

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2011 年 7 月 14 日(14.07.2011)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2011/083597 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 35/02 (2006.01) G01N 37/00 (2006.01)
G01N 35/08 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/066101
- (22) 国際出願日: 2010 年 9 月 16 日(16.09.2010)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2010-001498 2010 年 1 月 6 日(06.01.2010) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社 東芝 (KABUSHIKI KAISHA TOSHIBA) [JP/JP]; 〒1058001 東京都港区芝浦一丁目 1 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 岡田 純 (OKADA, Jun) [JP/JP]. 二階堂 勝 (NIKAIDO, Masaru) [JP/JP]. 小野寺 誠 (ONODERA, Makoto)

[JP/JP]. 廣澤 大二 (HIROSAWA, Daiji) [JP/JP]. 山本 恵一 (YAMAMOTO, Keichi) [JP/JP].

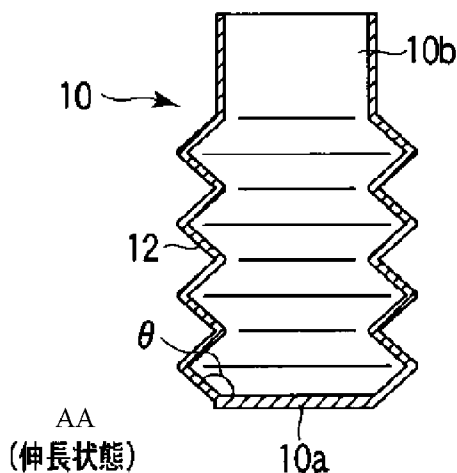
- (74) 代理人: 蔵田 昌俊, 外 (KURATA, Masatoshi et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門 1 丁目 1 2 番 9 号 鈴榮特許総合事務所内 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ

[続葉有]

(54) Title: REAGENT-HOLDING CONTAINER, METHOD FOR PRODUCING SAME, AND DETECTION DEVICE PROVIDED WITH REAGENT-HOLDING CONTAINER

(54) 発明の名称: 試薬保持容器、その製造方法、および試薬保持容器を備えた検出装置

[図2A]



AA... (ELONGATED STATE)

(57) Abstract: Disclosed is a reagent-holding container (10) formed by closing one end of a cylindrical member in the axial direction, wherein one end of the cylindrical member has a bottom wall which extends in a direction that is orthogonal to the axial direction, and the bottom wall is formed by means of a joint section in which the one end of the cylindrical member is joined so as to be flat.

(57) 要約: 筒状部品の軸方向一端を閉じることにより形成される試薬保持容器 10 であって、筒状部品の一端は、軸方向と直交して延びる底壁を有し、この底壁は、筒状部品を平坦に接合した接合部により形成されている試薬保持容器。

WO 2011/083597 A1



(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,
NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

明 細 書

発明の名称：

試薬保持容器、その製造方法、および試薬保持容器を備えた検出装置

技術分野

[0001] ここで述べる実施形態は、核酸、酵素等を含む試薬を保持し、検査時には内部の試薬が外部に送り込まれる構造の試薬保持容器、その製造方法、および試薬保持容器を用いる検出装置に関する。

背景技術

[0002] 近年の遺伝子工学の発展に伴い、医療分野では、遺伝子による病気の診断或いは予防が可能となりつつある。これは遺伝子診断と呼ばれ、病気の原因となるヒトの遺伝子欠陥、変化を検出することで病気の発症前もしくは極めて初期段階での病気の診断や予測をすることが出来る。また、ヒトゲノムの解読とともに、遺伝子型と疫病との関連に関する研究が進み、各個人の遺伝子型に合わせた治療（テーラーメイド医療）も現実化しつつある。従って、遺伝子の検出並びに遺伝子型の決定を簡便に行うことは非常に重要となっている。

[0003] 一方、1つのデバイス内において、複数の試薬が関わる複数の反応を順次行うことのできる μ -TAS と呼ばれるデバイスが盛んに研究開発されている。これらは試薬保持領域、反応領域、センサー領域などから成り、それらをつなぐ流路を備えることが特徴である。これを応用し、核酸を検出するための検出装置も開発されている。核酸検出を行う場合、複数の試薬を使用し、複数の反応を行う必要がある。試薬として、一般に、核酸の増幅や検出のための試薬、例えばDNAプライマー、酵素、蛍光色素などの標識試薬、あるいは、バッファ等が用いられる。

[0004] このような核酸検出装置における試薬保持容器に関して要求される点は主に以下の2項目が挙げられる。1つ目の項目は、容器の低コスト化である。試薬は、予め試薬保持容器内に注入されているが、試薬保持容器内にて試薬

の化学反応を行う場合は、反応後、容器内部の試薬を検出装置内の別な領域に送液する。また、検出装置内の別な領域で化学反応を行う場合は、反応前に、容器内部の試薬を反応領域に送液する。DNAプライマーや酵素、蛍光色素等の試薬は高価であるため、上記のような送液の際、容器内の液残りを極力少なくすることが低コスト化のために要求される。

[0005] 2つ目の項目は、容器を制御する装置の構成が極力簡略化されることである。確実な制御ができる装置であっても、構成が複雑になると高コスト化、検査の信頼性低下につながる。より簡易な構成で試薬の送液や化学反応の制御ができることが要求される。

[0006] 例えば、特許文献3に開示されている形状の試薬保持容器では、試薬保持容器に把持部が形成されるため、内部の液残りが大きくなり、さらに装置構成も複雑となっている。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：特許第4127679号

特許文献2：特開2008-263959号公報

特許文献3：特開2010-78508号公報

図面の簡単な説明

[0008] [図1] 図1は、第1の実施形態に係る試薬保持容器を示す斜視図。

[図2A] 図2Aは、前記試薬保持容器の伸長状態を示す断面図。

[図2B] 図2Bは、前記試薬保持容器の収縮状態を示す断面図。

[図3A] 図3Aは、検出装置に装着された前記試薬保持容器の伸長状態を示す断面図。

[図3B] 図3Bは、検出装置に装着された前記試薬保持容器の収縮状態を示す断面図。

[図4A] 図4Aは、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図4B] 図4Bは、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図5A] 図5Aは、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図5B] 図 5 B は、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図6] 図 6 は、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図7] 図 7 は、この発明の実施形態に係る検体検出装置の送液カセットおよび試薬保持容器を示す斜視図。

[図8] 図 8 は、前記送液カセットの裏面側を示す斜視図。

[図9] 図 9 は、前記検体検出装置の断面図。

[図10] 図 1 0 は、加熱機構のヒータおよび試薬保持容器を示す斜視図。

[図11] 図 1 1 は、前記検体検出装置による検体の検出結果を示すグラフ。

[図12] 図 1 2 は、第 2 の実施形態に係る試薬保持容器を示す斜視図。

[図13A] 図 1 3 A は、前記試薬保持容器の伸長状態を示す断面図。

[図13B] 図 1 3 B は、前記試薬保持容器の収縮状態を示す断面図。

[図14A] 図 1 4 A は、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図14B] 図 1 4 B は、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図15A] 図 1 5 A は、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図15B] 図 1 5 B は、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

[図16] 図 1 6 は、前記試薬保持容器の製造工程を示す断面図。

発明を実施するための形態

[0009] 実施形態によれば、試薬保持容器は、筒状部品の軸方向一端を閉じることにより形成される試薬保持容器であって、前記一端は、筒状部品の軸方向と直交して延びる底壁を有し、この底壁は、筒状部品を平坦に接合した接合部により形成されている。

[0010] 実施態様によれば、検出装置は、検査器を装着可能な検査部、およびこの検査部を通して延び検体を流す微小流路を有する送液カセットと、送液カセットに接続され、微小流路に連通する前記試薬保持容器と、を備えている。

[0011] 以下、図面を参照しながら、実施形態に係る試薬保持容器およびこれを備えた検体検出装置について詳細に説明する。

図 1、図 2、図 3 は、第 1 の実施形態に係る試薬保持容器を示している。

図 1 および図 2 に示すように、試薬保持容器 1 0 は、下端が閉塞し、上端部

10bが開口した円筒形状に形成され、その中途部に、伸縮可能な蛇腹構造部12を有している。保持容器10の下端は、継ぎ目のない平坦な底壁10aを形成している。底壁10aは、保持容器10の軸方向に対して直交して延びている。試薬保持容器10は、一般的な蛇腹付きストローなどの一部と類似した構造を有している。

[0012] 底壁10aは、蛇腹構造12の谷部、つまり、凹部に連続して形成されている。これにより、蛇腹構造部12は、底壁10aから徐々に拡径するように外側に傾斜している。これにより、底壁10aと蛇腹構造部12との成す角度 θ は、90度以上に形成されている。本実施形態において、保持容器10の底壁10aは円形に形成され、少なくとも平坦部分の直径は、蛇腹構造部12の凹部内径の60～99%に形成されている。

