

382063

申請日期	85. 6. 05.
案 號	85106727
類 別	Int. Cl. 6 G01N 33/493

(以上各欄由本局填註)

公告本

A4
C4

382063

發明專利說明書

一、發明 名稱	中 文	偵測尿中蛋白質之改良方法
	英 文	"IMPROVED METHOD FOR THE DETECTION OF PROTEIN IN URINE"
二、發明 人	姓 名	1. 莎利·E·卡西爾 2. 麥克·J·普吉亞 3. 羅伯·J·雪波
	國 籍	均美國
三、申請人	住、居所	1. 美國密西根州聯合市谷頂街69979號 2. 美國印第安那州葛蘭捷市福斯哈洛廣場51621號 3. 美國印第安那州南班德市賽爾克街4837號
	姓 名 (名稱)	美商拜耳公司
	國 籍	美國
	住、居所 (事務所)	美國印第安那州愛克赫提市馬爾士大道1884號
	代 表 人 姓 名	尤金尼·西蒙納里

裝

訂

線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大類：
I P C分類：

A6

B6

本案已向：

美 國 (地區) 申請專利，申請日期 1995.10.26 案號 :08/548,437，☐有 ☐無主張優先權

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

五、發明說明(1)

發明背景

本申請書為申請案序號08/429,584，1995年4月27日提申之部分接續案。

本發明係關於藉由使用包含一蛋白質誤差指示劑與一緩衝劑之試條偵測尿中蛋白質。更特別地，它關於一特殊緩衝劑之用途，其在本文中稱為"陽離子感測緩衝劑"，當其與典型的緩衝劑系統聯用時有助於減輕高比重(SG)尿液以此方式進行蛋白質含量試驗時觀察到所產生的扭曲效果。

尿液檢體中蛋白質存在之測定對於數種影響腎臟與循環系統以及中樞神經系統之病理狀況的診斷為重要的。往往需要定性地及定量地測量尿中蛋白質。在糖尿病與腎臟疾病之診斷中尤其真確。與糖尿病相關之主要尿蛋白為白蛋白，其為分析中最常找到的蛋白質。

許多用以測定尿中蛋白質存在之方法為已知，其中最方便者包括利用小量尿液浸濕以蛋白質誤差指示劑與緩衝劑加以飽和之吸收性試條。蛋白質誤差指示劑為包含可離子化基團之pH指示劑，該基團在蛋白質存在下會被取代以提供可偵測之顏色變化。此與指示劑在pH改變之影響下進行之顏色改變是相同的，因此將緩衝劑包含於試條中以藉此避免pH升高為重要的，因為在蛋白質不存在下此種增加會引起指示劑的顏色改變而因此產生偽陽性結果。

偽陽性結果之傾向在高SG尿液之試驗時尤其成問題，因為該尿液中存在的緩衝劑掩過試條中的緩衝劑而因此允許pH改變，其導致試驗之尿液檢體在沒有蛋白質存在時卻顯

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

錄

五、發明說明(2)

示出蛋白質存在之指示劑顏色變化。尿中主要的緩衝成分為磷酸鹽，接著是檸檬酸鹽，尿酸，醋酸鹽，甘胺酸及銨。此類偽陽性理當儘可能避免。此一偽陽性情況之實例為尿白蛋白之試驗，其中蛋白質誤差指示劑為四溴酚鹽，TBPB，其在pH 3.7以上時由黃色轉變成藍色。另一個常見的指示劑，DIDNTB，在pH大於2.1時由無色轉變成藍色。隨著前述技藝緩衝劑之使用，加入高SG尿液，其典型地具有5至8之pH值且包含喜好維持高pH之緩衝劑而因此增加試劑系統之pH至大於3.7的程度，會引起導致尿液檢體中蛋白質的偽陽性判讀之顏色變化。

在日本專利申請案編號3-355044中有描述使用鉀鹽類以降低高SG尿液中蛋白質的偽陽性反應傾向。雖然其在此申請書的第5頁敘述機制仍不清楚，此系統可在鉀離子與尿中陽離子敏感成分結合之原則上運作，即使尿中主要成分為不反應性陽離子感測緩衝劑。提到的鉀離子之一為檸檬酸鉀。此文獻亦提到檸檬酸鈉及檸檬酸作為緩衝劑之用途。在美國專利5,279,790之實施例15中有敘述尿蛋白試條之製備，其包含利用蛋白質誤差指示劑與檸檬酸鉀緩衝劑混合物一起將試條紙飽和化。檸檬酸，像大多數的陰離子緩衝劑一樣具有在金屬陽離子存在下釋出一些質子的能力，因此在該陽離子存在下會降低pH值。然而就一陽離子感測緩衝劑而言，為了有利於尿蛋白方法學，當曝露於尿中發現之正常生理學範圍之陽離子時，緩衝劑必須釋出足夠的質子以降低試劑pH，即使在高SG尿液中，對於鉀相當於最大

