



2004



Способы количественного определения белка

1. *Азотометрический метод*
2. *Гравиметрический*
3. *Рефрактометрический*
4. *Метод определения по плотности (удельному весу)*
5. *Спектрофотометрический*
6. *Колориметрические методы*
7. *Турбидиметрический*
8. *Методы, основанные на специфической сорбции некоторых красителей поверхностью белковых молекул.*
9. *Другие: поляриметрический, "сухая химия" на полосках (по "протеиновой ошибке" индикатора)*



Методы определения концентрации белка сыворотки крови, мочи

1. Спектрофотометрический (?)

(оценка приблизительного количества белка; используется для определения концентрации индивидуального белка)

Формула **Калькара**:

$$C_{г/л} = 1,55 A_{280} - 0,76 A_{260}$$

Приблизительно: 1ед. оптической плотности - 1мг/мл (СФ, $\lambda = 280\text{нм}$, $l = 1\text{см}$)
Чувствительность = 100мкг/мл



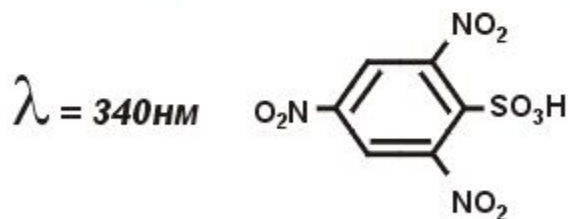
Методы определения концентрации белка сыворотки *крови, мочи*

2. Колориметрические

2.1. **Биуретовый метод** (чувствительность - 1 мг/мл)

2.2. **Метод Лоури** (чувствительность - 10 мкг/мл)

2.3. **Взаимодействие аминогрупп с различными реагентами**
(например с *тринитробензолсульфокислотой*)





Методы определения концентрации белка сыворотки крови, мочи

3. Методы, основанные на специфической сорбции некоторых красителей поверхностью белковых молекул

Амидо черный 10В (*кислотный черный, амидо шварц*)

Кумасси бриллиантовый синий R-250 или G-250
(*Coomassie brilliant blue*)

Понсо S (*кислотный красный, Ponceau S*)

Бромфеноловый синий (БФС, тетрабромфенолсульфофталеин)



Белки плазмы крови

N: 65-85 г/л

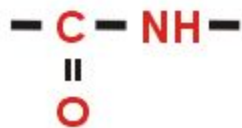
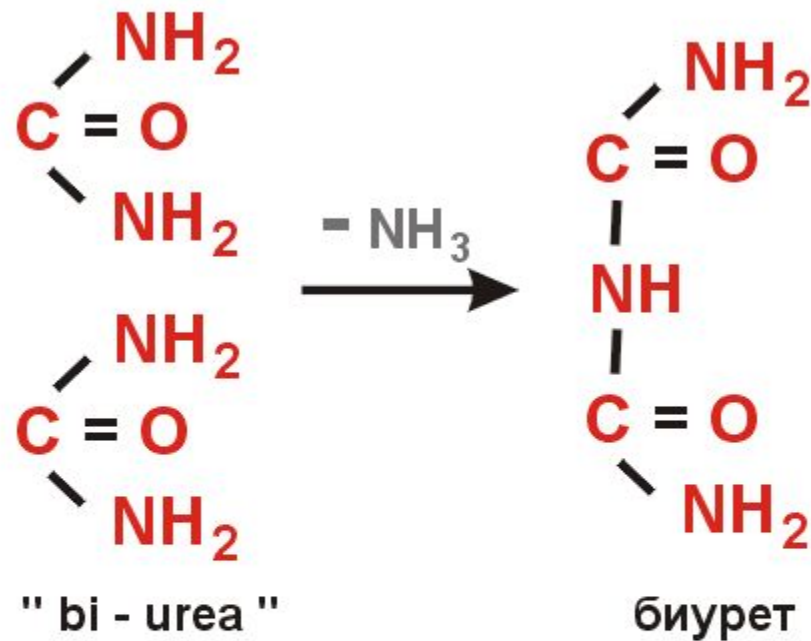
$$X_{\text{моль/л}} = \frac{A_{\text{г/л}}}{M_{\text{г/моль}}}$$

$$X_{\text{ммоль/л}} = \frac{A_{\text{мг/л}}}{M_{\text{мг/ммоль}}}$$

90 мг % глюкозы → ммоль/л ?

