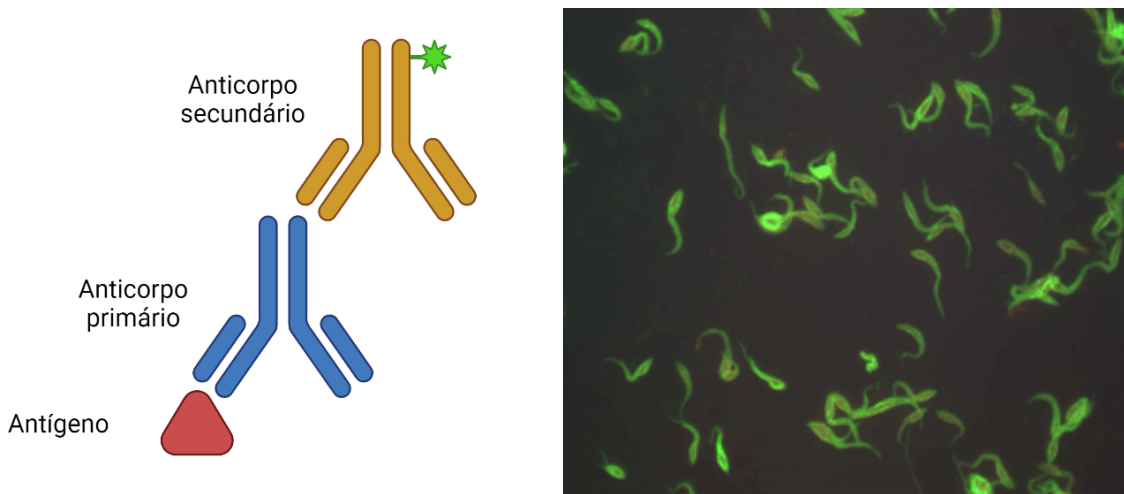


EP2: Volumes para ensaio de imunofluorescência

1. Introdução

Os protocolos de imunofluorescência são amplamente utilizados tanto na prática da pesquisa biomédica quanto no diagnóstico clínico. Esses testes se utilizam de anticorpos capazes de gerar fluorescência para marcar um elemento (antígeno) de interesse; dessa maneira, pode-se observar desde a presença de determinada bactéria em uma amostra até a localização celular de determinada proteína.

Uma das formas desse teste é a imunofluorescência indireta (IFI), que utiliza dois tipos de anticorpos: primário e secundário. O anticorpo primário é capaz de se ligar ao antígeno de interesse (bactéria, protozoário, proteína celular...), enquanto o secundário se liga ao anticorpo primário e contém o composto responsável por gerar fluorescência. Dessa maneira, na presença do antígeno, a esse se liga o anticorpo primário, ao qual se liga o anticorpo secundário que gera a fluorescência detectável.



À esquerda, esquema da imunofluorescência indireta. À direita, visualização de uma reação de IFI usando antígeno do protozoário *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas.

2. O problema

Um laboratório de pesquisa está trabalhando no desenvolvimento de um novo protocolo de imunofluorescência indireta, realizado em meio líquido e em um único passo. Na presente fase do desenvolvimento, os pesquisadores estão executando exaustivamente testes de verificação das quantidades adequadas de anticorpo primário e secundário que geram o resultado correto de detecção do antígeno com menor desperdício de reagentes.

Para tornar esse trabalho mais eficiente, o grupo passará a utilizar placas de 96 poços dispostos em 12 colunas (numeradas de 1 a 12) e 8 linhas (identificadas com as letras A a H). Na primeira linha (de letra A), escolherão um volume máximo de anticorpo primário a ser aplicado nos poços. Na linha seguinte (B), utilizarão esse volume menos um

valor de diferença escolhido. O mesmo será feito para as linhas seguintes, de maneira que cada linha de poços tenha um volume de anticorpo primário igual ao volume da linha anterior menos a diferença (escolhida para o teste e mantida para todas as linhas). Assim, os poços da linha H conterão um volume de anticorpo primário igual aos da linha A mas subtraído de 7x a diferença de volume escolhida. A mesma lógica se aplicará para o anticorpo secundário nas colunas, em que a coluna 1 terá o maior volume de anticorpo e as seguintes terão o volume da coluna anterior menos um outro valor de diferença, com a última coluna (12) tendo o volume de anticorpo secundário equivalente ao da primeira subtraído de 11x a diferença. Dessa forma, serão geradas diferentes combinações de volumes de anticorpos para cada poço da placa, com o poço A1 contendo a combinação de maiores volumes e o poço H12 a de menores volumes.



