



SEMMELWEIS EGYETEM

Orvosi Biokémiai Intézet
1094 Budapest, Tűzoltó u. 37-47.

SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS

Fehérje koncentráció meghatározása

Készítette:

2009.01.19.

Dr. Kolev Kraszimir
részlegvezető

Dátum

Jóváhagyta:

2009.01.19.

Dr. Kolev Kraszimir
részlegvezető

Dátum

MIR szempontból
ellenőrizte:

2009.01.19.

Dr. Kolev Kraszimir
minőségirányítási vezető

Dátum

A dokumentáció kódja:	SE-OBI-H-MU-05
Változat száma:	01
Érvénybelépés időpontja:	2009.01.19.
Oldalak száma:	6
Mellékletek száma:	0

Nyilvántartott példány:

Munkapéldány:

A példány sorszáma:

Ezen Szabványműveleti előírás a **Semmelweis Egyetem** szellemi tulajdona.
Továbbadása, sokszorosítása írásos engedélyhez kötött. A Munkautasításban szereplő információt csak a minőség- és környezetirányítási rendszer működtetéséhez lehet felhasználni.



SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS

FEHÉRJE KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁS

MÓDOSÍTÁSOK JEGYZÉKE

Módosította Dátum/Aláírás	Módosított oldalszám	Jóváhagyta Dátum/Aláírás	Ellenőrizte Dátum/Aláírás	Kibocsátás időpontja



SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS

FEHÉRJE KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁS

TARTALOMJEGYZÉK

A SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS CÉLJA	4
A SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS ÉRVÉNYESÉGI TERÜLETE.....	4
ILLETÉKESÉG ÉS FELELŐSSÉG MEGHATÁROZÁSA.....	4
A SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS LEÍRÁSA	5



SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS

FEHÉRJE KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁS

A SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS CÉLJA

Összefoglalja a rutinszerűen alkalmazott technológiai eljárás részleteit.

A SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS ÉRVÉNYESÉGI TERÜLETE

Orvosi Biokémiai Intézet Hemosztázis részlege.

ILLETÉKESÉG ÉS FELELŐSSÉG MEGHATÁROZÁSA

A dokumentum kidolgozásáért felelős:

Részlegvezető

A dokumentum alkalmazásáért felelős:

Kutatók, oktatók

A dokumentumban foglaltak végrehajtásáért felelős:

Laborasszisztensek.

A dokumentumban szabályozott tevékenység rendszer felülvizsgálat alkalmával történő felülvizsgálatáért felelős:

A Minőségirányítási vezető



SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS

FEHÉRJE KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁS

A SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS LEÍRÁSA

I. LOWRY-FÉLE FEHÉRJE MEGHATÁROZÁS

Oldat”A”: 4% Na₂CO₃ 0.2 N NaOH-ban (tárolás szobahőn 1 hónapig)

Oldat”B”: 0,5% CuSO₄ + 1% K⁺/Na⁺ tartrát (tárolás szobahőn 1 hónapig)

Mérés előtt készítendő:

Oldat”C”: 50 ml “A” + 2 ml “B” (használat 10’ állás után)

Az alábbi standard oldatokat és a mintákat 3 párhuzamban kell összeállítani:

5-15-25-50 µl 1 g/l bovin szérum albumun (BSA) oldatot vagy “x” µl fehérje mintát 0,5 ml-re
kiegészíteni deszt. vízzel

0,5 ml fehérje oldat + 0,5 ml “C”
inkubáció 10’

+0,1 ml Folin-reagens 30’ inkubáció

Leolvasás üvegküvetében a Beckman DU7500 fotométeren 750 nm-en.

Az ismeretlen fehérjekoncentrációt a BSA sorozathoz készült lineáris regresszió alapján kerül meghatározásra.

Figyelem: a HEPES is pozitív reakciót ad!

J Biol Chem 1951; 193: 265-275



SZABVÁNYMŰVELETI ELŐÍRÁS

FEHÉRJE KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁS

II. FLUORESCAMINE FEHÉRJE MEGHATÁROZÁS

-microplate-be bemérjük a következő oldatokat

50 µl 10/30/50/100/1000 µg/ml BSA-t (3 párhuzamban vízben feloldva)

+

150 µl 50 mM Na₂HPO₄/NaH₂PO₄ pH 8.00

+

50 µl 1.08 mM fluorescamine (acetonban feloldva)

Mérés Victor3 fluoriméteren (Protein módszerrel, mindig be kell állítani melyik cellát mérje!)

(Protein módszer: shaking 1 min., Ex: 400 nm, Em: 460 nm, counting time 0.1 s, lamp energy 10000)

Az ismeretlen fehérjekoncentrációt a BSA sorozathoz készült lineáris regresszió alapján kerül meghatározásra.

Anal Biochem 1993; 214:346-348