

УДК 577

М.А. ДАВТЯН, И.В.ГОГИНЯН, Г.Дж. ХАЧАТРЯН,
Дж.А. ВАРДАНЯН

ТРАНСАМИНАЗА РАЗВЕТВЛЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЕЧЕНИ КУР

Методом гельфильтрации экстрактов обнаружены три пика активности трансминирования лейцина с α -кетоглутаратом в печени кур. Показано наличие качественных и количественных сдвигов в выявленном спектре ферментов трансминирования разветвленных аминокислот в зависимости от возраста кур.

Настоящая работа является продолжением исследований изоферментного спектра трансаминазы разветвленных аминокислот в сравнительно-эволюционном аспекте. В предыдущих наших исследованиях было показано наличие заметной активности трансаминазы разветвленных аминокислот в различных органах кур, наибольшей она была в сердечной мышце, желудке и поджелудочной железе, а также в печени [1].

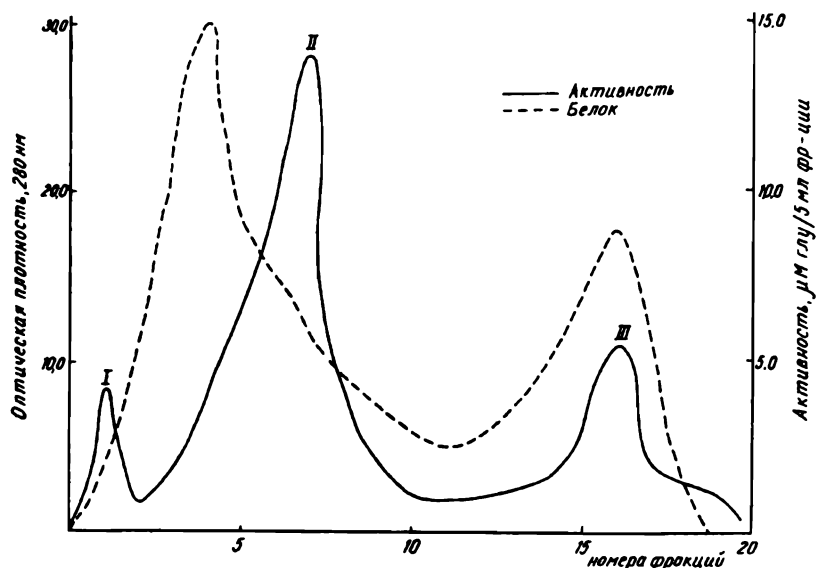


Рис. 1. Гельфильтрация бесклеточного экстракта печени взрослой курицы.

Цель настоящей работы – выявление возможных изоферментов трансаминазы разветвленных аминокислот печени кур с дальнейшим исследованием зависимости активности изучаемого фермента от их возраста.

Материал и методика. Объектом исследования служила печень кур, содержащихся в обычных условиях вивариума. Подготовка ферментного препарата осуществлялась по ранее описанному методу [1]. Разделение изоферментов осуществлялось гельфильтрацией бесклеточного экстракта печени кур на сефадексе G-200

или ионообменной хроматографией – на ДЭАЭ-целлюлозе. В качестве донора NH_2 -группы использовался лейцин, а акцептора – α -кетоглутаровая кислота.

Результаты и обсуждение. На первом этапе нами исследовалось поведение активности трансаминазы разветвленных аминокислот печени взрослой курицы при

