申請日期	88.4.13
案號	88105845
類別	G01N 33/543

A4
C4

（以上各欄由本局填註）

發明 專利說明書

一、發明名稱	中文	用於抗體分析之方法以及抗體分析裝置
	英文	METHOD FOR ASSAY OF ANTIBODIES AND ANTIBODY ASSAY DEVICE
二、發明人	姓名	(1)立川哲也 (5)赤松優 (2)織田哲彌 (6)葛城肅典 (3)高橋重雄 (7)町川房市 (4)野田溫也
	國籍	日本
	住、居所	(1)日本國德島縣板野郡北島町高房字東野神本13-6 (2)日本國德島縣鳴門市大麻町檜字西山田1-91 (3)日本國德島縣德島市川內町平石夷野47-1-502 (4)日本國德島縣板野郡板野町吹田字奧宮1-1 (5)日本國德島縣板野郡松茂町中喜來字群惠252-8 (6)日本國德島縣板野郡土成町吉田字遊塚24-6 (7)日本國德島縣板野郡藍住町住吉字乾19-18
三、申請人	姓名（名稱）	日商・大塚製藥股份有限公司
	國籍	日本
	住、居所（事務所）	日本國東京都千代田區神田司町二之九
	代表人姓名	大塚芳滿

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

（由本局填寫）

承辦人代碼：	
大　　類：	
ＩＰＣ分類：	

A6
B6

本案已向：

日本　國（地區）　申請專利，申請日期：　　案號：　　，☑有　□無主張優先權

1998,4,14　特願平10-103095
1998,4,28　特願平10-118524
1998,8,3　特願平10-218843

有關微生物已寄存於：　　，寄存日期：　　，寄存號碼：

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄）

裝　訂　線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 1）

技術領域

本發明是一種有關於檢測或定量樣品中抗體的方法，更特別的是一種高正確性，方便性，和良好的特定性的檢測或分析方法，用以檢測或分析對抗臨床體液樣品，特別是尿液樣品中感染源，如細菌和病毒，的抗體。

本發明另一方面是一種有關於檢測或定量樣品中抗體的裝置，更特別的是針對臨床體液樣品，特別是尿液樣品，中感染源的抗體，有高正確性，方便性，和良好的特定性的檢測或分析裝置。

本發明更是一種有關於抗體的分析試劑套組，可用於上述的抗體分析方法，和使用該抗體分析裝置的分析方法。

背景文獻

檢測體液內不同的感染源(病原體)，如細菌和病毒，的特定抗體，是一種有用的間接診斷感染的方法。因此，以應用病原體或病原體一部份作為分析抗原，檢測抗體為目的設計的免疫學的分析技術和裝置被廣泛的應用於診斷領域。

這種使用病原體或其部份組成作為分析抗原的免疫分析方法的優點是，可以容易地建立需要的分析系統，但敏感性和特定性並不是完全令人滿意的，因此仍然有改良的空間。

用於這種免疫分析的免疫分析裝置，可以是孔狀材料的測試條，在該處進行結合分析(抗原-抗體反應)。這種

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 2）

形態分析裝置的優點是，它的孔狀基質具有毛細管性質，也就是說，應用到多孔測試條的體液由一端移向另一端。因此，當一個含有欲分析物質的測試樣品(液體)應用到在安置於設計位置，含有不同試劑條的一端，樣品以毛細作用沿測試條移動，遇到在該位置的試劑依次地進行反應。可確定欲分析物質的存在，而其含量可由從包含於配位子-受器耦合系統中可檢測標誌訊號的檢測而測定。

應用上述原理的免疫分析技術通常稱為免疫毛細管分析法或免疫層析分析法，說明於WO NO.87/02774，EP NO.0306772和其他文獻。至於技術的修改方面，如說明於日本未審查的專利文獻NO.63865/1989，日本未審查的專利文獻NO.299464/1989和日本未審查的專利文獻NO.167497/1994的發明。

上面提到的裝置的優點是，不需要用特別的儀器來測定，可以容易地，且在短時間內完成分析，但敏感性和特定性方面仍然還有改良的空間。

另外，因為這種裝置只是進行一個測試，無法同時測定陰性反應或陽性反應的對照樣品，因此它的缺點是，無法評斷是否該結果為以適當的測定方法產生的可靠數據。

一般而言，體液之中，尿液和唾液是較佳的臨床測試樣品，因為，與血液相比較，它的採集不需要侵入性的步驟，而且是容易和安全的。

然而，通常在這些樣品中抗體的濃度是極低的，例如是血液中濃度的千分之一到萬分之一。另外，從吸取大量

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 3）

水份的受體採集到的尿液樣品是極稀的，其結果是樣品之中的抗體滴定濃度有大差異而不可信任。

在這種情況下，以上面說明的一般分析裝置測試，當樣品太稀而不能檢測抗體，結果會是陰性反應，以至於發生的一個問題是，不能區分“真陰性反應”與低樣品濃度造成的“陰性反應(偽陰性反應)”。

另外，要測試抗體稀少的樣品，需要有高敏感性的分析系統，但是問題是，樣品中的污染物非特定反應形成的副產物很可能同時被檢測到，而得到偽陽性反應的結果。

因此，我們需要一種抗體分析系統，就算在以尿液和唾液等體液作為樣品，也要確定有足夠高的檢測敏感性，也就是說，應用可靠的分析系統，減少由於高特定性產生偽陰性反應和偽陽性反應測試的機會。

本發明的第一目標是提供一種抗體分析技術(抗體分析方法和抗體分析裝置)，該技術可檢測對抗測試樣品的感染源，如體液，的抗體，並具有高敏感性和高特定性。

本發明第二目標是提供一種抗體分析方法，甚至在樣品為標的抗體濃度稀的尿液或其他體液，也可以抑制樣品中污染物引起的“偽陽性反應”反應，而有高正確性的測定結果。

本發明第三目標是提供一種抗體分析方法，作為改良的免疫毛細管分析法或免疫層析分析法，可正確地測定樣品中作為檢測目標的標的抗體的存在和含量，並在樣品本質引起的“偽陰性反應”和“真陰性”反應之間有明顯的區

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 4）

分。

圖示簡要說明

圖1顯示一個本發明抗體分析裝置的組成元件的條狀固態擔體。在圖1中，編碼1代表第一區，2為追蹤區，3為第二區，4為第三區，5為測試區段及6為對照區段。

圖2說明以本發明抗體分析裝置，分析樣品中標的抗體的原理。其中相對的編碼與圖1的意義相同。

圖3設計圖，顯示本發明抗體分析裝置內固態擔體測試條(A)和適用該固態擔體的罩框(B)。在圖3中，編碼1-6與圖1相同，編碼7代表罩框上部，編碼8為罩框下部，編碼9為樣品進入口，編碼10為檢測視窗。

圖4為實施例1(5)(i)尿液中抗幽門螺旋桿菌抗體測定結果之圖表式代表。在圖4中，白圈代表感染幽門螺旋桿菌，以^{13}C-UBT測試陽性反應結果的實驗對象之尿液樣品分析的數據，黑圈代表^{13}C-UBT測試陰性反應實驗對象尿液樣品分析的數據。

圖5為圖表式代表，以實施例1(5)(ii)方法測定尿液中抗幽門螺旋桿菌抗體之數據。在圖5中，縱軸代表吸收度(O.D. 450 nm)，橫軸代表依照^{13}C-UBT測試建立的幽門螺旋桿菌-陽性反應和幽門螺旋桿菌-陰性反應的族群。

圖6為圖表式代表，以實施例1(6)方法測定之尿液中抗幽門螺旋桿菌抗體的數據。在圖6中，白圈代表^{13}C-UBT測試陽性反應實驗對象尿液樣品的數據，黑圈代表^{13}C-UBT測試陰性反應實驗對象尿液樣品的數據。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 5）

圖7為圖表式代表，以實施例2(2)得到之尿液抗HBc抗體數據。在圖7中，黑圈代表血液抗HBc抗體陽性反應測試實驗對象尿液樣品的數據，白圈代表血液抗HBc抗體陰性反應測試實驗對象尿液樣品的數據。

圖8為圖表，顯示尿液抗HIV抗體測定偽陽性反應尿液樣品之膠滲透層析圖譜，和各沖提部份(實施例3(1))抗體的反應性。在圖8中，縱軸代表吸收度(O.D.)，橫軸代表膠滲透層析法沖提部份(部份號碼)。實線代表蛋白質在280nm之吸收度，黑虛線代表抗人類(IgG+IgM)抗體得到之數據，白三角線代表抗人類IgG(Fc-特定的)抗體得到之數據；黑三角線代表抗人類IgG (Fab-特定的)抗體得到之數據。

圖9為圖表式代表，以實施例5方法測定之尿液抗幽門螺旋桿菌抗體的數據。在圖9中，縱軸代表吸收度(O.D. 450-650 nm)，橫軸代表以^{13}C-UBT測試分類的幽門螺旋桿菌-陽性反應族群(+：n=56)和幽門螺旋桿菌-陰性反應族群(-：n=44)。

圖10為圖表式代表，以實施例6方法得到之尿液中抗風疹抗體的數據。在圖10中，縱軸代表吸收度(O.D.450-650 nm)，橫軸代表如市售測定血清含量套組分類之抗風疹抗體-陽性反應族群(+：n=76)和抗風疹抗體-陰性反應族群(-：n=23)。

圖11為圖表，顯示本發明抗體分析裝置第二區[實施例7(3)]之測試位址和對照組位址。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 6）

圖12為長條統計圖，顯示以本發明抗體分析裝置，分析得到的尿液，全血液和血漿中抗幽門螺旋桿菌抗體的數據，與對照裝置(A-E)得到之相關數據的比較。在圖12中，“特定性”代表以^{13}C-UBT測試證實為陰性反應實驗對象的樣品，以各分析裝置各測試項目測定者，陰性反應測試結果相對於測試總數的百分率(陰性反應比例)，“敏感性”代表以^{13}C-UBT測試證實為陽性反應的實驗對象樣品，以各分析裝置測定各測試項目者陽性反應測試相對於測試總數之百分率(陽性反應比例)，。對照裝置A-H是下面的裝置。

A：Helitest (Cortecs Diagnostics製造)

B：*H. pylori*-Check-l (Bio-Medical Products製造)

C：First Check *H. pylori* (Worldwide Medical Corp製造)

D：Biocard *Helicobacter pylori* IgG (Anti Biotech Oy製造)

E：Insta Test *H. pylori* (Cortez Diagnostics Inc.製造)

F：One Step *H. pylori* Test (Teco Diagnostics製造)

G：*H. pylori* SPOT (International Immuno-Diagnostics製造)

H：Quick Stripe *H. pylori* (Diatech Diagnostics Inc.製造)

發明揭示說明

本發明發明者進行許多研究工作，建立可以高精準度地測定標的抗體的分析系統，甚至當樣品中抗體含量稀少，例如尿液樣品，並發現在分析系統中，抗原-抗體反應有非特定結合抗原(此後稱之為非特定結合抗體部份)的

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 7）

抗體部份存在，產生非特定的反應，因此產生偽陽性反應的結果，而降低檢測的正確性。

基於上面的發現，本發明者作更進一步的研究工作，發現要分析的標的抗體和特定於特別抗體的抗原在大腸桿菌(大腸桿菌)部份組成存在下進行抗原-抗體反應，可抑制該非特定反應，因此減少偽陽性反應的比例，得到有意義的改良檢測正確性。

本發明者更發現，該非特定結合的抗體部份包含IgG片段及/或其保留IgG之輕(L)鏈或F(ab)部份抗原性的變性產物，此抗體部份與用於血清抗體分析系統的一般抗體分析試劑(如第二抗體)交互反應，因此造成偽陽性反應的測試結果。

基於上面的發現，本發明發明者更確定，抗體分析系統的非特定反應，可用具有分析標的抗體IgG的Fc區域專一親和性的試劑作為抗體分析試劑來抑制，減少偽陽性反應的比例，改善檢測正確性達到有意義的程度。

同時，本發明者努力改善抗體分析的硬體(免疫毛細管分析裝置和免疫層析法分析裝置)，發現在測試條的反應區段(評估區段)之外，建立樣品中任意抗體檢測的“對照組位址”，作為分析裝置部份內標的抗體檢測的位置(測試位址)的一部份，可正確地檢測“真陰性反應”的反應，而排除“偽陰性反應”的反應。因此，在這種分析系統中，當樣品為不適當的樣品，如抗體濃度太低(也就是說抗體的總量太少)的理由而不能被分析時，“對照組位址”得到

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 8）

陰性反應的訊號，顯示樣品無法分析。另一方面，當樣品含有適當的抗體濃度，“對照組位址”得到陽性反應訊號，顯示樣品適於進行標的抗體分析。然後，依照“測試位址”的結果，可以確實知道樣品中標的抗體的是否存在，也就是說，樣品為“陽性反應”或“真陰性反應”。

和這個有關的，日本未審查的專利文獻No. 299464/1989和日本未審查的專利文獻No.167497/1994，都揭示改良的抗體分析硬體(免疫毛細管分析法裝置和免疫層析分析法裝置)，說明這些測試位址之外，還有對照組位址的裝置。然而，這些裝置裡的對照組位址是設計來確定安置於測試條上游區的標誌是否以毛細作用橫過測試位址，因此，與如本發明之對照組位址是非常不一樣的。

本發明者更確定，當標的抗體和相關的抗原以上面方法改良的抗體分析裝置，在大腸桿菌成份存在下進行耦合反應，在這抗原-抗體反應系統內的非特定反應會被抑制，同時當使用有IgG的Fc區域專一親和性的試劑作為抗體分析試劑時，與抗原-抗體複合物的非特定反應會被抑制，因此得到有意義的減少偽陽性反應測試的意外發生的機會。

本發明是根據上面幾種發現而發展的。

第一方面，本發明提供一種高精準度分析抗體的方法，減少偽陽性反應意外發生的機會。

(1-1) 其中的一個模式是，使用上面的抗原-抗體反應，檢測樣品中標的抗體的抗體分析方法，其特徵是該反

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 9）

應在該抗體和分析抗原在大腸桿菌成份存在下進行。

這個分析抗體的方法包括下面的特定方法。

(a) 一種抗體分析方法，其中該大腸桿菌成份中至少一個成分係擇自由大腸桿菌的可溶分離部份和脂聚醣類分離部份組成之族者。

(b) 一種抗體分析方法，其中該大腸桿菌成份使用的比例約為每微克分析抗原0.1-100μg，較佳的約為0.5-50μg。

(1-2) 另外的一個模式是，本抗體分析方法包含以三明治技術檢測樣品中的標的抗體，其特徵是，使用具有標的抗體IgG的Fc區域專一親和性的第二抗體的試劑作為抗體分析試劑。

這一個分析抗體的方法包括下面的特定方法。

(a) 一種抗體分析方法，其中第二抗體為Fc-特定的抗IgG抗體。

(b) 一種抗體分析方法，其中包含樣品中標的抗體耦合於固定的該抗體特定的抗原的抗原-抗體反應步驟，固定於擔體，和以該固定抗原捕獲的標的抗體與具有抗體IgG的Fc區域有專一親和性的第二抗體反應的反應步驟。

(c) 上述的抗體分析方法，其中該抗原-抗體反應在大腸桿菌成份存在下進行。

第二方面，本發明是一種有關於抗體分析的裝置。此裝置包含有下面的實例。

(2-1)一種抗體分析裝置，其中包含一個固態擔體，該擔體至少有(a)一個第一區，樣品應用於該處，和(b)一個

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 10）

第二區，測試樣品中抗體於該處反應，安排的序列是使樣品以毛細作用由第一區轉移到第二區，在第二區有一個檢測反應結果的標誌裝置，該(b)第二區有(i)測試位址，捕獲檢測標的抗體的配位子被固定於該處，及(ii)對照組位址，捕獲樣品任意抗體的配位子被固定於該處。

(2-2)一種抗體分析裝置，其中固定於測試位址的配位子是樣品中標的抗體的抗原。

(2-3)一種抗體分析裝置，其中固定於對照組位址的配位子是樣品中任意抗體的抗人類免疫球蛋白抗體。

(2-4)一種抗體分析裝置，其中包含一種要與標的抗體和任意抗體二者結合的標誌配位子，作為該標誌裝置。

(2-5)一種抗體分析裝置，其中該標誌裝置是要與標的抗體和任意抗體二者結合的標誌配位子，可移除地支撐於固態擔體第二區上游，其方式是，與樣品接觸後，與標的抗體和任意抗體反應，分別形成標的抗體/標誌配位子複合物和一個任意抗體/標誌配位子複合物，然後以毛細作用運送到第二區，在那裡，它們分別地固定在測試位址和對照組位址。

