(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
2024年8月2日(02.08.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/157889 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 1/40 (2006.01) *G01N 1/10* (2006.01)
B01D 57/02 (2006.01) *G01N 27/447* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2024/001427

(22) 国際出願日： 2024年1月19日(19.01.2024)

(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 2023-008270 2023年1月23日(23.01.2023) JP

(71) 出願人: 株式会社ＰＲＯＶＩＧＡＴＥ (PROVIGATE INC.) [JP/JP]; 〒1130033 東京都文京区本郷七丁目３番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 篠原 赳 (SHINOHARA Takeshi); 〒1130033 東京都文京区本郷七丁目３番１号 株式会社ＰＲＯＶＩＧＡＴＥ内 Tokyo (JP). 服部 裕子 (HATTORI Yuko); 〒1130033 東京都文京区本郷七丁目３番１号 株式会社ＰＲＯＶＩＧＡＴＥ内 Tokyo (JP). 関井 良純 (SEKII Yoshizumi); 〒1130033 東京都文京区本郷七丁目３番１号 株式会社ＰＲＯＶＩＧＡＴＥ内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 赤津 豪 (AKATSU Takeshi); 〒1631030 東京都新宿区西新宿三丁目７番１号 新宿パークタワーＮ３０ Ｏｐｅｎ Ｆｒｏｎｔｉｅｒ特許事務所 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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(54) **Title:** METHOD AND APPARATUS FOR TREATING A TARGET SUBSTANCE BY ELECTROPHORESIS

(54) 発明の名称： 電気泳動により対象物質を処理する方法及び装置

[図1]

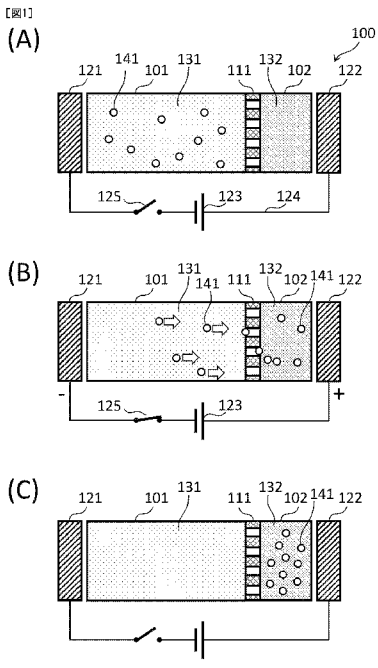


FIG. 1

(57) **Abstract:** An embodiment according to the present disclosure provides a method for treating a target substance by electrophoresis, said method comprising: providing a separator that permits pass through of the target substance; introducing, to a first side of the separator, a first solution containing the target substance; introducing a second solution to a second side of the separator; and causing, by electrophoresis, a selective transfer of the target substance from the first solution through the separator to the second solution.

(57) 要約：本開示の一実施形態によれば、電気泳動により対象物質を処理する方法であって、対象物質の通過を許容するセパレータを設けること；対象物質を含有する第一溶液をセパレータの第一側に導入すること；セパレータの第二側に第二溶液を導入すること；及び対象物質を、第一溶液から前記セパレータを通って第二溶液へ、電気泳動によって選択的に移動させること；を備える方法が提供される。

WO 2024/157889 A1

［続葉有］

(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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告(条約第21条(3))

— 補正された請求の範囲及び説明書(条約第19条(1))

明　細　書

発明の名称 ： 電気泳動により対象物質を処理する方法及び装置

技術分野

[0001] 本発明は、電気泳動により対象物質を処理する方法及び装置に関する。

背景技術

[0002] 溶液中の物質を分離する数多くの手法が知られている。

[0003] 電気泳動もその一つの手法である。種々の電気泳動法が開発されている。例えば、２次元電気泳動は、順番に２つの方向に電気泳動を行って対象物質を分離する手法であり、タンパク質の分析に広く使われている。一般的には、ポリアクリルアミドゲルを用いて等電点電気泳動で直線方向に分離を行い（１次元）、次にそれに直角の方向にＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）によって分子量に基づいて分離する（２次元目）。この手法は、２回の電気泳動を必要とし、２次元目ゲルの面積も必要である。

[0004] 透析も、物質の分離の一手法である。種々の透析法が開発されている。例えば、非連続ダイアフィルトレーションは、遠心式限外ろ過によって濃縮し、バッファで希釈することでバッファ交換を行う。このように、透析は一般に、大型の装置、大量の溶媒（バッファ）、及び長い処理時間（数時間から丸一日）を必要とする。遠心式限外ろ過は、ろ過の目詰まりを起こしやすく、沢山の夾雑物を含むクルードサンプルには、向いていない。

[0005] 透析は浸透圧に基づく現象であるため、そのままでは対象物質を濃縮することはできない。濃縮を実施するためには、外液に５０％～６０％のグリセロールを混合する。これにより、内液の水は外液に排出される。しかし、グリセロールは、対象物質が存在する内液に入り混合される。濃いグリセロールは、その溶液の粘性を高める。したがって、混合されたグリセロールが、その内液に含まれる対象物質の分析又は測定に影響を及ぼし得る。また、グリセロールは非イオン性物質であり電荷を持たないため、電気泳動を用いた分離はできない。

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 上記例示から理解できるように、より簡便かつ効率的な物質の分離方法が求められている。

課題を解決するための手段

[0007] 本開示の一実施形態によれば、電気泳動により対象物質を処理する方法が提供される。一実施形態によれば、方法は、

対象物質の通過を許容するセパレータを設けること；

前記対象物質を含有する第一溶液を前記セパレータの第一側に導入すること；

前記セパレータの第二側に第二溶液を導入すること；及び

前記対象物質を、前記第一溶液から前記セパレータを通って前記第二溶液へ、電気泳動によって選択的に移動させること；

を備える。

[0008] 本開示の一実施形態によれば、電気泳動により対象物質を処理する装置（デバイス）が提供される。一実施形態によれば、装置（デバイス）は、

第一溶液室（投入室）；

前記第一溶液室（投入室）に隣接する第二溶液室（溶出室）；及び

前記第一溶液室と前記第二溶液室とを分画し、前記第一溶液室から前記第二溶液室への対象物質の通過を許容し、かつ通電性を有するセパレータ；

を備え、

前記第一溶液室が、前記対象物質を含有する第一溶液で満たされ；

前記第二溶液室が第二溶液で満たされ；

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場が印加されて、前記対象物質を、前記第一溶液室から前記セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させる、

ように構成されている。

[0009] これにより、例えば、電気泳動により対象物質を簡便又は効率的に行うことができ、その装置もコンパクトにできる。

[0010] 本開示のさらなる態様及び利点は、本開示の例示的な実施形態のみが示され、説明される以下の詳細な説明から当業者には容易に明らかになるであろう。理解されるように、本開示は、他の異なる実施形態が可能であり、そのいくつかの詳細は、本開示から逸脱することなく、様々な明白な点で修正が可能である。したがって、図面及び説明は、本質的に例示と見なされるべきであり、限定と見なされるべきではない。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]一実施形態にかかる電気泳動デバイスの模式図。

[図2]一実施形態にかかる電気泳動デバイスの模式図。

[図3]一実施形態にかかる電気泳動デバイスの模式図。

[図4]一実施形態にかかる電気泳動デバイスの模式図。

[図5]一実施形態にかかる電気泳動デバイスの模式図。

[図6]一実施例にかかる濃縮率の結果を表すグラフ。

[図7]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図8]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図9]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図10]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図11]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図12]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図13]上記実施例でのアルブミンとアミラーゼの存在比率を表すグラフ。

[図14]一実施例での当初溶出液中のカウンタ物質の濃度と電気泳動処理後の溶出液中のアルブミンの濃度との関係を表すグラフ。

[図15]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図16]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図17]一実施例にかかる電気泳動処理の結果を表す電気泳動ゲル写真。

[図18]一実施例にかかる電気泳動ユニットの模式図。

[図19]一実施例にかかる電気泳動ユニットを含むピペットカートリッジの模式図。

発明を実施するための形態

[0012] ＜対象物質＞

いくつかの実施形態では、対象物質は、対象者の対象溶液に含まれる物質であってもよい。本開示のいくつかの実施形態によれば、対象物質の処理は、対象者の検査に供することができる。

[0013] いくつかの実施形態では、対象者（被検者）は、ヒトを含んでいてもよく、ヒトであってもよい。いくつかの実施形態では、対象者は、ヒト以外の動物を含んでいてもよく、ヒト以外の動物であってもよい。対象者は、哺乳類動物を含んでいてもよく、哺乳類動物であってもよい。対象者は、例えば非限定的に、使役動物、家畜動物、愛玩動物、野生動物であってもよい。対象者は、植物であってもよく、微生物であってもよい。

[0014] 対象物質を含む試料は、溶液であってもよい。「溶液」は、対象者由来の溶液であってもよい。「溶液」は、体液でもよく、体液由来の溶液でもよく、体液の希釈液であってもよい。溶液は、体液でない（非体液由来）溶液でもよく、体液又は体液由来の溶液と非体液由来の溶液の混合液であってもよい。溶液は、微細物、細胞、細胞外小胞などの破砕液、培養液などであってもよい。溶液は、サンプル測定に使用される溶液であってもよく、較正用の測定に使用される溶液であってもよい。例えば、溶液は、標準液や較正液であってもよい。例えば、溶液は、較正などに用いられるために意図的又は計画的に測定対象物質が含まれていない液体であってもよい。測定対象となる試料は、検体であってもよい。溶液は、化学物質を含む溶液であってもよい。

[0015] 「体液」は、リンパ液であってもよく、組織間液、細胞間液、間質液などの組織液であってもよく、体腔液、漿膜腔液、胸水、腹水、心嚢液、脳脊髄液（髄液）、関節液（滑液）、眼房水（房水）であってもよい。体液は、唾液、胃液、胆汁、膵液、腸液などの消化液であってもよく、汗、涙、鼻水、尿、精液、膣液、羊水、乳汁であってもよい。体液は、動物の体液であってもよく、

ヒトの体液であってもよい。「体液」は溶液であってもよい。溶液は、対象物質を含む、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）やＮ－トリス（ヒドロキシメチル）メチル－２－アミノエタンスルホン酸緩衝液（ＴＥＳ）などの生理緩衝液を含んでいてもよい。溶液は対象物質が含まれていれば特に限定されるものではない。

[0016] 溶液は、対象物質を含んでいてもよい。溶液は、対象物質を含んでいる可能性を有していてもよい。いくつかの実施形態では、対象物質は、分子、イオン、高分子、生体分子などであってもよい。対象物質は、生体分子を備えていてもよい。対象物質は生体物質であってもよい。対象物質は、タンパク質、糖化タンパク質などであってもよい。例えば、溶液は涙であって、対象物質は涙中に含まれるアルブミン、グリコアルブミン、ヘモグロビン、グリコヘモグロビンであってもよい。あるいは、対象物質は、血液、血清、又は血漿中のアルブミン、グリコアルブミン、ヘモグロビン、グリコヘモグロビンであってもよく、間質液、尿、又は唾液中のアルブミン、グリコアルブミン、ヘモグロビン、グリコヘモグロビンであってもよい。アルブミンは、酸化型アルブミン（ＨＮＡ）、還元型アルブミン（ＨＭＡ）であってもよい。いくつかの実施形態では、対象物質はＡＧＥ（Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｇｌｙｃａｔｉｏｎ Ｅｎｄ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ、終末糖化産物、後期糖化生成物）であってもよい。いくつかの実施形態では、対象物質は糖化脂質であってもよい。

[0017] 本明細書で使用される用語「アルブミン」は、特段の指示がない限り、糖化（グリコアルブミン）と未糖化とを区別せずその両方を含み、酸化型と還元型とを区別せずその両方を含む。

[0018] 対象物質を含む溶液は、クルードサンプルであってもよい。本明細書で使用される用語「クルードサンプル」は、一般に、対象物質を含むと考えられる生体由来のサンプルであって、対象物質の単離又は精製の手順を経ていないサンプルをさす。「クルードサンプル」は、微細物、細胞、細胞外小胞などの破砕液又は培養液を除外するものではない。

[0019] 本明細書で使用される用語「夾雑物」は、一般に、回収されるべき対象物質ではない物質をさす。特にそう指示がない限り、それが不純物か、夾雑しているかと関係なく使われる。

[0020] ＜セパレータ＞

本明細書で使用される用語「セパレータ」は、一般に、二つの溶液を分画する膜、部材又は領域をさす。セパレータは、一方の溶液に含まれる対象物質の、他方への通過を許容する。あるいは、セパレータは、一方の溶液に含まれる夾雑物の他方への通過を許容し、対象物質の通過を阻止する。

[0021] 本明細書で使用される表現「セパレータが溶液室を分画すること」又はそれに類似する表現は、目的の分離等のオペレーションの間に、目的の対象物質の透析（溶質がセパレータを通過すること）に対して、溶液室に含まれる溶媒又はバッファの浸透（溶媒がセパレータを通過すること）の量が十分に小さいことを意味する。これは、微量の浸透が全く発生しないことを要求するものではない。

[0022] 本開示のセパレータは、電気泳動に適した通電性を有していることが好ましい。セパレータを構成する部品又は材料が通電性を有しているとは限らない。本明細書で使用される表現「セパレータが溶液室を分画すること」又はそれに類似する表現は、電気泳動の際に対象物質がセパレータを通過することが可能であるという程度に解されるべきである。

[0023] いくつかの実施形態では、セパレータはゲルを含んでいてもよい。ゲルの例は、非限定的に、アガロースゲル、ポリアクリルアミドゲル（ＰＡＧＥ）などを含む。

[0024] いくつかの実施形態では、セパレータは、ろ紙又はセルロースを含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、セパレータは、樹脂（例えば、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ））を含んでいてもよい。

[0025] いくつかの実施形態では、セパレータは、複数の異なる物質を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、セパレータは、ろ紙（セルロース膜など、又

はその他の膜）とゲルとを含んでいてもよい。例えば、ゲルは、ろ紙に対して導入室側に配置されていてもよい。ろ紙はゲルを物理的にサポートする。

[0026] ＜バッファ交換＞

いくつかの実施形態では、セパレータの両側の溶液の溶媒が互いに異なっていてもよい。いくつかの実施形態では、第一溶液室の第一バッファと第二溶液室の第二バッファとは互いに異なっていてもよい。この場合は、対象物質に対してバッファ交換が行われる。

[0027] 溶液の溶媒は緩衝液であってもよい。緩衝液の例は、非限定的に、トリスグリシン緩衝液、リン酸緩衝液、バルビタールＮａ緩衝液などを含む。

[0028] ＜濃縮＞

いくつかの実施形態では、セパレータの両側の溶液室の容積又は溶液の容積が異なっていてもよい。例えば、第二溶液室の容積又は第二溶液室内の第二溶液（第二バッファ）の量は、第一溶液室の容積又は第一溶液室内の第一溶液（第一バッファ）の量より小さい。これにより、対象物質の濃縮を行うことができる。第一溶液室（投入室）にあった対象物質のすべてが、電気泳動により第二溶液室（溶出室）に移動するとは限らない。第二溶液又は第二溶液室の容積、あるいは第二溶液又は第二溶液室の性質は、当初の第一溶液内の対象物質の濃度に対して、電気泳動後の第二溶液内の対象物質の濃度が高くなるように構成されていてもよい。

[0029] 本明細書で使用される用語「濃縮率」は、電気泳動前の第一溶液室（投入室）での対象物質の濃度Ｃ０と電気泳動後の第二溶液室（溶出室）での対象物質の濃度Ｃ１の比率、Ｃ１／Ｃ０で定義される。

[0030] 処理中に第二溶液内の対象物質の濃度が増加する。それに伴い、第二溶液室から第一溶液室に向かう、すなわち逆方向の浸透圧が増加する。これは、濃縮限界が存在することを示唆する。この問題に対する一つの解決策として、いくつかの実施形態では、第二溶液に、電気泳動によって第一溶液室に移動する物質（カウンタ物質）を添加してもよい。カウンタ物質は、溶液中で対象物質と

反対電荷を有することが好ましい。カウンタ物質の例は、非限定的に、タンパク質などの生体高分子及び人工高分子を含む。

[0031] ＜選択性＞

いくつかの実施形態では、セパレータは選択性を有していてもよい。すなわち、セパレータは、対象分子を通過させ、それ以外の対象分子又は夾雑物の通過を許容しない、抑制する、又はブロックする能力を有していてもよい。例えば、セパレータは半透膜又は透析膜であってもよく、それを含んでいてもよい。半透膜又は透析膜は、セルロースエステル、再生セルロースなどから選択されてもよい。

