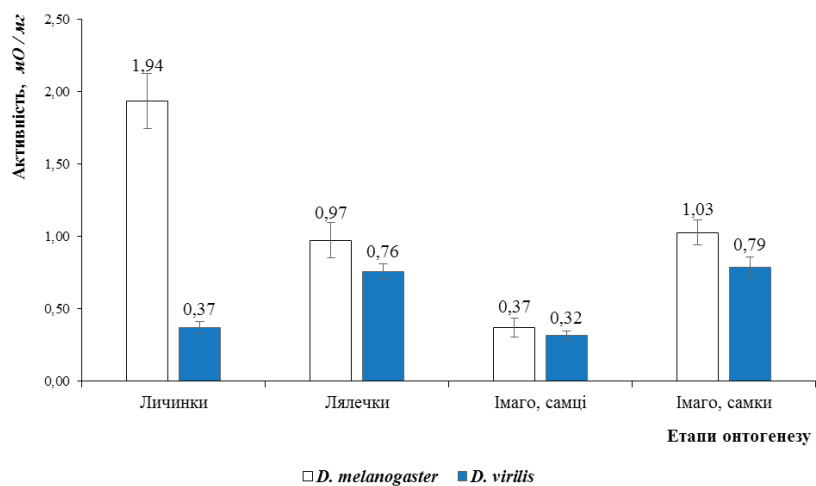


Рис. 6. Порівняння середніх показників питомої активності трипсиноподібних ферментів *Drosophila melanogaster* та *Drosophila virilis* на етапах онтогенезу: личинки, лялечки – $n = 20$, імаго – $n = 10$.

Таким чином, на популяційному рівні у двох видів дрозофіл спостерігаються як міжвидові, так і індивідуальні коливання експресії активності трипсиноподібних ферментів. Крім того, зміни рівня прояву активності досліджуваних ферментів відбуваються і впродовж індивідуального розвитку комахи. З одного боку, індивідуальну мінливість досліджуваної біохімічної ознаки можна вважати модифікаційною мінливістю, а з іншого – гетерогенним складом популяцій як *D. melanogaster*, так і *D. virilis*. Тобто популяцію можуть складати особини, геном яких містить різні алельні варіанти генів трипсиноподібних ферментів.

Що стосується онтогенетичних змін в прояві активності досліджуваних ферментів, то вони, насамперед, залежать від регуляції експресії генів, зокрема генів трипсиноподібних ферментів за допомогою гормонів, факторів транскрипції, посттрансляційної модифікації та інших фізіологічно активних чинників [7].

Висновки

1. В ході онтогенезу дрозофіл обох досліджуваних видів спостерігається суттєве варіювання показників маси тіла (від мінімального значення 1 мг у імаго *D. melanogaster* до максимального – 5,6 мг у личинок *D. virilis*), від яких, в свою чергу, залежить рівень індивідуальної питомої активності трипсиноподібних ферментів.

2. На стадіях личинки, лялечки та імаго визначено ступінь прояву питомої активності трипсиноподібних ферментів з максимальним (3,18 МО/мг маси тіла) її проявом на стадії личинки у *D. melanogaster*.

3. В лабораторних популяціях *D. melanogaster* та *D. virilis* на всіх стадіях онтогенезу спостерігаються значні зміни варіюючої експресивності трипсиноподібних ферментів.

4. На стадії личинки питома активність трипсиноподібних ферментів *D. melanogaster* суттєво перевищує (у 6 разів) показник активності ферментів у *D. virilis*; на стадіях лялечки та імаго ступені прояву активності трипсиноподібних ферментів у обох видів дрозофіл достовірно відрізняються.

