

12. Рухляк Р. Г. Вopr. иxтнoл., 24, 3, 368—373, 1984.
13. Рухляк Р. Г., Аракелян Г. Л. Тр. Севан. гидробиол. ст., 17, 143—152, 1979.
14. Свaepин С. О. Автореф. канд. дисс., Л., 1985.
15. Черненко Е. В. Вopr. иxтнoл., 16, 3, 416—423, 1976.
16. Ohno S. Trans. Amer. Fish. Soc., 99, 1, 120—132, 1970.
17. Simon R. C. J. Morphol., 112, 1, 77—97, 1963.

Пoстyпило 3.1 1987 г.

Бюлог. ж. Армeнии, т. 40, № 10, 823—828, 1987

УДК 547.96:597.553.2:577.1

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОДОРАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ СЕВАНСКОГО СИГА

С. С. МИСИРЯН

Севанская гидробиологическая станция АН Армянской ССР,
лаборатория экспериментальной экологии

Аннотация. Изучали электрофоретический спектр водорастворимых белков, выделенных из различных органов севанского сига *Coregonus lavaretus* L. в преднерестовый и нерестовый периоды. Отмечена органоспецифичность электроформграмм и денситограмм выделенных белков. В белковых спектрах преднерестового и нерестового периодов особых различий не обнаружено.

Անոտացիա. — Հետազոտվել է Սևանի սիգի *Coregonus lavaretus* L., տարբեր օրգաններից անջատված սպիտակուցների էլեկտրաֆորետիկ կազմը նախքան արգիլման և ձկնորման շրջաններում: Նշվել է, որ էլեկտրաֆորմգրամները հստակ են ամեն մի օրգանի համար: Սպիտակուցների կազմում չի երևում զգալի տարբերություն տարբեր ժամանակաշրջաններում:

Abstract. — The study represents the organospecificity of watersoluble proteins in gel electrophoretic analysis of different organs of white-fish from the Lake Sevan. There have not been found any specific differences of protein spectre while comparing the spawning and prespawning periods. Each organ has its peculiar gel electrophoretographic spectre.

Ключевые слова: сиг севанский, водорастворимый белок, органоспецифичность.

Общезвестно, что определенные сдвиги в белковом составе различных органов наступают гораздо раньше физиологических изменений. Любая специализированная физиологическая функция находит свое материальное выражение прежде всего в превращениях белков. Белки являются тем динамическим структурно-функциональным субстратом, посредством которого происходит реализация генетической информации молекул ДНК в трехмерную структуру и разнообразные функции конкретных органов [6, 8]. Именно качественное и количественное разнообразие белкового состава клеток каждого дифференцированного органа лежит в основе его специфики.

Изучение молекулярных основ специфических функций конкретного органа, по всей вероятности, должно основываться на выявлении тех молекулярных субстратов и процессов, которые качественно отличают его от любого другого органа. Иными словами, исследуя функции реальных живых систем следует иметь в виду вполне определенные ти-

лы и виды белковых молекул, превращения которых лежат в их основе [2].

Цель наших исследований заключалась в анализе качественных и количественных различий в электрофоретическом спектре водорастворимых белков, выделенных из различных органов севанского сига в нерестовый и преднерестовый периоды. В дальнейшем мы предполагаем выделить эти белковые фракции в гомогенном состоянии и изучить их функциональные свойства.

Материал и методика. Из различных органов (печень, мышцы, мозг, сердце) севанского сига выделяли водорастворимые белки методом эфирной экстракции (гомогенизация 5 мин, центрифугирование 55 мин при $10000\times g$). Все операции по выделению белков проводили на холоду. Количество белка определяли по методу Лоури и соавт. [10]. Фракционирование и идентификацию их осуществляли электрофоретически на полиакриламидном геле (ПААГ) в аппарате для гелевого электрофореза фирмы Reanal (Венгрия) в системе гелей N 1 по Мауреру [7]. Продолжительность электрофореза 2—2,5 часа. О его окончании судили по прохождению бромфенол-синего. Гели окрашивали эозинйодоварцем 10 В, от избытка краски избавлялись неоднократным промыванием гелей 7%-ной уксусной кислотой. Окрашенные гели сканировали на денситометре Isco (США) на волне 580 нм.