[0032] 例えば、セパレータは化学的な選択性を有していてもよい。いくつかの実施形態では、セパレータは、夾雑物の通過を許容してもよい。

[0033] いくつかの実施形態では、セパレータは、選択的な電気泳動をもたらす物質（本明細書では「選択性物質」と呼ぶ場合がある。）を含んでいてもよい。セパレータは、タンパク質を精製する能力を有する物質を含んでいてもよい。セパレータは、タンパク質精製用レジンを含んでいてもよい。例えば、セパレータは、ハイドロキシアパタイト、陽イオン交換担体、陰イオン交換担体などから選択されてもよい。ハイドロキシアパタイトは、Ｔｙｐｅ Ⅰ及びＴｙｐｅ Ⅰのいずれかであってもよい。疎水性レジンの例は、ブチル基、フェニル基、ヘキシル基などを官能基として有する化合物を含む。セパレータは、複数の異なる相互作用（イオン交換、疎水結合、アフィニティ結合など）を奏する官能基を有する化合物又は混合物を含んでいてもよい。セパレータは、ミックスモードで用いられる化合物を含んでいてもよい。これらの物質は、夾雑物の通過を抑制し、許容せず、又はブロックする。これにより、例えば、レジンを含まない場合と比較して、対象物質の精製度を高めることができる。

[0034] 例えば、選択性物質は、ゲルに含有又は担持されていてもよい。例えば、選択性物質は、半透膜の表面又は近傍に担持されていてもよい。いくつかの実施形態では、選択性物質は、セパレータ以外の部分に配置されてもよい。例えば、選択性物質は、第一溶液、又は第一溶液室に設けられていてもよい。い

くつかの実施形態では、選択性物質を、電気泳動前に第一溶液に混合してもよい。

[0035] ＜複数の電気泳動＞

いくつかの実施形態では、第一溶液室、第二溶液室、第三溶液室、第一溶液室と第二溶液室の間に設けられた第一セパレータ、及び第二溶液室と第三溶液室の間に設けられた第二セパレータが提供されてもよい。電極対は、第一溶液室と第三溶液室の外側に配置されていてもよい。いくつかの実施形態では、第一セパレータは対象物質の通過を許容し、第二セパレータは対象物質の通過を許容しない。いくつかの実施形態では、第二セパレータは、対象物質の通過を許容せず、夾雑物の一部（例えば対象物質より小さい物質）の通過を許容してもよい。これにより、対象物質は、第一溶液室から、第一セパレータを介して第二溶液室に移動し、そこで保持される。一方、夾雑物の一部は、第一溶液室に保持される。また夾雑物の他の一部は、第二溶液室と第二セパレータを通過し、第三溶液室に入る。これにより、例えば、更なる対象物質の精製を行うことができる。いくつかの実施形態では、２以上のセパレータを用いてもよい。いくつかの実施形態では、３以上の溶液室又は溶液を用いてもよい。

[0036] いくつかの実施形態では、電気泳動の処理（分離、バッファ交換、濃縮など）が行われた対象物質を、更なる電気泳動により他の場所（回収室、センサ、別プロセスを行うチャンバなど）に移動させてもよい。

[0037] いくつかの実施形態では、電気泳動により、処理された対象物質を検知するセンサへ移動させてもよい。例えば、デバイスはセンサを更に備えていてもよい。例えば、デバイスは、センサに連結されるように構成されていてもよい。例えば、上記第三溶液室は、対象物質を検知するセンサが配置された空間であってもよい。本開示は、電気泳動装置、デバイス、又はシステムを提供する。

[0038] いくつかの実施形態では、対象物質を含む溶液をこのようなセンシングデバイスに導入し、電気泳動の処理（分離、精製、バッファ交換、濃縮など）を行い、処理後の対象物質をセンシングデバイスで検知することができる。それに

より、例えば、低濃度の対象物質を効率よく及び／又は高感度で検知又は計測することができる。そのような電気泳動装置、デバイス、又はシステムを用いることで、例えば、唾液中のアルブミンなどの低濃度タンパク質を、濃縮し、精製することができ、更に高感度又は高精度に検知又は測定することができる。

[0039] ＜等電点による選択性＞

いくつか実施形態では、投入液のｐＨに応じて、対象物質と夾雑物に対する選択性を生じさせてもよい。投入液のｐＨは、対象物質と夾雑物の等電点の間になるように設定されてもよい。例えば投入液中で負に帯電する対象物質を正電極に対象物質を引き寄せる場合、投入液のｐＨは、対象物質の等電点より高く設定される。対象物質の表面が負に帯電し、正電極に引き寄せられる。投入液中のｐＨは、投入液中の対象分子の等電点がそれより小さく、夾雑物の等電点より大きくなるように設定されてもよい。例えば、夾雑物は、対象物質と反対方向へ移動してもよい。例えば、夾雑物が同じ電極へ移動しても、移動量が対象物質と比較して十分小さくてもよい。例えば、夾雑物は移動しなくてもよい。これにより、対象物質の精製又は分離を行うことができる。

[0040] ＜複数の処理の実行＞

いくつかの実施形態では、バッファ交換、濃縮、精製、分離などの複数の処理を同時に行ってもよい。複数の処理は、バッファ交換、濃縮、精製、及び分離からなる群から選ばれてもよい。複数の処理の時間は、互いに重なっていてよく、重なっていなくてもよい。本明細書で用いる表現「複数の処理を同時に行う」とは、特段の説明がない限り、ある１つの１次元電気泳動の処理の最中に、複数の処理が行われることを意味する。

[0041] 本開示のいくつかの実施形態では、２次元又は複数次元の電気泳動を行うことを排除するものではない。いずれかの１次元の電気泳動で、本開示のいずれかの実施形態の処理電気泳動が行われる。いくつかの実施形態では、複数次元の処理電気泳動が行われてもよい。

[0042] いくつかの実施形態では、ある処理電気泳動は、断続的に行われてもよい。例えば、定期的に又は不定期的に、正負電極を切り替えてもよい。これにより、例えば、セパレータの目詰まりなどの問題の発生を抑制し、及び／又は効率的又は効果的な処理電気泳動を行うことができる。このような電場方向の切り替えを、複数次元の電気泳動であると考えるべきではない。本開示では、特段の説明がない限り、同一電極対で行われる一連の電気泳動処理は、１次元の電気泳動であると考える。

[0043] ＜実施形態＞

以下、図面を参照して、いくつかの実施形態について説明する。

[0044] ＜実施形態１＞

図１を用いて、本開示の一実施形態に係る装置１００とその動作を説明する。

図１Ａに表すように、電気泳動装置１００は、第一溶液室（投入室）１０１、それに隣接する第二溶液室（溶出室）１０２、及び第一溶液室１０１と第二溶液室１０２とを分画するセパレータ１１１を備える。第一溶液室１０１に、第一バッファ１３１と対象分子１４１が投入されている。第二溶液室１０２は、第二バッファ１３２で満たされている。図１に示す電気泳動装置１００は、更に電極対１２１，１２２を備えている。電極対１２１，１２２は、第一溶液室１０１と第二溶液室１０２とを挟んで配置されている。言い換えれば、電極対１２１，１２２は、電極対１２１，１２２による電場下で、第一溶液室１０１内の対象分子１４１が、第一溶液室１０１からセパレータ１１１を通って第二溶液室１０２へ移動するように配置されている。

[0045] 電極対１２１，１２２は、直流電源１２３に接続されている。図１Ａでは、スイッチ１２５は開になっている。

[0046] 図１Ｂに表すように、スイッチ１２５を閉にして、電極１２１を負に電極１２２を正に荷電させ、それらの間に電場を発生させる。この電場下で、電気泳動が起きる。すなわち、負電荷を有する対象分子１４１は、電極１２２に向

かって第一バッファ１３１内を移動し始める。対象分子１４１は、セパレータ１１１を通過し、第二溶液室１０２の第二バッファ１３２内に入る。

[0047] 図１Ｃに表すように、電気泳動を所定の時間行い、十分な量の対象分子１４１が第二溶液室１０２の第二バッファ１３２内に入る。スイッチ１２５を開にし、電場を解除して処理を終える。

[0048] これにより、当初第一バッファ１３１内に含まれていた対象分子１４１は、第二バッファ１３２に含まれている。バッファの交換がなされた。いくつかの実施形態では、対象分子１４１の濃度を高めることができる。

[0049] ＜実施形態２＞

図２を用いて、本開示の一実施形態に係る装置２００とその動作を説明する。

図２Ａに表すように、電気泳動装置２００は、第一溶液室（投入室）２０１、それに隣接する第二溶液室（溶出室）２０２、及び第一溶液室２０１と第二溶液室２０２とを分画するセパレータ２１１を備える。第一溶液室２０１に、第一バッファ２３１、対象分子２４１、及び夾雑物２４２が投入されている。第二溶液室２０２は、第二バッファ２３２で満たされている。

[0050] 図２に示す電気泳動装置２００は、更に電極対２２１，２２２を備えている。図２Ａでは、スイッチ２２５は開になっている。

[0051] 本実施形態では、対象分子２４１と夾雑物２４２とは等電点が互いに異なる。第一バッファ２３１のｐＨは、それらの等電点の間にある。すなわち、対象分子２４１の等電点は、第一バッファ２３１のｐＨより小さく、夾雑物２４２の等電点は第一バッファ２３１のｐＨより大きい。

[0052] 図２Ｂに表すように、スイッチ２２５を閉にして、電極２２１を負に電極２２２を正に荷電させ、それらの間に電場を発生させる。この電場下で、電気泳動が起きる。すなわち、負電荷を有する対象分子２４１は、電極２２２に向かって第一バッファ２３１内を移動し始める。対象分子２４１は、セパレータ２１１を通過し、第二溶液室２０２の第二バッファ２３２内に入る。一方、正電荷を有する夾雑物２４２は、電極２２１に向かって第一バッファ２３１内を

移動し始める。言い換えれば、夾雑物２４２は、電極２２２又はセパレータ２１１の方向へ移動しない。

[0053] 図２Ｃに表すように、電気泳動を所定の時間行い、十分な量の対象分子２４１が第二溶液室２０２の第二バッファ２３２内に入る。夾雑物２４２は、第一溶液室（投入室）２０１又は第一バッファ２３１内に留まる。スイッチ２２５を開にし、電場を解除して処理を終える。

[0054] これにより、当初第一バッファ２３１内に含まれていた対象分子２４１は、第二バッファ２３２に含まれている。第二バッファ２３２は夾雑物２４２を含んでいない。すなわち、対象分子２４１を精製し又は分離することができた。また、バッファの交換がなされた。いくつかの実施形態では、更に、対象分子２４１の濃度を高めることができる。

[0055] ＜実施形態３＞

図３を用いて、本開示の一実施形態に係る装置３００とその動作を説明する。

図３Ａに表すように、電気泳動装置３００は、第一溶液室（投入室）３０１、それに隣接する第二溶液室（溶出室）３０２、及び第一溶液室３０１と第二溶液室３０２とを分画するセパレータ３１１を備える。第一溶液室３０１に、第一バッファ３３１、対象分子３４１、及び夾雑物３４２が投入されている。第二溶液室３０２は、第二バッファ３３２で満たされている。図３に示す電気泳動装置３００は、更に電極対３２１，３２２を備えている。図３Ａでは、スイッチ３２５は開になっている。

[0056] 本実施形態では、セパレータ３１１は選択性を有する。すなわち、セパレータ３１１は、対象分子３４１を通過させ、夾雑物３４２を通過させない能力を有する。例えば、典型的な夾雑物３４２は、対象分子３４１より大きいサイズを有することを想定する。セパレータ３１１は、半透膜であって、そのポアサイズは、対象分子３４１より大きく、夾雑物３４２より小さい。

[0057] 図３Ｂに表すように、スイッチ３２５を閉にして、電極３２１を負に電極３２２を正に荷電させ、それらの間に電場を発生させる。この電場下で、電気泳

動が起きる。すなわち、対象分子３４１は、電極３２２に向かって第一バッファ３３１内を移動し始める。対象分子３４１は、セパレータ３１１を通過し、第二溶液室３０２の第二バッファ３３２内に入る。図３では、夾雑物３４２は、対象分子３４１と同電荷を有していると仮定する。夾雑物３４２は、電極３２２に向かって第一バッファ３３１内を移動し始める。しかし、セパレータ３１１を通過することができず、第二溶液室３０２の第二バッファ３３２内に入ることができず、したがって第一バッファ３３１内に留まる。

[0058] 図３Ｃに表すように、電気泳動を所定の時間行い、十分な量の対象分子３４１が第二溶液室３０２の第二バッファ３３２内に入る。夾雑物３４２は、第一溶液室（投入室）３０１又は第一バッファ３３１内に留まる。スイッチ３２５を開にし、電場を解除して処理を終える。

[0059] これにより、当初第一バッファ３３１内に含まれていた対象分子３４１は、第二バッファ３３２に含まれている。第二バッファ３３２は夾雑物３４２を含んでいない。すなわち、対象分子３４１を精製し又は分離することができた。また、バッファの交換がなされた。いくつかの実施形態では、更に、対象分子３４１の濃度を高めることができる。

[0060] ＜実施形態４＞

図４を用いて、本開示の一実施形態に係る装置４００とその動作を説明する。

図４Ａに表すように、電気泳動装置４００は、第一溶液室（投入室）４０１、それに隣接する第二溶液室（溶出室）４０２、及び第一溶液室４０１と第二溶液室４０２とを分画する第一セパレータ４１１を備える。第一溶液室４０１に、第一バッファ４３１、対象分子４４１、及び夾雑物４４２，４４３が投入されている。第二溶液室４０２に、第二バッファ４３２で満たされている。

[0061] 電気泳動装置４００は、更に、第二溶液室（溶出室）４０２に隣接する第三溶液室４０３（排出室）、及び第二溶液室４０２と第三溶液室４０３とを分画する第二セパレータ４１２を備える。

[0062] 図４の電気泳動装置４００は、更に電極対４２１，４２２を備えている。図４Ａでは、スイッチ４２５は開になっている。

[0063] 本実施形態では、第一セパレータ４１１及び第二セパレータ４１２は選択性を有する。すなわち、第一セパレータ４１１は、対象分子４４１を通過させ、夾雑物４４２を通過させない能力を有する。例えば、典型的な夾雑物４４２は、対象分子４４１より大きいサイズを有することを想定する。例えば、第一セパレータ４１１は、半透膜であって、そのポアサイズは、対象分子４４１より大きく、夾雑物４４２より小さい。本実施例では、夾雑物４４３は、第一セパレータ４１１を通過することができる。

[0064] 第二セパレータ４１２は、夾雑物４４３を通過させ、対象分子４４１を通過させない能力を有する。例えば、典型的な夾雑物４４３は、対象分子４４１より小さいサイズを有することを想定する。例えば、第二セパレータ４１２は、半透膜であって、そのポアサイズは、対象分子４４１より小さく、夾雑物４４３より大きい。本実施例では、夾雑物４４３は、第一セパレータ４１１を通過することができる。

[0065] 図４Ｂに表すように、スイッチ４２５を閉にして、電極４２１を負に電極４２２を正に荷電させ、それらの間に電場を発生させる。この電場下で、電気泳動が起きる。すなわち、対象分子４４１、及び同電荷を有する夾雑物４４２，４４３は、電極４２２に向かって第一バッファ４３１内を移動し始める。対象分子４４１及び夾雑物４４３は、第一セパレータ４１１を通過し、第二溶液室４０２の第二バッファ４３２内に入る。夾雑物４４２は、第一セパレータ４１１を通過することができず、第二溶液室４０２の第二バッファ４３２内に入ることができず、したがって第一バッファ４３１内に留まる。

[0066] 対象分子４４１及び夾雑物４４３は、電極４２２に向かって第二バッファ４３２内を移動する。夾雑物４４３は、第二セパレータ４１２を通過し、第三溶液室４０３の第三バッファ４３３内に入る。対象分子４４１は、第二セパレータ４１２を通過することができず、第三溶液室４０３の第三バッファ４３３内に入ることができず、したがって第二バッファ４３２内に留まる。

[0067] 図４Ｃに表すように、電気泳動を所定の時間行い、十分な量の対象分子４４１が第二溶液室４０２の第二バッファ４３２内に入る。夾雑物４４２は、第一溶液室（投入室）４０１又は第一バッファ４３１内に留まり、夾雑物４４３は、第三溶液室（排出室）４０３又は第三バッファ４３３内に入る。スイッチ４２５を開にし、電場を開示して処理を終える。

[0068] これにより、当初第一バッファ４３１内に含まれていた対象分子４４１は、第二バッファ４３２に含まれている。第二バッファ４３２は、夾雑物４４２，４４３を含んでいない。すなわち、対象分子４４１を精製し又は分離することができた。また、バッファの交換がなされた。いくつかの実施形態では、更に、対象分子４４１の濃度を高めることができる。

