



(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 I472369 B

(45) 公告日：中華民國 104 (2015) 年 02 月 11 日

(21) 申請案號：101126604

(22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 07 月 24 日

(51) Int. Cl. : **B01D61/00 (2006.01)****G01N33/536 (2006.01)****G01N21/76 (2006.01)**

(71) 申請人：國立中央大學 (中華民國) NATIONAL CENTRAL UNIVERSITY (TW)

桃園市中壢區中大路 300 號

(72) 發明人：陳健生 CHEN, CHIEN SHENG (TW)；何天瑜 HO, TIEN YU (TW)

(74) 代理人：劉正格

(56) 參考文獻：

Itoh, S., Kariya, M., Nagano, K., Yokoyama, S.I. and Fukao, T., 'New rapid enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against bacterial surface antigens using filtration plates', Biological and Pharmaceutical Bulletin 25, 986, 2002.

Liu, Y. and Li, Y., 'Detection of Escherichia coli O157:H7 using immunomagnetic separation and absorbance measurement', Journal of Microbiological Methods, 51, 369, 2002.

審查人員：李嘉修

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：5 共 46 頁

(54) 名稱

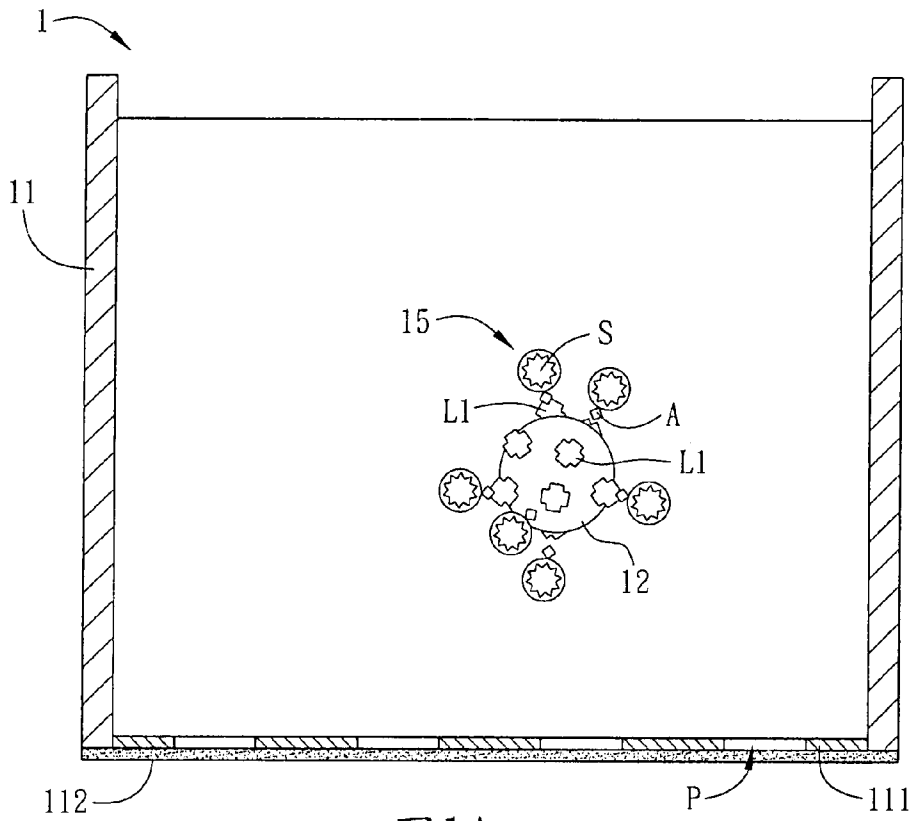
分析套組及分析方法

ASSAY KIT AND ANALYSIS METHOD

(57) 摘要

本發明提供一種分析套組，與一分析物反應，分析套組包括複數反應容器以及複數微粒。各反應容器包括一濾膜，且濾膜具有複數孔洞。各微粒之粒徑大於各孔洞，且係直接或間接與分析物或其競爭物結合。此外，本發明亦提供一種分析方法。

The present invention provides an assay kit reacting with an analyte and containing a plurality of reaction vessels and a plurality of micro beads. Each of the reaction vessels contains a filter membrane with a plurality of holes, and the diameter of each of micro beads is greater than the diameter of each of the holes, and each of the micro beads is directly or indirectly bound to the analytes or the competitors of the analytes. Additionally, the present invention also provides an analysis method.



- 1 . . . 分析套組
- 11 . . . 反應容器
- 111 . . . 濾膜
- 112 . . . 封合件
- 12 . . . 微粒
- 15 . . . 訊號複合物
- A . . . 分析物
- L1 . . . 第一配位件
- P . . . 孔洞
- S . . . 訊號分子

圖1A

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101126604

B01D 61/00 (2006.01)

※申請日：101. 7. 24

※IPC 分類：G01N 33/536 (2006.01)

G01N 21/76 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

分析套組及分析方法 / ASSAY KIT AND ANALYSIS
METHOD

二、中文發明摘要：

本發明提供一種分析套組，與一分析物反應，分析套組包括複數反應容器以及複數微粒。各反應容器包括一濾膜，且濾膜具有複數孔洞。各微粒之粒徑大於各孔洞，且係直接或間接與分析物或其競爭物結合。此外，本發明亦提供一種分析方法。

三、英文發明摘要：

The present invention provides an assay kit reacting with an analyte and containing a plurality of reaction vessels and a plurality of micro beads. Each of the reaction vessels contains a filter membrane with a plurality of holes, and the diameter of each of micro beads is greater than the diameter of each of the holes, and each of the micro beads is directly or indirectly bound to the analytes or the competitors of the analytes. Additionally, the present invention also provides an analysis method.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：圖 1A。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

1：分析套組

11：反應容器

111：濾膜

112：封合件

12：微粒

15：訊號複合物

A：分析物

L1：第一配位件

P：孔洞

S：訊號分子

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種分析套組及分析方法。

【先前技術】

生物感測一向是環境監控、科學研究分析、醫學診斷、工業品管以及食物安全等領域中的重要方法。利用辨識分子與分析物間專一性辨識的分析法已經長期且廣泛地被應用於多項技術中。其中，包含盤式分析法（microtiter plate based assay）、平行流體免疫層析法（lateral flow immunochromatographic assay）或微珠式分析法（bead based assay）等。

微珠式分析法主要的優勢為促使固相與液相分子混合的均勻分布性。目前微珠式分析法之應用可例如結合流式細胞儀和至多 100 種不同螢光標定的微珠，結合辨識分子以後便可以廣泛應用在針對不同目標的偵測與分析。或是利用具有磁珠的微珠分析的方法，以進行純化之應用，其係針對微珠與欲分析的物質專一性結合後，並以磁性進一步將結合有欲分析的磁珠分離出來。

然而，微珠式分析法係要藉由流式細胞儀之分析或是標定多種具有不同分析功能之微珠，使製程變得複雜且需耗費高成本，難以符合進行大量及快速分析的需求。相較於磁珠之應用，其藉由磁力以達分離及純化的方式相對具有有效的提升分析的便利性、靈敏度、專一性、快速和簡

便性等特性。但磁珠需藉由磁力吸引以與其他物質進一步分離的過程，又難免造成步驟繁複且會因磁力不均勻或不足而有部分磁珠損失的疑慮。

因此，如何提供一種製程簡單、低成本以及可快速分析大量樣品的分析套組及相關分析方法，已成為目前檢測分析領域中的重要課題之一。

【發明內容】

有鑑於上述課題，本發明之目的為提供一種製程簡單、低成本以及可快速分析大量樣品的分析套組及分析方法。

有鑑於上述之目的，本發明提供一種分析套組，與一分析物反應，分析套組包括複數反應容器以及複數微粒。各反應容器分別包括一濾膜，濾膜上具有複數孔洞，而各微粒之粒徑大於各孔洞，且係直接或間接與分析物或其競爭物結合。

在本發明一實施例中，孔洞之一孔徑係介於 1 nm 至 1 cm 之間。

在本發明一實施例中，微粒之材質包括玻璃、乳膠、橡膠、磁石、樹脂、金屬、陶瓷、多醣、塑膠、或矽。

在本發明一實施例中，分析物或其競爭物係為一蛋白質、胜肽、核酸、醣類、化合物、細胞、或微生物。

在本發明一實施例中，分析套組係更包括一辨識分子，其係與分析物或其競爭物接合。

在本發明一實施例中，分析套組係更包括一第一配位件，其係直接或間接接合分析物或其競爭物或一辨識分子於微粒。

在本發明一實施例中，分析套組係更包括一第二配位件，其係連接分析物或其競爭物或辨識分子，第二配位件能與第一配位件結合，其中第一配位件與第二配位件結合方式係包括抗原與抗體之結合、蛋白質與輔因子之結合、核酸與核酸之結合、核酸與醣類之結合、核酸與化合物之結合、蛋白質與蛋白質抑制劑之結合、蛋白質與醣類之結合、蛋白質與脂質之結合、蛋白質與化合物之結合、酵素與酵素受質之結合或蛋白質與核酸之結合。

在本發明一實施例中，分析套組係更包括複數訊號分子，係分別與分析物或其競爭物或辨識分子結合。

在本發明一實施例中，訊號分子係包括酵素、酵素受質、呈色劑、放射線物質、奈米脂粒、或金屬化合物。

在本發明一實施例中，反應容器係為分別具有至少一濾盤或至少一管柱。

在本發明一實施例中，分析套組係更包括一封合件，設置於濾膜之流出側。

本發明另提供一種分析方法，與一分析物反應之一分析套組配合，分析套組係包括複數反應容器以及複數微粒，各反應容器包括一具有複數孔洞的濾膜，分析方法係包括將具有分析物或其競爭物的一溶液加入各反應容器，微粒分別與分析物或其競爭物進行直接或間接接合、

加入複數訊號分子，訊號分子連接至分析物或其競爭物、濾除反應容器中之溶液以及偵測訊號分子所產生之訊號強度。

在本發明一實施例中，各微粒之粒徑係大於各孔洞。

在本發明一實施例中，溶液係更包括至少一辨識分子，其係與分析物及其競爭物接合，並直接或間接接合於微粒。

在本發明一實施例中，分析方法之步驟係更包括設置至少一第一配位件於微粒的表面，第一配位件係能與分析物或其競爭物或辨識分子直接或間接結合。

在本發明一實施例中，分析方法更包括設置一第二配位件於分析物或其競爭物或辨識分子，其中第一配位件及第二配位件係能相互結合。

在本發明一實施例中，分析方法中之第一配位件與第二配位件結合方式係包括抗原與抗體之結合、蛋白質與輔因子之結合、核酸與核酸之結合、核酸與醣類之結合、核酸與化合物之結合、蛋白質與抑制劑之結合、蛋白質與醣類之結合、蛋白質與化合物之結合、蛋白質與脂質之結合、酵素與酵素受質結合或蛋白質與核酸之結合。

在本發明一實施例中，分析方法更包括設置一封合件於濾膜之流出側。

在本發明一實施例中，分析方法之步驟中更包括移除封合件，使溶液自孔洞流出。

綜上所述，本發明所提供之一種分析套組，藉由微粒

之粒徑大於濾膜孔洞，能快速經由濾除方式將直接或間接結合在微粒上之分析物或其競爭物與其他物質分離，並進行定量分析。如此一來，能改善習知技術中需以提供磁性將磁珠於分離時的複雜程序。本發明之分析套組更兼具分析容易且設備器材成本較低且能廣泛應用於各種分析法等優勢，且反應容器能依據分析所需而製成各種容積，因此更能應用於高通量的分析。另外，本發明亦提供一種分析方法，搭配本發明之分析套組，能實施間接型酵素連結免疫吸附法、競爭型酵素連結免疫吸附法以及三明治型酵素連結免疫吸附法，相較習知技術之分析方法可更為快速且靈敏地分析及定量分析物。

【實施方式】

以下將參照相關圖式，說明依本發明提供之製程簡單、低成本以及快速分析的分析套組，其能快速分析大量的樣品。另外，本發明又提供一種以此分析套組進行分析之分析方法，其中相同的元件將以相同的參照符號加以說明。

