

# Fastere filet - Aktivitet 2

## MRI, protease og protein analyser

Iciar Martinez<sup>1,2</sup>, Rasa Slizyté<sup>1</sup>, Pål Anders Wang<sup>2</sup>, Stine W. Dahle<sup>1</sup>, Michiaki Yamashita<sup>3</sup>, Ragnar Olsen<sup>2</sup>, Emil Veliuylin<sup>1</sup> og Ulf Erikson<sup>1</sup>

*(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*

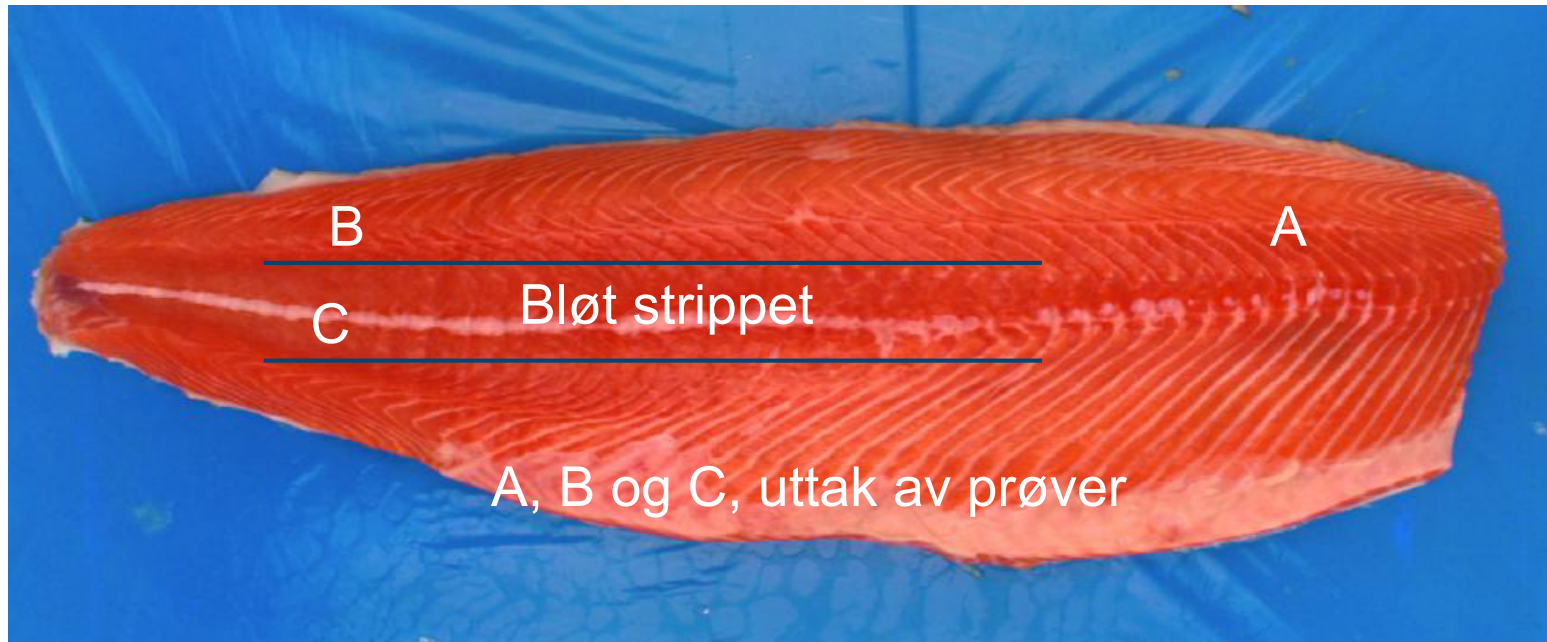
May 2009

# Mål

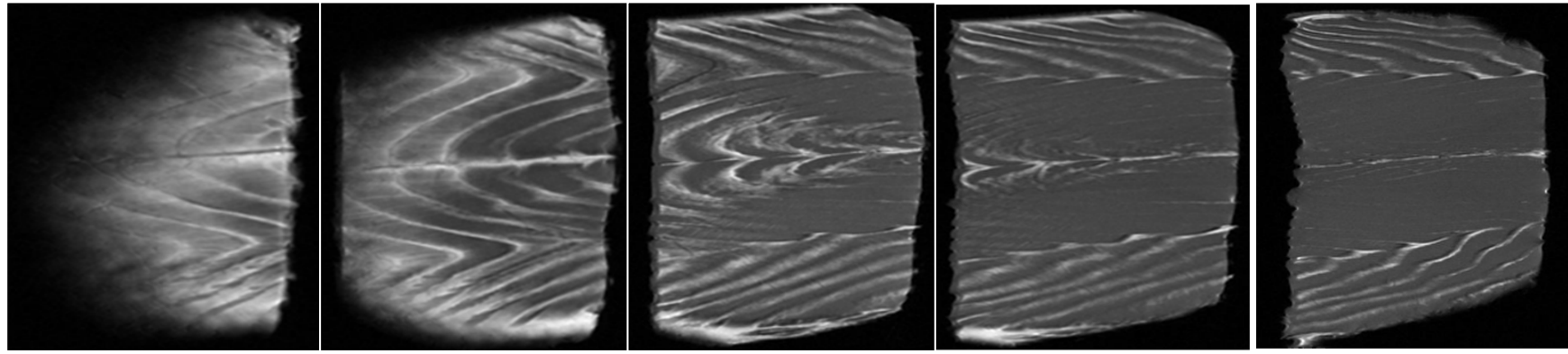
1. Undersøke anatomi og fettfordeling ved MRI
2. Å identifisere forskjeller i
  - Protein ekspresjon og
  - Protease aktiviteter