[0069] ＜実施形態５＞

図５を用いて、本開示の一実施形態に係る装置５００とその動作を説明する。

図５Ａに表すように、電気泳動装置５００は、第一溶液室（投入室）５０１、それに隣接する第二溶液室（第一溶出室）５０２、及び第一溶液室５０１と第二溶液室５０２とを分画する第一セパレータ５１１を備える。第一溶液室５０１に、第一バッファ５３１、及び対象分子５４１が投入されている。第二溶液室５０２は、第二バッファ５３２で満たされている。

[0070] 電気泳動装置５００は、更に、第二溶液室（溶出室）５０２に隣接する第三溶液室５０３（第二溶出室）、及び第二溶液室５０２と第三溶液室５０３とを分画する第二セパレータ５１２を備える。第三溶液室５０３は、第二バッファ５３３で満たされている。

[0071] 図５の電気泳動装置５００は、更に第一電極対５２１ａ，５２２ａを備え、第一溶液室５０１、第一セパレータ５１１、及び第二溶液室５０２に対して、電気泳動を行うように配置されている。第二セパレータ及び第三溶液室は、第一電極対５２１ａ，５２２ａによる電場に対して垂直に又は角度を有するように配置されている。図５の電気泳動装置５００は、更に第二電極対５２１ｂ，５２２ｂを備え、第二溶液室５０２、第二セパレータ５１２、及び第三溶液室

５０３に対して、電気泳動を行うように配置されている。いくつかの実施形態では、第一溶液室５０１、第一セパレータ５１１、第二溶液室５０２、及び第一電極対５２１ａ，５２２ａは、一次電気泳動を行い、第二溶液室５０２、第二セパレータ５１２、第三溶液室５０３、及び第二電極対５２１ｂ，５２２ｂは、二次電気泳動を行うように構成されていてもよい。図５では、スイッチは省略されている。

[0072] 図５Ｂに表すように、第一電極対５２１ａ，５２２ａに電圧をかけると、それらの間に電場を発生させる。この電場下で、電気泳動が起きる。すなわち、対象分子５４１は、電極５２２ａに向かって第一バッファ５３１内を移動し始める。対象分子５４１は、第一セパレータ５１１を通過し、第二溶液室５０２の第二バッファ５３２内に入る。

[0073] 電気泳動を所定の時間行い、十分な量の対象分子５４１が第二溶液室５０２の第二バッファ５３２内に入る。電場を解除して一次電気泳動を終える。

[0074] これにより、当初第一バッファ５３１内に含まれていた対象分子５４１は、第二バッファ５３２に含まれている。バッファの交換がなされた。いくつかの実施形態では、対象分子５４１の濃度を高めることができる。

[0075] 次に、図５Ｃに表すように、第一電極対５２１ａ，５２２ａの電圧を解除し、第二電極対５２１ｂ，５２２ｂに電圧を印加してそれらの間に電場を発生させる。この電場下で、電気泳動が起きる。すなわち、対象分子５４１は、電極５２２ｂに向かって第二バッファ５３２内を移動し始める。対象分子５４１は、第二セパレータ５１２を通過し、第三溶液室５０３の第三バッファ５３３内に入る。

[0076] 電気泳動を所定の時間行い、十分な量の対象分子５４１が第三溶液室５０３の第三バッファ５３３内に入る。電場を解除して二次電気泳動を終える。

[0077] これにより、当初第一バッファ５３１内に含まれていた対象分子５４１は、第二バッファ５３２を介して、第三バッファ５３３に含まれている。二度のバッファの交換がなされた。いくつかの実施形態では、対象分子５４１の濃度を更に高めることができる。

[0078] いくつかの実施形態では、分離又は精製は、一次電気泳動と二次電気泳動とでなされてもよい。いくつかの実施形態では、分離又は精製は、主に一次電気泳動でなされ、二次電気泳動ではなされなくてもよい。いくつかの実施形態では、濃縮は、一次電気泳動と二次電気泳動とでなされてもよい。いくつかの実施形態では、濃縮は、主に一次電気泳動でなされ、二次電気泳動ではなされなくてもよい。いくつかの実施形態では、バッファ交換は、一次電気泳動と二次電気泳動とでなされてもよい。いくつかの実施形態では、バッファ交換は、主に一次電気泳動でなされ、二次電気泳動ではなされなくてもよい。

[0079] いくつかの実施形態では、一次電気泳動で、投入液に含まれる対象分子に対して、分離、精製、濃縮、及びバッファ交換の内の一つ又は複数の処理行い、二次電気泳動で、処理後の対象分子を、別の場所に移動させてもよい。例えば、二次電気泳動により、処理された対象分子を、対象分子を測定するシステム、センサ、流路、空間などの場所に移動させてもよい。本実施形態の第三溶液室は、対象分子を測定するシステム、センサ、流路、空間などの溶液室であってもよく、それらに流体接続された溶液室であってもよい。

[0080] ＜様々な実施形態＞

上記実施形態以外にも、様々な実施形態が可能である。

[0081] いくつかの実施形態では、夾雑物にセパレータを通過させ、対象物質がセパレータを通過することを阻止してもよい。

[0082] いくつかの実施形態では、対象物質又は夾雑物に他の物質（「結合物質」とも呼ぶ。）を結合させてもよい。いくつかの実施形態では、対象物質又は夾雑物と結合物質の複合体がサイズ選択性を有するセパレータを通過することができないように、結合物質を設計し又は選択してもよい。いくつかの実施形態では、結合物質と対象物質との複合体の等電点が、対象物質の等電点と異なるように、結合物質を設計し又は選択してもよい。例えば、対象物質だけでは移動しないが、結合物質との複合体が移動するように設計されてもよく、その逆であってもよい。

[0083] いくつかの実施形態では、投入室と、それに隣接する２つの溶出室とを備えていてもよい。電極対の間に、その電界の方向に、第一溶出室、第一セパレータ、投入室、第二セパレータ、及び第二溶出室が順に配置されていてもよい。例えば、第一対象物質が投入室から第一セパレータを通過し第一溶出室に移動し、第二対象物質が投入室から第二セパレータを通過し第二溶出室に移動してもよい。投入液のｐＨは、第一対象物質の等電点と第二対象物質の等電点の間になるように設定されてもよい。一度の電界印加操作で、2つの対象物質を、分離し、精製し、濃縮することができ、それらのバッファ交換を行うことができる。

[0084] いくつかの実施形態では、電場の方向を入れ替えてもよい。例えば、一方向の電場の印加で、対象物質が移動するとともに、一部の夾雑物（例えば低分子）が溶出室に移動する場合がある。例えば、その夾雑物が低分子であれば、一時的に逆電場（後ろ向き方向の電場）を印加することが有効である。逆電場の印加は、溶出室に移動した対象物質と低分子とを再び投入室の方向へ移動させる。ここで、対象物質より分子量が小さい低分子は、対象物質より速く移動し、投入室に戻ることができる。しかし、対象物質は、低分子ほど移動せず、投入室に戻ることができない。すなわち、正電場の印加に対して、適切な逆電場の印加を行うことで、対象物質より夾雑物の逆方向の移動を促進させ、溶出室での対象物質の濃度及び／又は純度を上げることができる。

[0085] ＜実施例＞

以下いくつかの実施例について説明する。実施例に共通の準備及び測定の工程、条件などは以下の通りである。これらと異なる場合は、各実施例のセクションで説明する。

[0086] ＜サンプル準備＞

ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ、以降「アルブミン」と表記する場合がある。）（コスモバイオ社）、１０×トリスグリシン緩衝液（Ｗａｋｏ社）及び純水（ＤＷ）を混合して、ＨＳＡ希釈液を準備した。ＨＳＡ、トリスグリシン

緩衝液、及びＤＷの容積の比率は、２０倍希釈の場合、１：２：１７、そして５倍希釈の場合、２：１：７であった。

[0087] ＜プロセス電気泳動用チューブの準備＞

プロセス電液泳動には、内径が約６～８ｍｍ、長さ数ｃｍのプラスチックチューブを用いた。２つの溶液室を設ける場合は、２つの嵌合可能なチューブ（投入室チューブ及び溶出室チューブ）を用いる。これらを密に繋ぎ、その間にセパレータ又はセパレータを支持する膜を密に挟んだ。半透膜をセパレータとして用いる場合は、２つのチューブの間に半透膜を密に挟んだ。ゲルをセパレータとして用いる場合は、０．４５μｍ四フッ化エチレン樹脂コーティング膜（ＰＴＥＦ膜）又は０．２μｍ セルロースアセテート膜をゲルの支持体として２つのチューブの間に密に挟み、その投入室の面に液体状のゲルを滴下し、固まるまで静置した。あるいは、支持体を用いない場合は、溶出室チューブの一端をサランラップ（登録商標、旭化成株式会社）で閉じ、他端開口からゲルを導入した。ゲルを固化させ後、サランラップを取り除き、溶出室チューブを投入室チューブと連結させた。

[0088] 対象物質が含まれている溶液を投入室に入れ、緩衝液（おおよそｐＨ８．３～９．０のトリスグリシン）を溶出室に入れる。チューブの両端をそれぞれ、溶液を入れた後に、気泡が入らないように、分画分子量１２ｋＤａ～１４ｋＤａの透析膜で密閉した。溶出室Ｖ１の容積は、溶出室の長さで調節され、おおよそ３５μＬから２６０μＬであった。溶出室の緩衝液は、トリスグリシン緩衝液（Ｗａｋｏ社、＃２０１－１８６０１、ｐＨ８．３～９．０）であった。

[0089] ＜プロセス電気泳動＞

溶液で充填された電気泳動チューブを、１×トリスグリシン緩衝液で満たした電気泳動槽に浸した。これを、４℃に保たれたクロマトチャンバに入れ、十分に冷やした状態に維持した。電気泳動槽内で、正電極は、電気泳動チューブの溶出室の端部に、負電極は投入室の端部にそれぞれ配置した。これらの電極に、１２０分間１５０Ｖを印加した。

[0090] ＜アルブミンの吸光度測定＞

ＤＭ－ＪＡＣＫ（登録商標、ミナリスメディカル社）を用いて吸光度測定を行った。測定前に、必要に応じて標準物質で検量線を作成した。泳動前サンプル及び溶出サンプルは、推測される吸光度がおおよそ、その検量線の範囲の吸光度となるように１×トリスグリシン緩衝液で希釈した。

[0091] ＜測定電気泳動＞

ＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いて、測定用の電気泳動を行った。プロセス電気泳動後、溶出室から溶出液を取り出した。唾液サンプルの場合、３０μＬの溶出液に１０μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）を混合した。血清サンプルの場合、２５～５０倍希釈した溶出液の５μＬに、５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）と、１０μＬのＤＷを加えた。このサンプルを、９５℃で１０分間、加熱した。次に、８μＬを１０％ポリアクリルアミドゲル（ＤＲＣ社、＃ＮＴＨ-５２５Ｐ)に滴下した。電気泳動を１８０Ｖで６０分間行い、その後、染色と脱色を行って写真撮影した。

[0092] ＜実施例１：濃縮＞

理想的に、当初投入室に投入された対象物質の全ての分子が溶出室に移動すれば、投入室の容積（Ｖ０）と溶出室の容積（Ｖ１）の比（Ｖ１／Ｖ０）が、濃縮率（Ｃ１／Ｃ０）になる。しかし実際には、対象物質のすべてが溶出室に移動するわけではない。例えば、一部の対象物質はセパレータ、投入室の内壁に付着することがある。例えば、一部の対象物質は予め設定された時間内にセパレータを通過できないことがある。例えば、一部の対象物質は、電気泳動チューブから外に漏れることがある。しかし、一般に、濃縮率は、投入室と溶出室との容積の比の関数になると考えることができる。このことを確認するために、本実施例では、投入室と溶出室との容積の比を変えて（Ｖ０／Ｖ１＝６～５６）、対象物質としてのアルブミン（ＨＳＡ）の濃縮率を、吸光度測定により求めた。

[0093] 投入したＨＳＡは、５×希釈と２０×希釈の２つの濃度で準備した。本実施例では、アガロースゲルをセパレータとして用いた。各ＨＳＡの濃度は、ＤＭ－ＪＡＣＫを用い、吸光度法により求めた。投入前（プロセス電気泳動前）の濃度（Ｃ０）とプロセス電気泳動後（溶出室から取得した）の濃度（Ｃ１）との比率として濃縮率を求めた。

[0094] 図６に示すように、５×希釈と２０×希釈とのいずれの場合も、濃縮率は、容積比に対しておおよそ線形性を有していることが観測された。投入液内にあったアルブミンがすべて溶出室に移動してはいなかった。しかし、この線形関係は、電気泳動デバイスの構造によって、簡単に濃縮率を決定し又は制御できることを示している。

[0095] ＜実施例２：アガロースゲルを用いた精製＞

本実施例では、アガロースゲルをセパレータとして用い、唾液と血清から対象物質としてのアルブミンを精製した。

[0096] 唾液サンプルは以下のように準備した。３．６ｍＬの唾液サンプルを発明者から取得し、コットンでろ過した。これを０．４ｍＬの１×トリスグリシン緩衝液（Ｗａｋｏ社、＃２０１－１８６０１、ｐＨ８．３～８．９）と混合した。血清サンプルは、実施例１と同様に準備した。

[0097] セパレータは、アガロースゲルを１×トリスグリシン緩衝液(いずれもＷａｋｏ社)に体積比１％の割合で溶解させた。ウルトラフリー　ＭＣ-ＨＶ　ＰＶＤＦΦ０．４５μｍ（メルク社）のフィルタユニットを用いて、これを支持した。

[0098] プロセス電気泳動は、印加電圧１００Ｖで２４０分間行った。

[0099] 図７に電気泳動ゲル写真を示す。１，２はそれぞれ、元の唾液サンプルと、プロセス電気泳動後の溶出液とに該当する。３，４はそれぞれ、元の血清サンプルと、プロセス電気泳動後の溶出液とに該当する。アルブミンは黒矢印で、主な夾雑物は白矢印で示されている。

[0100] 元の唾液サンプル（１）では、アルブミン（黒矢印）と夾雑物（白矢印、アミラーゼに該当する。）とのバンドが観察された。他方、プロセス電気泳動後

の唾液サンプル（２）では、夾雑物のバンドが極めて薄くなり、アルブミンのバンドが濃くなった。バンドの濃さから、本プロセス電気泳動の濃縮率は、おおよそ３５倍であった。すなわち、夾雑物が除去され、対象物質であるアルブミンを濃縮することができた。

[0101] 元の血清サンプル（３）では、アルブミン（黒矢印）と夾雑物（白矢印、ＩｇＧ Ｌｉｇｈｔ－ｃｈａｉｎに該当する。）とのバンドが観察された。他方、プロセス電気泳動後の血清サンプル（４）では、夾雑物のバンドが薄くなり、アルブミンのバンドが濃くなった。バンドの濃さから、本プロセス電気泳動の濃縮率は、おおよそ２．１倍であった。

[0102] 唾液サンプルと血清サンプルとの両方で、対象物質であるアルブミンが濃縮され、夾雑物が除去された。

[0103] ＜実施例３：ポリアクリルアミドゲルを用いた精製＞

本実施例では、ポリアクリルアミドゲルをセパレータとして用い、血清から対象物質としてのアルブミンを精製した。

[0104] 血清サンプルは、０．６ｍＬの血清（コスモ・バイオ社、＃１２１８１４５０）と、０．６ｍＬの１×トリスグリシン緩衝液(ｐＨ８．５)と、４．８ｍＬの超純水（ＤＷ）とを混合して準備した。

[0105] セパレータは以下のように準備した。まず、３００μＬの超純水、５０μＬの１×トリスグリシンｐＨ８．５、１５０μＬの３０ｗ／ｖ％のアクリルアミド／ビス混合液、２．５μＬの１０％ＡＰＳ、０．２５μＬのＴＭＥＤを混合して、９％ポリアクリルアミドゲルを準備した。このゲルを、一端がサランラップで閉じられた溶出室用のチューブに入れた。固化後、サランラップを外して、溶出室チューブを投入室チューブに連結した。

[0106] プロセス電気泳動は、印加電圧１５０Ｖで１５０分間行った。

[0107] 測定電気泳動は以下のように行った。まず、プロセス電気泳動後、溶出室から溶出液を取り出した。これを１×トリスグリシン緩衝液(ｐＨ８．５)で２５倍希釈した１μＬの溶出液と５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）と１４μＬの超純水とを混合した。２５倍

希釈した５μＬの元の血清サンプルと５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）と１０μＬの超純水とを混合した。混合液を９５℃で１０分間加熱した。その内の８μＬを、１０％ポリアクリルアミドゲル（ＤＲＣ社、＃ＮＴＨ－５２５Ｐ)に滴下した。これに対して、電気泳動を、１８０Ｖで６０分間行った。

