

<https://doi.org/10.3176/biol.1978.2.02>

УДК 577.152 : 577.95 : 612.744

Юри ВАЙГА, Ило СИБУЛЬ

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА Ca^{2+} -АТФазной АКТИВНОСТИ ФИБРИЛЛЯРНЫХ БЕЛКОВ И САРКОПЛАЗМЫ ГРУДНЫХ МЫШЦ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

В наших предыдущих работах показано, что в грудной мышце цыплят-бройлеров за первые два дня постнатальной жизни резко повышается уровень РНК, что сопровождается 5—6-кратным увеличением концентрации фибриллярных белков (актомиозина) и 2-кратным повышением содержания белка в саркоплазме (Вайга, 1977). Последнее указывает на чрезмерно ускоренный синтез фибриллярных белков в этот период. Данное обстоятельство побудило нас проследить динамику образования Ca^{2+} -АТФазной активности во фракциях актомиозина и в саркоплазме за первые 30 дней жизни подопытных, чтобы подробнее охарактеризовать процесс происхождения фибриллярных белков.

Выявление В. А. Энгельгардтом и М. Н. Любимовой (Engelhardt, Ljubimova, 1939) АТФазной активности у сократимого белка — миозина — стало событием, открывшим новую эру в изучении биоэнергетики и биохимии сократительной функции мышечной ткани. К настоящему времени уже широко изучены комплексный состав сократимого белка мышцы — актомиозина и локализация центра АТФазы в его молекуле, степень активности которой варьирует в зависимости как от содержания актина, так и от расслабляющего фактора в актомиозиновом комплексе. Ответственным контролирующим фактором Ca^{2+} -АТФазной активности актомиозина и его сократительной функции, между тем, является степень концентрации ионов кальция в омывающей миофибриллы плазме. Актмиозин обладает способностью взаимодействовать с АТФ и сокращаться в ее присутствии лишь при наличии в среде ионов кальция. При понижении концентрации последних до 10^{-7} М и ниже мышечные волокна теряют эту способность (Portzehl, 1957, 1967; Hasselbach, Makinose, 1961; Ebashi, Lipmann, 1962; Weber, Herz, 1963). Известно, что в покоящейся мышце концентрация ионов кальция в межфибриллярной плазме и в миофибриллах поддерживается ниже порогового уровня путем связывания ионов системой цистерн и трубочек саркоплазматического ретикулула. Последний при возбуждении в результате изменения проницаемости мембран приводит к немедленному выходу в саркоплазму необходимого количества ионов кальция, что обуславливает повышение Ca^{2+} -АТФазной активности и степени сократимости актомиозиновых структур волокон. Следует добавить, что для первичного взаимодействия между актином, миозином, магнием и АТФ, ведущего к их сокращению, вообще не

требуется кальция. Он необходим для сократительной функции при наличии в системе тропомиозина (тропонина), который без кальция ингибирует взаимодействие между актином и миозином, магнием и АТФ. Как только ионы кальция выходят из цистерн ретикулума и связываются с тропонином, ингибирующий эффект снимается (Ebashi, Endo, 1968) и фибриллы сокращаются, т. е. происходит сокращение. Максимальное активирование нативного актомиозинового комплекса наблюдается, если каждая молекула миозина связывает 1 моль кальция (Weber, Herz, 1963).

Проблема образования фибриллярного белка в мышечной ткани различных видов животных и на разных этапах онтогенеза еще недостаточно изучена. Показано (Иванов, Касавина, 1948; Касавина, 1954), что у зрелорождающихся морских свинок и цыплят эмбриональный миозин, тождественный актомиозину взрослых животных и птиц, появляется уже на 10—12-й день эмбриогенеза. Д. С. Робинсон (Robinson, 1952), выявил, что в грудных мышцах цыплят активность Ca^{2+} -АТФазы актомиозина повышается как в пред-, так и в постнатальный период развития и сопровождается зеркально отраженным снижением его активности в саркоплазме. Исходя из этого, автор пришел к выводу, что в ранний онтогенез в саркоплазме образуется некий АТФазно активный прототип миозина, пристраивающийся к составу естественного актомиозина. В. Оппель (1958), комментируя выводы Д. С. Робинсона, также предположил, что в саркоплазме эмбрионов находится какой-то премиозин как предшественник миозина. Между тем, небезынтересно отметить, что Дж. Д. Этлингер и сотрудники (Etlinger и др., 1975) выделили из гомогената мышц крыс свежееобразованные тонкие актиновые и толстые миозиновые филаменты, еще не пристроившиеся к фибриллам и растворяющиеся в солевом растворе малой ионной силы.

