

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

MARIO MILONE, MARINA GRECO, ANGELA CRIMI,  
GIOVANNI CHIEFFI

## Il quadro elettroforetico delle proteine dei corpi gialli di *Rana esculenta* sul ciclo riproduttivo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 64 (1978), n.3, p. 322–326.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1978\\_8\\_64\\_3\\_322\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1978_8_64_3_322_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

**Biologia.** — *Il quadro elettroforetico delle proteine dei corpi gialli di Rana esculenta sul ciclo riproduttivo* (\*). Nota di MARIO MILONE, MARINA GRECO, ANGELA CRIMI e GIOVANNI CHIEFFI, presentata (\*\*)  
dal Socio G. MONTALENTI.

SUMMARY. — Electrophoretic patterns of proteins were studied in the fat bodies of males and females of *Rana esculenta*. The patterns, except the "o" band present only in the females, manifest quantitative differences during the reproductive season. These variations have been briefly discussed in relation to the reproductive phenomena.

#### INTRODUZIONE

I corpi gialli (CG) sono degli organi adiposi, situati al polo cefalico delle gonadi degli Anfibi. L'asportazione dei CG causa l'atrofia del testicolo e il blocco della gametogenesi (Adams e Rae, 1929; Chieffi *et al.*, 1975). La somministrazione dell'omogenato dei CG determina la ripresa del peso del testicolo e della spermatogenesi (Chieffi *et al.*, 1975). È stato inoltre dimostrato che i CG, almeno nel maschio di *Rana esculenta*, s'inseriscono nell'asse ipotalamo-ipo-fisi-gonadi (Chieffi *et al.*, 1975).

Dell'omogenato dei CG sia la frazione lipidica che quella proteica stimolano la spermatogenesi. Per quanto concerne la frazione proteica sono state messe in evidenza delle modificazioni del contenuto proteico dei CG nel corso dell'anno, sia nel maschio che nella femmina (Milone *et al.*, in corso di stampa; Iela *et al.*, in corso di stampa).

In questa Nota vengono riferiti i risultati dello studio elettroforetico delle proteine dei CG in vari momenti del ciclo riproduttivo.

#### MATERIALI E METODI

I corpi gialli sono stati prelevati da maschi e femmine adulti di *Rana esculenta*, raccolti nei dintorni di Napoli nei mesi di gennaio, febbraio, marzo, aprile, giugno, ottobre e dicembre.

Le proteine totali sono state determinate con il metodo di Lowry *et al.* (1951), usando 0.05 ml di omogenato centrifugato a 3000 rpm.

Il frazionamento delle proteine è stato ottenuto mediante elettroforesi su gel di poliacrilammide (PAGE) secondo il procedimento di Davis (1964). I CG venivano omogeneizzati a 3000 rpm in 1 ml di gel superiore, in maniera

(\*) Lavoro eseguito nell'ambito del progetto finalizzato C.N.R. Biologia della Riproduzione.

(\*\*) Nella seduta dell'11 marzo 1978.

da avere sempre una quantità costante di proteine totali pari a circa 300 µg. Il sopranatante era seminato su gel di corsa preparato in tubi di vetro di cm 10 × 0.7 Ø. È stato usato il blu di bromofenolo come colorante traccia. Quindi veniva fatta una precorsa di 15' fornendo all'alimentatore (Pharmacia EPS 500/400) una corrente dell'intensità di 1 mA per tubo, dopodiché si portava l'amperaggio a 5 mA per tubo. Tutte queste operazioni venivano effettuate a 4 °C. A corsa completata (circa 2 h) i gel venivano colorati con Amido-Schwarz per 15' e quindi decolorati in acido acetico al 7% per una notte a 37 °C. Quindi venivano letti al densitometro (CGA-Cellomatic) per misurare l'intensità delle varie bande. L'Rf è stato calcolato secondo la formula:

$$\frac{\text{lunghezza del gel prima della colorazione}}{\text{lunghezza del gel dopo la colorazione}} \times \frac{\text{distanza della banda proteica}}{\text{distanza del colorante}}$$

