

Fastere filet - Aktivitet 2

MRI, protease og protein analyser

Iciar Martinez^{1,2}, Rasa Slizyté¹, Pål Anders Wang², Stine W. Dahle¹, Michiaki Yamashita³, Ragnar Olsen², Emil Veliuylin¹ og Ulf Erikson¹

(1) SINTEF Fisheries and Aquaculture, Brattørkaia 17B, N-7465 Trondheim, Norway

(2) The Norwegian College of Fishery Science. University of Tromsø, N-9037, Norway

*(3) National Research Institute of Fisheries Science, 2-12-4 Fukuura, Kanazawa-ku
Yokohama 236-8648, Japan*

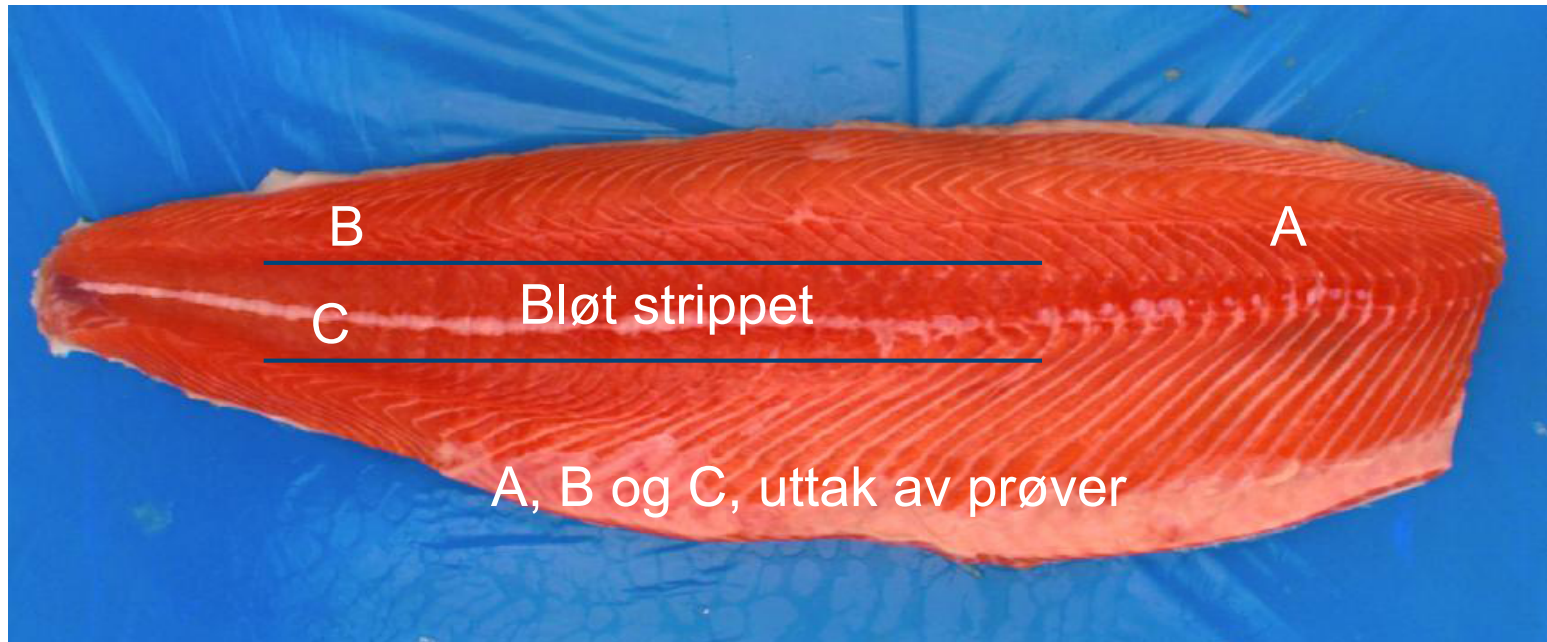
May 2009

Mål

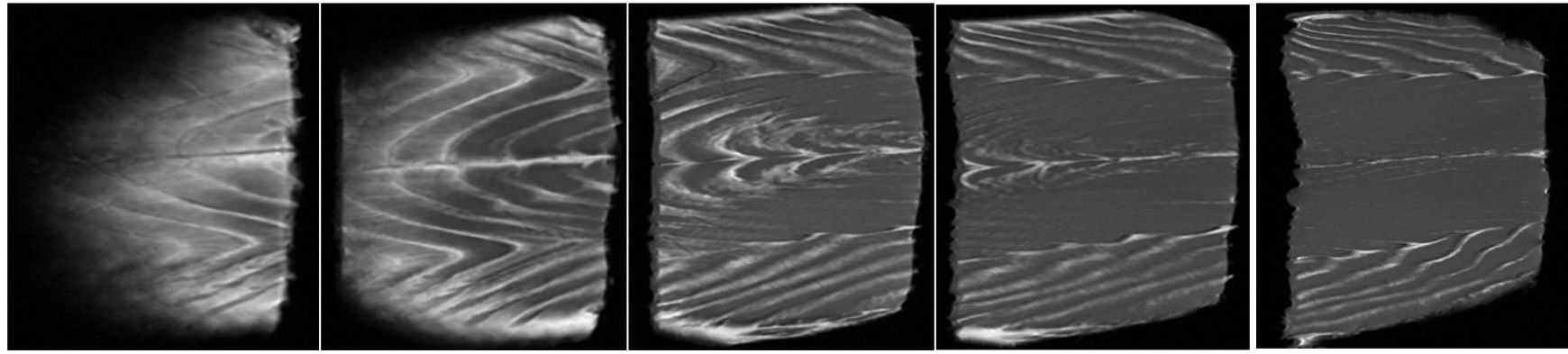
1. Undersøke anatomi og fettfordeling ved MRI
2. Å identifisere forskjeller i
 - Protein ekspresjon og
 - Protease aktiviteter

