

EDWARD POSPIECH, BOŻENA GRZEŚ

WYBRANE BIAŁKA CYTOSZKIELETOWE I ICH ROLA W KSZTAŁTOWANIU WŁAŚCIWOŚCI FUNKCJONALNYCH TKANKI MIĘŚNIOWEJ

Streszczenie

W pracy przedstawiono najważniejsze dane odnośnie białek cytoszkieletowych, które występują w tkance mięśniowej mięśni poprzecznie prążkowanych. Niektóre z nich zostały szczegółowej scharakteryzowane. Określono rolę jaką pełnią one w procesach kształtowania podstawowych właściwości funkcjonalnych mięsa, w tym przede wszystkim jego kruchości i wodochłonności.

Wstęp

Badania ostatnich lat przyniosły istotne odkrycia dotyczące zarówno struktury tkanki mięśniowej jak i tworzących ją białek. Szczególnie ważnym było odkrycie nowych białek cytoszkieletowych i dokonanie ich charakterystyki biochemicznej i funkcjonalnej oraz bliższe określenie roli jaką pełnią w procesach kształtujących wodochłonność i kruchość mięsa.

Celem niniejszego artykułu jest przedstawienie najważniejszych z tych białek oraz przybliżenie ich roli w kształtowaniu podstawowych właściwości funkcjonalnych mięsa.

Ogólna charakterystyka białek cytoszkieletowych

Białka te były znane już od dawna a głównym ich przedstawicielem jest aktyna znana również jako jedno z podstawowych białek aparatu skurczu tkanki mięśniowej, tworząca ponadto strukturę miofibrylarną tej tkanki.

Biorąc pod uwagę lokalizację białek cytoszkieletowych można podzielić je na białka umiejscowione w miofibrylach i na te umiejscowione wzdłuż sarkolemmy.

Pierwsze z nich tworzą tzw. podporowy cytoszkielet wewnętrzny, drugie – zewnętrzny [6, 13]. Do białek cytoszkieletowych występujących w miofibrylach zalicza się filamenti titinowe¹ i nebulinowe a do drugiej grupy – filamenti pośrednie.

Zadaniem białek cytoszkieletu jest zapewnienie sprawnego funkcjonowania aparatu skurczu poprzez zapewnienie integralności i spójności komórki mięśniowej, co jest szczególnie ważne za życia zwierzęcia. Po uboju przyczyniają się one prawdopodobnie do polepszenia właściwości funkcjonalnych mięsa w tym przede wszystkim jego kruchości i wodochłonności.

W technologii mięsa obie grupy białek tj. białka motoryczne i cytoszkieletowe są często przedstawiane łącznie tj. jako białka miofibryli (tab.1). Uzasadnia się to ich rolą w kształtowaniu właściwości funkcjonalnych mięsa, mimo ich istotnego zróżnicowania nie tylko morfotycznego, ale i pod względem właściwości biochemicznych.

Odkrycie tych białek zbiegło się z lepszym poznaniem procesów enzymatycznych zachodzących w mięsie (odkrycie kalpain – [5]) oraz ze stwierdzeniem, że ani miozyna, ani też aktyna występujące po uboju w postaci kompleksu aktomiozyny nie są degradowane w czasie normalnego, chłodniczego jego składowania [2, 20]. Ich degradacja ma miejsce przy przechowywaniu mięsa w temperaturze 25°C lub wyższej, co wiąże się zwykle z daleko posuniętą degradacją struktury (papkowatością) podobną do tej, jaka ma miejsce przy działaniu na tkankę mięśniową papainą. Ponadto wykazano, że linia Z, jakkolwiek ulega degradacji w czasie przechowywania, to zmiany te mają miejsce w późniejszym okresie prawdopodobnie od 7 do 10 dni po uboju zwierzęcia [11, 20, 48]. Jeśli więc te białka nie ulegają zmianom szczególnie w krótkim okresie po uboju, gdy obserwuje się największy wzrost kruchości, czy też polepszenie innych właściwości mięsa, to powstało pytanie jakie białka są odpowiedzialne za powyższe zjawiska. Coraz częściej zaczęto poszukiwać pewnych struktur we włóknie mięśniowym oraz ich składników, których zmiany a nawet rozpad można byłoby odnieść do postępujących procesów polepszania kruchości i wodochłonności mięsa.

Struktury te stanowi układ cytoszkieletowy. Udowodnienie ich istnienia oraz odkrycie białek tworzących je, było uwarunkowane postępowaniem w metodach analizy a szczególnie możliwością ich rozdziału i identyfikacji. Przykładowo, przy zastosowaniu żeli o małej porowatości niemożliwy był rozdział bardzo dużych białek cytoszkieletowych. One bowiem albo nie wchodziły do żelu lub jeśli nawet wnikały do niego to w bardzo niewielkim stopniu. Ponadto do ekstrakcji białek mięśniowych najczęściej stosowano rozpuszczalniki nieorganiczne, które nie ekstrahowały białek szkieletowych. Zjawisko to obserwowano szczególnie wówczas, gdy analizę przeprowadzano

¹ Czytelnik może znaleźć w literaturze zamiast określenia filamenti titinowe nazwę filamenti tytinowe. Białko titina lub tytyna bierze nazwę od swoich olbrzymich (tytanicznych) rozmiarów. W technologii mięsa [8, 36, 53] nazwą częściej używaną jest titina stąd też użyto ją w niniejszym artykule.

bezpośrednio po uboju, a więc wtedy gdy procesy destrukcji tych białek nie były zaawansowane.

