

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 33/53  
G01N 33/536

## [12] 实用新型专利说明书

[21] ZL 专利号 00253607.2

[45] 授权公告日 2001 年 8 月 29 日

[11] 授权公告号 CN 2445326Y

[22] 申请日 2000.10.9

[73] 专利权人 刘永详

地址 台湾省台北市南港路 3 段 130 巷 3 弄 11 号 3 楼

共同专利权人 陈咏仪

[72] 设计人 刘永详 陈咏仪

[21] 申请号 00253607.2

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司

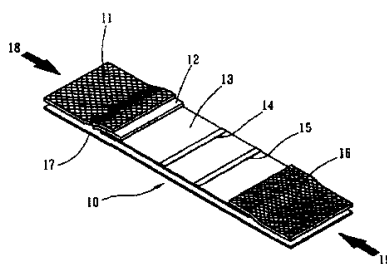
代理人 朱黎光 汤保平

权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图页数 2 页

[54] 实用新型名称 测定被糖化蛋白的免疫分析装置

[57] 摘要

测定被糖化蛋白的免疫分析装置,它是一试验条,其包括:一底板;及位于该底板之上的组成零件,组成零件为:a)样品吸水垫;位于试验条最前端,尾端并与一多孔性纤维膜的前端上下对应;b)多孔性纤维膜;位于底板上,多孔性纤维膜上设有判读区段,判读区段前方设有显示载体纤维块;c)显示载体纤维块,位于样品吸水垫尾端及多孔性纤维膜前端之间,与该两者相互重叠连接;d)至少一固定物质,位于多孔性纤维膜上的判读区内;可用来测定糖尿病的最终糖化蛋白是否存在。



ISSN 1008-4274

# 权 利 要 求 书

---

1. 一种测定被糖化蛋白的免疫分析装置，其特征是包括：  
一试验条，该试验条包括：  
5 一底板；及位于该底板之上的组成零件，该组成零件包括：
  - a) 样品吸水垫；位于试验条最前端，尾端并与一多孔性纤维膜的前端上下对应；
  - b) 多孔性纤维膜；其是位于该底板之上，该多孔性纤维膜上设有判读区段，且判读区段前方设有显示载体纤维块；
  - 10 c) 显示载体纤维块，其位于样品吸水垫尾端，及多孔性纤维膜前端之间，且与该两者相互重叠连接；其上载有显示载体，显示载体上固定有亲和物质；和
  - d) 至少一固定物质，其位于多孔性纤维膜上的判读段内。
2. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述具多孔性纤维膜  
15 其材质为尼龙纤维膜、硝酸纤维膜、聚脂纤维膜、纤维素质膜、化学聚合膜。
3. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述多孔性纤维膜的孔径大小是在 0.1 微米-60 微米之间。
4. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述显示载体为一种具有颜色的微粒、酵素或萤光物质。
- 20 5. 根据权利要求 4 所述的免疫分析装置，其特征是所述微粒为乳胶微粒、染料微粒、金溶胶微粒、碳黑微粒、金属微粒、脂微粒或聚合微粒。
6. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述显示载体的大小在 0.01 微米~20 微米之间。
7. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述亲和物质为一种  
25 构造式的被糖化蛋白抗原。
8. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述亲和物质为多种构造式的被糖化蛋白抗原。
9. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述亲和物质为一种抗被糖化蛋白抗体。

10. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述亲和物质为多种抗被糖化蛋白抗体。

11. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述固定物质为一种构造式的被糖化蛋白抗原。

5 12. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述固定物质为多种构造式的被糖化蛋白抗原。

13. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述固定物质为一种抗被糖化蛋白抗体。

10 14. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述固定物质为多种抗被糖化蛋白抗体。

15. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述显示载体为一种直接显示载体。

16. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是所述显示载体为一种间接显示载体。

15 17. 根据权利要求 1 所述的免疫分析装置，其特征是在多孔性纤维膜的判读区段后方适当距离设有一对照区段，该对照区段上固定有抗体或抗原。

# 说明书

---

## 测定被糖化蛋白的免疫分析装置

5 本实用新型是有关一种测定被糖化蛋白抗原或抗体的免疫分析装置。

10 尽管今日我们对于糖尿病的致病机制已能充分掌握，例如得知在高血糖的状况下，蛋白质（例如：白蛋白）将被糖化成被糖化蛋白（例如：最终糖化蛋白），此将引起不正常的细胞破坏，尤其是对糖尿病人而言。此外，目前虽也可利用药物有效地控制糖尿病人的血糖含量，但仍无法有效地经由早期预测来控制糖尿病并发症的发生。因此发展一种由特定的方式及试剂，来检验以得知糖尿病的最终糖化蛋白是否存在，而让医护人员能于最早的时期来防止糖尿病并发症的产生，或进而阻断并发症的继续进行。这些检验糖尿病的最终糖化蛋白所用的特定方式及试剂中，最具特异性且最灵敏者，为利用免疫分析技术来测定被糖化蛋白抗原或抗体，例如：最终糖化蛋白抗原或抗体。可惜的是至今  
15 尚无可测定被糖化蛋白的免疫分析技术供利用。

基于前述，本实用新型的目的是提供一种测定被糖化蛋白的免疫分析装置，使利用本实用新型可得知糖尿病的最终糖化蛋白是否存在而让医护人员能于最早的时期，防止糖尿病人并发症的发生，或进而阻断并发症的继续进行。

20 本实用新型是本创作人经过精深研究而开发出测定被糖化蛋白抗原或抗体的免疫分析装置，其基本上是由凝集现象或伴随的吸光度变化或颜色变化来测定被糖化蛋白抗原或抗被糖化蛋白抗体的免疫反应。

25 本实用新型提出一种使用抗被糖化蛋白抗体（被糖化蛋白抗原）来测定被糖化蛋白抗原（抗体）的免疫分析装置，它实质上是包括有一种免疫分板试验条，其是在一底板上经由，例如：抗被糖化蛋白抗体，与被糖化蛋白抗原（如最终糖化蛋白抗原）的免疫复合物形成，与相对于对照线所促成的颜色变化来判定被糖化蛋白抗原的存在与否。它的具体结构包括：一种测定被糖化蛋白的免疫分析装置，其特征是包括：一试验条，该试验条包括：一底板；及位于该底板之上的组成零件，该组成零件包括：a) 样品吸水垫；位于试验条最前端，尾端并与一多孔性纤维膜的前端上下对应；b) 多孔性纤维

膜；其是位于该底板之上，该多孔性纤维膜上设有判读区段，且判读区段前方设有显示载体纤维块；c) 显示载体纤维块，其位于样品吸水垫尾端，及多孔性纤维膜前端之间，且与该两者相互重叠连接；其上载有显示载体，显示载体上固定有亲和物质；和 d) 至少一固定物质，其位于多孔性纤维膜上的判读段内；  
5 于是，以上述所构成的试验条当待测样品加入于吸水垫一段反应时候，判读区段有无反应色出现来判断该待测样品中是否存在被糖化蛋白抗原或抗体。

本实用新型的特征还在于：所述具多孔性纤维膜其材质为尼龙纤维膜、硝酸纤维膜、聚脂纤维膜、纤维素质膜、化学聚合膜。

所述多孔性纤维膜的孔径大小是在 0.1 微米-60 微米之间。

10 所述显示载体为一种具有颜色的微粒、酵素或萤光物质。

所述微粒为乳胶微粒、染料微粒、金溶胶微粒、碳黑微粒、金属微粒、脂微粒或聚合微粒。

所述显示载体的大小在 0.01 微米~20 微米之间。

所述亲和物质为一种构造式的被糖化蛋白抗原。

15 所述亲和物质为多种构造式的被糖化蛋白抗原。

所述亲和物质为一种抗被糖化蛋白抗体。

所述亲和物质为多种抗被糖化蛋白抗体。

所述固定物质为一种构造式的被糖化蛋白抗原。

所述固定物质为多种构造式的被糖化蛋白抗原。

20 所述固定物质为一种抗被糖化蛋白抗体。

所述固定物质为多种抗被糖化蛋白抗体。

所述显示载体为一种直接显示载体。

所述显示载体为一种间接显示载体。

25 在多孔性纤维膜的判读区段后方适当距离设有一对照区段，该对照区段上固定有抗体或抗原。

该装置可被用来测定被糖化蛋白抗原或抗被糖化蛋白抗体。

综上所述，利用本实用新型测定被糖化蛋白的免疫分析装置配合特定的试剂及方法来检验，可得知糖尿病的最终糖化蛋白是否存在，因而可让医护人员于最早的时期，防止糖尿病人并发症的进行或阻断并发症的继续进行。

30 本实用新型的特性、目的与优点可从下面参照附图的说明部份获得了解。

图 1 为本实用新型免疫分析试验条的立体结构图；

图 2 为一防水装置盒的立体外形图；该防水装置盒是用以盛装图 1 所示的免疫色层试验条；

图 3 为图 2 所示防水装置盒内装有本实用新型试验条的整体剖面示意图。

5 本实用新型是利用数种免疫分析技术来测定待测样品中被糖化蛋白抗原，例如：最终糖化蛋白抗原的存在与否。其中所用的抗体，是可经由用已纯化的抗原（例如最终糖化蛋白抗原）直接经兔子或山羊免疫而获得之（例如：多株抗体），亦可经由小鼠免疫，制成融合瘤细胞而获得之（例如：单株抗体）。

10 传统所熟悉的免疫分析技术中，可参看，例如： Fujikawa H., Igarashi, H., 于 1988 年发表文献，其是利用高密度乳胶颗粒制成快速乳胶凝集试剂，用以侦测葡萄球菌的内毒素 (Enterotoxin) A~E ( Appl. Envir. Microbiol., 54 / 10, 2345-2348, 1988)。 Delanghe, JR., Chapele, JP., Vander schueren, SC., 于 1990 利用比浊法去测定 Myoglobin (Clin. Chem., 36/9, 1675-1678, 1990)。 W0 88 / 08534 (1988) 述及所谓的免疫分析装置，利用免疫色层膜  
15 当介质测定 HCG 及 LH。美国专利第 5,238,652 号 (1993) 揭示利用免疫色层技术以测定非蛋白质抗原。

然而上述先前技艺皆未提及本实用新型所述的用来测定被糖化蛋白抗原或抗体的免疫分析技术与装置。

20 本实用新型提出一种使用抗被糖化蛋白抗体（被糖化蛋白抗原）来测定被糖化蛋白抗原（抗被糖化蛋白抗体）的免疫分析试验条，其是利用免疫色层分析技术来测定被糖化蛋白抗原或抗体，例如：最终糖化蛋白抗原或抗体。图 1 所示的免疫色层试验条 10 之 13 为具多孔性的纤维膜，其下联结有一底板 17。11 为样品吸水垫，位于试验条 10 最前端，并与具多孔性的纤维膜 13 重叠。12 为显示载体纤维块，其上浸润有蓝色显示载体，且该载体上固定有抗体或抗原。  
25 显示载体纤维块 12 位于样品吸水垫 11 之下及多孔性纤维膜 13 之上，并与样品吸水垫 11 及多孔性纤维膜 13 相互重叠连接。14 为判读区段（可为线或点），其上固定有抗体或抗原，判读区段 14 位于多孔性纤维膜 13 表面上的一段内；判读区段 14 前端朝向显示载体纤维块 12，后面适当距离处设为对照区段 15（可为线或点），亦位于多孔性纤维膜 13 表面的一段内；对照区段 15 上固定  
30 有抗体或抗原，其后端朝向一吸收垫 16。上述的多孔性纤维膜 13 的材质为尼

龙纤维膜、硝酸纤维膜、聚脂纤维膜、纤维素质膜、或化学合成膜…等。

图 2 所示为内装免疫试验条 10 的一防水装置盒 20。其中，21 为样品孔。22 为反应区孔。

图 3 为一内装有一试验条 10 的防水装置盒 20 的立体图。其中，样品吸水垫 11 是位于样品孔 21 之下，并与之接触。样品孔 21 的面积应小于样品吸水垫 11。判读区段 14 及对照区段 15 位于反应区孔 22 内，但不与之接触，可肉眼直接观察。16 吸收垫位于装置盒 20 的最后端内。由于显示载体纤维块 12 上的蓝色显示载体上固定有抗体或抗原，所以当显示载体纤维块 12 上的蓝色显示载体遇到待测样品时，此蓝色显示载体将可在试验条 10 上自由的往多孔性纤维膜 13 及吸收垫 16 的方向流动；底板 17 与装置盒 20 内部的底面相连接，且底板 17 上方连接有多孔性纤维膜 13，该多孔性纤维膜 13 上设定有判读区段 14 及对照区段 15，并经阻断蛋白完全覆盖占满其余的空白处。

当样品孔 21 处加入含被测物的待测液体样品时，此待测样品除了马上可与显示载体纤维块 12 上的蓝色显示载体所固定的抗体或抗原反应之外，并将带动蓝色显示载体往吸收垫 16 移动。若待测样品含有被糖化蛋白抗原，例如：最终糖化蛋白抗原时，会马上与蓝色显示载体上固定的一种抗被糖化蛋白抗体或多种抗被糖化蛋白抗体反应，并占满抗被糖化蛋白抗体的抗原结合部位；由于蓝色显示载体上固定的一种抗被糖化蛋白抗体或多种抗被糖化蛋白抗体的结合部位，将完全与被糖化蛋白抗原（例如：最终糖化蛋白抗原）结合并占满，因此无法与判读区段 14 上所固定的一种被糖化蛋白抗原或多种被糖化蛋白抗原结合，蓝色显示载体即可完全地通过判读区段 14 该线上不形成可见的蓝色线条；蓝色显示载体继续移动，并将与对照区段 15 上固定的抗体或抗原（例如：抗老鼠免疫球蛋白 G 抗体）结合，而形成一条肉眼可见的蓝色线条；因此判读区段 14 无蓝色线条出现即为阳性反应，而对照区段 15 不管阳性反应或阴性反应都将出现蓝色线条，用来作为自我品质的测试；反之，若被测物不出现在待测样品内，则部份蓝色显示载体上固定的一种或多种抗被糖化蛋白抗体，将与判读区段 14 上所固定的被糖化蛋白抗原结合（例如：最终糖化蛋白抗原），形成一条肉眼可见的蓝色线条，其余的蓝色显示载体将结合于对照区段 15 上，是为竞争法反应。因此判读区段 14 出现蓝色线条是为阴性反应；吸收垫 16 则用来吸收所有流到末端的液体，使之持续形成毛细反应。

当然，以上述为例，只要将判读区段 14 所固定的被糖化蛋白抗原改成固定一种或多种抗被糖化蛋白抗体，即可执行三明治测定法。

本实用新型所用的多孔性纤维膜其孔径大小介于 0.1 微米 — 60 微米之间。本实用新型所用的显示载体，为一种具颜色的微细颗粒、荧光物质或酵素；具颜色的微细颗粒其大小在 0.01 微米 — 20 微米之间。本实用新型所称的微细颗粒可以是：乳胶微粒、染料微粒、脂微粒、金溶胶微粒，碳黑微粒、聚合微粒等。本实用新型所用的显示载体为一种具颜色的微细颗粒时，可直接判读结果，称为直接显示载体；本实用新型所用显示载体为一种酵素时，需经由呈色剂反应后，使能判读结果，称为间接显示载体。本实用新型所用的底板为一种具防水性的塑胶板或防水纸类。本实用新型所用的样品吸水垫及吸收垫其材质不限，但吸水性越高越好。本实用新型所用的显示载体纤维块为一种水不溶性的纤维。

下面具体举例说明本实用新型是如何制备成成品的。

取一片长 15 公分，宽 4.6 公分的硝酸纤维膜于第 1.8 公分处喷涂固定最终糖化蛋白抗体 (Anti-AGEs Ab) 溶液，此喷涂线又称判读区段。再将含抗-兔子 IgG (Anti-rabbit IgG) 喷涂固定于第 3.4 公分处。此喷涂线又称对照线。再将硝酸纤维膜数片浸润于含 5% 牛白蛋白的磷酸缓冲液溶液。浸润至少 2 小时。接著取出硝酸纤维膜于清水溶液清洗，并置入干燥箱内室温干燥，再贴粘于塑胶底板上，从底板的第 2 公分处粘起，让其完全对齐覆盖住底板。再置入冷冻干燥机，干燥 2 小时后，置于含干燥剂的密闭封袋中保存在 4℃ 下。

取一样品吸水垫长 15 公分，宽 2 公分。此样品吸水垫或吸水垫的材质不限，但吸收性越高越好，且样品吸水垫的大小是可变的。

将显示载体纤维块置于多孔性纤维膜的前端及底板之上，且显示载体纤维块与硝酸纤维膜相互重叠连接，再将样品吸收垫粘盖于显示载体纤维块及底板之上，并与显示载体纤维块相互重叠连接。最后再把吸收垫粘于多孔性纤维膜完成品的末端，底板末端之上。吸收垫至少一部份面积与纤维膜相互重叠连接。再裁成宽 0.5 公分的试验条完成品。

将试验条完成品置入一防水装置盒内，此装置盒的样品孔位置应于样品吸水垫之上，并相互接触。样品孔面积应小于样品吸水垫。而试验条的判读区段及对照线，应位于装置盒反应区孔之内，肉眼可见之处。

判读区段的前方为样品吸水垫。显示载体纤维块并与硝酸纤维膜、样品吸水垫相互重叠接触。判读区段之后为对照线。对照线之后为吸水垫。当加入待测样品后，约 5 分钟内可用肉眼于反应区孔内，直接判读结果。

5 于样品孔加入 150 微升阴性液体血清样品，蓝色的显示载体将因毛细原理而向反应线（判读区段与对照线）移动，并进入最后端的吸收垫。此阴性样品因不含最终糖化蛋白抗原，因此蓝色显示载体上固定的抗最终糖化蛋白抗体无法与判读区段所固定的抗最终糖化蛋白抗体结合，而不形成一条肉眼可见的蓝色线条。蓝色显示载体将与对照线上固定的抗-兔子 IgG 抗体结合形成一条肉眼可见的蓝色线条，是为阴性反应。吸收垫将吸收所有流来的液体，使之持续  
10 形成毛细反应。

于样品孔加入 150 微升的阳性血清样品，蓝色显示载体在未到达判读区段之前，其上固定的抗最终糖化蛋白抗体，将与血清样品中的最终糖化蛋白抗原结合。当蓝色显示载体移动到达判读区段，判读区段上固定的抗最终糖化蛋白抗体将再与最终糖化蛋白抗原结合，而形成一条肉眼可见的蓝色线条。剩余的  
15 蓝色显示载体将通过判读区段，并将结合于对照线上，是为三明治法阳性反应。

当然，直接取试验条完成品，将样品垫前段与待测样品接触，一段反应时间；亦可完成如上述的实验结果。

如之前所述，除了使用三明治法可完成以上的试验外，利用竞争法也是可行的。依照实施例四，只要更换判读区段上所喷涂的固定物质，例如，最终糖  
20 化蛋白抗原，即能执行竞争法的实验。