[0108] 図８に電気泳動ゲル写真を示す。１，２はそれぞれ、元の血清サンプルと、プロセス電気泳動後の溶出液とに該当する。

[0109] 元の血清サンプル（１）に比べ、プロセス電気泳動後の血清サンプル（２）では、アルブミンのバンド（黒矢印）が濃くなり、夾雑物のバンド（白矢印）が極めて薄くなった。バンドの濃さから、本プロセス電気泳動の濃縮率は、おおよそ６．５倍であった。すなわち、夾雑物が除去され、対象物質であるアルブミンを濃縮することができた。

[0110] ＜実施例４：透析膜を用いた精製＞

本実施例では、透析膜（半透膜）をセパレータとして用い、血清から対象物質としてのアルブミンを精製した。

[0111] 血清サンプルは、実施例３と同様に準備した。セパレータとして、１００ｋＤａの透析膜（バイオテックＣＥ社、トライアルキット、１００ＫＤ、２４ｍｍ、１ｍ（１３１４１７Ｔ）を用いた。

[0112] プロセス電気泳動は、印加電圧１５０Ｖで１２０分間行った。

[0113] 測定電気泳動は以下のように行った。まず、プロセス電気泳動後、溶出室から溶出液を摘出し、これを１×トリスグリシン緩衝液（ｐＨ８．６）で２５倍に希釈した。５μＬの１０×希釈溶出液、５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）、及び１０μＬのＤＷを混合した。混合液を９５℃で１０分間加熱した。その内の１μＬ、４μＬ又は８μＬを、５－２０％ポリアクリルアミドゲル（ＤＲＣ社、＃ＮＴＨ－５７６ＨＰ１０)に滴下した。これに対して、電気泳動を、１８０Ｖで６０分間行った。

[0114] 図９に電気泳動ゲル写真を示す。１，２はそれぞれ、元の血清サンプルと、プロセス電気泳動後の溶出液とに該当する。

[0115] 元の血清サンプル（１）に比べ、プロセス電気泳動後の血清サンプル（２）では、アルブミンのバンド（黒矢印）が濃くなり、夾雑物のバンド（白矢印）がほぼ消滅した。ＨＳＡの分子量は約６６ｋＤａである。プロセス電気泳動により、１００ｋＤａより小さいＨＳＡはセパレータを通過し、これより大きい分子はセパレータを通過しなかったことが確認された。なお、１００ｋＤａの大きな分子は血清に含まれるが、唾液には含まれていない。アミラーゼは唾液に含まれるが血清には含まれていない。

[0116] ＜実施例５：等電点に基づく精製＞

本実施例では、投入液のｐＨを対象物質（アルブミン）の等電点（ｐＩ＝４．９）と夾雑物（ヘモグロビン）の等電点（ｐＩ＝約７）との間となるように設定して、アルブミンの分離を行った。アガロースゲルをセパレータとして用いた。

[0117] サンプルは、２０μＬの血清（コスモ・バイオ社、＃１２１８１４５０）、８００μＬのＨｂＡ１ｃ(日立化成ダイアグノスティックス・システムズ株式会社　メタボリードコントロールＨｂＡ１ｃ、＃０５８６１９)、１６００μＬの１０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ＝６．５）または１×トリスグリシン緩衝液（ｐＨ８．５）、及び５６００μＬのＤＷを混合して準備した。

[0118] セパレータは、１％アガロースゲルを１０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液１×トリスグリシン緩衝液（ｐＨ６．５）又は１×トリスグリシン緩衝液（ｐＨ８．５））に導入して準備した。２５０μＬのこのゲルを、ゲルウルトラフリー　ＭＣ-ＨＶ　ＰＶＤＦΦ０．４５μｍ（メルク社）のフィルタユニットを用いて、支持した。

[0119] プロセス電気泳動は、１３０ｍＡで１４０分間行った。

[0120] 測定電気泳動は以下のように行った。まず、プロセス電気泳動後、溶出室から溶出液を摘出した。０．８μＬの溶出液、５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）、及び１４．２μＬのＤＷと混合した。４μＬの元の混合サンプル液、５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）、及び１１μＬのＤＷ

と混合した。混合液を９５℃で１０分間加熱した。その内の５μＬを、５－２０％ポリアクリルアミドゲル（ＤＲＣ社、＃ＮＴＨ－５７６ＨＰ１０)に滴下した。これに対して、電気泳動を、１８０Ｖで６０分間行った。

[0121] 図１０に、電気泳動ゲル写真を示す。１，２は、投入液ｐＨ８．５の場合の、元のサンプル（１）と、プロセス電気泳動後の溶出液（２）とに該当する。アルブミン（ｐＩ＝４．９）とヘモグロビン（ｐＩ＝約７）との両方が、プロセス電気泳動により溶出室に移動した。いずれも、ｐＨ８．５で負電荷を帯びるため、正電極の方向に移動し、溶出室に入った。３，４，５は、投入液ｐＨ６．５の場合の、元のサンプル（３）、プロセス電気泳動後の溶出液（４）、及び、逆方向のプロセス電気泳動後の溶出液（５）に該当する。プロセス電気泳動後の溶出液（４）から分かるように、ヘモグロビンは、プロセス電気泳動により溶出室に移動していなかった。逆電圧をかけた場合（５）から分かるように、そのヘモグロビンは、逆方向（負電極の方向）に移動していることが分かった。すなわち、アルブミンは正電極に向かって移動し、ヘモグロビンは負電極に向かって移動したことが確認された。このように、投入液のｐＨを対象物質の等電点と夾雑物の等電点の間に設定することで、対象物質を夾雑部から分離できることが示された。

[0122] ＜実施例６：樹脂の添加＞

本実施例では、樹脂をセパレータに添加し、唾液から対象物質としてのアルブミンを精製した。

[0123] 唾液サンプルは以下のように準備した。１２．６ｍＬの唾液を発明者から取得し、コットンでろ過した。これを１．４ｍＬの１×トリスグリシン緩衝液（ｐＨ７．５）と混合した。

[0124] これに各樹脂を添加した。添加は以下のように行った。まず、添加物を１×トリスグリシン緩衝液で平衡化し、上清をなるべく多く除去した。６５℃で保温された各樹脂に溶解した２％アガロースゲルを添加し、混合した。樹脂とアガロースゲルをよく懸濁し、その２５０μＬ程度をセパレータ部に導入し、十

分に冷却し固化させた。アガロース混合ゲルの支持に、セルロースアセテートメンブレンフィルタΦ０．２μｍ（アドバンテック東洋）を用いた。

[0125] 本実施例で用いた添加物は以下の通りである：

陽イオン交換担体「ＳＰ」： ＴＯＹＯＰＥＡＲＬ ＳＰ－６５０Ｍ, ＴＯＳＯＨ, ＃０００７９９７

陰イオン交換担体「ＳＱ」：ＴＯＹＯＰＥＡＲＬ ＳｕｐｅｒＱ－６５０Ｍ, ＴＯＳＯＨ, ＃００１７２２７

ハイドロキシアパタイト「ＨＡ」：ＣＨＴ Ｃｅｒａｍｉｃ Ｈｙｄｒｏｘｙａｐａｔｉｔｅ, Ｂｉｏ－Ｒａｄ, ＃１５８２２００

[0126] プロセス電気泳動は、１３０ｍＡで１２０分間行った。

[0127] 測定電気泳動は以下のように行った。まず、プロセス電気泳動後、溶出室から溶出液を摘出した。１０μＬの溶出液、５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）、及び５μＬのＤＷと混合した。混合液を９５℃で１０分間加熱した。その内の３μＬを、５－２０％ポリアクリルアミドゲル（ＤＲＣ社、＃ＮＴＨ－５７６ＨＰ１０)に滴下した。これに対して、電気泳動を、１８０Ｖで６０分間行った。

[0128] 図１１に、添加物ＳＰとＨＡの電気泳動ゲル写真を示す。１，２，３，及び４はそれぞれ、元の唾液サンプル（１）、樹脂添加物なしの場合の溶出液（２）、ＳＰ添加の場合の溶出液（３）、及びＨＡ添加の場合の溶出液（４）に該当する。

[0129] 元の唾液サンプル（１）では、アルブミン（黒矢印）と夾雑物（白矢印、アミラーゼに該当する。）とのバンドが観察された。樹脂添加物なしの場合の溶出液（２）のバンドが、元の唾液サンプル（１）より濃くなっているのは濃縮されているからである。添加物がないと、アミラーゼの除去は効果的ではなかった。他方、ＳＰ添加の場合の溶出液（３）では、アルブミンのバンドはほぼ同じで、アミラーゼのバンドが薄くなった。ＳＰは、アミラーゼの溶出室への通過を効果的にブロックすることが分かった。さらに、ＨＡ添加の場合の溶出液（４）では、アルブミンのバンドはほぼ同じで、アミラーゼのバンドが

顕著に薄くなった。ＳＰは、アミラーゼの溶出室への通過をさらに効果的にブロックすることが分かった。

[0130] 図１２に、添加物ＳＱの電気泳動ゲル写真を示す。１，２，及び３はそれぞれ、元の唾液サンプル（１）、樹脂添加物なしの場合の溶出液（２）、及びＳＱ添加の場合の溶出液（３）に該当する。ＳＱ添加の場合の溶出液（４）では、アルブミンのバンドは、樹脂添加物なしの場合の溶出液（２）とほぼ同じ又は少し薄く、アミラーゼのバンドはほとんど消えた。ＳＱは、アミラーゼの溶出室への通過を極めて効果的にブロックすることが分かった。

[0131] 各溶液内に含まれる、ＨＳＡ及び２つのアミラーゼの存在比率を、図１１及び１２で示した電気泳動ゲル写真のバンドの濃さから求めた（図１３）。「Ａｍｙｌａｓｅ＿ｕｐ」及び「Ａｍｙｌａｓｅ＿ｄｏｗｎ」は、それぞれアルブミンのピークの下側に現れる２本のバンドに該当し、「Ａｍｙｌａｓｅ＿ｕｐ」はアルブミンに近いバンドをさし、「Ａｍｙｌａｓｅ＿ｄｏｗｎ」はアルブミンから遠いバンドをさす。ここに示す溶液は、元の唾液、樹脂添加物なしのプロセス電気泳動後の溶出液、及び添加物ＳＰ、ＨＡ又はＳＱが添加された場合のプロセス電気泳動後の溶出液である。

[0132] 図１３に、図１１及び図１２の結果をまとめたグラフを示す。元の唾液には、ＨＳＡに対してアミラーゼがとても多く含まれている。ここでは、ＨＳＡと２つのアミラーゼを比較した。特に、Ａｍｙｌａｓｅ＿ｄｏｗｎが多い（Ａ）。樹脂がない場合、アルブミンが濃縮され、アミラーゼは変わらず、アルブミンに対して比較的少なくなる（Ｂ）。これが、樹脂添加物がない場合の濃縮率及び夾雑物の除去率を示す。添加物を加えることで、夾雑物が更に除かれることが分かる（Ｃ～Ｅ）。特に、添加物としてＳＱを用いると、アミラーゼの大部分を除去できることが分かった（Ｅ）。

[0133] ＜実施例７：濃縮率の向上＞

本実施例では、アガロースゲルをセパレータとして用い、予め溶出液にカウンタ物質を添加し、血清サンプルから対象物質としてのアルブミンを濃縮した。

[0134] 血清サンプルとして、ＨＳＡの２０倍希釈液を準備した。セパレータとして、１００μＬの１％アガロースを用いた。アガロース混合ゲルの支持に、セルロースアセテートメンブレンフィルタΦ０．２μｍ（アドバンテック東洋）を用いた。

[0135] 本実施例で用いたカウンタ物質は以下の通りである：

ＲＮａｓｅＡ（ＭＡＣＨＥＲＥＹ－ＮＡＧＥＬ社）。分子量１３．７ｋＤａ以下のタンパク質、等電点８．６。

リゾチーム（卵白由来）　（ナカライテスク株式会社）。１４ｋＤａの酵素、等電点１１。

いずれもアルブミンと逆電荷を有し、電気泳動によりアルブミンと逆方向に動く。これらを複数の濃度で、溶出液であるトリスグリシン緩衝液に添加した。

[0136] プロセス電気泳動は、１５０Ｖで２４０分間行った。

[0137] その後、溶出室から溶出液を摘出し、測定電気泳動を行った。電気泳動ベル写真でアルブミンのバンドの濃さから、各アルブミンの濃度を求めた。

[0138] 図１４に、カウンタ物質がリゾチームの場合（Ａ）及びＲＮａｓｅＡの場合（Ｂ）の、当初の溶出液中のカウンタ物質の濃度と、プロセス泳動後の溶出液中のアルブミンの濃度との関係を示す。いずれの場合も、カウンタ物質の濃度にほぼ比例して溶出液中のアルブミンの濃度が上がっていた。アルブミンの移動により、溶出液中のアルブミンの濃度が上がり、投入液中のアルブミンの濃度が下がり、その結果浸透圧が下がった。それにより、溶出液中のアルブミン濃度には限界が存在する。しかし、カウンタ物質がアルブミンと逆方向に移動することで、浸透圧の低下の問題を低減し、より高い最終アルブミン濃度に到達できることが明らかになった。

[0139] ＜実施例８：唾液中アルブミンの分離と濃縮＞

本実施例では、ポリアクリルアミドゲルをセパレータとして用い、唾液から対象物質としてのアルブミンを精製し、濃縮した。

[0140] 電気泳動緩衝液として、マレイン酸でｐＨ調整したトリスグリシン緩衝液（ｐＨ６．０。以降、１×「ＴＭＧ緩衝液」と呼ぶ。）。この１×ＴＭＧ緩衝液を溶出室に導入した。

[0141] 唾液サンプルは以下のように準備した。唾液を発明者から取得し、コットンでろ過した。ろ過後、６ｍＬのろ過唾液と６００μＬの１０倍希釈したＴＭＧ緩衝液（１０×ＴＭＧ緩衝液）とを混合し、２．５mLずつ投入室に導入した。

[0142] セパレータは以下のように準備した。まず、１１４μＬの超純水、２０μＬの１×ＴＭＧ緩衝液ｐＨ６．０、６６μＬの３０ｗ／ｖ％のアクリルアミド／ビス混合液、２μＬの１０％ＡＰＳ、０．８μＬのＴＭＥＤを混合して、１０％ポリアクリルアミドゲルを準備した。１６０μＬのこのゲルを、ＣＥＬＬＬＯＳＥ　ＡＣＥＴＡＴＥΦ０．２μｍ（ＡＤＶＡＮＴＥＣ社）のフィルタユニットを用いて、支持した。

[0143] プロセス電気泳動は、室温で２５Ｖ（電流は最大で約２４ｍＡ）で１８０分間行った。

[0144] 測定電気泳動は以下のように行った。まず、プロセス電気泳動後、溶出室から溶出液を摘出し、１５μＬの溶出液と５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）を混合した。混合液を９５℃で１０分間加熱した。その内の６μＬを、５－２０％ポリアクリルアミドゲル（ＤＲＣ社、＃ＮＴＨ－５７６ＨＰ１０)に滴下した。これに対して、電気泳動を、１８０Ｖで６０分間行った。

[0145] 図１５に電気泳動ゲル写真を示す。１，２，３はそれぞれ、元の唾液サンプル（１）、及びプロセス電気泳動後の投入液（２）と溶出液（３）とに該当する。唾液中にあったアミラーゼ（１）は、溶出液で多少検出されたものの（３）、ほぼ投入室に残っていた（２）。これに対し、アルブミンの多くは溶出液に移動させることができた（３）。このように、唾液中のアルブミンが少なくともアミラーゼから分離されたことが確認された。

[0146] プロセス電気泳動後の溶出液中のアルブミンのバンドの濃さは、プロセス電気泳動前の唾液サンプル中のそれに対して、約１２．７倍であった。すなわち、本プロセス電気泳動によって、アルブミンが１２．７倍に濃縮することができた。投入室の容量は２．５ｍＬ、溶出室の容量は１５０μＬであり、浸透圧を一切考慮しないとその比率は１７倍である。したがって、この結果は、当該方法によってアルブミンを高濃度に濃縮できることが示している。

[0147] ＜実施例９：唾液中アルブミンと巨大分子との分離＞

本実施例では、ポリアクリルアミドゲルをセパレータとして用い、唾液から対象物質としてのアルブミンを精製し、唾液中の巨大分子から分離した。

[0148] 電気泳動緩衝液、及び唾液サンプルは、実施例８と同じものを用いた。溶出液及びセパレータのゲルのｐＨは、８．５に調整された。

[0149] セパレータは、５０μＬの１．５％アガロースゲルを添加し固化させ支持体を形成した。これに、１１０μＬの１０％ポリアクリルアミドゲルと１×ＴＭＧ緩衝液（ｐＨ８．５）との混合液を導入し、３０℃で２０分静置して準備した。