本發明所提供之一種分析套組，係能與一分析物反應，以偵測分析物的濃度，應用領域可包含化學檢測分析以及免疫檢測等分析技術。圖 1A 係為本發明一實施例之一種分析套組的其中一反應容器示意圖。請參照圖 1A 所示，本發明之分析套組 1 係包括複數反應容器 11 以及複數微粒 12。

本發明之各反應容器 11 係包括一濾膜 111，濾膜 111 可以係設置於反應容器 11 中間、底部或側壁。在本發明一實施例中，濾膜 111 係沿反應容器 11 底部邊緣設置，且設置於反應容器 11 的流出側。而本發明所使用之濾膜 111 材質係包括乙酸纖維素 (cellulose acetate)、或聚醚砜 (polyester sulfone)。另外，本發明之濾膜 111 係具有複數孔洞 P，每個孔洞 P 之孔徑大小係介於約 1 nm 至 1 cm 之間，較佳介於 0.1 μm 至 100 μm 之間。各孔洞 P 之間距可以係以一固定距離而設置，或是以不同距離相互設置於濾膜 111 上。

反應容器 11 與濾膜 111 圍成之一供操作及反應進行之容置空間，以供複數微粒 12 以及或分析物 A 之競爭者容置。於此，係以各反應容器 11 分別具有一濾膜 111 為例，當然，分析套組 1 的反應容器 11 也可以共用一濾膜 111，而各反應容器 11 則分別對應濾膜 111 的其中一部分。

微粒 12 之粒徑係大於濾膜 111 之孔洞 P 之孔徑大小，使得微粒 12 於反應容器 11 中能藉由其粒徑較孔洞 P 的孔徑大而在過濾步驟後仍被保留在容置空間中。本發明之微粒 12 粒徑較佳係介於 2 nm 至 2 cm 之間。且本發明之微粒 12 所使用之材質係包括玻璃、乳膠、橡膠、磁石、樹脂、金屬、陶瓷、多醣、塑膠、或砂。然而，本發明之微粒 12 之形狀不限於為一球形、橢圓球形、方塊、或其他不規則形狀之結構。在本發明一實施例中，為使微粒 12 能具有較大表面積以接合分析物 A，因此微粒 12 係為一球

形結構。而微粒 12 球狀的表面積，可與含有分析物 A 的樣品溶液充分混合，增加反應的均勻度。

本發明之微粒能直接或間接與分析物或其競爭物接合。於此所謂「直接」係指微粒與分析物或其競爭物接合時，兩者間無倚靠其他元件或分子即達成連接之情況而言；而相反地「間接」係指微粒與分析物或其競爭物接合時，兩者間尚有其他元件或分子以連接兩者的情況而言。適用於本發明之分析套組之分析物係包括蛋白質、胜肽、核酸、醣類、化合物、細胞、微生物、或小分子。其中小分子係可如環境荷爾蒙如三聚氰胺 (melamine)、戴奧辛 (dioxin)、萊克多巴胺 (Ractopamine) (瘦肉精組成分)、苯二甲酸鹽 (phthalate) (塑化劑組成分) 等；或如生理代謝產物如葡萄糖、或尿酸等；或如食品添加物等。而化合物可例如具有醫療功效之醫藥組合物，或分子量小於 1000 的小分子。分析物係可以自生物體中分離出來或經萃取、保存等程序後之樣品，亦或是，以人工合成之方式而獲得之樣品。也就是說，分析物係存在於任何樣品中，且為待分析的標的物。

本發明係依不同的分析方法進行時，元件之間之連結關係會有些許不同，例如於圖 1A 中，進行間接型酵素連結免疫吸附法 (indirect ELISA) 時，微粒 12 係與分析物 A 藉由一第一配位件 L1 而間接結合；而當進行競爭型酵素連結免疫吸附法時 (如圖 4A)，則除了分析物 A 能和微粒 12 間接結合以外 (經由一第一配位件 L1)，樣品中與分

析物 A 結構相似之競爭物 A1 也能與分析物 A 相競爭，而間接結合至微粒 12 上。競爭物 A1 主要係於進行分析時，為了協助間接分析分析物 A 濃度而加入的物質。本發明中所謂之「競爭物」係指該競爭物相對於分析物，亦具有能與專一性辨識該分析物之一辨識分子結合能力者，也就是競爭物係競爭後能結合或辨識分析物之分子，例如抗體。且競爭物可係為與分析物性質完全相同或部分結構相同之物質，如同樣係為蛋白質、胜肽、核酸、醣類、化合物、細胞、微生物、或小分子。一般情況下，分析物 A 或其競爭物 A1 係藉由其分子結構互補之特性或是帶電特性而直接或間接結合至微粒 12，或是分析物 A 或其競爭物 A1 之官能基直接或間接結合至微粒 12。

本發明之微粒與分析物或其競爭物直接結合之方式可以係為兩者間以電荷吸引、或以結構嵌合、或微粒及/或分析物經由化學修飾具有特定官能基可相互鍵結等方式。在本發明一實施例中，微粒例如為一帶負電之樹脂，而分析物例如為一帶正電荷之螢光蛋白。故當含有分析物的樣品溶液被置入反應容器後，分析物即會被微粒吸引，而其餘物質則被濾除。由於分析物本身帶有螢光，故能直接定量出分析物的濃度。

然而，本發明之微粒亦可以係間接結合方式結合分析物及其競爭物。舉例來說，為增加各元件（微粒、或分析物及其競爭物）之間結合能力，或當分析物或其競爭物無法藉由上述之結構嵌合或官能基結合手段結合到微粒上

時，本發明之分析套組中，能透過提供具有較佳結合親和性或結合穩定性之配位件（ligand）來達成。配位件係能設置於微粒、辨識分子、或分析物及其競爭物的至少其中之一的表面上，以協助微粒、辨識分子、或分析物及其競爭物其中任二元件之間的結合。舉例來說，係能藉由一配位件來結合二元件；或是兩元件分別結合至不相同之二配位件，再將此二配位件相互結合。需注意的是，本發明之各元件不限定只能與一種配位件結合，也可以同時連接兩種以上的配位件（一配位組件），以與另一元件結合，端視檢測分析時之目的而定，例如應用於不同之分析方法時，如間接型酵素連結免疫吸附法、競爭型酵素連結免疫吸附法以及三明治型酵素連結免疫吸附法。

如圖 1A 所示，在本發明一實施例中，分析套組 1 係更包括一第一配位件 L1。第一配位件 L1 係用以直接或間接接合分析物 A 或其競爭物，而使分析物 A 或其競爭物係間接接合至微粒 12 上。舉例來說，當分析物 A 或其競爭物與微粒 12 間的結合力較弱時，藉由一與微粒 12 具有較佳結合性之第一配位件 L1 結合於微粒 12 後，同時第一配位件 L1 又具有能與分析物 A 相結合之結構，因此能將分析物 A 穩定地間接接合至微粒 12 上。

如圖 1B 所示，另外，又為使分析物或其競爭物 A1 與第一配位件 L1 可具有較佳之結合親和性，本發明之分析套組係可更包括一第二配位件 L2，其係能與第一配位件 L1 結合。第二配位件 L2 係用以連接分析物或其競爭物

A1，以使分析物或其競爭物 A1 能間接連接至微粒 12 上。如圖中所示，第一配位件 L1 係直接接合至微粒 12 上，而第二配位件 L2 係與競爭物 A1 先接合後，由於第一配位件 L1 與第二配位件 L2 係具有能相互嵌合之結構，因而兩者之間具有較佳之結合性。當然，在本實施例中，第一配位件 L1 及第二配位件 L2 輔助競爭物 A1 接合至微粒 12 上的方式，更可以當第二配位件 L2 接合競爭物 A1 後，再與第一配位件 L1 接合，最後才透過第一配位件 L1 接合至微粒 12 上；或是，第一配位件 L1 結合至微粒 12 後加入第二配位件 L2，當第二配位件 L2 與第一配位件 L1 結合後，再加入競爭物 A1；亦或是，第一配位件 L1 與第二配位件 L2 先結合後，以第一配位件 L1 之一端結合至微粒 12 上後，再加入競爭物 A1，本發明均不設限。

本發明之第一配位件 L1 與第二配位件 L2 之結合方式係包括抗原與抗體之結合如健他黴素 (gentamycin) 與抗健他黴素抗體 (anti-gentamycin antibody) 之結合、蛋白質與輔因子 (cofactor) 之結合如卵白素 (strapavidin or avidin) 與生物素 (biotin) 之結合、核酸與核酸之結合如核酸類之適配體 (nucleic acid aptamers) 與核酸之結合、核酸與醣類之結合、核酸與化合物、蛋白質與蛋白質抑制劑之結合如酪胺酸磷酸酶 (tyrosine phosphatase) 與吉非替尼 (gefitinib) 之結合、蛋白質與醣類之結合、蛋白質與脂質之結合、蛋白質與化合物之結合、酵素與酵素受質結合或蛋白質與核酸之結合。

需特別說明的是，第一配位件 L1 與分析物 A 或其競爭物 A1 或第二配位件 L2 間之結合關係端視所使用之材料而定。除此之外，第一配位件 L1 依其結構或所具有之官能基數量及特性，可與至少一具有第二配位件 L2 之分析物 A 或其競爭物 A1 或第二配位件 L2 結合。而同樣地，一個第二配位件 L2 係能與一個以上的分析物 A 或其競爭物 A1 結合。於此，一個第一配位件 L1 係只與一個分析物 A 或其競爭物 A1 或第二配位件 L2 結合，而一個第二配位件 L2 係僅與一個分析物 A 或其競爭物 A1 結合為例。

於本發明之另一實施例，本發明之分析套組係應用於三明治型酵素連結免疫吸附法 (sandwich ELISA)。如圖 1C 所示，在本實施例中，辨識分子 13 係為一捕捉型抗體 (capture antibody)，能與分析物 A 相結合，且辨識分子 13 係能直接結合至微粒 12 之表面。

同樣地，為使辨識分子 13 與微粒 12 之間結合效果更加緊密，在另一實施例中，如圖 1D 所示，微粒 12 及辨識分子 13 係可先分別接合第一配位件 L1 及第二配位件 L2，藉由第一配位件 L1 與第二配位件 L2 結合，可使辨識分子 13 間接結合至微粒 12 上。在此實施例中，第一配位件 L1 與第二配位件 L2 間之結合係可以藉由結構之互補特性或特有官能基間之鍵結而結合。對此，需額外說明的是，本發明之分析套組於進行分析時，依據所使用之分析方法之不同或依分析之需求不同，本發明之分析套組可具有一種以上之辨識分子。如圖 1C 及圖 1D 所示，分析套組係更具

有另一辨識分子 14，其係為一偵測抗體（detection antibody）。當辨識分子 13 與一分析物 A 專一性接合後，最後係再由另一具專一性之辨識分子 14 辨識分析物 A，其中，辨識分子 13 及辨識分子 14 係分別辨識分析物 A 結構上之二不同部位。而本發明之三明治型酵素連結免疫吸附法之其他操作流程及其分析原理，係為本發明所屬技術領域中具有通常知識者所能理解，故不再贅述。

請同時參照圖 1A 至圖 1D，當本發明之第一配位件 L1 與分析物 A 或競爭物 A1 或辨識分子 13 直接或間接結合後，為便於定量結合分析物 A 或競爭物 A1 濃度，因此本發明之分析套組 1 係更包括複數訊號分子 S 能直接或間接結合於分析物 A 或競爭物 A1，使訊號分子 S 濃度能與分析物 A 濃度呈現正相關或負相關，故藉由偵測訊號分子 S 之活化並釋放之訊號強度，可作為偵測微粒 12 所結合之分析物 A 濃度之依據。其中，訊號分子 S 可為酵素、酵素受質、呈色劑、放射線物質、奈米脂粒、或金屬化合物。其中，酵素可例如螢光酵素（luciferase）、 β -半乳糖酶（ β -galactosidase）、辣根過氧化氫酶（horseradish peroxidase）、或鹼性磷酸酶（alkaline phosphatase）等加入受質能釋放螢光訊號者；酵素受質可與酵素連結而活化並產生訊號；呈色劑則例如螢光劑（fluorescein isothiocyanate）、玫瑰紅（rhodamine）、藻紅素（phycoerythrin）、螢光蛋白、磺酰羅丹明 B（Sulforhodamine B, SRB）及冷光物質等無須額外加入酵

