

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА ПО МЕТОДУ ЛОУРИ (КАТ.№ В-10651)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для колориметрического количественного определения содержания белка по методу Лоури в 100 образцах при конечном объеме реакционной смеси 2,6 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на образовании окрашенных продуктов ароматических аминокислот с реактивом Фолина-Чокальтеу в сочетании с биуретовой реакцией на пептидные связи. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации белка в исследуемой пробе.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1. 2% раствор карбоната натрия в 0,1 М растворе гидроксида натрия....250 мл
 Реагент 2. 0,5% раствор сульфата меди в 1% растворе цитрата натрия 10 мл
 Реагент 3. Реактив Фолина-Чокальтеу..... 25 мл
 Калибратор (альбумин), 0,25 г/л 5 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 25 мкг/л.
Линейность –от 25 до 250 мкг/л с отклонением не более 3%.
Коэффициент вариации – не более 3%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки. При работе с наборами необходимо соблюдать правила техники безопасности при работе с едкими и агрессивными веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объемы от 0,01 мл до 3,0 мл, пробирки, вместимостью 5-10 мл, секундомер, штатив, дистиллированная вода.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

1. Приготовление рабочего раствора
 К 50 мл реагента 1 добавить 1 мл реагента 2. Полученный раствор перемешать. Готовить непосредственно перед анализом.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 750 нм.
 Кювета с длиной оптического пути 10 мм.
 Температура проведения реакции 18-25°C.
 Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Холодная проба
Образец, мл	0,4	–
Дистилл. вода, мл	–	0,4
Рабочий раствор, мл	2,0	2,0

Пробы перемешать и выдержать при комнатной температуре в течение 10 мин.

Реагент 3, мл	0,2	0,2
---------------	-----	-----

Тщательно перемешать, выдержать при комнатной температуре в течение 20 мин. и измерить оптическую плотность опытной пробы относительно холодной.

РАСЧЁТ

Содержание белка в образце определить по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика приготовить калибровочные пробы согласно Таблице.

Таблица

	Калибровочный раствор, альбумина, мл	Дистилл. вода, мл	Содержание белка в пробе, г/л
1	0,04	0,36	0,01
2	0,08	0,32	0,02
3	0,16	0,24	0,04
4	0,24	0,16	0,06
5	0,32	0,08	0,08
6	0,40	–	0,10

Параллельные пробы ставить обязательно. Содержание белка в калибровочных пробах определить так же, как и в опытных. По результатам фотометрирования калибровочных проб построить график зависимости оптической плотности от содержания белка в пробе. По оси ординат отложить значение оптической плотности, по оси абсцисс – содержание белка в данной калибровочной пробе (см. Таблицу). Калибровочный график должен иметь вид прямой, выходящей из начала координат.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (18 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Реагенты и калибратор после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора.