

НАБІР ДЛЯ ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ СИРОВАТКОВИХ БІЛКІВ

CORMAY GEL PROTEIN 100

Кат. №: 6-048

Дата випуску інструкції: 10-2008



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Назва набору
CORMAY GEL PROTEIN 100

Вміст набору
100 роздільне

Кат. №
6-048

ВСТУП

Набір CORMAY GEL PROTEIN 100 призначений для електрофоретичного поділу сироваткових білків на агарозі. Це дозволяє отримати шість білкових фракцій сироватки:

- альбумін
- альфа-1 глобуліни,
- альфа-2 глобуліни,
- бета-1 глобуліни,
- бета-2 глобуліни
- гамма-глобуліни

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Білковий електрофорез - добре розроблена методика, зазвичай використовується в клінічних лабораторіях для скринінгу сироватки. Вона заснована на принципах зонного електрофорезу, виконаних на підходящому середовищі підтримки. Відокремлені білки фіксуються в кислотно-спиртовій суміші та забарвлюються розчином чорного amido. Надлишок барвника видаляють кислотним розчином. Пофарбовані електрофоретичні відокремлення можуть бути візуально оцінені для шаблону аномалій або за допомогою денситометрії, щоб отримати точне відносне кількісне значення окремих зон.

ПАКУВАННЯ

	CORMAY GEL PROTEIN 100
Агарозний гель (пластинки з агарозою)	10 штук
Буфер ТРИС-БАРБІТАЛ (концентрований)	3 x 100 мл
Розчин для фарбування AMIDOBBLACK (концентрований)	1 x 100 мл
Знебарвлюючий розчин (концентрований)	1 x 100 мл
Промокальний папір	20 штук
Шаблони для внесення зразка	10 штук

Зберігати при кімнатній температурі в горизонтальному положенні (гель догори низом), щільно закрити. Не заморожувати!

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТУ

Буфер: 1 флакон з концентрованим буфером (TRIS-BARBITAL) розбавити дистильованою водою до 1000 мл.

Після розбавлення буфер, що зберігається при кімнатній температурі, стабільний до дати закінчення, вказаної на флаконі.

Фарбувальний розчин: 1 флакон концентрованого розчину (AMIDOBBLACK) розбавити до 300 мл дистильованою водою.

Після розведення розчин для фарбування, що зберігається при кімнатній температурі, стабільний до закінчення терміну придатності, вказаного на флаконі.

10 гелів можна пофарбувати 300 мл розбавленого фарбувального розчину.

Знебарвлюючий розчин: 1 флакон концентрованого розчину розвести до 10 літрів дистильованою водою (або 10 мл до 1000 мл).

Стабільність: 1 місяць при кімнатній температурі.

Фіксуєчий розчин: змішати
135 мл етанолу 96 %
30 мл крижаної оцтової кислоти
135 мл дистильованої води

або

135 мл етанолу 96 %
37.5 мл оцтової кислоти 80 %
127.5 мл дистильованої води

Фіксуєчий розчин повинен бути приготовлений принаймні 15 хв. до використання.

Стабільність: 3 місяці при кімнатній температурі в щільно закритому флаконі. 5 гелів можуть бути оброблені 300 мл фіксуєчого розчину.

Примітка: Можна також використовувати різні концентрації оцтової кислоти та/або етанолу (наприклад, 80% оцтової кислоти та 70% етанол). Проте, пропорція реагентів та дистильованої води, що використовується для одержання фіксаційного розчину, повинна бути змінена, щоб зберегти кількісний склад стабільного фіксаційного розчину.

Агарозні гелі: готові до використання.

Попередження і примітки

- Продукт призначений тільки для діагностики in vitro.
- Під час електрофорезу буфер може змінити колір від жовтого до коричневого зі злегка коричневим осадом без будь-яких негативних впливів на його продуктивність.
- Реагент трис-барбітального буферу класифікується як токсичний!



Склад: барбітал, натрій барбітал, азид натрію

T - Токсичний

R 22-42/43-61 – шкідливий при ковтанні.

Може спричинити сенсibiliзацію при вдиханні та контакту зі шкірою. Може завдати шкоду ненародженій дитині.

S 1-36/37/39 - Зберігати під замком. Носити відповідний захисний одяг, рукавички і захист для очей/обличчя.

- Розчин AMIDOBBLACK класифікується як корозійний!



Склад: оцтова кислота

C - Ідкий

R 34 – Викликає опіки

S 23-26 - Не вдихати пару/спрей. У разі потрапляння в очі негайно промити великою кількістю води і звернутися до лікаря.

ДОДАТКОВЕ ОБЛАДНАННЯ

- Джерело живлення і камера для електрофорезу виробництва фірми Cormay або система для електрофорезу фірми Beckman;
- Крижана оцтова кислота, 96% етанол для приготування фіксуєчого розчину;
- Загальне лабораторне обладнання.

БИОЛОГІЧНИЙ МАТЕРІАЛ

Сироватка крові розбавлена робочим розчином буфера в співвідношенні: 1 частина сироватки + 6 частин буфера. Не розбавлену сироватку можна зберігати при температурі 2-8 °C до 3 днів. Сироватку необхідно розвести безпосередньо перед використанням.

ПРОЦЕДУРА

1. Налийте 150 мл (Cormay CU-1, Cormay S20) або 45 мл (Beckman) розведеного буфера в кожну частину камери.
2. Візьміть гель з упаковки, не торкаючись його поверхні, і помістіть його на аркуш паперу або промокальний папір.

