



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I640351 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 11 月 11 日

(21)申請案號：106109268

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 03 月 21 日

(51)Int. Cl.：

**B01D29/88 (2006.01)****B01D35/30 (2006.01)****B01L3/14 (2006.01)****G01N33/68 (2006.01)****G01N30/06 (2006.01)****C12Q1/37 (2006.01)**

(30)優先權：2016/06/30

世界智慧財產權組織

PCT/JP2016/069554

(71)申請人：日商島津製作所股份有限公司(日本) SHIMADZU CORPORATION (JP)

日本

(72)發明人：岩本典子 IWAMOTO, NORIKO (JP)；高梨惠 TAKANASHI, MEGUMI (JP)；嶋田

崇史 SHIMADA, TAKASHI (JP)

(74)代理人：葉璟宗；鄭婷文；詹富閔

(56)參考文獻：

TW 200716246A

JP 2009-510398A

JP 2015-509703A

審查人員：張耕誌

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：8 共 44 頁

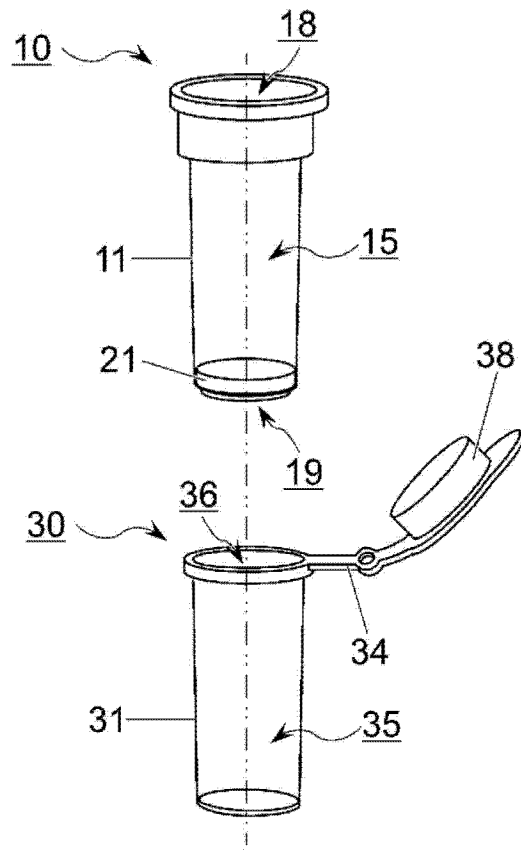
(54)名稱

容器組以及分析用試料的調製方法

(57)摘要

容器組包含過濾單元(10)及能夠裝卸於過濾單元的閉鎖單元(30)。過濾單元包括：框體(11)，其一端設置有試料導入開口(18)，其另一端設置有液體排出開口(19)；以及過濾器(21)，固定於框體。過濾單元的框體具有第一接合部，閉鎖單元具有以能夠與第一接合部接合的方式構成的第二接合部。在第一接合部及第二接合部構成為兩者接合的狀態下，液體排出開口在空間上被閉鎖。以使兩者的距離縮短的方式而推入過濾單元與閉鎖單元，藉此，閉鎖單元與過濾器之間的空間相對於試料收容空間達到正壓。

指定代表圖：



符號簡單說明：

- 10 . . . 過濾單元
- 11 . . . 框體
- 15 . . . 試料收容空間
- 18 . . . 試料導入開口
- 19 . . . 液體排出開口
- 21 . . . 過濾器
- 30 . . . 閉鎖單元
- 31 . . . 本體部
- 34 . . . 鉸鏈
- 35 . . . 空間
- 36 . . . 接合用開口
- 38 . . . 蓋

【圖1】

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 容器組以及分析用試料的調製方法

【技術領域】

【0001】 本發明是有關於一種容器組以及使用該容器組的分析用試料的調製方法。

【先前技術】

【0002】 離心過濾能夠藉由使液體透過過濾器來分離固體與液體，因此，固液分離性優異。將如下容器組（離心過濾套組）用於離心過濾，該容器組（離心過濾套組）組合有用以裝填試料的過濾單元、與用以將透過過濾單元的過濾器後的液體（濾液）予以回收的回收容器。回收容器具有能夠裝填於離心分離機的外形狀，在將過濾單元與回收容器加以組合的狀態下進行離心分離，藉此，能夠將試料中的液體成分回收至回收容器內。

【0003】 例如在液體層析法（liquid chromatography）用試料的預處理中，為了從試料中除去粒子或沈澱物等固體成分，使用了注射器過濾或離心過濾。過濾後的濾液直接被用作試料。

【0004】 亦能夠將離心過濾應用於結合於固體表面的成分（Bond）與未結合於固體表面的成分（Free）的分離（B/F分離）。例如在酶素免疫吸附法（Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay，ELISA）等免疫測定法中，為了分離結合於抗體的抗原（Bond）、

與未結合於抗體的抗原及其他夾雜成分 (Free) 而進行 B/F 分離。在對象試料固定於固體表面的情況下，於離心過濾之後，回收過濾器上所殘存的固體。藉此，對象試料選擇性地固定於固體表面，未固定於固體表面的夾雜成分作為濾液而被除去。過濾單元內所殘存的固定有對象物質的固體成分藉由恰當的方法而被回收。例如，只要將液體添加至過濾單元而使固體成分懸浮，且藉由移液管 (pipette) 來回收該懸浮液即可。

【0005】 作為利用 B/F 分離的試料調製方法的例子，除了所述免疫測定法之外，亦可列舉如下方法 (奈米表面分子導向限制性蛋白分解 (nano-Surface and Molecular-Orientation Limited proteolysis): nSMOL 法)，即，藉由與固定於奈米粒子表面的蛋白酶 (protease) 之間的反應，位置選擇性地將蛋白質切斷而產生肽斷片 (peptide fragment) (例如專利文獻 1、非專利文獻 1 及非專利文獻 2)。

【0006】 圖 8 是利用 nSMOL 法進行的試料調製及分析的流程圖。首先，準備能夠選擇性地固定抗體等分析對象物質的多孔體 (S10)。例如，由蛋白質 A 或蛋白質 G 等包覆的多孔體選擇性地與抗體的 Fc 區域結合。將血液等檢體添加至多孔體的懸浮液之後，抗體等分析對象物質會選擇性地固定至多孔體的細孔內 (S11)。

【0007】 在多孔體的表面附著有膜蛋白質等多種多樣的夾雜物。為了溶解除去這些夾雜物，藉由包含界面活性劑的溶液進行

洗淨 (S21)。藉由離心過濾來分離洗淨後的固體 (多孔體) 與包含界面活性劑的溶液 (S22)。然後, 為了除去界面活性劑, 藉由磷酸鹽緩衝液 (Phosphate Buffered Saline, PBS) 等洗淨液進行洗淨 (S23)。藉由離心過濾來分離洗淨後的固體與洗淨液 (S24)。

**【0008】** 準備在奈米尺寸的微粒子表面固定有胰蛋白酶 (trypsin) 等蛋白酶的蛋白酶固定微粒子, 在液體中, 使該蛋白酶固定微粒子與所述固體接觸 (S31)。在表面固定有抗體等對象物質的多孔體與蛋白酶固定微粒子共存於液體中的狀態下, 例如以 35°C ~ 60°C 的溫度進行 3 小時 ~ 30 小時左右的培養 (incubation), 藉此進行蛋白酶消化 (protease digestion) (S32)。位置選擇性地被蛋白酶切斷所得的肽斷片在液體中游離。

**【0009】** 在微粒子的粒徑大於多孔體的細孔徑的情況下, 固定於微粒子表面的蛋白酶能夠出入於多孔體的細孔的表層附近 (多孔體與液相的界面附近), 但無法出入於細孔的縱深位置。因此, 蛋白酶選擇性地出入於固定有多孔體的細孔內的蛋白質的特定部位, 進行位置選擇性切斷。

**【0010】** 在培養之後, 將游離有因蛋白酶消化而產生的肽斷片的液體回收 (S41), 藉由液相層析質譜法 (liquid chromatography/mass spectrometry, LC-MS) 等分析來對蛋白質進行鑑定及定量 (S51)。

**【0011】** 在所述方法中, 分析對象的蛋白質位置選擇性地被蛋白酶消化, 因此, 液體試料中所含的肽的種類少。例如在抗體結合於多孔體的情況下, 蛋白酶朝向與多孔體結合的結合部位即抗體

Fc 區域的出入受到限制，因此，抗體的包含互補性決定區（complementarity determining region，CDR）的 Fab 區域會選擇性地被蛋白酶切斷。因此，在分析用試料中，相對於產生的肽斷片的總量，相對高濃度地含有包含對於抗體構造鑑定重要的互補性決定區的胺基酸序列（amino acid sequence）的肽斷片，從而能夠進行高精度的分析。

[現有技術文獻]

[專利文獻]

【0012】 專利文獻 1：WO2015/033479 號手冊

[非專利文獻]

【0013】 非專利文獻 1：岩本等人、分析方法、2015、21、9177-9183.

(Iwamoto et. al, Anal. Methods, 2015, 21, 9177 -9183.)

非專利文獻 2：岩本等人、生物分析法、2016、8(10)、1009-1020.

