

5 50 λ  
کونزوگه آنزیمی

30 ثانیه حرکت آرام روی سطح میز

6 پوشاندن چاهک‌ها با برچسب مخصوص پلیت و 30 دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق

7 تخلیه چاهک‌ها و 3 بار شستشو هر بار 300 λ

8 100 λ  
محلول رنگزا

از تکان دادن پلیت در این مرحله خودداری کنید

20 دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و تاریکی

9 50 λ  
محلول Stop

20 ثانیه حرکت آرام روی سطح میز

10 خوانش با فیلتر 450 nm  
فیلتر فرانس 630 nm  
خوانش حداکثر تا مدت 15 دقیقه

1 100 λ نمونه، کنترل، کالیبراتور + 50 λ محلول استخراج در لوله شیشه‌ای

سه بار ورتکس به مدت 3 الی 5 ثانیه به ازای هر لوله

2 انکوباسیون به مدت 15 دقیقه در دمای اتاق

2 50 λ  
بافر خنثی کننده

سه بار ورتکس به مدت 3 الی 5 ثانیه به ازای هر لوله

3 انکوباسیون به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق

3 50 λ کالیبراتور، کنترل  
نمونه استخراج شده به چاهک

4 50 λ  
کونزوگه بیوتینی

30 ثانیه حرکت آرام روی سطح میز

پوشاندن چاهک‌ها با برچسب مخصوص پلیت و 45 دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق

سرم (ترجیحاً ناشتا)

نمونه

آماده سازی محلول‌ها

محلول شستشو: 20 میلی لیتر از محلول شستشو (50X) را به 980 میلی لیتر آب مقطر دیونیزه اضافه کنید / نگهداری در دمای 2 تا 8 درجه سانتی گراد.

آماده سازی محلول استخراج: آزادکننده و پایدارکننده را با نسبت 1:39 مخلوط (مثال: 100 میکرو لیتر محلول پایدارکننده به 3.9 میلی لیتر محلول آزادکننده) / به صورت تازه تهیه شود.

استخراج نمونه، کالیبراتور و کنترل: در مراحل 1 و 2 شماتیک به طور کامل توضیح داده شده است.

مقادیر مرجع

Population	pg/mL	pmol/L
Newborn	160-1300	118-957
Adult	200-835	147-615
Adult > 60 Years	110-800	81-589
$\text{pg/mL} \times 0.736 = \text{pmol/L}$		

نکات

غلظت کالیبراتورها و کنترل (ها) در برگه COA درج شده است / مراحل استخراج برای کالیبراتورها و کنترل (ها) نیز باید صورت پذیرد / حتی الامکان برای استخراج نمونه از لوله های شیشه ای تازه و نو استفاده کنید. دقت فرمایید که لوله های شیشه ای کاملاً تمیز و فاقد املاح باشند.