

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
БИОМЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО
АГЕНТСТВА»
(ФГБУН НЦБМТ ФМБА России)**

Утверждаю

Директор

д.м.н. профессор

В.Н.Каркищенко

« » февраля 2019 г.



О Т Ч Е Т

**«Качественное и количественное изучение белкового состава продукта
SAUMAL Immune care»**

Ответственный исполнитель:  к.м.н., доцент М.Т.Гасанов

Светлые горы Московской области

2019

МЕТОДЫ ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА И ВЭЖХ-МС ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛОЧНЫХ БЕЛКОВ

В работе использовались следующие реактивы и материалы («Sigma», США): кумасси бриллиантовый голубой G-250, спирт этиловый, ортофосфорная кислота, натрия хлорид, натриевая соль дезоксихолевой кислоты, натрия этилендиаминтетраацетат двузамещённый, трис(гидроксиметил)-аминометан, 1М раствор дитиотреитола, 1 мМ раствор соляной кислоты, трипсин из свиной поджелудочной железы, эндопротеиназа Lys-C из *Lysobacter enzymogenes*. бычий сывороточный альбумин. («Agilent Technologies», США): фильтры центрифужные с диаметром пор 0,22 мкм в комплекте с микроцентрифужными пробирками вместимостью 2,0 мл – для ферментативного расщепления; калибровочный раствор для QTOF 6545XT – для калибровки масс-спектрометра. А также: ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ, метанол для ВЭЖХ (все «Merck», Германия); муравьиная кислота («Fluka», Германия) – для приготовления подвижных фаз.

Все растворители и реагенты были аналитической степени чистоты, растворы для подготовки проб готовили с использованием деионизованной воды.

Работу проводили с использованием следующего вспомогательного оборудования:

– для получения очищенной воды использовали установку для получения деионизованной воды «АКВАЛАБ» УВОИ-«МФ»-1812 («Медиана фильтр», Россия), имеющей сопротивление 18,2 МОм;

– для определения массы использовали шпатель металлический из нержавеющей стали 150 × 5 мм («Heinz Herenz Medizinal bedarf GmbH», Германия) и весы аналитические Sartorius Expert LE225D («Sartorius», Германия);

– для отбора жидкостей использовали дозаторы переменного объема 10-100; 100-1000; 1000-5000 мкл и наконечники для дозаторов вместимостью 0,1-10,0; 10,0-100,0; 50,0-1000,0; 1000,0-10000,0 мкл («Biohit», Германия);

– для подготовки проб использовали пробирки микроцентрифужные полипропиленовые «LoBindProtein» вместимостью 1,5 и 2,0 мл («Eppendorf», Германия), виалы стеклянные вместимостью 15 мл с герметично заворачивающимися крышками, виалы стеклянные с герметично заворачивающимися крышками вместимостью 2 мл, вставки стеклянные вместимостью 0,2 мл (все «Supelco», США), колбы мерные вместимостью 10 и 1000 мл («Duran», США), шкаф сушильный («СНОЛ», Россия), ванну ультразвуковую («Серьга», Россия), микрошриц 100 мкл («Hamilton», Швейцария), вибро-экстрактор VORTEX K-550 («IKA», Германия), термомиксер «Comfort Eppendorf» («Eppendorf», Германия);

– для хранения проб, реактивов и стандартных образцов использовали холодильник бытовой («Атлант», Беларусь) и морозильную камеру UF V 500 («Binder», Германия);

– для оценки наличия соединений пептидной или белковой природы спектроскопическим методом использовали спектрофотометр Multiscan GO (Thermo Scientific, США) с 96-луночными кюветами длиной 10 мм («Corning», США);

– оценку степени протеолиза проводили с использованием диодно-матричного детектора 1260 DAD HS Max-Light Cell, соединенного с высокоэффективным жидкостным хроматографом 1260 Infinity II Lab Bin Pump, оснащенного встроенным дегазатором, оборудованного системой автоматического ввода пробы Multisampler 1260, и блоком для термостатирования хроматографической колонки («Agilent Technologies» США);

– ВЭЖХ-МС/МС ВР анализ проводили с использованием жидкостного хроматографа модели 1260 Infinity II «Agilent Technologies», оснащенного насосом 2-х канальным дегазатором, оборудованного системой автоматического ввода пробы Multisampler 1260 Analytical head 100 µl с масс-спектрометрическим детектором QTOF 6545XT с электрораспылительной ионизацией при атмосферном давлении («Agilent Technologies» США),