素或受質加以活化或進行化學反應之發光物質；放射線物質如 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{111}Tc 等；金屬化合物可例如為鈦錯合物 (Ru complex)。另外，本發明之訊號分子 S 為一奈米脂粒時，係指可例如包覆有上述之訊號分子 S 之微脂體，奈米脂粒中之脂質結構中鑲嵌具有訊號之訊號分子之結構。而部分訊號分子 S 通常係於分析定量前才加入或活化，以使訊號分子 S 能於活性期間內有效被偵測，以避免影響偵測強度衰弱造成之定量誤差。而偵測訊號分子 S 之方法係依據所使用之訊號分子類型之不同而有所差異，例如偵測訊號分子 S 之方法可包括偵測訊號之吸光值或放射線強度等，並搭配相關儀器進行偵測訊號之強度。然而，上述偵測訊號分子之方法係為本發明所屬技術領域具有通常知識者所能理解，故不再贅述。

在本發明一實施例中，訊號分子 S 係與分析物 A 間接結合係如圖 1C 及圖 1D 所示，所使用之訊號分子 S (星形) 係以一微脂體 (圓形) 包覆以形成一訊號複合物 15。訊號複合物 15 係能直接結合於分析物 A 或透過一辨識分子 14 間接結合於分析物 A，並於定量分析前移除微脂體或破裂微脂體而使訊號分子 S (星形) 露出，用以偵測訊號分子 S (星形) 的濃度判斷分析物 A 之濃度。

同樣地，為使訊號分子 S 與分析物 A 具有較佳之結合性，本發明之訊號分子 S 係可更包括一配位件 (圖未表示)，配位件係能直接或間接結合於訊號分子 S 或訊號分子複合物 15。訊號分子 S 能透過配位件與分析物 A 具有

較佳之親和性，以進一步與分析物 A 或與其結合之辨識分子結合。而關於上述訊號分子 S 及微脂體之相關製程及訊號分子 S 結合配位件之舉例說明及其製備之步驟流程，將於後續進一步說明。除微脂體之外，本發明之訊號分子 S 亦能藉由連接其它連結件而結合至分析物，例如一專一結合分析物之抗體或一連結器 (linker)。

再請同時參照圖 1A 至圖 1D，本發明之分析套組係更包括一封合件 112，封合件 112 係設置於濾膜 111 之流出側。當實施各分析法時，為使各反應物質間微粒 12 與第一配位件 L1、第一配位件 L1 與分析物 A 或其競爭物 A1 或第二配位件 L2 之間、訊號分子 S 與分析物 A 或其競爭物 A1 或辨識分子 14 等之間能有足夠時間進行經由浸泡以相互進行專一性結合，封合件 112 係能暫時封閉濾膜 111 之孔洞 P，待反應完全後再移除封合件 112，以濾除多餘之溶液。在本發明一實施例中，封合件 112 係為一薄膜、或盒蓋形式，且其材質可以金屬、乳膠或塑膠材質製成。

由於反應容器 11 具有一濾膜 111，因此本發明之分析套組之單一反應容器可係為具有至少一濾盤 (filter plate) 或至少一管柱形式。當反應容器為一濾盤形式時，則可以同時進行多種不同分析方法或同時分析不同的分析物。每個反應容器之組合方式可係如圖 2A 所示，相互併排於一平面之方式組合成具有各種數目之反應容器 11 之分析套組 2，組合方式較佳係為一陣列式排列，如 96 孔濾盤、或 384 孔濾盤、或 1536 孔濾盤等。各濾盤或管柱之反應空間

深度係可隨分析樣品之體積進行調整，如可容置 1 μ l 至 100 ml 溶液體積之空間。由於具有複數反應容器 11，故本發明之分析套組 1 能進行分析中的各項檢測及分析，包括以標準品建立標準濃度曲線、或於相同樣品之間進行重複試驗。

舉例來說，如圖 2B 所示，圖中所顯示係為本發明之分析套組以一 96 孔濾盤形式表示，且為俯視示意圖。A1~A8 係為稀釋不同濃度標準品，並以此建立之標準曲線對分析物濃度進行分析，而 B1~B8 係為針對八種不同的分析物進行分析，C1~C8 及 D1~D8 係為 B1~B8 之另外二重複，將 B1~B8、C1~C8 及 D1~D8 三者之三重複分析結果進行統計並對應標準曲線得到一平均濃度。故，本發明之分析套組除能用於標準曲線之建立以外，也能同時進行多次重覆分析。此外，由於各反應容器之反應空間係能依應用之分析樣品量調整，因此，也適用於高通量之樣品分析。

除此之外，本發明亦提供一種分析方法，係與一分析物反應之一分析套組配合，分析套組係包括複數反應容器以及複數微粒，各反應容器包括一具有複數孔洞的濾膜，分析方法步驟係包括將具有分析物或其競爭物的一溶液加入各反應容器，微粒分別與分析物或其競爭物直接或間接接合（步驟 S1）、加入複數訊號分子，訊號分子連接至分析物或其競爭物（步驟 S2）、濾除反應容器中之溶液（步驟 S3）以及偵測訊號分子所產生之訊號強度（步驟 S4）。

而關於本發明之分析方法，所使用之分析套組係如上述之分析套組，其中之反應容器及其組成元件之相關說明請參照上述。本發明之步驟流程及操作流程示意圖係分別如圖 3 及圖 4A 至圖 4E 所示。在此，圖 4A 至圖 4E 係參照如圖 1B 結構之分析套組同時搭配競爭型酵素連結免疫吸附法進一步說明。

於步驟 S1，在本發明一實施例中，一與分析物相競爭之競爭物能直接與微粒結合。對此，微粒係先加入至反應容器後，隨即加入含有競爭物之一溶液與微粒作用一段時間，使競爭物能與微粒充分結合。

而於另一實施例中，競爭物係間接與微粒結合。對此，本發明之分析方法係更包括設置至少一第一配位件於微粒的表面，第一配位件能與分析物或其競爭物直接結合至微粒上。則在進行步驟 S1 時，則接有第一配位件之微粒係直接先置於反應容器中，再加入含有分析物或其競爭物之溶液至反應容器中與微粒結合。而若分析物或其競爭物係採間接結合方式至微粒時，則本發明之分析方法又可更包括設置一第二配位件於分析物或其競爭物。其中，第一配位件及第二配位件係能相互結合，兩者之結合方式係如上述說明。請同時參照如圖 3 及圖 4A 所示。在此實施例中，微粒 12 係先與第一配位件 L1 結合後，設置於反應容器 11 中，而競爭物 A1（方形斜線）則係與一第二配位件 L2 進行結合。圖 4A 中係以單一個反應容器 11 為例，而真正進行操作時，係可有複數反應容器 11 一同來進行

分析。於步驟 S1 中，本發明亦不限為先將第一配位件 L1 與微粒 12 結合後才加入競爭物 A1 或第二配位件 L2，也可以係先使第一配位件 L1 與競爭物 A1 或第二配位件 L2 專一性結合後，再透過第一配位件 L1 連接到微粒 12 上，本發明在此不限。當然在其他實施例中，與微粒 12 直接或間接接合者，也可為一分析物 A。

在本實施例中，微粒 12 為樹脂材質，第一配位件 L1 係為卵白素 (streptavidin)，且第二配位件 L2 係為生物素 (biotin) 為例，能與作為第一配位件 L1 之卵白素嵌合。在本實施例中，微粒 12 係浸泡於含有卵白素之一溶液中進行反應，以使卵白素接合至微粒 12 表面。在此實施例中，競爭物 A1 係藉由第二配位件 L2 而結合至第一配位件 L1 之外，並可與分析物 A 共同競爭後續加入具專一結合性之辨識分子 14 (如圖 4B 所示)。需額外說明的是，本發明中之分析方法中，競爭物 A1 與分析物 A 競爭辨識分子 14 之方式，依分析之目的不同，而可以待接有第二配位件 L2 之分析物 A 與微粒 12 上之第一配位件 L1 結合後，再加入競爭物 A1；或是先加入接有第二配位件 L2 之競爭物 A1，待第二配位件 L2 與微粒 12 上之第一配位件 L1 結合後，再加入分析物 A；或是分析物 A 與競爭物 A1 係先混合後再加入，而競爭物 A1 係連接第二配位件 L2，以與連接在微粒 12 上之第一配位件 L1 結合。然而，本發明之競爭物 A1 所扮演之競爭角色，端視分析時檢測需求而定，本發明在此不限。在本實施例中，如圖 4A 所示，分析物

A 係待競爭物 A1 所連接之第二配位件 L2 與第一配位件 L1 間接結合後才加入反應容器 11 中，以競爭後續加入之辨識分子 14。

在本實施例中，第二配位件 L2 係為生物素，其標定分析物 A 或競爭物 A1 之反應係使用 Sulfo-NHS-LC-LC-Biotin (pierce) 以抗生素 20 倍之莫耳數與競爭物 A1 溶液混合，在室溫下反應 2 小時以後加入 68 mM 小牛血清蛋白使未與分析物反應的 Sulfo-NHS-LC-LC-Biotin 與小牛血清蛋白上胺基反應，再以 Tris-HCl 將剩餘的自由 NHS 反應官能基結合，以 Amicon ultrafiltration (Millipore) 將接合競爭物 A1 的生物素與接合小牛血清蛋白 (Bovine serum albumin, BSA) 的生物素藉由大小分離，取得溶有生物素標定競爭物 A1 的過濾液並且加入其 1.5 倍量具有卵白素接合之微粒 12 均勻混合，於室溫反應 1 小時，以使生物素與卵白素間相互結合。同時加入 BSA 溶液以阻斷微粒 12 表面非專一性吸附作用，最後利用離心清洗除去溶液中沒有結合上微粒 12 的其他物質，其中包含游離的競爭物 A1，反覆離心清洗後，最後將合成好的接合競爭物 A1 之微粒 12 溶液儲存在 4°C 備用。

接著，如步驟 S2，加入複數訊號分子 S，此步驟之示意圖係如圖 4C 所示。在本實施例中，訊號分子 S 係以一微脂體包覆以形成一訊號複合物 15。本實施例中，訊號複合物 15 係透過一辨識分子 14，而能專一性結合或標定至

分析物 A 或其競爭物 A1。另外，為使訊號複合物 15 與辨識分子 14 間之專一性結合更佳，本實施例之訊號複合物 15 係更包括一第三配位件 L3。第三配位件 L3 與辨識分子 14 具有較佳專一性，因而能使帶有訊號分子 S 之訊號複合物 15 間接接合至有辨識分子 14 之分析物 A 或競爭物 A1 上。藉由辨識分子 14 與第三配位件 L3 之結合，使訊號分子 S 能標定到分析物 A 及競爭物 A1。當然，於其他實施例中，訊號複合物 15 也可能直接連結於分析物 A 及/或競爭物 A1 上，而不需要藉由辨識分子 14 或第三配位件 L3。

在此實施例中，訊號分子 S 係為一包覆於微脂體中之螢光物質 SRB (sulforhodamine B, Sigma)。本實施例中之微脂體及包覆螢光物質 SRB 之方法如下：微脂體的組成包含 4.8% DPPG (dipalmitoylphosphatidylglycerol, Avanti Polar Lipids)、45.3% DPPC (dipalmitoylphosphatidylcholine, Avanti Polar Lipids)、45.9% 膽固醇 (cholesterol, Sigma) 以及 4% ATA-DPPE，以上的磷脂質組成包覆有 150 mM 的螢光物質 SRB (sulforhodamine B, Sigma)。事先將 N-Succinimidyl S-Acetylthioacetate (SATA, Thermo) 與 DPPE (1,2-dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, Avanti Polar Lipids) 反應 30 分鐘完成 DPPE-ATA 的製備，而後將 cholesterol, DPPC 及 DPPG 溶於 3:1 chloroform/methanol 有機溶劑中，再加入事先完成之 SATA 修飾之 DPPE，以氮氣除去有機溶劑後形成膠狀透明脂質膜再加入預熱至 60°C 的 150 mM SRB 溶液，並於 60°C 的