Электрофоретическому анализу было подвергнуто 80 белковых проб, выделенных из 4 органов севанского сига разного пола и разной степени зрелости в преднерестовый и нерестовый периоды.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что электрофореграммы и соответствующие им денситограммы выделенных водорастворимых белков органоспецифичны (рис. 1—4). Электрофоретические спектры их отличаются друг от друга как числом белковых зон, их подвижностью, т. е. величиной R_f , так и интенсивностью окрашивания белковых зон одинаковой подвижности. При сканировании

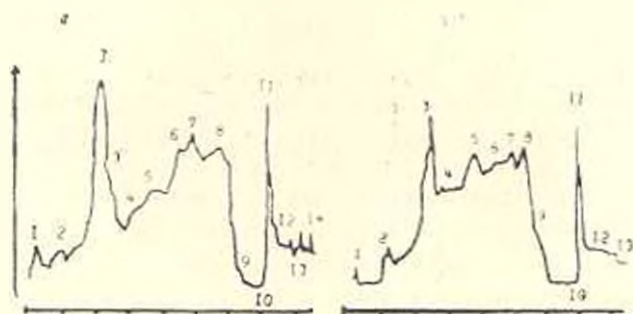


Рис. 1 Электрофореграмма и денситограмма водорастворимых белков, выделенных из печени самки VI—III стадии зрелости. А — в преднерестовый период, Б — в нерестовый период. По оси абсцисс — длина геля в см, по оси ординат — оптическая плотность.

гелей становится очевидным, что указанные белки отличаются друг от друга не только качественной специфичностью спектра, но и особым, только им свойственным количественным сочетанием различных белковых фракций.

Мы не обнаружили особых различий в спектрах водорастворимых белков, полученных из аналогичных органов рыб одинаковой зрелости,

но разного пола и, наоборот, одинакового пола, но разной степени зрелости.

Как видно из рис. 1, водорастворимые белки, выделенные из печени сига, при электрофорезе на ПААГ делятся на 13—14 белковых фракций, из которых наиболее характерными являются фракции 3 и 11.

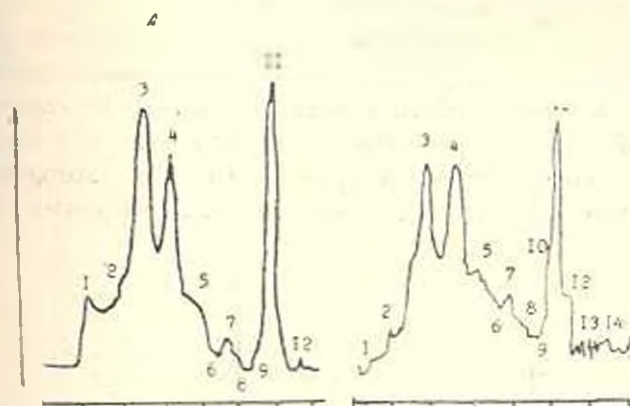


Рис. 2. Электрофореграмма и денситограмма водорастворимых белков, выделенных из мышцы самки VI—II—III стадии зрелости. А—в преднерестовый период. Б—в нерестовый период. По оси абсцисс—длина геля в см; по оси ординат—оптическая плотность.

Фракция 3 менее подвижная с R_i равной 0,23, в то время как R_i наиболее подвижной фракции 11 равна 0,83. Характерными являются также фракции 5, 6, 7, 8, которые соответствуют R_i 0,5; 0,53; 0,62; 0,71.

Представляло интерес сравнение спектров водорастворимых белков, выделенных из указанных органов сига в нерестовый и преднерестовый периоды. Нерестовый период—это переломный период в годовом цикле рыб как точки зрения их экологии, так и обмена веществ. Именно в этот период у большинства рыб происходит изменение направленности обмена [9]. Куликовой было показано [4, 5], что стабильный в течение большей части года белковый состав сыворотки крови рыб начинает заметно меняться в период созревания половых продуктов. Процентное содержание альбумина в белковой смеси уменьшается, что говорит о его использовании в процессах белкового синтеза в гонадах.

При сравнении спектров водорастворимых белков, полученных из печени сига в нерестовый и преднерестовый периоды (рис. 1 А, Б), особых различий не отмечалось, исключение составляла 5 фракция, которая в нерестовом периоде более выражена.

Картина электрофоретического разделения водорастворимых белков, выделенных из мышечной ткани, представлена на рис. 2.

Рядом исследователей показана [11, 12] высокая степень видовой специфичности этих белков и их независимость от пола, физиологических и экологических факторов.

