

# 双峰驼血浆促卵泡素的放射免疫分析法\*

李喜龙<sup>①</sup> 赵兴绪<sup>②</sup>

(<sup>①</sup>中国科学院昆明动物研究所 昆明 650223; <sup>②</sup>甘肃农业大学动物医学系 兰州 730070)

**摘要** :用单峰驼促卵泡素标准品(CamFSH),hFSH 抗血清和<sup>125</sup>I-hFSH 建立了测定双峰驼血浆 FSH 的放射免疫分析方法,并通过一系列实验证明,该方法可以用于测定双峰驼血浆 FSH,是研究双峰驼生殖内分泌学的可靠手段之一。

**关键词** 双峰驼,促卵泡素,放射免疫分析方法

中图分类号:Q503 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2000)05-34-03

## Radioimmunoassay of Follicle Stimulating Hormone(FSH) in the Blood Plasma of Bactrian Camel

LI Xi-Long<sup>①</sup> ZHAO Xing-Xu<sup>②</sup>

(<sup>①</sup>Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences Kunming 650223,China;

<sup>②</sup>Department of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University Lanzhou 730070,China)

**Abstract** :A homologous radioimmunoassay for FSH in the blood plasma of Bactrian camel (*Camelus bactrianus*) was established using CamFSH as reference standard, hFSH as anti-serum and <sup>125</sup>I-hFSH as radioligand. The sensitivity, specificity, accuracy and validity of this method was also testified and confirmed.

**Key words** Bactrian camel; Follicle stimulating hormone; Radioimmunoassay

促卵泡素(follicle stimulating hormone, FSH)的主要功能是促进卵细胞的生长发育,刺激卵巢生长,增加卵巢重量<sup>[1]</sup>,因此是生殖内分泌学研究中一种很重要的激素。目前,许多人采用同源放射免疫分析方法(radioimmunoassay,RIA)测定骆驼血浆中 FSH 的含量,如赵兴绪<sup>[2]</sup>用羊-羊系统测定了双峰驼外周血浆中 FSH 的含量,Bravo 等<sup>[3]</sup>用羊-羊系统测定了羊驼外周血浆中 FSH 的含量。由于目前尚无双峰驼 FSH 标准品,因此本实验用单峰驼 FSH 标准品,建立了测定双峰驼外周血浆中 FSH 的同源性 RIA,为探讨双峰驼的生殖内分泌调控机理,进一步研究双峰驼诱导排卵机理提供了可靠手段。

### 1 材料与方法

**1.1 主要试剂及仪器** 单峰驼 FSH 标准品(CamFSH NZY 01)由法国 Pascal Bonnet 博士(Department de Elevage et de Medecine Veterinaire, CIRAD-EMVT)提供,hFSH、hFSH 抗血清及<sup>125</sup>I-hFSH 均由北京北方免疫试剂研究所提供。FSH 测定仪为全自动  $\gamma$  免疫计数器,国营二六二厂医用核仪器分厂生产,型号

\* 教育部“跨世纪优秀人才”计划资助项目;

第一作者介绍:李喜龙,29岁,博士后,研究方向:生殖生物学和低温生物学;E-mail:lixilong@hotmail.com;

收稿日期:2000-01-25,修回日期:2000-06-19

FJ2008PS。

**1.2 FSH 测定系统的建立** 将 CamFSH NZY 01 用 0.1 mol/L 的 PBS 稀释为 2.5、5.0、10、25、50、100、200 ng/ml 7 个浓度梯度,与  $^{125}\text{I}$ -hFSH 和 hFSH 抗体组成 FSH 测定系统。

**1.3 FSH 测定系统准确性的评价** 取 200  $\mu\text{l}$  双峰驼血浆,分别加入不同剂量的 CamFSH NZY 01 标准品做回收实验,以评价该方法的准确性。

**1.4 FSH 测定系统特异性的评价** 取 50、100、200、400  $\mu\text{l}$  双峰驼血浆,用 0.1 mol/L PBS 补平各反应体积,进行血浆样品稀释曲线的测定,结果以 ng/ml 表示。

**1.5 FSH 测定系统重复性的评价** 将测定系统的标准曲线、双峰驼血浆样品稀释曲线、hFSH 系统的标准曲线经 lg- $\text{lgit}$  转化为直线,协方差分析各直线的斜率是否平行。

**1.6 垂体兴奋试验** 选取健康母驼 3 峰,肌注 LRH-A (南京动物激素厂),每间隔 1 小时肌注 LRH-A 200  $\mu\text{g}$ ,连续注射 5 小时,共 6 次,注射前及注射后每间隔 1 小时采血一次,连续采血至最后一次注射后 1 小时。血样均从颈静脉中采取 0.1% 的肝素抗凝,离心(1 500 r/min, 15 分钟)吸取上清液,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。