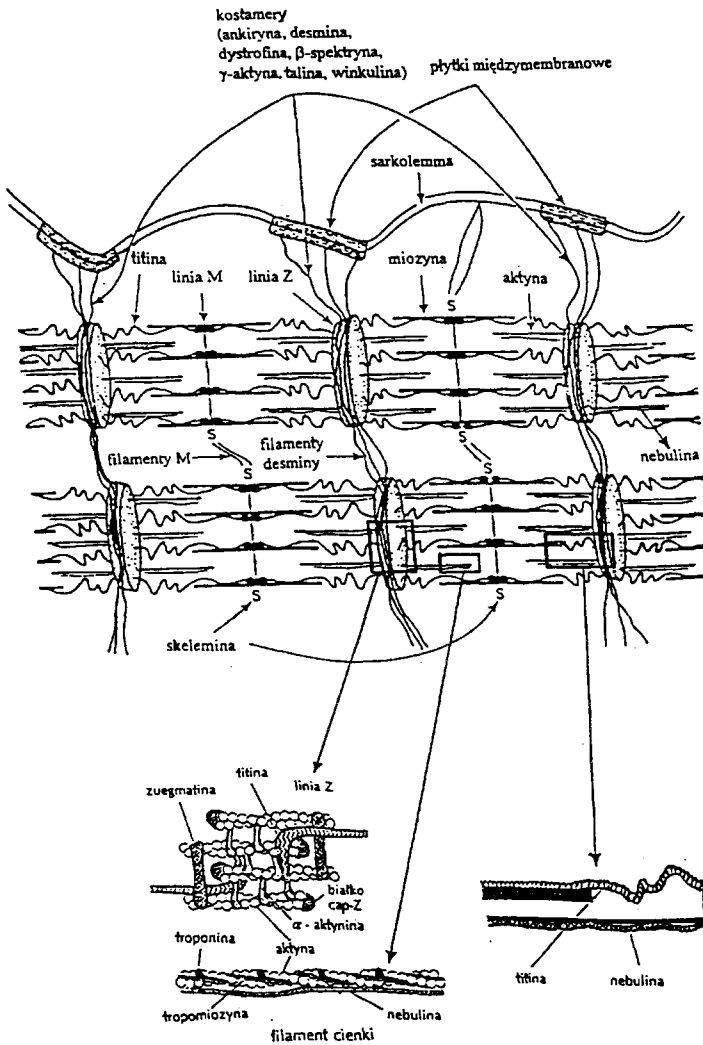
Tabela 1

Najważniejsze białka miofibrylarne mięśni szkieletowych

Białko	Lokalizacja w sarkomerze	Udział w białkach miofibrilarnych [%/]	Przybliżona masa cząsteczkowa i liczba podjednostek
<i>Białka aparatu skurczu</i>			
<i>białka kurczliwe</i>			
miozyna	gruby filament	45	520 000 (6)
aktyna	filament cienki	20	42 000 (1)
<i>białka regulujące</i>			
troponina	filament cienki	5	69 000 (3)
tropomiozyna	filament cienki	5	66 000 (2)
białko M.	linia M	2	165 000 (1)
białko C	gruby filament	2	140 000 (1)
miomezyna	linia M	1	185 000 (1)
kinaza kreatyny	linia M	<1	84 000 (2)
<i>Białka cytoszkieletowe</i>			
<i>filament elastyczny</i>			
titina	podłużny filament sarkomeru (od linii M do Z)	10	2 500 000 – 2 800 000 (1)
<i>filamenty pośrednie</i>			
desmina	filamenty pośrednie przy linii Z (otoczenie linii Z)	1	212 000 (4)
wimentyna	filamenty pośrednie przy linii Z, kostamery	1	55 000 (1)
filamina	filamenty pośrednie przy linii Z, kostamery	<1	500 000 (2)
winkulina	filamenty pośrednie przy linii Z, kostamery	<1	130 000 (1)
synemina	filamenty pośrednie przy linii Z (otoczenie linii Z)	<1	460 000 (2)
<i>inne filamenty</i>			
nebulina	filament równoległy do aktyny - biegnie aż do linii Z	4	600 000 – 800 000 (1)
paratropomiozyna	na granicy strefy prążka A i I	<1	43 000 (1)
<i>białka linii Z</i>			
α-aktynina	linia Z (białko integralne linii Z)	2	204 000 (2)
cap Z	linia Z (białko integralne linii Z)	<1	66 000 (2)
zeugmatyna	linia Z (białko integralne linii Z)	<1	2 000 000 (2)

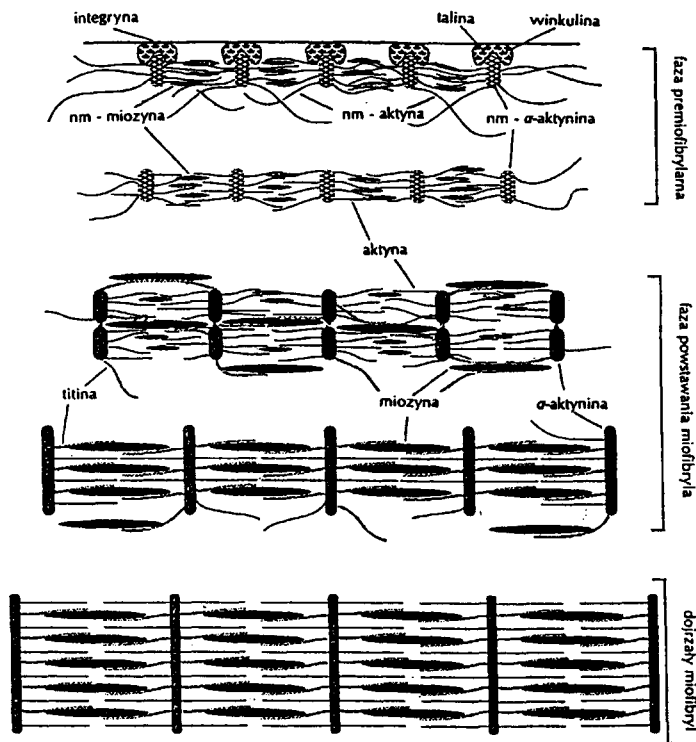
Tabelę sporządzono głównie w oparciu o prace Maruyamy [30], Robsona i wsp. [42] i Taylora i wsp. [48].