(Iwamoto et. al, Bioanalysis, 2016, 8(10), 1009-1020.)

[發明所欲解決之課題]

【0014】 在所述試料調製方法中，藉由離心過濾進行 B/F 分離之後，實施蛋白酶處理而使分析對象物質游離至液相中，將作為分析用試料的液體回收。如上所述，一般藉由移液管操作，將藉由 B/F 分離進行洗淨後的固體回收。在移液管操作中存在如下情況，即，附著於過濾單元或移液管的晶片內的固體未被回收而殘存。因此，試料的回收率會因操作者的熟練度等而有所不同，此成為導致定量分析精度下降的主要原因。

【0015】 尤其於在臨床現場等，同時對多個檢體進行處理的情況下，作業容易產生不均，操作越繁雜，則由移液管操作等經由作業者進行的操作引起的精度下降的影響越大。而且，若使試料移動至其他容器的作業的次數增加，則除了會因回收損失而導致精度下降之外，產生弄錯試料等人為錯誤（human error）的風險亦增大。因此，在臨床試驗等的分析用試料的調製過程中，較佳為儘可能使容器的轉移次數減少。

【0016】 藉由離心過濾將濾液排出，使固體殘存於過濾單元內（圖 8 的 S24），只要將蛋白酶固定微粒子的懸浮液添加至過濾單元內（圖 8 的 S31），則能夠在過濾單元內實施蛋白酶消化（圖 8 的 S32），而不藉由移液管操作等使固體移動。然而，由於過濾單元的過濾器中設置有  $0.1\ \mu\text{m} \sim 5\ \mu\text{m}$  左右的細孔，故而過濾器上所積存的液體會因毛細管現象而經由過濾器的細孔洩漏。若為如通常的離心過濾般的短時間作業，則過濾單元內的液體不會洩漏，但在進行如蛋白酶消化般的長時間反應的情況下，由毛細管現象引起的洩漏量大，分析精度會隨著試料損失而下降。

【0017】 如上所述，在藉由離心過濾而實施 B/F 分離之後，若進行將固體從過濾單元移動至其他容器的操作，則存在分析精度下降的情況。另一方面，若使固體與液體共存於過濾單元內的狀態持續長時間，則會產生液體洩漏。鑒於所述課題，本發明的目的在於提供如下容器以及試料調製方法，該容器即使在不使固體從過濾單元移動至其他容器，而在過濾單元內長時間保持固體與液

體的混合物的情況下，亦不易產生液體洩漏。

**【發明內容】**

**【0018】 [解決課題之手段]**

本發明的容器組包含過濾單元及能夠裝卸於過濾單元的閉鎖單元，在過濾單元與閉鎖單元接合的狀態下，過濾單元的試料收容空間達到負壓。

**【0019】** 過濾單元包括框體及固定於框體內的過濾器，能夠將試料（液體及固體）收容於由框體及過濾器包圍的試料收容空間。在框體的一端，設置有用以將固體及液體導入至試料收容空間的試料導入開口。試料導入開口亦能夠閉鎖，例如亦可在將試料導入至試料收容空間時，將試料導入開口設為開放狀態，在除此以外的時間，閉鎖試料導入開口。在框體的另一端設置有液體排出開口，該液體排出開口用以將透過過濾器而向試料收容空間外移動的液體（濾液）排出。

**【0020】** 過濾單元的框體具有能夠與閉鎖單元接合的第一接合部。閉鎖單元具有以能夠與過濾單元的第一接合部接合的方式構成的第二接合部。過濾單元的第一接合部與閉鎖單元的第二接合部構成為兩者接合而成為氣密狀態，過濾單元的液體排出開口在空間上由閉鎖單元閉鎖。而且構成為，能夠維持氣密狀態，以使過濾器與閉鎖單元之間的距離縮短的方式而能夠進一步推入第一接合部及第二接合部。在第一接合部與第二接合部接合的狀態

下，以使兩者的距離靠近的方式而推入過濾單元與閉鎖單元，藉此閉鎖單元與過濾器之間的空間相對於試料收容空間達到正壓。

**【0021】** 容器組除了包含過濾單元及閉鎖單元之外，亦可包含能夠裝卸於過濾單元的液體回收容器。液體回收容器較佳為具有能夠裝填於離心分離機的外形狀。在與閉鎖單元組合之前，或在將脫離閉鎖單元後的過濾單元與液體回收容器組合的狀態下進行離心過濾，藉此能夠積存透過過濾單元的過濾器後的濾液。

**【0022】** 本發明提供使用所述容器組的分析用試料的調製方法。試料調製依序包括如下步驟：將檢體中的特定物質固定於固體表面；藉由離心過濾，將未固定於固體表面的夾雜成分除去（B/F分離）；使回收對象物質從固定於固體表面的特定物質游離至液體中；以及將游離至液體中的回收對象物質予以回收。

**【0023】** 回收對象物質可與固定於固體表面的特定物質相同，亦可為固定於固體表面的物質的反應物或分解物等。例如在固體表面固定有抗體等蛋白質的情況下，能夠根據溶液環境的變化，使蛋白質從固體表面游離至液體中。若在固體表面固定有蛋白質的狀態下進行蛋白酶消化，則肽斷片會游離至液體中。

**【0024】** 在本發明的方法中，使用所述過濾器來實施離心過濾，藉此，將未固定於固體表面的夾雜成分除去。然後，在將固體保持於過濾單元的試料收容空間的狀態下，添加反應液等液體，藉此，使回收對象物質游離至液體中。即，使用同一過濾單元來實施離心過濾及使回收對象物質游離至液體中。

【0025】 在離心過濾之後，將過濾單元與閉鎖單元接合，藉此，於過濾單元的液體排出開口在空間上被閉鎖的狀態下，使回收對象物質游離至液體中。

[發明的效果]

【0026】 對於本發明的容器組而言，在將過濾單元與閉鎖單元加以組合的狀態下，閉鎖單元與過濾器之間的密閉空間達到正壓，過濾單元的試料收容空間達到負壓。因此，即使在試料收容空間中裝填有包含液體的試料的情況下，亦能夠防止液體經由過濾器洩漏。

【0027】 而且，在從過濾單元分離了閉鎖單元的狀態下，過濾單元能夠用作離心過濾器。因此，能夠使用同一過濾單元來實施長時間保持試料的操作（例如反應）、與用於洗淨或濾液回收等的離心過濾。如此，能夠在一個容器內實施各種操作，從而能夠減少使試料移動至其他容器的作業的次數，因此，除了能夠簡化試料調製作業之外，亦能夠提高定量分析等的分析精度。

【圖式簡單說明】

【0028】

圖 1 是容器組的過濾單元及閉鎖單元的概略立體圖。

圖 2A 是過濾單元的剖面圖。

圖 2B 是閉鎖單元的剖面圖。

圖 3A 是過濾單元與閉鎖單元的組合中途的狀態下的剖面圖。

圖 3B 是過濾單元與閉鎖單元的組合狀態下的剖面圖。

圖 4 是容器組的過濾單元、及能夠組合於過濾單元的液體回收容器的概略立體圖。

圖 5 是容器組的過濾單元及閉鎖單元的剖面圖。

圖 6 是容器組的過濾單元及閉鎖單元的剖面圖。

圖 7 是容器組的過濾單元及閉鎖單元的概略立體圖。

圖 8 是表示利用 nSMOL 法進行的試料調製及分析的概要的流程圖。

## 【實施方式】

### 【0029】 [容器組的構成]

本發明的容器組包含過濾單元及閉鎖單元。閉鎖單元能夠裝卸於過濾單元。容器組亦可進而包含能夠裝卸於過濾單元的液體回收容器。

【0030】 圖 1 是包含過濾單元 10 及閉鎖單元 30 的容器組的一實施形態的概略立體圖，圖 2A 及圖 2B 分別是過濾單元 10 及閉鎖單元 30 的剖面圖。

【0031】 過濾單元 10 為與一般的離心柱 (spin column) 的過濾杯 (filter cup) 相同或類似的構成，於內壁面為圓筒形狀的框體 11 固定有過濾器 21。於框體 11 的一端設置有試料導入開口 18，於另一端設置有液體排出開口 19。過濾器 21 固定於框體 11 的液體排出開口 19 附近，由框體 11 的內壁 12 及過濾器 21 包圍的空

間構成試料收容空間 15。試料收容空間 15 能夠收容從試料導入開口 18 導入的固體及液體。

【0032】 過濾單元 10 的試料導入開口 18 亦能夠在試料導入時以外的時間閉鎖。例如在圖 1 所示的容器組中，蓋 38 經由鉸鏈 34 而結合於閉鎖單元 30 的本體部 31，在將過濾單元 10 與閉鎖單元 30 加以組合的狀態下，能夠藉由蓋 38 來閉鎖試料導入開口 18。用以閉鎖試料導入開口的蓋可連接於過濾單元的框體，亦可藉由獨立於過濾單元及閉鎖單元的蓋來閉鎖試料導入開口。

