

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4856831号
(P4856831)

(45) 発行日 平成24年1月18日 (2012. 1. 18)

(24) 登録日 平成23年11月4日 (2011. 11. 4)

(51) Int. Cl.

F I

B O 1 F 13/08 (2006. 01)

B O 1 F 13/08 Z

B O 1 F 15/06 (2006. 01)

B O 1 F 15/06 Z

B O 3 C 1/00 (2006. 01)

B O 3 C 1/00 B

請求項の数 15 (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2001-510586 (P2001-510586)
 (86) (22) 出願日 平成12年7月14日 (2000. 7. 14)
 (65) 公表番号 特表2003-504195 (P2003-504195A)
 (43) 公表日 平成15年2月4日 (2003. 2. 4)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2000/006789
 (87) 国際公開番号 W02001/005510
 (87) 国際公開日 平成13年1月25日 (2001. 1. 25)
 審査請求日 平成19年5月23日 (2007. 5. 23)
 (31) 優先権主張番号 99202354. 9
 (32) 優先日 平成11年7月19日 (1999. 7. 19)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 300052589
 オルガノン・テクニカ・ペー・ヴェー
 オランダ国、5 2 8 1・エル・エム・ボツ
 クステル、ボセインド・1 5
 (74) 代理人 100062007
 弁理士 川口 義雄
 (74) 代理人 100105131
 弁理士 井上 満
 (74) 代理人 100113332
 弁理士 一入 章夫
 (74) 代理人 100103920
 弁理士 大崎 勝真
 (74) 代理人 100117053
 弁理士 相馬 貴昌

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 磁性粒子を流体と混合するための装置および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アレイの形態で介在する幾何学配置を形成するために隣接する磁石アレイ間に配置された対応する 1 つの容器アレイを有する少なくとも 2 つの磁石アレイを使用して、1 つまたは複数の容器の中で磁性または (超) 常磁性粒子を流体と混合する方法であって、各磁石アレイが、複数の離隔された磁石を備え、対応する容器アレイにおける容器の位置に対して隣接する磁石アレイにおける磁石を動かし、かつ / または磁石の位置に対して容器を動かすことによって、容器が、変化する異なる方向の磁場を受けることを特徴とする方法。

【請求項 2】

容器を動かすまたは隣接する第 1 および第 2 の磁石アレイにおける磁石を動かすことによって、容器が、反対の極性の磁場を受ける請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

磁石または容器の移動の結果、それぞれの容器の中の流体内の磁性または (超) 常磁性粒子が、同じ極どうしが向かい合った 2 つの対応する磁石の間で繰り返し移動され、2 つの対応する磁石が、一方が第 1 の磁石アレイに保持され他方が第 2 の磁石アレイに保持された状態で、容器の反対側の隣接する磁石アレイに配置される請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

各容器内の磁場の方向が繰り返し反転されるように、磁極を有する第 1 の磁石を容器の一方の壁面に近づけることによって、磁性または (超) 常磁性粒子を、流体中を横切って

20

容器の前記一方の壁面に移動させ、続いて、第１の磁石と同じ磁極を有する第２の磁石を容器の反対側の壁面に近づけることによって、磁性または（超）常磁性粒子を前記反対側の壁面に移動させる方法で、容器の位置に対してそれぞれの磁石アレイにおける磁石を一斉に動かし、かつ／または磁石の位置に対してそれぞれの容器アレイにおける容器を互いに対して一斉に動かす請求項１から３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５】

容器に対してそれぞれの磁石アレイの磁石を一斉に動かす請求項１から４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項６】

１つまたは複数の容器の中で磁性または（超）常磁性粒子を流体と混合する装置であって、複数の離隔された容器を有する少なくとも１つの容器アレイの前記１つまたは複数の容器、および複数の磁石アレイを保持する手段を備え、磁石アレイそれぞれは、少なくとも１つの容器アレイの両側に配置され、各磁石アレイは、複数の離隔された磁石を備え、同時に少なくとも１つの容器アレイの複数の容器を、変化する異なる方向の磁場に晒すために、磁石アレイは、少なくとも１つの容器アレイと協働するように装置内に配置されかつ位置合せされ、前記装置がさらに、変化する異なる方向の磁場を容器が受けるように、前記容器の位置に対して前記磁石を水平方向に動かす手段、ならびに／あるいは前記磁石の位置に対して前記容器を水平方向に動かす手段を備える装置。