mellom bløt og Fast laksemuskel

# Prøver



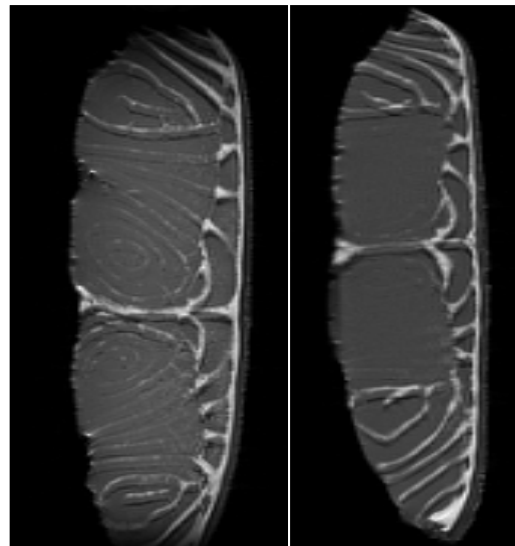
# MRI analyse: Hvit farge er fett



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<br>Q    | 26.05.08 | 1.6- Fast    | 5            | 3.3 $\pm$ 0.9 | 63.2 $\pm$<br>5.2 |
| VII | 6-10     | Nord<br>C   | 27.05.08 | 2.8 –Bløt    | 9            | 2.8 $\pm$ 0.6 | 56.6 $\pm$<br>3.5 |

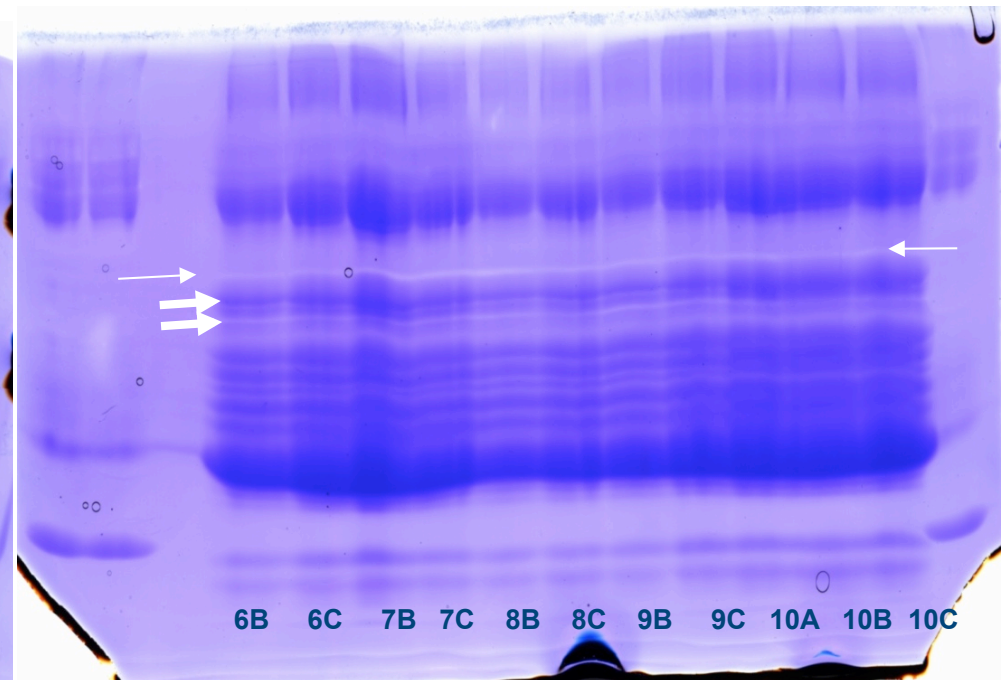
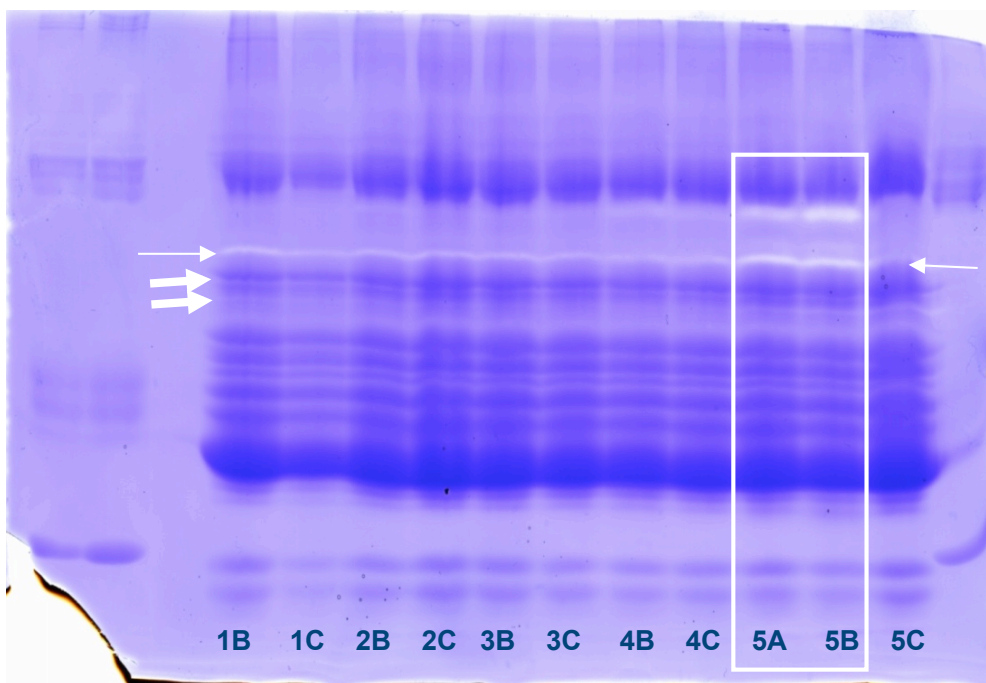
# Analyser

