

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-246155

(P2005-246155A)

(43) 公開日 平成17年9月15日(2005.9.15)

(51) Int. Cl.⁷

B02C 18/30
B02C 18/38
G01N 1/04
G01N 1/28

F I

B02C 18/30
 B02C 18/38
 G01N 1/04
 G01N 1/28

テーマコード(参考)

2G052
 4D065

審査請求 有 請求項の数 9 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2004-57108 (P2004-57108)
 (22) 出願日 平成16年3月2日(2004.3.2)

(71) 出願人 000135151
 株式会社ニッピ
 東京都足立区千住緑町1丁目1番地1
 (74) 代理人 100089705
 弁理士 社本 一夫
 (74) 代理人 100076691
 弁理士 増井 忠式
 (74) 代理人 100075270
 弁理士 小林 泰
 (74) 代理人 100080137
 弁理士 千葉 昭男
 (74) 代理人 100096013
 弁理士 富田 博行
 (74) 代理人 100093089
 弁理士 佐久間 滋

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 試料破碎器具及び試料破碎方法

(57) 【要約】

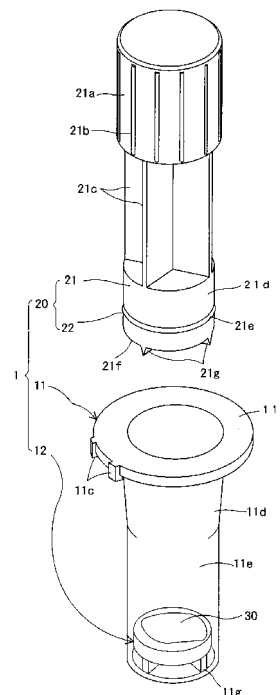
【課題】

本発明は、フィルタ部材が設けられた筒状体内の試料に対して遠心力により押圧部材を押圧させて安全かつ効率良く破碎する試料破碎器具及び方法を提供する。

【解決手段】

両端が開口する貫通穴を有する筒状体と、前記筒状体の一端側において前記貫通孔内に取り付けられたフィルタ部材と、前記筒状体の前記穴内に他端側から滑動自在に密封して挿入される押圧部材と、を備え、前記押圧部材が前記フィルタ部材と前記筒状体との間に配置された前記試料を前記フィルタ部材に対して押圧するよう前記押圧部材に力を作用させて、前記フィルタ部材内に前記試料を強制的に通過させ、前記試料を破碎することを特徴とする試料破碎器具。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

試料を破砕するための器具において、

両端が開口する貫通穴を有する筒状体と、

前記筒状体の一端側において前記貫通孔内に取り付けられたフィルタ部材と、

前記筒状体の前記穴内に他端側から滑動自在に密封して挿入される押圧部材と、を備え

、
前記押圧部材が前記押圧部材と前記フィルタ部材との間に配置された前記試料を前記フィルタ部材に対して押圧するよう前記押圧部材に力を作用させて、前記フィルタ部材内に前記試料を強制的に通過させ、前記試料を破砕することを特徴とする試料破砕器具。

10

【請求項 2】

請求項 1 記載の試料破砕器具において、前記押圧部材に作用させる力は、遠心力である試料破砕器具。

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の試料破砕器具において、前記押圧部材は、試料に面する端面に、半径方向に伸びる突部が設けられ、前記力により前記フィルタ部材内に前記試料を強制的に通過させる前に、前記押圧部材を前記フィルタ部材に関して回転させながら押圧することにより前記試料を擦り潰し可能である試料破砕器具。

【請求項 4】

請求項 1 乃至 3 の何れか 1 項に記載の試料破砕器具において、溝が、前記押圧部材の試料側先端近傍の外周面上に周方向に伸びるよう設けられ、O-リングがその溝に嵌められた試料破砕器具。

20

【請求項 5】

請求項 1 乃至 4 の何れか 1 項に記載の試料破砕器具において、前記フィルタ部材は、軸直交断面の直径が 50 乃至 200 マイクロメートルである複数の貫通孔を有する試料破砕器具。

【請求項 6】

請求項 1 乃至 5 の何れか 1 項に記載の試料破砕器具において、前記フィルタ部材は、厚さ 1 乃至 3 ミリメートルの板状である試料破砕器具。

【請求項 7】

請求項 1 乃至 6 の何れか 1 項に記載の試料破砕器具において、前記フィルタ部材が前記筒状体から脱落することを防止するための脱落防止部が、前記筒状体の一端開口部近傍に設けられた試料破砕器具。

