



Набор ИФА для определения ГОРМОНА РОСТА ЧЕЛОВЕКА (HGH)

Каталог. № : 1901Z
К-во анализов : 96
Производитель : DAI (США)

Методика от 10-10-2009

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

Анализ	Human Growth Hormone
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Конъюгированный пероксидазой сэндвич-ИФА
Диапазон обнаружения образцов	0-30 нг/мл
Специфичность	96 %
Чувствительность	0,5 нг/мл
Общее время	~ 60 мин.
Срок годности	12-14 мес.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для количественного определения концентрации человеческого гормона роста (HGH) в сыворотке человека.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Количественный анализ HGH основывается на принципе ИФА (фермент-связанного иммунсорбентного анализа). Система использует анти-HGH антитела овцы для иммобилизации на твердой фазе (микротитрационные лунки) и мышинные моноклональные анти-HGH антитела в растворе конъюгата антитело-энзим (пероксидаза). Анализируемый образец одновременно реагирует с антителами, что приводит к освобождению молекул HGH, которые находятся между твердой фазой и энзимосвязанными антителами. После 60-минутной инкубации при комнатной температуре лунки с целью удаления несвязанных антител промываются водой. Добавляется реагент ТМБ 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 анализируемого образца.

МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

Материалы, входящие в состав набора:

- Микротитровальный планшет с лунками, покрытыми антителами.
- Набор референтных стандартов, включающих 0; 1,0, 2,5, 7,5, 15 и 30 нг/мл HGH, жидкие, готовые к использованию.
- Ферментный конъюгат, 12 мл.
- Субстрат ТМБ, 12 мл.
- Стоп-раствор, 12 мл.
- Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Точные пипетки: 0,05, 0,1, 0,2 и 1,0 мл.
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Дистиллированная вода.
- Вихревой смеситель или аналог.
- Промокательная бумага или бумажное полотенце.
- Бумага для построения графиков.
- Микролуночный планшет-ридер.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

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

ХРАНЕНИЕ НАБОРА

Невыскранный 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. Вскрытые наборы остаются стабильными до окончания срока пригодности при хранении согласно инструкции. Подходящим является микропланшетный считыватель с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-22°C).
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) в дистиллированной воде, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

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 (18-22°C) в течении **60 мин**.
6. Удалите инкубационную смесь вытряхнува содержимое планшета в контейнер для отходов.
7. Промойте лунки промывочным буфером (1x) водой **5 раз**.
8. Перевернуть планшет и легко постучать им по расстеленному 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 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 **30 мин**.

Важное замечание:

Процедура промывания – крайне важна. Недостаточное промывание может привести к неточным результатам.

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 нг/мл на горизонтальной оси (X). С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию HGH в нг/мл.

ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают со считыванием оптической плотности при 450 нм на оси Y по отношению к концентрациям HGH на оси X. Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен только в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета неизвестных значений. Каждый пользователь должен получить свои собственные данные и калибровочную кривую.

ГРЧ (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0,0	0,052
1,0	0,253
2,5	0,501
7,5	1,158
15,0	2,075
30,0	3,025

(Пример калибровочной кривой см. 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 анализа **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.ua
www.diameb.ua