(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110346571 A
(43)申请公布日 2019.10.18

(21)申请号 201810296891.8

(22)申请日 2018.04.04

(71)申请人 青岛大学附属医院
地址 266000 山东省青岛市市南区江苏路16号

(72)发明人 张丽娟　何燕利

(74)专利代理机构 青岛合创知识产权代理事务所(普通合伙) 37264
代理人 王晓晓

(51)Int.Cl.
G01N 33/66(2006.01)
G01N 33/531(2006.01)

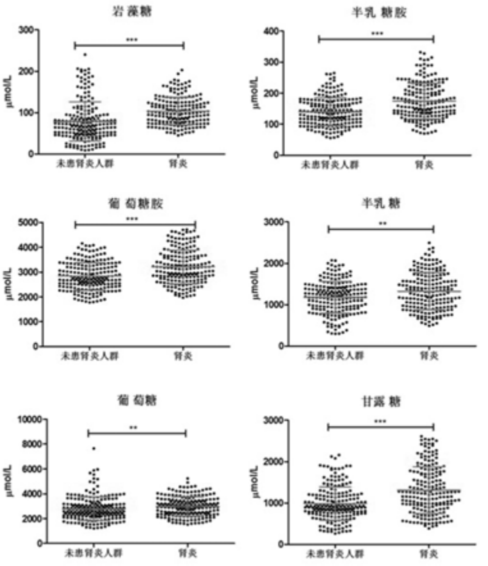
权利要求书2页　说明书7页　附图4页

(54)发明名称

一种用于检测肾炎的生物标记物及其应用

(57)摘要

本发明提供了一种用于检测肾炎的血液中生物标记物及其用途。所述生物标记物为血液经过微波酸水解和阴离子交换色谱-脉冲安培法得到的岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖,本发明的技术方案具有降解快速、批通量、兼容性、酸用量少、操作步骤简单易学,并且具有灵敏度高、准确性好等优点。所得结果显示此降解分析方法可以快速降解血样,分析血样中的单糖组成,并可以计算得到其单糖浓度,根据其浓度可以在一定程度上区分未患肾炎人群和肾炎患者。



1.用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于:所述生物标记物为血液经过微波酸水解和阴离子交换色谱-脉冲安培法得到的岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖。

2.根据权利要求1所述的用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于: 所述生物标记物岩藻糖的浓度为72.20 μmol/L以上,是未患肾炎人群岩藻糖浓度的1.32倍以上;生物标记物半乳糖胺的浓度为125.8 μmol/L以上,是未患肾炎人群半乳糖胺浓度的1.25倍以上;生物标记物葡萄糖胺的浓度为2778 μmol/L以上,是未患肾炎人群葡萄糖胺浓度的1.13倍以上;生物标记物甘露糖的浓度为969.1 μmol/L以上,是未患肾炎人群甘露糖浓度的1.33倍以上。

3.根据权利要求2所述的用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于:所述生物标记物岩藻糖浓度为103.8±3.20 μmol/L、半乳糖胺浓度为175.0±57.93 μmol/L、葡萄糖胺浓度为3204±678.9 μmol/L、甘露糖浓度为1311±564.0 μmol/L;

未患肾炎人群中岩藻糖浓度为78.48±47.09 μmol/L、半乳糖胺浓度为140.2±45.15 μmol/L、葡萄糖胺浓度为2830±556.1 μmol/L、甘露糖浓度为986.2±402.6 μmol/L。

4.根据权利要求1所述的用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于:所述的微波酸水解和阴离子交换色谱-脉冲安培法包括以下具体步骤:

(1) 取待检测的血液或血浆样品至微波水解管,加入水,混匀后再加入HCl得到溶解液;

(2) 将所述溶解液使用单模微波蛋白水解仪进行微波酸水解;

(3) 微波酸水解后的样品用水转移到离心管中,离心浓缩除酸;

(4) 然后向离心后的样品中添加加甲醇,离心浓缩除残留HCl;

(5) 将离心后的干燥样品用水溶解,离心取上清液;

(6) 将所述上清液用于阴离子交换色谱分析;

(7) 制备岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖的标准曲线;

(8) 将步骤(6)得到的色谱图与步骤(5)中的标准曲线比对并分析计算,确定岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖的浓度。

5.根据权利要求4所述的用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于:所述步骤(1)中血液样品选用2 μL。

6.根据权利要求4所述的用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于:所述步骤(1)中HCl的浓度为3 mol/L。

7.根据权利要求4所述的用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于:所述步骤(2)中微波酸水解的条件为功率80 w-100 w,温度80 ℃-100 ℃,水解时间是5 min-15 min。

8.根据权利要求7所述的用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于:所述微波酸水解的条件为功率100 w、温度100 ℃、水解时间10 min。

9.根据权利要求1所述的用于检测肾炎的血液中生物标记物,其特征在于:所述步骤(6)中的色谱条件为:

分析柱:Thermo Scientific Dionex Carbo PAC^{TM} PA10, 4.0 mm×250 mm;

保护柱:Thermo Scientific Dionex Carbo PAC^{TM} PA10, 4.0 mm×50 mm;

淋洗液:0-18 min 使用18 mM NaOH;

流速:1.0 mL/min,进样体积:10 μL,柱温:30 ℃,

检测器:电化学检测器,金电极,标准糖电位,运行时间:18 min。

10.权利要求1所述的生物标记物在制备用于检测肾炎的试剂中的用途,其特征在于:所述试剂中包括浓度为103.8±3.20 μmol/L的岩藻糖、浓度为175.0±57.93 μmol/L的半乳糖胺、浓度为3204±678.9 μmol/L的葡萄糖胺和浓度为1311±564.0 μmol/L的甘露糖的标准液。