水浴槽中進行螢光物質 SRB 的包覆反應 (encapsulation)，45 分鐘後將殘留塊狀之脂質震盪混合均勻在溶液中，再次利用 60°C 水浴槽繼續進行螢光物質 SRB 的包覆作用 30 分鐘至 1 小時。

最後，將已形成的螢光微脂體溶液在 60°C 的條件下，來回擠壓穿過 200 nm 孔徑的 polycarbonate syringe filters (Avanti Polar Lipids) 30 次。此時，微脂體直徑已被調整成約 200 nm。將有包覆螢光物質 SRB 的微脂體與未包覆在微脂體內的螢光物質 SRB 利用大小排除層析法 (size exclusion chromatography, SEC) 分離，有包覆螢光物質 SRB 的微脂體經由 SEC (CL-4B resin) 被分離出來，其沖提液為 TBS-sucrose (25 mM Tris, 140 mM NaCl, and 65 g/L 蔗糖，酸鹼值調整至 pH 7.5)。

在本實施例中，第三配位件 L3 係為蛋白質 G (protein G)，而辨識分子 14 係為一免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)，且係為能與分析物 A 及其競爭物 A1 進行專一性結合之一抗體。由於蛋白質 G 係能與免疫球蛋白 G 專一性結合，因此，訊號複合物 15 能透過第三配位件 L3 而與辨識分子 14 專一性結合。

將蛋白質 G 接合至包覆有訊號複合物 15 表面上之接合方法係如下所述：接合反應依 Chen 等人 (2005) 的方法改良，原方法中所使用的 Sulfo-SMCC (Sulfosuccinimidyl 4-(N-maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylate) crosslinker 以具有 24 個 PEG (polyethylene

glycol) 的 SM(PEG)₂₄ (succinimidyl-[(N-maleimidopropionamido)-tetracosaethyleneglycol]ester) 交聯劑 (crosslinker, Thermo) 取代。預期可以使蛋白質 G-微脂體-SRB 足以突破空間障礙的困難而具有更大的靈活度與後續使用之作為辨識分子 14 之抗體結合，利於分析的進行。

關於訊號複合物 15 中之微脂體與蛋白質 G 的接合反應 (conjugation)，其作法如下：首先係由以 SM(PEG)₂₄ 將蛋白質 G 進行衍生化作用 (derivitization of neutravidin with SM(PEG)₂₄) 以及微脂體-螢光物質 SRB 表面的去乙酰反應 (deacetylation) 同時平行進行，其中蛋白質 G 的衍生化反應在酸鹼值 7 至 9 之間在室溫下進行 1 小時，產物由 0.2 M Tris HCl 將未反應的官能基結合後，以分子量大小限制為 7K 的離心柱 (Zeba Desalting column) 將接有 SM(PEG)₂₄ 的蛋白質 G 與未反應的 SM(PEG)₂₄ 分離，得到馬來醯亞胺衍生化 (Maleimide-derivitized) 的蛋白質 G，再與同樣經過 1 小時、室溫下以 0.5 M 羥基胺鹽酸鹽 (hydroxylamine hydrochloride) 去乙酰反應完成後的表面硫醇基裸露之微脂體在酸鹼值 6.5 到 7.5 之間進行反應。此馬來醯亞胺衍生化的蛋白質 G 與微脂體表面之硫醇基在室溫下反應 1.5 個小時後以硫氫基結合劑 NEM (N-ethylmaleimide) 將未反應的微脂體表面硫醇基阻斷，再經由大小排除層析法將蛋白質 G 接合成功的微脂體-螢光物質 SRB 與未接合成功的蛋白質 G 分離，沖提液同樣使用 TBS-sucrose (25 mM Tris, 140 mM NaCl, and 65 g/L

蔗糖，酸鹼值調整至 pH 7.5)。

另外，如圖 3 及圖 4D 所示，本發明之分析方法於進行步驟 S1 之後及/或步驟 S2 之後，可進行一濾除步驟（步驟 S3）。當每個加入步驟（步驟 S1 或 S2）後藉由封合件 112 密合濾膜 111 之孔洞 P，使各物質之間充分作用及結合，之後再藉由移除封合件 112，使溶液中未結合至微粒 12 上的物質如分析物 A 或其競爭物 A1、第一配位件 L1、第二配位件 L2、辨識分子 14 或訊號複合物 15 等，由濾膜 111 之孔洞 P 流出。除此之外，本發明之濾除步驟更包括複數清洗之步驟，以達到充分移除非欲進行偵測之物質。

最後，於步驟 S4 中係偵測微粒 12 上競爭物 A1 所結合之訊號複合物 15 釋放之訊號分子 S 之訊號強度。依據所接合之不同訊號分子 S 種類，本發明之分析方法中係能額外添加其受質或催化酵素等，使訊號分子 S 活化後釋出訊號。在本實施例中，如圖 4E 所示，訊號複合物 15 藉由加入一界面活性劑使微脂體溶解後，釋放出 SRB 訊號分子 S。並且依據各種訊號分子 S 之波長範圍或訊號特性之不同以不同儀器進行偵測，統計各分析數值後定量出分析物 A 之濃度。

需特別說明的是，在本實施例中，當溶液中分析物 A 越多，則後續結合到競爭物 A1 之辨識分子 14 及訊號分子 S 量則越少；反之，溶液中分析物 A 越少，則後續結合到競爭物 A1 之辨識分子 14 及訊號分子 S 量則越多。又由於非與微粒 12 結合之分析物 A 於進行步驟 S3 時會被濾除，

因此，最後偵測被保留在反應容器 11 中的訊號分子 S 強度，將與所加入之分析物 A 濃度成反比，因而能間接推知分析物 A 之濃度。

當然，若用於三明治分析方法時，加入至反應容器中的溶液係更包括至少一辨識分子，辨識分子能與分析物或其競爭物專一性結合，並能直接或間接地接合至微粒上。請參照圖 3、圖 1C 及圖 1D 所示。同樣地，辨識分子 13 係能與分析物 A 專一性結合。在本實施例中，辨識分子 13 係為能與分析物 A 相結合之一抗體。辨識分子 13 能係如圖 1C 所示，直接結合於微粒 12 之表面。或是，為使辨識分子 13 能穩定地結合於微粒 12 上，於步驟 S1 前，如圖 1D 所示，微粒 12 可先直接結合一第一配位件 L1，而辨識分子 13 係結合一第二配位件 L2，而第一配位件 L1 與第二配位件 L2 之結合方式已於前文中詳細描述。然而，依所使用不同之第一配位件 L1 及第二配位件 L2 而有不同之結合手段。待辨識分子 13 與微粒 12 直接或間接結合後，即加入分析物 A 或其競爭物 A1 以與辨識分子 13 結合，進而將分析物 A 或其競爭物 A1 直接或間接結合於微粒 12 上（步驟 S1）。而後續施用於三明治分析方法之步驟 S2、步驟 S3 及步驟 S4 係如上所述，故在此不再贅述。

以下，本發明將以一實施例說明本發明之分析方法，能快速準確建立偵測分析之標準曲線及多重分析之可行性。

實驗例：本發明之分析方法以競爭型分析法分析抗生素

於本實驗例中，分析套組所採用之各元件及其連結關係如圖 4A 所示。其中，微粒 12 係為一樹脂材質製成之粒子。分析物 A 及其競爭物 A1 係均為健他黴素 (gentamycin sulfate)，微粒 12 上具有之複數第一配位件 L1 係為卵白素 (streptavidin)，健他黴素係以上述之方法標定生物素 (biotin) 後與微粒 12 之卵蛋白結合，形成健他黴素微粒。而在本實驗例中，反應容器 11 係為一濾盤。

首先以小牛血清蛋白阻斷在後續所有步驟中非專一性的吸附濾盤之可能性，接著將健他黴素微粒與 6 種具有不同濃度之健他黴素樣品 (0 (負控制組)、0.05、0.1、1、10 以及 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 加入底部有封膜之濾盤中，利用微量盤式震動儀 (micromixer, TAITEC) 混合均勻數秒後加入所需要的抗健他黴素抗體溶液在室溫下反應 1 小時，待反應過後移除封合件 112，於此以鋁箔封膜為例，並將 TBS-sucrose 加入濾盤中，使反應後除了接有抗健他黴素抗體的健他黴素微粒以及未接有抗健他黴素抗體之健他黴素微粒以外，其餘的抗健他黴素抗體-健他黴素、抗健他黴素抗體、剩餘之健他黴素樣品皆隨 TBS-sucrose 溶液流出濾盤以達到分離清洗的效果，總共清洗三次，最後一次清洗步驟後離心將多餘液體移除。再次將 96 孔濾盤底部加上鋁箔封膜，加入含訊號複合物之溶液，即含有蛋白質 G-微脂體-SRB 訊號分子之溶液反應 30 分鐘，移除封合件 112 以後仍使用 TBS-sucrose 溶液清洗，將多餘的蛋白質 G-微脂體-SRB 洗除，清洗共兩次，同樣藉由離心將多餘液體移

除。最後將濾盤按照個孔洞的編號相對應的組合在一般 96 孔濾盤上，加入界面活性劑 n-OG (noctyl-beta-d-glucopyranoside) 將各孔洞中蛋白質 G-微脂體-SRB 打破並且藉由離心將濾盤中因打破蛋白質 G-微脂體-SRB 而釋放出來的 SRB 接入一般 96 孔黑盤中，最終以 synergy 2 (Synergy 2 Multi-Mode microplate reader, BioTek) 在激發光 540 nm 以及吸收光 590 nm 的條件下測量記錄螢光訊號之強弱，而後再統計分析。

利用本發明之分析方法，進行針對健他黴素的偵測，在 6 種不同的健他黴素濃度五重複下，同時在一個濾盤上一共 30 個孔洞中分別進行如同上述的高通量濾盤微珠式競爭型分析反應。其中，6 種健他黴素濃度係包含分別在 TBS (Tris buffered saline) 溶液中濃度為 0 (負控制組)、0.05、0.1、0.2、0.5 以及 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之健他黴素，測量最後收集於一般 96 孔黑盤的螢光訊號以後，結果如圖 5A 所示，本發明之分析套組及分析方法所得到的偵測結果具有穩定的線性關係 ($R^2=0.995$)。另外，在本發明另一實驗例中，樣品係為配製在脫脂牛奶中含有不同濃度的健他黴素溶液，並且依上述之實驗步驟，依然可以偵測到 $R^2=0.9314$ 的線性關係。於此實驗結果中更說明了，本發明之分析套組及分析方法具有極佳之專一性，於分析過程中不會受到溶液中其他物質之干擾。因此，在得到之穩定的標準曲線且具專一性的分析條件下，本發明之分析套組及分析方法能更進一步對未知濃度之分析物進行偵測，而可得到準確

地偵測結果。

為了測量飽和的劑量反應曲線 (Dose response curve) 選擇 0 (負控制組)、0.05、0.1、1、10 以及 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。結果如圖 5B 所示，定義偵測極限(Limit of detection, LOD) 為該濃度的訊號值為負控制組的數據平均扣除三倍負控制組數據標準差 (standard deviation, SD)。得到的 LOD 為 46.99 ng/mL ，足以偵測健他黴素的最高殘餘限量 (Maximum residue level, MRL) 為 200 ng/mL 。除此之外，本發明之分析套組及分析方法能將此 30 個標準品的實驗在 2 小時以內即可完成，具有快速準確分析之功效。

綜上所述，本發明所提供之一種分析套組，藉由微粒之粒徑大於濾膜孔洞，能快速經由濾除方式將直接或間接結合在微粒上之分析物或其競爭物與其他物質分離，並進行定量分析。如此一來，能改善習知技術中需以提供磁性將磁珠於分離時的複雜程序。本發明之分析套組更兼具分析容易且設備器材成本較低且能廣泛應用於各種分析法等優勢，且反應容器能依據分析所需而製成各種容積，因此更能應用於高通量的分析。另外，本發明亦提供一種分析方法，搭配本發明之分析套組，能實施間接型酵素連結免疫吸附法、競爭型酵素連結免疫吸附法以及三明治型酵素連結免疫吸附法，相較習知技術之分析方法可更為快速且靈敏地分析及定量分析物。