(2-6)一種抗體分析裝置，其中標誌配位子支撐於固態擔體第一區和第二區中間的區域(追蹤區)。

(2-7)一種抗體分析裝置，其中與標的抗體和任意抗體二者結合的標誌配位子是標誌的抗人類免疫球蛋白抗體。

(2-8)一種抗體分析裝置，其中抗人類免疫球蛋白抗體是一種具有免疫球蛋白G的Fc區域專一親和性的抗IgG抗

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 11）

體。

(2-9)一種抗體分析裝置，其中該固態擔體更裝置一個在第一區和第二區下游的吸收區，使得從第一區運送到第二區的樣品，再以毛細作用運送到該吸收區。

(2-10)一種抗體分析裝置，其中標的抗體在第二區的測試位址，在大腸桿菌成份存在下進行耦合反應。

第三方面，本發明是一種有關於固相分析樣品中標的抗體的方法。這個方法包括下面的實例。

(3-1)一種標的抗體固相分析的方法，其中包含樣品應用到抗體分析裝置的第一區，在第二區對照組位址顯現顏色的條件下，檢測第二區測試位址的顏色顯現。

(3-3)一種固相分析標的抗體的方法，其中標的抗體在抗體分析裝置第二區的測試位址，在大腸桿菌成份存在下進行耦合反應。

第四方面，本發明是一種有關於與該抗體分析裝置一起使用的抗體分析試劑套組。該抗體分析試劑套組可包括下面的實例。

(4-1)一種抗體分析試劑套組，其特徵是其中包含大腸桿菌成份。

(4-2)一種抗體分析試劑套組，其更包含任擇地被固定的抗原或抗體分析試劑。

(4-3)一種抗體分析試劑套組，其特徵是包含有一個Fc-特定的抗IgG抗體，作為抗體分析試劑。

(4-4)一種包含如本發明之抗體分析裝置的抗體分析試

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 12）

劑套組。

(1) 抗體分析方法

現在詳細說明如本發明第一方面的抗體分析方法。

本發明抗體分析方法代表一種改良的抗體免疫分析方法，其特徵是可以經由抑制非特定反應，減少偽陽性反應發生的可能性。

(1-1)作為上述抗體分析方法的實例，它是一種分析方法，其中樣品中標的抗體和該抗體特定的抗原，在大腸桿菌成份存在下進行抗原-抗體反應。依照這個方法，抗原-抗體反應中的非特定反應被有意義地抑制，結果是減少偽陽性反應測試的意外發生。

大腸桿菌成份沒有特別受限制，只要它是大腸桿菌的成份，因此包括，但不限於其蛋白質成份，碳水化合物成份或脂質成份或此等成份之混合物。較佳的實施例如，大腸桿菌可溶性分離部份或脂聚醣(LPS)分離部份。

這種大腸桿菌成份的製備方法沒有特別的限制，可選擇使用各種方法。通常的步驟可以包含任意的大腸桿菌菌株於適於它增生的培養基生長，收集生長的細胞，以超音波震盪器或溶解於界面活性劑等方法，物理地消毒細胞，得到可溶性分離部份(萃取物)。上面提到的LPS可用有機溶劑，如酚，氯仿或乙醚，或二種或三種不同的有機溶劑的混合物萃取方法製備。也可以使用人工遺傳工程技術製備。而且，也可以方便地利用商業產物(如脂聚醣類大腸桿菌。由Difco或Sigma所供應)。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 13）

本發明可用的較佳樣品是體液樣品。該體液沒有受限制，只要它是取自假設包含有標的抗原的人類或其他動物體液。因此，“體液”一詞包含多種作為一般實驗室測試樣品的生物液體。更特別的，這些體液包含血液，包括血清和血漿，尿液，腦幹液體，羊水，唾液，汗液，等等。特別地，本發明解決了伴隨適用於抗體檢測的非侵入性樣品不良檢測正確性的問題，這些非侵入性樣品，如尿液，唾液和汗液，特別地是尿液，，因此，這些生物材料可被認為是體液的較佳實施例。

“標的抗體”，就是測定的目標，沒有特別受限制，只要它是一個需要檢測的抗體，因此包括對抗各種感染源的抗體，這些感染源對宿主是外來物。

感染源沒有特別受限制，但包括許多感染人類和其他動物在宿主產生抗體的不同病原體。更特別的，該病原體包括多種病毒，如HIV(人類免疫缺陷病毒)，A型，B型，C型和其他型的肝炎病毒，風疹病毒，感冒病毒，痲疹病毒，細胞巨大性病毒，單純疱疹病毒，水痘帶狀疱疹病毒，腺病毒，腸道病毒，等等；細菌，如*Helicobacter pylori*(此後簡稱之為幽門螺旋桿菌)，*Clamydia spp.*，*Mycobacterium tuberculosis*，螺旋原蟲類，淋球菌類，*Treponema pallidum*，*Mycoplasma spp.*，等等。(大腸桿菌除外)；及原生動物，如*Toxoplasma gondii*，*Entamoeba histolytica*，*Rickettsia tsutsugamushi*，等等。較佳的病毒是，如HIV，肝炎病毒，風疹病毒，感冒病毒，痲疹病毒，疱疹病毒，等等，和幽

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 14）

門螺旋桿菌等等代表的細菌，而如幽門螺旋桿菌的細菌是特別佳的。

用於本發明抗體分析方法的抗原沒有特別限制，只要它是可以與檢測的標的抗體進行抗原-抗體反應的抗原本身。因此，例如，任何用於一般血清抗體分析系統的抗原都可以使用。那些抗原可能不只就是如該病毒和細菌的病原體，也可以是相關的病原體內在的抗原性測定類族群的抗原。因此，例如，病原體以熱處理或照射，界面活性劑等萃取病原體製備的抗原，和以化學的合成或重組型DNA技術人工製備的抗原得到失活化的病原體。

另外，是否抗原可被成功地使用於本發明分析方法，通常可以用一般方式，容易地以測試它與標的抗體的反應性來確定。

本發明分析方法中，該抗原可任擇地固定於事先準備好的任意的固相上。上面剛剛提到的固相可以是任何文獻中例行使用於此方面的各種固相，因此包括，但不限於，各種材料，例如玻璃，纖維素粉末，葡聚糖凝膠，瓊脂糖，聚苯乙烯，濾紙，羧甲基纖維素，離子交換樹脂，葡聚醣，塑膠薄膜，塑膠管，尼龍，玻璃珠，絲，聚胺-甲基乙烯醚-順-丁烯二酸共聚物，胺基酸共聚物，乙烯-順-丁烯二酸共聚物等的測試棒，測試珠，測試版(包括微滴定平版)和試管。

固定化的方法也沒有特別限制，但可以是物理的結合和化學的結合的任何一種。例如，化學的結合方法，如共

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 15）

價結合法，如重氮法，菧腈方法(酸胺醯衍生物法，羧基氯樹脂法，碳化二亞胺樹脂法，順-二丁烯酐衍生物法，異氰酸酯衍生物法，溴氰活化多醣法，纖維素碳酸酯衍生物法，縮合試劑法，等等)，烴基化方法，交聯劑耦合法(使用戊二醛，六亞甲基異氰酸酯等等作為交聯劑耦合於擔體的方法)，Ugi反應耦合方法等等；使用離子交換樹脂等擔體離子結合的方法；及使用玻璃珠或其他孔狀玻璃擔體的物理吸附法。

用於分析系統的抗原量沒有特別限制，但可以依照例行使用於特定分析系統的抗原量隨意地選擇。例如，當使用三明治方法，通常抗原的用量要超過標的抗體的量。在如一個實施例在100μl反應系統進行反應的情形時，通常抗原使用的比例為，約0.1-100μg/ml，較佳的約1-10μg/ml。

抗原和標的抗體之間抗原-抗體反應的條件沒有特別限制，但可以是與例行使用於免疫分析法的相同，但反應必須在大腸桿菌成份存在下進行。通常的步驟可以包含將抗原，抗體和大腸桿菌成份一起培養，或在通常不高於45°C，較佳的約4-40°C，更佳的約25-40°C的溫度靜置約0.5-40小時，較佳的約1-20小時。用於反應的溶劑和其pH也沒有特別限制，只要它不干擾反應。因此，在pH約5-9範圍顯示有緩衝液作用的一般緩衝液，如檸檬酸鹽緩衝液，磷酸鹽緩衝液，tris緩衝液，乙酸鹽緩衝液等通常都可以依照例行的方式使用。

大腸桿菌成份在此反應系統中的比例沒有特別限制，

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 16）

但通常可以是，在反應系統中每微克抗原，約0.1-100μg，較佳的約0.5-50μg。

本發明抗體分析方法實際的操作方法沒有特別限制，但基本的要求是，包含一個標的抗體與相關抗原，在該大腸桿菌成份存在下反應的抗原-抗體反應步驟，該抗原可以是固定的抗原。然而，較佳的，該方法更包含一個檢測該抗原捕獲標的抗體(抗原-抗體複合物)的步驟，也就是說，抗原-抗體複合物與抗體分析試劑反應的步驟。

檢測和定量該抗原-抗體反應得到的抗原-抗體複合物的方法和其條件沒有特別限制，但可以是例行使用於免疫分析的條件。

本發明較佳的可以三明治方法實際應用。例如在固相三明治方法，樣品中的標的抗體通常可以用下面的步驟分析。

首先，一個大腸桿菌成份和假設含有目的抗原的樣品(體液，如尿液)加到一個可與標的抗體進行特定抗原-抗體反應的固定抗原，而在該處進行抗原-抗體反應。在沒有耦合於固相抗原的未結合物質洗脫移除之後，加入抗體分析試劑，與耦合於固相抗原(抗原-抗體複合物)的標的抗體反應，以相關的特定分析試劑的檢測工具檢測或定量此抗原-抗體複合物。

選擇和修飾各種工具作為分析方法，是熟悉文獻者熟知的，任何這些技術都可被使用於本發明的實際應用[如“Rinsho Kensa-hou Teiyo (Outline of Clinical Test)”，Kanehara

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 17）

Publishing Co.，1995]。

這裡使用的抗體分析試劑沒有特別限制，但包括各種文獻中例行使用的試劑。例如，可以結合標的抗體(免疫球蛋白)的抗人類免疫球蛋白抗體的第二抗體。上面提到的抗人類免疫球蛋白抗體包括抗血清，其純化產物(多株抗體)和單株抗體，該單株抗體是以相對於目標免疫球蛋白的免疫球蛋白作為免疫原，將任意動物免疫化得到的。

另外，可以使用具有標的抗體(IgG)的Fc區域專一親和性的抗IgG抗體之抗體分析試劑。作為這種抗IgG抗體，對不與IgG的輕鏈或IgG的F(ab)區或Fc-特定的抗IgG抗體等特定反應的蛋白質A，蛋白質G等的反應之Fc區域之IgG抗體也可以使用。當標的抗體為IgG時，使用這些是特別優良的。

抗體分析試劑可用一般方式製備或從市面購買得到者。

用於檢測方面，抗體分析試劑可以一般標誌試劑直接修改，或間接的以另一個檢測工具修改。

標誌試劑沒有特別限制，但任何已知的或預期在將來可用的試劑都可以使用。特定的實施例如，可以使用放射性同位素，如^{125}I，^{3}H，^{14}C，等；酵素，如鹼磷酸酯肼(ALP)，過氧化肼(如HRP)，等；螢光性受質，如螢光素異硫氰酸酯(FITC)，四甲基若丹明異硫氰酸酯(RITC)，等；1-N-(2,2,6,6-四甲基-1-氧-4-踪啶基-5-N-(天冬胺酯)-2,4-二硝基苯(TOPA)等。使用上述標誌試劑的免疫分析方法分別稱

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 18）

為放射免疫分析法，酵素免疫分析法，螢光免疫分析，和旋轉免疫分析。也可以使用以標誌膠體塗金乳膠顆粒的免疫層析分析方法製備的抗體分析試劑。

以這些標誌試劑標誌，間接修飾標誌，及其檢測方法可用下面已知的方法進行[Tatsuo Iwasaki *et al.*：Monoclonal Antibody, Kodansha Scientific, 1984；及 Eiji Ishikawa *et al.*：*Enzyme Immunoassay*, 2nd Edition，Igaku Shoin，1982，及其他]。

本發明分析方法，在包含有要分析的標的抗體和相關抗原的反應系統中包含有大腸桿菌成份是必須的，只要符合這個要求，其他的基本步驟沒有特別限制，可與一般免疫分析或文獻中例行的方法相同。因此，該抗原-抗體複合物和該抗體分析試劑之間的反應條件也沒有特別限制，可與一般用於免疫分析法的相同。最普通的步驟包含在上面說明抗原-抗體反應相同條件的分析系統下，也就是通常溫度不超過45°C，較佳的約4-40°C，更佳的約25-40°C，pH約5-9，培養或靜置約0.5-40小時，較佳的約1-20小時。

樣品中標的抗體是否存在或其含量，以測定標誌活性來評估，該標誌活性決定於所使用於抗體分析試劑(或間接的標誌)中標誌的標誌試劑的種類，以例行的方式或以測定值計算的抗體滴定濃度的方式來評估。

(1-2)本發明抗體分析方法一種改變的模式，是一種分析樣品中標的抗體的免疫學方法，其中包含使用含有標的抗體IgG的Fc區域專一親和性的試劑作為抗體分析試劑。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 19）

依照這個方法，非特定結合抗體組成份和抗體分析試劑間的反應可被有意義的抑制，因此可以減少偽陽性反應測試發生的頻率。因此，這個抗體分析方法可被認為是一種用於抗體免疫分析，改良的三明治方法。

本發明抗體分析試劑對標的抗體(IgG)是活性的，因此，可用於抗體之檢測，其特徵是它對標的抗體IgG的輕鏈或目標IgG的F(ab)部位是沒有活性的，也就是說，它具有對目標IgG的Fc區域的專一親和性。

更特別的，該抗體分析試劑可以是，例如，一個Fc-特定的抗IgG抗體，它可用標的抗體IgG的Fc區域作為免疫原製備，包括抗血清，其純化產物(多株抗體)和可以從任意的動物以該免疫原免疫化得到的單株抗體。這試劑不限於這些抗體製品，但可以是蛋白質A，蛋白質G或對抗體IgG的Fc區域呈現特定活性者。

抗體分析試劑可以用例行的方法製備，或從市面上購買得到（如 Sigma，Cappel 或 Jackson Immune Research Laboratories, Inc.）。

用於檢測時，抗體分析試劑可直接地以一般標誌試劑修改，或間接的以另一個檢測工具修改。

標誌試劑的種類，標誌的方法，和標誌的檢測方法可與(1-1)說明者相同。

本發明抗體分析方法包含以上述的抗體分析試劑，作為檢測標的抗體，也就是抗原-抗體複合物的基本形態，只要達到這個要求，其他的基本步驟可以與一般用於免疫

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 20）

分析的三明治技術者相同。

基本上，本發明抗體分析方法實際應用的方法是，可與樣品中標的抗體反應之抗原進行反應，然後檢測以該抗體分析試劑結合於抗原(抗原-抗體複合物)之標的抗體。

分析樣品和抗原可分別地如(1-1)之說明，至於標的抗體，也可以使用與(1-1)說明相同者，只要該抗體是抗感染源之抗體IgG。本發明方法中，感染源可包括大腸桿菌。

需要時，本發明抗原或抗體分析試劑可於固定於任意的固相使用。使用的固相和固定化的方法可，例如，與(1-1)說明者相同。

抗原和標的抗體間的抗原-抗體反應沒有特別限制，只要是可以在例行使用於一般免疫分析條件下進行者。一般的步驟包含，抗原和標的抗體在通常溫度不超過45°C，較佳的約4-40°C，更佳的約25-40°C，的反應系統培養或靜置約0.5-40小時，較佳的約1-20小時。