一种用于检测肾炎的生物标记物及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药领域,具体涉及一种用于检测肾炎的生物标记物及其应用。

背景技术

[0002] 肾脏是泌尿系统一个重要的器官,主要功能是生成和排泄尿液,并以此排泄人体代谢废物,对维持机体内环境的稳定起重要作用;另外,肾脏也是一个内分泌器官,主要调节血压、红细胞生成和骨骼生长等。因此,肾脏产生疾病对人体的机能产生很大影响。肾炎实际上是一组疾病,病因各有不同,一般来说可能和遗传、感染、免疫、代谢、肿瘤等因素等有关,但是部分病因尚不清楚。因此寻找一种早期诊断方法尤其重要。

[0003] 肾脏疾病的诊断方法包括尿液检查(蛋白尿、血尿、管型尿和白细胞尿),需要24小时尿,采集均不是很方便。血液检查,一般包括血常规,血生化,肌酐清除率,其他包括感染、肿瘤和免疫方面有助于辅助诊断的各项检验,但特异性低。影像学检查,泌尿系统的B超观察肾脏大小有助于判断肾病的进程;胸片和超声学方面检查有助于发现胸水和腹水等。肾穿刺活检检查,为有创伤的检查,需要术后护理,每半小时监测一次血压,监测4小时。但是对于肾小球肾炎的诊治和预后判断均十分重要。因此,寻找一种方便,无创伤的检测方法是十分必要的。而最理想的早期检测就是不需活检,且灵敏性和特异性高的血液分析。

[0004] 自从有报道将家用微波炉用于快速的有机合成,微波炉也变成了一种高效的非传统的方法用于糖蛋白的脱糖基化工具。然而,家用微波炉的反应条件很难控制。后来,装上真空/气体交换端口的商业化的微波系统-Pico-Tag工作站被用于降解蛋白质。然而,本专利介绍的CEM Discover单模微波蛋白水解仪集合了微波这种高效的能量和Pico-Tag工作站真空/气体交换端口两者的优点,在血样降解方面达到了更高效的效果,而这种方法还没有被报道用于血样的单糖组成分析。

[0005] 而阴离子交换色谱-脉冲安培法(HPAEC-PAD)是一种高效,灵敏度高的单糖组成测定方法,且无需衍生。

发明内容

[0006] 本发明的发明目的是提供了一种用于检测肾炎的生物标记物及其应用,本发明提供的技术方案可以用于检测肾炎患者或未患肾炎人群血液降解后所得单糖的浓度。可以同时测定血液中的单糖,如葡萄糖;还可以测定降解后产生的单糖,包括葡萄糖、甘露糖、半乳糖,氨基葡萄糖,氨基半乳糖,岩藻糖等,可以得到更全面的肾炎患者血液的糖结构变化信息,可以迅速区分未患肾炎人群和肾炎患者。

[0007] 为实现本发明的目的,本发明通过以下技术方案予以实现:

[0008] 本发明提供了用于检测肾炎的血液中生物标记物,所述生物标记物为血液经过微波酸水解和阴离子交换色谱-脉冲安培法得到的岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖。

[0009] 进一步的:所述生物标记物岩藻糖的浓度为72.20μmol/L以上,是未患肾炎人群岩藻糖浓度的1.32倍以上;生物标记物半乳糖胺的浓度为125.8μmol/L以上,是未患肾炎人群

半乳糖胺浓度的1.25倍以上；生物标记物葡萄糖胺的浓度为2778μmol/L以上，是未患肾炎人群葡萄糖胺浓度的1.13倍以上；生物标记物甘露糖的浓度为969.1μmol/L以上，是未患肾炎人群甘露糖浓度的1.33倍以上。

[0010] 进一步的：所述生物标记物岩藻糖浓度为103.8±3.20μmol/L、半乳糖胺浓度为175.0±57.93μmol/L、葡萄糖胺浓度为3204±678.9μmol/L、甘露糖浓度为1311±564.0μmol/L；

[0011] 未患肾炎人群中岩藻糖浓度为78.48±47.09μmol/L、半乳糖胺浓度为140.2±45.15μmol/L、葡萄糖胺浓度为2830±556.1μmol/L、甘露糖浓度为986.2±402.6μmol/L。

[0012] 进一步的：所述的微波酸水解和阴离子交换色谱-脉冲安培法包括以下具体步骤：

[0013] (1)取待检测的血液或血浆样品至微波水解管，加入水，混匀后再加入HCl得到溶解液；

[0014] (2)将所述溶解液使用单模微波蛋白水解仪进行微波酸水解；

[0015] (3)微波酸水解后的样品用水转移到离心管中，离心浓缩除酸；

[0016] (4)然后向离心后的样品中添加加甲醇，离心浓缩除残留HCl；

[0017] (5)将离心后的干燥样品用水溶解，离心取上清液；

[0018] (6)将所述上清液用于阴离子交换色谱分析；

[0019] (7)制备岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖的标准曲线；

[0020] (8)将步骤(6)得到的色谱图与步骤(5)中的标准曲线比对并分析计算，确定岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖的浓度。

[0021] 进一步的：所述步骤(1)中血液样品选用2μL。

[0022] 进一步的：所述步骤(1)中HCl的浓度为3mol/L。

[0023] 进一步的：所述步骤(2)中微波酸水解的条件为功率80w-100w，温度80℃-100℃，水解时间是5min-15min。

[0024] 进一步的：所述微波酸水解的条件为功率100w、温度100℃、水解时间10min。

[0025] 进一步的：所述步骤(6)中的色谱条件为：

[0026] 分析柱：Thermo Scientific Dionex Carbo PAC™ PA10，4.0mm×250mm；

[0027] 保护柱：Thermo Scientific Dionex Carbo PAC™ PA10，4.0mm×50mm；

[0028] 淋洗液：0-18min使用18mM NaOH；

[0029] 流速：1.0mL/min，进样体积：10μL，柱温：30℃，

[0030] 检测器：电化学检测器，金电极，标准糖电位，运行时间：18min。

[0031] 本发明还提供了所述的生物标记物在制备用于检测肾炎的试剂中的用途，所述试剂中包括浓度为103.8±3.20μmol/L的岩藻糖、浓度为175.0±57.93μmol/L的半乳糖胺、浓度为3204±678.9μmol/L的葡萄糖胺和浓度为1311±564.0μmol/L的甘露糖的标准液。

[0032] 与现有技术相比，本发明将微波酸水解联合阴离子交换色谱分析用于血液降解并检测单糖的技术方案应用于肾炎，其有益技术效果是：

[0033] 1、样品降解快速(10分钟快速完成样品处理)。

[0034] 2、可以批通量(一次降解多达10个20微升的样品)。

[0035] 3、具有兼容性(微波酸水解使用传统方法相同的酸)。

[0036] 4、所需要的血液用量少，每次只需小于1mL的血量。

[0037] 5、所需要的酸用量少(仅需10微升)。

[0038] 6、操作步骤简单易学(无需衍生,直接上样)。

[0039] 7、灵敏度高、准确性好。

[0040] 使用本发明的技术方案,通过检测血液中降解后单糖的浓度可以快速区分未患肾炎人群和肾炎患者。

附图说明

[0041] 图1表明酸对血清微波酸水解的影响,其中,A-0.01mg/mL混合单糖标准品、B-2mol/L TFA、C-3mol/L HCl;

[0042] 图2是不同浓度HCl水解患者血清离子色谱图;其中,A-0.005mg/mL混合单糖标准品、B-0mol/L HCl、C-1mol/L HCl、D-2mol/L HCl、E-3mol/L HCl、F-4mol/L HCl和G-5mol/L HCl;

[0043] 图3是不同浓度HCl对血清微波酸水解的峰面积柱状图;

[0044] 图4表明血清量对微波酸水解的影响;其中,A-0.01mg/mL混合单糖标准品、B-2μL、C-5μL和D-10μL;

[0045] 图5是某患者不同血清量峰面积柱状图;

[0046] 图6为0.0005mg/mL单糖标准品溶液及未患肾炎人群和肾炎患者血液单糖组成分析阴离子交换色谱图。其中,A-0.0005mg/mL单糖标准品溶液,B-未患肾炎人群,C-肾炎患者;

[0047] 图7为4种肾炎患者与未患肾炎人群血液6种单糖浓度分布图。

具体实施方式

[0048] 下面结合附图和具体实施例对本发明的技术方案做进一步详细的说明。

[0049] 实施例中涉及的所有血样均由青岛市青岛大学医学院附属医院提供。

[0050] 实施例1

[0051] 一、不同酸对血清微波酸水解的影响

[0052] (1)随机取10例患者血清,每例血清取2份,分别取2μL至微波水解管,加入去离子水至10μL,混匀后再加入10μL 6mol/L HCl或4mol/L TFA;

[0053] (2)在功率100w、温度100℃的条件下,使用单模微波蛋白水解仪进行微波酸水解10min;

[0054] (3)微波酸水解后的样品用20μL去离子水转移到1.5mL离心管中,重复三次,离心浓缩除酸;

[0055] (4)每管加100μL甲醇,离心浓缩除残留HCl,重复三次;

[0056] (5)得到的干燥样品每管用150μL去离子水溶解,转速13000r/min,离心5min,取上清,待用于阴离子交换色谱分析,分析完成,用200mmol/L NaOH淋洗液冲洗柱子;

[0057] 从图1可以看出除血清中游离的葡萄糖外,TFA降解得到的其他单糖浓度很少。另外,TFA降解产生的杂质也较多。

[0058] 对10例血清微波水解后所得6种单糖峰面积计算均值发现,TFA整体的降解效率比HCl降解效率低,TFA对碱性糖(GalN和GlcN)的降解效率很低(见表1)。本发明需要对6种单

糖均进行检测，所以选择3mol/L HCl。

[0059] 表1降解所得六种单糖峰面积

[0060]

	2 mol/L TFA（nC*min）	3 mol/L HCl（nC*min）
Fuc	0.80719	0.32233
GalN	0.172963	2.61354
GlcN	2.88774	33.25152
Gal	5.14203	5.59974
Glc	26.23232	20.50741
Man	0.77675	2.04996

[0061] 二、HCl浓度对血清微波酸水解的影响

[0062] (1)随机取10例患者血清，每例血清取6份，分别取2μL至微波水解管，加入去离子水至10μL，混匀后再加入10μL HCl，使其终浓度分别为0mol/L、1mol/L、2mol/L、3mol/L、4mol/L和5mol/L；