10

【請求項７】

容器の内容が温まるように容器のすぐ近くに移動させ、再び遠ざけることができるように配置されたヒートブロックを備える請求項６に記載の装置。

20

【請求項８】

ヒートブロックが容器の下に配置され、ヒートブロックが、ヒートブロックを容器のすぐ近くに近づけたときに容器の先端を取り囲むウェルを有する請求項７に記載の装置。

【請求項９】

それぞれの磁石アレイにおける各磁石が、その近隣のそれぞれ磁石と反発し合うような向きに配置された請求項６に記載の装置。

【請求項１０】

第１の容器アレイにおけるそれぞれの容器の中の磁場の方向が繰り返し反転するような方法で、隣接する第１および第２の磁石アレイにおける磁石を、対応する第１の容器の両側に沿ったまっすぐな平行経路上で前後に一斉に動かすことができる請求項６から９のいずれか一項に記載の装置。

30

【請求項１１】

第１の磁石アレイにおける磁石列の全ての磁石の極が同じ方向を向き、近隣の第２の磁石アレイにおける磁石列の全ての磁石の極が、第１の磁石アレイにおける磁石列の磁極に対して逆方向を向くように、第１の磁石アレイおよび第２の磁石アレイにおける磁石が一列に配置された請求項６に記載の装置。

【請求項１２】

容器の壁に対してさまざまな高さのところに磁石を配置することができるよう、磁石を垂直方向にも動かすことができる請求項６から１１のいずれか一項に記載の装置。

40

【請求項１３】

容器が閉鎖系の一部分である請求項６から１２のいずれか一項に記載の装置。

【請求項１４】

容器が、より小径の先端を備えた管形容器である請求項６から１３のいずれか一項に記載の装置。

【請求項１５】

請求項６から１３のいずれか一項に記載の装置の核酸分離法での使用。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

本発明は、磁性または磁化可能粒子の使用に関し、詳細には、磁性または（超）常磁性粒

50

子を流体と効率的に混合する方法、および磁性粒子を流体から分離し、続いて任意選択で、粒子を別の流体に再懸濁させる方法に関する。

【0002】

本発明はさらに、上記方法を実行する装置を提供する。

【0003】

磁性粒子は、分離プロセスでしばしば使用される。磁性粒子を使用する多くの生物検定法および精製法がある。例えば、免疫検定法、核酸のハイブリッド形成検定法などである。

【0004】

磁性粒子を精製法で使用して、特定の成分、タンパク質、核酸を含む材料からそれらを分離することもできる。磁性粒子を使用して混合物からある成分を分離できるのは、例えば磁性粒子が、その成分に特異的な親和力を有する試薬でコーティングされているためである。

10

【0005】

例えば流体および磁性粒子を含む容器の壁に磁性粒子を引き寄せ、流体を除去し、任意選択で別の流体に置き換えることができる。特定の成分をその中から取り出す流体と磁性粒子を混合することができ、その成分は磁性粒子に結合し、成分と結合した粒子を、磁石を使用して流体中の残りの混合物から分離することができる。任意選択で、磁性粒子を洗浄すること、および別の流体中で分離させることができる。あるいは、その成分を磁性粒子から再び別の流体中に取り出すことができる。

【0006】

20

磁性粒子を使用して、生物試料から核酸（NA）ターゲットを精製することが知られている。

【0007】

磁性粒子を使用した核酸の精製方法は例えば、EP757106（Toyobo）およびWO96/41811（Boehringer Mannheim）に記載されている。これらの出願には、核酸を含む試料溶液をカオトロピックな物質で処理して核酸を解放する方法が記載されている。溶菌緩衝液中の生物学的実体からNAを解放した後、NAを磁性粒子に結合させる。

