

мкг/мл. К 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 мл разведенного стандартного образца прибавляют воду до 0,4 мл (концентрация БСА – 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 мкг/мл соответственно). Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс количество БСА в СО, в мкг/мл, а по оси ординат – высоту пика в мм. Калибровочный график должен проходить через начало координат.

Калибровочный график воспроизводят при каждом анализе.

Примечания

Испытуемый образец – 15 мкл испытуемого образца.

Получение сыворотки против БСА. Кроликов породы Шиншилла массой 2,5–3,5 кг иммунизируют 0,15 % раствором БСА. Используют БСА с содержанием белка не менее 95 %.

Приготовление 0,15 % раствора БСА. 0,15 г БСА помещают в градуированный цилиндр вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл 0,9 % раствора натрия хлорида, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

I цикл иммунизации состоит из 2 инъекций 0,15 % раствора БСА с интервалом 7 сут в дозе 1,0 мл в смеси с 1,0 мл адьюванта Фрейнда в область подколенных лимфатических узлов (последовательно в правую и левую лапу).

II цикл иммунизации проводят через 30 сут после I цикла: делают 5 внутрибрюшинных инъекций БСА с интервалом 2 сут в возрастающих дозах: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 мл (за 1 ч до первой инъекции проводится десенсибилизация – 0,1 мл 0,15% раствора БСА подкожно).

III цикл иммунизации проводят через 30 сут после цикла II иммунизации, и он состоит из 3 внутривенных инъекций с интервалом 2 сут в возрастающих объемах: 0,5; 1,0; 1,5 мл 0,15 % раствора БСА (за 1 ч до первой инъекции проводится десенсибилизация – 0,1 мл раствора БСА подкожно).

Через 7 сут после последнего введения БСА у кроликов берут 2–3 мл крови и в сыворотке определяют титр антител против БСА методом ракетного иммуноэлектрофореза (отмечают разведение сыворотки, дающее пик высотой 1 мм с раствором БСА в концентрации 0,5 мкг/кг). Сыворотка, имеющая титр не ниже 1:500, годна к дальнейшему использованию в этом случае кроликов обескровливают тотально.

Если титр сыворотки ниже 1:500, через 30 сут проводят *IV цикл иммунизации* (аналогичный третьему циклу), через 7 сут кроликов обескровливают тотально и устанавливают титр антител против БСА. Сыворотка, имеющая титр ниже 1:500, подлежит уничтожению.

При обескровливании кроликов кровь от каждого из них собирают в отдельный флакон. Флаконы с кровью ставят в термостат при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ на 60–65 мин, затем обводят образовавшийся сгусток пипеткой и