雖然不是強制的，大腸桿菌成份必須存在於如(1-1)所提到的抗原-抗體反應。

然後將得到的抗原-抗體複合物洗脫，進行與該特定抗體分析試劑反應的步驟。這個反應在如一般使用，或實質相同的方式，如一般免疫分析(三明治分析)相同條件下進行。例如，溶劑沒有特別限制，只要它不干擾反應即可，因此包括但不限制於，pH約5-9的緩衝液，如少數提到的實施例中的檸檬酸鹽緩衝液，磷酸鹽緩衝液，tris緩衝液和乙酸鹽緩衝液。反應時間和反應溫度也沒有特別限制，

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 21）

但例如可以與該抗原-抗體反應提到的相同。

樣品中標的抗體的是否存在，或其含量由測定標誌活性來評估，決定於用於抗體分析試劑標誌的標誌試劑(或間接的標誌)的種類，以例行的方式或以測定值計算得到的抗體滴定濃度，如(1-1)之說明。

(2) 抗體分析裝置

現在詳細說明如本發明第二方面的抗體分析裝置。

本發明抗體分析裝置為一種改良的方法，其中樣品中檢測標的抗體的存在及/或含量可用固相分析步驟良好的正確性測定。

更特別的，本發明抗體分析裝置為一種分析裝置，其中包含一個固態擔體，含有至少(a)一個與樣品接觸的第一區，及(b)一個與樣品抗體反應的第二區，其排列方式為，樣品由該第一區，以毛細作用運送到該第二區，及一個檢測該第二區反應結果的標誌裝置，其特徵是，該(b)第二區有(i)一個測試位址，要分析的標的抗體的配位子被固定於該處，和(ii)一個對照組位址，捕獲樣品中任意抗體的配位子固定於該處。

本發明抗體分析裝置重要的特色是，在第二區有一個獨立於測試位址的對照組位址，該對照組位址是，當應用一個適當的樣品，以適當的方式測試，在一個標誌存在下，不論樣品中是否存在有標的抗體，它得到代表陽性反應測試，而當應用一個不適當的樣品，或樣品以不適當的方式測試的顯示，在標誌存在下，不論樣品中是否存在標的抗

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 22）

體，它得到代表陰性反應測試的顯示。

因此，此裝置第二區的對照組位址是一個顯示測試位址結果是否為有效的分析結果(特別是陰性反應結果)，不論樣品中是否有標的抗體的位置。以本發明抗體分析裝置，感謝上述的架構，它可以定性的和定量的測定樣品中的抗體，得到高正確性(高可信度)，而在偽陰性反應和真陰性反應之間有明顯區分的結果。

另外，本發明抗體分析裝置可以設計為，測試位址標的抗體的反應在大腸桿菌成份存在下進行，或設計為，以對標的抗體IgG的Fc區域有專一親和性的試劑，作為抗體分析試劑，然後檢測測試位址反應的結果。以本發明抗體分析裝置，感謝上面說明的架構，非特定的反應會被抑制，而使偽陽性反應測試發生的機率有意義的減少，因此使它可能定性和定量地測定樣品中的標的抗體，得到良好的正確性和高敏感性。

至於本發明抗體分析裝置的分析樣品和標的抗體，可以使用例如(1)說明者。

本發明最先提供一個固態擔體，其中包含至少一個第一區和一個第二區。

第一區是樣品應用進入接觸裝置的區段，第二區是樣品中抗體(可能包含有標的抗體的總抗體)進行反應，及以配位子-受器模式或以抗原-抗體模式耦合，和在標誌存在下顯示反應結果的區段(反應區段和評估區段)。這些區在固態擔體上安排的方式為，應用進入第一區的樣品，從第

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 23）

一區以毛細作用運送到第二區。較佳的，這些區要安排為，所有或至少一部份進入第一區的樣品係藉由毛細作用而經過一個固態擔體的實質平面層進入第二區。

任擇地，固態擔體在第二區下游可以有一個第三區，作為吸附區，以毛細作用，從第一區移動到第二區及更下游樣品(液體)的區域。

較佳的固態擔體是為條狀的，該第一區和第二區安排於一個和相同平面的測試條，其方式是應用的樣品，以毛細作用，從第一區段(第一區)運送到第二區段(第二區)，及任擇地更到第三區段(第三區)。較佳的，該固態擔體為上述的測試條，任何其他形狀或幾何形狀的都可使用，只要可以達到本發明固態擔體預期的功能。

固態擔體可吸附樣品(液體)，當以樣品潤濕，至少可以使樣品中的抗體，以毛細作用，從固態擔體第一區運送到第二區，更任擇地到第三區。而且，本固態擔體較佳的是一個可以支撐並固定，與樣品中含有的抗體(包含標的抗體)反應的配位子，以捕獲該抗體。

適當的固態擔體包括各種孔狀材料，如聚乙烯，玻璃纖維，纖維素，縲縈，尼龍，交聯葡聚醣，各種形態的層析紙，硝化纖維素，和濾紙。

固態擔體的第一區，第二區和第三區，例如，可分別地以相同的或不同的擇自上述材料者組成，材料的選擇決定於各區的角色和功能。

固態擔體第一區較佳的是由適於吸附應用於上面的樣

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 24）

品，並由毛細作用，運送至第二區之孔狀材料組成。適用於第一區的孔狀材料沒有特別限制，通常是聚乙烯(例如POREX：由Porer Technologies，Fairburn，Georgia供應)，玻璃纖維，縲縈，尼龍，和包括紙等纖維性材料都可使用。較佳的材料是孔狀聚乙烯或纖維性材料，如濾紙。

固態擔體的第二區較佳的是由孔狀材料組成，該孔狀材料可以使樣品(液體)以毛細作用，從第一區虹吸到第二區，並支撐樣品中抗體(包括標的抗體)的配位子，其條件是不被毛細作用移去。此孔狀材料有包括濾紙，層析紙，玻璃纖維，交聯葡聚醣，尼龍，硝基纖維素等的性質。較佳的材料是硝化纖維素，因為配位子可以容易地固定於其上。

第二區有一個測試位址，可特定認知並捕獲樣品中標的抗體的配位子固定於該處，和一個對照組位址，一個可認知並捕獲樣品中任意抗體的配位子固定於該處。對照組位址 安置於遠離測試位址之處，有一定的距離，較佳的在毛細管流向的下游，而較佳的要安排使二位置以相同的條件接觸樣品液體面。

測試位址的配位子沒有特別限制，只要它可特定地耦合於欲分析之標的抗體，但較佳為一可特定地認識標的抗體並與之結合的(抗原-抗體反應)抗原。至於剛剛提到的抗原，例行使用於一般血清抗體分析系統的抗原都可自由地使用。這些抗原可以就是病原體本身，如病毒和細菌，但也可能是包含有相關病原體內在抗原決定基的受質。因

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 25）

此，例如，以加熱或照射來失活化的病原體，以界面活性劑等萃取病原體得到的抗原，和以化學合成或重組型DNA技術人工製備的抗原。

對照組位址的配位子沒有特別限制，只要它會耦合樣品中的任意抗體，但較佳的是一個尿液中任意抗體特定認知並結合的抗體(抗免疫球蛋白抗體)。

這些配位子分別被固定於測試位址和對照組位址的孔狀材料，使它們不會被液體樣品的毛細管流動從相對的位置移去。因此，各配位子結合於孔狀擔體相關的位置，使其在第二區以含有標的抗體的樣品潤濕時，不會發生擴散，而保留靜止於該位置，不被運送到固態擔體的第三區。

配位子固定化於該孔狀擔體的方法，可用文獻中熟悉的技術做到，例如，物理結合或化學結合的方法。

化學的結合方法，例如，共價結合法，如重氮法，菧腈法(酸胺醯衍生物法，羧基氯化物樹脂法，碳化二亞胺樹脂法，順-二丁烯酐衍生物法，異氰酸酯衍生物法，溴氰活化多醣法，纖維素碳酸酯衍生物法，縮合試劑法，等等)，烴基化方法，交聯劑耦合方法(使用戊二醛，六亞甲基異氰酸酯等作為交聯劑耦合於擔體的方法)，Ugi反應耦合方法，等等；離子結合方法；和物理吸附方法。在使用硝化纖維素作為第二區的孔狀擔體時，該配位子通常可用非共價結合固定。

用於第二區測試位址的配位子(抗原)量較佳的要過量，使得基本上假設存在於樣品中的所有標的抗體都被結

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 26）

合於該測試位址。

用於第二區對照組位址的配位子(抗免疫球蛋白抗體)量較佳的也要過量，使得基本上所有樣品中的任意抗體(可能包含有標的抗體)都被結合於該對照組位址。

在測試位址的標的抗體和配位子(特別是抗原)耦合反應，較佳的是在大腸桿菌成份存在下進行。大腸桿菌成份供應到反應系統的方法是，加到稀釋的分析樣品中，將混合物應用到第一區或可移除地固定於固態擔體測試位址上游的測試位址(如該第一區或此後說明的追蹤區)。大腸桿菌成份沒有特別限制，只要它是衍生自上述的大腸桿菌。因此，它可以是細胞的蛋白質成份，碳水化合物成份或脂質成份，或此等成份之混合物。以細胞萃取的可溶性分離部份或脂聚醣類(LPS)分離部份被認為是較佳的實施例。

當樣品應用到第一區，樣品以毛細作用移動到第二區，在該處，樣品中的標的抗體結合並固定於第二區的測試位址，然後，剩下的任意抗體(包括未結合於測試位址的標的抗體殘餘物)結合並固定於測試位址下游的對照組位址。

本發明的標誌裝置是用來檢測樣品中標的抗體和任意抗體是否已經分別被耦合，並固定於該測試位址和對照組位址。

標誌裝置由抗體配位子和耦合於該配位子的可檢測的標誌組成。

抗體的配位子沒有特別限制，只要它是一個可認知並

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 27）

結合樣品中抗體的分子，但在本發明，較佳的是，不只是會結合要分析的標的抗體，同時也會結合樣品中的任意抗體。作為這種配位子的實施例，它可以是與對照組位址相同的配位子，特別是用於對照組位址配位子相同的抗免疫球蛋白抗體。

上面提到的抗免疫球蛋白抗體包括以有關的免疫球蛋白，如人類免疫球蛋白，免疫化的任意動物抗血清，其純化產物(多株抗體)和單株抗體，作為免疫原。

作為對照組位址配位子的抗免疫球蛋白抗體，可以是任擇地可捕獲並檢測樣品中總抗體的所有種類的抗體，或是一個所要類別的抗體，如免疫球蛋白G(IgG)抗體。較佳的，該配位子是一個標的抗體所屬同類的抗體的抗免疫球蛋白抗體，此種安排是較佳的，因為在對照組位址會檢測到與標的抗體同類的抗體，得到最佳顯示，而用來判斷是否為適當的分析，這種情形不只是以尿液為樣品時，同時也可以是其他體液，如血清作為樣品。

當標的抗體為IgG，作為該標誌裝置的配位子更佳的是一個配位子，其特徵是對抗體IgG的Fc區域有專一親和性者，這些配位子較佳的實施例是，對抗體IgG的輕鏈Fc-特定的抗IgG抗體，或其對抗體IgG的Fc區域特定反應性的F(ab)區是沒有活性的，或蛋白質A，蛋白質G或等。這些抗免疫球蛋白抗體或配位子可用例行的方法製備或從市面上購買得到。

可檢測的標誌組成份沒有特別限制，只要它是已知可

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 28）

用於特定結合分析，特別是免疫分析，或者是將來可能使用的可檢測標誌[Tatsuo Iwasaki等人; Monoclonal Antibody, Kodansha Scientific, 1984；Eiji Ishikawa等人; Enzyme Immunoassay, 2nd Edition, Igaku Shoin, 1982，等等]。

較佳的標誌是在第二區的測試位址或對照組位址會有顏色改變者。雖然沒有限制，不需藉助任何儀器可用視覺認知的顏色改變的標誌是特別佳的。例如，螢光受質和吸附染料等各種生色原。而更佳的是包含有視覺可檢測的標記物的標誌粉末。

適當的特別標誌包括聚合物顆粒(如乳膠或聚苯乙烯珠)，囊袋，微脂粒，金屬性膠(如膠體銀，膠體金等)，和聚苯乙烯染料顆粒。這些之中，金屬膠如膠體銀和膠體金是較佳的。

只要是可用一般方式，化學或物理地耦合於配位子，得到標誌配位子的標誌，也可以使用商業產品。

可用於本發明的標誌裝置可以是，當應用到固態擔體的第二區(包括測試位址和對照組位址)，可顯示在第二區樣品發生的抗體反應結果的任何標誌，只要能達到這些功能，它存在的模式沒有特別的限制。例如，當本發明分析裝置為流通的裝置，標誌裝置可以獨立地包含於固態擔體的抗體分析試劑套組。

較佳的，本標誌裝置是可移除地固定於固態擔體，更佳的，它是可移除地固定於固態擔體第二區的上游。而更佳的模式是使得該標誌裝置支撐於固態擔體第一區和第二

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 29）

區中間的區域(此後稱之為追蹤區)。在這種使用的模式之下，應用到第一區的樣品以毛細作用虹吸到追蹤區，在該處接觸標誌的配位子，形成標的抗體/標誌配位子複合物和任意抗體/標誌配位子複合物。通過追蹤區之後，包含有這些複合物的樣品，以毛細作用，再移動到第二區。在第二區測試位址的配位子(抗原)是特定於標的抗體者，而在對照組位址的配位子(抗免疫球蛋白抗體)是特定於任意抗體的。因此，以毛細作用移動的標的抗體/標誌的配位子複合物首先在測試位址被捕獲，然後樣品中剩下的任意抗體/標誌配位子複合物(包括標的抗體/標誌配位子複合物)在對照組位址被捕獲。

固態擔體的追蹤區沒有特別限制，只要它是可以將包含有標的抗體和任意抗體的測試樣品從第一區運送到第二區的擔體，而支撐該標誌配位子的方式要使後者可以用毛細管流釋放。通常，它是一個聚乙烯，玻璃纖維，繆縈，尼龍或包括紙的纖維質材料所製成的孔狀元件。較佳的是不容易有非特定吸附的材料，例如任擇地以聚乙烯醇(PVA)處理過的玻璃纖維。

本發明較佳的實例之中一個實例是，其中第二區的該追蹤區和該測試位址以一定的間距安置於在固態擔體上。因為在追蹤區和測試位址之間有一個中間區域，進入追蹤區與標誌配位子接觸的樣品抗體，在樣品到達第二區測試位址之前，與該處標誌配位子混合，在該處，抗體和標誌配位子之間的耦合反應更肯定地確認。因此，這一區提供

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 30）

在樣品中標的抗體和任意抗體分別與測試位址和對照組位址接觸之前，標的抗體和任意抗體與標誌配位子耦合的培養環境(時間和空間)。

另外，本發明固態擔體可以在第二區下游有一個第三區。

樣品以毛細作用從第一區繼續移動到任擇的追蹤區，到第二區，再到第三區。因此，第三區作為一個接受從第二區，以毛細作用運送來的液體的區域。

通常，第三區只需要釋放接受未結合於第二區的液體成分的功能，也更提供一個樣品毛細管流(也就是液體面)前進分析完成的訊息的位置，預測固態擔體終點的區段。

為了上述的目的，固態擔體可在第二區下游安置一個可見指示劑區段，其中含有水溶性的染料，如erythrosine B，番紅精O，酚紅等等。在這種情形下，當樣品的液體面橫過第二區到達第三區，它流經該指示劑區段，在該區段的染料被樣品(液體)的毛細管流攜帶到下游，而通知樣品已經序列地通過第一區，追蹤區和第二區(測試位址和對照組位址)，也因此完成分析。

第三區的材料沒有特別限制，只要它可以吸附樣品(液體)，因此包括聚乙烯，纖萦，尼龍和纖維質材料，包括紙的孔狀薄膜或薄片。較佳的材料是一種纖維質材料，如紙。

現在更詳細地說明本發明，附隨的圖示顯示抗體分析裝置和其組成元件作為參考資料。然而，必須瞭解，說明

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 31）

的裝置只是本發明的實例，絕非限定本發明。

圖1圖表，顯示一個條狀固態擔體(60x5mm)，作為本發明裝置的一個元件。在圖1中，編碼1代表第一區(16x5mm，0.92mm厚)，分析樣品應用於該處，而與測試條接觸；編碼2代表追蹤區(5x5mm，0.79mm厚)，標誌的配位子(如膠體金-標誌的人類IgG抗體)固定於該處；編碼3代表第二區(18mmx5mm，0.1mm厚)，在該處發生與樣品中抗體的反應，並顯示結果；編碼4代表第三區(22x5mm，1.46mm厚)，從第一區和第二區移動來的樣品在該處被吸附。