【0008】

この目的には、特定のターゲット用のプローブでコーティングされた粒子と、試料に含まれる全てのNAの一般的な結合を与える金属酸化物コーティング（例えばシリカ）を有する粒子の両方が使用される。ターゲットを結合させた後、洗浄緩衝液（または一連の洗浄緩衝液）中で磁性粒子を洗浄することによって、細胞の破片、酵素、タンパク質、抗凝結剤、塩などの妨害成分を除去する。最後に、小体積の溶離緩衝液中で粒子を混合することによって、精製されたNAを粒子から解放する。粒子から核酸が溶離されるので、このプロセスは溶離と呼ばれる。

30

【0009】

効率的な洗浄および溶離のためには、磁性粒子が関連緩衝液に十分に分散し、関連緩衝液と十分に混合される必要がある。この洗浄および溶離プロセスは一般に、溶菌試料中の特定の成分（例えばゲノムDNA）の磁性粒子への吸着、または粒子中に誘起された残留磁気双極子場によって生じた磁性粒子の凝集またはクロッキング（clotting）によって妨害される。具体的には、シリカでコーティングした（磁性）粒子を、かなりの量のゲノムDNA（全血、唾液、組織）を含む試料とともに使用すると、処理が難しい目の詰まったペレットが生じる。

40

【0010】

緩衝液中で（磁性）ビーズを混合する周知の方法は、渦流法（vortexing）、音波法（sonification）またはピペット法（pipetting）である。しかしこれらの方法は自動化が難しく、かつ/またはエアロゾル発生による試料間汚染の危険があり、またはNAターゲットを劣化させる可能性がある。さらにこれらの方法は、溶離プロセスで必要となるようなごく小体積の液体（一般に0.01ml）に対してはあま

50

り適していない。

【0011】

本発明による方法および装置は、通常、比較的大きな体積の試料流体から成分をいくらか純粋な形で分離し、以降の使用に適したより小体積の別の流体中に濃縮する分離手順とともに使用するのに特に適している。

【0012】

核酸分離法の場合、このような以降の使用が例えば、核酸増幅法または核酸検出のための検定、あるいはその両方である。

【0013】

超常磁性粒子を分離し再懸濁させる方法および装置がWO 91 / 09308 (Diatel instruments) に開示されている。

10

【0014】

この出願には、超常磁性粒子を凝集させ、続くさまざまな磁場の適用によってこれを再懸濁させることが開示されている。第1および第2の磁場の適用は、粒子を含む容器の周りを別の位置に回転する同じ磁石で提供することができる。ただし、離隔した対向する2つの電磁石を使用することもできる。これらの電磁石に交互に通電して第1および第2の磁場を作り出し、これらの磁場が粒子を懸濁状態に保ち、粒子を含む流体と粒子とを混合する。

【0015】

磁性粒子を流体から分離する方法がUS 3985649 に開示されている。

20

【0016】

粒子は、粒子を磁石のごく近くに近づけることによって流体から分離し、液体の中を容器の壁に沿って移動させることができる。このようにすれば粒子を液体の外に移動させることもでき、第2の容器に移すこともできる。

【0017】

US 4988618 には、小体積の複数の試料を同時に検査する検定用装置が記載されている。これらのタイプの検定は、例えばマイクロタイタプレートで実行することができる。磁性微粒子は、マイクロタイタプレートのそれぞれのウェルの中に存在する。この装置は複数のオリフィスを有し、それぞれのオリフィスの周囲には複数、好ましくは4つの永久磁石がある。この磁石 / オリフィス構造は固定式である。すなわち、磁石は、動かすことを想定しておらず、磁石自体および装置のベースに対して固定されて取り付けられている。全ての磁石は整列しており、磁石の場の方向は、全ての磁石の場の方向が同じであるか、または近隣の磁石の場の方向が反対向きである。したがってこの磁石の方向によって、オリフィスあたり4つのスポット引力サイトが生じる。磁石は純粋に分離だけが目的である。この特許には、この装置が、容器内の試薬を攪拌する手段をさらに含むことができることが開示されている。

