

компонента должно быть предусмотрено применение контрольных образцов с концентрацией, соответствующей пределу количественного определения примеси.

Оборудование

Прибор для проведения изоэлектрофокусирования состоит из:

- высоковольтного источника питания с программой, специально разработанной для изоэлектрофокусирования в полиакриламидных гелях, с максимальным напряжением не менее 3000 В, током 300 мА и мощностью 300 Вт;
- электрофорезной камеры из жесткой пластмассы, содержащей охлаждающую пластину из соответствующего материала для поддержания геля;
- платиновых электродов, которые соединяются с гелем посредством электродных (бумажных или гелевых) полосок необходимой ширины, длины и толщины, пропитанных анодным и катодным буфером.

Изоэлектрофокусирование в полиакриламидных гелях

Форма для приготовления полиакриламидного геля состоит из двух стеклянных пластин, пластикового листа, прокладок (спейсеров) и зажимов, скрепляющих всю конструкцию.

Для метода изоэлектрофокусирования используют гели с максимальной пористостью и достаточной механической прочностью. Эти свойства зависят от относительного содержания акриламида и бисакриламида (используемые для сшивки гелей).

Поскольку молекулярная масса большинства известных белков не превышает 200000 Да возможно использование 7,5% гелей.

Примечания

1. Приготовление основного 30 % раствора акриламида. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 29,1 г акриламида и 0,9 г метиленбисакриламида, прибавляют 70 мл воды деионизованной, перемешивают до полного растворения, доводят объем раствора