

AMOSTRA DE TECIDO





Músculo, carne e salsichas

Homogeneizar aproximadamente 25 g de amostra de músculo, carne ou salsicha



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

Adicionar 10,0 ml de ciclo-hexano

Misture por 30 segundos usando um vortex



Utilize 5 ml do extrato ciclo-hexano limpo para o procedimento de extração de fase sólida





AMOSTRA DE TECIDO

EXTRAÇÃO



Procedimento de extração de fase sólida

Transferir os extratos de ciclo-hexano das amostras para um cartucho não ativado do C18 (por exemplo, Bond-Elut C18, LRC 10 ml, 500 mg; Varian, art. Nr .: 1211-3027).



Tenha em atenção para que os extratos fluam através dos cartuchos com uma velocidade de 0,5 ml por minuto

Lave os cartuchos usando 3 ml de ciclohexano

Seque os cartuchos por 10 minutos sob vácuo



Eluir os acetilgestágenos usando 3,5 ml de metanol a 80% em agua destilada

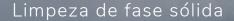
Adicione 2 ml de água destilada ao eluato e continue com o segundo procedimento sólido de limpeza de fase





AMOSTRA DE TECIDO







Ativar cartuchos de fase sólida (Bond-Elut C18, LRC 10 ml, 500 mg; Varian, art. Nr .:1211-3027) lavando subsequentemente os cartuchos com 5 ml de metanol e com 5 ml de metanol 50% em água destilada



Transferir 5,5 ml do eluto obtido após a extração em fase sólida primária (n. o 8.5) em um cartucho de fase sólida ativado

Lave os cartuchos usando 7,0 ml de metanol a 50% em água destilada



Elua o acetilgestágenos utilizando 5,5 ml de metanol a 80% em água destilada com uma velocidade de 1 ml por minuto

Evaporar a eluição até secar à uma temperatura de 50 ° C, sob um fluxo de nitrogênio

Dissolver o resíduo em 500 µl de tampão de diluição à temperatura de 37 ° C misturando constantemente em vortex ou usando um banho ultrasônico

Uma alíquota de 2 vezes 50 µl é usada no teste de ELISA





AMOSTRA DE TECIDO

PREPARO DE REAGENTES



Deixar os Reagentes atigir a temperatura ambiente

Faça o mapa do Ensaio



Separe o número de cavidades a serem utilizadas



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 do conjugado liofilizado com 4 mL de tampão de diluição (dilution buffer), agite completamente e mantenha protegido da luz até o momento do uso. Para armazenamento prolongado, faça alíquotas e armazene a -20°C



Reconstitua o frasco de anticorpos liofilizados com 4 mL de tampão de diluição (dilution buffer), agite completamente e mantenha protegido da luz até o momento do uso



AMOSTRA DE TECIDO

ENSAIO



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



Sele a microplaca e agite por 1 minuto



Incube a placa por 1 hora, à temperatura de 37°C no escuro

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

Pipete 100 µL de solução de substrato em cada poço.



Incube a placa por 30 minutos em temperatura ambiente (20°C – 25°C)

Adicione 100 µL de solução stop em cada poço



Leia os valores de absorbância imediatamente em 450 nm



AMOSTRA DE TECIDO

OBSERVAÇOES



Não inicie o ensaio antes de confirmar os volumes e procedimento na protocolo de ensaio enviado junto com o kit. Eventualmente o ensaio é atulizado 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 Minimo de Detecção (LOD)

Verifiique o certificado de controle de qualidade

Hhub

MEDROXIPROGESTERONA

AMOSTRA DE TECIDO

CONTATO

Estamos a disposição, segue o nosso contato:



11 2386-3963





info@hhub.com.br



hhub.com.br