



ЖИВОТНОВОДСТВО И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

И.И.Будевич, член-корреспондент Академии аграрных наук РБ,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор

А.И.Будевич, кандидат сельскохозяйственных наук

Белорусский НИИ животноводства

А.К.Павленя, кандидат биологических наук,

С.В.Юращик, аспирант

Гродненский сельскохозяйственный институт

УДК 636.22/28:612.089.67.

Взаимодействие пептидных гормонов гипофиза с высокомолекулярными углеводами и эффективность использования полученных соединений в технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота

Методом флуоресцентной спектроскопии показано эффективное комплексобразование ФСГ с высокомолекулярными углеводами декстраном и полиглюкином. С целью стабилизации фолликулостимулирующего гормона и образования прочных гормональных комплексов использовались 1,5-5,0%-ный раствор декстрана и 3,0-4,5%-ный раствор полиглюкина. Применение фолликулостимулирующих гормонов пролонгированного действия позволяет получать до 68,2% качественных эмбрионов на одного донора при сокращении трудовых затрат и времени на обработку животных в 2 раза.

Внедрение в племязаводах республики трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, как биотехнологического метода ускоренного воспроизводства стада высокопродуктивных животных, дает возможность получать не менее 4-5 телят в год от одной коровы-донора [1].

Несмотря на то, что в технологии трансплантации эмбрионов в последнее время достигнут значительный прогресс, проблема гормонального вызывания суперовуляции у коров-доноров остается открытой вследствие непредсказуемости и большой вариабельности суперовуляторной реакции яичников на вводимые гонадотропины, что требует совершенствования существующих схем гормональных обработок доноров.

Задачей исследований явилось изучение взаимодействия фолликулостимулирующего гормона с некоторыми высокомолекулярными углеводами с целью упрощения схем обработок при вызывании полиовуляции у коров-доноров, повышения эффективности метода трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.

Исследования проведены в 1997-1999 гг. в Институте

An efficient compound formation of FSH with high molecular carbohydrates dextran and polyglucine was shown by the method of fluorescent spectroscopy. Dextran (1,5-5,0%) and polyglucine (3,0-4,5%) solutions were used to stabilize FSH and to form stable hormonal compounds. The use of FSH of prolonged action allows to have more viable embryos per donor (up to 68,2%) at 2 times lower labour and time expenses for animal treatments.

биохимии ИАНБ (г. Гродно) и племязаводе "Кореличи" Гродненской области.

С целью получения гонадотропинов пролонгированного действия изучался механизм связывания фолликулостимулирующего гормона (ФСГ-п (СЩА)) с декстраном (опыт I) и полиглюкином (опыт II). Связывание гормона с высокомолекулярными углеводными компонентами определяли по спектрам триптофановой флуоресценции ФСГ в отсутствие и в присутствии углеводного компонента [2]. Тушение триптофановой флуоресценции указывало на образование комплекса гормона с углеводами. В качестве доноров использовали здоровых коров черно-пестрой породы, живой массой 550-600 кг, с удоем не менее 7 тыс. кг молока жирностью 3,7% и более. Коровам-донорам опытных групп ФСГ с указанными выше носителями вводили в дозе 50 мг по 4-кратной схеме с интервалом между инъекциями 24 часа. Донорам контрольной группы гормон инъецировали по 8-кратной схеме согласно методическим рекомендациям БелНИИЖ [3].

Спектр триптофановой флуоресценции фолликулос-

тимулирующего гормона в отсутствие декстрана представлен на рисунке 1 (кривая 1) и характеризуется максимумом при длине волны 350 нм. Такое положение максимума триптофановой флуоресценции свидетельствует о контакте триптофановых остатков молекул гормона с растворителем [2]. В присутствии возрастающей концентрации декстрана происходит выраженное тушение триптофановой флуоресценции (рис. 1, кривая 2). Максимум спектра триптофановой флуоресценции фолликулостимулирующего гормона в присутствии декстрана смещается с 350 нм до 343 нм. Такой выраженный коротковолновый сдвиг спектра флуоресценции свидетельствует об образовании комплекса между гормоном и декстраном, в котором молекула фолликулостимулирующего гормона экранирована от растворителя.

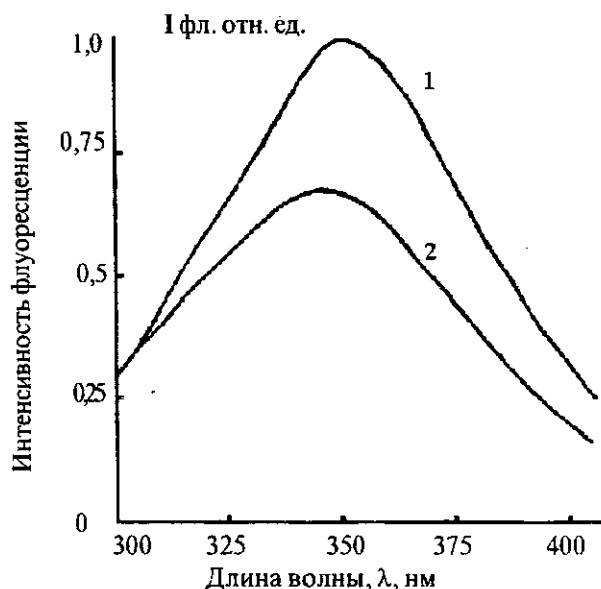


Рис. 1. Спектры триптофановой флуоресценции ФСГ ($5 \times 10^{-6} \text{M}$) в 0,05M Na-фосфатном буфере, pH 7,4, $\lambda_{\text{возб}} = 296 \text{ нм}$, в отсутствие (кривая 1) и в присутствии 5,0% ($4,54 \times 10^{-4} \text{M}$) декстрана (кривая 2)

На рисунке 2 (кривые 2; 3) в виде графиков представлены данные по тушению триптофановой флуоресценции ФСГ при взаимодействии с декстраном. Как видно из рисунка 2 (кривая 2), при концентрации высокомолекулярного углевода 1,5% и более все изменения спектральных параметров ФСГ завершаются. Это позволяет предположить, что при этой концентрации декстрана происходит полное связывание фолликулостимулирующего гормона с данным носителем. При этом излом графика Штерна-Фольмера при концентрации тушителя, равной $1,3 \times 10^4 \text{M}$, соответствует 30-кратному избытку декстрана по сравнению с концентрацией ФСГ. Это, вероятно, указывает на то, что порядка 30 молекул декстрана сорбируется на одной молекуле гормона. Следует отметить, что образование комплекса фолликулостимулирующего гормона с декстраном не изменяет спектра поглощения гормона.

Подобным образом фолликулостимулирующий гормон эффективно сорбируется другим высокомолекуляр-

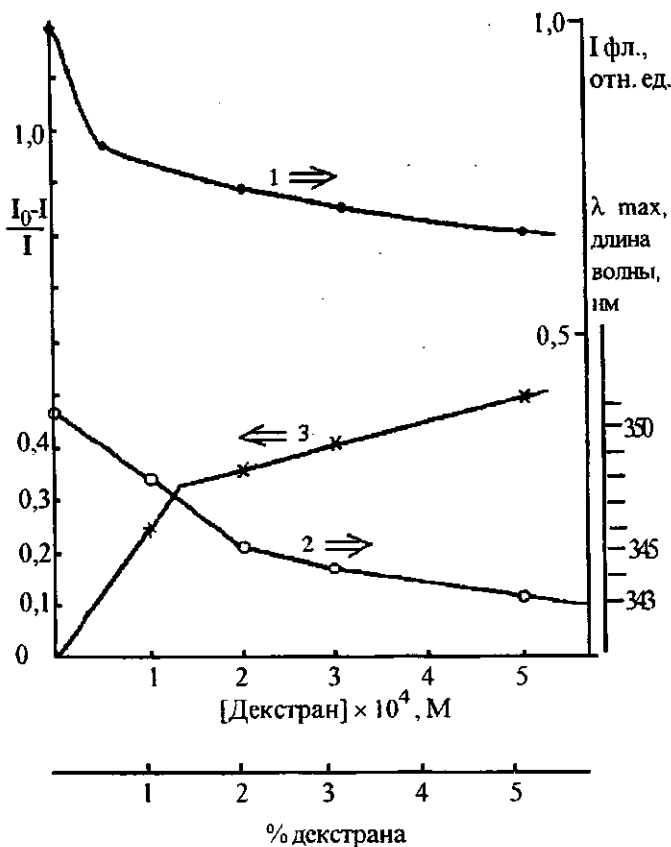


Рис. 2. Тушение триптофановой флуоресценции ФСГ ($5 \times 10^{-6} \text{M}$) декстраном в 0,05M Na-фосфатном буфере, pH 7,4, $\lambda_{\text{возб}} = 296 \text{ нм}$: 1 — интенсивность флуоресценции ФСГ, $\lambda_{\text{рег}} = 345$; 2 — положение спектра флуоресценции, 3 — график Штерна-Фольмера.