В ряде исследований последнего времени затрагивается вопрос о различиях между миозинами эмбрионального периода и взрослого организма. Дж. Р. Трейер и С. В. Перри (Trayer, Perry, 1966), изучившие хроматографически очищенный миозин мышц крысы, кролика, морской свинки и кур, установили, что удельная активность Ca^{2+} -АТФазы миозина в эмбриогенезе значительно ниже, чем у взрослого организма. По мнению этих авторов, существуют два типа миозина — изоэнзим эмбрионального периода и изоэнзим взрослого организма, каковые могут быть разными только по структуре белка. Несколько позже Ф. Сретер и сотрудники (Sreter и др., 1972) в опытах на ДЕАЕ-сефадексе с хроматографически очищенным быстрым миозином из грудных мышц 16-дневных эмбрионов кур, обнаружили, что этот эмбриональный белок как по количеству легких цепей, так и по степени удельной Ca^{2+} -АТФазной активности не отличается от миозина взрослого организма.

При изучении Ca^{2+} -АТФазной активности и структуры очищенного миозина из мышц крольчат методом СДС-электрофореза в полиакриламидном геле Г. Пеллони-Мюллер и др. (Pelloni-Mueller и др., 1976) установили, что медленный тип миозина новорожденных крольчат по структуре легких цепей не отличается от миозина взрослого организма, между тем как у миозина из быстрых мышц с возрастом наблюдается лишь изменение стехиометрического соотношения между отдельными видами легких цепей. Удельная Ca^{2+} -АТФазная активность миозина из быстрых мышц в ранний постнатальный период возросла в 4, а у миозина медленного типа только в 2 раза. По мнению этих авторов, возникающие в постнатальный период развития изменения в составе легких цепей быстрого миозина вызывают указанные сдвиги удельной

Ca^{2+} -АТФазной активности. Приведенные данные о двух типах миозина (соответственно в быстрых и медленных мышцах) и их характеристики по легким цепям в ходе онтогенеза позволяют утверждать, что, кроме названных типов миозина, нет основания предполагать наличие какого-либо третьего эмбрионального типа миозина.

Таким образом, за последние годы изучение отдельных фракций фибриллярных белков мышц на разных этапах онтогенеза значительно углубилось. Однако ученые при этом не пытались выяснить значение рибонуклеиновых кислот как рибонуклеопротеидов, сопутствующих фибриллярным белкам. По данным Д. С. Робинсона (Robinson, 1952), на 14-й день развития куриного эмбриона около 60% белков «миозиновой фракции» приходится на долю нуклеопротеидов. В дальнейшем их доля уменьшается и к первому дню жизни цыплят достигает только 5—6%. Являются ли нуклеопротеиды в экстрактах фибриллярных белков сопровождающими примесями или взаимодействующими с ними молекулами, выяснено не было (Robinson, 1952).

Дж. Р. Трейер и С. В. Перри (Trayer, Perry, 1966) очищали экстракт миозина колонной хроматографией на ДЕАЕ-целлюлозе с промыванием раствором KCl повышающейся ионной силы и наблюдали, что фракция, вышедшая при концентрации 0,3 M и содержащая меньше рибонуклеиновых кислот по сравнению с фракцией, вышедшей при 1,5 M , явилась единственной АТФазно активной фракцией. На наш взгляд, при преобладающем высоком содержании нуклеопротеидов в миозиновом препарате Ca^{2+} -АТФазная активность подавляется. Названные авторы, однако, такого вывода не сделали, по-видимому, считая более вероятным, что вышедший из колонны белок при высокой ионной силе сам АТФазно неактивен и что таким путем проходит отделение энзиматически неактивных белков от активных.

Стало быть, несмотря на достигнутые за последние годы успехи в исследовании структуры актомиозинового комплекса, изучаемая проблема в целом остается не доработанной и содержит много противоречий.

Материал и методика

Объектами наших исследований служили четырехлинейные кроссы бройлеров (две отцовские линии корниш и две материнские породы плимутрок) в возрасте от 1 дня до 30 дней. Цыплят декапитировали, извлекали грудную мышцу, разрезали ее, измельчали в гомогенизаторе типа Элвенгайма-Поттера. Все операции проводили при температуре 4°C.

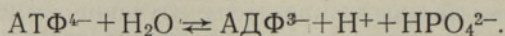
Нативный актомиозин выделяли из грудной мышцы описанным ранее методом (Вайга, 1977) и хранили в Веберовском растворе при 4° до 5 дней.

Саркоплазматические белки выделяли раствором 0,04 M KCl центрифугированием в течение 20 мин при 5000 g .

Фракцию саркоплазматического ретикулума выделяли из грудной мышцы цыплят-бройлеров по А. Мартоноси и Р. Феритос (Martonosi, Feretos, 1964) с некоторыми изменениями. Немедленно после извлечения мышцу помещали в 4-кратный объем раствора 100 mM KCl и 5 mM гистидина и измельчали в стеклянном гомогенизаторе в течение 2 мин. Затем дифференциальным центрифугированием отделяли фракцию миофибрилл (1000 g ; 20 мин), митохондрии (8000 g ; 20 мин) и двумя фракциями — частички саркоплазматического ретикулума (28 000 и 90 000 g по 60 мин).