[0150] プロセス電気泳動は、室温で１００Ｖ（電流は最大で約２４ｍＡ）で３０分間行った。電気泳動用緩衝液は１×ＴＭＧ緩衝液（ｐＨ７．５）を使用した。

[0151] 測定電気泳動は以下のように行った。まず、プロセス電気泳動後、溶出室から溶出液を摘出し、１５μＬの溶出液と５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）を混合した。混合液を９５℃で１０分間加熱した。その内の３μＬを、５－２０％ポリアクリルアミドゲル（ＤＲＣ社、＃ＮＴＨ－５７６ＨＰ１０)に滴下した。これに対して、電気泳動を、１８０Ｖで６０分間行った。

[0152] 図１６に電気泳動ゲル写真を示す。１，２，３はそれぞれ、元の唾液サンプル（１）、及びプロセス電気泳動後の投入液（２）と溶出液（３）とに該当する。唾液中にあったアミラーゼとラクトフェリン（１）は、溶出液で多少検出されたものの（３）、ほぼ投入室に残っていた（２）。これに対し、アルブミ

ンの多くは溶出液に移動させることができた（３）。このように、唾液中のアルブミンが少なくともアミラーゼとラクトフェリンから分離されたことが確認された。

[0153] 唾液サンプル中には、巨大分子又は巨大複合体が存在していた（１）。この巨大分子は、ムチンを含むと推測される。このように、巨大分子が溶出室へ移動することを阻止できた。例えば、投入室のｐＨを調整することで、巨大分子が溶出室へ移動することを阻止することができる。例えば、ポリアクリルアミドのように比較的狭い網目構造を有するセパレータを用いることで、巨大分子が溶出室へ移動することを阻止することができる。それらを組み合わせてもよい。

[0154] ラクトフェリンは、等電点８．８であり、本実施例の溶液のｐＨ８．５に対して若干の正電荷を帯びるか無電荷状態となる。このため、ラクトフェリンは、アルブミンと反対方向に移動したか、あるいは移動しなかった、少なくとも溶出室に移動しなかったと考えられる

[0155] 低分子の除去は、本実施例では意図しなかったが、可能である。例えば、セパレータは、低分子を捕捉し又は低分子の移動速度を遅くさせる樹脂（セファクリル（登録商標）などのゲルろ過クロマトグラフィー又はサイズ排除クロマトグラフィーに用いられる樹脂など）を含んでいてもよい。例えば、セパレータのゲルに低分子捕捉樹脂を混合してもよい。例えば、ポリアクリルアミドゲルのゲル層と、低分子捕捉樹脂を含む層とを積層させてもよい。このような構成により、セパレータが、ムチン、ラクトフェリンなどの比較的大きな分子だけでなく、低分子の夾雑物を捕捉し、対象物質の通過を許容する。これにより、目的の対象物質（例えばアルブミン）を精製することができる。

[0156] ＜実施例１０：全血中のアルブミンとヘモグロビンとの分離＞

本実施例では、ポリアクリルアミドゲルをセパレータとして用い、対象物質としてのアルブミンとヘモグロビンとの両方を、全血サンプルから分離した。

[0157] 電気泳動緩衝液として、マレイン酸でｐＨ調整したトリスグリシン緩衝液（ｐＨ５．２。以降、１×「ＴＭＧ緩衝液」と呼ぶ。）。この１×ＴＭＧ緩衝液を溶出室に導入した。

[0158] 全血サンプルは以下のように準備した。発明者から３０μＬの指頭血（全血）を採血管で取得し、これを２７０μＬの１×ＴＭＧ緩衝液（０．１％ＴｒｉｔｏｎＸ－１００含有）に混合し、室温で１時間静置した。これにより、全血サンプルは溶血された。この溶血サンプルの３００μＬを、１１７００μＬの１×ＴＭＧ緩衝液で希釈した。

[0159] セパレータは以下のように準備した。まず、１１４μＬの超純水、２０μＬの１×ＴＭＧ緩衝液ｐＨ５．２、６６μＬの３０ｗ／ｖ％のアクリルアミド／ビス混合液、２μＬの１０％ＡＰＳ、０．８μＬのＴＭＥＤを混合して、１０％ポリアクリルアミドゲルを準備した。１６０μＬのこのゲルを、ＣＥＬＬＬＯＳＥ　ＡＣＥＴＡＴＥΦ０．２μｍ（ＡＤＶＡＮＴＥＣ社）のフィルタユニットを用いて、支持した。

[0160] プロセス電気泳動は、冷却下で、９０Ｖで２０分、次に８０Ｖで６０分、その後９０Ｖで２０分行った。

[0161] 測定電気泳動は以下のように行った。まず、プロセス電気泳動後、溶出室から溶出液を摘出し、１５μＬの溶出液と５μＬの４×Ｌｏａｄｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｗａｋｏ社、＃１９６－１６１４２）を混合した。混合液を９５℃で１０分間加熱した。その内の３μＬを、５－２０％ポリアクリルアミドゲル（ＤＲＣ社、＃ＮＴＨ－５７６ＨＰ１０)に滴下した。これに対して、電気泳動を、１８０Ｖで６０分間行った。

[0162] アルブミンとヘモグロビンは、このｐＨでは逆方向に移動する。本来、投入室に対して２つの溶出室が、その印加電圧方向に配置されるべきである。しかし、本実施例のセッティングでは、投入室に対して１つの溶出室が設けられた。そこで、電圧の印加方法を、アルブミンとヘモグロビンとの各々に対して変えた。以下、本実施例のセッティングで、アルブミンを溶出させるための電

圧印加方向を「前向き方向」、ヘモグロビンのそれを「後ろ向き方向」と、それぞれ呼ぶ。

[0163] 図１７に電気泳動ゲル写真を示す。１～５はそれぞれ、元の全血サンプル（１）、前向き方向のプロセス電気泳動後の投入液（２）と溶出液（３）、後ろ向き方向のプロセス電気泳動後の投入液（４）と溶出液（５）、とに該当する。

[0164] 溶出液のバンド（３）及び（５）から明らかなように、アルブミンとヘモグロビンとは溶出液中に分離された。また、少なくともアルブミンは、同時に濃縮された。この結果から分かるように、本方法は、アルブミンとヘモグロビンとを、同時に分離し精製することが可能である。

[0165] ＜実施例１１：電気泳動ユニット＞

図１８に、一実施例に係る電気泳動ユニット６００の長さ方向の断面図を示す。電気泳動ユニット６００は、長さ方向に電気泳動槽６５１、それを上からカバーするトッププレート６５２、及び電気泳動槽６５１内に配置されたセパレータ６１０を備える。サンプル溶液を収容する投入室６０１及び溶出液を収容する溶出室６０１はセパレータ６１０を介して、電気泳動槽６５１、トッププレート６５２、及びセパレータ６１０によって規定される。投入室６０１及び溶出液の容積又はその比率は、所望の濃縮率に基づいて設定されてもよい。

[0166] 電気泳動槽６５１は、その長さ方向に垂直な断面が円形又はＵ字であってもよい。これにより、電場が一様に掛かり、物質の移動における無駄を抑えることができる。また、外部から温度制御用のヒートシンク又は流体（空気）を接触させる際の接触面積を大きくとることができる。電気泳動槽６５１は、外部からヒートシンクの接触、光などの電磁波の照射、送風などを受けるように構成されていてもよい。それにより、その内部の溶液の温度を調整してもよい。電気泳動槽６５１は、高熱伝導素材で形成されてもよい。

[0167] 電気泳動槽６５１は、長さ方向の両方の端面に電極６２１，６２２を有する。電極６２１、６２２は、電気泳動槽６５１に固定されていてもよい。例え

ば、電極６２１，６２２は、金属平板で形成されていてもよい。金属平板６２１，６２２が電気泳動槽６５１の両端面に接着されていてもよい。例えば、電極６２１，６２２は、白金などの材料をメッキで蒸着して形成されていてもよい。電極６２１、６２２は、電気泳動プロセスの際に、電気泳動槽６５１の両端面に接触又は近接するように、外部の部材として構成されてもよい。

[0168] ＜実施例１２：カートリッジ＞

図１９に、上記実施例の電気泳動ユニット６００を含むピペットカートリッジ７００の一例を含む。図１９（Ａ）に、ピペットカートリッジ７００の上面図を示し、図１９（Ｂ）に（Ａ）に示すＡ－Ａ断面図を示す。ピペットカートリッジ７００は、プレート（本体）７０１に電気泳動ユニット６００を嵌め込み固定するための電気泳動ユニット固定部７１０が設けられている。電気泳動ユニット固定部７１０は、プレート７０１に開口され、電気泳動ユニット６００はその開口に挿入される。電気泳動ユニット６００は、開口の四隅でプレート７０１に固定された係止ピン７１１，７１２によって固定される。

[0169] 電気泳動ユニット固定部７１０の長手方向の両端のそれぞれに、電極コンタクト用の板バネ７１３，７１４が配置されている。電気泳動ユニット固定部７１０の開口に挿入され固定された電気泳動ユニット６００の両端の電極６２１，６２２はそれぞれ、電極コンタクト用の板バネ７１３，７１４と接触し、その間の電気的接続が形成される。板バネ７１３，７１４はそれぞれ、電線７３３，７３４を介して、プレート７０１の長手方向の先頭端に固定されたコネクタ７３１，７３２に接続されている。コネクタ７３１，７３２は、ピペットカートリッジ７００が、自動ピペット装置本体（不図示）に、その先端から挿入され、ピペットカートリッジ７００の先端を止めるストッパーに当接する。その端面に、コネクタ７３１，７３２とのコンタクト（不図示）が設けられている。コネクタ７３１，７３２とそのコンタクトとの間で電気的接続が確立されることで、電気泳動ユニット６００に対して電力を供給できるようになる。

[0170] 図１９では、電気泳動ユニット６００と外部との電気的接続を、板バネ７１３，７１４とコネクタ７３１，７３２とで確立させたが、電気的接続の態様はこれに限られない。例えば、自動ピペット装置の本体内に、板バネを有する電力提供ユニットが配置され、これが挿入されたカートリッジ７００に対して移動し、その板バネが電気泳動ユニット６００の両端の電極６２１，６２２とコンタクトしてもよい。

[0171] いくつかの実施形態では、ピペットカートリッジには、測定用のウェル、測定に必要な溶液を収容するウェル、ピペットチップ、チューブなどを保持するための孔などが設けられていてもよい。いくつかの実施形態では、ピペットカートリッジには、センサが取り付けられていてもよい。

[0172] 図１９に示すピペットカートリッジ７００は、電気泳動プロセスの対象となるサンプルの容器を載置するためのサンプル容器置き７２１、サンプルをサンプル容器から取り電気泳動ユニット６００の投入室に導入するためのサンプル用チップを載置するためのサンプル用チップ置き７２２、電気泳動プロセス後に溶出室から溶液を取り出すための溶出液用チップを配置する溶出液用チップ置き７２３、を備える。さらに、ピペットカートリッジ７００は、電気泳動プロセスに用いるバッファを収容するバッファウェル７３１を備えていて、バッファウェル７３１は使用までシール膜７３２でシールされ、内部のバッファ（不図示）を密封している。シール膜は、例えばアルミニウム膜であり、ピペットチップはこれを簡単に貫通し、内部のバッファを取得することができる。ピペットカートリッジ７００は、さらに、プロセス後の溶出液を回収するためのチューブを載置するための溶出液用チューブ置き７１４を備えている。電気泳動プロセス後の処理液を溶出液用チューブの内部に移し、チューブとともに、ピペットカートリッジ７００から他の場所へ移動することができる。

[0173] 例えば、ピペットカートリッジ７００及び／又は自動ピペット装置は、電気泳動ユニット６００の温度を制御するように構成されてもよい。例えば、自動ピペット装置内に、温度制御されたヒートシンクが配置され、これが挿入されたカートリッジ７００に対して移動し、電気泳動ユニット６００の電気泳動槽

６５１に密着してもよい。あるいは例えば、自動ピペット装置は、温度制御された流体（例えば冷却空気）を電気泳動槽６５１の表面に当ててもよい。これらにより、効率的に電気泳動プロセス中の溶液の温度を適切に制御することができる。いくつかの実施形態では、電気泳動槽６５１の温度、電気泳動プロセス中の溶液の温度は、測定され、自動制御されてもよい。

[0174] いくつかの実施形態では、電気泳動ユニットを装着するための（未装着の）ピペットカートリッジが提供されてもよい。いくつかの実施形態では、電気泳動ユニットが装着された（電気泳動ユニットを含む）ピペットカートリッジが提供されてもよい。

[0175] 本開示は以下の実施形態も提供する：

Ａ００１

電気泳動により対象物質を処理する方法であって、

対象物質の通過を許容するセパレータを設けること；

前記対象物質を含有する第一溶液を前記セパレータの第一側に導入すること；

前記セパレータの第二側に第二溶液を導入すること；及び

前記対象物質を、前記第一溶液から前記セパレータを通って前記第二溶液へ、電気泳動によって選択的に移動させること；

を備える方法。

Ａ００１ｂ

電気泳動により対象物質を処理する方法であって、

対象物質及び夾雑物の一方の通過を許容するセパレータを設けること；

前記対象物質及び前記夾雑物を含有する第一溶液を前記セパレータの第一側に導入すること；

前記セパレータの第二側に第二溶液を導入すること；及び

前記対象物質及び夾雑物の一方を、前記第一溶液から前記セパレータを通って前記第二溶液へ、電気泳動によって選択的に移動させること；

を備える方法。

Ａ００２

Ａ００１、Ａ００１ｂ、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記対象物質を処理する方法は、

前記対象物質を濃縮すること；

前記対象物質のバッファを交換すること；及び

前記対象物質を精製すること

の少なくとも一つを行う、

方法。

Ａ００３

Ａ００１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記対象物質を処理する方法は、

前記対象物質を濃縮すること；

前記対象物質のバッファを交換すること；及び

前記対象物質を精製すること

の複数を同時に行う、

方法。

Ａ００４

Ａ００１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記対象物質を処理する方法は、

前記対象物質を濃縮すること；及び

前記対象物質を精製すること

を同時に行う、

方法。

Ａ００５

Ａ００３又はＡ００４、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記同時に行うことは、一次元の電気泳動で行うことを備える、

方法。

Ａ００７

Ａ００１からＡ００３のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータは、ゲル、半透膜、及びレジンからなる群から選択される物質を備える、

方法。

Ａ００８

Ａ００１からＡ００７のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータは、アガロースゲルを備える、

方法。

Ａ０１１

Ａ００１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記第二溶液の第二容積は、前記第一溶液の第一容積より小さい、

方法。

Ａ０１２

Ａ００１又はＡ０１１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記方法は、前記生体分子を濃縮する、

方法。

Ａ０１５

Ａ００１からＡ０１２のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記方法は、前記第二溶液に、電気泳動により対象物質と反対方向に移動する物質（カウンタ物質）を導入することを更に備え、

前記対象物質を電気泳動によって選択的に移動させることは、同時に前記カウンタ物質を前記第二溶液から前記セパレータを通って前記第一溶液へ、電気泳動によって移動させることを備える、

方法。

Ａ０１６

Ａ０１５、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記カウンタ物質は、前記対象物質と反対電荷を有する、

方法。

Ａ０１７

Ａ０１５又はＡ０１６、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記カウンタ物質は、高分子である、

方法。

Ａ０１８

Ａ０１７、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記カウンタ物質は、生体高分子である、

方法。

Ａ０１９

Ａ０１８、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記カウンタ物質は、タンパク質又は酵素である、

方法。

Ａ０２１

Ａ００１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記第一溶液の第一溶媒（第一バッファ）と、前記第二溶液の第二溶媒（第二バッファ）は異なる、

方法。

Ａ０３１

Ａ００１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる、又は対象物質の選択的な通過を許容する、

方法。

Ａ０３１ｂ

Ａ００１ｂ、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記夾雑物を選択的に通過させる、又は対象物質の選択的な通過を許容する、

方法。

Ａ０３２

Ａ０３１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータは、少なくとも一つの夾雑物の通過を抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する、

方法。

Ａ０４１

Ａ０３１又はＡ０３２、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させるゲルを備える、

方法。

Ａ０４２

Ａ０４１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記ゲルはポリアクリルアミドゲルである、

方法。

Ａ０５１

Ａ０３１又はＡ０３２、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる半透膜を備える、

方法。

Ａ０６１

Ａ００１からＡ０５１のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータ、前記第一溶液、又は前記第一溶液室（投入室）は、前記対象物質が前記セパレータを選択的に通過することを許容し、及び／又は、少なくとも一つの夾雑物が前記セパレータを通過することを抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する選択性物質を備える、

方法。

Ａ０６１ｂ

Ａ００１ｂからＡ０５１のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記セパレータ、前記第一溶液、又は前記第一溶液室（投入室）は、少なくとも一つの夾雑物が前記セパレータを選択的に通過することを許容し、及び／又は、対象物質が前記セパレータを通過することを抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する選択性物質を備える、

方法。

Ａ０６２

Ａ００１からＡ０４７のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記電気泳動前に、選択性物質を第一溶液に混合することを更に備える、