【0033】 例如可使用包含聚矽、乙醯基纖維素、硝化纖維素、聚乙烯吡咯啉酮、尼龍、聚偏二氟乙烯等聚合物的多孔膜作為過濾器 21。過濾器 21 具有能夠使試料收容空間 15 內的液體透過的過濾孔。過濾孔的孔徑是以不會使試料收容空間 15 內的固體透過的方式設定的，例如設定為  $0.1\ \mu\text{m} \sim 5\ \mu\text{m}$  左右。過濾器 21 使用利用黏接劑進行的黏接、熱熔接、超音波熔接等接合、或 O 形環等固定環而固定於框體 11 內。若在試料收容空間 15 中包含固體與液體的混合物的狀態下進行離心過濾，則透過過濾器 21 後的液體會從液體排出開口 19 排出至過濾單元的外部。

【0034】 過濾單元 10 的框體 11 的外壁面 13 為錐形狀，直徑向與閉鎖單元 30 接合的接合側（圖的下側）縮小。該錐形狀的外壁面 13 成為將過濾單元 10 與閉鎖單元 30 加以組合時的接合部。

【0035】 閉鎖單元 30 具有底部封閉的筒狀的本體部 31，在本體部 31 的上表面設置有用以供過濾單元 10 插入的接合用開口 36。

閉鎖單元的內壁面 32 為錐形狀，直徑從接合用開口 36 側向底部縮小。該內壁面 32 具有與過濾單元 10 的框體 11 的外壁面 13 相同的錐角，且成為將過濾單元 10 與閉鎖單元 30 加以組合時的接合部。即，過濾單元 10 的外錐面與閉鎖單元 30 的內錐面構成一對接合部，兩者能夠以氣密狀態接合。

【0036】 將過濾單元 10 從閉鎖單元 30 的接合用開口 36 插入至由本體部 31 包圍的空間 35，藉此，過濾單元的框體的外壁面 13 與閉鎖單元本體的內壁面嵌合。閉鎖單元 30 在內錐面的直徑縮小側具有閉鎖端，因此，在過濾單元與閉鎖單元嵌合的狀態下，過濾單元的液體排出開口在空間上閉鎖而成為氣密狀態。

【0037】 圖 3A 是過濾單元 10 與閉鎖單元 30 的組合中途的狀態下的剖面圖，圖 3B 是過濾單元 10 與閉鎖單元 30 的組合狀態下的剖面圖。過濾單元 10 的外壁面 13 與閉鎖單元 30 的內壁面 32 具有相同的錐角，因此，若將過濾單元 10 插入至閉鎖單元 30 的空間 35，則如圖 3A 所示，兩者會嵌合而成為氣密狀態。

【0038】 由於閉鎖單元本體部 31 的底部封閉，故而若過濾單元 10 的外壁面 13 與閉鎖單元 30 的內壁面 32 接觸，則過濾單元 10 的液體排出開口 19 在空間上由閉鎖單元 30 閉鎖。於該狀態下，過濾單元 10 的過濾器 21 與閉鎖單元 30 的本體部 31 成為氣密狀態，在兩者之間形成有密閉空間 39。

【0039】 從過濾單元 10 的接合部（外壁面）與閉鎖單元 30 的接合部（內壁面）接合而形成了密閉空間 39 的狀態起，維持氣密狀

態，將過濾單元 10 進一步推入至閉鎖單元 30（圖 3B）。

【0040】 在過濾單元的框體及閉鎖單元包含聚丙烯樹脂等彈性材料的情況下，能夠以使過濾單元 10 的過濾器 21 與閉鎖單元 30 之間的距離縮短的方式，將過濾單元推入至閉鎖單元。將過濾單元推入至閉鎖單元之後，過濾單元的框體 11 及閉鎖單元的本體部 31 會發生彈性壓縮變形，藉由該彈性壓縮變形的斥力來保持作為第一接合部的框體 11 的外壁面 13 與作為第二接合部的本體部 31 的內壁面 32 之間的接合狀態。藉由將過濾單元推入至閉鎖單元，密閉空間 39 內的氣體（空氣）在過濾器 21 與閉鎖單元的本體部 31 之間受到壓縮。因此，閉鎖單元的本體部 31 與過濾器 21 之間的密閉空間達到正壓。

【0041】 如上所述，過濾單元 10 的接合部 13 為外表面錐形狀，即，直徑向將過濾單元 10 推入至閉鎖單元 30 時的推入方向縮小。閉鎖單元 30 的接合部 32 為內表面錐形狀，即，能夠藉由與過濾單元 10 的接合部 13 嵌合而構成氣密狀態。

【0042】 過濾單元及閉鎖單元的接合部的錐角並無特別限定。為了能夠在保持接合部的氣密性的狀態下推入兩者，錐角較佳為  $0.1^{\circ} \sim 10^{\circ}$  左右，更佳為  $0.2^{\circ} \sim 5^{\circ}$  左右。亦可配合各種規格來設計接合部的錐形狀。例如，若將錐角設為  $3^{\circ}$ ，則能夠構成廣泛使用於醫療用品或實驗用器具的魯爾旋鎖方式（Luer lock）的接合部（旋錐）。

【0043】 於在過濾單元的框體 11 的上部設置有向外部突出的卡

止部 17 的情況下，推入過濾單元直至卡止部 17 與閉鎖單元的接合用開口的外緣部 37 抵接為止，藉此，能夠確實地使過濾器與閉鎖單元之間的空間處於正壓狀態。亦可推入過濾單元直至過濾單元的底部與閉鎖單元的底部抵接為止。

**【0044】** 由於過濾器 21 與閉鎖單元 30 之間的空間達到正壓，過濾單元 10 的試料收容空間 15 會以過濾器 21 為邊界而相對地達到負壓。若試料收容空間內存在液體，則會因毛細管現象而產生如下作用，即，使液體經由過濾器的過濾孔向試料收容空間外漏出。只要過濾器與閉鎖單元之間的空間為正壓，則會產生如下作用，即，使氣體經由過濾孔而流入至達到負壓的試料收容空間。因此，即使在試料收容空間中收容有液體的情況下，亦能夠防止液體因毛細管現象而經由過濾器洩漏。

**【0045】** 使用過濾單元 10，藉由離心過濾來分離固體與液體之後，只要將閉鎖單元 30 組合於過濾單元 10，即使在將液體添加至過濾單元的試料收容空間 15 內且長時間保持的情況下，亦能夠抑制液體經由過濾器 21 洩漏。因此，在離心過濾之後，即使不使過濾單元內所殘存的固體移動至其他容器，將液體添加至過濾單元而實施反應等，亦能夠確保試料的定量性。而且，無需藉由移液管操作等使固體移動至其他容器，因此，能夠簡化試料調製操作，而且能夠防止由固體的回收損失等引起的定量性的下降。

**【0046】** 只要分離過濾單元 10 與閉鎖單元 30，則過濾單元 10 能夠再次用作離心過濾器。例如在固體與液體共存的狀態下實施

反應之後，只要實施離心過濾，則能夠回收反應後的液體作為濾液。在離心過濾之後，亦可回收過濾器上所殘存的固體作為試料。

【0047】 容器組除了包含過濾單元及閉鎖單元之外，亦可進而包含能夠裝卸於過濾單元的液體回收容器。圖 4 是能夠與過濾單元 10 組合的液體回收容器 50 的概略立體圖。

【0048】 液體回收容器 50 只要採用如下構成即可，即，本體部 51 具有能夠裝填於離心分離機的外形狀，且能夠積存透過過濾單元 10 的過濾器 21 後的濾液。只要根據離心分離機的轉子的形狀等，恰當地對能夠裝填於離心分離機的外形狀進行設計即可。例如對於 1 mL 以下的少量的試料，能夠使用微管（micro tube）、或形狀與該微管類似的容器作為液體回收容器。在將過濾單元 10 與液體回收容器 50 加以組合的狀態下，無需具有氣密性。

【0049】 在圖 4 所示的形態中，蓋 58 經由鉸鏈 54 而結合於液體回收容器 50 的本體部 51，在將過濾單元 10 與液體回收容器 50 加以組合的狀態下，能夠藉由蓋 58 來閉鎖試料導入開口 18。

【0050】 如上所述，在將過濾單元 10 與閉鎖單元 30 加以組合之前，使用過濾單元 10，藉由離心過濾來分離固體與液體。只要在將過濾單元 10 與液體回收容器 50 加以組合的狀態下進行離心過濾，則能夠將濾液回收至液體回收容器 50 內。而且，即使在將過濾單元 10 與閉鎖單元 30 加以組合的狀態下，長時間保持液體而進行反應等之後，亦可使用過濾單元 10 進行離心過濾。此時，亦只要將液體回收容器 50 組合於過濾單元 10 而實施離心過濾，則

能夠將濾液回收至液體回收容器內。

【0051】 在將過濾單元 10 與閉鎖單元 30 加以組合的狀態下，與將過濾單元 10 與液體回收容器 50 加以組合的狀態相比較，容器的高度小。只要將配合件（adapter）安裝於閉鎖單元 30 的底部來調整容器高度，則容易利用管架（tube stand）。而且，亦可在較接合部更靠下側處形成閉鎖單元，以具有用以增加容器高度的空間。

【0052】 在圖 1～圖 3 所示的形態中，試料收容空間 15 的側壁的外壁面 13 為錐形狀，且構成用以與閉鎖單元接合的接合部。過濾單元的接合部亦可設置於遠離試料收容空間的位置。