30

【請求項 8】

試料を破砕するための方法において、

両端が開口する貫通穴の一端側にフィルタ部材が取付けられた筒状体を用意するステップと、

前記筒状体の穴内に他端開口部側から前記試料を配置するステップと、

前記他端開口部側から押圧部材を滑動自在に密封して挿入するステップと、

前記押圧部材が前記試料を前記フィルタ部材に対して押圧するよう前記押圧部材に遠心力を作用させて、前記試料を前記フィルタ部材内に強制的に通過させるステップと、を備える、

40

ことを特徴とする試料破砕方法。

【請求項 9】

請求項 8 記載の試料破砕方法において、前記押圧部材は、試料に面する端面に、半径方向に伸びる突部が設けられ、前記押圧部材に遠心力を作用させる前に、前記押圧部材を前記フィルタ部材に関して回転させながら押圧することにより試料を擦り潰すステップを更に備える試料方法。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、試料を安全且つ効率よく破碎する器具及びその方法に関し、詳細にはフィルタ部材が設けられた筒状体内の試料に対して遠心力により押圧部材を押圧させて安全かつ効率良く破碎する試料破碎器具及び方法に関する。

【背景技術】

【0002】

多くの理化学分野において、試料分析に基づく研究は欠かすことのできない重要な工程である。特に生物学、とりわけ人畜の医薬品研究、診断薬研究において重要な工程である。試料を分析するには、まず試料を「破碎」して「均一化（ホモジナイズ）」することが必要である。特に生体試料について、タンパク質抽出、又はPCR分析用のRNA、DNAの調製等を行うためには、細胞膜、細胞壁等の構造支持体を物理的（機械的）に又は化学的に破碎する必要がある。ここで、「破碎」とは、「試料の組織や細胞を物理的（機械的）に破壊すること」をいい、「均一化（ホモジナイズ）」とは、「試料の組織や細胞を物理的（機械的）に破壊し、適宜緩衝液を加えて懸濁液を作成すること」をいう。

10

【0003】

従来の破碎法として、ポッター型ホモジナイザー（例えば、非特許文献1参照。）、ロータ・ステータ方式ホモジナイザー（例えば、非特許文献2参照。）、ボールミル（例えば、非特許文献3参照。）等の器具を使用する方法がある。

しかしながら、これら従来の破碎法では、熱が発生し、その熱が試料を変性させ得る（試料本来の特性を損い得る）。そうすると、生体内での働き及び構造を反映した分析結果を得ることができないおそれがある（特に蛋白質、核酸、及び多糖等の高分子成分は、熱による変性を避けて、均一化する必要がある。）。また、これら従来の破碎法は、試料数が増加した場合、試料同士の混交を避けるために、使用した器具を洗浄する必要がある（これらのホモジナイザーは、高価であり、「使い捨て」できないから、使用後洗浄して、複数回使用する必要がある。）。

20

また、特にポッター型ホモジナイザー及びロータ・ステータ方式ホモジナイザーは、操作が開放系であるから、病原性の試料を扱う場合、周囲を汚染する危険がある。

【0004】

一方、上記発生熱により試料を変性させる問題及び周囲を汚染する問題を解決し得る従来の破碎法として、キアゲン社製のキアシュレッダー（例えば、非特許文献4参照。）を用いて試料を破碎する方法がある。この方法は、遠心力によって試料をキアシュレッダー内のフィルタに対して押圧し、強制的にフィルタ内に試料を通過させて、試料を破碎する方法である。

30

【0005】

【非特許文献1】「研究用総合機器カタログ 70000 2001 2003」, アズワン株式会社, 2001年11月, p. 944

【非特許文献2】「研究用総合機器カタログ 70000 2001 2003」, アズワン株式会社, 2001年11月, p. 944

【非特許文献3】「研究用総合機器カタログ 70000 2001 2003」, アズワン株式会社, 2001年11月, p. 946

40

【非特許文献4】「QIAGENプロダクトガイド2004」, キアゲン株式会社, 2003年, p. 258

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、キアシュレッダーを用いる破碎方法は、遠心力が試料自体にしか作用しないため、フィルタに対して試料を押圧する力は小さい。したがって、この方法によれば、他の従来の破碎方法と比較して破碎効率が悪く、適応できる試料が限られる問題がある。

50

【0007】

本発明は、破碎効率を悪化させることなく、上記発生熱により試料を変性させる問題及び周囲を汚染する問題を同時に解決し得る安価で使い捨て可能な試料破碎器具及び試料破碎方法を提供することを目的とする。

さらに本発明は、脳組織や肝臓組織等の比較的堅い試料を効率良く破碎可能な試料破碎器具及び試料破碎方法を提供することを目的とする。

[課題を解決するための手段及びその効果]

