

睾酮定量分析酶联免疫检测试剂盒

本试剂盒仅供科研使用。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分是否完整。如有产品包装破损或质量投诉，请在收到货一个月之内联系我们。如有其它疑问请登录上海中乔新舟生物科技有限公司网站或致电本公司。

1. 简介

睾酮 (17 Hydroxy-4-Androstene-3-on) 是 C19 类固醇激素，分子量 288，是哺乳动物最重要的雄性激素之一。雄性体内的睾酮主要由睾丸合成；雌性由卵巢和肾皮质合成。在血浆中的睾酮由 β 球蛋白负责运输，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不全很有意义。在雌性，睾酮水平增高多见于多毛症，在人类女性中，睾酮水平增高表现女性男性化，多囊卵巢，卵巢癌，肾上腺肿瘤和肾上腺增生。在人类男性中，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、睾丸切除术、隐睾病、酶缺陷和一些自身免疫性疾病。

2. 检测原理

睾酮试剂盒采用竞争法检测原理。在酶标板预包被了高特异性识别睾酮的抗体，同时加入样本和 HRP 连接的睾酮结合物，样本中睾酮与睾酮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睾酮结合物，加入 TMB 底物，与抗体结合的睾酮结合物上带的 HRP 就会催化底物 TMB 反应，颜色显蓝色，中止后显黄色。如果样本中睾酮含量越多，则与包被的抗体结合的睾酮结合物则越少，颜色则越浅，即颜色与样本中的浓度成反比。

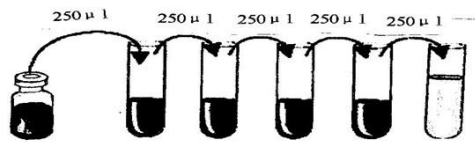
本试剂盒主要用于定量检测哺乳动物血清、血浆及细胞上清中的睾酮含量

3. 试剂盒组成

3.1、预包被板 12条/6条 (96T/48T)；

3.2、标准品2管/1管 (96T/48T)，每管1ml，浓度20ng/ml；

使用时直接取用稀释好的标准品为 20000pg/ml，作为最高浓度，再用样本稀释液倍比梯度稀释后依次加入检测孔中。（标准曲线取八个点，最高浓度为 20000pg/ml，样本稀释液直接加入作为 0 浓度。）



3.3、样本稀释液，1 瓶 16ml/8ml (96T/48T)；

标准曲线中 0 浓度标准品以样本稀释液直接加入。

34、睾酮 HRP 酶冻干结合物，2 瓶/1 瓶 (96T/48T)，1.85 ml 复溶。

35、TMB 底物溶液，1 瓶 10ml/5ml (96T/48T)；

36、中止液，1 瓶 5ml；

3.7、浓缩洗涤液 (20×)，1 瓶 30ml/15ml (96T/48T)；

3.8、封板纸 3 张/2 张 (96T/48T)；

3.9、打印版半对数坐标纸一张

3.10、说明书一份；

4、检测中需要没有提供需要自备的材料：

4.1、振荡混匀器。

4.2、可控温水浴箱 37℃。

4.3、ELISA 酶标仪 (450nm)。

4.4、移液枪头等

5、注意事项

51、未开封的试剂应保存在 2—8℃。包装箔袋开封后，应立即封紧。开封后的包被微孔板储存在 2—8℃下可以稳定 6

- 个星期。
- 52 、所有试剂和所需微孔板条在使用前应平衡至室温（25~28℃）。
- 53 、使用前将浓缩洗涤液用蒸馏水按 1：20 稀释（例如：10ml 浓缩洗涤液应用蒸馏水稀释至终体积 200ml）。
- 54 、稀释后的洗涤液在 2—8℃下可以保存 4 个星期。
- 55 、样本收集
- 血清和 EDTA 处理的血浆样本。避免使用明显溶血、黄疸、脂血样本。使用的血清和 EDTA 血浆样本，按常规方法制备。样品在 2—8℃下保存不超过 24 小时。如果样品需要长期存放（3 个月以上），应冻存在—20℃。使用过程中应避免反复冻融。
- 56 、如果样本中的睾酮含量高于 20ng/ml，应将样本用试剂盒提供的零浓度样本稀释液稀释后再进行检测。
- 57 、一些影响代谢的药物及含有 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。

6. 检测过程

所有的试剂和样本在使用前应平衡至室温并摇匀（摇匀过程应保证无泡沫产生）。一旦检测开始，应连续操作，不中断。开始分析前，推荐准备好所有试剂，打开瓶盖，将所需微孔板条固定等等，以防止实验中出现不必要的时间拖延。使用每种试剂、标准品或样品时，都应更换一次性移液枪头，以免交叉污染。

