
НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ НА МЕМБРАНАХ ИЗ АЦЕТАТЦЕЛЛЮЛОЗЫ (КАТ.№ В-41323)

РУ № ФСР 2007/01209

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для электрофоретического разделения белков сыворотки крови на мембранах из ацетатцеллюлозы с последующим денситометрическим определением белковых фракций в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип электрофоретического разделения белков основан на различной скорости движения молекул белков сыворотки крови в постоянном электрическом поле определённой напряжённости. Разделённые белковые фракции окрашиваются красителем. После денситометрического сканирования окрашенных фореграмм получают гистограмму распределения белковых фракций. Площадь под пиком белковой фракции пропорциональна содержанию этой фракции в сыворотке крови.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови, свободная от гемолиза, липемии и не желтушная.

Белковые фракции сыворотки крови стабильны в плотно закрытой пробирки при 18-25°C в течение 8 часов, при 2-8°C - в течение 3 дней, при -20°C - в течение месяца [1].

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Прибор для электрофореза на мембранах из ацетатцеллюлозы, мембраны из ацетатцеллюлозы, денситометр или сканер.

СОСТАВ НАБОРА

1. Буферный раствор, 5-кратный концентрат 200мл
2. Краситель Пунцовый С 250мл

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ

(в комплект поставки не входят)

Контрольная сыворотка, растворитель, уксусная кислота. Эти реагенты можно приобрести НПЦ "Эко-Сервис".

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Буферный раствор следует готовить заранее. Готовый раствор должен быть выдержан не менее суток до применения.

Концентрат буферного раствора развести дистиллированной водой в 5 раз, готовый раствор имеет рН 8,6-8,8. Хранить готовый буферный раствор следует в холодильнике и заливать в камеру для электрофореза холодным. Буферный раствор стабилен не менее 3 месяцев при хранении при 2-8°C.

Краситель Пунцовый С готов к применению.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**1. Проведение электрофореза**

1.1. Сухие мембраны осторожно замочить в буфере для электрофореза, избегая быстрого их погружения и образования пузырей на поверхности. Выдержать 10 минут. Смоченные мембраны аккуратно промокнуть между листами плотной фильтровальной бумаги, не допуская их высыхания (при высыхании на мембране появляются белые пятна).

1.2. С помощью аппликатора нанести анализируемые образцы сыворотки крови или контрольную сыворотку на мембрану. Мембрану поместить в электрофоретическую камеру и подключить ток. Конкретные условия проведения электрофореза (напряжение, время фореза и др.) зависят от конструкции применяемой аппаратуры.

2. Обработка электрофореграммы

2.1. Краситель Пунцовый С.

После отключения тока мембрану осторожно перенести в раствор красителя Пунцовый С на 5-10 минут, затем поместить в 5-7% раствор уксусной кислоты (набор «КлиниТест-ЭФ ПР») и, меняя раствор уксусной кислоты, отмыть мембрану до отбеливания фона.

Для получения хорошей фореграммы при использовании мембраны «Владипор» на плёночной основе следует избегать деформации мембраны, поэтому лучше не перемещать мембрану, а осторожно менять обрабатывающие реагенты.

2.2. Электрофореграмму промерить на денситометре при длине волны 540 нм или обработать с помощью программы анализа фореграмм, поставляемой изготовителями приборов для электрофореза.

2.3. При необходимости мембрану можно сделать прозрачной, погружая её в осветляющий раствор (набор «КлиниТест-ЭФ ОР»).

ПРОВЕДЕНИЕ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контрольную сыворотку следует применять в тех же условиях, с теми же реагентами и оборудованием, что и анализируемые образцы.

1. Гистограмма распределения фракций контрольной сыворотки должна соответствовать гистограмме, приведённой в настоящей инструкции. Значения белковых фракций должны укладываться в диапазон аттестованных значений.

2. Если внешний вид гистограммы распределения фракций контрольной сыворотки соответствует приведённому в инструкции, но значения содержания белковых фракций не укладываются в интервалы допустимых значений, это может быть вызвано следующими причинами:

- избыточное количество нанесённой сыворотки (фореграмма перегружена, видны высокие фоновые значения белка, минимумы на фореграмме высокие, пики расположены близко друг к другу);

- недостаточное количество нанесённой сыворотки (фореграмма бледная, пики белковых

фракций невысокие, неровные);

3. Если внешний вид гистограммы распределения фракций контрольной сыворотки не соответствует приведённому в инструкции, причиной может быть:

- неправильный режим электрофореза;

- «выработанность» буфера, о чём свидетельствуют сокращение длины разгонной дорожки, «наложение» белковых фракций друг на друга при обычных значениях тока, напряжения, времени электрофореза;

- нарушение условий и сроков хранения контрольной сыворотки.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Альбумин 46,9-61,4%

Глобулины

альфа 1 2,2-4,2%

альфа 2 7,9-10,9%

бета 10,2-18,3%

гамма 17,6-25,4%

Примечание: приведены нормальные значения согласно Приказу Минздрава СССР №1175 от 21.11.1979 г «Об унификации клинических лабораторных методов исследования».

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности (18 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам "КлиниТест-ЭФ" производства НПЦ "Эко-Сервис" или по зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 138-139.