30

【0018】

本発明は、磁性または磁化可能粒子を流体中で効率的に混合することができ、任意選択で前記流体から粒子を分離することができる方法および装置に関する。変化する反対方向の磁場を利用する。流体中の磁性または磁化可能粒子がこれらの磁場を受けると、粒子は、場の影響で流体と効率的に接触することが分かった。このような粒子は通常、流体との効率的な混合を妨げるクロット (clot) を形成しやすい。流体および粒子を含む容器に変化する異なる方向の磁場をかけることによって、非常に効率的な混合プロセスとなるような方法で、粒子は互いから効率的に分離され、流体を横切って引き寄せられることが分かった。この方法では、流体がごく小体積であっても粒子を効率的に混合することができる。したがって本発明の方法は、例えば洗浄流体を節約することができ、必要な流体の体積を減らすことができるという利点を有する。したがって例えば分離手順では、本発明の方法によって、試薬を高濃度に精製することができる。また、従来技術の方法は面倒で時間がかかるが、この方法は短時間で済み、実施が簡単である。

40

【0019】

50

したがって本発明は、１つまたは複数の容器の中で磁性または（超）常磁性粒子を２つ以上の磁石を使用して流体と混合する方法であって、容器の位置に対して磁石を動かし、かつ／または磁石の位置に対して容器を動かすことによって、容器が、変化する異なる方向の磁場を受ける方法を提供する。

【００２０】

この文脈における「混合」とは、粒子と流体が緊密に接触することを意味する。したがって混合とは、粒子が洗浄され、または流体中に存在する成分と反応するときのような非常に効率的な方法で「接触」することを意味する。この文脈において混合は、プロセスが終わった後に均一な混合物を必ずしも提供しない。粒子は、磁石を除去したときには粒子を含む容器の底に分離し、または容器の壁の特定の位置に磁石によって保持することができる。この混合プロセスを使用して例えば、粒子を洗浄し、または粒子を液体中の成分と反応させ、または粒子をおおっている試薬に液体の成分を結合させることができる。同様に、この混合プロセスによって、粒子上に元々存在するある成分を周囲の液体中に溶離させることもできる。本発明の方法は、これらのそれぞれのプロセスに適用可能であり、磁性または磁化可能粒子をある体積の流体と接触させる、効率的で高速かつ便利な方法を提供する。

10

【００２１】

したがって本発明は、粒子のペレット化／凝集のレベルとはほぼ独立に磁性粒子を流体と混合する汎用方法を提供する。この方法はさらに、粒子に結合した試薬、例えば核酸を粒子から解放し、小さな体積に濃縮することができる。この方法は自動化が容易であり、高スループットフォーマットによく適する。この方法は、液滴またはエアロゾルによる汚染の危険を最小化する。

20

【００２２】

洗浄（または溶離）サイクル中には、容器の右の外壁の近くに第１の磁石を配置することによって（凝集した）粒子を左から右に液体中を引っ張り、続いてこの第１の磁石を引っ込め、同時に容器の反対側（左）の壁の近くに第２の磁石を配置して反対方向に粒子を引っ張る。本発明はさらに、前記方法を実行するための装置を提供する。

【００２３】

本発明による装置は、容器および２つ以上の磁石を保持する手段、ならびに変化する異なる方向の磁場を容器が受けるように、前記容器の位置に対して前記磁石を動かす手段、ならびに／あるいは前記磁石の位置に対して前記容器を動かす手段を備える。

30

【００２４】

容器に対して磁石を動かすことが好ましい。

【００２５】

容器は、都合のよい任意の形状とすることができる。磁性粒子を分散させた流体試料を保持するのに適した任意の容器を使用することができる。容器は、小体積の液体試料の保持に適することが好ましい。例えば容器を、エッペンドルフ（Eppendorf）カップ、PCR容器またはマイクロタイタープレートストリップとすることができる。

【００２６】

磁石は、容器に対してさまざまな幾何形状に配置することができる。容器の位置に対して磁石を動かし、または磁石の位置に対して容器を動かすことができ、それぞれの容器の中に変化する異なる極性の磁場を発生させる任意の幾何形状を使用することができる。