【0053】 例如，圖 5 的剖面圖所示的過濾單元 110 的過濾器 121 與液體排出開口 119 之間的框體外壁面 123 為外表面錐形狀，即，直徑向液體排出開口 119 側縮小。與該過濾單元 110 組合地使用的閉鎖單元 130 的內壁面 132 為內表面錐形狀，即，直徑從底部向接合用開口 136 縮小。

【0054】 在該實施形態中，過濾單元 110 的外錐面（框體外壁面 123）、與閉鎖單元 130 的內錐面（內壁面 132）構成一對接合部。過濾單元 110 的框體 111 貫通閉鎖單元 130 的接合用開口 136 而插入至閉鎖單元內的空間 135 之後，過濾單元 110 的接合部（框體外壁面）123 與閉鎖單元 130 的接合部（內壁面）132 彼此嵌合而成為氣密狀態。

【0055】 維持由兩者嵌合產生的氣密狀態，進一步將過濾單元 110 推入至閉鎖單元 130 內之後，過濾器 121 與閉鎖單元 130 的底

部之間所形成的空間內的空氣受到壓縮。因此，閉鎖單元與過濾器之間的密閉空間達到正壓。

**【0056】** 本發明的容器組亦可採用如下構成，即，將閉鎖單元插入至過濾單元內，藉此，使閉鎖單元與過濾器之間的空間達到正壓。例如，圖 6 的剖面圖所示的過濾單元 210 的過濾器 221 與液體排出開口 219 之間的框體內壁面 222 為內表面錐形狀，即，直徑從液體排出開口 219 側向過濾器 221 側縮小。與該過濾單元 210 組合地使用的閉鎖單元 230 的側面 233 為外表面錐形狀，即，直徑從底部向上部平面 235 側縮小。

**【0057】** 在該實施形態中，過濾單元 210 的內錐面（框體內壁面 222）與閉鎖單元 230 的外錐面（側面 233）構成一對接合部。以將過濾單元 210 的液體排出開口 219 堵塞的方式插入閉鎖單元 230，藉此，過濾單元 210 的接合部（框體內壁面）222 與閉鎖單元 230 的接合部（側面）233 彼此嵌合而成為氣密狀態。

**【0058】** 維持氣密狀態，進一步將閉鎖單元 230 推入至過濾單元 210 內之後，過濾器 221 與閉鎖單元 230 的上部平面 235 之間所形成的空間內的空氣受到壓縮。因此，閉鎖單元與過濾器之間的密閉空間達到正壓。

**【0059】** 過濾單元的接合部與閉鎖單元的接合部的形狀並不限定於錐形狀，只要能夠維持由兩者接合而成的氣密狀態，以使過濾器與閉鎖單元之間的距離縮短的方式推入即可。

**【0060】** 例如，過濾單元及閉鎖單元的接合部亦可為彼此嚙合的

螺紋形狀。在螺紋以嚙合的方式接合的狀態下，相對於過濾單元而使閉鎖單元相對地旋轉，藉此，過濾器與閉鎖單元之間的距離縮短，兩者之間的空間受到壓縮而成為正壓狀態。若接合部為錐螺紋形狀，則能夠更確實地形成氣密狀態。而且，藉由螺紋的卡止作用，即使在過濾器與閉鎖單元之間的空間的壓力升高的情況下，亦能夠維持接合狀態。

**【0061】** 亦可於過濾單元及閉鎖單元中的至少一方的接合部設置襯墊（packing）等密封構件，使過濾器與閉鎖單元成為氣密狀態。在過濾器的接合部與閉鎖單元的接合部經由密封構件而具有氣密性的狀態下，只要以使過濾器與閉鎖單元之間的距離縮短的方式，相對於一方而相對地推入另一方，則兩者之間的密閉空間會受到壓縮而成為正壓狀態。

**【0062】** 於所述形態中，過濾單元的接合部與閉鎖單元的接合部均具有彼此嵌合的形狀，因此，能夠形成氣密狀態。作為使過濾單元與閉鎖單元成為氣密狀態的其他方法，可列舉使用具有氣密密合性及延伸性的膜構件的方法。

**【0063】** 圖 7 的立體圖所示的容器組包含過濾單元 510 及閉鎖單元 530。過濾單元 510 的構成與所述各實施形態相同，於框體 511 的一端設置有試料導入開口 518，於另一端設置有液體排出開口 519。框體 511 的外壁面及內壁面可為錐形狀，亦可為直管形狀。過濾器 521 固定於框體 511 的液體排出開口 519 附近，由過濾器 521 及框體 511 包圍的空間構成試料收容空間 515。

【0064】 閉鎖單元 530 具有能夠供過濾單元的液體排出開口通過的接合用開口，且以將接合用開口堵塞的方式固定有膜構件 536。膜構件 536 例如藉由黏接劑、熱熔接、超音波熔接等而固定於閉鎖單元本體部 531。

【0065】 膜構件 536 為具有氣密密合性及延伸性的膜。膜構件 536 可透明，亦可不透明。作為膜構件 536，可使用用於配管接合部的密封帶（密封用四氟乙烯樹脂未煨燒帶）、或乙烯乙酸乙烯酯（Ethylene Vinyl Acetate，EVA）、聚乙烯、聚偏二氯乙烯、聚氯乙烯等主要用於食品用保鮮膜的膜材料、畢馬時軟包裝（Bemis Flexible Packaging）製造的「封口膜（PARAFILM）」、或多樣生物科技（Diversified Biotech）製造的「杜拉西爾（DURA SEAL）」等。膜構件較佳為在使液體及固體共存於過濾單元內且長時間保持時，具有該使用環境下的耐熱性及耐溶劑性。例如，較佳為使用軟化點為 70°C 以上的聚乙烯系膜。

【0066】 使過濾單元 510 的框體 511 的端部的液體排出開口 519 抵接於膜構件 536，該膜構件 536 設置於閉鎖單元的連接用開口，藉此形成氣密狀態，過濾器 521 與膜構件 536 之間成為密閉空間。即，在本實施形態中，液體排出開口 519 外周的框體 511 為過濾單元 510 的接合部，膜構件 536 相當於閉鎖單元 530 的接合部。

【0067】 在藉由膜構件 536 使過濾單元 510 的液體排出開口 519 閉鎖的狀態下，以插入至閉鎖單元 530 的空間 535 的方式而推入過濾單元 510 之後，膜構件 536 與框體 511 密合，且保持液體排

出開口 519 的氣密狀態而延伸。藉由此時的壓縮力，過濾器 521 與膜構件 536 之間的空間相對於試料收容空間 515 達到正壓。

【0068】 在圖 7 所示的閉鎖單元 530 中，以覆蓋微管（閉鎖單元本體部）531 的開口的方式而設置有膜構件 536，但閉鎖單元無需為容器形狀。閉鎖單元只要以將可供過濾單元通過的開口予以覆蓋的方式而固定有膜構件即可，亦可為將膜構件固定於環狀成型體的構成。而且，亦可為如下的簡單構成，即，使膜構件貼合於微管架的表面，且利用膜構件來覆蓋微管架用的孔。

【0069】 所述容器組的各實施形態是以將一個閉鎖單元組合於一個過濾單元的方式構成，但容器組亦可以將多個過濾單元組合於一個閉鎖單元的方式構成。例如，只要以將能夠並排地收容多個微管的微管架的整個表面予以覆蓋的方式貼合膜構件，則設置於各個微管架孔的膜構件會作為接合部而發揮功能，因此，能夠將多個過濾單元組合地收容於一個閉鎖單元。

【0070】 而且，亦可將在板狀構件的表面為如圖 2B 的內壁面 32 或圖 5 的內壁面 132 般的內錐形狀的設置有多個孔的構件用作閉鎖單元。亦可將在板狀構件的表面為如圖 6 的側面 233 般的外錐形狀的設置有多個凸部的構件用作閉鎖單元。如此，只要使用如下閉鎖單元，則能夠提高同時對多個檢體進行處理時的作業效率，所述閉鎖單元的構成為具有多個接合部且各個接合部能夠與過濾單元接合。

【0071】 [試料調製方法]

本發明的容器組能夠使用於如下試料調製，該試料調製例如包含藉由離心過濾來分離固體與液體的操作、以及需要在容器內長時間保持液體的操作（例如化學反應）。在進行離心過濾時，將過濾單元的液體排出開口設為開放狀態，將濾液從液體排出口排出至過濾單元外。此時，只要將液體回收容器安裝於過濾單元，則能夠將從液體排出口排出的濾液回收至液體回收容器內。

**【0072】** 於藉由離心過濾而排出濾液後的試料收容空間中，在過濾器上殘存有固體。在該狀態下，將過濾單元的接合部與閉鎖單元的接合部接合而將過濾單元的液體排出開口閉鎖。將過濾單元推入至閉鎖單元，藉此，密閉於閉鎖單元與過濾器之間的氣體受到壓縮，相對於試料收容空間達到正壓。

