

KRZYSZTOF KOSTRO, ANTONI BRODAKCI*

Badania porównawcze białek surowicy krwi rozdzielonych w żelu poliakrylamidowym lisów srebrzystych i polarnych

Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR, Al. PKWN 30, 20-612 Lublin
 • Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej Wydziału Zootechnicznego AR,
 ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin

Zagadnienia dotyczące polimorfizmu białek surowicy zwierząt, w tym również lisów hodowlanych, stanowią aktualny kierunek badań w genetyce molekularnej oraz immunogenetyce (2, 4, 6, 8). Wyniki tych badań mogą znaleźć praktyczne zastosowanie przy ustaleniu pochodzenia zwierząt czy też różnic genetycznych między rasami, jak również genetycznych uwarunkowań podatności zwierząt na choroby zakaźne i inwazyjne (1, 2, 3, 4, 8, 10, 11). Serow i wsp. (11) wykazali przy użyciu elektroforezy w żelu skrobiowym zróżnicowanie białek strukturalnych surowicy lisów srebrzystych i polarnych w regionach prealbumin (Pa), albumin (Alb) i transferyn (Tf). Stwierdzili oni u lisów srebrzystych występowanie prealbuminy, której brak jest u lisów polarnych, jak również szybszą migrację albumin i transferyn zawartych w surowicy lisów srebrzystych w porównaniu do analogicznych białek u lisów polarnych. Podobne różnice w szybkości migracji albumin i transferyn w wymienionych gatunków lisów zostały ostatnio opisane przez Juneja i wsp. (8). Ponadto Serow i wsp. (11) zaobserwowali w regionie transferyn w surowicy międzygatunkowych mieszańców (srebrzyste × polarne) dodatkowy prążek migrujący wolniej w polu elektroforetycznym, niż znajdujący się w analogicznym regionie prążek u lisów polarnych.

Spośród prac krajowych na uwagę zasługują wyniki badań Balbierza i wsp. (1, 2, 3), którzy przy pomocy immunoelektroforezy jednokierunkowej oraz swoistych surowic odpornościowych przeciwko pełnej surowicy wykazali u lisów pospolitych i polarnych duże pokrewieństwo antygenowe białek surowiczych, zwłaszcza w obrębie albumin oraz alfa i beta globulin. Ci sami autorzy na podstawie wykazanego polimorfizmu transferyn podjęli próby ustalenia pochodzenia lisów oraz wykluczenia ojcostwa.

Celem pracy było porównanie białek surowicy rozdzielonych za pomocą cienkowarstwowej elektroforezy poziomej w żelu poliakrylamidowym u lisów srebrzystych i polarnych.

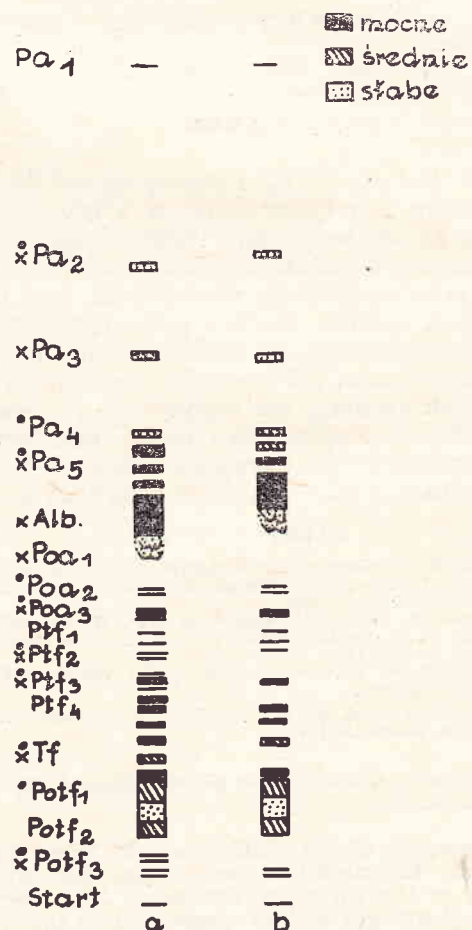
Materiał i metody

Do badań użyto 12 samców i 11 samic dorosłych lisów srebrzystych oraz 7 samców i 9 samic lisów polarnych. Zwierzęta były żywione systemem tradycyjnym według zalecanych norm z uwzględnieniem dodatków mineralno-witaminowych oraz miały stały dostęp do wody. Pochodziły one z ferm, w których nie notowano chorób zakaźnych i inwazyjnych. Badania przeprowadzono po odsadzeniu lisząt tj. w drugiej