Cada poço da placa pode receber até 250 microlitros (μl) de volume total. Fixa-se como limites das quantidades de anticorpos que o volume de anticorpo primário num poço não seja menor que 1 μl nem maior que 60 μl , e que o volume do anticorpo secundário num poço não seja menor que 1.2 μl nem maior que 65 μl .

Além desses anticorpos, se adicionará a cada poço:

- uma amostra (contendo o antígeno);
- uma solução tampão (que estabiliza o pH da mistura);
- uma solução especial, produzida pelo laboratório, que atua como um estabilizador da fluorescência do anticorpo secundário;
- água.

A quantidade de amostra que cada poço receberá é a mesma, determinada no início do experimento, e não deve ser menor que 5 nem maior que 100 µl por poço.

O volume de tampão em cada poço depende do volume da amostra:

- para amostras de 5 a 10 µl, se adiciona 1 µl de tampão;
- para amostras acima de 10 e até 40 µl, se adiciona 1.5 µl de tampão;
- para amostras acima de 40 e até 75 µl, se adiciona 2 µl de tampão;
- para amostras acima de 75 e até 100 µl, se adiciona 2.5 µl de tampão.

O volume do estabilizador de fluorescência é determinado pelo volume de anticorpo secundário no poço. Para volumes de até 3 µl do anticorpo secundário, o volume a ser adicionado de estabilizador é fixo, de 0.7 µl. Já para volumes de anticorpo secundário maiores que 3 µl, o volume de estabilizador corresponde a 23% do volume, em µl, do anticorpo secundário.

Por fim, todos os poços - exceto A1 - são completados com o volume necessário de água para que fiquem com o mesmo volume total de mistura que o poço A1. Dessa maneira, todos os poços manterão a mesma concentração de amostra.

3. Sua tarefa

Faça um programa que ajude esses pesquisadores a saber o volume desses reagentes a ser posto em cada poço. Seu programa deve: receber o volume de amostra por poço, o maior volume de anticorpo primário (para a linha A), a diferença entre volumes de anticorpo primário, o maior volume de anticorpo secundário (para a coluna 1) e a diferença entre volumes de anticorpo secundário; fazer verificações simples quanto à consistência dessas entradas, e então - estando adequadas as entradas - retornar ao usuário os volumes de amostra, tampão, anticorpo primário, anticorpo secundário, estabilizador de fluorescência e água a serem adicionados em cada poço. Você pode conferir nas últimas páginas deste documento um exemplo de um conjunto de entradas e as saídas que seu programa deve gerar a partir dele.

A avaliação do seu EP, no entanto, não será feita a partir das saídas que o programa imprime, mas sim no esquema que considera os retornos das funções definidas no código disponível na aba “Editar”, que serão explicadas a seguir. Novamente o código “fora das funções” (que, na verdade, fica numa função chamada main) já é disponibilizado, e nele é feito o recebimento das entradas exigidas do usuário.

A função “**testa_consistencia**” deve receber como argumentos todos os dados inseridos pelo usuário e retornar a variável booleana “entradas_consistentes”, que informa se as entradas estão adequadas (True) ou não (False). Deve ser verificado se os dados inseridos respeitam os limites inferior (5) e superior (100) do volume de amostra, assim como se o maior e menor volume de anticorpo primário e o maior e menor volume de anticorpo secundário estão dentro dos respectivos limites (1 a 60 e 1.2 a 65).

Por exemplo, recebendo o conjunto de entradas: 20.3 para volume de amostra, 15.7 para maior volume de anticorpo primário, 1.6 para diferença do primário, 26.3 para maior volume de anticorpo secundário e 0.2 para diferença do secundário, a função deve confirmar a consistência dos dados retornando “entradas_consistentes” como True. Já se receber 4.8 como volume de amostra, ou então receber 12.7 como volume de anticorpo secundário tendo como diferença do secundário 3.5 (o que gerará um menor volume de secundário abaixo de 1.2), a função deve retornar “entradas_consistentes” como False.