АТФазную активность определяли двумя методами: по

нарастанию в пробах неорганического фосфата после инкубации методом Лоури и Лопеса в модификации Скулачева (Никулина, 1965) и рН-статически (Болдырев и др., 1969), с измерением расхода раствора 7 мМ NaOH, необходимого для оттитрования протона, образующегося в реакции:



Реакцию проводили при 37° с учетом поправки фона CO₂. Состав инкубационной среды: 20—60 мМ KCl, 4 мМ CaCl₂, 2,3 мМ ATP, 0,3 мг белка на 1 мл среды, рН 8,2.

Концентрацию белка определяли биуретовой реакцией по Р. Ф. Ицаки и Д. М. Джилл (Itzhaki, Gill, 1964), используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин. Калибровку проводили определением белкового азота по микро-Кьельдалю.

Результаты и обсуждение

Полученные нами данные (рис. 1) свидетельствуют о выраженной изменчивости Ca²⁺-АТФазной активности экстрактов фибриллярных белков и саркоплазмы в грудных мышцах цыплят-бройлеров за первые 10—12 дней жизни. Энзиматическая активность первого и второго

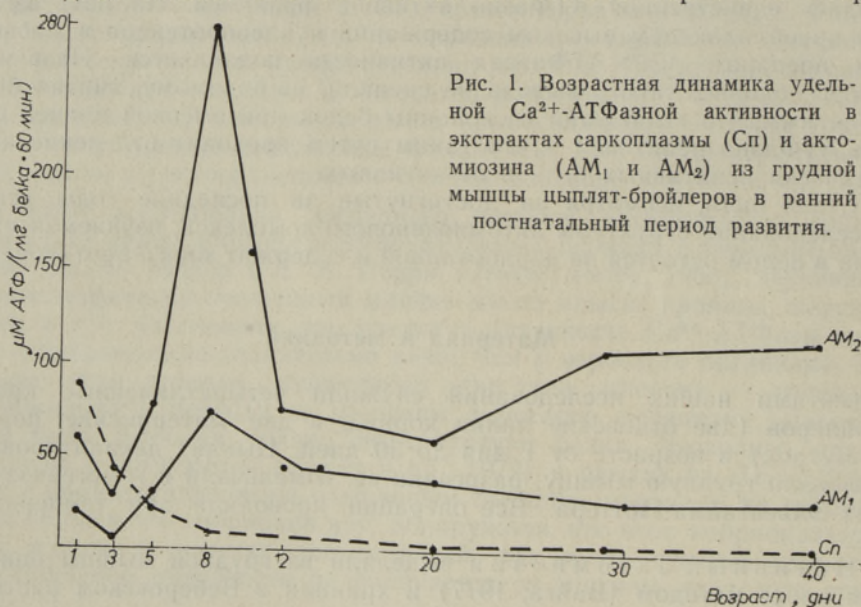


Рис. 1. Возрастная динамика удельной Ca²⁺-АТФазной активности в экстрактах саркоплазмы (Сп) и актомиозина (АМ₁ и АМ₂) из грудной мышцы цыплят-бройлеров в ранний постнатальный период развития.

экстрактов актомиозина (АМ₁ и АМ₂) за первые 2 дня жизни существенно снижается, а затем в течение 6—7 дней явно активизируется, достигая к 8-му дню наивысшего уровня, особенно в экстракте АМ₂. После этого она резко снижается и спустя несколько дней доходит до среднего медленно повышающегося уровня в обоих актомиозиновых экстрактах. В саркоплазме же энзиматическая активность, отмеченная в 1-й день жизни цыплят, за последующие 3—5 дней существенно снижается и затем, еще несколько снизившись, остается на относительно низком стабильном уровне.

На наш взгляд, наблюдаемые сдвиги свидетельствуют об изменениях белкового состава и структуры мышечной ткани в этот период. Как описано ранее (Вайга, 1971), за первые 5—6 дней жизни цыплят кон-

центрация фибриллярных белков резко увеличивается — саркоплазматических более чем в 2 раза и фибриллярных даже в 5—6 раз. Эти данные позволили предположить, что в первые 3—5 дней жизни цыплят синтезируемые белки лишены энзиматической активности, ввиду чего в эти дни отмечается явное снижение удельной АТФазной активности во всех трех экстрактах. Начиная с 5-го дня активность Ca^{2+} -АТФазы обоих экстрактов актомиозина стремительно повышается, что указывает на завершение процесса образования сократимого белка, т. е. превращение его в АТФазно активный (особенно четко это видно по экстракту АМ₂), и заканчивается к 8-му дню жизни. Затем чрезмерно повышенная активность АТФазы в течение нескольких дней возвращается к среднему медленно повышающемуся уровню. Значительную разницу в показателях удельной Ca^{2+} -АТФазной активности между экстрактами АМ₁ и АМ₂ (рис. 1), вероятно, можно объяснить наличием в первом экстракте, наряду с АТФазно активным актомиозином, еще и значительного количества энзиматически неактивного белка, приводящего к снижению удельной активности Ca^{2+} -АТФазы в экстракте АМ₁. Этот белок, очевидно, очень близок к актомиозину, так как анализ (Вайга, 1977) фракционного состава белков с помощью электрофореза на ПАА геле существенных различий между экстрактами АМ₁ и АМ₂ не выявил. Следует отметить, что они различаются только по способу получения, а именно, АМ₁ выделен экстрагированием из исходного материала с первой порцией солевого раствора высокой ионной силы в течение 24 ч, между тем как АМ₂ — из оставшегося нерастворимого

