

ETINILESTRADIOL

AMOSTRA DE TECIDO

EXTRAÇÃO



Verificar abaixo o preparo do Tampão de diluição para utilização no passo de extração

Homogeneizar aproximadamente 10 g de amostra

Transferir de 1,0 g da amostra homogeneizada num tubo de vidro



Adicionar 3,0 ml de etilacetato

Misture por 30 segundos usando um vortex

Misture por 15 minutos em homogeneizador por inversão



Centrifugar (10 minutos, 2000 x g)

Pipete 500uL em um tubo de vidro, evapore até secar sob um fluxo de nitrogênio à 50°C

Dissolva o resíduo com 500uL do tampão de diluição de amostras. Agite bem

Uma alíquota de 50 μ L de amostra diluída no teste ELISA



ETINILESTRADIOL

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



Tampão de diluição (dilution buffer, 10x concentrado) o tampão de diluição está 10x concentrado. Antes da diluição (10 mL de tampão + 90 mL de água destilada) o tampão concentrado deve estar em temperatura ambiente e ser agitado completamente. O tampão concentrado pode apresentar precipitação do conteúdo. Agite bem antes da diluição com água destilada. O tampão diluído 4 vezes pode ser armazenado em refrigerador (+2°C a +8°C) até a data de expiração indicada no rótulo do kit



Tampão de diluição de Amostra: 18mL do tampão de diluição adicione 2mL de metanol 100% misture e armazene a 4°C até utilização

ETINILESTRADIOL

AMOSTRA DE TECIDO

PREPARO DE REAGENTES



Prepare a Solução de lavagem (Wash Solution Concentrate): tampão de lavagem (rinsing buffer) é fornecido concentrado 20 vezes. Prepare as diluições pouco antes do uso. 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 5uL do concentrado em 495 uL de tampão de diluição (dilution buffer). Para cada 16 cavidades utiliza-se 400uL de solução. Armazene o concentrado de 2-8°C imediatamente após o uso



Reconstitua o frasco de anticorpos liofilizados (concentrado 100x). Centrifugue por 1 min. A 1000 x g. adicione 5uL do concentrado em 495 uL de tampão de diluição (dilution buffer). Para cada 16 cavidades utiliza-se 400uL de solução. Armazene o concentrado de 2-8°C imediatamente após o uso



ETINILESTRADIOL

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)

Adicione 100 μ L de solução stop em cada poço



Leia os valores de absorbância imediatamente em 450 nm

Utilize o fator 24 para amostras de tecido

ETINILESTRADIOL

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

ETINILESTRADIOL

AMOSTRA DE TECIDO

CONTATO

Estamos a disposição, segue o nosso contato:



11 2386-3963



info@hhub.com.br



hhub.com.br