**1.7 注射生理盐水对照实验** 选取健康母驼 3 峰,肌注生理盐水 4 ml,注射前及注射后间隔 1 小时采血一次,一直采血至注射后 6 小时,血样均从颈静脉采取 0.1% 的肝素抗凝,离心(1 500 r/min, 15 分钟)吸取上清液,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。

## 2 结果

**2.1 CamFSH-hFSH 系统测定双峰驼血浆 FSH 的特异性、可靠性和重复性** 用不同剂量的双峰驼血浆制作的血浆样品稀释曲线、单峰驼标准品的剂量反应曲线与 hFSH 标准品的剂量反应曲线经 lg- $\text{lgit}$  转化( $\text{lgit } y = \ln y/1-y$ ) 后的直线见图 1。

将这几条直线的斜率进行协方差分析,发现用 CamFSH 建立的测定系统标准曲线转化

的直线斜率与血浆样品稀释曲线转化后的直线斜率间差异不显著( $P > 0.05$ ),而与 hFSH 标准品的剂量反应曲线转化后的直线斜率间差异显著( $P < 0.05$ )。这说明双峰驼血浆 FSH 与 CamFSH 标准品有较一致的免疫学交叉反应性,在目前尚无双峰驼 FSH 纯品的情况下,可以用 CamFSH-hFSH 系统测定双峰驼血浆中的 FSH。而且用这种方法测定双峰驼血浆时,血浆的稀释并不影响测定,重复性好。

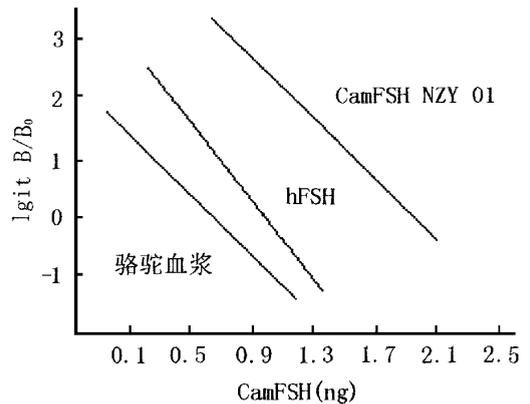


图 1 lg-it 转化后的 FSH RIA 直线

**2.2 CamFSH-hFSH 系统测定双峰驼血浆 FSH 的灵敏度、精密度** 测定系统的灵敏度以  $B_0$  管 2 倍的标准差计算,为  $(1.46 \pm 1.15) \text{ ng/m}$  ( $n = 4$ ),用双峰驼血浆分别做分析内和分析间变异系数测定,其值分别为 12.53% ( $n = 3$ ) 和 13.92% ( $n = 3$ )。

**2.3 CamFSH-hFSH 系统测定双峰驼血浆 FSH 的准确性** 在双峰驼血浆中加入不同剂量的 CamFSH 做回收实验,结果见表 1。扣除血浆中的 FSH 含量后,回收的 FSH 量( $y$ )与加入的量( $x$ )之间密切相关( $r = 0.9991$ )。其回归直线方程为  $y = -1.4083 + 1.0475x$ ,经方差分析  $x$  与  $y$  之间的线性关系达到极显著水平( $P < 0.01$ ) (图 2),表明回收良好,双峰驼血浆各组分不干扰 FSH 的 RIA。

**2.4 肌注 LRH-A 或生理盐水前后母驼外周血浆中 FSH 的变化** 肌注 LRH-A 或生理盐水前后 FSH 的变化见图 3。注射 LRH-A 前,母

表1 血浆回收实验

血浆量 (ml)	加入 FSH (ng/ml)	测定结果 (ng/ml)	回收量 (ng/ml)	回收率 (%)
200	0	18.9101		
200	2.5	21.1712	2.2611	90.44
200	5	23.0903	4.1806	83.61
200	10	28.6267	9.7166	97.1
200	25	40.3797	21.4696	85.88
200	50	70.9496	52.0395	104.08
200	100	122.4278	103.5187	103.52
平均				94.12