[0063] (2)在功率100w，温度100℃的条件下，使用单模微波蛋白水解仪进行微波酸水解10min；

[0064] (3)微波酸水解后的样品用20μL去离子水转移到1.5mL离心管中，重复三次，离心浓缩除酸；

[0065] (4)每管加100μL甲醇，离心浓缩除残留HCl，重复三次；

[0066] (5)得到的干燥样品每管用150μL去离子水溶解，转速13000r/min，离心5min，取上清，待用于阴离子交换色谱分析，分析完成，用200mmol/L NaOH淋洗液冲洗柱子；

[0067] 实验重复三次，对10例患者血清微波水解后所得6种单糖峰面积计算均值，以不同单糖为横坐标，以峰面积为纵坐标作柱状图(如图3所示)。从图2和图3很明显的看出，低浓度的HCl对血清降解得到单糖的效果较差。对碱性糖(GalN和GlcN)来说，4mol/L HCl的降解效果最好，但是会损失中性糖(Fuc、Gal、Glc和Man)，导致浓度降低，而2mol/L HCl对碱性糖的降解效率又太低。因此，选择3mol/L HCl对碱性糖降解效率不至于太低，又不会损失太多的中性糖。

[0068] 三、血清体积对血清微波酸水解的影响

[0069] (1)随机取10例患者血清，每例取3份，分别取2、5、10μL至微波水解管，加入去离子水至10μL，混匀后再加入10μL HCl，使其终浓度为3mol/L；

[0070] (2)在功率100w，温度100℃的条件下使用单模微波蛋白水解仪进行微波酸水解10min；

[0071] (3)微波酸水解后的样品用20μL去离子水转移到1.5mL离心管中，重复三次，离心浓缩除酸；

[0072] (4)每管加100μL甲醇，离心浓缩除残留HCl，重复三次；

[0073] (5)得到的干燥样品每管用150μL去离子水溶解，转速13000r/min，离心5min，取上清，待用于阴离子交换色谱分析，分析完成，用200mmol/L NaOH淋洗液冲洗柱子；

[0074] 图4和图5显示，相同体积，相同浓度的酸水解条件下，虽然血清量增加，得到的单糖组分的峰面积值增加，但是10μL血清样品微波酸水解之后得到的各单糖组分的峰面积并没有比5μL多一倍，5μL血清样品得到的各单糖组分的峰面积也不是2μL血清的2.5倍，甘露糖的浓度甚至几乎没有变化。因此，本发明选择2μL血清用于单糖组分的分析。而且，从离子色谱图也可以看出，血清量越多，所含杂质越多，本发明选取的2μL血清完全可以测出6种单糖且分离度也较好。

[0075] 实施例2

[0076] 一、单糖标准曲线的绘制

[0077] 精密称取岩藻糖，半乳糖胺，葡萄糖胺，半乳糖，葡萄糖，甘露糖适量，加去离子水配制成含以上单糖各0.05mg/mL，0.01mg/mL，0.005mg/mL，0.001mg/mL，0.0005mg/mL，0.0001mg/mL，0.00005mg/mL的溶液；取80μL至上样瓶，用于阴离子交换色谱分析。

[0078] 色谱条件如下：

[0079] 分析柱:Thermo Scientific Dionex Carbo PAC^{TM} PA10，4.0mm×250mm，

[0080] 保护柱:Thermo Scientific Dionex Carbo PAC^{TM} PA10，4.0mm×50mm，

[0081] 淋洗液:0-18min使用18mM NaOH；流速:1.0mL/min，进样体积:10μL，柱温:30℃，

[0082] 检测器:电化学检测器，金电极(P/N 061875)，标准糖电位，运行时间:18min。得到6种单糖标准品的阴离子交换色谱图，见图6A。

[0083] 从图6A可以看出6种单糖完全分开，互不干扰。患者血样谱图直接对照标准品图6A，可以得知样品的单糖组成，通过对不同浓度标准品谱图积分绘制标准曲线，可计算得样品中各单糖的浓度。

[0084] 二、血液的微波酸水解和离子色谱检测

[0085] (1)取216例人群血液样品2μL至微波水解管，加入8μL去离子水，混匀后再加入10μL 6mol/L HCl；

[0086] (2)在功率100w，温度100℃的条件下，使用单模微波蛋白水解仪进行微波酸水解10min；

[0087] (3)微波酸水解后的样品用20μL去离子水转移到1.5mL离心管中，重复三次，离心浓缩除酸；

[0088] (4)每管加100μL甲醇，离心浓缩除残留HCl，重复三次；

[0089] (5)得到的干燥样品每管用150μL去离子水溶解，转速13000r/min，离心5min，取上清，待用于阴离子交换色谱分析；

[0090] 色谱条件

[0091] 分析柱:Thermo Scientific Dionex Carbo PAC^{TM} PA10，4.0mm×250mm，

[0092] 保护柱:Thermo Scientific Dionex Carbo PAC^{TM} PA10，4.0mm×50mm，

[0093] 淋洗液:0-18min使用18mM NaOH；流速:1.0mL/min，进样体积:10μL，柱温:30℃，

[0094] 检测器:电化学检测器，金电极(P/N 061875)，标准糖电位，运行时间:18min。216例未患肾炎人群血液样品的统计检测结果见图7所示。

[0095] 实施例3

[0096] 取216例已确诊的肾炎患者血液2μL，其余步骤同实施例2，统计检测结果，见图7。

[0097] 将图7结果总结至表1，6种单糖浓度分析结果见表2。

[0098] 表1.肾炎患者血液降解后所得6种单糖与未患肾炎人群的相对趋势

[0099]

