

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200610018747.5

[51] Int. Cl.

G01N 33/577 (2006.01)

G01N 21/78 (2006.01)

G01N 33/532 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 9 月 20 日

[11] 公开号 CN 1834654A

[22] 申请日 2006.4.13

[21] 申请号 200610018747.5

[71] 申请人 廖 伟

地址 430074 湖北省武汉市中国·武汉留学生创业园

[72] 发明人 廖 伟

[74] 专利代理机构 武汉开元专利代理有限责任公司
代理人 唐正玉

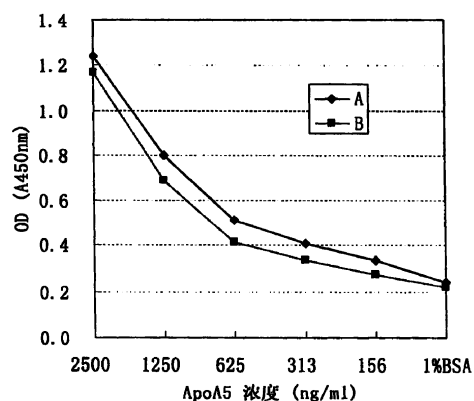
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 1 页

[54] 发明名称

一种用于诊断高甘油三酯血症的试剂盒

[57] 摘要

本发明涉及一种用于诊断高甘油三酯血症 (FHTG) 的试剂盒, 利用载脂蛋白 A5 (ApoA5) 作为 FHTG 诊断的生化指标, 制备抗 ApoA5 的单克隆抗体对。试剂盒内有酶标抗 ApoA5 的单克隆抗体和未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体、封闭液、酶底物溶液、包被缓冲液、终止液、洗涤液和酶标板。用未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体包被于酶标板以捕捉人体血液中的 ApoA5, 用酶标抗 ApoA5 的单克隆抗体来识别和检测人体血液中的 ApoA5, 而应用于高甘油三酯血症的病因诊断, 从而达到冠心病和中风等心血管疾病的有效防治。



1、一种用于诊断高甘油三酯血症 (FHTG) 的试剂盒, 试剂盒内包含有酶标抗载脂蛋白 A5 (ApoA5) 的单克隆抗体和未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体、封闭液、酶底物溶液、包被缓冲液、终止液、洗涤液、酶标板。

2、根据权利要求 1 所述的试剂盒是基于酶联免疫法 (ELISA) 原理, 其特征在于: 未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体包被于酶标板, 并将抗 ApoA5 单克隆抗体均匀包被于单位面积的酶标板孔上, 包被缓冲液为 0.05M pH9.6 的碳酸盐缓冲液也就是 1 升溶液中含 1.59g Na_2CO_3 , 2.93g NaHCO_3 , 封闭液为 1% 牛血清白蛋白; 酶底物溶液为 3, 3', 5, 5' 四甲替联苯胺 (TMB) 应用液也就是 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ TMB 和 0.05% H_2O_2 于 0.1M pH6.0 磷酸盐缓冲液中; 终止液为 1mol/L H_2SO_4 溶液。