第一區的厚度通常是0.2-2mm，較佳的是0.8-1.2mm，而追蹤區的厚度通常是0.2-1.5mm，較佳的是0.5-1mm。第二區的厚度通常是0.03-0.2mm，較佳的是0.08-0.12mm，第三區的厚度通常是0.5-3mm，較佳的是1-2mm。然而，這些範圍並不嚴格。

在該第二區(3)內安排的有測試位址(測試線，約1x5mm)(5)，具有標的抗體專一親和性的配位子支撐於該位置，和一個對照組位址(對照線，約1x5mm)(6)具有任意抗體(抗人類免疫球蛋白抗體)親和性的配位子支撐於該位置。測試位址(5)與追蹤區有一定的距離(約6mm)，而對照組位址(6)在與測試位址(5)相隔一定的距離(約6mm)。測試位址與樣品中標的抗體有特定反應的功能，並在標誌存在下顯示樣品中是否有標的抗體的存在，對照組位址的功能是在標誌存在下，可顯示應用的樣品是否適當。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 32）

組成固態擔體測試條第一區，追蹤區，第二區和第三區的材料(擔體)，可以簡單地沿測試條上樣品移動的垂直方向序列相連，沒有限制連接的模式。然而，較佳的，第一區垂直面前端和追蹤區後端之間的連接處，追蹤區面前端和第二區後端之間的連接處，和第二區面前端和第三區後端之間的連接處是分別為重疊關係。更佳的，如圖1的說明，第一區的垂直前端部份重疊於追蹤區的後端部份，而追蹤區的垂直前端部份重疊於第二區的後端部份。第三區的後端部份可以重疊於第二區的前端部份。以這種連接模式，應用到第一區的樣品可以在測試條垂直的方向平順地移動。測試條垂直的方向的寬度沒有特別限制，但可以是例如0.5-10mm，較佳的是1-2mm，更佳的是0.8-1.2mm。必須瞭解重疊的測試條構造中，相關區的頂部/底部沒有限制於上面說明的關係，可以是相反的。

為了使用上的方便，上述的固態擔體較佳的是包裝成一個分析單元。

現在以圖2參考說明本發明分析裝置分析的原理。

(3)固相分析方法

本發明第三方面是一種使用上述說明的裝置的固相分析方法，它特別是一種分析樣品中標的抗體的固相方法，其中包含將樣品帶入接觸抗體分析裝置的第一區，在第二區對照組位址顯示顏色的條件下，檢測第二區測試位址顯現的顏色。

在此分析方法中，首先將可能包含有標的抗體的樣品

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 33）

應用到固態擔體的第一區(1)。

至於樣品的應用方式，體液，如尿液，可用原狀，或以適當的稀釋劑稀釋後使用。稀釋劑沒有特別限制，但是包括在pH約為5-9範圍，較佳的約6.5-8.5，(如檸檬酸鹽緩衝液，磷酸鹽緩衝液，tris 緩衝液，乙酸鹽緩衝液，硼酸鹽緩衝液，等等)時具有緩衝作用的各種緩衝液，和界面活性劑，等等。

因為在大腸桿菌成份存在下進行抗原-抗體反應，抗原-抗體反應的非特定反應可被抑制，減少偽陽性反應測試發生的可能性，較佳的是使用包含有這種大腸桿菌成份的稀釋劑。加入稀釋劑內大腸桿菌成份(LPS)的量沒有特別限制，但較佳地，反應系統中每微克配位子(抗原)，也就是測試位址，可得約0.1-10μg且較佳為約0.5-5μg之該成份。

加入樣品中大腸桿菌成份(LPS)的量可以是，例如，通常不少於5μg/ml，較佳的是5-100μg/ml，更佳的是10-50μg/ml。雖然不禁止超過100μg/ml的量，但在高達100μg/ml的量就可達到本發明的效果。

當樣品應用到第一區(1)，第一區(1)被潤濕。應用上去的樣品以毛細作用從第一區(1)，流入追蹤區(2)，接觸並與可移除地支撐於追蹤區的標誌配位子(膠體金-標誌的抗人類IgG抗體)反應。

當使用適當的樣品，且樣品中包含有標的抗體，樣品中的標的抗體和任意抗體二者都耦合於該追蹤區(2)的標

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 34）

誌配位子，分別形成標的抗體/標誌配位子複合物和任意抗體/標誌配位子複合物。二者流經追蹤區(2)後，不形成這種複合物的相關複合物或標誌配位子一起被運送到追蹤區(2)的下游。在一個較佳的模式中，尚未形成複合物的標誌配位子在與包含有抗體的樣品，以毛細作用，從追蹤區(2)流到第二區(3)的測試位址(5)時，仍有足夠的時間(空間)形成複合物。當樣品到達第二區的測試位址(5)，樣品中標的抗體/標誌配位子複合物與支撐於測試位址(5)的配位子耦合並固定於該處。樣品再以毛細作用向下游移動到達對照組位址(6)，在該處任意抗體/標誌配位子複合物與該處的配位子(抗人類免疫球蛋白抗體)耦合並固定於該處。然後，依照標誌配位子的標誌成份，檢測到固定於第二區測試位址(5)和對照組位址(6)的複合物，分析結果顯示為陽性反應測試。相反的，當應用不包含有標的抗體的樣品被固定於測試位址(5)，不會形成該標的抗體/標誌的配位子複合物，所以在測試位址(5)不會檢測到標誌(陰性反應測試)。

在這種連接法，顯示於測試位址(5)的陰性反應測試包括由於樣品中低濃度(即樣品中小總量的抗體)得到的陰性反應(偽陰性反應)測試，和由於樣品中沒有標的抗體陰性反應(真陰性反應)測試兩種情況。這些陰性反應測試不能單獨由測試位址(5)的結果來區分。然而，在偽陰性反應測試的情況，不能形成要固定於對照組位址(6)的任意抗體/標誌配位子複合物，而使對照組位址得到陰性反應顯

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 35）

示，在真陰性反應測試的情況，會形成任意抗體/標誌配位子複合物，使得對照組位址得到陽性反應顯示。因此，依照對照組位址顯示是陰性反應或陽性反應，可能可以知道測試位址(5)的陰性反應結果為偽陰性反應測試或真陰性反應測試。另外，當使用去活性的標誌配位子，或不用適當的系統進行適當的分析，在對照組位址(6)得到陰性反應顯示，而可以避免由於這原因得到偽陰性反應測試。

包含所有未結合抗體，標誌配位子等的樣品液體繼續再往 第二區(3)下游移動到第三區(4)。該處可任擇地提供一個指示劑區段，在這種情下，液體面將染料從指示劑區傳送到終點區段，因此顯示液體和染料通過第三區，完成分析。

圖3顯示一個以水平位置使用的本發明抗體分析裝置的實施例。包含第一區(1)，追蹤區(2)，第二區(3)(包括測試位址(5)和對照組位址(6))和第三區(4)的固態擔體(A)安裝於一個適當材料製備的罩框(B)內。罩框的材料雖然也可以使用其他材料，如玻璃，金屬和紙，但較佳的是可模製的塑膠材料，如聚苯乙烯，。罩框由有數個小孔的上部(7)，和下部(8)組成，固態擔體放置於罩框下部，上部蓋到其頂部。罩框上部的小孔(9)和(10)與固態擔體系列部位相連，其位置分別相對於固態擔體的第一區(1)和第二區(3)。

樣品可以從小孔(9)(樣品進料口)應用到擔體的第一區(1)。小孔(9)周圍較佳的是有投射圓形邊，該投射邊可幫

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 36）

助液體樣品滴入擔體的第一區。樣品與固態擔體第一區接觸的方法沒有特別限制，但樣品較佳的是從該樣品進料口垂直滴入固態擔體平面。

小孔(10)可以有到固態擔體第二區的測試和對照組位址可視通道的位置，可用視覺確定測試位址的標誌配位子/標的抗體複合物，和對照組位址的標誌配位子/任意抗體複合物在該處的固定情形(檢測入口，評估入口)。小孔(10)不需要是單一的測試位址和對照組位址入口視覺通道，可以包含二個分別到測試位址和對照組位址的獨立入口。

以本發明抗體分析裝置，在樣品應用到分析系統之後，通常在不超過45°C，較佳的4-40°C，更佳的約15-30°C的溫度，放置幾分鐘到30分鐘，較佳的5-20分鐘，可高正確性地測定樣品中標的抗體是否存在及抗體的含量。

(4) 抗體分析試劑套組

當使用包含有測定抗體必要的完整的各種試劑和設備的抗體分析試劑套組，(1)說明的抗體分析方法，或(2)說明的抗體分析裝置的固相分析方法，可更方便的進行。

因此，本發明更提供一種簡化該抗體分析方法和該固相分析方法成為實際可行的抗體分析試劑套組。

依照本發明的抗體分析試劑套組是要以抗原-抗體反應檢測和定量樣品中的抗體，及，如一個較佳的模式，包括一個含有大腸桿菌成份作為套組成份的套組。此試劑套組更包含有一個任擇地固定的，適於與要分析的標的抗體進行抗原-抗體反應的抗原，一個抗體分析試劑，等等。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 37）

另外，為了方便分析，這個試劑套組可以更包括適當的反應培養基，稀釋劑，洗脫緩衝液，反應終止劑及/或標誌活性測試試劑。

另一種模式，本發明抗體分析試劑套組可以包括一個有標的抗體IgG的Fc區域專一親和性的試劑，較佳的是一個Fc-特定的抗IgG抗體。

另一個改變的模式，本發明抗體分析試劑套組可以包含有該抗體分析裝置。試劑套組可以再包含有該大腸桿菌成份或該有標的抗體IgG的Fc部專一親和性的受質或二者，作為試劑。另外，在其他試劑之中，除了該套組的反應培養基，稀釋劑，洗脫緩衝液，反應終止劑，和標誌活性測試試劑之外，還可以再包含有用於稀釋樣品的配件如滴管和小瓶(試管)。

進行本發明之最佳模式

下面的實施例是要用來更詳細地說明本發明，絕不是用來定義本發明的技術範圍。必須瞭解的是，可以很容易地以本發明前面的揭示為基礎，用文獻中熟悉的技術做到許多改變，而不偏離本發明的技術範圍。

實施例1：幽門螺旋桿菌之分析

(1) 幽門螺旋桿菌抗原之製備

幽門螺旋桿菌(臨床分離者)於Brucella瓊脂培養基(Becton)培養48小時(10%CO_2，5% O_2，37°C)，將已生長的細胞收集於冷的PBS。該細胞用冷的PBS以離心洗脫總共5次，加入冷的PBS，使細胞濃度成為100mg/ml。攪拌，加

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 38）

入一當量的冷0.2%Triton X-100/PBS。混合物攪拌5分鐘，離心，上清液回收為幽門螺旋桿菌抗原溶液，貯存於-80°C。

(2) 幽門螺旋桿菌抗原培養基之製備

上述的幽門螺旋桿菌抗原溶液(2.5μg蛋白質/ml)加到96-井培養基，100μl/井，在4°C培養過夜。各井以PBS洗脫一次之後，加入阻斷溶液(Dulbecco-PBS [D-PBS]，1% BSA，5%山梨糖醇，0.05% NaN_3，[pH7.4])，300μl/井，該培養基在4°C培養過夜。丟棄阻斷溶液之後，培養基在25°C乾燥過夜，與乾燥器封閉於鋁袋中，貯存於4°C直到使用。

(3) 大腸桿菌成份之製備

大腸桿菌(pvc18/JM109，Takara Shuzo)於含青黴素液體LB培養基(Luria-Bertani培養基，Nippon Seiyaku)，37°C，培養18小時。培養基離心收集細胞，以2份PBS洗脫。洗脫的細胞加入冷PBS成為100mg/ml，混合物中斷，以超音波震盪器(10秒x3)萃取。回收上清液作為大腸桿菌成份，貯存於-80°C(此後稱之為大腸桿菌萃取物)。

(4) 尿液中抗幽門螺旋桿菌抗體之測定

以尿液作為樣品，測定樣品中的抗幽門螺旋桿菌抗體。

以(2)製備的幽門螺旋桿菌抗原培養基的各井，加入包含有20μg蛋白質/ml大腸桿菌萃取物和100μl尿液樣品之第一緩衝液溶液(200mm Tris-HC1緩衝液，0.14 MNaC1，2%酪蛋白，0.5%BSA，0.05%Tween 20，0.1% NaN_3，[pH

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 39）

7.31)25μl。混合物攪拌10秒，在37°C靜置1小時。各井以6份PEST(0.05% Tween 20和0.05% NaN_3，之PBS溶液)洗脫，加入酵素(HRP)-標誌的抗人類IgG抗體(過氧化肼-結合之Affini純羊抗人類IgG (Fc)，Jackson Immuno Research)於第二緩衝液(50mm Tris-HC1緩衝液，0.14M NaC1，0.5%BSA，5%羊血清，0.05%Tween 20，0.1%XL-II [pH 7.3])11,000倍稀釋之溶液100μl。培養基在37°C靜置1小時，然後，以6份PEST洗脫。

然後，加入100μl顯色液(50mM檸檬酸鹽-Na_2HPO_4，50% TMB溶液，0.0075% H_2O_2)，在室溫反應20分鐘，這時間之後加入100μl反應終止劑(50%TMB終止溶液，50%1N-H_2SO_4)，測定其吸收度。

(5) 結果

(i)^{13}C-UBT測試法，這方法是目前被認為可用於幽門螺旋桿菌感染最正確的診斷方法，診斷結果為幽門螺旋桿菌陽性反應案例和幽門螺旋桿菌陰性反應案例各5案例[*J. Gastroenterol.*, 33, pp.6-13, (1998)]的尿液作成樣品，以(4)說明的步驟分析尿液中的抗幽門螺旋桿菌抗體。

以相同的步驟應用到相同的尿液樣品，但是省去加入大腸桿菌萃取物的步驟，作為對照實驗，由結果看出，評估以本發明方法加入大腸桿菌萃取物的效果。

結果的數據顯示於圖4。

在圖4中，縱軸代表吸收度(O.D.450-650nm)，橫軸代表添加(+)或省略(-)大腸桿菌萃取物。另外，白圈代表以

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 40）

^{13}C-UBT測試，幽門螺旋桿菌陽性反應病人尿液樣品的結果，黑圈代表以^{13}C-UBT測試幽門螺旋桿菌陰性反應病人尿液樣品的結果。

從圖4很清楚的看到，依照本發明在大腸桿菌萃取物存在下分析，幽門螺旋桿菌陽性反應和幽門螺旋桿菌陰性反應案例，明顯的和^{13}C-UBT測試結果一致，確認本發明方法的高正確性。

(ii) 使用99個沒有幽門螺旋桿菌根除處理的健康志願者和20個胃病病人(7個胃潰瘍案例和13個胃炎案例)的尿液樣品，依照(4)說明的步驟，分析在大腸桿菌萃取物存在下尿液中的抗幽門螺旋桿菌抗體。結果顯示於圖5。在圖5中，縱軸代表吸收度(O.D.450nm)，橫軸代表依照^{13}C-UBT測試(陽性反應和陰性反應案例)的族群。

結果顯示，在包含有大腸桿菌萃取物的分析系統，所有陰性反應病人的尿液樣品得到肯定的陰性反應結果，而沒有偽陽性反應結果。

(iii) 以市售ELISA套組測定，實驗(ii)相同實驗對象的血清中抗幽門螺旋桿菌抗體的量，其結果與本發明方法以相同實驗對象尿液分析的結果比較敏感性，特定性和正確性。同時收集並製備各實驗對象的血清和尿液樣品做為分析。

市售ELISA套組如下面的說明：HM-CAP^{TM}套組，Enteric Products(HM-CAP)；Helico G^{TM} Kit，Shield Diagnostic (Helico G)；和HEL-p Test^{TM} Kit，Amrad Biotech (HEL-p)。以各套

