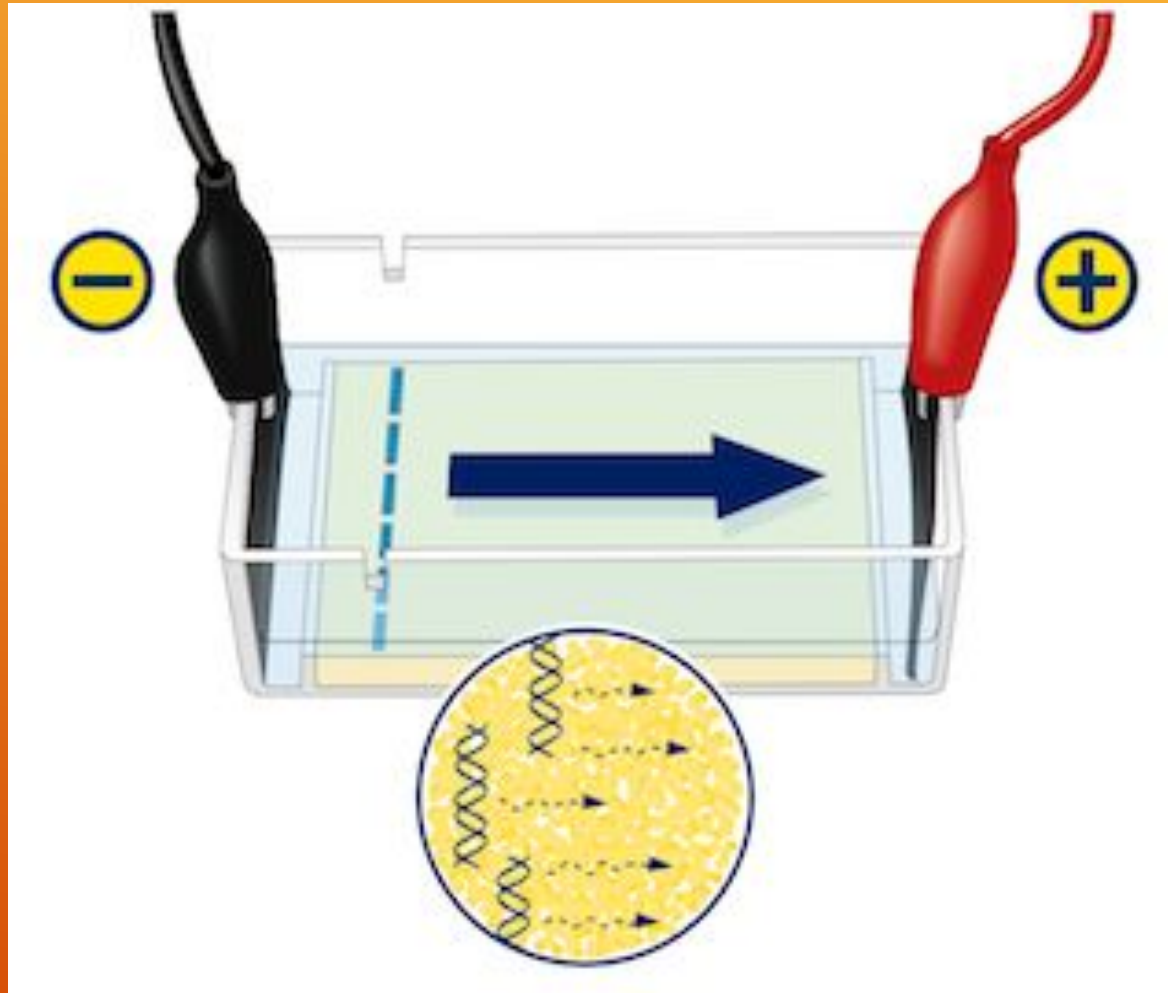


ЭЛЕКТРОФОРЕЗ



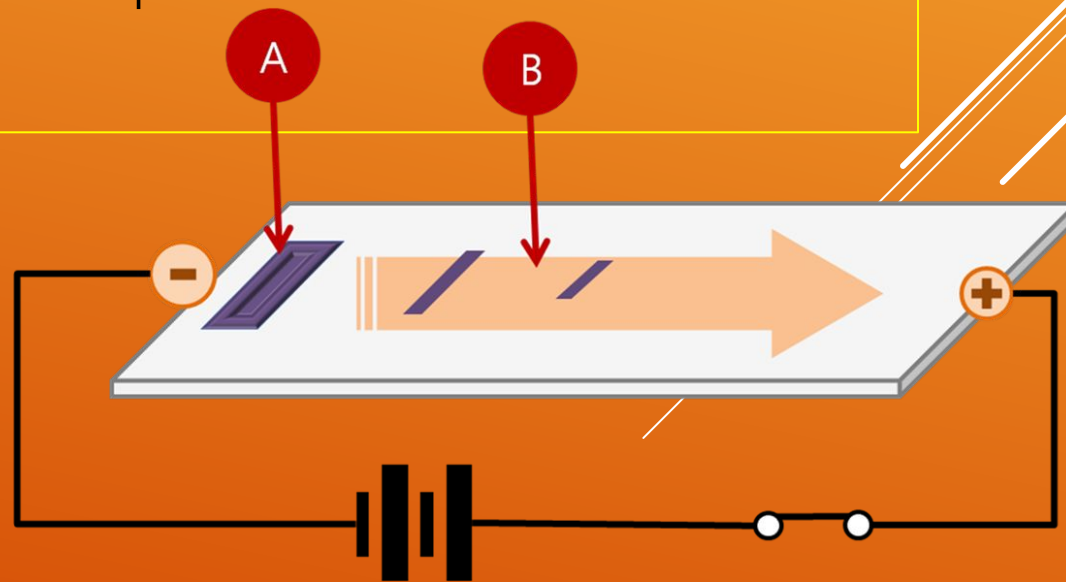
ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ

Электрофорез - это движение заряженных частиц в поле постоянного электрического тока.