	岩藻糖	半乳糖胺	葡萄糖胺	半乳糖	葡萄糖	甘露糖
肾炎	↑***	↑***	↑***	↑**	↑**	↑***

[0100] 注释:“NS”代表与未患肾炎人群相比无变化,“***p<0.001”、“**p<0.01”和“*p<0.05”分别代表与未患肾炎人群相比有不同的显著性差异,“↑”和“↓”分别代表与未患肾炎人群相比上升或下降。

[0101] 表2.肾炎患者及未患肾炎人群血液中6种单糖浓度(μmol/L)对比结果

[0102]

	岩藻糖	半乳糖胺	葡萄糖胺	半乳糖	葡萄糖	甘露糖
未患肾炎人群	78.48±47.09	140.2±45.15	2830±556.1	1176±386.1	2781±955.6	986.2±402.6
肾炎	103.8±3.20	175.0±57.93	3204±678.9	1322±448.0	2970±775.3	1311±564.0

[0103] 从图6看出,6种单糖用阴离子交换色谱得到了较好的分离,具有可行性。

[0104] 从图7,表1,表2可以看出,肾炎患者血液微波降解后,岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖浓度上升显著。可以以岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖为生物检测标志物来检测肾炎患者。

[0105] 实施例4

[0106] 利用本发明所述的生物标记物用于检测肾炎的应用,具体包括以下步骤:

[0107] 1、取待检测的血液样品2μL至微波水解管,加入8μL去离子水,混匀后再加入10μL 6mol/L HCl得到溶解液;

[0108] 2、将所述溶解液使用单模微波蛋白水解仪进行微波酸水解,微波酸水解的条件为功率100w、温度100℃、水解时间为10min;

[0109] 3、微波酸水解后的样品用20μL去离子水转移到1.5mL离心管中,重复三次,离心浓缩除酸;

[0110] 4、然后每管加100μL甲醇,离心浓缩除残留HCl,重复三次;

[0111] 5、得到的干燥样品每管用150μL去离子水溶解,转速13000r/min,离心5min,取上清;

[0112] 6、将所述上清液用于阴离子交换色谱分析;

[0113] 色谱条件如下:

[0114] 分析柱:Thermo Scientific Dionex Carbo PAC™ PA10,4.0mm×250mm;

[0115] 保护柱:Thermo Scientific Dionex Carbo PAC™ PA10,4.0mm×50mm;

[0116] 淋洗液:0-18min 18mM NaOH;流速:1.0mL/min,进样体积:10μL,柱温:30℃,检测器:电化学检测器,金电极(P/N 061875),标准糖电位,运行时间:18min;

[0117] 7、绘制岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖的标准曲线:精密称取岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖适量,加去离子水配制成含以上单糖各0.05mg/mL,0.01mg/mL,0.005mg/mL,0.001mg/mL,0.0005mg/mL,0.0001mg/mL,0.00005mg/mL的溶液;取80μL至上样瓶,用于阴离子交换色谱分析。色谱条件如步骤6所示;

[0118] 8、将步骤6得到的色谱图与步骤5中的标准曲线比对并分析计算,确定岩藻糖、半

乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖的浓度。

[0119] 如果待测血液样品中的岩藻糖浓度为103.8±3.20μmol/L、半乳糖胺浓度为175.0±57.93μmol/L、葡萄糖胺浓度为3204±678.9μmol/L和甘露糖浓度为1311±564.0μmol/L，则判定待测血液样品为肾炎患者。

[0120] 以上结果均表明：该方法降解快速(10分钟快速完成样品处理)；批通量(一次降解多达10个20微升的样品)处理；兼容性(微波酸水解使用传统方法相同的酸)；血液用量少，每次只需小于1mL的血量；酸用量少(仅需10微升)；操作步骤简单易学(无需衍生，直接上样)；灵敏度高、准确性好；检测血液中降解后所得6种单糖的浓度不仅可以区分未患肾炎人群和肾炎患者，适合临床上用于肾炎患者血液检测。

[0121] 以上实施例仅用于说明本发明的技术方案，而非对其进行限制；尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明，对于本领域的普通技术人员来说，依然可以对前述实施例所记载的技术方案进行修改，或者对其中部分技术特征进行等同替换；而这些修改或替换，并不使相应技术方案的本质脱离本发明所要求保护的技术方案的精神和范围。

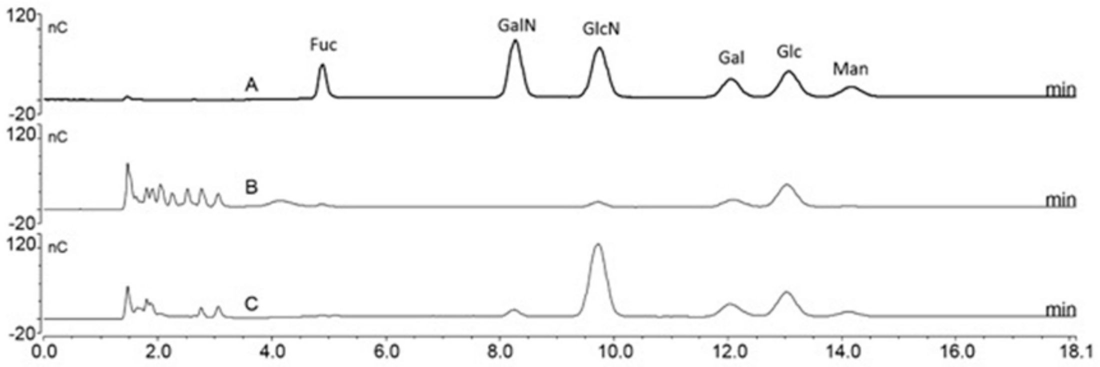

120
nC
Fuc
GalN
GlcN
Gal
Glc
Man
A
min
-20
120
nC
B
min
-20
120
nC
C
min
-20
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
18.1