Na przełomie lat 70. i 80. pojawiają się pierwsze prace związane z odkryciem i izolacją nowych białek tworzących układ cytoszkieletowy mięśni [23, 29, 31, 32, 54, 56]. W książce, która ukazała się w 1993 r., jako wynik współpracy ponad 240 autorów [22], opisano już ponad 200 białek spośród których znaczną część stanowiły białka komórek niemięśniowych. Wiele z nich jest związanych z rozwojem mięśni i ich funkcjonowaniem w organizmie żywym i ma jednak znaczenie marginalne z punktu widzenia kształtowania właściwości funkcjonalnych mięsa. Są jednak pewne, których ilość jest stosunkowo duża i ich rola w procesach poubojowych mięsa jest istotna.



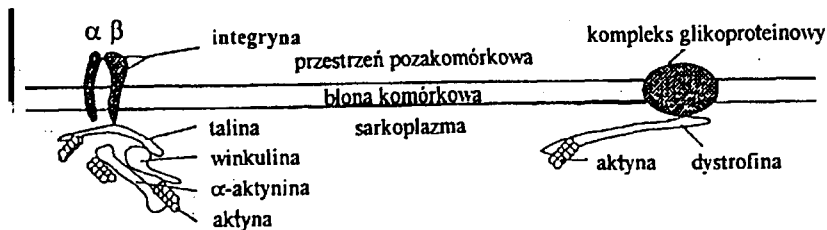
Rys. 1. Układ strukturalny włókna mięśniowego (rysunek stanowi modyfikację dwóch innych zaczerpniętych z prac Taylora i wsp. [48], Swartza i wsp. [44].

Zestawienie dokonane w tabeli 1 nie obejmuje wszystkich białek, które występują w mięśniach i zostały stosunkowo niedawno szczegółowo opisane przez Dąbrowską i Grażewicz [6]. Ograniczono się w nim do mięśni poprzecznie prążkowanych i tych białek, których zmiany ocenia się najczęściej w związku z przemianami poubojowymi w nich zachodzącymi. Dokonując pewnych uproszczeń można je zaprezentować w sposób zilustrowany rysunkami 1, 2 i 3. Rysunek 1 przedstawia miofibryle i występujące w nich najważniejsze białka łącznie z tzw. kostamerami, czyli klamrami spinającymi miofibryle.



Rys. 2. Powstawanie miofibryli – model poglądowy (wg Swartza i wsp. [44]).

Objaśnienia: nm-miozyna – niemiofibrylarna miozyna, nm-aktyna – niemiofibrylarna aktyna itd.



Rys. 3. Białka wiążące miofibryle z błoną komórkową (wg Greasera [13]).

Poza nimi często wymienia się jednak jeszcze takie jak: integrynę, talinę, dystrofinę, spektrynę, ankirynę, acykulinę, zeugmatynę, Z-ninę, białko Z, tensynę, plektynę, winkulinę i paksylinę. Zlokalizowane są one przy linii Z lub przy błonie komórkowej sarkolemmy. Wiele z nich stanowi tzw. miościęgniste połączenia. Zadaniem ich jest łączenie miofibryli z sarkolemmą a także wytwarzanie synaps nerwowo-mięśniowych.

Spośród białek linii Z szczególną uwagę zwraca α -aktynina, która była dotychczas uważana za najważniejsze białko tej linii pełniące rolę czynnika integrującego włókna mięśniowe. Teoria ta podlega ostatnio weryfikacji [48]. Związane jest to z coraz częstszym zwracaniem uwagi na jeszcze dwie inne struktury, w których występują białka cytoszkieletowe. Pierwszą z nich stanowią kostamery [13, 48], drugą natomiast - tzw. linia N_2 [19]. Sugeruje się, że jakkolwiek wzrostowi fragmentaryzacji włókna mięśniowego towarzyszy zwiększanie się kruchości mięsa, to destrukcja ta nie musi być związana koniecznie z rozpadem linii Z. Wysuwa się natomiast hipotezę, że za powyższe zmiany w czasie pierwszych 4 do 6 dni po uboju, jest odpowiedzialny w pierwszym rzędzie raczej rozpad kostamerów (w wyniku destrukcji białek cytoszkieletowych tworzących te struktury) i rozpad międzymiofibrilarnych powiązań, które tworzą białka cytoszkieletowe między sarkolemmą a miofibrylami oraz na poziomie linii N_2 .

Rozerwanie kostamerów można zaobserwować nie tylko w czasie przechowywania mięsa, ale również po poddaniu go tenderyzacji przy pomocy aktywatora [52]. Działanie tego urządzenia przejawiało się dodatkowo w powiększaniu stref prążków A-I miofibryli oraz w znacznie częstszym popękaniu miofibryli oraz ich przemieszczaniu.

Jest prawdopodobnym, że poprawa kruchości mięsa może wynikać również z osłabienia interakcji nowo odkrytych filamentów typu titina, czy nebulina z linią Z. Przyczyną tego może być degradacja ww. białek [18, 48]. Procesy te są jednak dość złożone i wiążą się z różną podatnością białek na działanie enzymów proteolitycznych oraz z oddziaływaniem jonów wapnia, które tworzą środowisko fizykochemiczne tych reakcji [35].

Najważniejsze białka cytoszkieletowe i ich udział w przemianach poubojowych mięsa

Spośród białek cytoszkieletowych, które od szeregu lat zwracają uwagę badaczy mięsa można wymienić titinę, nebulinę, desminę, syneminę oraz paratropomiozynę. Ich charakterystyka oraz rola w przemianach poubojowych mięsa przedstawia się następująco.

Titina

Spośród nowo odkrytych białek cytoszkieletowych we włóknie mięśniowym występuje ona w największej ilości i odznacza się stosunkowo dużą trwałością przez co zwraca szczególną uwagę badaczy.

Jest białkiem o bardzo dużej masie cząsteczkowej (tab.1). Stąd też pochodzi jej nazwa. Występuje we włóknach mięśni szkieletowych i sercowych kręgowców i bezkręgowców. Bywa również nazywana konektyną [29, 31, 32]. Różne nazwy wynikają z faktu, że odkrycia białka dokonano w podobnym okresie czasu przez dwa różne zespoły badawcze [29, 54]. Porównanie preparatów wykazało, że są to te same białka jakkolwiek konektyna początkowo była zanieczyszczona zdenaturowaną aktyną.

