

20 нмоль испытуемого образца белка. Для прекращения реакции прибавляют избыток 2-меркаптоэтанола. Обессоливают белок/пептид методом обращенно-фазовой ВЭЖХ, собирая белковую/пептидную фракцию. Перед кислотным гидролизом собранный образец может быть высушен при помощи вакуумного центрифугирования. В процессе кислотного гидролиза полученный S-карбоксамидометилцистеин будет превращаться в S-карбоксиметилцистеин.

МЕТОД 10

Цистеин/цистин, прореагировавший с дитиогликолевой кислотой или дитиодипропионовой кислотой, образует смешанный дисульфид. Выбор дитиогликолевой кислоты или дитиодипропионовой кислоты зависит от требуемого разрешения пиков в хроматографической методике аминокислотного анализа.

Восстанавливающий раствор. Раствор 10 г/л дитиогликолевой кислоты (или дитиодипропионовой кислоты) в 0,2 М растворе натрия гидроксида.

Методика. Около 20 мкг испытуемого образца помещают в ампулу для гидролиза и прибавляют 5 мкл восстанавливающего раствора. Прибавляют 10 мкл изопропилового спирта и удаляют всю жидкость из образца при помощи вакуумного центрифугирования. Образец гидролизуют, используя Метод 1. Преимущество данного метода заключается в том, что остатки других аминокислот не участвуют в побочных реакциях, а образец не нуждается в обессоливании перед гидролизом.

МЕТОД 11

Аспарагин и глутамин в процессе кислотного гидролиза превращаются в аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту, соответственно. Аспарагин и глутамин в составе белков/пептидов могут взаимодействовать с бис-(1,1-трифторацетокси)-йодбензолом, что при последующем кислотном гидролизе