

Биология

УДК 577.158.45:616-008.9-074

И.В. ГОГИНЯН, Дж.А. ГЕВОРКЯН, Дж.А. ВАРДАНЯН

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ
ЛЕЙЦИН-АМИНОТРАНСФЕРАЗЫ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ И
КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДАМИ

Показана возможность применения модифицированного колориметрического метода для определения активности лейцин-аминотрансферазы, выделенной из печени кур и из поджелудочной железы крыс.

Лейцин-аминотрансфераза (Л-лейцин : 2-оксоглутарат аминотрансфераза, КФ 2.6.1.6) широко представлена во всех органах и тканях различных животных [1–3]. Определение активности данного фермента имеет как научное, так и практическое значение с точки зрения применения его в клинико-биохимических лабораториях при диагностике острых панкреатитов, рака поджелудочной железы и др. патологий [4]. Отсюда возникает необходимость в разработке легкого и доступного метода определения активности указанного фермента, т. к. существующий хроматографический метод сложный, многостадийный и требует дефицитных дорогостоящих реактивов [1].

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение активности лейцин-аминотрансферазы хроматографическим и предложенным нами модифицированным колориметрическим методами [5]. Последний основан на определении образовавшейся в ходе ферментативной реакции α -кетонизокапроновой кислоты, которая в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (ДНФГ) в щелочной среде образует гидразон бурого цвета, последний определяется колориметрически при длине волны 560–565 нм на ФЭК-56 ПМ.

Материал и методика. Объектом исследования служили поджелудочная железа крысы (обладающая высокой активностью лейцин-аминотрансферазы) и печень кур (обладающая небольшой активностью). Подготовка ферментного препарата и определение трансаминазной активности хроматографическим методом описаны ранее [6].

Результаты и обсуждение. Полученные данные (см. табл.) свидетельствуют о том, что предложенный колориметрический метод определения активности лейцин-аминотрансферазы по своей чувствительности лишь незначительно уступает хроматографическому (для удобства сравнения активность фермента в обоих методах выражена в *микроль* г-глутаминовой кислоты на 1 г ткани).

Это позволило продолжить сравнительное изучение указанных методов на новом уровне, в частности в опытах по выявлению возможных изоферментов лейцин-аминотрансферазы гельфильтрацией бесклеточного экстракта печени кур (на сефадексе G-200) с последующим определением ферментативной активности во всех белоксодержащих фракциях.

Сравнение хроматографического и колориметрического методов определения активности лейцин-аминотрансферазы

Методы	Активность, $\mu\text{кмоль глут/с}$ свежей ткани	
	поджелудочная железа крысы (n=10)	печень кур (n=6)
хроматографический	$186,66 \pm 4,03$	$38,2 \pm 1,12$
колориметрический	$183,66 \pm 2,86$	$34,3 \pm 1,37$

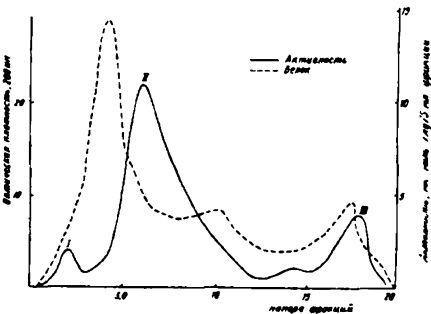


Рис. 1. Кривые гельфильтрации бесклеточного экстракта печени кур (хроматографический метод).

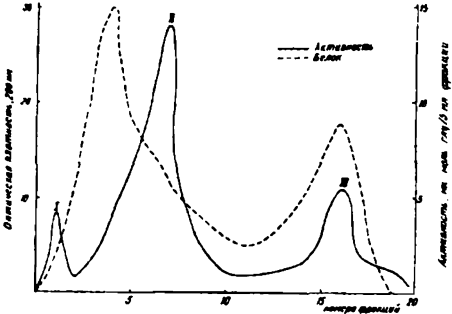


Рис. 2. Кривые гельфильтрации бесклеточного экстракта печени кур на сефадексе G-200 (ДФНГ метод).

Полученные данные (рис.1,2) позволяют заключить, что в обоих методах выявляется идентичная картина распределения лейцин-аминотрансферазы: основная ее активность фильтруется с высокомолекулярными белками (во фракциях 4–8) и небольшая – с низкомолекулярными (во фракциях 5–17).

Таким образом, вышеизложенные данные свидетельствуют о возможности применения упрощенного, модифицированного нами метода определения активности лейцин-аминотрансферазы в дальнейших исследованиях.

Научно-исследовательская лаборатория
сравнительной и эволюционной биохимии

Поступило 17.09.2001

ЛИТЕРАТУРА

1. Cappuccino C.C., Kadowaki H., Knox W.E. – Enzyme, 1978, v.23, N5, p.328.
2. Goto M., Shinno H., Ichihara A., Gann J. – Cancer Res., 1977, v.68, N5, p.663.
3. Hutson S.M., Berkich D., Drown P., Xu Beiyang, Aschner Michael, La Nowne Kathryn. – J. Neurochem., 1998, v.71, N2, p. 147.
4. Геворкян Дж.А., Саакян И.Л., Симаворян П.С., Арустамян Э.З. – Лабор. дело, 1986, №3, с.149.

5. Саакян И.Л., Геворкян Дж.А., Симаворян П.С., Арустамян Э.З. – Ж. exper. клин. мед., 1986, т.26, №2, с.135.
6. Давтян М.А., Хачатрян Г.Дж., Гогинян И.В. – Ученые записки ЕГУ, 1989, №2, с.82.

Ի.Վ. ԳՈԳԻՆՅԱՆ, Զ.Ա. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Զ.Հ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

ԼԵՅՑԻՆ-ԱՄԻՆԱՏՐԱՆՍԳԵՐԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ
ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՔՐՈՄԱՏՈԳՐԱՖԻԿ
ԵՎ ԳՈՒՆԱՉԱՓԱԿԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐՈՎ

Ամփոփում

Ցույց են տրված լեյցին-ամինատրանսֆերազային ակտիվության որոշման համար առաջարկվող գունաչափական (կոլորիմետրիկ) մեթոդի առավելությունները քրոմատոգրաֆիկ մեթոդի նկատմամբ: Գիտափորձերում ֆերմենտի համեմատական ակտիվությունը որոշվել է առնետի ենթաստամոքսային գեղձի և հավի լյարդի հյուսվածքներում:

I.V. GOGINIAN, J.A. GEVORKIAN, J.H. VARDANIAN

A COMPARATIVE STUDY OF LEUCINE-AMINOTRANSFERASE
ACTIVITY DETERMINED BY CHROMATOGRAPHIC AND
COLORIMETRIC METHODS

Summary

The advantages of the proposed colorimetric method is demonstrated in the experiments for determination of the activity of leucine-aminotransferase in pancreatic and liver tissues.