



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106483301 A

(43)申请公布日 2017.03.08

(21)申请号 201610704258.9

(22)申请日 2016.08.22

(30)优先权数据

104128376 2015.08.28 TW

(71)申请人 亚诺法生技股份有限公司

地址 中国台湾台北市

(72)发明人 黄韦伯

(74)专利代理机构 深圳新创友知识产权代理有限公司 44223

代理人 江耀纯

(51)Int.Cl.

G01N 33/72(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

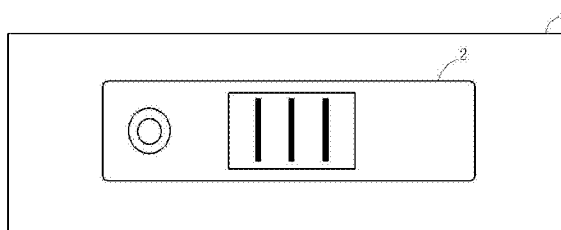
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

免疫层析分析套组与其使用方法

(57)摘要

本发明是提供了一种免疫层析分析套组,包含一试验纸以及一接触垫。试验纸包含一基质以及一膜层,其中膜层上设置有至少一种免疫分析侦测物质。接触垫包含有一外膜,外膜内部容纳有一醋酸钠溶液以及一核片。本发明还提供了一种免疫层析分析套组的使用方法。



1. 一种免疫层析分析套组,其特征在于,包含:
 - 一试验纸,包含:
 - 一基质;以及
 - 一膜层,所述膜层上设置有至少一种免疫分析侦测物质;以及
 - 一接触垫,包含有一外膜,所述外膜内容纳有一过饱和醋酸钠溶液以及一核片。
2. 根据权利要求1所述的免疫层析分析套组,其特征在于,所述过饱和醋酸钠溶液的浓度大于120g/ml。
3. 根据权利要求1所述的免疫层析分析套组,其特征在于,所述核片包含金属。
4. 根据权利要求1所述的免疫层析分析套组,其特征在于,所述接触垫还包含一底座,其贴附在所述外膜。
5. 根据权利要求4所述的免疫层析分析套组,其特征在于,所述底座包含热导性材料。
6. 根据权利要求5所述的免疫层析分析套组,其特征在于,所述底座包含一凹槽,以容纳所述试验纸。
7. 根据权利要求1所述的免疫层析分析套组,其特征在于,所述试验纸的所述基质中设置有一凹槽,以容纳所述接触垫。
8. 根据权利要求1所述的免疫层析分析套组,其特征在于,所述膜层包括:
 - 一第一区,设置有一抗免疫球蛋白抗体;
 - 一第二区,设置有一第一抗血红蛋白抗体;以及
 - 一第三区,设置有一第一抗糖基化血红蛋白抗体,且所述膜层上还设置有一带有金颗粒的第二抗血红蛋白抗体。
9. 一种免疫层析分析套组的使用方法,其特征在于,包含:
 - 提供权利要求1所述的免疫层析分析套组;
 - 将所述接触垫的所述核片凹折;
 - 将所述试验纸与所述接触垫接触;以及
 - 加入一待侧物。
10. 根据权利要求9所述的免疫层析分析套组的使用方法,其中先将所述核片凹折后,再将所述试验纸与所述接触垫接触,接着再加入所述待侧物。

免疫层析分析套组与其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及了一种免疫层析分析套组与其使用方法,特别是一种具有接触垫的免疫层析分析套组与其使用方法。

背景技术

[0002] 随着生物医学的发达,有越来越多的检测疾病方式,例如各种生物晶片、离子交换色层法或免疫法等。其中最为快速且广泛应用的是利用免疫层析分析(immunochromatographic analysis)方法。

[0003] 免疫层析法(Immunochromatography)是近几年来兴起的一种快速诊断技术,其原理是将抗体先固定在特殊的纤维或膜上,待一端浸入样品(尿液或血液)后,由于毛细管作用,样品将沿着该纤维或膜向前移动,当移动至固定有抗体的区域时,样品中相应的抗原即与该抗体发生特异性结合,只要在抗体上标记显色物质,便可在该结合区形成肉眼可见的检测带。