Как видно из рис. 2, спектр мнгоенов сига состоит из 12—14 фракций и отличается от других белковых спектров, рассматриваемых нами, расположением отдельных фракций, их электрофоретической подвижностью и количественным соотношением отдельных фракций. Основ-

ное количество белка сосредоточено в трех основных фракциях, имеющих наибольшую интенсивность поглощения. Наиболее подвижной из характерных фракций является фракция 11, имеющая R_f , равную 0,81. Фракции 3 и 4 менее подвижны и обладают электрофоретической подвижностью, равной 0,36 и 0,46 соответственно. Остальные белковые фракции выражены намного слабее.

Известно, что в различных органах синтезируются собственные, уникальные белки, специфические для клеток данного органа, которые, по-видимому, связаны с обеспечением их собственных специализированных функций. По всей вероятности, специфичной для белкового спектра миогенов можно считать 4 фракцию (рис. 2), которая в белковых спектрах других органов, исследованных нами, выражена очень слабо.

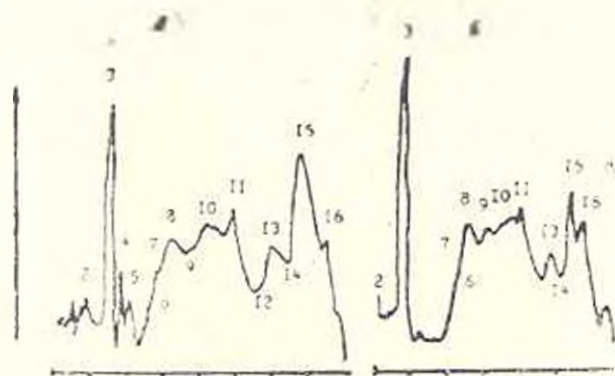


Рис. 3. Электрофореграмма и денситограмма водорастворимых белков, выделенных из мозга самки VI—III стадий зрелости. А—в преднерестовый период, Б—в нерестовый период. По оси абсцисс—длина геля в см; по оси ординат—оптическая плотность

При анализе белковых спектров миогенов в преднерестовый период (рис. 2 А) отмечена разница в интенсивности поглощения 3 и 4 фракций, в нерестовый период (рис. 2 Б) указанные фракции выражены почти одинаково. Кроме того, для нерестового периода характерно наличие минорных компонентов—13 и 14.

Фореграммы и денситограммы белков, выделенных из мозга (рис. 3), показали, что эти белки по сравнению с остальными электрофоретически наиболее гетерогенны. Это, по-видимому, связано с тем, что наибольшее количество специфических белков мозга находится в водорастворимом состоянии. Спектр белков, выделенных из мозга, представлен 16 фракциями, имеющими различную анодную подвижность. Характерны пики спектров 3, 8, 11, 13 и 15, имеющие электрофоретическую подвижность, равную 0,08; 0,24; 48; 0,67 и 0,79 соответственно. Фракция 3, наименее подвижная, располагается недалеко от старта.

Сравнение спектров А и Б рис. 3 показало, что в нерестовый период, в отличие от преднерестового, 4 и 5 фракции выражены плохо. В этот период слабее выражена также фракция 15.

Электрофореграммы и денситограммы белков, выделенных из сердечной мышцы рыб, выявили 15 пиков. Здесь электрофоретический

спектр и денситограмма также органоспецифичны и отличаются от других спектров расположением и интенсивностью отдельных фракций. Наиболее характерны белковые фракции 3, 9, 13, 15 с R_f , равными 0,12; 0,42; 0,73 и 0,85 соответственно.

Сравнительный анализ белковых спектров сердца рыб указанных периодов (рис. 4 Б, В) показал, что в нерестовый период намного лучше выражена фракция 11, в отличие от преднерестового, где одной из характерных фракций можно считать фракцию 6.

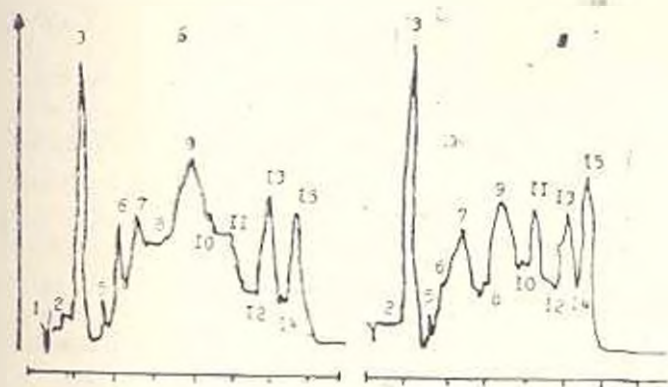


Рис. 4. Электрофореграмма и денситограмма водорастворимых белков, выделенных из сердечной мышцы самки VI—III стадии зрелости. А—в преднерестовый период, В—в нерестовый период. По оси абсцисс—длина геля в см, по оси ординат—оптическая плотность.