以上所述僅為舉例性，而非為限制性者。任何未脫離本發明之精神與範疇，而對其進行之等效修改或變更，均

應包含於後附之申請專利範圍中。

【圖式簡單說明】

圖 1A 至圖 1D 為本發明之一種分析套組之其中一反應容器及其變化態樣示意圖；

圖 2A 為依據本發明一實施例之分析套組組合剖面示意圖；

圖 2B 為依據本發明另一實施例之分析套組組合俯視圖；

圖 3 為依據本發明之分析方法步驟流程圖；

圖 4A 至圖 4E 分別為以本發明之分析套組及本發明之分析方法操作流程圖；以及

圖 5A 及圖 5B 分別為以本發明之分析套組及本發明之分析方法分析健他黴素之數據圖。

【主要元件符號說明】

1、2：分析套組

11：反應容器

111：濾膜

112：封合件

12：微粒

13、14：辨識分子

15：訊號複合物

A：分析物

A1：競爭物

L1：第一配位件

L2：第二配位件

L3：第三配位件

P：孔洞

S：訊號分子

S1～S4：步驟

七、申請專利範圍：

- 1、一種分析套組，與一分析物反應，該分析套組包括：
複數反應容器，分別包括一濾膜，該濾膜具有複數孔洞；以及
複數微粒，各微粒之粒徑大於各孔洞，且係直接或間接與該分析物或其競爭物結合。
- 2、如申請專利範圍第 1 項所述之分析套組，其中該些孔洞之一孔徑係介於 1 nm 至 1 cm 之間。
- 3、如申請專利範圍第 1 項所述之分析套組，其中該些微粒之材質包括玻璃、乳膠、橡膠、磁石、樹脂、金屬、陶瓷、多醣、塑膠、或矽。
- 4、如申請專利範圍第 1 項所述之分析套組，其中該分析物或其競爭物係為蛋白質、胜肽、核酸、醣類、化合物、細胞、或微生物。
- 5、如申請專利範圍第 1 項所述之分析套組，更包括：
一辨識分子，與該分析物或其競爭物接合。
- 6、如申請專利範圍第 1 項所述之分析套組，更包括：
一第一配位件，係直接或間接接合該分析物或其競爭物或一辨識分子於該些微粒。
- 7、如申請專利範圍第 6 項所述之分析套組，更包括：
一第二配位件，其係連接該分析物或其競爭物或該辨識分子，該第二配位件係與該第一配位件結合，其中該第一配位件與該第二配位件結合方式係包括抗原與抗體之結合、蛋白質與輔因子之結合、核酸與

核酸之結合、核酸與醣類之結合、核酸與化合物之結合、蛋白質與蛋白質抑制劑之結合、蛋白質與醣類之結合、蛋白質與脂質之結合、蛋白質與化合物之結合、酵素與酵素受質之結合或蛋白質與核酸之結合。

- 8、如申請專利範圍第 1 項所述之分析套組，更包括：
複數訊號分子，係分別與該分析物或其競爭物結合。
- 9、如申請專利範圍第 8 項所述之分析套組，其中該些訊號分子係包括酵素、酵素受質、呈色劑、放射線物質、奈米脂粒、金屬化合物。
- 10、如申請專利範圍第 1 項所述之分析套組，其中該反應容器係分別具有至少一濾盤或至少一管柱。
- 11、如申請專利範圍第 1 項所述之分析套組，更包括：
一封合件，設置於該濾膜之流出側。
- 12、一種分析方法，與一分析物反應之一分析套組配合，該分析套組係包括複數反應容器以及複數微粒，各反應容器包括一具有複數孔洞的濾膜，該分析方法係包括：
將具有該分析物或其競爭物的一溶液加入各反應容器，該些微粒分別與該分析物或其競爭物進行直接或間接結合；
加入複數訊號分子，該些訊號分子連接至該分析物或其競爭物；
濾除該反應容器中之該溶液；以及

偵測該些訊號分子所產生之訊號強度。

- 13、如申請專利範圍第 12 項所述之分析方法，其中各微粒之粒徑係大於各孔洞。
- 14、如申請專利範圍第 12 項所述之分析方法，其中該溶液係更包括：
至少一辨識分子，其係與該分析物及其競爭物接合，
並直接或間接接合於該些微粒。
- 15、如申請專利範圍第 14 項所述之分析方法，更包括：
設置至少一第一配位件於該些微粒的表面，該第一配位件係與該分析物或其競爭物或該辨識分子直接或間接結合。
- 16、如申請專利範圍第 15 項所述之分析方法，更包括：
設置一第二配位件於該分析物或其競爭物或該辨識分子，其中該第一配位件及該第二配位件係相互結合。
- 17、如申請專利範圍第 16 項所述之分析方法，其中該第一配位件與該第二配位件結合方式係包括抗原與抗體之結合、蛋白質與輔因子之結合、核酸與核酸之結合、核酸與醣類之結合、核酸與化合物之結合、蛋白質與抑制劑之結合、蛋白質與醣類之結合、蛋白質與脂質之結合、蛋白質與化合物之結合、酵素與酵素受質結合或蛋白質與核酸之結合。
- 18、如申請專利範圍第 12 項所述之分析方法，更包括：
設置一封合件於該濾膜之流出側。