Концентрацию декстрана представили в молярном (верхняя ось абсцисс) и процентном (нижняя ось абсцисс) виде

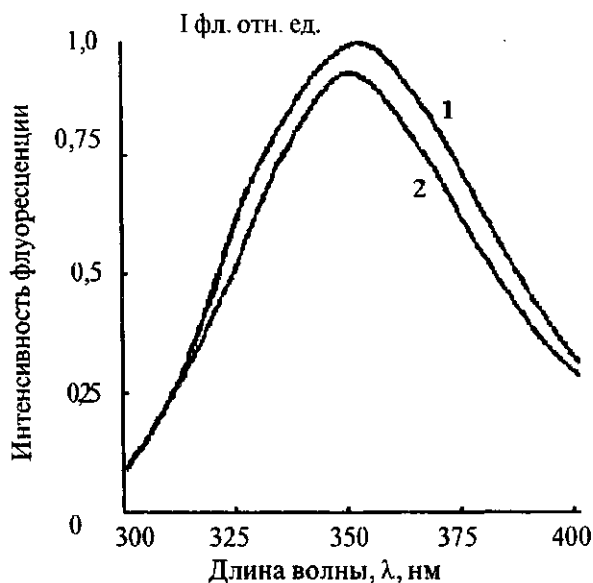


Рис. 3. Спектры триптофановой флуоресценции ФСГ (10^{-3}M) в 0,05M Na-фосфатном буфере, pH 7,4, $\lambda_{\text{возб}} = 296 \text{ нм}$, в отсутствие (кривая 1) и в присутствии 4,5% ($6,9 \times 10^{-4} \text{M}$) полиглюкина (кривая 2)

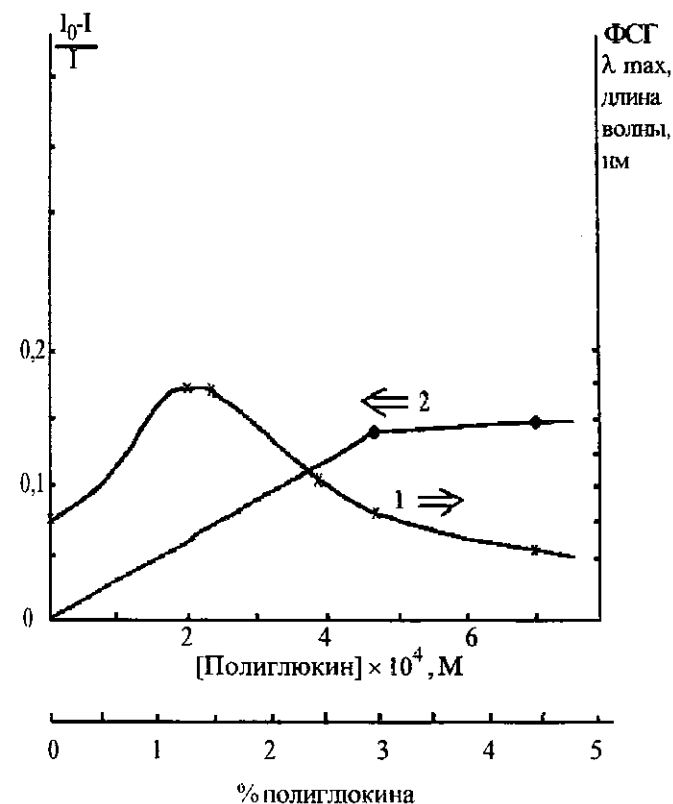


Рис. 4. Тушение триптофановой флуоресценции ФСГ полиглюкином в 0,05M Na-фосфатном буфере, pH 7,4, $\lambda_{\text{возб}} = 296$ нм.: 1 — положение максимума флуоресценции ФСГ, 2 — график Штерна-Фольмера. Концентрацию полиглюкина представили в молярном (верхняя ось абсцисс) и процентном (нижняя ось абсцисс) виде

ным углеводным соединением бактериального происхождения — полиглюкином. Взаимодействие полиглюкина с фолликулостимулирующим гормоном носит двухфазный характер. На рисунке 3 представлены спектры триптофановой флуоресценции ФСГ в отсутствие (кривая 1) и в присутствии 4,5%-ной концентрации полиглюкина (кривая 2). Первоначально в присутствии полиглюкина происходит возрастание флуоресценции фолликулостимулирующего гормона и ее длинноволновый сдвиг (рис. 4, кривая 1). При концентрации полиглюкина, превышающей 3,0%, наблюдается коротковолновый сдвиг спектра флуоресценции гормона и ее тушение. Это свидетельствует о связывании ФСГ на полиглюкине.