方法。

Ａ０６３

Ａ０６１又はＡ０６２、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記選択性物質は、タンパク質を精製する能力を有する、

方法。

Ａ０６４

Ａ０６１からＡ０６３のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記選択性物質又は前記タンパク質精製用レジンは、ハイドロキシアパタイト、陽イオン交換担体、陰イオン交換担体、及び疎水性レジンからなる群から選択される、

方法。

Ａ０７１

Ａ００１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記第一溶液のｐＨは、前記対象物質の等電点より大きく（高く）／小さく（低く）、

前記対象物質は負／正電荷を有し、

前記電気泳動によって選択的に移動させることは、前記第一溶液側を負／正に、前記第二溶液側を正／負となるように電場を印加することを備える、方法。

Ａ０７２

Ａ０７１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記第一溶液のｐＨは、前記第一溶液に含まれる夾雑物の少なくとも一つの等電点と同じ又はより高い、

方法。

Ａ０８１

電気泳動により対象物質を処理する方法であって、

対象物質の通過を許容する第一セパレータを設けること；

前記対象物質を含有する第一溶液を前記第一セパレータの第一側に導入すること；

前記第一セパレータの第二側と第二セパレータの第一側に第二溶液を導入すること；

前記第二セパレータの第二側に第三溶液を導入すること；

前記対象物質を、前記第一溶液から前記第一セパレータを通って前記第二溶液へ、電気泳動によって選択的に移動させること；及び

前記対象物質を、前記第二溶液から前記第二セパレータを通って前記第三溶液へ、電気泳動によって移動させること、

を備える方法。

Ａ０８１ｂ

電気泳動により対象物質を処理する方法であって、

第一対象物質の通過を許容する第一セパレータと、第二対象物質の通過を許容する第二セパレータを設けること；

前記第一対象物質及び前記第二対象物質を含有する第一溶液を前記第一セパレータと第二セパレータの間に導入すること；

前記第一対象物質を、前記第一溶液から前記第一セパレータを通って、前記第一セパレータの反対側へ、電気泳動によって選択的に移動させること；及び

前記第二対象物質を、前記第一溶液から前記第二セパレータを通って、前記第二セパレータの反対側へ、電気泳動によって移動させること、

を備える方法。

Ａ０８２

Ａ０８１ｂ、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記溶液のｐＨは、前記第一対象物質の等電点と前記第二対象物質の等電点との間である、

方法。

Ａ０９１

Ａ００１からＡ０８２のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記第一溶液は、前記対象物質と前記対象物質より小さい分子量を有する低分子夾雑物とを含み、

前記電気泳動は、前記対象物質及び前記低分子夾雑物が前記セパレータを通過し前記第二溶液へ移動する方向の前向き電場の印加と、逆向き電場の印加とを繰り返すことを含む、

方法。

Ａ０９２

Ａ０９１、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記前向き電場の印加と、逆向き電場の印加とを繰り返すことは、前記低分子夾雑物を前記第一溶液が戻ることを促進させることを含む、

方法。

Ａ１０１

Ａ００１からＡ０８１ｂのいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記第一溶液は、生体由来の溶液である、

方法。

Ａ１０２

Ａ００１からＡ０８１ｂのいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記第一溶液は、クルードサンプルである、

方法。

Ａ１０３

Ａ１０１又は１０２、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記第一溶液は、血液、唾液、涙液、尿及び間質液からなる群から選択される生体由来溶液である、

方法。

Ａ１１１

Ａ００１からＡ１０３のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記対象物質は、前記第一溶液に含まれる生体分子である、

方法。

Ａ１１２

Ａ００１からＡ１０３のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記対象物質は、前記第一溶液に含まれるアルブミンである、

方法。

[0176] Ｂ００１

電気泳動により対象物質を処理する装置（デバイス）であって、

第一溶液室（投入室）；

前記第一溶液室（投入室）に隣接する第二溶液室（溶出室）；及び

前記第一溶液室と前記第二溶液室とを分画し、前記第一溶液室から前記第二溶液室への対象物質の通過を許容し、かつ通電性を有するセパレータ；

を備え、

前記第一溶液室が、前記対象物質を含有する第一溶液で満たされ；

前記第二溶液室が第二溶液で満たされ；

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場が印加されて、前記対象物質を、前記第一溶液室から前記セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させる、

ように構成された装置（デバイス）。

Ｂ００１ｂ

電気泳動により対象物質を処理する装置（デバイス）であって、

第一溶液室（投入室）；

前記第一溶液室（投入室）に隣接する第二溶液室（溶出室）；及び

前記第一溶液室と前記第二溶液室とを分画し、前記第一溶液室から前記第二溶液室への対象物質及び夾雑物のいずれか一方の通過を許容し、かつ通電性を有するセパレータ；

を備え、

前記第一溶液室が、前記対象物質及び前記夾雑物を含有する第一溶液で満たされ；

前記第二溶液室が第二溶液で満たされ；

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場が印加されて、前記対象物質及び夾雑物のいずれか一方を、前記第一溶液室から前記セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させる、

ように構成された装置（デバイス）。

Ｂ００２

Ｂ００１に記載の装置（デバイス）であって、

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場を印加するように構成された電極対を更に備える、

装置（デバイス）。

Ｂ０１１

Ｂ００１又はＢ００２、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、

前記第二溶液室の第二容積は、前記第一溶液室の第一容積より小さい、装置（デバイス）。

Ｂ０２１

Ｂ００１又はＢ００２、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、

前記第一溶液の第一溶媒（第一バッファ）と、前記第二溶液の第二溶媒（第二バッファ）とは互いに異なる、

装置（デバイス）。

Ｂ０３１

Ｂ００１又はＢ００２、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる、又は対象物質の選択的な通過を許容する、

装置（デバイス）。

Ｂ０３２

Ｂ０３１、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、

前記セパレータは、少なくとも一つの夾雑物の通過を抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する、

装置（デバイス）。

Ｂ０４１

Ｂ０３１又はＡ０３２、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させるゲルを備える、

装置（デバイス）。

Ｂ０４２

Ｂ０４１、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、

前記ゲルはポリアクリルアミドゲルである、
装置（デバイス）。
Ｂ０５１
Ｂ０３１又はＢ０３２、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、
前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる半透膜を備える、
装置（デバイス）。
Ｂ０６１
Ｂ００１からＢ０５１のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、
前記セパレータ、前記第一溶液、又は前記第一溶液室（投入室）は、前記対象物質が前記セパレータを選択的に通過することを許容し、及び／又は、少なくとも一つの夾雑物の前記セパレータの通過を抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する選択性物質を備える、
装置（デバイス）。
Ｂ０６２
Ｂ０３１からＢ０４７のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、
前記電気泳動前に、前記選択性物質を第一溶液に混合するように構成された、
装置（デバイス）。
Ｂ０６３
Ｂ０５１又はＢ０５２、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、
前記選択性物質はタンパク質精製用レジンである、
装置（デバイス）。
Ｂ０６４

Ｂ０５１からＢ０５３のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の装置（デバイス）であって、

前記選択性物質又は前記タンパク質精製用レジンは、ハイドロキシアパタイト、陽イオン交換担体、陰イオン交換担体からなる群から選択される、

方法。

Ｂ０８１

電気泳動により対象物質を処理する装置（デバイス）であって、

第一溶液室（投入室）；

前記第一溶液室（投入室）に隣接する第二溶液室（第一溶出室）；

前記第二溶液室（第一溶出室）に隣接する第三溶液室（第二溶出室）；

前記第一溶液室と前記第二溶液室とを分画し、前記第一溶液室から前記第二溶液室への対象物質の通過を許容（し、かつ通電性を有）する第一セパレータ；及び

前記第二溶液室と前記第三溶液室とを分画し、前記第二溶液室から前記第三溶液室への前記対象物質の通過を許容（し、かつ通電性を有）する第二セパレータ；

を備える装置（デバイス）。

[0177] Ｃ００１

電気泳動により対象物質を処理する方法であって、

実施形態Ｂ００１からＢ０６４のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の電気泳動装置を提供すること；

前記第一溶液室を、対象物質を含有する第一溶液で満たすこと；

前記第二溶液室を第二溶液で満たすこと；及び

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場を印加し、前記対象物質を、前記第一溶液室から前記セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させること；

を備える方法。

Ｃ０８１

電気泳動により対象物質を処理する方法であって、

Ｂ０８１、又はいずれかの実施形態に記載の電気泳動装置を提供すること；

前記第一溶液室を、対象物質を含有する第一溶液で満たすこと；

前記第二溶液室を第二溶液で満たすこと；

前記第三溶液室を第三溶液で満たすこと；

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場を印加し、前記対象物質を、前記第一溶液室から前記第一セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させること；及び

前記第二溶液室と前記第三溶液室との外側から電場を印加し、前記対象物質を、前記第二溶液室から前記第二セパレータを通って前記第三溶液室へ、電気泳動によって移動させること；

を備える方法。

[0178] 本発明の好ましい実施形態を本明細書に示し、説明したが、そのような実施形態は例としてのみ提供されることは当業者には明らかであろう。本発明は、本明細書内で提供される特定の例によって限定されることを意図するものではない。上記の明細書を参照して本発明を説明したが、本明細書の実施形態の説明及び図は、限定的な意味で解釈されることを意図していない。本発明から逸脱することなく、当業者には多数の変形、変更、及び置換が思い浮かぶであろう。さらに、本発明のすべての態様は、様々な条件及び変数に依存する本明細書に記載の特定の描写、構成、又は相対的割合に限定されないことを理解されたい。本明細書に記載された本発明の実施形態に対する様々な代替物が、本発明を実施する際に使用され得ることを理解されたい。したがって、本発明は、そのような代替形態、修正形態、変形形態、又は均等物も網羅するものと考えられる。以下の特許請求の範囲が本発明の範囲を定義し、これらの特許請求の範囲内の方法及び構造ならびにそれらの同等物がそれによってカバーされることが意図されている。

請求の範囲

[請求項1] 電気泳動により対象物質を処理する方法であって、

対象物質の通過を許容するセパレータを設けること；

前記対象物質を含有する第一溶液を前記セパレータの第一側に導入すること；

前記セパレータの第二側に第二溶液を導入すること；及び

前記対象物質を、前記第一溶液から前記セパレータを通って前記第二溶液へ、電気泳動によって選択的に移動させること；

を備える方法。

[請求項2] 請求項１に記載の方法であって、

前記対象物質を処理する方法は、

前記対象物質を濃縮すること；

前記対象物質のバッファを交換すること；及び

前記対象物質を精製すること

の複数を同時に行う、

方法。

[請求項3] 請求項２に記載の方法であって、

前記同時に行うことは、一次元の電気泳動で行うことを備える、

方法。

[請求項4] 請求項１に記載の方法であって、

前記第二溶液の第二容積は、前記第一溶液の第一容積より小さい、

方法。

[請求項5] 請求項１から４のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記方法は、前記第二溶液に、電気泳動により対象物質と反対方向に移動するカウンタ物質を導入することを更に備え、

前記対象物質を電気泳動によって選択的に移動させることは、同時に前記カウンタ物質を前記第二溶液から前記セパレータを通って前記第一溶液へ、電気泳動によって移動させることを備える。方法。

[請求項6] 請求項５に記載の方法であって、

前記カウンタ物質は、前記対象物質と反対電荷を有する、

方法。

[請求項7] 請求項１に記載の方法であって、

前記第一溶液の第一溶媒（第一バッファ）と、前記第二溶液の第二溶媒（第二バッファ）は異なる、

方法。

[請求項8] 請求項１に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる、又は対象物質の選択的な通過を許容する、

方法。

[請求項9] 請求項８に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させるゲルを備える、

方法。

[請求項10] 請求項９に記載の方法であって、

前記ゲルはポリアクリルアミドゲルである、

方法。

[請求項11] 請求項８に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる半透膜を備える、

方法。

[請求項12] 請求項１に記載の方法であって、

前記セパレータ、又は前記第一溶液室（投入室）は、前記対象物質が前記セパレータを選択的に通過することを許容し、及び／又は、少なくとも一つの夾雑物の前記セパレータの通過を抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する選択性物質を備える、
方法。

[請求項13] 請求項１に記載の方法であって、
前記電気泳動前に、選択性物質を第一溶液に混合することを更に備える、
方法。

[請求項14] 請求項１２又は１３に記載の方法であって、
前記選択性物質は、タンパク質を精製する能力を有する、
方法。

[請求項15] 請求項１２又は１３に記載の方法であって、
前記選択性物質は、ハイドロキシアパタイト、陽イオン交換担体、陰イオン交換担体、及び疎水性レジンからなる群から選択される、
方法。

[請求項16] 請求項１に記載の方法であって、
前記第一溶液のｐＨは、前記対象物質の等電点より大きく（高く）／小さく（低く）、
前記対象物質は負／正電荷を有し、
前記電気泳動によって選択的に移動させることは、前記第一溶液側を負／正に、前記第二溶液側を正／負となるように電場を印加することを備える、
方法。

[請求項17] 請求項１６に記載の方法であって、
前記第一溶液のｐＨは、前記第一溶液に含まれる夾雑物の少なくとも一つの等電点と同じ又はより高い、

方法。

[請求項18] 請求項１に記載の方法であって、

前記第一溶液は、生体由来の溶液である、

方法。

[請求項19] 請求項１８に記載の方法であって、

前記第一溶液は、クルードサンプルである、

方法。

[請求項20] 請求項１８又は１９に記載の方法であって、

前記第一溶液は、血液、唾液、涙液、尿及び間質液からなる群から選択される生体由来溶液である、

方法。

[請求項21] 請求項２０に記載の方法であって、

前記対象物質は、前記第一溶液に含まれる生体分子である、

方法。

[請求項22] 請求項２１に記載の方法であって、

前記対象物質は、前記第一溶液に含まれるアルブミンである、

方法。

[請求項23] 電気泳動により対象物質を処理するデバイスであって、

第一溶液室；

前記第一溶液室に隣接する第二溶液室；及び

前記第一溶液室と前記第二溶液室とを分画し、前記第一溶液室から前記第二溶液室への対象物質の通過を許容し、かつ通電性を有するセパレータ；

を備え、

前記第一溶液室が、前記対象物質を含有する第一溶液で満たされ；

前記第二溶液室が第二溶液で満たされ；

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場が印加されて、前記対象物質を、前記第一溶液室から前記セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させる、
ように構成されたデバイス。

[請求項24] 請求項２３に記載のデバイスであって、
前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場を印加するように構成された電極対を更に備える、
デバイス。

[請求項25] 請求項２３又は２４に記載のデバイスであって、
前記第二溶液室の第二容積は、前記第一溶液室の第一容積より小さい、
デバイス。

[請求項26] 請求項２３又は２４に記載のデバイスであって、
前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる、又は対象物質の選択的な通過を許容する、
デバイス。

[請求項27] 請求項２６に記載のデバイスであって、
前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させるゲルを備える、
デバイス。

[請求項28] 請求項２６に記載のデバイスであって、
前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる半透膜を備える、
デバイス。

[請求項29] 請求項２３又は２４に記載のデバイスであって、
前記セパレータ、又は前記第一溶液室は、前記対象物質が前記セパレータを選択的に通過することを許容し、及び／又は、少なく

ともー つの夾雑物の前記セパレータの通過を抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する選択性物質を備える、
デバイス。

[請求項30] 請求項２３又は２４に記載のデバイスであって、
前記電気泳動前に、前記選択性物質を第一溶液に混合するように構成された、
デバイス。

[請求項31] 電気泳動により対象物質を処理するデバイスであって、
第一溶液室；
前記第一溶液室に隣接する第二溶液室；
前記第二溶液室に隣接する第三溶液室；
前記第一溶液室と前記第二溶液室とを分画し、前記第一溶液室から前記第二溶液室への対象物質の通過を許容し、かつ通電性を有する第一セパレータ；及び
前記第二溶液室と前記第三溶液室とを分画し、前記第二溶液室から前記第三溶液室への前記対象物質の通過を許容し、かつ通電性を有する第二セパレータ；
を備えるデバイス。

[請求項32] 電気泳動により対象物質を処理する方法であって、
請求項２３から３１のいずれかー項に記載の電気泳動装置を提供すること；
前記第一溶液室を、対象物質を含有する第一溶液で満たすこと；
前記第二溶液室を第二溶液で満たすこと；及び
前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場を印加し、前記対象物質を、前記第一溶液室から前記セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させること；
を備える方法。

補正された請求の範囲（条約第19条）

2024年6月18日（ 18.06.2024 ） 国際事務局受理

[請求項1] [補正後]