3、用于诊断高甘油三酯血症 (FHTG) 的试剂盒的生产方法, 按以下步骤进行: 1)、抗 ApoA5 单克隆抗体的制备: 用纯化的 ApoA5 免疫 BALB/c 小鼠, 得到抗原刺激的脾脏细胞, 融合该脾脏细胞和小鼠的骨髓瘤细胞系 SP2/0; 利用 HAT 选择培养基选择杂交瘤细胞, 并利用 ELISA 方法筛选鉴定产生抗 ApoA5 抗体的细胞; 进行三次克隆化后得到分泌高特异性的单克隆抗体的细胞株, 保存所筛选到的产生与 ApoA5 高特异性结合的单抗的细胞株, 通过小鼠腹水生产抗 ApoA5 的单克隆抗体, 再利用 Protein A-Sepharose 亲和层析柱进一步纯化腹水中抗 ApoA5 的单抗, 分离纯化单抗; 2)、酶标记抗 ApoA5 单克隆抗体的制备: 用 NaIO_4 先将 HRP 表面的糖分子氧化成醛基, 然后再与 ApoA5 的单克隆抗体即免疫球蛋白上的氨基相结合, 进一步用 NaBH_4 还原生成稳定的酶标记抗体, 透析纯化后离心去除沉淀, 上清为酶-抗体结合物; 3)、上述各种溶液的配制: ①包被缓冲液: 将 1.59g 的 Na_2CO_3 和 2.93g NaHCO_3 溶解于 1000ml 蒸馏水中; ②封闭液: 将 1g 牛血清白蛋白加入 0.01M 的 100ml 磷酸盐缓冲液 (PBS) 溶液, 0.01M 的 100ml PBS 溶液为: 将 8.0g NaCl 、0.2g KCl 、0.24g KH_2PO_4 和 3.6g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 一起溶解于 1000ml 蒸馏水中; ③洗涤液: 在 1000ml 的 0.01M PBS 溶液中加 0.5ml 吐温-20 (Tween-20); ④酶底物 3, 3', 5, 5' 四甲替联苯胺 (TMB) 溶液: i) 四倍的底物缓冲液: 称取 35.8g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$; 称取 21.1g 柠檬酸; 各加超纯水至 500ml 即分别获得 A 母液 B 母液, 取 A 液 300ml, 用 B 液调 PH 值至 5.2 即得, 使用时四倍稀释; ii) TMB 浓缩液: 准确称量粉剂 TMB400mg 加入 10ml 二甲基亚砷 (DMSO) 中, 使之完全溶解后即得四十倍的 TMB 底物浓缩液; iii) 工作液配制: 10ml 底物缓冲液中加入 0.025ml TMB 浓缩液完全混匀后加 30%

的双氧水 4 μ l 即可; ⑤ 终止液: 取 54.3ml 浓度为 95-98% 浓硫酸加蒸馏水至 1000ml 即可。

4、根据权利要求 3 所述的方法, 其特征在于: 所述抗 ApoA5 单抗隆抗体对的筛选, 采用抑制法筛选高亲和力的亚克隆, 进而在多次克隆化和 ELISA 相加实验结果的基础上进行竞争抑制表位分析和亲和力的测定, 得到不同表位的单抗细胞株, 进一步腹水生产并纯化得到多量抗体, 进行单株标记, 采用 ELISA 直接法进行标记抗体的工作浓度滴定, 然后采用 ELISA 竞争抑制法进行单标抗体表位测定, 从而筛选出高效亲和力的三明治抗体对。

一种用于诊断高甘油三酯血症的试剂盒

技术领域

本发明涉及载脂蛋白 A5 (ApoA5) 作为高甘油三酯血症 (FHTG) 诊断的生化指标, 抗 ApoA5 抗体对的制备技术, 酶标记显色免疫反应技术和利用 ApoA5 的抗体来诊断高甘油三酯血症 (FHTG) 的技术领域, 特别涉及一种用于诊断高甘油三酯血症 (FHTG) 的试剂盒及生产方法。

背景技术

载脂蛋白异常与冠心病和中风密切相关。尽早进行正确诊断, 有利于早期防治这些严重的疾病。载脂蛋白诊断试剂盒的开发, 有助于冠心病和中风的有效防治。ApoA5 属于 ApoAI /CIII/ AIV 基因群, 在肝脏表达, 与 HDL/VLDL 有关。在表达人类 ApoA5 转基因的小鼠的血浆中甘油三酯的浓度下降为对照鼠的三分之一, 而在缺少该基因的小鼠中却增加了 4 倍。ApoA5 基因启动子的单核苷酸变异 (SNP) 直接影响甘油三酯水平。然而, 目前并不清楚 ApoA5 调节甘油三酯的作用机制。

高甘油三酯可使小密低密度脂蛋白 (sLDL) 浓度升高, 具有较强的致动脉粥样硬化作用。甘油三酯水平越高, 低密度脂蛋白中的胆固醇酯越多。人们已经证实, 动脉粥样硬化斑块中的胆固醇主要来自于低密度脂蛋白, 低密度脂蛋白既是血浆中含胆固醇最多的, 也是致动脉粥样硬化性最强的脂蛋白。另外, 流行病学研究表明, 高水平甘油三酯使高密度脂蛋白浓度下降, 高密度脂蛋白浓度受甘油三酯水平的影响, 两者呈负相关。近来研究表明, 血甘油三酯水平异常与体内凝血因子异常密切相关, 血浆甘油三酯水平升高可以导致体内凝血因子水平升高, 从而促进血凝, 并可使组织型纤溶酶原激活物抑制剂 (PAI) 合成增加, 抑制纤维蛋白溶解, 形成高凝状态, 促进冠心病的发生。有实验结果表明, 甘油三酯浓度上升 1mmol/L , 心血管意外发生率男性上升 32%, 女性为 76%。在校正高密度脂蛋白的影响后, 危险率男性上升 14%, 女性为 37%。这些结果表明血清甘油三酯浓度升高是心血管疾病的重要危险因素。

高甘油三酯血症患者常同时有高血压和胰岛素抵抗。胰岛素抵抗通常指患者有倾向于非胰岛素依赖糖代谢异常, 该类患者常较早地形成冠状动脉疾病。通常将脂质三联症、高凝状态、高血压、胰岛素抵抗称为代谢综合征。已证实高甘油三酯血症患者常合并有代谢综合征中的其它异常。高

甘油三酯血症的临床意义在于此。而作为直接影响甘油三酯水平的指标 ApoA5 显得尤为重要, ApoA5 的单核苷酸多态性有望作为风险指示标和降低血脂浓度的治疗靶点。本发明就是将 ApoA5 通过 ELISA 实验应用于临床实践以达到高甘油三酯血症的病因诊断, 以及冠心病和中风等心血管疾病的有效防治。

三明治双抗体技术是建立在单克隆抗体技术之上的生物技术领域较新的后抗体技术。双抗体夹心法应用抗体对识别抗原的两个位点来捕捉抗原, 避免了抗体与抗原的同一位点的竞争结合, 减少了抗原决定簇的空间位阻现象, 所以较一般的抗原捕捉法更敏感, 特异性更强, 重复性更好, 尤其适用于抗原含量很少的标本的检测。本发明结合此技术开发的针对载脂蛋白 A5 (ApoA5) 的抗体对, 对检测 FHTG 病人血液中微量生化指标 (抗原) 更突显其重要意义。

发明内容

本发明的目的是提供一种利用 ApoA5 作为 FHTG 诊断的生化指标, 制备抗 ApoA5 的单克隆抗体对, 并基于酶联免疫法 (ELISA) 原理而建立的一种简便易得的试剂盒, 用于测定人血清中 ApoA5 的浓度而对高甘油三酯血症进行病因诊断, 从而达到冠心病和中风等心血管疾病的有效防治。

本发明的目的是这样实现的: 一种高甘油三酯血症 (FHTG) 诊断试剂盒, 包括酶标抗 ApoA5 的单克隆抗体和未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体; 封闭液; 酶底物溶液; 包被缓冲液; 终止液; 洗涤液; 酶标板; 其中未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体包被于酶标板。所述抗 ApoA5 的抗体为单克隆抗体对。

所述抗 ApoA5 单抗用纯化的 ApoA5 免疫 BALB/c 小鼠, 得到抗原刺激的脾脏细胞, 融合该脾脏细胞和小鼠的骨髓瘤细胞系 SP2/0; 利用 HAT 选择培养基选择杂交瘤细胞, 并利用 ELISA 方法筛选鉴定产生抗 ApoA5 抗体的细胞; 进行三次克隆化后得到分泌高特异性的单克隆抗体的细胞株, 保存所筛选到的产生与 ApoA5 高特异性结合的单抗的细胞株, 通过小鼠腹水生产抗 ApoA5 的单抗。再利用 Protein A-Sepharose 亲和层析柱进一步纯化腹水中抗 ApoA5 的单抗, ELISA 及 Western-Blot 鉴定分离纯化的单抗。

抗 ApoA5 单抗隆抗体对的筛选, 主要采用抑制法筛选高亲和力的亚克隆, 进而在多次克隆化和 ELISA 相加实验结果的基础上进行竞争抑制表位分析和亲和力的测定, 得到不同表位的单抗细胞株, 进一步生产腹水并纯化得到多量抗体, 进行单株标记, 采用 ELISA 直接法进行标记抗体的工作浓度滴定, 然后采用 ELISA 竞争抑制法进行单标抗体表位测定, 从而筛选出高效亲和力的三明治抗体对。

酶标抗 ApoA5 的单克隆抗体采用的是过碘酸钠法辣根过氧化物酶标记抗体。以 NaIO_4 先将 HRP 表面的糖分子氧化成醛基,然后再与 ApoA5 的单克隆抗体即免疫球蛋白上的氨基相结合,进一步用 NaBH_4 还原生成稳定的酶标记抗体。透析纯化后离心去除沉淀,上清即为酶-抗体结合物。

将抗 ApoA5 单抗抗体均匀包被于单位面积的酶标板孔上,包被缓冲液为 0.05M pH9.6 的碳酸盐缓冲液,即 1 升溶液中含 1.59g Na_2CO_3 , 2.93g NaHCO_3 。所述封闭液为 1% 牛血清白蛋白;所述酶底物溶液为 TMB 应用液,即 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ TMB 和 0.05% H_2O_2 于 0.1M pH6.0 磷酸盐缓冲液中;终止液为 1mol/L H_2SO_4 溶液。

本发明所提供的高甘油三酯血症诊断试剂盒,是以 ApoA5 为生化指标来诊断高甘油三酯血症病因的。这包括制备上述 ApoA5 的单克隆抗体对的方法,以及利用 ELISA 方法测定人血清中 ApoA5 的浓度,以诊断 FHTG 的病因,达到对冠心病和中风等心血管疾病的有效防治。

本试剂盒由酶标抗 ApoA5 的单克隆抗体、未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体、酶标板、封闭液、酶底物溶液、包被缓冲液、洗涤液和终止液组成。

与现有指标和技术相比,本发明有突出的优点和实用性:

1、检测特异性强。临床上检测血脂的项目有很多,各医院普遍检查的基本项目有总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、载脂蛋白(Apo)B、Apo AI、脂蛋白(a) [Lp(a)]等。调查资料研究表明,高甘油三酯、高胆固醇、低 HDL-C 和高 LDL-C 共同构成了冠心病的危险因素。血清 ApoAI 可以代表 HDL 水平,与 HDL-C 呈正相关,其临床意义也大体相似。但是, HDL 是一系列颗粒大小与组成不均一的脂蛋白,病理状态下 HDL 亚类与组成往往会发生变化,故 ApoAI 的升降不一定与 HDL-C 变化完全成比例。ApoB100 大约有 90% 的比例分布在 LDL 中,所以血清 ApoB 主要代表 LDL 水平,它与血清 LDL-C 水平呈明显正相关, ApoB 水平高低的临床意义也与 LDL-C 相似。但是,在少数情况下,可出现高 ApoB100 血症而 LDL-C 浓度正常的情况,所以这两种载脂蛋白可靠性和准确性都不十分令人满意。载脂蛋白 A5 作为高甘油三酯血症的病因诊断指标具有很高的敏感性和特异性。ApoA5 基因启动子的单核苷酸变异(SNP)直接影响甘油三酯水平。实验研究表明,在表达人类 ApoA5 转基因的小鼠的血浆中甘油三酯的浓度下降为对照鼠的三分之一,而在缺少该基因的小鼠中却增加了 4 倍。

2、检测敏感性高。人血液中 ApoA5 的浓度很低,平均约为 215 ng/ml。本发明采用双抗体夹心法检测血清中的 ApoA5,使检测的敏感性更高。

3、避免了目前市场上的同类产品只能单纯表现结果,却不能明确说明

病因的缺点。高甘油三酯血症一经查出是 ApoA5 基因突变原因引起,即可针对病因进行相应治疗,从而从根本上解决高甘油三酯血症及其引发的相关疾病的预防和治疗。

本发明实验结果及分析:

ELISA 检测不同样品中 ApoA5 的浓度,利用所制备的抗 ApoA5 的单克隆抗体对,采用三明治式 ELISA 方法,测定不同样品中 ApoA5 的浓度。结果如下表和图 1。

抗体:抗 ApoA5, 0.1 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{l/孔}$; 封闭液: 1% BSA。由测定结果可见,三明治式 ELISA 方法对 ApoA5 的检测下限即灵敏度为 150ng/ml 左右,低于人血液中 ApoA5 的平均浓度 (215 ng/ml)。

ApoA5 浓度 二抗稀释 2D1F5-HRP	2500 ng/ml		1200 ng/ml		625 ng/ml		313 ng/ml		156 ng/ml		阴性对照 1% BSA	
A. 1:3000	1.271	1.209	0.8	0.801	0.505	0.522	0.406	0.409	0.348	0.32	0.249	0.231
B. 1:4000	1.174	1.161	0.747	0.633	0.381	0.446	0.342	0.331	0.303	0.251	0.216	0.225

附图说明

图 1 为 ApoA5 浓度与吸光度的曲线图。

具体实施方式

高甘油三酯血症 (FHTG) 诊断试剂盒的生产方法:

1、ApoA5 的单克隆抗体对的制备

用纯化的 ApoA5 作为抗原分别免疫 BALB/c 小鼠,间隔 21 天免疫第二次,以后每间隔 10 天免疫一次,共免疫 3-4 次,然后取出免疫小鼠的脾脏细胞,用 PEG 将该脾脏细胞与小鼠的骨髓瘤细胞系 SP2/0 进行融合,利用 HAT 选择性培养基在 96 孔细胞培养板上筛选杂交瘤细胞,用 ELISA 方法鉴定抗 ApoA5 的细胞株,进行三次克隆化后得到稳定分泌高特异性单克隆抗体的细胞株,在相同抗原包被板上采用 ELISA 抑制法,即参照组中加入细胞培养上清,在抑制组加入细胞培养上清和抗原混合物,比较两组 OD 值差异从而筛选出高亲和力的亚克隆。然后在间接 ELISA 实验上进行相加法表位分析,即参照组中分别加入两个单株细胞培养上清,测定组中同时加入两株细胞培养上清,比较两组 OD 值 (A1、A2 和 A1 + 2),通过下面公式计算:

$$AI = \left[\frac{2A_1 + 2}{A_1 + A_2} - 1 \right] \times 100\%$$

在比较计算结果的基础上进行表位分析和亲和力的测定, AI 值小于 50% 为相加阴性, 即两细胞株分泌的抗体识别抗原的表位相同, AI 值大于 50% 为相加阳性, 表示两细胞株之间无竞争, 即两细胞株分泌的抗体识别抗原的两个不同的表位, 从而初步得到针对抗原不同表位的单抗细胞株。进一步将得到的单抗细胞株分别注射入小鼠腹腔进行腹水生产, 利用 Protein A-Sepharose 亲和层析柱纯化腹水得到多量单克隆抗体, 用 HRP 酶对纯化的抗体进行单株标记, 用 ELISA 直接法进行标记抗体的工作浓度滴定, 然后用 ELISA 竞争抑制法在参照组中加入酶标抗体, 在测定组中加入酶标抗体和未标记待测抗体混合物, 比较两组 OD 值, 参照组 OD 值大于测定组 OD 值的表示存在竞争抑制, 视为两抗体识别抗原的表位相同。反之, 两抗体不存在竞争抑制时视为两抗体识别抗原的表位不同, 从而最终筛选得到高效亲和力的三明治抗体对。

2、酶标记抗 ApoA5 单克隆抗体的方法

酶标抗 ApoA5 的单克隆抗体采用的是过碘酸钠法辣根过氧化物酶标记抗体。称取 HRP 溶解蒸馏水中。加入新配的 0.1M NaIO₄ 溶液, 室温下避光搅拌 20 分钟。NaIO₄ 先将 HRP 表面的糖分子氧化成醛基。上述溶液装入透析袋中, 加 1mM PH4.4 的醋酸钠缓冲液透析, 4℃ 过夜。加 0.2M PH9.5 碳酸盐缓冲液, 使以上醛化 HRP 的 pH 升高到 9.0~9.5, 然后立即加入 ApoA5 的单克隆抗体, 在 0.01M 碳酸盐缓冲液中, 室温避光轻轻搅拌 2 小时。待醛化的 HRP 与 ApoA5 的单克隆抗体即免疫球蛋白上的氨基相结合后, 再加新配的 4mg/ml NaBH₄ 液, 置 4℃ 2 小时, NaBH₄ 将其还原生成稳定的酶标记抗体。上述液装入透析袋中, 在 0.15M pH7.4 PBS 透析, 4℃ 过夜。透析纯化后离心去除沉淀, 上清即为酶抗体结合物。

3、各种缓冲液及试剂的配制方法

① 包被缓冲液: 0.05M pH9.6 的 Na₂CO₃-NaHCO₃: Na₂CO₃ (MW 105.99) 1.59g 和 NaHCO₃ (MW 84.01) 2.93g, 加蒸馏水至 1000ml。

② 封闭液: 1% 牛血清白蛋白 (BSA) 溶液: 牛血清白蛋白 1 g; 加磷酸盐缓冲液 (PBS) (配制如下) 至 100ml。

0.01M, pH 7.4 的 PBS 溶液: NaCl (MW 58.44) 8.0 g, KCl (MW 74.55) 0.2g, KH₂PO₄ (MW 136.09) 0.24 g, Na₂HPO₄ · 12H₂O (MW 358.14) 3.6g, 加蒸馏水至 1000ml。

③ 洗涤液: pH 7.4 的 PBS — Tween-20, 在 1000ml 0.01M, pH 7.4 的 PBS 溶液中加 0.5ml 吐温-20 (Tween-20) 即可。

④ 酶底物 3, 3', 5, 5' 四甲替联苯胺 (TMB) 溶液:

i) 四倍的底物缓冲液: 称取 35.8 g Na₂HPO₄ · 12H₂O; 称取 21.1 g 柠檬

酸；各加超纯水至 500ml 即分别获得 A 母液 B 母液，取 A 液 300ml，用 B 液调 PH 值至 5.2 即得，使用时四倍稀释。

ii) TMB 浓缩液：准确称量粉剂 TMB400mg 加入 10ml 二甲基亚砷 (DMSO) 中，使之完全溶解后即得四十倍的 TMB 底物浓缩液。

iii) 工作液配制：10ml 底物缓冲液 (1×) 中加入 0.025ml TMB 浓缩液完全混匀后 4μl 30% 的双氧水即可，临用前现配。

⑤ 终止液：1mol/LH₂SO₄ 溶液：浓硫酸 (95-98%) 54.3ml，加蒸馏水至 1000ml 即可，配时将浓硫酸缓慢滴入蒸馏水中，边加边混匀。

高甘油三酯血症 (FHTG) 诊断试剂盒操作步骤：

1、制定标准曲线

将纯化的未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体溶液用包被液稀释到 0.1μg / ml，加入到 96 孔酶标板中，每孔 100μl，37℃ 包被 1 小时或 4℃ 过夜；洗涤液洗板 3 次，甩干，加入 1% BSA 封闭，每孔 200μl，37℃ 封闭 1 小时；不洗，甩干，加入不同浓度的 ApoA5 (0-406ng/ml) 标准抗原，每孔 100μl，37℃ 孵育 1 小时；洗涤液洗板 3 次，甩干，加入酶标记的抗 ApoA5 单抗溶液 (用洗涤液稀释到 0.1μg/ml)，每孔 100μl，37℃ 孵育 1 小时；洗涤液洗板 3 次，甩干，加入酶底物溶液，每孔 100μl，避光显色 5 分钟，加入终止液，每孔 50μl。利用酶标仪在 450nm 测定光吸收值 (A450nm)，以浓度 (ng/ml) 为横坐标，A450nm 为纵坐标，绘制标准曲线。

