



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105510572 A

(43) 申请公布日 2016. 04. 20

(21) 申请号 201510973109. 8

(22) 申请日 2015. 12. 22

(71) 申请人 山东博科生物产业有限公司

地址 250000 山东省济南市章丘明水经济开发
区明埠路与经十东路交叉口

(72) 发明人 李敏 甘宜梧 谭柏清

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 21/31(2006. 01)

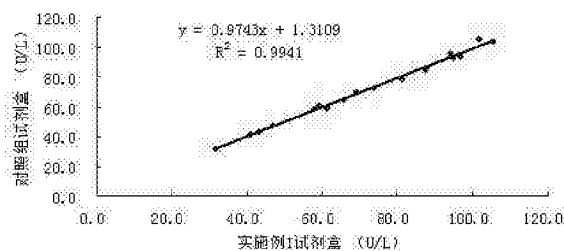
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒

(57) 摘要

本发明公开了一种甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒,本试剂盒采用连续监测法检测血液中的甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶,属于临床体外检测试剂技术领域。本发明试剂盒包括试剂 R1 和试剂 R2。通过将试剂 R1 中添加氯化钠,同时试剂 R2 中添加甘露醇,提高了试剂盒的稳定性,线性范围较好,试剂的准确度也较好,有利于在市场中进一步的推广使用。



1. 一种甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒,其特征在于,它包含试剂R1和试剂R2。
2. 试剂组成如下:试剂R1组成为:100mmol/L pH8.6 Tris双甘肽缓冲液、2mmol/L氯化钠、10mmol/L叠氮钠;试剂R2组成为:pH7.5 Goods缓冲液、50mmol/L甘氨酸脯氨酸对硝基苯胺对甲苯磺酸、2%甘露醇、10mmol/L叠氮钠。
3. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,使用全自动生化分析仪采用速率法进行测定,检测主波长为405nm。
4. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述试剂R1和试剂R2在使用时的比例为R1:R2=225:75。

一种甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及临床体外检测试剂技术领域,特别涉及一种甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒。

背景技术

[0002] 早在1966年,Hopsu-Havu和Glenner发现,哺乳动物肽酶的生物化学和组织化学研究中,色源底物甘氨酸-脯氨酸- β -萘胺(Gly-Pro- β -NA)可被某些酶制品水解,他们从这些酶制品成功地分离出了这种可以水解Gly-Pro- β -NA的酶,并证明其水解产物为甘氨酸-脯氨酸和 β -萘胺。为了探寻哺乳动物组织中是否存在这种酶,他们首先以小鼠的肝脏为样品进行了研究,发现的确存在这种酶。继而,将脱脂小鼠的肾脏切片与Gly-Pro- β -NA和偶氮染料共孵育,发现小鼠的肾组织中存在水解产生的萘胺,表明在小鼠的肝脏及肾脏中都存在这种二肽氨基肽酶,即甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶。甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶不仅存在于小鼠中,还存在于猪、牛、人及各种动物组织中。甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶能特异性地水解N-末端第二位为脯氨酸的肽键。用不同氨基酸合成不同的x-脯氨酸对硝基苯胺(x-Pro-p-NA),在pH=8.7的条件下,人血清甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶对这些人工底物的水解速率大小依次为Gly-、Ala-、Lys-、Arg-、Glu-和Asp-Pro-p-NA。说明底物N-末端氨基酸残基不同,影响着甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶活性及对底物的Km值。

[0003] 健康成人血清甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶水平较为恒定,新生儿显著低于成人,从婴儿出生到20岁的迅速发育阶段,血清甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶含量逐渐升高。原发性肝癌病人血清中甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶活性显著高于正常人和慢性肝炎、肝硬化、胆石症、阻塞性黄疸的患者,但是重症肝炎、酒精性肝炎患者血清中甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶活性的升高程度大于肝癌病人。肝血管瘤患者血清中甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶的活性正常。胃癌患者血清中甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶的活性降低,其它良性胃肠道疾病时,血清中甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶的活性也略有降低此。

