

детекции также должны быть указаны в фармакопейной статье и нормативной документации.

Примеры методик для некоторых видов ИФА

Косвенный неконкурентный метод ИФА

I. Сорбция антигена. В каждую лунку 96-луночного планшета вносят 0,1-0,5 мкг антигена и 100 мкл 0,05 М карбонат-бикарбонатного буферного раствора (рН 9,6), если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации, и далее проводят сорбцию при температуре 4 °С в течение 16 ч. Возможно использование других буферных растворов с высокими значениями рН. Инкубация проводится при встряхивании на горизонтальном шейкере для планшетов.

Отмывка (двукратная) несвязавшихся молекул антигена осуществляется фосфатно-солевым буферным раствором (рН 9,0), содержащим 0,1 % твин-20 (по 300 мкл на лунку), если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации.

II. Блокировка. Для блокирования мест неспецифического связывания антигенов или антител лунки планшета заполняют фосфатно-солевым буферным раствором (рН 9,0) или другим буферным раствором, указанным в фармакопейной статье или в нормативной документации, содержащим 1% раствор бычьего сывороточного альбумина или других белков (казеина, желатина, сухого молока и др.), и инкубируют в течение 10–15 мин при комнатной температуре (если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации).

III. Титрование специфических антител. При необходимости количественной оценки исследуемое вещество (антиген или антитело) титруют в серийных разведениях параллельно со стандартным образцом (СО).

Титрование можно проводить как в горизонтальных, так и в вертикальных рядах планшета. Необходимо отметить, что титрование антител проводится в том случае, если необходимо подобрать оптимальную концентрацию антител или определить их титр. В том случае, если