2、测定血清中的 ApoA5 浓度

将纯化的未标记抗 ApoA5 的单克隆抗体溶液用包被液稀释到 0.1μg / ml，加入到 96 孔酶标板中，每孔 100μl，37℃ 包被 1 小时或 4℃ 过夜；洗涤液洗板 3 次，甩干，加入 1% BSA 封闭，每孔 200μl，37℃ 封闭 1 小时；不洗，甩干，加入适当倍数稀释的待检测血清，每孔 100μl，37℃ 孵育 1 小时或 4℃ 过夜；洗涤液洗板 3 次，甩干，加入酶标记的抗 ApoA5 单抗溶液，用洗涤液稀释到 0.1μg/ml，每孔 100μl，37℃ 孵育 1 小时；洗涤液洗板 3 次，甩干，加入酶底物溶液，每孔 100μl，避光显色 5 分钟，加入终止液，每孔 50μl。从利用酶标仪在 450nm 测定光吸收值 A450nm，根据标准曲线，由所测得的 A450nm，求得血清中 ApoA5 的浓度值。

3、结果判定

根据 ApoA5 作为高甘油三酯血症 (FHTG) 病因诊断指标的截断值 (cut off 值) 215 ng/ml，浓度低于该值的可判定为 ApoA5 缺乏，有高甘油三酯血症的危险；或可判定 ApoA5 基因突变为高甘油三酯血症的主要病因。

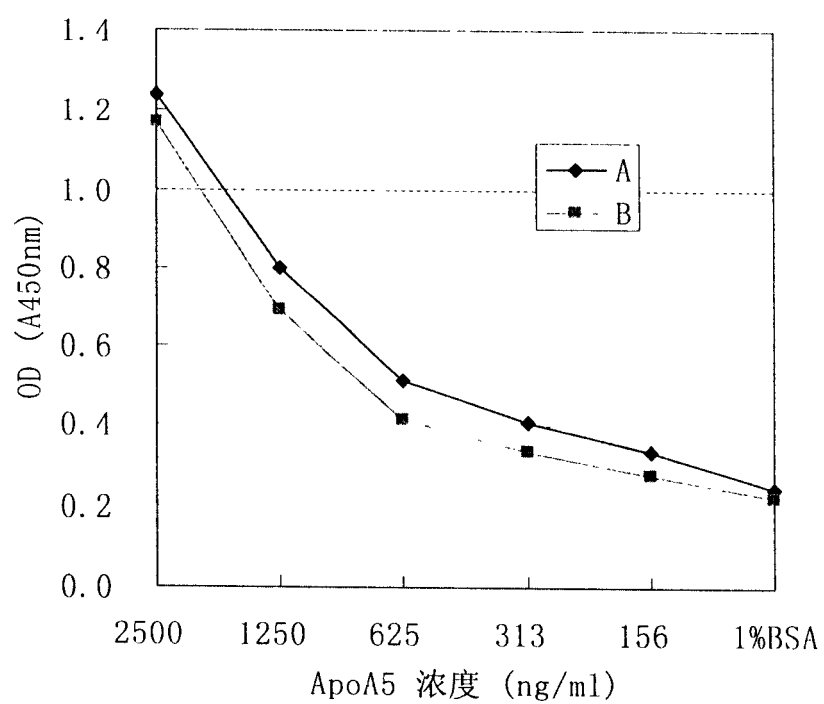


图 1

专利名称(译)	一种用于诊断高甘油三酯血症的试剂盒		
公开(公告)号	CN1834654A	公开(公告)日	2006-09-20
申请号	CN200610018747.5	申请日	2006-04-13
[标]申请(专利权)人(译)	廖伟		
申请(专利权)人(译)	廖伟		
当前申请(专利权)人(译)	廖伟		
[标]发明人	廖伟		
发明人	廖伟		
IPC分类号	G01N33/577 G01N21/78 G01N33/532		
其他公开文献	CN100422743C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种用于诊断高甘油三酯血症(FHTG)的试剂盒，利用载脂蛋白A5(ApoA5)作为FHTG诊断的生化指标，制备抗ApoA5的单克隆抗体对。试剂盒内有酶标抗ApoA5的单克隆抗体和未标记抗ApoA5的单克隆抗体、封闭液、酶底物溶液、包被缓冲液、终止液、洗涤液和酶标板。用未标记抗ApoA5的单克隆抗体包被于酶标板以捕捉人体血液中的ApoA5，用酶标抗ApoA5的单克隆抗体来识别和检测人体血液中的ApoA5，而应用于高甘油三酯血症的病因诊断，从而达到冠心病和中风等心血管疾病的有效防治。