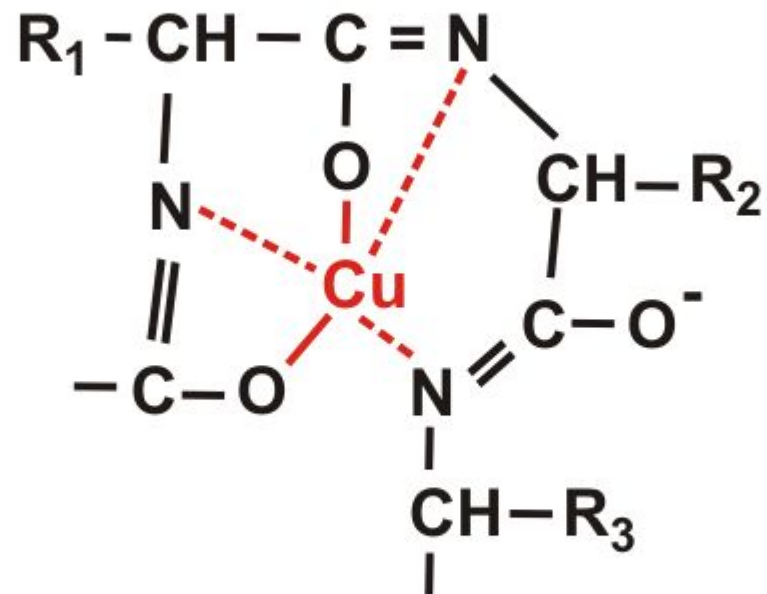
Mr глюкозы = 180

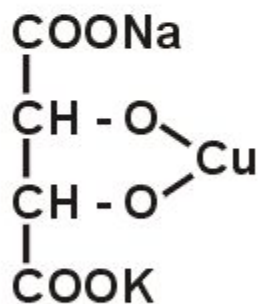
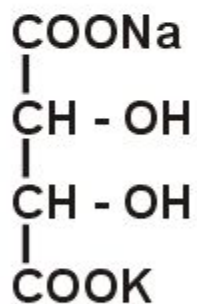
$$X_{\text{ммоль/л}} = \frac{900_{\text{мг/л}}}{180_{\text{мг/ммоль}}} = 5_{\text{ммоль/л}}$$





Структура комплекса *Cu* с белком





Сегнетова соль (Na-K-соль виннокаменной кислоты)

Ход анализа

Реактивы, объем в мкл	Контроль	Проба
Биуретовый реактив	1000	1000
NaCl	20	-
Сыворотка	-	20

Приготовление станд. р-ров альбумина				Содержание белка в пробе (в 0,1мл ст. р-ра)(мг)	Конц. белка в сыворотке (г/л)
№	Объем р-ра NaCl (мл)	Объем р-ра А 100г/л (мл)	Конц. белка в станд. р-ре (г/л)		
1.	0,8	0,2	20г/л	2мг	20
2.	0,6	0,4	40г/л	4мг	40
3.	0,4	0,6	60г/л	6мг	60
4.	0,2	0,8	80г/л	8мг	80
5.	-	Исп. исход. р-р без разведения	100г/л	10мг	100

I. а) 100г А - 1000мл
 x_1 г А - 0,2мл
 $x_1 = 0,02г$

II. 20г - 1000мл ст. р-ра №1
 x_3 - 0,1мл
 $x_3 = 0,002г = 2мг$

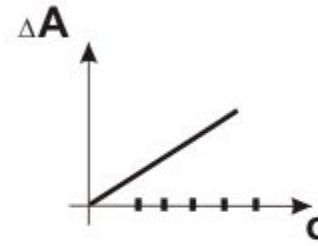
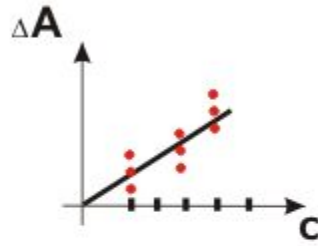
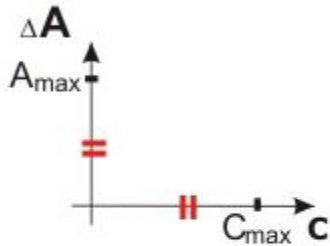
III. Если Аст. = Апр.
2мг - 0,1мл сыворотки
 x_4 - 1000мл сыворотки
 $x_4 = 20000мг/л = 20г/л$

