

MATERIALER

ELISA-TEST (MODUL 2)



Materialer fra LIFE Kit

Materialer til forberedelse:

- 1 hætteglas med antigen
- 1 hætteglas med primært antistof (primary antibody)
- 1 hætteglas med sekundært antistof (secondary antibody)
- 1 beholder med substrat (HRP Enzyme Substrate)
- 1 beholder med 10x PBS (10x Phosphate buffered Saline)
- 1 beholder med 10 % Tween
- 9 mikrocentrifugerør pr. gruppe (4 gule, 1 brunt, 1 lilla, 1 blå, 1 grønt, orange, 1 brunt)

Materialer til elevernes arbejdsstationer:

- 1 strip pr. gruppe
- 7 sterile engangspipetter pr. gruppe

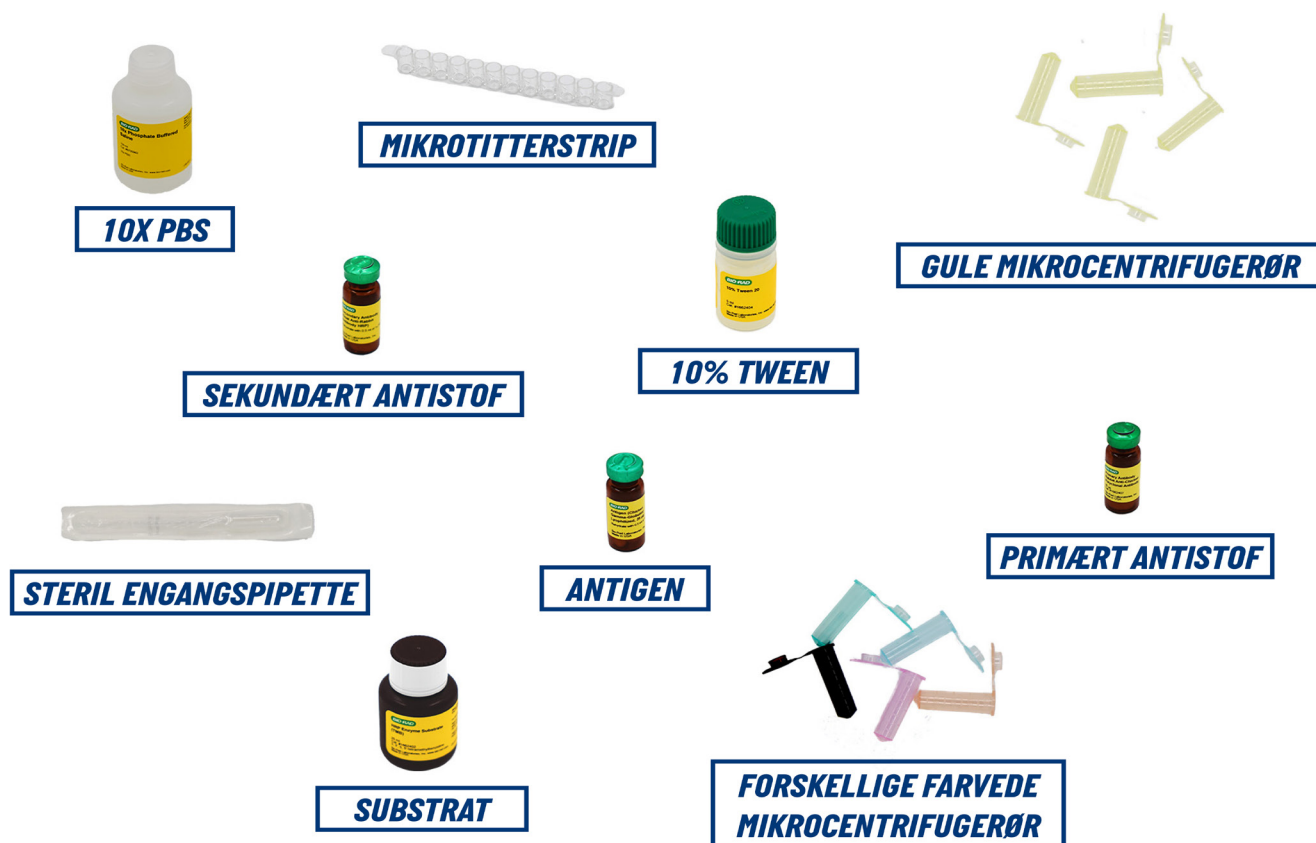
Materialer, der ikke følger med i LIFE Kit

