

оптимальная концентрация и/или титр антител определены, то используют рекомендованное для данных антител (сыворотки) разведение.

При титровании в первую лунку ряда вносят готовое разведение антител – в среднем 1–10 мкг на лунку, далее производят последовательное разведение антител в лунках. Инкубацию со специфическими антителами проводят в течение 30 мин при комнатной температуре при встряхивании на горизонтальном шейкере для планшетов.

Отмывка осуществляется не менее 3–4 раз с помощью фосфатно-солевого буферного раствора pH 9,0, содержащего 0,1% твин-20.

*IV. Добавление антивидовых (антиглобулиновых) антител, конъюгированных с ферментной меткой.* В качестве детекторных (вторичных) антител используются антивидовые поликлональные антитела, конъюгированные с ферментативной меткой. Чаще всего используются козы или кроличьи антитела, специфичные к целой молекуле или к Fc-фрагментам специфических антител. Концентрация детекторных антител, как правило, указывается производителем в виде разведения исходного раствора (например, 1:1000).

Инкубация с вторичными мечеными антителами проводится в течение 30 мин при комнатной температуре при встряхивании на горизонтальном шейкере для планшетов.

Отмывка осуществляется не менее 3–4 раз с помощью фосфатно-солевого буферного раствора (pH 9,0), содержащего 0,1 % твин-20.

Инкубация проводится в течение 10 мин при комнатной температуре и встряхивании на горизонтальном шейкере для планшетов.

*V. Проведение ферментативной реакции, сопровождающейся появлением окрашенного продукта.* В лунки вносят по 100 мкл раствора субстрата и инкубируют в течение 10 мин при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Для остановки ферментативной реакции применяют «стоп реагент», который добавляют во все исследуемые и