40

【００２７】

２つの磁石を、（同じ極どうしN - NまたはS - Sを向かい合わせることによって）強く反発し合うように配置すると、この洗浄（または溶離）プロセスが特に効率的になることが分かった。この配置のため、容器の中の磁性ビーズが位置する領域の磁力線は、それぞれのサイクルの間にその方向を突然に強く変化させる。同じ極どうし（N - NまたはS - S）が向かい合っているために強く反発し合う２つの磁石の間に容器を配置すると、磁石または容器を互いに対してわずかに動かしただけでも、容器の中の粒子が受ける磁場は突然に強く変化する。これは、粒子がクロットを形成しやすいとき、または既に流体中でク

50

ロットを形成しているときでも、粒子を流体と混合することができる非常に効率的な方法となることが分かった。

【 0 0 2 8 】

磁石は、それぞれの磁石がその近隣のそれぞれの磁石と反発し合うように配置することが好ましい。

【 0 0 2 9 】

磁石は、それぞれの容器の中の磁場の方向が繰り返し反転するよう、反対の極性の磁石を、それぞれの容器の両側に沿ったまっすぐな平行経路上で前後に動かすことができるような方法で一列に配置することができる。

【 0 0 3 0 】

これは、ある列の全ての磁石の極が同じ方向を向き、この第 1 の磁石列の隣りの容器の反対側にある近隣の磁石列の全ての磁石の極が、第 1 の磁石列の磁極に対して逆方向を向くように磁石を一列に配置することによって有利に達成することができる。

【 0 0 3 1 】

磁石を動かすと、容器は、同じ極どうしが向かい合った 2 つの磁石の間に繰り返し置かれる。

【 0 0 3 2 】

磁石および容器は平行な列として配置することができ、磁石列は、容器列に沿って反対方向に動かすことができる。

【 0 0 3 3 】

しかし当然ながら、本発明の方法の基本概念に基づいて、他の幾何形状も同様に考案することができる。

【 0 0 3 4 】

容器に対して磁石が動く、本発明による装置の一実施形態の基本概念を図 1 に示す。磁性粒子は、容器の中に入れられた緩衝液の中にある。(凝集した)粒子は、容器内に誘導される磁場の極性が磁石が動くたびに変化するように配置された少なくとも 2 つの磁石から成る一組の磁石を平行移動させることによって、液体を横切って左から右、および右から左に引っ張られる。

【 0 0 3 5 】

この方法は、これよりも多くの容器および磁石とともに使用することができる。したがって本発明による方法および装置では、いくつかの容器のバッチ操作を同時に実施することができる。本発明による方法および装置は、それぞれの容器の中の多数の流体を同時に処理するのに特に適する。

【 0 0 3 6 】

本発明による装置の好ましい一実施形態では、容器と磁石が、介在アレイ状幾何学配置 (*intervening array geometry*) に配置される。この配置は、本発明の方法を使用して、高スループットフォーマットを与えることを可能にする。

【 0 0 3 7 】

容器と磁石が介在アレイ状幾何学配置に配置された一実施形態を図 2 に示す。容器 (例えばエッペンドルフカップ、PCR 容器またはマイクロタイタープレートストリップ) がアレイ形に配置され、容器に対して平行移動する第 2 のアレイに磁石が固定されている。

【 0 0 3 8 】

このようにして、一連の多数の試料を同時に処理する。液体の添加および吸引は、手で、または当技術分野では周知の多チップ自動ディスペンサー器具によって実施することができる。

【 0 0 3 9 】

本発明の方法はさらに、閉鎖系とともに使用することができる。閉鎖系とはすなわち、液体が容器の中ではなく、例えば管の中に含まれた系である。したがって、本発明の方法とともに使用する容器には、バッチ操作で使用される容器だけではなく、閉鎖系で使用される管などの容器も含まれる。このような本発明による装置の代替実施形態を図 3 に示す。