電気泳動により対象物質を処理する方法であって、

対象物質の通過を許容するセパレータであって、ゲルを含むセパレータを設けること；

前記対象物質を含有する第一溶液を前記セパレータの第一側に導入すること；

前記セパレータの第二側に第二溶液を導入すること；及び

前記対象物質を、前記第一溶液から前記セパレータを通って前記第二溶液へ、電気泳動によって選択的に移動させること；

を備える方法。

[請求項2] 請求項１に記載の方法であって、

前記対象物質を処理する方法は、

前記対象物質を濃縮すること；

前記対象物質のバッファを交換すること；及び

前記対象物質を精製すること

の複数を同時に行う、

方法。

[請求項3] 請求項２に記載の方法であって、

前記同時に行うことは、一次元の電気泳動で行うことを備える、

方法。

[請求項4] 請求項１に記載の方法であって、

前記第二溶液の第二容積は、前記第一溶液の第一容積より小さい、

方法。

[請求項5] 請求項１から４のいずれか一項、又はいずれかの実施形態に記載の方法であって、

前記方法は、前記第二溶液に、電気泳動により対象物質と反対方向に移動するカウンタ物質を導入することを更に備え、

前記対象物質を電気泳動によって選択的に移動させることは、同時に前記カウンタ物質を前記第二溶液から前記セパレータを通って前記第一溶液へ、電気泳動によって移動させることを備える。

方法。

[請求項6] 請求項５に記載の方法であって、

前記カウンタ物質は、前記対象物質と反対電荷を有する、

方法。

[請求項7] 請求項１に記載の方法であって、

前記第一溶液の第一溶媒（第一バッファ）と、前記第二溶液の第二溶媒（第二バッファ）は異なる、

方法。

[請求項8] 請求項１に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる、又は対象物質の選択的な通過を許容する、

方法。

[請求項9] [削除]

[請求項10] [補正後]

請求項１に記載の方法であって、

前記ゲルはポリアクリルアミドゲルである、

方法。

[請求項11] 請求項８に記載の方法であって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる半透膜を備える、

方法。

[請求項12] 請求項１に記載の方法であって、

前記セパレータ、又は前記第一溶液室（投入室）は、前記対象物質が前記セパレータを選択的に通過することを許容し、及び／又は、少なくとも一つの夾雑物の前記セパレータの通過を抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する選択性物質を備える、

方法。

[請求項13] 請求項１に記載の方法であって、

前記電気泳動前に、選択性物質を第一溶液に混合することを更に備える、

方法。

[請求項14] 請求項１２又は１３に記載の方法であって、

前記選択性物質は、タンパク質を精製する能力を有する、

方法。

[請求項15] 請求項１２又は１３に記載の方法であって、

前記選択性物質は、ハイドロキシアパタイト、陽イオン交換担体、陰イオン交換担体、及び疎水性レジンからなる群から選択される、

方法。

[請求項16] 請求項１に記載の方法であって、

前記第一溶液のｐＨは、前記対象物質の等電点より大きく（高く）／小さく（低く）、

前記対象物質は負／正電荷を有し、

前記電気泳動によって選択的に移動させることは、前記第一溶液側を負／正に、前記第二溶液側を正／負となるように電場を印加することを備える、

方法。

[請求項17] 請求項１６に記載の方法であって、

前記第一溶液のｐＨは、前記第一溶液に含まれる夾雑物の少なくとも一つの等電点と同じ又はより高い、

方法。

[請求項18] 請求項１に記載の方法であって、

前記第一溶液は、生体由来の溶液である、

方法。

[請求項19] 請求項１８に記載の方法であって、

前記第一溶液は、クルードサンプルである、

方法。

[請求項20] 請求項１８又は１９に記載の方法であって、

前記第一溶液は、血液、唾液、涙液、尿及び間質液からなる群から選択される生体由来溶液である、

方法。

[請求項21] 請求項２０に記載の方法であって、

前記対象物質は、前記第一溶液に含まれる生体分子である、

方法。

[請求項22] 請求項２１に記載の方法であって、

前記対象物質は、前記第一溶液に含まれるアルブミンである、

方法。

[請求項23] [補正後]

電気泳動により対象物質を処理するデバイスであって、

第一溶液室；

前記第一溶液室に隣接する第二溶液室；及び

前記第一溶液室と前記第二溶液室とを分画し、前記第一溶液室から前記第二溶液室への対象物質の通過を許容し、かつ通電性を有するセパレータであって、ゲルを備えるセパレータ；

を備え、

前記第一溶液室が、前記対象物質を含有する第一溶液で満たされ；

前記第二溶液室が第二溶液で満たされ；

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場が印加されて、前記対象物質を、前記第一溶液室から前記セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させる、

ように構成されたデバイス。

[請求項24] 請求項２３に記載のデバイスであって、

前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場を印加するように構成された電極対を更に備える、

デバイス。

[請求項25] 請求項２３又は２４に記載のデバイスであって、

前記第二溶液室の第二容積は、前記第一溶液室の第一容積より小さい、

デバイス。

[請求項26] 請求項２３又は２４に記載のデバイスであって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる、又は対象物質の選択的な通過を許容する、

デバイス。

[請求項27] [削除]

[請求項28] 請求項２６に記載のデバイスであって、

前記セパレータは、前記対象物質を選択的に通過させる半透膜を備える、

デバイス。

[請求項29] 請求項２３又は２４に記載のデバイスであって、

前記セパレータ、又は前記第一溶液室は、前記対象物質が前記セパレータを選択的に通過することを許容し、及び／又は、少なく

ともー つの夾雑物の前記セパレータの通過を抑制し、回避し、又はブロックする能力を有する選択性物質を備える、
デバイス。

[請求項30] 請求項２３又は２４に記載のデバイスであって、
前記電気泳動前に、前記選択性物質を第一溶液に混合するように構成された、
デバイス。

[請求項31] [補正後]
電気泳動により対象物質を処理するデバイスであって、
第一溶液室；
前記第一溶液室に隣接する第二溶液室；
前記第二溶液室に隣接する第三溶液室；
前記第一溶液室と前記第二溶液室とを分画し、前記第一溶液室から前記第二溶液室への対象物質の通過を許容し、かつ通電性を有する第一セパレータであって、ゲルを備えるセパレータ；及び
前記第二溶液室と前記第三溶液室とを分画し、前記第二溶液室から前記第三溶液室への前記対象物質の通過を許容し、かつ通電性を有する第二セパレータであって、ゲルを備えるセパレータ；
を備えるデバイス。

[請求項32] 電気泳動により対象物質を処理する方法であって、
請求項２３から３１のいずれか一項に記載の電気泳動装置を提供すること；
前記第一溶液室を、対象物質を含有する第一溶液で満たすこと；
前記第二溶液室を第二溶液で満たすこと；及び
前記第一溶液室と前記第二溶液室との外側から電場を印加し、前記対象物質を、前記第一溶液室から前記セパレータを通って前記第二溶液室へ、電気泳動によって選択的に移動させること；

を備える方法。

条約第19条（1）に基づく説明書

１）特許性の説明

国際調査機関の見解書では、「セパレータ」の部材に関して、「当業者が『ゲル』、『ポリアクリルアミドゲル』、『半透膜』等の点を特定すること自体には格別の困難性は認められない。」と述べられています。

まず、同見解書での引用文献１及び２に対する補正後の本願発明の進歩性をご説明いたします。

１－１）引用文献１について

引用文献１は、液体通路（ナノポア）を有するナノポアチップを、液体室を隔てる隔壁として用いることを開示しています。ここで、ナノポアの最大の問題点の一つは、ポアが詰まることです。当業者であれば、引用文献１の構成ではナノポアが詰まることは明らかであり、そもそも分離技術に同構成を用いる動機付けは見当たりません。実際、引用文献１には、「混在する異なるサイズの粒子を分離」し得たことを証明する測定結果は一切開示されていません。引用文献１は、ナノポア技術に終始している以上、本願発明のセパレータに「ゲル」を用いる開示もなく、またそうすべき示唆もありません。

１－２）引用文献２について

引用文献２については、「以上は、引用文献２（［図７］等参照）も同様である。」と述べられております。しかし、審査官が指摘されている図７に関する記載（００４３，００４５）をみても、引用文献２は、「膜」の「孔」を通過する「粒（細胞など）」を「分析する」いわゆるナノポアによる分析技術を開示するものです。

したがって、引用文献２は、所定の厚さを有する「膜」を用いることが必要で、引用文献２には、「ゲル」を「膜」として使用することは開示されておらず、またそうすべき示唆もありません。

さらには、「ゲル」を使用することは、引用文献２の技術が目指す「分析精度の向上」（背景技術、０００２）を阻害するものです。

１－３）作用効果の説明

引用文献１及び２に開示される固体材料のナノポアは、物理的に選択性を発揮するものであり、サイズの精度が重要です。そのため、ポアの詰まりは大きな問題です。

これに対し、補正後の本願発明が規定する「ゲル」の物質の表面の化学的性質、例えば電荷などによって、化学的に、通過物質に対する選択性が発揮されるものです。したがって、厳密に「ポア」のサイズを規定することはできません。むしろ、サイズに規定されないからこそ、サイズ効果上の詰まりの問題はなく、効率的な分離等が可能になります。

１－４）引用文献３及び６

請求項１－３２に関する進歩性の審査に引用されている、引用文献３及び６の開示内容は、上記の議論に変更を必要とするものではありません。

２）まとめ

以上ご説明した通り、補正後の独立請求項１，２３及び３１、並びにそれらを引用するすべての従属請求項は、少なくとも引用文献に対して新規性及び進歩性を有していると出願人は思料します。

[図 1]

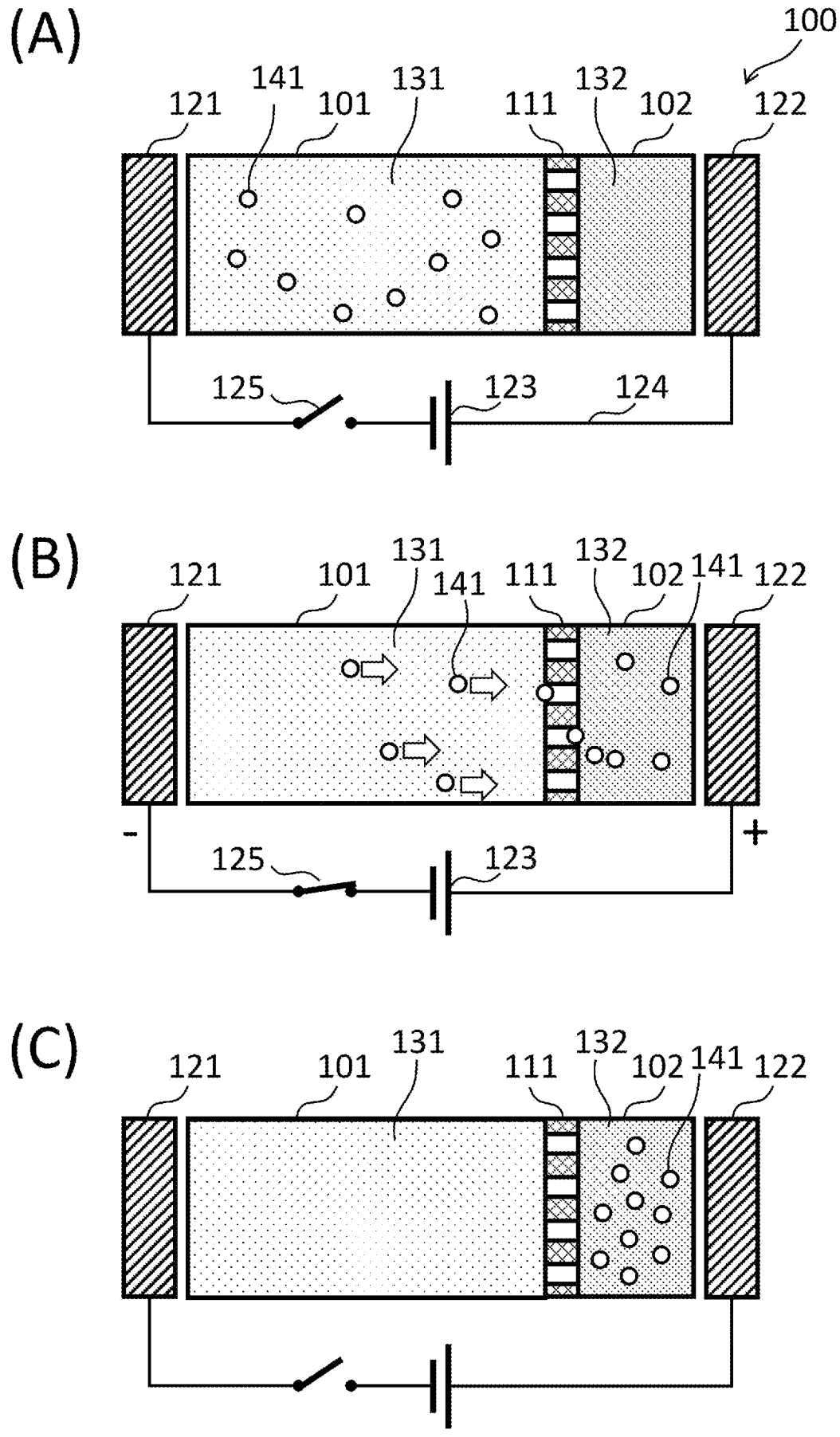

(A)
100
121
141
101
131
111
132
102
122
125
123
124
(B)
121
101
131
141
111
132
102
141
122
-
+
125
123
(C)
121
101
131
111
132
102
141
122

FIG. 1

[図 2]

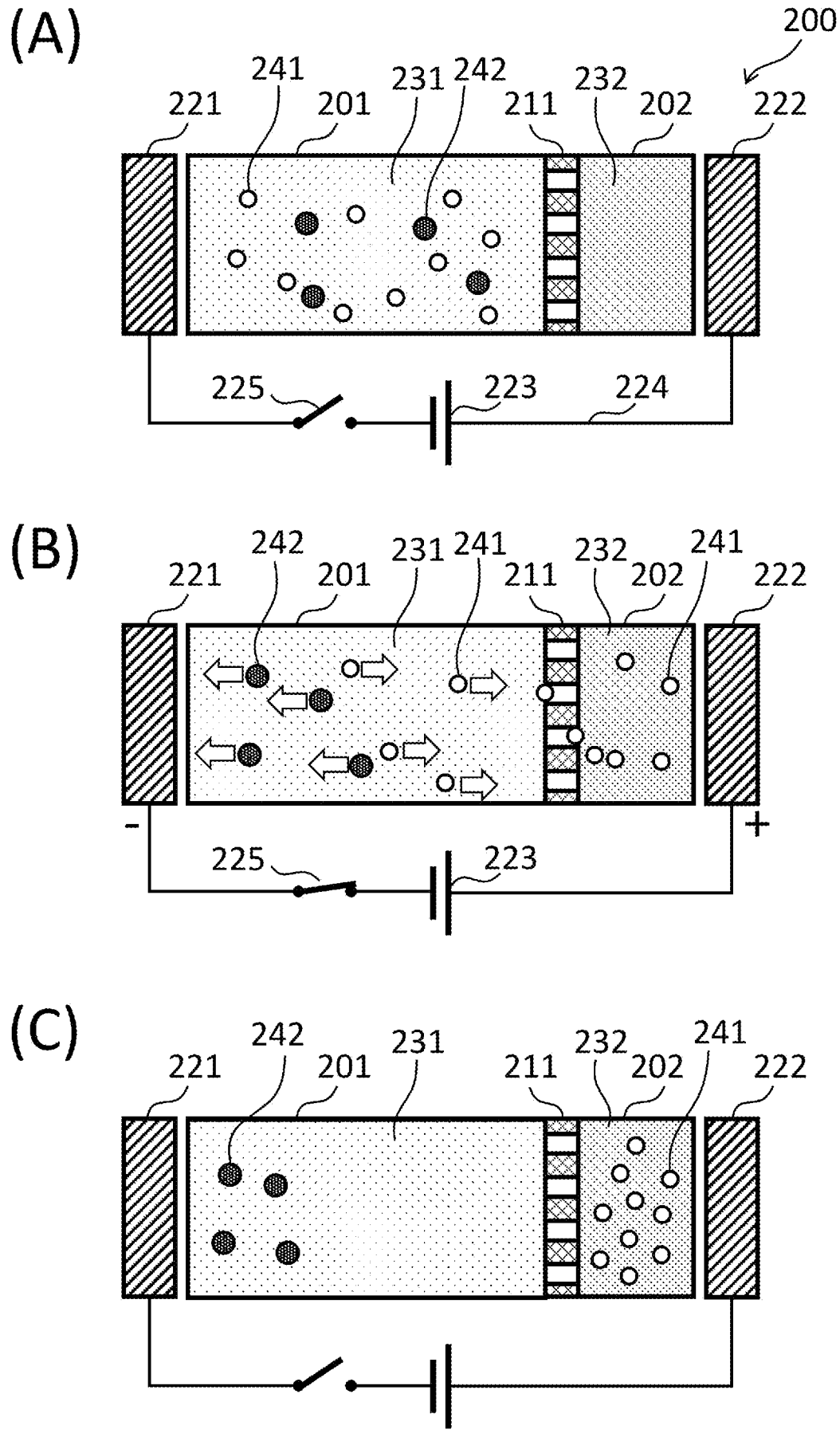

(A)
200
241
231
242
232
221
201
211
202
222
225
223
224
(B)
242
231
241
232
241
221
201
211
202
222
-
+
225
223
(C)
242
231
232
241
221
201
211
202
222

