



孕酮定量分析酶联免疫

检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分是否完整。本试剂盒仅供科研使用。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。

1. 简介

孕酮又称黄体酮，是一种由体内的胆固醇转化合成的 C21 类固醇，由卵巢、胎盘和肾上腺分泌，在充足雌激素存在时，孕酮能使子宫内膜由增殖期改变为分泌期，为孕卵着床提供有利条件。孕酮产生途径，先由胆固醇可转化为孕烯醇酮，再通过脱氢酶和异构酶的综合作用，转化为孕酮。体内孕酮的绝大部分可在肝脏内被代谢为孕二醇，与葡萄糖苷酸而结合形成复合物，然后通过肾脏排出。

研究表明孕酮有多种靶器官，并有不同的效应。生殖器官是孕酮的主要靶器官。在人类男性中，孕酮乃是产生皮质类固醇和雄激素的必需中间物。对人类女性而言，孕酮在月经周期的卵泡期间，保持相对的恒定，排卵后，其浓度迅速上升，并可在 4—6 天内一直保持这种上升状态，此后于月经开始前 24 小时降低至初始水平。在女性的妊娠期，胎盘的持续产生孕酮使得血清中的浓度达到 10~20 倍黄体期的孕酮的水平。

2. 检测原理

孕酮定量分析酶联免疫检测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孕酮的抗体，同时加入样本和 HRP 连接的孕酮结合物，样本中孕酮与孕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孕酮与孕酮结合物，加入 TMB 底物，与抗体结合的孕酮结合物上带的 HRP 就会催化底物 TMB 反应，颜色显蓝色，中止后显黄色。如果样本中孕酮含量越多，则与包被的抗体结合的孕酮结合物则越少，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孕酮含量。

3. 试剂盒组成

- 3.1、预包被板 12 条/6 条 (96T/48T)；
- 3.2、标准品 6 管，每管 1ml/0.5ml (96T/48T)，浓度如下表

Standard	A	B	C	D	E	F
ng/ml	0.03	1.25	2.5	5	15	40

- 3.3、样本稀释液，1 瓶 10ml/5ml (96T/48T)；
标准曲线中 0 浓度标准品以样本稀释液直接加入。
- 3.4、孕酮 HRP 酶结合物，1 瓶 1ml/0.5ml (96T/48T)
- 3.5、TMB 底物溶液，1 瓶 10ml/5ml (96T/48T)；
- 3.6、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、检测中需要但没有提供而需要自备的材料：

- 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

- 5.1、未开封的试剂应保存在 2-8℃。

包装箱袋开封后，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。

- 5.2、所有试剂和所需的微孔板条在使用前应平衡至室温。

- 5.3、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）。

- 5.4、稀释后的洗涤液在 2-8℃下可以保存 4 个星期。

- 5.5、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。

- 5.6、如果样本中的孕酮含量高于 40ng/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。

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 90ul 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、每孔加入 10ul 酶结合物，充分混合 10 秒钟。25℃孵育 60 分钟。

- 7.4、用洗涤液将微孔洗涤 3 次（推荐使用洗板机）。

重要提示：

洗涤液加入板孔中，需浸泡 10 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 15 分钟（25℃）。

- 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，即结合率，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。

