

выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин. Прибавляют 0,1 мл 72 % раствора трихлоруксусной кислоты и перемешивают на вихревой мешалке. Осадок отделяют центрифугированием в течение 30 мин при 3000 g. Осторожно удаляют надосадочную жидкость, оставшийся осадок растворяют в 1 мл щелочного реактива меди. Далее поступают, как описано выше в методе Б.

При построении калибровочного графика стандартные растворы белка следует обрабатывать аналогичным способом.

В качестве раствора сравнения используют пробу, содержащую 0,1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, 0,9 мл воды, 5,0 мл реактива В и 0,5 мл разбавленного в 2 раза реактива Фолина.

Примечания:

1. Приготовление 0,15 % раствора натрия дезоксихолата. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,15 г натрия дезоксихолата и растворяют в воде. Объем раствора доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

2. Приготовление 72 % раствора трихлоруксусной кислоты. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 360 г трихлоруксусной кислоты и растворяют в воде. Объем раствора доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

Срок годности 72 % раствора трихлоруксусной кислоты 1 мес.

Метод 3 (Метод Бредфорд, колориметрический)

Данный метод основан на смещении максимума поглощения оптической плотности красителя кислотного синего 90 (Кумасси бриллиантовый синий R-250) от 470 нм до 595 нм, наблюдаемой вследствие связывания белка с красителем. Краситель наиболее активно связывается с остатками аргинина и лизина белка, что может приводить к погрешности при количественном определении различных видов белков. Белок, используемый в качестве стандартного образца, должен быть таким же, как испытуемый белок.

Существует относительно небольшое влияние интерферирующих веществ, которого можно избежать, не используя детергенты и амфолиты в