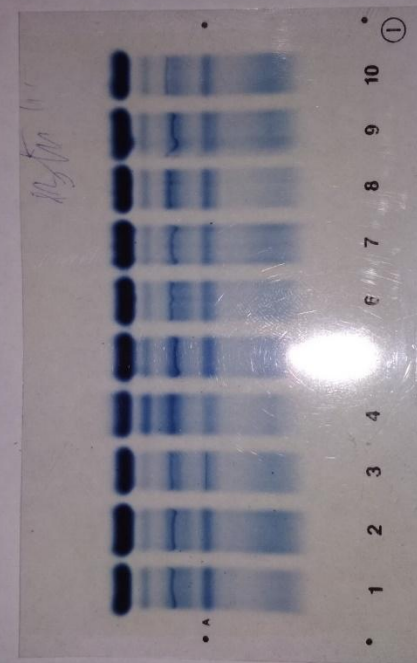
Положительно заряженные частицы движутся к катоду, отрицательно заряженные – к аноду.

Электрофоретический метод в биохимии – это способ пространственного разделения молекул, имеющих разный заряд и размеры, путем помещения их в электрическое поле.

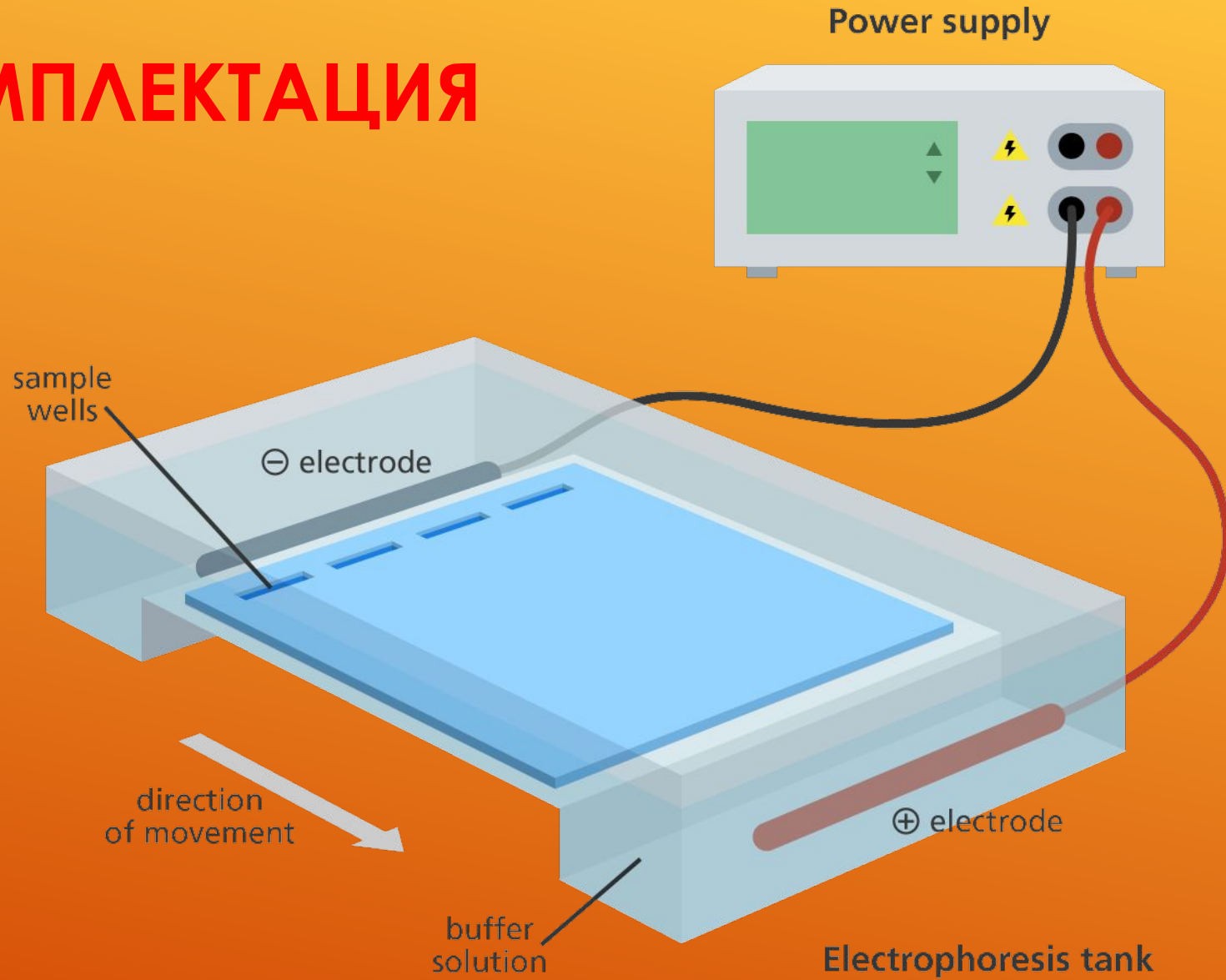
Электрофоретическая подвижность (u) молекулы - это скорость движения заряженной молекулы (выражаемой в см/ч) в электрическом поле с напряженностью 1 В/см.