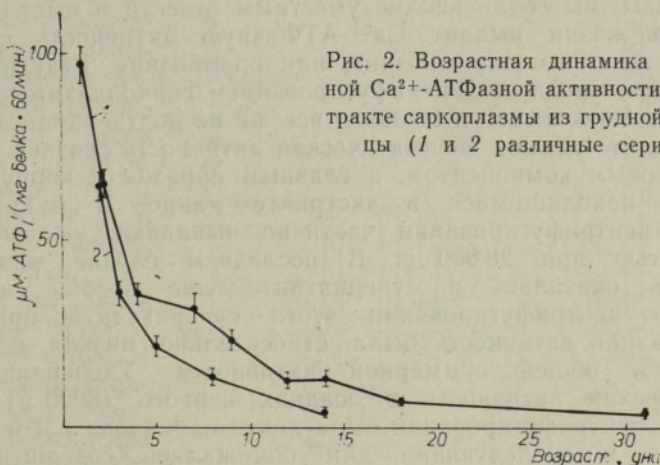


Рис. 2. Возрастная динамика удельной Ca^{2+} -АТФазной активности в экстракте саркоплазмы из грудной мышцы (1 и 2 различные серии).

остатка со второй порцией того же раствора также в течение 24 ч. Выход белка из АМ₂, как правило, был на 50% меньше, чем из АМ₁.

Далее наше внимание привлекло то обстоятельство, что в первые дни жизни цыплят Ca^{2+} -АТФазная активность саркоплазмы грудной мышцы довольно высока, однако, через несколько дней она снижается, и позже первоначальный уровень не восстанавливается (рис. 1 и 2). Объяснить это явление трудно. Можно думать, что в связи с повышением концентрации белков в саркоплазме за первые дни жизни цыплят происходит снижение удельной активности Ca^{2+} -АТФазы за счет энзиматически неактивных белков. Будучи, однако, под впечатлением данных Д. С. Робинсона (Robinson, 1952) о том, что саркоплазма скелетных мышц цыплят в эмбриогенезе содержит некий Ca^{2+} -АТФазно активный

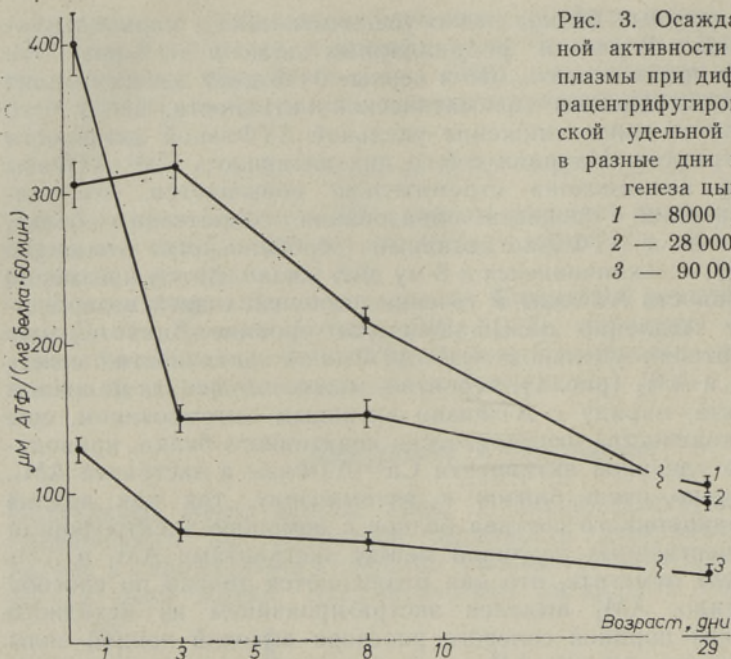


Рис. 3. Осаждаемость Ca^{2+} -АТФазной активности из экстракта саркоплазмы при дифференциальном ультрацентрифугировании по энзиматической удельной активности осадков в разные дни постнатального онтогенеза цыплят-бройлеров.

1 — 8000 g в течение 20 мин,

2 — 28 000 g и 60 мин,

3 — 90 000 g и 60 мин.

