

Юри ВАЙГА

ПОСТНАТАЛЬНАЯ ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ И ФРАКЦИОННОГО СОСТАВА СОКРАТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ГРУДНОЙ МЫШЦЫ ЦЫПЛЯТ

Jüri VAIGA. TIBU RINNALIHASE KONTRAKTEERUVATE VALKUDE SISALDUSE JA FRAKTSIOONILISE KOOSTISE POSTNATAALNE DÜNAAMIKA

Jüri VAIGA. DYNAMICS OF CONTRACTILE PROTEINS AND FRACTIONAL CONTENT OF THE BREAST MUSCLE IN EARLY POSTNATAL AGE OF CHICKS

Проблема образования в онтогенезе у кур сократительных белков, в частности у цыплят скороспелых бройлеров, характеризующихся стремительным ростом, относительно мало изучена.

По данным некоторых авторов (Csapo, Herrmann, 1951; Robinson, 1951; Иванов, Касавина, 1948), количество актомиозина в мышцах кур равномерно увеличивается как в пре-, так и в постнатальный период развития. Б. Касавина (1954) утверждает, что у зрелорождающихся кур и морских свинок актомиозин, тождественный актомиозину взрослых животных, появляется уже в пренатальный период. В связи с этим нами ставилась задача проследить динамику образования фибриллярных белков и белка саркоплазмы в мышечной ткани у цыплят скороспелых бройлеров в ранний постнатальный период, а также исследовать изменения, возникающие в электрофоретическом спектре этих белков.

Материал и методика

Объектами наших исследований служили четырехлинейные кроссы бройлеров (две отцовские линии породы корниш и две материнские линии породы плимутрок) в возрасте от 1 до 30 дней. После декапитации у цыплят извлекали кусочек грудной мышцы, который освобождали от соединительных тканых прослоек и охлаждали до -10°C . Затем мышцу разрезали на тонкие ломтики и брали навеску в 1 г, которую измельчали в гомогенизаторе типа Элвенгайма-Поттера в течение 2 мин со скоростью 60 об/мин. В ходе гомогенизации для экстракции саркоплазматических белков добавляли 20 мл 0,03 М раствора КСl. Полученную молочнообразную миофибрилярную суспензию центрифугировали в течение 20 мин при 5000 г. Супернатант отделяли, и фибриллярный остаток для освобождения от клеточных органелл семикратно промывали этим же раствором КСl. Фибриллярный осадок экстрагировали избирательно по И. Иванову и В. Юрьеву (1961), причем для исчерпывающей экстракции мы несколько раз увеличивали соотношение навески и объема раствора Вебера. Обработку проводили двукратно в течение 24 ч. Второй вариант экстрагирования белков предусматривал первую кратковременную (2 ч) и вторую длительную (24 ч) обработку 0,6 М раствором КСl (рН 6,5) для избирательного извлечения миозина-А при первой экстракции. Третий вариант заключался в двух длительных последовательных экстракциях (по 24 ч)

0,6 M раствором KCl при pH 6,5. Метод многократного экстрагирования фибриллярных белков успешно применялся ранее при количественном определении актина (Hasselbach, Schneider, 1951), а также для количественного выделения основных фракций мышечных белков (Иванов, Юрьев, 1961). Концентрацию белка мы определяли по Itzhaki и Gill (1964). Этот модифицированный микробиуретовый метод характеризуется высокой чувствительностью к различным видам белка. Электрофорез саркоплазматических белков проводили в полиакриламидном геле методом Davis (1964), а электрофорез миофибриллярных белков — методом Н. Шелудько (1975). В ходе работы поддерживали температуру в пределах 2—4°.

Результаты и обсуждение

Из трех испытанных нами вариантов экстрагирования белков наиболее эффективным оказался метод И. Иванова и В. Юрьева (1961). В остальных двух вариантах экстрагирования выход белка был примерно наполовину меньше, и поэтому в настоящей работе эти данные не анализируются.

