

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610114972.9

[51] Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 21/76 (2006.01)

[43] 公开日 2007年2月14日

[11] 公开号 CN 1912621A

[22] 申请日 2006.8.10

[21] 申请号 200610114972.9

[71] 申请人 福建省洪诚生物药业有限公司

地址 351254 福建省莆田市枫亭工业园区规划路2号

[72] 发明人 王京 高淑舫

权利要求书1页 说明书4页

[54] 发明名称

血清中甘油三酯的化学发光测定方法

[57] 摘要

本发明血清中甘油三酯的化学发光测定方法，涉及一种在生化分析中医用试剂的化学发光测定方法。现有的方法检测范围窄、灵敏度低、操作烦琐等技术问题。解决该技术问题的主要技术方案：血清中甘油三酯的化学发光测定方法，其特征在于用脂蛋白脂肪酶将TG水解成甘油和脂肪酸；再用甘油激酶及三磷酸腺苷将甘油磷酸化成3-磷酸甘油；后者被磷酸甘油氧化酶氧化产生的过氧化氢，经过氧化物酶作用使化学发光物氧化而发光；血清甘油三酯浓度越大发出的光信号越强；用已知浓度的甘油三酯与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的甘油三酯含量可从该曲线推算出来。它灵敏度更高、线性范围宽、成本低、准确性高，便于普及，适于各类医疗机构广泛应用。

1 血清中甘油三酯的化学发光测定方法，其特征在于用脂蛋白脂肪酶（LPL）将 TG 水解成甘油和脂肪酸；再用甘油激酶（GK）及三磷酸腺苷（ATP）将甘油磷酸化成 3-磷酸甘油（G-3-P）；3-磷酸甘油（G-3-P）被磷酸甘油氧化酶（GPO）氧化，并产生过氧化氢；再经过氧化物酶作用，过氧化氢使化学发光物氧化而发光；光信号的大小与血清甘油三酯的浓度呈正相关，即血清甘油三酯浓度越大发出的光信号越强；记录这种光信号即可推测血清甘油三酯的浓度；用已知浓度的甘油三酯与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的甘油三酯含量可从该曲线推算出来。

2 根据权利要求 1 所述的血清中甘油三酯的化学发光测定方法，其特征在于所述的化学发光物为鲁米诺。

血清中甘油三酯的化学发光测定方法

技术领域：本发明涉及一种医用试剂检测方法，特别涉及血清中甘油三酯的化学发光测定方法。

背景技术：利用现代生物技术所开发的超微量测定方法，极大的推动了生物和医学各领域的各项临床和科研工作的快速发展，为人类的科学事业和社会进步作出了非凡的贡献。

上世纪七十年代由 Arakawa 首先发表了应用鲁米诺——过氧化物酶的化学发光反应进行酶免分析的技术，这一技术由于灵敏度高达 10^{-18} mol，可在 20 分钟内快速测定出结果，可简便实现完全自动化，有效期长达一年以上，无放射性和致畸物质，利于环保而受到普遍欢迎，是目前发展最迅速的检测技术。

目前，化学发光技术在免疫分析中已得到相当普及的程度，已发展为能检测多种生物活性物质的常规临床检测方法，从免疫反应方式分，该方法有两种基本类型，即化学发光免疫分析 (chemiluminescence immunoassay, CLIA) 和免疫化学发光分析 (Immunochemiluminometric assay, ICMA); 从发光方式上看，一是将发光物质直接标记到抗体或抗原上，免疫反应后，在起动剂的作用下而发光，另一种是用酶标记抗体或抗原，免疫反应后，加入化学发光底物，在酶催化作用下而发光。

该方法虽有突出的优点，但目前仅限于免疫分析，而在生化分析中还是空白。

甘油三酯 (TG) 存在于血液中，高甘油三酯血症是冠心病的主要表现之一。病理状态下的高 TG 有原发和继发的两类。原发性多有遗传因素；继发性见于糖尿病、糖原累积病、甲状腺机能不足、肾病综合征、妊娠等。

现在普遍使用的测定血清中甘油三酯的方法为 GPO-PAP 比色法，该法是用脂蛋白脂肪酶 (LPL) 将 TG 水解成甘油和脂肪酸，再用甘油激酶 (GK) 及三磷酸腺苷 (ATP) 将甘油磷酸化成 3-磷酸甘油 (G-3-P)，后者被磷酸甘油氧化酶 (GPO)

