

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6360559号
(P6360559)

(45) 発行日 平成30年7月18日 (2018. 7. 18)

(24) 登録日 平成30年6月29日 (2018. 6. 29)

(51) Int. Cl.	F I
B 0 3 C 1/28 (2006. 01)	B 0 3 C 1/28 1 0 7
B 0 3 C 1/00 (2006. 01)	B 0 3 C 1/00 Z N A B
C 1 2 M 1/42 (2006. 01)	B 0 3 C 1/00 A
C 1 2 N 15/00 (2006. 01)	C 1 2 M 1/42
C 0 7 K 1/14 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00

請求項の数 10 (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-538731 (P2016-538731)	(73) 特許権者	516171285
(86) (22) 出願日	平成26年12月5日 (2014. 12. 5)		バイオニア コーポレーション
(65) 公表番号	特表2017-508599 (P2017-508599A)		大韓民国 3 0 6 - 2 2 0 テジョン-シ
(43) 公表日	平成29年3月30日 (2017. 3. 30)		、 テドク-ク、 ムンピョンソ-ロ、
(86) 国際出願番号	PCT/KR2014/011973		8 - 1 1
(87) 国際公開番号	W02015/088201	(74) 代理人	100094248
(87) 国際公開日	平成27年6月18日 (2015. 6. 18)		弁理士 楠本 高義
審査請求日	平成29年11月24日 (2017. 11. 24)	(74) 代理人	100203688
(31) 優先権主張番号	10-2013-0152613		弁理士 平松 拓郎
(32) 優先日	平成25年12月9日 (2013. 12. 9)	(74) 代理人	100129207
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		弁理士 中越 貴宣
早期審査対象出願		(74) 代理人	100185454
			弁理士 三雲 悟志
		(74) 代理人	100176016
			弁理士 森 優

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 磁性粒子分離装置、並びに、この装置を用いる核酸またはたんぱく質の分離及び精製方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

磁気誘導により磁性粒子を引き寄せるための磁場を形成している複数個の誘導磁石 1 0 0 と、

前記誘導磁石 1 0 0 がそれぞれ挿入されており固定されている誘導磁石固定ホール 2 1 0 を有する誘導磁石固定部 2 0 0 と、

前記誘導磁石固定部 2 0 0 と結合され、前記誘導磁石 1 0 0 が配列されている位置に対応して高さ方向に沿って形成されている流入ホール 3 1 0、及び、一の流入ホール 3 1 0 a と前記一の流入ホール 3 1 0 a に隣接している他の流入ホール 3 1 0 b を区分している区隔壁 3 2 0 を有する本体 3 0 0 と、

を備え、

前記区隔壁 3 2 0 は、前記高さ方向に沿って延在する前記流入ホール 3 1 0 の内壁面を形成しており、

前記高さ方向に沿って前記本体 3 0 0 の側部に前記誘導磁石固定部 2 0 0 が結合されることにより、前記誘導磁石 1 0 0 のそれぞれが前記高さ方向に沿って前記流入ホール 3 1 0 に対応した位置に配列されることを特徴とする磁性粒子分離装置。

【請求項 2】

前記区画壁 3 2 0 には、

前記区隔壁 3 2 0 の長さ方向に沿って形成されている挿入ホール 3 2 1 と、

前記流入ホール 3 1 0 に挿入されるチューブ T の外周面を圧迫して前記チューブ T を前

記本体 300 に固定させる、前記挿入ホール 321 に挿入されているチューブ固定部 322 と、

が設けられていることを特徴とする請求項 1 に記載の磁性粒子分離装置。

【請求項 3】

前記本体 300 は、

前記区隔壁 320 を長さ方向に沿って貫通しており、前記区隔壁 320 と共に前記流入ホール 310 の内壁面を形成している内側壁 312 に形成されている溝部 360 と、

前記流入ホール 310 に挿入されるチューブ T の外周面を圧迫して前記本体 300 に固定させる、前記溝部 360 に挿入されているチューブ固定部 322 と、

を有することを特徴とする請求項 1 に記載の磁性粒子分離装置。

10

【請求項 4】

磁気誘導により磁性粒子を引き寄せるための磁場を形成している複数個の誘導磁石 100 と、

前記誘導磁石 100 がそれぞれ挿入されており固定されている誘導磁石固定ホール 210 を有する誘導磁石固定部 200 と、

前記誘導磁石固定部 200 と結合され、前記誘導磁石 100 が配列されている位置に対応して高さ方向に沿って形成されている流入ホール 310、及び、一の流入ホール 310 a と前記一の流入ホール 310 a に隣接している他の流入ホール 310 b を区分している区隔壁 320 を有する本体 300 と、

を備え、

20

前記本体 300 において前記区隔壁 320 は、前記流入ホール 310 の上部の断面積よりも前記流入ホール 310 の下部の断面積の方が小さくなるように、前記高さ方向に沿って延在する前記流入ホール 310 の内壁面を形成しており、前記区画壁 320 には、前記区隔壁 320 の長さ方向に沿って形成されている挿入ホール 321、および、前記流入ホール 310 に挿入されるチューブ T の外周面を圧迫して前記チューブ T を前記本体 300 に固定させる、前記挿入ホール 321 に挿入されているチューブ固定部 322 が設けられており、

前記誘導磁石固定部 200 において、前記誘導磁石 100 の一端部が前記誘導磁石固定ホール 210 に固定されており、前記誘導磁石 100 の他端部が上方向に突き出しており、

30

前記誘導磁石固定部 200 の上部に前記本体 300 の底部が結合されることにより、前記区隔壁 320 と隣接している他の区隔壁 320 a と前記誘導磁石固定部 200 に囲まれた空間に前記誘導磁石 100 が配されることを特徴とする磁性粒子分離装置。

【請求項 5】

さらに、前記本体 300 と前記誘導磁石固定部 200 との間に配されている本体位置固定部 400 を備え、

前記本体位置固定部 400 は、

前記誘導磁石 100 が固定されている前記誘導磁石固定部 200 に前記本体 300 が固定されるように、前記本体 300 の外周面を圧迫している圧迫部 410 と、

前記圧迫部 410 を受容しており固定している受容部 420 と、

40

を有することを特徴とする請求項 4 に記載の磁性粒子分離装置。

【請求項 6】

前記流入ホール 310 にチューブ T が挿入されるときに、前記チューブ T の底面 B S と前記流入ホール 310 の底面 311 とが所定距離 t 離れているように、前記流入ホール 310 の深さ D は前記チューブ T の長さ L よりも長いことを特徴とする請求項 1 から請求項 5 のいずれか一項に記載の磁性粒子分離装置。

【請求項 7】

前記誘導磁石 100 がそれぞれ挿入されており固定されているように、前記誘導磁石固定ホール 210 端部 211 が突き出ていることを特徴とする請求項 1 から請求項 6 のいずれか一項に記載の磁性粒子分離装置。

50

【請求項 8】

前記誘導磁石固定部 200 では、前記誘導磁石固定ホール 210 が形成されている面の端部に、前記本体 300 と結合させるための第 1 結合磁石 230 を受容している第 1 結合磁石固定ホール 220 が形成されており、

前記本体 300 では、前記第 1 結合磁石 230 の磁力によって前記誘導磁石固定部 200 と結合されるように、前記第 1 結合磁石固定ホール 220 に対応する位置に第 2 結合磁石 340 を受容している第 2 結合磁石固定ホール 330 が形成されていることを特徴とする請求項 1 から請求項 7 のいずれか一項に記載の磁性粒子分離装置。

【請求項 9】

請求項 1 から請求項 8 のいずれか一項に記載の磁性粒子分離装置を用いる核酸またはたんぱく質の分離及び精製方法であって、

磁性粒子を用いて核酸を分離するために遺伝子物質に前記磁性粒子を混ぜてチューブ T に注入する段階 S100 と、

前記本体 300 に前記チューブ T を固定させる段階 S200 と、

前記誘導磁石 100 が固定された前記誘導磁石固定部 200 を前記本体 300 と結合させる段階 S300 と、

前記誘導磁石 100 により形成されている磁場によって、前記遺伝子物質と結合された磁性粒子が前記誘導磁石 100 に向かって引き寄せられる段階 S400 と、

前記遺伝子物質と結合された磁性粒子を除かれた残余液体を前記チューブ T から除去する段階 S500 と、

前記本体 300 から前記誘導磁石固定部 200 を分離して前記本体 300 に印加された磁場を除去する段階 S600 と、

を含むことを特徴とする核酸またはたんぱく質の分離及び精製方法。

【請求項 10】

さらに、前記磁場を除去する段階 S600 の後に、前記チューブ T 内で前記磁性粒子から核酸またはたんぱく質を分離するために、前記チューブ T に洗浄液または分離液を注入する段階 S700 を含むことを特徴とする請求項 9 に記載の核酸またはたんぱく質の分離及び精製方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、磁性粒子分離装置、並びに、この装置を用いる核酸またはたんぱく質の分離及び精製方法に関する。

【背景技術】

【0002】

生化学研究及び診断プロセスで最も重要な段階は、生物学的試料から核酸（DNA 若しくは RNA）又はたんぱく質を分離することである。試料から遺伝子物質（核酸）を分離しなければ、次の段階である遺伝子検出、遺伝子クローニング、遺伝子シーケンシング、遺伝子増幅、cDNA 合成などを遂行することができない。様々な細胞混合物から DNA 若しくは RNA を分離するためには、効果的で再現性のある分離方法が必要であり、最近

【0003】

遺伝子物質に磁場を印加させて分離するための装置としては、米国公開特許 2013/0026104（MAGNETIC SEPARATION DEVICE AND METHODS）が開示されている。

【0004】

上記した米国公開特許の明細書、及び図 3 によれば、主支持部 201 及び支持構造 111 の間の中心部に磁性素子 123 を有する中心支持部材 119 が備えられている。主支持部 201 及び支持構造 111 には、磁性粒子と共に遺伝子物質を保持可能な容器 501 が備えられている。

【0005】

上記した米国公開特許によれば、分離装置 101 に取り付けのために容器 501 をねじ込んで螺合させる必要があり不便である。さらに、容器 501 に印加された磁場を除去するためには、容器 501 を分離装置 101 から再度取り出すなど不便な点が多くある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0006】

本発明は、従来技術の問題点を解決しようとするものであり、容器（以下「チューブ」とする。）に磁場を印加及び除去しやすいことにより、試料から所望の核酸またはたんぱく質を更に早く便利に分離及び精製するためのものである。

【0007】

また、本発明は、試料を保持しているチューブを本発明に係る装置に安定的に固定させることにより、構造的な安定性を図るためのものである。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明に係る磁性粒子分離装置は、磁性粒子を引き寄せるための磁場を形成している複数の誘導磁石 100 と、前記誘導磁石 100 がそれぞれ挿入されており固定されている誘導磁石固定ホール 210 を有する誘導磁石固定部 200 と、前記誘導磁石固定部 200 と結合され、前記誘導磁石 100 が配列されている位置に対応して高さ方向に沿って形成されている流入ホール 310、及び、一の流入ホール 310a と前記一の流入ホール 310a に隣接している他の流入ホール 310b を区分している区画壁 320 を有する本体 300 と、を備える。

20

【0009】

本装置における前記区画壁 320 には、前記区画壁 320 の長さ方向に沿って形成されている挿入ホール 321 と、前記流入ホール 310 に挿入されるチューブ T の外周面を圧迫して前記チューブ T を前記本体 300 に固定させる、前記挿入ホール 321 に挿入されているチューブ固定部 322 と、が設けられていることが好ましい。

30

【0010】

本装置における前記本体 300 は、前記区画壁 320 を長さ方向に沿って貫通しており、前記流入ホール 310 を形成している内側壁 312 に形成されている溝部 360 と、前記流入ホール 310 に挿入されるチューブ T の外周面を圧迫して前記本体 300 に固定させる、前記溝部 360 に挿入されているチューブ固定部 322 と、を有することが好ましい。

【0011】

本装置では、前記流入ホール 310 に前記チューブ T が挿入されるときに、前記チューブの底面 BS と前記流入ホール 310 の底面 311 とが所定距離 t 離れているように、前記流入ホール 310 の深さ D は前記チューブ T の長さ L よりも長いことが好ましい。

40

【0012】

本装置では、前記誘導磁石 100 がそれぞれ挿入されており固定されているように、前記誘導磁石固定ホール 210 の端部 211 が突き出ていることが好ましい。

【0013】

本装置において、前記誘導磁石固定部 200 では、前記誘導磁石固定ホール 210 が形成されている面の端部に、前記本体 300 と結合させるための第 1 結合磁石 230 を受容している第 1 結合磁石固定ホール 220 が形成されており、前記本体 300 では、前記第 1 結合磁石 230 の磁力によって前記誘導磁石固定部 200 と結合されるように、前記第 1 結合磁石固定ホール 220 に対応する位置に第 2 結合磁石 340 を受容している第 2 結

50

合磁石固定ホール 3 3 0 が形成されていることが好ましい。

【0 0 1 4】

本装置において、前記誘導磁石 1 0 0 の一端部は前記誘導磁石固定部 2 0 0 の誘導磁石固定ホール 2 1 0 に固定されており、前記誘導磁石 1 0 0 の他端部は上方向に突き出ており、前記区画壁 3 2 0 と隣接している他の区画壁 3 2 0 a との間に前記誘導磁石 1 0 0 が配されている空間が前記本体 3 0 0 の下部に設けられるように、前記流入ホール 3 1 0 の上部の断面積よりも前記流入ホール 3 1 0 の下部の断面積の方が小さいことが好ましい。

【0 0 1 5】

本装置は、さらに、前記本体 3 0 0 と前記誘導磁石固定部 2 0 0 との間に配されている本体位置固定部 4 0 0 を備え、前記本体位置固定部 4 0 0 は、前記誘導磁石 1 0 0 が固定されている前記誘導磁石固定部 2 0 0 に前記本体 3 0 0 が固定されるように、前記本体 3 0 0 の外周面を圧迫している圧迫部 4 1 0 と、前記圧迫部 4 1 0 を受容しており固定している受容部 4 2 0 と、を有することが好ましい。

10

【0 0 1 6】

本発明に係る磁性粒子分離装置を用いる核酸またはたんぱく質の分離及び精製方法は、磁性粒子を用いて核酸を分離するために遺伝子物質に前記磁性粒子を混ぜて前記チューブ T に注入する段階 S 1 0 0 と、前記本体 3 0 0 に前記チューブ T を固定させる段階 S 2 0 0 と、前記誘導磁石 1 0 0 が固定されている前記誘導磁石固定部 2 0 0 を前記本体 3 0 0 と結合させる段階 S 3 0 0 と、前記誘導磁石 1 0 0 によって形成されている磁場によって、前記遺伝子物質と結合された磁性粒子が前記誘導磁石 1 0 0 に向かって引き寄せられる段階 S 4 0 0 と、前記遺伝子物質と結合された磁性粒子を除かれた残余液体を前記チューブ T から除去する段階 S 5 0 0 と、前記本体 3 0 0 から前記誘導磁石固定部 2 0 0 を分離して前記本体 3 0 0 に印加された磁場を除去する段階 S 6 0 0 と、を含む。

20

【0 0 1 7】

本方法は、さらに、前記磁場を除去する段階 S 6 0 0 の後に、前記チューブ T 内で前記磁性粒子から核酸またはたんぱく質を分離するために、前記チューブ T に洗浄液または分離液を注入する段階 S 7 0 0 を含むことが好ましい。

【発明の効果】

【0 0 1 8】

本発明では、磁場を印加及び除去することが便利である。このため、本発明を使用すると、核酸またはたんぱく質を効率良く抽出することができる。

30

【0 0 1 9】

さらに、本発明によれば、チューブが本体に容易に挿入されて固定される。このため、本発明では、磁石によって核酸と磁性粒子が引き寄せられているときに、残余物質を容易に除去することができる。

【図面の簡単な説明】

【0 0 2 0】

【図 1】本発明に係る磁性粒子分離装置の概念図である。

【図 2】本発明に係る磁性粒子分離装置を一の方向から見た分解図である。

【図 3】本発明に係る磁性粒子分離装置を他の方向から見た分解図である。

40

【図 4】本発明に係る磁性粒子分離装置の垂直断面図である。

【図 5】本発明に係る磁性粒子分離装置の上側の断面図である。

【図 6】本発明に係る第 2 の磁性粒子分離装置を一の方向から見た分解図である。

【図 7】本発明に係る第 2 の磁性粒子分離装置の垂直断面図である。

【図 8】本発明に係る第 3 の磁性粒子分離装置を一の方向から見た分解図である。

【図 9】本発明に係る第 4 の磁性粒子分離装置の概念図である。

【図 1 0】本発明に係る第 4 の磁性粒子分離装置の分解図である。

【図 1 1】本発明に係る第 4 の磁性粒子分離装置の垂直断面図である。

【図 1 2】本発明に係る磁性粒子分離装置を用いてプラスミド DNA を分離した結果を示す電気泳動写真である。

50

【発明を実施するための形態】

【0021】

たんぱく質を分離するために粒子の集合物にエタノール、蒸留水、及び溶出液を注入した後の本装置について、図面に基づいて詳述する。

【0022】

図1から図5は本発明に係る第1実施形態を示し、図6及び図7は本発明に係る第2実施形態を示している。図8は本発明に係る第3実施形態を示し、図9から図11は本発明に係る第4実施形態を示している。

【0023】

[第1実施形態] チューブ挿入型の磁性粒子分離装置

10

【0024】

まず、図1から図5に基づいて、第1実施形態について説明する。

【0025】

図1に示すように、本装置は、略円柱状であるチューブTが挿入されるように複数の流入ホール310を有する本体300と、誘導磁石100が挿入されている誘導磁石固定部200とを備える。この誘導磁石固定部200は、略板状であり、本体300の一側面に結合される。