**【0073】** 在將過濾單元與閉鎖單元加以組合的狀態下，將包含液體的試料從過濾單元的試料導入開口導入至試料收容空間內。過濾單元的試料收容空間相對於閉鎖單元與過濾器之間的空間而達到負壓，因此，能夠防止液體因毛細管現象而經由過濾器洩漏。

**【0074】** 再者，將液體導入至過濾單元的試料收容空間之後，若時間為數分鐘左右的短時間，則幾乎不會產生由毛細管現象引起的液體洩漏。因此，亦可在將液體導入至試料收容空間之後，將過濾單元與閉鎖單元加以組合。

**【0075】** 在試料收容空間內保持有液體的狀態下，在經過規定時間之後（例如反應結束之後）回收試料。分離過濾單元與閉鎖單元且開放液體排出開口，藉此，能夠藉由離心過濾來過濾分離試

料收容空間內的液體與固體。此時，只要將液體回收容器安裝於過濾單元，則能夠將從液體排出口排出的濾液回收至液體回收容器內。

【0076】 在使用本發明的容器組的試料調製方法的一形態中，如圖 8 的流程圖所示，根據血液等檢體來調製分析用試料。

【0077】 首先，準備表面能夠固定檢體中的特定物質的固體 (S10)。作為特定物質，可列舉核酸、蛋白質、糖、脂質 (lipid)、抗體、受體、抗原、配位體 (ligand) 等源於生物的物质或細胞等。在目標物質為源於生物的物质的情況下，亦可藉由分子辨識 (molecular recognition) 等，將目標物質固定於固體表面。例如在目標物質為核酸的情況下，藉由使用包覆有氧化矽的粒子，能夠特異地使核酸吸附於粒子表面。而且，在目標物質為抗體(例如標識抗體)、受體、抗原及配位體等的情況下，能夠根據粒子表面的胺基、羧基、環氧基、抗生物素蛋白 (avidin)、生物素 (biotin)、地谷新配質 (digoxigenin)、蛋白質 A、蛋白質 G 等而選擇性地固定於固體表面。

【0078】 若使用具有多個細孔的多孔顆粒 (porous bead) 作為固體，則由於比表面積 (specific surface area) 大，故而能夠有效率地將目標物質固定於固體表面。而且，在 nSMOL 法中，藉由使用多孔體來設置空間上的出入限制，能夠位置選擇性地對目標物質進行蛋白酶消化。

【0079】 將所述固體添加至檢體且對兩者進行混合，藉此，檢體

中的特定物質固定於固體表面（S11）。固體與檢體的混合可於過濾單元內實施，亦可於其他容器內實施。

【0080】 在檢體中的特定物質固定於固體表面的狀態下進行洗淨，藉此，將附著於固體表面的夾雜成分除去。在夾雜成分容易凝聚且牢固附著的情況下，較佳為使用界面活性劑或離液劑（chaotropic agent）等使夾雜成分改性，使該夾雜成分溶解於液體中（S21）。在藉由包含界面活性劑等的液體進行處理之後，進行離心過濾，將包含夾雜物的濾液除去（S22）。亦可反覆多次地實施利用界面活性劑等的處理與離心過濾。

【0081】 在藉由界面活性劑進行處理之後，使用不包含界面活性劑的液體進行洗淨，將附著於固體表面的界面活性劑洗淨（S23）。然後，藉由離心過濾來除去洗淨液（S24）。亦可反覆多次地實施洗淨與離心過濾。

【0082】 藉由離心過濾，將未固定於固體表面的夾雜成分除去之後，將過濾單元與閉鎖單元加以組合，使過濾器上殘存有固體的試料收容空間相對地達到負壓，防止由毛細管現象引起的液體洩漏。將液體添加至試料收容空間，以規定溫度保持規定時間，藉此，使回收對象物質從固定於固體表面的特定物質游離至液體中。

【0083】 固定於固體表面的特定物質與回收對象物質可相同，亦可不同。例如，在核酸結合於包覆有氧化矽的粒子的表面的情況下，藉由添加水或包含低濃度鹽的緩衝液，氧化矽與核酸之間的相互作用減小，因此，核酸會從氧化矽表面游離。在該情況下，

固定於固體表面的特定物質與回收對象物質相同。

**【0084】** 只要使固定於固體表面的特定物質在液體中參與化學反應，則與固定於固體表面的特定物質不同的回收對象物質會游離至液體中。例如在固體表面固定有蛋白質的情況下，只要藉由蛋白酶來消化蛋白質，則肽斷片會游離至液體中。在多孔體的細孔內固定有檢體中的蛋白質的情況下，只要使具有較多孔體的細孔徑更大的粒徑的微粒子的表面所固定的蛋白酶、與細孔內所固定的蛋白質接觸，則蛋白酶能夠出入的空間會受到限制，因此，能夠位置選擇性地對蛋白質進行蛋白酶消化。只要將表面固定有蛋白酶的微粒子例如作為懸浮液而從試料導入用開口添加至過濾單元的試料收容空間內即可（S32）。

**【0085】** 在位置選擇性地對蛋白質進行蛋白酶消化的情況下，固體表面與蛋白質之間的結合較佳為位置選擇性（部位選擇性）結合。例如，蛋白質 A 或蛋白質 G 選擇性地與抗體的 Fc 區域結合。因此，只要使用由蛋白質 A 或蛋白質 G 包覆的多孔體，則能夠以使抗體的 Fc 區域固定於細孔內的表面，且抗體的 Fab 區域朝向細孔外側的方式而控制配向性。尤其，蛋白質 A 的與 Fc 區域結合的位置選擇性高，因此，為了提高蛋白酶消化的位置選擇性，較佳為使用由蛋白質 A 包覆的多孔體。

**【0086】** 如上所述，在多孔體的細孔內對抗體的配向進行控制的情況下，蛋白酶朝向與多孔體結合的結合部位即抗體 Fc 區域的出入受到限制，因此，抗體的包含互補性決定區（CDR）的 Fab 區

域會位置選擇性地被蛋白酶切斷。因此，游離至液體中的肽斷片會高濃度地含有包含對於抗體的鑑定重要的互補性決定區的胺基酸序列的肽斷片。

【0087】 對於如上所述的蛋白酶對於蛋白質的消化而言，通常需要 35°C ~ 60°C 的溫度下的 3 小時 ~ 30 小時左右的培養 (S32)。即使當在將包含液體的試料收容於過濾單元的試料收容空間內的狀態下長時間保持時，只要以過濾器為邊界，試料收容空間為負壓，則能夠防止液體經由過濾器的過濾孔而洩漏。因此，無試料損失，能夠維持定量性。

【0088】 在使回收對象物質游離至液體中之後，使過濾單元與閉鎖單元脫離。藉由離心過濾，將過濾單元內的游離有回收對象物質的液體作為濾液而回收至試料回收容器內 (S41)。

【0089】 根據需要，對藉由所述方法而獲得的試料進行稀釋、除鹽、精製等之後，進行分析 (S51)。例如，對於根據 nSMOL 法調製所得的肽斷片，能夠藉由使用了 LC/MS/MS 的多重反應監視 (Multiple Reaction Monitoring, MRM) 來實施定量分析。

#### 實施例

【0090】 以下表示實施試料調製方法的一例，該方法是指使用本發明的容器組，基於所述非專利文獻 2 (岩本等人、生物分析法、2016、8(10)、1009-1020.) 所記載的研究方案 (protocol)，藉由 nSMOL 法來實施試料調製。再者，本發明並不受下述實施例限定。

【0091】 將表面由蛋白質 A 包覆的多孔體的懸浮液

(TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F；東曹製造，粒徑為 30  $\mu\text{m}$  ~ 60  $\mu\text{m}$ ，孔隙率為 86%，樹脂濃度為 50 重量%，免疫球蛋白 G (Gimmunoglobulin G, IgG) 靜態吸附量為 80 g/L) 25  $\mu\text{L}$  分配至 2 mL 的微管。此處，添加作為界面活性劑的包含 0.1% 的辛基  $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖苷的磷酸緩衝生理鹽水 (PBS) 90  $\mu\text{L}$ 、以及作為檢體的血漿試料 10  $\mu\text{L}$ 。平穩地攪拌 15 分鐘。藉由這些操作，血漿中的抗體固定於蛋白質 A 包覆樹脂的表面。

**【0092】** 將固定了試料後的蛋白質 A 包覆樹脂的懸浮液轉移至過濾單元，以 10000 g 進行一分鐘的離心過濾。在過濾單元中添加 150  $\mu\text{L}$  的包含 0.1% 的辛基  $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖苷的 PBS，以 10000 g 進行一分鐘的離心過濾。將此步驟總計重複 3 次，藉由界面活性劑來除去夾雜物 (附著於蛋白質 A 包覆樹脂表面的膜蛋白質等)。然後，在過濾單元中添加 150  $\mu\text{L}$  的 PBS，以 10000 g 進行一分鐘的離心過濾。將此步驟總計重複 3 次，洗淨除去界面活性劑。

**【0093】** 將過濾單元插入至閉鎖單元而將兩者加以組合，堵塞過濾單元的液體排出開口而設為密閉狀態。進一步推入過濾單元直至過濾單元的卡止部抵接於閉鎖單元為止。藉此，過濾單元與閉鎖單元之間的空氣受到壓縮而達到正壓，收容有蛋白質 A 包覆樹脂的過濾單元內的試料收容空間相對地達到負壓。