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂



五、發明說明(3)

值140 mM且對於鈉相當於250 mM。尿中一般發現到的其它陽離子，其造成此現象，為鈣，鎂及銨。檸檬酸不具有足夠的質子釋出能力以在這些陽離子濃度下明顯降低pH。最高尿液緩衝容量為35 meq/pH單位。

蛋白質誤差指示劑試驗應對此程度的緩衝容量具有抗性。高pH(8-9)及高緩衝容量的尿液可移轉檸檬酸鹽緩衝試劑之pH多達0.5單位。結合的Na與K陽離子敏感能力應大於0.5 pH單位。由於高SG尿液之緩衝容量而使試劑pH增加0.5可被來自緩衝劑之陽離子敏感能力之減少試劑pH 0.5所抵消。淨值因為高SG尿液而很少或沒有增加試劑pH。對於酒石酸之結合Na與K陽離子敏感度為0.71且對於檸檬酸僅為0.25。

發明概述

本發明包含一種用以偵測尿中蛋白質之試條的改良，該試條包括利用一緩衝劑與一蛋白質誤差指示劑，其在蛋白質存在下進行顏色改變，之試劑系統加以飽和化之吸收性載體。該改良包括含有一典型緩衝劑與酒石酸結合之緩衝劑系統作為陽離子感測緩衝劑，以促使其能夠在尿中出現之緩衝劑存在下釋出足夠質子之份量進行使用以防止試劑之pH被升高至尿中無明顯量蛋白質時蛋白質誤差指示劑將改變顏色之程度。

發明說明

根據本發明，已發現到用以偵測尿中蛋白質之試條，其對於一般在高SG尿液中找到的緩衝劑類具有明顯增加的抗性，可經由製備包含酒石酸之分析性試條而得到。更明確

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(4)

地，本發明提供醫生一種可靠，簡單與正確的方法以供偵測高SG尿液中之蛋白質。

本發明之一方面係針對用以偵測尿中蛋白質之分析性試條，該試條包括利用一合適的蛋白質誤差指示劑與含有酒石酸的緩衝劑系統加以飽和化之吸收性載體。合適的蛋白質誤差指示劑包括先前提到的那些以及美國專利5,279,790中所揭示的部花青及硝基或亞硝基經取代之多鹵化酚磺酞，其在本文中以參考文獻方式納入。其它合適的蛋白質誤差指示劑包括考馬斯亮藍，Fast Green FCF, Light Green SF，焦棓酚紅及鄰苯二酚紫。試條之吸收性載體為濾紙為佳。可使用作為吸收性載體之其它材料包括毛毯，多孔性陶瓷試片與編織或織結的玻璃纖維，如美國專利3,846,247中所描述的那些。亦適合者為木質，布質，海棉材料以及泥質物質，如美國專利3,552,928中所述者。選擇性地，吸收性載體可為一非多孔性材料，如聚合性薄膜或玻璃。在試條的製備中，其利用蛋白質誤差指示劑與酒石酸作為緩衝劑之溶液加以飽和化。誤差指示劑之濃度並非關鍵，只要它提供含有足夠誤差指示劑之試條以提供蛋白質存在時可偵測之顏色變化。酒石酸之濃度應足夠高到與尿液接觸時，尿中自然出現之緩衝劑存在下其將釋出足夠的質子以防止系統之pH被提升至尿中無明顯量蛋白質存在時蛋白質誤差指示劑將呈現顏色變化之程度。典型地，浸液中50至750 mM(自500至600 mM較佳)之酒石酸濃度將在吸收性材料之浸泡及乾燥後提供包含必需濃度之試條。酒石酸的陽

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

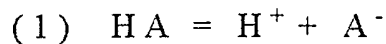
裝

訂

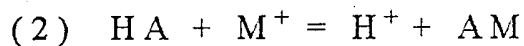
線

五、發明說明(5)