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

Nel quadro proteico dei CG del maschio (figg. 1, 2, 3, 4) si possono riconoscere otto bande: « 1 », « 2 A », « 2 B », « 2 C », « 2 D », « 3 », « 4 », « 5 ». Il gruppo 2 comprende quattro bande molto ravvicinate, che non sempre sono state osservate contemporaneamente. Pertanto non siamo stati sempre in grado di differenziarle con sicurezza. Nel corso dell'anno abbiamo notato solo delle variazioni quantitative principalmente a carico delle bande « 2 B », « 2 C », « 4 », « 5 » con un massimo nel periodo gennaio-marzo. In questo stesso periodo Iela *et al.*, (in corso di stampa) hanno notato nei CG un alto livello di proteine totali, che coincide anche con il più elevato tasso di testosterone plasmatico (d'Istria *et al.*, 1974).

Il quadro proteico della femmina di *Rana esculenta* (figg. 5, 6, 7, 8) consta di nove bande: « 0 », « 1 », « 2 », « 3 », « 4 A », « 4 B », « 5 », « 6 », « 7 ». Le variazioni più significative sono a carico principalmente delle « 3 », « 4 A », « 4 B », « 5 ». La prima raggiunge un massimo dopo il completamento della vitellogenesi, quando compare anche la « 4 B ». È interessante notare che in tale periodo è stato osservato un aumento dell'estrone plasmatico (d'Istria *et al.*, 1974). La banda « 6 » può, invece, essere legata ai processi vitellogenetici, in quanto osserviamo un suo aumento fino a giugno. Successivamente tale banda si abbassa fino ad ottobre in coincidenza del picco plasmatico dell'estradiolo (d'Istria *et al.*, 1974). Per quanto concerne le differenze del quadro proteico dei CG tra maschi e femmine di *Rana esculenta* possiamo notare che solo la banda « 0 » (presente nella femmina) differenzia costantemente i due quadri. Per le altre bande nel mese di ottobre si riscontra un profilo proteico simile nei CG dei due sessi dal punto di vista non solo qualitativo ma anche quantitativo. Nei restanti mesi esistono delle variazioni quantitative a carico di alcune bande (« 2 C » e « 5 » nel maschio, « 4 A », e « 7 » nella femmina) specialmente nel periodo riproduttivo.

È chiaro che i dati ottenuti sulle modificazioni del quadro elettroforetico delle proteine dei CG sono puramente indicativi; comunque sembrano esistere

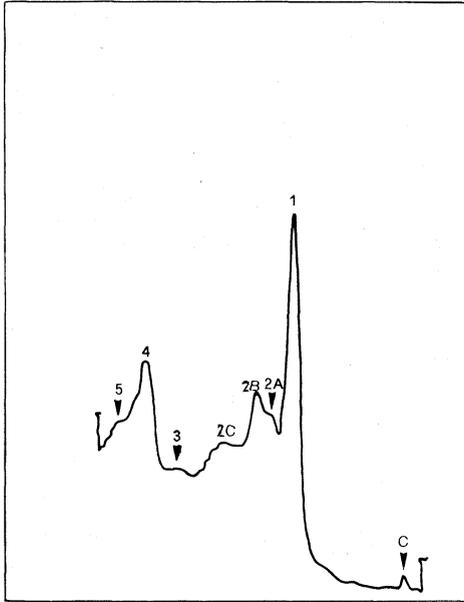


Fig. 1. - Ottobre.

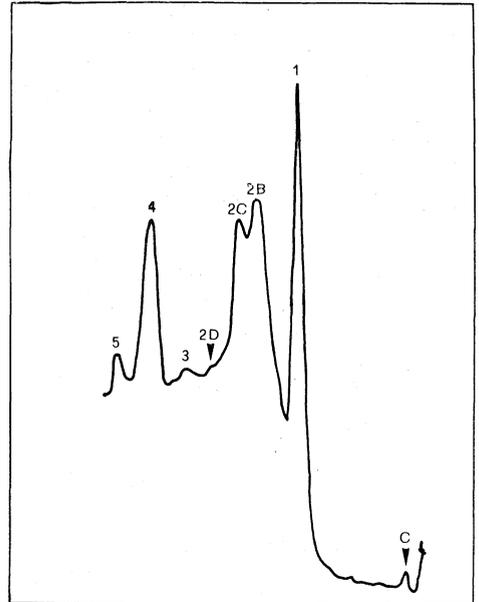


Fig. 2. - Gennaio.