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 41）

組附載的說明的確定性進行各分析。其結果顯示於表1。

表 1

分析方法	樣品	敏感性	特定性	正確性
HM-CAP	血清	80%(56/70)	96%(47/49)	87%(103/119)
Helico G	血清	99%(69/70)	88%(43/49)	948(112/119)
HEL-p	血清	97%(68/70)	90%(44/49)	94%(112/119)
本發明方法	尿液	99%(69/70)	100%(49/49)	99%(118/119)

在表1中，“敏感性”意思是以幽門螺旋桿菌陽性反應實驗對象(以^{13}C-UBT測試為感染陽性反應者：n=70)各套組得到陽性反應的比例，“特定性”意思是以幽門螺旋桿菌陰性反應實驗對象(以^{13}C-UBT測試為感染陰性反應者：n=49)各套組得到陰性反應的比例，“正確性”意思是各套組總分佈(70+49=119病人)中正確結果的百分率。

很清楚的，不管使用只含有微量抗體的尿液樣品，以本發明方法測定抗幽門螺旋桿菌抗體，比一般血液抗體分析套組得到更高的檢測敏感性和特定性，及有意義的較高的正確性。

(6)尿液中抗幽門螺旋桿菌抗體的分析

使用包含有大腸桿菌LPS (Difco)(LPS濃度：5μg/井)的第一緩衝液代替大腸桿菌萃取物，重複(4)步驟以測定尿液樣品中的抗幽門螺旋桿菌抗體，其結果以(5)(i)相同的方式評估。結果顯示於圖6。從圖表中很清楚看到以大腸桿菌LPS代替大腸桿菌萃取物可以得到類似的結果。

實施例2：抗肝炎B病毒(HBc)抗體之分析

(1) 抗肝炎B病毒(HBc)抗體之分析

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 42）

依照實施例1(2)步驟以HBc抗原(Chemicon International)製備抗原培養基，依照實施例1(4)方法進行尿液樣品抗肝炎B(core) (HBc)抗體分析。

包含有大腸桿菌萃取物不同濃度的第一緩衝液溶液25μl和100μl樣品尿液加到HBc抗原培養基各井，攪拌10秒之後，培養基在37°C靜置1小時。培養基以6份PEST洗脫之後，加入11,000倍稀釋的酵素(HRP)-標誌的抗人類IgG抗體於第二緩衝液之溶液100μl，培養基在37°C靜置1小時，然後洗脫(以PEST，6次)。

然後，加入100μl顯色液，在室溫進行反應20分鐘，之後加入100μl反應終止溶液，測定吸收度。

(2) 結果

以市售抗HBc抗體分析套組(Dinabott)分析血液分類的5個抗HBc抗體陽性反應和5個抗HBc抗體陰性反應的案例，以(1)說明的步驟測定尿液中的抗HBc抗體。

反應混合物中的大腸桿菌萃取物濃度設定為0，0.78，1.56，3.13，6.25，和12.5μg/ml，評估添加萃取物的效果。其結果顯示於圖7。

在圖7中，縱軸代表吸收度(O.D.450-650nm)，橫軸代表添加大腸桿菌萃取物的濃度。另外，黑圈代表血液分析為抗HBc抗體陽性反應病人尿液中抗體的數據，白圈代表血液分析為抗HBc抗體陰性反應病人尿液中抗體的數據。從這個圖表中很清楚地看到，甚至當使用尿液樣品，血液分析為抗HBc抗體陽性反應病人族群和血液分析為抗HBc

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 43）

抗體陰性反應族群的抗HBc抗體檢測含量的差異與添加大腸桿菌萃取物濃度的關係變得更明顯。

實施例3：

使用以已知分析方法[Calypte™ HIV-1 Urine EIA：*Arch. Pathol. Lab. Med.*, 119, 139-141 (1995)；*Clinical Infectious Diseases*, 19, 1100-1104 (1994)]測定尿液抗HIV抗體得到偽陽性反應測試的尿液樣品，進行探測的實驗，以鑑定出負責於一在相同分析系統中之非特定反應的假想成份。

(1) 上述的各尿液樣品以1M磷酸鹽緩衝液(pH 7.7)調整為pH 7.4，以5.0，0.8和0.2μm過濾器過濾。濾液的一個20ml部份以微過濾(10 kDa膜)濃縮為2ml。濃縮的尿液進行膠滲透層析(Sephacryl S-300，Pharmacia)，測試各分離部份對HIV抗原的反應性。

對HIV抗原反應性的測定方法是，使各分離部份與固定的HIV抗原(gp160)製備的HIV抗原-固定的培養基反應而確定，檢測與ALP-標誌的羊抗人類(IgG+IgM)抗體，ALP-標誌的羊抗人類IgG (Fc-特定的)抗體或HRP-標誌的羊抗人類IgG(Fab-特定的)抗體（所有的都是由Jackson ImmunoResearch Labs供應)的結合(非特定的結合成份)。其結果顯示於圖8。

在圖8中，縱軸代表吸收度(O.D.)，橫軸代表膠滲透 層析沖提分離部份(分離部份編碼)。實線代表蛋白質在280 nm的吸收度，黑圈線代表該抗人類(IgG+IgM)抗體檢測的結果，白三角線代表以該抗人類IgG (Fc-特定的)抗體檢測

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 44）

的結果，黑三角線代表以該抗人類IgG (Fab-特定的)抗體檢測的結果。

從圖8很明顯地看到，以抗人類IgG (Fab-特定的)抗體檢測時，反應(與非特定結合組成份的反應性)的模式是與抗人類(IgG+IgM)抗體的檢測是相同的，而與抗人類IgG (Fc-特定的)抗體沒有反應性。這個發現推測非特定結合的組成份是人類IgG的片段或變性產物，它保留與沒有Fc區域之抗人類IgG(Fab-特定的)抗體的反應度。

因此，很清楚的，當使用對這個非特定結合成份沒有活性的抗人類IgG (Fc-特定的)抗體作為分析試劑時，可能會抑制抗體檢測系統中的非特定反應，由於這些非特定的反應發生的偽陽性反應測試，其結果是得到了高特定的和很正確的抗體分析方法。

實施例4：尿液中抗HIV抗體之分析

HIV抗原培養基(Calypte™ HIV-I Urine EIA，Calypte Biomedical Corp.)的各井，加入25μl第一緩衝液 (Calypte™ HIV-I Urine EIA之樣品緩衝液)和200μl樣品 尿液，攪拌10秒之後，培養基於37°C靜置1小時。培養基洗脫6次(洗脫緩衝液：D-PBS，0.05%Tween 20)之後，加入HRP-標誌的羊抗人類IgG(Fc-特定的)抗體(過氧化肼-結合的Affini純羊抗人類IgG，Fc片段特定的，Jackson ImmunoResearch Labs.)於第二緩衝液(50mm Tris-HCl緩衝液，0.14M NaCl，0.5% BSA，5%羊血清，0.05% Tween 20，0.1% XL-II (pH 7.3))之11,000倍稀釋溶液100μl，培養基在37°C靜置1小時，以

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 45）

上述的相同的方式洗脫(6次)。

然後，加入100μl顯色液(50% TMB溶液，50mm檸檬酸鹽-Na_2HPO_4，0.0075% H_2O_2)，室溫反應10分鐘，加入100 μl反應終止溶液(50% TMB終止劑，50% 1N-H_2SO_4)，測定吸收度(O.D.450 nm)。

樣品以已知的分析方法[Calypte™ HIV-1 Urine EIA：*Arch. Pathol. Lab. Med.*, 119, 139-141 (1995)；*Clinical Infectious Diseases*，19，1100-1104 (1994)](對照方法)，使用ALP-標誌的羊抗人類免疫球蛋白抗體為第二抗體分析，作為對照實驗。另外，以上述本發明的分析方法，測定上述分析套組陰性反應對照組和陽性反應對照組。這方法得到的吸收值與上述的套組得到的作比較，本發明方法截留點設定於相同的套組依照切斷值計算法的上述的陰性反應對照平均吸收度加上0.180。

分析血清抗HIV抗體陽性反應實驗對象(2案例)和血清抗HIV抗體陰性反應實驗對象(98案例)的100個樣品(尿液)，結果顯示於表2。

表2

		本發明方法		
		陽性反應	陰性反應	總共
對照方法	陽性反應	4*	26	30
	陰性反應	0	70	70
	總共	4	96	100

*：此4實驗對象之中，2個是血清抗HIV抗體陽性反應的實驗對象。

從表2可看到，雖然本發明方法和對照方法二者的敏感性都是100%(2/2)，特定性卻是對照方法的71.4%(70/98)

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 46）

對本發明方法的98%(96/98)。

上面的結果顯示，與對照方法比較，本發明抗體分析方法發生偽陽性反應測試的機會是明顯的降低，而且有很高的特定性。

實施例5：尿液中抗幽門螺旋桿菌抗體之分析

(1)幽門螺旋桿菌抗原培養基之製備

幽門螺旋桿菌(臨床分離物)懸浮液於以例行方式製備[*J. Clin. Microbiol.*, 29; 2587-2589 (1991)]的冷Dulbecco-PBS溶液100mg/ml，以攪拌器穩定地攪拌，加入等體積的冷0.2%Triton-X溶液，混合物再攪拌5分鐘，離心(3,000rpm，20分鐘)。上清液移到一個新的試管，作為萃取物(蛋白質1-1.5mg/ml)。

這個萃取物以D-PBS (2.5μg/ml)稀釋，稀釋液放入96-井培養基，每井100μl，在25°C培養過夜。各井洗脫之後，加入300 μl阻斷溶液(D-PBS，0.5%酪蛋白，5%山梨糖醇，0.05% NaN_3，(pH 7.4))，接著在25°C培養過夜。然後丟棄阻斷溶液，培養基在25°C乾燥過夜，與乾燥器封閉於鋁袋，貯存於4°C，直到要使用。

(2)分析

使用如上面方法製備的固定的抗原(培養基)，以實施例4方法分析尿液樣品中的抗幽門螺旋桿菌抗體。

各井加入25μl第一緩衝液(200mM Tris-HC1緩衝液，0.14MNaC1，2%酪蛋白，0.5%BSA，0.05%Tween 20，0.1% NaN_3，20μg/ml大腸桿菌萃取物(pH 7.3))和100μl樣品尿液，

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 47）

攪拌10秒，培養基在37°C靜置1小時，然後洗脫6次。依照實施例4的方法，加入HRP-標誌的羊抗人類IgG (Fc-特定的)抗體於第二緩衝液的稀釋液100μl，培養基在37°C靜置小時，檢測抗體。

得到的結果顯示於圖9和表3。

表 3

	樣品	截留點	敏感性 ^{13}C-UBT(+)	特定性 ^{13}C-UBT(-)	正確性
本發明方法	尿液	M+3SD(0.104)	56/56(100%)	42/44 (95%)	98%
	尿液	M+5SD(0.147)	56/56(100%)	43/44(98%)	99%
對照方法	血清	M+3SD(1.27)	53/56 (95%)	43/44 (98%)	96%
	血清	M+SsD(1.82)	47/56(84%)	43/44(98%)	90%

在圖9中，縱軸代表吸收度(O.D.450-650 nm)，橫軸代表依照 ^{13}C-UBT測試方法[*J. Gastroenterol.*, 33: pp.6-13 (1998)]，幽門螺旋桿菌感染陽性反應族群(+；n=56)，和幽門螺旋桿菌感染陰性反應族群(-；n=44)。

在表3中，“敏感性”意思是指依照 ^{13}C-UBT測試陽性反應案例中檢測為陽性反應案例百分率；“特定性”意思是指依照 ^{13}C-UBT測試陰性反應案例中檢測為陰性反應案例的百分率；而“正確性”意思是指依照 ^{13}C-UBT測試陽性反應和陰性反應案例中檢測分別地為陽性反應和陰性反應案例的百分率，相對於截留點平均M+3SD或M+5SD相對的圖形。相同的尿液樣品以血清抗幽門螺旋桿菌抗體分析套組[HM-CAP；EPI/Kyowa Medics (K.K.)]分析，作為對照實驗，其結果也列於表上(對照方法)。

由上面的結果顯示，本發明方法優於對照方法，尤其

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 48）

是 敏感性和正確性。

實施例6：尿液抗風疹病毒抗體之分析

(1)風疹抗原培養基之製備

使用市售風疹抗原[由BIG-DESIGN供應]，濃度為1μg/ml，和阻斷試劑，其組成為D-PBS，1%BSA，5%山梨糖醇和0.05% NaN_3(pH 7.4)，重複實施例(1)步驟，得到風疹抗原培養基。

(2) 分析

以上面的抗原培養基，以實施例5(2)相同的方式分析尿液樣品中的風疹抗體。其結果顯示於圖10和表4。

表 4

		對照方法(血清ELISA)		
		陽性反應	陰性反應	總共
本發明方法(尿液ELISA)	陽性反應	76	0	76
	陰性反應	0	23	23
	總共	76	23	99

圖10中，縱軸代表吸收度(O.D.450-650 nm)，橫軸代表依照以商業套組(Rubella IgG (II)-EIA，SEIKEN；由Denka Seiken供應)測定結果，血清抗風疹抗體-陽性反應族群(n=76)和-陰性反應族群(n=23)。表4的數據顯示本發明方法尿液得到的結果和對照方法血清得到的結果完全一致。

如上面的數據，本發明方法和對照方法之間的一致性高達100%(99/99)，因此顯示本發明為高敏感性和高特定性的抗體檢測方法，甚至是安全而且方便的尿液，因此是很有用於實驗室檢查方法。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 49）

實施例7：抗體分析裝置架構

(1) 幽門螺旋桿菌抗原製備

以實施例1(1)相同的步驟製備幽門螺旋桿菌抗原溶液，貯存在-80°C。

(2) 含有標誌的抗人類IgG抗體乾燥玻璃纖維之製備

玻璃纖維薄片(5.0mmx260mmx0.8mm厚；Whatman)加入1ml 40 nm(直徑)膠體金-標誌的抗人類IgG(Fc-特定的)抗體溶液，乾燥過夜。薄片與乾燥器貯存室溫，直到使用。

(3) 薄膜之製備

以上面(1)製備的幽門螺旋桿菌抗原溶液(3mg/ml)和抗人類IgG抗體溶液(0.3mg/ml)分別地噴霧(1.5μl/cm)應用到硝化纖維素膜(26.5mmx260mmx0.1mm厚；Advance MicroDevice供應)，於說明於圖11預測的空間，在37°C乾燥120分鐘。乾燥之後，該薄膜浸入並以含脫脂牛奶的Borax緩衝液(pH 8.2)30分鐘洗脫。洗脫的薄膜在37°C乾燥1小時，與乾燥器，在室溫貯存。

(4)套組(固態擔體)

如圖3(A)的說明，上述的薄膜(3)，吸附濾紙片(4)(22x260mmx1.5mm厚；Whatman供應)，含有標誌抗體的玻璃纖維薄片(2)和樣品片(1)(15x260mmx1.0mm厚；濾紙，Whatman供應)以黏著劑膠黏，切割為5mm寬。

用這方法製備的固態擔體放置於塑膠罩框底部(8)位置，固態擔體於頂部(7)依序安裝一個樣品進料口(9)，檢測視窗(10)，穩固地固定於底部(8)。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 50）

實施例8：尿液抗幽門螺旋桿菌抗體分析

使用實施例7架構的裝置，三種尿液樣品進行抗幽門螺旋桿菌抗體分析，即，幽門螺旋桿菌感染的實驗對象尿液樣品，沒有幽門螺旋桿菌感染的實驗對象尿液樣品，和幽門螺旋桿菌感染的實驗對象極稀的尿液樣品。

首先，500μl樣品尿液加到500μl樣品稀釋劑[200mM Tris-HC1緩衝液，0.14M NaC1，2%酪蛋白，0.5%BSA，0.05%Tween 20，0.1% NaN_3(pH 7.3)，大腸桿菌LPS (Difco)50μl/ml]，混合。得到的稀釋液六滴(約150μl)從實施例7架構裝置的樣品進口處(9)滴入，使其吸附於擔體，然後靜置20分鐘。結果，當使用合格的尿液樣品，在檢測視窗(10)對照區出現粉紅-紅顏色區段。另一方面，當使用極稀不合格的尿液樣品，在測試區或檢測視窗(10)對照區都沒有顯示顏色顯現，顯示樣品不合格。當樣品為沒有幽門螺旋桿菌感染的實驗對象的合格尿液樣品，只是在檢測視窗(10)對照區有一個粉紅-紅顏色區段，顯示為幽門螺旋桿菌感染陰性反應(真陰性反應)測試，而在幽門螺旋桿菌感染的情形下，檢測視窗(10)的測試區和對照區都有粉紅-紅顏色區段，顯示為幽門螺旋桿菌陽性反應測試。