【0026】

図2に示すように、本装置における誘導磁石100は、磁性を有しており、好ましくは本体300の内部またはこの本体300に挿入されたチューブTに全体的に磁場を形成できる程度の磁力を有している。図2での誘導磁石100は、コインのようにその断面が円形であり若干の厚さを有する形状である。なお、誘導磁石固定部200に形成されている誘導磁石固定ホール210に効果的に固定可能な形状であれば、誘導磁石100の断面の形状は、四角形、六角形、八角形などの他の様々な形状であっても良い。

20

【0027】

誘導磁石100は、誘導磁石固定部200に形成されている誘導磁石固定ホール210にそれぞれ挿入されており固定されている。これらの誘導磁石100は、複数の行(L1, L2, L3, L4)と列(C1, C2, C3, C4, C5, C6)に沿って配列されている。いずれか一つの列(C1, C2, ... C6)ごとに一本のチューブTが対応するように配列されていることが望ましい。複数の行(L1, L2, ... L4)を設けることで、チューブTに磁場を効果的に印加することができる。誘導磁石100が配列されている行と列は、挿入しようとするチューブTのサイズと本数に応じて様々に変更しても良い。

30

【0028】

図2に示すように、本装置における誘導磁石固定部200は、複数の誘導磁石固定ホール210と、結合磁石固定ホール220と、前述した本体300と結合させるために結合磁石固定ホール220に挿入されており固定されている結合磁石230と、を有している。図2に示すように、誘導磁石固定ホール210は6列設けられているため、これに対応してチューブTを挿入される流入ホール310も6個設けられていることが好ましい。つまり、流入ホール310の数に合わせて誘導磁石固定ホール210の列の数を変更することができる。一方、流入ホール310の数は、挿入しようとするチューブTのサイズと本数に合わせて変更することができる。

40

【0029】

図1及び図2に示すように、本体300と誘導磁石固定部200が互いに結合しているときにその形状が略直方体を成すように、本体300の外形において誘導磁石固定部200が結合される部分が凹んでいることが好ましい。つまり、本体300は、誘導磁石固定部200を受容できる受容部350(図3を参照)を有することが好ましい。一方、誘導磁石固定部200は、誘導磁石固定ホール210が形成されている第1板240、及び結合磁石固定ホール220が形成されている第2板250を有しており、この第2板250よりも第1板240が突き出ても良い。第1板240と第2板250とが別部材であるように説明したが、これらは一体の部材として形成されていても良い。

50

【0030】

第1板240が第2板250よりも突き出ていることにより、第1板240が流入ホール310に更に近接するため、チューブTに印加される磁場の強度を高めることができる。

【0031】

図2から図4に示すように、本体300はチューブTが挿入される流入ホール310を有する。この本体300には、一の流入ホール310aと、この一の流入ホール310aに隣接している他の流入ホール310bと、を区画している区画壁320が形成されている。この区画壁320には、その長さ方向に区画壁320を貫通して形成されている挿入ホール321が設けられている。この挿入ホール321にはチューブ固定部322aが挿入されており、挿入されているチューブ固定部322aの外周面は流入ホール310の内側へ向かって突き出ている。

10

【0032】

図2及び図3に示すように、誘導磁石固定部200の角部分には、第1結合磁石固定ホール220、及びこの第1結合磁石固定ホール220に挿入されている第1結合磁石230が設けられている。本体300では、第1結合磁石固定ホール220及び第1結合磁石230に対応する位置に第2結合磁石固定ホール330が形成されており、この第2結合磁石固定ホールに固定されている第2結合磁石340が設けられている。誘導磁石固定部200の第1結合磁石230と本体300の第2結合磁石340との間の磁力によって、誘導磁石固定部200と本体300が互いに結合可能である。

20

【0033】

図2及び図3に示すように、本体300は、誘導磁石固定部200の第1板240及び第2板250が安定的に結合されるように形成されている受容部350を有する。

【0034】

本体300の材質としては、チューブT内で核酸と磁性粒子とが分離することを肉眼で確認可能な透明材質、例えば透明アクリル材を使用することが好ましい。

【0035】

図4及び図5に示すように、チューブTが流入ホール310に挿入されているときに、チューブTの外周面を圧迫するために区画壁320内にチューブ固定部322aが挿入されている。

30

【0036】

本体300に形成されている各々の区画壁320毎に挿入ホール321が穿孔されている。この挿入ホール321にチューブ固定部322aが挿入されているときに、このチューブ固定部322aの側面が流入ホール310の内側へ向かって突き出ていることが好ましい。チューブ固定部322aとしては、好ましくはゴム又はシリコンなどの滑りにくい材質のものを使用し、さらに好ましくは内部が空洞になっているシリコン製のリングを使用する。チューブTが挿入されているときに、チューブ固定部322aによりチューブTに過度の圧力が加わりチューブTが破損するのを防ぐためである。

【0037】

シリコン製のリングなどを用いているチューブ固定部322aによって、チューブTは本体300に押し付けられて固定されるため、本体300から簡単には脱落しない。誘導磁石固定部200に固定されている誘導磁石100の磁場によってチューブT内で核酸と磁性粒子とが分離されたときに、本体300をひっくり返して残余液体を容易に除去することができる。

40

【0038】

また、本装置では、誘導磁石固定部200と本体300を容易に結合したり分離したりして使用するために、第1結合磁石230および／または第2結合磁石240を用いている。このため、本装置では、誘導磁石100の磁場を本体300に印加または除去することが容易である。

【0039】

50

誘導磁石固定部 200 が本体 300 から分離されている状態でチューブ T 内に洗浄液、核酸またはたんぱく質分離液などを注入して反応させた後に、誘導磁石固定部 200 と本体 300 を結合させて磁場を印加する。その結果、チューブ T 内において、磁性粒子が誘導磁石固定部 200 に向かって引き寄せられて上澄液から分離される。このため、分離された上澄液を除去すること又は回収して再利用することが容易であり、核酸またはたんぱく質を容易に分離することができる。