離子敏感能力使得它比典型的緩衝劑更加有效，典型緩衝劑係在溶液pH接近緩衝劑之pKa以及如等式1中發生緩衝劑之鹼性與酸性形式間之平衡狀態時經由釋出質子表現它們的緩衝能力：



另一方面，酒石酸經由感覺陽離子而發揮其緩衝活性，即，當溶液中陽離子存在下質子之釋出以及緩衝劑之酸性形式與陽離子間達平衡狀態如等式2中發生時：



這提供一種較強力的緩衝作用，使得酒石酸與一或更多典型的緩衝劑聯用時，有可能比起酒石酸不存在時相同情形下使用較少量的緩衝劑即達到需要的緩衝容量。類似地，溶液中蛋白質誤差指示劑的濃度將典型地為自0.1至5.0 mM。

試條亦可利用顏色增強聚合物，典型地其為具有自約400至25,000分子量的聚合物，進行飽和化，其同時增加顏色形成的動力學以及蛋白質誤差指示劑的劑量反應。較佳的顏色增強聚合物包括聚丙二醇類，聚碳酸酯類，聚乙烯醚類及聚環氧乙烷類。

雖然蛋白質誤差指示劑/酒石酸被施用至吸收性載體並使用於試條版式為較佳，其中尿液直接與溶液直接接觸之潮濕系統可被使用。如此的潮濕系統將典型地包含0.1至5.0 mM(0.6至1.0 mM較佳)濃度之蛋白質誤差指示劑以及50至750 mM(500至600 mM較佳)濃度之酒石酸。

五、發明說明(6)

本發明進而藉由下列實例加以說明：

實施例I(緩衝劑pKa與質子釋出之相關性)

加入陽離子時質子的釋出係利用草酸加以證實。在此實驗中，陽離子為四甲基脬。此陽離子一般在尿中未被發現，但由於其增強草酸鹽之反應而被選取且，因此，更容易使得質子釋出與陽離子濃度之相關性呈現出來。數據呈現於表1中：

表 1

草酸溶液之pH作為陽離子濃度之函數

陽離子 mM	草酸 mM	溶液pH		陽離子對草 酸之莫耳比
		最初 pH of 0.8	最初 pH of 6	
0	50	0.80	6.22	0.0
10	50	0.79	6.26	0.2
20	50	0.79	6.21	0.4
30	50	0.74	6.21	0.6
40	50	0.69	6.20	1.2
90	50	0.63	6.21	1.8
120	50	0.61	6.26	2.4
150	50	0.61	6.26	3.0

草酸鹽之pKa對第一個羧酸基為1.27且對第二個為4.29。質子之釋出在針對每個羧酸基出現的陽離子數目一旦相等時則停止。鹼金屬及鹼土金屬以及四級銨鹽類亦產生質子之釋出直到針對每個羧酸基出現的陽離子數目相等為止。

實施例II(緩衝劑與蛋白質誤差指示劑染料之相關性)

蛋白質試劑紙確定蛋白質之偵測，其藉由使用蛋白質存在時pH指示劑之誤差。此分析之原則為指示劑染料改變顏色之pH值在蛋白質存在時為較低，其使得顏色在一固定pH時出

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(7)

現。該染料經緩衝至一穩定的pH值，其低得足以防止蛋白質不存在時的變色，但高得足以在蛋白質存在時產生顏色。舉例來說，基於TBPB染料之蛋白質試驗經緩衝至pH 3.7而基於DIDNTB染料之試驗經緩衝至pH 2.1。

就一典型的緩衝劑而言，爲了有利於蛋白質方法學，緩衝劑必須具有在蛋白質試驗之pH範圍內的pKa值。具有pKa在1.80至3.0範圍內之一系列緩衝劑類利用基於DIDNTB染料之蛋白質試劑進行測試(參見表3)。全部的緩衝劑在浸泡於高SG尿液後證明了緩衝容量並維持試劑在0.7 pH單位內。緩衝容量係依據個別的緩衝劑而定，其中最好的緩衝容量被證明爲酒石酸而最差的被觀察到爲馬來酸。

