

# 抗缪勒氏管激素 (AMH)

抗缪勒氏管激素 (AMH) 是一种二聚体糖蛋白, 属于 TGF- $\beta$  蛋白家族, 由女性的颗粒细胞和男性的支持细胞产生。AMH 是一种性激素, 参与原始卵泡转换率及小窦卵泡对促卵泡生成激素 (FSH) 敏感性的调控 (1)。AMH 由小窦卵泡和前窦卵泡的颗粒细胞分泌, AMH 的浓度水平能反映小窦卵泡及前窦卵泡的卵泡池尺寸 (2)。在整个月经周期中, AMH 的浓度水平都是非常稳定的 (3)。

对女性而言, 卵巢颗粒细胞分泌 AMH 大约起始于妊娠第 36 周, 25 周岁左右会达到峰值。随着年龄的增加, AMH 水平会逐步下降, 到绝经期 AMH 的水平将低至无法检出。然而, 男性在出生后, AMH 水平会显著升高并保持至青春前期, 随后逐步发生下降并在成年阶段保持稳定 (4)。

## AMH 可作为诊断用途的生物标志物

AMH 被认为是目前最可靠的卵巢储备功能评估的标志物 (5)。AMH 检测可用于生殖能力评估以帮助妇女预测促排卵反应状况。同时也可用于评估绝经期年龄及监控和诊断多囊卵巢综合征 (6)。

## AMH 的生化性质

外周循环中, AMH 有两种存在形式。一种是 proAMH 同源二聚体, 这种形式不会与 AMH 受体结合。另一种为截断形式的 AMH, 是 AMH 2 型受体结合的形式, 即 AMHN,C。140KDa 的 proAMH 同源二聚体会在蛋白酶的作用下发生截断, 产生一个 25KDa 的 C 末端二聚体 (AMHC) 和 120KDa 的 N 末端二聚体 (AMHN), 这两种末端形式的二聚体仍然以非共价交联的形式结合在一起 (7) (图1)。目前, 市场上的绝大多数 AMH 免疫学检测试剂均可检出上述两种不同形式的 AMH (8)。

## 用于 AMH 免疫检测系统开发的抗原和抗体

HyTest 提供若干株性能优异的 AMH 特异性小鼠单克隆抗体。均以重组 AMH 为免疫原。另外, 我们也提供一种重组 AMH 抗原, 可用于校准品及标准品的制备。

1. Durlinger, A.L.L. et al. Anti-Müllerian Hormone Attenuates the Effects of FSH on Follicle Development in the Mouse Ovary. *Endocrinology* 142, 4891-4899 (2001).
2. Weenen, C. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Molecular Human Reproduction* 10, 77-83 (2004).
3. Kelsey, T. W. et al. A Validated Model of Serum Anti-Müllerian Hormone from Conception to Menopause. *PLoS ONE* 6, e22024 (2011).
4. Grinspon, R. P. et al. Early onset of primary hypogonadism revealed by serum anti-Müllerian hormone determination during infancy and childhood in trisomy 21: Early onset of hypogonadism in trisomy 21. *International Journal of Andrology* 34, e487-e498 (2011).
5. Victoria, M. et al. Anti-Müllerian Hormone: More than a biomarker of female reproductive function. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction* 48, 19-24 (2019).

6. Dewailly, D. et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Human Reproduction Update* 20, 370-385 (2014).
7. Pankhurst, M. W. et al. The Anti-Müllerian Hormone Precursor (proAMH) is Not Converted to the Receptor-Competent Form (AMHN,C) in the Circulating Blood of Mice. *Endocrinology* 157, 1622-1629 (2016).
8. Pankhurst, M. W. & McLennan, I. S. A specific immunoassay for proAMH, the uncleaved proprotein precursor of anti-Müllerian hormone. *Molecular and Cellular Endocrinology* 419, 165-171 (2016).
9. McLennan, I. S. & Pankhurst, M. W. Anti-Müllerian hormone is a gonadal cytokine with two circulating forms and cryptic actions. *Journal of Endocrinology* 226, R45-R57 (2015).

