

краски, соединившейся с белком. С помощью автоматического интегратора площадь каждого пика вычисляют по формуле площади прямоугольника ($h \cdot d$, где h – максимальная высота пика, d – ширина пика). Сумма площадей всех пиков фракций иммуноглобулина принимается за 100% и вычисляется процентное содержание каждой фракции в испытуемом препарате иммуноглобулина.

Примечания

1. Подготовка плёнки из ацетата целлюлозы. Плёнку смачивают в барбиталовом буферном растворе и гладкой стороной помещают в кювету на поверхность буферного раствора на 2 мин, а затем пинцетом погружают на дно кюветы и выдерживают 5 мин. После этого плёнку вынимают пинцетом, избыток влаги удаляют между листами фильтровальной бумаги и заправляют в рамку, избегая неравномерного натяжения и провисания.

2. Подготовка испытуемых образцов. Испытуемые образцы предварительно обрабатывают 0,05% раствором красителя – бромфенолового синего, используемого для отслеживания продвижения и распределения белковых фракций препарата иммуноглобулина в процессе электрофореза. В пробирку типа Эппендорф помещают 100 мкл испытуемого образца и 10 мкл 0,05% раствора бромфенолового синего и перемешивают. Окрашенные испытуемые образцы в объеме 2-4 мкл помещают в каждую лунку лотка.

3. Приготовление барбиталового буферного раствора (рН 8,4)*. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 8,5 г натрия барбитала, растворяют в 600-700 мл воды очищенной, прибавляют 11 мл 1М раствора хлористоводородной кислоты, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают.

*Вместо барбиталового буферного раствора можно использовать любой другой коммерческий буферный раствор с известным значением рН.

4. Приготовление 1М раствора хлористоводородной кислоты. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 85 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, доводят объём раствора до метки и перемешивают.

5. Приготовление красителя. К 0,5 г амидочёрного 10 Б прибавляют 10 мл уксусной кислоты ледяной, 3 г трихлоруксусной кислоты и 90 мл этилового спирта и перемешивают. Для полного растворения краситель оставляют на 24 ч. Перед использованием раствор красителя перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр.

6. Приготовление раствора для отмывки электрофореграмм. В мерный цилиндр вместимостью 1000 мл помещают 40 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 700 мл воды очищенной и перемешивают. Затем объём раствора доводят водой очищенной до метки и вновь перемешивают.