

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ НА МЕМБРАНАХ ИЗ АЦЕТАТЦЕЛЛЮЛОЗЫ

РУ № ФСР 2007/01209 от 26.11.2007 г.

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 напряженности. Разделённые белковые фракции окрашиваются красителем. После денситометрического сканирования окрашенных фореграмм получают гистограмму распределе-

ния 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 пробирке при 18-25°C в течение 8 часов, при 2-8°C – в течение 3 дней, при -20°C – в течение 1 месяца [1].

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

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

ПРОВЕДЕНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ

СОСТАВ НАБОРА (Кат. № В-41351)

1. Буферный раствор, готовый,
рН 8,6-8,8 1000 мл

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ (В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ НЕ ВХОДЯТ)

Краситель Пунцовый С, контрольная сыворотка, растворитель, уксусная кислота. Эти реагенты можно приобрести в НПЦ "Эко-Сервис".

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Буферный раствор следует заливать в камеру для электрофореза холодным. Буферный раствор после вскрытия стабилен не менее 3 месяцев при хранении при 2-8°C.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Проведение электрофореза

1.1. Сухие мембраны осторожно замочить в буфере для электрофореза, избегая быстрого 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 деформаций 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 электрофореграмм, поставляемой изготовителями приборов для электрофореза.

2.3. При необходимости мембрану можно сделать прозрачной, погружая её в осветляющий раствор (набор «КлиниТест-ЭФ ОР»). Для этого после проведения электрофореза мембрану промокнуть фильтровальной бумагой и погрузить на 2-4 минуты в 96% этиловый спирт. Затем влажную мембрану перенести на чистое обезжиренное предметное стекло, тщательно удалить пузырьки воздуха, погрузить на 2-4 минуты в осветляющий раствор, дать стечь избыткам раствора и поместить стекло с мембраной в разогретый до 95-100°C сушильный шкаф на 5-10 минут до полного осветления.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Белковые фракции, %	Пунцовый С
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 N 1175 от 21.11.1979 «Об унификации клинических лабораторных методов исследования».

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор необходимо хранить при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (18 месяцев).

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.