Cząsteczki titiny są bardzo długie ($>1\mu\text{m}$) i łączą filenty miozynowe z linią Z spinając w ten sposób połowę długości sarkomeru od linii Z do M. Dzięki swej wielkości stanowi ona trzeci filament poza miozyną i aktyną wewnątrz miofibrili. Ma kształt pałeczki zakończonej odcinkiem globularnym [49, 50, 58]. Uważa się, że część filamentu titiny związana z miozyną jest stosunkowo mało elastyczna, podczas gdy część zlokalizowana w strefie prążków I sarkomeru jest elastyczna i może odgrywać rolę czynnika elastycznego sarkomeru. Niedawne badania [9] wykazały ponadto, że budowa filamentu titiny jest bardzo złożona i jej długość, po rozciągnięciu części będącej w połowie strefy prążka I sarkomeru, może dojść do $100\mu\text{m}$ (50 x więcej niż średnia długość sarkomeru). Powyższe potwierdzałyby podejrzenia Lockera [25, 26], który sugerował istnienie bardzo długich filamentów („gap” filaments) przy nadmiernej naciągniętych mięśniach. Jest prawdopodobne, że tworzyła je titina.

Należy ona do białek słabo rozpuszczalnych w rozpuszczalnikach nieorganicznych. Zwykle jest izolowana jako nienaruszona i następnie oczyszczana w obecności rozpuszczalników denaturujących jak np. sodowego siarczanu dodecylu (SDS). Temperatura denaturacji natywnej titiny z mięśnia najdłuższego grzbietu świń wynosi około 75°C a bydła 78°C .

Sądzi się [44], że titina w okresie płodowym, w czasie różnicowania mięśnia stanowi morfotyczne rusztowanie przy tworzeniu sarkomeru, które to w dojrzałym włóknie mięśniowym przybiera postać trzeciego rodzaju filamentów utrzymujących miozynę w określonym położeniu. Wg modelu proponowanego przez Swartza i wsp. [44] w powstającym mięśniu titina pojawia się przed miozyną, przyczepia się do linii Z a następnie do miozyny i w ten sposób następuje proces integrujący miofibril. Proponowany model przedstawia rys. 3. Titina prawdopodobnie wpływa też na długość filamentu miozynowego [50].

Titina będąc w tkance mięśniowej ilościowo trzecim białkiem odgrywa istotną rolę w przemianach poubojowych mięsa. Jest ona degradowana przez endogenne proteazy, w tym przede wszystkim przez kalpajny [12]. Stopień jej degradacji można ko-

jarzyć z przemianami prowadzącymi do poprawy kruchości mięsa. Prace innych autorów [14, 48] wskazują na wpływ typu włókien mięśniowych na szybkość rozpadu białek cytoszkieletowych. W mięśniach o przewodze włókien ciemnych o powolnym przebiegu procesu skurczu rozpad białek cytoszkieletowych, w tym titiny jest zwykle wolniejszy.

Opracowania szeregu autorów [1, 18, 38, 48] wskazują, że powstające w wyniku degradacji dodatkowe pasma titiny, będące produktami jej rozkładu, mogą być miarą służącą do rozróżniania mięsa kruchego od twardego. Zjawisko powyższe odnosi się do obserwacji fragmentu titiny oznaczanej symbolem T_2 lub β , którego masa cząsteczkowa jest jeszcze bardzo wysoka, aczkolwiek może on ulegać dalszemu rozpadowi do znacznie mniejszych produktów podobnie jak inne białka cytoszkieletowe i miofibrilarnie [7, 33, 48].

Wykazano ponadto, że rozpad i ekstrahowalność titiny z tkanki mogą być związane z występowaniem wodnistości w mięsie zwierząt [4, 39], jak i rodzajem soli, którymi mięso lub miofibrille są traktowane [14, 37, 56]. Ekstrahowalność titiny z mięsa PSE świń jest mniejsza [4], a titina mięśni normalnej jakości, zarówno świń [4] jak i indyków [39], ulega szybszemu rozkładowi. Duży wpływ na przemiany poubojowe titiny i innych białek cytoszkieletowych mają także warunki przechowywania mięsa, szczególnie bezpośrednio po uboju i to zarówno w odniesieniu do mięsa świń [40] jak i bydła. Wysoka temperatura po uboju może spowodować daleko idący rozpad titiny i innych białek cytoszkieletowych, co jednak nie musi wiązać się z poprawą kruchości lub wodochłonności [40].

Wykazano, że wodochłonność, zdolność żelowania i emulgowania mięsa nie poddanego poubojowemu wychładzaniu, tzw. „ciepłego”, jest najlepsza bezpośrednio po uboju, szczególnie w odniesieniu do mięsa bydłowego, w którym zmiany poubojowe zachodzą znacznie wolniej niż np. w wieprzowinie. Równocześnie oczekiwać można, że bezpośrednio po uboju degradacja białek cytoszkieletowych jest niewielka lub prawie żadna. Przyczyną bardzo dobrych właściwości technologicznych mięsa jest wolna miozyna, która nie połączyła się jeszcze z aktyną w kompleks aktomiozynowy, co następuje w procesie stężenia pośmiertnego. Wynika więc z tego, że miozyna a następnie jej reakcje z aktyną odgrywają pierwszoplanową rolę w kształtowaniu wodochłonności oraz właściwości żelujących i emulgujących mięsa. Białka cytoszkieletowe mogą prawdopodobnie wpływać na poprawę tych właściwości nawet w krótkim okresie czasu po uboju, lecz można oczekiwać, że zjawiska takie jak skurcz chłodniczy czy ciepłny mogą znacznie ograniczać to oddziaływanie.

Istotny wpływ na białka mięśniowe wywierają sole. Badania porównawcze wykonane na mięśniach piersiowych indyków [14] przy pomocy techniki immunofluorescencyjnej wykazały, że szczególnie silny wpływ na wymywanie titiny z włókna

mięśniowego posiadał trójpolifosforan sodu w połączeniu z chlorkiem sodu. Działanie to przejawiało się zanikiem lub mniejszą intensywnością pasm titiny w obrazie mikroskopowym. Zwiększonemu uwalnianiu titiny z włókna mięśniowego towarzyszyło również wzmożone uwalnianie miozyny z pasma A sarkomeru. Zaobserwowano przy tym pewną specyficzność w działaniu soli. Pirofosforan powodował nie tylko zwiększone uwalnianie miozyny, ale doprowadził również do uwalniania α -aktyniny z tkanki mięśniowej [15]. Uważa się, że rozerwanie powiązań, które tworzą białka cytoszkieletowe, w tym wypadku titina a także α -aktynina (linia Z) może być czynnikiem sprzyjającym nie tylko poprawie kruchości mięsa, ale również jego wodochłonności [16]. Zauważono przy tym, że znacznie łatwiej jest zaobserwować zmiany w uwalnianiu białek miofibrylarnych z tkanki poprzez analizę wymuszonego wycieku z mięsa [17], w którym one w zasadzie nie powinny występować. Jeśli więc stwierdza się je w wycieku uzyskuje się informację, co do ewentualnej możliwości ich przemieszczania się z włókna mięśniowego do otaczającego środowiska. To przemieszczanie się może być skutkiem degradacji białek cytoszkieletowych lub zastosowanych zabiegów technologicznych.

Znacznie szybszym przemianom aniżeli titina ulega nebulina, drugie co do wielkości białko cytoszkieletowe [1, 4, 10, 28, 38].

Nebulina

Jest ona bardzo słabo rozpuszczalna w typowych rozpuszczalnikach nieorganicznych używanych do ekstrakcji białek miofibrylarnych. Obecna jest w mięśniach szkieletowych, ale nie stwierdzono jej w mięśniach serca i mięśniach gładkich kręgowców. Została odkryta przez grupę kierowaną przez Wanga [54, 55, 57], jako trzecie pasmo na elektroforegramach po titinie. Nebulina swą nazwę zawdzięcza pierwotnej lokalizacji. W połowie odstępu między strefą prążka A a linią Z sarkomeru występuje mgliste pasmo N_2 (*nebulosus* – z łac. mglisty, mętny), które jak wykazywały pierwsze badania, było przez nią w dużej mierze tworzone [25, 27, 57]. Późniejsze badania wykazały, że nebulina znajduje się nie tylko w linii N_2 , ale że rozciąga się wzdłuż filamentu aktynowego, z którym jest związana. W tym paśmie obserwuje się również titinę. Interakcja titiny z nebuliną w tym paśmie jest obecnie przedmiotem szczegółowych badań [48].

Nebulina podobnie do titiny ma długość ok. 1 μm . Stanowi zbiór nierozciągalnych podłużnych filamentów biegnących ściśle, prawie równoległe do włókienka aktyny. N-koniec nebuliny znajduje się w pobliżu końca filamentu cienkiego, a koniec C zlokalizowany jest w pobliżu linii Z.

Jej rola w miogenezie mięśnia jest w zasadzie podobna do tej jaką pełni titina z tym, że białko to odpowiedzialne jest za stabilizację filamentu aktyny. Niektórzy spe-

kulują również, że nebulina odpowiada za organizację dwóch innych filamentów, tj. titiny i miozyny, choć twierdzenie to wymaga dalszych badań.

Dotychczasowe obserwacje wskazują, że nebulina jest stosunkowo szybko degradowana i w zasadzie tylko jej niewielkie ilości [10, 18, 28, 48] mogą być wykrywalne 48 godzin po uboju zwierzęcia. Degradacja tego białka może być początkiem dalszych przemian w strukturze miofibryli. Rozkład ten dokonywany jest najczęściej przez kalpainy. Naruszenie struktury miofibryli wywołane rozkładem nebuliny i titiny, które stanowią rusztowanie dla filamentów miozyny i aktyny, może stanowić o twardości mięsa i jego wodochłonności [37].

Desmina

Tworzy ona filamenty pośrednie tkanki mięśniowej o średnicy 10 nm, które w odróżnieniu od filamentów titiny i nebuliny są ułożone poprzecznie w stosunku do miofibryli (rys. 1). Desmina, podobnie jak dwa poprzednie białka, w zasadzie nie rozpuszcza się w rozpuszczalnikach nieorganicznych. Występuje w większości komórek mięśni szkieletowych, sercowych i gładkich kręgowców. Jedną z ciekawych właściwości oczyszczonej desminy jest jej zdolność do samoodtwarzania w filamenty o ww. średnicy i długości 1 – 2 μm , czyli do podobnych jakie występują w stanie natywnym. Występuje peryferyjnie w stosunku do linii Z, a jej filamenty wiążą miofibryle z różnymi subkomórkowymi organellami takimi jak jądra komórkowe, mitochondria, czy też łączy ona poszczególne miofibryle ze sobą lub z błoną komórkową. Powoduje to, że desmina uważana jest również za białko stanowiące o integralności włókna mięśniowego. Uważa się, że desmina ulega degradacji podobnie szybko jak troponina T, składnik kompleksu regulującego skurcz mięśni szkieletowych, białko uznane dotychczas za standardowe w charakteryzowaniu proteolizy związanej ze zmianami kruchości mięsa [33]. Jej rozpad powodują głównie kalpainy [34]. Podobnie więc jak troponina T oraz wymienione wcześniej białka może być uważana za czynnik określający stabilność struktury miofibryli i mający przez to wpływ na kruszenie mięsa i jego wodochłonność [20].