Materialer til forberedelse:

- 1 bægerglas (250 ml)
- 1 måleglas (100 ml)
- 1 måleglas (1000 ml)
- 3 Blue Cap-flasker (250 ml)
- 1 Blue Cap-flaske (1 l)
- 1 mikropipette (200 µl)
- 1 mikropipette (1000 µl)
- 1 gradueret pipette (10 ml)
- pipettespidser
- 1 permanent marker
- demineraliseret vand (ca. 1 l)
- evt. whirlmixer

Materialer til elevernes arbejdsstationer:

- 3 alm. engangspipetter pr. gruppe
- 1 bægerglas (100 ml) pr. gruppe
- 1 bægerglas (250 ml) pr. gruppe
- 1 stativ til mikrocentrifugerør pr. gruppe
- 1 hvidt A4-ark pr. gruppe
- 1 stak papirservietter pr. gruppe (ca. 20 stk) plus ekstra til spild
- 1 kittel pr. elev



Materialer til "ELISA-test" fra LIFE Kit
© LIFE, 2023

FORBEREDELSE MAKS. 24 TIMER FØR BRUG

ELISA-TEST (MODUL 2)

Du kan forberede følgende maks. 24 timer før brug.
Følgende instruktioner forbereder arbejdsstationer til ti grupper.

Hent følgende fra LIFE Kit:

- 1 hætteglas med antigen
- 1 hætteglas med primært antistof
- 1 hætteglas med sekundært antistof
- 1 beholder med substrat
- 1 beholder med 10x PBS
- 1 beholder med 10 % Tween

Hent følgende, der ikke følger med i LIFE Kit:

- 1 bægerglas [250 ml]
- 1 måleglas [100 ml]
- 1 måleglas [1000 ml]
- 3 Blue Cap-flasker [250 ml]
- 1 Blue Cap-flaske [1 l]
- 1 mikropipette [200 µl]
- 1 mikropipette [1000 µl]
- 1 gradueret pipette [10 ml]
- Pipettespidser

1. Fremstilling af vaskebuffer og 1xPBS-buffer

Vaskebuffer (1000 ml)

1. Mærk Blue Cap-flasken [1 l] med teksten "Vaskebuffer".
2. Pipetter 4,5 ml 10% Tween ned i måleglasset [1000 ml]. Smid pipettespidsen ud efter brug.
3. Afmål 90 ml 10xPBS-opløsning i måleglasset [100 ml], og hæld det over i måleglasset [1000 ml].
4. Fyld måleglasset [1000 ml] op til 1000 ml-mærket med demineraliseret vand.
5. Hæld den færdige vaskebuffer over i Blue Cap-flasken [1 l].
6. Sæt låg på, og omryst et par gange.

1xPBS-buffer (100 ml)

1. Mærk bægerglasset [250 ml] med teksten "1xPBS-buffer".
2. Afmål 90 ml demineraliseret vand i måleglasset [100 ml].
3. Tilsæt 10 ml 10xPBS-opløsning til måleglasset [100 ml].
4. Hæld indholdet af måleglasset [100 ml] over i bægerglasset [250 ml].

2. Rehydrering af reagenser: antigen, primært antistof og sekundært antistof

[VIGTIGT: Må tidligst laves op til 24 timer før brug]

1. Åben hætteglasset med antigen.
2. Tilsæt 0,5 ml af 1xPBS-bufteren til hætteglasset. Smid pipettespidsen ud efter brug.
3. Sæt gummiproppen i hætteglasset, og omryst kort på whirlmixer eller ved at vende glasset op og ned 10 gange.
4. Stil på køl til brug.
5. Gentag punkt 1-4 for henholdsvis det primære antistof og det sekundære antistof.