- 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

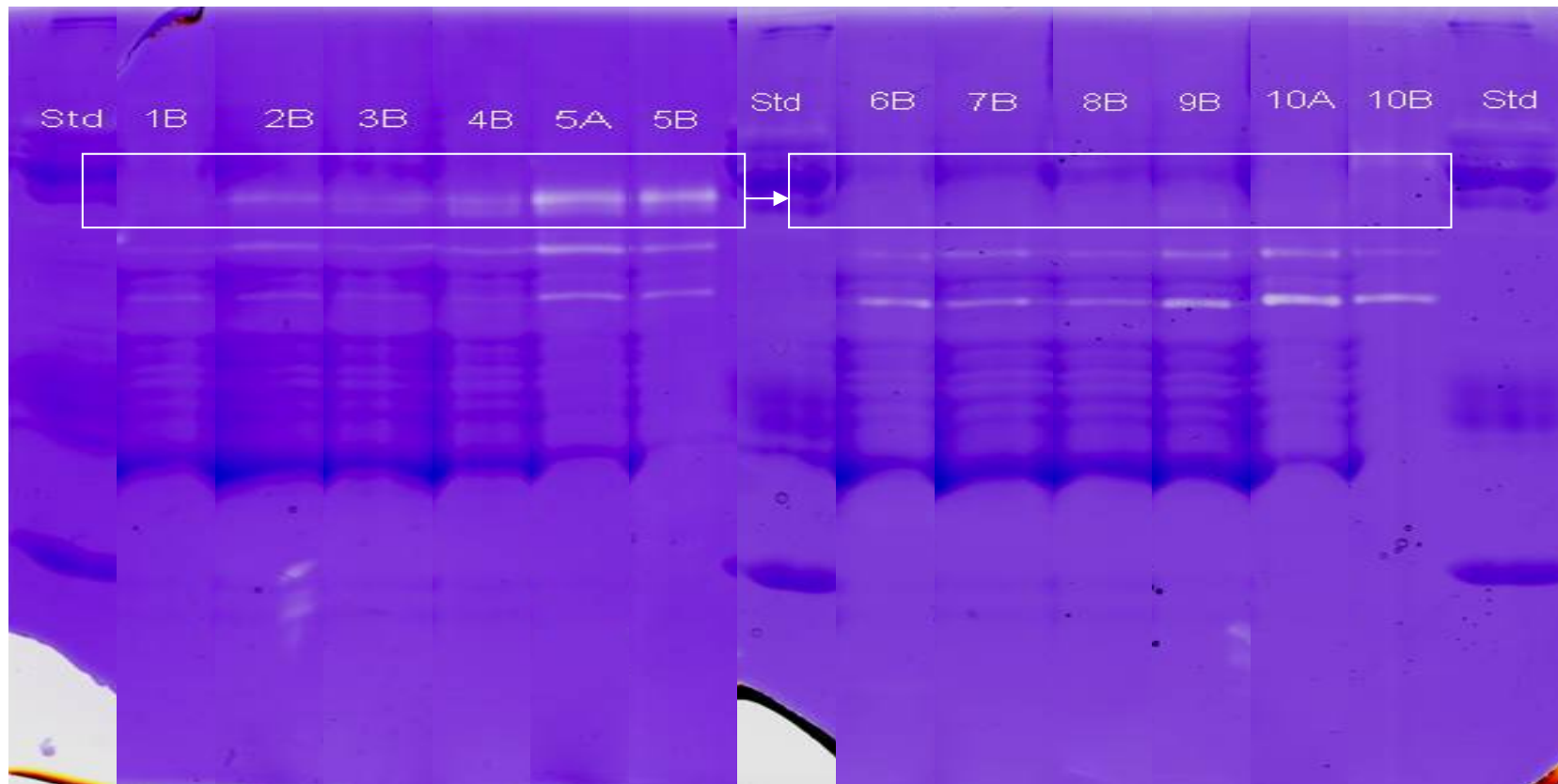


# Gelatinase aktivitet

## Etter gelatin-sepharose rensing