Synemina

Jej prawdopodobna rola sprowadza się do łączenia filamentów pośrednich i stąd zaliczana jest do włókien pośrednich wiążących białka [41, 43]. Początkowo została odkryta w mięśniach ptaków [24], a następnie w mięśniach szkieletowych ssaków [3, 41]. Podobnie jak wymienione uprzednio białka cytoszkieletowe ulega rozpuszczeniu w rozpuszczalnikach denaturujących. Jej ciężar cząsteczkowy wynosi 230 kDa. Badania immunofluorescencyjne wykazały, że jest umiejscowiona w pobliżu linii Z i przymocowana lub też wmontowana jako część do filamentów pośrednich desminy. W

związku z tym, że jej prawdopodobna rola w mięśniach szkieletowych sprowadza się do wiązania filamentów pośrednich uważa się [42], że jej rozpad może być związany z osłabieniem linii Z. Jest prawdopodobnie podatna na rozkład przez kalpainy.

Paratropomiozyna

W tkance mięśniowej występuje w bardzo niewielkiej ilości (tab. 1). Zasluguje ona jednak na uwagę ze względu na fakt, że jej interakcje z innymi białkami pozwalają na wyjaśnienie zjawisk, jakie są związane ze skurczem mięśniowym a ściślej rzecz biorąc z jego ustępowaniem [46].

Uważa się, że białko to znajduje się na końcu filamentów miozynowych i przemieszcza się na filament aktyny podczas przechowywania mięsa po uboju. Powoduje to osłabienie interakcji między tymi dwoma białkami a w konsekwencji odzyskanie przez sarkomer pierwotnej długości. Łączenie się paratropomiozyny z aktyną wynika z większego jej powinowactwa w stosunku do aktyny, aniżeli w stosunku do miozyny. Powyższe obserwacje zostały przeprowadzone na mięśniach świń, bydła i drobiu [46]. Wykazano przy tym, że szybkość translokacji paratropomiozyny z miejsca styku strefy prążka A i I w sarkomerze na filamenti aktyny położone w strefie prążka A była zgodna z tempem wzrostu długości analizowanych sarkomerów. Ponadto szybkość tych procesów odpowiadała prędkości poubojowych zmian jakie są typowe dla mięśni trzech ww. gatunków zwierząt. Zwraca uwagę przy tym fakt, że procesy te są stymulowane przez jony wapnia (zwiększenie ich stężenia z 0,1 μM do 0,2 mM), które uaktywniają enzymy proteolityczne degradujące titinę i nebulinę, białka kostamerów a także białka linii Z. Tak więc osłabienie struktury miofibrylarniej określane mianem kruszenia jest również wynikiem oddziaływania jonów wapnia. Ich ilość zwiększa się w przestrzeni otaczającej sarkomery i powoduje najpierw wystąpienie skurczu pośmiertnego mięśnia, a następnie stymuluje procesy proteolizy jak i przemieszczania się filamentowych struktur białek mięśniowych, prowadząc również do poprawy takich cech mięsa jak wodochłonność i kruchość.

Podsumowanie

Ostatnie z przytoczonych danych wskazują na pewne, jeszcze nie do końca ponane zjawiska związane z polepszaniem właściwości funkcjonalnych mięsa. Szczególnie interesujące są wyniki badań ostatniego z cytowanych autorów i zespołu kierowanego przez niego. W pracy, która była przedstawiona na 42. Międzynarodowym Kongresie Nauki o Mięsie i Technologii Mięsa w Lillehammer oraz opublikowana w czasopiśmie *Meat Science* wydanym z okazji tego spotkania Takahashi [45] sugeruje „teorię wapniową procesu kruszenia mięsa”, według której proces degradacji desminy może zachodzić absolutnie bez udziału proteaz. Czynnikiem dokonującym jej fragmentaryzacji

są jony wapnia. One zmieniają właściwości desminy. Przed degradacją zachodzi depolimeryzacja filamentów pośrednich desminy, która nie prowadzi jednak do tak drastycznych zmian jak pierwszy z wymienionych procesów. Podobne zjawiska sugerowane są odnośnie rozpadu titiny i nebuliny. Nebulina wykazuje ponadto właściwości białka wiążącego wapń [47]. Jony tego pierwiastka powodują prawdopodobnie także osłabienie struktury endomysium i perimysium, błon łącznotkankowych otaczających odpowiednio włókienka mięśniowe i/lub ich wiązki (włókna mięśniowe).

Wobec znanych dowodów na stymulowanie procesów proteolizy enzymatycznej przez jony wapnia, problemem do rozstrzygnięcia staje się więc stwierdzenie w jakim stopniu degradacja białek cytoszkieletowych zależy od aktywności enzymów stymulowanych przez te jony, a w jakim stopniu od jonów wapnia tworzących określone środowisko fizykochemiczne, co wcześniej było już rozważane [51]. Można oczekiwać, że dalsze badania przybliżą nas do tej odpowiedzi.

Podobnych rozstrzygnięć można oczekiwać odnośnie precyzyjniejszego określenia roli białek cytoszkieletowych w kształtowaniu wodochłonności, zdolności żelujących i emulgujących białek tkanki mięśniowej. Dotychczasowe badania wskazują, że udział tych białek w oddziaływaniu na te właściwości funkcjonalne tkanki sprowadza się do rozpadu struktur sarkomeru, które one same tworzą. Konsekwencją tego procesu jest uwalnianie białek posiadających ww. właściwości, w tym głównie miozyny i aktomiozyny. Jest to więc efekt bardziej stymulujący, aniżeli bezpośrednie kształtowanie przez białka cytoszkieletowe wodochłonności, zdolności żelujących i emulgujących tkanki mięśniowej.

Pewne prace [18, 19], wskazują również na poszukiwanie białka cytoszkieletowego lub ewentualnie produktu jego rozkładu, którego ilość mogłaby być potencjalnym wskaźnikiem kruchości, lub procesów degradacyjnych prowadzonych w tym kierunku. Zadanie powyższe nie jest jednak łatwe. Jak wynika z wcześniejszych badań [21] rozdziały elektroforetyczne białek miofibryli mogą być podobne, zarówno dla mięsa przechowywanego po uboju w warunkach standardowych jak i w warunkach sprzyjających powstaniu skurczu chłodniczego. Dotychczas rolę takiego wskaźnika pełniły produkty rozpadu troponiny T [33].