3. Fremstilling af antigenopløsning og antistofopløsninger

Antigenopløsning

[VIGTIGT. Der må ikke bruges vaskebuffer til antigenopløsningen]

1. Mærk en Blue Cap-flaske [250 ml] med teksten "Antigenopløsning".
2. Pipetter 21,5 ml 1xPBS-buffer til Blue Cap-flasken.
3. Tilsæt 450 µl af den rehydrerede antigenopløsning. Smid pipettespidsen ud efter brug.
4. Luk flasken, og omryst kort. Stil på køl indtil brug.

Primært antistof- og sekundært antistof-opløsninger

[Bemærk: Du skal nu bruge vaskebufferen]

1. Mærk 2 Blue Cap-flasker [250 ml] med henholdsvis teksten "Primært antistof-opløsning" og teksten "Sekundært antistof-opløsning".
2. Pipetter 24,5 ml vaskebuffer til begge flasker.
3. Pipetter 500 µl af den rehydrerede primære antistof til Blue Cap-flasken mærket "Primært antistof-opløsning". Smid pipettespidsen ud efter brug.
4. Pipetter 500 µl af den rehydrerede sekundære antistof til Blue Cap-flasken mærket "Sekundært antistof-opløsning". Smid pipettespidsen ud efter brug.
5. Luk begge flasker. Omryst kort, og stil på køl indtil brug.

4. Pipettering af kontrolopløsninger og reagenser

Kontrolopløsninger

1. Mærk 10 lilla mikrocentrifugerør med teksten "PK" [positiv kontrol] på låget med en permanent marker.
2. Pipetter 500 µl af antigen-opløsningen i hvert mikrocentrifugerør. Du behøver ikke skifte pipettespids mellem hvert rør. Smid pipettespidsen ud efter brug.
3. Mærk 10 lyseblå mikrocentrifugerør med teksten "NK" [negativ kontrol] på låget med en permanent marker.
4. Pipetter 500 µl af 1xPBS-bufferen fra bægerglasset [250 ml] i hvert mikrocentrifugerør. Du behøver ikke skifte pipettespids mellem hvert rør. Smid pipettespidsen ud efter brug.
5. Luk alle rør, og sæt dem på køl.

Reagenser

1. Tag 10 grønne mikrocentrifugerør.
2. Mærk seks mikrocentrifugerør med henholdsvis "PA-1", "PA-2", "PA-3", "PA-4", "PA-5" og "PA-6" som vist på fotoet nedenfor. Gentag på yderligere seks grønne mikrocentrifugerør.
3. Mærk de resterende fire grønne mikrocentrifugerør med henholdsvis "PA-1", "PA-2", "PA-3" og "PA-4".
4. Pipetter 1000 µl af primært antistof-opløsningen i hvert grønt mikrocentrifugerør. Du behøver ikke skifte pipettespids mellem hvert rør. Smid pipettespidsen ud efter brug.
5. Mærk 10 orange mikrocentrifugerør med teksten "SA" [sekundært antistof].
6. Pipetter 1000 µl af sekundært antistofopløsningen i hvert orange mikrocentrifugerør. Du behøver ikke skifte pipettespids mellem hvert rør. Smid pipettespidsen ud efter brug.
7. Pipetter 1000 µl af substratopløsningen i 10 mørkebrune mikrocentrifugerør. Brug en ren pipettespids. Du behøver ikke skifte pipettespids mellem hvert rør. Smid pipettespidsen ud efter brug.
8. Luk alle rør, og stil dem på køl.



Sådan skal de grønne rør mærkes. Trinnet gentages, så der mærkes i alt 10 grønne rør.
© LIFE, 2023

5. Mærkning af mikrocentrifugerør

1. Tag fire gule mikrocentrifugerør pr. gruppe.
2. Mærk mikrocentrifugerørene som vist på fotoet nedenfor til gruppe 1.
3. Gentag mærkningen for det antal grupper, du har i klassen. For hver gruppe skrives gruppenummeret på rørene. For gruppe 2 bliver det derfor AI-2, BL-2, BM-2 og KS-2.
4. Stil rørene i et stativ med gruppe 1 øverst og rørene AI, BL, BM og KS stillet på linje i nævnte rækkefølge.