图1

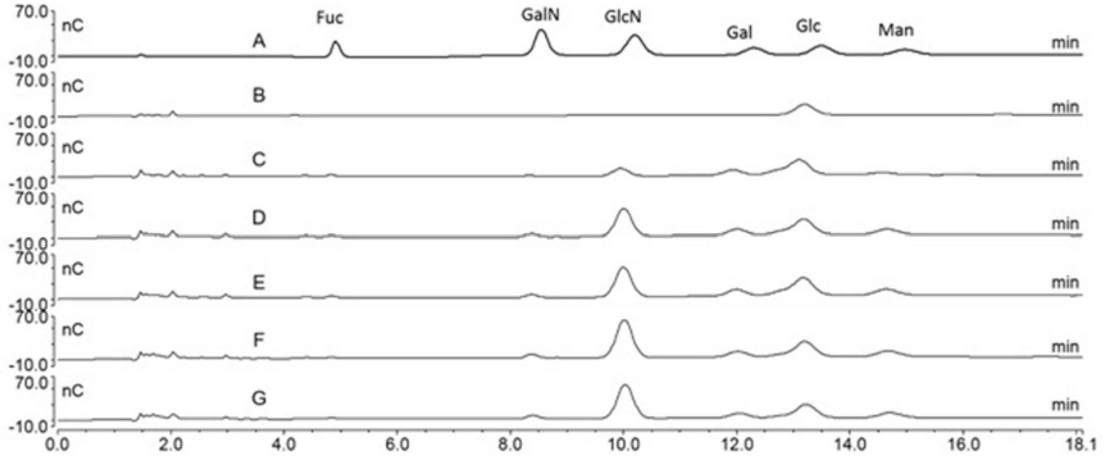

70.0
nC
Fuc
GalN
GlcN
Gal
Glc
Man
A
B
C
D
E
F
G
min
-10.0
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
18.1

图2

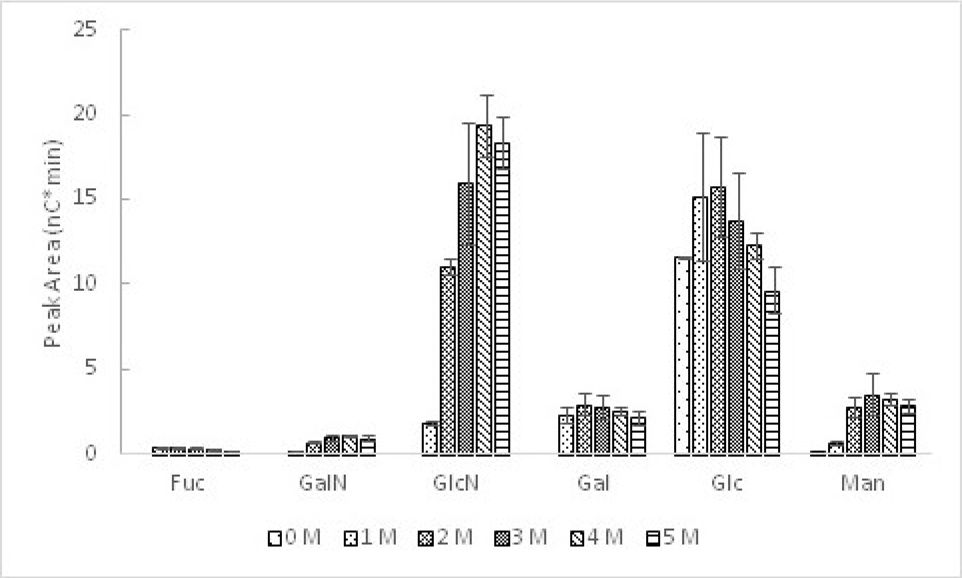

25
20
15
10
5
0
Peak Area(nC* min)
Fuc
GalN
GlcN
Gal
Glc
Man
0 M
1 M
2 M
3 M
4 M
5 M

图3

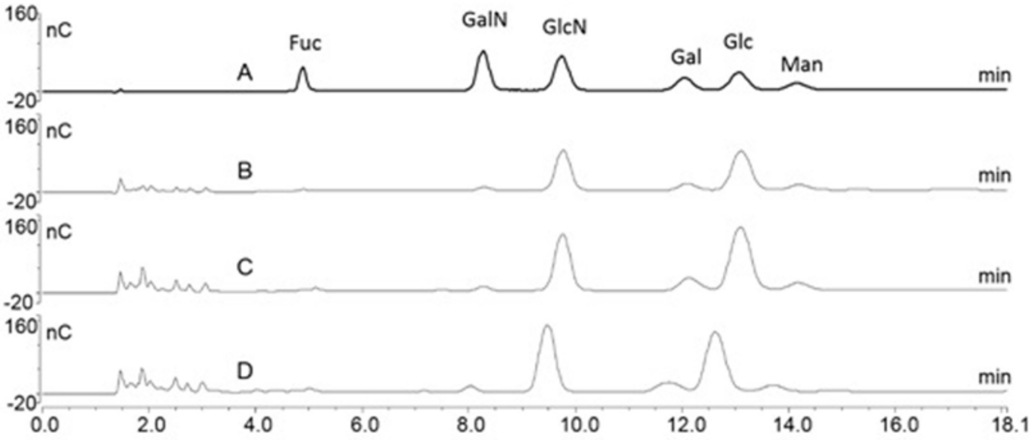

160
nC
-20
Fuc
GalN
GlcN
Gal
Glc
Man
A
B
C
D
min
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
18.1