[0004] 然而,由于现有的免疫层析法乃是通过抗体与样品中的待测物化学结合,因此在此等产品有许多需要克服的技术,例如反应温度常是影响的关键。当免疫分析不是在适当的反应温度下进行,常会使反应结果无法呈现或辨识,这种状况特别在待测物的浓度过小或样品中不同待测物间浓度差异过小时容易发生。因此,还需要一种优化的免疫层析分析套组,以解决上述问题。

发明内容

[0005] 本发明提供了一种免疫层析分析套组,包含一试验纸以及一接触垫。试验纸包含一基材以及一膜层,其中膜层上设置有至少一种免疫分析侦测物质。接触垫包含有一外膜,外膜内部容纳有过饱和醋酸溶液以及一核片。

[0006] 根据本发明另一实施例,还提供了一种免疫层析分析套组的使用方法,首先提供前述的免疫层析分析套组,将该接触垫的核片凹折,再将该试验纸与接触垫接触,然后加入一待测物于试验纸中。

[0007] 本发明的免疫层析分析套组,由于具有特殊设计的接触垫,即便在较低的室温环境下也可操作,可以确保试验纸在所需温度下进行,而接触垫的成本低且能于试验时提供稳定且适合的温度,增加了产品的实用性与可靠度。

附图说明

[0008] 图1与图2为本发明试验纸的其中一个实施方式示意图。

[0009] 图3为本发明接触垫的一种实施例示意图。

[0010] 图4为本发明使用接触垫搭配试验纸的一种实施例示意图。

[0011] 图5为本发明接触垫的另一种实施例示意图。

[0012] 图6与图7为本发明接触垫搭配试验纸的另一种实施例示意图。

[0013] 其中,附图标记说明如下:

[0014]	2	试验纸	223	第三区
[0015]	11	基质	3	接触垫
[0016]	12	膜层	31	核片
[0017]	21	样品区	32	外膜
[0018]	211	样品孔	33	醋酸钠溶液
[0019]	22	判读区	34	基座
[0020]	221	第一区	4	凹槽
[0021]	222	第二区	6	凹槽

具体实施方式

[0022] 为使本技术领域的技术人员能更进一步了解本发明,下文特详细说明本发明的构成内容及希望实现的效果。下文已揭露足够的细节使该领域的技术人员能够具以实施。

[0023] 本发明主要提供了一种免疫层析分析套组,可以不受环境温度的限制而使用。本发明的套组主要包括一试验纸以及一接触垫,但视不同类型的待侧样品还可以进一步包含其他元件。试验纸包含一基质以及一膜层,膜层上设置有至少一种免疫分析侦测物质,例如是抗体或其他和抗体具有类似结构而具有专一性的化学物质。

[0024] 本发明的免疫层析分析套组可以是任何用于检验疾病或生理状态的免疫层析分析套组,优选是需要较高温度(例如摄氏30度以上)能有最佳检测品质的免疫层析分析套组,例如糖尿病免疫层析分析套组,癌症免疫层析分析套组、肝炎免疫层析分析套组等,上述个体并不限于人体,而也可以包括各种动物疾病的检验,例如检测猫狗心丝虫病的免疫层析分析套组等。下文实施例以检测糖尿病的免疫层析分析套组作为示例。

[0025] 本实施例的检测糖尿病的免疫层析分析套组包含试验纸、接触垫、裂解液、缓冲液、采检物与微量吸移管。本实施例的试验纸主要是通过侦测血液中糖基化血红蛋白的浓度以判断血糖浓度。请参考图1与图2,所示为本发明一试验纸的其中一个实施方式示意图。如图1与图2所示,试验纸2包括有:一基质11,以及设置在基质(substrate)11上的一膜层(layer)12。其中基质11可以为一硬质基质或是一易曲性的基质,其中硬质的基质例如是一玻璃基质(glass substrate)或一硅基质(silicon substrate),而易曲性的基质例如包括有聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane;PDMS)、聚苯乙烯(polystyrene)、聚丙烯(polypropylene)、聚甲基丙烯酸甲酯(polymethylmethacrylate)、聚碳酸酯(polycarbonate)、聚异丁烯(polyisobutylene)及任其组合,但并不以此为限。膜层12设置在基质11的一面上,膜层12具有一样品区21及一判读区22,样品区21及判读区22是分别设置在膜层12上。样品区21具有一样品孔211,可供样品以各种方式接触并进入样品区21内,如滴入或沾浸。判读区22具有一开口,抗体与待测物于此区结合,在本实施例中,判读区22具有一第一区221、一第二区222以及一第三区223,可以分别与相同或不相同的抗体结合。在本实施例中,第三区223结合一第一抗糖基化血红蛋白抗体(first anti-glycosylated hemoglobin antibody),其用以结合血液样品中的糖基化血红蛋白(HbA1c);第二区222结合一第一抗血红蛋白抗体(first anti-hemoglobin antibody),其用以结合血液样品中未被糖基化的血红蛋白(Hb);第一区221结合一抗免疫球蛋白抗体(anti-IgG antibody),其

