

ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ В СЕМИНАЛЬНОЙ ПЛАЗМЕ

CitricScreen

Каталог. № : [Омсумстмөүөм] Методика от 02-27-2010
Производитель: Bioscreen Inc.



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

**Только для исследовательских целей.
Не для диагностических процедур**

ПРИНЦИП:

Метод CitricScreen® измеряет количество лимонной кислоты в семенной плазме.

В первом шаге анализа сперма обрабатывается спиртом и затем центрифугируется для удаления сперматозоидов и частиц из семенной плазмы.

Во втором шаге к определенному количеству семенной плазмы добавляется раствор хлорида железа. Присутствие цитрата окрасит раствор в желтый цвет. Интенсивность цветной окраски прямо пропорциональна количеству ионов лимонной кислоты в семенной плазме и может быть измерена в микропланшетном фотометре. Общее количество лимонной кислоты может быть рассчитано по формуле.

РЕАГЕНТЫ:

Хлорид железа: раствор хлорида железа, 15 мл. Готов для использования.

Спирт: 10 мл спирта. Готов для использования.

Стандарт лимонной кислоты: раствор лимонной кислоты в концентрации 2 мг/мл, 1,5 мл. Готов для использования.

Предосторожности: Избегайте контакта с кожей и глазами.

Планшет: 96 ячеек.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

1. Дистиллированная или деионизированная вода
2. Центрифуга на 1500g
3. Пробирки и штатив
4. Дозаторы и наконечники
5. Контейнеры для сбора образцов
6. Микропланшетный ридер с фильтром 390-410 нм

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ:

Хранить все реагенты при комнатной температуре. Необходимо использовать до указанного на этикетке срока годности. Срок годности 18 месяцев со дня выпуска.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:

Все образцы спермы следует считать потенциально инфекционно опасными и обращаться с ними как с образцами, предположительно инфицированными ВИЧ или вирусами гепатитов. Образцы утилизируйте в соответствии с национальными руководствами по утилизации потенциально инфекционно опасных биологических образцов.

СБОР ОБРАЗЦОВ:

Образцы необходимо собрать в чистые контейнеры. Образцы следует хранить при комнатной температуре до использования. Или, сперма может быть заморожена до анализа в обычном морозильнике. Не нужны никакие специальные процедуры для замораживания и размораживания. Позвольте замороженным образцам полностью оттаять перед использованием.

ПРОТОКОЛ:

1. Позвольте образцу спермы достичь разжижения и измерьте общий объем образца.
2. Добавьте 100 мкл спермы в опытную пробирку.
3. Добавьте 100 мкл Спирта в пробирку и перемешайте.
4. Центрифугируйте при 1500 g в течение 10 минут.
5. Отберите 50 мкл супернатанта в чистые пустые ячейки микропланшета.

1. Добавьте 50 мкл Стандарта лимонной кислоты в соответствующие ячейки.
2. Добавьте 50 мкл воды в качестве отрицательного контроля в соответствующие ячейки.
3. Добавьте точно по 5 капель Хлорида железа во все ячейки.
4. Слегка встряхните планшет для перемешивания реагентов.
5. Считайте оптическую плотность ячеек при 390 нм (можно считать с установленным фильтром до 410 нм). Используйте в качестве Бланка ячейку с отрицательным контролем.

ЗАМЕЧАНИЕ: оптическая плотность (OD) Стандарта лимонной кислоты должна быть между 0.10 и 0.25. Повторите анализ, если OD Стандарта лимонной кислоты ниже (<0.1) или выше (>0.25)

РАСЧЁТ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ:

$$\text{Общ. кол-во лимон. кислоты} = \frac{OD \text{ сем. плазмы}}{OD \text{ Стандарта лим. к-ты}} \times 4 \times \text{Объём}$$

Где 4 – известное определенное количество лимонной кислоты в Стандарте лимонной кислоты и фактор разбавления образца в ходе анализа.

Пример: При анализе опытного образца и считывании с фильтром 410 нм получены следующие результаты:

Объем спермы = 2,0 мл
Значение OD образца спермы = 0,23
Значение Стандарта лимонной кислоты = 0,14

Рассчитываем по формуле:

$$0,23 \times 4 \times 2 = 13 \text{ мг лимонной кислоты / весь объем эякулята}$$

0,14

ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА:

Внутрисерийная воспроизводимость

Образец спермы был проанализирован 13 раз данным методом:

№.	Значение, мг	S.D.	C.V.
13	6.8	±0.40	6%

Извлечение

К пулу спермы были добавлены различные количества лимонной кислоты - 0, 1, 2, и 4 мг, затем эти образцы были проанализированы методом CitricScreen®. Результаты были определены по стандартной кривой.

Добавленное, мг	Наблюдаемое, мг	Ожидаемое, мг	Открытие, %
0	-	-	-
1	1.3	1.0	130
2	2.0	2.0	100
4	4.0	4.0	100



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com