[0004] 目前,用于甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶的检测方法主要有连续监测法、非连续的直接比色法和间接比色法。本发明提供一种用连续监测法检测甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶的试剂盒,优化其反应体系,使其重复性好、稳定性好、可进行批量样本全自动化检测。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种稳定性好的用于检测甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶试剂盒,该试剂盒采用连续监测法。该试剂盒与常规的试剂盒相比,稳定性和线性范围比常规的检测试剂盒要好有利于试剂在临床上的推广应用。

[0006] 基本原理:

以免疫比浊法为测定原理,血清中 α 1-酸性糖蛋白抗原与相应抗体在溶液中相遇,形成不溶性的抗原-抗体复合物,使反应液产生一定的浊度,该浊度的高低在一定量的抗体存在时与抗原的含量成正比。在特定波长下测定该复合物的吸光值,与校准品标定的校准曲线

比较,即可计算出样本中的 α 1-酸性糖蛋白的含量。

[0007] 发明是通过以下步骤得到的:

一种甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒,其特征在于,它包含试剂R1和试剂R2。试剂组成如下:试剂R1为100mmol/L pH8.6 Tris双甘肽缓冲液、2mmol/L氯化钠、10mmol/L叠氮钠;试剂R2为:pH7.5 Goods缓冲液、50mmol/L甘氨酸脯氨酸对硝基苯胺对甲苯磺酸、2%甘露醇、10mmol/L叠氮钠。

[0008] 所述的甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒来检测甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶的检测方法,使用全自动生化分析仪利用速率法进行测定,检测主波长为405nm。

[0009] 所述的甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂,试剂R1和试剂R2在使用时的比例为R1:R2=225:75。

[0010] 本发明的试剂盒在具有双试剂功能的全自动生化分析仪上进行,其具体使用方法图3,加入生理盐水、样本或校准品15 μ l,再加入225 μ l的R1试剂预孵育5min后读取吸光度A1,之后再加入75 μ l的R2试剂反应5min后,读取吸光度A2,并计算 ΔA 。

[0011] 本发明的有益效果:

1)试剂R1中添加氯化钠,试剂R2中添加甘露醇,增强了试剂的稳定性和抗干扰能力,而且不会对试剂的准确度产生影响;

2)试剂的准确度和稳定性良好,价格便宜,使用方便,有利于该试剂在市场中进一步的推广。

附图说明

[0012] 图1为两种试剂的相关性曲线图,

图2为两种试剂效期稳定性曲线图,

图3为本发明的试剂盒在具有双试剂功能的全自动生化分析仪上的使用方法。

具体实施方式

[0013] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步说明:

实施例1

一种常规的甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒,它包括试剂R1和试剂R2。

[0014] 其中试剂R1组成为:

| | |
|------------------|-----------|
| pH8.6 Tris双甘肽缓冲液 | 100mmol/L |
| 氯化钠 | 2mmol/L |
| 叠氮钠 | 10mmol/L |

试剂R2组成为:

| | |
|------------------|----------|
| Goods缓冲液 | pH7.5 |
| 甘氨酸脯氨酸对硝基苯胺对甲苯磺酸 | 50mmol/L |
| 甘露醇 | 2% |
| 叠氮钠 | 10mmol/L |

本实施例所述试剂R1和试剂R2,配置时需先配制缓冲液,调到适当pH值后,再添加其它物质。本实施例所述试剂盒在使用时,其测定方法是采用具有双试剂功能的迈瑞800全自动

生化分析仪,利用速率法进行测定,操作如下:

加入生理盐水、样本或校准品15 μ l,再加入225 μ l 的R1试剂预孵育5min后读取吸光度A1,之后再加入75 μ l的R2试剂反应5min后,读取吸光度A2,并计算 ΔA 。

[0015] 甘氨酰脯氨酸二肽氨基肽酶含量(U/L)=(测定 \div 标准) \times C标准。

[0016] 实施例2

准确度验证试验:将实施例1的甘氨酰脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂作为实验组,市场上获得认可的一种准确度好、稳定性好的甘氨酰脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂作为对照组进行检测,对20个临床血清样本进行检测,检测结果如表1所示。获得了两种试剂的相关性曲线(如图1所示),结果表明,两组试剂盒的相关系数为0.9970,说明两者相关性比较好。证明本发明试剂盒添加及更改的组分对其准确性不会造成影响,试剂盒依然保持较好的准确度。