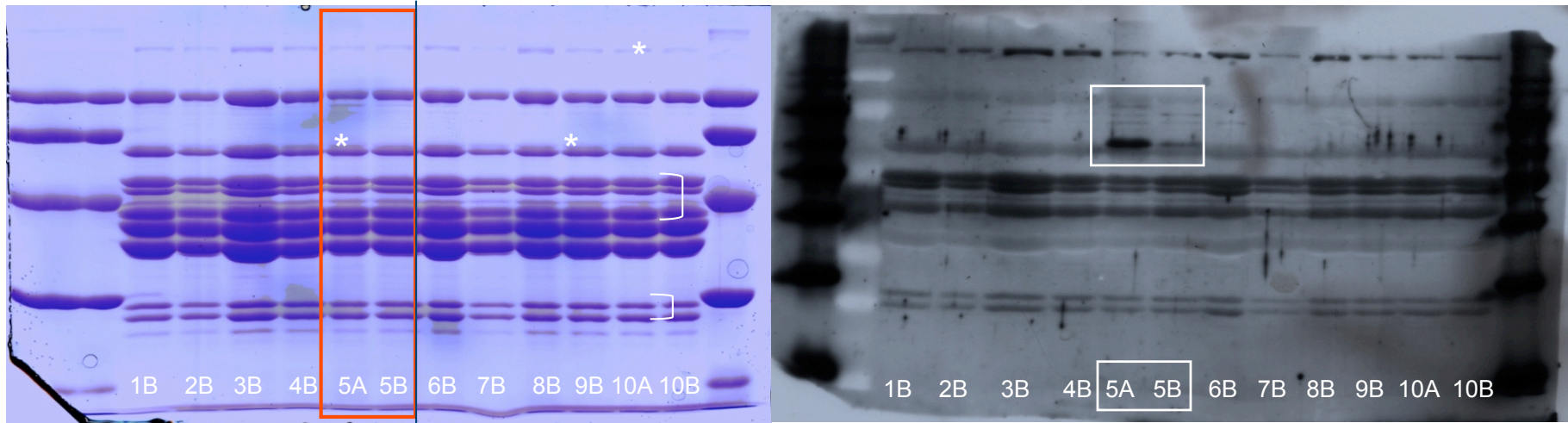
Fast

Bløt



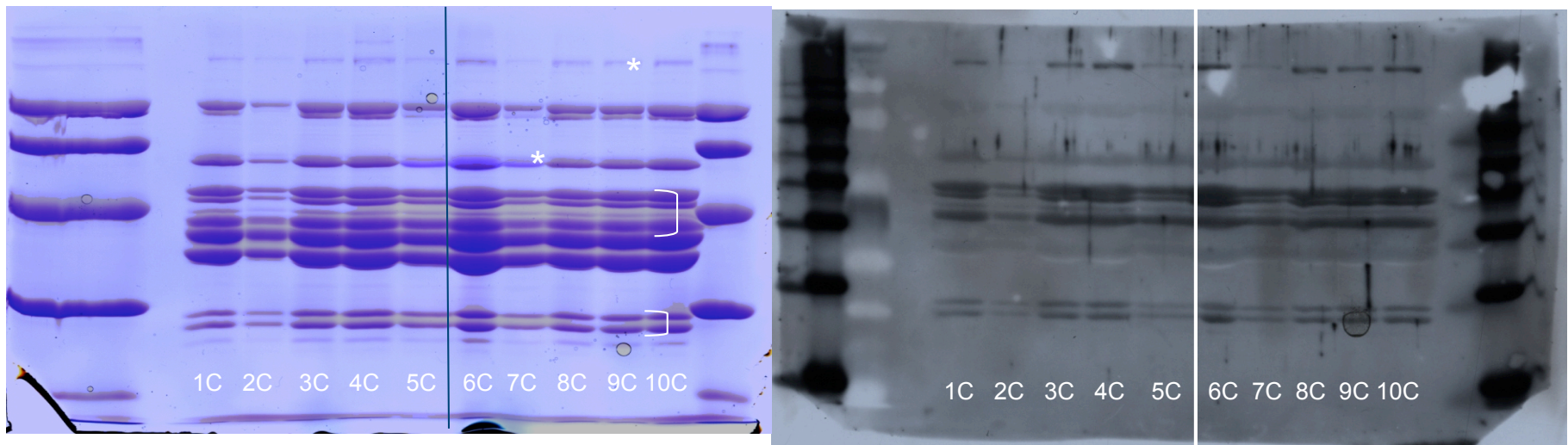


# Immunodeteksjon av 50 kDa red seabream serine protease



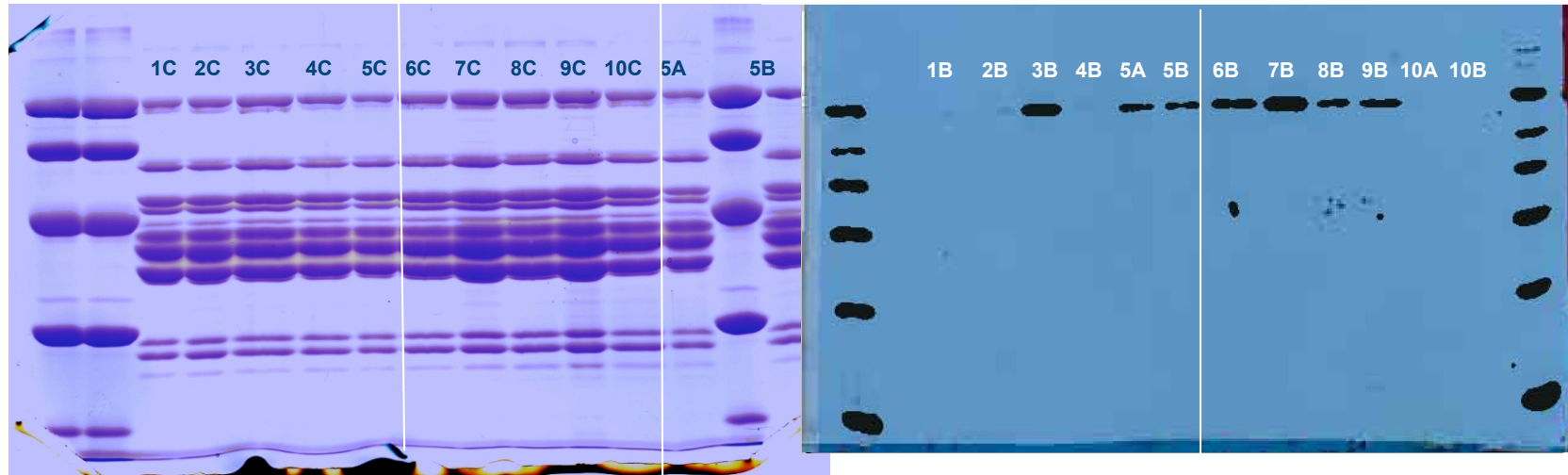