【0040】

本発明における磁性粒子としては、例えば韓国登録特許第 10-1053023 号に記載された方法で製造される磁性粒子、又はバイオニア社製の AccuBeadTM を使用することができるが、これらに限らず、当業者であれば核酸またはたんぱく質を分離、精製するために用い得る磁性粒子を使用することができる。

10

【0041】

〔第 2 実施形態〕 第 2 のチューブ挿入型の磁性粒子分離装置

【0042】

図 6 及び図 7 に基づいて、第 2 のチューブ挿入型の磁性粒子分離装置を説明する。

【0043】

効率よく説明するために、前述した第 1 実施形態と共通する技術的特徴については記載を省略する。第 2 実施形態について記載されていない技術的特徴は、前述した実施形態での技術的特徴と同じである。

【0044】

20

図 6 及び図 7 に示すように、流入ホール 310 は、その断面の形状が略 C 字状であるため、その一側面が開放されている。本体 300 の長さ方向に沿って、区画壁 320 の一側面から本体 300 の内側壁 312 まで溝部 360 が形成されている。この溝部 360 において、幅方向に沿って直線状にチューブ固定部 322b が挿入されている。チューブ固定部 322b の材質などは第 1 実施形態に準ずる。

【0045】

図 6 及び図 7 に示すように、チューブ固定部 322b は、溝部 360 内に挿入されていることによって、チューブ T の外周面を圧迫することができる。チューブ T の外周面側を圧迫するためには、チューブ T が挿入されているときに、チューブ固定部 322b の直径は内側壁 312 に形成されている溝部 360 の長さよりも大きいことが好ましい。つまり、チューブ固定部 322b の一部が流入ホール 310 に突き出ても良い。

30

【0046】

図 6 及び図 7 に示すように、流入ホール 310 内にチューブ T が挿入されているときに、チューブの底面 BS と流入ホール 310 の底面 311 は所定距離 t 離れていても良い。このことは、第 1 実施形態でも同様である。チューブ T を挿入して磁性粒子分離装置を活用するときに、チューブ T の破損を防ぐためである。このためには、本体 300 に形成されている区画壁 320 の高さは、本体 300 の高さよりも低く設計されていても良い。区画壁 320 の上部には、チューブ T を固定するために段状の部分 P が形成されていても良い。この場合には、区画壁 320 の上部によりチューブ T の段状の部分 P が固定される。または、チューブ T の外径がその上部で徐々に増していることで、チューブ T が自ずと区画壁 320 の上部により固定されるようにしても良い。

40

【0047】

図 7 に示すように、誘導磁石固定部 200 において挿入されている誘導磁石 100 を効率よく固定するために、誘導磁石固定ホール 210 の端部 211 が突き出ているように設計されていても良い。誘導磁石 100 が誘導磁石固定ホール 210 内に挿入されているときにぴったりと嵌め込まれているように、端部 211 が突き出ている。誘導磁石固定ホール 210 の入口の大きさと誘導磁石 100 の大きさが異なることによって、誘導磁石 100 が誘導磁石固定ホール 210 に安定的に強く固定されている。

【0048】

図 7 に示すように、チューブ T のキャップ C がチューブ T の入口を効率よく塞ぐように

50

チューブTの上端の角部分が削られていることが好ましい。キャップCの取り付けを容易にするためである。

【0049】

〔第3実施形態〕第3のチューブ挿入型の磁性粒子分離装置

【0050】

図8に基づいて、第3のチューブ挿入型の磁性粒子分離装置を説明する。

【0051】

前述した第1実施形態及び第2実施形態と共通する技術的特徴は効率よい記載のために省略するため、第3実施形態で記載されていない技術的特徴は前述した実施形態に従う。

【0052】

図8に示すように、本体300はその下部の面が開放されていても良い。チューブTが流入ホール310に挿入されているときに、このチューブTが破損することを防ぐために、テーブルの底面にチューブTが達しないことが好ましい。または、第2実施形態について前述したように、チューブTの外周面に段状の部分Pを設けてチューブTの損傷を防いでも良い。

【0053】

図8に示す誘導磁石100の行列の数は、図2などで示す行列の数とは異なっている。このことは、第1から第3実施形態での誘導磁石100の個数が、挿入されるチューブの大きさと本数に合わせて様々に変更されても良いことを意味している。

【0054】

図8に示すように、第3実施形態におけるチューブ固定部322aは、実施形態1と同様に配されているが、実施形態2におけるチューブ固定部322bに置き換えられても良い。

【0055】

図8で番号を付されているが説明されていない構成は、第1及び／又は第2実施形態に従う。

【0056】

〔第4実施形態〕マルチウェルプレート型の磁性粒子分離装置

【0057】

図9から図11に基づいて、マルチウェルプレート型の磁性粒子分離装置について説明する。

【0058】

第1実施形態と同様、図9から図11に示すように第4実施形態は、誘導磁石100、この誘導磁石100が固定されている誘導磁石固定部200、及び本体300などを備える。さらに、本体300が誘導磁石固定部200に固定されるように、本体300と誘導磁石固定部200の間に本体位置固定部400を備える。第1実施形態では誘導磁石固定部200が本体300の側部に装着されるが、第4実施形態では本体300が誘導磁石固定部200の上部で固定されているためである。

【0059】

図10に示すように、誘導磁石100がそれぞれ固定されるように、誘導磁石固定部200に誘導磁石固定ホール210が穿孔されている。この誘導磁石100は、誘導磁石固定ホール210に嵌まり込んでいること、又はボンドを使用することなどにより固定されていても良い。

【0060】

図2などとは異なり、第4実施形態での誘導磁石100は、十分な高さを有する円柱状であることが好ましい。

【0061】

図9から図11ではマルチウェルプレートとして96ウェルプレートを用いているが、これに限らず他の様々なマルチウェルプレートを用いても良い。この際、マルチウェルプレートの行と列の数に合うように誘導磁石の個数が変更されても良い。96ウェルプレ

10

20

30

40

50

トを用いる場合には、 8×12 の流入ホール310（96個の流入ホール）を有し、これらの流入ホール310の間には区画壁320が設けられている。図11に示すように、流入ホール310の下部には、流入ホール310の行と列の数よりもそれぞれ1個ずつ多い 9×13 の空間（117個の空間）が形成されている。この空間ごとに誘導磁石100が配されるように、117個の誘導磁石100が誘導磁石固定部200に挿入されており固定されていることが好ましい。

【0062】

上記のような空間を有するために、図11に示すように、流入ホール310は、その上部の断面積よりも下部の断面積の方が小さいことが好ましい。

【0063】

図10に示すように、本体300が誘導磁石固定部200に固定されるように、本体300と誘導磁石固定部200の間に本体位置固定部400が配される。

【0064】

図10に示すように、本体位置固定部400は、圧迫部410、及びこの圧迫部410を受容している受容部420を有しても良い。

【0065】

圧迫部410としては、前述したようにゴム製またはシリコン製のOリングが使用されても良い。本体300にチューブTが挿入されているときに、この本体300が歪んだり破損したりすることを防ぎつつ、本体位置固定部400から本体300が簡単に脱離しないようにするためである。

【0066】

本体位置固定部400を誘導磁石固定部200に結合させるためには、様々な固定方法、例えば、ねじ込みによる結合、ボルトによる結合、スナップーインによる結合、または磁石の磁力による結合など多様な方法を取り得る。図9に示すホールHは、本体位置固定部400と誘導磁石固定部200の間で結合させるためのものである。

【0067】

〔第5実施形態〕第1から第3実施形態を用いる磁性粒子の分離方法

【0068】

第1実施形態から第3実施形態に係る磁性粒子分離装置を用いる、核酸の分離及び精製方法について説明する。

【0069】

まず、磁性粒子を用いて核酸を分離するために、遺伝子物質に磁性粒子を混ぜてチューブTに注入する（S100）。

【0070】

図1から図8に示すように、本体300の高さ方向に沿って形成されている流入ホール310の少なくとも一つに、チューブTを挿入する（S200）。

【0071】

この際、本体300の内部に挿入されているチューブ固定部322a、322bがチューブTの外周面を圧迫することによって本体300にチューブTが固定される（S200）。

【0072】

誘導磁石100が固定されている誘導磁石固定部200を、本体300の側方に固定する（S300）。前述したS100段階からS300段階は、使用者の便宜によってその順序が変わっても良い。

【0073】

誘導磁石100によって形成されている磁場により、遺伝子物質と結合している磁性粒子が誘導磁石100に向かって引き寄せられる（S400）。この遺伝子物質と結合している磁性粒子を除く残余液体をチューブTから除去する（S500）。

【0074】

本体300に固定されている誘導磁石固定部200を本体300から分離することによ

10

20

30

40

50

り、この本体300に印加されている磁場を除去する(S600)。チューブT内に残っている磁性粒子と核酸を分離するために、このチューブTに洗浄液を注入する(S700)。これによって、核酸が効果的に分離及び精製される。

【0075】

上記した洗浄及び分離液を注入する段階(S700)を数回繰り返して行なっても良い。

【0076】

[第6実施形態] 第4実施形態を用いる磁性粒子の分離方法

【0077】

第4実施形態に係る磁性粒子分離装置を用いる核酸の分離及び精製方法について説明する。

10

【0078】

まず、磁性粒子を用いて核酸を分離するために、遺伝子物質に磁性粒子を混ぜてマルチウェルプレートに注入する(S100)。

【0079】

図9から図11に示すように、マルチウェルプレート本体300の単位ウェルの間に誘導磁石100が挿入されるように、この本体300を本体位置固定部400に固定させる(S200～S300)。

【0080】

この際、本体位置固定部400内に配されている圧迫部410がマルチウェルプレート本体300の外周面を圧迫することによって、本体位置固定部400にこの本体300が固定される(S200)。前述したS100段階からS200段階は、使用者の便宜によってその順序が変わっても良い。

20

【0081】

誘導磁石100により形成されている磁場によって、遺伝子物質と結合された磁性粒子が誘導磁石100に引き寄せられる(S400)。

【0082】

遺伝子物質と結合している磁性粒子を除く残余液体を、マルチウェルプレート本体300から除去する(S500)。

【0083】

マルチウェルプレート本体300に固定されている本体位置固定部400をこの本体300から分離することにより、この本体300に印加されている磁場を除去する(S600)。

30

【0084】

マルチウェルプレート本体300の単位ウェル内に残っている磁性粒子と核酸を分離するために、この本体300の単位ウェルに洗浄液を注入する(S700)。

【0085】

これによって、核酸が効果的に分離及び精製される。

【0086】

上記した洗浄及び分離液を注入する段階(S700)を数回繰り返して行なっても良い。

【0087】

[実験例] 本装置を用いるプラスミドDNAの分離方法

40

【0088】

本装置を用いるプラスミドDNAの分離方法について説明する。以下に説明する方法は一例であり、本発明に係る方法は、以下の方法の他にも核酸、たんぱく質を分離する方法を広く含んでいる。

【0089】

標的プラスミドDNAを分離するために、細胞破碎液を準備する。この細胞破碎液は、当業者が行い得る方法を広く含めて、化学的な細胞破碎法により調製されたものである。

【0090】

準備した細胞破碎液に磁性粒子を注入することで、細胞たんぱく質変性凝集物と細胞破

50

砕粒子に磁性粒子を結合させる。その結果として、上澄液が得られる。この上澄液を得る方法でも、本発明に係る磁性粒子分離装置を用いることができる。

【0091】

得られた上澄液に8Mのグアニジーン塩化水素、100%エタノール、及び磁性粒子を注入して、これらを混合させる。この混合過程を通じて、標的プラスミドDNAが磁性粒子と結合する。

【0092】

結合されたプラスミドDNA－磁性粒子を他の成分から分離するために、本発明に係る磁性粒子分離装置を用いて磁場を印加／除去することで、チューブ内においてプラスミドDNA－磁性粒子が誘導磁石固定部に向かって引き寄せられる。このため、プラスミドDNA－磁性粒子を除いて不純物溶液を除去することができる。