połowie sierpnia. Krew do badań pobierano z żyły dostopowej do heparynizowanych kapilar, z których po odwirowaniu elementów morfotycznych uzyskiwano osocze. Białka osocza rozdzielono za pomocą poziomej elektroforezy w żelu poliakrylamidowym według metody Gahne i wsp. (6) z zastosowaniem własnej modyfikacji opisanej w pracy Głuchowskiego i wsp. (7), która pozwalała na przechowywanie oryginalnych elektroforegramów. Uzyskane elektroforegramy barwiono barwnikiem Commasie Brilliant Blue R-250 na obecność białek oraz metodą opisaną przez Schellnera (9) na zawartość glikoprotein.

Wyniki i omówienie

Elektroforegramy białek surowicy krwi rozdzielonych w żelu poliakrylamidowym dorosłych lisów srebrzystych i polarnych przedstawiono schematycznie na ryc. 1. Jak wynika z



Ryc. 1. Schemat elektroforegramów białek osocza a) lisów polarnych, b) lisów pospolitych

Objaśnienia: • — regiony wybarwiający się na zawartość glikoprotein, × — regiony, w których obserwowano różnice między badanymi gatunkami lisów.

zawartych w niej danych białka surowicy badanych gatunków lisów rozdzielono na 30—35 prążków, które zgodnie z mianownictwem wprowadzonym przez Gahne i wsp. (6) u ssaków oraz Tanabe i wsp. (12) u ptaków zaklasyfikowano do następujących regionów i podregionów: prealbuminy (Pa₁, Pa₂, Pa₃, Pa₄, Pa₅), albuminy (Alb), postalbuminy (Poa₁, Poa₂, Poa₃), pretransferyny (Ptf₁, Ptf₂, Ptf₃, Ptf₄), transferyny (Tf) i posttransferyny (Potf₁, Potf₂, Potf₃). Charakterystykę poszczególnych regionów i podregionów białek surowicy lisów polarnych przedstawiono w poprzedniej publikacji (5). Przy analizowaniu elektroforegramów zaobserwowano że białka z podregionu Pa₂ u lisów srebrzystych migrowały w polu elektroforetycznym nieznacznie szybciej, zaś z podregionu Pa₃ wolniej w porównaniu z analogicznymi białkami lisów polarnych. Ponadto w podregionie Pa₅ u lisów srebrzystych najbardziej intensywnie na zawartość glikoprotein wybarwiał się prążek migrujący w polu elektroforetycznym najwolniej, zaś u lisów polarnych prążek migrujący najszybciej. Albuminy (Alb) i postalbuminy z podregionu Poa₁ u lisów srebrzystych migrowały szybciej, w podregionie Poa₃ wolniej niż u lisów polarnych. Pretansferyna z podregionu Ptf₂ u lisów srebrzystych występowała w postaci jednego szybko migrującego prążka, natomiast u lisów polarnych stwierdzano w większości elektroforegramów dwa prążki. Podobnie w podregionie Ptf₃ u lisów srebrzystych jeden intensywnie zabarwiony prążek, zaś u lisów polarnych dwa lub trzy. W regionie transferyn (Tf) u lisów srebrzystych obserwowano dwa szybko migrujące prążki lub cztery prążki ułożone w równych odstępach, zaś u lisów polarnych najczęściej stwierdzono cztery prążki, przy czym odległość pomiędzy prążkiem 2 i 3 była mniejsza niż między 1 i 2 oraz 3 i 4. U 4 spośród 16 badanych lisów polarnych spostrzegano w regionie transferyn dwa wolno lub dwa ze średnią szybkością migrujące prążki. W podregionie posttransferyn Potf₃ u lisów srebrzystych obserwowano tylko jeden, podczas gdy u lisów polarnych dwa podwójne prążki.

Wyniki badań własnych z rozdziału w żelu poliakrylamidowym białek surowicy lisów srebrzystych i polarnych stanowią potwierdzenie danych uzyskanych przez Serowa i wsp. (11) oraz Juneja i wsp. (8), że albuminy i transferyny zawarte w surowicy lisów srebrzystych migrują szybciej w polu elektroforetycznym niż lisów polarnych. Ponadto analizując białka podregionu Ptf₂ wykazano, że odpowiadają one frakcji oznaczonej symbolem Po na elektroforegramach przedstawionych w pracy Juneja i wsp. (8), którą określili oni jako niezidentyfikowaną posttransferynę. Natomiast białka z podregionu Poa₃ ułożone były w regionie frakcji zidentyfikowanej przez wymienionych autorów jako alfa₁B-glikoproteid.

