

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7518976号
(P7518976)

(45)発行日 令和6年7月18日(2024.7.18)

(24)登録日 令和6年7月9日(2024.7.9)

(51)国際特許分類 F I
G 0 1 N 27/447 (2006.01) G 0 1 N 27/447 3 1 5 C
G 0 1 N 27/447 3 2 5 B

請求項の数 9 (全15頁)

(21)出願番号	特願2023-531150(P2023-531150)	(73)特許権者	501387839 株式会社日立ハイテク 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号
(86)(22)出願日	令和3年6月28日(2021.6.28)	(74)代理人	110002572 弁理士法人平木国際特許事務所
(86)国際出願番号	PCT/JP2021/024357	(72)発明者	小川 未真 東京都千代田区丸の内一丁目6番6号 株式会社日立製作所内
(87)国際公開番号	WO2023/275933	(72)発明者	横井 崇秀 東京都千代田区丸の内一丁目6番6号 株式会社日立製作所内
(87)国際公開日	令和5年1月5日(2023.1.5)	審査官	小澤 理
審査請求日	令和5年11月13日(2023.11.13)		

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 電気泳動装置および電気泳動方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

電気泳動装置において、
生体物質を泳動分離するための分離媒体と、
緩衝液を収容する緩衝液槽と、
目的生体物質を回収するための回収チャンバと、
前記緩衝液槽と前記回収チャンバとを隔てる分離壁であって、前記分離壁は、緩衝液の水位に応じて前記緩衝液槽と前記回収チャンバとの間の緩衝液の流通を制御する、分離壁と、

前記分離媒体内を泳動する目的生体物質の位置を検出する位置検出部と、
前記目的生体物質の位置に応じて、前記緩衝液槽内の緩衝液の水位を制御する水位制御部と、
を備えることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項2】

請求項1に記載の電気泳動装置であって、
前記電気泳動装置は、前記緩衝液の液面位置を検出する液面検出部を備え、
前記水位制御部は、前記目的生体物質の位置および前記液面位置に応じて水位の変更量を決定することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項3】

請求項1に記載の電気泳動装置であって、

10

20

前記水位制御部の制御に応じて注排水を行う注排水部を備えることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項 4】

請求項 3 に記載の電気泳動装置であって、

前記注排水部は調整弁を備え、前記調整弁は前記分離壁の上端よりも低い位置にあることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項 5】

請求項 3 に記載の電気泳動装置であって、

前記注排水部は分注機を備えることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の電気泳動装置であって、

前記水位制御部は、緩衝液槽内に配置される空間占有部材を上下することによって水位を制御することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の電気泳動装置であって、前記分離壁の上端は、前記分離媒体のうち前記回収チャンバに面する部分の上端と同じ高さか、またはこれより高い位置に設けられる、ことを特徴とする電気泳動装置。

【請求項 8】

電気泳動装置を用いた電気泳動方法であって、

前記電気泳動装置は、

生体物質を泳動分離するための分離媒体と、

緩衝液を収容する緩衝液槽と、

目的生体物質を回収するための回収チャンバと、

前記緩衝液槽と前記回収チャンバとを隔てる分離壁であって、前記分離壁は、緩衝液の水位に応じて前記緩衝液槽と前記回収チャンバとの間の緩衝液の流通を制御する、分離壁と、

前記分離媒体内を泳動する目的生体物質の位置を検出する位置検出部と、

水位制御部と、

を備え、

前記電気泳動方法は、前記水位制御部が、前記目的生体物質の位置に応じて、前記緩衝液槽内の緩衝液の水位を制御することを備える、電気泳動方法。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の電気泳動方法であって、

前記緩衝液槽内の緩衝液を排出することと、

前記回収チャンバ内の緩衝液を除去することと、

前記回収チャンバ内の緩衝液を除去した後に、溶媒を前記回収チャンバに注入することと、

を備えることを特徴とする電気泳動方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、電気泳動装置と、これを用いた電気泳動方法とに関する。一例として、電気泳動を用いて幾つかの生体物質から目的物質のみを高純度かつ高濃度の回収液として簡便に回収するための方法に関する。

【背景技術】

【0002】

ゲル電気泳動方法は、電荷を持った物質に電場を印加すると、物質が逆極性の電極方向へ移動する現象を利用して、核酸やたんぱく質などの生体物質を分析する手法である。一般に、生体物質の支持体として、アガロースゲルやアクリルアミドゲルなどの電気泳動ゲルが用いられる。生体物質の分子量によって電気泳動ゲル中の移動速度が異なるため、分

10

20

30

40

50

子量毎に異なるバンドとして生体物質が分離される。ゲル電気泳動方法は、生体物質の分離に関し高い分解能を持つため、目的とする分子量の生体物質を他の分子量の生体物質から分離し、回収するためにも採用される。

【0003】

目的とする分子量の生体物質の回収方法として、電気泳動により分離した目的のバンドに対し、周囲の電気泳動ゲルごと切除し、切除された電気泳動ゲルから生体物質を回収する方法が一般に採用される。しかし、切除された電気泳動ゲルから生体物質を回収する際に、生体物質の濃度が変化したり、切除のための工程が余計に必要になったりするという課題があった。

【0004】

電気泳動ゲルを切除する必要がなく、電気泳動と同時に目的とする生体物質を回収する方法として、例えば特許文献1及び2には、予め電気泳動ゲルに生体物質の回収チャンバを設けることが開示されている。生体物質の回収チャンバを設ける方法は、目的生体物質よりも早く泳動する不要物が回収チャンバを通り抜けて泳動を続けることからコンタミの可能性がなくなるという利点があるが、同様の理由から目的生体物質も回収チャンバを通り抜けやすく、目的生体物質の高回収率化がみこめないという課題があった。

【0005】

同様に、電気泳動と同時に目的とする生体物質を回収する方法として、例えば特許文献3には、電気泳動の流路が二股に分かれていて、電極のスイッチングによって目的生体物質のみを回収用チャンバに移動させ、回収膜を使って高分子を補足する方法が開示されている。

【0006】

同様に、電気泳動と同時に目的とする生体物質を回収する方法として、例えば特許文献4には、回収膜が設置された回収チャンバを使って高分子を補足する方法が開示されている。

【0007】

同様に、電気泳動と同時に目的とする生体物質を回収する方法として、例えば特許文献5には回収膜が設置された回収チャンバを電気泳動ゲルの目的バンド付近に差し込んで高分子を補足する方法が開示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【文献】特開2004-290109号公報

【文献】特表2010-502962号公報

【文献】米国特許第9719961号明細書

【文献】米国特許第6264814号明細書

【文献】特開平8-327595号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

しかしながら、従来の構成では目的生体物質の回収率を向上させること、および安定して電気泳動を実施することが困難であるという課題があった。

【0010】

たとえば特許文献1及び2の構成は、ゲルの途中に孔が空いた構成のため、回収チャンバに到達した生体物質は回収チャンバ以降にも電気泳動を続けるため、高効率に目的生体物質を回収することは困難である。

【0011】

なお、特許文献3の構成では、電気的および物理的に分離された2個の回収用チャンバが必要で、その分必要な面積および体積が大きくなるという課題がある。

【0012】

10

20

30

40

50

なお、特許文献 4 及び 5 の構成では、電気泳動の途中で回収チャンバを差し込む作業が必要という課題がある。

【 0 0 1 3 】

また、特許文献 4 の実施例には回収チャンバを電気泳動流路に差し込んだまま使用する方法が開示されているが、その際に容器壁面に発生する電気二重層による電気浸透流の影響は対策がされておらず、泳動中に回収チャンバ内の緩衝液が枯渇する可能性がある。

【 0 0 1 4 】

そこで、本発明は、上記の欠陥の 1 つまたは複数を経減または未然に防ぐことで簡素な構成で目的生体物質を安定して分離回収することができる、電気泳動装置および電気泳動方法を提供することを目的とする。

【 0 0 1 5 】

また、そのような電気泳動装置および電気泳動方法において、電気浸透流による緩衝液の減少を補い安定して導通状態を維持できるもの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】

【 0 0 1 6 】

本発明に係る電気泳動装置の一例は、
生体物質を泳動分離するための分離媒体と、
緩衝液を収容する緩衝液槽と、
目的生体物質を回収するための回収チャンバと、
前記緩衝液槽と前記回収チャンバとを隔てる分離壁であって、前記分離壁は、緩衝液の水位に応じて前記緩衝液槽と前記回収チャンバとの間の緩衝液の流通を制御する、分離壁と、

前記分離媒体内を泳動する目的生体物質の位置を検出する位置検出部と、
前記目的生体物質の位置に応じて、前記緩衝液槽内の緩衝液の水位を制御する水位制御部と、
を備える。

【 0 0 1 7 】

本発明に係る電気泳動方法の一例は、
電気泳動装置を用いた電気泳動方法であって、
前記電気泳動装置は、
生体物質を泳動分離するための分離媒体と、
緩衝液を収容する緩衝液槽と、
目的生体物質を回収するための回収チャンバと、
前記緩衝液槽と前記回収チャンバとを隔てる分離壁であって、前記分離壁は、緩衝液の水位に応じて前記緩衝液槽と前記回収チャンバとの間の緩衝液の流通を制御する、分離壁と、

前記分離媒体内を泳動する目的生体物質の位置を検出する位置検出部と、
水位制御部と、
を備え、
前記電気泳動方法は、前記水位制御部が、前記目的生体物質の位置に応じて、前記緩衝液槽内の緩衝液の水位を制御することを備える。

【発明の効果】

【 0 0 1 8 】

本発明に係る電気泳動装置および電気泳動方法によれば、簡素な構成で目的生体物質を安定して分離回収することができる。

【 0 0 1 9 】

また、簡素な構成で電気浸透流による電気泳動分離中の緩衝液の減少を補い、安定して導通状態を維持することができる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 0 】

10

20

30

40

50

【図 1】本発明の第 1 の実施形態に係る電気泳動装置の垂直断面図。

【図 2】図 1 の回収膜の性質の例を説明する模式図。

【図 3】分離壁の位置関係の例を説明する模式図。

【図 4】分離壁の位置関係の別の例を説明する模式図。

【図 5】図 1 の電気泳動装置を用いた回収方法を説明するワークフロー図。

【図 6】注排水部の具体的な構成例を示す模式図。

【発明を実施するための形態】

【0021】

本実施の形態を説明するための全図において、同一機能を有するものには同一の符号を付すようにし、その繰り返しの説明は省略する場合がある。また、本発明は、以下に示す実施の形態の記載内容に限定して解釈されるものではない。本発明は添付の特許請求の範囲によって定義されるが、その思想ないし趣旨から逸脱しない範囲で、その具体的構成を変更し得ることは当業者であれば容易に理解される。

10

【0022】

図面等において示す各構成の位置、大きさ、形状、範囲などは、発明の理解を容易にするため、実際の位置、大きさ、形状、範囲などを表していない場合がある。このため、本発明は、必ずしも、図面等を開示された位置、大きさ、形状、範囲などに限定されない。本明細書において単数形で表される構成要素は、特段文脈で明らかに示されない限り、複数形を含むものとする。

【0023】

[第 1 の実施形態]

第 1 の実施形態に係る電気泳動装置および電気泳動方法について、図 1 ~ 図 5 を用いて説明する。

20

図 1 は、第 1 の実施形態に係る電気泳動装置の構成である。図 1 の例では分離媒体はゲル 2 であり、ゲル 2 を覆う支持体 1 が設けられる。支持体 1 は電気抵抗性（たとえば絶縁性。以下同じ）である。

【0024】

電気泳動装置は、電圧を印加するための正極 6 および負極 7 を備える。正極 6 および負極 7 には電源 1 2 が接続され、正極 6 および負極 7 の間に電圧を印加できるように構成される。図示しないが、電源 1 2 の動作を制御する電圧制御装置が電源 1 2 に接続されてもよい。

30

【0025】

なお、以下において、回収の対象となる生体物質（目的生体物質）が核酸である場合を例に説明する。核酸は、マイナスに帯電しているため、電気泳動の向きは電場の向きとは逆になり、負極 7 側から正極 6 側に向かって電気泳動する。なお、プラスに帯電している生体物質を回収する場合は、電気泳動装置において正極 6 及び負極 7 の配置を逆にする。

【0026】

ゲル 2 は、生体物質を泳動分離するための分離媒体の例であり、たとえば目的生体物質と不要物とを分離するために用いられる。ゲル 2 として、例えばアガロースゲル又はポリアクリルアミドゲルなど公知のものを用いることができる。ゲル 2 の厚みに特に限定はないが、電気泳動により得られる生体物質のバンドがシャープで視認しやすいという観点から、2 ~ 18 mm であることが好ましい。なおゲル 2 の厚みは一定でなくてもよい。

40

【0027】

ゲル 2 に関連して、注入チャンバ 3 が設けられる。注入チャンバ 3 は、目的生体物質を含む試料を注入するための構造であり、様々な分子量を有する生体物質の混合物を注入することができる。注入チャンバ 3 は、本実施形態では、ゲル 2 の一端またはその近傍において、上面に向かって開口する凹部として形成される。注入チャンバ 3 を設けることにより、注入操作が容易に行える。

【0028】

生体物質は、緩衝液 5 より比重の大きい液体と混合した注入液として、注入チャンバ 3

50

に注入される。生体物質が混合される溶媒として、例えば、グリセロール水溶液や砂糖水等が挙げられる。溶媒がグリセロール水溶液である場合には、グリセロール濃度を例えば6%とすることができる。注入液の粘度は、例えば1 m P a · s とすることができる。

【0029】

回収チャンバ4は、分離された目的生体物質（たとえば目的の分子量を有する生体物質）を回収するための構造である。回収チャンバ4は、本実施形態では、ゲル2の一端（ただし注入チャンバ3とは反対側の端）またはその近傍において、上面に向かって開口する凹部として形成される。回収チャンバ4を設けることにより、回収操作が容易に行える。

【0030】

注入チャンバ3及び回収チャンバ4の間隔は任意に設定することができるが、回収チャンバ4は、電気泳動中または電気泳動後に目的の分子量の生体物質がバンドとして現れる位置近傍に設けられることが好ましい。この位置は、分離媒体の組成（たとえばゲル濃度）、目的生体物質の分子量、不要物（たとえば目的生体物質とは区別して廃棄したい物質）の分子量、泳動時間、等に応じて適宜設計することができる。

【0031】

さらに、本実施形態では、回収チャンバ4の側面の一部（一面）がゲル2の端面によって構成され、他の部分がゲル2以外の構造によって構成される。具体的には、側面の残部が支持体1によって構成されている。しかしながら、回収チャンバ4の具体的構成はこれに限られず、たとえば回収チャンバ4の側面全体をすべてゲル2によって構成することも可能である。

【0032】

注入チャンバ3及び回収チャンバ4を形成する方法として、例えば、ゲル2を固める前にコームを差し込む方法、固まったゲル2を切除して注入チャンバ3及び回収チャンバ4を形成する方法、固まったゲル2に熱をかけて溶かすことにより注入チャンバ3及び回収チャンバ4を形成する方法、などが挙げられるが、特に限定はない。

【0033】

支持体1は、注入チャンバ3の開口を形成する上部開口部9と、回収チャンバ4の開口を形成する上部開口部10とを有する。支持体1は、電気抵抗性の容器（チャンバ）として構成することができ、たとえばゲル2、注入チャンバ3、および回収チャンバ4を覆う形状とすることができる。このような支持体1を設けることにより、分離媒体を物理的に支持しつつ、電流の経路を適切に形成することができる。

【0034】

本実施形態において、注入チャンバ3及び回収チャンバ4は略直方体であるが、その構造、形状、大きさ等は図示のものに限定されない。注入チャンバ3及び回収チャンバ4の構造、形状、大きさ等は、任意に設定することができる。注入チャンバ3及び回収チャンバ4の幅方向寸法（すなわち電場の向きと直交する水平方向の寸法。図2には表れない）は等しくしてもよく、異なってもよい。また、試料の注入位置の構造によっては、注入チャンバ3を設けないことも可能である。

【0035】

回収チャンバ4は、溶媒を収容できるように構成される。溶媒は、目的生体物質を懸濁可能なものとする。回収チャンバ4内に目的生体物質が存在している場合には、回収チャンバ4内の溶液を回収することにより、溶媒とともに目的生体物質を回収することができる。

【0036】

分離媒体の正極側端および負極側端、またはそれらの近傍において、緩衝液5を収容する緩衝液槽8が設けられる。負極側の緩衝液槽8は、負極7について設けられる。負極7は、緩衝液槽8において緩衝液5に浸される。正極側の緩衝液槽8は、正極6について設けられる。正極6は、緩衝液槽8において緩衝液5に浸される。図1には正極6及び負極7の具体的構造をとくに図示しないが、当業者は適宜、電気泳動装置内に電場を発生させるよう正極6及び負極7を配置することができる。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 7 】

回収チャンバ 4 は、正極側の緩衝液槽 8 に隣接して設けられる。また、正極側の緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との間には分離壁 1 7 が配置される。分離壁 1 7 は、緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 とを隔てる。図 1 の例では、電気抵抗性の分離壁 1 7 によって、緩衝液槽 8 のうち、分離壁 1 7 の上端から下端までの高さ位置の部分と、回収チャンバ 4 とが分離されている。

【 0 0 3 8 】

分離壁 1 7 は、緩衝液 5 の水位に応じて緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との間の緩衝液 5 の流通を制御するように配置される。

【 0 0 3 9 】

図 3 は、回収チャンバ 4 と緩衝液槽 8 と分離壁 1 7 との位置関係の一例を説明する模式図である。図 3 の例では、分離壁 1 7 の上端はゲル 2 の上端と同じ高さ位置に設けられている。また、分離壁 1 7 の上端は、支持体 1 のうち回収チャンバ 4 を構成する部分の上端 1 a および緩衝液槽 8 の上端 8 b よりも低い位置に配置される。この配置により、緩衝液 5 の水位は、分離壁 1 7 の上端よりも高い位置（たとえば液面 1 8 ）に達することが可能となる。

【 0 0 4 0 】

緩衝液 5 の水位が液面 1 8 であるとき、緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との間を緩衝液 5 が自由に入出入りすることが可能である。また、緩衝液 5 の水位が液面 1 9 であるとき、緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との間の緩衝液 5 の出入りは妨げられる。

【 0 0 4 1 】

なお当然ながら、緩衝液槽 8 および回収チャンバ 4 のうち一方の水位が液面 1 9 の位置にあっても、他方の水位が分離壁 1 7 の上端に達していれば、水位が高い側から低い側への分離壁 1 7 を越えての移動は可能である。

【 0 0 4 2 】

以上のように、緩衝液 5 の水位が分離壁 1 7 の上端より高い場合には、緩衝液 5 は分離壁 1 7 によって妨げられることなく、緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との間を自由に移動することができる。なおこの場合には、緩衝液槽 8 の水位と回収チャンバ 4 の水位とは等しくなる。

【 0 0 4 3 】

一方で、回収チャンバ 4 の水位が分離壁 1 7 の上端より低い場合には、緩衝液 5 が回収チャンバ 4 から緩衝液槽 8 へと移動することが禁止される。また、緩衝液槽 8 の水位が分離壁 1 7 の上端より低い場合には、緩衝液 5 が緩衝液槽 8 から回収チャンバ 4 へと移動することが禁止される。このようにして、緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との間の緩衝液 5 の流通が制御される。

【 0 0 4 4 】

なお、分離壁 1 7 の上端は、図 1 の例ではゲル 2 のうち回収チャンバ 4 に面する部分の上端と同じ高さ位置に設けられている。分離壁 1 7 の上端を、このような高さか、またはこれより高い位置に設けることにより、ゲル 2 のうち回収チャンバ 4 に面する部分の全体を緩衝液に浸しつつ、緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との間の液体（緩衝液 5 または他の溶媒）の行き来を禁止することが可能となる。

【 0 0 4 5 】

図 4 は、回収チャンバ 4 と緩衝液槽 8 と分離壁 1 7 との位置関係の別の例を説明する模式図である。この例では、鉛直方向から見た場合に、緩衝液槽 8 の少なくとも一部が回収チャンバ 4 の少なくとも一部と重複するように設けることも可能である。

【 0 0 4 6 】

図 4 の例では、緩衝液槽 8 の一部は回収チャンバ 4 の側方に設けられている。また、緩衝液槽 8 は、上に向かって開口する開口部 8 a を持つ。開口部 8 a を設けることにより、緩衝液槽 8 への緩衝液 5 の供給作業が容易に行える。

【 0 0 4 7 】

10

20

30

40

50

回収チャンバ 4 の底面には回収膜 1 1 が配置され、回収チャンバ 4 は回収膜 1 1 を介して緩衝液槽 8 と連通する。すなわち、回収膜 1 1 の片面は回収チャンバ 4 内の溶媒または溶液と接触し、回収膜 1 1 のもう片面は緩衝液槽 8 内の緩衝液 5 と接触する。

【 0 0 4 8 】

図 2 は、回収膜 1 1 の性質を説明する模式図である。回収膜 1 1 の性質は任意であるが、目的生体物質のみを効率的に回収する観点からは、目的生体物質が矢印 A に示すように回収チャンバ 4 に留まり、それ以外のイオンが矢印 B に示すように緩衝液槽 8 へと透過するようにすると好適である。

【 0 0 4 9 】

一例として、回収膜 1 1 が目的生体物質の透過を阻害するようにすると好適であり、実質的に透過しないようにするとさらに好適である。別の例として、回収膜 1 1 が目的生体物質以外のイオンを透過するようにすると好適であり、実質的に透過を阻害しないようにするとさらに好適である。また別の例として、回収膜 1 1 を選択透過膜とし、目的生体物質に対する回収膜 1 1 の透過率が、少なくとも 1 種類の別のイオン（すなわち目的生体物質以外のイオン）に対する回収膜 1 1 の透過率よりも低くなるように構成すると好適である。上記各例の性質を組み合わせてもよい。

10

【 0 0 5 0 】

また、回収膜 1 1 は、緩衝液 5 の透過を阻害するよう構成することができる。分離壁 1 7 および回収膜 1 1 によって緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 とが分離されることにより、回収チャンバ 4 の構成を簡素にすることができ、たとえば正極 6 を回収チャンバ 4 の外部に設置することができる。

20

【 0 0 5 1 】

なお、分離壁 1 7 はたとえば樹脂から製造することができるが、回収膜 1 1 と同じ素材で製造される構成も除外しない（そのような構成では回収膜 1 1 が分離壁 1 7 としても機能するということができる）。

【 0 0 5 2 】

位置検出部 1 3（図 1）は、ゲル 2 内を泳動する目的生体物質の位置を検出するための構造である。位置検出の方法は任意に選択できる。例えばカメラやフォトダイオードなどを用いることができる。位置検出部 1 3 の配置は図 1 ではゲル 2 の上方としているが、下方に配置する、支持体 1 に埋め込むなどが考えられ、特に限定はない。

30

【 0 0 5 3 】

液面検出部 1 4 は、回収チャンバ 4 内の緩衝液 5 の水位すなわち液面位置を検出するための構造である。液面検出の方法は任意に選択できる。例えば超音波式、電波式、レーザー式などの非接触液面センサーや電極式の液面センサー、カメラなどを用いることができる。液面検出部 1 4 の配置は図 1 では回収チャンバ 4 の上方としているが、下方に配置する、回収チャンバ 4 に差し込むなどが考えられ、特に限定はない。

【 0 0 5 4 】

水位制御部 1 5 は、事前に定めた判断規則に従って、位置検出部 1 3 の検出値（たとえば目的生体物質の位置）に基づき、さらに場合によっては液面検出部 1 4 の検出値（たとえば液面位置）に基づき、水位の変更量を決定し、注排水を制御するための構造である。注排水を実施すると判断した場合には注排水部 1 6 に伝え、注排水操作を実行させる。

40

【 0 0 5 5 】

注排水部 1 6 は水位制御部 1 5 の制御に応じて注排水を行うための構造である。注排水部 1 6 は、緩衝液槽 8 に対して注排水を行うように構成される。注排水部 1 6 を備えることにより、水位の制御を能動的に行うことができる。注排水部 1 6 の具体的な構成例は、図 6 に関して後述する。

【 0 0 5 6 】

次に、図 5 を参照して、図 1 の電気泳動装置による分離回収ワークフローを説明する。このワークフローは電気泳動方法に係るものであり、とくに、上述の電気泳動装置を用いた電気泳動方法を表す。図 5 においてハッチングを付したステップ（後述のステップ 2 2

50

および 25) は、変形例において省略可能である。

【0057】

本実施形態に係る電気泳動方法は、ステップ 20 ~ 29 の各工程を有する。

【0058】

ステップ 20 は、電源 12 が注入チャンバ 3 及び回収チャンバ 4 を通る電場を印加して電気泳動を行う工程である。ステップ 20 には電気泳動の最初の開始タイミングのみを示すが、電気泳動の停止または終了のタイミングは当業者が適宜設計することができる。たとえば、後述のステップ 24 の直前に停止してもよく、ステップ 25 の直後に再開してもよく、ステップ 26 の直前に再停止してもよい。

【0059】

ステップ 21 は、注排水を実行するタイミングを決定するために、ゲル内を泳動する目的生体物質の位置を検出する工程である。例えば泳動中継続的または断続的に目的生体物質位置を検出することができる。また、特定の位置を目的生体物質が通過したかどうかを検出してもよい。目的生体物質の位置を検出することにより、たとえば目的生体物質が回収チャンバ 4 付近（たとえば回収チャンバ 4 からの距離が所定値以内となる領域）に到達したか否かを判定することができる。

【0060】

ステップ 22 は、液面検出部 14 が回収チャンバ 4 の液面位置を検出する工程である。なお、変形例として、液面検出部 14 は、回収チャンバ 4 の液面位置に代えて、またはこれに加えて、緩衝液槽 8 の液面位置を検出してもよい。

【0061】

ステップ 23 は、後述のステップ 29 とともに、水位制御部 15 が、目的生体物質の位置に応じて、正極側の緩衝液槽 8 内の緩衝液 5 の水位を制御する工程である。水位制御部 15 は、さらに緩衝液の液面位置に応じて、緩衝液槽 8 内の緩衝液の水位の変更量を決定してもよい。これによって緩衝液槽 8 内の水位が制御される。なお、ここで緩衝液 5 の液面位置に応じた制御を行わない場合には、ステップ 22 は省略可能である。

【0062】

ステップ 23 において、目的生体物質が回収チャンバ 4 付近に到達していない場合（または、目的生体物質が回収チャンバ 4 付近に到達しておらず、かつ回収チャンバ 4 内の液面が分離壁 17 の上端よりも低くなった場合）には、水位制御部 15 はステップ 29 を実行すると決定する。

【0063】

ステップ 29 は、水位制御部 15 が緩衝液槽 8 に緩衝液を注入する工程である。水位制御部 15 は、緩衝液槽 8 または回収チャンバ 4 の水位が分離壁 17 の上端を超える所定高さに達するまで、緩衝液を継続的に注入してもよい。

【0064】

電気泳動の進行に伴い、電気浸透流によって回収チャンバ 4 内の緩衝液が減少するが、ステップ 29 の実行により、回収チャンバ 4 内に十分な緩衝液が供給されるので、安定した導通状態を維持することができる。

【0065】

電気浸透流による回収チャンバ 4 内の緩衝液の減少量が予測できる場合には、これに応じて緩衝液の供給量を決定することができる。また、液面検出部 14 が設けられる場合には、水位制御部 15 は、液面位置に応じて水位の変更量を決定することができるので、より適切に供給量を決定することができる。

【0066】

ステップ 29 の実行後、処理はステップ 21 に戻る。

【0067】

ステップ 23 において、目的生体物質が回収チャンバ 4 付近に到達した場合には、水位制御部 15 はステップ 24 を実行すると決定する。

【0068】

10

20

30

40

50

ステップ 2 4 は、目的生体物質が回収チャンバ 4 に到達する前に、水位制御部 1 5 が緩衝液槽 8 内の緩衝液 5 の水位を下げ、これによって緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との間の緩衝液 5 の行き来を禁止する工程を含む。

【 0 0 6 9 】

緩衝液の水位は、たとえば緩衝液槽 8 から緩衝液を排出することによって下げることができる。排出される緩衝液の量は、緩衝液槽 8 内の液面が分離壁 1 7 の上端未満となり、これによって緩衝液槽 8 と回収チャンバ 4 との緩衝液の行き来が禁止されるような量である。このような量の具体的な値は、事前に設計されてもよいし、水位制御部 1 5 が回収チャンバ 4 内の緩衝液の液面位置に応じて自動的に計算してもよい。

【 0 0 7 0 】

ステップ 2 5 は、回収チャンバ 4 内の緩衝液を除去し、その後、目的生体物質を回収するための溶媒を回収チャンバ 4 に注入する工程である。この工程は、たとえば手作業で行うことができる。このように、回収チャンバ 4 内の緩衝液を除去することにより、目的生体物質より早く回収チャンバ 4 に到達していた不要物（たとえば目的外の生体物質）を除去することができるので、回収される溶液中における目的生体物質の濃度を向上させることができる。

【 0 0 7 1 】

場合によっては、緩衝液を除去した後、溶媒を注入する前に、洗浄液を用いて回収チャンバ 4 を洗浄する工程と、回収チャンバ 4 から洗浄液を除去する工程とを含んでもよい。洗浄に係る工程は人間が行ってもよいし、電気泳動装置が自動的に行うよう構成されてもよい。洗浄を行うことにより、回収される溶液中における目的生体物質の濃度をさらに向上させることができる。

【 0 0 7 2 】

なお、条件（たとえば目的生体物質の種類または後続処理の内容等）によっては、ステップ 2 5 は省略可能である。

【 0 0 7 3 】

ステップ 2 6 は、ユーザーが回収チャンバ 4 に到達した目的生体物質を回収チャンバ 4 から回収する工程（回収工程）である。たとえば、ユーザーは、回収チャンバ 4 内の試料溶液を取得することによって目的生体物質を回収する。

【 0 0 7 4 】

ステップ 2 7 は、他に目的生体物質があるかを決定する工程である。ステップ 2 7 にて他に目的生体物質がある場合には、ステップ 2 9 が実行され、その後ステップ 2 1 からの工程が繰り返される。このような繰り返しにより、複数種類の目的生体物質を、分子量が小さい順に分画して回収することができる。ステップ 2 7 において他に目的生体物質がない場合には、ステップ 2 8 において図 5 の処理が終了する。

【 0 0 7 5 】

図 6 に、注排水部 1 6 の具体的な構成例を示す。注排水部 1 6 は、例えば調整弁 1 6 a、分注機 1 6 b、重り 1 6 c、ポンプ（図示せず）、等のいずれかまたは複数を備える。

【 0 0 7 6 】

調整弁 1 6 a を用いる場合には、調整弁 1 6 a を分離壁 1 7 の上端より低い位置に設けることができる。このような構成によれば、緩衝液槽 8 の水位が分離壁 1 7 の上端より高い場合に、調整弁 1 6 a を開いて排水することにより、緩衝液槽 8 の水位を分離壁 1 7 の上端より低い位置にまで低下させることができる。調整弁 1 6 a を用いることにより、緩衝液槽 8 の内部の構造を簡素にすることができる。

【 0 0 7 7 】

また、分注機 1 6 b を用いる場合には、分注機 1 6 b のノズルを緩衝液槽 8 内に配置し、緩衝液 5 の吸入または分注を行うことにより、緩衝液槽 8 の水位を上下させることができる。分注機 1 6 b を用いることにより、液量の制御をより精密に行うことができる。

【 0 0 7 8 】

重り 1 6 c は、緩衝液槽 8 内に配置される空間占有部材の例である。重り 1 6 c の重さ

10

20

30

40

50

および比重に限定はない。重り 16c の材質および形状は適宜設計可能である。水位制御部 15 は、重り 16c を上下することによって水位を制御することができる。すなわち、重り 16c を下降させ、液面より下において重り 16c が占有する空間を増加させることにより、緩衝液槽 8 内の水位が上昇する。逆に、重り 16c を上昇させ、液面より下において重り 16c が占有する空間を減少させることにより、緩衝液槽 8 内の水位が低下する。重り 16c を用いることにより、電気泳動時の緩衝液槽 8 に対する緩衝液の供給または排出を不要とし、あるいは、供給量および排出量を抑制することができる。

【0079】

なお、注排水部 16 を省略することも可能である。そのような場合には、たとえば水位制御部 15 の制御に応じてゲル 2 を上下させることにより、液面に対するゲル 2 の相対的位置を変更できるような構成としてもよい。これによって、ゲル 2 に対する液面位置を相対的に変更することができる。

10

【0080】

このように、第 1 の実施形態に係る電気泳動装置および電気泳動方法によれば、電気浸透流による電気泳動中の緩衝液の減少を補い、安定した導通状態を維持することができる。

【0081】

また、そのような効果を簡素な構成で得ることができる。たとえば、従来の構成には分離媒体の流路を分岐させたものがあるが（特許文献 3 等）、そのような構成と比較すると、本発明の第 1 の実施形態に係る電気泳動装置および関連する生体物質回収方法では分離媒体の流路を一続きにできるため、一サンプルの処理に必要な体積を小さくすることができ、構成が簡素となる。

20

【0082】

[実施例]

以下、第 1 の実施形態の実施例について説明する。

【0083】

（電気泳動ゲルの作製）

注入チャンバ 3 及び回収チャンバ 4 を有するアガロースゲルを作製した。アガロースゲルは、3% SeaKem（登録商標）GTG-TAE（Lonza 社製）をプラスチック容器の支持体に流し入れて成型した。注入チャンバ 3 は、開口寸法 1mm × 5mm、深さ 3mm になるように、回収チャンバ 4 は、開口寸法 2mm × 5mm、深さ 4mm になるように、アガロースゲルが固まる前にコームを差し込むことで、それぞれ形成した。注入チャンバ 3 及び回収チャンバ 4 の距離は 20mm とした。

30

【0084】

（電気泳動）

1 × TAE 緩衝液（Tris Acetate EDTA Buffer）を両極の緩衝液槽 8 に注いだ。注入チャンバ 3 及び回収チャンバ 4 の内部も TAE 緩衝液で満たした。その後、種々の長さの核酸を含む試料溶液 5 μL に、6 × DNA Loading Dye（ThermoFisher Scientific 社製）1 μL を混合して注入液とし、注入チャンバ 3 に注入した。

【0085】

注入液の注入後、135V の電圧を印加し電気泳動を行った。

40

【0086】

次に、生体物質位置が検出され、目的長さの核酸が回収チャンバ 4 の直前にあるときに今度は液面位置が検出された。液面位置に応じて緩衝液槽の緩衝液を除去する量が決定された。

【0087】

決定した除去量に従い緩衝液槽の緩衝液が分注機により除去され、緩衝液槽と回収チャンバ間の緩衝液の行き来が遮断された。

【0088】

続いて回収チャンバ 4 内の緩衝液が除去され、蒸留水 40 μL が注入され、20 回ピペ

50

ッティングされた後除去され、回収チャンバが洗浄された。次に、溶媒として蒸留水 40 μ L が注入された。

【0089】

目的長さの核酸が回収チャンバに入った後に電圧が停止され、核酸溶液が取得された。

【0090】

取得された溶液は、核酸定量装置 Tape Station 4200 (Agilent Technologies, Ltd.) を用いて定量した。定量結果から、目的核酸をコンタミなく 80% 回収できていることを確認した。

【符号の説明】

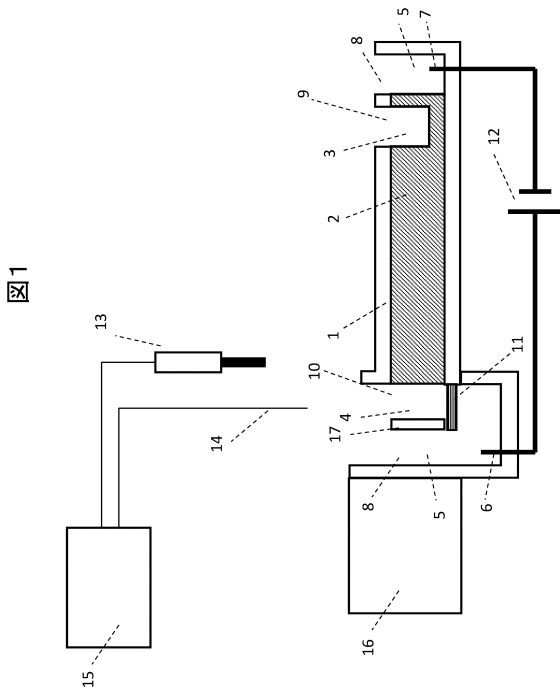
【0091】

- | | |
|--------------------------|----|
| 1 ... 支持体 | |
| 2 ... ゲル (分離媒体) | |
| 3 ... 注入チャンバ | |
| 4 ... 回収チャンバ | |
| 5 ... 緩衝液 | |
| 6 ... 正極 | |
| 7 ... 負極 | |
| 8 ... 緩衝液槽 (8 a ... 開口部) | |
| 9, 10 ... 上部開口部 | |
| 11 ... 回収膜 | 20 |
| 12 ... 電源 | |
| 13 ... 位置検出部 | |
| 14 ... 液面検出部 | |
| 15 ... 水位制御部 | |
| 16 ... 注排水部 | |
| 16 a ... 調整弁 | |
| 16 b ... 分注機 | |
| 16 c ... 重り (空間占有部材) | |
| 17 ... 分離壁 | |
| 18 ... 液面 | 30 |
| 19 ... 液面 | |

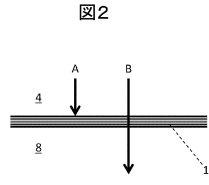
40

50

【図面】
【図 1】



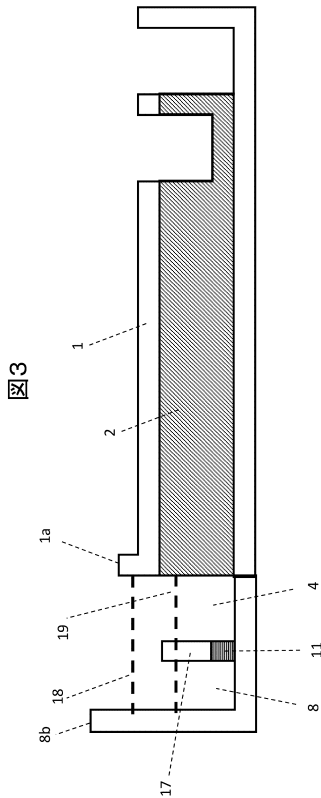
【図 2】



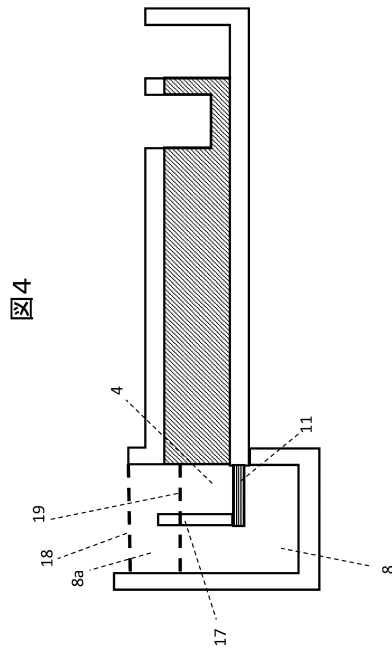
10

20

【図 3】



【図 4】

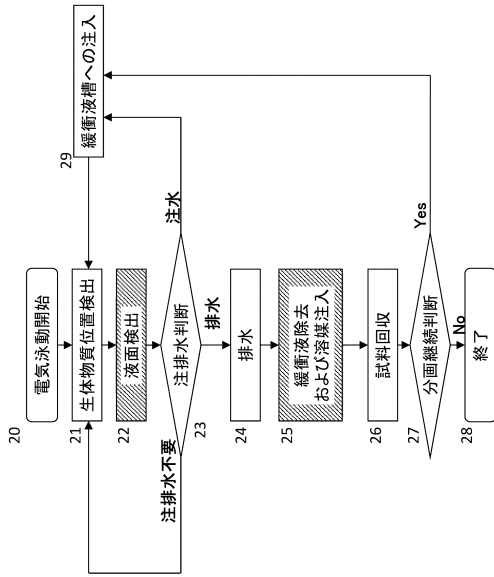


30

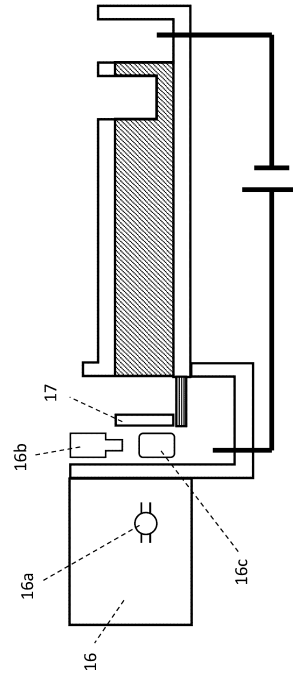
40

50

【 図 5 】



【 図 6 】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2021-001773(JP,A)
特表2018-523094(JP,A)
米国特許第5449446(US,A)
特開2006-177732(JP,A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
G01N 27/447
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
Scopus