表 2

浸泡於水中及高SG尿液後試劑之pH作爲緩衝劑之函數

緩衝劑	緩衝劑 pK ₁	試劑浸泡於下之pH		試劑pH- 緩衝劑pK ₁	試劑pH 之改變
		水	尿液		
檸檬酸	3.13	2.23	2.47	-0.90	0.24
磷酸	2.15	2.45	2.77	0.30	0.32
檸檬酸	2.29	2.68	2.97	0.39	0.29
二乙醇酸	2.60	2.42	2.64	-0.18	0.22
甘胺鹽甘胺酸	3.22	2.47	2.78	-0.75	0.31
甘胺酸	2.34	2.44	2.72	0.10	0.28
馬來酸	1.91	2.39	3.00	0.48	0.61
蘋果酸	3.40	2.38	2.86	-1.02	0.48
離胺酸	2.18	2.40	2.87	0.22	0.47
酒石酸	3.04	2.33	2.47	-0.71	0.14
肌胺酸	2.12	2.68	2.97	0.56	0.29
甜菜鹼	1.80	2.13	2.51	0.33	0.38

由於酒石酸呈現pH中最小的改變，它是此實驗中特選的緩衝劑。因爲此改變低得足以防止蛋白質不存在時的顏色

五、發明說明(8)

形成而顯得重要。加入陽離子時質子的釋出僅在最初pH值低於或接近緩衝劑pKa之溶液中被觀察到。爲了一陽離子反應之進行，緩衝劑必須爲部分地或完全地質子化。所需酒石酸鹽之濃度爲，理所當然地，依據其質子化的程度而定。完全質子化之緩衝劑將沒有任何反應。因此，試驗pH與緩衝劑pKa間的關係需要具有pKa接近或大於試劑pH之緩衝劑。表3中的所有緩衝劑類均在右邊條件下，即1.8至3.0之pKa值，其大於或接近試劑pH以供使用DIDNTB染料，pH 2.1之蛋白質試驗中的陽離子感應。

緩衝劑類典型地在其pKa接近被緩衝之pH，即當緩衝容量爲最大時，作用最好。然而，如從表3可加以測定，具有相似pKa，在試驗pH之一pH單位內的一組緩衝劑類具有很大差異的效果。效果被定義爲調配物不含蛋白質之高SG尿液接觸後之最小pH變化。伴隨酒石酸之pH變化僅爲0.14而其它緩衝劑類呈現自0.22至0.61之pH改變。所使用的全部緩衝劑類針對緩衝容量具有可接受的pKa值，因此差異性可藉由檢視緩衝劑之陽離子敏感能力加以解釋。試劑pH中的改變代表緩衝容量與陽離子敏感活性之結合效果。

包含酒石酸之蛋白質試劑的改良緩衝容量可藉由KCl溶液降低蛋白質試劑pH之發現加以解釋(參見表3)。包含甜菜鹼緩衝劑之蛋白質試劑並不具反應性且檸檬酸鹽緩衝劑僅具些微的反應性。因此，可了解到甜菜鹼及檸檬酸鹽不是陽離子敏感的。伴隨曝露於酒石酸有0.63單位pH的減低而甜菜鹼及檸檬酸鹽事實上不呈現pH減低，因爲它們無法

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(9)

作為陽離子感測緩衝劑類。如表2所示，不同的陽離子敏感能力解釋了被預期以相似方式作用之緩衝劑類間緩衝容量中的差異。

表 3

浸泡於陽離子溶液後蛋白試劑之pH值

陽離子	陽離子 mM	試劑 pH	試劑 緩衝劑
無	0	2.14	酒石酸
KCl	50	1.97	酒石酸
KCl	140	1.51	酒石酸
MgCl ₂	10	2.15	酒石酸
CaCl ₂	10	2.08	酒石酸
無	0	3.56	檸檬酸鹽
KCl	50	3.53	檸檬酸鹽
KCl	140	3.44	檸檬酸鹽
MgCl ₂	10	3.50	檸檬酸鹽
CaCl ₂	10	3.50	檸檬酸鹽
無	0	2.04	甜菜鹼
KCl	140	2.02	甜菜鹼

大多數的陰離子緩衝劑類擁有一些質子釋出給陽離子。然而就一陽離子感測緩衝劑而言，為了有利於尿蛋白方法學，緩衝劑必須在正常生理學範圍內曝露於陽離子時釋出足夠的質子以降低試劑之pH。當曝露於高SG尿液中的典型KCl濃度(140 mM)時，酒石酸產生0.6 pH單位降低之反應。酒石酸緩衝劑之陽離子敏感能力進而藉由將試劑浸泡於含有140 mM鉀之高SG臨床尿液後pH掉下1.80而浸泡於含有41 mM鉀之臨床尿液後2.28的試劑pH得到證明。

