

ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФРУКТОЗЫ В СЕМИНАЛЬНОЙ ПЛАЗМЕ

FructoScreen

Каталог. № : [Отсутствует] 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 **FructoScreen**[®] измеряет количество фруктозы в семенной плазме.

В *первом шаге* анализа все белки и частицы удаляются из семенной плазмы, которая содержит фруктозу.

Во *втором шаге* депротеинизированная семенная плазма инкубируется с индолом. Индол окрашивает раствор в желто-оранжевый цвет в присутствии фруктозы. Интенсивность цветной окраски прямо пропорциональна количеству фруктозы в семенной плазме и может быть измерена в микропланшетном фотометре. Общее количество фруктозы может быть рассчитано по формуле.

РЕАГЕНТЫ:

Раствор А: раствор соли цинка, 12 мл. Готов для использования.

Раствор В: 8 мл раствора гидроксида натрия. Готов для использования.

Предосторожности: Избегайте контакта с кожей и глазами.

Индол: 4 мл раствора индола. Готов для использования.

Предосторожности: Избегайте контакта с кожей.

Стандарт фруктозы: раствор фруктозы в концентрации 6,5 ммоль/л с добавлением азида натрия, 1,5 мл. Готов для использования.

Предосторожности: перемещайте с осторожностью.

Пустой флакон-капельница: на 15 мл концентрированной соляной кислоты, с этикеткой «концентрированная соляная кислота». Готов для заполнения.

Планшет и крышка: 96 ячеек.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

1. Концентрированная соляная кислота
2. Пробирки и штатив
3. Дозаторы и наконечники
4. Дистиллированная или деионизированная вода
5. Контейнеры для сбора образцов
6. Центрифуга на 1500g
7. Воздушный термостат
8. Микропланшетный ридер с фильтром 470-490 нм

СПЕЦИАЛЬНЫЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ЗАПОЛНЕНИЮ ФЛАКОНА-КАПЕЛЬНИЦЫ КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ СОЛЯНОЙ КИСЛОТОЙ:

1. Носите защитные перчатки и защитные очки.
2. Работайте с концентрированной соляной кислотой под вытяжкой.
3. Снимите крышку и колпачок-капельницу с пустого флакона.
4. Снимите крышку с флакона с концентрированной соляной кислотой и полностью удалите корку с поверхности раствора (если она есть).
5. Налейте кислоту во флакон-капельницу. Избегайте вдыхания кислотных паров. Старайтесь не пролить кислоту.
6. Вставьте пластмассовую пробку в ваш флакон с кислотой и затем завинтите крышку.
7. Крепко удерживая флакон-капельницу, вставьте наконечник капельницы в горлышко флакона. Завинтите крышку.
8. При контакте промывайте кожу и глаза обильным количеством воды в течение, по крайней мере, 15 минут.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ:

Хранить индол при температуре ниже 0°C и размораживать перед использованием. Хранить все остальные 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.

Избегайте вдыхать **концентрированную соляную кислоту** во время анализа. Избегайте контакта кожи с **концентрированной соляной кислотой**. При попадании кислоты на кожу или в глаза промывайте обильным количеством воды в течение, по крайней мере, 15 минут.

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 3 капли **Раствора А** в опытную пробирку.
4. Добавьте 2 капли **Раствора В** в опытную пробирку и перемешайте.
5. Центрифугируйте при 1500 g в течение 5 минут.
6. Отберите 50 мкл супернатанта в чистую пустую ячейку микропланшета.
7. Добавьте 50 мкл **Стандарта лимонной кислоты** в соответствующую ячейку.
8. Добавьте 50 мкл воды в качестве отрицательного контроля в соответствующую ячейку.
9. Добавьте точно по 1 капле **Индола** во все ячейки.
10. Добавьте точно по 4 капли **Концентрированной соляной кислоты** во все ячейки.
11. Слегка встряхните **планшет** (горизонтально) для перемешивания реагентов. Закройте планшет крышкой и инкубируйте 30 минут при 37°C.
12. Читайте оптическую плотность ячеек при 470 нм (можно считать с установленным фильтром до 490 нм). Используйте в качестве Бланка пустую ячейку.

РАСЧЁТ КОНЦЕНТРАЦИИ ФРУКТОЗЫ:

$$\text{Концентрация фруктозы} = \frac{\text{OD сем. плазмы}}{\text{OD Стандарта фруктозы}} \times 14$$

Где 14 – известное определенное количество фруктозы в **Стандарте фруктозы** и фактор разбавления образца в ходе анализа.

РАСЧЁТ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ФРУКТОЗЫ:

$$\text{Общее кол-во фруктозы} = \frac{[\text{конц. фруктозы}]}{1000} \times \text{Объём}$$

Пример: При анализе опытного образца и считывании с фильтром 490 нм получены следующие результаты:

Объём спермы = 2,0 мл

Значение OD образца спермы = 0,255

Значение Стандарта фруктозы = 0,168

Значение OD воды (отрицательный контроль) = 0,020

Рассчитываем по формуле концентрацию фруктозы:

$$\frac{0,255}{0,168} \times 14 = 21,2 \text{ ммоль/л фруктозы}$$

Рассчитываем по формуле общее количество фруктозы:
 $\frac{21.2}{1000} \times 2 = 42.5$ мкмоль фруктозы /весь объём эякулята

ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА:

Внутрисерийная воспроизводимость

Образец спермы был проанализирован 10 раз данным методом:

<u>No.</u>	<u>Значение, мг</u>	<u>S.D.</u>	<u>C.V.</u>
10	35.8	+1.60	4%



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