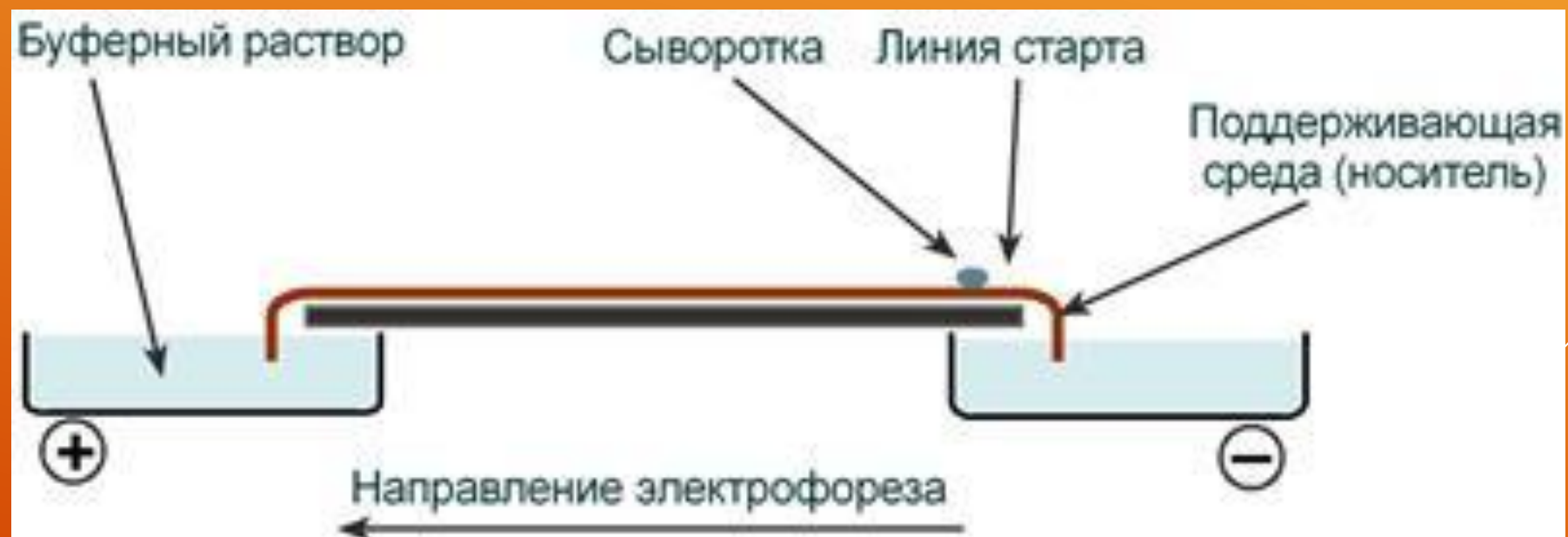


Электрофореграмма – картина, полученная после разделения сложной смеси с помощью электрофореза и специфического проявления.