белок прототипа миозина, растворяемого солевым раствором малой ионной силы, мы сочли вполне уместным отнести и выявленную нами в 1-й день жизни цыплят Ca^{2+} -АТФазную активность саркоплазмы к такому же прототипу миозина, или премиозину. Результаты наших опытов с поочередным центрифугированием саркоплазматического экстракта при 8000, 28 000 и 90 000 g все же не подтвердили это (рис. 3). Оказалось, что данная энзиматическая активность связана не с каким-либо белковым компонентом, а главным образом с корпускулярными тельцами, находящимися в экстракте макро- и микросом, которые при центрифугировании частично выпадают уже при 8000 g, а полностью при 28 000 g. В последнем случае энзиматическая активность оказалась в супернатанте уже вообще неулавливаемой. При центрифугировании этого супернатанта при 90 000 g Ca^{2+} -АТФазная активность была относительно низкая и составляла около 10% общей суммарной активности. Удельная суммарная энзиматическая активность в осадках первого (8000 g) и второго (28 000 g) центрифугирований была почти одинакова в 1-й день жизни цыплят, а в последующие дни понижалась совершенно по-разному. А именно, в осадке первого центрифугирования удельная энзиматическая активность понижалась на 60% на 3-й день жизни. На этом уровне она оставалась и в дальнейшем. В осадке второго центрифугирования снижение АТФазной активности впервые отмечено только на 8-й день и продолжается до конца периода наблюдения. Таким образом, резкое снижение удельной Ca^{2+} -АТФазной активности в экстракте саркоплазмы в первые дни жизни цыплят происходит в основном за счет изменений в его макро- и микросомных фракциях.

Разумеется, описанные выше колебания удельной Ca^{2+} -АТФазной активности актомиозина из грудных мышц цыплят-бройлеров в первые 10—12 дней жизни вызывают значительный интерес. Почти линейное повышение концентраций фибриллярных белков в первые дни жизни цыплят позволяет считать, что наблюдаемые значительные колебания энзиматической активности явно свидетельствуют о ее фазовом харак-

тере в ранний постнатальный период. При этом на преобразовательном этапе происходит быстрое 5—6-кратное повышение концентрации актомиозина и одновременное существенное снижение его удельной Ca^{2+} -АТФазной активности. Это, видимо, указывает на интенсивный первоначальный синтез энзиматически неактивного фибриллярного белка в этот период, который вызывает снижение удельной АТФазной активности. За преобразовательным этапом, заканчивающимся высокой концентрацией белка, начиная с 5-го дня жизни наступает завершающий этап образования актомиозина, характеризующийся стремительным повышением удельной активности АТФазы.

Сказанное, однако, является не единственно возможным объяснением этих колебаний. Считаю вполне обоснованным также взгляд, что наблюдающиеся значительные сдвиги активности АТФазы в этот период обусловлены ингибирующим действием рибонуклеиновых кислот, повышение концентрации которых в первые 2 дня жизни цыплят — первичный инициатор всех последующих изменений концентрации белков как в миофибриллах, так и в саркоплазме. Очевидно, эти *de novo* образующиеся рибонуклеиновые кислоты входят в комплексы с миофибриллярными белками в экстрактах AM_1 и AM_2 . Об этом свидетельствует пониженная Ca^{2+} -АТФазная активность экстракта AM_1 (рис. 1) при повышении содержания рибонуклеиновых кислот (Вайга, Вайга, 1977). Следует отметить также, что в течение первых двух дней, когда концентрация рибонуклеиновых кислот повышается, АТФазная активность в AM_1 и AM_2 явно снижается. Затем концентрация рибонуклеиновых кислот начинает снижаться и АТФазная активность восстанавливается. Сопоставляя все эти сдвиги удельной Ca^{2+} -АТФазной активности в AM_1 и AM_2 с соответствующими показателями уровня рибонуклеиновых кислот на каждом этапе, можно