【0008】

(1) 上記問題点を解決するための本発明の試料を破碎するための器具は、両端が開口する貫通穴を有する筒状体と、前記筒状体の一端側において前記貫通孔内に取り付けられたフィルタ部材と、前記筒状体の前記穴内に他端側から滑動自在に密封して挿入される押圧部材と、を備え、前記押圧部材が前記フィルタ部材との間に配置された前記試料を前記フィルタ部材に対して押圧するよう前記押圧部材に力を作用させて、前記フィルタ部材内に前記試料を強制的に通過させ、前記試料を破碎することを特徴とする。

10

したがって、本発明の試料破碎器具によれば、簡単な構造であるからその製造コストを低減でき、使い捨てが可能であり、同じ器具を複数の試料の「破碎」に供して、試料同士が混交することを防止し得る効果がある。

また押圧部材が筒状体の穴内に密封して挿入されるから、試料の逆流を防ぎ、実施者の安全の確保、及び周辺環境への汚染を防止し得る効果がある。

さらに、フィルタ部材内に試料を強制的に通過させる際に、押圧部材に力を作用させるから、試料の「破碎」効率を向上し得る効果がある。

20

(2) 好ましくは、前記押圧部材に作用させる力は、遠心力である。

したがって、本発明の試料破碎器具により試料を「破碎」する際、市販の遠心分離機を使用可能であるから、作業内容を簡便化し得るとともに、複数の試料を同時に「破碎」することができるから、作業効率を上げ得る効果がある。

(3) また好ましくは、前記押圧部材は、試料に面する端面に、半径方向に伸びる突部が設けられ、前記力により前記フィルタ部材内に前記試料を強制的に通過させる前に、前記押圧部材を前記フィルタ部材に関して回転させながら押圧することにより前記試料を擦り潰し可能である。

したがって、試料を事前に擦り潰すから、試料（特に脳組織や肝臓組織等の比較的堅い試料）「破碎効率」を上げ得る効果がある。

30

(4) また好ましくは、溝が、前記押圧部材の試料側先端近傍の外周面上に周方向に伸びるよう設けられ、O-リングがその溝に嵌められている。

したがって、押圧部材により、筒状体の穴を確実に密封し得る効果がある。

(5) また好ましくは、前記フィルタ部材は、軸直交断面の直径が50乃至200マイクロメートルである複数の貫通孔を有する。

したがって、所望の試料を「破碎」し得る効果がある。

(6) また好ましくは、前記フィルタ部材は、厚さ1乃至3ミリメートルの板状である。

したがって、所望の試料を「破碎」し得るとともに、フィルタ部材が所望の強度を有する効果がある。

40

(7) また好ましくは、前記フィルタ部材が前記筒状体から脱落することを防止するための脱落防止部が、前記筒状体の一端開口部近傍に設けられている。

したがって、試料を「破碎」する際、フィルタ部材が前記筒状体から脱落することを防止し得る効果がある。

【0009】

(8) 上記問題点を解決するための本発明の試料を破碎するための方法は、両端が開口する貫通穴の一端側にフィルタ部材が取付けられた筒状体を用意するステップと、前記筒状体の穴内に他端開口部側から前記試料を配置するステップと、前記他端開口部側から押圧部材を滑動自在に密封して挿入するステップと、前記押圧部材が前記試料を前記フィルタ部材に対して押圧するよう前記押圧部材に遠心力を作用させて、前記試料を前記フィルタ

50

部材内に強制的に通過させるステップと、を備える、ことを特徴とする。

この方法による効果は大略、上記(1)及び(2)に記載した効果と同様である。

(9)好ましくは、前記押圧部材は、試料に面する端面に、半径方向に伸びる突部が設けられ、前記押圧部材に遠心力を作用させる前に、前記押圧部材を前記フィルタ部材に関して回転させながら押圧することにより試料を擦り潰すステップを更に備える。

この方法による効果は大略、上記(3)に記載した効果と同様である。

【実施例】

【0010】

本発明に係る試料破碎器具の一実施形態を図1乃至図5を使用して説明する。

図1中、試料破碎器具1は大略、筒状体としての破碎用チューブ11と、フィルタ部材としてのフィルタ12と、押圧部材としての破碎棒20とからなる。 10

【0011】

図1中、破碎用チューブ11は、テーパ部11dとその縮径側端部から伸びる円筒部11eとからなる一体成型(例えば、射出成形)されたプラスチック製の両端が開口(11b及び11f)する貫通穴を有する略円筒体である。ここで、テーパ部11dが破碎用チューブ11に設けられた理由は、破碎棒20を破碎用チューブ11に対して挿入しやすくするためである。また、破碎用チューブ11は、その中に配置された試料30を視認できるように(無色又は有色)透明であることが好ましいが、例えば試料30が光により変性しやすい性質を有する場合は、外部からの光を遮断するよう不透明でもよい。