**【0094】** 在過濾單元中添加 25 mM 的三羥甲基胺基甲烷 (Tris-HCl) (pH 值為 8.0) 75  $\mu\text{L}$ 、以及表面固定有胰蛋白酶的聚甲基丙烯酸縮水甘油醇包覆鐵氧體奈米粒子 (FG beads；多摩川精

機製造，粒徑約為 200 nm) 的懸浮液 (20 mg/mL) 10  $\mu$ L。在 50  $^{\circ}$ C 的飽和蒸氣壓下，平穩地對過濾單元與閉鎖單元的組合體進行 6 小時的攪拌，所述過濾單元收容了固定有胰蛋白酶的奈米粒子、以及固定有檢體中的抗體的多孔樹脂的懸浮液。

**【0095】** 蛋白質 A 選擇性地結合於抗體的 Fc 區域，因此，在蛋白質 A 包覆樹脂的細孔內，抗體的 Fab 區域以朝向外側的方式受到固定。奈米粒子的粒徑大於蛋白質 A 包覆樹脂的細孔徑，因此，固定於奈米粒子表面的胰蛋白酶無法出入於細孔內的蛋白質 A 與抗體的 Fc 區域之間的結合部位附近。因此，抗體的 Fab 區域選擇性地被胰蛋白酶切斷而游離至液相。

**【0096】** 為了使胰蛋白酶對於蛋白質的切斷完成而確保定量性，需要在容器內長時間（例如，如上所述的 6 小時）保持液體。在本實施例中，由於將過濾單元與閉鎖單元加以組合，故而過濾單元的試料收容空間側達到負壓。因此，即使當在試料收容空間內長時間保持液體時，亦能夠防止液體經由過濾器洩漏，從而能夠確保定量性。

**【0097】** 添加 5  $\mu$ L 的 10% 的甲酸來對以 50 $^{\circ}$ C 保持 6 小時後的試料進行稀釋，然後，自過濾單元分離閉鎖單元，將新的回收容器組合於過濾單元。以 10000 g 進行一分鐘的離心過濾，將回收容器內的濾液予以回收。藉由該濾液的 LC-MS 分析，對檢體中所含的抗體進行鑑定及定量分析。

**【0098】** 在本實施例中，不在中途使固體移動至其他容器，而是

使用一個過濾單元來將固定有抗體的固體洗淨，藉由胰蛋白酶進行酵素反應，以及回收酵素反應後的液相。因此，除了能夠簡化試料調製作業之外，亦能夠防止由人為操作的不均等引起的固體的回收損失。而且，如上所述，當在過濾單元內與蛋白酶發生反應時，藉由將過濾單元與閉鎖單元加以組合來抑制液體的洩漏。因此，能夠調製出定量性高的分析用試料。

### 【符號說明】

#### 【0099】

- 10：過濾單元
- 11：框體
- 12：內壁
- 13：錐狀外壁面（第一接合部）
- 15：試料收容空間
- 17：卡止部
- 18：試料導入開口
- 19：液體排出開口
- 21：過濾器
- 30：閉鎖單元
- 31：本體部
- 32：錐狀內壁面（第二接合部）
- 34：鉸鏈

- 35：空間
- 36：接合用開口
- 37：外緣部
- 38：蓋
- 39：密閉空間
- 51：本體部
- 54：鉸鏈
- 58：蓋
- 110：過濾單元
- 111：框體
- 119：液體排出開口
- 121：過濾器
- 123：框體外壁面（過濾單元的接合部）
- 130：閉鎖單元
- 132：內壁面（閉鎖單元的接合部）
- 135：空間
- 136：接合用開口
- 210：過濾單元
- 219：液體排出開口
- 221：過濾器
- 222：框體內壁面（過濾單元的接合部）
- 230：閉鎖單元

- 233：側面（閉鎖單元的接合部）
- 235：上部平面
- 510：過濾單元
- 511：框體
- 515：試料收容空間
- 518：試料導入開口
- 519：液體排出開口
- 521：過濾器
- 530：閉鎖單元
- 531：微管（閉鎖單元本體部）
- 535：空間
- 536：膜構件
- S10、S11、S21、S22、S23、S24、S31、S32、S41、S51：步

驟



申請日：106/03/21

I640351

## 【發明摘要】

IPC分類：  
*B01D 29/88* (2006.01)  
*B01D 35/30* (2006.01)  
*B01L 3/14* (2006.01)  
*G01N 33/68* (2006.01)  
*G01N 30/06* (2006.01)  
*C12Q 1/37* (2006.01)

【中文發明名稱】 容器組以及分析用試料的調製方法

## 【中文】

容器組包含過濾單元（10）及能夠裝卸於過濾單元的閉鎖單元（30）。過濾單元包括：框體（11），其一端設置有試料導入開口（18），其另一端設置有液體排出開口（19）；以及過濾器（21），固定於框體。過濾單元的框體具有第一接合部，閉鎖單元具有以能夠與第一接合部接合的方式構成的第二接合部。在第一接合部及第二接合部構成為兩者接合的狀態下，液體排出開口在空間上被閉鎖。以使兩者的距離縮短的方式而推入過濾單元與閉鎖單元，藉此，閉鎖單元與過濾器之間的空間相對於試料收容空間達到正壓。

【指定代表圖】 圖1。

【代表圖之符號簡單說明】

10：過濾單元

11：框體

15：試料收容空間

18：試料導入開口

19：液體排出開口

21：過濾器

## 【發明申請專利範圍】

【第1項】一種容器組，包括過濾單元以及能夠裝卸於所述過濾單元的閉鎖單元，

所述過濾單元包括：

框體，其一端設置有亦能夠閉鎖的試料導入開口，其另一端設置有液體排出開口；以及

過濾器，固定於所述框體，

所述試料導入開口能夠將固體及液體導入至由所述框體及所述過濾器包圍的試料收容空間，

所述液體排出開口能夠將透過所述過濾器後的濾液排出，

所述過濾單元的框體具有第一接合部，

所述閉鎖單元具有以能夠與所述第一接合部接合的方式構成的第二接合部，

所述過濾單元的所述第一接合部及所述閉鎖單元的所述第二接合部構成為兩者接合而成為氣密狀態，所述液體排出開口在空間上由所述閉鎖單元閉鎖，且能夠維持氣密狀態，並以使所述過濾器與所述閉鎖單元之間的距離縮短的方式而能夠進一步推入所述過濾單元與所述閉鎖單元，

藉由推入所述過濾單元與所述閉鎖單元，所述閉鎖單元與所述過濾器之間的空間構成為相對於所述試料收容空間達到正壓。

【第2項】如申請專利範圍第1項所述的容器組，其中

所述過濾單元的所述第一接合部與所述閉鎖單元的所述第二

接合部具有能夠彼此嵌合的形狀。

【第3項】如申請專利範圍第2項所述的容器組，其中

所述過濾單元的所述第一接合部與所述閉鎖單元的所述第二接合部均為錐形狀。

【第4項】如申請專利範圍第3項所述的容器組，其中

所述過濾單元的所述第一接合部為外表面錐形狀，所述外表面錐形狀的直徑向將所述過濾單元推入至所述閉鎖單元時的推入方向縮小，

所述閉鎖單元的所述第二接合部為能夠嵌合於所述第一接合部的內表面錐形狀。

【第5項】如申請專利範圍第1項所述的容器組，其中

所述閉鎖單元具有能夠供所述框體的液體排出開口側的端部通過的接合用開口，

所述框體貫通所述接合用開口而插入至所述閉鎖單元，藉此構成為所述過濾單元的框體的外壁面的所述第一接合部與所述閉鎖單元的內壁面的所述第二接合部彼此嵌合。

【第6項】如申請專利範圍第1項所述的容器組，其中

所述過濾單元的所述液體排出開口外周的框體構成所述第一接合部，

所述閉鎖單元具有能夠供所述所述第一接合部通過的接合用開口，且以堵塞所述接合用開口的方式而固定有作為所述第二接合部的膜構件，

所述膜構件具有氣密密合性及延伸性，

所述框體貫通所述接合用開口而插入至所述閉鎖單元，藉此維持所述液體排出開口的閉鎖狀態而進一步推入所述膜構件，使所述膜構件延伸，藉此所述膜構件與所述過濾器之間的空間相對於所述試料收容空間達到正壓。

