Hazırlık:

1. Örneklerin çözünüp, oda sıcaklığına gelmesi gereklidir.
2. Wash Buffer : 720ul dH2O + 30 ml Wash Buffer Konsantresi
3. Standart Working Solution: Standart 10.000g de 1 dk. Santrifüj edilmelidir. 1 ml Reference Standart&Sample Diluent ile dilüe edilmeli ve homojen olarak çözünmesi sağlanmalıdır.
4. Biotinylated: 100x Concentrated Biotinylated Detection Ab ile 1x lik Biotinylated Detection Ab dilüe edilir. Bu oranlar HRP için de geçerlidir (örn:100ul biotin + 9900ul biotin diluent).
5. Standartlar için 7 adet 1.5 ml lik ependorf tüplere 500ul Reference Standart&Sample Diluent eklenir ve aşağıdaki adım takip edilir.



Protokol

1. 100ul standart A1 sütunundan sırası ile A8 e kadar eklenir.
2. Örnekler pipetaj yapıldıktan sonra her bir kuyucuğa 100ul örnek yüklenir ve plate sealer ile kaplanır. 90 dk. 37° de inkübe edilir.
3. Plate’deki sıvı ters çevrilerek ortamdan uzaklaştırılır. Dilue ettiğimiz Biotinden her bir kuyucuğa 100ul eklenir. 60 dk. 37° de inkübe edilir.
4. Biotin ortamdan uzaklaştırılır ve hazırlanan wash bufferdan her bir kuyucuğa 300ul eklenerek 3 kez yıkama yapılır (her bir yıkamada max. 1dk beklemek yeterlidir).
5. Hazırlanan HRP’ den her bir kuyucuğa 100ul eklenir. 30 dk. 37° de inkübe edilir.
6. Yıkama işlemi tekrarlanır.
7. Her bir kuyucuğa 90ul Subsrat Reagent eklenir ve plate sealer ile kapatıldıktan sonra aleminyum folyaya konur. 15 dk. 37° de inkübe edilir (Bu aşamadan sonra substrat reagent ortamdan uzaklaştırılmaz).
8. Her bir kuyucuğa 50ul Stop Solution eklenir ve Elisa Reader cihazı ile açık okuma yapılır.