

Определение глутатионпероксидазной активности в сыворотке крови лабораторных мышей с использованием пероксида водорода и реактива Элмана

© Разыграев^{1,2*} Алексей Вячеславович, Пац²⁺ Карина Михайловна, Питухина² Наталья Николаевна, Алексеева² Полина Александровна, Баранова² Надежда Игоревна и Тумасова¹ Жанна Николаевна

¹ Лаборатория биохимии с клинико-диагностическим отделением. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта». Менделеевская линия, 3. г. Санкт-Петербург, 199034. Россия. Тел.: (812) 328-98-05. E-mail: alexeyrh@mail.ru

² Лаборатория фармакологических исследований. Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия. Ул. Профессора Попова, 14. г. Санкт-Петербург, 197376. Россия. Тел.: (812) 234-57-29. E-mail: karina.paz@pharminnotech.com

*Ведущий направление; +Поддерживающий переписку

Ключевые слова: глутатион, тиолпероксидаза, стехиометрия, 2-нитро-5-тиобензоат, метод.

Аннотация

Метод определения глутатионпероксидазной активности с использованием пероксида водорода в качестве восстанавливаемого субстрата и 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты) (ДТНБ, реактив Элмана) для детекции убыли восстановленной формы глутатиона (GSH) адаптирован для работы с сывороткой крови лабораторных мышей. Реакционная смесь состоит из 81.4 мМ трис-НС1-буфера (рН 8.5), 0.28 мМ ЭДТА, 19.2 мМ азида натрия, 0.55 мМ GSH, 0.192 мМ пероксида водорода и сыворотки с конечным разведением реакционной смесью в 46.8 раз. Температура и длительность инкубации – 37 °С и 60 с, соответственно. После терминации реакции добавлением трихлоруксусной кислоты и отделения преципитата в супернатанте определяется концентрация GSH в реакции с ДТНБ (регистрация продукта реакции ведется при 412 нм, коэффициент молярного поглощения продукта – 14150 М⁻¹см⁻¹). В сыворотке крови взрослых самок мышей глутатионпероксидазная активность (Me [q1-q3]) составляет 5.85 [5.59-6.10] мкмоль GSH/мин/мл сыворотки (удельная активность – 105.9 [100.1-112.0] нмоль GSH/мин/мг белка). Глутатионпероксидазная активность в сыворотке мышей в 3.9 раза ниже по медиане, чем в сыворотке крыс (удельная активность – в 3.0 раза). По уровню глутатионпероксидазной активности в сыворотке крови мышь занимает промежуточное положение между крысой и человеком, что должно учитываться при выборе разведения биоматериала и параметров метода определения ферментативной активности.