

фосфатаза). Для выполнения этого этапа повторяют процедуру, описанную выше, заменив раствор первых антител раствором вторых антител. Затем проводят аналогичную первой отмывку мембраны от несвязавшихся вторых антител.

Проявление картины иммуоблота на мембране проводят раствором тетраметилбензидинового субстрата (ТМВ) для антител, конъюгированных с пероксидазой хрена, или раствором для проявления щелочной фосфатазы – при использовании антител, конъюгированных со щелочной фосфатазой (если нет иных указаний в фармакопейной статье или нормативной документации).

Реакцию останавливают, промывая блот деионизованной водой. С поверхности мембраны удаляют излишек воды фильтровальной бумагой и высушивают на воздухе в темном месте.

Оценка результатов

При оценке подлинности основные окрашенные полосы на проявленной мембране должны соответствовать основным окрашенным полосам на электрофореграмме.

Количество анализируемого вещества и содержание примесей, а также их соотношение оценивают денситометрически.

Содержание примеси, не выявляемой в блоте, не должно превышать величины, установленной в фармакопейной статье или нормативной документации.

Критерии пригодности системы

Результаты метода вестер-блот могут учитываться, если:

- маркеры молекулярных масс распределены равномерно по всей длине соответствующей дорожки геля;
- на блоте видны все основные полосы, выявленные при окрашивании геля Кумасси ярко-голубым R-250 или G-250;