КОМПЛЕКТАЦИЯ





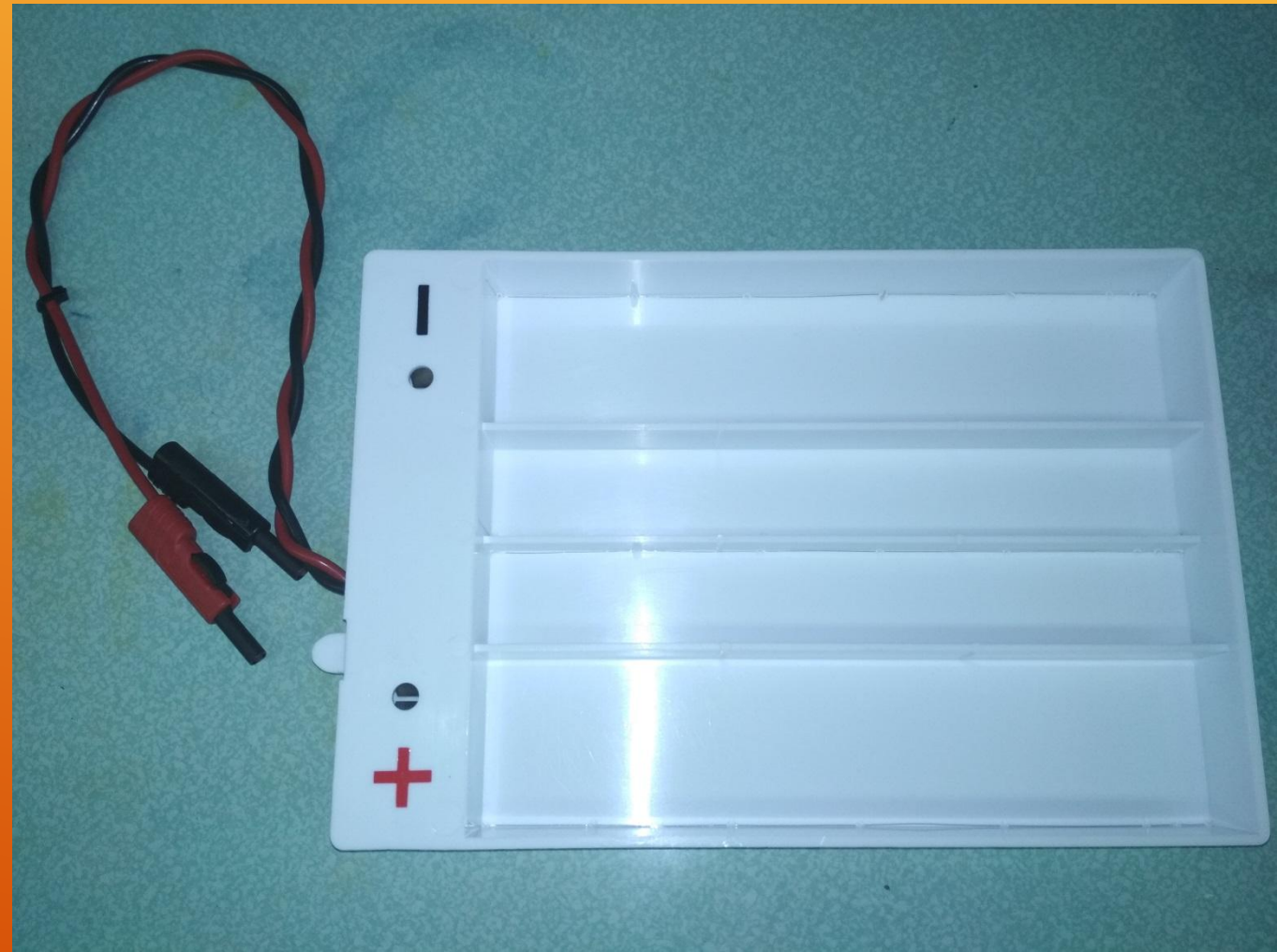
ОБОРУДОВАНИЕ

- ▶ Блок питания «Consort EV 1450»
 - Преобразование тока в постоянный;
 - Контроль времени
 - Выбор метода
 - Предупреждения завершения процесса



ОБОРУДОВАНИЕ

- ▶ Ручная камера для электрофореза «Titan Gel»



НАБОР ФИРМА HELENA «SAS-MX SP-10 KIT»

В набор входят:

- Гелевая пластинка (Electrophoresis Gel)
- Краситель (Acid blue stain)
- Буферный р-р (Tris barbital buffer)
- Отмывочный р-р (Destain)
- Блотеры (Blotter C,A)
- Аппликатор (Sample Application template 4)

ГЕЛЕВАЯ ПЛАСТИНКА (10 ПРОБ)





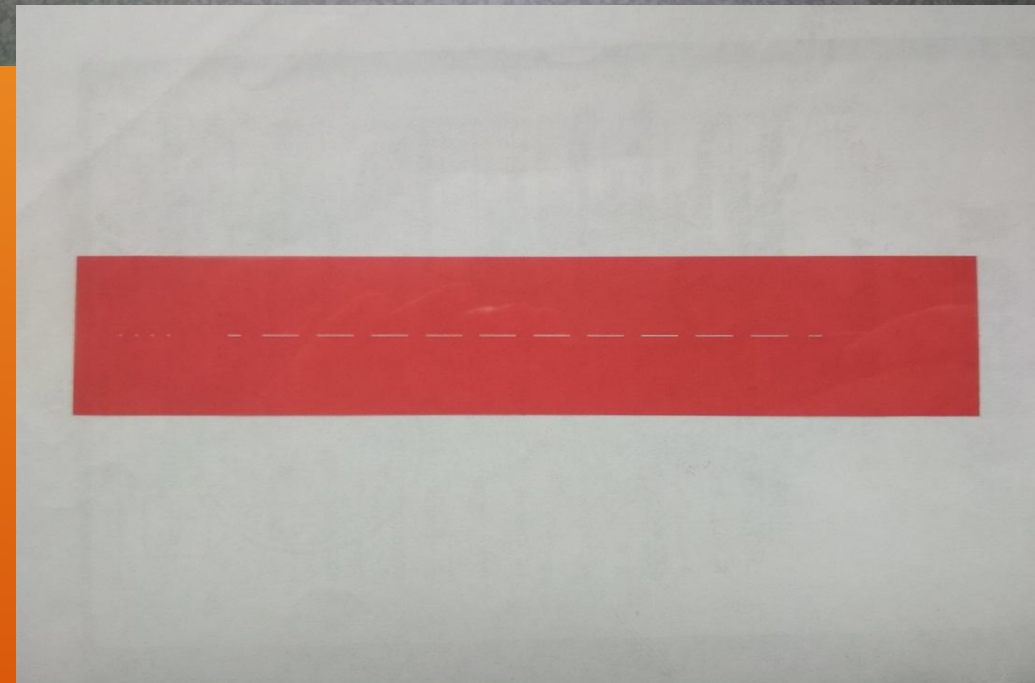
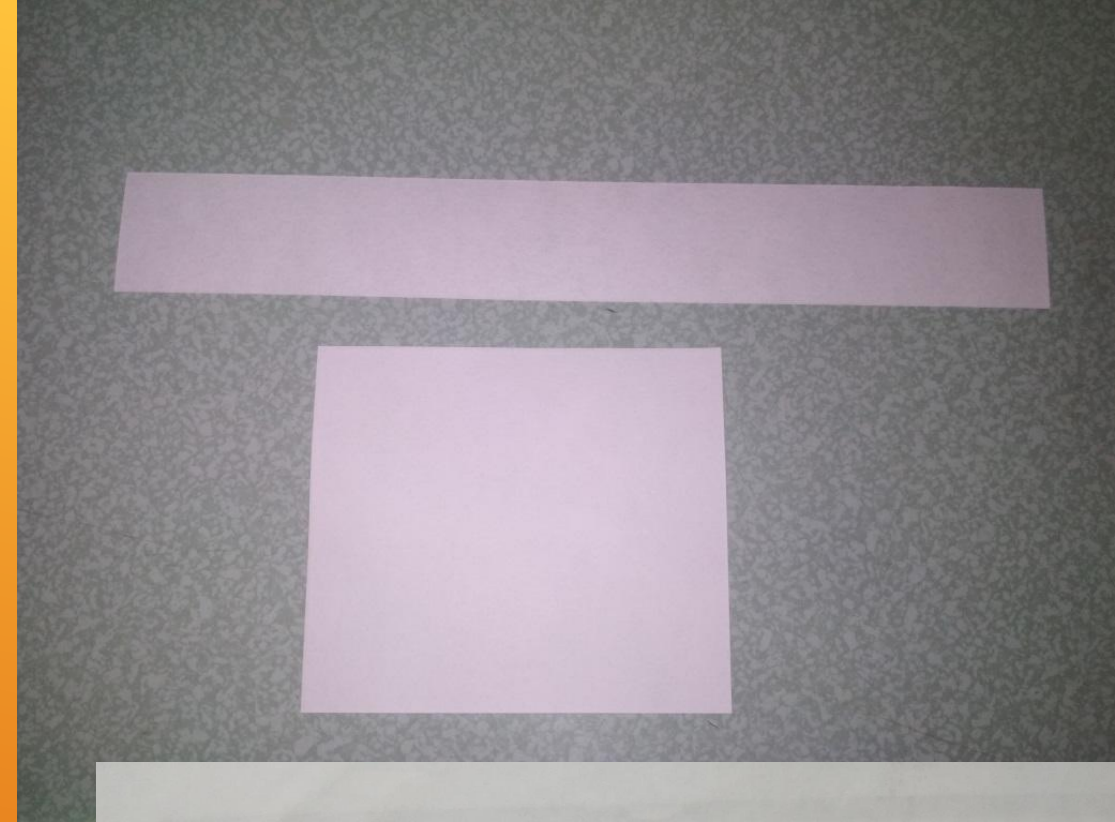
КОМПЛЕКТУЮЩИЕ