Список використаної літератури

1. Андриевский А. М. Онтогенетические особенности пептидгидролазной активности экстрактов тканей *Drosophila melanogaster* / А. М. Андриевский, С. В. Катаненко, В. Н. Тоцкий // Украинский биохимический журнал. – 1982. – Т. 54, № 5. – С. 519–524.
2. Андрієвський О. М. Методичні вказівки до лабораторних робіт з генетичного аналізу дрозофіли / О. М. Андрієвський, Н. Д. Хаустова. – Одеса, 2003. – 9 с.
3. Андрієвський О. М. Фізико-хімічні методи дослідження білків / О. М. Андрієвський. – Одеса, 2003. – 39 с.
4. Антонов В. К. Химия протеолиза / В. К. Антонов. – М.: Наука, 1983. – 367 с.
5. Бей-Биенко Г. Я. Общая энтомология / Г. Я. Бей-Биенко. – М.: Высшая школа, 1980. – 416 с.
6. Нейрат Р. Ферменти, переваривающие белки / Р. Нейрат, пер. с англ. – М.: Изд-во иностр. лит., 1966. – 244 с.

7. Пушкина Н. В. Посттрансляционные модификации белков / Н. В. Пушкина. – Ростов-на-Дону: Издательство РГУ, 1998. – 250 с.
8. Fly Base: improvements to the bibliography / S. J. Marygold, P. C. Leyland, R. L. Seal et al. // Nucleic Acids Res., 2013. – Vol. 41. – P. 751–757.
9. Mahowald A. P. Genetics of *Drosophila* embryogenesis / A. P. Mahowald, P. A. Hardy // Annual Review of Genetics, 1985. – Vol. 19. – P. 149–177.

Стаття надійшла до редакції 27.03.2019

**А. М. Андриевский¹, Ю. Ю. Подзолкова³, И. Л. Рыжко²,
С. Л. Пастернак³**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
биологический факультет,

¹кафедра биохимии,

²кафедра гидробиологии и общей экологии

³кафедра генетики и молекулярной биологии,

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ТРИПСИНОПОДОБНЫХ ФЕРМЕНТОВ У ОСОБЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *DROSOPHILA* *MELANOGASTER* И *DROSOPHILA VIRILIS*

Резюме

Введение. Исследовали онтогенетическое варьирование показателей массы тела и активности трипсиноподобных ферментов у особей лабораторных популяций двух видов плодовых мушек: *Drosophila melanogaster* и *Drosophila virilis*.

Цель работы – исследовать уровень колебания трипсин-пептидгидролазной активности на разных этапах онтогенеза у отдельных особей лабораторных популяций *Drosophila virilis* и *Drosophila melanogaster* и сравнить показатели активности у исследуемых видов.

Методы. Материалом исследования послужили 3-суточные личинки, куколки и имаго двух видов дрозофилы, которые культивировались в стандартных условиях. В индивидуально полученных гомогенатах определяли общую активность трипсиноподобных ферментов с использованием специфического субстрата *N*-бензоил-*DL*-аргинин-*n*-нитроанилида гидрохлорида (БАПНА). Ферментативный гидролиз БАПНА проводили в щелочной среде в присутствии пептидгидролаз. Определяли динамику оптической плотности (ΔE) при $\lambda = 382,5$ нм. Расчет относительной активности ферментов проводили на основании полученных значений экстинкции. Удельную активность находили по формуле. Полученные первичные данные были обработаны статистически и оформлены в виде кривых изменчивости и гистограмм.

Результаты и выводы. По данным отдельных особей составлены кривые изменчивости массы тела для личинок, куколок и имаго. Определены онтогенетические изменения индивидуальной относительной и удельной активности трипсиноподобных ферментов на популяционном уровне. Рассчитаны средние показатели массы тела и активности трипсиноподобных ферментов

для каждой стадии постэмбрионального развития дрозофил. Определены диапазоны варьирования исследуемых показателей при стационарных условиях культивирования дрозофилы. Установлено, что наибольшие показатели массы тела особей и их протеолитическая активность (по данным вида *melanogaster*) совпадают с личиночной фазой развития. Обсуждаются возможные причины индивидуальных различий в экспрессии активности трипсиноподобных ферментов дрозофил.

Ключевые слова: трипсиноподобные ферменты; экспрессивность; онтогенез; *Drosophilidae*.

