

## Метод Лоури

### (количественное определение белка)

Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. №1. P. 265-275.

### Проведение анализа

0,5 мл исслед. р-ра + 2,5 мл реактива С, перемешать  $\xrightarrow[темнота]{10'}$  + 0,25 мл реактива Фолина Е  $\rightarrow$   
 $\xrightarrow[комн. t^{\circ}]{30'}$  ОП<sub>750</sub>

Количество белка определяют по калибровочной кривой

### Приготовление реактивов

#### Реактив А

20 г Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> растворить в 1 л 0,1 н р-ра NaOH (4г NaOH растворить в 600 мл H<sub>2</sub>O и довести до 1 л водой)

#### Реактив В

10 г Na<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (или K<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>) + 300 мл H<sub>2</sub>O +  
5 г медного купороса (CuSO<sub>4</sub> • 5H<sub>2</sub>O) } довести до 1 л H<sub>2</sub>O

#### Реактив С

Реактив А + Реактив В = **50 : 1** (т.е. 50 мл реактива А + 1 мл реактива В)

Готовят перед определением, годен 1 день

#### Реактив Фолина

100 г вольфрамата натрия (Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> • 2H<sub>2</sub>O) }  
25 г молибдата натрия (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> • 2H<sub>2</sub>O) } растворить в 700 мл H<sub>2</sub>O +

50 мл 80 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (или 55 мл 72 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)<sup>1</sup> +100 мл конц. HCl  $\rightarrow$ к колбе присоединить обратный холодильник и смесь кипятить в течение 8 ч +150 г сернокислого лития (Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) + 50 мл H<sub>2</sub>O +5 капель бромной воды  $\rightarrow$ смесь кипятят без холодильника 15 мин под тягой, охладить, довести до 1 л водой, отфильтровать и хранить в темной склянке

Аликвоту готового раствора отдают в лабораторию аналитических методов анализа для определения количества фосфорно-молибденовой к-ты (необходимо для приготовления **реактива Фолина Е** = Реактив Фолина + H<sub>2</sub>O)<sup>2</sup>

<sup>1</sup> - если для приготовления используют H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> другой плотности, то необходимо провести пересчет кол-ва H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> на данную плотность

<sup>2</sup> - пропорцию смешиваемых ингредиентов обычно записывают на бутылке с реактивом Фолина (напр., на данный момент (декабрь 2002 г) Фолин Е = 1 мл Фолина + 0,2 мл H<sub>2</sub>O)

**ПРИМЕЧАНИЕ:** можно использовать микрометод. Для этого нужно пропорционально уменьшить количество образца и реактивов. Калибровочную кривую для микрометода нужно строить отдельно.

## **Калибровка**

Для построения калибровочной кривой используют бычий альбумин.

Для каждого вновь приготовленного реактива Фолина строится новый калибровочный график.