

MEDROXIPROGESTERONA

AMOSTRA DE TECIDO

EXTRAÇÃO



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



MEDROXIPROGESTERONA

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 água destilada

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



MEDROXIPROGESTERONA

AMOSTRA DE TECIDO

EXTRAÇÃO

Limpeza de fase sólida



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



MEDROXIPROGESTERONA

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 (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

MEDROXIPROGESTERONA

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, 25 μ L de conjugado em todos os poços, exceto o branco e 25 μ L 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 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



MEDROXIPROGESTERONA

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

MEDROXIPROGESTERONA

AMOSTRA DE TECIDO

CONTATO

Estamos a disposição, segue o nosso contato:



11 2386-3963



info@hhub.com.br



hhub.com.br