Блотеры А,С

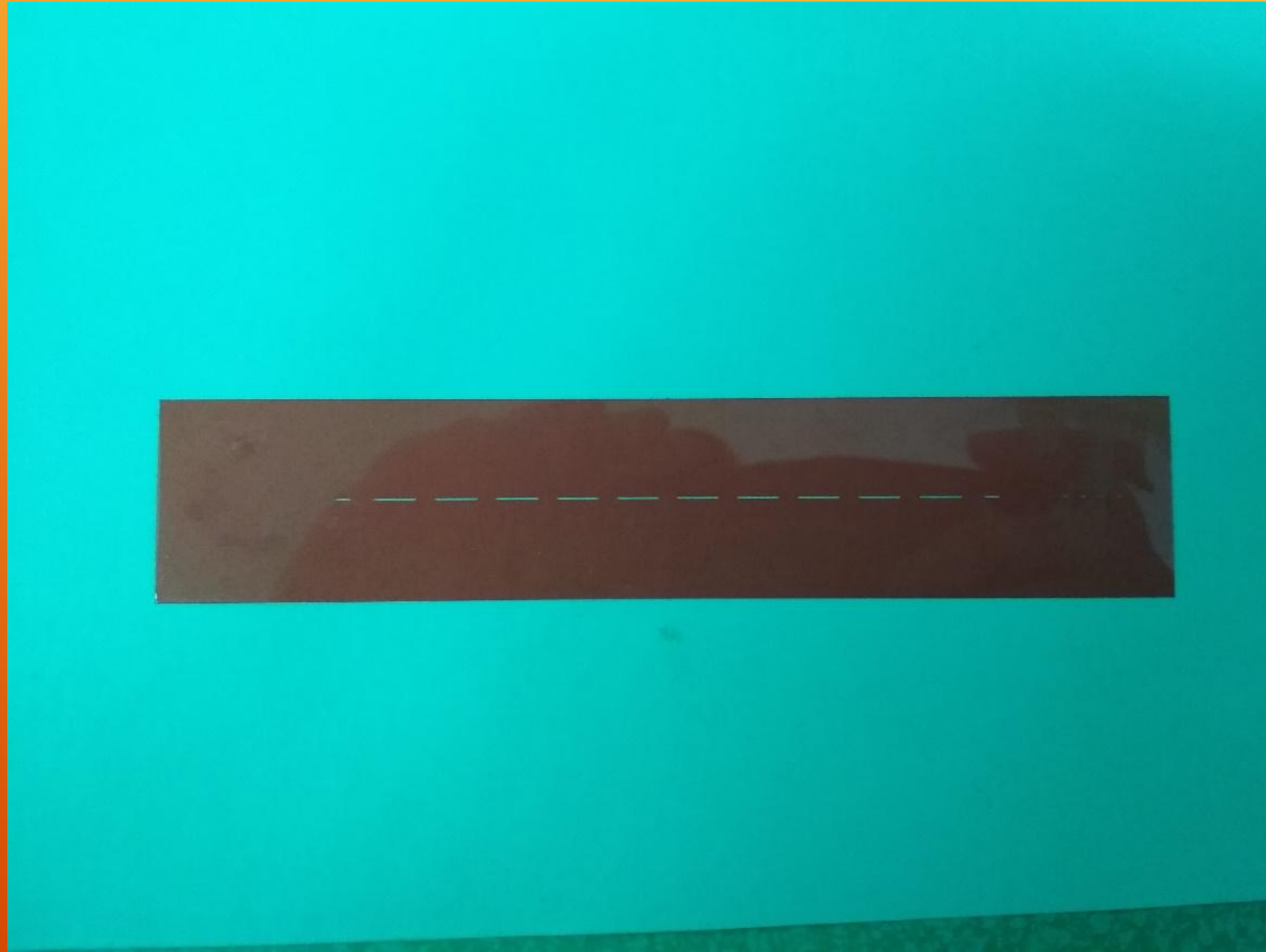
- удаление лишней влаги в геле;
- Удаление избыточного количества биологического материала нанесенных образцов;

Апликатор:

- Точное нанесение биологического материала
- Точное разделение образцов



АПЛИКАТОР



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ

1. Внимаем гель з герметизированной упаковки ,покласть на бумажное полотенце, промочить его блоттером С.
2. Апликатор (для на несения образцов) выровнять со стрелками по краях геля «линия старта» и наложить поверх него блоттер А и протереть в доль лунок, для обеспечения хорошего прилегания. Снять блотер.
3. Внести 3 мкл образца в каждую лунку и оставит на 4 минуты для адсорбции
4. Внести 50 мл буферного р-ра в камеру,по 25мл в каждую внутреннюю часть.
5. После адбсорбции образцов, промокнуть блоттером А лунки для нанесения образца. Снять блотер и апликатор.
6. Поместить гель в камеру агарозой вниз установив положительную(+) и отрицательную(-) стороны согласно сположением в камере
7. Электрофорез гелю: 30 минут,80 вольт.