7. 检测步骤

- 7.1 、将所需微孔板条在微孔架上固定；
- 7.2 、移取 25 μl 已梯度稀释好的标准品以及样本至相应微孔中；
- 整个加样时间间隔时间不宜超过 10 分钟，否则可能会影响检测结果。
- 7.3 、每瓶睾酮 HRP 酶结合物加入总量 2.25ml 的样本稀释液复溶 10-15 分钟达睾酮 HRP 酶结合物工作浓度。加样前需充分混匀，每孔加入 75 μl 工作浓度的酶结合物，充分混合 10 秒钟。25—28℃孵育 120 分钟。
- 酶结合物复溶后，不能保存，未用完的剩余部分建议丢弃。
- 7.4 、用洗涤液将微孔洗涤 3 次（推荐使用洗板机）。

重要提示：

- 如果是手工洗板，洗涤液加入板孔中，需浸泡 20~60 秒，最后一次必须在干净的吸水纸上用力拍打微孔，除去残留洗涤液。洗涤操作的正确与否将影响整个实验分析的灵敏度和精密度。
- 7.5 每孔加入 100ul 底物溶液。室温避光孵育 20 分钟（25-28℃）。
- 7.6 每孔加入 50ul 中止液，终止酶反应。并在 450nm 处测定 OD 值（参考波长 600—650nm）。读取 OD 值最好在 10 分钟内完成。

8、结果计算

在半对数图纸上，以标准品的浓度作为横坐标（对数刻度），对应的 OD 值作为纵坐标（线性刻度）。或者，以每个标准品对应的 OD 值除以零浓度对应的 OD 值，OD/OD0，作为纵坐标。

如果使用软件绘图，采用 cubic spline，4 参数（4 Parameter Logistics）或者 Logit-Log 曲线绘制标准曲线，可使曲线拟合的更好。

样品浓度可以根据测得的 OD 值，直接从标准曲线上读取。

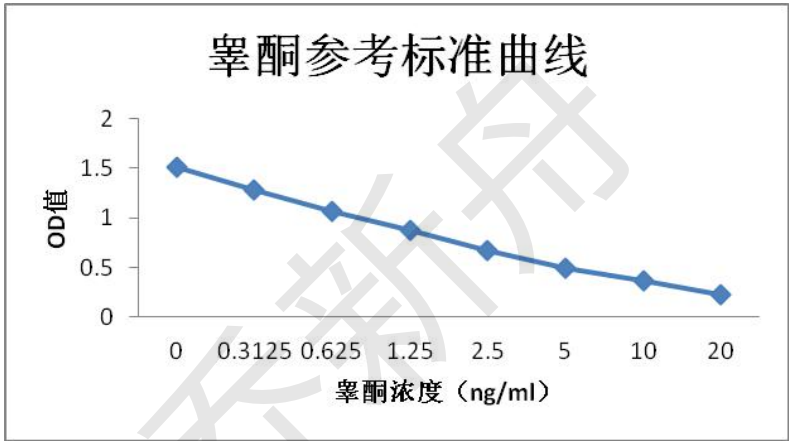
任何样品浓度如果高于最高标准品浓度，样品应用零浓度标准品作适当稀释后重新测量分析。所得结果乘以稀释倍数后即样品实际浓度。

下表列出了睾酮 ELISA 多次重复后平均所得参考标准曲线，此数据仅供参考，不能代替每次实验时标准参考曲线。

Standard s(ng/ml)	OD 均值	典型 OD 值 1	典型 OD 值 2
0	1.539	1.493	1.516
0.3125	1.291	1.275	1.283
0.625	1.097	1.031	1.064
1.25	0.908	0.836	0.872
2.5	0.745	0.611	0.678

5	0.569	0.417	0.493
10	0.403	0.323	0.363
20	0.292	0.168	0.23

下图是睾酮参考标准曲线：



9. 试剂盒相关性能参数

第 6 页

9.1、睾酮正常值范围

下表是睾酮正常范围的参考值：

	n	ng/ml
正常女性	33	0.1-1.2
正常男性	34	2.4-12

9.2、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

9.3、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。

9.4 、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

参考文献

1.Griffin, J.E., Wilson, J.D.: The androgen resistance syndromes: 5 α -reductase deficiency, testicular feminization, and related syndromes. In Scriver C.R., Beaudet, A.I., Sly, W.S., Valle, D. [eds]: The Metabolic