10

【0093】

不純物溶液が除去されてプラスミドDNA－磁性粒子が残っているチューブ内に洗浄液を注入して洗浄段階を進める。この段階で、誘導磁石固定部200を用いて磁場を印加／除去する方法を行なう。

【0094】

また、プラスミドDNA－磁性粒子に磁場を印加／除去することにより、プラスミドDNA－磁性粒子結合物から標的たんぱく質を分離することができる。

【0095】

図12は、本装置を用いて分離されたプラスミドDNAを電気泳動した結果を示す写真である。カラム型のプラスミドキットを用いる場合に似た効果を本装置および本方法が発揮したことが実証された。

20

【産業上の利用可能性】

【0096】

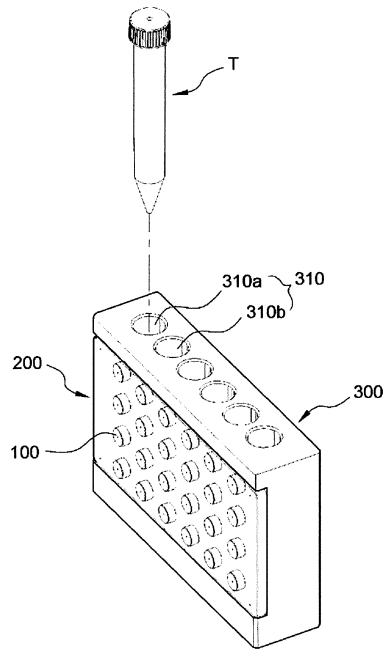
本発明では、磁場を印加及び除去することが便利である。このため、本発明を使用すると、核酸またはたんぱく質を効率良く抽出することができる。

【0097】

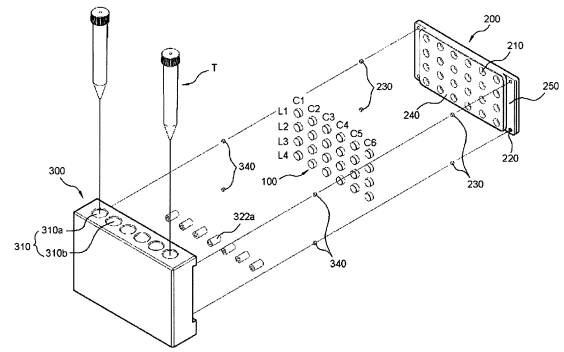
さらに、本発明によれば、チューブが本体に容易に挿入されて固定される。このため、本発明では、磁石によって核酸と磁性粒子が引き寄せられているときに、残余物質を容易に除去することができる。

