

**Alanin - aminotransferaz Enziminde (E.C.2.6.1.2) İzozimi,
Polimorfizim ve Kromatografik Fra ksinyasyonla Elde Edilen
Enzim Fraksiyonlarının Özelliklerinin İncelenmesi.**

Isozymie and Polimorphisme in Alanin - aminotransferase and
the Study of the Properties of the Enzyme Fractions
Obtained by Chromatographic Fractionation.

Gazanfer BİNGÖL (*)

GİRİŞ:

Özellikle 1964 yılından bu yana yapılan araştırmalar alanin - aminotransferaz (E.C.2.6.1.2) veya daha yaygın ve eski deyimi ile Glutamik - piruvik - transaminase (GPT) enziminin de LDH, MDH ve diğer bazı enzimler gibi polimorfizim gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak bu alanda yapılan bazı araştırmalara rağmen GPT enziminin polimorfik şekilleri veya izoenzimleri hakkında yeterli ve kesin bilgilere sahip bulunmuyoruz. Son zamanlarda bu alanda bazı araştırmalar yapıldığını görüyoruz. Örneğin : Takeda, Ichihara ve arkadaşları (1) 1964 yılında sıçan karaciğerinden GPT'ın iki izozimini soluble GPT (GPTs) ve mitokondrial GPT (GPT_m) ayırd etmişlerdir. Yoshinobu Tsukamoto ve arkadaşları (2) 1967 yılında DEAE - Sephadex kolon kromatografisinden yararlanarak normal ve skorbütik kobayların gingivalarındaki GPT izozimlerini tayin ve kantitatif değişikliklerini incelemişlerdir.

Biz de 1967 - 68 yılları arasında GOT ve GPT enzimlerinin molekül ağırlıklarını tayin için yaptığımız kolon kromatografisi çalışmaları sırasında, serumda bulunan alanin - aminotransferaz (GPT) enziminin kolonda daha küçük elüsyon volümü veren daha büyük moleküllü bir izoziminin bulunduğundan şüphelenildiğini ve bu hususta araştırmalara lüzum bulunduğunu açıklamıştık (3). W.

Redaksiyona verildiği tarih : 6 Kasım 1973

(*) A. Ü. Eczacılık Fakültesi Biyokimya Kürsüsü

Rotzsch ise (4) kâğıt elektroforezi ile yaptığı çalışmalar sonucunda (1966) insan kan serumunda GOT'a ait iki izozim tesbit ettiğini ve fakat GPT'ın spesifik olmayan bir bölünme gösterdiğini bu fraksiyonların globulinlerle birlikde göç ettiğini bildirmiştir.

Adams P. Orfanos ve arkadaşları (5) 1970 yılında yayınladıkları çalışma sonuçlarında, kolon kromatografisi ile yaptıkları deneylerde GPT'ın iki değişik molekül halinde bulunduğunu (izozim) saptadıklarını açıklamışlardır. Aynı araştırmacılar izozimlerin ayırd edilmelerinde DEAE-A50 (diethylaminoethyl Sephadex) ile yapılan İyon değiştirme metodundan yararlanmışlardır.

Gussmann ve Rames'e göre (6) GPT enziminin polimorfizmi ilk defa Chen U. Giblett (7) tarafından açıklanmıştır.

Alanin - aminotransferaz'ın değişik fraksiyonları için kimyasal niteliklerine, elde edildikleri bazı organlara ve hücre içi lokalizasyonuna göre literatürde değişik terimler kullanılmaktadır. Bu fraksiyonlarla ilgili olarak anyonik fraksiyon, katyonik fraksiyon, A izozimi, B izozimi, Mitokondrial fraksiyon - Soluble fraksiyon, GPT₁ - GPT₂ gibi terimler literatürde yer almaktadır. GPT izozim veya multiform fraksiyonlarının elektroforetik davranışları hakkında bazı ön bilgilere sahip olunmakla beraber bunların molekül büyüklükleri de kesinlikle saptanmış değildir. Esasen bu hususla ilgili olarak çok az araştırmaya rastlıyoruz. GPT enziminin değişik fraksiyonlarının adlandırılmasında görülen bu farklılığı ve multiform şekillerinin ilişkilerini mümkün olduğu kadar açıklığa kavuşturmak ve ayırd edilebilen fraksiyonların molekül büyüklüklerini tayin etmek amacı ile çalışmalar yaptık. Çalışmalarımızda, Sephadex G-200 jel kolonu kromatografisi ve DEAE - A50 sellüloz kolon kromatografisi tekniklerinden yararlandık.