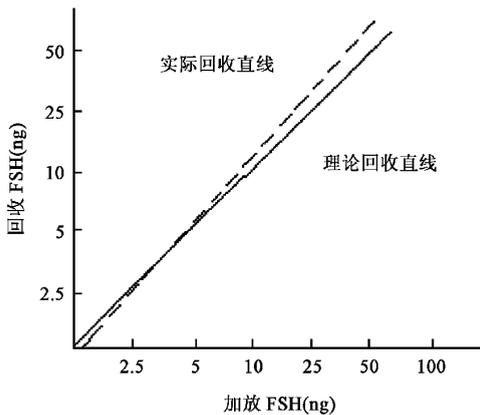
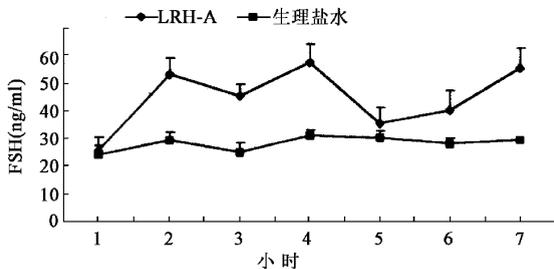


图2 外源性 FSH 回收直线

图3 肌注 LRH-A 或生理盐水后  
血浆中 FSH 的变化

驼外周血浆中 FSH 的浓度为  $(25.24 \pm 5.44)$  ng/ml, 每间隔 1 小时注射 1 次 LRH-A, 共注射 6 次, 第一次注射后 1 小时, FSH 浓度急剧升高, 3 峰母驼平均为  $(52.82 \pm 5.84)$  ng/ml, 第二次注射 1 小时, FSH 略有下降, 其值为  $(45 \pm 4.57)$  ng/ml, 第三次注射后 1 小时, FSH 又升高为  $(56.95 \pm 7.23)$  ng/ml, 然后 FSH 又略有下降, 再开始上升, 到第六次注射后 1 小时, FSH 为  $(55.03 \pm 7.11)$  ng/ml, 与注射前浓度均差异

显著 ( $P < 0.05$ )。这说明肌注 LRH-A 后能引起双峰驼 FSH 的释放, 并且用这一测定方法可以监测到这种变化。肌注生理盐水前, FSH 的浓度为  $(25.14 \pm 5.36)$  ng/ml, 注射后 4、6 小时的浓度分别为  $(34.11 \pm 6.62)$  及  $(33.41 \pm 4.59)$  ng/ml, 前后差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

FSH 是一种糖蛋白, 由两个可以解离的  $\alpha$  和  $\beta$  亚基组成。 $\beta$  亚基具有激素的特异性, 又具有种间特异性, 是激素生物活性和免疫活性的决定因素<sup>[1]</sup>。多方面的实验证明, 在异源性 RIA 中, FSH 抗体可与 FSH 的  $\beta$  亚基结合<sup>[2]</sup>。而用 CamFSH-hFSH 建立的 RIA 测定双峰驼血浆中 FSH 的含量时, 双峰驼 FSH 与单峰驼 FSH 标准品有完全一致的免疫学交叉反应, 而且测定的特异性强, 双峰驼血浆组分也不干扰 FSH 的测定, 有较好的重复性和稳定性, 在目前尚无双峰驼 FSH 纯品的情况下, 可以用此系统来测定双峰驼血浆中 FSH 的变化。

本次实验中, 双峰驼肌注 LRH-A 后 1 小时 FSH 急剧升高, 以后各次注射对 FSH 的升高幅度虽没有这次明显, 但都有一定程度的升高, 说明 LRH-A 可促进垂体释放 FSH, 这与双峰驼肌注 LRH-2 后 FSH 的变化相同<sup>[2]</sup>。肌注生理盐水后血浆 FSH 浓度没有明显变化, 说明生理盐水并不影响垂体释放 FSH。这也证明, 用 CamFSH-hFSH 建立的 RIA 测定的 FSH 可以反应出母驼血浆 FSH 的变化, 因此可作为研究双峰驼生殖生理的重要手段之一。

致谢 本实验用的 CamFSH NZY 01 由法国 Pascal Bonnet 博士提供, 在此谨表谢忱。

### 参 考 文 献

- [1] 王建辰主编. 家畜生殖内分泌学. 北京: 农业出版社, 1993. 61~65.
- [2] 赵兴绪, 蒋领根, 德叔兰. 双峰驼促卵泡素放射免疫测定方法的建立. 甘肃农业大学学报, 1990, 25(3): 250~257.
- [3] Bravo, P. W., M. E. Fowler, G. H. Stabenfeldt *et al.* Ovarian follicular dynamics in the Llama. *Biology of Reproduction*, 1990, 43: 579~585.