本發明中有利的陽離子敏感劑類被限制為那些具有pKa接近或大於試劑pH者，其在正常生理學範圍下對尿中的陽

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(10)

離子有反應且其提供pH減低而能夠抵消尿液之緩衝容量。
只有酒石酸已被證明能表現這些特性。

實施例III

施行其中酒石酸(作為陽離子敏感劑)與典型緩衝劑(檸檬酸)分開地以及組合方式進行測試之實驗。該試驗係使用如實施例1中所述之蛋白質試劑施行，伴隨使用表面PM電極及pH計加以測定試劑條浸泡於水中及高SG尿液後之試劑pH定。水及高SG尿液間之pH差異以試劑中pH改變之方式顯示於下。

此實驗之結果陳列於表4。

表 4

檸檬酸 (緩衝劑) 濃度	酒石酸 (陽離子敏感劑) 濃度	試劑pH 之改變
0 mM	150 mM	0.49
475 mM	0 mM	0.37
475 mM	150 mM	0.13
625 mM	0 mM	0.24

從表4可測定出作為陽離子敏感劑之150 mM酒石酸與如475 mM檸檬酸之非-陽離子感測緩衝劑之結合要比其個別本身更加有效。未預期到的是將150 mM酒石酸加至475 mM檸檬酸將產生比625 mM檸檬酸更佳的SG抗性。150 mM酒石酸濃度太低以致無法有效緩衝對抗如本實驗中所使用之高SG尿液。因此，可了解到酒石酸的緩衝能力並非控制pH所依賴者，但取而代之的是，陽離子敏感活性才是酒石酸與典型緩衝劑結合時在控制pH中極優效能的關鍵。

五、發明說明 (11)

以相較於個別藥劑本身較小量形式結與典型，非-陽離子感測緩衝劑結合之酒石酸的能力為重要的，因為任何緩衝劑的較高濃度會降低蛋白質反應。降低的蛋白質反應將意謂病理蛋白質水平將不被偵測到。此改良不受限於檸檬酸作為非-陽離子感測緩衝劑，因為其它緩衝劑類，舉例來說，甜菜鹼，磷酸，馬來酸，二乙醇酸及檸檬酸，將被預期提供相似的結果。

當使酒石酸與非-陽離子感測緩衝劑結合時，酒石酸對緩衝劑之莫耳比將為典型地自 25 mM:700 mM 至 200 mM:100 mM，約 150 mM:475 mM 之比例為較佳。酒石酸之陽離子敏感活性在非-陽離子感測緩衝劑不存在時可作用，但使用此一緩衝劑與酒石酸結合為較佳，因為典型緩衝劑不依賴溶液中出現的陽離子而釋出質子。這促成低鹽尿中的緩衝且使得試劑的 pH 較接近陽離子敏感性酒石酸可為有效之範圍。
實施例 IV (用以製備蛋白試劑實施例之步驟)

本發明之改良蛋白試劑可自兩次序列性飽和濾紙而製備。第一次飽和係利用包含酒石酸與如檸檬酸之緩衝劑，以及如甲基藍紅之背景染料之水性混合物進行。該混合物使用氫氧化鈉及/或鹽酸加以調整至 pH 2.1。第二次飽和包括甲苯混合物，其含有如 DIDNTB 之蛋白質指示劑染料以及像 Lutanol M40，其為一聚(乙烯基甲基醚)，之聚合物。功能，較佳濃度及操作濃度之範圍被陳列於表 5 中。混合溶液被使用來飽和試條材料，如 Ahlstrom 204 或 237 之濾紙，第一次飽和後在其上濾紙以 95°C 進行乾燥達 5 分鐘且第

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(12)

二次飽和後以85°C進行達5分鐘。產生的乾燥試劑被加工成爲試條，其進行視覺試驗。

表 5

蛋白試劑組合物

要素	功用	使用之較佳濃度	可容許之範圍
第1次施用			
水	溶劑	1000 mL	---
酒石酸	陽離子感測緩衝劑	93.8 g (625 mM)	50-750 mM
脘紅	背景染料	8.6 mg (12 μ M)	5-30 μ M
第2次施用			
甲苯	溶液	1000 mL	---
DIDNTB	緩衝劑	0.61 g (0.6 mM)	0.1-3.0 mM
Lutonal M40	聚合物增強劑	1.0 g	0.5-4 g/L