mellom bløt og Fast laksemuskel

Prøver



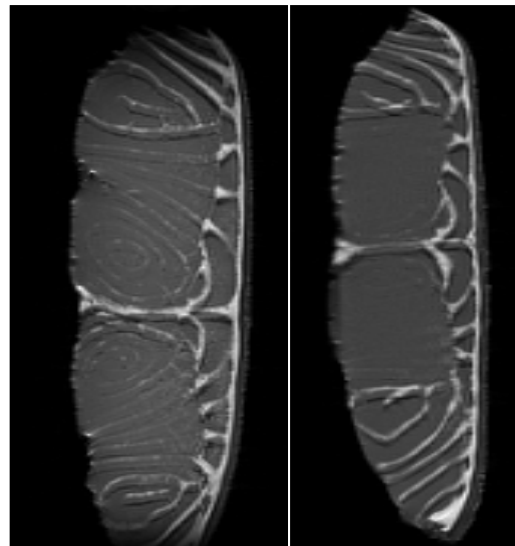
MRI analyse: Hvit farge er fett



Skinsiden

Langsgående skan

Ryggbeinet siden



Fast

Bløt

Tversnitt av bløte stripen

Fiskeprøver for mål 2: protein og proteaser

Gr	<i>n</i>	Opprinnelse	Dato	Gaping score	Industritest	kg \pm std	cm \pm std
II	1-5	Sør Q	26.05.08	1.6- Fast	5	3.3 \pm 0.9	63.2 \pm 5.2
VII	6-10	Nord C	27.05.08	2.8 –Bløt	9	2.8 \pm 0.6	56.6 \pm 3.5

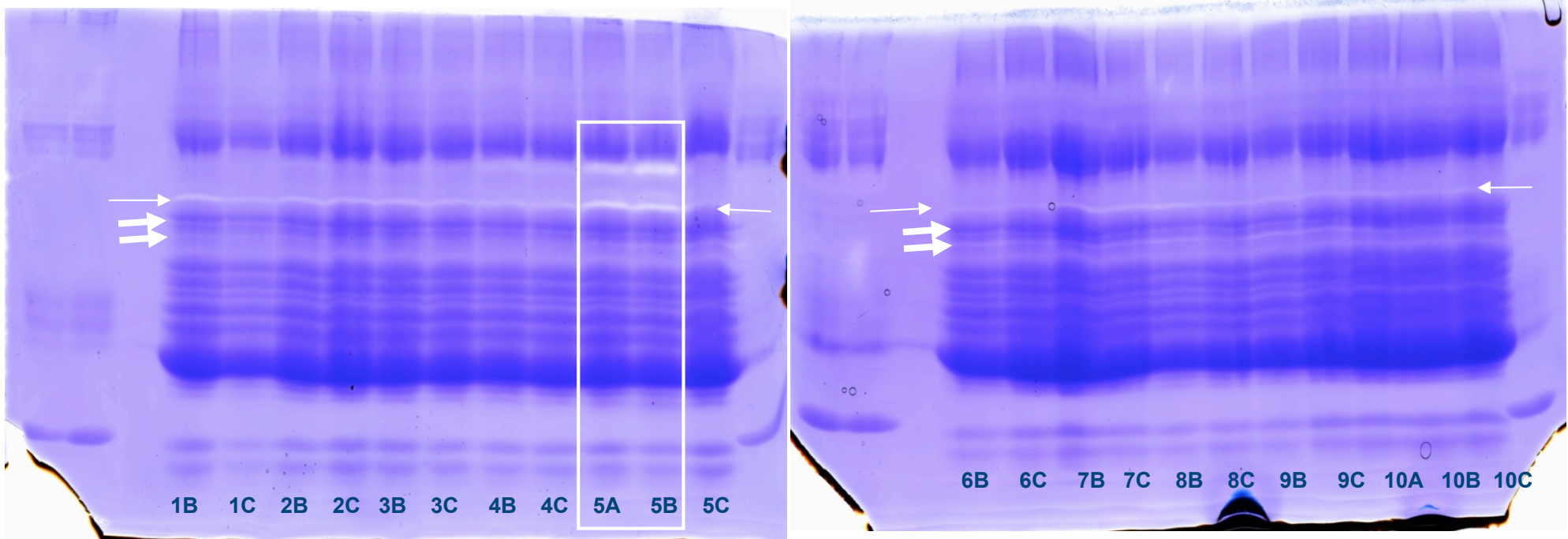
Analyser

- Protease aktivitet (zymografi)
 - Gelatinase aktivitet av ekstrakter
 - Rå ekstrakter
 - Etter gelatin-sefarose rensing
- Immunologiske deteksjon av
 - Serin-proteaser
 - Shock Protein 70 (HSP70) BRM-22
 - Alfa-aktinin
 - Aktin
 - Ubiquitin
- Myofibrilær protein ekspresjon
 - Lav ionisk styrke
 - Høy ionisk styrke
 - Myosin tunge kjede