По завершению проведения электрофореза, прибор подаст звуковой сигнал (громкий и долгий)

- Правильность метода
- Точность
- Удобство в использовании



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ

8. По окончании электрофореза, гелевую пластинку достаем с камеры и помещаем в 96% этиловый спирт, время выдержки 10 минут.

9. После выдержки в спирте сушим гель. (**Сушка геля должна проводиться до полного высыхания геля!** 

Недостаточность высыхания приводит к :

неправильностью окрашивания геля! 

Недостаточностью окрашивания образцов! 

недостаточностью интерпретации результатов! 

Невозможностью интерпретации результатов! 

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ

10. Погрузить гель в краситель, время выдержки 10 мин., выбор красителя зависит от указаний и подбора его по методике, согласно инструкции. Но применяют иногда и другие, для сровнения или для улучшения качества окрашивания.

11. Погрузить в отмывающий р-ор 2раза по 1 минуте. Для лучшей отмывки по 2 минуты.

12. Высушить.

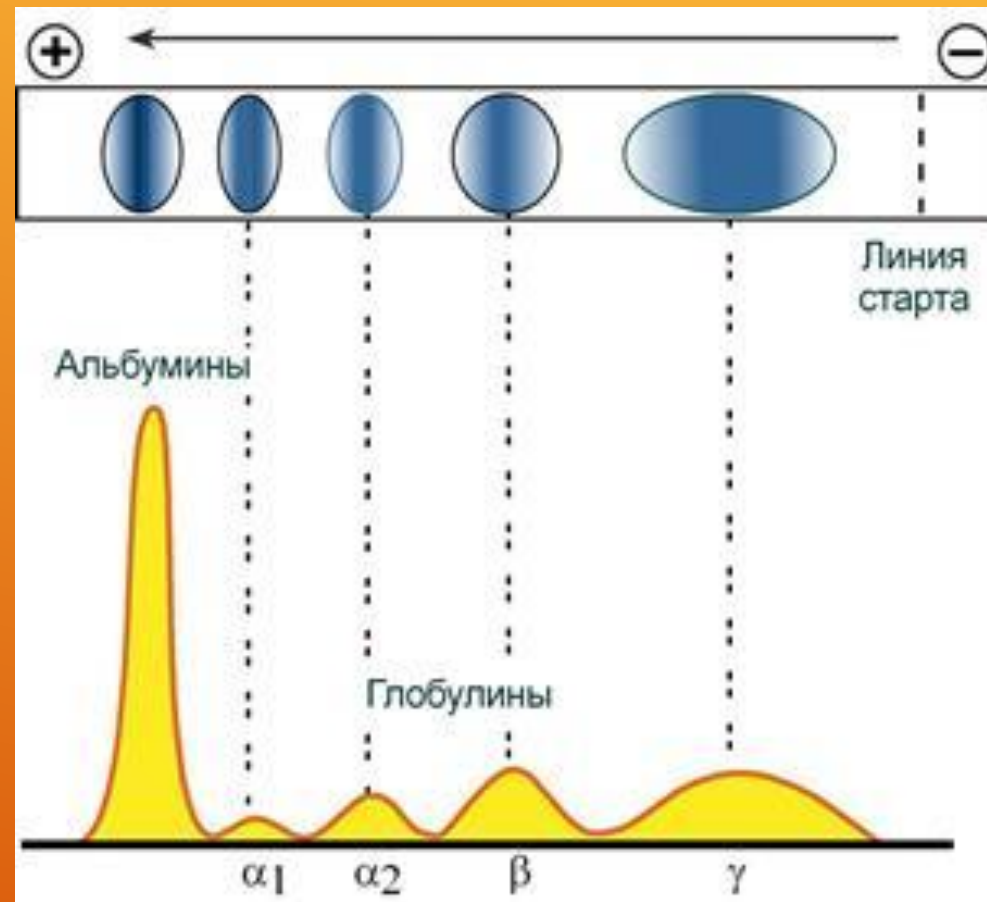


3D СКАНЕР (ДЛЯ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ)



НА ФОРЕГРАММЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ВЫДЕЛЯЮТ 5 ФРАКЦИЙ:

1. АЛЬБУМИНЫ;
2. А-1-ГЛОБУЛИНЫ;
3. А-2-ГЛОБУЛИНЫ;
4. В-ГЛОБУЛИНЫ;
5. Г-ГЛОБУЛИНЫ.





Альбумин	Альбумин Преальбумин
Альфа-1 глобулины	α1-антитрипсин, α1 антихемотрипсин, α1-гликопротеин, α1 липопротеин
Альфа-2 глобулины	Церулоплазмин, Альфа2-макроглобулин, Гаптоглобин
Бета-глобулины	Трансферрин, Бета-липопротеин, СРБ, С3 фактор комплемента, IgA, IgM
Гамма-глобулины	IgG, IgM, IgD, IgE