MATERYAL ve METOD

Alanin - aminotransferaz izozimlerinin ayırd edilmesinde DEAE - A50 iyon değiştiricisi ile yapılan iyon değiştirme tekniğinden, fraksiyonlarının molekül ağırlıklarının tayininde ise G-200 dekstran jeli ile hazırlanan kolon kromatografisi metodundan yararlanmıştıdır.

DEAE - A50 Ion - Exchange metodu için kullanılacak DEAE - A50 Sephadex iyon değiştiricisi önce kısa süre (üç defa 30 ar dakika) distile su içerisinde bırakılmış Őiřmeyi takiben küçük partiküller dekantasyon yolu ile uzaklaştırılmış, daha sonra fosfat tamponu (0.02 M, pH 7.2) içerisine konarak 24 saat süre ile bekletilmiştir. Tamponla dengelenen jel 15 mm çapında bir sephadex kolonuna doldurulmuştur. Jelin kolon içerisindeki yüksekliği 150 mm ye ayarlanmıştır. GPT enziminin katyonik fraksiyonunun elde edilmesi için gene aynı fosfat tamponundan, anyonik fraksiyonun elde edilmesi için de 0.2 M NaCl çözeltisinden yararlanılmıştır. Kolondan çıkan elüat önce 3 er ml. lik porsiyonlar halinde toplanılarak en yüksek enzimatik aktivite gösteren porsiyon tesbit edilmiş, daha sonraki toplamalarda bu elüsyon volümüne yaklaşıldığında elüat 1 er ml. lik porsiyonlar halinde toplanılarak en yüksek enzimatik aktivite gösteren mililitre kesin olarak saptanmıştır. Gerek katyonik gerek anyonik fraksiyonların elde edilmesinde aynı Őekilde hareket edilmiştir. Transaminaz aktivitesinin tayininde Reitmann ve Frankel'in kolorimetrik metodundan (8) yararlanılmıştır. Deneylerin yapılmasında karaciğer hastalıklı kimselerin yüksek aktivite gösteren kan serumları (*) kullanılmış, kolona her defasında 5 ml serum uygulanmış, transaminasyon reaksiyonu için elüattan 0.2 ml kullanılmıştır. Kolorimetrik tayinler için Bausch and Lomb spektrofotometresinden yararlanılmış sonuçlar 505 nm dalga uzunluğunda okunmuştur.

Sephadex G - 200 dekstran jel kromatografisi ile fraksiyonların ayırd edilmesi ve moleköl ağırlıklarının tayininde 25 mm çapında bir Sephadex kolonundan yararlanılmış, kolon içerisindeki jel yatağının yüksekliği 38 cm olarak ayarlanmıştır. Kromatografi için jel'in hazırlanmasında Sephadex teknik kitabında açıklanan (9) jeli kaynatma metodu uygulanmıştır. Jelin tanecikleri önce 0.1 M KCl solusyonu ile işleme tabi tutulmuş sonra Tris - HCl tampon solusyonu ile (pH 7.4) dengelenmiştir. Kolonun hazırlanmasında laboratuvarımızda ötedenberi kullanılmakta olan usulden (3) faydalanılmıştır.

Kolonun kalibrasyonu, moleköl ağırlıkları bilinen Gamma globulin, fibrinojen, ovalbumin ve hemoglobin geçirilmek suretiyle

yapılmıştır. Elüat üçer ml. lik porsiyonlar halinde toplanılmış, porsiyonlar içerisindeki protein oranı Beckman U.V spektrofotometresinde 280 nm dalga uzunluğunda absorbans dereceleri ölçülerek bulunmuştur. Kalibrasyonda kullanılan bu proteinlerin elüsyon volümlerinde gösterdikleri absorbanslarına göre aşağıdaki kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır.



Kolonun hazırlanması ve kalibrasyonundan sonra GPT enzim aktivitesi yüksek (*) serumlardan 0.5 ml almak suretiyle kolona uygulanmıştır. Elüsyon için de (pH 7.4) Tris - HCl tampon solusyonu kullanılmıştır. Elüat 3'er ml. lik porsiyonlar halinde toplanılmış ve deneyler 5 ayrı serum örneği ile tekrar edilmiştir. Elüat porsiyonlarının enzimatik aktivitelerinin tayininde yine Reitmann, Frankel metodundan yararlanılmış ve her beş deneyin ortalama değeri alınmıştır. Reitmann deneyi için elüattan her defasında 0.2 ml kullanılmıştır. Sonuçlar Bausch-Lomb cihazından yararlanılarak 505 nm dalga uzunluğunda okunmuştur.

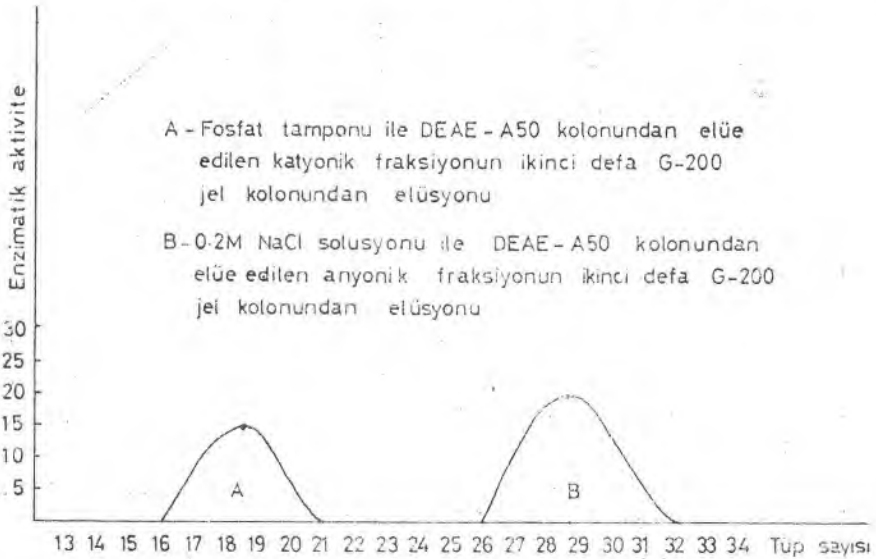
Kolona uygulanan serum örnekleri önce doğrudan doğruya tampon ile karıştırılarak kolona verilmiş, sonra redüktan bir mad-

(*) 360 - 1000 ünite

de olan β -merkaptotanol ile 0.02 M lık tampon solusyonu halinde uygulanmıştır.

SONUÇLAR

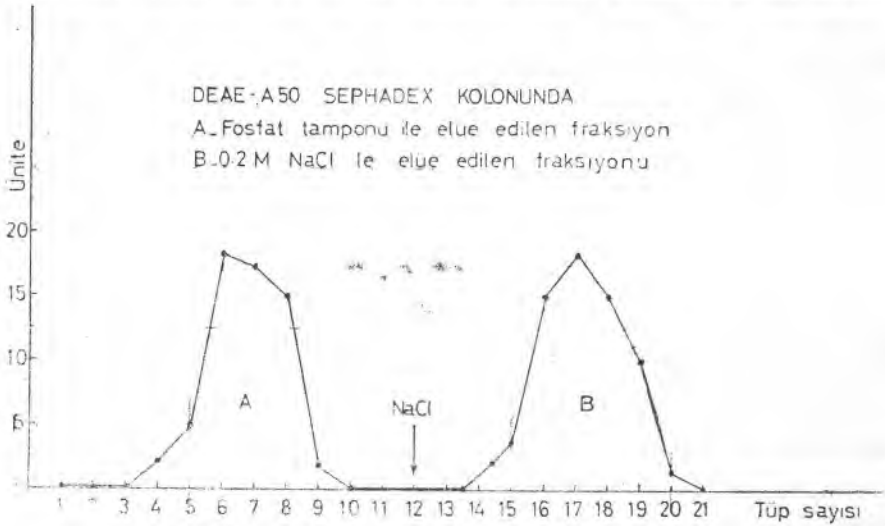
Yüksek GPT aktivitesi gösteren kan serumu örnekleri kullanılmak suretiyle DEAE - A50 Sephadex iyon değıştiricisi ile hazırlanan kolondan elde edilen elüat'ın birisi katyonik diğeri anyonik olmak üzere iki GPT fraksiyonu ihtiva ettiği görüldü. Önce fosfat tampon solusyonu (0.02 M pH 7.2) ile yapılan elüsyon sonucu 9 ml. de başlayan 6. tüpte yani 18 ml. de azami transaminaz reaksiyonu veren katyonik bir fraksiyonunu bulunduğu anlaşıldı. Artık transaminasyon reaksiyonu vermeyen başlangıç düzeyine düşüldükten sonra, 12. tüp yani 36 ml. den itibaren 0.2 M NaCl solusyonu kullanılarak elüsyona devam edildi. Bu defa 40.5 ml. de başlayan ve 51. ml. de pik gösteren ikinci anyonik fraksiyon elde edildi. Değişik serumlar kullanılmak suretiyle tekrar edilen bütün deneylerde çok ufak değışiklerle aynı sonuçlar elde edildi. (grafik : 2)



Bu defa DEAE - A50 kolonundan elde edilen katyonik ve anyonik fraksiyonlar ayrı ayrı G - 200 Sephadex jel kolonuna uygulan-

rak bu fraksiyonların molekül ağırlıklarının tayinine çalışıldı. 6. tüpte toplanan ve azami konsantrasyon gösteren katyonik fraksiyonun G - 200 kolonuna uygulanması sonucu elde edilen elüat fraksiyonlarından 56. mililitrede azami GPT reaksiyonu veren bir por-siyon saptandı. Deneyin beş defa tekrarlanması ile elde edilen or-talama değer grafikde gösterildi.

Anyonik fraksiyonun maksimum halde bulunduğu ve NaCl so-lusyonu ile elde edilen 51. mililitrenin Sephadex G - 200 Jel kolonuna uygulanması sonucu ise bu defa sadece 86 ml. de maksimum enzimatik aktivite gösteren 56. ml. de ise herhangi enzimatik bir reaksiyon vermeyen bir enzim fraksiyonunun bulunduğu saptandı.



Aynı deneyler bir defada ters yönde yapıldı. Sephadex G - 200 Jel kolonuna uygulanan ve yüksek GPT aktivitesi gösteren, birisi-nin elüsyon volümü 56 ml diğerininki ise 86 ml olan iki ayrı enzim fraksiyonu elde edildi.

Sephadex G - 200 kolonundan elüe edilen ve maksimum enzi-matik aktivite gösteren bu iki değişik elüsyon volümü bu defa ayrı ayrı DEAE - A50 iyon değiştiricisi kolonuna uygulandı. 56 ml yi meydana getiren ve fosfat tampon solüsyonu ile elüe edilen por-siyonun DEAE - A50 iyon değiştiricisi kolonundan geçirilmesi so-nucu katyonik fraksiyonun elüe edildiği 17 nci mililitrede mak-

simum enzimatik aktivite veren bir fraksiyon bulunduğu saptandı. 86 ncı mililitreyi meydana getiren eluatın Sodyum Klorür solusyonu ile elüsyonu sonucu 51 nci mililitrede maksimum enzimatik aktivite gösteren anyonik bir fraksiyon elde edildi.

Yüksek GPT aktivitesi gösteren serumların Sephadex G - 200 kolonundan elüsyonu için yapılan bir seri deneylerde 0.02 M β - merkaptotanol - tris - HCl tampon solusyonundan yararlanıldı. Bu defa kolondan elde edilen elüatin 56. ml sinde enzimatik aktiviteye rastlanılmadı. Sadece 86. ml civarında maksimum enzimatik aktivite saptandı. Tekrar edilen deneylerde de 56 ml. ve civarında herhangi bir enzimatik aktiviteye tesadüf olunmadı.

β - merkaptotanolü tris - HCl tampon solusyonu kullanılarak Sephadex G - 200 kolonundan elüe edilen ve katyonik fraksiyona tekabül eden 56. ncı mililitrenin bu defa fosfat tampon solusyonu ile DEAE-A50 Jel kolonundan elüsyonu sonucunda 18 inci mililitrede katyonik fraksiyona rastlanılmadı. Buna karşılık 51 inci mililitrede anyonik bir fraksiyonun bulunduğu saptandı.

TARTIŞMA

Araştırma sonuçları, DEAE - A50 iyon değiştirme tekniği ile gerçekden kan serumunda katyonik ve anyonik iki değişik fraksiyonun bulunduğunu ortaya koymuştur. Katyonik ve anyonik fraksiyonların ayrı ayrı G - 200 Sephadex kolonuna uygulanması bunlardan katyonik fraksiyonun kolondan 56 ml, anyonik fraksiyonun ise 86 ml civarında elüsyona uğradığını göstermiştir. Bu elüsyon volümleri kalibre edilmiş kolon grafiğine uygulandığında anyonik fraksiyonun 86 ml lik elüsyon volümü ile 155.000 mol. ağırlığı gösteren bir globuler protein gibi, katyonik fraksiyonun ise 56 ml lik elüsyon volümü ile mol. ağırlığı 337.000 civarında bulunan bir protein gibi davrandığı gözlemi yapılmıştır. Anyonik fraksiyonun 86 ml civarındaki elüsyon volümü ve buna uyan molekül ağırlığı evvelce yaptığımız çalışma sonuçlarına (3) uymaktadır. 56. ml de elüsyon volümü ve ortalama olarak 337.000 civarında mol. ağırlığı gösteren katyonik fraksiyon ise önceki çalışmalarımızda belirtilen şüphelerimizi doğrular niteliktedir. Bu sonuca göre bazı araştırmacılarca anyonik diye adlandırılan fraksiyon 155.000 ± 15.500

civarında bir moleküler ağırlığa sahip olup bu değer + 15.500 kabul olduğu takdirde literatürde yer alan (10) 180.000 değerine çok yaklaşmaktadır. Elde edilen bu sonuç insan serumu alanin - aminotransferaz'ının sıçan karaciğeri alanin - aminotransferase'ından (11) (mol. ağır. 114.000) daha büyük moleküllü olduğunu göstermektedir.

Kolon eleme kromatografisi ile yapılan bu mol. ağırlığı tayinine göre katyonik fraksiyonun mol ağırlığı anyonik fraksiyonun mol ağırlığının iki katına yaklaşık bir değer göstermektedir. Bu hal katyonik fraksiyonun tavşanda olduğu gibi (11) bir agregasyon sonucu meydana gelip gelmediği sorusunu ortaya çıkarmaktadır.

Gerçekte indirgeyici bir madde olan β -merkaptoetanol'ün tampona ilâvesi ile artık G-200 jel kolonundan 56 ml. de yüksek moleküllü bir katyonik fraksiyon elde etmek mümkün olamamaktadır. Bu elüsyon volümünde herhangi bir enzimatik reaksiyon görülmemektedir. Kanımızca 56. ml de reaksiyon veren enzim fraksiyonu bir dimerden başka birşey değildir. β -merkaptoetanol dimerik GPT'ı meydana getiren her iki enzim molekülü arasındaki disülfid bağlarını sülfidril bağları şekline indirgeyerek moleküllerin parçalanmalarına ve kolondan elüsyonlarının gecikmesine sebep olmaktadır. Bu hal GPT moleküllerinin gerçekte jel kolonu ile saptandığı kadarıyla tek bir molekül ağırlığı gösterdiklerini ortaya koymuştur. Ancak katyonik fraksiyonun ise bir dimerden ibaret olduğu kanısı kuvvetlenmiştir. Bu hal gerçekte bir izozimiden ziyade bir polimorfizmi kanıtlamaktadır. Bu iki fraksiyon arasında genetik menşeli bir izozimi söz konusu değildir (12). Bununla beraber anyonik fraksiyon veya B fraksiyonu da denen küçük moleküllü enzim fraksiyonunun (155.000 \pm 15.500 genetik varyasyon gösteren izozimlerinin varlığı söz konusu olabilir. Chen S.H ve arkadaşlarının (7) bu yöndeki çalışmaları, kendilerinin K.C. Homojenizatından elde ettikleri ve soluble fraksiyon diye adlandırdıkları enzim fraksiyonunun elektroforetik incelenmesi sırasında genetik varyasyon gösteren izozimlerinin varlığını ortaya koymuştur.

Görünüşe göre bu soluble veya sitoplazmik GPT enzimi, kolondan 86. ml. de elüe edilen anyonik fraksiyonla benzer niteliktedir.

Acaba Mitochondrial diye adlandırılan GPT fraksiyonu kan serumunda saptanan ve G-200 Sephadex kolonunda 56. ml civarında elüe edilen büyük moleküllü GPT fraksiyonu ile aynı niteliktedir? sorusunun, mitokondrial fraksiyonun elde edilerek incelenmesi suretiyle ayrı bir araştırma konusu yapılabileceği kanısındayız.

Ö Z E T

Yapılan araştırmada, Sephadex Jel Kolonu eleme kromatografisi ve Ion Exchange tekniklerinden yararlanılarak alanin - aminotransferaz enziminin de LDH, MDH ve diğer bazı enzimler gibi değişik karakterde ve değişik molekül büyüklüğünde izoenzimlerinin veya polimorf şekillerinin bulunup bulunmadığı incelenmiş ve literatürde değişik isimlerle adlandırılan GPT fraksiyonlarının identik olup olmadıkları, bu fraksiyonların izozim mi yoksa polimorf fraksiyonlarını oldukları hususu üzerinde durulmuştur. Sonuç olarak :

1 — Alanin - aminotransferaz enziminin Sephadex G-200 kolonundan birisinin elüsyon volümü 56 ml, diğerinin ki, ise 86 ml. olan iki ayrı fraksiyon halinde elüe edildiği,

2 — 56 ml. de elüe edilen fraksiyonun 337.000 civarında molekül ağırlığına sahip bulunduğu. 86 ml. de elüe edilen fraksiyonun ise daha küçük olduğu ve 155.000 civarında bir molekül ağırlığı gösterdiği,

3 — Bazı araştırmacılarca katyonik fraksiyon diye adlandırılan veya A fraksiyonu diye de tanımlanan GPT fraksiyonunun 56. ml de elüe edilen büyük fraksiyon gibi kolondan aynı elüsyon volümü ile, B fraksiyonu veya anyonik fraksiyon diye adlandırılan fraksiyonun da G-200 Jel kolonundan küçük moleküllü GPT fraksiyonu gibi 86. ml de elüe edildiği, dolayısıyla bunların bu yönden identik olabilecekleri,

4 — 56 ml de elüe edilen ve mol ağırlığı 337.000 civarında bulunan büyük moleküllü katyonik fraksiyonun mol büyüklüğünün, 86. ml de elüe edilen ve mol büyüklüğü 155.000 civarında bulunan küçük moleküllü GPT fraksiyonunun yaklaşık olarak iki katı olduğu ve indirgeyici bir madde olan β merkaptetanolla hazırlan-

miş tampon solusyonu ile elüsyondan sonra kolondan artık büyük moleküllü fraksiyonun elüe edilmediği, buna karşılık sadece küçük moleküllü fraksiyonun elüsyonunun yapıldığı, bu nedenle büyük moleküllü GPT fraksiyonunun bir dimer olduğu, dolayısıyla, küçük moleküllü fraksiyonun izoziminden ziyade polimorf bir şeklinin olduğu,