Considere que qualquer outro possível problema nas entradas não será cometido pelo usuário. No código fora das funções (já fornecido), a variável “entradas_consistentes” é utilizada para determinar a continuidade da execução do programa ou então a sua conclusão exibindo mensagem de erro.

A função “faz_combinacoes” será a mais fundamental para o objetivo do seu programa. Ela deve fazer as combinações de volumes de anticorpos de cada um dos 96 poços e em cada um deles chamar as próximas funções, que fornecem os outros volumes (de tampão, estabilizador e água) e o identificador do poço. Para tanto, a função “faz_combinacoes” deve receber como argumentos todas as variáveis inseridas pelo usuário, e ao longo de suas rodadas de execução devem ser impressas as linhas de saída.

Em relação a essas saídas, a f-string a ser impressa para cada poço (informando os volumes necessários para ele) já está montada dentro da função “faz_combinacoes” na aba “Editar”. Também já são disponibilizados o comando para salvar essas impressões numa lista a ser retornada pela função (apenas a fim de permitir a avaliação dela pelo moodle) e o comando inicial que cria essa lista estando vazia. Atente-se à indentação de onde esses comandos fornecidos devem ser posicionados.

DICA: Embora seja utilizada uma lista para avaliar a função “faz_combinacoes”, os códigos a serem feitos por você em todo o programa não exigirão o uso de listas.

As funções seguintes (apenas definidas no código da aba “Editar”, e a serem feitas por você) devem ser chamadas dentro da função “faz_combinacoes”:

- “**determina_tampao**” deve receber o volume de amostra e retornar o volume de tampão a ser utilizado;
- “**calcula_estabilizador**” deve receber o volume de anticorpo secundário daquele poço e retornar o volume necessário de estabilizador de fluorescência para ele;
- “**calcula_agua**” deve receber todos os outros volumes daquele poço e ainda o volume necessário para cada poço (é o volume total do poço A1), e retornar o volume de água a ser adicionado nele. Essa função não deve ser chamada para o poço A1, no qual o volume de água é zero e ainda está se estabelecendo o volume necessário para cada poço;
- “**identifica_pocinho**” deve receber o número da linha (de 1 a 8) e da coluna (de 1 a 12) de um poço e retornar uma variável string identificadora desse poço. Por exemplo, recebendo a linha 2 e a coluna 5, a função deve retornar a string “B5”; já recebendo 6 e 11, deve retornar a string “F11”.

DICA: utilize f-string para atribuir essa variável.

Considere que todos os volumes são variáveis do tipo float e estão na unidade de microlitros.

Seu programa deve necessariamente usar as funções apresentadas; não altere os nomes delas nem a organização dos dados que elas recebem e retornam. Também não altere o código na aba “Editar” a partir da linha com essa indicação. Você pode copiar o código fornecido aí para usá-lo no colab, adicionando a ele o código que elaborar para as funções.

Por fim, não utilize comandos não explicados em aula nem bibliotecas externas, caso contrário estará sujeito a redução ou anulamento de sua nota.

Bom trabalho!

Exemplo de entradas e saídas

Para as seguintes entradas (em verde):

Insira o volume de amostra, em microlitros, a ser inserido em cada poço: **68.5**

Insira o maior volume de anticorpo primário (quantidade a ser adicionada nos poços da linha A): **29.5**

Insira a diferença do volume de anticorpo primário entre poços de uma linha e os da linha seguinte: **2.6**

Insira o maior volume de anticorpo secundário (quantidade a ser adicionada nos poços da coluna 1): **30.0**

Insira a diferença do volume de anticorpo secundário entre poços de uma coluna e os da coluna seguinte: **1.3**