テーパ部11dの拡径側端部(同図中、上端部)にはリング状フランジ11aが設けられ、その周上に所定距離離間し、下端方向へ伸びる2つの爪状固定部11cが設けられる。円筒部11eの下端開口部11fは、図3に示す如く、互いに直行するよう直径方向に伸びる2枚の板状の脱落防止部11gが設けられる。脱落防止部11gは、試料30を破碎する際にフィルタ12が脱落するのを防止する。なお、脱落防止部11gは、例えば、半径方向内方へ伸びる突部(図示せず)等の他の構成でもよいし、また設けられなくともよい。なお、破碎用チューブ11は他の材質でもよい。また破碎用チューブ11は、テーパ部11dを有さない円筒体でもよいし、またフランジ11aを有さなくともよい。 20

【0012】

円盤状フィルタ12は、円筒部11eの内径より僅かに大きい外径を有し、脱落防止部11g上の円筒部11eの内周面に嵌着される。フィルタ12は、軸直交断面の直径が500マイクロメートル~200マイクロメートルの貫通孔が設けられた厚み1mm~3mmの市販のポリプロピレン製又はガラス製の硬質フィルタである。なお、フィルタ12は、ポリプロピレン製の場合、例えば、ドイツのポーレックス(POREX)社製フィルタであり、またガラス製の場合、例えば、柴田科学社製フィルタであるから、詳細な説明を省略する。勿論、フィルタ12の構成及び材質は、試料30に適合する他の所望の構成及び材質のものでよい。 30

【0013】

破碎棒20は大略、破碎棒本体21、及びO-リング22からなり、破碎用チューブ11に滑動自在に且つ回転自在に密封挿入される。なお、破碎棒20は、破碎用チューブ11に対して回転自在でなくともよい。破碎棒本体21は、把持部21a、接続部21c、及び試料押圧部21dが一体成型(例えば、射出成形)されたプラスチック製のものである。把持部21aは、円柱であり、実施者が破碎棒20を回転させやすいように周方向等分割(同図中、12分割)位置にローレット21bが設けられる。なお、ローレット21bは設けられなくともよいし、また把持部21aは、実施者が持ちやすい多角形柱状体(図示せず)等の他の柱状体でもよい。接続部21cは、周方向4分割位置に4枚の平板が配設された柱状体である。なお、接続部21cは、他の多角形柱状体(図示せず)でもよい。 40

【0014】

押圧部21dは、破碎用チューブ11の円筒部11eの内径より僅かに小さい外径を有する円柱であり、その試料側先端(同図中、下端)近傍の外周面に周方向に伸びる溝21 50

e が設けられる。溝 2 1 e には、O - リング 2 2 が嵌められ、破碎棒 2 0 が破碎用チューブ 1 1 に挿入された際に、その押圧部 2 1 d が破碎用チューブ 1 1 の円筒部 1 1 e を密封する。O - リング 2 2 を用いて破碎用チューブ 1 1 (円筒部 1 1 e) を密封する理由は、O - リング 2 2 を用いて破碎用チューブ 1 1 を密封することにより、「擦り潰し」た試料 3 0 の逆流を防ぎ、実施者の安全の確保、及び周辺環境への汚染を防止するためである(特に、病原性の試料を扱う場合、重要である)。なお、押圧部 2 1 d は、O - リング 2 2 が設けられなくともよいが、この場合は、上記「擦り潰し」た試料 3 0 の逆流を防ぐため、押圧部 2 1 d の外形は、破碎用チューブ 1 1 の円筒部 1 1 e の内径と同一である(押圧部 2 1 d が弾性材料からなる場合、押圧部 2 1 d の外形は、円筒部 1 1 e の内径より僅かに大きくともよい)。

10

【0015】

押圧部 2 1 d の下端部 2 1 f には、図 2 に示す如く、互いに直行するよう半径方向に伸びる(すなわち、周方向 4 分割する)4 本の突部 2 1 g が設けられる。なお、突部 2 1 g の本数は、4 本以外でもよいし、また無くともよい。

なお、破碎棒 2 0 は、一体成形しなくともよいし、プラスチック以外の他の所望材料からなってもよく、また、把持部 2 1 a 及び押圧部 2 1 d を直接接続してなり、接続部 2 1 c がなくともよい。

【0016】

上述の如く、本発明の試料破碎器具は、簡単な構造であるからその製造コストを低減でき、安価であるから使い捨てが可能である。これにより、同じ器具を複数の試料の「破碎」に供して、試料同士が混交することを防止し得る(試料同士の混交を防止することは、研究及び試験を実施する場合の前提条件である)。

20

【0017】

次に、試料破碎器具 1 を使用した試料破碎方法を図 1、図 4 及び図 5 を用いて説明する。

破碎用チューブ 1 1 の穴内に他端(図 1 中、上端)開口部側からフィルタ 1 2 上に試料 3 0 を配置し、さらに同開口部側から破碎棒 2 0 を滑動自在に密封して挿入する。しかる後、図 4 に示す如く、試料回収用チューブ 4 0 に破碎用チューブ 1 1 を挿入する。これにより、「破碎」された試料 3 0 を回収用チューブ 4 0 に直接回収することが可能となる。なお、回収用チューブ 4 0 を使用せず、「破碎」された試料 3 0 を他の所望の採取用容器に採取してもよい。

30

【0018】

ここで、回収用チューブ 4 0 は大略、図 4 に示す如く、有底円筒体のチューブ本体 4 0 a と、その開口端 4 0 b から半径方向外方へ伸びるリング状フランジ 4 0 c とからなり、市販のプラスチック製である(例えば、エッペンドルフ社製又はトレフ社製等の 1.5 ml 又は 2 ml チューブ)。フランジ部 4 0 c は、その下面の周方向等分位置に突部 4 0 d が設けられる。開口端 4 0 b に嵌挿される筒状密封部 4 0 g を有するキャップ部 4 0 f が、可撓性接続部 4 0 e を介してフランジ部 4 0 c に取り付けられる。キャップ部 4 0 f は、フック部 4 0 h を更に有し、キャップ部 4 0 f を閉じた際に、フック部 4 0 h がフランジ部 4 0 c に係合して、ロック可能である。

40

【0019】

なお、試料回収用チューブ 4 0 に破碎用チューブ 1 1 を挿入した際、破碎用チューブ 1 1 は、そのフランジ部 1 1 a が回収用チューブ 4 0 のフランジ部 4 0 c に当接し、2 つの爪状固定部 1 1 c 間に回収用チューブ 4 0 の可撓性接続部 4 0 e を位置決めして、破碎用チューブ 1 1 は、試料回収用チューブ 4 0 に対して位置決め固定される。このとき、回収用チューブ 4 0 のキャップ部 4 0 f は閉じられていない。

【0020】

続いて、破碎棒 2 0 をフィルタ 1 2 に関して回転させながら押圧することにより試料 3 0 を「擦り潰す」(以下、適宜「擦潰し工程」という)。なお、この「擦潰し工程」は、特に脳組織や肝臓組織等の比較的堅い試料を「破碎」する際の「破碎効率(「破碎」され

50

た試料の回収率)」を上げるのに有効であるが、この「擦潰し工程」はなくともよい（後述する〔実験例 1〕を参照）。

【0021】

試料 30 を充分「擦り潰し」た後、市販の遠心分離機 50 を使用して、試料 30 を「破碎」する。すなわち、遠心分離機 50 の回転盤 51 のチューブ保持用穴 51 a に、試料回収用チューブ 40 に挿入したままの状態の破碎用チューブ 11 をその下端から挿入し、回転盤 51 を所定数回転させて、破碎棒 20 が試料 30 をフィルタ 12 に対して押圧するよう破碎棒 20 に遠心力を作用させる。

そうすると、試料 30 は、フィルタ 12 内に強制的に通過させられて、試料 30 が「破碎」され、回収用チューブ 40 に回収される（その回収後、適宜回収用チューブ 40 のキャップ部 40 f は閉じられる）。なお、破碎用チューブ 11 が遠心分離機 50 にセットされている間は、「破碎」された試料 30 が、回収用チューブ 40 から漏れ出すことはないが（例えば、遠心分離機 50 のチューブ保持用穴 51 a の軸線方向は、回転盤 51 の回転面に対して、斜め下方向であり、上記漏出は防止される）、破碎用チューブ 11 及び回収用チューブ 40 間にシール手段（例えば、破碎用チューブ 11 の外側所定位置に設けられた O-リング（図示せず））を設けてもよい。