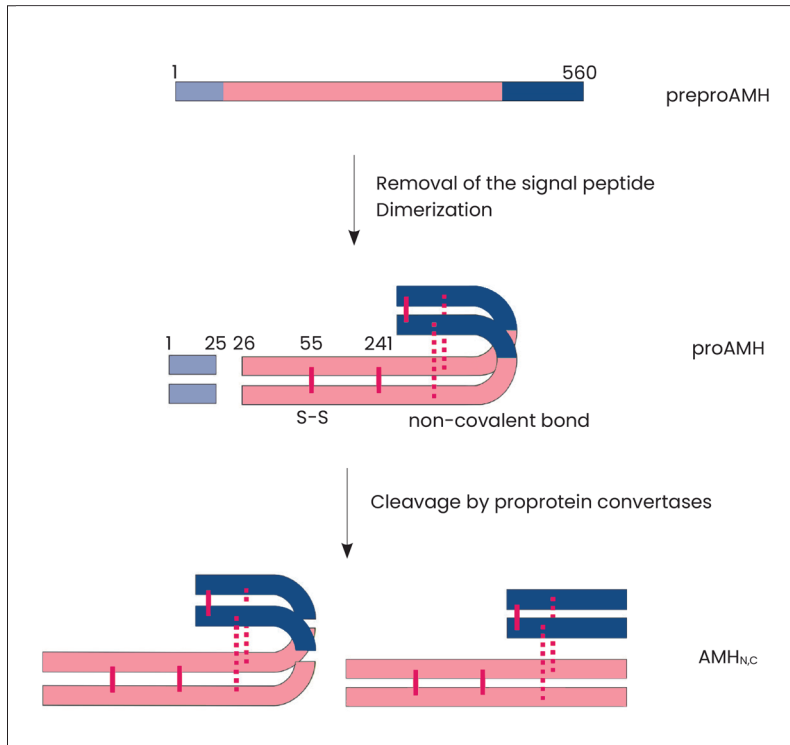


图1. 外周循环AMH生成示意图 (9)。

## AMH特异性单克隆抗体

我们提供的所有AMH抗体均只识别AMH的N末端。因此，使用这些抗体开发的检测试剂可以识别两种形式的AMH抗原。对于AMH检测试剂的开发，我们推荐4组高灵敏度的配对组合（表1）。其中两组配对以重组AMH作为校准品的原型试剂（CLIA平台）的校准曲线如图2所示。

表1. 推荐配对。数据基于链霉亲和素/HRP和ALP化学发光平台，LoD为最低检测限。

捕获抗体	检测抗体	LoD (pg/ml)
AMH65cc	AMH47cc	5
AMH69cc	AMH41cc	2
AMH69cc	AMH46cc	3
AMH60cc	AMH69cc	5

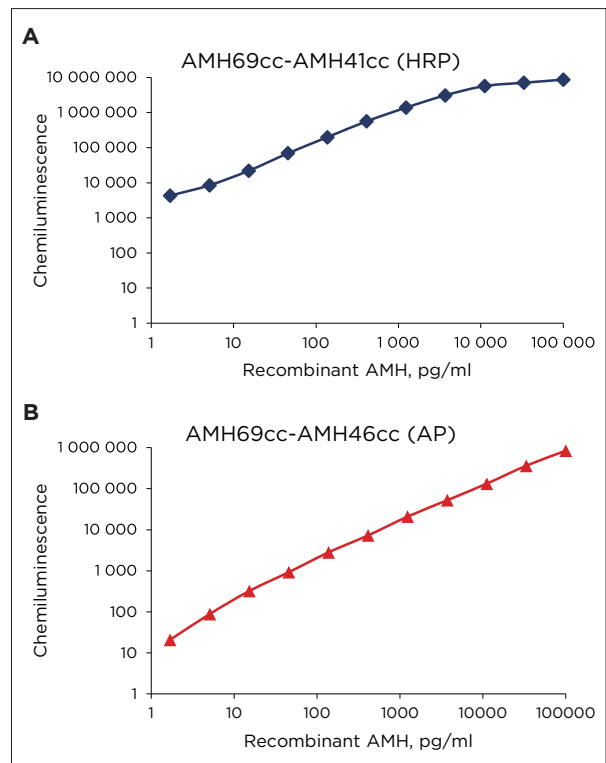


图2. 化学发光平台中，以重组AMH为抗原，AMH69cc-AMH41cc (A) 和AMH69cc-AMH46cc (B)的校准曲线。A配对中使用的标记物为链霉亲和素/HRP，B配对中使用的标记物为碱性磷酸酶。重组AMH的稀释液为含有0.1% Tween 20和75mg/ml BSA的PBS缓冲液。

## AMH临床样本测试

天然AMH检测。我们内部使用的原型试剂可以检测血清样本中的天然AMH。配对AMH69cc-AMH46cc在化学发光平台中对天然AMH的稀释测试曲线如图3所示。测试天然AMH的灵敏度约为5pg/mL。此外，天然AMH的初始浓度由Beckman Gen II试剂测得。

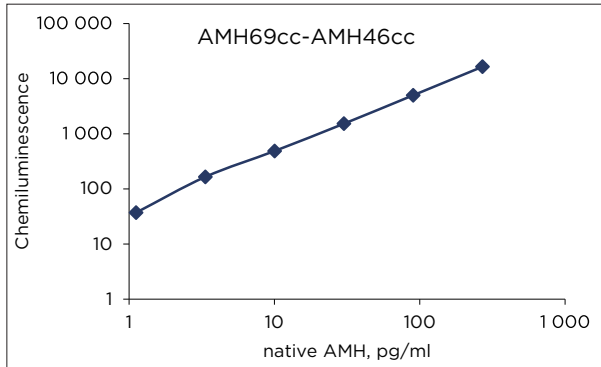


图3.碱性磷酸酶化学发光平台中，配对AMH69cc-AMH46cc的天然抗原测试结果。天然AMH的初始浓度由Beckman Gen II试剂测得。稀释液为含有0.1% Tween 20和75mg/ml BSA的PBS缓冲液。

原型试剂与商品化试剂的检测结果存在良好的相关性。37例人血清样本，年龄范围为2-46岁（男性女性均有），检测试剂为配对AMH69cc-AMH46cc的原型试剂和Beckman Gen II试剂。HyTest原型试剂的反应液为含有0.1% Tween 20和75mg/ml BSA的PBS缓冲液。相关性结果如图4所示。

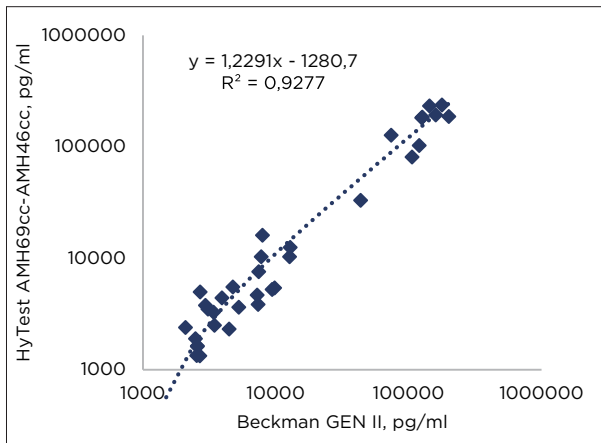


图4. 配对AMH69cc-AMH46cc的HyTest原型试剂与Beckman Gen II试剂存在良好的相关性。配对AMH69cc-AMH46cc的原型试剂与Roche AMH试剂的结果比对。样本数为40，浓度范围为0-20ng/mL，相关性结果良好（图5）

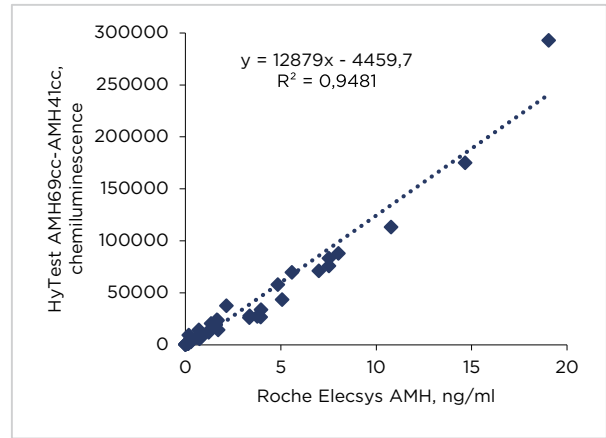


图5. 配对AMH69cc-AMH46cc的HyTest原型试剂与Roche AMH试剂存在良好的相关性。

## 重组人AMH抗原

HyTest提供的重组人AMH抗原由哺乳动物细胞表达，无亲和和标签。可用于免疫检测系统中校准品及标准品的制备。

## 重组AMH与天然AMH抗原的稀释线性

为了比较重组AMH与天然AMH抗原的免疫学活性，我们对重组AMH和天然AMH抗原进行了稀释线性分析。结果显示，两种抗原的反应曲线是平行的，说明两种抗原的稀释后免疫活性是相似的（图6）。