用以结合一免疫球蛋白抗体(IgG antibody),以作为一对照物(control)。当糖基化血红蛋白或未被糖基化的血红蛋白通过样品区21进入试验纸后,即可分别与判读区22中的第一区221、第二区222或第三区223中的抗体结合,再通过带有金颗粒的第二抗血红蛋白抗体(能结合于糖基化血红蛋白也能结合于未被糖基化的血红蛋白)与糖基化血红蛋白或未被糖基化的血红蛋白结合,而产生深浅不同的图线。于本发明优选实施例中,金颗粒是纳米金颗粒。

[0026] 在本实施例中,可比较前述带有纳米金颗粒的第二抗血红蛋白抗体结合未被糖基化的血红蛋白(Hb)时所呈现的图线(后称为Hb图线),与前述带有纳米金颗粒的第二抗血红蛋白抗体结合糖基化血红蛋白(HbA1c)所呈现图线(后称为HbA1c图线)的颜色深浅,来达到判定血液样品中糖基化血红蛋白浓度的目的。通过调整第一抗糖基化血红蛋白抗体及第一抗血红蛋白抗体以及带有纳米金颗粒的第二抗血红蛋白抗体的数量,可使Hb图线与HbA1c图线所呈现颜色的深浅相同,而表示糖基化血红蛋白浓度值刚好位在一临界值。若待测样品的该HbA1c图线所呈现的颜色较Hb图线深,则表示糖基化血红蛋白浓度值高于临界值,而临界值则可以设定为任何对监控血糖浓度有意义的数值。

[0027] 本实施例的检测糖尿病的免疫层析分析套组的裂解液是用以溶裂红细胞,裂解液可以是任何用以溶裂红细胞的裂解液。例如,裂解液的一种配方可以包括有:1.55毫摩尔(mM)/升的氯化铵(NH_4Cl)、12毫摩尔(mM)/升的碳酸氢钠(NaHCO_3)以及0.1毫摩尔(mM)/升的乙二胺四乙酸(EDTA);于另一实施例中,裂解液包括有:8.26公克(g)的氯化铵(NH_4Cl)、1公克(g)碳酸氢钾(KHCO_3)以及0.037公克(g)的乙二胺四乙酸(EDTA)。于另一实施例中,裂解液可包括有:每升40毫摩尔(mmol/L)的磷酸盐、每升60毫摩尔(mmol/L)的氯化钠(NaCl)、每升5毫摩尔(mmol/L)的氰化钠(NaCN)以及每升0.5毫升(mL/L)的聚乙二醇辛基苯基醚(烷基芳基聚醚醇;alkylaryl polyether alcohol)。

[0028] 本实施例的检测糖尿病的免疫层析分析套组的缓冲液是用来处理样品,缓冲液包括有:用以使一样品液混合且均匀分布的缓冲液,缓冲液可以是各种用来维持蛋白质的稳定度以及促进样品液的混合与均匀分布的缓冲液,例如,该缓冲液可以包括有:0.66毫克/升的牛血清蛋白(BSA)及3%吐温20(Tween 20)的磷酸盐缓冲盐水(phosphate-buffered saline;PBS),但不以上述为限。

[0029] 本实施例的检测糖尿病的免疫层析分析套组的采检物是用来收集待测的血液样品,采检物可以由各种适合用来收集血液样品的材质所制成,采检物可包括有金属或塑料等材质,例如,采检物可以由金属或塑料制成的采血针,但不以上述为限。