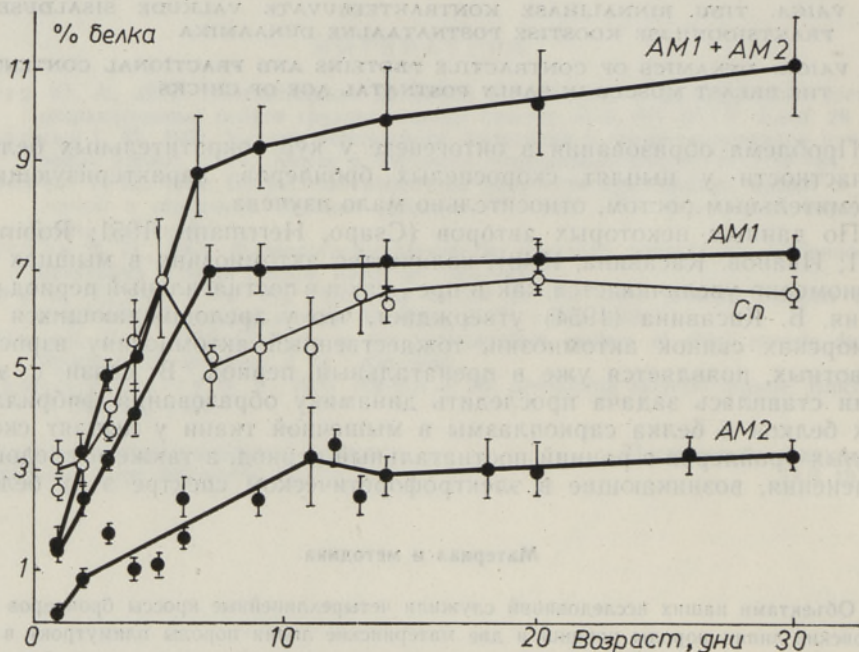


Рис. 1. Динамика содержания экстрагируемых фибриллярных и саркоплазматических белков (Сп). AM 1 и AM 2 — актомиозин в экстрактах фибриллярного белка. Каждая точка — это результаты анализов 4 особей.

Как видно из рис. 1, где приведена возрастная динамика содержания белка в первом и втором экстрактах актомиозина (AM 1 и AM 2) в течение первых 5—7 дней содержание белков (по AM 1, AM 2 и AM 1+AM 2) в грудной мышце бройлеров резко возрастает до определенного уровня, начиная с которого увеличивается медленно. Важно отметить, что при повторной экстракции (AM 2) выход белка значительно меньше, чем при первой (20—40% от AM 1).

Динамика повышения содержания белка в саркоплазме оказалась аналогичной динамике увеличения концентрации актомиозина в мышеч-

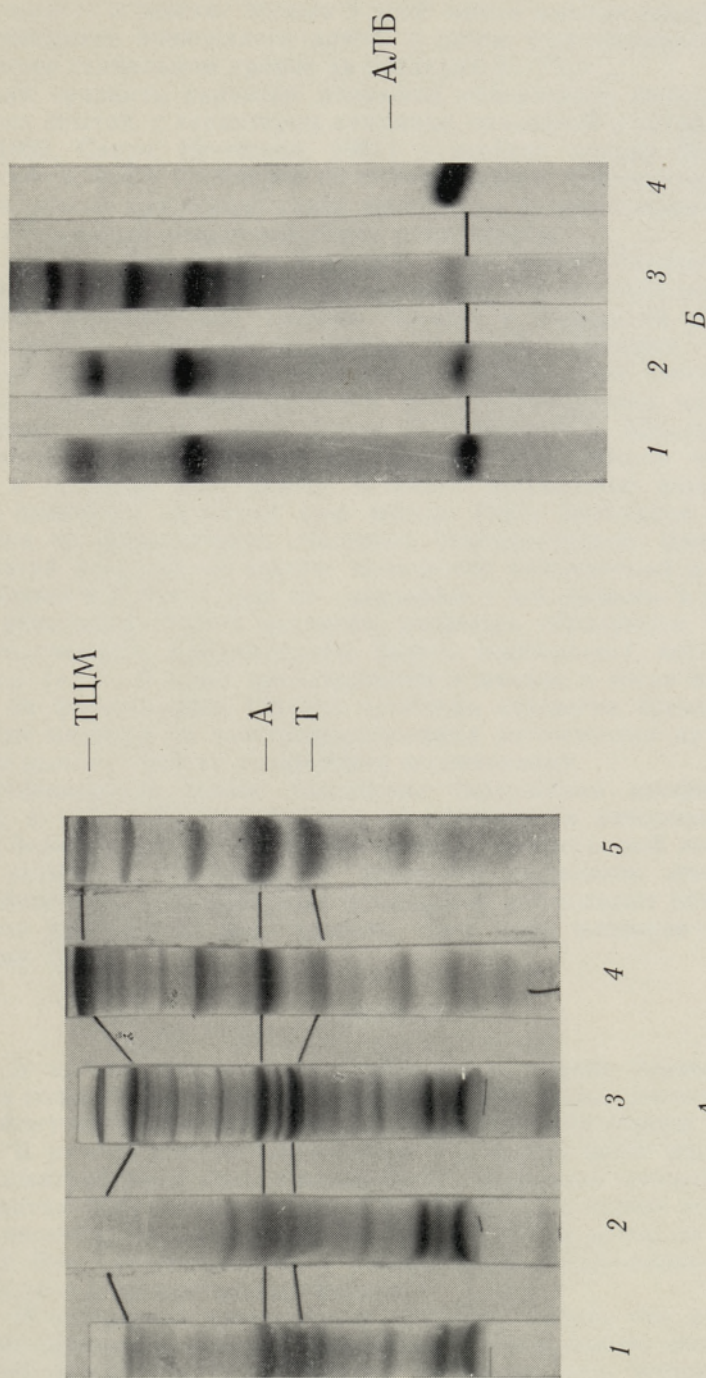


Рис. 2. Электрофореграммы: А — нативного актомина в ДСН-полиакриламидном 10%-ном геле (по Шелудько) в первый (1), третий (2), пятый (3), седьмой (4) и 21-й (5) дни постнатального развития; Б — саркоплазматических белков в полиакриламидном 7,5%-ном геле (по Davis) в первый (1), третий (2), пятый (3) дни постнатального развития. Бычий сывороточный альбумин — 4.

