



## Набор ИФА для количественного определения концентрации в сыворотке человека ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА

Кат. № : 4224Z  
Количество : 96  
Производитель : DAI (США)

Методика от 10-10-2009

**Внимание:** основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

Анализ	FSH ELISA
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Конъюгированный пероксидазой ИФА
Диапазон обнаружения	0-200 мМЕ/мл
Образец	50 мкл сыворотки
Специфичность	96 %
Чувствительность	2,5 мМЕ/мл
Общее время	~ 80 мин.
Срок годности	12-14 мес.

### НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначен для количественного определения концентрации фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в сыворотке человека.

### ВВЕДЕНИЕ

Фолликулостимулирующий (ФСГ) и лютеинизирующий гормоны (ЛГ) принимают участие в регуляции роста и репродуктивной деятельности гонадальных тканей, которые синтезируют и выделяют мужские и женские половые гормоны.

ФСГ это гликопротеин, который выделяется базофильными клетками гипофиза. Гонадотропный рилизинг-гормон (ГРГ), который вырабатывается в гипоталамусе, контролирует освобождение ФСГ в гипофизе. Как и другие гликопротеины ЛГ, ТСГ и ХГЧ, ФСГ состоят из субъединиц альфа и бета. Гормоны этого типа имеют очень похожую структуру, поэтому биологические и иммунологические свойства каждого зависят от единственных в своем роде бета-субъединиц.

У женщин ФСГ стимулирует рост и созревание фолликулов, действуя прямо на рецепторы зернистых клеток; увеличивается под его действием фолликулярный стероидогенез и стимулируется выработка ЛГ. Выработанный ЛГ потом связывается клетками теки и стимулирует стероидогенез. При созревании фолликула происходит увеличение внутри овариальной продукции эстрадиола, таким образом стимулируя активность рецепторов ФСГ и его связывание. Так что ФСГ, ЛГ и эстрадиол задействованы в укреплении яичников и созревании у женщин.

Уровень ФСГ растет после менопаузы, кастрации и преждевременной недостаточности яичников. Уровень ФСГ может быть нормализован назначением эстрогенов, что указывает на существование механизма обратной связи. Ненормальные взаимодействия между ФСГ и ЛГ, ФСГ и эстрогеном могут быть связаны с нервной анорексией и поликистозной болезнью яичников. Тем не менее, существуют исключения, когда при яичниковой недостаточности определяется концентрация ФСГ более 40 мМЕ/мл. Рост семенных канальцев и поддержание сперматогенеза также регулируются ФСГ. Хотя и андрогены в отличие от эстрогенов не уменьшают уровень ФСГ, тем не менее, выявляется обратная связь только с сывороточным ЛГ. С не совсем понятных причин, у мужчин с олигоспермией и азоспермией определяются увеличенные уровни ФСГ. Опухоль яичек в целом угнетают концентрацию ФСГ в плазме. Высокий уровень ФСГ у мужчин может определяться при первичной тестикулярной недостаточности и синдроме Кляйнфельтера. Увеличение его также происходит иногда при голодании, почечной недостаточности, гипертиреозидизме и циррозе.

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Настоящий набор является твердофазовый ферментосвязанным иммуносорбентным набором (ELISA). В анализе используется

поликлональное анти-ФСГ антитело для иммобилизации твердой фазы (микротитрационные лунки) и мышинное моноклональное анти-ФСГ антитело в растворе антитело-фермент (пероксидаза хрена) конъюгата. Исследуемый образец одновременно реагирует с антителами, в результате молекулы ФСГ будут в «сэндвиче» между твердой фазой и ферментно-связанными антителами. После 60 минутной инкубации при комнатной температуре, лунки промываются водой для удаления несвязанных маркированных антител. Добавляется раствор ТМБ и инкубируется на 20 минут, в результате происходит развитие голубого окраса. Развитие цвета останавливается добавлением стоп раствора, цвет изменяется на желтый и измеряется спектрофотометрически при 450 нм. Концентрация ФСГ прямо пропорциональна интенсивности цвета в образце.

### МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

#### Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми антителами, 96 лунок.
  - Набор референтных стандартов, содержащих 0, 5, 20, 50, 100 и 200 мМЕ/мл (ВОЗ, 2-й IRP, HMG), ФСГ человека, жидкие, готовые к использованию.
  - Ферментный конъюгат, 12 мл.
  - ТМБ субстрат, 12 мл.
  - Стоп-раствор (2N HCl), 12 мл.
  - Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.
- #### Требуемые, но не поставляемые материалы:
- Точные пипетки: 0,05; 0,1; 0,2 и 1,0 мл.
  - Сменные наконечники для пипеток.
  - Дистиллированная вода.
  - Вихревой смеситель или аналог.
  - Промокательная бумага или бумажное полотенце.
  - Бумага для построения графиков.
  - Микротитрационный планшет-ридер.

### СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сыворотку получают из проб цельной крови, взятых подходящим способом. Набор предназначен для работы с образцами сыворотки без добавок.

### ХРАНЕНИЕ НАБОРОВ И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Как не вскрытый, так и вскрытый набор следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Вскрытый набор остается стабильным до окончания срока пригодности при хранении согласно инструкции. Подходящим является микропланшетный ридер с шириной размаха 10 нм или меньше и оптической плотностью 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм.

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием приведите все реагенты к комнатной температуры (18-22°C).
2. Разведите 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разведите 15 мл промывочного буфера (50x) дистиллированной водой, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок с антителами в рамку для стрипов.
2. Внесите **50 мкл** стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите **100 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте содержимое лунок в течении 30 секунд. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте пробы при комнатной температуре (18-25°C) в течении **60 мин.** Приготовьте раствор ТМБ во время этой инкубации.
6. Удалите инкубационную смесь, удалив содержимое планшета в емкость для отходов.
7. Промойте лунки промывочным буфером и вытряхнуть содержимое 5 раз.
8. Перевернуть планшет и резко постучать им по растленному листу промокательной бумаги или бумажного полотенца для удаления остатков жидкости.
9. Внесите **100 мкл** раствора ТМБ в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в темном месте в течении 20 мин.
11. Остановите реакцию внесением **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешивайте на протяжении 30 сек. до смены окраски раствора на желтую.

13. Используя ридер для планшетов, измерьте оптическую плотность лунок при 450 нм на протяжении **30 мин.**

**Внимание:**

Процедура промывки имеет большое значение. При недостаточно тщательном промывании результаты будут неточными, и уровень поглощения будет завышен.

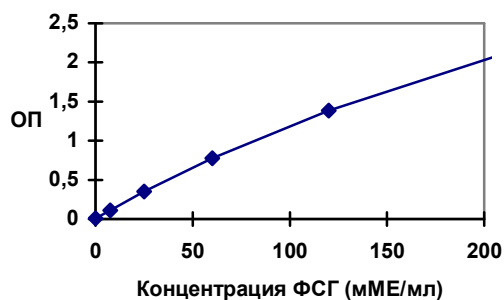
**РАСЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Рассчитать средние значения поглощения ( $A_{450}$ ) для каждого стандарта, контрольных сывороток и образцов. На бумаге для графиков построить калибровочную кривую, откладывая на вертикальной оси (Y) значение поглощения для каждого стандарта против его концентрации в мМЕ/мл на горизонтальной оси (X). С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию ФСГ в мМЕ/мл.

**ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ**

Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета концентраций ФСГ в пробах.

ФСГ (мМЕ/мл)	Поглощение (450 нм)
0	0,007
5.0	0,095
20	0,286
50	0,669
100	1,307
200	2,584



**ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ**

Для каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные значения уровней ФСГ, соответствующие нормальным, на основании результатов анализа статистически достоверного количества клинически охарактеризованных образцов крови. Приведенные ниже значения уровней ФСГ считать приблизительными:

Женская фолликулярная фаза	0-20 мМЕ/мл/мл
Середина цикла	15-30 мМЕ/мл/мл
Лютеальная фаза	0-20 мМЕ/мл/мл
После менопаузы	40-200 мМЕ/мл/мл
Мужчина	0-20 мМЕ/мл/мл

Минимальная концентрация ФСГ, определяемая с помощью этого набора, составляет 2,5 мМЕ/мл.

**ЛИТЕРАТУРА**

(См. в оригинале инструкции).

**ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:**

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
 Тел.: (0342) 775122  
 Тел/факс: (0342) 775612  
 E-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)