

睾酮酶联免疫吸附测定试剂盒 Testosterone 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

HJ221 96次

产品简介

本试剂盒采用竞争法 Elisa 定量检测哺乳动物来源样品中的睾酮的浓度。高特异性识别睾酮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睾酮), 样品中睾酮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睾酮与酶结合物, 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。样品中睾酮含量越多, 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睾酮的浓度成反比。

背景简介

睾酮(又称睾丸素、睾丸酮或睾甾酮)是一种类固醇荷尔蒙, 由男性的睾丸或女性的卵巢分泌, 肾上腺亦分泌少量睾酮。它是主要的男性性激素及同化激素。不论是男性或女性, 它对健康及有着重要的影响, 包括增强性欲、力量、免疫功能、对抗骨质疏松症等功效。据统计, 成年男性分泌睾酮的份量是成年女性的分泌量的 20 倍。血浆中的睾酮由β球蛋白负责运输, 其被称为性激素结合球蛋白(SHBG)。在循环系统中, 有多达 98%的睾酮以结合形式存在, 游离睾酮在靶组织中通过酶降解形成具有生理学活性的二氢睾酮。

睾酮与雄性第二性征的产生有关, 测定其浓度对判断性腺发育情况很有意义。女性睾酮水平过高会表现女性男性化、多囊卵巢、卵巢癌、肾上腺肿瘤和肾上腺增生等。男性睾酮水平增高与下丘脑垂体病变、睾丸肿瘤、先天性肾上腺增生和前列腺癌有关。

低睾酮水平可见于下列疾病: 垂体功能减退、先天性睾丸发育不全、睾丸女性化、隐睾病、酶缺陷和一些自身免疫性疾病。

产品内容

组分	体积或数量
睾酮抗体预包被板	12条
样品稀释液	16mL
睾酮标准品	2支
酶结合物(HRP标记的睾酮)	≥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℃, 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℃, 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℃ 下保存请勿超过 24h, 如需长期存放(3 个月以上), 应冻存于-20℃。使用过程中请避免反复冻融;

② 若样品中睾酮的含量高于 20ng/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℃ 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℃, 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. **睾酮标准品** 一管为 1mL, 浓度为 20ng/mL。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 20ng/mL, 将 **样品稀释液** 作为浓度 0ng/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(ng/mL)
A	0	250	20
B	250	250	10
C	250	250(从 B 管中取)	5
D	250	250(从 C 管中取)	2.5
E	250	250(从 D 管中取)	1.25
F	250	250(从 E 管中取)	0.625
G	250	250(从 F 管中取)	0.3125
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℃;

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(25μL/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 10min, 否则可能会影响检测结果。

8. 每孔再加入 75μL 复溶后的 **酶结合物**, 充分混合 10s, 用封板胶纸封住反应孔, 室温(25~28℃)

避光孵育 120 min;

9. 洗板 3 次, 每孔 1×洗涤液用量为 300μL, 注入与吸出间隔 15~30s, 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**(100μL/孔), 室温(25~28℃)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**(50μL/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。

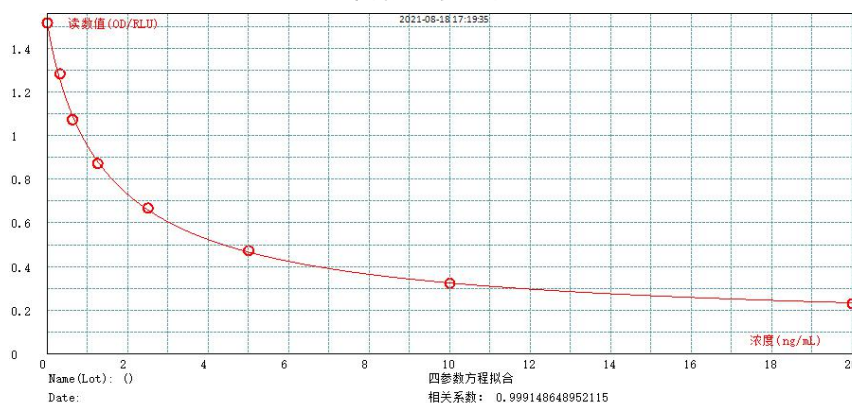
注意: ① 复孔 OD 值在 20% 的差异范围内结果才有效, 复孔 OD 值取平均后可作为测量值;

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

睾酮参考标准曲线



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

◆ 睾酮正常范围参考值

	n	ng/mL
正常女性	33	0.1~1.2
正常男性	34	2.4~12

◆ 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(%)
睾酮	100
雄(甾)烯二酮	0.9
雄甾酮	0.9
5 α -二氢睾酮	<0.05
17 α -雌二醇	<0.05
雌激素酮	<0.05
雌激素三醇	<0.05
表睾(甾)酮	<0.05
17-OH孕酮	<0.05
氢化可的松	<0.005

◆ 灵敏度

经重复验证, 本试剂盒最低可检测的睾酮浓度为 0.07 ng/mL。

◆ 回收率

在已知睾酮含量的正常人血清中加入一定浓度的睾酮。

样品	加入睾酮 (ng/mL)	测量值 (ng/mL)	回收率 (%)
1	0	3	--
	1	3.6	90
	2	4.9	98
	4	7.1	101
2	0	0.6	--
	1	1.3	82
	2	2.1	81
	4	4.2	92
	8	8.0	93

版本号: 21C24