10

【0022】

本発明の試料破碎器具 1 によれば、遠心分離機 50 を使用して試料 30 を「破碎」することが可能であるから、実施者が手作業で試料を「破碎」する必要があるポッター型ホモジナイザー等と比較して、作業内容を簡便化できる。また遠心分離機 50 は、複数の回収用チューブ 40 の遠心分離を同時に行うことが可能であるから、複数の試料 30 を同時に「破碎」することができ、試料を 1 つずつ「破碎」する必要がある上記従来技術のポッター型ホモジナイザー、及びロータ・ステータ方式ホモジナイザー等と比較して、作業効率（又は作業処理速度）を上げることができる。

20

【0023】

なお、遠心分離機 50 は冷却機能付きであることが好ましい。これにより、「破碎」中に発生する摩擦熱等により試料 30 が熱変成することを防ぐとともに、内因性の酵素等による分解を防ぎ、「均一化された」試料 30 から目的物質を破損することなく抽出することができる。

また遠心分離機 50 を使用せず、実施者が指で破碎棒 20 を直接押圧する等の機械的な力により、破碎棒 20 を押圧してもよい。

30

〔実験例 1〕

【0024】

表 1 は、上記従来技術のキアシュレッダー及び本発明の試料破碎器具を夫々用いて、生体試料であるウシの脳延髄組織の破碎効率（「破碎」された試料の回収率）を比較した実験結果である。すなわち、キアシュレッダーを用いて、破碎棒により試料を「擦り潰す」ことなく、試料自体に作用する遠心力のみにより試料をフィルタ内に強制的に通過させて、試料を「破碎」した際の試料の回収率と、本発明の試料破碎器具を用いて、試料自体に作用する遠心力のみならず破碎棒に作用する遠心力により試料をフィルタ内に強制的に通過させて、試料を「破碎」した際の試料の回収率とを比較した実験結果である。なお、本発明の試料破碎器具を用いた実験は、「擦潰し工程」を事前に設けた場合及び「擦潰し工程」を事前に設けない場合の 2 通りの条件下でおこなった。

40

ここで、キアシュレッダー及び本発明の試料破碎器具を用いたいずれの実験も、エッペンドルフ形マイクロチューブ用遠心分離機を用いて、試料を 10000 ~ 15000 rpm の回転速度で 1 分間回転させることによりおこなった。

【0025】

同表中、左から（以下同様）第 1 列「試料重量」欄に記載の数値はキアシュレッダーを用いた実験に使用した試料の実測値であり、第 2 列「回収重量」欄に記載の数値はキアシュレッダーを用いた実験によりフィルタを通過して回収された試料の重量であり、第 3 列「回収率」欄に記載の数値は上記「回収重量」を上記「試料重量」で除したものである。

50

他方、第4～9列の各欄に記載の各数値は夫々、本発明の試料破碎器具を用いて、条件を変えて得られた実験結果である。すなわち、上記第4～6列の各欄に記載の数値は、「擦潰し工程」を事前に設けないが、破碎用チューブに破碎棒を挿入し、試料自体に作用する遠心力のみならず破碎棒に作用する遠心力により試料を「破碎」した場合の上記第1～3列の各欄に記載の数値と同様の数値であり、上記第7～9列の各欄に記載の数値は、「擦潰し工程」を事前に行い、さらに破碎用チューブに破碎棒を挿入して、破碎棒に作用する遠心力により試料を「破碎」した場合の上記第1～3列の各欄に記載の数値と同様の数値である。

【0026】

この実験結果によれば、先ずキアシュレッダーを用いた回収率と、本発明の試料破碎器具を用い「擦潰し工程」を設けない場合の回収率とを比較すると、キアシュレッダーを用いた回収率は10%程度であるのに対し、本発明の試料破碎器具を用いた回収率は概ね39～54%である(表1参照)。

10

すなわち、本発明の試料破碎器具を用いることにより、試料自体に作用する遠心力のみならず破碎棒に作用する遠心力により試料を「破碎」するから、従来技術(キアシュレッダー)に比較して、飛躍的に試料の回収率(破碎効率)を向上させることが可能である。

【0027】

続いて、本発明の試料破碎器具を用い、「擦潰し工程」を設けない場合の回収率と、「擦潰し工程」を設けた場合の回収率とを比較すると、「擦潰し工程」を設けない場合の回収率は概ね39～54%であるのに対し、「擦潰し工程」を設けた場合の回収率は概ね47～59%である(表1参照)。

20

すなわち、「擦潰し工程」を設けることにより、試料の回収率(破碎効率)をさらに向上させることが可能である。

【0028】

【表1】

キアシュレッダー			本発明の試料破碎器具					
試料重量 (mg)	回収重量 (mg)	回収率 (%)	「擦潰し工程」なし			「擦潰し工程」有り		
			試料重量 (mg)	回収重量 (mg)	回収率 (%)	試料重量 (mg)	回収重量 (mg)	回収率 (%)
109	15.1	13.9	131	70.5	53.8	131	72.8	55.6
90	10	11.1	107	55.2	51.6	107	62.7	58.6
94	9.3	9.9	130	55.2	42.5	130	60.7	46.7
106	10.9	10.3	90	34.1	37.9	90	43.9	48.8
90	7.4	8.2	90	36	40.0	90	45.1	50.1
106	7.4	7.0	130	70	53.9	130	77.3	59.5