實施例9：尿液抗幽門螺旋桿菌抗體分析

(1)大腸桿菌成份之製備

大腸桿菌(pvc18/JM109；Takara Shuzo)於包含有青黴素之液體LB培養基(Luria-Bertani培養基；Nihon Seiyaku)，在37°C培養18小時，成長的細胞離心收集，以2份PBS洗脫。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 51）

然後，加入冷PBS，使最後細胞濃度為100mg/ml，破壞細胞，以超音波震盪器(10秒x3次)萃取。得到的上清液用作為大腸桿菌萃取物蛋白質。

(2)使用上述(1)方法製備的大腸桿菌萃取物蛋白質，將大腸桿菌LPS加到實施例8樣品稀釋劑，重複實施例8的步驟，測定尿液樣品中的抗幽門螺旋桿菌抗體。結果，得到如實施例8 說明的相同結果。

實施例10：

使用21個以^{13}C-UBT測試[*J. Gastroenterol.*, 33:6-13(1998)]幽門螺旋桿菌感染陽性反應實驗對象和相同的數量幽門螺旋桿菌感染陰性反應實驗對象(總共42案例)的全血液，血漿和尿液，以實施例8說明的步驟分析樣品中的抗幽門螺旋桿菌抗體。

相同的實驗對象的樣品分別使用市售檢測全血液或血漿的幽門螺旋桿菌抗體分析套組分析，作為對照實驗，由得到的數據評估本發明裝置的效率。結果顯示於圖12。

在圖12中，對照套組A到H為如下面的說明。

A： Helitest(Cortecs Diagnostics製造)

B： *H. pylori*-Check-1
(Bio-Medical Products製造)

C： First Check *H. pylori*
(Worldwide Medical Corp製造)

D： Biocard *Helicobacter. pylori* IgG
(Anti Biotech Oy製造)

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 52）

E： Insta Test *H. pylori*
(Cortez Diagnostics Inc.製造)

F： One Step *H. pylori* Test
(Teco Diagnostics製造)

G： *H. pylori* SPOT
(International Immuno-Diagnostics製造)

H： Quick Stripe *H. pylori*
(Diatech Diagnostics Inc.製造)

在圖12中，“特定性”意思是指以相關的套組分析^{13}C-UBT測試-陰性反應樣品得到陰性反應測試(陰性反應比例)的百分率，“敏感性”意思是指以相關的套組分析^{13}C-UBT-陽性反應樣品得到陽性反應測試(陽性反應比例)的百分率。

從圖12的數據很明顯的看到，本發明抗體分析裝置和固相分析方法提供極佳的分析系統，不用說血液(全血液，血漿)樣品，甚至當應用到尿液樣品，也有高檢測特定性和正確性。

從上述的結果也很清楚地知道，甚至當樣品是一個安全而且方便的尿液樣品，本發明也可以高敏感性，高特定性地檢測抗體，因此在實驗室檢查有很大的用途。

實施例11：<u>大腸桿菌成份對分析尿液抗體之效果</u>

(1) 使用實施例8架構之分析裝置，評估大腸桿菌成份對尿液抗體分析的效果。擇自^{13}C-UBT 測試幽門螺旋桿菌感染陽性反應和陰性反應實驗對象的尿液，於不包含有大腸

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明（ 53）

桿菌LPS(稀釋劑1)樣品稀釋劑的系統，和以大腸桿菌LPS用顯示於表5的各種濃度補充的相同的稀釋劑的系統分析尿液樣品中抗幽門螺旋桿菌抗體。顯現於測試區和對照區的線條顏色以比色計(ATTO製造)測定其的線條顏色深度來評估，。其結果顯示於表5。

表 5

		稀釋劑1	添加大腸桿菌LPS濃度(μg/ml)				
			100	33.3	11.1	3.7	1.2
陽性反應尿液	對照組位址	50	51	43	36	41	45
	測試位址	68	66	62	61	61	67
陰性反應尿液	對照組位址	26	26	22	18	23	23
	測試位址	12	0	0	0	13	12

發現當加到樣品的大腸桿菌LPS濃度為11.1μg/ml和更高時，稀釋劑1觀察到的非特定反應就消失了，因此可以除去偽陽性反應測試(檢測誤差)。

工業應用性

本發明提供一種抗體分析技術，用這方法，甚至在抗體含量相對較稀薄的尿液樣品作為測試樣品時，也可以高敏感性和高特定性地檢測特定感染源的標的抗體。依照本發明抗體分析方法，由於樣品污染物引起的“偽陽性”反應可以有意義的被抑制，得到高正確的和可信任的分析結果。而且，本發明提供免疫毛細管或免疫層析法分析的改良方式，可以正確地檢測樣品中標的抗體的存在和含量，並且在“偽陰性反應”和“真陰性反應”之間有清楚的差異。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）
裝
訂
線
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

五、發明說明（ 54）

元件編號對照表

1	First Region	第一區
2	Tracer Region	追蹤區
3	Second Region	第二區
4	Third Region	第三區
5	Test Zone	測試區段
6	Control Zone	對照區段
7	Upper Section of the Housing	罩框上部
8	Lower Section of the Housing	罩框下部
9	Sample Inlet Port	樣品進料口
10	Detection Window	檢測視窗

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

A5
B5

四、中文發明摘要（發明之名稱：用於抗體分析之方法以及抗體分析裝置）

本發明是一種有關於分析體液中感染源抗體的技術，它是具有高正確性，可靠度和特定性的分析方法。更特別的，本發明提供一種抗體免疫分析的方法，其中，樣品中標的抗體和分析抗原之間的抗原-抗體反應在大腸桿菌成份的存在下進行，及一種有關於抗體的分析方法，其中包含使用一種抗體IgG的Fc區域專一親和性的試劑，作為抗體分析的試劑。本發明更提供一種抗體分析裝置，其中包含一個固態擔體，含有至少(a)第一區，樣品應用於該處，和(b)第二區，樣品中的抗體在該處反應，其中的排列是，樣品從第一區虹吸到第二區，及一種用於檢測第二區反應結果的標誌裝置，其特徵是在(b)第二區安置有(i)一個測試位址，捕獲被分析標的抗體的配位子固定於該處，及(ii)一個對照組位址，捕獲樣品中任意抗體的配位子固定於該處。

英文發明摘要（發明之名稱：METHOD FOR ASSAY OF ANTIBODIES AND ANTIBODY ASSAY DEVICE）

The invention relates to a technology by which antibodies directed to sources of infection in body fluids can be assayed with high accuracy, expediency and specificity. More particularly, the invention provides an antibody immunoassay method in which the antigen-antibody reaction between a target antibody in a sample and an assay antigen is conducted in the presence of an *E. coli* component and an antibody assay method which comprises using a reagent having a specific affinity for the Fc region of an antibody IgG as the antibody assay reagent. The invention further provides an antibody assay device comprising a solid-phase support having at least (a) a first region to which a sample is applied and (b) a second region where the antibody in the sample is reacted as disposed in such an arrangement that the sample is wicked from the first region to the second region an a labeling means for detection of the result of the reaction in the second region, characterized in that the (b) second region is provided with (i) a test site in which a ligand for capturing the target antibody to be assayed is immobilized and (ii) a control site in which a ligand for capturing an arbitrary antibody occurring in the sample is immobilized.

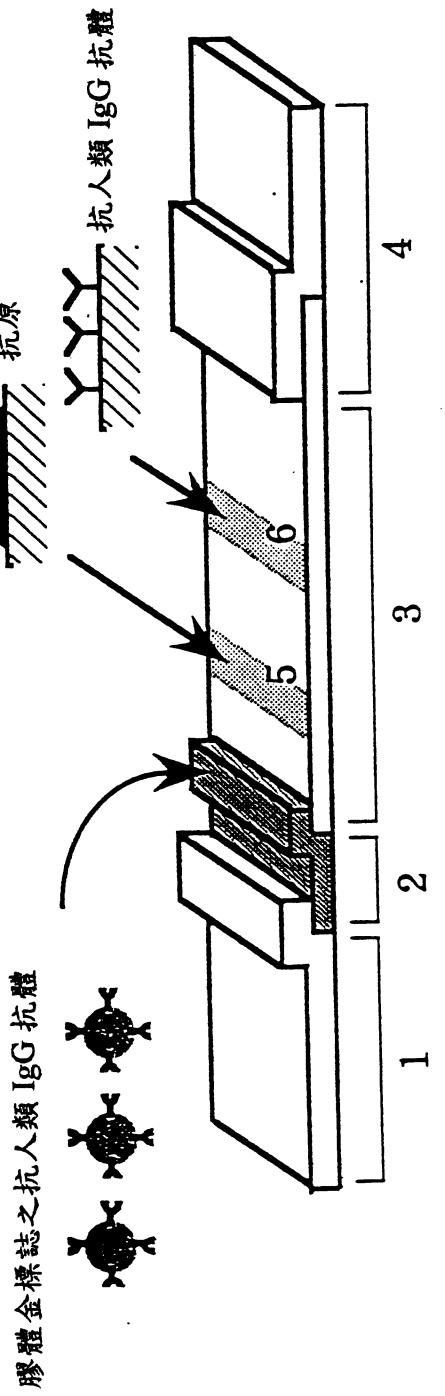
（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄）

裝 訂 線

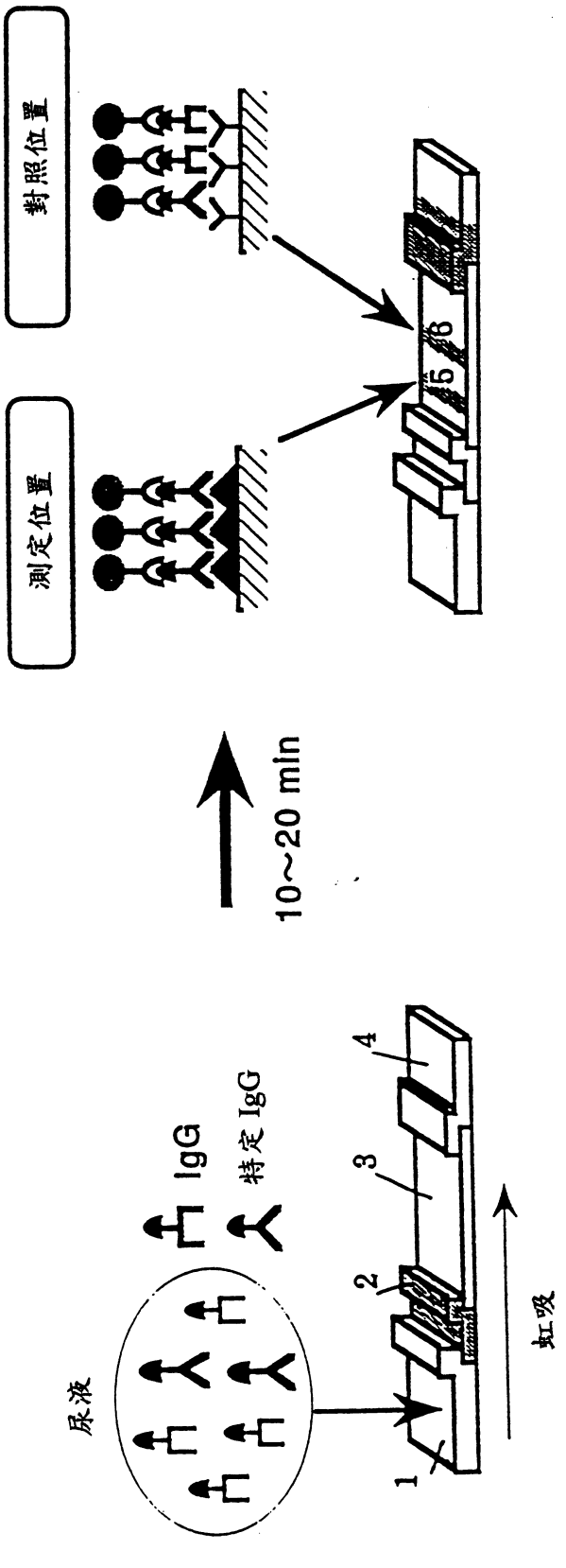
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準（CNS）A4規格（210×297公釐）

第 1 圖

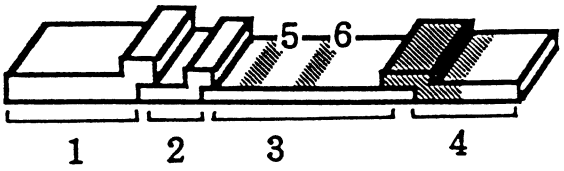


第 2 圖

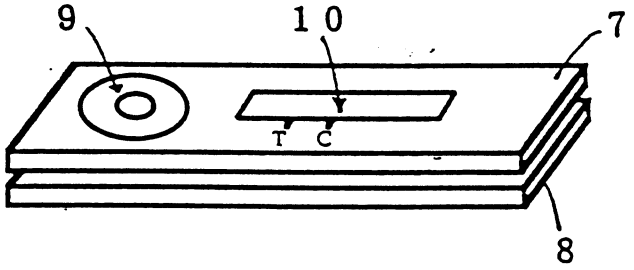


第 3 圖

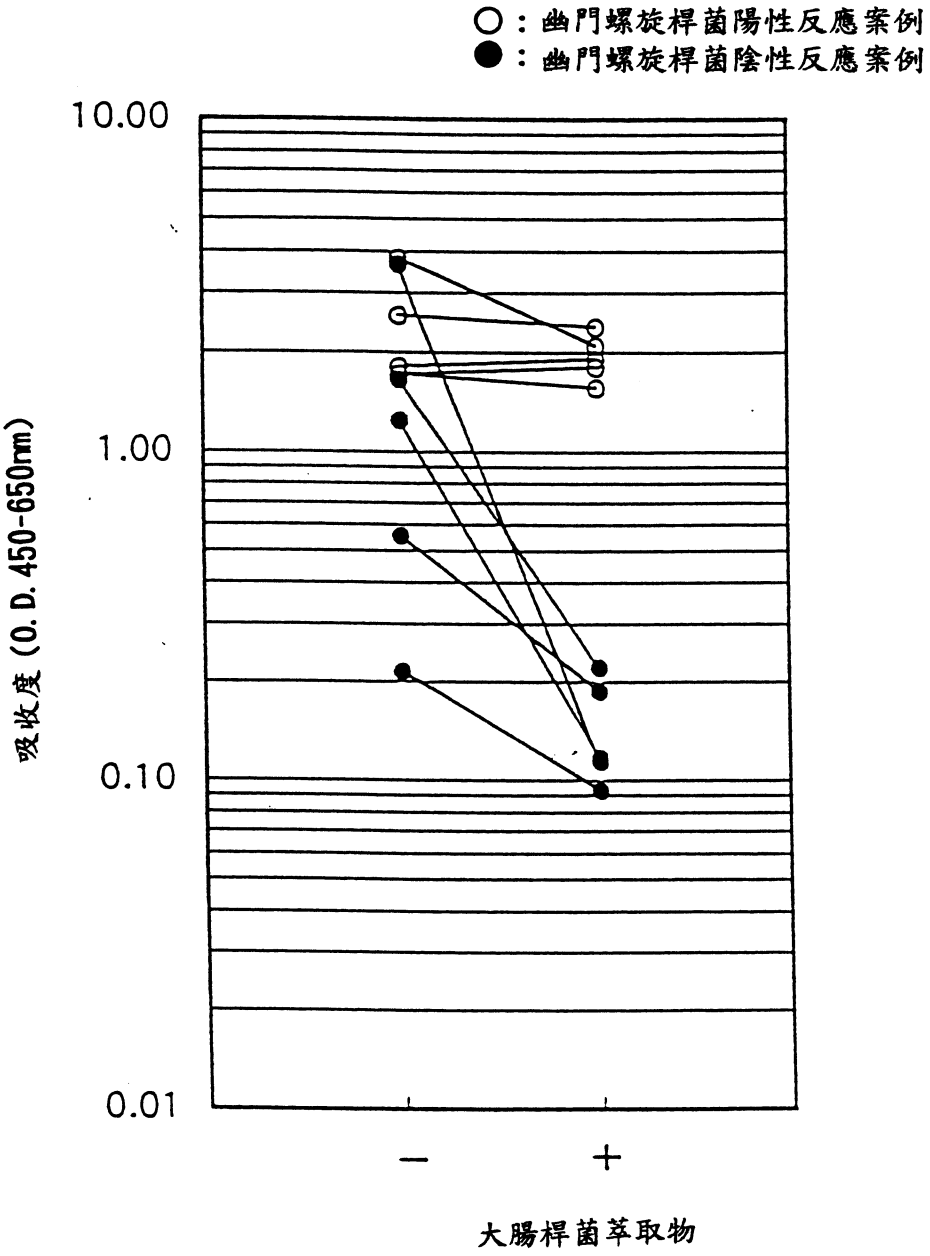
(A)



