

- использование различного количества наносимых на гель проб;
- изменение условий переноса белков с геля на мембрану, включая изменение используемого оборудования;
- изменения состава буферных растворов;
- изменение способа детекции исследуемого вещества.

Примечания

Буферный раствор для переноса белков pH 8,3. Если нет иных указаний в фармакопейной статье или нормативной документации, используют один из описанных ниже способов приготовления растворов (см. Вариант 1 и Вариант 2). Раствор для переноса можно использовать 2-3 раза. Раствор хранят в течение 6 мес при температуре от 4 до 8 °С.

Вариант 1. В градуированный химический стакан вместимостью 3000 мл помещают 7,86 г трис(гидроксиметил)аминометана, 33,75 г глицина, добавляют до 2400,0 мл деионизованной воды и перемешивают на магнитной мешалке до полного растворения. Измеряют pH, который должен быть равен 8,3 – 8,4 (доводить pH раствора кислотой или щелочью не допускается). Добавляют 600,0 мл спирта и перемешивают.

Вариант 2. В градуированный химический стакан вместимостью 1000 мл помещают 5,8 г трис(гидроксиметил)аминометана, 2,9 г глицина, 11,55 мл 10 % раствора натрия додецилсульфата, добавляют 800,0 мл деионизованной воды и перемешивают на магнитной мешалке до полного растворения, измеряют pH (8,3-8,4). Добавляют 200,0 мл 100 % метанола и перемешивают. Если используется PVDF-мембрана, то натрия додецилсульфат из буферного раствора исключают, а количество спирта уменьшают до 100,0 мл, увеличивая тем самым объем добавляемой воды до 900,0 мл.

Фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ), pH 7,2 (если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации). В градуированную емкость наливают 4500,0 мл деионизованной воды и последовательно прибавляют: 40,0 г натрия хлорида, 1,0 г калия хлорида 5,75 г натрия фосфорнокислого двузамещенного 2х-водного, 1,0 г калия фосфорнокислого однозамещенного (каждую следующую соль прибавляют после полного растворения предыдущей). Устанавливают pH до 7,2 раствором 70 % ортофосфорной кислоты или раствором 45% натрия гидроксида. Доводят объем до 5000,0 мл деионизованной водой. Раствор фильтруют и хранят в течение 3 мес при температуре 4 - 8 °С.

Буферный раствор для отмывки. В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 5,0 мл 10 % раствора твин-20, доводят объем раствора до метки