seu programa deverá exibir as saídas:

```
(A1) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 30.0 ul | Estabilizador: 6.9 ul | Água: 0.0 ul
(A2) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 28.7 ul | Estabilizador: 6.6 ul | Água: 1.6 ul
(A3) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 27.4 ul | Estabilizador: 6.3 ul | Água: 3.2 ul
(A4) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 26.1 ul | Estabilizador: 6.0 ul | Água: 4.8 ul
(A5) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 24.8 ul | Estabilizador: 5.7 ul | Água: 6.4 ul
(A6) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 23.5 ul | Estabilizador: 5.4 ul | Água: 8.0 ul
(A7) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 22.2 ul | Estabilizador: 5.1 ul | Água: 9.6 ul
(A8) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 20.9 ul | Estabilizador: 4.8 ul | Água: 11.2 ul
(A9) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 19.6 ul | Estabilizador: 4.5 ul | Água: 12.8 ul
(A10) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 18.3 ul | Estabilizador: 4.2 ul | Água: 14.4 ul
(A11) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 17.0 ul | Estabilizador: 3.9 ul | Água: 16.0 ul
(A12) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 29.5 ul | Anticorpo secundário: 15.7 ul | Estabilizador: 3.6 ul | Água: 17.6 ul
(B1) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 30.0 ul | Estabilizador: 6.9 ul | Água: 2.6 ul
(B2) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 28.7 ul | Estabilizador: 6.6 ul | Água: 4.2 ul
(B3) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 27.4 ul | Estabilizador: 6.3 ul | Água: 5.8 ul
(B4) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 26.1 ul | Estabilizador: 6.0 ul | Água: 7.4 ul
(B5) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 24.8 ul | Estabilizador: 5.7 ul | Água: 9.0 ul
(B6) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 23.5 ul | Estabilizador: 5.4 ul | Água: 10.6 ul
(B7) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 22.2 ul | Estabilizador: 5.1 ul | Água: 12.2 ul
(B8) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 20.9 ul | Estabilizador: 4.8 ul | Água: 13.8 ul
(B9) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 19.6 ul | Estabilizador: 4.5 ul | Água: 15.4 ul
(B10) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 18.3 ul | Estabilizador: 4.2 ul | Água: 17.0 ul
(B11) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 17.0 ul | Estabilizador: 3.9 ul | Água: 18.6 ul
(B12) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 26.9 ul | Anticorpo secundário: 15.7 ul | Estabilizador: 3.6 ul | Água: 20.2 ul
(C1) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 24.3 ul | Anticorpo secundário: 30.0 ul | Estabilizador: 6.9 ul | Água: 5.2 ul
(C2) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 24.3 ul | Anticorpo secundário: 28.7 ul | Estabilizador: 6.6 ul | Água: 6.8 ul
(C3) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 24.3 ul | Anticorpo secundário: 27.4 ul | Estabilizador: 6.3 ul | Água: 8.4 ul
(C4) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 24.3 ul | Anticorpo secundário: 26.1 ul | Estabilizador: 6.0 ul | Água: 10.0 ul
(C5) Amostra: 68.5 ul | Tampão: 2.0 ul | Anticorpo primário: 24.3 ul | Anticorpo secundário: 24.8 ul | Estabilizador: 5.7 ul | Água: 11.6 ul
```

(C6)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	24.3	ul		Anticorpo secundário:	23.5	ul		Estabilizador:	5.4	ul		Água:	13.2	ul
(C7)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	24.3	ul		Anticorpo secundário:	22.2	ul		Estabilizador:	5.1	ul		Água:	14.8	ul
(C8)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	24.3	ul		Anticorpo secundário:	20.9	ul		Estabilizador:	4.8	ul		Água:	16.4	ul
(C9)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	24.3	ul		Anticorpo secundário:	19.6	ul		Estabilizador:	4.5	ul		Água:	18.0	ul
(C10)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	24.3	ul		Anticorpo secundário:	18.3	ul		Estabilizador:	4.2	ul		Água:	19.6	ul
(C11)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	24.3	ul		Anticorpo secundário:	17.0	ul		Estabilizador:	3.9	ul		Água:	21.2	ul
(C12)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	24.3	ul		Anticorpo secundário:	15.7	ul		Estabilizador:	3.6	ul		Água:	22.8	ul
(D1)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	30.0	ul		Estabilizador:	6.9	ul		Água:	7.8	ul
(D2)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	28.7	ul		Estabilizador:	6.6	ul		Água:	9.4	ul
(D3)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	27.4	ul		Estabilizador:	6.3	ul		Água:	11.0	ul
(D4)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	26.1	ul		Estabilizador:	6.0	ul		Água:	12.6	ul
(D5)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	24.8	ul		Estabilizador:	5.7	ul		Água:	14.2	ul
(D6)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	23.5	ul		Estabilizador:	5.4	ul		Água:	15.8	ul
(D7)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	22.2	ul		Estabilizador:	5.1	ul		Água:	17.4	ul
(D8)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	20.9	ul		Estabilizador:	4.8	ul		Água:	19.0	ul
(D9)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	19.6	ul		Estabilizador:	4.5	ul		Água:	20.6	ul
(D10)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	18.3	ul		Estabilizador:	4.2	ul		Água:	22.2	ul
(D11)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	17.0	ul		Estabilizador:	3.9	ul		Água:	23.8	ul
(D12)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	21.7	ul		Anticorpo secundário:	15.7	ul		Estabilizador:	3.6	ul		Água:	25.4	ul
(E1)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	19.1	ul		Anticorpo secundário:	30.0	ul		Estabilizador:	6.9	ul		Água:	10.4	ul
(E2)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	19.1	ul		Anticorpo secundário:	28.7	ul		Estabilizador:	6.6	ul		Água:	12.0	ul
(E3)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	19.1	ul		Anticorpo secundário:	27.4	ul		Estabilizador:	6.3	ul		Água:	13.6	ul
(E4)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Anticorpo primário:	19.1	ul		Anticorpo secundário:	26.1	ul		Estabilizador:	6.0	ul		Água:	15.2	ul
(E5)	Amostra:	68.5	ul		Tampão:	2.0	ul		Ant														