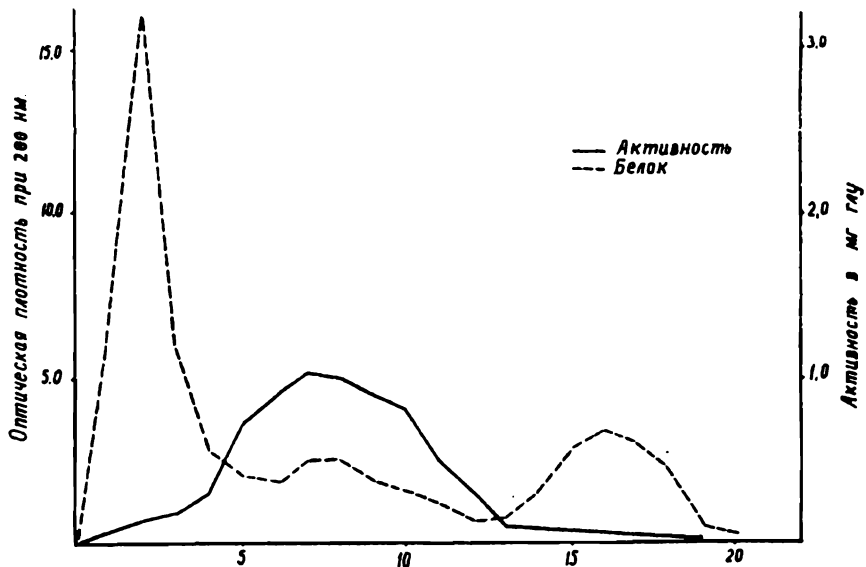


Рис. 2. Гельфильтрация бесклеточного экстракта печени 8-дневного цыпленка.

гельфильтрации на сефадексе G-200. С этой целью бесклеточный экстракт печени кур наносился на колонку с сефадексом G-200, предварительно уравновешенным 0,02M NaNa-фосфатным буфером; фракции собирались со скоростью 0,5 мл/мин в объеме 5 мл каждая. Уровень белка во фракциях определялся измерением оптической плотности при 280 мл на спектрофотометре (СФ-4). Все белоксодержащие фракции испытывались на наличие в них трансаминазной активности.

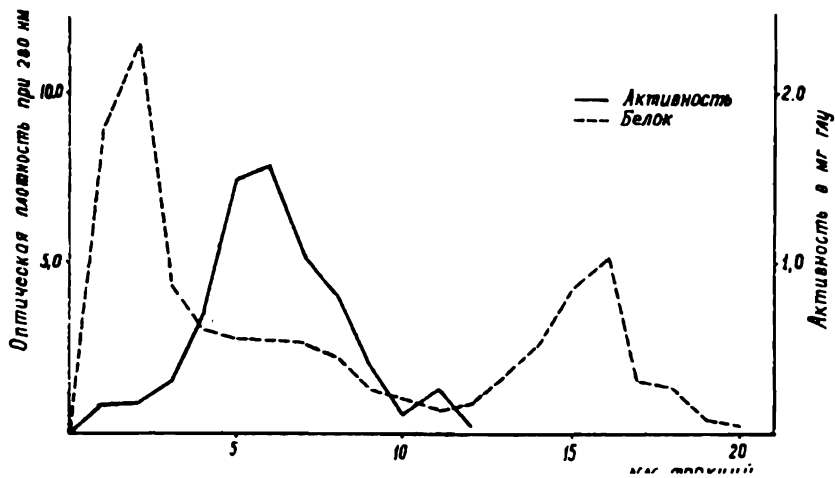


Рис. 3. Гельфильтрация бесклеточного экстракта печени 20-дневного цыпленка.

Полученные результаты (рис. 1) свидетельствуют о наличии в печени кур трех пиков активности трансаминирования лейцина с α -кетоглутаратом при фракционировании экстрактов гельфильтрацией. Первые два пика (I, II) элюируются с высоко-

молекулярными белками во фракциях 1–2 и 4–6 соответственно, а третий (III) – с низкомолекулярными во фракциях 15–17.

При ионообменной хроматографии бесклеточного экстракта печени кур на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой происходит значительная потеря активности фермента. Поиски оптимальных условий сохранения активности фермента при ионообменной хроматографии являются задачей наших дальнейших исследований.

Таким образом, в результате гельфильтрации бесклеточного экстракта печени кур на сефадексе G-200 обнаруживаются три пика активности трансаминирования лейцина с α -кетоглутаратом. Эти данные позволяют предположить наличие в печени кур трех изоферментов трансаминазы разветвленных аминокислот, подобно ФI, ФII и ФIII, выделенных нами ранее из дрожжей рода *Candida* [2]. Напомним, что два из них (ФI и ФIII) специфичны в отношении всех трех разветвленных аминокислот, а третий (ФII) – лишь к лейцину.

Спектр изоферментов трансаминазы разветвленных аминокислот претерпевает заметные качественные и количественные изменения в зависимости от физиологического состояния организмов. Об этом свидетельствуют как литературные данные [3, 4], так и наши исследования на дрожжах рода *Candida* [5].

В свете вышеизложенного нами была проведена серия экспериментов по изучению возможных сдвигов в спектре активности трансаминирования разветвленных аминокислот в зависимости от возраста кур. С этой целью использовалась печень 8-20- и 36-дневных цыплят.