[0017] 表1实施例1试剂与市场认可的甘氨酰脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂对比检测结果

实施例3

线性相关性验证试验:选取甘氨酰脯氨酸二肽氨基肽酶含量为400U/L的高值样本,用生理盐水进行系列稀释,配制6个不同浓度的样本,浓度依次为400U/L、320U/L、240U/L、160U/L、80U/L、0U/L。分别利用实施例1试剂及对照组试剂进行检测,每个浓度的样本分别测定三次,分别取平均值,检测结果如表2所示。

[0018] 表2 实施例1试剂线性相关验证实验检测结果

| 理论浓度 (U/L) | 实施例1试剂 (U/L) | 对照组试剂 (U/L) |
|---------------|-----------------|----------------|
| 0 | 8.4 | 8.8 |
| 80 | 78.2 | 83.3 |
| 160 | 156.7 | 168.2 |
| 240 | 245.9 | 235.5 |
| 320 | 313.6 | 308.6 |
| 400 | 387.7 | 380.8 |
| 相关系数R | 0.9994 | 0.9992 |

如上表所示,实施例1与对照组试剂检测结果相关系数均大于0.990,且实施例1试剂检测结果的相关系数略大于对照组试剂检测结果的相关系数,这表明本发明试剂具有更好的线性相关性。

[0019] 实施例4

稳定性验证实验:在2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C、无腐蚀性气体的避光环境中贮存试剂,检测实施例1及对照组试剂的稳定性。每月1号分别用两组试剂测定同一混合血清样本,测定三次取平均值,检测数据如表3所示。

[0020] 表3 实施例1试剂稳定性验证实验检测结果

| 时间 | 实施例1试剂 (U/L) | 对照组试剂 (U/L) |
|------|-----------------|----------------|
| 1个月 | 69.8 | 68.6 |
| 2个月 | 68.8 | 66.6 |
| 3个月 | 67.6 | 66.7 |
| 4个月 | 65.3 | 64.2 |
| 5个月 | 67.5 | 66.8 |
| 6个月 | 66.1 | 63.8 |
| 7个月 | 64.8 | 65.3 |
| 8个月 | 64.8 | 63.6 |
| 9个月 | 63.5 | 64.2 |
| 10个月 | 64.7 | 62.8 |
| 11个月 | 64.6 | 61.9 |
| 12个月 | 62.4 | 58.4 |
| 13个月 | 63.3 | 57.2 |
| 14个月 | 62.1 | 55.4 |
| 15个月 | 63.2 | 58.8 |

实验结果显示,实施例1试剂在2℃~8℃、无腐蚀性气体的避光环境中贮存15个月稳定,而对照组试剂在2℃~8℃、无腐蚀性气体的避光环境中贮存12个月后开始不稳定,说明本发明试剂添加氯化钠及甘露醇后稳定性增强。

[0021] 综上所述,本发明提供的甘氨酰脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒,试剂R1中添加氯化钠,同时试剂R2中添加甘露醇,提高了试剂盒的稳定性,线性范围较好,试剂的准确度也较好。因此,本发明提供的甘氨酰脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒有利于在市场中进一步的推广使用。