[0030] 本实施例的检测糖尿病的免疫层析分析套组的吸移管是用来吸取样品液并注入该试验纸的样品孔211中,吸移管可以由各种适合吸取血液样品的材质所制成,吸移管可包括有玻璃或塑料等材质,例如,吸移管可以由玻璃或塑料等所制成的微量吸移管,但并不以上述为限。

[0031] 本发明的免疫层析分析套组的接触垫是用来承载或覆盖于试验纸上,提供试验纸2适当的反应温度,例如摄氏20度~60度之间,并可以持续一段时间稳定供应。请参考图3,所示为本发明接触垫的一种实施例示意图。如图3所示,本实施例的接触垫3包含有一核片31、一醋酸钠(sodium acetate)溶液33以及一外膜32。核片31与醋酸钠溶液33位在外膜32中。本发明的醋酸钠溶液33是一过饱和溶液,其浓度优选是大于120g/ml,更优选是大于

160g/ml。于一实施例中,醋酸钠溶液33是溶在水中,但也可以溶在其他溶液。外膜32较佳是由软性的材质做成,例如塑胶类聚合物,如聚丙烯(Polypropylene,PP)、聚苯乙烯(Polystyrene,PS)、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物树脂(Acrylonitrile butadiene styrene,ABS)、聚对苯二甲酸乙二酯(Polyethylene terephthalate,PET)、聚酯树脂(Polyester,PES)、聚酰胺(Polyamides,PA)、聚氯乙烯(Polyvinyl chloride,PVC)、聚氨酯(Polyurethanes,PU)、聚碳酸酯(Polycarbonate,PC)、聚二氯乙烯(Polyvinylidene chloride,PVDC)、聚乙烯(Polyethylene,PE)、聚碳酸酯/ABS树脂(Polycarbonate/Acrylonitrile Butadiene Styrene,PC/ABS)、聚甲基丙烯酸甲酯(Polymethyl methacrylate,PMMA)、聚四氟乙烯(Polytetrafluoroethylene,PTFE)、聚醚醚酮(Polyetheretherketone,PEEK),但并不以此为限。

[0032] 本发明的接触垫3的使用方法,是在扳折核片31后,使过饱和醋酸钠溶液33结晶释放热能,并使接触垫3达到一预定温度且外膜32温度均匀,随后,如图4所示,再将试验纸2设置在接触垫3上即可使反应顺利进行,等一预定时间(例如5~10分钟)确认反应完成后,将试验纸2移开接触垫3。于一实施例中,也可以使接触垫3覆盖在试验纸2上。

[0033] 请参考图5,其为本发明接触垫的另一实施例示意图。如图5所示,除了前述核片31、醋酸钠溶液33以及外膜32,本实施例还可以具有一底座34与外膜32贴合。于一实施例中,底座34可提供试验纸2支撑,优选是固体的材质。而于另一实施例中,基座34也可导热性材质,例如金属等,此时试验纸2作用时可设置或直接接触在金属基座34上,以增加受热的均匀性。

[0034] 请参考图6,其为本发明接触垫与试验纸的另一实施例示意图。如图6所示,基座34优选包含导热性材质,并具有一凹槽6,凹槽6中可容纳试验纸2。故当接触垫3放热时,位于凹槽6中的试验纸2可在温度更均匀的情况下反应。

[0035] 请参考图7,所示本发明接触垫与试验纸结合的一个实施例示意图。如图7所示,试验纸2的基质11具有一凹槽4可容纳接触垫3。凹槽4的位置与大小可视产品设计而调整,例如凹槽4可大致上和试验纸2同样长度,而另一实施例中,凹槽4的大小也可仅对应于待测区21以及判读区22。

[0036] 实验

[0037] 实施例一

[0038] 本实施例的免疫层析分析套组包含:

[0039] 试验纸,具有一基质,该基质包括有聚二甲基硅氧烷(PDMS),试纸条更具有膜层,膜层包括有一第一抗血红蛋白抗体、一第一抗糖基化血红蛋白抗体以及一抗免疫球蛋白抗体,前述抗体是固定设置在前述试验纸的基质上的不同区域。第一抗血红蛋白抗体可结合血液样品中未被糖基化的血红蛋白(Hb),而第一抗糖基化血红蛋白抗体则可结合糖基化血红蛋白(HbA1c)。至于抗免疫球蛋白抗体则可结合免疫球蛋白抗体以作为一对照物(control)。本实施例更提供一种带有纳米金颗粒的第二抗血红蛋白抗体,前述带有纳米金颗粒的第二抗血红蛋白抗体是同样设置在膜层,即第一抗血红蛋白抗体及第一抗糖基化血红蛋白抗体设置的膜层,然而前述带有纳米金颗粒的第二抗血红蛋白抗体仅设置而未固定在膜层上。前述带有纳米金颗粒的第二抗血红蛋白抗体可同时结合于未被糖基化的血红蛋白(Hb)及糖基化血红蛋白(HbA1c)并呈现出颜色。本实施例将试验纸颜色呈现的临界值调

整为HbA1c为6.0%时的浓度。亦即当样品的HbA1c浓度高于6.0%时,将在该抗体结合的区带呈现颜色,且HbA1c浓度越高于6.0%,则颜色越深。

[0040] 裂解液:1.55毫摩尔(mM)/升的氯化铵(NH₄Cl)、12毫摩尔(mM)/升的碳酸氢钠(NaHCO₃)以及0.1毫摩尔(mM)/升的乙二胺四乙酸(EDTA)。

[0041] 缓冲液:0.66毫克/升的牛血清蛋白(BSA)及3%吐温20(Tween 20)的磷酸盐缓冲盐水(phosphate-buffered saline;PBS)。

[0042] 接触垫:长10公分,宽7公分,外膜为聚丙烯,内部具有130g/ml浓度的过饱和醋酸钠溶液,以及一薄金属片。醋酸钠结晶放热时,其能在摄氏15度的室温下,提供表面温度为摄氏25度且持续20分钟以上。

[0043] 本实施例的一种用以检视糖基化血红蛋白的方法包括有以下步骤:

[0044] (a)采集血液样本,加入裂解液并量测其中HbA1c的浓度,挑选出浓度5.5%与6.5%HbA1c的样本。

[0045] (b)将接触垫的薄金属片扳折,并可按压接触垫使内部醋酸钠结晶均匀散布在接触垫中,然后将试验纸放置在接触垫上。

[0046] (c)利用微量吸移管吸取样品液,且将10微升的该样品液注入前述的试验纸的样品区中;

[0047] (d)将100微升至150微升的缓冲液加入前述的该试验纸的样品区中以进行反应。

[0048] (e)在放置接触垫后并进行反应约5~10分钟,会出现红色图线,并比较其Hb图线与HbA1c图线的深浅是否能真正反应样本浓度。

[0049] 比较例

[0050] 比较例一的步骤和实施例一大致相同,除了比较例一没有接触垫设置。实施例一或比较例一的实验,皆分别在室温摄氏15度及摄氏25度下进行。

[0051] 实验结果如下表一所示,其中+表示图线约略可见;++表示图线明显;+++表示图线非常明显。

[0052] 表一

室温(摄氏)	图线	实施例一		比较例一	
		HbA1c浓度		HbA1c浓度	
		5.5%	6.5%	5.5%	6.5%
15°C	Hb	+	+	+	+
	HbA1c	+	+++	+	+
25°C	Hb	+	+	+	+
	HbA1c	+	+++	+	+++

[0054] 从上述表一可知,实施例一中,无论是在低温摄氏15度的环境下还是摄氏25度的

环境下,都可以正确通过明显的图线来反应样品中较高的HbA1c浓度。然而在比较例一中,在较低室温摄氏15度下则没有办法正确通过图线来反应样品中较高的HbA1c浓度。这显示本发明的接触垫的确能够提供稳定并且适合反应的温度,以确保反应的正确性。

[0055] 综上所述,本发明提供了一种免疫层析分析套组,特别是针对容易被温度影响的免疫层析分析套组。由于具有特殊设计的接触垫,即便在较低的室温环境下也可操作,可以确保试验纸在所需温度下进行,增加了产品的实用性与可靠度。

