ELISA TESTLERi PROTOKOLÜ

ELISA yönteminin prensibi ,özgül antijen-antikor arasındaki reaksiyona dayanır.Bu teknikte işaretsiz antijen veya antikor tayin edebiliriz. İşaretli konjugatın hazırlanmasında işaretleyici olarak enzim kullanılır. Reaksiyon tamamlanmasından sonra ayırma işlemi yapılır ve ortama bir substrat ilave edilerek spektrofotometrik olarak enzim aktivitesi ölçülür.

TEST ÇALIŞMA PRENSİBİ

* Reaktif,örnek ve standart hazırlanır.
* Hazırlanan örnek ve standartlara biotinylated antigen eklenir ve 37°c altında 60 dk bekletilir.
* Plaka 5 kez yıkanır ve avidin-HRP eklenip tekrar reaksiyona sokulur.
* Plaka 5 kes yıkanır substrate A ve substrate B eklenip 37°c de 10 dk bekletilir.
* 10 dk sonunda stop solüsyonu eklenip OD değeri ölçülür ve hesaplama yapılır.

BİLEŞENLER

* Standard 0.5ml x 6 tubes
* Concentrated biotinylated antigen 18µl x 6 tubes
* Concentrated avidin-HRP 6µl x 1 bottle
* Biotinylated antigen diluent 6ml x 1 bottle
* Avidin-HRP diluent 6ml x 1 bottle
* Substrate A 6ml x 1 bottle
* Substrade B 6ml x 1 bottle
* Stop solution 6ml x 1 bottle
* Concentrated wash buffer ( 20ml˟25 times) x 1 bottle

NUMUNE ÇALIŞMASI

Hazırlanan örneklerden 50 µl alınarak plakalara eklenir.Hazırlanan örnek ve standartlara tekrardan 50 µl biotinylated antijen eklenir ve 37 °c altında 60 dk boyunca reaksiyona girer.60 dk sonunda plaka 5 kez yıkanır ve avidin-HRP yi de aynı miktarda (50 µl) ekleyip tekrar 37°c de 60 dakika boyunca reaksiyonda bırakılır.60 dk sonunda tekrar 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirilir ve A ve B substratları eklenerek bu kez reaksiyona girmeden 37°c de sadece 10 dk bekletilir.10 dk sonunda renklenme görülür ve 10 dk içinde stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durdurulur okuma ve hesaplama yapılır.

Kullanılan Kitin markası “Relassay”