



睾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

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6管，每管0.5ml (96T/48T)，浓度如下表：

Standard	A	B	C	D	E	F
ng/ml	0.5	1	2	4	8	16

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。

3.4、睾酮冻干酶，2 瓶/1 瓶 (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 \times)，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。
- 5.2、所有试剂和所需微孔板条在使用前应平衡至室温（25~28℃）。
- 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、如果样本中的睾酮含量高于 16ng/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。
- 5.7、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 μ l 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 3.7ml 的样本稀释液复溶达睾酮 HRP 酶结合物工作浓度，因为玻璃瓶较小，建议先加 0.37ml 复溶复溶 10-15 分钟，再用样本稀释液稀释 10 倍到工作浓度。每孔加入 75 μ l 工作浓度的酶结合物，充分混合 10 秒钟。25-28℃ 孵育 120 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 100 μ l 底物溶液。室温避光孵育 20 分钟（18-24℃）。
- 7.6 每孔加入 50 μ l 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。

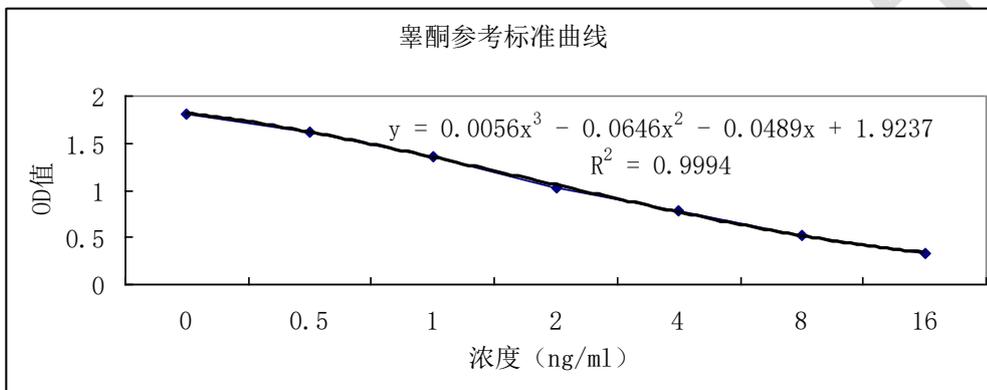
任何样品浓度如果高于最高标准品浓度，样品应用零浓度标准品作适当稀释后重新测量分析。所得结果乘以稀释倍数后即样品实际浓度。



下表列出了睾酮 ELISA 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 (ng/ml)	OD 均值	典型 OD 值 1	典型 OD 值 2
0	1.814	1.831	1.797
0.2	1.6125	1.615	1.61
0.5	1.3615	1.366	1.357
1	1.026	1.054	0.998
2	0.777	0.796	0.758
6	0.514	0.525	0.503
16	0.3325	0.348	0.317

下图是睾酮参考标准曲线：



9. 试剂盒相关性能参数

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 basis of inherited disease, 6th edition. McGraw-Hill, New York, 1989, 1919-1944.
- 2.Chen, A., Bookstein, J. J., Meldrum, D. R.: Diagnosis of a testosterone-secreting adrenal adenoma by selective venous catheterization. Fertil. Steril. 55: 1202-1203(1991).
- 3.Yen, S. S. C.: Chronic anovulation caused by peripheral endocrine disorders. In Yen, S. S. C. and Jaffe, R. B. (eds): Reproductive Endocrinology Chapter 17. W. B. Saunders, Philadelphia (1991).
- 4.Bricaire, C., Raynaud, A., Benotmane, A., Clair, F., Paniel, B., Mowszowicz, I., Wright, F., Moreau, J. F., Kuttan, F., MauvaisJarvis, P.: Selective venous catheterization in the evaluation of hyperandrogenism. J. Endocrinol. Invest. 14: 949-956(1991).
- 5.Heinonen, P. K.: Androgen production by epithelial ovarian tumors in postmenopausal women. Maturitas 13: 117-122(1992).