10

20

30

40

50

粒子および液体は容器ではなく管の中に含まれ、閉鎖系内で粒子を処理することができる。

【0040】

本発明の装置の用途に応じて、前述のテーマに関していくつかの修正および変形が可能である。例えば、容器の形状を変更することができ、前記容器に対する磁石の位置の変更も可能である。

【0041】

本発明による装置は、生物学的出発材料から、例えば核酸を精製する方法とともに使用する装置として特に適している。

【0042】

特定の目的に対して、その用途にマッチするよう装置をさらに修正することができる。

【0043】

これらの調整によって、液体から粒子を分離するより良い方法とすることができる。この装置を、さまざまな体積の試料流体とともに使用できるように調整することもできる。

【0044】

本発明による好ましい一実施形態では、磁石を、容器の位置に対して動かせるだけでなく、容器の壁に沿った方向（容器が直立位置にあるときには垂直方向）にも動かすことができる。

【0045】

このようにすると、容器の中の流体の体積に従って磁石の位置を調整することができる。したがって、ごく小さな体積の流体を粒子と混合するときには、同じ容器で大きな体積の流体を混合するときよりも低い位置に磁石を配置する。

【0046】

垂直方向に磁石を動かせることは、大きな体積の流体を使用するときでも、この磁石を使用して、容器の下部まで粒子を引き寄せることができるという、追加の利点を有する。したがって、磁石で粒子を下の方に保持しながら、流体の体積の大きな部分を例えばピペッターによって除去することができる。

【0047】

容器の壁に沿って磁石を垂直方向に動かすことができるときには、任意選択で、磁石を使用して、容器の壁に沿って流体の表面よりも高い位置まで粒子を引き上げることもできる。この方法によって、流体から粒子を分離することができ、残りの流体を容器から取り除き、または例えば、残りの流体を別の流体に置き換えることができる。その後は、磁石を使用して粒子を液面下に引き下ろし、新たな流体と混合する。

【0048】

この装置設計では、その使用の方法において多くの変形が可能なことは明白である。それらは全て本発明の範囲に含まれる。

【0049】

垂直方向への磁石の移動の使用を図4に示す。

【0050】

さまざまな体積のいくつかの液体を用いた粒子の処理を含む手順で装置を使用できるようにするため、およびそれぞれの流体との粒子の効率的な混合およびそれからの分離を達成するために、容器に対しても調整を実施することができる。

【0051】

大きな容器をごく小体積の流体とともに使用する場合には、粒子が流体と接触できないという問題が生じる可能性がある。これは単に、流体が容器の底をおおって多少なりとも広がり、粒子をおおうまでには至らないためである。

【0052】

したがって、さまざまな体積の液体とともに使用でき、それでもなお流体と粒子の効率的な混合が可能な容器を考案することができる。このような容器およびその使用も同様に本発明の一部を構成する。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 3 】

相当に異なる体積の流体を使用できるよう、小体積の流体試料を収容するのに適した部分を備えた容器を使用することができる。この部分は、大体積の試料を収容するのに適した部分に接続される。このような容器の一例を図 4 に示す。

【 0 0 5 4 】

図 4 に示した多目的容器は、小体積の試料を収容するのに適した比較的小径の先端を備え、先端よりも上の部分はより大体積の試料を収容するのに適する。

【 0 0 5 5 】

図 4 に指示するように、この容器は、小体積および大体積の流体とともに装置を使用するのに適し、それに応じて、容器に対する磁石の高さを調整することができる。

10

【 0 0 5 6 】

さらに、この先端は、磁石を下方に動かすことによって大体積の試料から粒子を集めることを可能にする。次いで、誤って粒子を取り出してしまうことなく、液体の主要な部分を容器から除去することができる。

【 0 0 5 7 】

本発明による装置は、生物試料から核酸を分離する方法で使用するのに特に適している。

【 0 0 5 8 】

核酸を分離する一般的な方法は、ブーム (R . B o o m) 他によって考案された E P 3 8 9 0 6 3 に開示の方法である。

【 0 0 5 9 】

「ブーム法」は、グアニジン - イソチオシアナートなどのカオトロピック物質およびケイ質固相を含む溶菌緩衝液を用いた生物材料の処理を含む。ケイ質固相は、磁性シリカ粒子の形態で提供することができる。