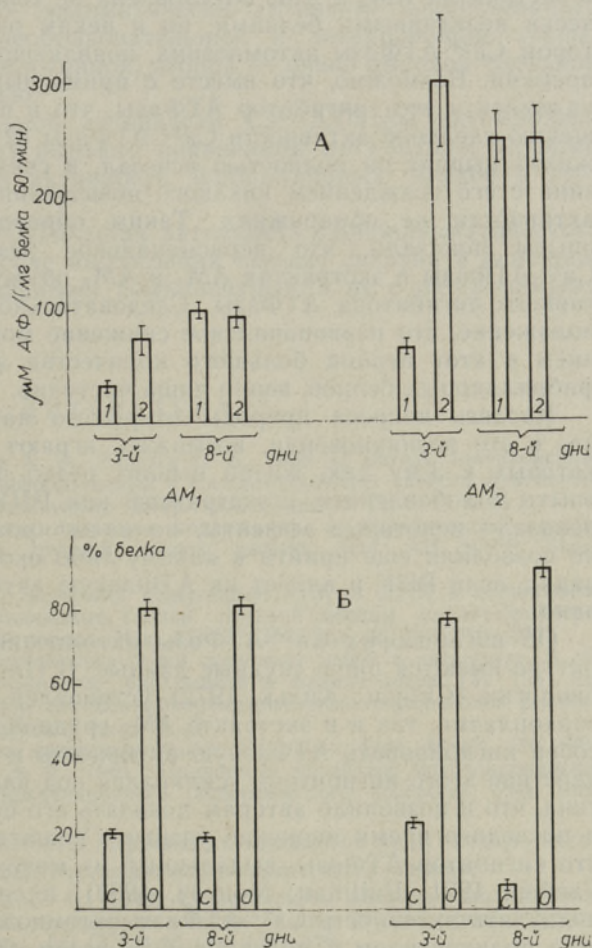


Рис. 4. А — степень удельной Ca^{2+} -АТФазной активности в экстрактах AM_1 и AM_2 до (1) и после (2) их переосаждающей очистки. Б — распределение белка между супернатантом (С) и осадком (О) после переосаждающей очистки экстрактов AM_1 и AM_2 .

с уверенностью высказать предположение, что удельная энзиматическая активность в значительной мере зависит от содержания рибонуклеиновых кислот в AM_1 и AM_2 .

Исходя из сказанного предположения, для выяснения возможных причин очень низкой Ca^{2+} -АТФазной активности в экстрактах актомиозина AM_1 и AM_2 на 3-й день жизни цыплят нами были проведены дополнительные опыты, в частности по очистке актомиозина для удаления энзиматически неактивных примесных белков, которые дали любопытные результаты (рис. 4). Данные рис. 4 показывают, что указанная низкая АТФазная активность AM_1 и AM_2 в результате осаждения актомиозина повышалась более чем в 2 раза и 6 раз соответственно. На 8-й день жизни цыплят, когда уровень Ca^{2+} -АТФазной активности уже восстанавливался и даже превосходил исходный, дополнительные опыты с осаждением актомиозина повышения энзиматической активности не показали. Следует отметить, что при осаждении актомиозина вместе с супернатантом удалялись примесные белки — примерно 20% общего содержания белка. Только в экстракте AM_2 на 8-й день жизни цыплят количество удаленных белков составило 6,5%, т. е. значительно меньше, чем во всех других экстрактах.

Приведенные данные, на наш взгляд, свидетельствуют о том, что наблюдаемая на 3-й день жизни цыплят низкая АТФазная активность в экстрактах AM_1 и AM_2 обусловлена не только примесными энзиматически неактивными белками, но и неким очень эффективным ингибитором Ca^{2+} -АТФазы актомиозина, появляющимся в экстрактах к этому времени. Возможно, что вместе с примесными белками из экстрактов удалялся и этот ингибитор АТФазы, что и приводило к резкому повышению удельной активности Ca^{2+} -АТФазы (2- и 6-кратное). На 8-й день жизни цыплят он полностью исчезал, в связи с чем очистка актомиозина с его осаждением никакого повышения удельной энзиматической активности не обнаружила. Таким образом, наши дополнительные опыты показали, что первоначальное резкое снижение активности Ca^{2+} -АТФазы в экстрактах AM_1 и AM_2 объясняется появлением эффективного ингибитора АТФазы. Следовательно, высказанное нами предположение, что первоначальное снижение может быть вызвано появлением в этот период большого количества энзиматически неактивных фибриллярных белков, верно лишь частично.

Касаясь вопроса природы открытого нами ингибитора, думается, что в его возникновении, возможно, играют роль РНК, концентрация которых к 3-му дню жизни цыплят резко повышается. Однако наши опыты с добавлением к экстрактам как РНК, так и РНКазы, хотя и показали некоторые эффекты, но из-за противоречивости результатов не позволили еще прийти к какому-либо окончательному выводу. Очевидно, если РНК и влияет на АТФазную активность, то явно опосредованно.

Об ингибиторах Ca^{2+} -АТФазы актомиозина в доступной нам литературе имеются лишь скудные данные. В Институте экспериментальной биологии (Сибуль, Кильк, 1972) установлен ингибитор АТФазы как в саркоплазме, так и в экстракте AM_1 грудной мышцы кур, который способен ингибировать АТФазную активность и в экстракте AM_2 . Эффект действия этого ингибитора усиливался под влиянием экзогенного тироксина, что и позволило авторам доказать его существование. Кроме того, в последнее время японские ученые (Yamazaki и др., 1977) показали, что ингибитор АТФазы, выделенный из митохондрий сердца (Пульман, Гарбер, 1961; Pullman, Monroy, 1963), в состоянии почти полностью подавлять активность Ca^{2+} -АТФазы актомиозина. Этот ингибитор является полипептидом с молекулярным весом от 11 000 до 13 000. Вполне

возможно, что выделенный И. Сибулем и С. Кильком ингибитор АТФазы актомиозина митохондриального происхождения, тем более, что в значительном количестве он обнаружен в саркоплазматическом экстракте. Однако открытый нами ингибитор по своей природе, возможно, совершенно иного характера, так как его появление связано с резким повышением уровня РНК в экстрактах AM_1 и AM_2 на 3-й день жизни цыплят.

