

## ЗАНЯТИЕ № 1 (лабораторная работа)

### ТЕМА: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ СВЯЗЫВАНИЯ БРОМКРЕЗОЛОВОГО ЗЕЛЕННОГО С АЛЬБУМИНОМ

1. Приготовить растворы БКЗ заданной молярной концентрации из 0,1 мМ рабочего раствора (С1-С6, от 0,01 до 0,1 мкМ/л).
2. Приготовить серию контрольных и опытных проб. В опытной пробе к 1.5 мл точного раствора БКЗ добавляется 75 мкл раствора альбумина. В контрольной пробе, вместо раствора альбумина берется дистиллированная вода.
3. Измерить оптическую плотность растворов при 625 нм. Оптическая плотность опытной пробы измеряется относительно соответствующей контрольной пробы.
4. Построить график зависимости  $D$  от  $D/[L]$  ( $D$  – оптическая плотность,  $L$  – концентрация лиганда). Рассчитать константы связывания.
5. Применить функции программы Excel в расчетах характеристик связывания и оценки аналитических ошибок. Добавить на график линию тренда и уравнение прямой с достоверностью уровня аппроксимации.
6. Попытаться объяснить влияние рН на параметры связывания БКЗ с альбумином.

### ПРОТОКОЛЫ

#### 1. Приготовление БКЗ с заданной молярной концентрацией

Конц-я БКЗ, [L] мкмоль/л	Цитратный буфер		Фосфатный буфер	
	V рабочего раствора БКЗ 0,1 ммоль/л	V буфера рН 4,4	V рабочего раствора БКЗ 0,1 ммоль/л	V буфера рН 7,4
10	1 мл	9 мл	1 мл	9 мл
20	1 мл	4 мл	1 мл	4 мл
40	2 мл	3 мл	2 мл	3 мл
60	3 мл	2 мл	3 мл	2 мл
80	4 мл	1 мл	4 мл	1 мл
100	5 мл	0 мл	5 мл	0 мл

#### 2. Изучение параметров связывания альбумина с БКЗ

Концентрация БКЗ [L], мкмоль/л	D опыта рН 4,4	D опыта рН 7,4
10		
20		
40		
60		
80		
100		