



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



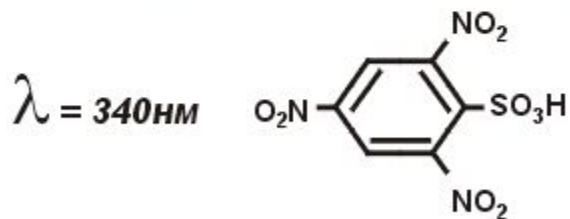
Методы определения концентрации белка сыворотки *крови, мочи*

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

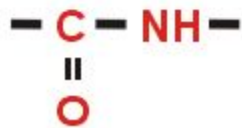
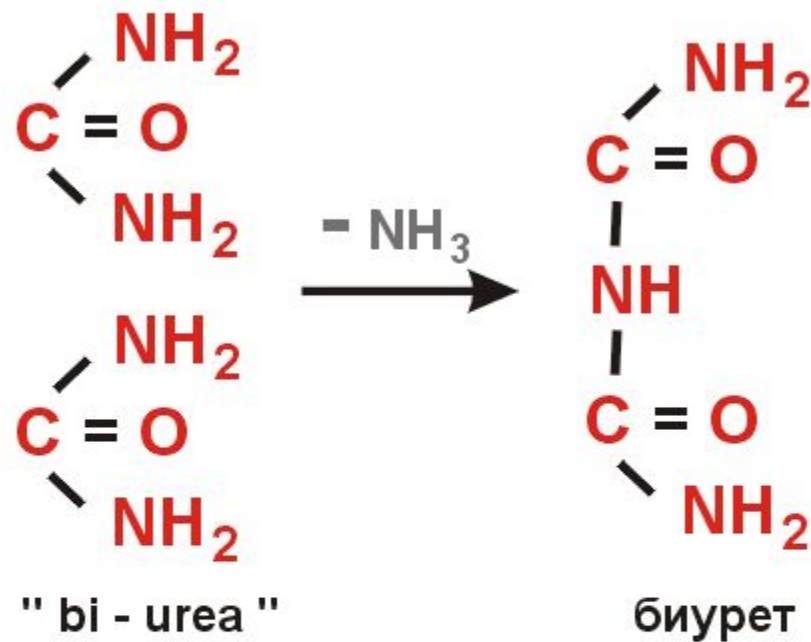
3. Методы, основанные на специфической сорбции некоторых красителей поверхностью белковых молекул

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

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

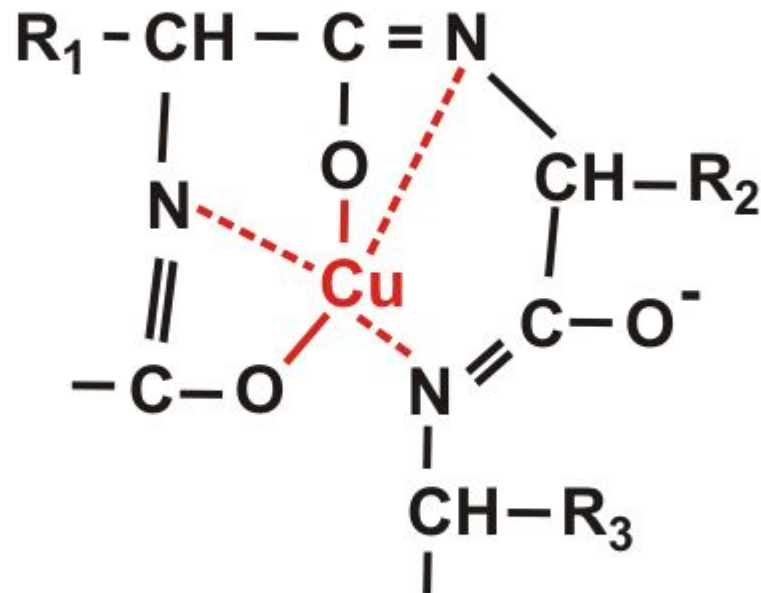
Понсо S (*кислотный красный, Ponceau S*)

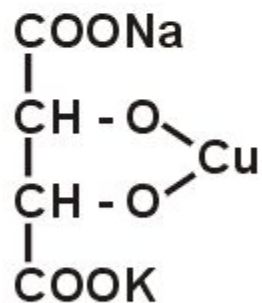
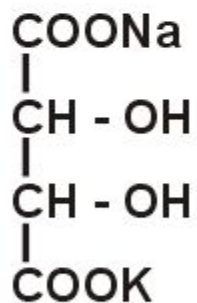
Бромфеноловый синий (БФС, тетрабромфенолсульфофталеин)