30

[実験例2]

【0029】

次に、本発明の試料破碎器具を使用して、生体試料以外の試料を「破碎」した実験結果を表2に示す。

40

この実験の背景は、以下のとおりである。すなわち、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離されたタンパク質をさらに分析するためにはゲルからタンパク質を抽出する必要がある。ゲルからのタンパク質の抽出効率を上げるためにはゲルを破碎する必要があるが、従来、適切な破碎法がなかった。

【0030】

続いて、実験内容の具体的な説明をする。

タンパク質としてのウシ血清アルブミン(BSA)を12%ポリアクリルアミド溶液に0.7%となるよう溶かしこみ、スラブゲル作成装置(厚さ0.75mm)中でT E M E

50

D及び過硫酸アンモニウムを用いて重合させる。アクリルアミドが充分重合し、ゲル化した後、ゲルを正確に180mgの重さに切り取る。切り取ったゲルの一方は、そのままエッペンドルフ・チューブに挿入し、他方は本発明の試料破碎器具を用いて「破碎」し回収用チューブに「破碎」したゲルを回収する。夫々のゲルに0.5mlの蒸留水を加え震盪した後、一定時間毎に、蒸留水に溶け出したBSAを、紫外線吸収(280nm)によって定量する。

【0031】

夫々のゲルからのBSAの抽出率を表2に示す。すなわち、同表中、上から(以下同様)第1行に記載の数値は抽出時間(経過時間)であり、第2行に記載の数値は「破碎」していないゲルからのBSAの抽出率であり、第3行に記載の数値は本発明の試料破碎器具を用いて「破碎」したゲルからのBSAの抽出率である。なお、抽出率は、ゲルに封入されていない0.7%のBSA溶液に0.5mlの蒸留水を加えた溶液の紫外線吸収を100%として計算している。

10

【0032】

この実験結果によれば、上記「破碎」していないゲルは、60%抽出するまでに2時間以上を要したのに対し、本発明の試料破碎器具で「破碎」したゲルは、5分後には60%以上のBSAが抽出された(表2参照)。さらに1日経過後の最終的な抽出率を比較すると、上記「破碎」していないゲルは、62%であるのに対し、本発明の試料破碎器具で「破碎」したゲルは、72%であり、本発明の試料破碎器具で「破碎」したゲルの方が高い(表2参照)。

20

すなわち、生体試料以外の試料についても、本発明の試料破碎器具は、その目的に応じて簡便で効率よく試料を「破碎」することが可能である。

【0033】

【表2】

抽出時間	5分	30分	2時間	4時間	24時間
非破碎の場合の抽出率 (%)	30	33	60	62	62
破碎の場合の抽出率 (%)	62	64	72	72	72

30

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1】本発明の試料破碎器具の一実施形態を説明するための試料破碎器具の分解斜視図である。(実施例1)

【図2】図1中、筒状体の底面部分の斜視図である。(実施例1)

【図3】図1中、押圧部材の底面部分の斜視図である。(実施例1)

【図4】試料破碎器具及び試料回収用チューブの分解斜視図である。(実施例1)

【図5】試料破碎器具がセットされた遠心分離機の斜視図である。(実施例1)

