

Идентификацию белковых фракций проводят путём сравнения электрофореграммы испытуемых образцов с электрофореграммой контрольной сыворотки для контроля качества электрофоретического разделения белковых фракций. Сыворотка должна разделиться не менее, чем на 5 фракций в следующей последовательности от линии старта: альбумин, α_1 - и α_2 -глобулины, β -глобулин и γ -глобулин. После проведения электрофореза проводят количественное определение фракций иммуноглобулина путём извлечения краски из плёнки элюирующим раствором с последующим колориметрированием или путём денситометрии электрофореграмм.

Количественное определение фракций иммуноглобулина

Колориметрическое определение. Извлечение краски каждой фракции проводят в 3 мл элюирующего раствора с 2-х параллельных электрофореграмм. Элюцию проводят в течение 40 мин при многократном встряхивании. Оптическую плотность полученного элюата измеряют на спектрофотометре при длине волны 620 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм по отношению к элюату неокрашенного участка электрофореграммы. Сумму оптических плотностей всех белковых фракций принимают за 100% и рассчитывают процентное содержание каждой фракции препарата иммуноглобулина.

Денситометрическое определение. Электрофореграммы исследуемых образцов высушивают между листами фильтровальной бумаги в полиэтиленовом пакете (такие условия высушивания исключают деформацию плёнки). Высушенные плёнки просветляют вазелиновым маслом, пропитывая их таким образом, чтобы в плёнке не остались пузырьки воздуха. Для этого плёнку следует держать горизонтально и нижней поверхностью осторожно касаться масла. Избыток вазелинового масла удаляют, промокая плёнку между листами фильтровальной бумаги.

Фракции иммуноглобулина записываются денситометром в виде пиков. Величина площади каждого пика пропорциональна количеству