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
 $x_1 = 0,02$ г

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

III. Если $A_{ст.} = A_{пр.}$
2мг - 0,1мл сыворотки
 x_4 - 1000мл сыворотки
 $x_4 = 20000$ мг/л = 20г/л

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



Белки плазмы крови

N: 65-85 г/л

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

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

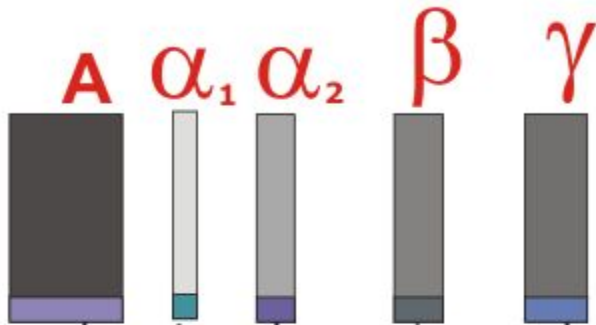
90 мг % глюкозы → ммоль/л ?

M_r глюкозы = 180

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



$A/\Gamma = 1,5 - 2,0$



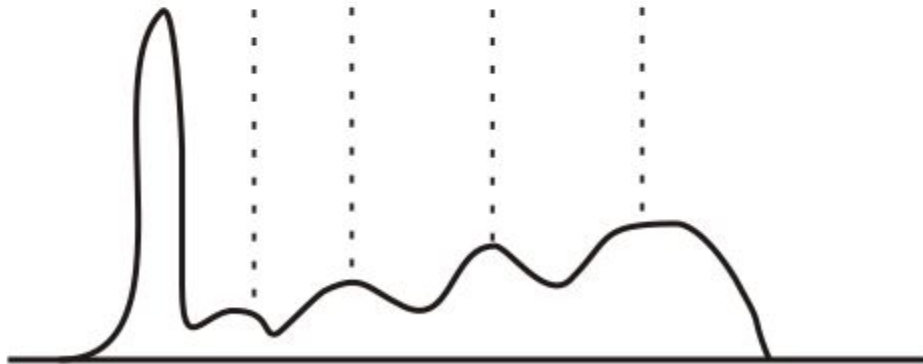
A : 50 - 62%

α_1 : 2,5 - 5,5%

α_2 : 6 - 10%

β : 9 - 15%

γ : 15 - 22%



Нормальные величины белковых фракций плазмы крови

Общий белок 65-85 г/л

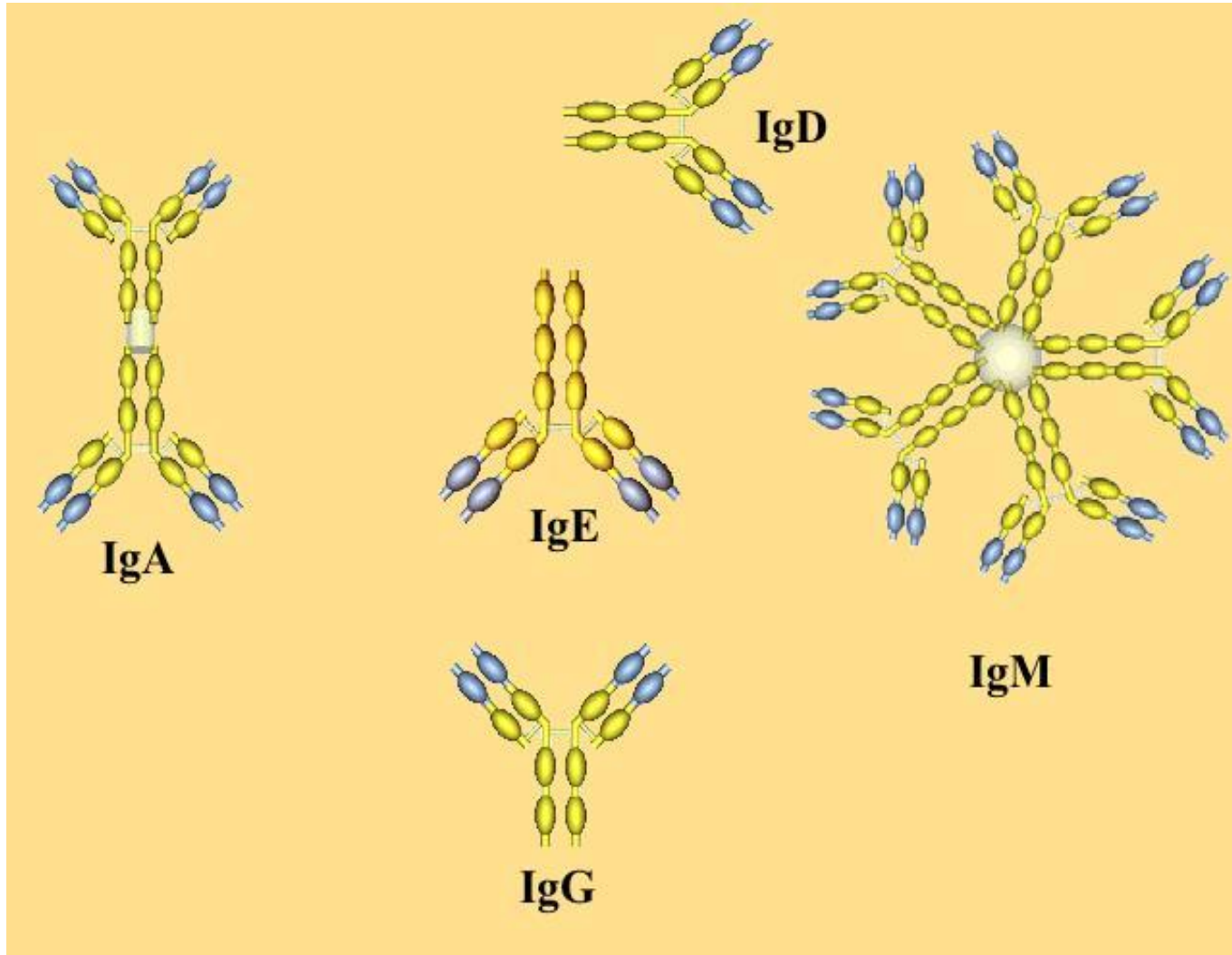
Белковые фракции

Альбумины	30-50 г/л	55-65%
α_1 -Глобулины	1-3 г/л	2- 4%
α_2 -Глобулины	6-10 г/л	6-12%