В заключение можно сказать, что значение чрезмерной интенсификации синтеза фибриллярных белков мышц у цыплят-бройлеров является отражением приспособительной реакции организма к условиям жизни во внешней среде, направленной на обеспечение скорейшего завершения внутренней структуры скелетно-мышечного аппарата, какой начинается с первичного значительного повышения концентрации РНК в экстрактах актомиозина.

Выводы

1. На основе резко изменяющихся показателей удельной активности Ca^{2+} -АТФазы нативного актомиозина из грудной мышцы цыплят-бройлеров в ранний постнатальный период и данных о линейно-ступенчатом резком повышении его концентрации в это время делается вывод, что образование (синтез) энзиматически активного фибриллярного белка протекает через преобразовательный и завершающий этапы: первый характеризуется пониженной, второй — очень высокой удельной энзиматической активностью.
2. Резкое снижение удельной активности Ca^{2+} -АТФазы актомиозина на 3-й день жизни цыплят вызвано появлением ингибитора, который подавляет энзиматическую активность фибриллярных белков в этот период.
3. Высокая удельная Ca^{2+} -АТФазная активность саркоплазматического экстракта в первые дни после вылупления цыплят связана в основном с его макро- и микросомальными компонентами, а не с растворимыми белками.

ЛИТЕРАТУРА

- Болдырев А. А., Лебедев А. В., Ритов В. Б., 1969. О методе одновременной регистрации аденозинтрифосфатазных и Са-насыщающих свойств фрагментов саркоплазматического ретикулума. *Вопр. мед. химии* 34 (1) : 119—124.
- Вайга Ю., 1977. Постнатальная динамика содержания и фракционного состава сократительных белков грудной мышцы цыплят. *Изв. АН ЭССР. Биол.* 26 (3) : 243—246.
- Вайга Ю., Вайга С., 1977. Динамика содержания РНК и ДНК в саркоплазме и экстрактах миофибриллярных белков грудной мышцы цыплят-бройлеров в ранний постнатальный период. *Изв. АН ЭССР. Биол.* 26 (3) : 240—242.
- Касавина Б. С., 1954. Сократительные белки скелетных мышц в онтогенезе. В сб.: *Тр. Всесоюз. об-ва физиологов, биохимиков и фармакологов.* (2) : 154—159.
- Никулина Г. Н., 1965. Обзор методов колориметрического определения фосфора по образованию молибденовой сини. М.-Л.
- Оппель В. В., 1958. Эволюция мышечных белков. *Усп. совр. биол.* 46 (3) : 281—300.
- Пульман М. Э., Гарбер Э. Р., 1961. Природный ингибитор митохондриальной АТФазы. *Мат. 5-го Международного биохимического конгресса. Реф. секц. сообщений.* М., 2.
- Сибуль И. К., Кильк А. В., 1972. Действие катехоламинов на АТФазную активность миозина. *Мат. симп. Регуляция ферментных систем.* Таллин.
- Иванов И. И., Касавина Б. С., 1948. Сравнительное биохимическое изучение контрактильных белков поперечнополосатых мышц на различных ступенях фило- и онтогенеза. *Докл. АН СССР* 60 (3) : 417—420.