20

【 0 0 6 0 】

この溶菌緩衝液によって材料から解放された核酸は (磁性) ケイ質粒子に付着する。したがって、溶菌緩衝液中の粒子と生物材料は互いに十分に接触しなければならない。これには、この方法に従った装置の使用が重要な役割を果たす。続いて、核酸が付着した粒子を残りの試料から磁石を使用して分離することができる (この目的に適合しているならば、本発明による装置を用いてこれを実施することもできる) 。続いて、核酸を含む粒子を洗浄しなければならない、これには洗浄緩衝液と粒子の混合が必要である。これは、本発明による装置によって実行することができるもう 1 つの機能である。次いで、洗浄液から粒子を取り出し、粒子を溶離緩衝液と接触させ (再び、粒子と溶離緩衝液の間の十分な接触が必要である) 、これによって粒子から溶離緩衝液中に核酸を解放する。一般に、洗浄に必要な液体の体積は、溶離に必要な液体の体積の約 1 0 倍である。洗浄液の体積 (1 容器、1 洗浄ステップあたり) は一般に 0 . 2 ~ 0 . 5 m l である。溶離緩衝液の体積は一般に 0 . 0 1 0 / 0 . 0 5 0 m l である。

30

【 0 0 6 1 】

磁石を垂直方向にも動かすことができ、小体積の液体を使用するための先端を有する容器を使用する装置の実施形態は、核酸を分離する、先に説明したいわゆる「ブーム法」とともに使用するのに特に適している。

40

【 0 0 6 2 】

装置を、ブーム法のような方法とともに使用するときには、以下の手順でこれを実行することができる。

【 0 0 6 3 】

洗浄ステップに必要な体積は一般に 0 . 2 から 0 . 5 m l であって、比較的大きい。したがって洗浄の間、磁性粒子は容器の上部 (レベル 1) にある (図 4 の状況 1) 。しかし、ほとんどの応用では、核酸ターゲットを、一般に 1 0 から 5 0 μ l の緩衝液中に濃縮する必要がある。このような小体積の液体は取扱いが難しい。このような小体積の液体のサイズを制御すること、および磁性粒子とともに容器の中でそれを操作して、境界のないステップを実行するための懸濁液を形成することは難しい。

50

【 0 0 6 4 】

図 4 に、以上の問題を克服する方法を示す。

【 0 0 6 5 】

洗浄手順を完了させた後、容器の壁の側面（レベル 1）のところで粒子を捕獲し（状況 1）、ピペッターの先端で洗液を吸引する。

【 0 0 6 6 】

次に容器を、新しい溶離緩衝液（約 0.2 ml）で満たし、磁石を下方に動かすことによって磁性粒子を容器の下端（レベル 3）に移動させる（状況 2）。下方へ動かすときに洗浄中にするように磁石アレイを平行移動させることによって、粒子の輸送を速めることができる。ET 緩衝液の組成は、緩衝液の温度が RT を超えない限りシリカから核酸が解放

10

【 0 0 6 7 】

次に、吸引しながらピペッターの先端を、その下端が、必要な ET 緩衝液の体積（例えば 10 μ l）に対応するレベルに達するまで容器の中に導入する（状況 3 参照）。

【 0 0 6 8 】

次に、ヒートブロックを容器に接触させて、緩衝液の温度を 55 ~ 60 まで上昇させる（状況 4）。

【 0 0 6 9 】

次に、洗浄手順と同様に磁石を水平に平行移動させることによって実際の溶離手順を開始する。ただし、このときに磁石のレベルは 3 にする。溶離中、ヒートブロックを容器と接

20

【 0 0 7 0 】

溶離を完了させた後、最後に、ヒートブロックを容器から（下方に）遠ざけ、磁石をレベル 2 まで移動させて（状況 5）、粒子を溶離緩衝液から引きあげる。これで、後続の処理（増幅、配列決定）に対する準備は完了である。

【 0 0 7 1 】

溶離中に溶離プロセスを乱すことなくヒートブロックを容器と接触させるため（状況 4）、ヒートブロックが、磁石アレイの寸法および容器の形状を考慮した専用の設計を有することが好ましい。

【 0 0 7 2 】

ヒートブロックは、非磁性材料から製作することが好ましい。例えば、ヒートブロックはアルミニウムから製作し、従来技術で知られているセラミック加熱部品を含む。

30

【 0 0 7 3 】

以上に、現在、手またはより複雑な自動装置で実行しなければならない既存の手順を自動化しスピードアップさせる装置の使用方法を示した。

【 0 0 7 4 】

当然ながら、多くの生物検定または精製プロセスで本発明による装置を使用することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 本発明によるアレイの基本概念を示す図である。

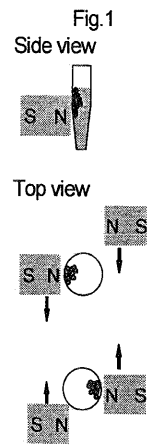
40

【図 2】 容器および磁石のホルダが介在アレイ状幾何学配置に配置され、磁石が、それぞれの容器の中の磁場の方向が繰り返し反転するよう、反対の極性の磁石を、それぞれの容器の両側に沿ったまっすぐな平行経路上で前後に動かすことができるような方法で一列に配置された装置を示す図である。

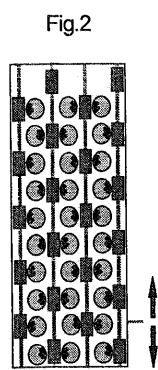
【図 3】 容器が閉鎖系的一部分、例えば管である装置を示す図である。

【図 4】 容器の壁に対してさまざまな高さのところに磁石を配置することができるよう、磁石を垂直方向にも動かすことができ、容器が、小体積の液体を保持するための先端を備えた管形容器である装置を示す図である。

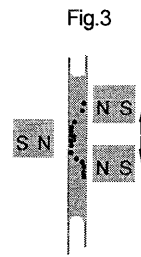
【図1】



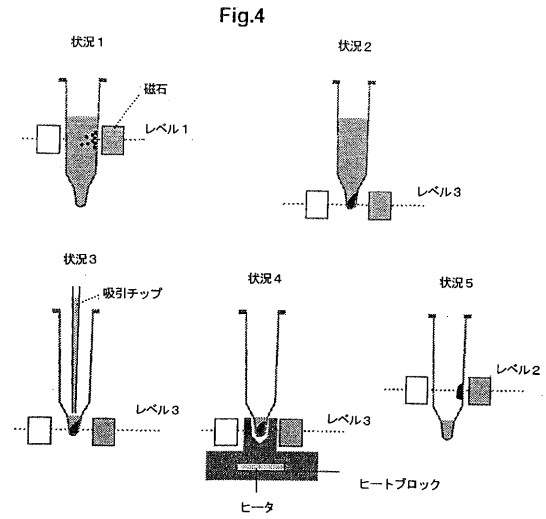
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

- (72)発明者 クレウエル, ヘルマヌス・ヨハンネス・マリア
オランダ国、5 4 8 1・エル・ウエー・シエインデル、ファイファルデイストラート・1 0
- (72)発明者 フエルウインプ, エミール・ヘレベルン・マリア
オランダ国、2 4 4 0・ヘール、レイヘルストラート・2 2

審査官 北村 英隆

- (56)参考文献 特開2 0 0 0 - 2 5 4 4 7 2 (J P , A)
特開2 0 0 0 - 0 1 5 0 8 4 (J P , A)
特開平0 8 - 2 3 3 8 2 6 (J P , A)
特開昭6 2 - 0 3 6 1 8 2 (J P , A)
特表平1 1 - 5 0 0 9 5 2 (J P , A)
実開昭6 2 - 0 3 9 8 4 5 (J P , U)
特開昭5 8 - 0 4 5 7 5 4 (J P , A)
特許第2 9 6 5 1 3 1 (J P , B 2)

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
- B01F 13/08,15/06
B03C 1/00,1/24