ной ткани — в течение первых 5 дней жизни цыплят содержание белка в саркоплазме повышалось вдвое, а затем устанавливалось на более или менее стабильном уровне (в пределах 6—7%).

Если сравнить характер динамики содержания белка, полученной в наших опытах, с характером динамики, описанной в литературе (Robinson, 1952; Csapo, Herrmann, 1951) у цыплят породы белый леггорн, выясняется, что у бройлеров он скачкообразен. Несомненно, это объясняется резкой интенсификацией биосинтеза белка, приводящей к быстрому созреванию мышечной ткани у бройлеров.

В связи с выявленным периодом интенсивного биосинтеза белка в первые дни жизни бройлеров представляет интерес проследить за изменениями фракционного состава белков в мышечной ткани цыплят. Как видно по электрофореграммам (рис. 2), фракция миоалбумина в саркоплазме начиная с первого дня жизни явно уменьшается, что можно объяснить использованием его для построения миофибриллярных белков, как это предполагают И. Иванов и В. Юрьев (1961). Далее, на электрофореграммах актомиозина обнаружено, что, как правило, к третьему дню жизни исчезает миозиновая фракция, чтобы вновь появиться на пятый день жизни. Такое временное исчезновение миозина на фореграммах объяснить затруднительно. Ввиду того, что на третий день жизни цыплят количество актомиозина в мышце увеличивается в 2 или 3 раза по сравнению с его уровнем в первый день, то в начальный период развития, очевидно, образуются только некие предшественники фибриллярных белков (премиозин), которые в дальнейшем (на 5—6 день) превращаются в миозин и тогда вновь появляются на фореграммах. Однако проблема сущности временного исчезновения миозина на электрофореграммах актомиозина на третий день жизни цыплят требует дальнейших исследований.

Установленное резкое повышение содержания миофибриллярного белка, в частности актомиозина, обеспечивается интенсивным биосинтезом белков в первые дни жизни цыплят, предпосылкой которого является активация деятельности белоксинтезирующего аппарата. При этом биосинтез фибриллярных белков, как показывают изменения миозиновой фракции на фореграммах, идет через сложные преобразовательные фазы.

Выводы

1. У цыплят скороспелых бройлеров в течение первых 5—7 дней жизни содержание белков в грудной мышце резко увеличивается, что указывает на интенсивный биосинтез белков в этот период.

2. В ранний постнатальный период в саркоплазме мышцы по данным электрофореза явно уменьшается содержание миоалбуминов, а в экстрактах фибриллярных белков на третий день жизни исчезает фракция миозина, появляющаяся на фореграммах вновь на пятый день жизни. Это свидетельствует о разных путях образования фибриллярных белков в постнатальный период.

3. В экстрактах актомиозина из мышц только что вылупившихся цыплят бройлеров миозин находится в нормальных соотношениях с другими фракциями белка, однако на третий день жизни эти соотношения нарушаются.

ЛИТЕРАТУРА

Иванов И. И., Касавина Б. С., 1948. Сравнительное биохимическое изучение контрактильных белков поперечно-полосатых мышц на различных ступенях фило- и онтогенеза. Докл. АН СССР 60 (3) : 417—420.

- Иванов И. И., Юрьев В. А., 1961. Биохимия и патобиохимия мышц. Л.
- Касавина Б. С., 1954. Сократительные белки скелетных мышц в онтогенезе. Тр. Всесоюз. об-ва физиологов, биохимиков и фармакологов 2 : 151—159.
- Шелудько Н. С., 1975. Белковый состав миофибрилл кролика, определенный методом диск-электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия. Цитология 17 : 1148—1154.
- Csapo, A., Herrmann, H., 1951. Quantitative changes in contractile proteins of chick skeletal muscle during and after embryonic development. Amer. J. Physiol. 165 : 701—709.
- Davis, B. J., 1964. Disc electrophoresis. II: Method and application to human serum proteins. Ann. Acad. Sci. 121 : 404—427.
- Hasselbach, W., Schneider, G., 1951. Der L-Myosin und Aktin Gehalt des Kaninchenmuskels. Biochem. Z. 321 : 462—475.
- Itzhaki, R. F., Gill, D. M., 1964. A microbiuret method for estimating proteins. Anal. Biochem. 9 : 401—410.
- Robinson, D. S., 1952. Changes in the protein composition of chick muscle during development. Biochem. J. 52 : 621—628.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
14/1 1977