5 — Bazı araştırmacılarca soluble GPT fraksiyonu GPT_s diye adlandırılan fraksiyonun 155.000 civarında mol ağırlığı gösteren anyonik fraksiyonla aynı şey olabileceği ve fakat mitokondrial diye adlandırılan fraksiyonun dimer şeklinde olup olmadığı araştırılması gerektiği,

6 — Soluble veya sitoplazmik fraksiyon, veya anyonik fraksiyonla aynı nitelikte oldukları anlaşılan fraksiyonların genetik varyasyonlarının bulunduğu gözönünde tutularak, bazı araştırmacılar tarafından bir «genetik marker» olarak nitelenen bu fraksiyonun Türk halkı arasındaki varyasyonlarının sıklığının araştırılmasının yararlı olacağı gözlemleri yapılmıştır.

S U M M A R Y

For the definition of two different fractions of alanin - aminotransferase, separated by different technics such as column chromatographie, Ion exchange method and electrophoresis different terms have been used by various researchers. The two fractions eluted from DEAE - A50 column using phosphat buffer (0.02 M pH 7.2) and NaCl solution (0.2 M), have been named as «Cationic» and «Anionic» fractions respectively. Fractions eluted from Sephadex G - 200 column, for example have been designated as «Fraction - A» and «Fraction - B». Alanin - aminotransferase enzymes separated from rat liver homogenat defined as «Soluble Fraction» and «Mitochondrial Fraction». The two fractions separated by other authors from the gingiva of guinea pigs, were called «GPT₁» and «GPT₁₁».

In order to have a clearer idea about the terminology used to define alanin - aminotransferase fractions and examine their behaviour in Sephadex G - 200 Jel column and DEAE - A50 ion exchange columns, their relationships, and also to determine the respective

molecular weights of these two fractions various experiments have been performed. As a result of these experiments following observations were made :

1 — Alanin - aminotransferase is eluted from Sephadex G - 200 column as two different fractions having elution volumes of 56 and 86 mililiters.

2 — The molecular weight of the first fraction eluted at 56 ml. is approximately 337.000, the one of the second fraction eluted at 86 ml is approximately 155.000 ± 15.500

3 — The so called cationic fraction is eluted at 56 ml, and the anionic fraction at 86 ml. Fraction A, eluted at 56 ml whereas fraction B at 86 ml.

4 — When the serum of high GPT activity is eluted from Sephadex G - 200 column by the same phosphate buffer solution containing 0.02 M β - mercaptoethanol, no enzymatic activity could be detected in the eluted portion at 56 ml. The enzymatic activity continued to be present in the eluted buffer at 86 ml.

5 — After the fractionation of GPT enzyme into its two fractions by DEAE - A50 Ion exchange column and the separated cationic fraction has been applied to Sephadex G - 200 column alone, and if β -mercaptoethanol is added to the buffer solution instead of observing enzymatic activity at 56 ml fraction, as expected, activity could only be detected in the portion of eluate, eluted at 86 ml. This observations led to the fact that the enzyme fraction eluted at 56 ml might be a dimeric form rather than being an isozyme of genetically determined character.

6 — Having considered these observations one might claim that the Fraction - B, anionic fraction and soluble fractions might be identical and has a molecular weight of about 155.000 ± 15.500

Whereas, fraction - A, and cationic fractions may also be identical and show a dimeric character,

TABLO : 1

YÜKSEK ALANIN - AMİNOTRANSFERAZ AKTİVİTESİ GÖSTEREN KAN SERUMU
ÖRNEKLERİNİN G - 200 SEPHADEX KOLONUNDAN ÜLÜSYONLAR

Sıra No.	Aktivite Gösteren		Aktivite Gösteren	
	I. Elüsyon Volümü	OD ₂₀	II. Elüsyon Volümü	OD ₂₀
1	56 ml	0.28	86.2 ml	0.46
2	55 ml	0.31	88 ml	0.39
3	56 ml	0.62	86 ml	0.68
4	56 ml	0.56	85 ml	0.68
5	55.5 ml	0.43	85 ml	0.57
Ortalama Değer	55.7 ml	—	86.04 ml	—

Kullanılan Serumların GPT Değerleri 400 - 1100 Ünite Arasında Değişmektedir.