O. M. Andrievskii¹, J. Yu. Podzolkova³, I. L. Ryzhko², S. L. Pasternak³

Odesa Mechnykov National University, Faculty of Biology,

¹Department of Biochemistry,

²Department of Hydrobiology and General Ecology,

³Department of Genetics and Molecular Biology,

2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine

ONTOGENETIC CHANGES IN THE ACTIVITY OF TRYPSIN-LIKE ENZYMES IN INDIVIDUALS OF THE LABORATORY POPULATION OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* AND *DROSOPHILA VIRILIS*

Abstract

Introduction. The ontogenetic variation of body mass index and activity of trypsin-like enzymes in individuals of laboratory populations of two species of fruit fly: *Drosophila melanogaster* and *Drosophila virilis* were studied.

The **aim** of the work was to investigate the level of fluctuation of trypsin-peptide hydrolase activity at different stages of ontogenesis in separate individuals of the laboratory populations of *Drosophila virilis* and *Drosophila melanogaster* and to compare the activity indicators of the studied species.

Methods. The material of the study was the 3-day-old larvae, pupae and adults of two *Drosophila* species that were cultivated under standard conditions. In individually prepared homogenates, the total activity of trypsin-like enzymes was determined using the specific substrate *N*-benzoyl-*DL*-arginine-*p*-nitroanilide hydrochloride (BAPNA). The enzymatic hydrolysis of BAPNA was carried out in an alkaline medium in the presence of peptide hydrolases. The dynamics of optical density (*AE*) was determined at $\lambda = 382.5$ nm. The calculation of the relative activity of the enzymes was carried out on the basis of the extinction values obtained. The specific activity was found by the formula. The obtained primary data were processed statistically and presented in the form of variation curves and histograms.

Results and conclusion. The variation curves of the body mass for larvae, pupae and imago were built by the data of separate individuals. The ontogenetic changes of the individual relative and specific activity of trypsin-like enzymes at the population level were determined. The average body mass index and activity of trypsin-like enzymes for each stage of post-embryonic development of *Drosophila* were calculated. The ranges of variation of the studied parameters under the stationary

conditions of *Drosophila* cultivation were determined. It was determined that the highest indices of the body weight of individuals and their proteolytic activity (by the data of species *melanogaster*) coincide with the larval phase of the development. Possible causes of individual differences in the expression of the activity of trypsin-like enzymes in *Drosophila* are discussed.

Key words: trypsin-like enzymes; varying expressiveness; ontogeny; *Drosophilidae*.

References

1. Andryevskiy A. M., Katanenko S. V., Totskiy V. N. (1982) «*Ontogenetic features of peptidehydrolase activity of tissue extracts of *Drosophila melanogaster**» [«*Ontohenetycheskye osobennosti peptydhydrolaznoi aktyvnosti ekstraktov tkanei *Drosophila melanogaster**»], *Ukrainian biochemical journal*, 54, 5, pp. 519–524.
2. Andriievskiy O. M. Khaustova N. D. (2003) *Methodical instructions for laboratory work on genetic analysis of *Drosophila** [Metodychni vkazivky do laboratornykh robot z henetychnoho analizu drozofily], Odesa, 9 p.
3. Andriievskiy O. M. (2003) *Physico-chemical methods of protein research* [Fizyko-khimichni metody doslidzhennia bilkiv], Odesa, 39 p.
4. Antonov V. K. (1983) *Chemistry of proteolysis* [Khymiya proteolyza], Moskva, Nauka, 367 p.
5. Bei-Byenko H. Ya. (1980) *General entomology* [Obshchaia entomolohyia], Moskva, Vysshaya shkola, 416 p.
6. Neirat R. (1966) *Enzymes digesting proteins* [Fermenty, perevaryvaiushchye belky], Moskva, Izd-vo inostr. lit., 244 p.
7. Pushkyna N. V. *Post-translational modifications of proteins* [Posttranslatsyonnie modyfykatsyy belkov], Rostov-na-Donu: Izdatelstvo RHU, 250 p.
8. Marygold S. J., Leyland P. C., Seal R. L. et al. (2013) Fly Base: improvements to the bibliography, *Nucleic Acids Res.*, 41, pp. 751–757.
9. Mahowald A. P., Hardy P. A. (1985) Genetics of *Drosophila* embryogenesis, *Annual Review of Genetics*, 19, pp. 149–177.