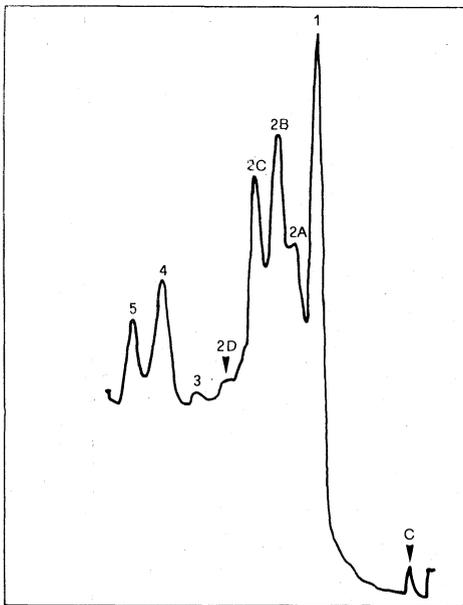


Fig. 3. - Marzo.

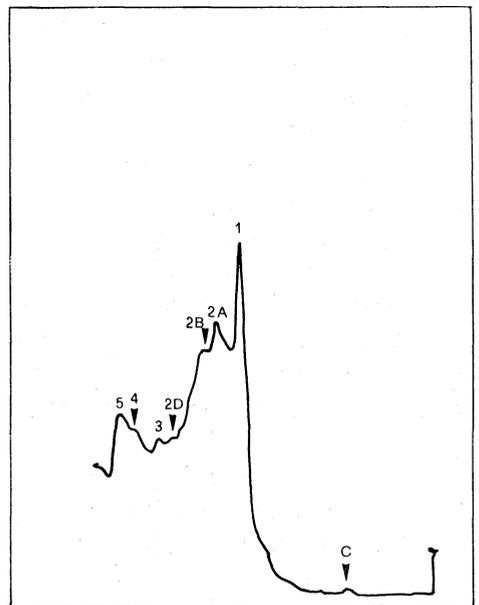


Fig. 4. - Giugno.

Figg. 1, 2, 3, 4. - Profili densitometrici più significativi dell'elettroforesi su gel di poliacrilamide di CG del maschio di *Rana esculenta* nei differenti mesi dell'anno.

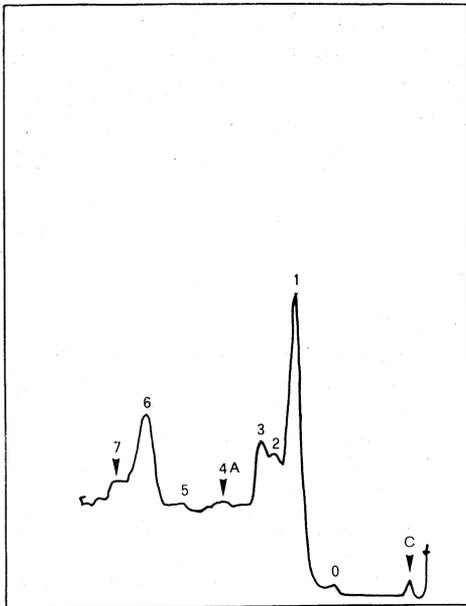


Fig. 5. - Ottobre.

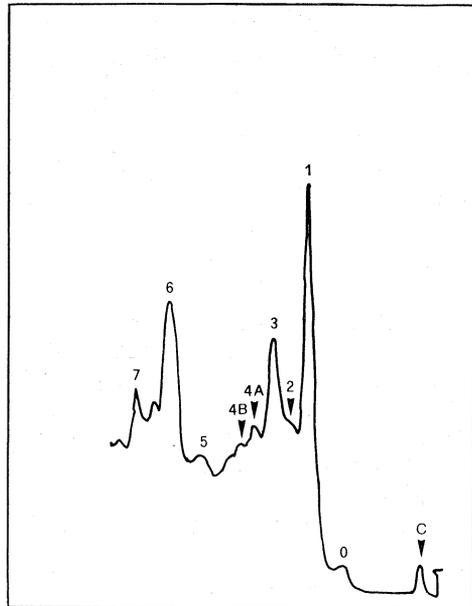


Fig. 6. - Gennaio.

