

[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 200610114973.3

[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 1912622A

[22] 申请日 2006.8.10

[21] 申请号 200610114973.3

[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

体液中葡萄糖的化学发光测定方法

[57] 摘要

本发明体液中葡萄糖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、易造成环境污染等技术问题。解决该技术问题的主要技术方案：体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于葡萄糖氧化酶使葡萄糖氧化而生成过氧化氢；过氧化氢在过氧化物酶的作用下，使化学发光物氧化而发光；光信号的大小与葡萄糖的浓度呈正相关，即葡萄糖浓度越大发出的光信号越强；记录这种光信号即可推测葡萄糖的浓度；用已知浓度的葡萄糖与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的葡萄糖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，适于大、中、小各类医疗机构广泛应用。

1、体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于葡萄糖氧化酶使葡萄糖氧化而生成过氧化氢；过氧化氢在过氧化物酶的作用下，使化学发光物氧化而发光；光信号的大小与葡萄糖的浓度呈正相关，即葡萄糖浓度越大发出的光信号越强；记录这种光信号即可推测葡萄糖的浓度；用已知浓度的葡萄糖与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的葡萄糖含量可从该曲线推算出来。

2、根据权利要求1所述的体液中葡萄糖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。

3、根据权利要求1所述的体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于所述的葡萄糖可以是血液中的葡萄糖。

4、根据权利要求1所述的体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于所述的葡萄糖可以是血浆中的葡萄糖。

5、根据权利要求1所述的体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于所述的葡萄糖可以是血清中的葡萄糖。

6、根据权利要求1所述的体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于所述的葡萄糖可以是脑脊液中的葡萄糖。

7、根据权利要求1所述的体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于所述的葡萄糖可以是尿液中的葡萄糖。

体液中葡萄糖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，特别涉及体液中葡萄糖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。

现在普遍使用的测定体液中葡萄糖的方法为生物酶法，该法是利用生物酶使葡萄糖放出过氧化氢，后者在酶催化下将色源物质氧化成有色物，通过颜色深浅来判定生物体液中葡萄糖的浓度。该法的不足之处主要有：

1. 线性范围窄。由于检测对颜色的变化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。酶法是比较颜色的深浅，而化学发光是测定光信号，灵敏度要高出许多。

3. 只能用仪器操作。有的是测定酶促反应的速率，对时间要求十分严格，手工或半自动操作均难达到要求，只能使用全自动设备进行。

4. 全自动生化仪昂贵。目前使用的全自动生化仪几乎全为进口，设备十分昂贵，大多在几十万到几百万之间，中小医院难以承受，普及使用受到限制。

5. 酶法中的有些色源物质是有害的，易造成环境污染，不十分安全。

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、安全的体液中葡萄糖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：体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于葡萄糖氧化酶使葡萄糖氧化而生成过氧化氢；过氧化氢在过氧化物酶的作用下，使化学发光物氧化而发光；光信号的大小与葡萄糖的浓度呈正相关，即葡萄糖浓度越大发出的光信号越强；记录这种光信号即可推测葡萄糖的浓度；用已知浓度的葡萄糖与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的葡萄糖含量可从该曲线推算出来；所述的化学发光物为鲁米诺；所述的葡萄糖可以是血液中的葡萄糖；所述的葡萄糖可以是血浆中的葡萄糖；所述的葡萄糖可以是血清中的葡萄糖；所述的葡萄糖可以是脑脊液中的葡萄糖；所述的葡萄糖可以是尿液中的葡萄糖。本发明与现有技术相比有如下优点：该方法的特征在于：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葡萄糖的商品试剂盒。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。葡萄糖氧化酶使葡萄糖氧化而生成过氧化氢；过氧化氢在过氧化物酶的作用下，使化学发光物氧化而发光；光信号的大小与葡萄糖的浓度呈正相关，即葡萄糖浓度越大发出的光信号越强；记录这种光信号即可推测葡萄糖的浓度；用已知浓度的葡萄糖与测出的光信号，作出剂量-反应曲线；未知样品的葡萄糖含量可从该曲线推算出来；所述的化学发光物为鲁米诺；所述的葡萄糖可以是血液中的葡萄糖；所述的葡萄糖可以是血浆中的葡萄糖；所述的葡萄糖可以是血清中的葡萄糖；所述的葡萄糖可以是脑脊液中的葡萄糖；所述的葡萄糖可以是尿液中的葡萄糖。这便是本发明的体液中葡萄糖的化学发光测定方法。该方法可用于测定血液、血浆、血清、脑脊液或尿液中的葡萄糖含量。

一、试剂配制：

0.1M pH7.0 的 PB

GOD+HRP 液。

葡萄糖标准：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	20	
样品		20
酶液	50	50
底物液	50	50
混匀，室温或 37℃ 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葡萄糖的浓度。或直接由公式求出：

葡萄糖浓度 = (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)	体液中葡萄糖的化学发光测定方法		
公开(公告)号	CN1912622A	公开(公告)日	2007-02-14
申请号	CN200610114973.3	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)

本发明体液中葡萄糖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、易造成环境污染等技术问题。解决该技术问题的主要技术方案：体液中葡萄糖的化学发光测定方法，其特征在于葡萄糖氧化酶使葡萄糖氧化而生成过氧化氢；过氧化氢在过氧化物酶的作用下，使化学发光物氧化而发光；光信号的大小与葡萄糖的浓度呈正相关，即葡萄糖浓度越大发出的光信号越强；记录这种光信号即可推测葡萄糖的浓度；用已知浓度的葡萄糖与测出的光信号，作出剂量 - 反应曲线；未知样品的葡萄糖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，适于大、中、小各类医疗机构广泛应用。

，加样单位为 μl 。

	标准	样品
标准	20	
样品		20
酶液	50	50
底物液	50	50
混匀，室温或 37°C 温育后测量 RLU		