**Методика определения растворимости фрагментов**

**Шаг 1.**

**Раствор А** (**200 мМ** в ДМСО фирмы Sigma-Aldrich for HPLC (WH2O-0,013%, Фишером)

1. К 20 мМ вещества добавить 100 мкл ДМСО.
2. Растворять на шейкере (T-25 0С, v-170 об/мин, t-16 часов).
3. Визуально определить вещества, которые не растворились (наблюдается осадок или помутнение), внести результаты в соответствующую таблицу.
4. Вещества, которые не растворились изъять и переместить в другую плату в соответствии с координатами. Временно поместить в холодильник.

**Шаг 2.**

**Раствор В** (**5 мМ** в фосфатном буфере \* – 2,5% ДМСО)

1. К 25 мкл раствора А добавить 975 мкл фосфатного буфера\*.
2. Растворять на шейкере (T-25 0С, v-200 об/мин, t-120 минут).
3. Визуально определить вещества, которые не растворились (наблюдается осадок или помутнение). Внести в таблицу результаты.

**Шаг 3.**

**Раствор С** (**1 мМ** в фосфатном буфере **\*** - 0.5% ДМСО)

1. К 5 мкл раствора А добавить 995 мкл фосфатного буфера\*.
2. Растворять на шейкере (T-25 0С, v-200 об/мин, t-120 минут).
3. Визуально определить вещества, которые не растворились (наблюдается осадок или помутнение). Внести в таблицу результаты.

**Шаг 4.**

1. Оставшиеся растворившиеся вещества (раствор А), разбавить, добавив по 210 мкл ДМСО (50мМ).
2. Плату подписать «50 мМ+ номер платы» и поставить в холодильник.

**Шаг 5 (cейчас не выполняется)**

1. Вещества, которые не растворились, помещенные в отдельную плату в соответствии с координатами, достать из холодильника, подогреть при перемешивании на шейкере (150 об/мин ) при 25 0С до расплавления ДМСО, затем растворять при 400С в течение 12 минут на шейкере, v-180 об/мин
2. Выдержать при 25 0С 40 минут. Визуально определить вещества, которые растворились (исчез осадок или помутнение). Внести результаты в соответствующую таблицу.
3. Разбавить в 2 раза, добавив 100мкл ДМСО (100мМ).
4. Растворять на шейкере (T-25 0С, v-200 об/мин, t-60 минут).
5. Визуально определить вещества, которые растворились (исчез осадок или помутнение). Внести результаты в соответствующую таблицу.
6. Поместить на шейкер - 400С, v-200 об/мин, 12 минут.
7. Выдержать при 25 0С 40 минут. Визуально определить вещества, которые растворились (исчез осадок или помутнение). Внести результаты в соответствующую таблицу.
8. Разбавить в 2 раза, добавив 200мкл ДМСО (50мМ).
9. Растворять на шейкере (T-25 0С, v-200 об/мин, t-60 минут).
10. Визуально определить вещества, которые растворились (исчез осадок или помутнение). Внести результаты в соответствующую таблицу.
11. Поместить на шейкер - 400С, v-200 об/мин, 12 минут.
12. Выдержать при 25 0С 40 минут. Визуально определить вещества, которые растворились (исчез осадок или помутнение). Внести результаты в соответствующую таблицу.
13. Все результаты внести в компьютер.
14. Вещества поместить назад в соответствующие платы на свои координаты и поставить в холодильник.

\*- **Приготовление фосфатного буфера рН – 7,5**

2,4 г КН2РО4 растворить в 900 мл воды для HPLC.

Довести рН до 7,42-7.45 с помощью раствора 5М NaOH\* (пипетка 1,0 мл, магнитная мешалка, рН-метр).

Затем довести объем колбы до 1000 мл.

рН полученного раствора 7,5.

\*-**Приготовление 5М раствора NaOH.**

20 г NaOH растворить в 70 мл воды очищенной в мерной колбе на 100 мл.

Водой довести объем до 100 мл.