Щоб уникнути висихання гелю та пов'язаних з цим аналітичних проблем, відкрийте упаковку з фольги безпосередньо перед використанням, коли все обладнання готове до використання та сироватка розведена.

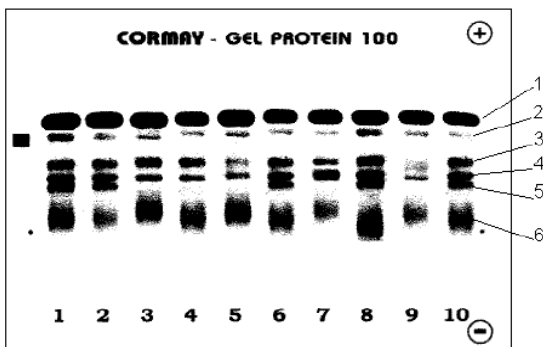
3. Використовуйте промокальний папір, щоб висушити місце, де будуть розміщені зразки. Видаліть вологий промокальний папір негайно.
4. Покладіть шаблон зразка на гель (два пази країв шаблону з'єднати з двома орієнтовними позначками на пластині), легко притискаючи його до гелю і розгладжуючи пальцем. Шаблон повинен щільно прилягати до гелю!
5. Нанесіть 5 мкл розведеної сироватки в кожен паз та залиште її упродовж 5 хв. з моменту застосування останнього зразка.
6. Видаліть надлишок сироватки промокальним папером.
7. Зніміть шаблон зразка.
8. Вигніть агарозну пластину і помістіть її в камеру **гелем вниз**, щоб зразки були на катодній стороні (-).
9. Закрийте камеру кришкою.
10. Використовуйте електрофорез упродовж 20 хв. при 100 В (Cormay CU-1, Cormay S20) або упродовж 15 хв. при 100 В (Бекман).
11. Після міграції видаліть пластину та занурте її у фіксуєчий розчин на 15 хв. у **вертикальному положенні**.

12. Просушіть гель під струменем гарячого повітря або в духовці при температурі до 80 °С, доки він не буде повністю сухий.
13. Занурте зразок в розчин для фарбування упродовж 10 хвилин, потім осаджуйте його в 2 - 3 опусканнях в знебарвлюючий розчин.
14. Промийте гель дистильованою водою та висушіть його гарячим повітрям до 80 °С.
15. Інтерпретація може здійснюватися візуально або за допомогою денситометра.
16. Якщо необхідно, очистіть задню частину пластини вологою серветкою.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

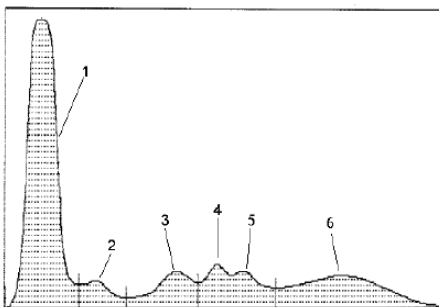
CORMAY GEL PROTEIN 100 забезпечує ідеальне розділення білків сироватки на 6 фракцій. Наявність моноклональних білків (в основному гамма або бета) є показанням імунофіксації.

Приклад розділення сироваткового білка:



- 1 - альбумін
- 2 - альфа-1 глобуліни
- 3 - альфа-2 глобуліни
- 4 - β-1 глобуліни,
- 5 - β-2 глобуліни,
- 6 – γ- глобуліни.

Приклад денситограми білків сироватки:



Фракція:	Про.[%]
АЛЬБУМІНИ	55.75
АЛЬФА-1 ГЛОБУЛІНИ	3.41
АЛЬФА-2 ГЛОБУЛІНИ	8.19
БЕТА-1 ГЛОБУЛІНИ	8.17
БЕТА-2 ГЛОБУЛІНИ	4.61
ГАММА-ГЛОБУЛІНИ	19.88

СЕРЕДНІ ЗНАЧЕННЯ

Альбумін	50 - 62 %
Альфа-1 глобуліни	2.5 - 6.0 %
Альфа-2 глобуліни	6 - 12 %
Бета-1 глобуліни	5 - 10 %
Бета-2 глобуліни	3 - 7.5 %
Гамма-глобуліни	12 - 22 %

Рекомендується для кожної лабораторії встановити власні норми для даної популяції.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Відтворюваність

Білкова фракція	Відтворюваність в гелі	Відтворюваність між гелями
	CV %	CV %
альбуміни	1,0	3,0
альфа-1 глобуліни	4,3	5,4
альфа-2 глобуліни	2,2	3,4
бета-1 глобуліни	2,9	5,9
бета-2 глобуліни	3,8	7,0
гамма-глобуліни	2,3	3,7

- **Чутливість/Межа виявлення:** чутливість визначається як найменша щільність білків, яку видно у вигляді смужки, - 0.03 г/л на смужці.

УТИЛІЗАЦІЯ ВІДХОДІВ

Відповідно до місцевих вимог.



ВИРОБНИК

ПЗ КОРМЕЙ С.А.
вул. Віосенна, 22
05-092 м. Ломянкі, Польща
тел.: +48 (0) 81 749 44 00
факс: +48 (0) 81 749 44 34
<http://www.cormay.pl>



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