- 19、如申請專利範圍第 18 項所述之分析方法，更包括：
移除該封合件使該溶液自該些孔洞流出。

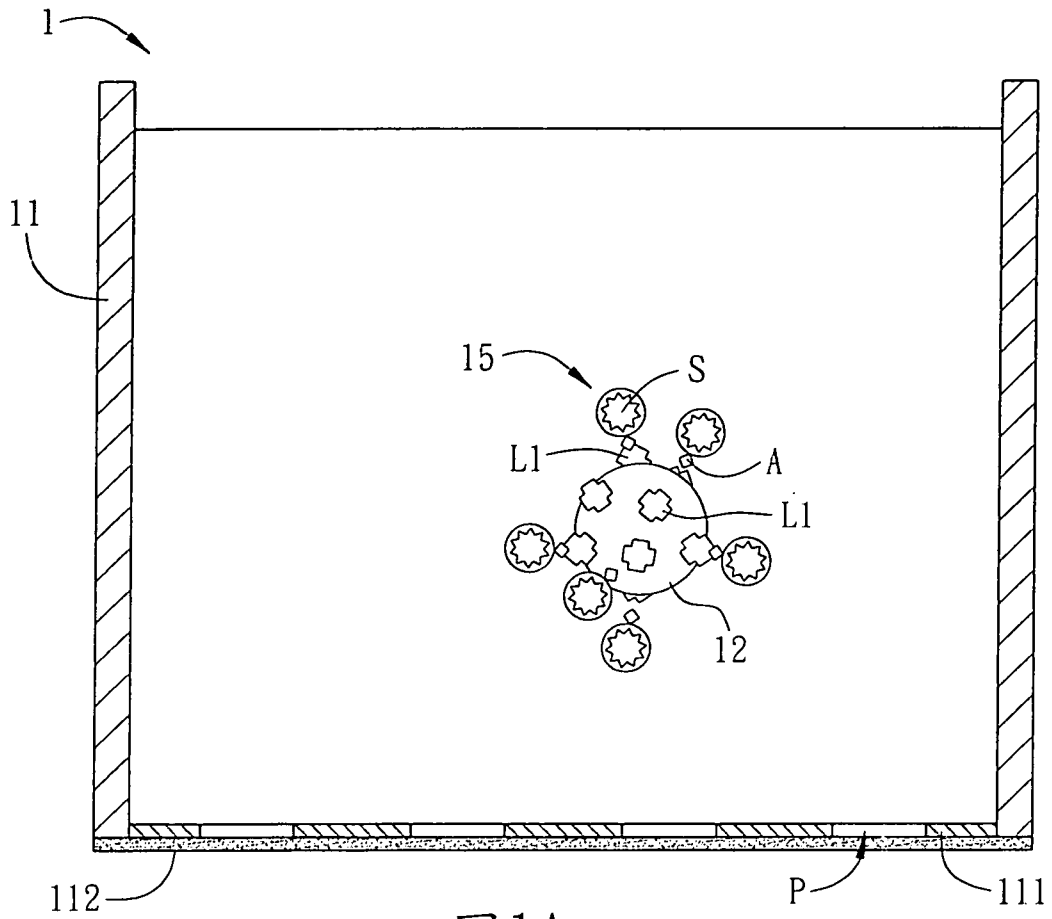


圖 1A

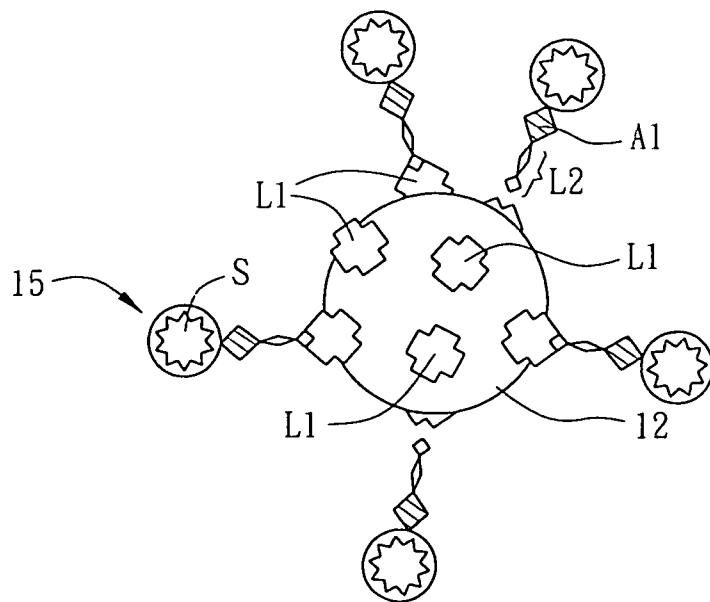


圖 1B

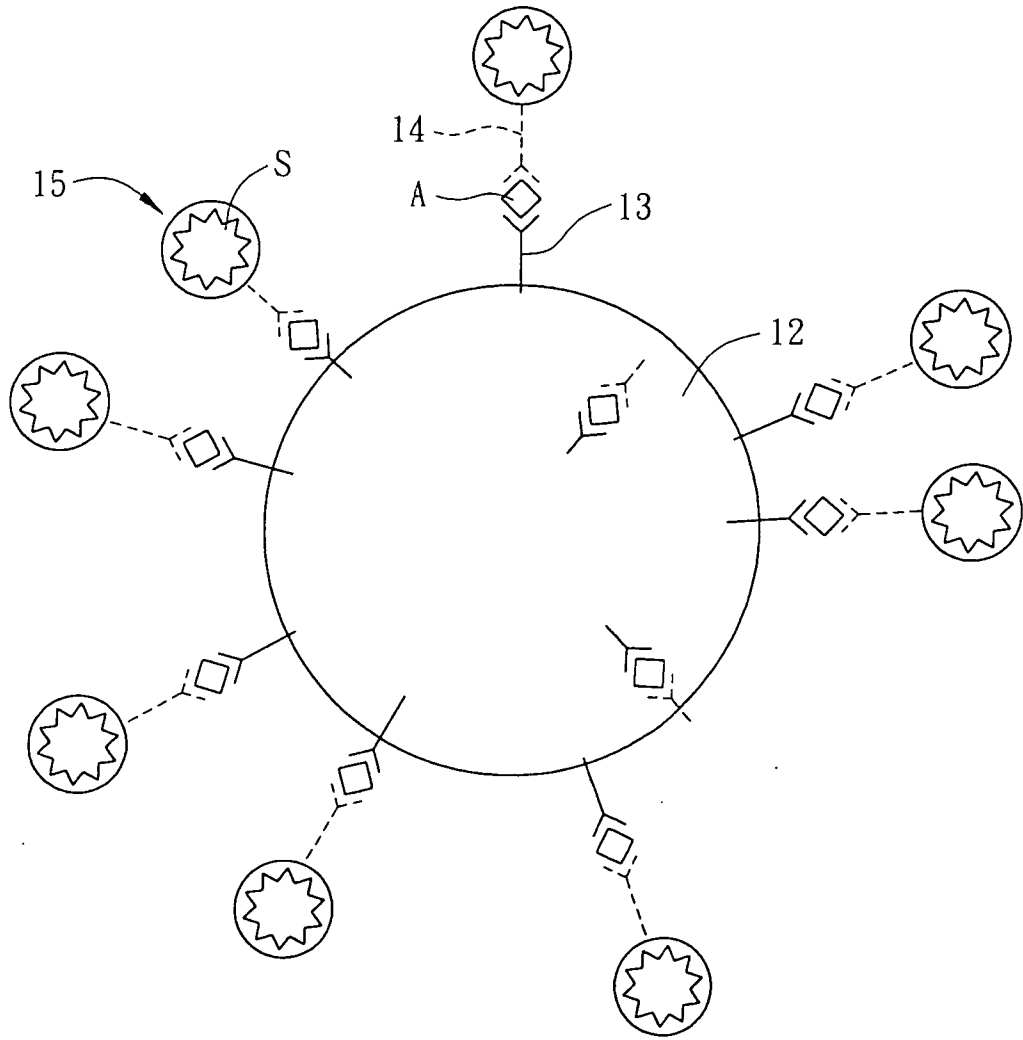


圖 1C

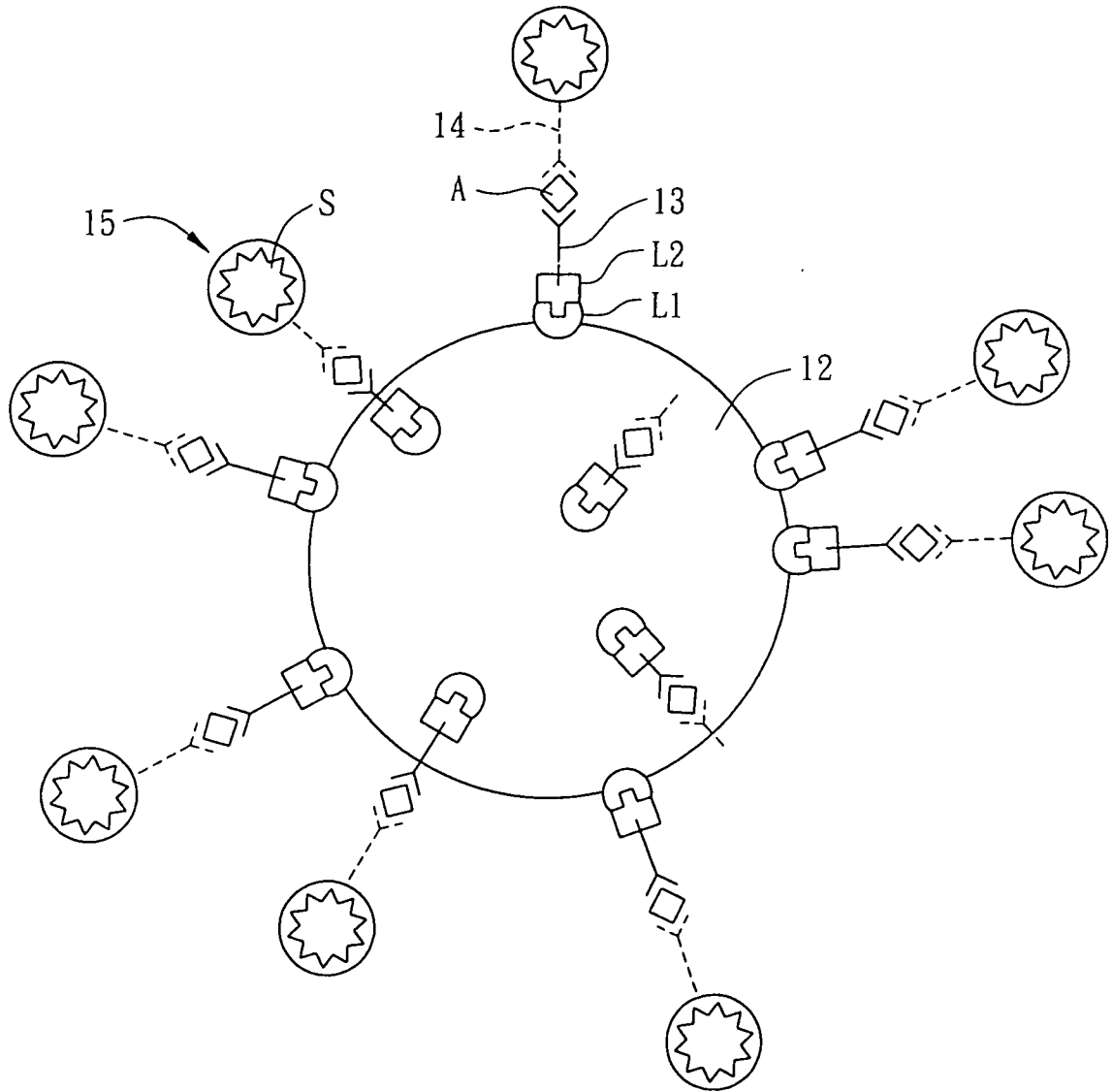


圖 1D

2

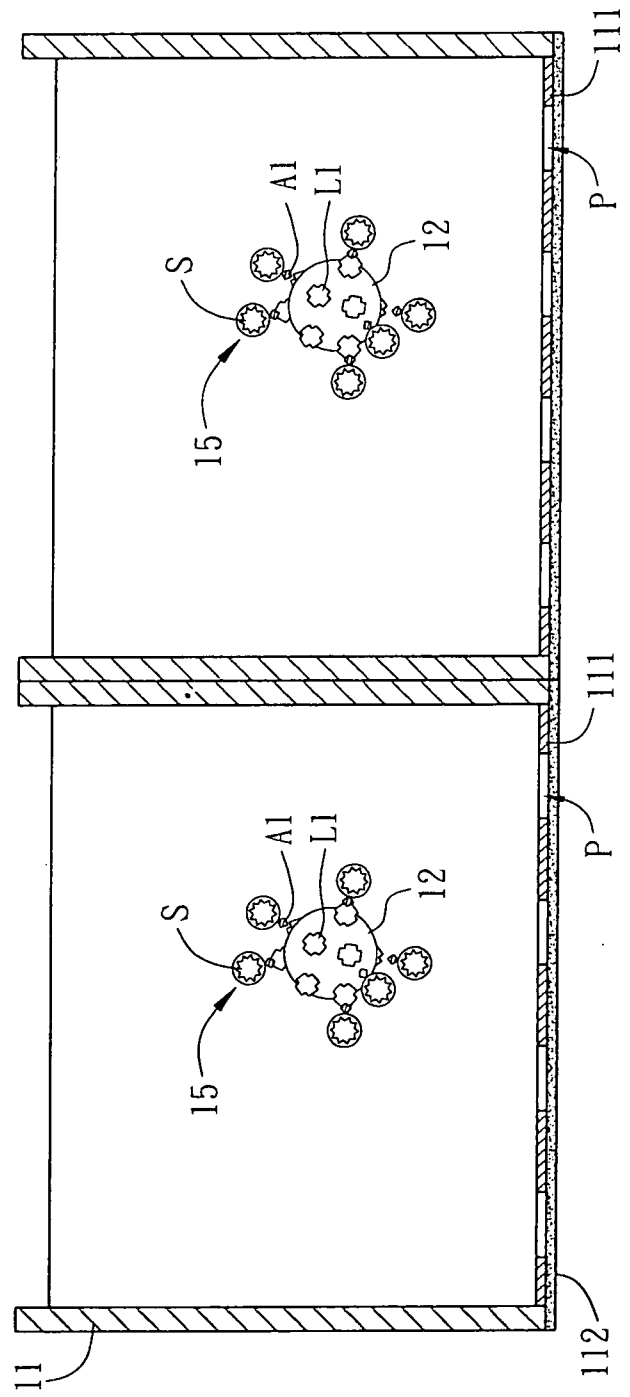


圖2A

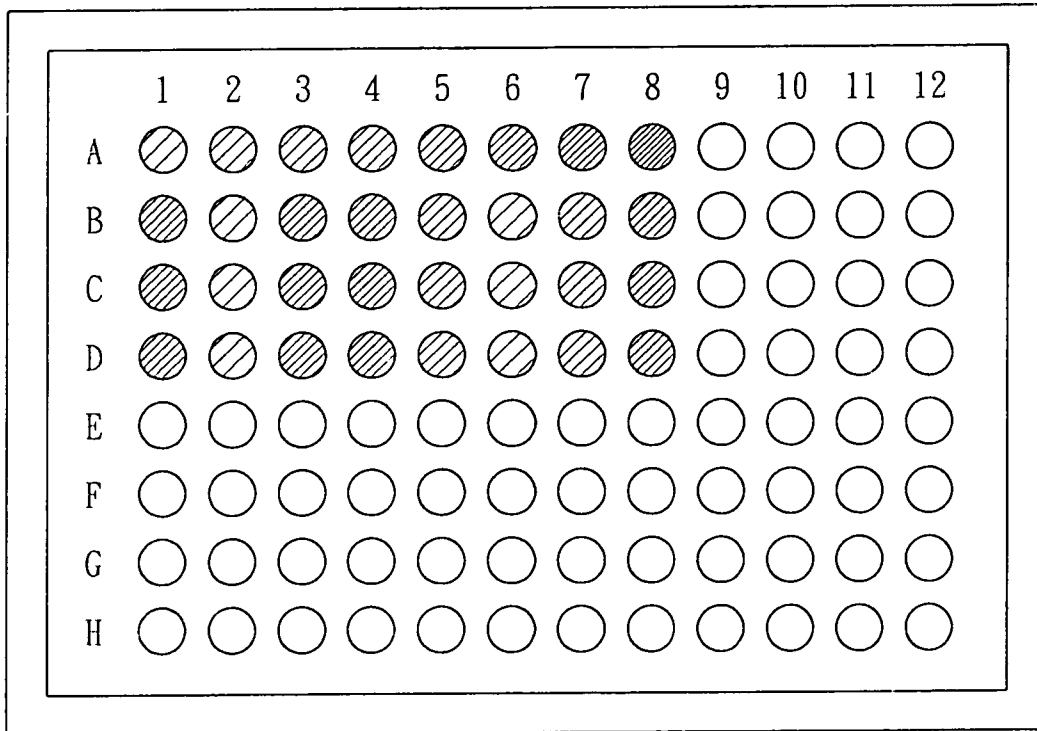


圖2B

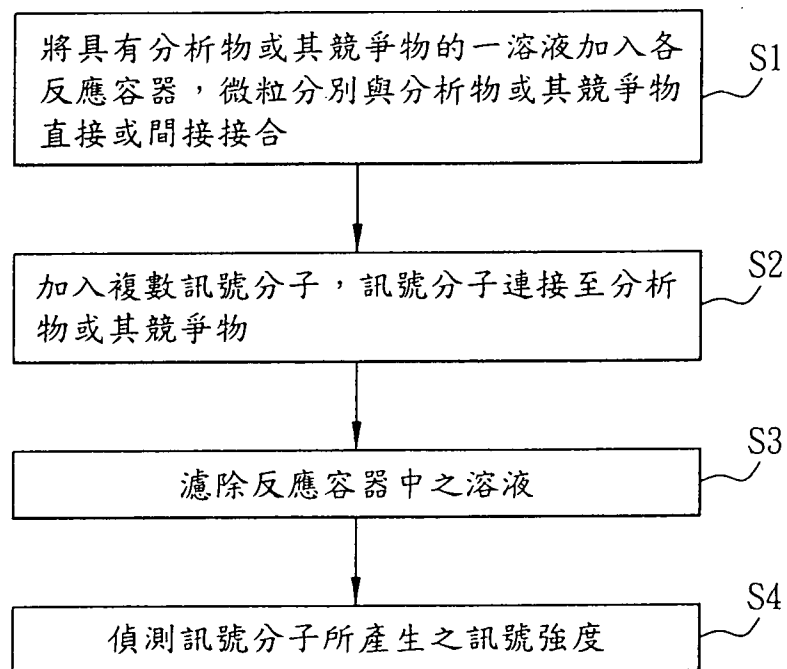


圖3

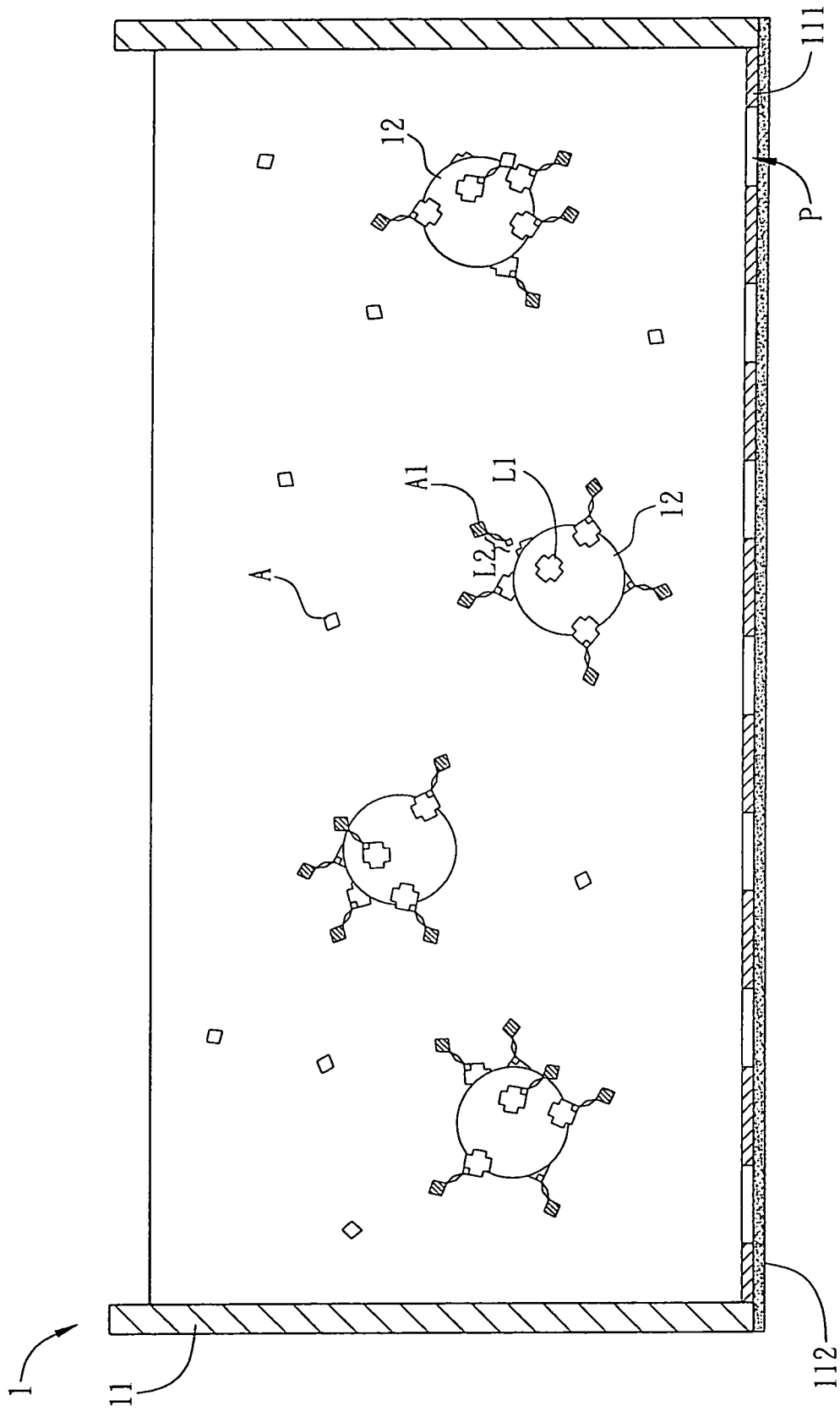


圖4A

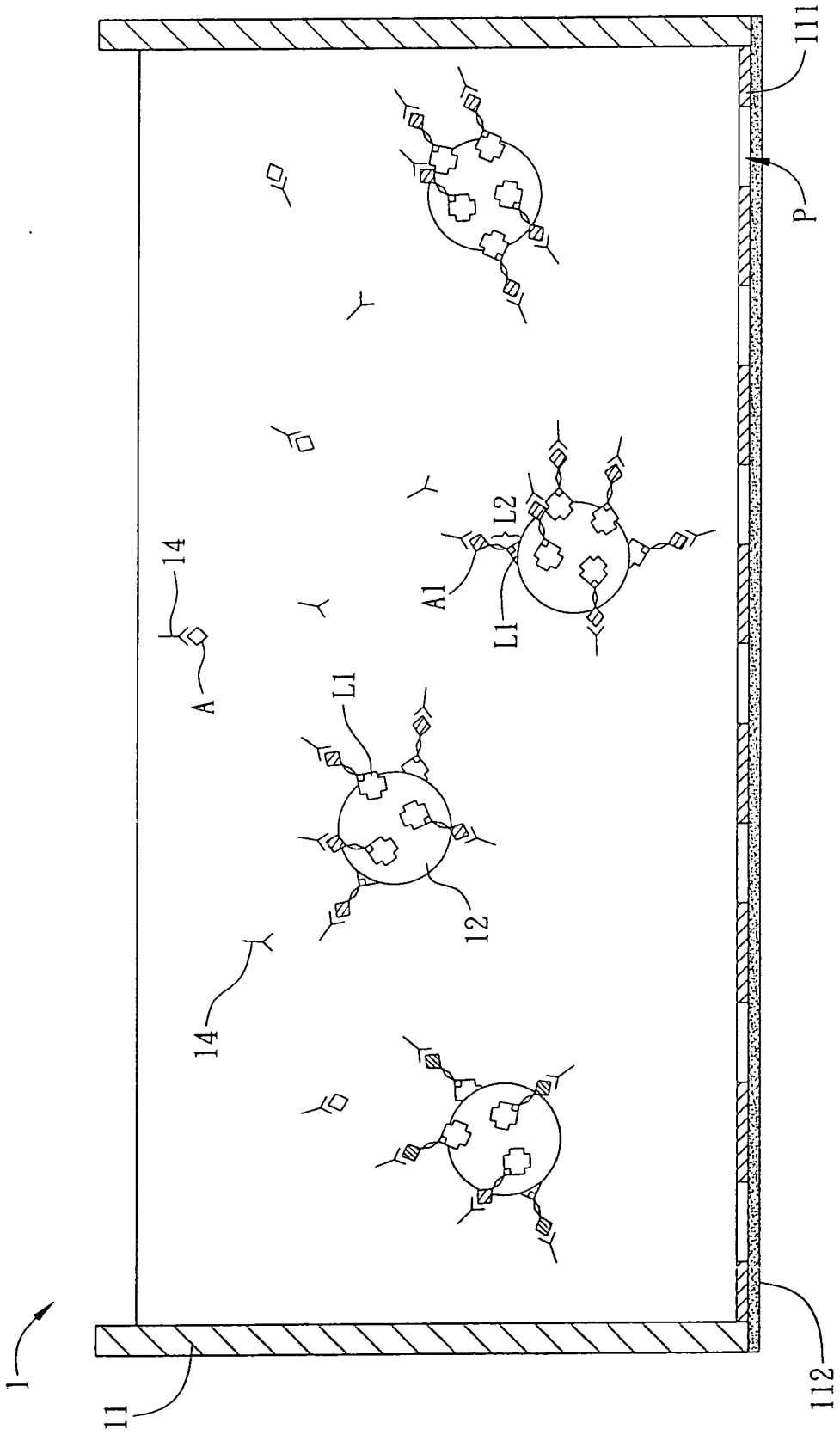


圖4B

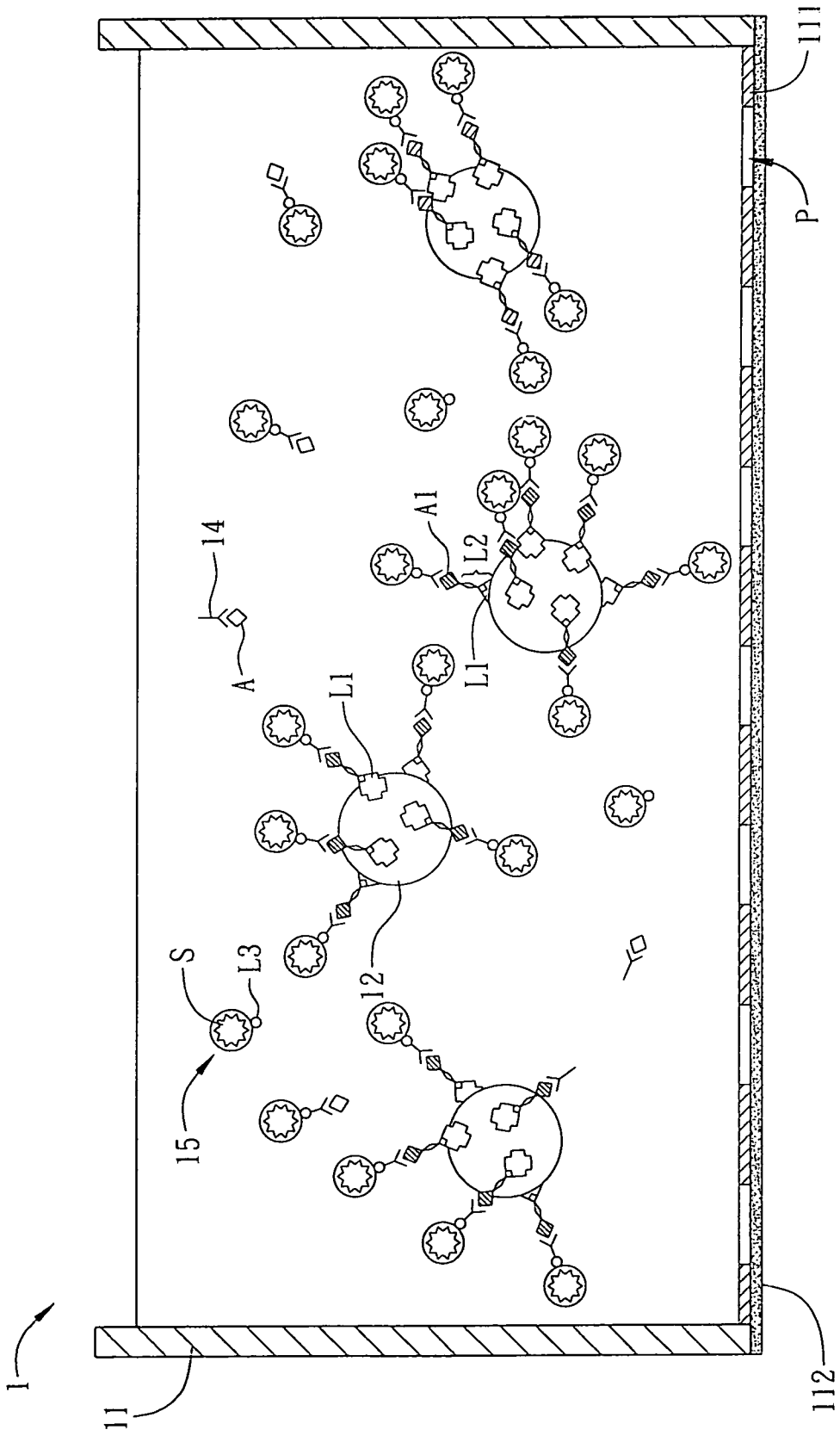


圖4C

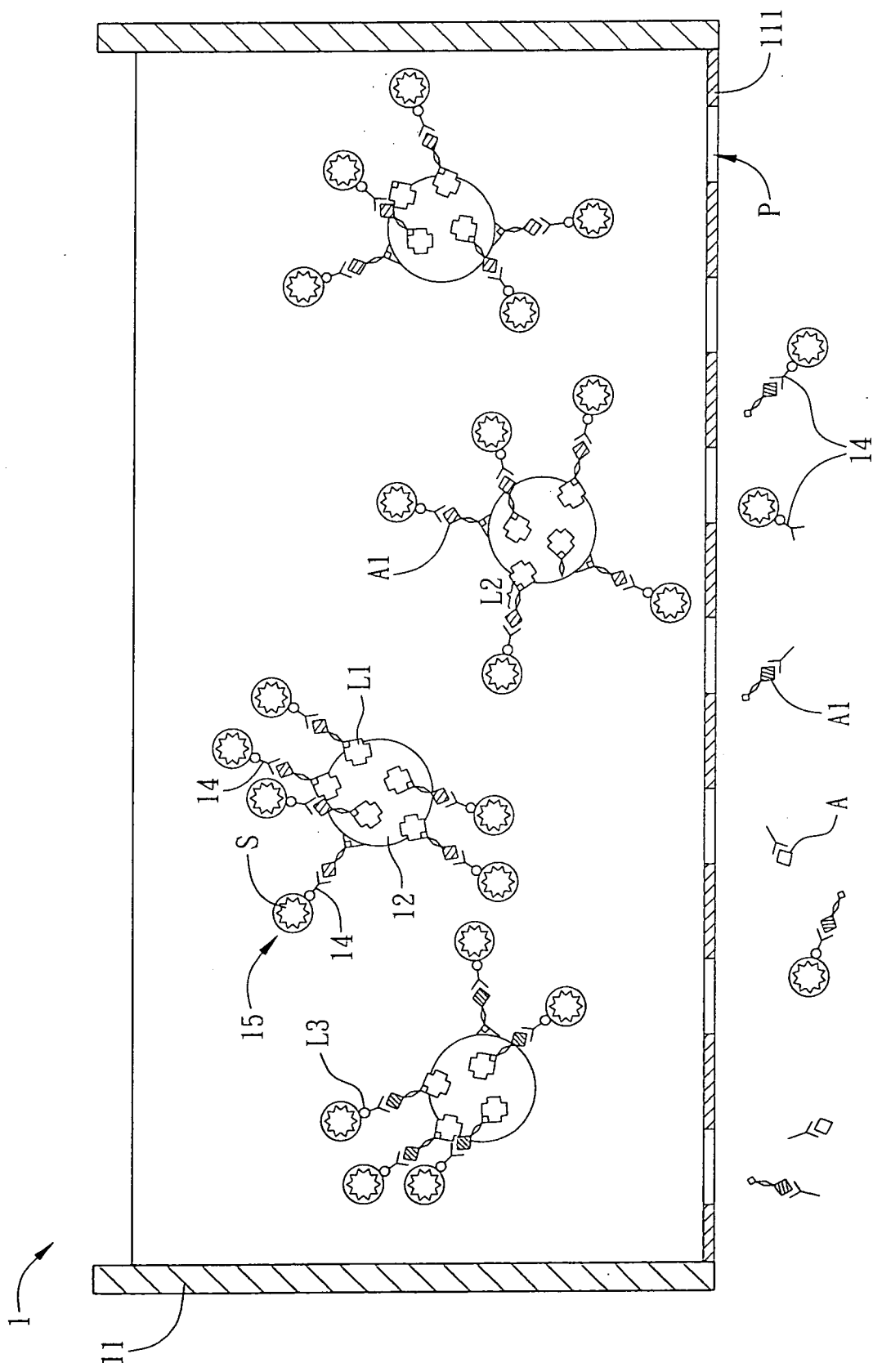


圖4D

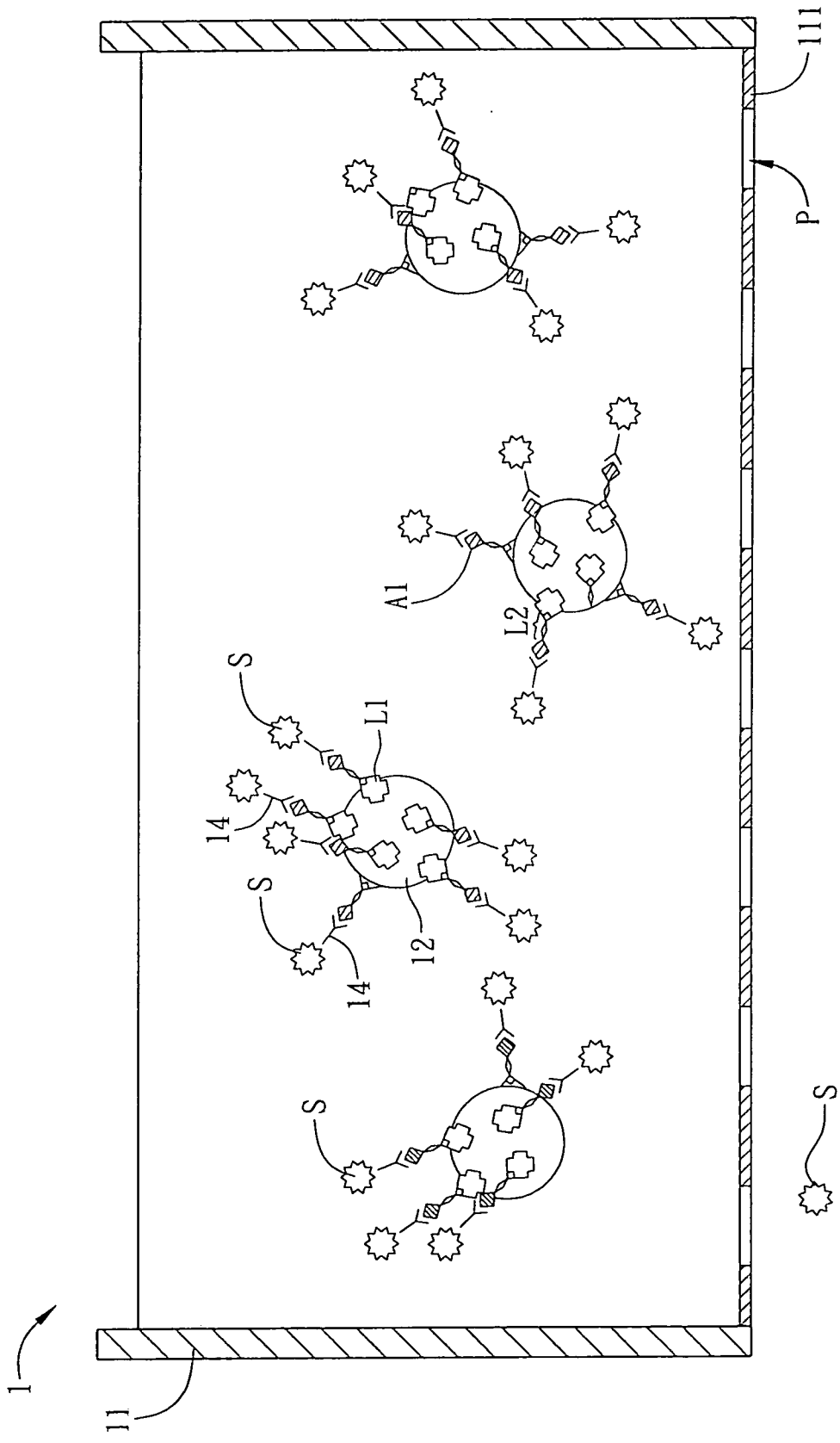


圖4E

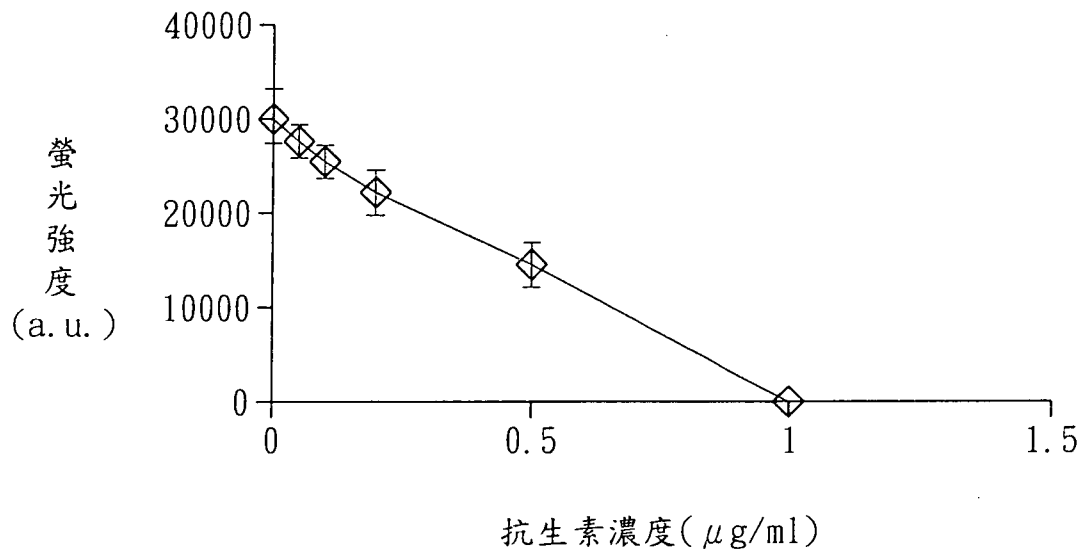


圖5A

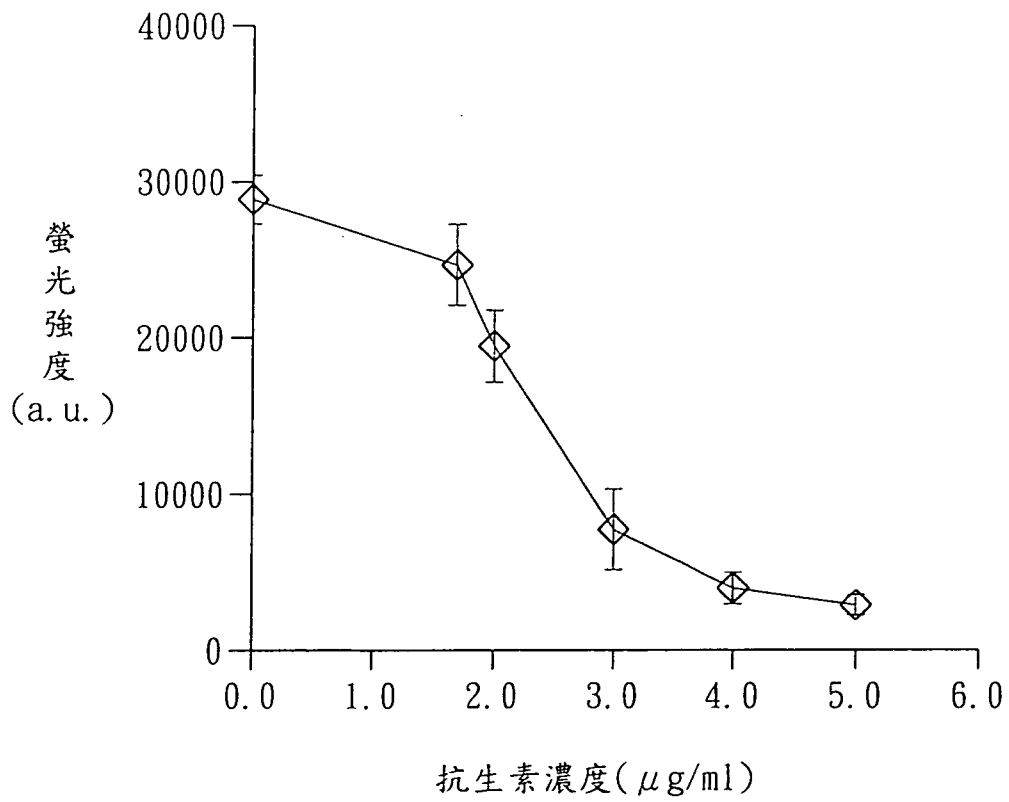


圖5B