[0013] 試薬保持容器10の材質は特に限定されないが、ポリプロピレンが好ましく、その他、ポリスチレン、ポリビニル、ポリエチレン、ポリカーボネート、ABS、ゴムなどを用いることができる。試薬保持容器10は、生体物質を検出するデバイスであるため、場合によっては滅菌処理が必要となる。滅菌の手法は限定されないが、ガンマ線滅菌、電子線滅菌、ガス滅菌、乾熱滅菌等が挙げられる。試薬保持容器10のガンマ線滅菌を行う場合、容器材料に耐ガンマ線添加剤が添加されていることが望ましい。

[0014] 本実施形態において、保持容器10に保持される試薬は、核酸あるいは酵素の少なくとも一方を含む試薬を保持対象としている。試薬として、加熱処理される試薬、例えば、核酸増幅反応を行う試薬は、100℃近い加熱処理が必要であるため、このような試薬を保持する保持容器10の材料は、例えば、120℃までの耐熱性を持つことが好ましい。また、プライマー等の核酸試薬や酵素試薬等は紫外光により分解されてしまう。そのため、これらの試薬を保持する場合、保持容器10は、入射光中の紫外光に対して90%以上の遮光率を持つ材質で形成されていることが好ましい。

[0015] 図2Aは、試薬保持容器10の蛇腹構造部12が伸長した状態を示し、図2Bは、蛇腹構造部12が収縮した状態を示している。収縮状態において、

蛇腹構造部 12 の内面は、互いに重なりながら収縮している。蛇腹部 12 の伸長、収縮は可逆性がある。本実施形態において、試薬保持容器 10 は、押圧負荷を受けていない状態では、図 2 A に示す伸長状態となっている。そして、後述する駆動機構により、下端 10 a が上端側に向かって押されることにより、図 2 B に示すように、蛇腹構造部 12 が収縮する。押圧力が除かれると、蛇腹構造部 12 は自身の弾性により伸長状態に復帰する。

[0016] 図 3 A、図 3 B は、上記のように構成された試薬保持容器 10 を、後述する検査装置のカセットに装着した状態を示している。保持容器 10 は、カセットに形成された円柱形状のボス部を容器内に挿入し、かつ、容器の上端部 10 b をボス部に嵌合することにより、カセットに装着される。図 3 A に示すように、伸長状態の保持容器 10 内に試薬が供給され、図 3 B に示すように、蛇腹構造部 12 が収縮することで、保持容器 10 内の試薬がカセットのカセット内の流路に押し出される。

[0017] なお、試薬保持容器 10 は、上述した円筒形状に限らず、多角筒形状、楕円筒形状等、他の形状としてもよい。また、蛇腹構造部を備えている場合に限らず、試薬保持容器 10 の内面に複数の連続した凹凸を備えた構造としてもよい。

[0018] 次に、上記の構成を有する試薬保持容器 10 の製造方法について説明する。まず、図 4 A に示すように、中途部に蛇腹構造部 12 を有する円筒形状の部品 11 を用意する。また、ほぼ半球形状の凹所 44 a を有する成形治具 44 を用意する。部品 11 は、蛇腹構造の上側に伸びる円筒部と、下側に延びる円筒部 10 d とを有している。

[0019] 図 4 B に示すように、この部品 11 の下側の下端部 10 d を成形治具 44 の凹所 44 a に上から押し込むことにより、円筒部 10 d を内側に変形させる。その際、成形治具 44 を加熱する、或いは溶剤を用いることにより、円筒部 10 d を容易に変形させることができる。

[0020] 次に、図 5 A、図 5 B に示すように、変形した円筒部 10 d を部品 11 の軸方向に沿って上下両方向から押圧して圧着することにより、継目の無い平

平坦な底壁 10a を形成する。例えば、先端が平坦な円柱形状の押圧治具 48 を部品 11 に挿入し、また、変形した円筒部 10d の外側に平坦な支持ブロック 46 を配置し、これら押圧治具 48 と支持ブロック 46 とで、内側に変形した円筒部 10d を両側から押圧することにより、円筒部 10d を平坦な底壁に変形させる。その際、超音波、熱、溶剤等を用いて圧着することにより、図 6 に示すように、内側に変形した部分が溶融し、かつ、押圧され、継目の無い平坦な底壁 10a が形成される。底部からのはみ出し部分がないため、後述するジャバラ部分の伸縮や、加熱の際に均一に処理することができる。

[0021] なお、図 4B に示した一段階目の加工の時点で内側に変形させる部分の面積は、円筒形の底面積よりも大きいことが望ましい。底面積よりも小さい場合、図 5B に示す二段階目の加工で底部を閉塞できない可能性があり、仮に閉塞できた場合でも底壁が肉薄になってしまうためである。従って、図 4A に示すように、変形される円筒部 10d の寸法は、半径 r 、軸方向長さ a とした場合、以下の式 (1) を満たすことが望ましい。

$$a > r \times (1/2) \cdots (1)$$

以上により、継目の無い平坦な底壁 10a を有する試薬保持容器 10 が形成される。保持容器 10 の底部に窪みがないことから、保持容器 10 内の試薬を流路に供給する際、薬液残りが低減される。この際、底壁 10a の直径は蛇腹構造部 12 の凹部の内径と同程度であることが好ましく、それよりも小さいと平坦な領域が少なくなり、液残り低減効果が少なくなってしまう。

[0022] 次に、上述した試薬保持容器 10 を用いる検体検出装置について説明する。図 7 は、核酸検出用の検出装置における送液カセット 20、この送液カセットに装着される複数の試薬保持容器、および検知器としての DNA チップ 40 を示し、図 8 は、送液カセットの裏面側を示し、図 9 は、送液カセットを駆動機構に装填した状態を示している。

[0023] 図 7、図 8、および図 9 に示すように、検体検出装置は、送液カセット 20 と、この送液カセットを駆動する駆動機構 30 とを備え、送液カセット 20

0は、駆動機構30に対して脱着自在に接続されている。

[0024] 送液カセット20は、例えば、矩形板状に形成された基材22を備えている。基材22の下面は、平坦な装着面を形成している。基材22の中央部には、基材22の下面側に開口した矩形状の凹所からなる検査部24が形成されている。この検査部24を覆うように、検査器、例えば、DNAチップ40が基材22の下面側に装着されている。

[0025] 基材22には、検査部24に気密に連通した微小流路28が形成されている。微小流路28の一端は、基材22の下面側に開口した流入口28aに連通し、他端は、基材22の下面側に開口した流出口28bに連通している。検査部24は、微小流路28の中途部に連通している。微小流路28は、例えば、0.3mm×0.3mmの径に形成されている。また、基材22には、基材の上面に開口した注入口21が形成されている。注入口21は、流入口28aと対向して位置しているとともに、脱着自在な封止栓23によって気密に閉じられている。

[0026] また、基材22の下面側には、流入口28aと検査部24との間で、微小流路28にそれぞれ連通する複数、例えば、1つの出入口28c、および3つの出入口28dが形成されている。基材22の下面において、流入口28a、流出口28b、出入口28c、28dの位置には、下方に突出する円柱形状のボス25がそれぞれ形成されている。

[0027] 送液カセット20の流入口28a、流出口28b、出入口28c、28dには、抽出試薬保持容器32a、廃液容器32b、増幅試薬保持容器32c、ハイブリダイゼーション試薬保持容器32d、洗浄試薬保持容器32e、検出試薬保持容器32fがそれぞれ装着され、気密に接続されている。これらの容器は、前述した試薬保持容器10と同様に構成されている。すなわち、各容器は、蛇腹構造部12を有する円筒形状に形成され、その上端開口に送液カセット20のボス25が気密に嵌合された状態で、送液カセット20に取り付けられている。これらの容器は、送液カセット20内の微小流路28を通じて接続されている。

- [0028] 各容器 3 2 a ~ 3 2 f は、送液カセット 2 0 の下面に対して垂直な方向に伸縮自在に装着されている。これらの容器 3 2 a ~ 3 2 f は、サンプル液量及び保持試薬量等によって内容積が互いに異なっている。また、検出する核酸の種類が多い場合は、増幅試薬保持容器 3 2 c を複数設け、複数種類の増幅用プライマーを用意することも可能である。
- [0029] 容器 3 2 a ~ 3 2 f は、それぞれ伸縮自在な蛇腹構造部 1 2 を有していることから、この容器を伸縮することにより内部容積が変化し、マイクロポンプとしても機能することができる。基材 2 2 の下面側の四隅には、基材 2 2 を支持する 4 本の支持脚 2 6 が立設されている。
- [0030] 図 9 に示すように、検体検出装置の駆動機構 3 0 は、ベース 3 2 と、ベースに設けられ、それぞれ抽出試薬保持容器 3 2 a、廃液容器 3 2 b、増幅試薬保持容器 3 2 c、ハイブリダイゼーション試薬保持容器 3 2 d、洗浄試薬保持容器 3 2 e、検出試薬保持容器 3 2 f を収縮させる昇降自在なプランジャ 3 4 a、3 4 b、3 4 c、3 4 d を有している。プランジャ 3 4 a、3 4 b、3 4 c、3 4 d の先端部は平坦に形成されている。
- [0031] 送液カセット 2 0 は、支持脚 2 6 により駆動機構 3 0 のベース 3 2 上に載置され、容器 3 2 a ~ 3 2 f の底壁 1 0 a は、対応するプランジャ 3 4 a、3 4 b、3 4 c、3 4 d の先端部に対向している。
- [0032] プランジャにより試薬保持容器を下から押すことにより蛇腹構造部 1 2 を収縮させることができ、マイクロポンプとしての機能を実現できるが、この際、試薬保持容器では溶着された底壁 1 0 a 部分に凹凸やはみ出し部がないため、より均一に液残りなく試薬を押し出すことができる。
- [0033] また、駆動機構 3 0 は、容器内の試薬あるいは検査液を加熱処理するための加熱機構、および図示しない核酸検出機構を備えている。加熱機構は様々な形態が考えられるが、例えば、図 9 および図 1 0 に示すように、半円筒形の窪みを持つ一対のヒータ 4 7 を備え、これらのヒータ 4 7 によって試薬保持容器 1 0 を両側から挟むことにより、容器内の試薬を加熱することができる。この際、試薬保持容器 1 0 では溶着部（底壁 1 0 a）に凹凸やはみ出し

部がないため、ヒータ 47 をより均一に保持容器 10 に接近させることができ、より均一に加熱することができる。

[0034] 次に、上記のように構成された検体検出装置を用いて核酸検出を行う手順について説明する。

まず、基材 22 の検査部 24 を覆うように、例えば、DNA チップ 40 を基材 22 の下面側に装着し、保持する。DNA チップには、所望の核酸プローブが形成されている。このような送液カセット 20 を駆動機構 30 上に載置する。抽出試薬保持容器 32 a は伸張した状態に維持され、他の容器 32 b ~ 32 e は、対応するプランジャ 34 b ~ 34 d により収縮した状態としておく。

[0035] 続いて、封止栓 23 を取り外し、注入口 21 および流入口 28 a を通して、所定量のサンプル（検査液体）を抽出試薬保持容器 32 a に注入する。抽出試薬保持容器 32 a には予め抽出試薬が乾燥保持されている。これにより、注入されたサンプルと抽出試薬とが混合される。このとき、特許文献 3 記載の試薬保持容器形状の場合は底部の凹部に入り込んだサンプルは抽出試薬と混合されにくい、本発明のような平坦な底部形状の場合は混合されやすい。次に駆動機構 30 の加熱機構によって抽出試薬保持容器 32 a 内のサンプルおよび抽出試薬を煮沸し、抽出反応を行う。なお、抽出反応は送液カセット 20 外で予め行い、抽出済みのサンプルを送液カセットの試薬保持容器に注入しても構わない。

[0036] 続いて、プランジャ 34 a により抽出試薬保持容器 32 a を下から押圧して収縮させる。これにより、抽出試薬保持容器 32 a 内のサンプルを所定量、押し出し、微小流路 28 を通して増幅試薬保持容器 32 c 内に移動させる。この際、微小流路 28 は密閉構造であり、流路内部の体積を一定とする必要がある。そのため、増幅試薬保持容器 32 c については、駆動機構 30 のプランジャ 34 c を下降させる。増幅試薬保持容器 32 c は、抽出試薬保持容器 32 a の収縮動作に同期して、蛇腹構造部 12 が伸長する。これにより、抽出試薬保持容器 32 a、および増幅試薬保持容器 32 c の内部容積を合

む、流路内部の体積を一定に維持する。

増幅試薬保持容器 3 2 c 内には増幅反応用のプライマーセット、酵素、バッファが予め乾燥保持されており、送液されたサンプルと混合される。次いで、図示しない加熱機構によってサンプルを加熱し、核酸増幅反応を行う。核酸増幅反応は、特に限定されないが、PCR、LAMP、SMA P 法などを用いる。

[0037] 続いて、プランジャ 3 4 c により増幅試薬保持容器 3 2 c を下から押圧して収縮させるとともに、プランジャ 3 4 d を下降させてハイブリダイゼーション試薬保持容器 3 2 d を伸張させる。これにより、増幅試薬保持容器 3 2 c 内のサンプルを所定量、押し出し、微小流路 2 8 を通してハイブリダイゼーション試薬保持容器 3 2 d 内に移動させる。ハイブリダイゼーション試薬保持容器 3 2 d 内にはハイブリダイゼーション反応用バッファが予め乾燥保持されており、送液されたサンプルと混合される。

[0038] 次に、プランジャ 3 4 d によりハイブリダイゼーション試薬保持容器 3 2 d を下から押圧して収縮させる。これにより、ハイブリダイゼーション試薬保持容器 3 2 d 内のサンプルを所定量、押し出し、微小流路 2 8 を通して検査部 2 4 に送液し、DNAチップ 4 0 に供給する。核酸検出用のDNAチップ 4 0 には予め核酸検出用の核酸プローブが固定化されている。そして、加熱機構によってDNAチップ 4 0 を加熱することにより、サンプルとハイブリダイゼーション反応を行う。

[0039] これに同期して、プランジャ 3 4 b を下降させることにより廃液容器 3 2 b を伸張させ、検査を行いながら、サンプルを、検査部 2 4 から微小流路 2 8 を通して廃液容器 3 2 b に移動させる。次に、プランジャにより洗浄試薬保持容器 3 2 e を押し上げて収縮させ、予め洗浄試薬保持容器 3 2 e 内に収容されていた洗浄試薬を微小流路 2 8 を通してDNAチップ 4 0 上に移動させる。更に、加熱機構によってDNAチップ 4 0 を加熱することにより、非特異的に吸着したサンプルを洗浄試薬により除去する。

[0040] 続いて、プランジャ 3 4 b を下降させて廃液容器 3 2 b を伸張させ、DN

Aチップ40上の洗浄試薬を廃液容器32bに移動させる。更に、プランジヤにより検出試薬保持容器32fを押し上げて収縮させ、予め洗浄試薬保持容器32e内に収容されていた検出試薬を微小流路28を通してDNAチップ40上に移動させる。DNAチップ40上のサンプルと検出試薬を反応させた後、検出試薬からの信号を検出することによってサンプル中に含まれる核酸の種類を特定することができる。核酸検出法は特に限定されないが、蛍光試薬を用いた蛍光検出法や、電気化学活性試薬を用いた電流検出法などである。

[0041] 検査終了後、送液カセット20を駆動機構30のベース32から取り外し、更に、DNAチップ40を基材22から取り外した後、必要であれば、送液カセット20を破棄する。

[0042] (実施例1)

以下に、上記実施形態の送液カセットを用いた核酸検出の使用例を具体的に説明する。

1. 検体検出装置の準備

1-1. 試薬保持容器の準備

以下、5つの試薬保持容器にそれぞれ試薬を注入した。

- 1) 抽出試薬保持容器：抽出用バッファ
- 2) 増幅試薬保持容器：マウス2C39増幅用LAMPプライマー（配列A～D）、酵素、増幅用バッファ
- 3) ハイブリダイゼーション試薬保持容器：SSC
- 4) 洗浄試薬保持容器：SSC
- 5) 検出試薬保持容器：ヘキスト33258

次に、上記1)、2)、3)については、真空乾燥処理を行い、容器の蛇腹構造部に試薬を乾燥固定させた。

[0043] 1-2. 核酸検出用チップの準備

電流検出式の核酸検出用チップ上の各電極に、以下に示す3種類の核酸検出用プローブ（配列E～G）を固定化した。

1) マウス2C39検出用 (配列E)

2) マウス2C29検出用 (配列F)

3) マウスNAT1検出用 (配列G)

1-3. 核酸検出用デバイスの組立

送液カセット20に対し、図7および図8に示すように、上記5つの試薬保持容器、廃液容器、核酸検出用チップを装着した。

[0044] 2. 核酸検出用デバイスを用いた核酸検出

まず、粗抽出済みのマウス2C39配列を持つサンプルをサンプル注入口21から注入し、抽出試薬保持容器32a内で抽出用バッファと混合させたのち、95℃で5分保持することで抽出反応を行った。抽出済みサンプルを増幅試薬保持容器32cに送液し、増幅試薬と混合した後、63℃で40分保持することで増幅反応を行った。

[0045] 増幅済みサンプルを核酸検出用のDNAチップ40に送液し、45℃で10分保持することでチップ上の核酸検出用プローブとハイブリダイゼーション反応を行った。増幅済みサンプルを廃液容器32bに移動させた後、洗浄試薬保持容器32eから洗浄試薬を核酸検出用チップ上へ送液し、30℃で5分保持することで、非特異的に吸着した核酸を除去した。

[0046] 洗浄試薬を廃液容器32bに送液したのち、検出試薬保持容器32fから検出試薬を核DNAチップ40上に送液し、室温で3分保持することで検出試薬を核酸と反応させた。最後にDNAチップ40の各電極から得られる電流値を測定することによって核酸検出を行った。

[0047] 3. 結果

各電極から得られた電流値を図11に示す。2C39検出用のプローブが固定化された電極からは、他の電極と比較して有意に大きな電流値が得られていることから、サンプル中の2C39配列が以下の通りに検出されたことがわかった。

[0048] A : TCAAAACGATCCTGGAAAATAATGGACATTCATTCTGAGCTGTGC

B : GGAAAACTAAATGAGAATGTCAAGGAGAAAAAACATTCTTGACTTC

C : TTCAGGCTCACCTTGTGA

D : CTGTGGCAATAAAGCACC

E : CTCCTCATGATTGCAGGTGA

F : GTCCAGAGATTCATCGACCTCCTC

G : CAGGTGACCATCAGTGACAGG

以上のように構成された試薬保持容器およびこれを用いる検出装置によれば、保持容器の底壁は窪みのない平坦な接合部によって形成されていることから、保持容器内から試薬等を供給する際、液残りを極力少なくすることができる。これにより、比較的高価な試薬を無駄なく使用することができ、結果として、低コスト化を図ることができる。

[0049] 保持容器の底壁は平坦に形成されているため、この保持容器の伸縮を制御する駆動機構は、保持容器を押上げるだけの簡単な構成とすることができる。X Y 軸、回転方向の位置合わせも厳密である必要がないことから、非常に簡易な駆動機構とすることができる。

[0050] 上記のように構成された検体検出装置によれば、試薬保持容器をマイクロポンプとして用いることができ、流路内の空気の膨張、収縮に影響されることなく、微量の検査液体を安定して送液することができる。マイクロポンプの収缩量により送液量を定めることができ、正確な量の液体を安定して送ることが可能となる。

[0051] 送液カセットについては、使用目的にもよるが、使い捨てが望まれる場合が多い。そのため、流路部品の価格は可能な限り安価が望ましい。本実施形態によれば、マイクロポンプを動作させるための駆動機構や加熱機構は、流路部品の一部ではなく、容易に切り離すことを可能としている。

[0052] 以上のことから、送液時の液残りを低減し、制御装置の構成を簡略にすることが可能な試薬保持容器、その製造方法、および試薬保持容器を用いた検出装置が得られる。

[0053] 次に、第2の実施形態に係る試薬保持容器およびその製造方法について説明する。

図 1 2、図 1 3 A、図 1 3 Bは、第 2 の実施形態に係る試薬保持容器を示している。試薬保持容器 1 0 は、下端が閉塞し、上端部 1 0 b が開口した円筒形状に形成され、その中途部に、伸縮可能な蛇腹構造部 1 2 を有している。保持容器 1 0 の下端は、継ぎ目のない平坦な底壁 1 0 a を形成し、周囲には下端部を接合した余剰部 1 0 c が存在している。底壁 1 0 a は、保持容器 1 0 の軸方向に対して直交して延び、同様に、余剰部 1 0 c は、保持容器 1 0 の下端から軸方向と直交する方向に延出している。試薬保持容器 1 0 は、一般的な蛇腹付きストローなどの一部と類似した構造を有している。

[0054] 底壁 1 0 a は、蛇腹構造 1 2 の谷部、つまり、凹部に連続して形成されている。これにより、蛇腹構造部 1 2 は、底壁 1 0 a から徐々に拡径するように外側に傾斜している。これにより、底壁 1 0 a と蛇腹構造部 1 2 との成す角度 θ は、90 度以上に形成されている。本実施形態において、保持容器 1 0 の底壁 1 0 a は円形に形成され、少なくとも平坦部分の直径は、蛇腹構造部 1 2 の凹部内径の 60 ~ 99 % に形成されている。

[0055] 試薬保持容器 1 0 の材質は特に限定されないが、ポリプロピレンが好ましく、その他、ポリスチレン、ポリビニル、ポリエチレン、ポリカーボネート、ABS、ゴムなどを用いることができる。試薬保持容器 1 0 は、生体物質を検出するデバイスであるため、場合によっては滅菌処理が必要となる。滅菌の手法は限定されないが、ガンマ線滅菌、電子線滅菌、ガス滅菌、乾熱滅菌等が挙げられる。試薬保持容器 1 0 のガンマ線滅菌を行う場合、容器材料に耐ガンマ線添加剤が添加されていることが望ましい。

[0056] 本実施形態において、保持容器 1 0 に保持される試薬は、核酸あるいは酵素の少なくとも一方を含む試薬を保持対象としている。試薬として、加熱処理される試薬、例えば、核酸増幅反応を行う試薬は、100℃近い加熱処理が必要であるため、このような試薬を保持する保持容器 1 0 の材料は、例えば、120℃までの耐熱性を持つことが好ましい。また、プライマー等の核酸試薬や酵素試薬等は紫外光により分解されてしまう。そのため、これらの試薬を保持する場合、保持容器 1 0 は、入射光中の紫外光に対して 90 % 以

上の遮光率を持つ材質で形成されていることが好ましい。

[0057] 図 1 3 A は、試薬保持容器 1 0 の蛇腹構造部 1 2 が伸長した状態を示し、図 1 3 B は、蛇腹構造部 1 2 が収縮した状態を示している。収縮状態において、蛇腹構造部 1 2 の内面は、互いに重なりながら収縮している。蛇腹部 1 2 の伸長、収縮は可逆性がある。本実施形態において、試薬保持容器 1 0 は、押圧負荷を受けていない状態では、図 1 3 A に示す伸長状態となっている。そして、前述した駆動機構により、下端 1 0 a が上端側に向かって押されることにより、図 1 3 B に示すように、蛇腹構造部 1 2 が収縮する。押圧力が除かれると、蛇腹構造部 1 2 は自身の弾性により伸長状態に復帰する。

[0058] なお、試薬保持容器 1 0 は、上述した円筒形状に限らず、多角筒形状、楕円筒形状等、他の形状としてもよい。また、蛇腹構造部を備えている場合に限らず、試薬保持容器 1 0 の内面に複数の連続した凹凸を備えた構造としてもよい。

[0059] 次に、上記の構成を有する試薬保持容器 1 0 の製造方法について説明する。まず、図 1 4 A に示すように、中途部に蛇腹構造部 1 2 を有する円筒形状の部品 1 1 を用意する。この部品 1 1 の下端部を、円筒の軸方向と直交する 2 方向から挟み込むように押圧して圧着し、接合する。例えば、一對の矩形形状のブロック 5 0 a、5 0 b により部品 1 1 の下端部を挟み込み、超音波、熱、溶剤を用いて圧着する。これにより、図 1 4 B に示すように、部品 1 1 の下端部は閉塞され、底壁 1 0 a、および円筒の軸方向に平坦な第 1 接合部 1 4 が形成される。

[0060] 続いて、図 1 5 A に示すように、第 1 接合部 1 4 をその根元から筒の軸に垂直な方向に折曲げ、底壁 1 0 a に重ねる。この状態で、図 1 5 B に示すように、底壁 1 0 a および第 1 接合部 1 4 を、筒の軸方向に沿って両方向から押圧して圧着することにより、継ぎ目がなく、均一な厚さの平坦な第 2 接合部 1 5、ここでは、底壁 1 0 a を形成する。例えば、先端が平坦な円柱形状の芯部材 5 2 を部品 1 1 に挿入し、また、底壁 1 0 a の外側に平坦な支持ブロック 5 4 を配置し、これら芯部材 5 2 と支持ブロック 5 4 とで底壁 1 0 a

および第1接合部14を両側から圧着する。その際、超音波、熱、溶剤等を用いて圧着することにより、図16に示すように、底壁10aおよび第1接合部14が熔融し、かつ、押圧され、継目の無い平坦な底壁10aが形成される。

[0061] 図14Bに示す、第1接合部14を形成した状態、および図15Aに示す、第1接合部14を折り曲げた状態では、いずれも、底壁10aに窪みが残っているが、図16に示すように、底壁10aおよび第1接合部14を、筒の軸方向に沿って両方向から押圧して圧着することにより、継ぎ目がなく、均一な厚さの平坦な底壁10aが得られる。これにより、試薬保持容器10が製造される。

[0062] 保持容器10の底部に窪みがないことから、保持容器内の試薬を流路に供給する際、薬液残りが低減される。この際、底壁10aの直径は蛇腹構造部12の凹部の内径と同程度であることが好ましい。

[0063] 以上のように構成された試薬保持容器によれば、保持容器の底壁は窪みのない平坦な接合部によって形成されていることから、保持容器内から試薬等を供給する際、液残りを極力少なくすることができる。これにより、比較的高価な試薬を無駄なく使用することができ、結果として、低コスト化を図ることができる。上記試薬保持容器を前述した検査装置に用いることにより、前述した第1の実施形態と同様の作用効果を得ることができる。

[0064] この発明は上述した実施形態そのままに限定されるものではなく、実施段階ではその要旨を逸脱しない範囲で構成要素を変形して具体化可能である。また、上記実施形態に開示されている複数の構成要素の適宜な組み合わせにより、種々の発明を形成できる。例えば、実施形態に示される全構成要素から幾つかの構成要素を削除してもよい。さらに、異なる実施形態にわたる構成要素を適宜組み合わせてもよい。

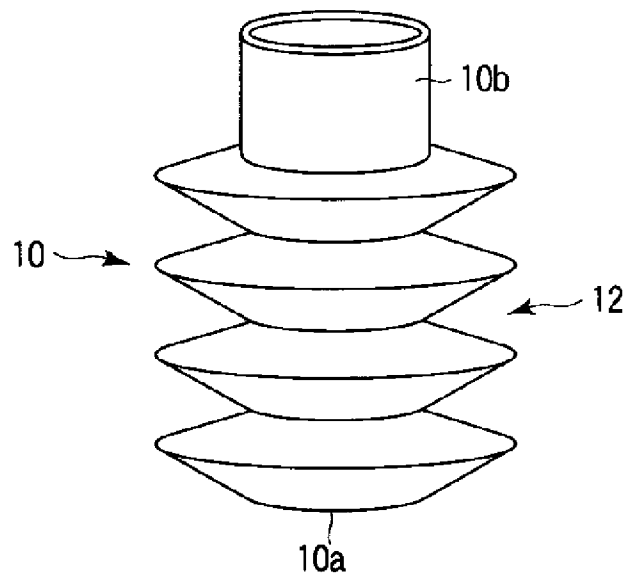
検出装置の各構成部材の形状、寸法、材質等は、前述した実施形態に限定されることなく、必要に応じて、変更可能である。

請求の範囲

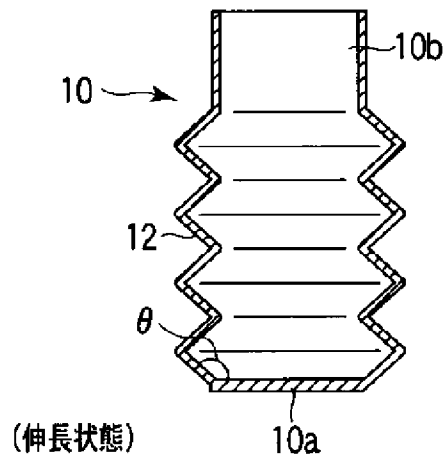
- [請求項1] 筒状部品の軸方向一端を閉じることにより形成される試薬保持容器であって、
- 前記一端は、筒状部品の軸方向と直交して延びる底壁を有し、この底壁は、筒状部品を平坦に接合した接合部により形成されている試薬保持容器。
- [請求項2] 前記筒状部品の軸方向中途部に形成された蛇腹構造部を有し、軸方向に沿って収縮可能な請求項1に記載の試薬保持容器。
- [請求項3] 前記接合部は円形に形成され、その直径は前記蛇腹構造部の凹部内径の60～99％に形成されている請求項2に記載の試薬保持容器。
- [請求項4] 前記底壁と前記蛇腹構造部との成す角度は、90度以上に形成されている請求項2に記載の試薬保持容器。
- [請求項5] 試薬保持容器の製造方法であって、
- 筒状部品の一端部を筒内側方向に変形させ、
- 前記変形された一端部を筒状部品の軸方向に沿って両方向から押圧して圧着し、平坦に接合された接合部を形成する試薬保持容器の製造方法。
- [請求項6] 前記変形される筒部の端部の長さを a 、筒部の半径を r としたとき、
- $a > r \times (1/2)$ を満たしている請求項5に記載の試薬保持容器の製造方法。
- [請求項7] 半球状の凹所を有する成形治具の前記凹所に、前記筒状部品の一端部を押し当てて変形させる請求項5に記載の試薬保持容器の製造方法。
- [請求項8] 前記筒状部品の一端部を熱、あるいは溶剤を用いて変形させる請求項5又は7に記載の試薬保持容器の製造方法。
- [請求項9] 前記接合部は超音波、熱、あるいは溶剤を用いて圧着する請求項5に記載の試薬保持容器の製造方法。

- [請求項10] 検査器を装着可能な検査部、およびこの検査部を通して延び検体を流す微小流路を有する送液カセットと、
- 前記送液カセットに接続され、前記微小流路に連通する請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の試薬保持容器と、
- を備える検出装置。
- [請求項11] 前記試薬保持容器を伸縮させ、液体を前記試薬保持容器内と前記微小流路との間で押し出しあるいは引き込みする駆動機構を備えている
- 請求項 10 に記載の検出装置。

[図1]

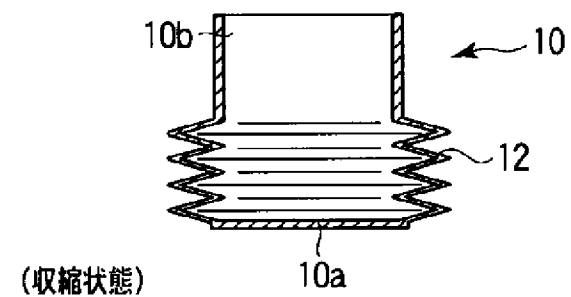


[図2A]



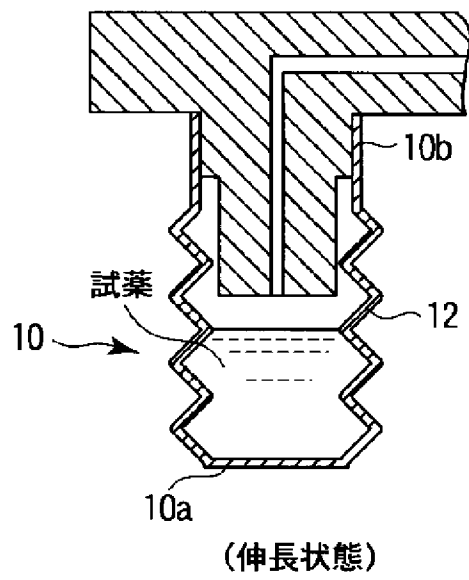
(伸長状態)

[図2B]

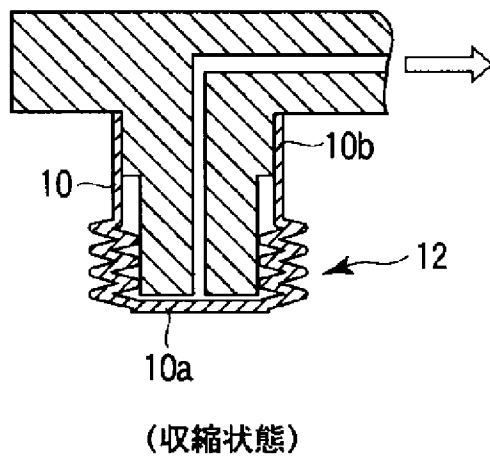


(収縮状態)

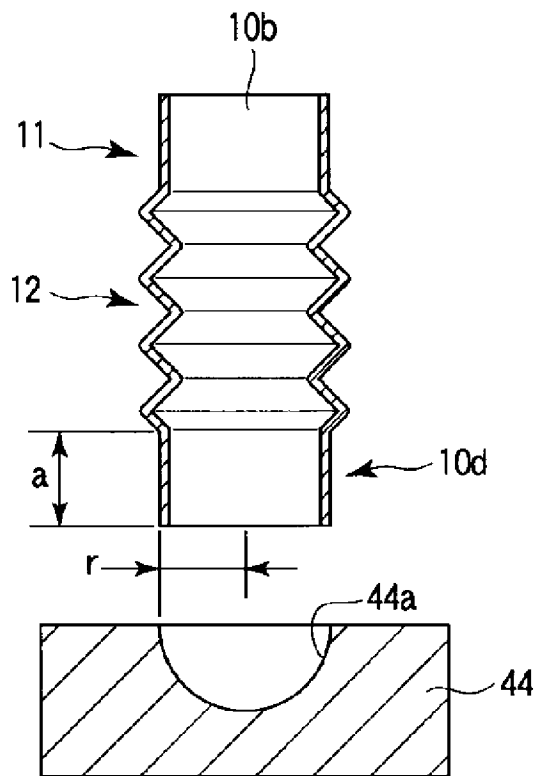
[図3A]



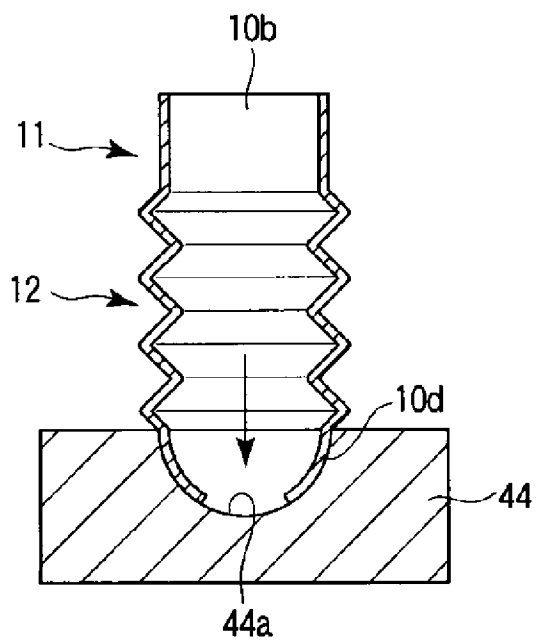
[図3B]



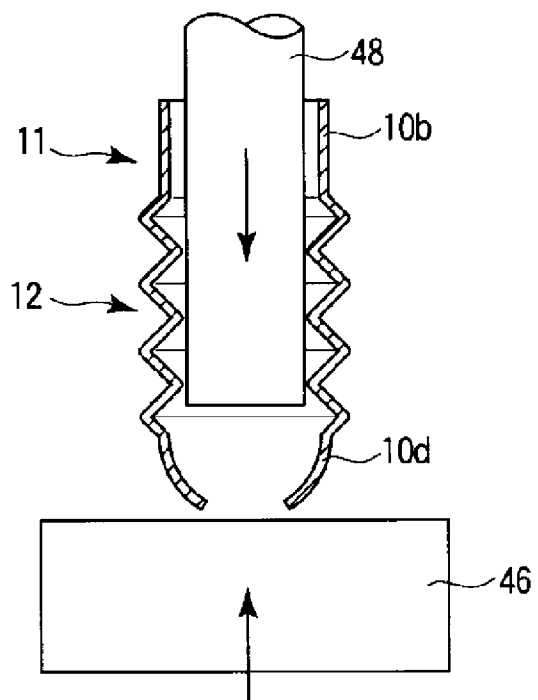
[図4A]



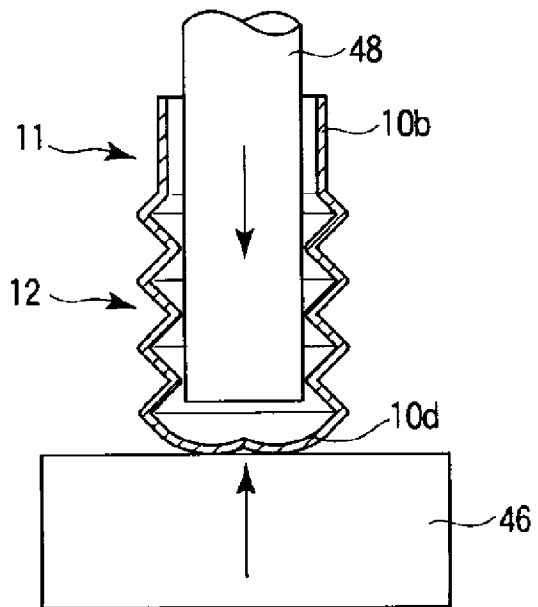
[図4B]



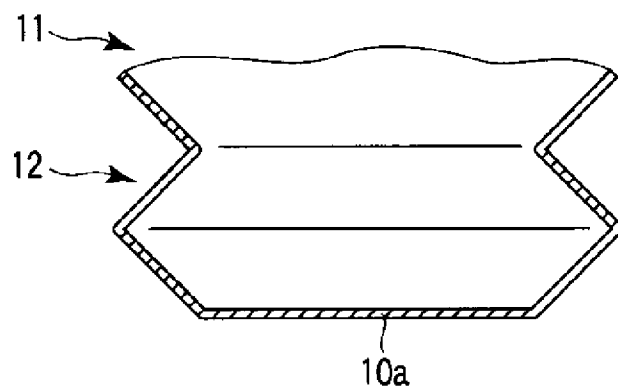
[図5A]



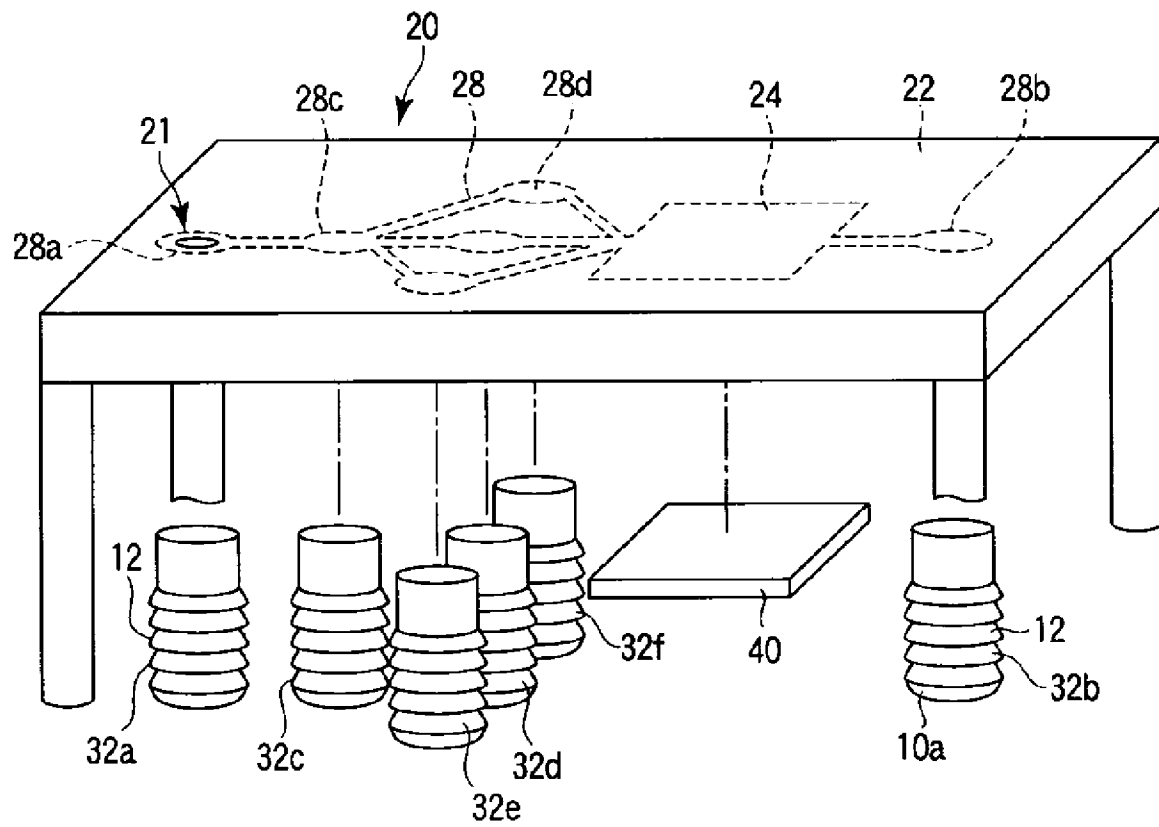
[図5B]



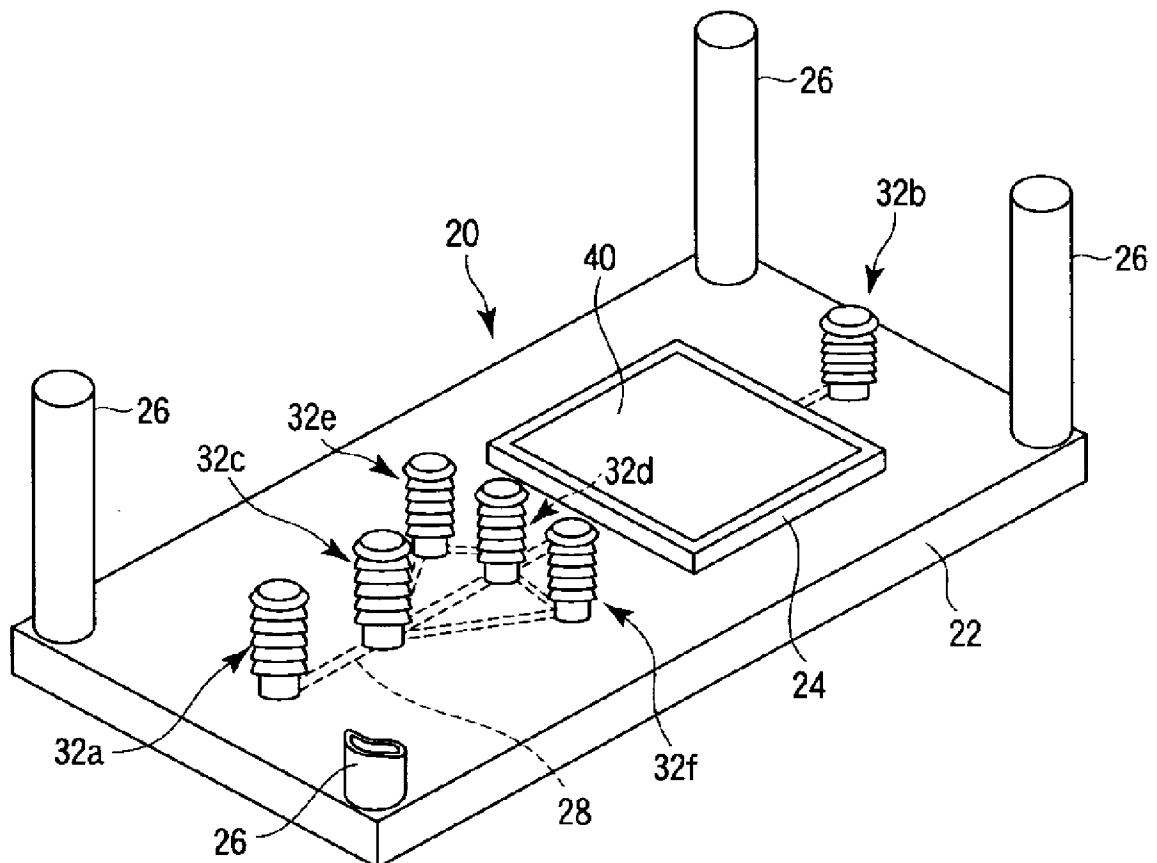
[図6]



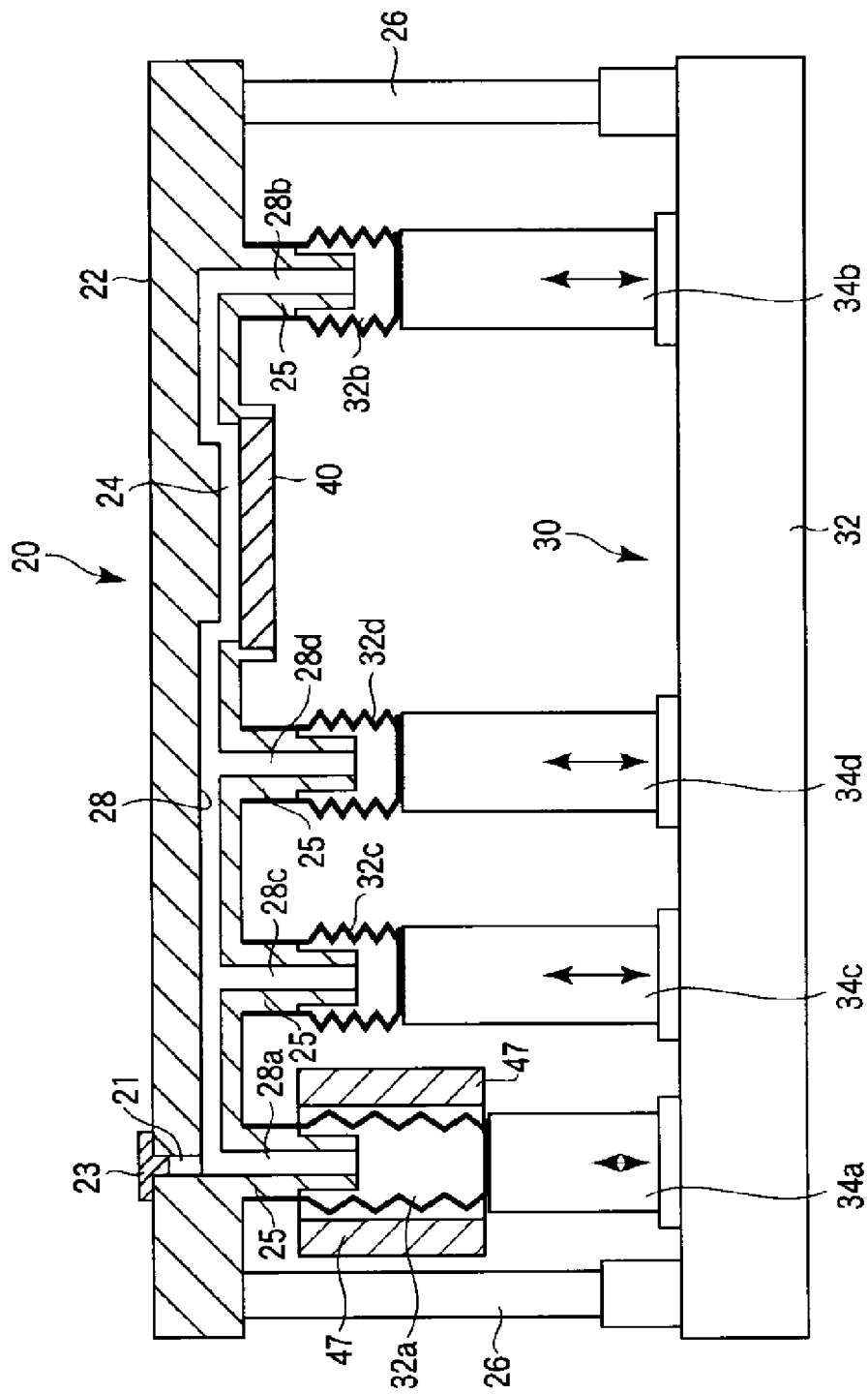
[図7]



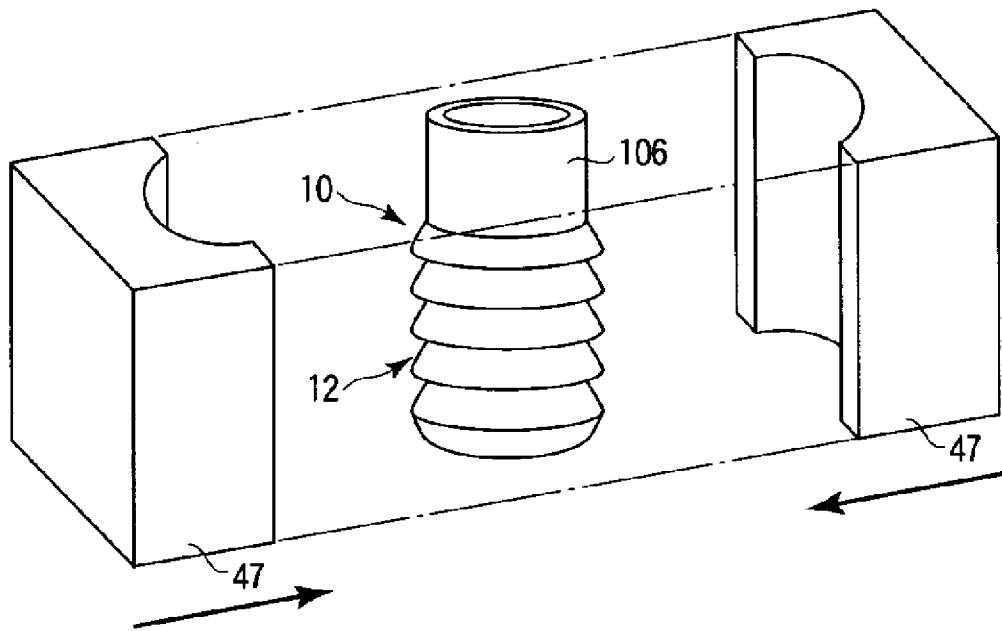
[図8]



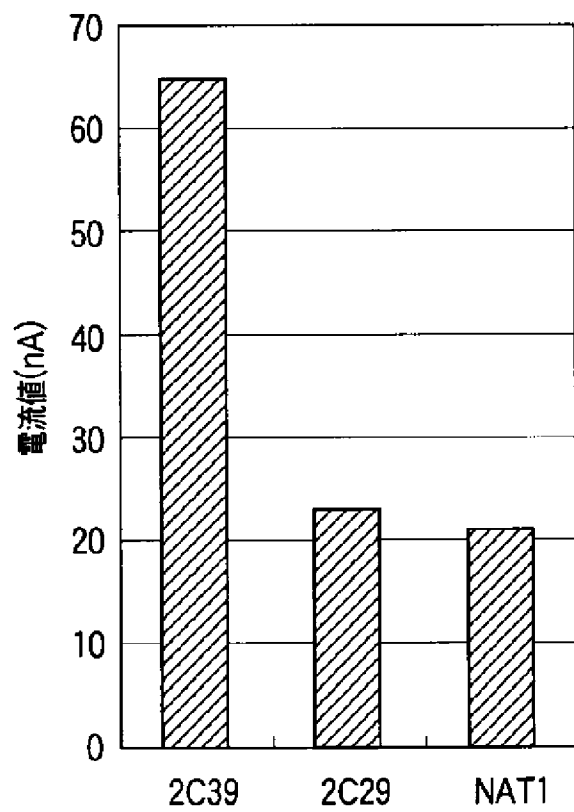
[図9]



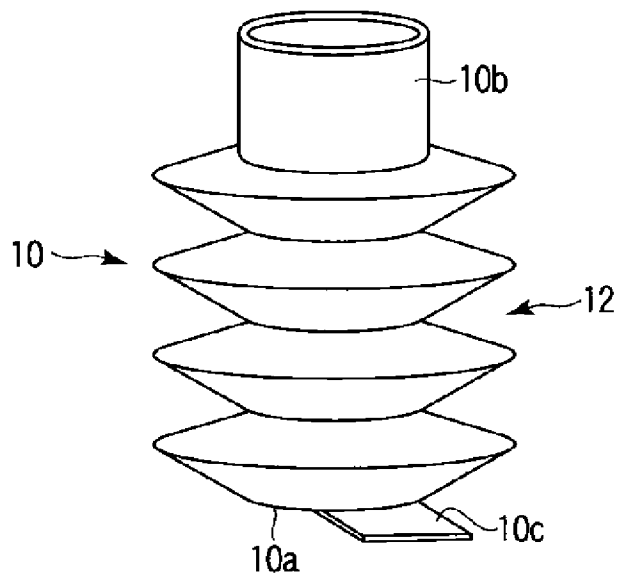
[図10]



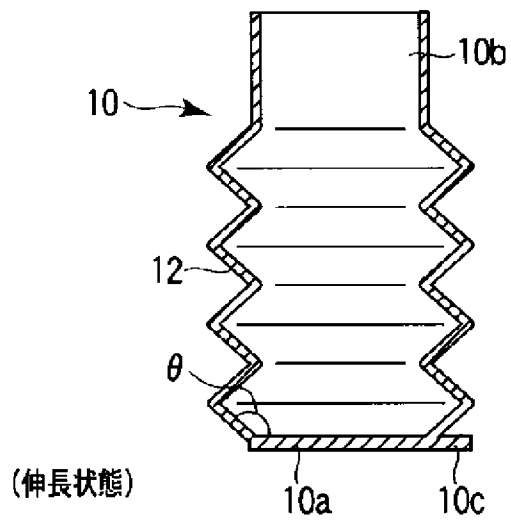
[図11]



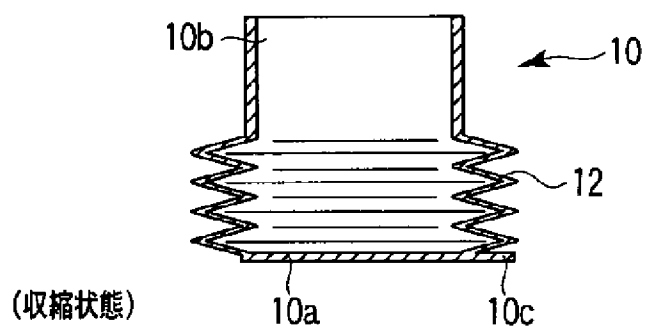
[図12]



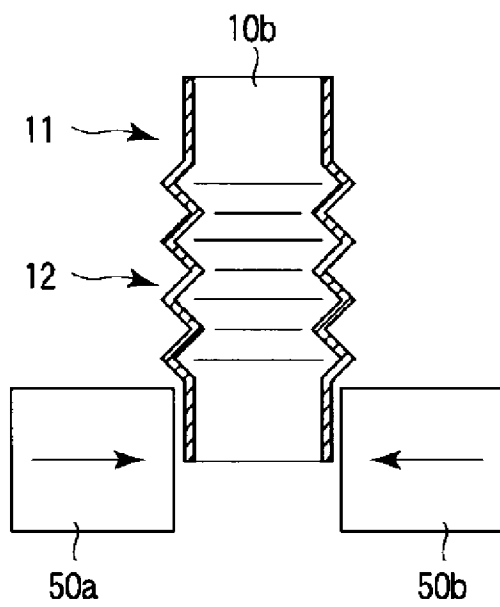
[図13A]



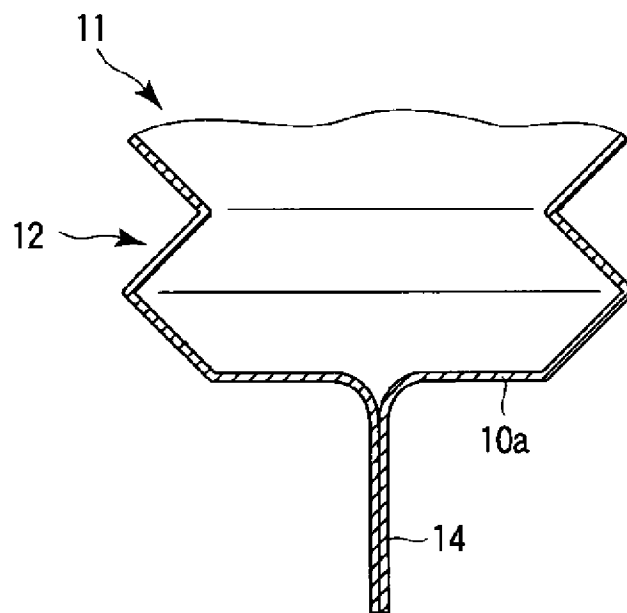
[図13B]



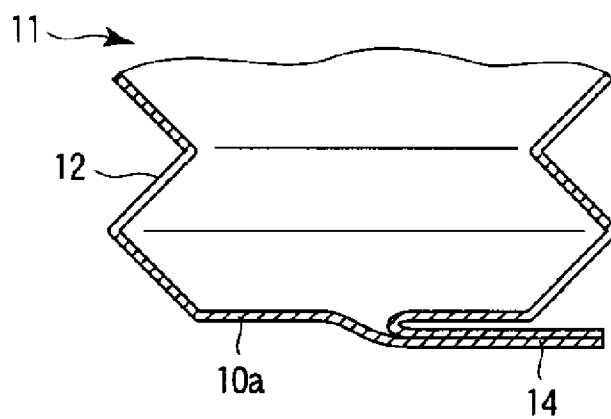
[図14A]



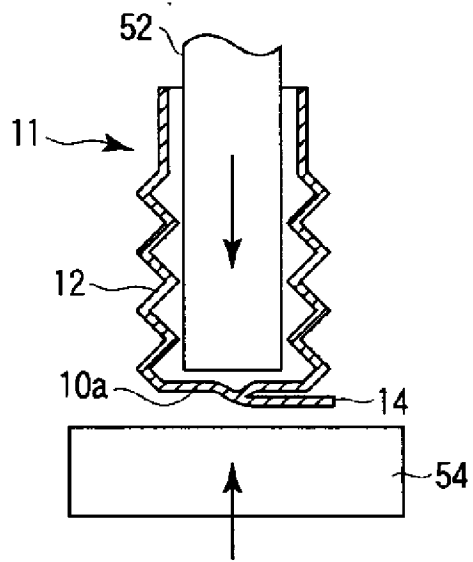
[図14B]



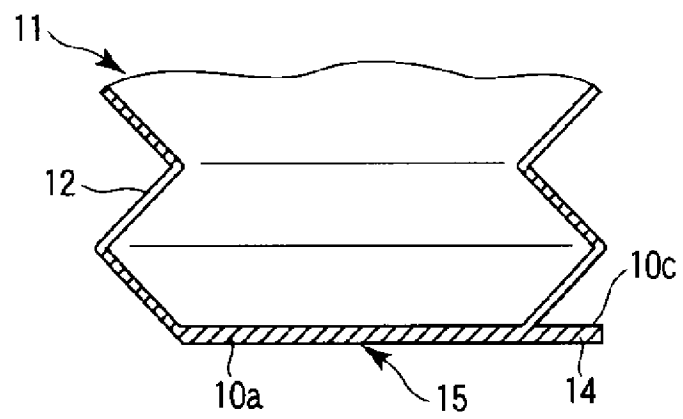
[図15A]



[図15B]



[図16]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/066101

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N35/02(2006.01)i, G01N35/08(2006.01)i, G01N37/00(2006.01)i

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)

G01N35/00-37/00, B29C31/00-73/34, B65D1/00-1/48, B65D35/00-35/56

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 1996-2010

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2010 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2010

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2008-209331 A (Hitachi High-technologies Corp.), 11 September 2008 (11.09.2008), paragraph [0012]; fig. 3 (Family: none)	1-11
Y	JP 37-16191 B1 (Shohei OKEGAWA), 10 October 1962 (10.10.1962), Detailed Explanation of the Invention; fig. 2 (Family: none)	1-11
Y	JP 39-22220 B1 (Izochubu), 08 October 1964 (08.10.1964), page 1, right column, lines 17 to 38; fig. 1 to 3 (Family: none)	1-11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" 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)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" 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

"X" 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

"Y" 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
12 November, 2010 (12.11.10)Date of mailing of the international search report
30 November, 2010 (30.11.10)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/066101

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 53-118481 A (Donald J. Greenspan), 16 October 1978 (16.10.1978), page 4, lower left column, line 16 to page 5, upper left column, line 9; fig. 1 to 4 & GB 1595135 A & DE 2807556 A & DE 2807556 A1 & FR 2380858 A & CA 1103876 A	1-11
Y	JP 2006-30089 A (Toshiba Corp.), 02 February 2006 (02.02.2006), fig. 2 (Family: none)	10, 11
A	WO 2008/152980 A1 (Olympus Corp.), 18 December 2008 (18.12.2008), paragraph [0111]; fig. 21 (Family: none)	1-11

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N35/02 (2006.01)i, G01N35/08 (2006.01)i, G01N37/00 (2006.01)i

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（I P C））

Int.Cl. G01N35/00-37/00, B29C31/00-73/34, B65D 1/00- 1/48, B65D35/00-35/56

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 0 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 0 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 0 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）

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 請求項の番号
Y	JP 2008-209331 A（株式会社日立ハイテクノロジーズ）2008.09.11, 【0012】、【図3】（ファミリーなし）	1-11
Y	JP 37-16191 B1（桶川 正平）1962.10.10, 発明の詳細な説明、第 2図（ファミリーなし）	1-11
Y	JP 39-22220 B1（イゾチューブ）1964.10.08, 第1頁右欄第17行 －第38行、第1図－第3図（ファミリーなし）	1-11

☒ 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

1 2 . 1 1 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

3 0 . 1 1 . 2 0 1 0

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

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）

福田 裕司

2 J

4 6 3 5

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

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 請求項の番号
Y	JP 53-118481 A (ドナルド・ジェイ・グリーンズパン) 1978. 10. 16, 第4頁左下欄第16行ー第5頁左上欄第9行、F i g . 1ー4 & GB 1595135 A & DE 2807556 A & DE 2807556 A1 & FR 2380858 A & CA 1103876 A	1-11
Y	JP 2006-30089 A (株式会社東芝) 2006. 02. 02, 【図2】 (ファミリ ーなし)	10, 11
A	WO 2008/152980 A1 (オリンパス株式会社) 2008. 12. 18, 【0111】、 【図21】 (ファミリーなし)	1-11