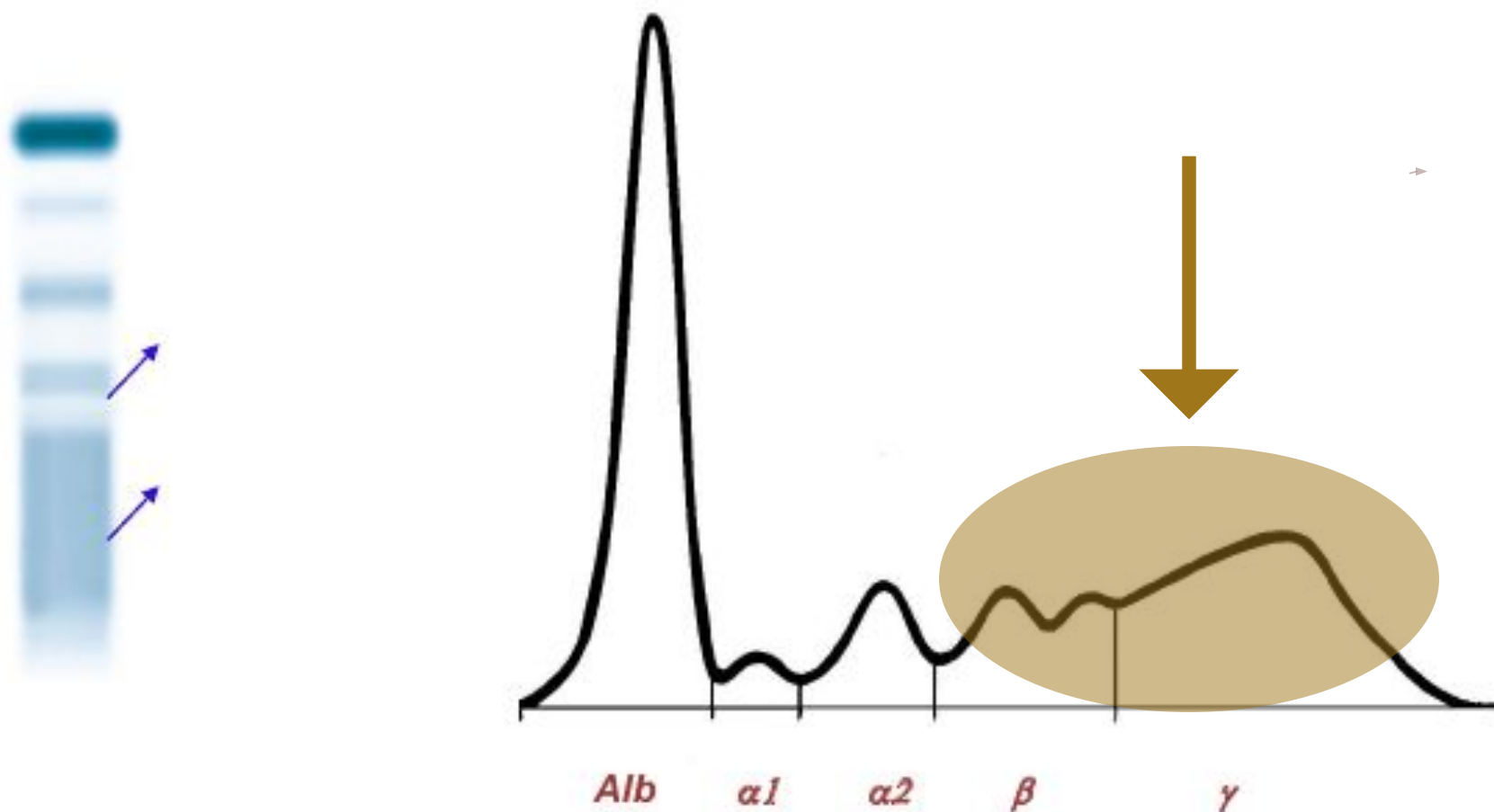
ПОДВИДЫ БЕЛКОВ И ИХ ФУНКЦИИ В ФРАКЦИЯХ

Фракция белка	белок	функция
Альбумины	Транстиретин	Транспорт тироксина и трийодтиронина
	Альбумин	Поддержание осмотического давления, транспорт жирных кислот, билирубина, жёлчных кислот, стероидных гормонов, лекарств, неорганических ионов, резерв аминокислот
α 1-Глобулины	α 1-Антитрипсин	Ингибитор протеиназ
	ЛПВП	Транспорт холестерина
	Кислый α 1-гликопротеин	Транспорт прогестерона
	Тироксинсвязывающий глобулин	Транспорт тироксина и трийодтиронина

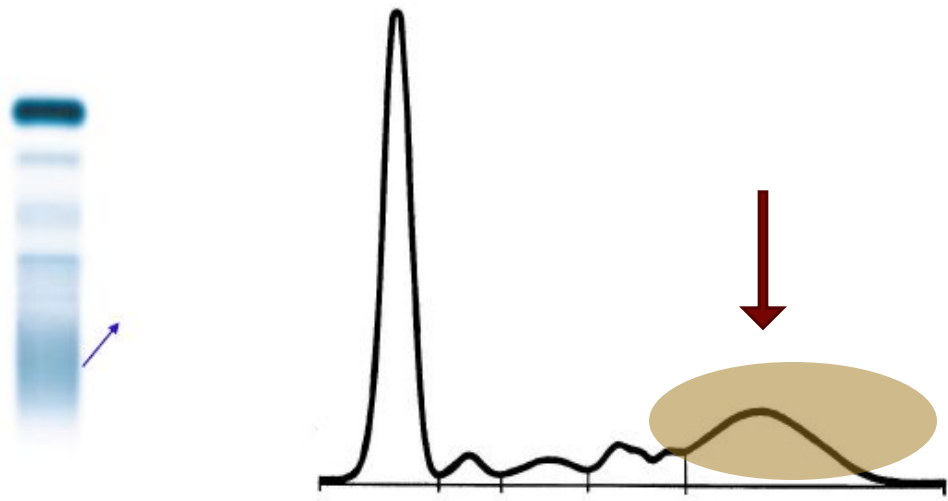
Фракция белка	Белок	Функция
α ₂ -Г лобулины	Церулоплазмин	Транспорт ионов меди, оксидоредуктаза
	Антитромбин III	Ингибитор плазменных протеаз
	Гаптоглобин	Связывание гемоглобина
	α ₂ -Макроглобулин	Ингибитор плазменных протеиназ, транспорт цинка
	Ретинолсвязывающий белок	Транспорт ретинола
	Витамин D связывающий белок	Транспорт кальциферола
β-Глобулины	ЛПНП	Транспорт холестерина
	Трансферрин	Транспорт ионов железа
	Фибриноген	Фактор I свёртывания крови