Fast Bløt

Fast Bløt



\* Immunoreactive band

# Immunodeteksjon av stressmarkører - HSP70 family

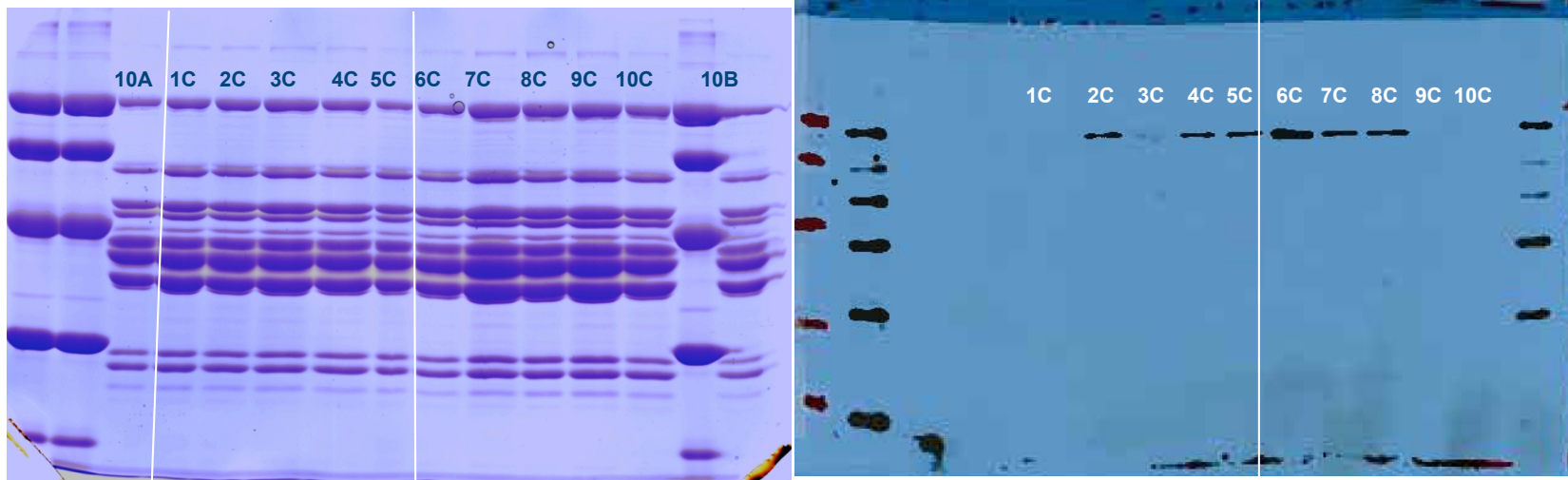


Fast