(F10)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 16.5 ul	Anticorpo secundário: 18.3 ul	Estabilizador: 4.2 ul	Água: 27.4 ul
(F11)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 16.5 ul	Anticorpo secundário: 17.0 ul	Estabilizador: 3.9 ul	Água: 29.0 ul
(F12)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 16.5 ul	Anticorpo secundário: 15.7 ul	Estabilizador: 3.6 ul	Água: 30.6 ul
(G1)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 30.0 ul	Estabilizador: 6.9 ul	Água: 15.6 ul
(G2)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 28.7 ul	Estabilizador: 6.6 ul	Água: 17.2 ul
(G3)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 27.4 ul	Estabilizador: 6.3 ul	Água: 18.8 ul
(G4)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 26.1 ul	Estabilizador: 6.0 ul	Água: 20.4 ul
(G5)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 24.8 ul	Estabilizador: 5.7 ul	Água: 22.0 ul
(G6)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 23.5 ul	Estabilizador: 5.4 ul	Água: 23.6 ul
(G7)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 22.2 ul	Estabilizador: 5.1 ul	Água: 25.2 ul
(G8)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 20.9 ul	Estabilizador: 4.8 ul	Água: 26.8 ul
(G9)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 19.6 ul	Estabilizador: 4.5 ul	Água: 28.4 ul
(G10)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 18.3 ul	Estabilizador: 4.2 ul	Água: 30.0 ul
(G11)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 17.0 ul	Estabilizador: 3.9 ul	Água: 31.6 ul
(G12)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 13.9 ul	Anticorpo secundário: 15.7 ul	Estabilizador: 3.6 ul	Água: 33.2 ul
(H1)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 30.0 ul	Estabilizador: 6.9 ul	Água: 18.2 ul
(H2)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 28.7 ul	Estabilizador: 6.6 ul	Água: 19.8 ul
(H3)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 27.4 ul	Estabilizador: 6.3 ul	Água: 21.4 ul
(H4)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 26.1 ul	Estabilizador: 6.0 ul	Água: 23.0 ul
(H5)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 24.8 ul	Estabilizador: 5.7 ul	Água: 24.6 ul
(H6)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 23.5 ul	Estabilizador: 5.4 ul	Água: 26.2 ul
(H7)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 22.2 ul	Estabilizador: 5.1 ul	Água: 27.8 ul
(H8)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 20.9 ul	Estabilizador: 4.8 ul	Água: 29.4 ul
(H9)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 19.6 ul	Estabilizador: 4.5 ul	Água: 31.0 ul
(H10)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 18.3 ul	Estabilizador: 4.2 ul	Água: 32.6 ul
(H11)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 17.0 ul	Estabilizador: 3.9 ul	Água: 34.2 ul
(H12)	Amostra: 68.5 ul	Tampão: 2.0 ul	Anticorpo primário: 11.3 ul	Anticorpo secundário: 15.7 ul	Estabilizador: 3.6 ul	Água: 35.8 ul