

регрессию для построения калибровочной кривой. На основании калибровочной кривой и оптической плотности испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.

В нормативных документах допускается изменение объемов испытуемого раствора и реактива Бредфорд при соблюдении линейной зависимости оптической плотности от концентрации белка при построении калибровочного графика.

Калибровочный график строят каждый раз при приготовлении новых реактивов или использовании другого спектрофотометра, но не реже 1 раза в 3 мес.

Примечание:

Приготовление реактива Бредфорд. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 0,05 г кислотного синего 90 (Кумасси бриллиантовый синий R-250), растворяют в 25 мл спирта 96%, прибавляют 50 мл фосфорной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают. Фильтруют и хранят в банках темного стекла при комнатной температуре. Если при хранении выпадает осадок красителя, перед использованием реактив необходимо профильтровать.

Срок годности 2 недели.

Метод 4 (Метод с бицинониновой кислотой, колориметрический)

Метод основан на восстановлении ионов меди Cu^{2+} до ионов меди Cu^{1+} при взаимодействии с остатками цистеина, цистина, триптофана, тирозина, пептидной связью белка и образовании окрашенного комплекса Cu^+ с бицинониновой кислотой (2,2'-бихинолин-4,4'-дикарбоновая кислота). Определению мешают восстанавливающие вещества: сахара, аскорбиновая кислота, тиоловые соединения, этилендиаминтетраацетат. Влияние мешающих веществ может быть минимизировано путем разведения, обеспечивающего концентрацию белка на уровне, достаточном для проведения точных измерений. В качестве альтернативы можно использовать методику осаждения белка, описанную в определении белка по методу Лоури. Поскольку интенсивность окраски образующегося комплекса зависит