DIDNTB=5',5"-二硝基-3',3"-二碘-3,4,5,6-四溴酚磺酞

實施例 V (緩衝劑與背景染料之相關性)

試劑調配物往往採用背景染料以達到試驗水平間較佳的視覺差異。舉例來說，爲了遮蓋正常水平蛋白質之偵測以減低試驗之敏感度，基於DIDNTB作爲染料指示劑，其經歷無色至藍色之轉換，之蛋白質試驗需要一個紅色的背景染料以改變顏色轉換從粉紅色至藍色，因爲弱藍色相對白色可容易地加以偵測，但在紅色背景下則否。背景染料對於尿液成分應爲惰性的且提供一恆定的反應。惰性物與背景染料間的差異可藉由表6中陳列之惰性甲基紅與反應性脘紅的比較加以證明。

脘紅爲pH及光線敏感的；其顏色轉換爲自pH 1.4時的無色及，隨著pH增加至3.4，在pH 3.4時形成具有最大吸光度之不同色調的紅色。脘紅之pKa 2.1是在基於DIDNTB染料

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂



五、發明說明 (13)

之蛋白質試驗之pH。

表 6

蛋白試劑組合物中的背景染料

背景染料	pH	λ 最大值	光線	CLINITEK-200 陰性	反應度 陽性
胍紅	1.7	528 nm	未曝露	1006	694
胍紅	2.1	528 nm	未曝露	1005	525
胍紅	2.1	528 nm	曝露	953	497

陽性水平為30毫克/百升白蛋白。光線曝露於105 ft-蠟燭達35分鐘。

甲基紅既非pH敏感亦非光線敏感。在曝露於影響胍紅染料之光線條件後沒有觀察到反應度上的改變。甲基紅顏色轉換為自pH 4.2時的紅色至pH 6.4時的黃色。甲基紅，pKa 5.2，防止由pH 2引起之背景染料中的改變，因此為一較佳的染料。諸如FD&C紅色#3及Acid紅色#40之其它惰性染料亦可被使用。

實施例 VI

表2中列舉之緩衝劑類的陽離子敏感能力進行測量且陳列於以下表7中：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂



五、發明說明(14)

表 7

緩衝劑	加入以下後pH之變化	
	KCl	NaCl
酒石酸	-0.50	-0.21
檸檬酸	-0.70	-0.16
甘胺酸	-0.03	0.03
磷酸	-0.08	-0.12
馬來酸	-0.05	-0.13
蘋果酸	-0.06	-0.14
	0.00	-0.02
甜菜鹼	0.00	-0.05

此實驗測量500 mM緩衝劑溶液在加入140 mM KCl或250 mM NaCl後pH中的變化。這些商業濃度是以最高尿液值形式採用，即人類尿液中預期之最高生理學濃度。表7之數據證明酒石酸對於試驗緩衝劑類之陽離子最具反應性。表3中之數據係使用相似方式加以製備及試驗之乾燥試劑所得到。其它試驗之緩衝劑類對於陽離子敏感並不有利。草酸鹽證明陽離子反應(表1)，但此反應對於本發明中的應用而言不夠大。

四、中文發明摘要(發明之名稱:偵測尿中蛋白質之改良方法)

本發明係揭示一種用於偵測尿中蛋白質之改良試驗，其係使用包含緩衝劑與蛋白質誤差指示劑之試劑系統。該方法包括使用酒石酸作為陽離子感測緩衝劑，其與非-陽離子感測緩衝劑聯用作為緩衝劑系統，以降低使用較少的總緩衝物質時偽陽性結果之發生率。

英文發明摘要(發明之名稱:"IMPROVED METHOD FOR THE DETECTION OF PROTEIN IN URINE")

Disclosed is an improved test for the detection of protein in urine by the use of a reagent system containing a buffer and a protein error indicator. The method involves the use of tartaric acid as cation sensing buffer in combination with a non-cation sensing buffer as the buffer system in order to reduce the incidence of false positive results while using less total buffering material.