Gelatinase aktivitet RÅ ekstrakter

Fast

Bløt

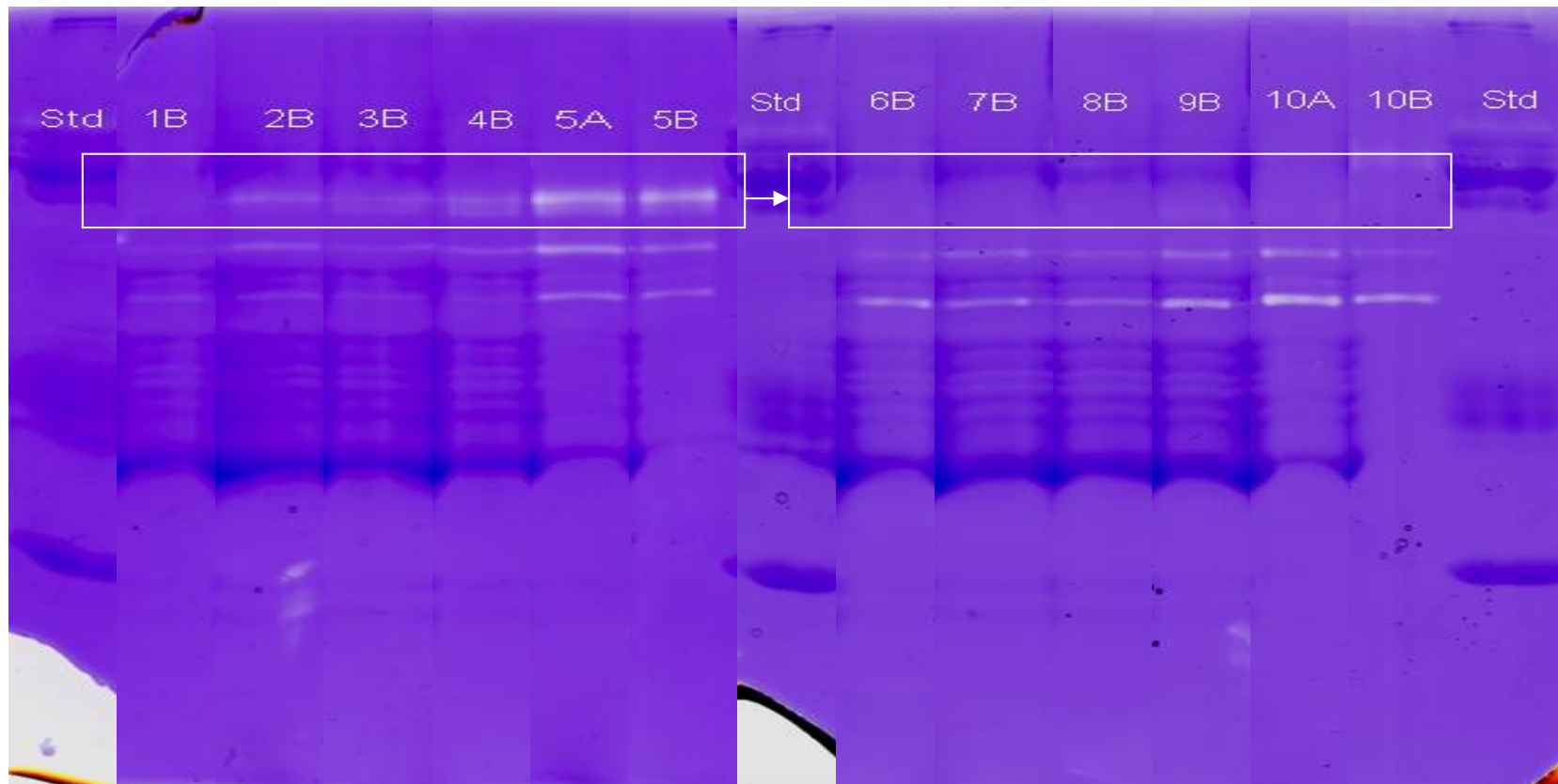


Gelatinase aktivitet

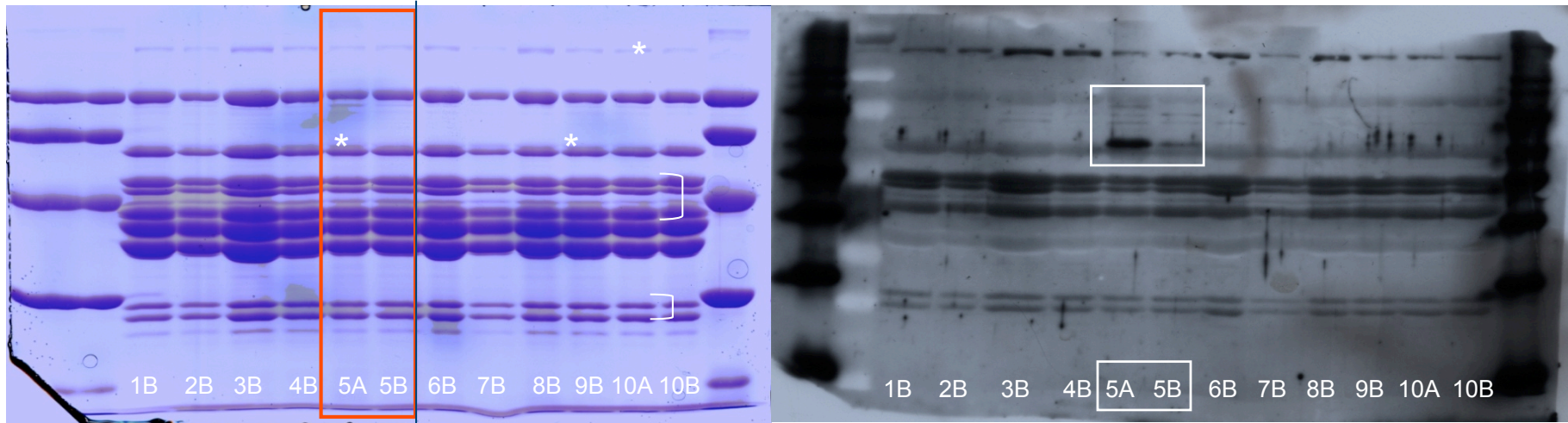
Etter gelatin-sepharose rensing

Fast

Bløt