Podziękowanie

Autorzy składają serdeczne podziękowanie Paniom Prof. dr hab. Renacie Dąbrowskiej i Prof. dr hab. Irenie Górskiej za dyskusję i krytyczne uwagi udzielone podczas przygotowania niniejszego opracowania.

LITERATURA

- [1] Anderson T. J., Parrish F. C. Jr.: Postmortem degradation of titin and nebulin of beef steaks varying in tenderness. *J. Food Sci.*, **54**, 1989, 748.
- [2] Bandman E., Zdanis D.: An immunological method to assess degradation in post mortem muscle. *Meat Sci.*, **22**, 1988, 1.
- [3] Bilak S. R., Robson R. M., Stromer M. H., Huiatt T. W.: Studies on the muscle cytoskeletal protein synemin: A potential intermediate filament/myofibril cross-linker. *J. Anim. Sci.* 1989, Suppl., 2, 99.
- [4] Boles J. A., Parrish F. C. Jr., Huiatt T. W., Robson R. M.: Effect of porcine stress syndrome on the solubility and degradation of myofibrillar/cytoskeletal proteins. *J. Anim. Sci.*, **70**, 1992, 454.
- [5] Dayton W. R., Cheek T. R., Moreton R. B., Berridge M. J., Brown K. D.: A Ca^{2+} - activated protease possibly involved in myofibrillar protein turnover. Purification from porcine muscle. *Biochemistry*, **15**, 1976, 2150.
- [6] Dąbrowska R., Grązewicz M. A.: Cytoszkielek komórek mięśniowych. *Postępy Biochemii*, **41**, 1995, 3, 165.
- [7] Drobisz-Kopydłowska D.: High pressure induced changes in myofibrillar fraction of pork muscle. *Proc. 42nd Int. Congr. of Meat Sci. and Technol.*, Norway, Lillehammer 1996, 143.
- [8] Duda Z.: Wybrane osiągnięcia naukowo-badawcze technologii mięsa. *Gospodarka Mięсна*, **3**, 1985, 8.
- [9] Erickson H. P.: Reversible unfolding of fibronectin type III and immunoglobulin domain provides the structural basis for stretchand elasticity of titin and fibronectin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994, 91, October, 10114.
- [10] Fritz J. D., Greaser M. L.: Changes in titin and nebulin in postmortem bovine muscle revealed by gel electrophoresis, western blotting, and immunofluorescence microscopy. *J. Food Sci.*, **56**, 1991, 607.
- [11] Fukazawa T., Yasui T.: The change in zigzag configuration of the Z-line of myofibrils. *Biochim. Biophys. Acta*, **140**, 1967, 543.
- [12] Goll D. E.: Role of proteinases and protein turnover in muscle growth and meat quality. *Rec. Meat Conf. Proc.*, **44**, 1991, 25.
- [13] Greaser M. L.: An overview of the muscle cell cytoskeleton. *Rec. Meat Conf. Proc.*, **44**, 1991, 1.
- [14] Greaser M.L., Pospiech E., Sośnicki A.A.: Influence of various salts on titin pattern changes in turkey breast muscle varying in quality. XIII European Symposium on the Quality of Poultry Meat - Poznań, Poland, 1997 - w druku.
- [15] Grześ B., Pospiech E., Greaser M. L., Mozdziak P.E., Sosnicki A.A.: Effect of various salts on appearance of myosin and α -actinin in centrifugal drip of meat. *Proc. 42nd Int. Congr. of Meat Sci. and Technol.*, Norway, Lillehammer 1996, 388.
- [16] Grześ B., Pospiech E., Stefańska D.: Comparison of water retention and colour of meat treated with various salts at different pH value. *Proc. 42nd Int. Congr. of Meat Sci. and Technol.* Norway, Lillehammer 1996, 357.
- [17] Grześ B., Pospiech E., Greaser M. L., Mozdziak P.E.: Myosin determination in centrifugal drip: a new method to evaluate structural changes in processed meat. *Proc. of the Sixth Seminar „Properties of water in foods”*, Warszawa 1996, 86.
- [18] Huff-Lonergan E., Parish F. C. Jr., Robson R. M.: Effects of postmortem aging , time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle. *J. Anim. Sci.*, **73**, 1995, 1064.
- [19] Huff-Lonergan E., Mitsuhashi T., Beekman D. D., Parrish F. C. Jr., Olson D. G., Robson R. M.: Proteolysis of specific muscle structural proteins by μ -calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. *J. Anim. Sci.*, **74**, 5, 1996, 993.

