

Определение церулоплазмينا

Принцип метода определения церулоплазмينا основан на ферментативном окислении п-фенилендиамина церулоплазмином. Реакция останавливается добавлением фтористого натрия. По оптической плотности, образующихся окрашенных продуктов, судят о концентрации церулоплазмينا

Необходимая аппаратура:

- спектрофотометр с термостатируемым кюветным отделением;
- термостат;
- холодильник.

Необходимые реактивы:

- 0,5% раствор солянокислого п-фенилендиамина (500,0 мг солянокислого п-фенилендиамина растворяют в 99,5 мл дистиллированной воды);
- 0,4 М ацетатный буфер с рН 5,5 (54,44 г ацетата натрия NaCH_3COO растворяют в 1,0 л дистиллированной воды и 2,26 мл ледяной уксусной кислоты CH_3COOH доводят дистиллированной водой до 100,0 мл. Эти растворы перемешивают в соотношении 9:1 и хранят в холодильнике);
- 3,0% раствор фтористого натрия (3,0 г NaF растворяют в 97,0 мл дистиллированной воды, при появлении осадка – фильтровать).

Ход определения 50,0 мкл плазмы крови внести в две пробирки, одна из которых контрольная, а другая – опытная. В контрольную пробирку внести 1,0 мл фтористого натрия для ингибирования ферментной активности церулоплазмينا. Затем во все пробирки прилить по 4,0 мл ацетатного буфера и по 0,5 мл раствора п-фенилендиамина, встряхнуть и на 1 час поместить в термостат при температуре 37°C. После внести только в опытную пробирку 1,0 мл фтористого натрия и все пробирки на 30 минут поместить в холодильник при +4°C. Затем определить оптическую плотность при длине волны 530 нм в 10 мм кюветах (для каждой исследуемой пробы ставить свой контроль и по нему, который каждый раз необходимо обнулять).

	Контроль (мл)	Исследуемая проба (мл)
Плазма	0,05 (50,0 мкл)	0,05 (50,0 мкл)
Фтористый натрий	1,0	-
Ацетатный буфер	4,0	4,0
п-фенилендиамин	0,5	0,5
	Пробирки встряхнуть и на 1 час поместить в термостат при 37°C	
Фтористый натрий	-	1,0
	Пробирки встряхнуть и на 30 минут поместить в холодильник +4С	
	Определить оптическую плотность (для каждой пробы производить обнуление против собственного контроля)	

Биохимические методы исследования в клинике. Под редакцией А.А.Покровского. Изд. «Медицина». Москва. 1969. -652с. (345-349).