氧化，并产生过氧化氢，再经过氧化物酶作用，使色源物（PAP）显色，吸光度与标本中 TG 含量成正相关，可进行比色测定。该法的不足之处主要有：

1、线性范围窄。由于检测光吸收，其分辨率不像化学发光那么敏感，线性范围不能完全满足临床检测的需要，对高浓度的样品需要经稀释后测定，带来一定不便。

2、灵敏度不如化学发光。化学发光是测定光信号，灵敏度要比测光吸收高出许多。

3、试剂成份复杂，操作烦琐，容易造成误差，影响测定结果的准确性。

发明内容：本发明所要解决的技术问题是一种提供能克服上述缺陷、灵敏度高、线性范围宽、方便、安全的血清中甘油三酯的化学发光测定方法。解决该技术问题采用的主要技术方案：血清中甘油三酯的化学发光测定方法，其特征在于用脂蛋白脂肪酶（LPL）将 TG 水解成甘油和脂肪酸；再用甘油激酶（GK）及三磷酸腺苷（ATP）将甘油磷酸化成 3-磷酸甘油（G-3-P）；3-磷酸甘油（G-3-P）被磷酸甘油氧化酶（GPO）氧化，并产生过氧化氢；再经过氧化物酶作用，过氧化氢使化学发光物氧化而发光；光信号的大小与血清甘油三酯的浓度呈正相关，即血清甘油三酯浓度越大发出的光信号越强；记录这种光信号即可推测血清甘油三酯的浓度；用已知浓度的甘油三酯与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的甘油三酯含量可从该曲线推算出来；所述的化学发光物为鲁米诺。本发明与现有技术相比有如下优点：用化学发光物代替显色物，达到更灵敏、更稳定、范围宽、更安全的目的。用该方法可以制备相应的定量测定血清甘油三酯的商品试剂盒。具体优点是：①灵敏度更高。传统方法是检测颜色深浅，而化学发光是测光信号，可一个一个光子计数，所测的最低限更小，因而灵敏度更高。②线性范围宽。测颜色的深浅的分辨率比光子计数的精度要低得多，化学发光的检测范围高达 10^5 。③安全适用。化学发光物如鲁米诺等很安全，整个检测过程无有害物出现，无论是检测或处理废物都很安全，有利于环境保护。④便于普及。本发明所制备的试剂盒，可用于全自动测量，也可用于手工或半自动测量，适宜大、中、小各层次的医疗和研究机构使用。⑤巨大的社会效益。用化学发光法测定生化指标或免疫物质，可同用一台化学发光仪，不再需要进

口昂贵的生化仪，节省大量资金，不只降低了成本，对医疗机构、患者及社会均大有益处。

具体实施方式：现举例说明本发明的实施例。用脂蛋白脂肪酶（LPL）将TG水解成甘油和脂肪酸；再用甘油激酶（GK）及三磷酸腺苷（ATP）将甘油磷酸化成3-磷酸甘油（G-3-P）；3-磷酸甘油（G-3-P）被磷酸甘油氧化酶（GPO）氧化，并产生过氧化氢；再经过氧化物酶作用，过氧化氢使化学发光物氧化而发光；光信号的大小与血清甘油三酯的浓度呈正相关，即血清甘油三酯浓度越大发出的光信号越强；记录这种光信号即可推测血清甘油三酯的浓度；用已知浓度的甘油三酯与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的甘油三酯含量可从该曲线推算出来；所述的化学发光物为鲁米诺；这便是本发明的血清中甘油三酯的化学发光测定方法。该方法可用于测定血清中的甘油三酯（TG）的含量。

一、 试剂包括：

混合酶液；

甘油三酯（或替代品）标准：单一或系列浓度；

底物液

二、 测定程序：

按下表进行，加样单位为 μl 。

	标准	样品
标准	10	
样品		10
酶液	50	50
底物液	50	50
混匀，室温或 37°C 温育后测量 RLU		

三、用适当方法处理作出剂量-反应曲线，根据样品的RLU值从该曲线求出其血清甘油三酯的浓度。或直接由公式求出：

甘油三酯浓度 = (样品 RLU / 标准 RLU) × 标准浓度

四、也可用双试剂测定。

本发明的灵敏度更高：因为传统方法是检测颜色深浅，而本发明是测光信

号，可一个一个光子计数，所测的最低限更小，因而灵敏度更高。线性范围宽：这是因为传统的测颜色的深浅的分辨率比光子计数的精度要低得多，本发明的化学发光检测范围高达 10^5 。安全适用：本发明的化学发光物如鲁米诺等很安全，整个检测过程无有害物出现，无论是检测或处理废物都很安全，有利于环境保护。便于普及：本发明所制备的试剂盒，可用于全自动测量，也可用于手工或半自动测量，适宜大、中、小各层次的医疗和研究机构使用。社会效益巨大：用本发明的化学发光测定方法测定生化指标或免疫物质，可同用一台化学发光仪，不再需要进口昂贵的生化仪，节省大量资金，不只降低了成本，对医疗机构、患者及社会均大有益处。本发明方法简单，成本低，适于大、中、小医疗机构广泛应用。

专利名称(译)	血清中甘油三酯的化学发光测定方法		
公开(公告)号	CN1912621A	公开(公告)日	2007-02-14
申请号	CN200610114972.9	申请日	2006-08-10
[标]发明人	王京 高淑舫		
发明人	王京 高淑舫		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/76		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明血清中甘油三酯的化学发光测定方法，涉及一种在生化分析中应用试剂的化学发光测定方法。现有的方法检测范围窄灵敏度低操作烦琐等技术问题。解决该技术问题的主要技术方案：血清中甘油三酯的化学发光测定方法，其特征在于用脂蛋白脂肪酶将TG水解成甘油和脂肪酸；再用甘油激酶及三磷酸腺苷将甘油磷酸化成3-磷酸甘油；后者被磷酸甘油氧化酶氧化产生的过氧化氢，经过氧化物酶作用使化学发光物氧化而发光；血清甘油三酯浓度越大发出的光信号越强；用已知浓度的甘油三酯与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的甘油三酯含量可从该曲线推算出来。它灵敏度更高、线性范围宽、成本低，准确性高，便于普及，适于各类医疗机构广泛应用。

行，加样单位为 μl 。

	标准	样品
标准	10	
样品		10
酶液	50	50
底物液	50	50
混匀，室温或 37℃温育后测量 RLU		