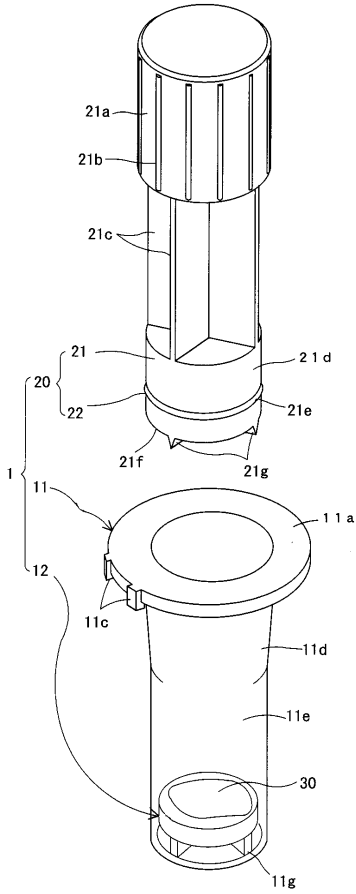
【符号の説明】

【0035】

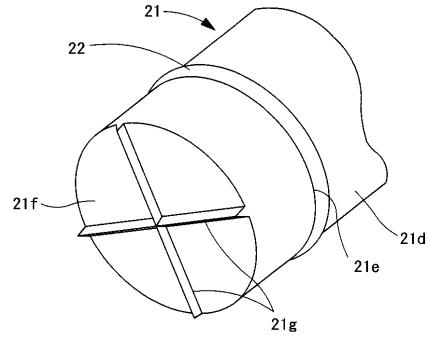
- 1 試料破碎器具
- 11 筒状体
- 12 フィルタ部材
- 20 押圧部材
- 30 試料

40

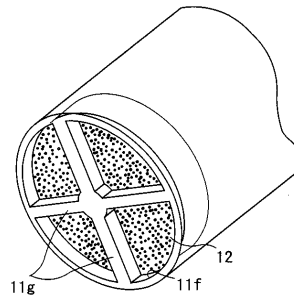
【 図 1 】



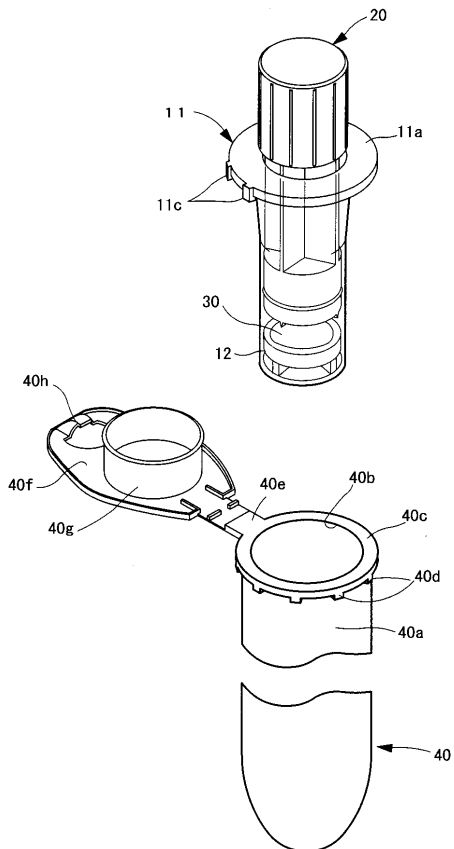
【 図 2 】



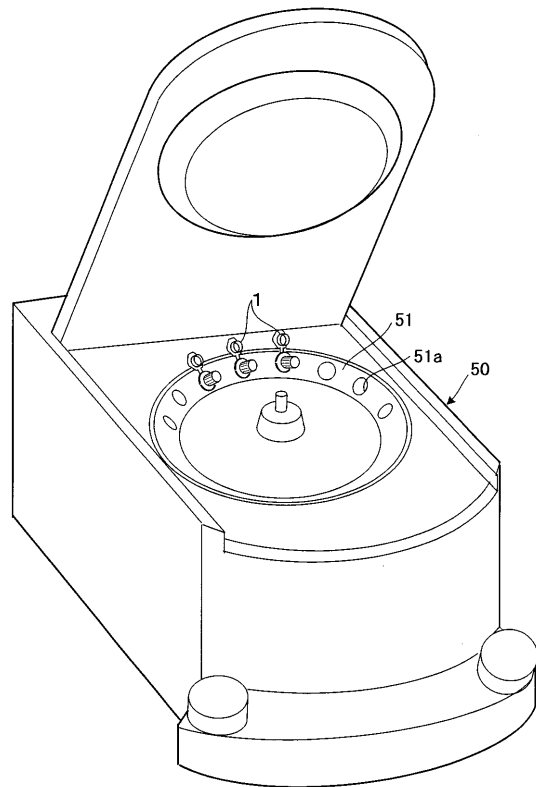
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



フロントページの続き

(72)発明者 山本 卓司

東京都足立区千住緑町1丁目1番地1号 株式会社ニッピ内

(72)発明者 牛木 祐子

東京都足立区千住緑町1丁目1番地1号 株式会社ニッピ内

(72)発明者 服部 俊治

東京都足立区千住緑町1丁目1番地1号 株式会社ニッピ内

(72)発明者 入江 伸吉

東京都足立区千住緑町1丁目1番地1号 株式会社ニッピ内

Fターム(参考) 2G052 AA33 AD34 BA22 DA03 DA22 DA25 EA03 FD08 JA01 JA04

JA08 JA16 JA23

4D065 CA20 DD01 EA03 EB20 ED27