【第7項】如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項所述的容器組，其中

所述閉鎖單元具有多個所述第二接合部，且構成為能夠與多個所述過濾單元接合。

【第8項】如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項所述的容器組，其中

更包括能夠裝卸於所述過濾單元的液體回收容器，

所述液體回收容器具有能夠裝填於離心分離機的外形狀，且構成為能夠積存透過所述過濾器後的濾液。

【第9項】一種分析用試料的調製方法，是根據檢體來調製分析用試料的方法，依序包括如下步驟：

將檢體中的特定物質固定於固體表面；

藉由離心過濾，將未固定於所述固體表面的夾雜成分除去；

使回收對象物質從固定於所述固體表面的特定物質游離至液體中；以及

將游離至液體中的所述回收對象物質予以回收，

其中使用同一過濾單元來實施離心過濾及使所述回收對象物

質游離至液體中，

所述過濾單元包括：框體，其一端設置有亦能夠閉鎖的試料導入開口，其另一端設置有液體排出開口；以及過濾器，固定於所述框體，

所述試料導入開口能夠將固體及液體導入至由所述框體及所述過濾器包圍的試料收容空間，

所述液體排出開口能夠將透過所述過濾器後的濾液排出，

在離心過濾之後，將所述過濾單元與閉鎖單元接合，藉此於所述液體排出開口在空間上被閉鎖的狀態下，使所述回收對象物質游離至液體中，

所述過濾單元的框體具有第一接合部，

所述閉鎖單元具有以能夠與所述第一接合部接合的方式構成的第二接合部，

在所述過濾單元的所述第一接合部及所述閉鎖單元的所述第二接合部構成為兩者接合的狀態下，所述液體排出開口在空間上由所述閉鎖單元閉鎖，

維持兩者的接合狀態，以使所述過濾器與所述閉鎖單元之間的距離縮短的方式而進一步推入所述過濾單元與所述閉鎖單元，藉此在相對於所述試料收容空間而使所述閉鎖單元與所述過濾器之間的空間達到正壓的狀態下，使所述回收對象物質游離至液體中。