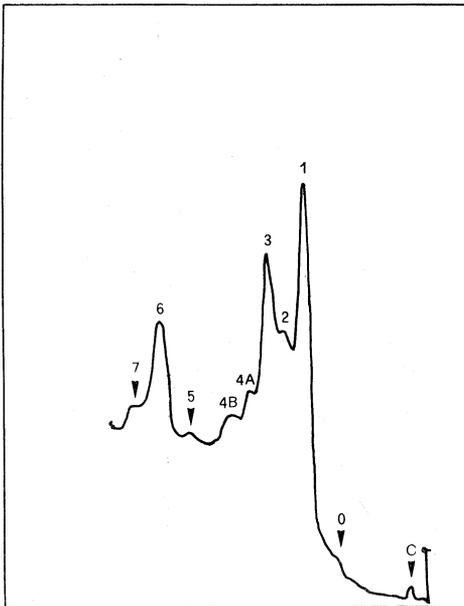


Fig. 7. - Marzo.

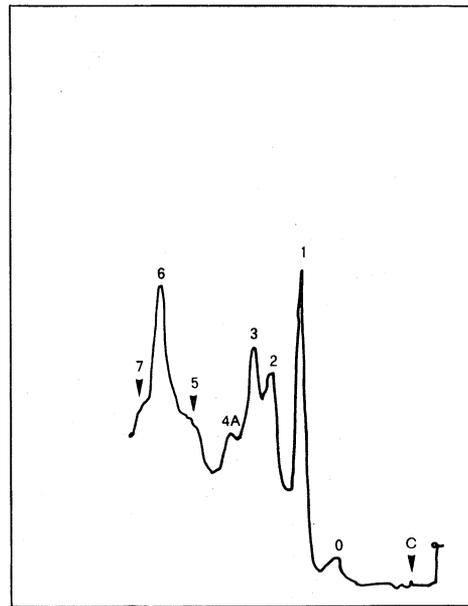


Fig. 8. - Giugno.

Figg. 5, 6, 7, 8. - Profili densitometrici più significativi dell'elettroforesi su gel di poliacrilamide di CG della femmina di *Rana esculenta* nei differenti mesi dell'anno.

in entrambi i sessi dei rapporti tra queste modificazioni e le variazioni del tasso plasmatico degli ormoni sessuali durante il periodo riproduttivo. D'altra parte la dipendenza della sintesi delle fosfolipoproteine epatiche da parte degli estrogeni è stata dimostrata negli Anfibii da Follett e Redshaw (1974).

Esperimenti di ipofisectomia e castrazione potrebbero chiarire il significato delle modificazioni del profilo proteico dei CG e delle differenze tra i sessi.

#### BIBLIOGRAFIA

- ADAMS A. E. e RAE E. E. (1929) - « Anat. Rec. », 41, 181.  
CHIEFFI G., RASTOGI R. K., IELA L. e MILONE M. (1975) - « Cell Tiss. Res. », 161, 157.  
DAVIS B. J. (1964) - « Ann. N.Y. Acad. Sci. », 121, 404.  
D'ISTRIA M., DELRIO G., BOTTE V. e CHIEFFI G. (1974) - « Steroids Lipids Res. », 5, 42.  
FOLLETT B. K. e REDSHAW W. R. (1974) - Academic Press N.Y. and London, p. 219.  
IELA L., MILONE M., CALIENDO M. E., RASTOGI R. K. e CHIEFFI G. (1979) - « Boll. Zool. », 46, in stampa.  
LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L. e RANDALL R. J. (1951) - « J. biol. Chem. », 193, 265.  
MILONE M., IELA L., ESPOSITO V., RASTOGI R. K. e CHIEFFI G. (1978) - « J. Endocrinol. », 78, in stampa.