Представленные данные (рис. 2, 3, 4) свидетельствуют о том, что при гельфильтрации бесклеточного экстракта печени 8-дневного цыпленка выявляется лишь один (II) пик активности исследуемого фермента; уровень его, однако, заметно уступает таковому взрослой курицы.

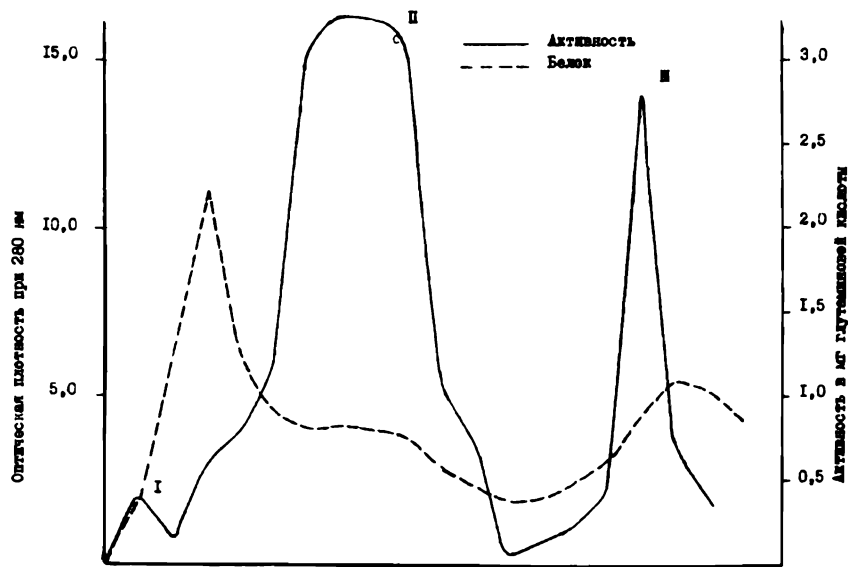


Рис. 4. Гельфильтрация бесклеточного экстракта печени 36-дневного цыпленка.

В печени 20-дневного цыпленка наблюдается заметное (в 1,5 раза) повышение уровня II пика активности; одновременно появляется III пик активности, уровень которого, однако, незначительный.

В печени же 36-дневного цыпленка выявляются уже все три пика активности исследуемого фермента; одновременно происходит заметное повышение уровня III пика активности. Вышеизложенное позволяет констатировать наличие заметных

качественных и количественных сдвигов в спектре активности трансаминирования лейцина с α -кетоглутаратом в печени кур в зависимости от их возраста.

Научно-исследовательская лаборатория
сравнительной и эволюционной биохимии

Поступила 25.01.1999

ЛИТЕРАТУРА

1. Давтян М.А., Хачатрян Г.Дж., Гогинян И.В. – О некоторых свойствах трансаминазы разветвленных аминокислот печени кур. – Уч. записки ЕГУ, 1989, №2.
2. Гогинян И.В., Багдасарян Е.Г., Давтян М.А. – Изозимный спектр и некоторые кинетические свойства трансаминазы разветвленных аминокислот *C. guilliermondii* ВКМ У-42. – Биол. ж. Армении, 1976, №9.
3. Ichihara A. – Isozyme patterns of branched chain amino acid transaminase during cellular differentiation and carcinogenesis. – Ann. N.Y. Acad. Sci, 1975, v. 259, p. 347.
4. Cappuccino C.C., Kadawaki H., Knox W.E. – Assay of leucine Aminotransferase in rat tissues and tumores. – Enzyme, 1978, v. 23, №5, p. 328.
5. Гогинян И.В., Давтян М.А. – Изозимный спектр трансаминазы разветвленных аминокислот голодающих по азоту дрожжей. – Уч. записки ЕГУ, 1987, №3, с. 128.

Մ.Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Ի.Վ. ԳՈԳԻՆՅԱՆ, Գ.Ջ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Զ.Հ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

ՀԱՎԻ ԼՅԱՐԴԻ ԴՅՈՒՂԱՎՈՐՎԱԾ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ
ՏՐԱՆՍԱՄԻՆԱԶԸ

Ա մ փ ո փ ո մ

Ժելֆիտրացիայի մեթոդով հավի լյարդի էքստրակտներում հայտնաբերվել են α -կետոգլուտրատի հետ լեյցինի տրանսամինացման երեք զազաթներ:

Հայտնաբերված ֆերմենտային սպեկտրում, կախված հավի հասակից, ամկա են ճյուղավորված ամինաթթուների տրանսամինացման որակական և քանակական տեղաշարժեր: