

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 3 月 27 日 (27.03.2003)

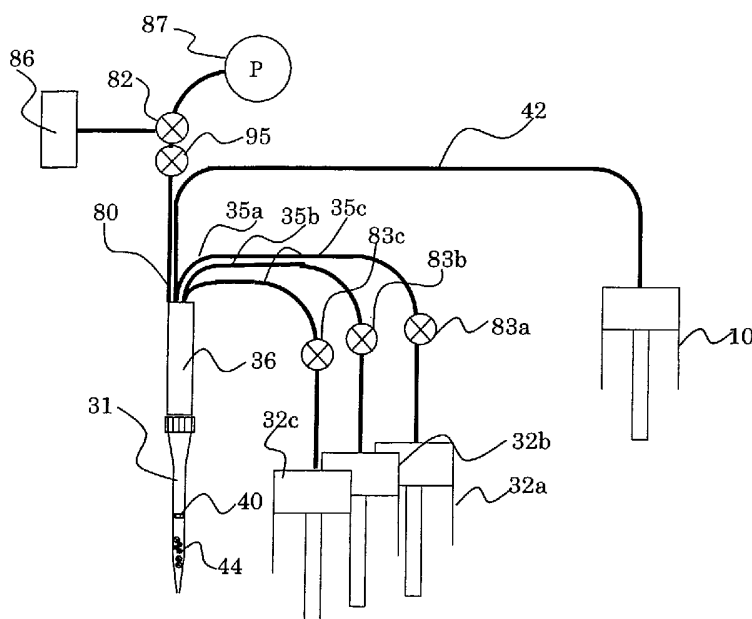
PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/025170 A1

- (51) 国際特許分類: **C12N 15/10, C07H**
21/02, 21/04, C12M 1/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/08062
- (22) 国際出願日: 2001 年 9 月 17 日 (17.09.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社 日立製作所 (HITACHI, LTD.) [JP/JP]; 〒101-8010 東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 庄司義之 (SHOJI, Yoshiyuki) [JP/JP]. 横林敏昭 (YOKOBAYASHI, Toshiaki) [JP/JP]; 〒312-8504 茨城県ひたちなか市市毛882
- 番地 株式会社 日立製作所 計測器グループ内 Ibaraki (JP).
- (74) 代理人: 平木祐輔 (HIRAKI, Yusuke); 〒105-0001 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3F Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): CN, JP, KR, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: SAMPLE PROCESSING DEVICE AND SAMPLE PROCESSING METHOD

(54) 発明の名称: 試料処理装置及び試料処理方法



(57) Abstract: Such solution as a cleaning liquid can be passed quickly and reliably through a separation column of nozzle tip or the like having a solid phase to improve the throughput. A sample processing device comprises a separation column having a carrier capable of arresting an object substance, a liquid feed flow channel capable of feeding a liquid from one end side to the other end side of the separation column, and a communication flow channel disposed independently of the liquid feed flow channel and capable of allowing communication between the inside and outside of the separation column, wherein the communication between the inside and outside of the separation column provided by the communication flow channel is controlled.

[続葉有]



(57) 要約:

固相を有するノズルチップ等の分離カラムに対して洗浄液等の溶液を迅速且つ確実に通過させることができ、スループットの向上を達成できる。

試料処理装置は、対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムと、上記分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって液体を供給することができる液体供給流路と、上記液体供給流路と独立して配設され、上記分離カラムの内部と外部とを連通することができる連通用流路とを備え、上記連通用流路による上記分離カラムの内部と外部との連通が制御されている。

明 細 書

試料処理装置及び試料処理方法

5 技術分野

本発明は、核酸等の対象物質に対して洗浄液等の溶液を用いて洗浄等の処理を行う試料処理装置及び試料処理方法に関する。

背景技術

- 10 分子生物学の進歩によって、遺伝子に関する数々の技術が開発され、また、それらの技術により多くの疾患性の遺伝子が分離され、同定された。その結果、医療の分野でも、診断、或いは、検査法において分子生物学的な手法が取り入れられ、従来極めて困難であった診断が可能となり、検査日数の大幅短縮が達成されつつある。
- 15 このような進歩は、核酸増幅法、特に、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR法と称される、polymerase chain reaction）の実用化によるところが大きい。PCR法は、溶液中の核酸を配列特異的に増幅することが可能なため、例えば、血清中に極微量しか存在しないウイルスの存在を、そのウイルスに由来する核酸を増幅し検出することにより、間接的に証明できる。しかし、このPCR法を臨床の
- 20 場で日常検査に使用した際に、いくつかの問題点が存在する。その中でも特に、生体試料から核酸を抽出する前処理においては、前処理後のPCR法における精度を維持するため精製工程で精製度の高い核酸を抽出することが重要である。すなわち、前処理によって生体試料から核酸を抽出する際には、不純物を極力排除して純粋なかたちで核酸を分離するように精製工程を行う必要がある。以下に示すように、核酸の精製に関しては、いくつかの手法が提案されている。
- 25

特開平11-266864号公報には、シリカ含有の固相を内蔵した核酸捕捉用チップを用いて核酸抽出を自動化する方法が開示されている。この手法では、まず、ノズルチップを液体吸排用可動ノズルに装着し、上記固相に対する核酸の結合を促進する結合促進剤をボトルより吸引し、次いで核酸含有試料を検体容器

- から吸引し、それらの混合液を反応容器内に吐出する。次に、ノズルチップを廃棄し、液体吸排用可動ノズルに新たに核酸捕捉用チップを装着する。前記反応容器内から核酸捕捉用チップ内に混合液を吸入する。続いて、吸入した混合液中の核酸を核酸捕捉用チップ内の固相に結合させた後、上記核酸捕捉用チップ内の液体を排出する。続いて、洗浄用容器内の洗浄液を核酸捕捉用チップ内に吸入し、その後、排出することによって、核酸を結合した状態の上記固相及び上記核酸捕捉用チップ内を洗浄する。最後に、上記核酸捕捉用チップ内に溶離液を吸入し、上記固相から離脱された核酸を含む溶離液を精製品用容器に吐出する。これによって、核酸含有試料から核酸を精製することができる。
- 10 しかしながら、特開平 1 1 - 2 6 6 8 6 4 号公報に開示されている方法では、核酸を結合した状態の固相及び核酸捕捉用チップ内の洗浄を、洗浄用容器内の洗浄液を繰り返し当該チップ内へ吸引及び吐出することによって行っているが、吸引時は固相の抵抗により吐出時に比べ時間がかかるため、洗浄効率が著しく悪く、スループットが大幅に低下してしまう。さらに、核酸捕捉用チップ内の固相や内
- 15 壁に洗浄液が残った場合、溶離液濃度に影響を与え、核酸精製性能を低下させる原因となるといった問題が生じる。

さらにまた、複数種類の洗浄試薬を用いて洗浄する場合には、同一流路を用いて分注するため、洗浄試薬の切り替わる時点で切替前後の洗浄試薬の干渉が発生し、濃度の薄まりや分注精度低下が発生し、洗浄効率の低下を招くことにもなる。

- 20 そこで、本発明は、固相を有するノズルチップ等の分離カラムに対して洗浄液等の溶液を迅速且つ確実に通過させることができ、スループットの向上を達成できる試料処理装置及び試料処理方法を提供することを目的とする。

発明の開示

- 25 上述した目的を達成した本発明は以下を包含する。
- (1) 対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムと、
- 上記分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって液体を供給することができる液体供給流路と、
- 上記液体供給流路と独立して配設され、上記分離カラムの内部と外部とを連通

することができる連通用流路とを備え、

上記連通用流路による上記分離カラムの内部と外部との連通が制御されていることを特徴とする試料処理装置。

(2) 複数本の上記液体供給流路を備え、それぞれの上記液体供給流路に異なる液体を通過させることを特徴とする(1)記載の試料処理装置。

(3) 上記複数本の液体供給流路は、それぞれ異なる高さ位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする(2)記載の試料処理装置。

(4) 上記連通用流路は、上記液体供給流路を内部に囲う管状部材からなり、当該液体供給流路と管状部材の内壁との間に形成される空隙に気体を通過させることを特徴とする(1)記載の試料処理装置。

(5) 上記連通用流路の先端部は、上記液体供給流路の先端部と比較して高い位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする(4)記載の試料処理装置。

(6) 上記液体供給流路及び上記連通用流路と独立して配設され、上記分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって気体を供給することができる気体供給流路を更に備えることを特徴とする(1)記載の試料処理装置。

(7) 上記気体供給流路の先端部は、上記液体供給流路の先端部と比較して高い位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする(6)記載の試料処理装置。

(8) 上記連通用流路には、上記分離カラム内部に対して気体を供給することができる気体供給手段が配設されていることを特徴とする(1)記載の試料処理装置。

(9) 上記気体供給流路は、上記液体供給流路とともに上記管状部材の内部に配設されたことを特徴とする(6)記載の試料処理装置。

(10) 対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムと、

上記分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって液体を供給することができる液体供給流路と、

上記液体供給流路の起端部に配設され、上記液体供給流路を介して上記分離カラムに対して液体を供給する液体供給手段と、

上記液体供給流路と独立して配設され、上記分離カラムの内部と外部とを連通することができる連通用流路と、

上記連通用流路の中途部に配設され、上記分離カラムの内部と外部と間を開放及び/又は閉塞する連通制御手段と、

少なくとも、上記液体供給手段の動作及び上記連通制御手段の動作を制御する制御手段とを備え、

- 5 上記制御手段は、上記液体供給手段から上記液体供給流路を介して液体を上記分離カラムに供給する際に、上記連通制御手段を制御して上記連通用流路を開放できることを特徴とする試料処理装置。

- （１１）複数本の上記液体供給流路及びこれら液体供給流路の起端部にそれぞれ配設された複数の液体供給手段を備え、それぞれの上記液体供給流路に異なる液体を通過させることを特徴とする（１０）記載の試料処理装置。
- 10

（１２）上記複数本の液体供給流路は、それぞれ異なる高さ位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする（１１）記載の試料処理装置。

- （１３）上記連通用流路は、上記液体供給流路を内部に囲う管状部材からなり、当該液体供給流路と管状部材の内壁との間に形成される空隙に気体を通過させることを特徴とする（１０）記載の試料処理装置。
- 15

（１４）上記連通用流路の先端部は、上記液体供給流路の先端部と比較して高い位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする（１０）記載の試料処理装置。

- （１５）上記液体供給流路及び上記連通用流路と独立して配設され、上記分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって気体を供給することができる気体供給流路を更に備えることを特徴とする（１０）記載の試料処理装置。
- 20

（１６）上記気体供給流路の先端部は、上記液体供給流路の先端部と比較して高い位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする（１５）記載の試料処理装置。

（１７）上記気体供給流路は、上記液体供給流路とともに上記管状部材の内部に配設されたことを特徴とする（１５）記載の試料処理装置。

- （１８）対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムに対して、当該分離カラムの一方端部側から液体を供給する際に、当該液体を供給する側の空間部を外気圧と同等することを特徴とする試料処理方法。
- 25

（１９）分離カラムに対して液体を供給した後、供給された液体を、分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって吐出することを特徴とする（１８）記載

の試料処理方法。

(20) 複数種類の液体を異なる液体供給流路を用いて供給することを特徴とする(18)記載の試料処理方法。

5 (21) 先端部の高さ位置が異なる複数の液体供給流路を用いて、複数の液体を、先端部が低い位置の液体供給流路から先端部が高い位置の液体供給流路の順で供給することを特徴とする(18)記載の試料処理方法。

(22) 上記分離カラムの一方端部側から液体供給流路を用いて液体を供給し、その後、上記液体供給流路の先端部にエアブローを噴射することを特徴とする(18)記載の試料処理方法。

10 (23) 上記エアブローを、上記液体供給流路の先端部よりも高い位置から噴射することを特徴とする(22)記載の試料処理方法。

(24) 上記液体は洗浄液であって、分離カラム内部及び当該分離カラムに含まれる担体を洗浄することを特徴とする(18)記載の試料処理方法。

15 (25) 対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムに試料をアプライして、担体に対象物質を捕捉させる第1の工程と、

分離カラムの一方端部側の空間部を外圧と同等とした状態で、分離カラム内部に液体を供給する第2の工程と、

20 分離カラムの一方端部側の空間部を閉塞した状態で、分離カラム内部に供給された液体を当該分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって排出する第3の工程とを含む試料処理方法。

(26) 複数種類の液体に関して、上記第2の工程及び上記第3の工程を当該液体の数に相当する回数繰り返すことを特徴とする(25)記載の試料処理方法。

25 (27) 複数種類の液体に関して、上記第2の工程及び上記第3の工程を当該液体の数に相当する回数繰り返す際に、先端部の高さ位置が異なる複数の液体供給流路を、先端部が低い位置の液体供給流路から先端部が高い位置の液体供給流路の順で使用することを特徴とする(25)記載の試料処理方法。

(28) 上記第2の工程では、上記分離カラムの一方端部側から液体供給流路を用いて液体を供給し、その後、上記液体供給流路の先端部にエアブローを噴射することを特徴とする(25)記載の試料処理方法。

(29) 上記エアブローを、上記液体供給流路の先端部よりも高い位置から噴射することを特徴とする(28)記載の試料処理方法。

(30) 上記液体は洗浄液であって、分離カラム内部及び当該分離カラムに含まれる担体を洗浄することを特徴とする(25)記載の試料処理方法。

- 5 (31) 入出力装置と、該入出力装置から指令を受け、また制御結果を入出力装置に与える機構制御部と、制御された液量を供給するように、該制御機構部により制御される複数の液供給装置と、該液供給装置を駆動するモータと、該液供給装置を目的方向に移動させるための移動装置と、該移動装置を制御するモータと、該機構制御部により制御され、エアーフィルタとエア吐出用ポンプとの切り替
- 10 えを行う電磁弁と、該制御部により制御され、空気流路の切り替えを行う電磁弁とを備える核酸精製装置。

図面の簡単な説明

図1は、本発明の一例として示す核酸精製装置の斜視図である。

- 15 図2は、核酸精製装置における作業台の要部平面図である。

図3は、分注ノズルに分注用チップを取り付ける状態を示す概略構成図である。

図4は、分注ノズルにおける洗浄液流路、空気流路及び吸入吐出用流路を示す概略構成図である。

- 20 図5は、分注ノズル内部に臨む洗浄液流路、空気流路及び吸入吐出用流路の先端部を拡大して示す要部斜視図である。

図6は、核酸捕捉用チップの側面図である。

図7は、チップ外し器を用いて分注ノズルから分注チップを取り外す状態を示す概略構成図である。

図8は、核酸精製装置の電気系を示すブロック図である。

- 25 図9は、核酸精製装置を用いて核酸を精製する工程を示すフローチャートである。

図10は、核酸捕捉用チップの内部を洗浄する工程を時系列((a)～(c)の順)で示す要部側面図である。

図11は、分注ノズル内部に臨む洗浄液流路、空気流路及び吸入吐出用流路の

先端部に関する他の例を拡大して示す要部斜視図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明に係る試料処理装置及び試料処理方法をさらに具体的に説明する。

- 5 以下の説明においては、分離カラムとして核酸捕捉用チップを用いて対象物質としての核酸を捕捉し、洗浄液を用いて当該核酸捕捉用チップ内部を洗浄し、当該核酸捕捉用チップから核酸を抽出する核酸精製装置を例示する。但し、本発明は、これらの形態にその技術的範囲を限定するものではない。

核酸精製装置 100 は、図 1 に示すように、入力された操作条件及び検体情報
10 等を記憶するとともに核酸精製の各工程を制御するパーソナルコンピュータ（P
C）60 に接続されている。パーソナルコンピュータ 60 は、操作条件及び検体
情報等を入力するためのキーボード 61 と、入力情報や警告情報等の各種情報を
操作者に対して表示する CRT 62 と接続されている。

核酸精製装置 100 は、図 2 に示すように、図 2 中矢印 X で示す方向に移動可
15 能な 2 本のアーム 16, 33 と、サーマルサイクラー 93 等を配設した作業面 5
とを備える。

アーム 16 には、図 3 に示す分注ノズル 36 を保持するノズルホルダー 17 が
配設されている。ノズルホルダー 17 は、図 2 中矢印 X と直交する方向に、すな
わち、アーム 16 の長手方向に沿って移動可能に取り付けられている。また、ノ
20 ズルホルダー 17 は、それぞれ作業台 5 に対して分注ノズル 36 を接離自在に駆
動できるように駆動制御手段を有している。

分注ノズル 36 は、図 4 に示すように、洗浄液流路と空気流路と吸入吐出用流
路を独立してそれぞれ有している。

洗浄液流路は、分注ノズル 36 に装着した分離カラムに対して洗浄液を供給す
25 るための液体供給流路であって、分離カラムとして例えば、詳細を後述する核酸
捕捉用チップに対して洗浄液を供給することができる。洗浄液流路は、可撓性を
有する 3 本の配管 35a, 35b, 35c と、これら 3 本の配管 35a, 35b,
35c の一端部にそれぞれ接続された洗浄液供給用のシリンジポンプ 32a, 3
2b, 32c と、これら 3 本の配管 35a, 35b, 35c の中途部に配設され

て各配管の開閉を行う電磁弁 8 3 a, 8 3 b, 8 3 c とから構成されている。洗浄液供給用のシリンジポンプ 3 2 a, 3 2 b, 3 2 c の各シリンジ内部は、図示しないが、異なる洗浄液を収容した洗浄液供給源とそれぞれ接続されている。

5 空気流路は、分注ノズル 3 6 に装着した分離カラムの内部と当該分離カラムの外部とを連通することができる連通用流路であって、分離カラムとして例えば、詳細を後述する核酸捕捉用チップの内部を外部の圧力と同等にすることができる。空気流路は、可撓性を有する配管 8 0 と、配管 8 0 の一端部に配設されたエアフィルター 8 6 及びエア吐出用ポンプ 8 7 と、配管 8 0 に対してエア吐出用ポンプ 8 7 を接続するか又は外部を接続するか切り替える電磁弁 8 2 と、配管 8 0 の中
10 途部に配設された圧力調整弁 9 5 とから構成されている。電磁弁 8 2 は、予め設定した圧力を越えた場合、自動的に配管 8 0 を閉塞し、圧力を制御するようになっている。エアフィルター 8 6 は、電磁弁 8 2 の更に前段側に設置されており、外気から異物が配管 8 0 内に混入するのを防止している。

吸入吐出用流路は、洗浄液流路及び空気流路とは独立して配設された気体供給
15 用流路であって、分注ノズル 3 6 に装着した分離カラム、例えば、詳細を後述する核酸捕捉用チップに対して気体を供給することができる。吸入吐出用流路は、可撓性を有する配管 4 2 と、配管 4 2 の一端部に接続されたシリンジポンプ 1 0 とから構成されている。シリンジポンプ 1 0 のシリンジ内部は、図示しないが、純水を収容した純水供給源と接続されている。

20 また、分注ノズル 3 6 内部において、配管 3 5 a, 3 5 b, 3 5 c 及び配管 4 2 は、配管 8 0 の内部に収容されている。したがって、エア吐出用ポンプ 8 7 からのエアーは、分注ノズル 3 6 内部において、配管 3 5 a, 3 5 b, 3 5 c 及び配管 4 2 の外壁と配管 8 0 の内壁とから構成される間隙を通り、分注ノズル 3 6 の先端部から吐出される。さらに、分注ノズル 3 6 の先端側は、図 5 に示すよう
25 に、洗浄液流路及び吸入吐出用流路が空気流路に比較して突出している。すなわち、配管 3 5 a の先端部 8 8 a、配管 3 5 b の先端部 8 8 b、配管 3 5 c の先端部 8 8 c 及び配管 4 2 の先端部 8 8 d が、配管 8 0 の先端部 8 9 と比較して突出している。

また、アーム 3 3 には、試薬吐出ノズルやディスペンシングノズル等を保持す

るノズルホルダー 34 が配設されている。ノズルホルダー 34 は、図 2 中矢印 X と直交する方向に、すなわち、アーム 33 の長手方向に沿って移動可能に取り付けられている。また、ノズルホルダー 34 は、それぞれ作業台 5 に対して試薬吐出ノズルを接離自在に駆動できるように駆動制御手段を有している。図示しない
5 が、試薬吐出ノズル及びディスペンシングノズルは、それぞれ配管を介してシリ
ンジポンプと接続されており、所望の溶液を吸引及び吐出することができる。

核酸精製装置 100 において、作業面 5 には、図 2 に示すように、複数の検体
容器 13 を保持する検体ラック 12 と、複数の処理容器 24a, 24b をそれぞ
れ保持する容器ラック 23a, 23b と、複数の精製品用容器 26a, 26b,
10 26c を保持する容器保存ラック 25 と、複数の分注用チップ 15 を保持するチ
ップラック 14a, 14b と、複数の核酸捕捉用チップ 31 を保持するチップラ
ック 30 と、複数の試薬分注用チップ 94 を保持するチップラック 91 と、複数
の試薬ボトル 92 と、分注用チップ 15、核酸捕捉用チップ 31 及び試薬分注用
チップ 94 を取り外すことができるチップ外し器 27a, 27b と、不要な溶液
15 等を廃棄するための液受け部 28 と、分注用チップ 15 及び核酸捕捉用チップ 3
1 を洗浄する洗浄部 18 とを備えている。

検体ラック 12 は、限定されないが、例えば、8 行 6 列で 48 本の検体容器 1
3 を保持することができる。検体容器 13 には、核酸含有試料が収容されている。
核酸含有試料としては、全血、血清、喀痰、尿等の生体試料や培養細胞、培養細
20 菌等の生物学的な試料、あるいは、電気泳動後のゲルに保持された状態の核酸、
DNA 増幅酵素等の反応産物や粗精製状態の核酸を含む物質等を対象とすること
ができる。なお、ここでの核酸とは、2 本鎖、1 本鎖、あるいは部分的に 2 本鎖
もしくは 1 本鎖構造を有するデオキシリボ核酸 (DNA) 及びリボ核酸 (RNA)
A) を含む意味である。

25 容器ラック 23a, 23b は、保持している処理容器 24a, 24b を所望の
温度に調節するための温度調節機能を有している。この温度調節機能によって、
容器ラック 23a, 23b に保持された処理容器 24a, 24b 及び処理容器 2
4a, 24b に収容された溶液を所望の温度に維持することができる。

容器保存ラック 25 は、限定されないが、例えば、8 行 1 列の大型の精製品用

容器 2 6 a と、 8 行 1 2 列の中型の精製品用容器 2 6 b と、 2 枚の 9 6 穴の精製品用容器 2 6 c とを保持することができる。これら精製品用容器 2 6 a, 2 6 b, 2 6 c は、核酸含有試料から核酸成分を精製処理して得られた精製溶液を収容するものである。

- 5 チップラック 1 4 a, 1 4 b は、図 3 に示すように、複数の分注用チップ 1 5 を保持するための複数の開口部有し、分注用チップ 1 5 の先端部が作業面 5 に接触しない程度の高さを有する箱形を呈している。すなわち、複数の分注用チップ 1 5 は、チップラック 1 4 a, 1 4 b の開口部にそれぞれ挿入された状態で保持されている。一方、ノズルホルダー 1 7 は、分注用チップ 1 5 を装着するための
- 10 分注ノズル 3 6 と、分注ノズル 3 6 内の圧力を制御するシリンジポンプ 1 0 と、分注ノズル 3 6 及びシリンジポンプ 1 0 を連結する可撓性の管 4 2 とを備える。分注用チップ 1 5 は、分注ノズル 3 6 の先端部に圧入されることによって取り付けられる。

- チップラック 3 0 は、図 6 に示すような核酸捕捉用チップ 3 1 を、例えば、 8
- 15 行 1 2 列で保持することができる。核酸捕捉用チップ 3 1 は、頭部 5 4 から下方に位置する先端 4 8 に向けて徐々に内径が細くなるように形成されている。頭部 5 4 は、分注ノズル 3 6 の先端部に気密に嵌合するか、分注ノズル 3 6 の先端部に圧入可能な程度の内径を有している。核酸捕捉用チップ 3 1 は、例えば、透明又は半透明な合成樹脂から形成されている。

- 20 核酸捕捉用チップ 3 1 には、円板状の阻止部材 4 0 a, 4 0 b が配設されており、これら阻止部材 4 0 a, 4 0 b により挟み込まれる空間に固相 4 4 が収容されている。阻止部材 4 0 a, 4 0 b は、液体及び気体が容易に通過し得る多数の孔を有するが、その孔は固相 4 4 の流出を阻止できる大きさである。すなわち、収容されている固相 4 4 は、阻止部材 4 0 a, 4 0 b により挟み込まれる空間から外部に流出することが防止されている。阻止部材 4 0 a, 4 0 b の材質としては、例えば、核酸成分等の非特異吸着が少なく親水性を有するポリビニリデンフロライドを用いる。このポリビニリデンフロライド等の親水性を有する材質を用いた場合、タンパク質や核酸等の非特異吸着を少なくできるので、核酸の精製度や収率を高くすることができる。

核酸捕捉用チップ 3 1 は、内壁に突起状に形成されてなる複数の挿入用補助ガイド 3 7 を備えている。頭部 5 4 側の阻止部材 4 0 a は、これら挿入用補助ガイド 3 7 によって高さ方向が規制されて位置決めされることとなる。なお、先端部 4 8 側の阻止部材 4 0 b は、圧入されることによって位置決めされることとなる。

- 5 また、固相 4 4 としては、限定しないが、例えば、フリントガラス（和光純薬工業製）の粉末を使用することができる。フリントガラスは、核酸捕捉効果を有するシリカ含有量が高いため、高収率で核酸を精製することができる。また、固相 4 4 としては、その他にも、ガラス粒子、シリカ粒子、石英濾紙、石英ウール、若しくはそれら破砕物又はケイソウ土等、酸化ケイ素を含有する物質であれば使用
- 10 することができる

- 試薬ボトル 9 2 は、結合促進剤等の試薬溶液をそれぞれ収容している。結合促進剤としては、核酸の吸収ピークがある 2 6 0 n m の波長付近の吸収が少ない物質が好ましい。核酸の純度や量の検定には、分光光度計により 2 6 0 n m の吸収を測定することが多く、2 6 0 n m 付近に吸収波長を持つ物質を用いた場合、当
- 15 該検定の結果に影響を及ぼす虞があるためである。具体的には、結合促進剤としては塩酸グアニジン（G u H C l）を用いることが好ましい。塩酸グアニジンの使用時の最終濃度は、4 ~ 6 m o l / l であることが望ましい。

- チップ外し器 2 7 a, 2 7 b は、図 7 に示すように、作業面 5 から所定の高さ位置に、スリット 5 5 を有する板状部材から構成されている。スリット 5 5 は、
- 20 分注用チップ 1 5 の頭部 5 2 及び核酸捕捉用チップ 3 1 の頭部 5 4 の外径よりも小さく、且つ分注ノズル 3 6 の外径より大きな幅となるように形成されている。チップ外し器 2 7 a, 2 7 b を用いて、例えば分注用チップ 1 5 を分注ノズル 3 6 から取り外す際には、先ず、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動して、スリット 5 5 が位置する高さよりも頭部 5 2 を低くした状態で分注ノズル 3 6 を
- 25 スリット 5 5 内に浸入させる。次いで、ノズルホルダー 1 7 を上昇させることによって、頭部 5 2 が板状部材の下面に当接し、ノズルホルダー 1 7 の更なる上昇によりチップ 1 5 が分注ノズル 3 6 から抜け落ちる。

また、ノズルホルダー 3 4 に保持されたディスペンシングノズルは、図示しないが、ディスペンサ試薬を供給するシリンジポンプと接続されている。このシリ

ンジポンプは、例えば、ディスペンサ試薬を収容したボトルと接続されており、当該ボトルから吸入したディスペンサ試薬をディスペンシングノズルに対して供給することができる。ディスペンサ試薬としては、例えば、グアニジンチオシアネート等のカオトロピック剤が挙げられる。

- 5 さらに、ノズルホルダー 3 4 に保持された試薬吐出ノズルは、図示しないが、溶離液を供給するシリンジポンプと接続されている。このシリンジポンプは、溶離液を収容したボトルと接続されており、当該ボトルから吸入した溶離液を試薬吐出ノズルに対して供給することができる。

- 10 溶離液としては、限定されないが、例えば、低塩濃度の水溶液（トリス緩衝液（10mmol/l トリスヒドロキシメチルアミノメタンと1mmol/l エチレンジアミン四酢酸の混合液）等）或いは水を挙げることができる。

- 15 なお、核酸精製装置 1 0 0 は、少なくとも、入出力装置と、該入出力装置から指令を受け、また制御結果を入出力装置に与える機構制御部と、制御された液量を供給するように、該制御機構部により制御される複数の液供給装置と、該液供給装置を駆動するモータと、該液供給装置を目的方向に移動させるための移動装置と、該移動装置を制御するモータと、該機構制御部により制御され、エアフィルターとエア吐出用ポンプとの切り替えを行う電磁弁と、該制御部により制御され、空気流路の切り替えを行う電磁弁とを備える。入出力装置としては、例えば、コンピュータ及び該コンピュータに接続されたキーボード並びに C R T を挙げる
20 ことができる。液供給装置としては、例えば、シリンジポンプを挙げることができる。モータとしては、例えば、ステッピングモータを挙げることができる。移動装置としては、例えば、アームを挙げることができる。

- 25 具体的には、核酸精製装置 1 0 0 においては、図 8 に示すように、P C 6 0 に対して、キーボード 6 1、C R T 6 2 及び機構制御部 6 5 が接続されている。機構制御部 6 5 は、シリンジポンプ 1 0 に吸排動作を行わせるピストン駆動用のステッピングモータ 7 1、試薬吐出用ノズルに試薬を供給するためのシリンジポンプ 3 8 に吸排動作を行わせるピストン駆動用のステッピングモータ 7 2、シリンジポンプ 3 2 a、3 2 b、3 2 c に吸排動作を行わせるためのピストン駆動用のステッピングモータ 7 7、ノズルホルダー 1 7 を水平移動及び上下動させるため

のステッピングモータ 7 3、ノズルホルダー 3 4 を水平移動及び上下動させるためのステッピングモータ 7 4、アーム 1 6 を水平移動させるための A C サーボモータ 7 5、アーム 3 3 を水平移動させるための A C サーボモータ 7 6、エアフィルタ 8 6 とエア吐出用ポンプとの切り替えを行う電磁弁 8 2 及び空気流路の連
5 通を調節する電磁弁 9 5 等を制御する。なお、図 8 においては、シリンジ 3 2 a、3 2 b、3 2 c を「シリンジ 3 2」とまとめて示している。

図 8 に示したステッピングモータ 7 1 や電磁弁 8 2 等は、予め P C 6 0 内に記録されている所定のプログラムに従って機構制御部 6 5 による制御のもとで動作する。このプログラムは、例えば、キーボード 6 1 等を用いて操作者が任意に設
10 定することができる。したがって、このように構成された核酸精製装置 1 0 0 は、このプログラムに従って、図 9 に示すようなフローチャートのように核酸含有試料から核酸を抽出して精製することができる。

先ず、ステップ 1（図 9 において「S1」と記する。以下同様。）では、核酸含有試料からの精製操作を開始する前に、核酸を抽出する検体を検体容器 1 3 に入
15 れて検体ラックに保持させ、所定の位置に検体ラック 1 2 をセットする。また、ステップ 1 では、分注用チップ 1 5 を有するチップラック 1 4 a、核酸捕捉用チップ 3 1 を有するチップラック 3 0、試薬分注用チップ 9 4 を有するチップラック 9 1、試薬ボトル 9 2、処理容器 2 4 a、2 4 b 及び精製品用容器 2 6 a、2 6 b、2 6 c を、それぞれ所定の場所にセットする。

20 核酸含有試料から核酸を抽出する際には、先ず、ステップ 2（S2）で溶解工程を行う。溶解工程では、先ず、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動し、試薬吐出ノズルをチップラック 9 1 上へ移動させる。そして、ノズルホルダー 3 4 を降下させ、試薬吐出ノズルに試薬分注用チップ 9 4 を嵌合する。次いで、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動し、結合促進剤を収容した試薬ボトル 9 2
25 上へ試薬分注用チップ 9 4 を移動させる。そして、ノズルホルダー 3 4 を降下させ、試薬分注用チップ 9 4 を試薬ボトル 9 2 内へ降下させるとともに、シリンジポンプ 3 8 を動作させることにより試薬分注用チップ 9 4 内に所定量の結合促進剤を吸入する。次に、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動して処理容器 2 4 a 上に移動した後、試薬分注用チップ 9 4 内に吸引した結合促進剤を所定の処

理容器 2 4 a 内に吐出する。次に、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動してチップ外し器 2 7 b へ移動させ、使用した試薬分注用チップ 9 4 を取り外す。

次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6 をチップラック 1 4 a 上へ移動する。そして、ノズルホルダー 1 7 を降下させ、分注ノズル 3 6 に分注用チップ 1 5 を嵌合する。次いで、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6 を検体ラック 1 2 に保持された所定の検体容器 1 3 まで移動する。そして、分注用チップ 1 5 を検体容器 1 3 内に降下させるとともに、シリンジポンプ 1 0 の吸引動作により分注用チップ 1 5 内に所定量の核酸含有試料を吸入する。

10 次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、核酸含有試料を吸入した分注用チップ 1 5 を、結合促進剤を収容した処理容器 2 4 a 上へ移動する。そして、分注用チップ 1 5 を処理容器 2 4 a 内に降下させるとともに、当該処理容器 2 4 a へ核酸含有試料の全量を吐出する。その後、同じ分注用チップ 1 5 を用いて処理容器 2 4 a 内の溶液を吸入し、吐出する操作を少なくとも 1 回以上繰り返し行う。これにより、核酸含有試料と結合促進剤とを混合することができる。その後、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動して、分注用チップ 1 5 を待機位置であるチップ外し器 2 7 a の上方位置へ移動させる。

次に、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動し、ノズルホルダー 3 4 を、核酸含有試料及び結合促進剤を収容した処理容器 2 4 a へ移動する。そして、ディスペンシングノズルに接続されたシリンジポンプを動作させ、ディスペンサ試薬を規定量吐出する。次に、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動し、待機位置であるチップ外し器 2 7 b の上方位置へ移動する。

次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、チップ外し器 2 7 a の上方位置で待機していた分注用チップ 1 5 を、核酸含有試料と結合促進剤とディスペンサ試薬とを収容した処理容器 2 4 a 上へ移動する。そして、当該処理容器 2 4 a 内の溶液すべてを分注用チップ 1 5 内へ吸引し、吐出する操作を少なくとも 1 回以上繰り返し行う。これにより、当該処理容器 2 4 a 内において、核酸含有試料と結合促進剤とディスペンサ試薬とを混合することができる。

次に、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動し、ノズルホルダー 3 4 を、

核酸含有試料等を収容した処理容器 2 4 a 上へ移動する。次に、ディスペンシングノズルに接続されたシリンジポンプを動作させ、第 2 ディスペンサ試薬を規定量吐出する。次に、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動し、ノズルホルダー 3 4 を待機位置であるチップ外し器 2 7 b の位置へ移動する。

- 5 次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、待機していた分注用チップ 1 5 を、核酸含有試料を収容した処理容器 2 4 a 上へ移動する。そして、シリンジポンプ 1 0 を動作させて、当該処理容器 2 4 a 内の溶液すべてを分注用チップ 1 5 内へ吸引し、吐出する操作を少なくとも 1 回以上繰り返し行う。これにより、当該処理容器 2 4 a 内において、核酸含有試料と結合促進剤とディスペンサ
- 10 試薬と第 2 ディスペンサ試薬とを混合することができる。次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注用チップ 1 5 をチップ外し器 2 7 b へ移動させ、使用した分注用チップ 1 5 を、上述した取り外し動作に準じて取り外す。次いで、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6 を洗浄部 1 8 の上方に移動させる。そして、分注ノズル 3 6 の先端部 8 8 d から純水を所定
- 15 量吐出することによって分注ノズル 3 6 の先端側を洗浄し、その後、分注ノズル 3 6 の先端部 8 8 d に少量の空気を吸入して待機状態とする。

- 次に、ステップ 3 (S3) では、核酸捕捉用チップ 3 1 を用いて、処理容器 2 4 a 内の混合溶液に含まれる核酸成分を固相 4 4 に吸着する。まず、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6 をチップラック 3 0 上へ移動さ
- 20 せる。そして、ノズルホルダー 1 7 を降下させ、分注ノズル 3 6 に核酸捕捉用チップ 3 1 を嵌合する。次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、核酸捕捉用チップ 3 1 を、核酸含有試料等を収容した処理容器 2 4 a 上へ移動させる。そして、ノズルホルダー 1 7 を降下させ、核酸捕捉用チップ 3 1 を当該処理容器 2 4 a 内へ降下させるとともに、シリンジポンプ 1 0 を動作させることにより核
- 25 酸捕捉用チップ 3 1 内に核酸含有試料を含む溶液の全量を吸入する。これによって、核酸捕捉用チップ 3 1 内の固相 4 4 と当該溶液とが接触することとなる。次いで、シリンジポンプ 1 0 を動作させることによって、核酸捕捉用チップ 3 1 に吸入された溶液を再び処理容器 2 4 a 内に吐出し、吐出した溶液を核酸捕捉用チップ 3 1 内に吸入する操作を複数回繰り返し行う。これにより、固相 4 4 表面と

溶液との接触頻度を増大させることができ、固相 4 4 による核酸の吸着効率を高めることができる。

次に、シリンジポンプ 1 0 を動作させることによって、処理容器 2 4 a 内の溶液の全量を核酸捕捉用チップ 3 1 内へ吸入する。この状態で、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動して分注ノズル 3 6 を洗浄部 1 8 上へ移動するとともに、シリンジポンプ 1 0 を動作させて核酸捕捉用チップ 3 1 内の溶液を当該洗浄部 1 8 内へ排出する。

次に、核酸精製装置では、ステップ 4 (S4) ～ステップ 8 (S8) に示す洗浄工程を、洗浄液の種類に応じた回数繰り返す。この洗浄工程は、核酸捕捉用チップ 3 1 の内壁や固相 4 4 に付着している夾雑物（核酸以外の成分）を除去する工程である。まず、ステップ 4 (S4) では、流路開閉電磁弁 8 3 a を動作させてシリンジポンプ 3 2 a と核酸捕捉用チップ 3 1 と接続するとともに、空気切替弁 8 2 を動作させて核酸捕捉用チップ 3 1 の内部と外部とを物理的に接続する（図 1 0 (a) の状態）。これにより、核酸捕捉用チップ 3 1 内部の圧力は常に外部の圧力と同等となる。

続いて、ステップ 5 (S5) では、シリンジポンプ 3 2 a を動作させ、流路 3 5 a を介して洗浄液を核酸捕捉用チップ 3 1 内に注入する。このとき、洗浄液を注入する手段としては、シリンジポンプ 3 2 a に限らず、ペロースポンプ、ペリスタポンプ等、送液機能を有するものであればいかなる手段を用いても良い。また、このとき、核酸捕捉用チップ 3 1 内部の圧力は、外圧と常に同等であるために洗浄液が注入されても上昇せず、洗浄液は核酸捕捉用チップ 3 1 先端からは排出されず、図 1 0 (b) に示すように、核酸捕捉用チップ 3 1 内部に一時的に溜まる。すなわち、ステップ 6 (S6) では、核酸捕捉用チップ 3 1 内部に洗浄液を保持させる。

続いて、ステップ 7 (S7) では、空気切替弁 8 2 を動作させ、核酸捕捉用チップ 3 1 の内部と外部とを遮断する。次に、ステップ 8 (S8) では、エア吐出用ポンプ 8 7 を動作させて空気流路を通して核酸捕捉用チップ 3 1 内に空気を供給する。これにより、図 1 0 (c) に示すように、核酸捕捉用チップ 3 1 内部に注入された洗浄液を頭部 5 4 から先端部 4 8 に向けて一方向に流動させることができ

る。洗浄液は、核酸捕捉用チップ 3 1 内を通過し、そのまま先端部 4 8 から洗浄部 1 8 へ連続的に排出される。このような洗浄動作により、核酸捕捉用チップ 3 1 の内壁及び固相 4 4 の表面に付着した夾雑物（核酸を除く成分）を除去することができる。

- 5 なお、排出する洗浄液の粘性が高く、エア吐出用ポンプ 8 7 だけで排出できない場合には、ステップ 8 にて、まず空気切替弁 8 2 を動作させて核酸捕捉用チップ 3 1 を介して外部とシリンジポンプ 1 0 とを接続する。この状態でシリンジポンプ 1 0 を動作させ、シリンジポンプ 1 0 内に空気を吸引する。その後、空気切替弁 8 2 を動作させてシリンジポンプ 1 0 と外部との間を遮断し、その後、シリンジポンプ 1 0 を動作させることによって、気体供給流路を通して空気を核酸捕捉用チップ 3 1 内に供給し、保持されている洗浄液を押し出すことができる。この操作を繰り返しおこなうことによって、排出する洗浄液の粘度が高くても、確実に排出することができる。

- 15 次に、核酸捕捉用チップ 3 1 の内壁や固相 4 4 に付着している夾雑物（核酸以外の成分）を、第 2 洗浄液及び第 3 洗浄液を順次用いて、上記洗浄液を用いる方法と同様にして確実に除去する。なお、第 2 洗浄液を用いた洗浄では、上述したステップ 4 ～ステップ 8 において、シリンジポンプ 3 2 b、流路開閉電磁弁 8 3 b 及び流路 3 5 b を用いる。なお、第 3 洗浄液を用いた洗浄では、上述したステップ 4 ～ステップ 8 において、シリンジポンプ 3 2 c、流路開閉電磁弁 8 3 c 及び流路 3 5 c を用いる。上記洗浄液、第 2 洗浄液及び第 3 洗浄液を用いた洗浄操作が終了した後、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、核酸捕捉用チップ 3 1 を液受け部 2 8 上へ移動させ、待機させる。

- 25 このとき、核酸捕捉用チップ 3 1 の内壁や固相 4 4 に付着している夾雑物（核酸以外の成分）を除去するための洗浄では、各種洗浄液を吐出する先端部 8 8 a、8 8 b、8 8 c に対して先端部 8 8 d から空気を噴射しながら各種洗浄液を吐出することによって、洗浄液が過剰に飛散することを防止し、核酸捕捉用チップ 3 1 の洗浄効率を高めることができる。

また、シリンジポンプ 3 2 a を用いて初めの洗浄液をノズル 8 8 a から吐出し、シリンジポンプ 3 2 b を用いて第 2 洗浄液をノズル 8 8 b から吐出し、シリンジ

ポンプ 3 2 c を用いて第 3 洗浄液をノズル 8 8 c から吐出することができる。言い換えると、各種洗浄液をそれぞれ独立した流路で吐出することができる。このため、各種洗浄液間のキャリーオーバーや、濃度低下の発生、分注精度の低下を防止できる。

- 5 次に、ステップ 9 (S9) では、核酸捕捉用チップ 3 1 内の固相 4 4 に付着した核酸を溶離させる核酸溶離工程を行う。核酸溶離工程では、先ず、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動し、ノズルホルダー 3 4 を容器ラック 2 3 b 上に移動する。そして、溶離液を収容したボトルと接続されたシリンジポンプを動作させ、1 回分の溶離液を処理容器 2 4 b 内に吐出する。そして、アーム 3 3 及びノ
10 ノズルホルダー 3 4 を駆動し、試薬分注用チップ 9 4 をチップ外し部 2 7 b 上へ移動させ、待機させる。

- 次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、核酸捕捉用チップ 3 1 を、溶離液を収容した処理容器 2 4 b 上へ移動する。そして、シリンジポンプ 1 0 を動作させることによって、処理容器 2 4 b 内の溶離液を核酸捕捉用チップ 3 1 内
15 に吸入する。これにより、溶離液が固相 4 4 に接触することとなり、固相 4 4 表面に吸着した核酸を溶離液中に溶出させることができる。このとき、核酸捕捉用チップ 3 1 内に吸入した溶離液を元の処理容器 2 4 b へ吐出した後、核酸捕捉用チップ 3 1 を用いた溶離液の吸入及び吐出を複数繰り返す操作を行うことによって、固相 4 4 に吸着した核酸を効率よく溶出することができる。

- 20 次に、アーム 3 3 及びノズルホルダー 3 4 を駆動し、ノズルホルダー 3 4 を、上記処理で用いた処理容器 2 4 b とは異なる他の処理容器 2 4 b 上へ移動する。そして、上記と同様の操作により他の処理容器 2 4 b 内に次の 1 回分の溶離液を吐出する。次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、核酸捕捉用チップ 3 1 を当該他の処理容器 2 4 b 上へ移動し、上記と同様にして固相 4 4 に吸着
25 した核酸を溶離液中に確実に溶出させる。

次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、核酸捕捉用チップ 3 1 をチップ外し器 2 7 a 上へ移動する。そして、図 7 に示したように、チップ外し器 2 7 a を用いて、分注ノズル 3 6 から核酸捕捉用チップ 3 1 を取り外す。

次に、ステップ 10 (S10) では、2 つの処理容器 2 4 b に吐出された溶離液

を回収する核酸回収工程を行う。核酸回収工程では、まず、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6 をチップラック 1 4 b 上へ移動する。そして、ノズルホルダー 1 7 を下降させ、分注ノズル 3 6 に分注用チップ 1 5 を嵌合する。次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6
5 を、1 回目の溶離操作で得られた溶離液を収容した反応容器 2 4 b 上に移動させる。そして、シリンジポンプ 1 0 を動作させ、当該反応容器 2 4 b 内の溶離液の全量を分注用チップ 1 5 内に吸引する。

次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6 を、所定の精製品用容器 2 6 a 上に移動させる。そして、シリンジポンプ 1 0 を動作させて、分注用チップ 1 5 内に吸引した溶離液を精製品用容器 2 6 a 内に吐出する。
10

次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6 を、2 回目の溶離操作で得られた溶離液を収容した反応容器 2 4 b 上に移動させる。そして、シリンジポンプ 1 0 を動作させ、当該反応容器 2 4 b 内の溶離液の全量を分注用チップ 1 5 内に吸引する。次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動
15 し、分注ノズル 3 6 を、先に溶離液を吐出した精製品用器 2 6 a 上に移動させる。そして、シリンジポンプ 1 0 を動作させて、分注用チップ 1 5 内に吸引した溶離液を精製品用容器 2 6 a 内に吐出する。

これにより精製品容器 2 6 a には、固相 4 4 から溶出された核酸を含む溶離液が回収される。次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注攪拌ノ
20 ズル 3 6 をチップ外し器 2 7 a 上へ移動し、チップ外し器 2 7 a により分注用チップ 1 5 a を分注攪拌ノズル 3 6 から取り外す。次に、アーム 1 6 及びノズルホルダー 1 7 を駆動し、分注ノズル 3 6 を洗浄部 1 8 上へ移動する。そして、分注ノズル 3 6 の先端から水を吐出した後、分注ノズル 3 6 の先端に微量の空気を吸入することによって、分注ノズル 3 6 の先端を洗浄する。

25 以上で、所定の検体容器 1 3 に収容された核酸含有試料からの核酸の精製操作が終了する。なお、分注ノズル 3 6 は、先端の洗浄が終了した後も洗浄部 1 8 の上方位置にとどまり、次の精製操作に備える。上述した各工程を行うことによって、次の核酸含有試料からの精製操作を行うことができる。

なお、次の核酸含有試料からの精製操作を行う際には、先に行った精製操作に

使用した処理容器 2 4 a, 2 4 b 及び精製品用容器 2 6 とは異なる処理容器 2 4 a, 2 4 b 及び精製品用容器 2 6 をそれぞれ使用する。したがって、容器保存ラック 2 5 に保持された複数の精製品容器 2 6 には、核酸含有試料間でコンタミネーションが生ずることなく、検体容器 1 3 に対応して核酸が回収される。

- 5 なお、本例では、分注ノズル 3 6 内に 3 本の配管 3 5 a, 3 5 b, 3 5 c からなる洗浄液流路を備えているが、分注ノズル 3 6 内の配管の本数を増やすことによってより多数の洗浄液流路を設けることもできる。また、分注ノズル 3 6 内の配管を、洗浄液以外の液体や空気以外の気体の流路として用いても良い。

また、分注ノズル 3 6 の先端側は、例えば、図 1 1 に示すように、洗浄液流路
10 を構成する配管の先端部をそれぞれ異なる高さ位置で切断したものであってもよい。すなわち、この場合、3 本の配管 3 5 a, 3 5 b, 3 5 c は、配管 3 5 a の先端部 9 8 a、配管 3 5 b の先端部 9 8 b、配管 3 5 c の先端部 9 8 c 及び配管 3 5 d の先端部 9 8 d の順で相対的に低い位置となるように形成されている。

図 1 1 に示したような分注ノズル 3 6 を備える核酸精製装置では、配管 3 5 a、
15 配管 3 5 b 及び配管 3 5 c の順で異なる種類の洗浄液を吐出する。例えば、配管 3 5 a を用いて所定の洗浄液を吐出し、当該洗浄液が配管 3 5 a の先端部 9 8 a に残存した場合でも、次の洗浄液を配管 3 5 b を用いて先端部 9 8 b から吐出することによって、先端部 9 8 a に残存した洗浄液を除去することができる。特に、この場合、先端部 9 8 a に残存した洗浄液を除去するためにエアブローを施す必
20 要が無く、複数の洗浄液を用いる場合の工程を簡略化することができ、より効率的に洗浄を行うことができる。

なお、上述した例では、分離カラムとして、核酸を捕捉する固相 4 4 を有する核酸捕捉用チップ 3 1 を例示して説明したが、本発明において、分離カラムとしては核酸捕捉用チップ 3 1 に限定されるものではない。例えば、分離カラムとし
25 ては、液体クロマトグラフィーに使用される、対象物質を捕捉できる移動層を有する分離カラムや、免疫分析装置における B/F 分離部等を挙げることができる。これらの場合、対象物質が抗原、抗体、ハプテン等となる。これらいかなる分離カラムを備える試料処理装置であっても、本発明を適用することができる。

すなわち、本発明においては、対象物質が核酸に限定されず、例えばタンパク

- 質や抗体、抗原及びハプテン等であっても良い。さらに、本発明において、これらの対象物質を処理するとは、分離カラム内に捕捉された対象物質を洗浄することのみならず、対象物質に対して所望の反応を起こさせるような処理や対象物質を分離カラムから抽出するような処理をも含む意味である。このように、本発明
- 5 は、分離カラム内に捕捉された対象物質に対して、液体を作用させるような処理を行う際に適用することができる。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許及び特許出願をそのまま参考として本明細書に取り入れるものとする。

10 産業上の利用の可能性

- 以上、詳細に説明したように、本発明に係る試料精製装置及び試料精製方法によれば、分離カラム内に容易に液体を注入することができると共に、注入した液体を分離チップ内部に留めることができる。このため、本発明によれば、分離カラム内に液体を迅速且つ確実に通過させることができ、スループットの向上を達成
- 15 成することができる。

請 求 の 範 囲

1. 対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムと、
上記分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって液体を供給することが
5 できる液体供給流路と、
上記液体供給流路と独立して配設され、上記分離カラムの内部と外部とを連通
することができる連通用流路とを備え、
上記連通用流路による上記分離カラムの内部と外部との連通が制御されている
ことを特徴とする試料処理装置。
- 10 2. 複数本の上記液体供給流路を備え、それぞれの上記液体供給流路に異なる液
体を通過させることを特徴とする請求の範囲 1 記載の試料処理装置。
3. 上記複数本の液体供給流路は、それぞれ異なる高さ位置で上記分離カラムに
臨むことを特徴とする請求の範囲 2 記載の試料処理装置。
4. 上記連通用流路は、上記液体供給流路を内部に囲う管状部材からなり、当該
15 液体供給流路と管状部材の内壁との間に形成される空隙に気体を通過させること
を特徴とする請求の範囲 1 記載の試料処理装置。
5. 上記連通用流路の先端部は、上記液体供給流路の先端部と比較して高い位置
で上記分離カラムに臨むことを特徴とする請求の範囲 4 記載の試料処理装置。
6. 上記液体供給流路及び上記連通用流路と独立して配設され、上記分離カラム
20 の一方端部側から他方端部側に向かって気体を供給することができる気体供給流
路を更に備えることを特徴とする請求の範囲 1 記載の試料処理装置。
7. 上記気体供給流路の先端部は、上記液体供給流路の先端部と比較して高い位
置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする請求の範囲 6 記載の試料処理装置。
8. 上記連通用流路には、上記分離カラム内部に対して気体を供給することがで
25 きる気体供給手段が配設されていることを特徴とする請求の範囲 1 記載の試料処
理装置。
9. 上記気体供給流路は、上記液体供給流路とともに上記管状部材の内部に配設
されたことを特徴とする請求の範囲 6 記載の試料処理装置。
10. 対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムと、

上記分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって液体を供給することができる液体供給流路と、

上記液体供給流路の起端部に配設され、上記液体供給流路を介して上記分離カラムに対して液体を供給する液体供給手段と、

- 5 上記液体供給流路と独立して配設され、上記分離カラムの内部と外部とを連通することができる連通用流路と、

上記連通用流路の中途部に配設され、上記分離カラムの内部と外部と間を開放及び/又は閉塞する連通制御手段と、

- 10 少なくとも、上記液体供給手段の動作及び上記連通制御手段の動作を制御する制御手段とを備え、

上記制御手段は、上記液体供給手段から上記液体供給流路を介して液体を上記分離カラムに供給する際に、上記連通制御手段を制御して上記連通用流路を開放できることを特徴とする試料処理装置。

- 15 1 1. 複数本の上記液体供給流路及びこれら液体供給流路の起端部にそれぞれ配設された複数の液体供給手段を備え、それぞれの上記液体供給流路に異なる液体を通過させることを特徴とする請求の範囲 1 0 記載の試料処理装置。

1 2. 上記複数本の液体供給流路は、それぞれ異なる高さ位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする請求の範囲 1 1 記載の試料処理装置。

- 20 1 3. 上記連通用流路は、上記液体供給流路を内部に囲う管状部材からなり、当該液体供給流路と管状部材の内壁との間に形成される空隙に気体を通過させることを特徴とする請求の範囲 1 0 記載の試料処理装置。

1 4. 上記連通用流路の先端部は、上記液体供給流路の先端部と比較して高い位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする請求の範囲 1 0 記載の試料処理装置。

- 25 1 5. 上記液体供給流路及び上記連通用流路と独立して配設され、上記分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって気体を供給することができる気体供給流路を更に備えることを特徴とする請求の範囲 1 0 記載の試料処理装置。

1 6. 上記気体供給流路の先端部は、上記液体供給流路の先端部と比較して高い位置で上記分離カラムに臨むことを特徴とする請求の範囲 1 5 記載の試料処理装置。

17. 上記気体供給流路は、上記液体供給流路とともに上記管状部材の内部に配設されたことを特徴とする請求の範囲15記載の試料処理装置。

18. 対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムに対して、当該分離カラムの一方端部側から液体を供給する際に、当該液体を供給する側の空間部を外気圧と同等することを特徴とする試料処理方法。

19. 分離カラムに対して液体を供給した後、供給された液体を、分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって吐出することを特徴とする請求の範囲18記載の試料処理方法。

20. 複数種類の液体を異なる液体供給流路を用いて供給することを特徴とする請求の範囲18記載の試料処理方法。

21. 先端部の高さ位置が異なる複数の液体供給流路を用いて、複数の液体を、先端部が低い位置の液体供給流路から先端部が高い位置の液体供給流路の順で供給することを特徴とする請求の範囲18記載の試料処理方法。

22. 上記分離カラムの一方端部側から液体供給流路を用いて液体を供給し、その後、上記液体供給流路の先端部にエアブローを噴射することを特徴とする請求の範囲18記載の試料処理方法。

23. 上記エアブローを、上記液体供給流路の先端部よりも高い位置から噴射することを特徴とする請求の範囲22記載の試料処理方法。

24. 上記液体は洗浄液であって、分離カラム内部及び当該分離カラムに含まれる担体を洗浄することを特徴とする請求の範囲18記載の試料処理方法。

25. 対象物質を捕捉できる担体を有する分離カラムに試料をアプライして、担体に対象物質を捕捉する第1の工程と、

分離カラムの一方端部側の空間部を外圧と同等とした状態で、分離カラム内部に液体を供給する第2の工程と、

25 分離カラムの一方端部側の空間部を閉塞した状態で、分離カラム内部に供給された液体を当該分離カラムの一方端部側から他方端部側に向かって排出する第3の工程とを含む試料処理方法。

26. 複数種類の液体に関して、上記第2の工程及び上記第3の工程を当該液体の数に相当する回数繰り返すことを特徴とする請求の範囲25記載の試料処理方

法。

27. 複数種類の液体に関して、上記第2の工程及び上記第3の工程を当該液体の数に相当する回数繰り返す際に、先端部の高さ位置が異なる複数の液体供給流路を、先端部が低い位置の液体供給流路から先端部が高い位置の液体供給流路の

5 順で使用することを特徴とする請求の範囲25記載の試料処理方法。

28. 上記第2の工程では、上記分離カラムの一方端部側から液体供給流路を用いて液体を供給し、その後、上記液体供給流路の先端部にエアブローを噴射することを特徴とする請求の範囲25記載の試料処理方法。

29. 上記エアブローを、上記液体供給流路の先端部よりも高い位置から噴射する
10 ことを特徴とする請求の範囲28記載の試料処理方法。

30. 上記液体は洗浄液であって、分離カラム内部及び当該分離カラムに含まれる担体を洗浄することを特徴とする請求の範囲25記載の試料処理方法。

31. 入出力装置と、

15 該入出力装置から指令を受け、また制御結果を入出力装置に与える機構制御部と、

制御された液量を供給するように、該制御機構部により制御される複数の液供給装置と、

該液供給装置を駆動するモータと、

該液供給装置を目的方向に移動させるための移動装置と、

20 該移動装置を制御するモータと、

該機構制御部により制御され、エアーフィルタとエア吐出用ポンプとの切り替えを行う電磁弁と、

該制御部により制御され、空気流路の切り替えを行う電磁弁とを備える核酸精製装置。

25

図 1

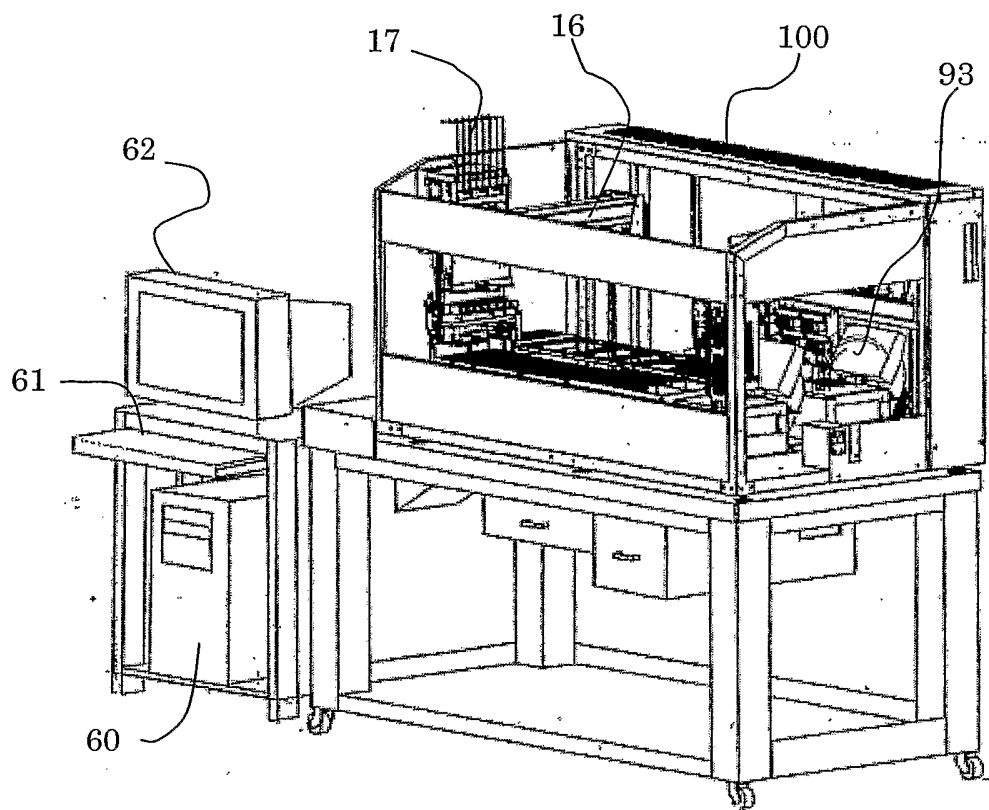


図 2

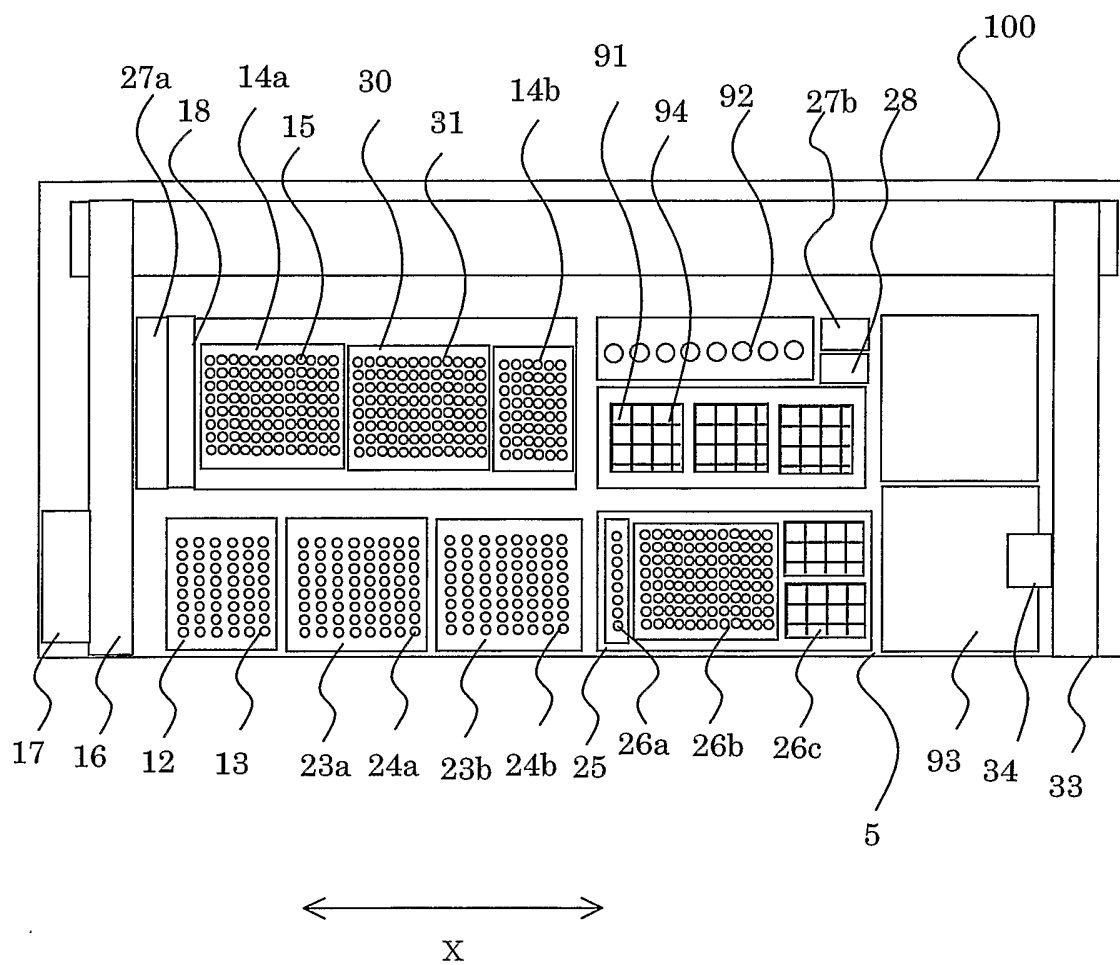


図 3

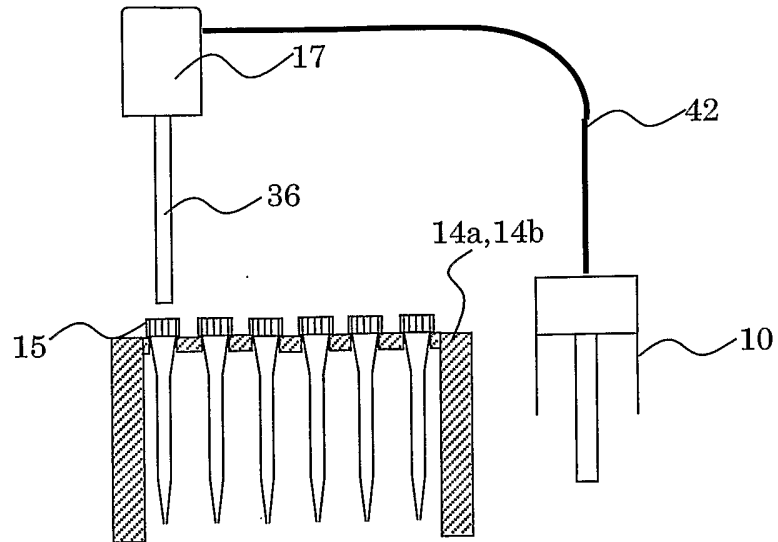


図 4

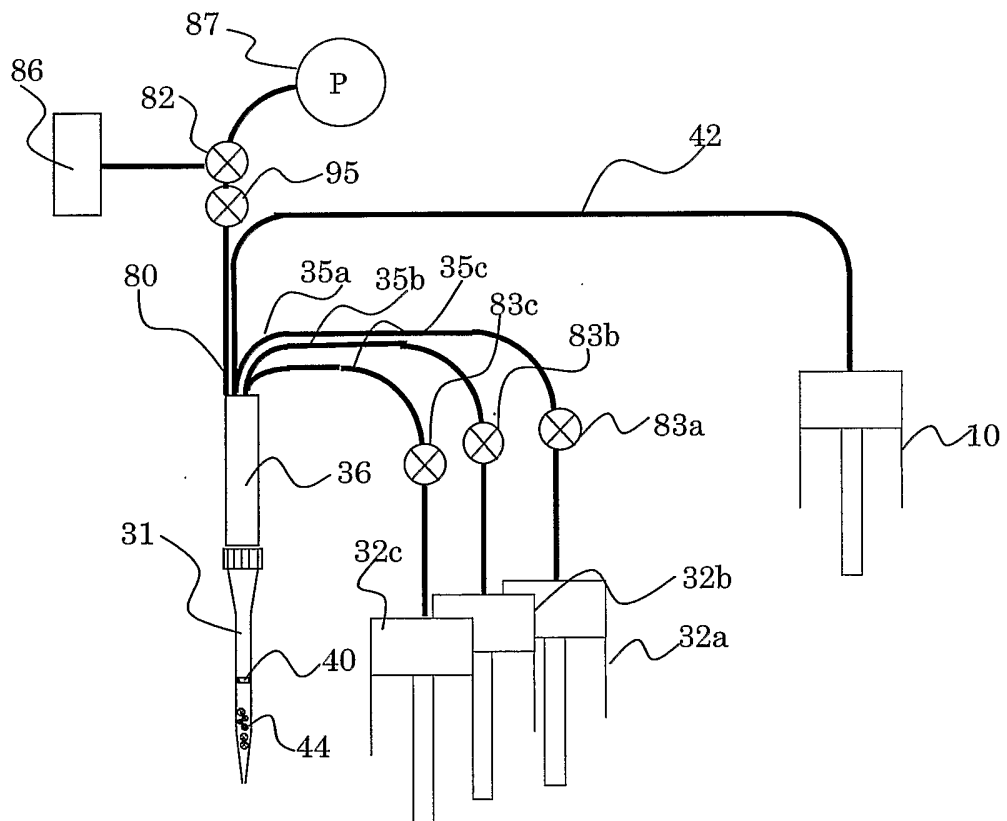


図 5

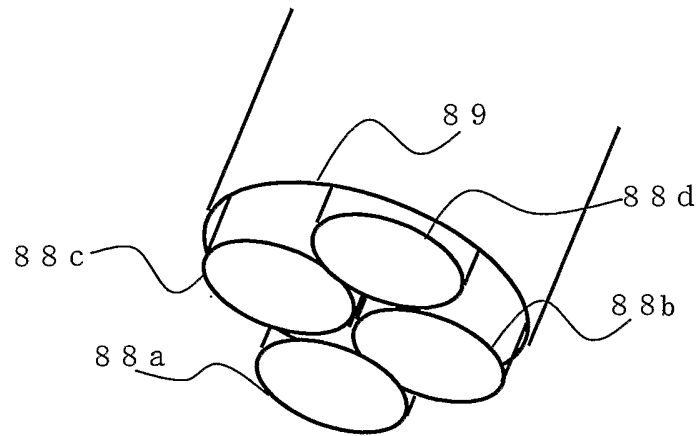


図 6

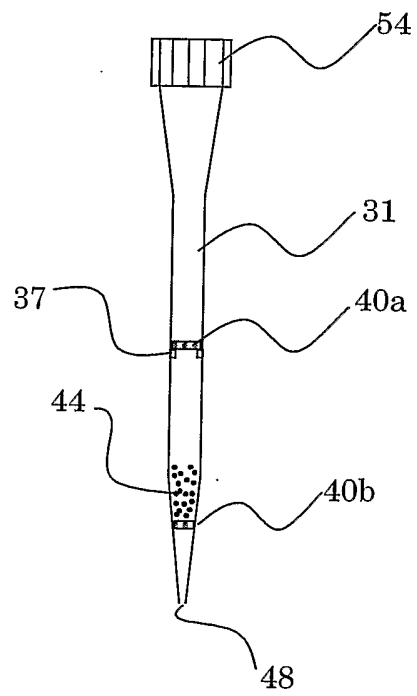


図 7

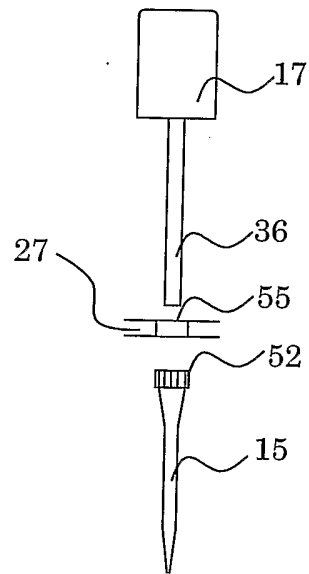


図 8

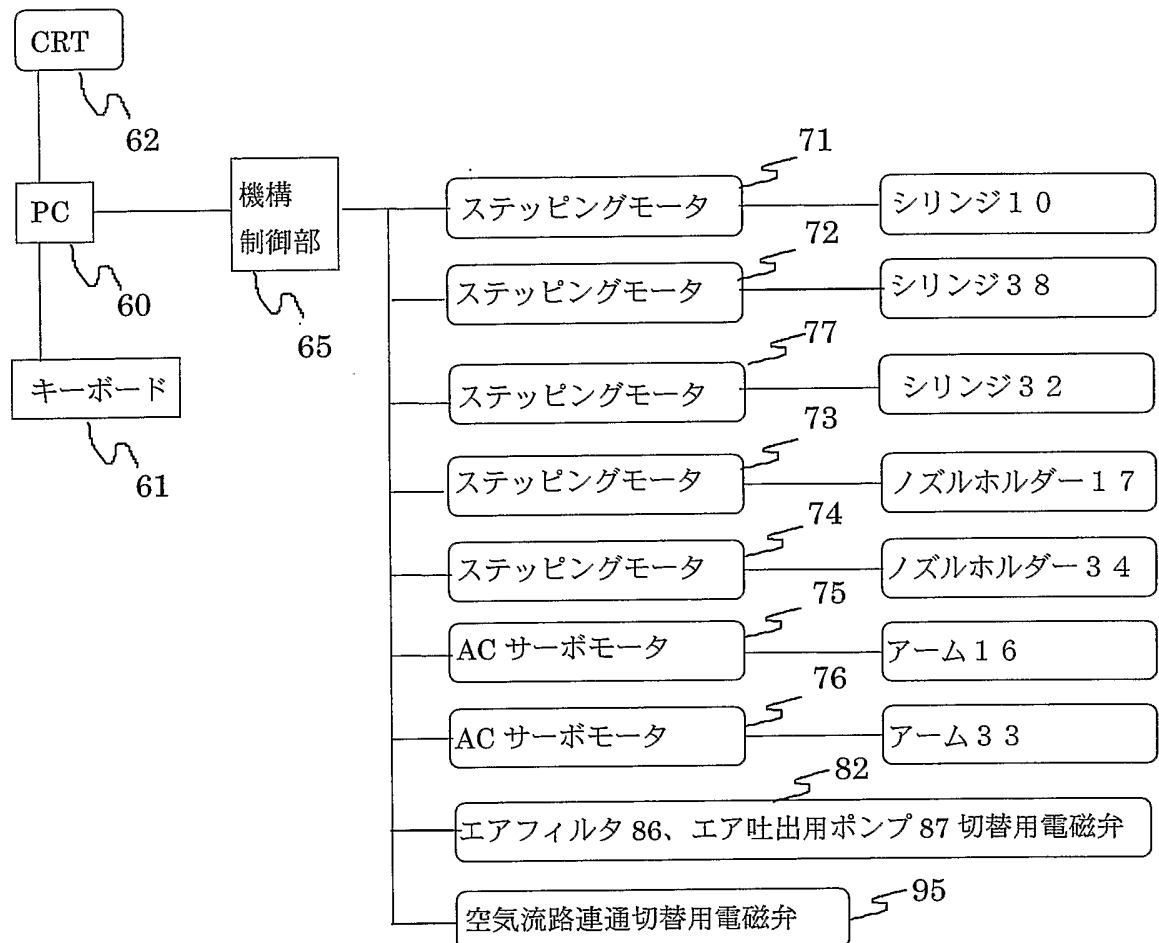


図 9

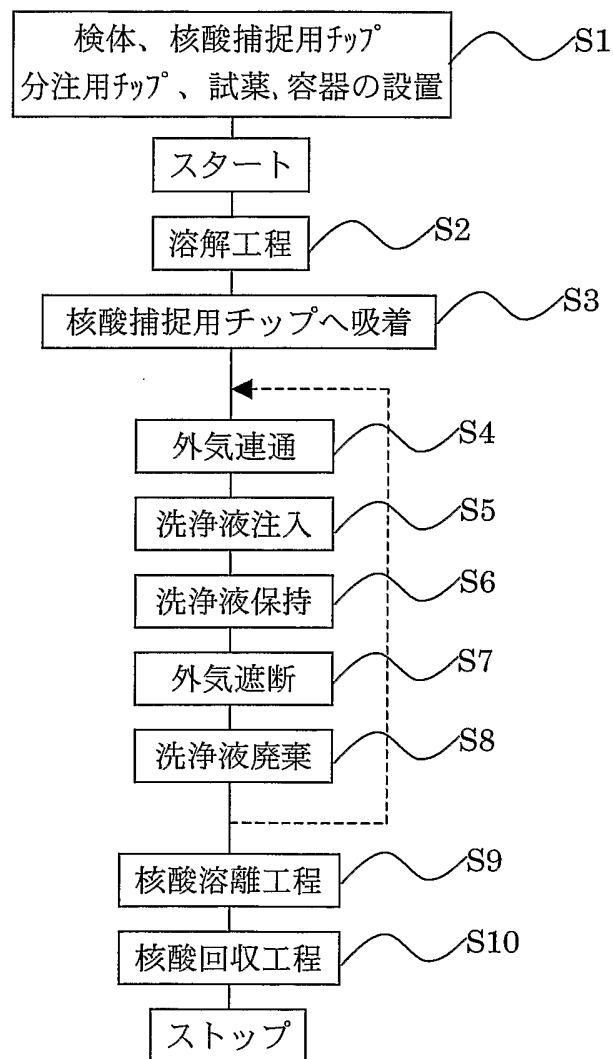


図 10

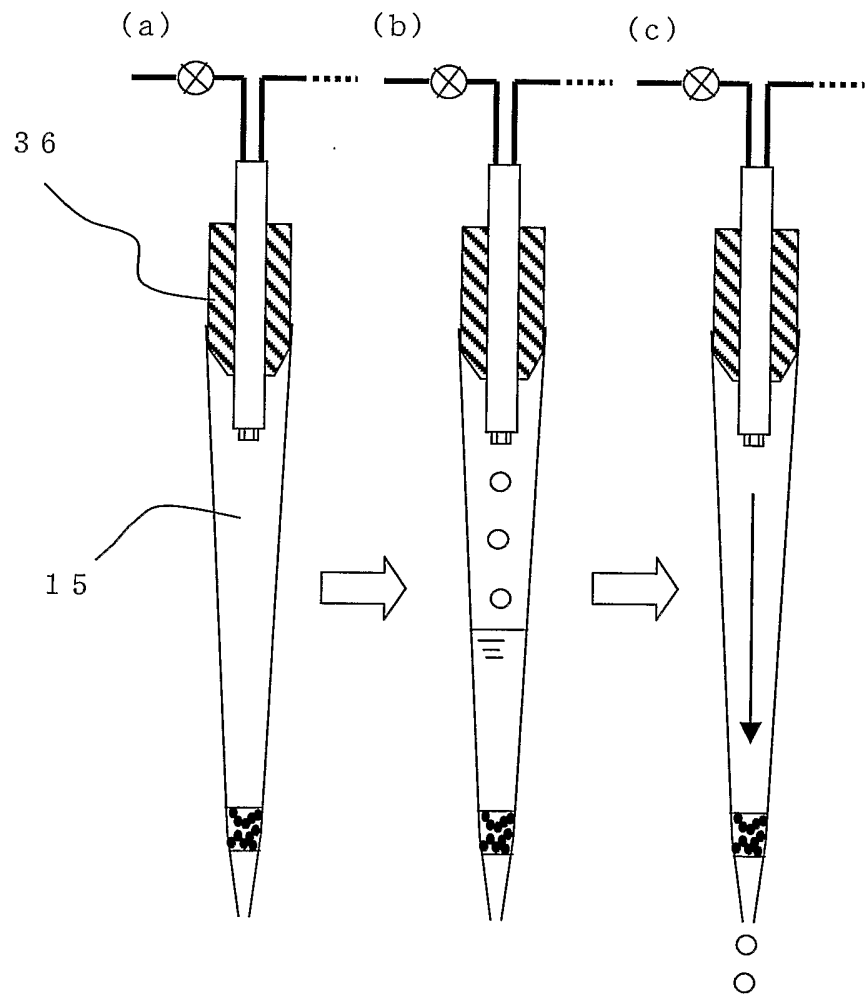
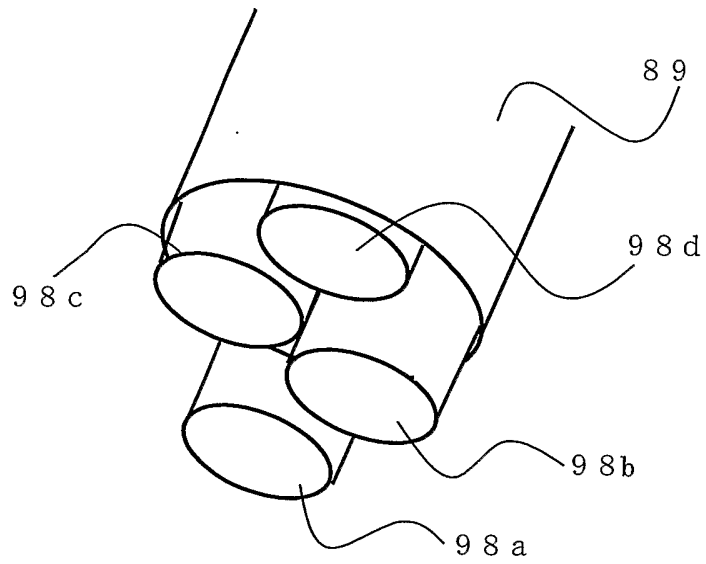


図 11



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/08062

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/10, C07H21/02, C07H21/04, C12M1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/10, C07H21/02, C07H21/04, C12M1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2001	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>X</u> A	JP, 6-201667, A (Shimadzu Corp.), 22 July, 1994 (22.07.94), (Family: none)	1, 4, 8-10, 13, <u>17-19, 25, 26</u> 2, 3, 5-7, 11, 12, 14-16, 20-24, 27-31
<u>X</u> A	JP, 11-248695, A (Japan Nuclear Fuel Co., Ltd.), 17 September, 1999 (17.09.99), (Family: none)	<u>18, 19, 25</u> 1-17, 20-24, 26-31
A	JP, 5-60736, A (JASCO Corp.), 12 March, 1993 (12.03.93), (Family: none)	1-31
A	JP, 11-266864, A (Hitachi, Ltd.), 05 October, 1999 (05.10.99), & US 20020007054 A1	1-31
A	JP, 63-282650, A (Sekisui Chemical Co., Ltd.), 18 November, 1988 (18.11.88), (Family: none)	1-31

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* "A" "E" "L" "O" "P"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance earlier document but published on or after the international filing date document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" "X" "Y" "&"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art document member of the same patent family
--------------------------------------	---	--------------------------	--

Date of the actual completion of the international search 28 February, 2002 (28.02.02)	Date of mailing of the international search report 12 March, 2002 (12.03.02)
---	---

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/08062

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 56-180913, Y2 (JEOL Ltd.), 03 August, 1981 (03.08.81), (Family: none)	1-31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/08062

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(See extra sheet.)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/08062

Continuation of Box No. II of Continuation of first sheet (1)

The matter that is common to claims 1 - 31 is "a sample processing device comprising a separation column having a carrier capable of arresting an object substance, a liquid feed flow channel capable of feeding a liquid from one end side to the other end side of the separation column, and a communication flow channel disposed independently of the liquid feed flow channel and capable of allowing communication between the inside and outside of the separation column, wherein the communication between the inside and outside of the separation column provided by the communication flow channel is controlled." However, the search result shows that the literature JP 6-201667 A (Shimazu Corp.), 1994, 07, 22 discloses the common matter.

Thus, since this common matter is no better than the prior art, it cannot be said to be a special technical matter defined in PCT Rule 13.2. Therefore, there is no special technical matter that is common to all of Claims, and it is not deemed that the inventions group is a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

However, all Claims that are searchable have been searched without requiring additional search fee; thus, payment of an additional search fee has not been demanded.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/10, C07H21/02, C07H21/04, C12M1/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/10, C07H21/02, C07H21/04, C12M1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年

日本国公開実用新案公報 1971-2001年

日本国実用新案登録公報 1996-2001年

日本国登録実用新案公報 1994-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICST (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
<u>X</u> A	JP 6-201667 A (株式会社島津製作所) 1994. 07. 22 ファミリーなし	1, 4, 8, 10, 13, 18, 19, 25, 26 2, 3, 5-7, 9, 11, 12, 14-17, 20-24, 27-31
<u>X</u> A	JP 11-248695 A (日本ニユクリア・フュエル株式会社) 1999. 09. 17 ファミリーなし	18, 19, 25 1-17, 20-24, 26-31
A	JP 5-60736 A (日本分光株式会社) 1993. 03. 12 ファミリーなし	1-31

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28. 02. 02

国際調査報告の発送日

12.03.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

新見 浩一

4N

9839

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 11-266864 A (株式会社日立製作所) 1999. 10. 05 & US 20020007054 A1	1 - 3 1
A	JP 63-282650 A (積水化学工業株式会社) 1988. 11. 18 ファミリーなし	1 - 3 1
A	日本国実用新案登録出願54-180913号 (日本国実用新案登録出願公開56-977 44号)の願書に添付した明細書及び図面の内容を撮影したマイクロフィルム (日本電子株式会社) 1981. 08. 03 ファミリーなし	1 - 3 1

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-31に共通の事項は、「分離カラムと、分離カラムの一方端部から他方端部に向かって液体を供給することができる液体供給流路と、液体供給流路と独立して配設され、上記分離カラムの内部と外部とを連通することができる連通用流路とを備え、連通用流路による分離カラムの内部と外部との連通が制御されている試料処理装置」であるが、調査の結果、文献JP 6-201667 A(株式会社島津製作所) 1994.07.22に該共通事項が開示されていると認められる。

よって、この共通事項は先行技術の域を出るものではないから、PCT規則13.2における特別な技術事項であるとはいえない。それ故に請求の範囲の全てに共通の特別な技術事項はなく、上記発明群が単一の一般的な発明概念を形成するように関連している一群の発明であるとは認められない。

しかし、追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。