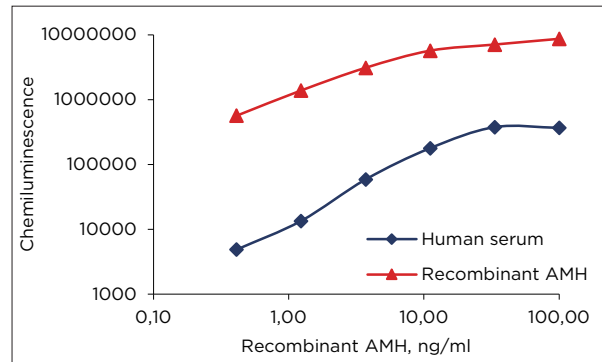


图6. 配对AMH69cc-AMH41cc对抗原的稀释线性测试。血清天然AMH与添加于含有0.1% Tween 20和75mg/ml BSA的PBS缓冲液的重组AMH的滴度测试。

## 血清中重组AMH抗原的添加回收率

为了研究重组AMH抗原添加进入血清后的表现，我们进行了添加回收率测试（图7）。100%的含义为添加了重组AMH的血清的反应信号与内源性AMH和缓冲液中重组AMH的总和是相等的。结果显示，在很宽的浓度范围内，重组AMH均具有非常好的添加回收率（80-105%）。

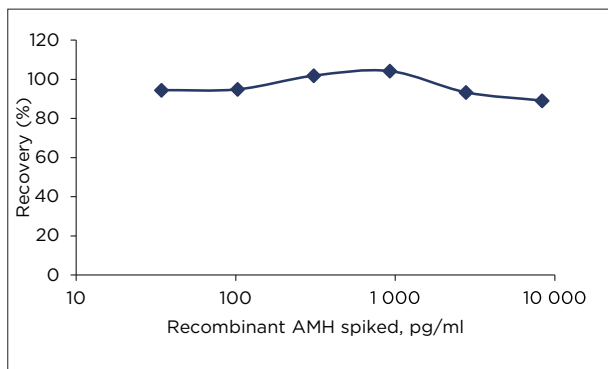


图7. 化学发光平台中，配对为AMH69cc-AMH41cc的原型试剂对于重组AMH的添加回收率测试。

## 批次之间的免疫学性质差异

AMH是一种糖基化的同源二聚体，且存在若干酶切位点可被多种蛋白酶作用。AMH与其酶切片段形成共价或非共价交联的能力会影响其免疫学性质。重组AMH抗原也同样会经历蛋白水解，水解后形成的分子片段在纯化后可由SDS-PAGE电泳显示（图8）。这些分子片段的形成是生物学过程的作用结果，重组AMH抗原在每次细胞培养的表达过程中，其发生酶切的情况可能会有所不同。因此，批次之间可能出现一定的免疫学性质差异。

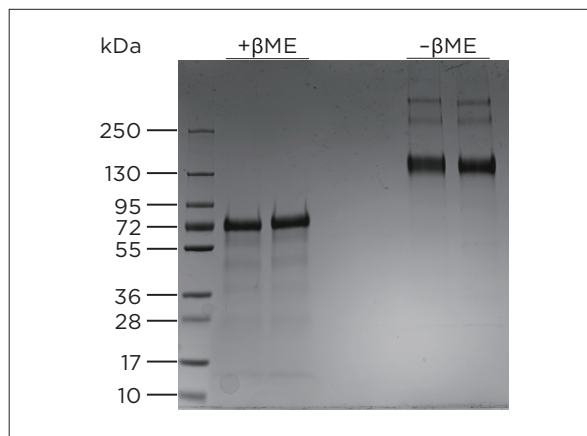


图8. 两批重组AMH抗原的SDS-PAGE电泳结果，（+βME为还原性电泳，-βME为非还原性电泳）。蛋白上样量为6μg。

## 订购信息

### 单克隆抗体

产品名称	货号	克隆	亚型	备注
Anti-Müllerian hormone (AMH), human	4AM5	AHM41cc	IgG2a	体外培养, EIA, WB
		AMH46cc	IgG2a	体外培养, EIA, WB
		AMH47cc	IgG2a	体外培养, EIA, WB
		AMH60cc	IgG2b	体外培养, EIA, WB
		AMH65cc	IgG1	体外培养, EIA, WB
		AMH69cc	IgG2b	体外培养, EIA, WB

### 抗原

产品名称	货号	纯度	来源
人AMH, 重组	8AM7	>90%	重组