TABLO : 2

ÖRNEK OLARAK ALINAN YÜKSEK GPT AKTİVİTELİ SERUMLARIN SEPHADEX
KOLONUNDA GÖSTERDİKLERİ ELÜSYON VOLÜMLERİNE GÖRE ORTALAMA
MOLEKÜL AĞIRLIKLARI

Örnek Sıra No.	I. Elüsyon Volümü	Tekeabül eden Molekül ağır.	II. Elüsyon Volümü	Karşılığı olan Molekül ağır.
1	56 ml	340.000	86.2 ml	156.000
2	55 ml	330.000	88 ml	160.000
3	56 ml	340.000	86 ml	155.000
4	56 ml	340.000	85 ml	150.000
5	55.5 ml	335.000	85 ml	150.000
Ortalama Değer	55.7 ml	337.000	86.04 ml	154.200

REFERANSLAR

- 1 — **Takeda Y., Inchiara A., Tanioka H., and Inoue H.**, : The Biochemistry of Animal Cell I. The Effect of Corticosteroids on Leakage of Enzymes from Dispersed Rat Liver Cells J. Biol. Chem. 239.3590-96 1964.
- 2 — **Yoshinobu Tsukamoto Ryo Nakamura, et al** : Isozymes of Alanine Aminotransferase in the Gingiva and Liver of Scorbatic Guinea Pigs. J. dent. Res. 46 (1) 271 - 1967.
- 3 — **Bingöl G.** : Serum Glutamate-Oxalacetate transaminase ve Serum Glutamate-Pyruvate transaminase Enzimlerinin Sephadex G-200 Dextran Jel Kolonu Filtrasyonu ile Molekül ağırlıklarının tayini., Sağlık dergisi Mart-Nisan 1968.
- 4 — **Rotzsch W.**, : Enzymkinetik und verteilung der Aktivität von Aminotransferasen Acta biol. med. German., Band 17, seite 683 - 693., 1966.
- 5 — **A.P. Orfanos et al.**, : Separation of Glutamic Pyruvic Transaminase Izoenzymes in Human Serum., Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology Vol. I No. 2. march 1970.
- 6 — **Gussmann S., Rames K.**, : Die Derstellung der Polymorphismen Glutamat-Pyruvat Transaminase (GPT, E.C: 2. 6.1.2.) und Phosphoglucomutase (PGM, E.C. 2.7. 5.1.) mittels horizontaler Stärkeegelektrophorese in einem Arbeitsgang Z. Rechtsmedizin 70, 148 - 149, 1972.
- 7 — **Chen. S.H., Giblett. E.R.** : Polymorphism of soluble Glutamic-pyruvic Transaminase A new marker in man., Science 173. 148, 1971.
- 8 — **Reitman S. and Frankel S.** : A Colorimetric Method of Determination of SGOT and SGPT Am. J. Clinical Path. 28. 56-63, 1957.
- 9 — Sephadex Gel Filtration in Theory and Practice Uppsalo, 1970.
- 10 — **Bergmeyer H.U.** : «Methods of Enzymatic Analysis» s. 977 Academic Press New York 1965.
- 11 — **Gatchouse P.W., Hopper S. et al.** : Further Characterization of Alanin Amino-Transferase of Rat Liver The Journal of Biological Chemistry Vol. 242 no. 10 pp. 2319-2324, 1967.
- 12 — IUPAC - IUB Commission on Biochemical Nomenclature., The Nomenclature of Multiple Forms of Enzymes Recommendations, Archives of Biochemistry and Biophysics 147., 1-3, 1971.