30

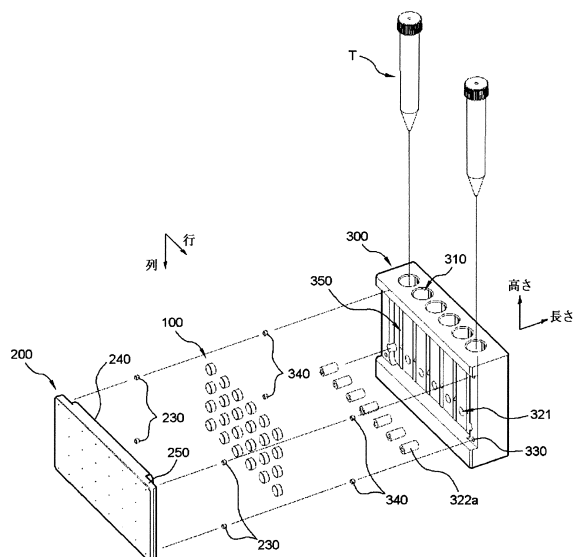
【図 1】



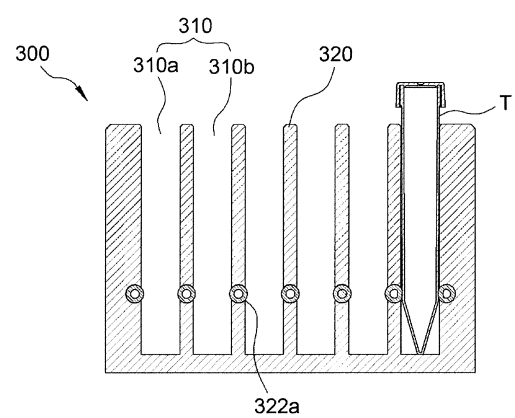
【図 2】



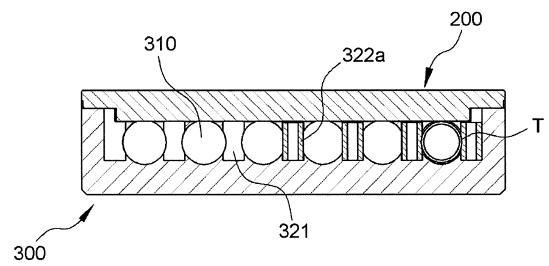
【図 3】



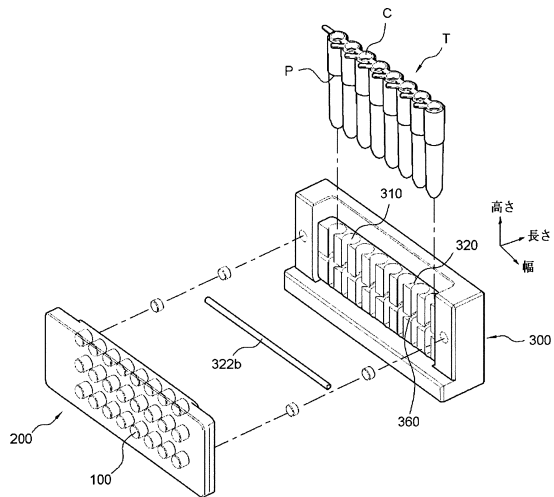
【図 4】



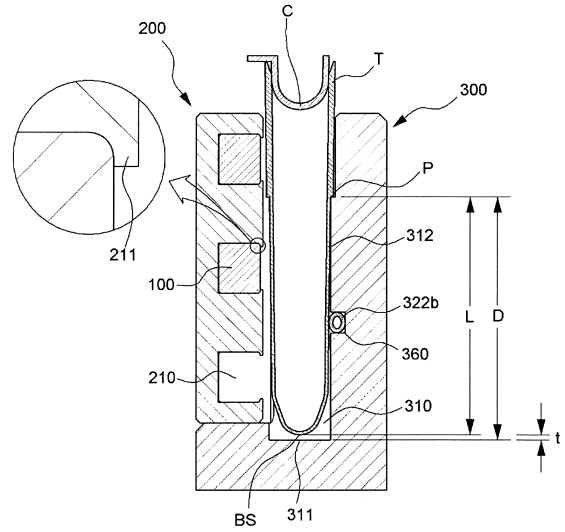
【図 5】



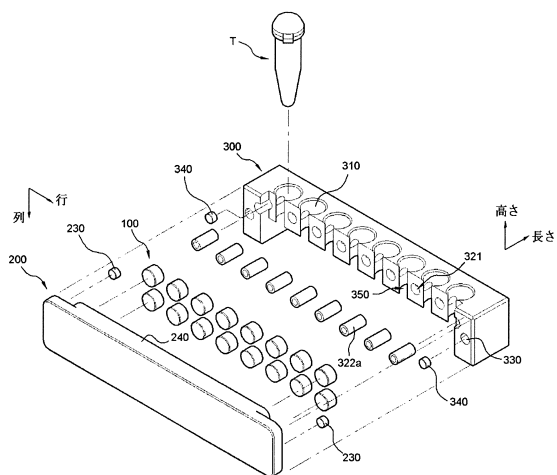
【図 6】



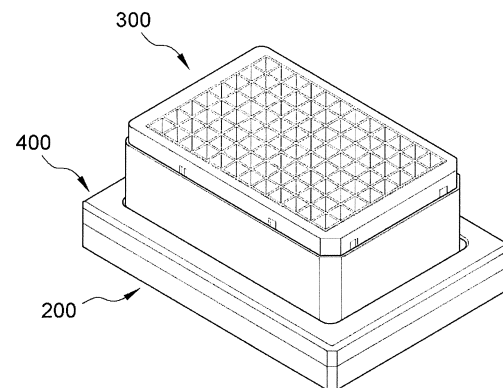
【図 7】



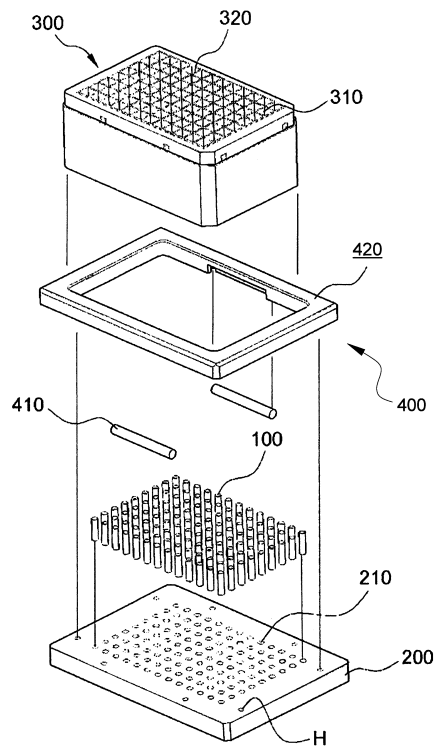
【図 8】



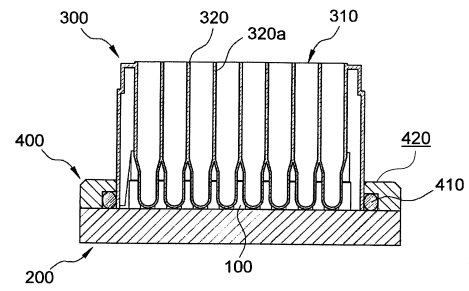
【図 9】



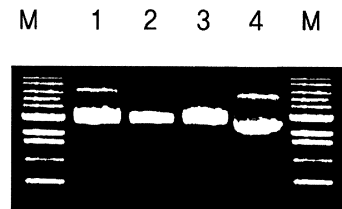
【図 10】



【図 11】



【図 12】



M: Bioneer 1kb ladder
 1: Column type plasmid prep kit
 2: Maglisto 2ml stand
 3: Maglisto 15ml stand
 4: Maglisto 50ml stand

フロントページの続き

- (51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 1/10 (2006.01) C 0 7 K 1/14
G 0 1 N 33/48 (2006.01) G 0 1 N 1/10 C
G 0 1 N 33/48 A
- (74)代理人 100191189
弁理士 浅野 哲平
- (74)代理人 100199831
弁理士 中川 茂樹
- (72)発明者 パク ハン オ
大韓民国 3 0 5 - 7 6 1 テジョン - シ、 ユソン - ク、 エキスポ - ロ、 4 4 8、 2 0 8
- 6 0 1
- (72)発明者 キム ジョン カ
大韓民国 3 0 5 - 7 5 3 テジョン - シ、 ユソン - ク、 ボンサン - ロ、 3 9、 2 0 4 -
9 0 5

審査官 河野 隆一朗

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2011/0203997 (US, A1)
米国特許出願公開第2011/0177592 (US, A1)
米国特許出願公開第2008/0156714 (US, A1)
特開昭60-067858 (JP, A)
米国特許出願公開第2009/0028759 (US, A1)
米国特許第06193892 (US, B1)
米国特許第04895650 (US, A)
特表2013-508685 (JP, A)
実開昭55-018145 (JP, U)
米国特許出願公開第2013/0026104 (US, A1)
特表2005-523692 (JP, A)
米国特許出願公開第2009/0028758 (US, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

B 0 3 C	1/00	—	1/32
B 0 1 L	1/00	—	99/00
G 0 1 N	1/00	—	1/34
G 0 1 N	33/48	—	33/98
G 0 1 N	35/00	—	35/10
G 0 1 N	27/72	—	27/90
C 0 7 K	1/00	—	19/00
C 1 2 M	1/00	—	3/10