【第10項】如申請專利範圍第 9 項所述的分析用試料的調製方

法，其中

在所述回收對象物質游離至液體中之後，分離所述過濾單元與所述閉鎖單元，

藉由離心過濾，將游離有所述回收對象物質的液體予以回收。

【第11項】如申請專利範圍第9項或第10項所述的分析用試料的調製方法，其中

固定於所述固體表面的特定物質為蛋白質，

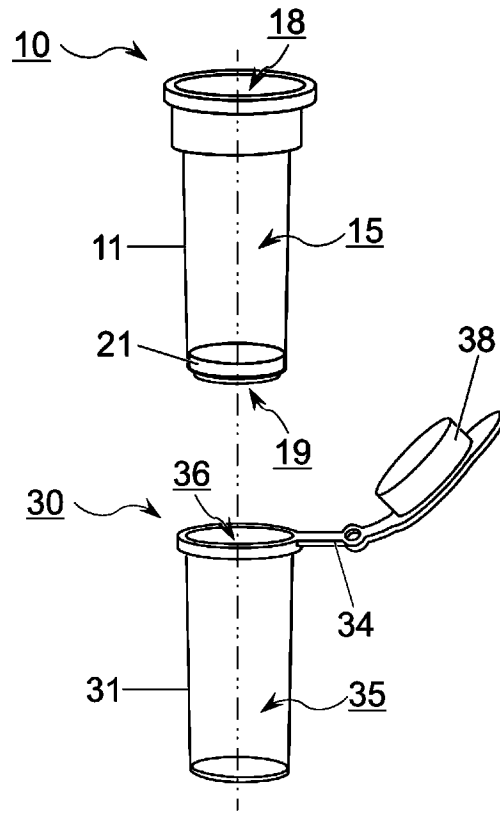
利用蛋白酶來消化蛋白質，藉此使肽斷片作為所述回收對象物質而游離至液體中。

【第12項】如申請專利範圍第11項所述的分析用試料的調製方法，其中

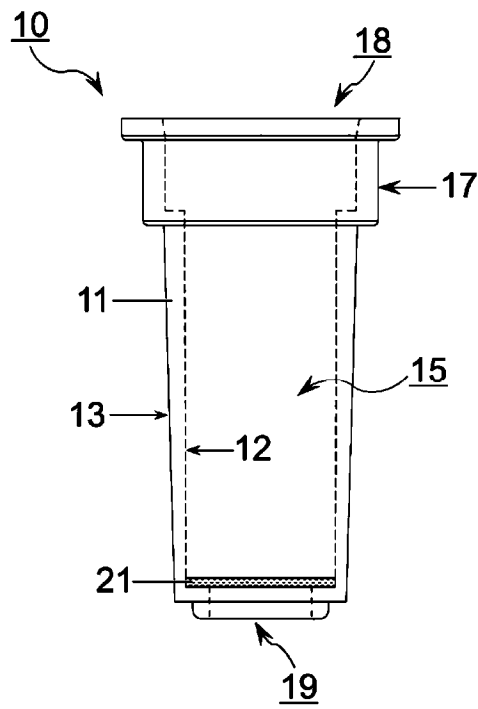
所述固體為多孔體，檢體中的蛋白質固定於所述多孔體的細孔內，

固定於微粒子表面的蛋白酶與固定於所述多孔體的細孔內的蛋白質接觸，藉此位置選擇性地切斷所述蛋白質，肽斷片游離至液體中。

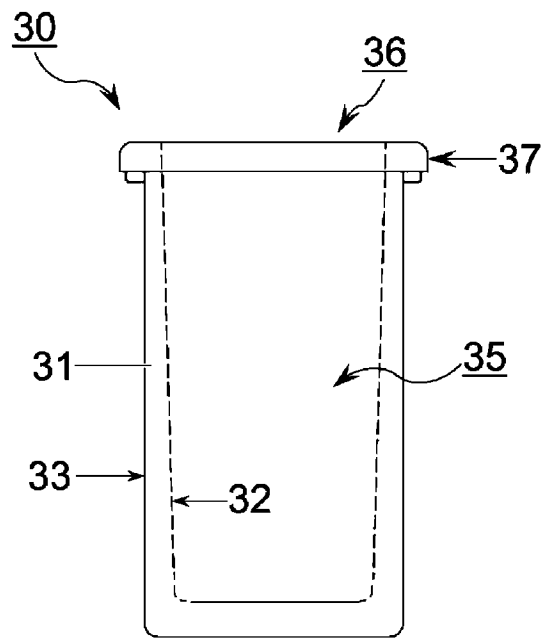
【發明圖式】



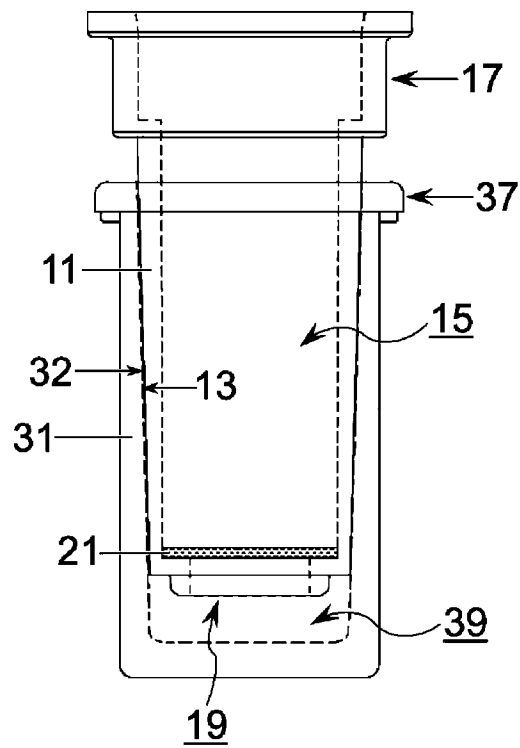
【圖1】



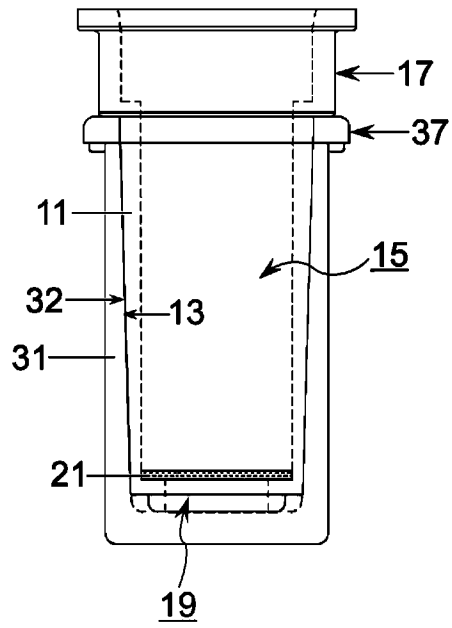
【圖2A】



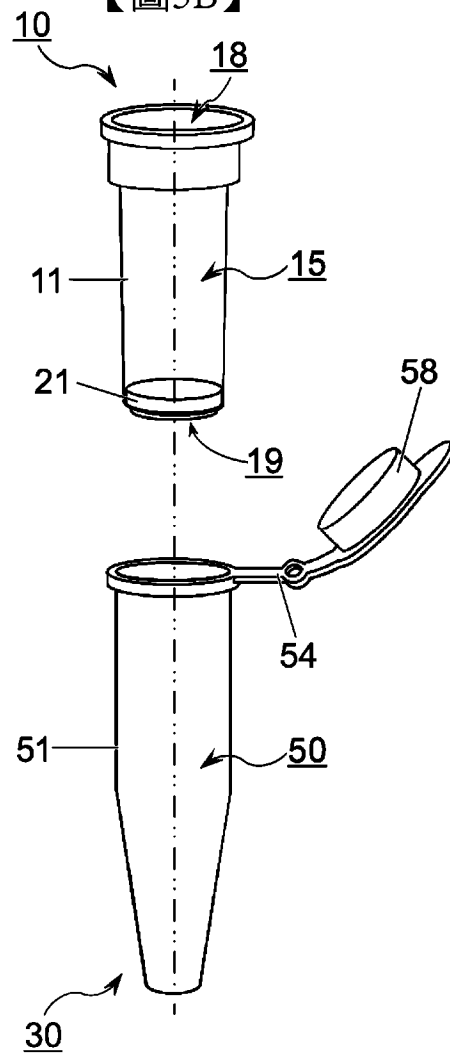
【圖2B】



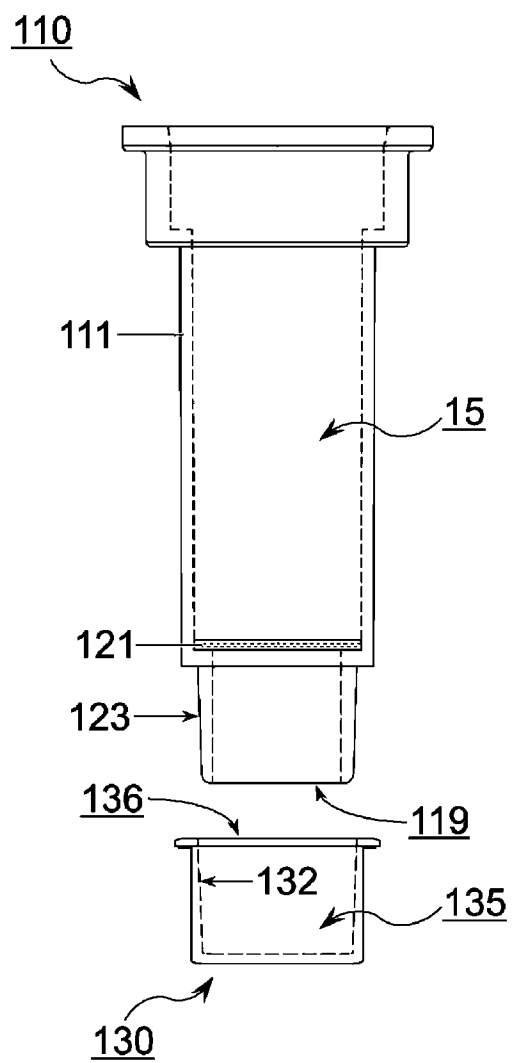
【圖3A】



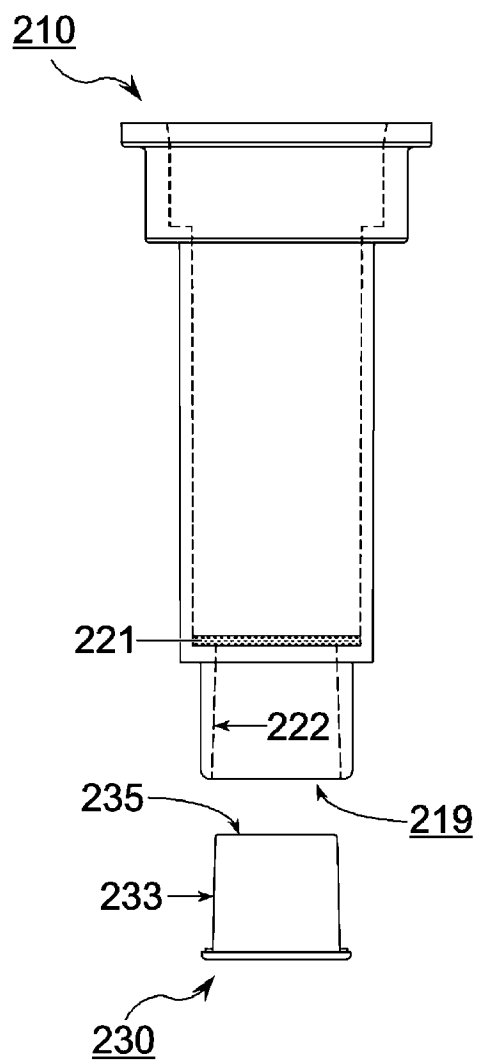
【圖3B】



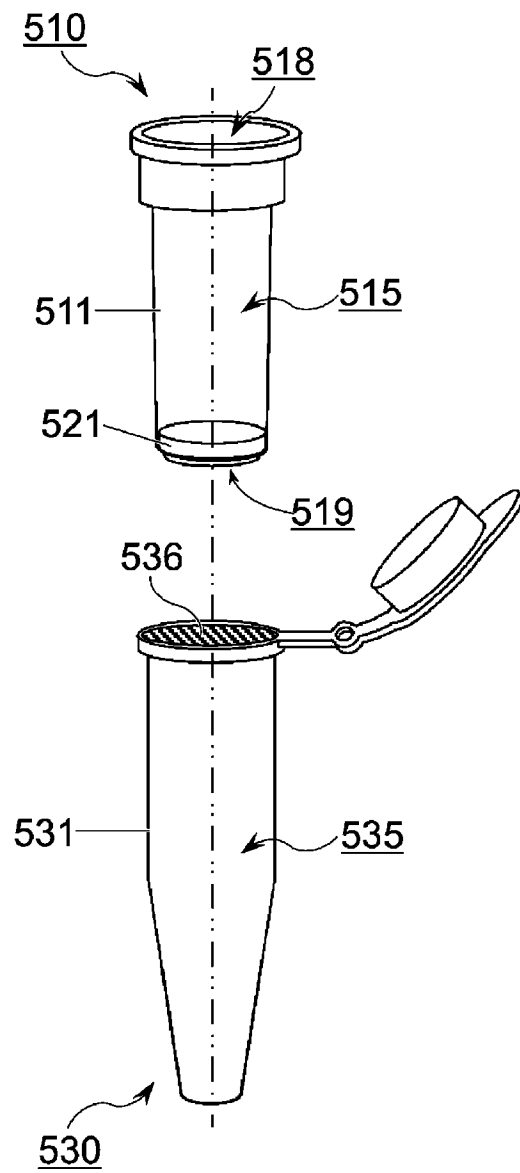
【圖4】



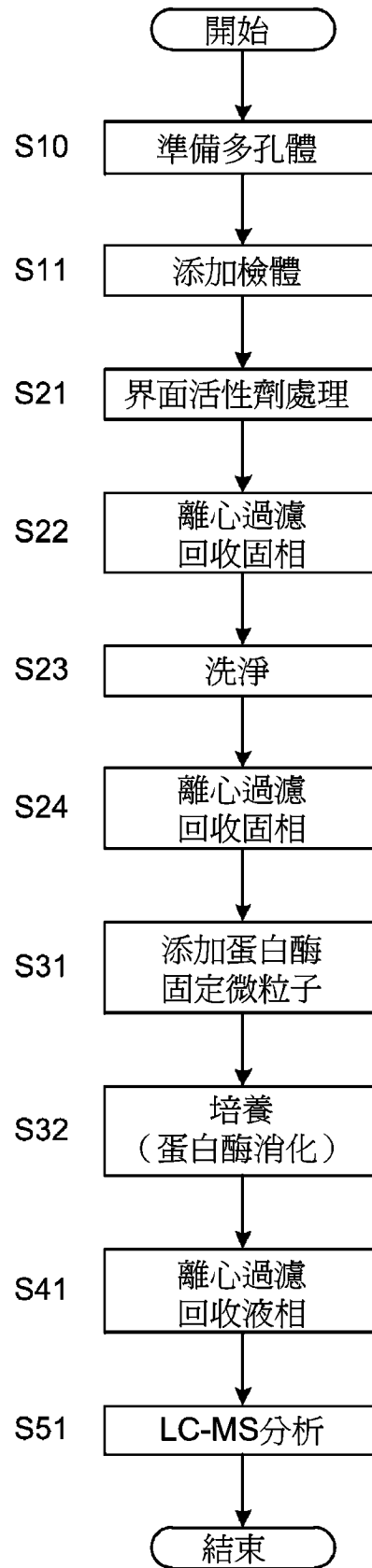
【圖5】



【圖6】



【圖7】



【圖8】



申請日: 106/03/21

## 【發明摘要】

IPC分類: *B01D 29/88* (2006.01)  
*B01D 35/30* (2006.01)  
*B01L 3/14* (2006.01)  
*G01N 33/68* (2006.01)  
*G01N 30/06* (2006.01)  
*C12Q 1/37* (2006.01)

【中文發明名稱】 容器組以及分析用試料的調製方法

## 【中文】

容器組包含過濾單元 (10) 及能夠裝卸於過濾單元的閉鎖單元 (30)。過濾單元包括: 框體 (11), 其一端設置有試料導入開口 (18), 其另一端設置有液體排出開口 (19); 以及過濾器 (21), 固定於框體。過濾單元的框體具有第一接合部, 閉鎖單元具有以能夠與第一接合部接合的方式構成的第二接合部。在第一接合部及第二接合部構成為兩者接合的狀態下, 液體排出開口在空間上被閉鎖。以使兩者的距離縮短的方式而推入過濾單元與閉鎖單元, 藉此, 閉鎖單元與過濾器之間的空間相對於試料收容空間達到正壓。

【指定代表圖】 圖1。

【代表圖之符號簡單說明】

10: 過濾單元

11: 框體

15: 試料收容空間

18: 試料導入開口

19: 液體排出開口

21: 過濾器

30：閉鎖單元

31：本體部

34：鉸鏈

35：空間

36：接合用開口

38：蓋

## 【特徵化學式】

無