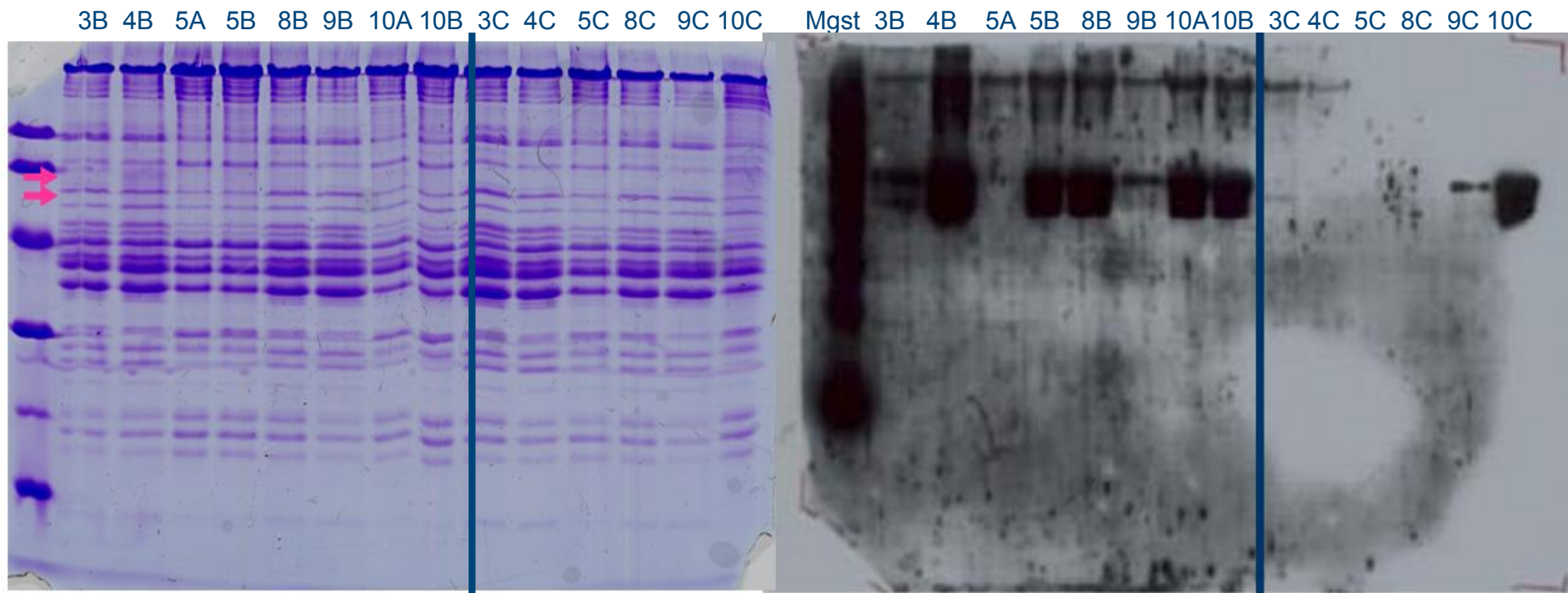
Bløt

Fast

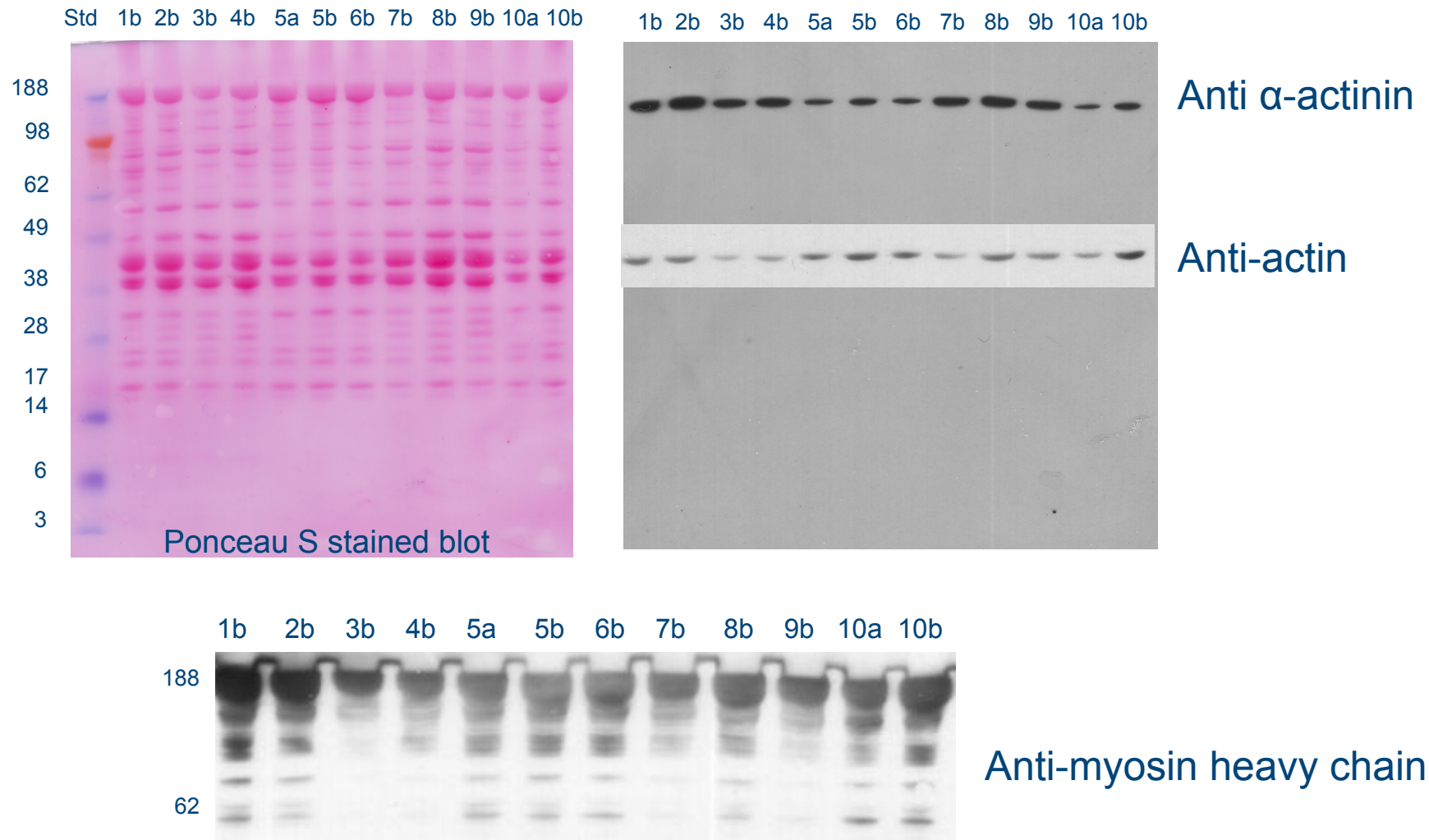
Bløt



# Immunodeteksjon av ubiquitin-ubiquitinated proteiner



# Immunodeteksjon