Sådan skal de gule rør mærkes til gruppe 1.
© LIFE, 2023

6. Pipettering af "slangegift"

1. Åbn de mikrocentrifugerør, der er markeret i tabellen nedenfor.
2. Pipetter 500 µl antigenopløsning i hvert åbent mikrocentrifugerør. Du behøver ikke skifte pipettespids mellem hvert rør. Smid pipettespidsen ud efter brug.
3. Luk alle rør.
4. Åbn alle rør, der ikke er markeret i tabellen nedenfor.
5. Pipetter 500 µl 1xPBS-buffer i hvert åbent rør. Du behøver ikke skifte pipettespids mellem hvert rør. Smid pipettespidsen ud efter brug.
6. Luk alle rør, og stil dem på køl.

| | AL | BL | BM | KS |
|----------------|----|----|----|----|
| Gruppe 1 og 7 | X | X | X | |
| Gruppe 2 og 8 | | | X | X |
| Gruppe 3 og 9 | | X | | |
| Gruppe 4 og 10 | X | X | | |
| Gruppe 5 | | | X | |
| Gruppe 6 | X | X | | X |

FORBEREDELSE EN HALV TIME FØR BRUG

ELISA-TEST (MODUL 2)

Du kan forberede følgende en halv time inden undervisningen.

Hent følgende materialer fra LIFE Kit:

- 1 strip pr. gruppe
- 7 sterile engangspipetter pr. gruppe

Hent følgende materialer, der ikke følger med i LIFE Kit:

- 3 alm. engangspipetter pr. gruppe
- 1 bægerglas [100 ml] pr. gruppe [til vaskebuffer]
- 1 bægerglas [250 ml] pr. gruppe [til brugte pipetter]
- 1 stativ til mikrocentrifugerør pr. gruppe
- 1 hvidt A4-ark pr. gruppe
- 1 stak papirservietter pr. gruppe [ca. 20 stk.] plus ekstra til spild

Hent følgende tidligere forberedte materialer

- 1 positiv kontrol, "PK" [lilla], pr. gruppe
- 1 negativ kontrol, "NK" [blå], pr. gruppe
- 1 primært antistof, "PA-X" [grøn], pr. gruppe
- 1 sekundært antistof, "SA" [orange], pr. gruppe
- 1 gult rør mærket "AL-X" pr. gruppe
- 1 gult rør mærket "BL-X" pr. gruppe
- 1 gult rør mærket "BM-X" pr. gruppe
- 1 gult rør mærket "KS-X" pr. gruppe
- 1 brunt rør [substrat] pr. gruppe
- 1 Blue Cap-flaske med vaskebuffer pr. klasse

Fordel mikrocentrifugerør i stativ

1. Stil følgende mikrocentrifugerør i stativet:
 - 1 positiv kontrol, "PK" [lilla]
 - 1 negativ kontrol, "NK" [blå]
 - 1 primært antistof, "PA-X" [grøn]
 - 1 sekundært antistof, "SA" [orange]
 - 1 substrat [brun]
2. Stil de fire gule mikrocentrifugerør mærket "AL-X", "BL-X", "BM-X" og "KS-X" i stativet. Gruppenummer skal svare til numrene på positiv kontrollen ["PA-X"] [grøn].

Eksempel på de mikrocentrifugerør, der stilles i stativet til gruppe 1: PK, NK, PA-1, SA, Substrat, AL-1, BL-1, BM-1, KS-1.

Forbered arbejdsstationer

1. Stil følgende frem til hver gruppe:
 - 1 stativ med mikrocentrifugerør
 - 1 strip
 - 7 sterile engangspipetter
 - 3 alm. engangspipetter
 - 1 bægerglas [100 ml] til vaskebuffer
 - 1 bægerglas [250 ml] til brugte pipetter
 - 1 hvidt A4-ark
 - 1 stak papirservietter [ca. 20 stk.]
 - 1 kittel pr. elev

For at spare tid i undervisningen anbefales det, at du stiller materialerne frem, så de på forhånd er opdelt i arbejdsstationer.



Arbejdsstation for en enkelt gruppe

© LIFE, 2023