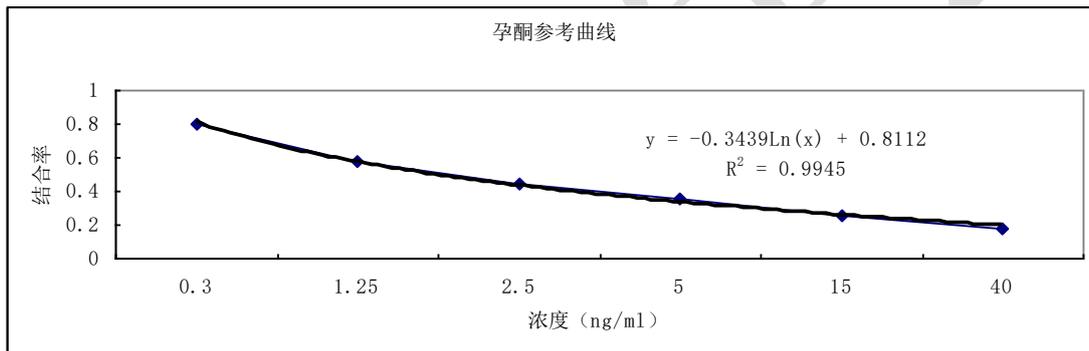
样品浓度可以根据测得的 OD 值，直接从标准曲线上读取。

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。

下表列出了孕酮 ELISA 分析后的典型标准曲线，此数据仅供参考，不能代替任何时间所得的分析数据。

Standards(n g/ml)	OD 均值	典型OD值1	典型OD值2	OD/OD0
0	1.5335	1.5345	1.533	
0.3	1.222	1.227	1.217	0.7964
1.25	0.8908	0.8926	0.889	0.5809
2.5	0.6865	0.6859	0.687	0.4473
5	0.5445	0.5557	0.534	0.3554
15	0.3866	0.3842	0.389	0.2522
40	0.2645	0.253	0.276	0.1723

下图是孕酮参考标准曲线：



9. 试剂盒相关性能参数

9.1 孕酮正常值范围

下表是孕酮正常范围的参考值：

男子：成年 0.13—0.97ng/mL

青春期前（儿童） 0.70—0.52 ng/mL

女子：卵泡期 0.15—0.70 ng/mL

黄体期 2.00—25.0 ng/mL

绝经后期 0.06—1.60 ng/mL

妊娠期：

第一个三个月 10.3—44.0 ng/mL

第二个三个月 19.5—82.5 ng/mL

第三个三个月 65.0—229 ng/mL

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 (%)
孕酮	100
孕烯醇酮	0.35
雌二醇	<0.1
17 α 羟基孕酮	0.3
雌三醇	<0.1
DHEA-S	<0.02
睾酮	<0.1
11-脱氧皮质酮	1.1
11-脱氧皮质醇	0.1
皮质醇	<0.02
皮质酮	<0.1
肾上腺酮	0.2

9.3 灵敏度：

经重复验证，本试剂盒最低可检测的孕酮浓度为 0.01 ng/ml。

9.4 回收率：在已知孕酮含量的正常人血清中加入一定浓度的孕酮。

样品	加入孕酮 (ng/ml)	测量值 (ng/ml)	回收率 (%)
1	0	14	
	5	20	105.3%
	10	24.5	102.1%
	20	33.8	99.41%
2	0	21	
	5	26.9	103.5%
	10	31.6	101.9%
	15	35.4	98.3%

参考文献

- Radwanska, E., Frankenberg, J., and Allen, E., Plasma progesterone levels in normal and abnormal early human pregnancy. *Fertility and Sterility*, 1978; 30, 398-402.
- March, C.M., Goebelsmann, U., Nakamura, R.M., and Mishell, D.R. Jr., Roles of estradiol and progesterone in eliciting the midcycle luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone surges, *J. Clin. Endo. Metab.*, 1979; 49, 507-513.
- Shepard, M.K., and Senturia, Y.D., Comparison of serum progesterone and endometrial biopsy for confirmation of ovulation and evaluation of luteal function. *Fertility and Sterility*, 1977; 28: 541-548.
- Ross, G.T., Vande Wiele, R.L., and Frantz, A.G., *The Ovaries and the breasts*. In: Williams, R.H., ed., *Textbook of Endocrinology*. Saunders Company, Philadelphia; 1981: 355-411.
- Tietz, N.W. ed., *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd Edition, W.B. Saunders, Co., Philadelphia, 1995: 509-512
- Johansson, E.D.B., and Jonasson, L.-E., Progesterone levels in amniotic fluid and plasma from women: I. Levels during normal pregnancy. *Acta Obstet. Gynec. Scand.*, 1971; 50: 339-343.
- USA Center for Disease Control/National Institute of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" 1984.



上海传秋生物科技有限公司

English name

8、Chattoraj, S. C., Endocrine function. In: Tietz, N. W., ed., Fundamentals of Clinical Chemistry. Saunders Company, Philadelphia; 1976: 699-823.

上海传秋生物