

однако используется для обнаружения или количественного определения антител.

Косвенный (непрямой) конкурентный вариант ИФА

Этот способ постановки ИФА аналогичен прямому конкурентному варианту, однако вместо меченого антитела или антигена при детекции используется меченый анти-Ig реагент или меченые вторичные антитела, соответственно.

Общие условия проведения метода ИФА

В качестве твердой фазы для проведения иммуноферментного анализа применяют различные материалы: силикон, нитроцеллюлоза, полиамиды, полистирол, поливинилхлорид, полипропилен, акрил и другие. Твердой фазой могут служить стенки пробирки, 96-луночные и другие планшеты, шарики, бусины, а также нитроцеллюлозные и другие мембраны, активно сорбирующие белки. От выбора твердой фазы зависит принцип иммобилизации (гидрофобное, гидрофильное, ковалентное взаимодействие). Чаще других в качестве твердой фазы используют 96-луночные пластиковые планшеты для микротитрования. Количество лунок в планшете может варьироваться. Планшет может быть прозрачным (колориметрическая детекция) и матовым (хемилюминесцентная детекция, флуориметрия).

Иммобилизацию необходимо проводить без пузырьков воздуха в лунке, так как их присутствие изменяет показание оптической плотности. Возможно использование биотинилированных иммобилизованных реагентов. В этом случае в реакции используют стрептавидин и биотинилированную ферментативную метку. Данный метод используется для усиления сигнала. Время и температура иммобилизации, зависящие от кинетической природы, стабильности и концентрации реагента, должны быть указаны в фармакопейной статье и нормативной документации.

Все стадии иммуноферментного анализа, промывочные и блокирующие растворы, временные промежутки и температурные условия для каждой стадии, количество оборотов в минуту для инкубации на шейкере, условия