β -Глобулины	7-11 г/л	8-12%
γ -Глобулины	8-16 г/л	12-22%

Функции белков крови

№	Функция	Белки
1.	поддержание коллоидно-осмотического давления	альбумин
2.	регуляция кислотно-основного состояния	альбумин, гемоглобин
3.	транспорт ионов и органических веществ	альбумин и специфические транспортные белки
4.	поддержание вязкости и реологических свойств крови	альбумин и белки свертывающей системы
5.	свертывание крови	фибриноген, протромбин, антигемофильный глобулин и др.
6.	иммунная и неспецифическая защита	иммуноглобулины, факторы системы комплемента, трансферрин, пропердин, белки острой фазы
7.	резерв аминокислот	альбумин

Схема строения иммуноглобулинов



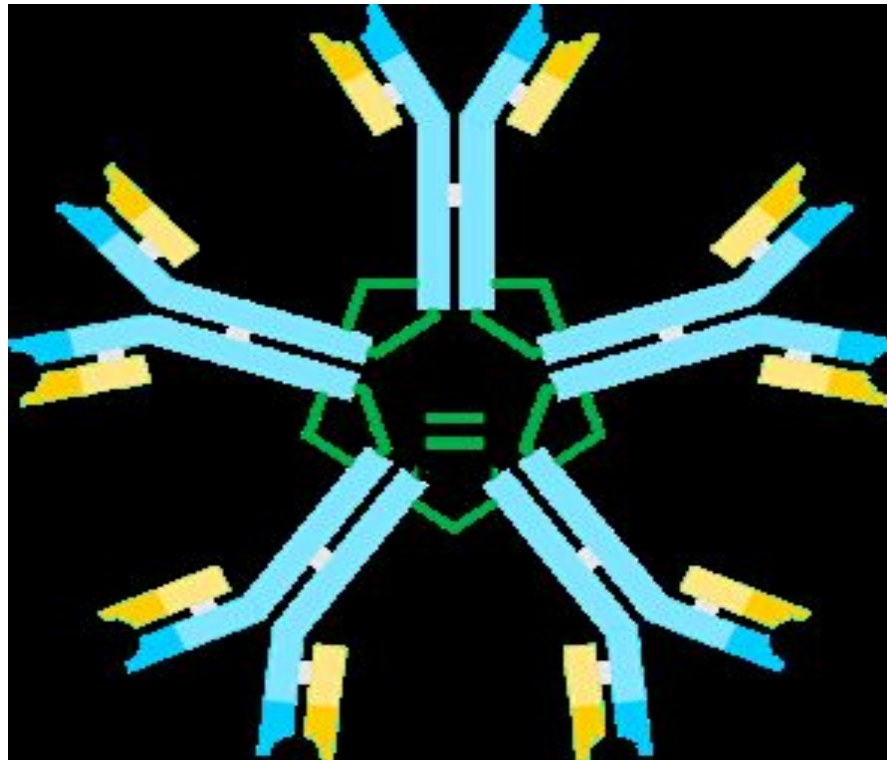
Причины гипопроотеинемии:

- 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.

Макроглобулинемия Валденстрема --
лимфопролиферативное заболевание, сопровождающееся
экспансией клона В-лимфоцитов и биосинтезом
моноклональных IgM.





2004