

BACITRACINA

AMOSTRA DE TECIDO

EXTRAÇÃO

Homogeneizar amostra de 10 a 100 gramas



Pesar 1 grama da amostra homogeneizada e adicionar 2 ml de metanol a 80% em tampão de diluição da amostra (1,6 ml de metanol a 100% mais 0,4 ml de tampão de diluição da amostra)



Homogeneizar (15 minutos por inversão).

Centrifugar (10 minutos, 2000 x g)



Diluir o sobrenadante 1: 5 com tampão de diluição da amostra (40 μ l de sobrenadante mais 160 μ l tampão de diluição da amostra).



Vortex

Use 50 μ l de amostra diluída no teste ELISA



BACITRACINA

AMOSTRA DE TECIDO

PREPARO DE REAGENTES



Deixar os Reagentes atingir a temperatura ambiente

Separe o número de cavidades a serem utilizadas



Prepare a Solução de lavagem, concentrado 20 vezes. Para cada tira são utilizados 40 mL de tampão de lavagem diluído (2 mL de tampão de lavagem + 38 mL de água destilada) e deixe a lavadora pronta para o uso.



Reconstitua o frasco de conjugado liofilizados (concentrado 100x). Centrifugue por 1 min. A 1000 x g. adicione 10uL do concentrado em 990 uL de tampão de diluição (dilution buffer). Para cada 16 cavidades utiliza-se 800uL de solução. Armazene o concentrado de 2-8°C imediatamente após o uso.

BACITRACINA

AMOSTRA DE TECIDO

ENSAIO



Pipete 100 μ L do padrão zero em duplicata para o branco. Pipete 50 μ L do padrão zero em duplicata, 50 μ L de cada uma das soluções padrão em duplicata 50 μ L de cada solução de amostra em duplicata nos poços restantes da microplaca, 50 μ L de conjugado em todos os poços, exceto o branco



Sele a microplaca e agite por 1 minuto



Incube a placa por 1 hora, em temperatura ambiente (20°C – 25°C) no escuro

Remova a solução da microplaca e lave 3 vezes com o tampão de lavagem (rinsing buffer).

Pipete 100 μ L de solução de substrato em cada poço.



Incube a placa por 30 minutos em temperatura ambiente (20°C – 25°C) no escuro

Adicione 100 μ L de solução stop em cada poço



Leia os valores de absorbância imediatamente em 450 nm

Utilize o fator 15 para amostras de tecido

BACITRACINA

AMOSTRA DE TECIDO

OBSERVAÇÕES



Não inicie o ensaio antes de confirmar os volumes e procedimento na protocolo de ensaio enviado junto com o kit. Eventualmente o ensaio é atualizado e mudanças são comuns.

Tenha certeza que a pipeta esteja calibrada



Sugerimos a utilização de uma repipetadora e ou pipeta multicanal para adicionar os reagentes ao "mesmo tempo" e para lavagem mais adequada.



Não encoste a pipeta na cavidade durante o ensaio

Cuidado com o arrasto e contaminação durante pipetagem, lavagem, e homogeneização.



Tenha em mente que o ensaio se limita a faixa de detecção da curva e ao Limite Mínimo de Detecção (LOD)

Verifique o certificado de controle de qualidade

BACITRACINA

AMOSTRA DE TECIDO

CONTATO

Estamos a disposição, segue o nosso contato:



11 2386-3963



info@hhub.com.br



hhub.com.br