

Metoda: Elektroforéza bílkovin krevního séra

Olga Soukupová, ZL2

Princip metody a její úskalí:

Elektroforéza (ELFO) spočívá v migraci elektricky nabitých částic ve stejnosměrném elektrickém poli. Směr pohybu molekul bílkovin v elektrickém poli závisí na pH pufru a na isoelektrickém bodu bílkoviny. Pozitivně nabitě molekuly proteinů se lépe adsorbují než negativně nabitě molekuly, a proto při elektroforéze proteinů jsou využívány negativní náboje. Některé elektroforetická dělicí média absorbují hydroxylové skupiny z dělicího pufru za vzniku fixního negativního náboje. Tato vlastnost je odpovědná za vznik jevu, který se označuje jako elektroendoosmóza. Fixní negativní náboj je obklopen mobilními pozitivními ionty dělicího pufru. Působením elektrického proudu se pozitivně nabitě částice pohybují ke katodě a spolu s nimi i molekuly vody (endoosmotický efekt). Elektroendoosmóza se silně projevuje u papíru, acetátu celulózy a nečištěné agarózy. Je méně vyjádřená při použití polyakrylamidu a čištěné agarózy.

Uplatnění metody:

Elektroforéza umožňuje rozdělit bílkoviny krevního séra na 5 až 6 frakcí. Jsou to albumin a globuliny α_1 , α_2 , β (často β_1 a β_2) a γ .

Zóna albuminu. Hypoalbuminémie je častý nález u různých chorob; k jejím příčinám patří: snížená syntéza u těžké hepatopatie či proteinové malnutrice; zvýšený katabolismus u nemocných s akutními záněty, nádory; zvýšené ztráty, nejčastěji ledvinami do moči.

Zóna α_1 -globulinů. Tuto zónu ovlivňuje především α_1 -antitrypsin, vzniká v játrech a uplatňuje se jako účinný inhibitor proteolytických enzymů.

Zóna α_2 -globulinů. Na vytváření této zóny se podílejí především dvě bílkoviny – α_2 -makroglobulin a haptoglobin.

Zóna β_1 -globulinů. Tvar a intenzita zbarvení je ovlivněna prakticky pouze transferinem

Zóna β_2 -globulinů. Na vytváření této zóny se podílí C3 složka komplementu.

Zóna γ -globulinů, která je ovlivněna koncentracemi čtyř podtříd IgG.

Potřebné přístrojové vybavení:

Uspořádání klasické elektroforetické sestavy předpokládá použití elektroforetické vany se dvěma oddělenými zásobníky separačního pufru. Katodický a anodický prostor obsahují elektrolyty, jež jsou vodivě spojeny s plochou, na které dělení probíhá. Do prostorů s elektrolytem jsou vloženy elektrody (katoda, anoda), na něž je ze zdroje vkládáno stejnosměrné elektrické napětí. Odvod tzv. Joulova tepla vznikajícího průtokem elektrického proudu elektrolytem bývá obvykle zajištěn chlazením spodní části desky se separačním médiem.

Podmínky odběru a transportu materiálu:

Vyšetření elektroforézou se provádí ze séra, z plazmy, popřípadě také z moče. Výsledek je k dispozici obvykle týž den.