[0056] 以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

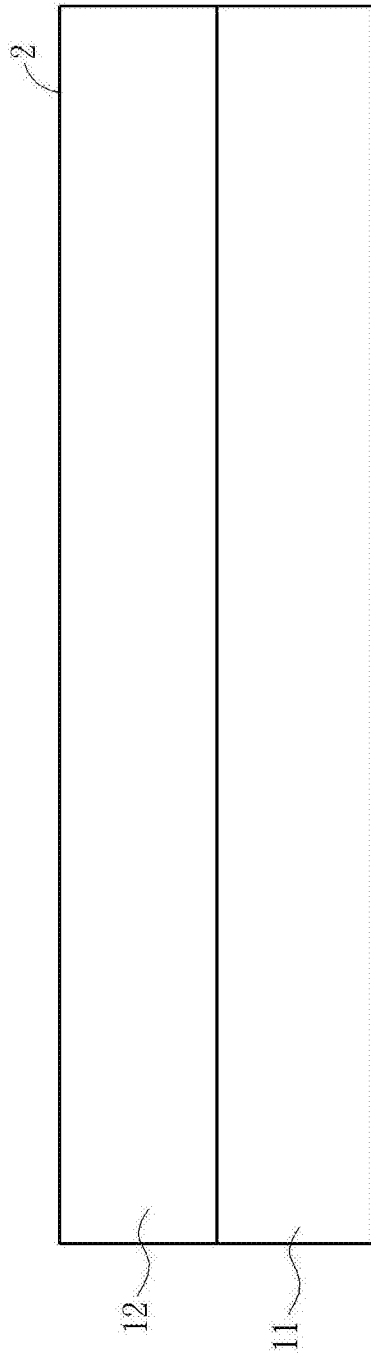


图1

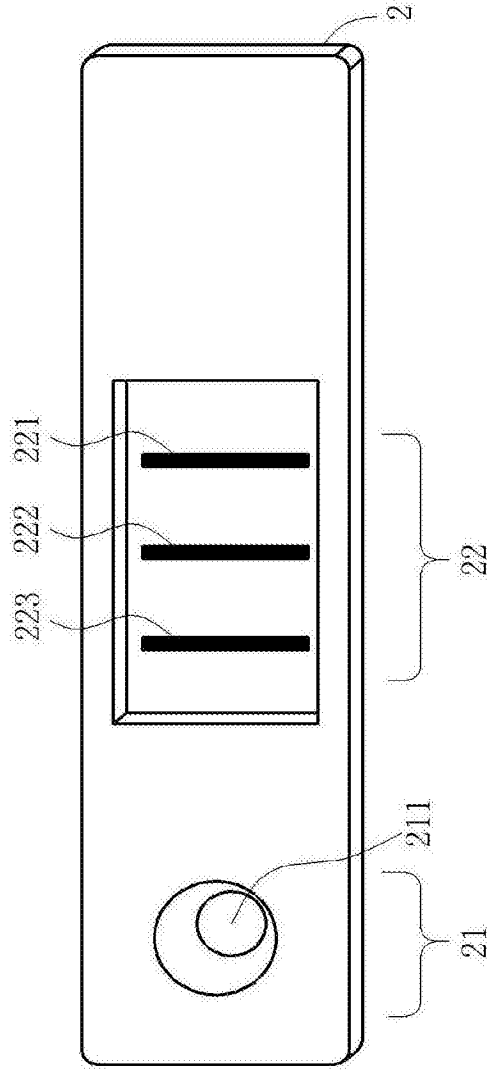


图2

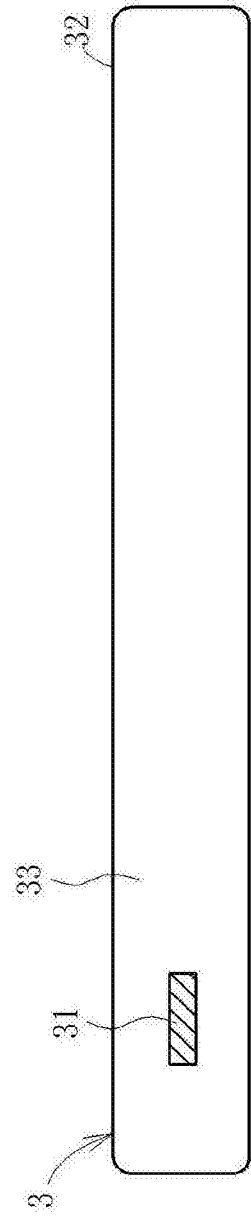


图3

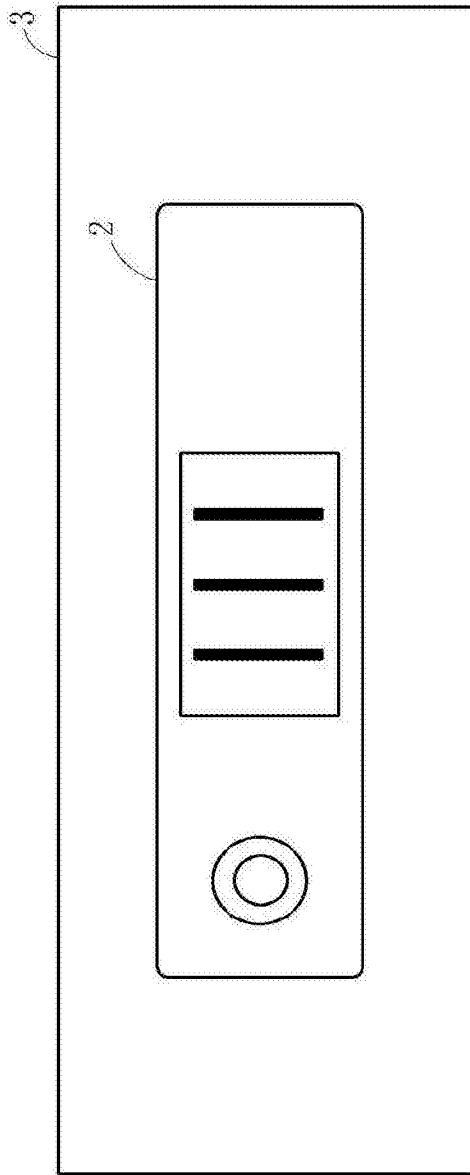


图4

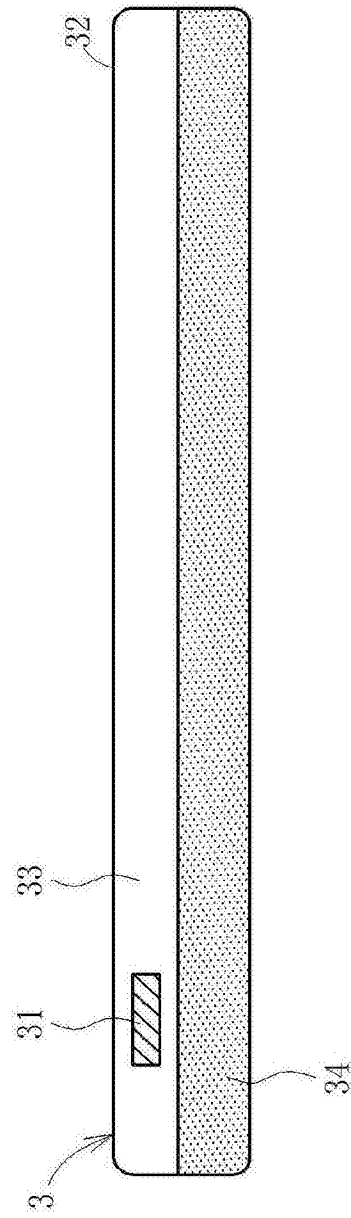


图5

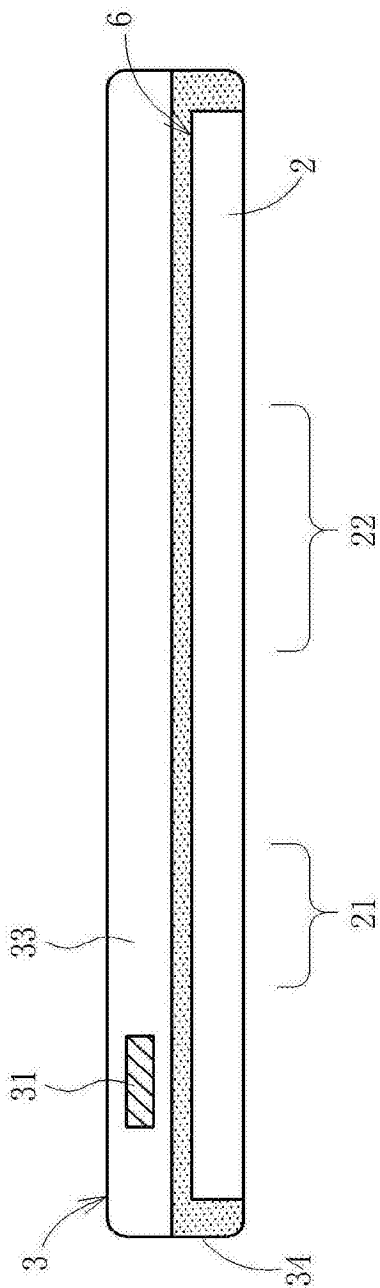


图6

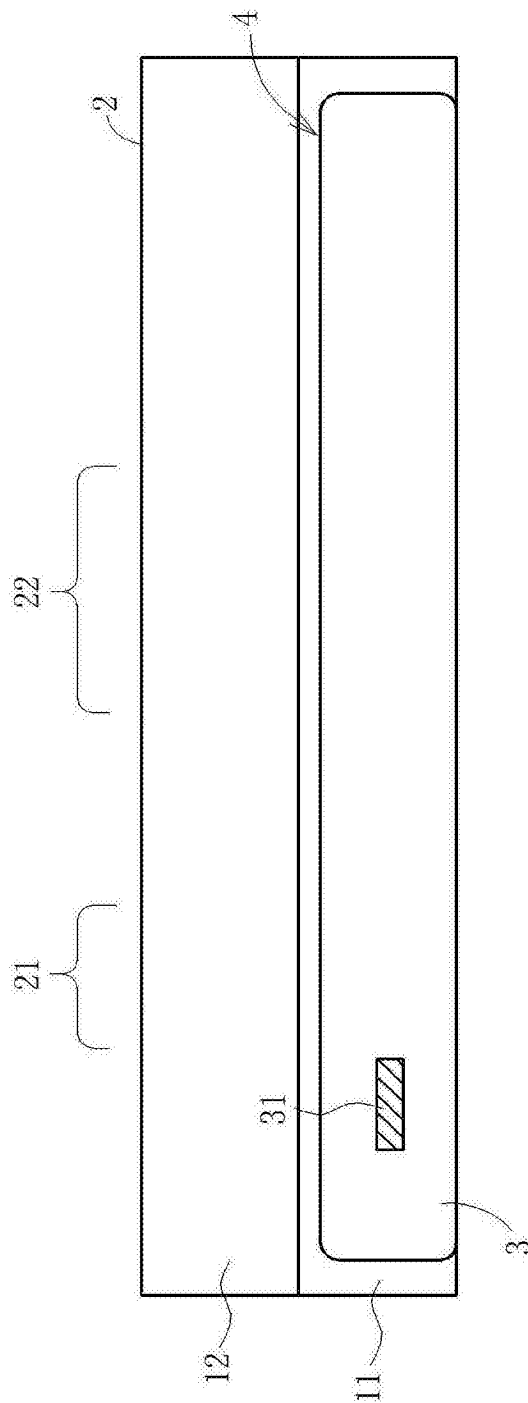


图7

专利名称(译)	免疫层析分析套组与其使用方法		
公开(公告)号	CN106483301A	公开(公告)日	2017-03-08
申请号	CN201610704258.9	申请日	2016-08-22
申请(专利权)人(译)	亚诺法生技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	亚诺法生技股份有限公司		
[标]发明人	黄韦伯		
发明人	黄韦伯		
IPC分类号	G01N33/72 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/723 G01N2800/042		
优先权	104128376 2015-08-28 TW		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明是提供了一种免疫层析分析套组，包含一试验纸以及一接触垫。试验纸包含一基质以及一膜层，其中膜层上设置有至少一种免疫分析侦测物质。接触垫包含有一外膜，外膜内部容纳有一醋酸钠溶液以及一核片。本发明还提供了一种免疫层析分析套组的使用方法。