图4

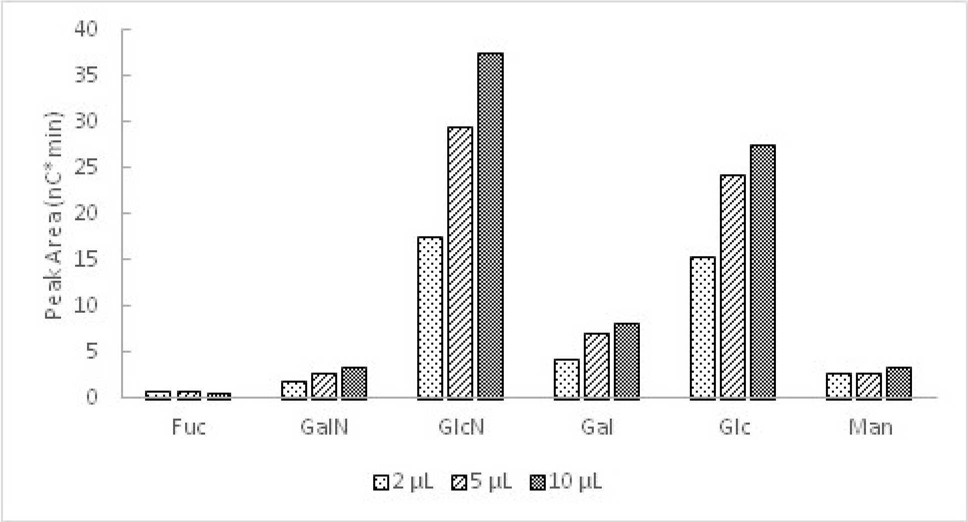

40
35
30
25
20
15
10
5
0
Peak Area(nC*min)
Fuc
GalN
GlcN
Gal
Glc
Man
2 μL
5 μL
10 μL

图5

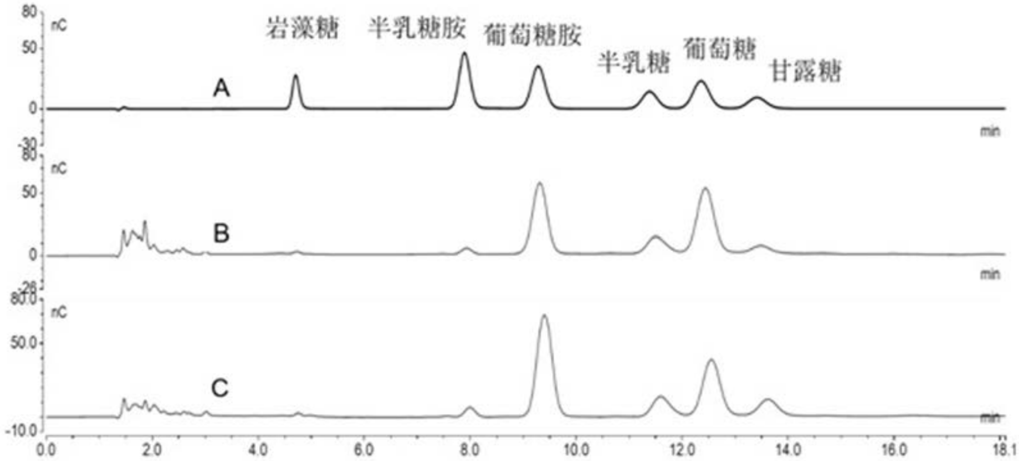

岩藻糖
半乳糖胺
葡萄糖胺
半乳糖
葡萄糖
甘露糖
A
B
C
nC
min
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
18.1