При концентрации полиглюкина 3,0% и более (рис. 4, кривая 2) не отмечено дальнейшего изменения параметров (интенсивности и положения) флуоресценции ФСГ. Вероятно, при этой концентрации полиглюкина наблюдается полное насыщение центров связывания углевода на молекуле гормона.

Обнаруженное нами взаимодействие ФСГ с декстраном и полиглюкином позволяет предположить, что комплексы гормона с углеводами будут обладать повышенной стабильностью в крови животных во вре-

мя гормональной обработки.

Вторым этапом исследований было изучение показателей по уровню суперовуляции, количеству и качеству эмбрионов, полученных при использовании ФСГ пролонгированного действия. Данные представлены в таблице.

Таблица. Эффективность использования фолликулостимулирующих гормонов пролонгированного действия

Показатели	ФСГ-п Опыт I	ФСГ-п Опыт II	ФСГ-п Контроль
Обработано коров, n	14	10	9
Реагировало суперовуляцией, n -%	12-85,7	8-80,0	7-77,7
Количество овуляций на донора, n	10,2±0,69	9,37±0,74	9,14±0,97
Положительных доноров по извлечению зародышей, n -%	11-91,7	8-100	7-100
Количество зародышей на донора, n	7,65±0,84	7,03±0,69	8,13±0,89
Из них:			
пригодных к пересадке, n	5,22±0,61	4,60±0,78	5,49±0,64
дегенерированных, n	1,51±0,31	1,99±0,70	1,69±0,48
неоплодотворенных яйцеклеток, n	0,92±0,18	0,44±0,23	0,95±0,34
Процент пригодных к пересадке зародышей на донора, %	68,2	65,4	67,5

При использовании комплексов ФСГ с декстраном и полиглюкином реакция суперовуляцией, общее количество и число пригодных к пересадке эмбрионов на донора были соответственно 10,2; 7,65; 5,22 и 9,37; 7,03; 4,60 против 9,14; 8,13; 5,49 в контрольной группе животных. Процент качественных зародышей на донора составил соответственно 68,2 и 65,4, в контроле — 67,5. Не было существенных различий ко количеству дегенерированных эмбрионов и неоплодотворенных яйцеклеток в опытных группах и в контрольной соответственно 1,51; 1,99; 1,69, и 0,92; 0,44; 0,95.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что с целью стабилизации фолликулостимулирующего гормона и образования прочных гормональных комплексов следует использовать 1,5-5,0%-ный раствор декстрана и 3,0-4,5%-ный раствор полиглюкина, так как при этих концентрациях достигается полное связывание гормона с высокомолекулярными углеводами. Применение фолликулостимулирующих гормонов пролонгированного действия позволяет получать до 68,2% качественных эмбрионов на одного донора при сокращении трудозатрат и времени на обработку животных в 2 раза.

Литература

1. Будевич И.И. Состояние, практика использования и перспективы трансплантации эмбрионов в селекции крупного рогатого скота Республики Беларусь // Конкурентоспособное производство продукции животноводства в Республике Беларусь: Сб. тр. междунар. науч.-произв. конф., Жодино, 23-24 апреля 1998г. / Академия аграрных наук Республики Беларусь. Белорусский научно-исследовательский институт животноводства. — Жодино, 1998. — С.90-91.
2. Бурштейн Э. Н. Собственная люминесценция белка: (природа и применение)// Биофизика: (Итоги науки и техники)./ ВИНТИ АН СССР. — Москва, 1977. — Т.7. — С.7-39.
3. Технология трансплантации эмбрионов в молочном и мясном скотоводстве: Метод. рекомендации / Белорусский научно-исследовательский институт животноводства.; Сост. И. И. Будевич, В. С. Антонюк, Н. Ф. Жук и др. — Жодино, — 1996. — 34 с.