av $\alpha$ -aktinin, aktin og MHC

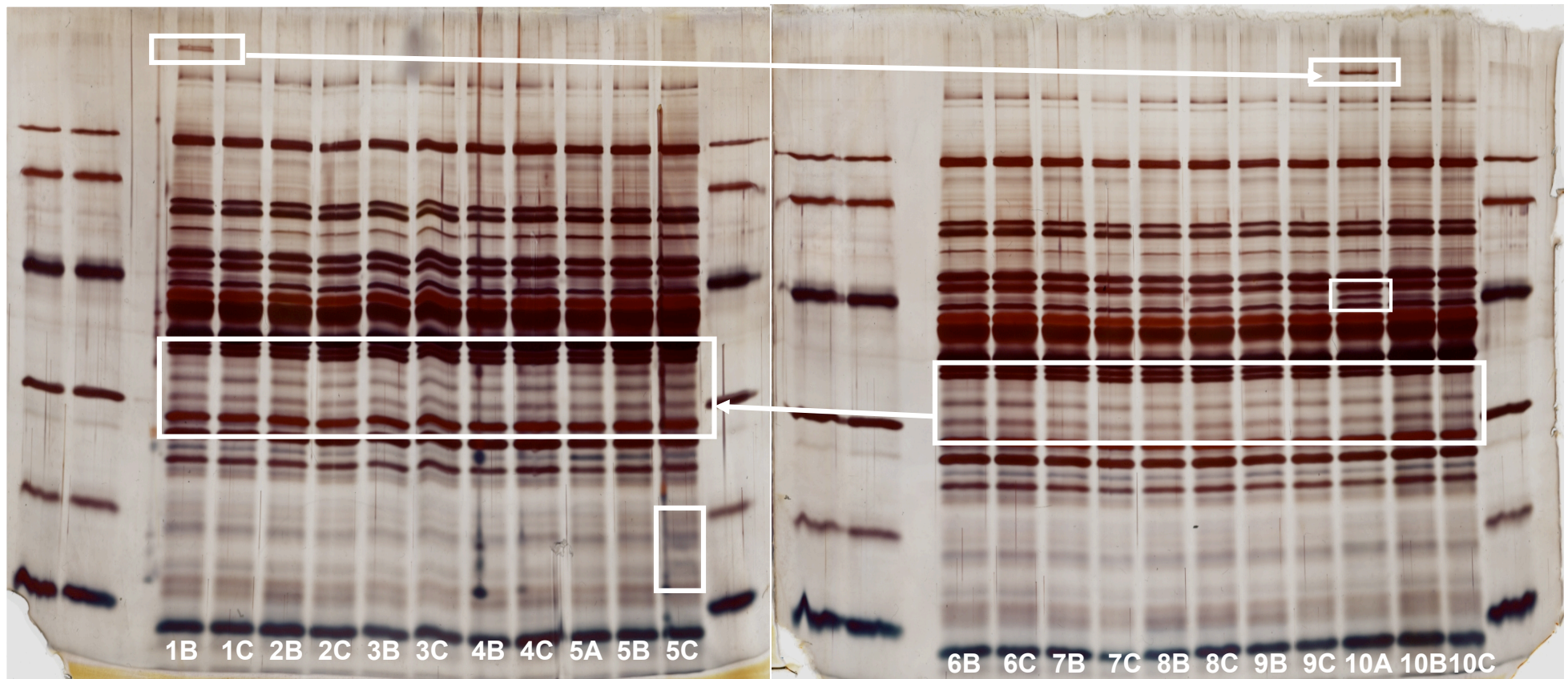


Western blots from NuPage 4-12% SDS-PAGE gels probed with the indicated antibodies

