



Használati utasítás Lipid Detection Kit (LD-1012)

Kit tartalma:

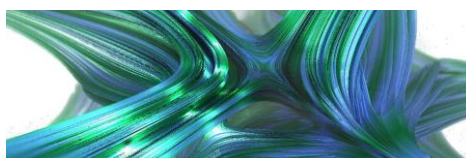
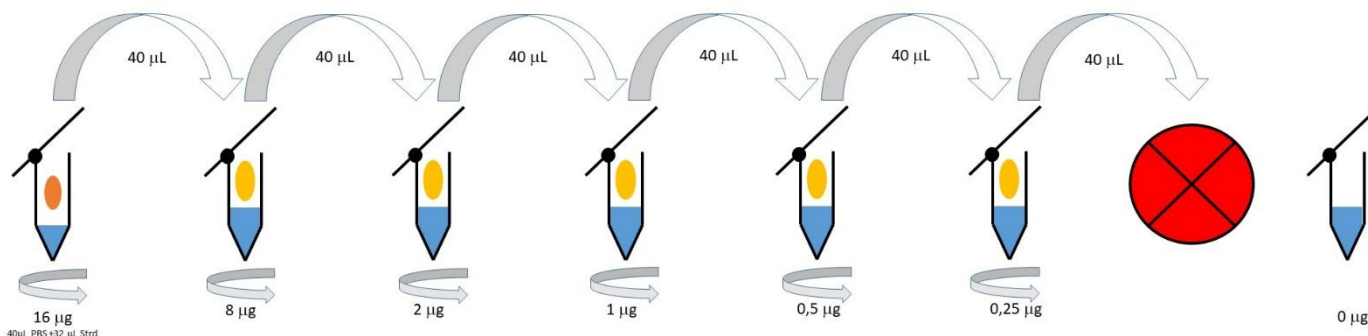
1. **LD- 2012** Bio-Lipid Standard (1 mg/ mL PBS alapú emulzió)
2. **LD- 3012** Bio-FV Reagent

Szükséges eszközök, vegyszerek melyeket, a kit nem tartalmaz:

1. Jól zárható, felületkezelés és színezéktől mentes 1,5mL-es mikrocentrifuga csövek. (Javasolt mikrocentrifuga csövek: Safe-Lock tubes, 1,5 mL, 0030 120.086 és PCR clean tubes, 1,5mL 0030 125.215, Eppendorf AG, Germany). Alternatív beszállítótól származó centrifugacső esetén próbamérést kell végezni. Amennyiben a háttér (lipidet nem tartalmazó minta esetén) 540 nm hullámhosszon mérve nagyobb, mint 0,20 arb az assay során adsz adott mikrocentrifuga cső nem használható.
2. Pipetta hegyek
3. 96% kénsav pipettázására alkalmas mikropipetta
4. 540 nm hullámhosszon abszormancia mérésére alkalmas 96 lyukú plate olvasására alkalmas készülék és hozzá tartozó plate legalább 300 μ L térfogattal lyukanként
5. Thermoblock mely alkalmas a mikrocentrifuga csövek 90°C-on történő melegítésére
6. 37°C-ot biztosító inkubátor
7. Vegyi elszívó fülke
8. 96%-os kénsav
9. PBS vagy egyéb, kénsav által oxidálható anyagtól (pl. cukroktól) mentes puffer pl. NaCl-Hepes vagy nagy tisztaságú víz

Mintaelőkészítés:

1. A vizsgálni kívánt mintát 40 μ L térfogatban, lehetőleg PBS 1,5 mL-es mikrocentrifuga csőben előkészítjük.
2. Felező hígítás segítségével (40 μ L végtérfogatban) standard sort készítünk (16-8-4-2-1-0,5-0,25-0 μ g lipid) a Bio-Lipid standard segítségével
 - a. a 16 μ g standard esetén 48 μ L PBS-hez 32 μ L Bio-Lipid Standardot adunk, majd vortexeljük.
 - b. kiveszünk 40 μ L az emulzióhoz és egy másik csőben 40 μ L PBS-hez adjuk. Vortexeljük és a lépéseket addig ismételjük, míg el nem érjük a 0,25 μ g koncentrációt. Utolsó lépésben a kivett 40 μ L emulziót eldobjuk. A háttér (blank – 0 μ g) vizsgálatához 40 μ L PBS-t használunk. Amennyiben a minták nem PBS-ben vannak diszpergálva, a minta pufferével készítjük a hígítási sort.





3. A 40 μL minta/standard oldathoz 200 μL 96%-os kénsavat adunk, vortexeléssel homogenizáljuk, majd nyitott tetővel, elszívó fülkében 90°C-on 20 percig inkubáljuk.
4. Az inkubációs idő lejárta után a mikrocentrifuga csövek tetejét bezárva 5 percig 4°C-on hűtjük a reakció elegyet
5. A lehűtött reakcióelegyhez 120 μL Bio-FV Reagenst adunk, vortexeléssel homogenizáljuk, majd az elegyből 280 μL -t 96 lyukú plate-re rakunk
6. A plate-et 37 °C-on 1 órán át inkubáljuk
7. Az színes (rózsaszín) reakció termék abszorbanciáját 540 nm-es mérjük
8. A minták lipid tartamlát a standard görbe meredeksége alapján számoljuk ki. A standard görbe akkor, használható, ha az illesztett egyenes R^2 értéke 0,95-nél magasabb, preferenciálisan 0,95-nél magasabb. Az eredmény 0,5 μg lipid alatt tájékoztató jellegű (LoD \sim 0,2 μg) és LoQ \sim 0,5 μg lipid.