- Ebashi, S., Endo, M., 1968. Ca ions on muscle contraction. *Progr. Biophys.* **18** : 123—183.
- Ebashi, S., Lipman, F., 1962. Adenosintriphosphate-linked concentration of calcium ions in a particulate fraction of rabbit muscle. *J. Cell Biol.* **14** : 389—400.
- Engelhardt, W. A., Ljubimova, M. N., 1939. Myosin and adenosintriphosphatase. *Nature* **144** (3650) : 668—669.
- Etlinger, J. D., Zak, R., Fischman, D. A., Rabinowitz, M., 1975. Isolation of newly synthesised myosin filaments from skeletal muscle homogenates and myofibrils. *Nature* **255** (5505) : 259—261.
- Hasselbach, W., Makinose, M., 1961. Die Calciumpumpe der «Erschlaffungsgrana» des Muskels und ihre Abhängigkeit von der ATP-spaltung. *Biochem. Z.* **333** : 518—523.
- Itzhaki, R. F., Gill, D. M., 1964. A microbiuret method for estimating proteins. *Anal. Biochem.* **9** : 401—410.
- Martonosi, A., Feretos, R., 1964. Sarcoplasmic reticulum. II. Correlation between adenosine triphosphatase activity and Ca^{2+} uptake. *J. Biol. Chem.* **239** (2) : 659—668.
- Pelloni-Mueller, G., Ermini, M., Jenny, E., 1976. Changes in myosin light and heavy chain stoichiometry during development of rabbit fast, slow and cardiac muscle. *FEBS Letters* **70** (1) : 113—117.
- Portzehl, H., 1957. Die Bindung des Erschlaffungsfaktors von Marsh an die Muskelgrana. *Biochim. Biophys. Acta* **26** : 373—377.
- Portzehl, H., 1967. Der Einfluss der freien Calcium Ionen auf die ATP-ase Aktivität extrahierter Fibrillen und auf die Dissoziation der Actin- und Myosin — Filamente. *Pflüg. Arch. Ges. Physiol.* **297** (1) : 19—21.
- Pullman, M. E., Monroy, G. C., 1963. A naturally occurring inhibitor of mitochondrial adenosine triphosphatase. *J. Biol. Chem.* **238** (11) : 3762—3769.
- Robinson, D. S., 1952. Changes in the protein composition of chick muscle during development. *Biochem. J.* **52** : 621—628.
- Sreter, F., Holtzer, S., Gergely, J., Holtzer, H., 1972. Some properties of embryonic myosin. *J. Cell Biol.* **55** (3) : 581—594.
- Trayer, J. P., Perry, S. V., 1966. Myosin of the developing skeletal muscle. *Biochem. Z.* **345** : 87—100.
- Weber, A., Herz, H., 1963. The binding of calcium to actomyosin systems in relations to their biological activity. *J. Biol. Chem.* **238** : 599—604.
- Yamazaki, S., Hasebe, H., Takizawa, H., Tamura, Y., Inada, Y., 1977. Inhibition of muscle actomyosin ATPase activity by mitochondrial ATPase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **75** (4) : 1104—1110.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
24/X 1977

Jüri VAIGA, Ilo SIBUL

**BROILERITIBUDE RINNALIHASE FIBRILLAARSETE VALKUDE JA
SARKOPLASMA Ca^{2+} -ATPaasse AKTIIVSUSE EALINE DÜNAAMIKA
VARASEL POSTNATAALSEL PERIOODIL**

Resüme

Artiklis on esitatud järeldus, et koorumisjärgsel perioodil ei muutu broileritibude rinnalihase natiivse aktomüosiini eriaktiivsus ühtlaselt, nagu on kirjeldatud varem, vaid faasiliselt (tõusude ja langustega). Kolme esimese elupäeva kestel, millal toimub intensiivne fibrillaarsete valkude biosüntees, langeb aktomüosiini ekstraktide Ca^{2+} -ATPaasne aktiivsus miinumtasemele. Sel perioodil pärsib lihasvalkude fermentatiivset aktiivsust inhibiitor, mida oli võimalik natiivsest aktomüosiinist eraldada sadestava dialüüsiga. Sellele 3-päevasele ettevalmistavale etapile järgneb aktomüosiini ekstraktide eriaktiivsuse järsk tõus, mis saavutab maksimumi 8. päevaks; samaks ajaks lõpeb valgu kiirendatud süntees. Hiljem Ca^{2+} -ATPaasne aktiivsus mõnevõrra langeb ja saavutab aegamööda täiskasvanud isendile omase taseme. Sarkoplasma suur üldine Ca^{2+} -ATPaasne aktiivsus

johtub põhiliselt selle makro- ja mikrosomaalsetest osakestest, mitte lahustuvatest valkudest. Varases ontogeneesis esineva Ca^{2+} -АТФаasi inhibiitori füsioloogiline mõte seisneb selles, et piirata АТР tarbimist aktiivseks lihastegevuseks ja seega soodustada fibrillaarsete valkude biosünteesi.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut*

Toimetusse saanud
24. X 1977

Jüri VAIGA, Ilo SIBUL

DYNAMICS OF Ca^{2+} -ATPase ACTIVITY IN MYOFIBRILLAR AND SARCOPLASMIC PROTEIN EXTRACTS OF THE MUSCLE PECTORALIS OF BROILER CHICKS IN THE EARLY POSTNATAL PERIOD

Summary

It was established that in early postnatal period the specific activity of the native actomyosin did not increase steadily as had been described earlier but it followed biphasic dynamics. By the end of the third day when fibrillar proteins were intensely synthesized, the specific Ca^{2+} -ATPase activity dropped to minimum. This was caused by a strong inhibitor which could be removed from the native actomyosin fraction by dialytic sedimentation. The preparative stage was followed by a sharp increase in the specific activity of actomyosin extracts which reached the maximum by the eighth day when the enhanced synthesis of protein stopped. Thereafter the Ca^{2+} -ATPase activity somewhat decreased and slowly approached the adult level. The general high Ca^{2+} -ATPase activity of sarcoplasm during the first life days of the chicken was characteristic mainly of its macro- and microsomic particles and not of soluble proteins. The physiological significance of the inhibitor of Ca^{2+} -ATPase activity during early ontogenesis is the limitation of АТР consumption for active muscle work in the period of intense synthesis of fibrillar proteins.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology*

Received
Oct. 24, 1977