

17β-雌二醇酶联免疫吸附测定试剂盒

17β-E2 ELISA Kit

本产品冰袋运输; 保存于 4℃ (其中 **酶结合物** 需保存于 -20℃), 保质期 6 个月。

货号规格

HJ220 96次

产品简介

本试剂盒采用竞争法 Elisa 定量检测哺乳动物血清、血浆及细胞上清中的 17β-雌二醇的浓度。高特异性识别 17β-雌二醇的抗体已经预包被于酶标板上, 同时加入样品和酶结合物(辣根过氧化物酶标记的 17β-雌二醇), 样品中 17β-雌二醇与酶结合物竞争性结合酶标板中包被的抗体。洗去游离的未结合的 17β-雌二醇与酶结合物, 加入显色剂 TMB, 与抗体结合的酶结合物上连接的辣根过氧化物酶(HRP)就会催化 TMB 氧化生成蓝色物质, 而后加入终止液, 最终产物呈黄色。样品中 17β-雌二醇含量越多, 与包被抗体结合的酶结合物就越少, 最终显色就越浅, 即产物颜色与样品中 17β-雌二醇的浓度成反比。

背景简介

雌二醇是哺乳动物体内最重要的雌激素之一, 其属于 C18 类固醇激素, 主要结合于球蛋白(SHBG)或血清白蛋白, 只有 1~3%的雌二醇以游离形式循环在血浆中。

雌二醇在雌性哺乳动物和雄性哺乳动物体内均存在。对于人类的女性来说, 雌二醇刺激性器官的生长并产生第二性征, 同时也影响促性腺激素的分泌; 在男性体内, 雌二醇的作用尚未明确, 可能具有调节促性腺激素分泌的作用。对于未孕妇女, 雌二醇主要由卵巢产生, 当进入绝经期后, 雌二醇也由肝脏、大脑、肌肉及脂肪组织产生。

在排卵周期连续(如: 每日)测定雌二醇水平有助于精确评价卵泡生长等卵巢功能, 也可用于检测在正常周期或在体外受精前人工诱导的排卵周期中雌激素血清水平的指数增长状况。此外, 雌二醇的检测还有助于判断雌激素是否缺乏, 通常表现为青春期延迟, 原发或继发性闭经, 绝经等。

产品内容

组分	体积或数量
17β-雌二醇抗体预包被板	12条
样品稀释液	16mL
17β-雌二醇标准品	2支
酶结合物(HRP标记的17β-雌二醇)	≥2支(冻干)
浓缩洗涤液(20×)	30mL
显色剂TMB	10mL
终止液	5mL
封板胶纸	3张

操作步骤

◆ 样品制备

1. 根据样品种类选择相应的处理方法:

- A. **血清样品**: 将全血在室温下静置 0.5~2h, 待其自然凝固并析出血清后, 离心取黄色上清即可 (4°C, 1000~2000×g, 10 min), 注意请勿吸取沉淀, 制备好的血清需置于冰上待用, 请勿在其中添加任何防腐剂或抗凝剂;
- B. **血浆样品**: 使用 EDTA 对全血进行抗凝处理后, 混合均匀置于冰上, 离心取黄色上清即可 (4°C, 1000~2000×g, 10 min), 注意请勿吸取沉淀, 制备好的血浆需置于冰上待用;

注意: ① 样品在 2~8°C 下保存请勿超过 24h, 如需长期存放 (3 个月以上), 应冻存于 -20°C。使用过程中请避免反复冻融;

② 若样品中雌二醇的含量高于 2,000 pg/mL, 请用 **样品稀释液** 稀释后再进行检测;

③ 请保证待测样品清澈透明, 检测前如发现样品中有悬浮物, 需通过离心去除;

④ 为了保证检测结果准确, 请勿使用溶血、黄疸、高血脂或污染的样品;

⑤ 一些影响代谢的药物、5-羟色胺 (血管收缩素) 和其它生物胺相对含量较高的饮食也会影响检测的结果。

◆ 检测准备工作

2. 试剂盒自冰箱取出后, 请置于室温平衡 20 min; 检测完成后, 剩余试剂请及时置于 4°C 保存;

3. 将 **浓缩洗涤液 (20×)** 用双蒸水或去离子水稀释为 1× 洗涤液;

4. 按 **酶结合物** 标签上注明的复溶体积, 在其中加入 **样品稀释液**, 室温操作, 请严格控制在 25~28°C, 静置 15~20 min 后轻轻混悬, 用移液器吹打数次, 使其彻底溶解;

注意: **酶结合物** 复溶后, 不能保存, 实验未用完的部分建议丢弃。

5. **17β-雌二醇标准品** 一管为 1 mL, 浓度为 2,000 pg/mL, 如用摩尔分数表示样品中雌二醇的浓度, 可按下面公式转换: 1 pg/mL=3.67 pmol/L。按下表用 **样品稀释液** 倍比梯度稀释后依次加入检测孔中。(最高浓度为 2,000 pg/mL, 将 **样品稀释液** 作为浓度 0 pg/mL。)

管号	稀释液用量 (μL)	复溶后标准品用量 (μL)	标准品的最终浓度 (pg/mL)
A	0	250	2,000
B	250	250	1,000
C	250	250 (从 B 管中取)	500
D	250	250 (从 C 管中取)	250
E	250	250 (从 D 管中取)	125
F	250	250 (从 E 管中取)	62.5
G	250	250 (从 F 管中取)	31.25
H	250	0	0

◆ 检测流程

6. 通过计算确定一次实验所需的板条数, 取出所需板条放置于框架内, 多余的板条请放回铝箔袋密封, 保存于 4°C;

注意: ① 标准品和样品建议做双复孔检测;

② 建议设置本底校正孔, 即空白孔, 只需加入相应体积的 **显色剂 TMB** 和 **终止液** 即可;

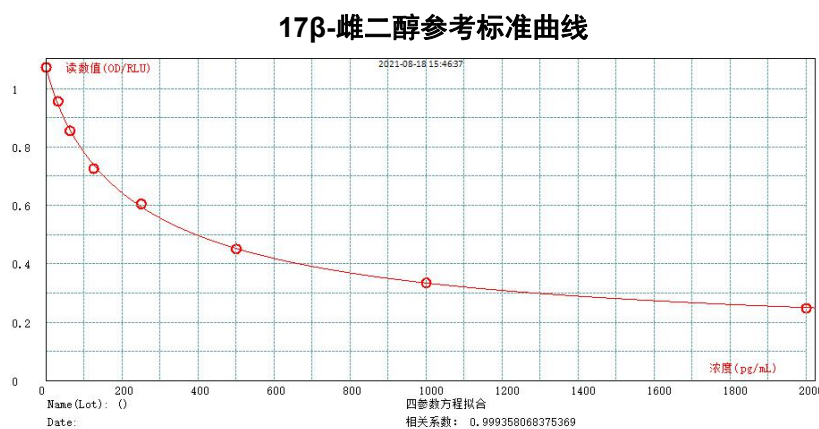
③ 每次实验均需绘制标准曲线。

7. 将稀释后的样品和不同浓度标准品 (90 μL /孔) 分别加入相应孔中；
注意：① 请查阅相关文献确定样品中待检测蛋白的大致浓度，若其大于或小于本试剂盒的最高或最低标准品浓度，请将样品适当稀释或浓缩后再进行检测；
 ② 整个加样过程不宜超过 10 min，否则可能会影响检测结果。
8. 每孔再加入 10 μL 复溶后的 **酶结合物**，充分混合 10 s，用封板胶纸封住反应孔，室温 (25~28 $^{\circ}\text{C}$) 避光孵育 120 min；
9. 洗板 3 次，每孔 1 \times 洗涤液用量为 300 μL ，注入与吸出间隔 15~30 s，洗完后将板倒扣在厚吸水纸上拍干；
注意：洗涤过程至关重要，洗涤不充分会导致结果产生较大误差。
10. 加入 **显色剂 TMB** (100 μL /孔)，室温 (25~28 $^{\circ}\text{C}$) 避光孵育 10~20 min；
注意：在保存和使用时，请勿将 TMB 接触氧化剂和金属。
11. 加入 **终止液** (50 μL /孔)，混匀后即刻测量 OD450；
注意：读取 OD 值建议在 10 min 内完成。

◆ 数据分析

12. 绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标，OD 值作纵坐标，利用计算机软件生成标准曲线。通过样品的 OD 值即可在标准曲线上计算出其相应浓度。
注意：① 复孔 OD 值在 20% 的差异范围内结果才有效，复孔 OD 值取平均后可作为测量值；
 ② 每个标准品或样品的 OD 值应减去本底校正孔的 OD 值；
 ③ 若样品 OD 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。

◆ 标准曲线范例



注意：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算样品含量。

注意事项

1. **浓缩洗涤液** 低温情况下可能会出现结晶，请水浴加热使结晶完全溶解后再配制工作液；
2. 严禁混用不同批号试剂盒的组分；
3. 实验操作过程中一定要保证试剂充分混匀，否则会使结果产生较大误差；
4. 加样过程请避免产生气泡；
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
6. 本产品仅限科研使用。

相关性能参数

◆ 雌二醇正常范围参考值

正常女性(>18岁)	n	pg/mL
卵泡期	34	30~120
排卵高峰	42	130~370
黄体期	29	70~250
绝经期	25	15~60

	n	pg/mL
正常男性	25	15~60

◆ 特异性

本试剂盒对各种类似固醇类小分子化合物的交叉反应性见下表:

组分	交叉反应(%)
17 β -雌二醇	100
雌激素酮	2.1
雌激素三醇	1.5
17 α -雌二醇	0.3
氢化可的松	<0.1
可的松	<0.1
妊娠素	<0.1
睾丸素	<0.1
DHEA-S	<0.1
5 α -二氢睾丸酮	<0.1

◆ 灵敏度

经重复验证, 本试剂盒最低可检测的雌二醇浓度为 12 pg/mL。

◆ 回收率

在已知雌二醇含量的正常人血清中加入一定浓度的雌二醇。

样品	加入雌二醇(pg/mL)	测量值(pg/mL)	回收率(%)
1	0	34	
	89	96	69.7
	246	267	94.7
	315	369	106.3
2	0	32	
	89	97	73.0
	246	245	86.6
	315	363	105.1
3	0	183	
	89	245	134.8
	246	476	119.1
	315	557	118.1

版本号: 21C24