- [20] Hwan S. F., Bandman E.: Studies of desmin and α -actinin degradation in bovine semitendinosus muscle. *J. Food Sci.*, **54**, 1989, 1426.
- [21] Koochmarai M., Kennick W. H., Anglemier A. F., Elgasim E. A., Jones T. K.: Effect of postmortem storage on cold-shortened bovine muscle: analysis by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Food Sci.*, **49**, 1984, 290.
- [22] Kreis T., Vale R.: Guidebook to the cytoskeletal and motor proteins. Oxford, New York, Tokyo, Oxford University Press. 1993.
- [23] Krzywicki K.: Some observations on protein changes in washed myofibrils of bovine muscle. *Meat Sci.*, **18**, 1986, 215.
- [24] Lazarides E.: Intermediate filaments: A chemically heterogeneous, developmentally regulated class of proteins. *Annu. Rev. Biochem.*, **51**, 1982, 219.
- [25] Locker R. H.: The role of gap filaments in muscle and meat. *Food Microstruct.*, **3**, 1984, 17.
- [26] Locker R. H., Wild D. J. C.: The fate of large proteins of the myofibril during tenderising treatments. *Meat Sci.*, **11**, 1984, 89.
- [27] Locker R. H., Wild D. J. C.: The N-lines of skeletal muscle. *J. Ultrastruct. Res.*, **88**, 1984, 207.
- [28] Lusby M. L., Ridpath J. F., Parrish F. C. Jr., Robson R. M.: Effect of postmortem storage on degradation of the recently discovered myofibrillar protein titin in bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.*, **48**, 1983, 1789.
- [29] Maruyama K.: Connectin, an elastic protein from myofibrils. *J. Biochem (Tokyo)*, **80**, 1976, 405.
- [30] Maruyama K.: Myofibrillar cytoskeletal proteins of vertebrate striated muscle. *Development in Meat Science - 3*, Wyd. R. Lawrie, Elsevier Applied Science Publ. London, New York, 1985, 25.
- [31] Maruyama K., Murakami F., Ohashi K.: Connectin, an elastic protein of muscle: comparative biochemistry. *J. Biochem. (Tokyo)*, **82**, 1977, 339.
- [32] Maruyama K., Matsubara S., Natori R., Nonomura Y., Kimura S., Ohashi K., Murakami F., Handa S., Eguchi G.: Connectin an elastic protein of muscle: characterization and function. *J. Biochem.*, **82**, 1977, 317.
- [33] Mroczek J.: Zmiany białek miofibrylarnych w czasie dojrzewania a kruchość mięsa wołowego. *Rozprawy Naukowe i Monografie*, Wyd. SGGW-AR, Warszawa 1988.
- [34] O'Shea J. M., Robson R. M., Huiatt T. W., Hartzer M. K., Stromer M. H.: Purified desmin from adult mammalian skeletal muscle: A peptide mapping comparison with desmins from adult mammalian and avian smooth muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **89**, 1979, 972.
- [35] Ouali A.: Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochimie*, **74**, 1992, 251.
- [36] Palka K.: Budowa i skład chemiczny żywności. Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. Praca zbiorowa pod red. Z. Sikorskiego WNT Warszawa 1994, 26.
- [37] Paterson B. C., Parrish F. C. Jr., Stromer M. H.: Effect of salts and pyrophosphate on the physical and chemical properties of beef muscle. *J. Food Sci.*, **53**, 5, 1988, 1258.
- [38] Paterson B. C., Parrish F. C. Jr.: SDS-PAGE conditions for detection of titin and nebulin in tender and tough bovine muscles. *J. Food Sci.*, **52**, 1987, 509.
- [39] Pospiech E., Greaser M. L., Sosnicki A. A.: Titin changes in turkey breast muscles varying in quality. *J. Anim. Sci.*, **73**, 1995, Supp. 1, 161.
- [40] Pospiech E., Grześ B., Szułczyński W., Stefańska D.: Proteinveränderungen bei temperaturbehandeltem Fleisch. *Fleischwirtschaft*, **76**, 5, 1996, 555.
- [41] Robson R. M.: Intermediate filaments. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1**, 1989, 36.
- [42] Robson R. M., Huiatt T. W., Parrish F. C. Jr.: Biochemical and structural properties of titin, nebulin and intermediate filaments in muscle. *Rec. Meat Conf. Proc.*, **44**, 1991, 7.

- [43] Steinert P. M., Roop D. R.: Molecular and cellular biology of intermediate filaments. *Annu. Rev. Biochem.*, **57**, 1988, 593.
- [44] Swartz D. R., Lim S-S., Fassel T., Greaser M. L.: Mechanisms of myofibril assembly. *Rec. Meat Conf. Proc.*, **47**, 1994, 141.
- [45] Takahashi K.: Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.*, **43**, 1996, S, S67.
- [46] Takahashi K., Hattori A., Kuroynagi H.: Relationship between the translocation of paratropomyosin and the rigor- shortened sarcomeres during post-mortem ageing of meat. A molecular mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.*, **40**, 1995, 413.
- [47] Tatsumi R., Hattori A., Takahashi K.: *J. Biochem.*, **113**, 1993, 797 cyt. za [45].
- [48] Taylor R. G., Geesing G. H., Thompson V. F., Koohmaraie M., Goll D. E.: Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization ? *J. Anim. Sci.*, **73**, 1995, 1351.
- [49] Trinick J.: Elastic filaments and giant proteins in muscle. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **3**, 1991, 112.
- [50] Trinick J.: Titin and nebulin: protein rules in muscles? *Trends Biochem. Sci.*, **19**, 1994, October, 405.
- [51] Tyszkiewicz I.: Mechanizm nieproteolitycznego kruszenia mięsa wołowego. *Rocz. IPM*, **VI**, 1, 1969, 75.
- [52] Tyszkiewicz I., Jakubiec-Puka A.: Ultrastructure of mechanically tenderised pork muscle. *Meat Sci.*, **41**, 3, 1995, 273.
- [53] Tyszkiewicz I.: Technologiczna ingerencja w mikrostrukturę mięsa. *Gospodarka Mięсна*, **7**, 1995, 19.
- [54] Wang K. J., McClure J., Tu A.: Titin: Major myofibrillar component of striated muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 1979, 3698.
- [55] Wang K.: Nebulin, a giant protein component of N₂ - line of striated muscle. *J. Cell Biol.*, **91**, 1981, 355a.
- [56] Wang S-M., Greaser M. L.: Immunocytochemical studies using a monoclonal antibody to bovine cardiac titin on intact and extracted myofibrils. *J. Muscle Res. Cell Mot.*, **6**, 1985, 293.
- [57] Wang K., Williamson C. L.: Identification of an N₂ - line protein of striated muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **77**, 1980, 3254 - 3258.
- [58] Wang K., Wright J.: Architecture of the sarcomere matrix of the skeletal muscle: Immunoelectron microscopic evidence that suggest a set of parallel inextensible nebulin filaments anchored at the Z-line. *J. Cell Biology*, **107**, 1988, 2199.

ROLE OF CYTOSKELETAL PROTEINS IN FORMATION OF FUNCTIONAL PROPERTIES OF MEAT

S u m m a r y

This paper presents the most important data concerning the cytoskeletal proteins of the cross striated muscle tissue. Some of the proteins were characterised. Their role in the formation of basic functional properties of meat, particularly tenderness and water holding capacity was defined. ❧