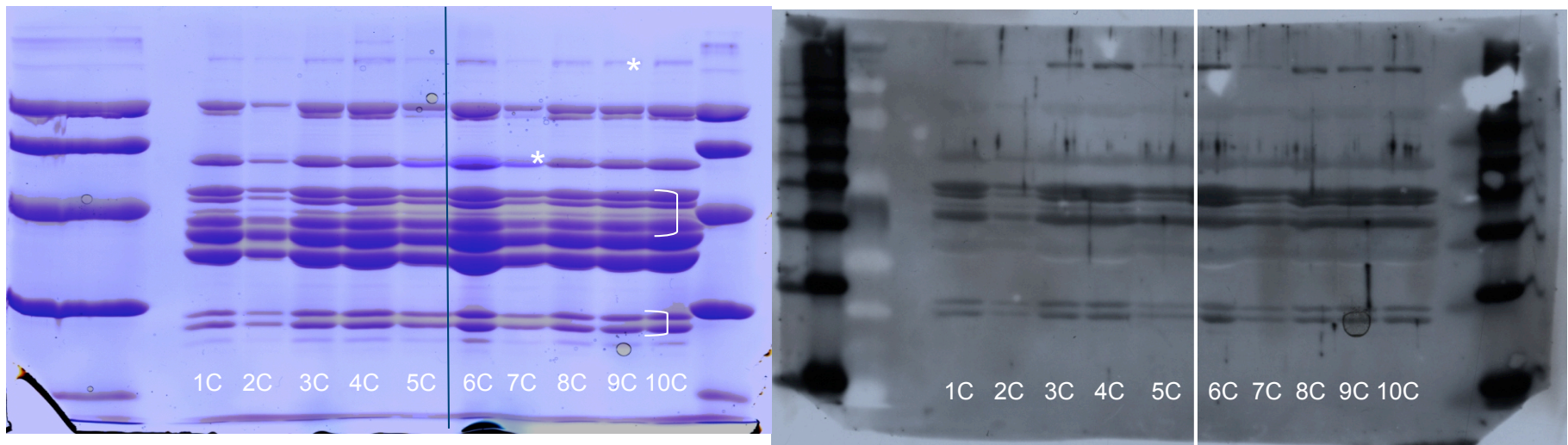


Immunodeteksjon av 50 kDa red seabream serine protease



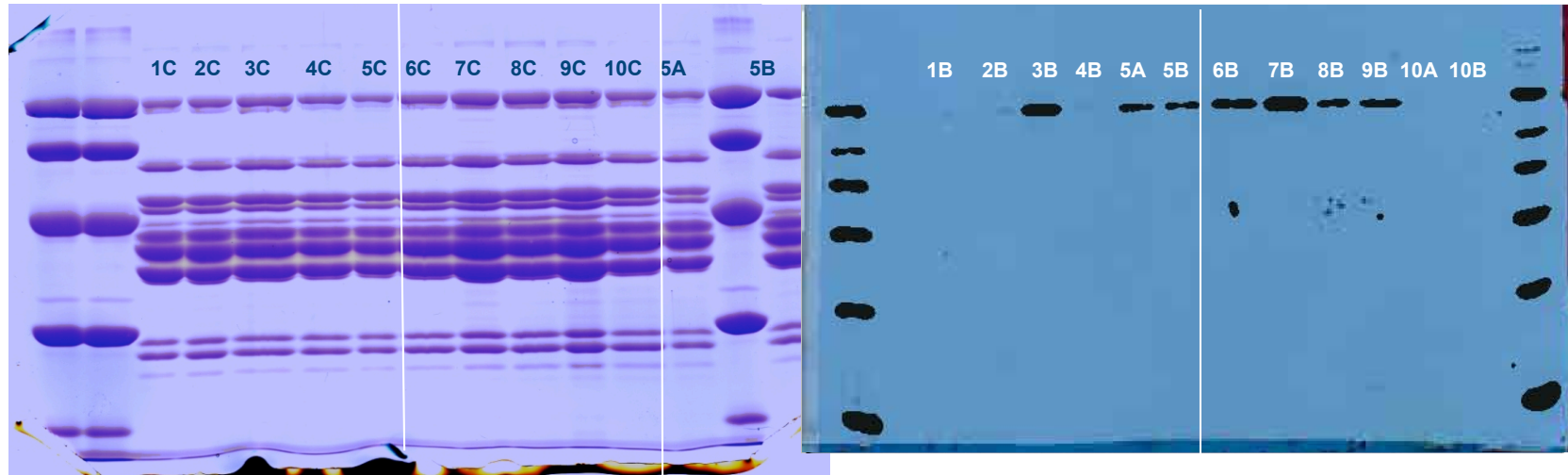
Fast Bløt

Fast Bløt



* Immunoreactive band