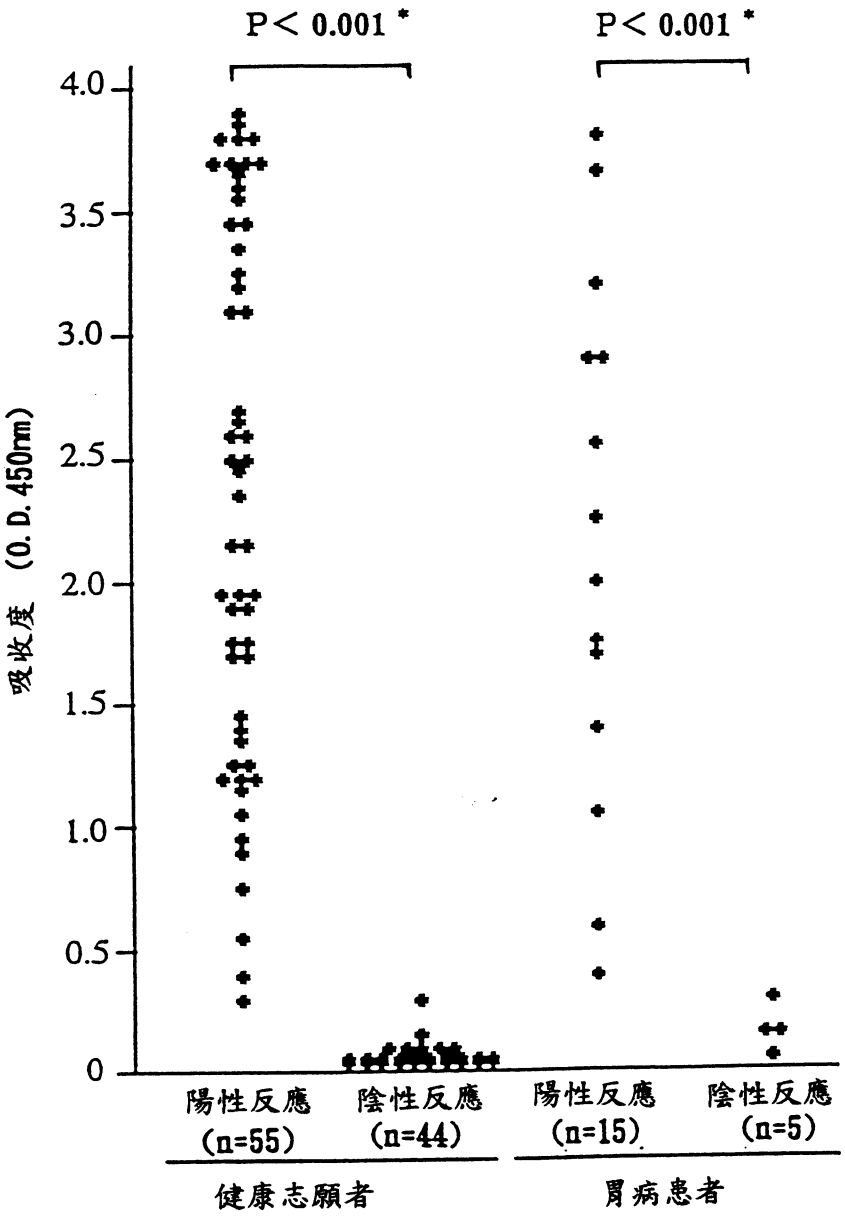
(B)



第 4 圖

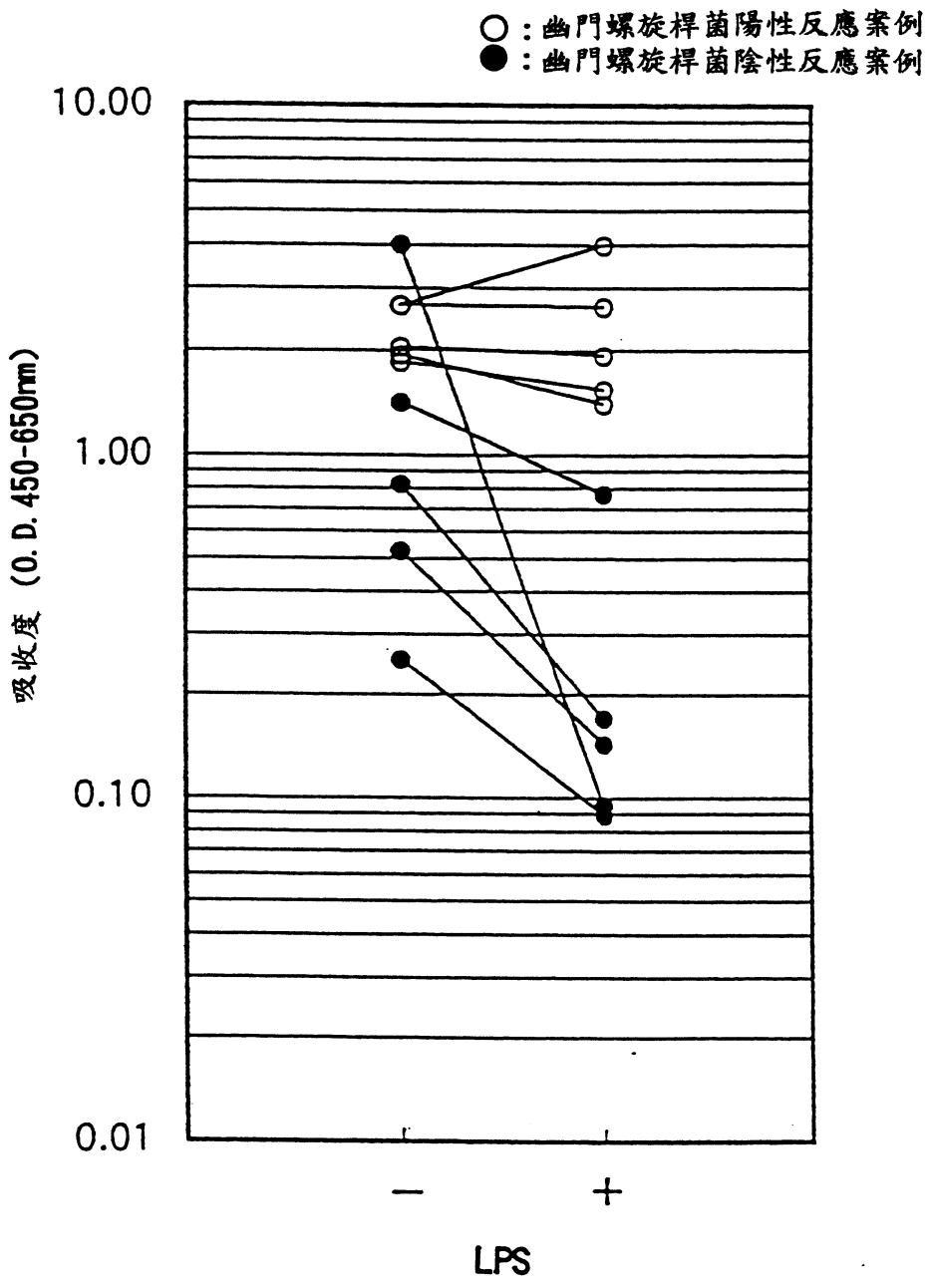

○：幽門螺旋桿菌陽性反應案例
●：幽門螺旋桿菌陰性反應案例
10.00
1.00
0.10
0.01
吸收度 (O.D. 450-650nm)
－
＋
大腸桿菌萃取物

第 5 圖

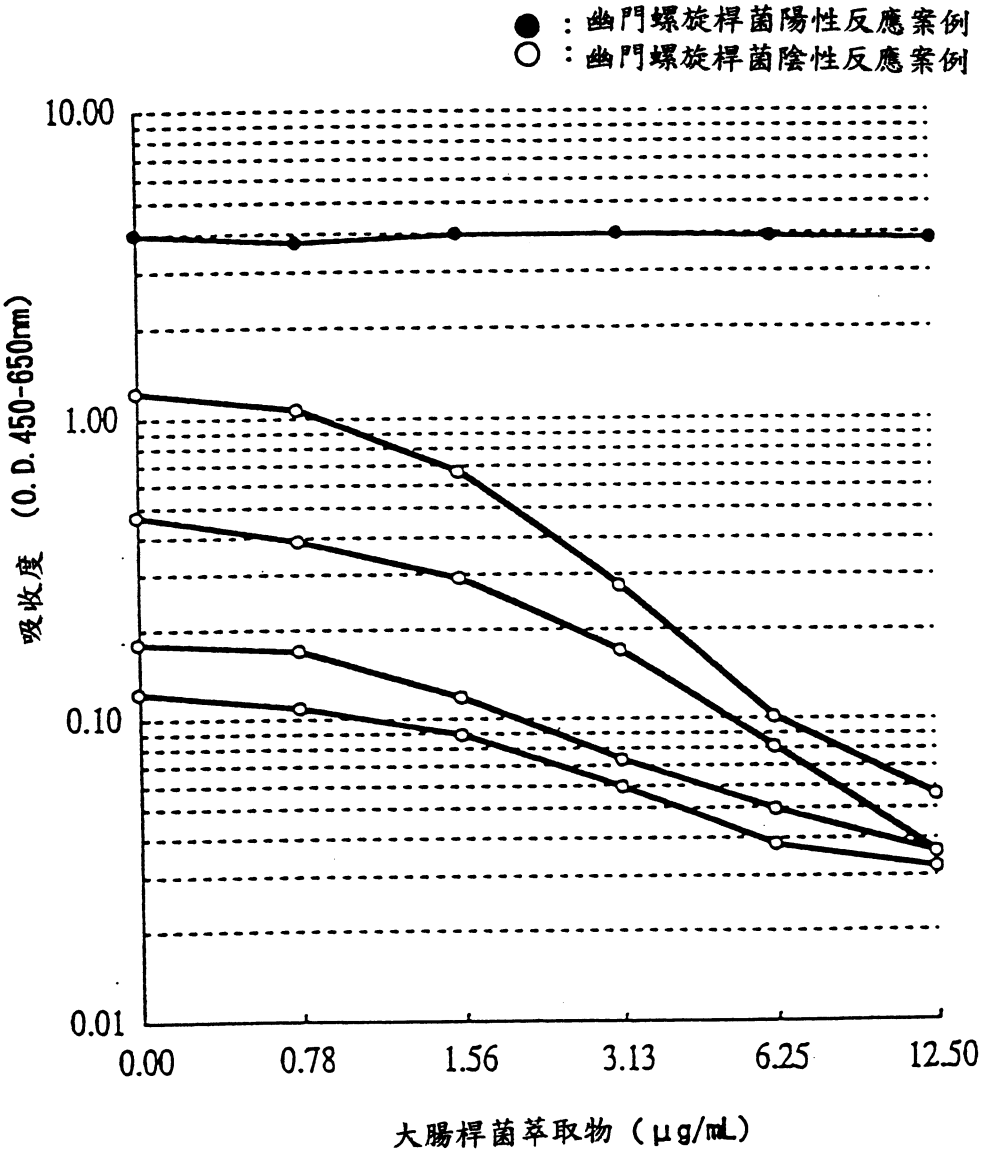


＊ 曼恩-惠特尼 U-測試

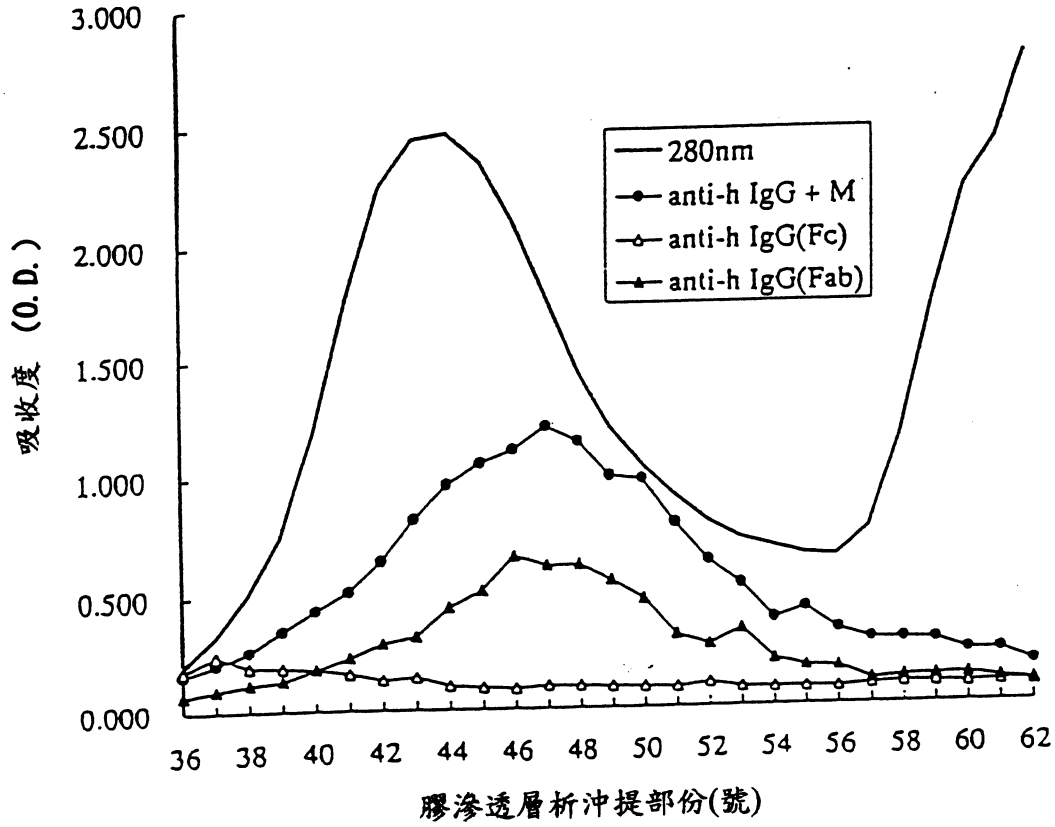
第 6 圖


○：幽門螺旋桿菌陽性反應案例
●：幽門螺旋桿菌陰性反應案例
10.00
1.00
0.10
0.01
吸收度（O.D.450-650nm）
－
＋
LPS

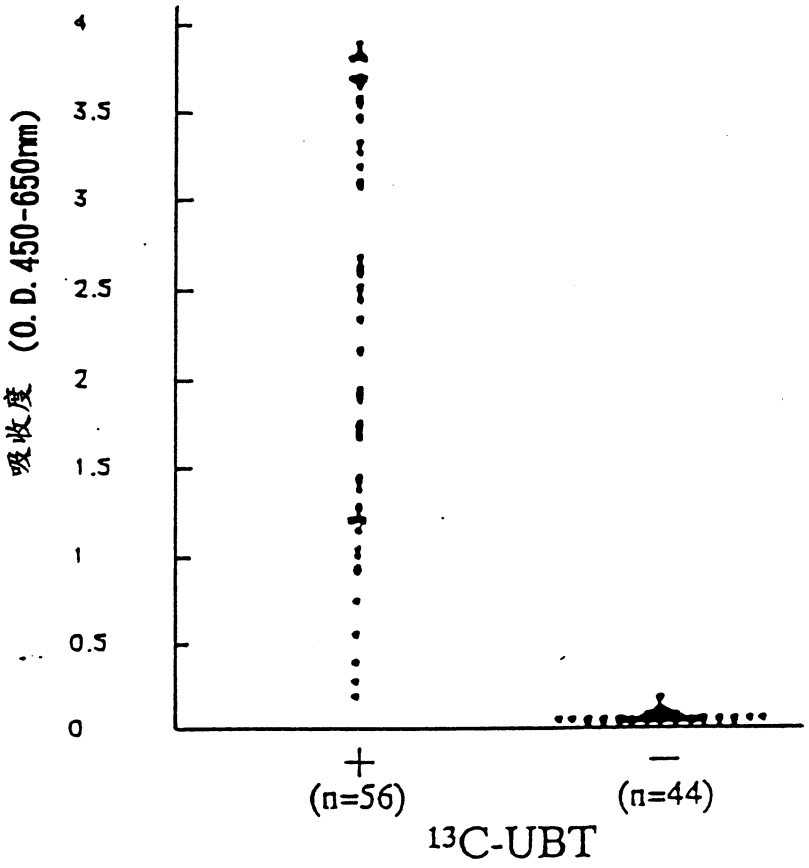
第 7 圖


●：幽門螺旋桿菌陽性反應案例
○：幽門螺旋桿菌陰性反應案例
10.00
1.00
0.10
0.01
吸收度 (O.D.450-650nm)
0.00
0.78
1.56
3.13
6.25
12.50
大腸桿菌萃取物（μg/mL）

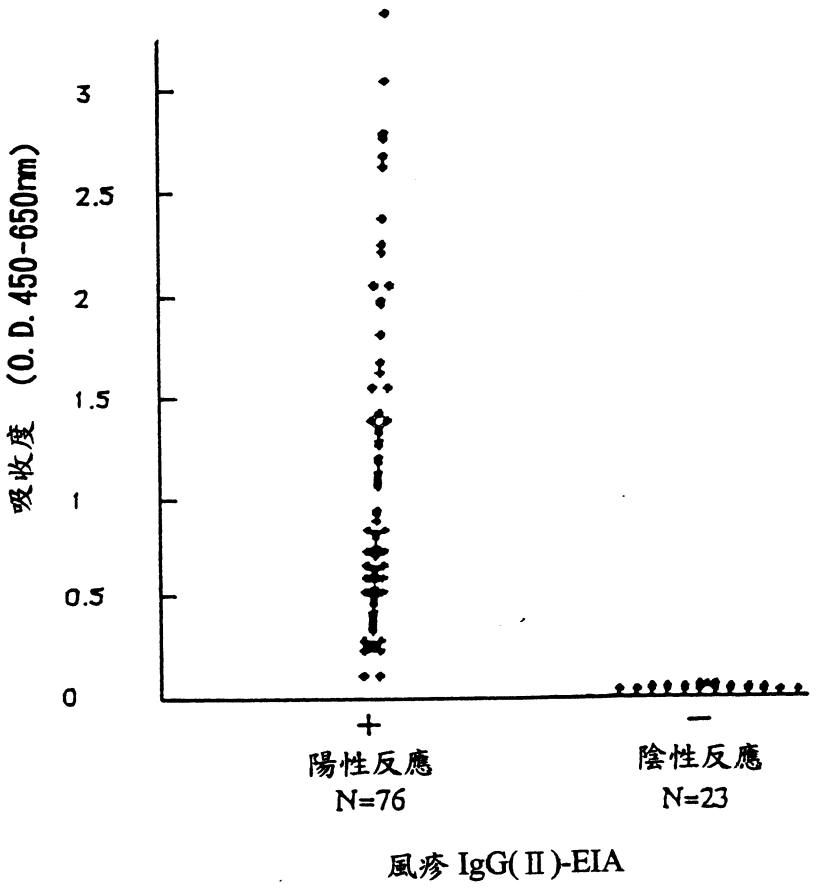
第 8 圖


3.000
2.500
2.000
1.500
1.000
0.500
0.000
吸收度 (O.D.)
280nm
anti-h IgG + M
anti-h IgG(Fc)
anti-h IgG(Fab)
36 38 40 42 44 46 48 50 52 54 56 58 60 62
膠滲透層析沖提部份(號)

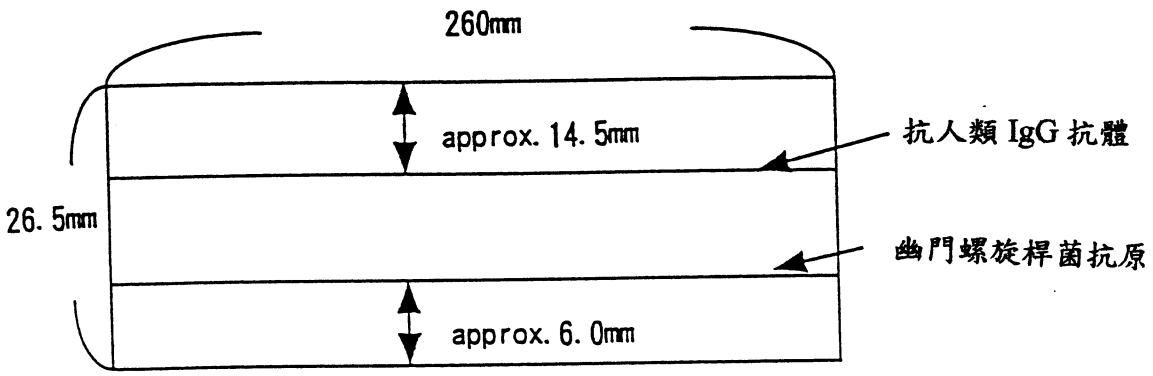
第 9 圖



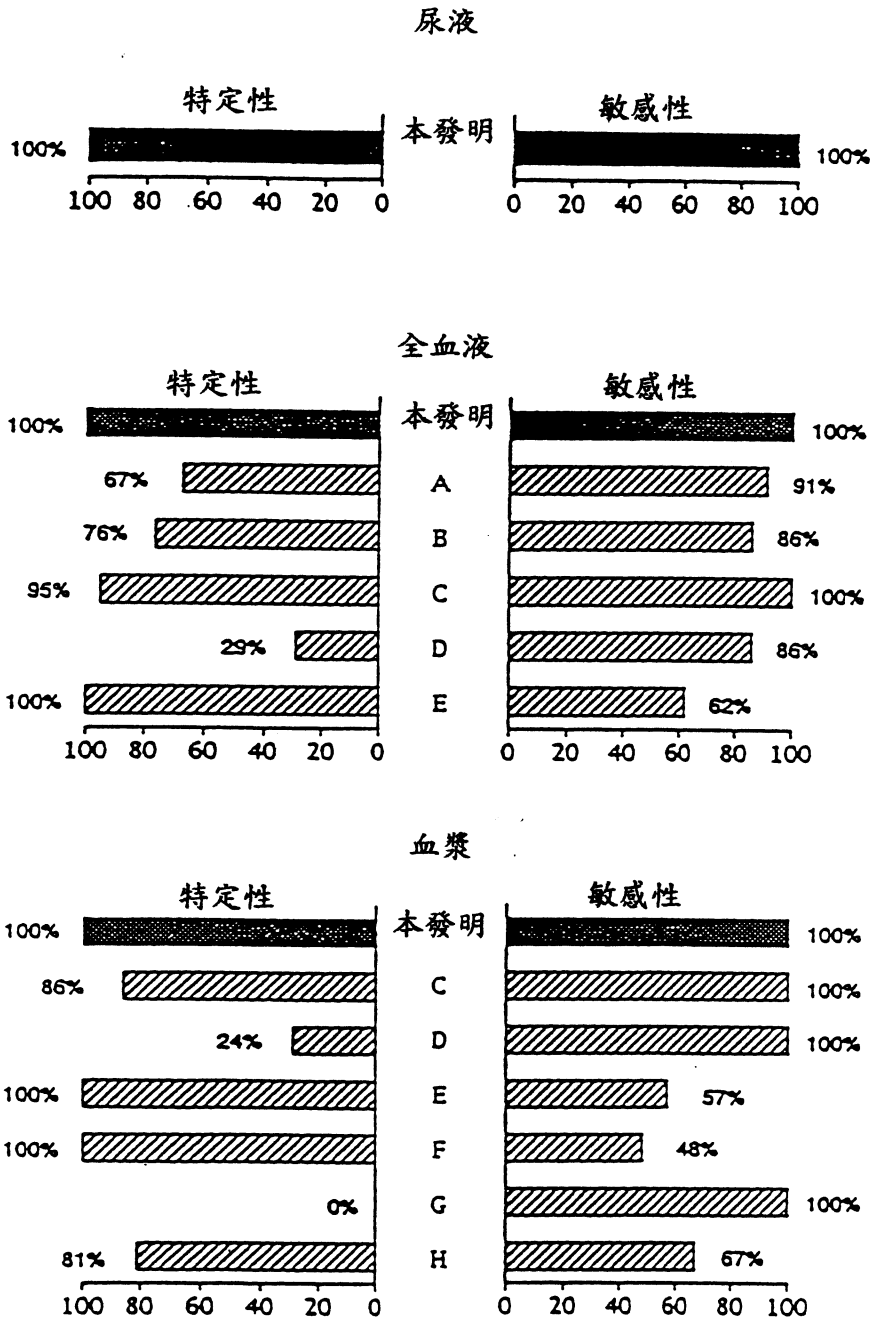
第 1 0 圖



第 1 1 圖



第 1 2 圖


尿液
特定性
敏感性
本發明
100%
100%
100 80 60 40 20 0
0 20 40 60 80 100
全血液
特定性
敏感性
本發明
100%
100%
67%
A
91%
76%
B
86%
95%
C
100%
29%
D
86%
100%
E
62%
100 80 60 40 20 0
0 20 40 60 80 100
血漿
特定性
敏感性
本發明
100%
100%
86%
C
100%
24%
D
100%
100%
E
57%
100%
F
48%
0%
G
100%
81%
H
67%
100 80 60 40 20 0
0 20 40 60 80 100

六、申請專利範圍

第088105845號專利再審查案申請專利範圍修正本

修正日期：94年12月

1. 一種用以在免疫分析法中抑止非專一性反應的方法，其包含：

在尿液樣品上進行免疫分析法，其中該尿液樣品包含一標的抗體，且其中，在該免疫分析法中，

該標的抗體與一分析抗原之間的反應係在一大腸桿菌成份之存在下進行以藉此抑止涉及該分析抗原、該標的抗體或兩者之非專一性反應；且

其中該分析抗原係為病原體、失活化的病原體、藉萃取病原體而製備的抗原或藉化學合成而人工製備的抗原。

2. 如申請專利範圍第1項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該大腸桿菌成份係為擇自大腸桿菌之可溶性分離部份和脂聚醣分離部份之至少一者。

3. 如申請專利範圍第1或2項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該分析抗原係為固定的。

4. 如申請專利範圍第1或2項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該標的抗體係為對抗感染源之抗體，該感染源係選自於由病毒、細菌和原生動物所構成的群組。

5. 如申請專利範圍第1或2項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該標的抗體係為對抗幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)之抗體。

6. 如申請專利範圍第1或2項任一項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該分析抗原來源是擇自於人類免疫缺

六、申請專利範圍

陷病毒、肝炎病毒、風疹病毒、流行性感冒病毒、痲疹病毒、疱疹病毒、細胞巨大性病毒，*Clamydia* spp.、淋球菌、幽門螺旋桿菌及*Toxoplasma gondii*。

7. 如申請專利範圍第1或2項任一項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該分析抗原係擇自於細菌、病毒、原生動物、含有該細菌之抗原決定基的細菌成份、含有該病毒之抗原決定基的病毒成份以及含有該原生動物之抗原決定基的原生動物成份。

8. 如申請專利範圍第1或2項任一項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該分析抗原是幽門螺旋桿菌或一個包含幽門螺旋桿菌之抗原決定基的幽門螺旋桿菌成份。

9. 如申請專利範圍第1或2項任一項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該大腸桿菌成份係選自大腸桿菌蛋白質成份、大腸桿菌碳水化合物成份、大腸桿菌脂質成份及其等之混合物。

10. 如申請專利範圍第1或2項任一項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該免疫分析法係藉由三明治技術進行。

11. 如申請專利範圍第1或2項任一項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該免疫分析法係藉由三明治技術進行且包含使用一種對標的抗體IgG之Fc區域具有專一親和性的受質作為一抗體分析試劑之步驟。

12. 如申請專利範圍第11項之用以抑止非專一性反應的方法，其中該抗體分析試劑是一種Fc-專一性抗IgG抗體。

六、申請專利範圍

13. 一種試劑套組，其包含一用以檢測標的抗體之分析抗原、一抗體分析試劑及大腸桿菌成份，連同進行如申請專利範圍第1至12項任一項所界定之用以抑止非專一性反應的方法的書面說明，其中該分析抗原係為病原體、失活化的病原體、藉萃取病原體而製備的抗原或藉化學合成而人工製備的抗原。

14. 如申請專利範圍第13項之試劑套組，其中該抗體分析試劑係為一受質，該受質對標的抗體IgG之Fc區域具有專一親和性。

15. 如申請專利範圍第14項之試劑套組，其中該抗體分析試劑是一種Fc-專一性抗IgG抗體。

16. 一種用以在免疫分析法中抑止非專一性反應的方法，其包含：

在尿液樣品上進行免疫分析法，其中該尿液樣品包含一標的抗體，且其中，在該免疫分析法中，

該標的抗體與一分析抗原之間的反應係在一大腸桿菌成份之存在下進行以藉此抑止涉及該分析抗原、該標的抗體或兩者之非專一性反應；且

其中該分析抗原係非為使用大腸桿菌作為宿主以重組型DNA技術所產生的抗原。

17. 一種抗體分析裝置，其包含

(1)一個固態擔體，該固態擔體具有至少(a)一個供施加測試樣品的第一區，及(b)一個第二區，其中位在測試樣品中之抗體係以一經安排的順序進行反應如下，該樣

六、申請專利範圍

品係藉由毛細作用而從第一區被運送到第二區，及

(2)一標誌裝置用於檢測第二區中之反應結果，其中

-- 該(b)第二區具有

(i)一測試位址，一用於捕獲欲檢測之標的抗體的配位子被固定於該處，以及(ii)一個對照位址，一用於捕獲位在該樣品中之任意抗體的配位子被固定於該處，

--固定於測試位址之配位子係為病原體、失活化的病原體、藉萃取病原體而製備的抗原或藉化學合成而人工製備的抗原，

--該標的抗體係在大腸桿菌成份之存在下於第二區(b)測試位址(i)進行耦合反應，以及

--該樣品係尿液。

18. 如申請專利範圍第17項之抗體分析裝置，其中該被固定於測試位址之配位子是一種對應於樣品中之標的抗體的抗原。

19. 如申請專利範圍第17項之抗體分析裝置，其中該被固定於對照位址的配位子是一種能捕獲樣品中任意抗體之抗人類免疫球蛋白抗體。

20. 如申請專利範圍第17項之抗體分析裝置，其包含一將被標的抗體和任意抗體二者所結合的標誌配位子，作為該標誌裝置。

21. 如申請專利範圍第17項之抗體分析裝置，其中該標誌裝置為一將被標的抗體和任意抗體二者所結合的標誌配位子，以作為該固態擔體之第二區的可移除式擔載上

六、申請專利範圍

游，其方式為，接觸一樣品時，該標誌裝置會與標的抗體和任意抗體進行反應，而分別形成一標的抗體/標誌配位子複合物以及一任意抗體/標誌配位子複合物，然後藉由毛細作用運送到第二區，在該處，該等複合物分別地被固定於測試位址和對照位址。

22. 如申請專利範圍第21項之抗體分析裝置，其中該標誌配位子被擔載在一介於該固態擔體之第一區與第二區之間的區域(追蹤區)。

23. 如申請專利範圍第21項之抗體分析裝置，其中該將被標的抗體和任意抗體二者結合的標誌配位子是一經標誌的抗人類免疫球蛋白抗體。

24. 如申請專利範圍第23項之抗體分析裝置，其中該抗人類免疫球蛋白抗體為一對於免疫球蛋白G之Fc區域具有專一親和性的抗IgG抗體。

25. 如申請專利範圍第17項之抗體分析裝置，其中該固態擔體更設有一個位在第一區和第二區下游的吸收區，俾使得從第一區被運送到第二區的樣品，能藉由毛細作用再運送到該吸收區。