Przy porównaniu uzyskanych wyników z

danymi piśmiennictwa stwierdzono zasadnicze różnice w obrębie prealbumin. W podregionie tym stwierdzono 7+9 prążków, zaś Serow i wsp. (11) opisali tylko jeden prążek u lisów srebrzystych, natomiast żadnego u lisów polarnych. Wydaje się, że różnice te można tłumaczyć zastosowaniem różnych żeli do rozdziału elektroforetycznego. W poprzedniej pracy wykazano, iż 12% żel poliakrylamidowy stanowi odpowiednie środowisko do rozdziału białek surowicy lisów (5). W oparciu o uzyskane wyniki można sądzić, iż elektroforeza w żelu poliakrylamidowym w porównaniu z elektroforezą w żelu skrobiowym jest metodą bardziej czułą i pozwala na przeprowadzenie szczegółowej analizy białek surowicy lisów.

Reasumując można stwierdzić, iż prealbuminy z podregionu Pa₂, albuminy, postalbuminy z podregionu Poa₁, pretransferyny z podregionu Ptf₂ oraz transferyny zawarte w surowicy lisów srebrzystych migrują szybciej w żelu poliakrylamidowym, zaś prealbuminy z podregionu Pa₃ i postalbuminy z podregionu Poa₃ wolniej w porównaniu do tych samych białek u lisów polarnych. Różnice w szybkości migracji tych białek pozwalają przypuszczać, iż białka tych podregionów u badanych gatunków lisów wykazują w stosunku do siebie polimorfizm genetyczny.

Piśmiennictwo

- Balbierz H., Nikołajczuk M.: Further immunogenetic investigations of breeding foxes. XIIth European Conference on Animal Blood Groups Biochemical Polymorphism, Budapest, 1972, str. 673—678.
- Balbierz H., Nikołajczuk M., Pisański W.: Prace i Materiały Zootechniczne, 13, 7, 1977a.
- Balbierz H., Nikołajczuk M., Gut-Koryzna W.: Prace i Materiały Zootechniczne, 13, 15, 1977b.
- Bassalik-Chabieńska L.: Genetyczna odporność zwierząt. PWRL, Warszawa, 1983.
- Brodacki A., Kostro K.: Elektroforetyczny rozdziel białek surowicy krwi u lisów polarnych. Medycyna Wet. 1989. (praca przyjęta do druku).
- Gahne B., Juneja R. K., Gromiul J.: Animal Blood Groups Biochemical Genetics, 8, 127, 1977.
- Giuchowski W., Brodacki A., Rupeć A., Wójcik A.: Fol. Soc. Sci. Lubl. Sec. Biol. 27, 141, 1985.
- Juneja R. K., Nimi T., Lohi O., Larsen B., Gahne B.: Animal Genetics, 19, 237, 1988.
- Schellner H. P.: Bestimmung des qualitativen und quantitativen Serumweißgehaltes des Hühners von Schlupf bis zur 30 Lebenswoche. Arch. Geflügelkunde, 35, 128, 1971.
- Serow O. L., Zakijan S. M., Kuliczkow W. A., Koroczkin L. I., Władimirow A. W.: Genetika USSR, 11, 41, 1976a.
- Serow O. L., Zakijan S. M., Koroczkin L. I., Władimirow A. W., Pomytko W. N.: Genetika USSR, 12, 110, 1976b.
- Tanabe H., Ogawa N., Kawahara T.: Japan Poult. Sci. 18, 126, 1981.

Adres autora: dr Krzysztof Kostro, ul. Weteranów 42/24, 20-044 Lublin

Kostro K., Brodacki A. — Comparative studies of blood serum protein separated in polyacrylamide gel in silver and polar foxes

Blood serum proteins from 23 mature silver foxes and 16 polar foxes were separated by horizontal polyacrylamide gel electrophoresis. In obtained electrophoregrams the following protein regions were differentiated: prealbumins (Pa), albumins (Alb), postalbumins (Poa), pretransferrins (Ptf), transferrins (Tf) and posttransferrins (Potf). It was demonstrated that the migration of proteins in the regions Pa₂, Alb, Poa₁, Ptf₂ and Tf was faster than the migration of proteins in the regions Pa₃ and Poa₃ in silver foxes in comparison with polar foxes. The differences let us suppose thus it can be stated that proteins of those regions in tested species of breeding foxes reveal genetic polymorphism.