需要说明的是，利用本实用新型所提供的装置来测定被糖化蛋白时，除上述的用肉眼来判断外，也是可经由光学测定结果或定量。

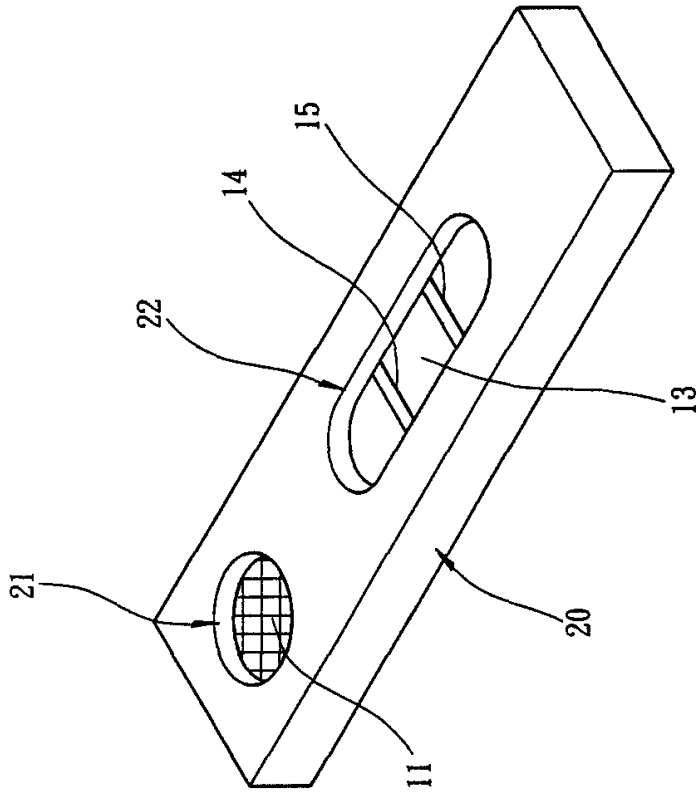


图2

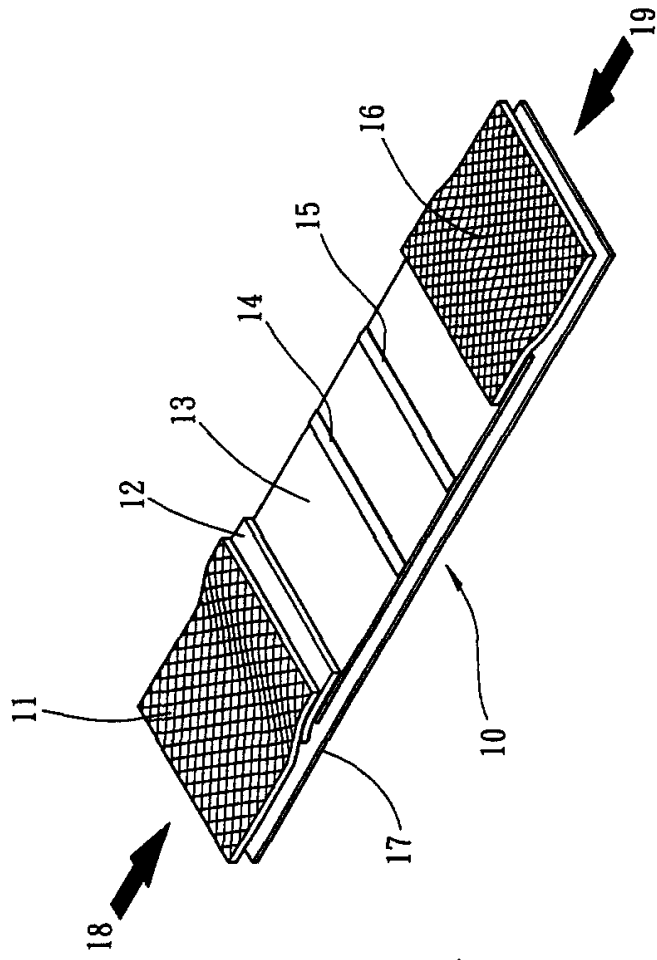


图1

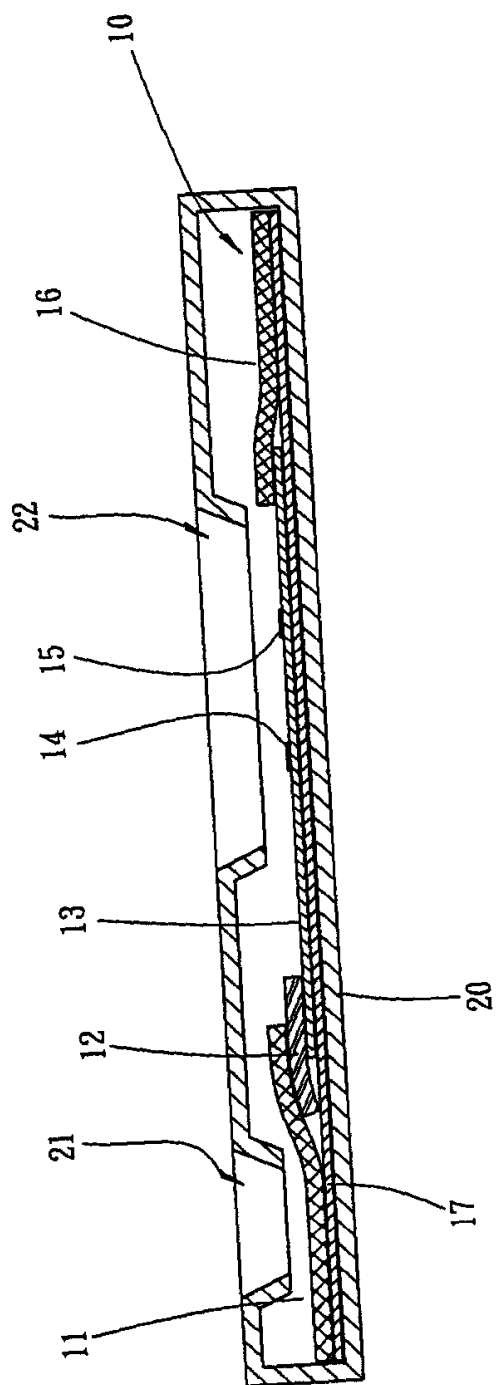


图 3

专利名称(译)	测定被糖化蛋白的免疫分析装置		
公开(公告)号	<a href="#">CN2445326Y</a>	公开(公告)日	2001-08-29
申请号	CN00253607.2	申请日	2000-10-09
[标]申请(专利权)人(译)	陈咏仪		
申请(专利权)人(译)	刘永详 陈咏仪		
当前申请(专利权)人(译)	刘永详 陈咏仪		
[标]发明人	刘永详 陈咏仪		
发明人	刘永详 陈咏仪		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/558 G01N33/68 G01N33/536		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/54386 G01N33/6842 G01N33/68		
代理人(译)	朱黎光		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

测定被糖化蛋白的免疫分析装置,它是一试验条,其包括:一底板;及位于该底板之上的组成零件,组成零件为:a)样品吸水垫;位于试验条最前端,尾端并与一多孔性纤维膜的前端上下对应;b)多孔性纤维膜;位于底板上,多孔性纤维膜上设有判读区段,判读区段前方设有显示载体纤维块;c)显示载体纤维块,位于样品吸水垫尾端及多孔性纤维膜前端之间,与该两者相互重叠连接;d)至少一固定物质,位于多孔性纤维膜上的判读段内;可用来测定糖尿病的最终糖化蛋白是否存在。