# Protein sammensetting- Lav ioniske styrke ekstrakter

Fast

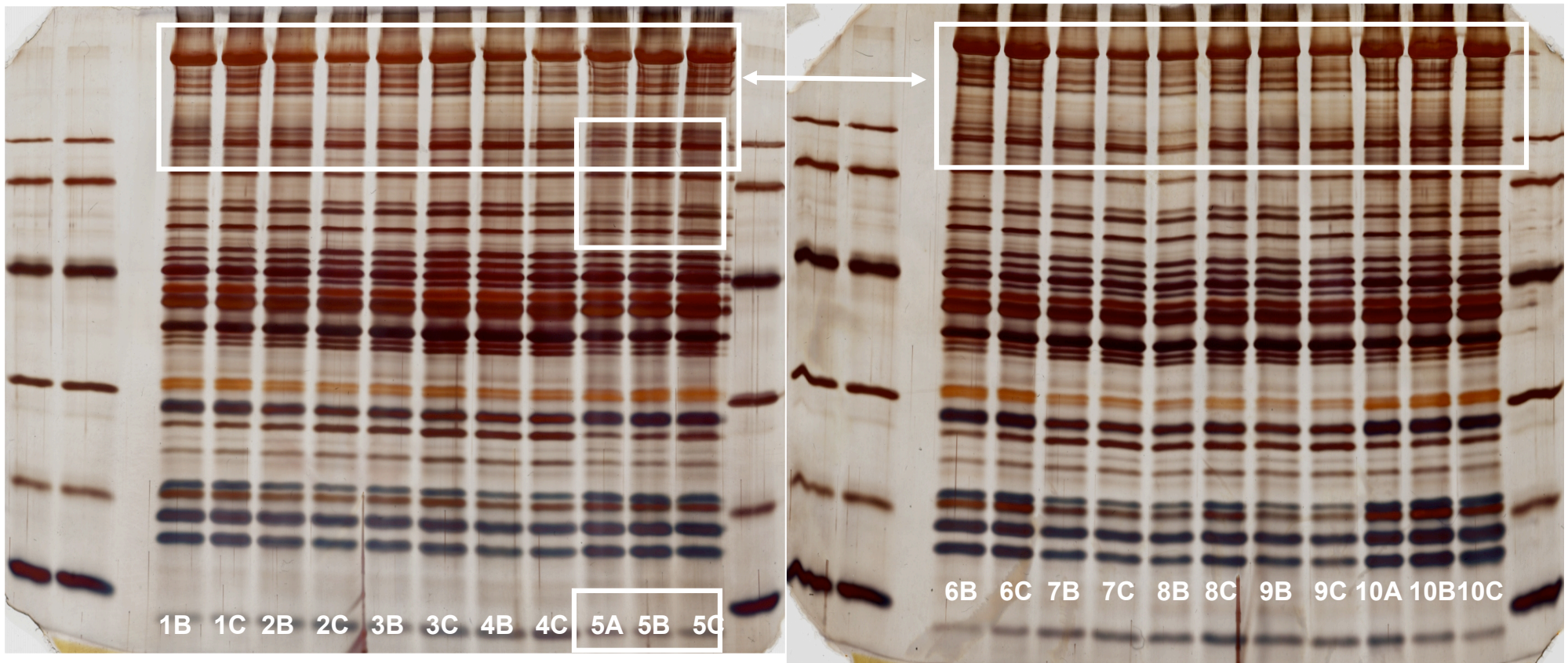
Bløt



# Protein sammensetting- Høy ioniske styrke ekstrakter

Fast

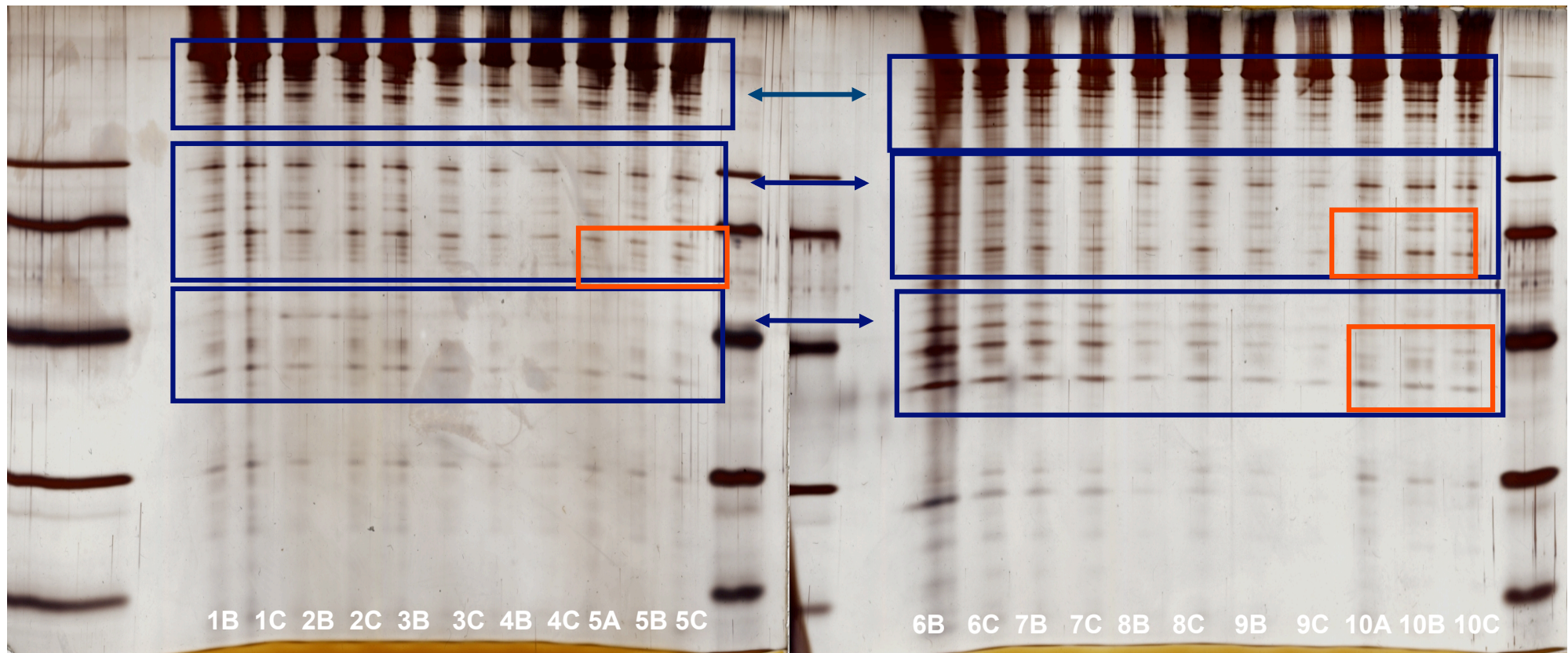
Bløt



# 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!