图6

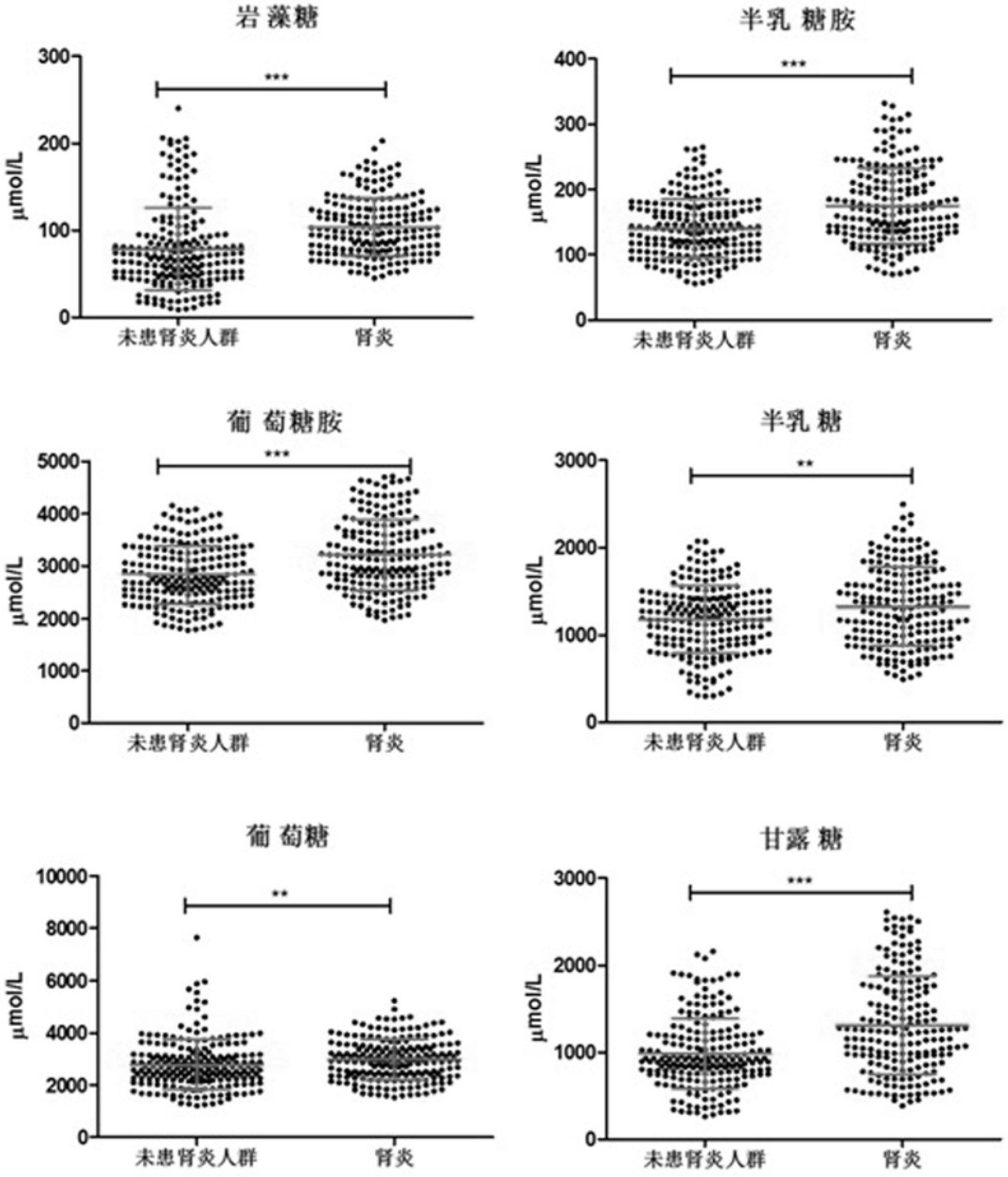
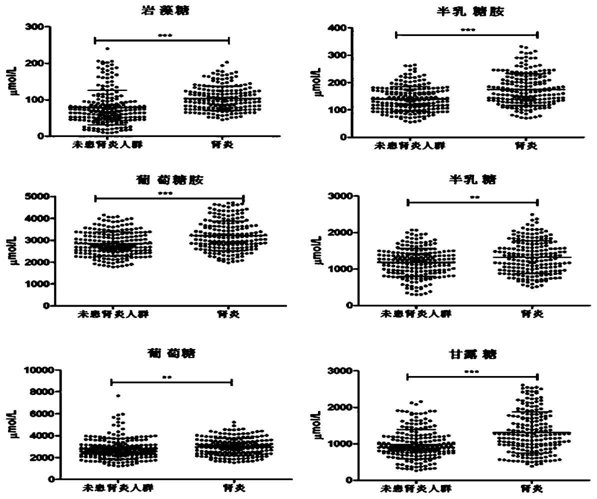

岩藻糖
μmol/L
300
200
100
0
***
未患肾炎人群
肾炎
半乳糖胺
400
300
200
100
0
***
未患肾炎人群
肾炎
葡萄糖胺
5000
4000
3000
2000
1000
0
***
未患肾炎人群
肾炎
半乳糖
3000
2000
1000
0
**
未患肾炎人群
肾炎
葡萄糖
10000
8000
6000
4000
2000
0
**
未患肾炎人群
肾炎
甘露糖
3000
2000
1000
0
***
未患肾炎人群
肾炎

图7

patsnap

专利名称(译)	一种用于检测肾炎的生物标记物及其应用		
公开(公告)号	CN110346571A	公开(公告)日	2019-10-18
申请号	CN201810296891.8	申请日	2018-04-04
[标]申请(专利权)人(译)	青岛大学附属医院		
申请(专利权)人(译)	青岛大学附属医院		
当前申请(专利权)人(译)	青岛大学附属医院		
[标]发明人	张丽娟 何燕利		
发明人	张丽娟 何燕利		
IPC分类号	G01N33/66 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/66 G01N2800/347		
代理人(译)	王晓晓		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种用于检测肾炎的血液中生物标记物及其用途。所述生物标记物为血液经过微波酸水解和阴离子交换色谱-脉冲安培法得到的岩藻糖、半乳糖胺、葡萄糖胺和甘露糖，本发明的技术方案具有降解快速、批通量、兼容性、酸用量少、操作步骤简单易学，并且具有灵敏度高、准确性好等优点。所得结果显示此降解分析方法可以快速降解血样，分析血样中的单糖组成，并可以计算得到其单糖浓度，根据其浓度可以在一定程度上区分未患肾炎人群和肾炎患者。