Immunodeteksjon av stressmarkører - HSP70 family

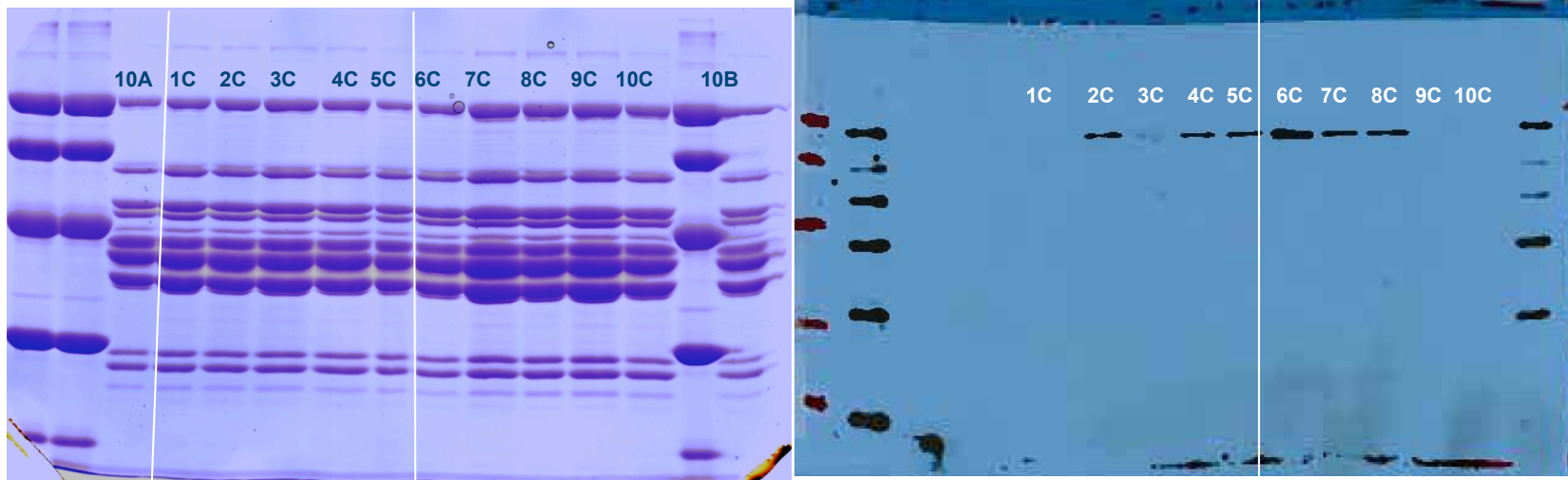


Fast

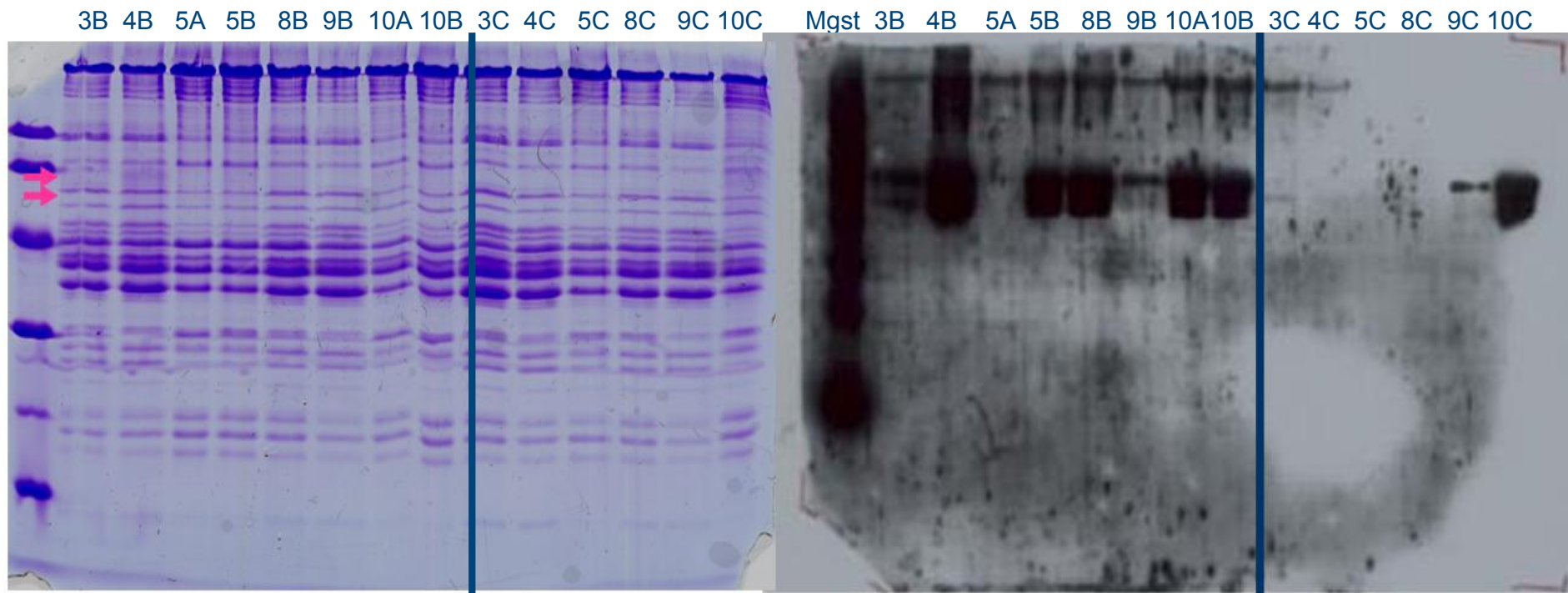
Bløt

Fast

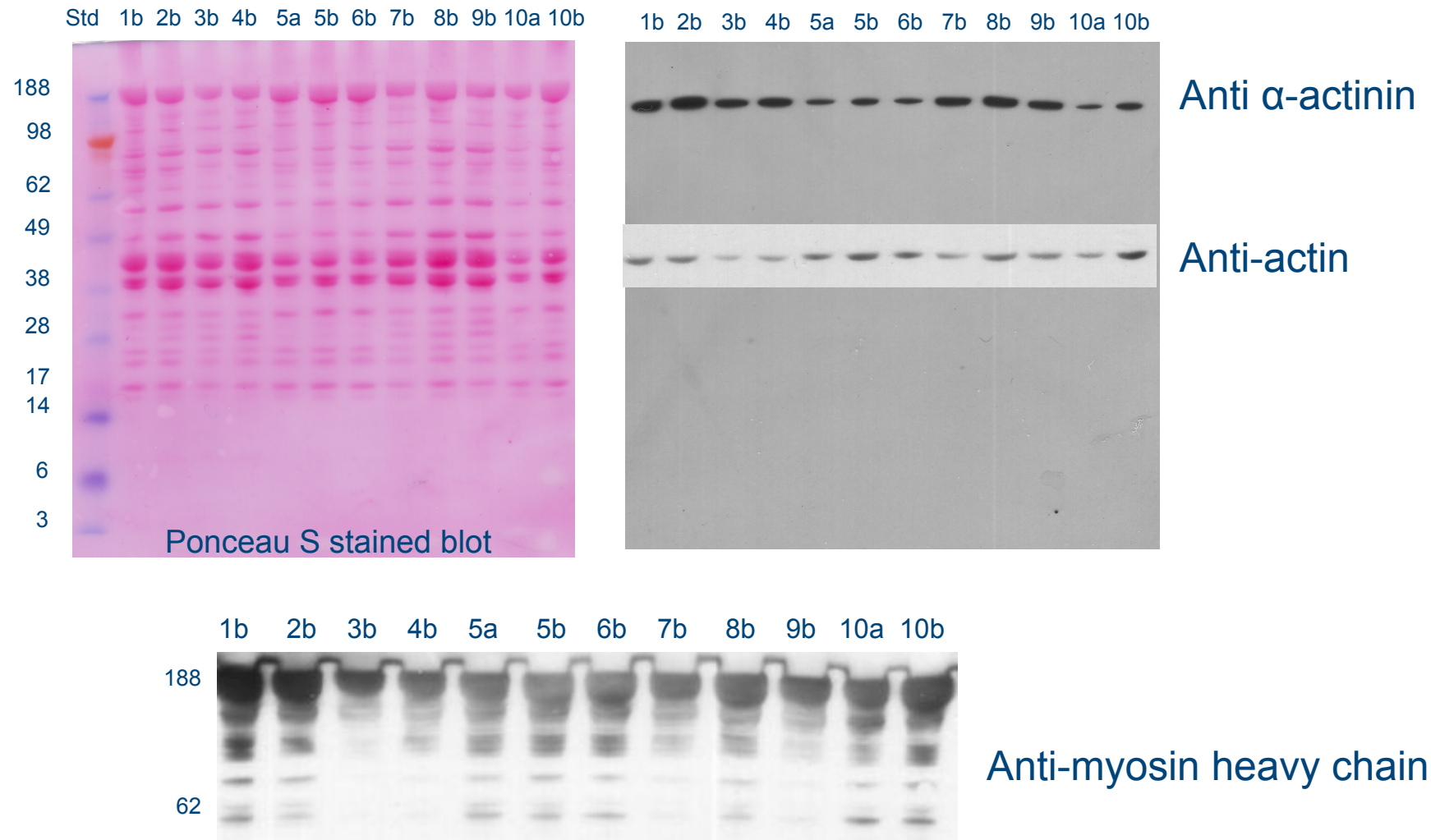
Bløt