Фракция белка	Белок	Функция
	Транскобаламин	Транспорт витамина В12
	Глобулин связывающий белок	Транспорт тестостерона и эстрадиола
	С-реактивный белок	Активация комплемента
γ-Глобулины	IgG	Поздние антитела
	IgA	Антитела, защищающие слизистые оболочки
	IgM	Ранние антитела
	IgD	Рецепторы В-лимфоцитов
	IgE	Реагин

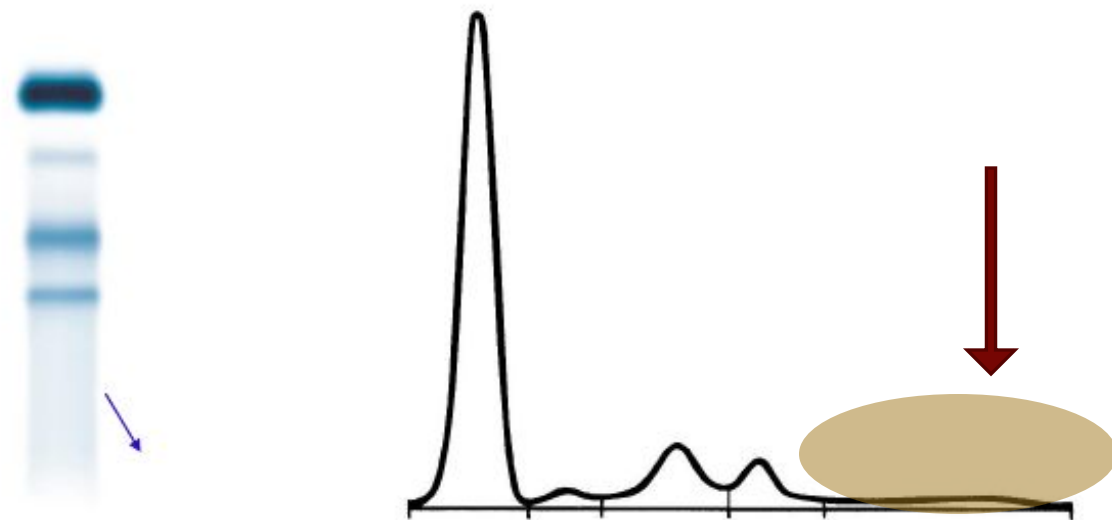
Увеличение фракции Бета: Бета-гамма блок при алкогольном циррозе



Изменения фракции Гамма: Гипергаммаглобулинемия



Изменения фракции Гамма: Гипогаммаглобулинемия



Какие показания для проведения электрофореза белков сыворотки в крови?

- Скрининговый тест до назначения биохимического анализа (в ряде западноевропейских стран – Италия, Франция и др.)
- Выполняется после биохимического анализа общеклинического анализа крови. Основные критерии для назначения:
 - Снижение концентрации общего белка в сыворотке крови < 60 г/л
 - Увеличение концентрации общего белка в сыворотке крови > 85 г/л
 - Снижение концентрации альбумина в сыворотке крови < 35 г/л
 - Увеличение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) неясного генеза >25 мм/ч

Когда значения повышены?

+ Альбумин:

- дегидратация;
- шок.

+ Фракция альфа1-глобулина (повышение альфа1-антитрипсина):

- патология паренхимы печени;
- острые и хронические воспалительные процессы (инфекции и ревматические заболевания);
- опухоли;
- травма и хирургические вмешательства;
- беременность (3 триместр);
- прием андрогенов;

+ Фракция альфа2-глобулина:

- повышение альфа2-макроглобулина (нефротический синдром, гепатит, цирроз печени, прием эстрогенов и оральных контрацептивов, хронический воспалительный процесс, беременность);
- повышение гаптоглобина (воспаление, злокачественные опухоли, некроз тканей).

+ Фракция бета-глобулина:

- первичные и вторичные гиперлиппротеинемии;
- моноклональные гаммапатии;
- прием эстрогенов, железодефицитная анемия (повышение трансферрина);
- беременность;
- механическая желтуха;
- миелома (IgA-тип).

+ Фракция гамма-глобулина:

- хроническая патология печени (хронический активный гепатит, цирроз);
- хронические инфекции, саркоидоз, паразитарные инвазии;
- аутоиммунные заболевания (ревматоидный артрит, системная красная волчанка);
- лимфопролиферативные заболевания (миелома, лимфома, макроглобулинемия Вальденстрема).

Когда значения понижены?

- Альбумин:

- нарушения питания;
- синдром мальабсорбции;
- болезни печени и почек;
- опухоли;
- коллагенозы;
- ожоги;
- гипергидратация;
- кровотечения;
- анальбуминемия;
- беременность.

- Фракция альфа1-глобулина(повышение альфа1-антитрипсина):

- наследственный дефицит альфа1 -антитрипсина;
- болезнь Танжера (нарушение метаболизма липопротеидов).

- Фракция альфа2-глобулина:

- снижение альфа2-макроглобулина (панкреатит, ожоги, травмы);
- снижение гаптоглобина (гемолиз различной этиологии, панкреатит, саркоидоз).

- фракция бета-глобулина:

- гипо- β -липопротеинемии;
- дефицит IgA.

- Фракция гамма-глобулина:

- иммунодефицитные состояния;
- прием глюкокортикоидов;
- плазмаферез;
- беременность