

Pracownia Biotechniki Rozrodu Zwierząt, *Zakład Chorób Koni, PIWet. w Puławach,
**Katedra i Zakład Patofizjologii, AM w Bydgoszczy

KRUMRYCH W., WIŚNIEWSKI E. *, GEHRKE M., PACZUSKI R. **

Profil białkowy surowicy krwi u koni

Protein profil of blood serum in the horse

Białka zawarte w surowicy krwi stanowią heterogenną grupę zw. chemicznych, które są zróżnicowane nie tylko pod względem właściwości fizykochemicznych, ale także funkcji biologicznych. Dokonujący się proces doskonalenia metod elektroforetycznych, głównie poprzez wprowadzanie nowych nośników elektroforetycznych, przyczynił się do zwiększenia rozdzielczości, a tym samym do rejestrowania większej liczby frakcji białkowych w surowicy.

Celem niniejszej pracy było uzyskanie możliwie dużej liczby frakcji białkowych w surowicy krwi klinicznie zdrowych koni.

Badania przeprowadzono na 10 klinicznie zdrowych konikach polskich (5 klaczy i 5 ogierów) w wieku od 2 do 9 lat. Wszystkie zwierzęta były regularnie odrobaczane i odznaczały się spokojnym temperamentem. Krew do badań pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej, zawsze w godzinach rannych. Uzyskaną po odwirowaniu surowicę krwi rozcieńczano w stosunku 1:4 buforem o składzie: 0,0625 M Tris-HCl pH 6,8, 2 % SDS, 10% glicerol, 0,00125 błękit bromfenolowy. Elektroforezę przeprowadzono na 7% żelu poliakryloamidowym. Jako wzorce zastosowano owalbuminę o masie cząsteczkowej 45 kD, albuminę z surowicy wołowej (m.cz. 66 kD), foaforylazę (m.cz. 97 kD) oraz miozynę (m.cz. 205 kD). Rozdział elektroforetyczny przeprowadzono w komorze Protean II (Bio-Rad, Richmond, USA). Żel barwiono 0,1% roztworem Coomassie Brilliant Blue w 40% metanolu i 10% kwasie octowym, a następnie poddano go procesowi całkowitego odbarwienia tła (przez ok. 72 godziny). Analizę wyników rozdziału elektroforetycznego wykonano na zestawie do analizy obrazu Bio-Profil firmy VILBER Lourmat (Tocy, Francja) przy użyciu oprogramowania Bio-1D (wersja 97).

Elektroforetyczny rozdział surowicy wykazał obecność 23 prążków odpowiadających różnym białkom w zakresie mas cząsteczkowych od 44 do 230 kD. Obliczony, względny udział procentowy poszczególnych frakcji wykazał największy odsetek białka o masie cząsteczkowej 63 kD (ok. 20%) oraz białek o m.cz. 45, 76 oraz 185 kD (po ok. 7%). Porównanie wyników uzyskanych u obu płci badanych zwierząt pozwoliło stwierdzić, że klacze, w porównaniu z ogierami, charakteryzują się statystycznie istotnie większym udziałem białek o m.cz. 108, 124 i 220 kD oraz mniejszym odsetkiem białka o m.cz. 58 kD.

Zastosowanie żelu poliakryloamidowego pozwoliło zatem na uzyskanie dużej rozdzielczości, a co za tym idzie, na obserwację większej liczby parametrów aniżeli w elektroforezie bibułowej lub na żelu agarozowym. Przeprowadzone badania stanowią punkt wyjścia do obserwacji zmian zachodzących w udziale poszczególnych frakcji białkowych (głównie białek ostrej fazy) w przebiegu różnych stanów chorobowych u koni.