Immunodeteksjon av ubiquitin-ubiquitinated proteiner



Immunodeteksjon av α -aktinin, aktin og MHC

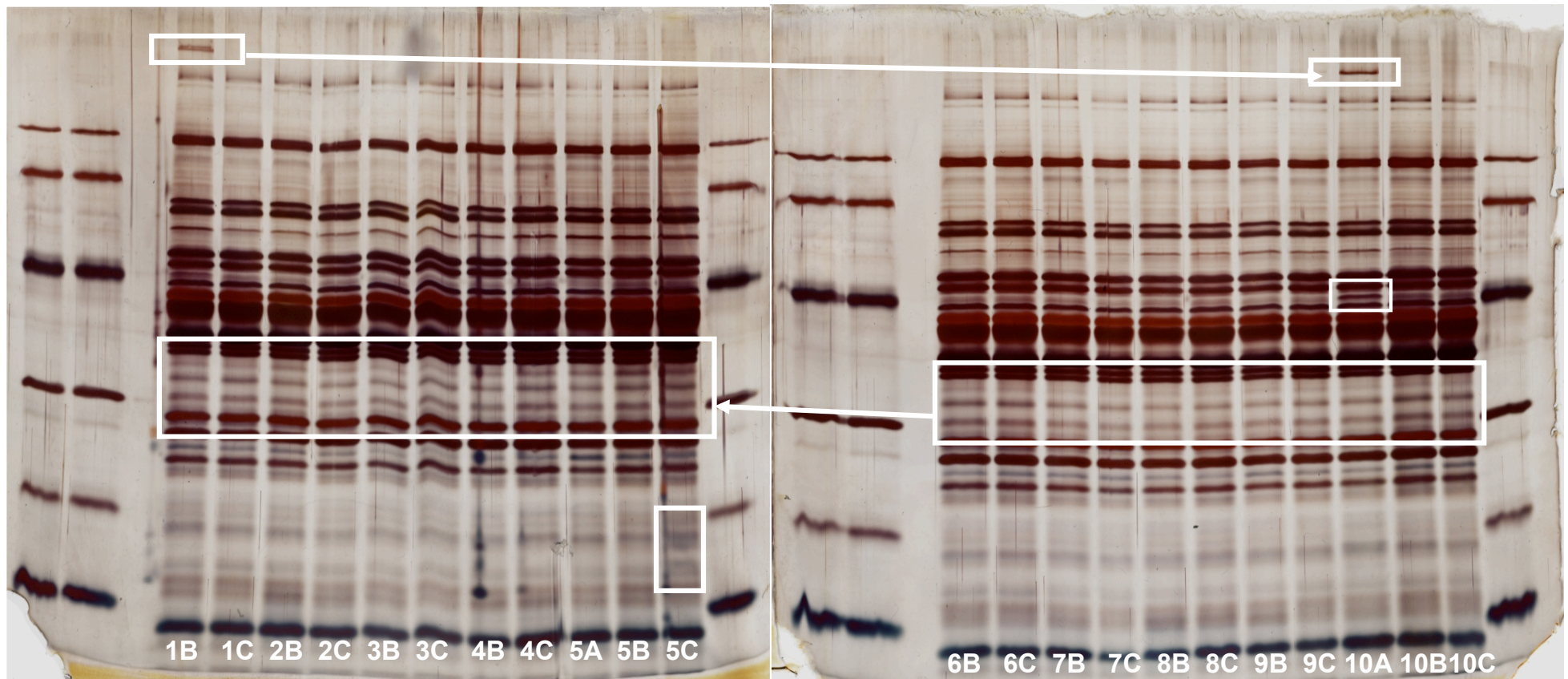


Western blots from NuPage 4-12% SDS-PAGE gels probed with the indicated antibodies

