

Испытание проводят с фармацевтическими субстанциями или с готовой продукцией.

При оценке подлинности, на этапе выполнения электрофореза, помимо испытываемых образцов, должно быть предусмотрено внесение в лунки геля следующих растворов: отрицательный контрольный образец (1-кратный буфер для приготовления образцов), смесь маркеров молекулярных масс (рекомендуется использование предварительно окрашенных маркеров молекулярных масс), стандартный образец испытываемого белка (при его наличии), аттестованный в установленном порядке. При оценке чистоты (примесей) дополнительно должно быть предусмотрено внесение образца с концентрацией белка, соответствующей пределу обнаружения или количественного определения примеси (в зависимости от назначения методики) и установленной на основании результатов валидации методики. При оценке чистоты необходимо сравнение результатов блота с результатами электрофореза в полиакриламидном геле; методика должна выявлять 1 % примеси.

Методика

Для разделения белков по их молекулярным массам предварительно проводят электрофорез в соответствии с методикой, изложенной в ОФС «Электрофорез» и ОФС «Электрофорез в полиакриламидных гелях».

Для проведения переноса белков используют прибор для переноса белков. Все работы проводят в резиновых перчатках. Объем всех используемых растворов должен быть достаточен для полного погружения мембраны, на которую переносят белки.

После проведения электрофореза для подготовки геля к иммуноблотингу, его заливают буферным раствором для переноса белков (если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации), ставят на орбитальный шейкер и выдерживают в течение 10-15 мин. Затем подготавливают лист нитроцеллюлозной или PVDF-мембраны, соответствующий размеру геля. При использовании нитроцеллюлозной