382063

第 85106727 號專利申請案

中文申請專利範圍修正本(88年2月)

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

年 月 日 修正
88. 2. 24 補充

公 告 本

1. 一種用以偵測尿中蛋白質之試條，其包括使一種吸收性載體浸泡於含有緩衝劑以及在蛋白質存在下會改變顏色之蛋白質誤差指示劑之試劑系統中，其改良處包括在試劑系統中使用酒石酸作為陽離子感測劑與非-陽離子感測緩衝劑組合作為緩衝劑，其用量能夠防止試劑系統pH升高至蛋白質誤差指示劑在尿中無顯著量蛋白質時將改變顏色之程度，其中酒石酸之份量為吸收性載體在浸入含有50至750 mM酒石酸濃度及非-陽離子感測緩衝劑溶液後之殘餘量，且非-陽離子感測緩衝劑之份量為吸收性載體在浸入酒石酸與非-陽離子感測緩衝劑之比例自25 mM:700 mM至200 mM:100 mM之相同溶液後之殘留量。
2. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中酒石酸及非-陽離子感測緩衝劑以足夠濃度存在，使得當試劑系統接觸到含有140 mM濃度鉀離子之尿液時可降低試劑系統pH達至少約0.5 pH單位。
3. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中蛋白質誤差指示劑為四溴酚藍或5',5"-二硝基-3,3"-二碘-3,4,5,6-四溴酚磺酞。
4. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中吸收性載體為濾紙。
5. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中試劑系統中之蛋白質誤差指示劑之份量為吸收性載體浸入具有0.1至5.0 mM指示劑濃度之指示劑溶液後在吸收性載體中之殘餘

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

382063

第 85106727 號專利申請案

中文申請專利範圍修正本(88年2月)

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍

年 月 日 修正
88. 2. 24 補充

公 告 本

1. 一種用以偵測尿中蛋白質之試條，其包括使一種吸收性載體浸泡於含有緩衝劑以及在蛋白質存在下會改變顏色之蛋白質誤差指示劑之試劑系統中，其改良處包括在試劑系統中使用酒石酸作為陽離子感測劑與非-陽離子感測緩衝劑組合作為緩衝劑，其用量能夠防止試劑系統pH升高至蛋白質誤差指示劑在尿中無顯著量蛋白質時將改變顏色之程度，其中酒石酸之份量為吸收性載體在浸入含有50至750 mM酒石酸濃度及非-陽離子感測緩衝劑溶液後之殘餘量，且非-陽離子感測緩衝劑之份量為吸收性載體在浸入酒石酸與非-陽離子感測緩衝劑之比例自25 mM:700 mM至200 mM:100 mM之相同溶液後之殘留量。
2. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中酒石酸及非-陽離子感測緩衝劑以足夠濃度存在，使得當試劑系統接觸到含有140 mM濃度鉀離子之尿液時可降低試劑系統pH達至少約0.5 pH單位。
3. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中蛋白質誤差指示劑為四溴酚藍或5',5"-二硝基-3,3"-二碘-3,4,5,6-四溴酚磺酞。
4. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中吸收性載體為濾紙。
5. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中試劑系統中之蛋白質誤差指示劑之份量為吸收性載體浸入具有0.1至5.0 mM指示劑濃度之指示劑溶液後在吸收性載體中之殘餘

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍

量。

6. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中酒石酸之濃度為自500至600 mM。
7. 根據申請專利範圍第6項之試條，其中比例約為約150 mM:475 mM。
8. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中酒石酸為二質子化。
9. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中酒石酸為單質子化。
10. 根據申請專利範圍第1項之試條，其中試劑系統中包含一種背景染料。
11. 根據申請專利範圍第10項之試條，其中背景染料為選擇自對pH或光線不敏感之染料。
12. 根據申請專利範圍第10項之試條，其中背景染料為甲基紅，FD&C紅色#3或Acid紅色#40。
13. 一種用於尿中蛋白質之試驗方法，其包括下示之步驟：
 - a) 將尿液樣本與試條之吸收物質接觸，該吸收物質已於其中吸附緩衝劑系統及蛋白質誤差指示劑，其中該緩衝劑系統包含酒石酸及非-陽離子感測緩衝劑，其中酒石酸之份量為吸收物質在浸入含有50至750 mM酒石酸濃度及非-陽離子感測緩衝劑溶液後之殘餘量，且非-陽離子感測緩衝劑之份量為吸收物質在浸入酒石酸與非-陽離子感測緩衝劑之比例自25 mM:700 mM至200 mM:100 mM之相同溶液後之殘留量，當尿液中出現蛋

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍

- 白質，則會造成蛋白質誤差指示劑改變顏色；及
- b) 定義蛋白質誤差指示劑之顏色變化與經測試尿液樣本中蛋白質濃度之關連性。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線