Protein sammensetting- Lav ioniske styrke ekstrakter

Fast

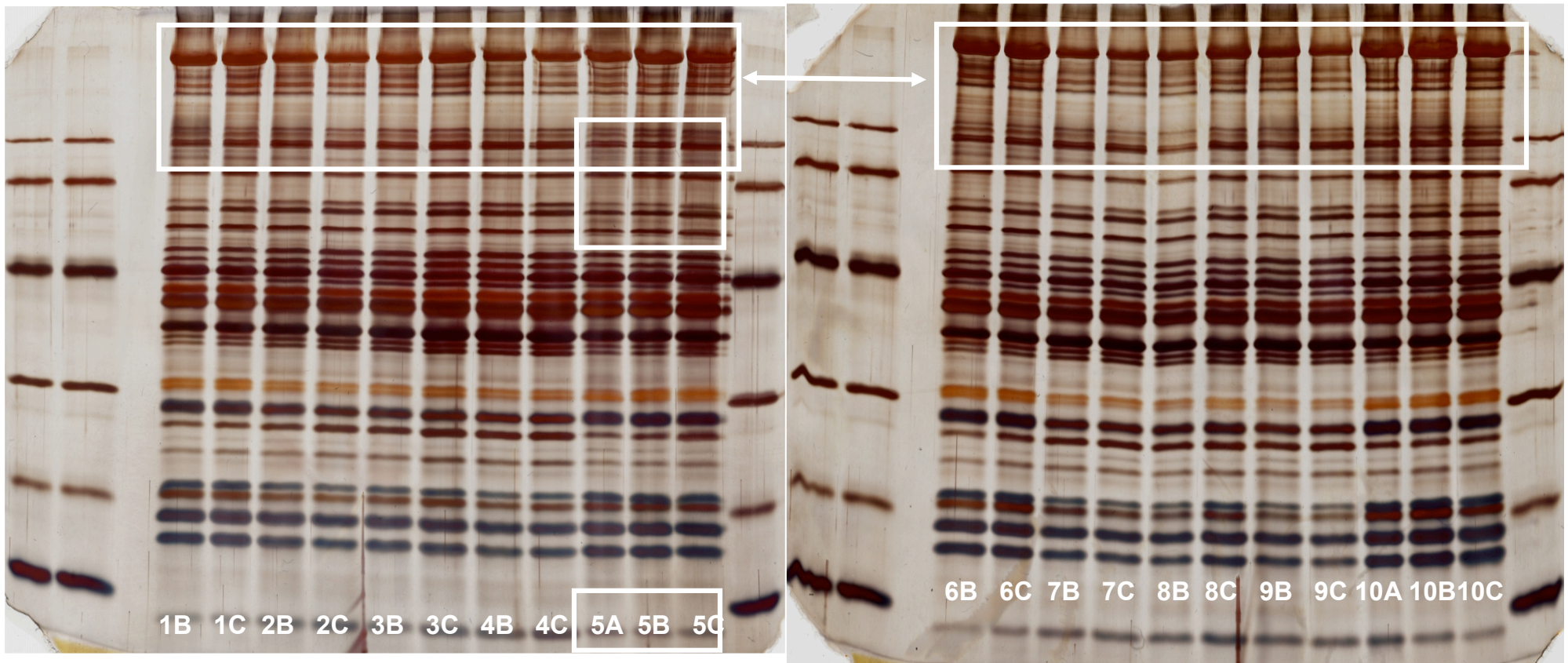
Bløt



Protein sammensetting- Høy ioniske styrke ekstrakter

Fast

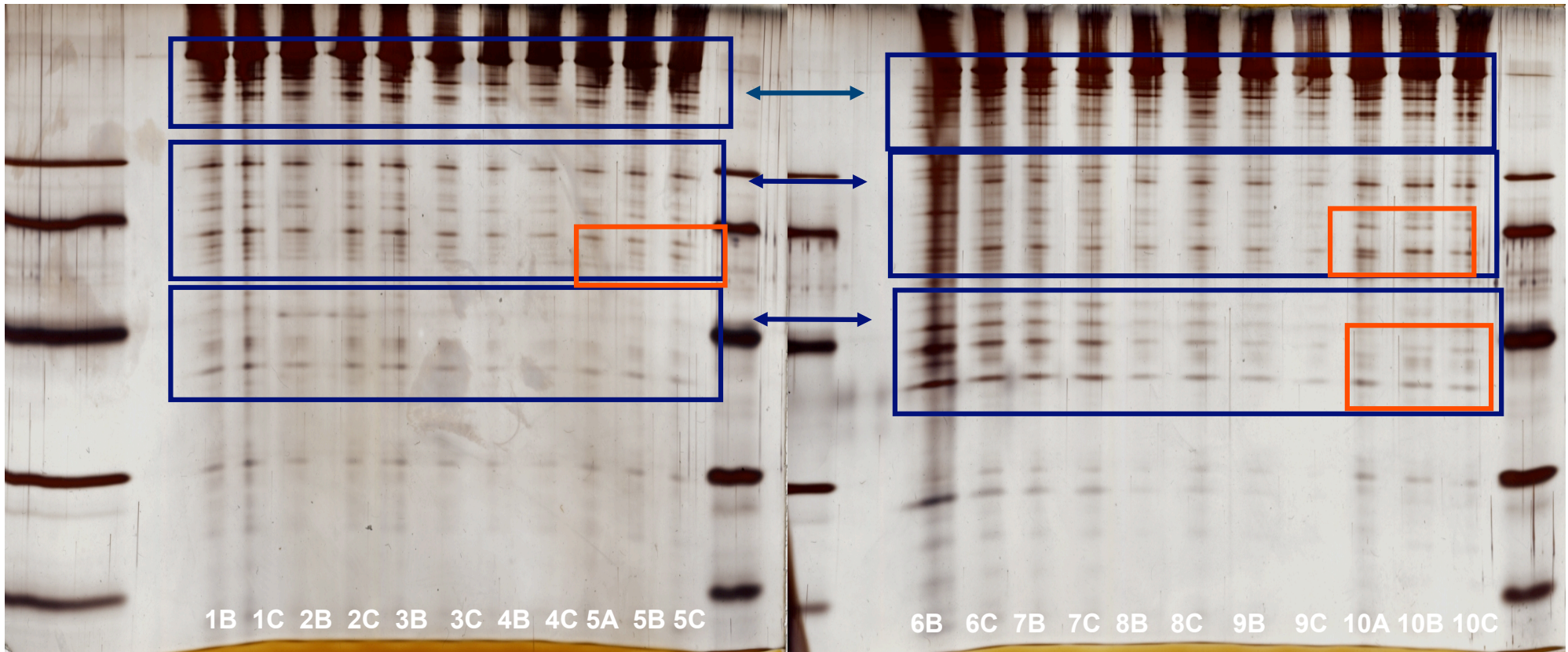
Bløt



Ekspresjon av myosin tunge kjede isoformer

Fast

Bløt



Konklusjoner

- Det finnes individ-variasjoner i de fleste analyser
- Ikke synlige forskjeller mellom fast og bløt laks i immunodeteksjon av
 - 50 kDa red seabream serine protease
 - HSP70-family
 - Alfa-actinin, actin og MHC
 - Ubiquitinerte proteiner

Konklusjoner

- Forskjeller mellom fast og bløt laks
 - Gelatinase aktivitet: MMPs i bløt laks er aktivert
 - Protein sammensetning i lav- og høy-ionisk styrke ekstrakter
 - Ekspresjon av myosin tunge kjede
- Andre interessante resultater
 - Høyre signal av ubiquitinererte proteiner i B enn i C i en utvalg av prøver

Informasjon

- Forskjeller i protein isoform ekspresjon og aktiverte MMPs kan tillegges
 - Utviklingsstadium
 - Rekruttering av nye muskelfibrer (aktivering av satellitt celler)
 - Myofibrill metabolisme og ATPase aktivitet
 - Muskel degenerering/regenerering/vekst (*)
 - Treningsregime – aktivitetsmønster(*)

- ★ Christiansen, J.S., Martinez, I., Jobling, M. & Amin, A.B. (1992) Rapid somatic growth and muscle damage in a salmonid fish. *Basic and Applied Myology*, 2: 235-239.

Fremtidig arbeide

- Undersøke nærmere forskjeller i gelatinase aktivitetsregulering
- Bekrefte forskjeller i ubiquitination mellom B og C
- Undersøke årsaker for forskjeller i myofibrill protein ekspresjon i muskel

For å:

- Predikere bløt tekstur i fisken (f.e. biopsiprøver)
- For å unngå fenomenet



Takk for oppmersomheten!

