

# CLEMBUTEROL

AMOSTRA DE TECIDO

## EXTRAÇÃO



Pesar 2 g de amostra hepática homogeneizada em tubo

Adicione 8 ml de acetonitrila e misture vigorosamente num misturador de vortex

Misture por inversão, 10 minutos



Centrifugar (10 minutos, 2000 x g)

Pipete 650  $\mu$ l do sobrenadante para um tubo de vidro



Acetonitrila é evaporada em um fluxo de nitrogênio a 50 °C

Dissolver o resíduo em 250  $\mu$ l de tampão de diluição, vortex vigorosamente

Use 50  $\mu$ l de amostra diluída no teste ELISA



# CLEMBUTEROL

AMOSTRA DE TECIDO

## PREPARO DE REAGENTES



Deixar os Reagentes atingir a temperatura ambiente

Faça o mapa do Ensaio



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.



Solução padrão de Clenbuterol (50 ng / ml): Para preparar padrões na matriz apropriada ou para preparar picos, use o padrão solução contendo 50 ng de clenbuterol por ml. Dilua a solução padrão na matriz apropriada para fazer um intervalo de diluição de 8, 4, 1, 0.5, 0.25 e 0.125 ng / ml. Além disso o padrão zero deve estar na mesma matriz.



Solução conjugada: Reconstituir o frasco do conjugado liofilizado (Clenbuterol-HRP) com 4 ml de diluição tampão, misture bem e mantenha no escuro até o uso. Guarde o frasco imediatamente após usar no escuro a 2°C a 8°C. Para armazenamento prolongado, prepare alíquotas e armazene alíquotas a -20 ° C até à data de validade

# CLEMBUTEROL

AMOSTRA DE TECIDO

## ENSAIO



Pipete 100  $\mu$ L do padrão zero em duplicata para o branco. Pipete 50  $\mu$ L do padrão zero em duplicata, 50  $\mu$ L de cada uma das soluções padrão em duplicata 50  $\mu$ L de cada solução de amostra em duplicata nos poços restantes da microplaca, 25  $\mu$ L de conjugado em todos os poços, exceto o branco e 25  $\mu$ L da solução de anticorpos em todos os poços, exceto branco



Sele a microplaca e agite por 1 minuto



Incube a placa por 30 minutos, 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  $\mu$ L de solução de substrato em cada poço.



Incube a placa por 15 minutos em temperatura ambiente (20°C – 25°C)

Adicione 100  $\mu$ L de solução stop em cada poço



Leia os valores de absorbância imediatamente em 450 nm

Utilize o fator 1,92 para amostras de tecido

# CLEMBUTEROL

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

# CLEMBUTEROL

AMOSTRA DE TECIDO

CONTATO

Estamos a disposição, segue o nosso contato:



11 2386-3963



info@hhub.com.br



hhub.com.br