



Набор для определения ГОРМОНА РОСТА

HGH EIA KIT

Кат. № : 109-1787
Количество тестов : 96
Производитель : DRG (USA)

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

Методика 23/05/05

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для количественного определения концентрации человеческого Гормона Роста в сыворотке.

ПРИНЦИП ТЕСТА

Количественный тест HGH базируется на принципе ELISA (реакция энзимосвязанной иммуносорбции на солидной фазе). Система использует анти-HGH антитела овцы для иммобилизации на солидной фазе (микротитрационные лунки) и мышинные моноклональные анти-HGH антитела в растворе конъюгата антитело-энзим (пероксидаза). Тестируемый образец одновременно реагирует с антителами, что приводит к освобождению молекул HGH, которые находятся между солидной фазой и энзимосвязанными антителами. После 45-минутной инкубации при комнатной температуре лунки с целью удаления несвязанных антител промываются водой. Добавляется реагент ТМВ и инкубируется еще 20 минут, что дает образование голубого цвета, которое останавливается добавлением Стоп Раствора, после чего образуется желтый цвет и производится измерение на спектрофотометре при длине волны 450 нм. Концентрация HGH прямо пропорциональна интенсивности цвета тестируемого образца.

ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO

Хранить при 2-8°C

РЕАГЕНТЫ.

Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми анти-HGH антителами овцы, 96 лунок.
- Набор стандартов, включающих 0; 2,5; 5; 10; 25 и 50 нг/мл HGH, лиофилизированные.
- Ферментный конъюгат, 13 мл.
- ТМВ реагент, 11 мл.
- Стоп раствор (1N HCl), 11 мл.

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Пипетки: 0,05, 0,1, и 1,0 мл.
- Дистиллированная вода.
- Наконечники для пипеток.
- Вихревой смеситель Vortex.
- Фильтровальная бумага или бумажное полотенце.
- Ридер для планшетов с шириной спектральной щели 10 нм или менее и способностью измерять оптическую плотность в диапазоне 0-2 OD или более при длине волны 450 нм.
- Бумага для построения графиков.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ.

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

ХРАНЕНИЕ НАБОРА.

Не вскрытый набор следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Вскрытый набор останется стабильным до конца срока годности, если он сохраняется как описано выше.

ПОДГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ.

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-25°C).
2. Разбавьте каждый лиофилизированный стандарт 1,0 мл дистиллированной воды. Оставьте смешанные растворы на 20 минут и хорошо смешайте. Разбавленный стандарты останутся стабильными на протяжении 30 дней, если будут сохраняться в запечатанном виде при температуре 2-8°C.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

1. Поместите нужное количество лунок с антителами.
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 **45 мин**.
6. Удалите содержимое лунок.
7. Промыть лунки дистиллированной или неионизированной водой **5 раз**. (Не пользуйтесь водопроводной водой).
8. Перевернуть планшет и легко постучать им по расстеленному листу фильтровальной бумаги или бумажного полотенца для удаления остатков жидкости.
9. Внесите **100 мкл** раствора ТМВ в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в темном месте в течении **20 минут**.
11. Остановите реакцию внесением **100 мкл** стоп раствора в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешайте пробы на протяжении **30 секунд**. **Очень важно убедиться, что весь голубой цвет стал желтым.**

13. Используя ридер для планшетов, измерьте оптическую плотность лунок при **450 нм на протяжении 15 мин.**

РАСЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ.

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

hGH (нг/мл)	Поглощение (450 нм)
0	0,052
2,5	0,392
5	0,641
10	1,125
25	1,946
50	2,610

ПРИМЕР КРИВОЙ СМОТРИ В ОРИГИНАЛЬНОЙ ИНСТРУКЦИИ .

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ.

Каждая лаборатория должна установить свои собственные границы значений, базируемые на популяции пациентов. Нормальные границы концентрации hGH тяжело определить в связи с физиологическими ее колебаниями. У большинства взрослых в покое, после ночного сна hGH-уровень в сыворотке приближается к 7 нг/мл. Колебания его концентрации в ответ на различные стимулы дает более точное представление о питуитарной дисфункции. Для подтверждения диагноза необходимо проведение провокационных проб со стимуляцией или угнетением.

Минимальная чувствительность теста 0,5 нг/мл.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com