Приведенные данные еще раз подтверждают теорию Збарского [3], предложившего термин «органопротеины» и подразумевавшего под этим, что белки различных органов и тканей представляют единое целое как в функциональном, так и в химическом отношении.

Таким образом, водорастворимые белки, выделенные из различных органов севанского сига, имеют свой, специфичный для каждого органа электрофоретический спектр. Эта специфичность проявляется либо в качественном составе белковых фракций, либо в характере их статистического распределения.

Небольшая разница в соотношении белковых фракций преднерестового и нерестового периодов может быть обусловлена сезонной спецификой. Не исключено также, что некоторая вариабельность числа фракций и их соотношений связана с трудно учитываемыми методическими погрешностями [1].

При сравнении электрофоретических белковых спектров отдельных органов севанского сига (печень, мышцы, мозг, сердце) в преднерестовый и нерестовый периоды нами не было отмечено достоверных изменений между отдельными белковыми фракциями, образующими рассматриваемые спектры. Это может быть обусловлено тем, что особи, у которых были взяты органы для исследований, пропустили нерест в декабре 1984 года. Не исключается также возможность того, что белковый состав в указанных органах не подвергается значительным изменениям в рассматриваемые нами периоды.

Автор выражает благодарность мл. науч. сотр. лаборатории нуклеиновых кислот Института экспериментальной биологии АН АрмССР Баг-разяну С. Г. за помощь при денситометрических исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П., Гончаров В. П., Гойло Т. А. В кн.: Черная система, 15, 60—69, М., 1975.
2. Долгов О. Н., Полегасв А. Б., Шерстнев В. В. Успехи физиол. наук, 11, 47—63, 1980.
3. Корженко В. П., Новикова Г. Г. В кн.: Обмен веществ и биохимия рыб. М., 1967.
4. Куликова Н. И. Тр. АзЧерНИРО, 22, 1964.
5. Куликова Н. И. Докл. АН СССР, 163, 5, 1965.
6. Ленинджер А. Биохимия. М., 1974.
7. Маурер Г. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в полиакриламидном геле. М., 1971.
8. Трумен Д. Биохимия клеточной дифференцировки. М., 1976.
9. Шульман Г. Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. 321, М., 1972.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
11. Tsuyhi H., Roberts E. and Vansote V. E. J. Fish. Res. Bd. Canada, 22, 203—213, 1965.
12. Tsuyhi H., Roberts E., Lowes R. H. and Hadaway W. J. Fish. Res. Bd. Canada, 23, 1663—1671, 1965.

Поступило 11.I 1987 г.

Биолог. ж. Армения, т. 40, № 10, 828—833, 1987

УДК 597—116:597.442

ГАМЕТОГЕНЕЗ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ ОСЕТРОВЫХ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В АРАРАТСКОЙ ДОЛИНЕ

Э. М. ЕГНАЗАРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра зоологии

Аннотация.—Исследован гаметогенез у белуги и сибирского осетра, выращиваемых в условиях Араратской долины в качестве товарных рыб. Развитие обоих видов протекало нормально, как в естественных водоемах, развитие гонад не связано с линейным и несомным ростом. Полученные данные свидетельствуют о возможности создания маточного стада искусственной генерации, не уступающего по качеству естественным нерестовым популяциям.

Անոտացիոն.—Ուսումնասիրվել է Արարատյան դաշտավայրի պայմաններում աճեցվող բելուգայի և սիբիրյան թառափածկների գամետոգենեզը նշված տեսակների սեռական բջիջների զարգացումը ներմալ է ընթանում, ինչպես րնական շրջագաններում, իսկ զոնադների զարգացումը կախված չէ աճային և կշռային աճից: Ստացված փաստերը վկայում են արհեստական մայրական կազմի ստեղծման Դեարափարոթյան մասին, որն իր որակով չի զիջի բնական ձվադրող պոպուլյացիաներին: