

определение чистоты – при нагрузке 40 мкг при окрашивании Кумасси бриллиантовым R250, а при окрашивании нитратом серебра достаточно 2–5 мкг белка на лунку.

Толщина гребенки выбирается точно в соответствии с толщиной используемых прокладок, а размер зубцов – в соответствии с предполагаемым объемом образцов. Необходимый и достаточный объем формируемой лунки определяется как произведение длины, ширины и высоты (в микрометрах) одного зубца гребенки: $V = L \cdot D \cdot H$.

Объем наносимого образца вычисляют следующим образом:

$$V_x = k \cdot X/C,$$

где: k – коэффициент разбавления пробы буферным раствором для образца;

X – требуемое для нанесения на гель количество белка в зависимости от целей анализа, в мкг;

C – концентрация общего белка, определяемая по методу Лоури, в мкг/мл.

Установка геля в прибор для электрофореза и процесс разделения

После окончания полимеризации аккуратно удаляют гребенку, немедленно ополаскивают лунку водой, чтобы удалить любые остатки неполимеризованного акриламида. Если необходимо, выправляют зубцы концентрирующего геля при помощи тупой подкожной иглы, насаженной на шприц.

Устанавливают гель в прибор для электрофореза согласно инструкциям изготовителя оборудования. Добавляют электродный буферный раствор в верхнюю и нижнюю буферные емкости. Обычно, если нет других указаний в фармакопейной статье, в качестве электродного буферного раствора используется трис-глициновый буферный раствор с рН 8,3-8,4.

Удаляют любые пузыри, которые могут появиться у основания геля между стеклянными пластинами. Не следует включать электрический ток до внесения образцов, так как это уничтожит неоднородность буферных систем.

Готовят испытуемый раствор и раствор сравнения в рекомендованном