б) 0,02г - 1мл ст. р-ра № 1
 x_2 г - 1000мл ст. р-ра № 1
 $x_2 = 20г/л$



Светопоглощения

Правила построения калибровочного графика



Название:

Прибор: КФК-2;

$\lambda = \dots$; $l = \dots \text{см}$;

$V_{\text{пр}} = \dots \text{мл}$; $K = \dots$;

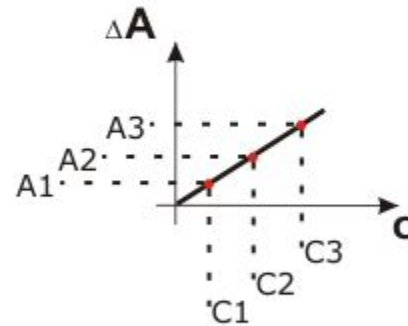
Дата... Ф.И.О.

Таблица

$x \backslash k$	C
A	

$$C = A \times K$$

$$K = \frac{C}{A} = \text{ctg} \angle \alpha$$



$$K_1 = \frac{C_1}{A_1}$$

$$K_2 = \frac{C_2}{A_2}$$

$$K_3 = \frac{C_3}{A_3}$$

$$K_{\text{ср}} = \frac{K_1 + K_2 + K_3}{3}$$



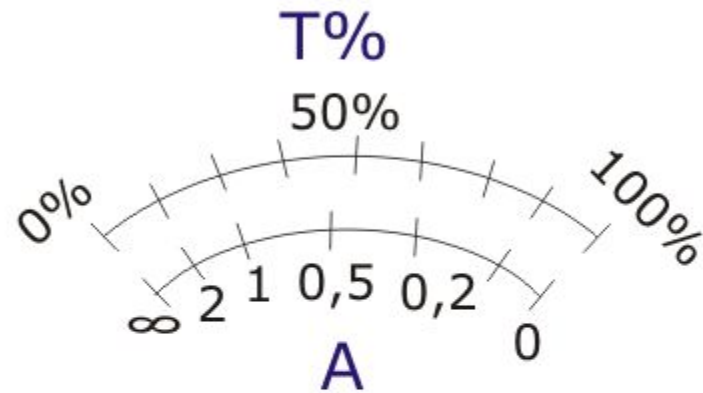
METABURG media



Законы светопоглощения

$$I_T = I_0 \times 10^{-\epsilon c l}$$

$$\frac{I_0}{I_T} = \frac{1}{10^{-\epsilon c l}}$$



$$\lg \frac{I_0}{I_T} = \epsilon \times c \times l$$

$$\lg \frac{I_0}{I_T} = A = E \quad (D = \lg \frac{I_0}{I_T})$$

$$A = \lg \frac{1}{T} = -\lg T$$



Светопоглощения

Работа со стандартом:

$$V_{\text{пр.}} = V_{\text{ст.}}$$

$$\frac{A_{\text{пр.}}}{A_{\text{ст.}}} = \frac{\cancel{\varepsilon_x} \times C_{\text{пр.}}}{\cancel{\varepsilon_x} \times C_{\text{ст.}}}$$

$$C_{\text{пр.}} = \frac{A_{\text{пр.}}}{A_{\text{ст.}}} \times C_{\text{ст.}}$$

Причины гипопроотеинемии:

- недостаточное поступление белка (голодание);
- заболевания ЖКТ (нарушение переваривания белков и всасывания АК);
- повышенная потеря белка (при заболеваниях почек, кровопотерях, ожогах, травмах, тиреотоксикозе, новообразованиях);
- нарушения синтеза белка (заболевания печени, лихорадка, интоксикация, лучевая болезнь).

Причины гиперпротеинемии:

- дегидратации (травмы, ожоги, холера, неукротимая рвота, несахарный диабет);
- появлении парапротеинемии, т. е. при появлении патологических белков при миеломной болезни и болезни Вальденстрема.



2004