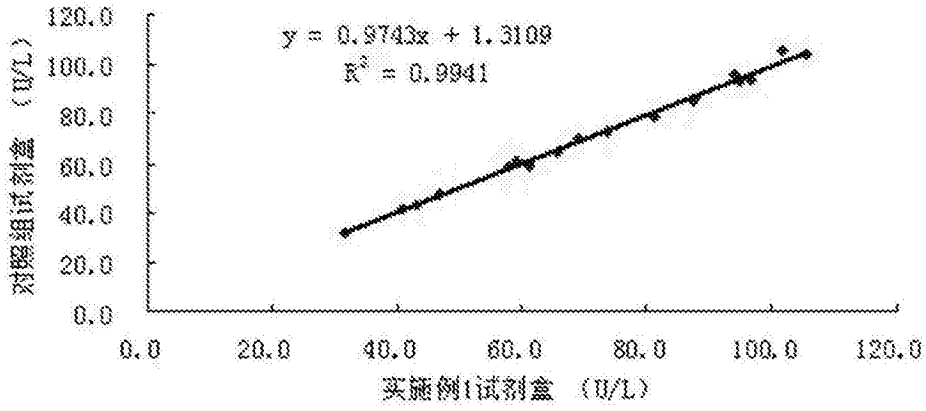


图1

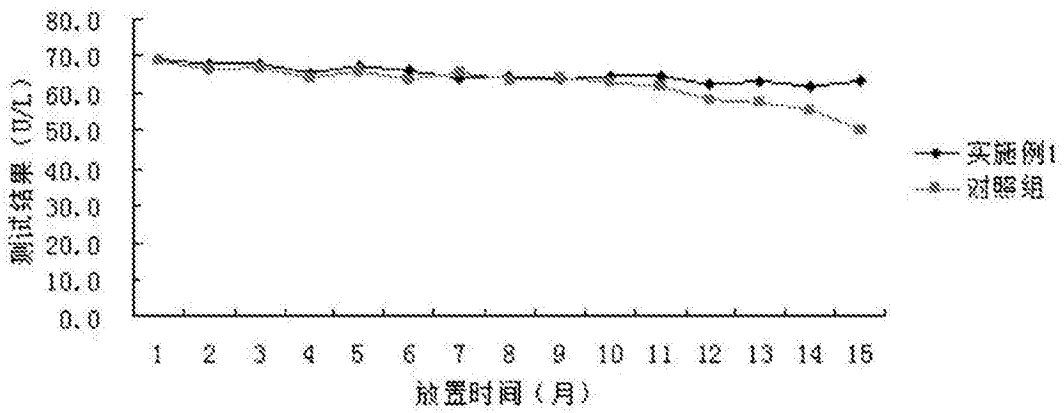


图2

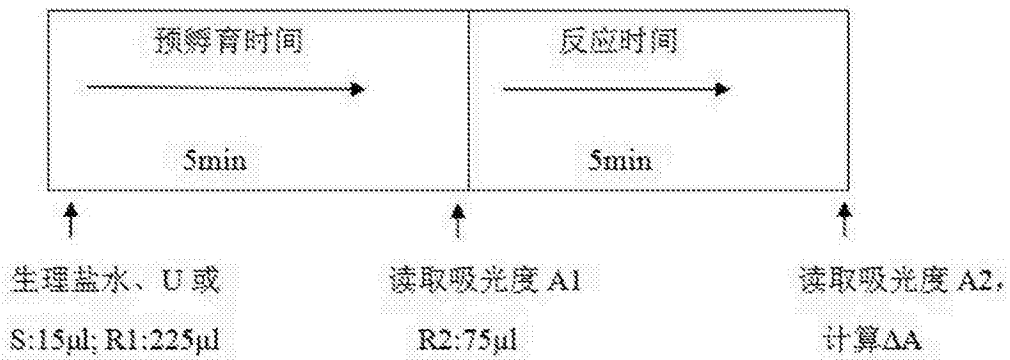


图3

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 一种甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒 | | |
| 公开(公告)号 | CN105510572A | 公开(公告)日 | 2016-04-20 |
| 申请号 | CN201510973109.8 | 申请日 | 2015-12-22 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 济南鑫贝西生物技术有限公司 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 山东博科生物产业有限公司 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 山东博科生物产业有限公司 | | |
| [标]发明人 | 李敏 甘宜梧 谭柏清 | | |
| 发明人 | 李敏 甘宜梧 谭柏清 | | |
| IPC分类号 | G01N33/53 G01N33/68 G01N21/31 | | |
| CPC分类号 | G01N33/53 G01N21/31 G01N33/68 | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明公开了一种甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶检测试剂盒，本试剂盒采用连续监测法检测血液中的甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶，属于临床体外检测试剂技术领域。本发明试剂盒包括试剂R1和试剂R2。通过将试剂R1中添加氯化钠，同时试剂R2中添加甘露醇，提高了试剂盒的稳定性，线性范围较好，试剂的准确度也较好，有利于在市场中进一步的推广使用。

