

исследуемое вещество, и стандартные разведения антигена вносят попарно в соседние в горизонтальном ряду лунки (либо по 3 повторности), используя по 2 (3) лунки на каждое разведение белка.

Инкубацию проводят при комнатной температуре в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Отмывка осуществляется не менее 3–4 раз фосфатно-солевым буферным раствором (рН 9,0), содержащим 0,1 % твин-20, или другим буферным раствором, указанным в фармакопейной статье или нормативной документации.

IV. Инкубация с антителами, конъюгированными с ферментной меткой. В лунки планшета вносят по 100 мкл раствора специфических антител, конъюгированных с ферментной меткой. Оптимальная концентрация конъюгированных антител, как правило, указывается в фармакопейной статье или нормативной документации (обычно используют концентрацию 2–4 мкг/мл).

Инкубация с антителами, содержащими ферментную метку, 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 (рН 9,0), содержащего 0,1 % твин-20, или другим буферным раствором, указанным в фармакопейной статье или нормативной документации.

V. Проведение ферментативной реакции, сопровождающейся появлением окрашенного продукта. Методика проведения ферментативной реакции аналогична методике, описанной в разделе: «Косвенный неконкурентный метод ИФА».

Детекция

Как было указано выше, для детекции используются меченные ферментной меткой или другим реагентом антитела. В качестве ферментной метки могут выступать, например, пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза или галактозидаза. В качестве детектора могут быть использованы антитела