FIG. 2

[図 3]

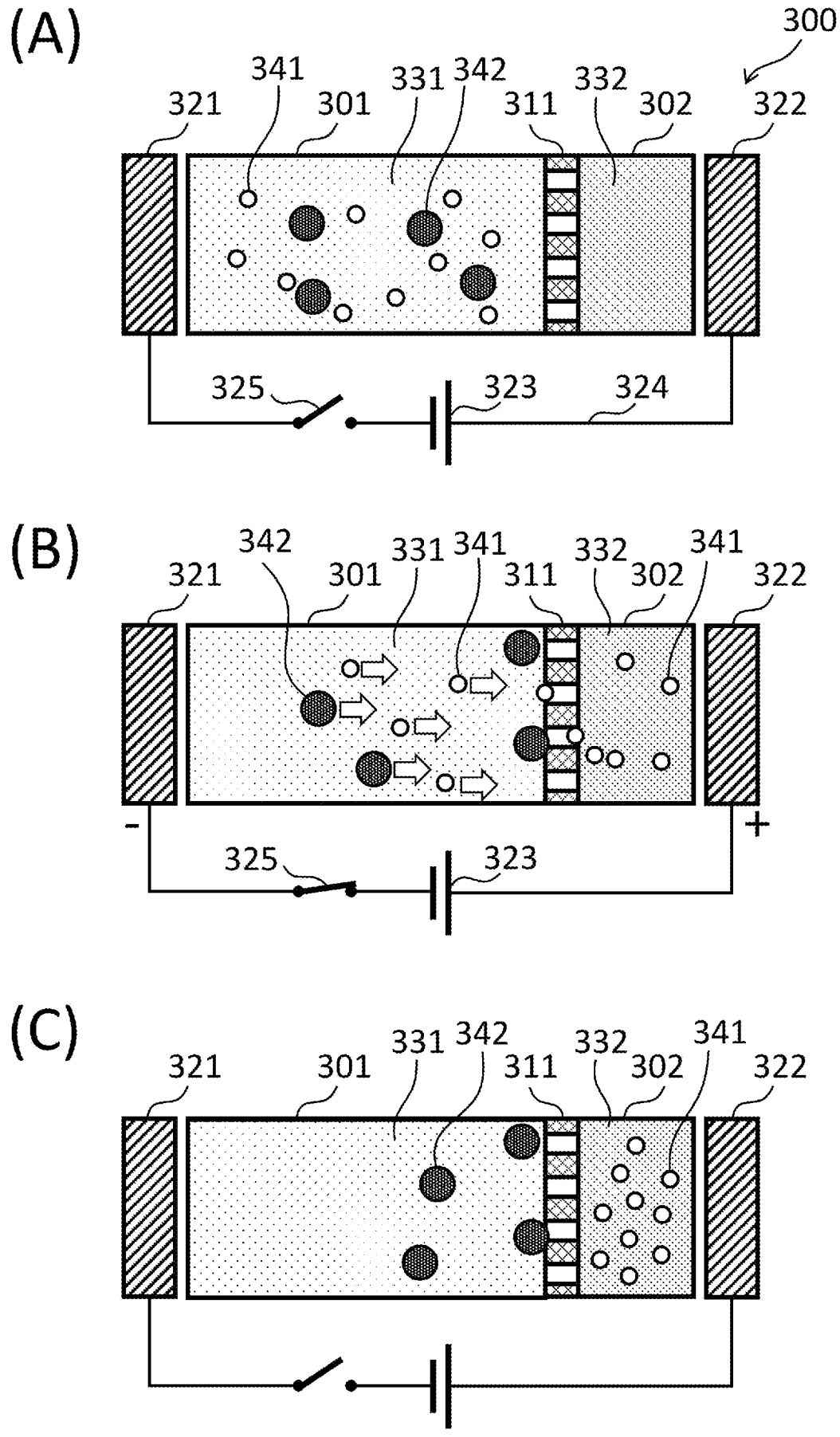

(A)
300
341
331
342
332
321
301
311
302
322
325
323
324
(B)
342
331
341
332
341
321
301
311
302
322
-
+
325
323
(C)
331
342
332
341
321
301
311
302
322

FIG. 3

[図 4]

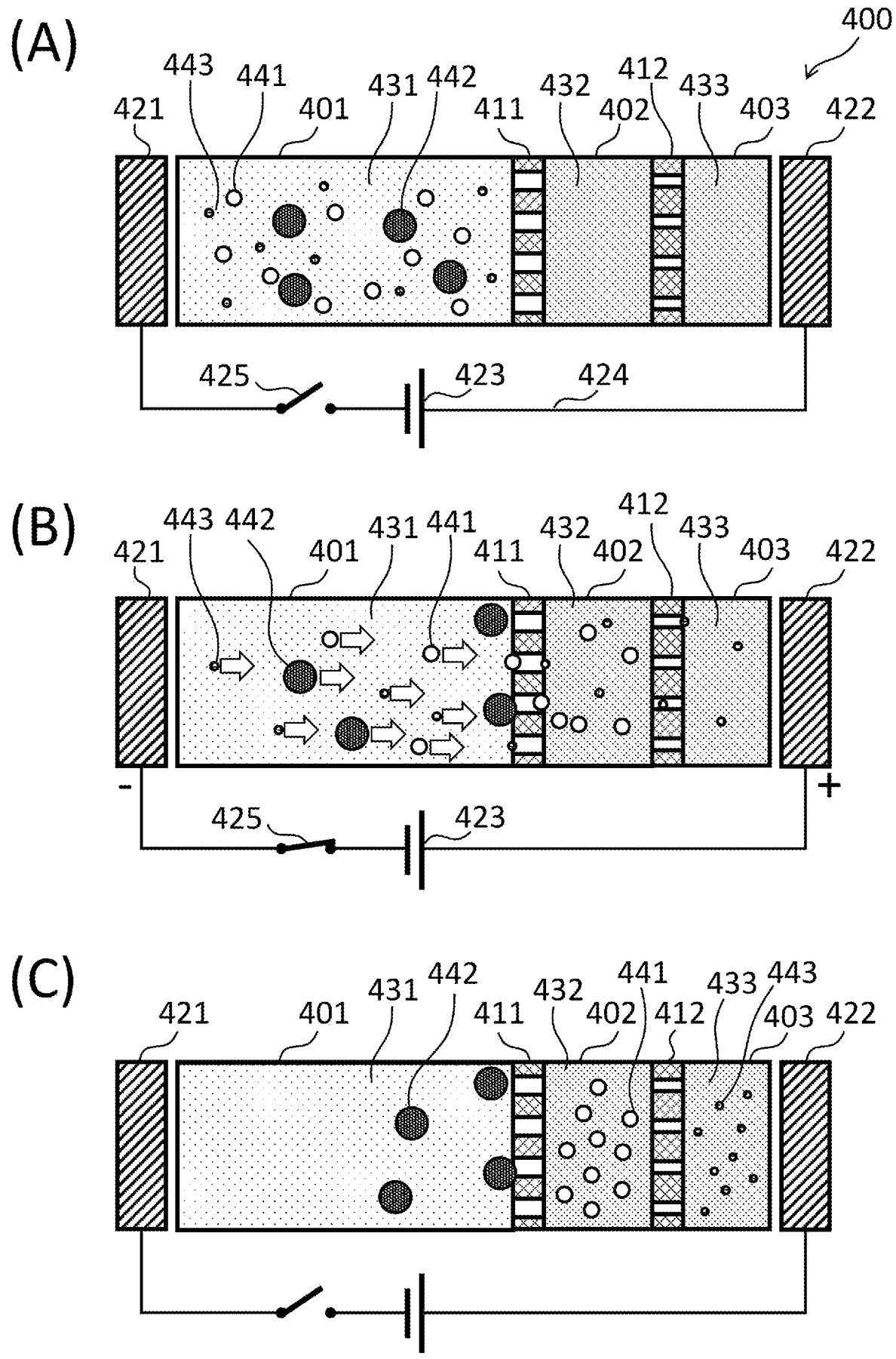

(A)
400
443
441
431
442
432
412
433
403
422
421
401
411
402
425
423
424
(B)
443
442
431
441
432
412
433
403
422
421
401
411
402
-
+
425
423
(C)
431
442
432
441
433
443
421
401
411
402
412
403
422

FIG. 4

[図 5]

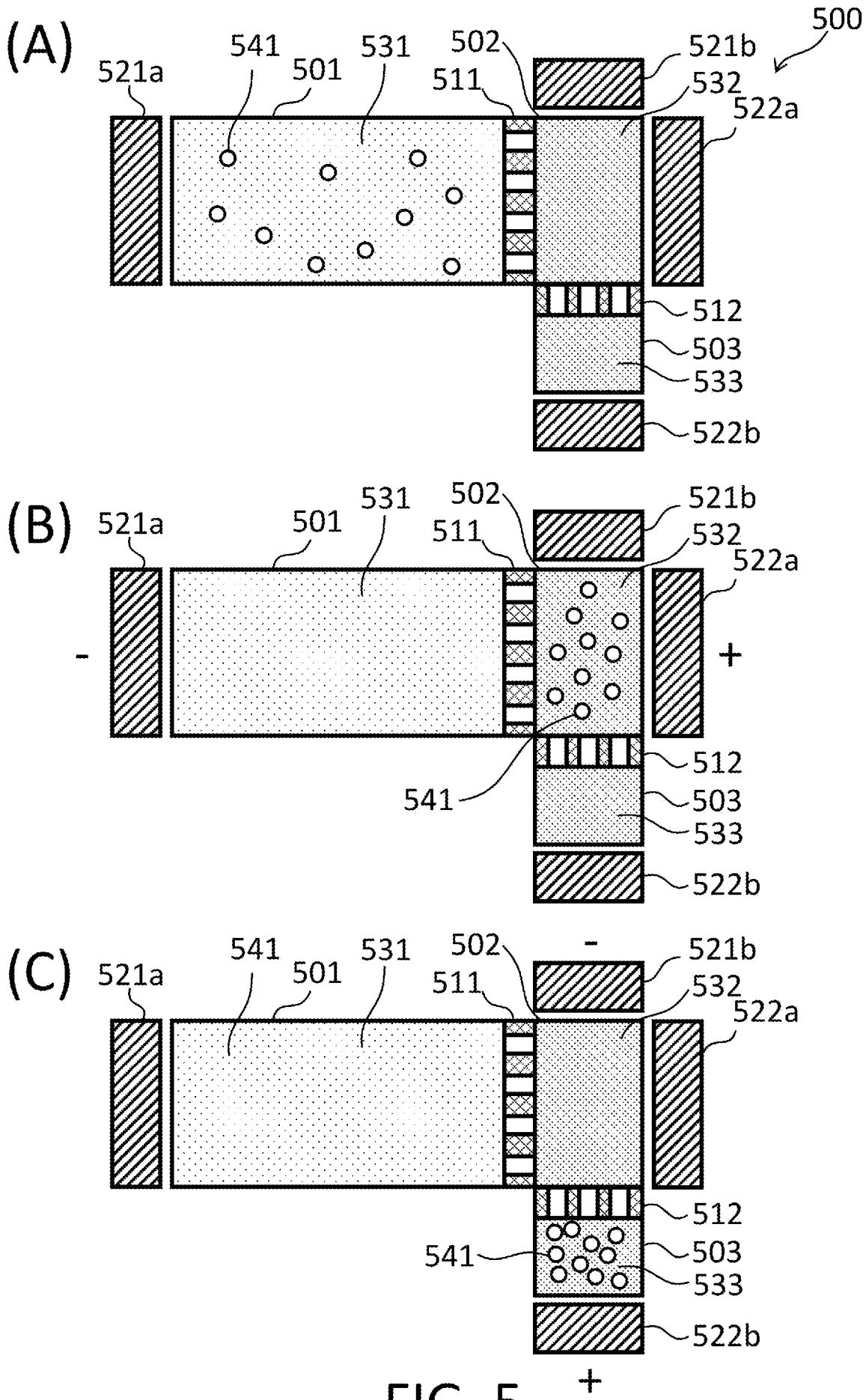

(A)
500
521a
541
501
531
502
511
521b
532
522a
512
503
533
522b
(B)
521a
501
531
502
511
521b
532
522a
-
+
541
512
503
533
522b
(C)
521a
541
501
531
502
-
511
521b
532
522a
512
541
503
533
522b
+

FIG. 5

[図 6]

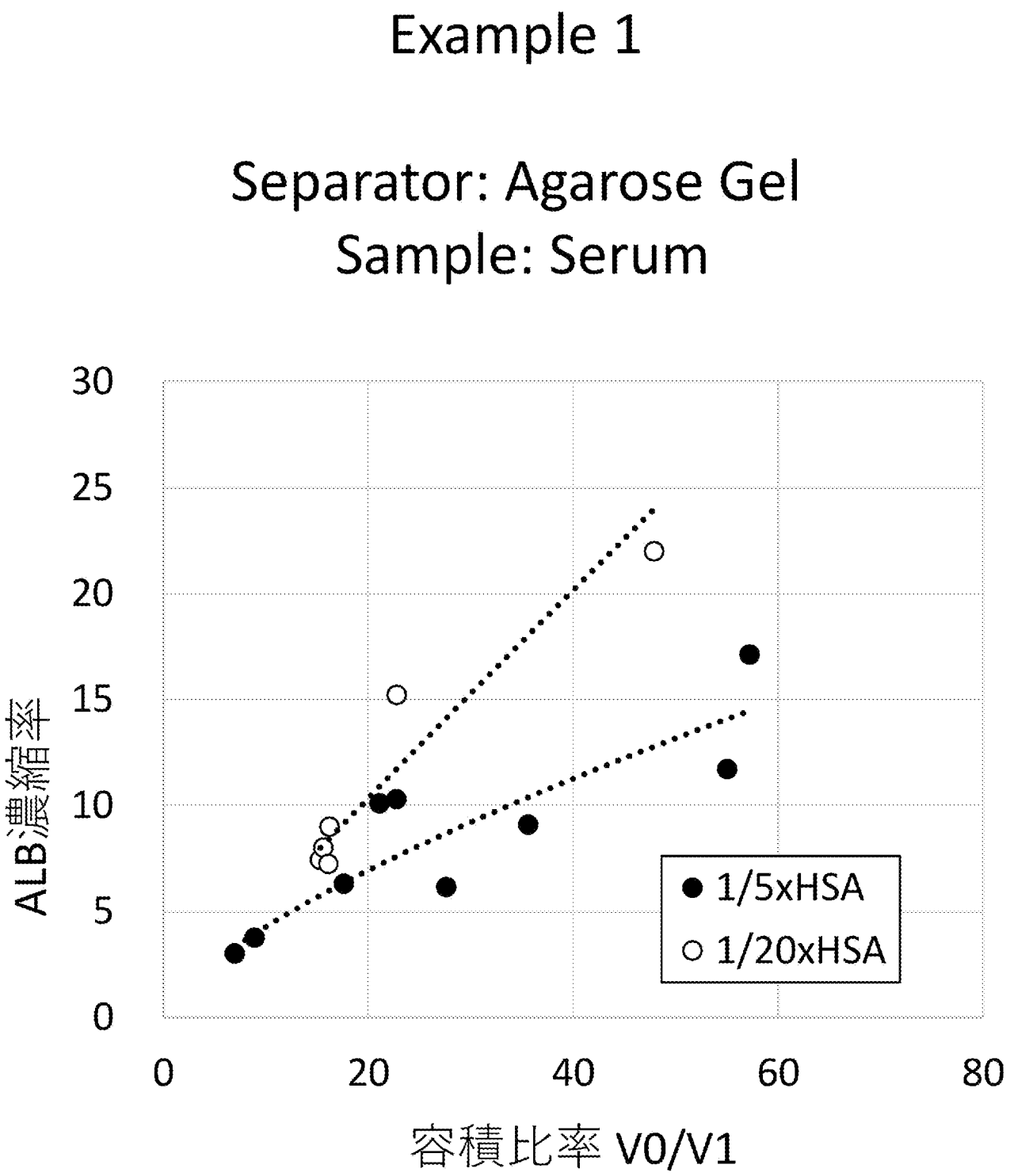

Example 1
Separator: Agarose Gel
Sample: Serum
ALB濃縮率
30
25
20
15
10
5
0
0
20
40
60
80
容積比率 V0/V1
1/5xHSA
1/20xHSA

FIG. 6

[図 7]

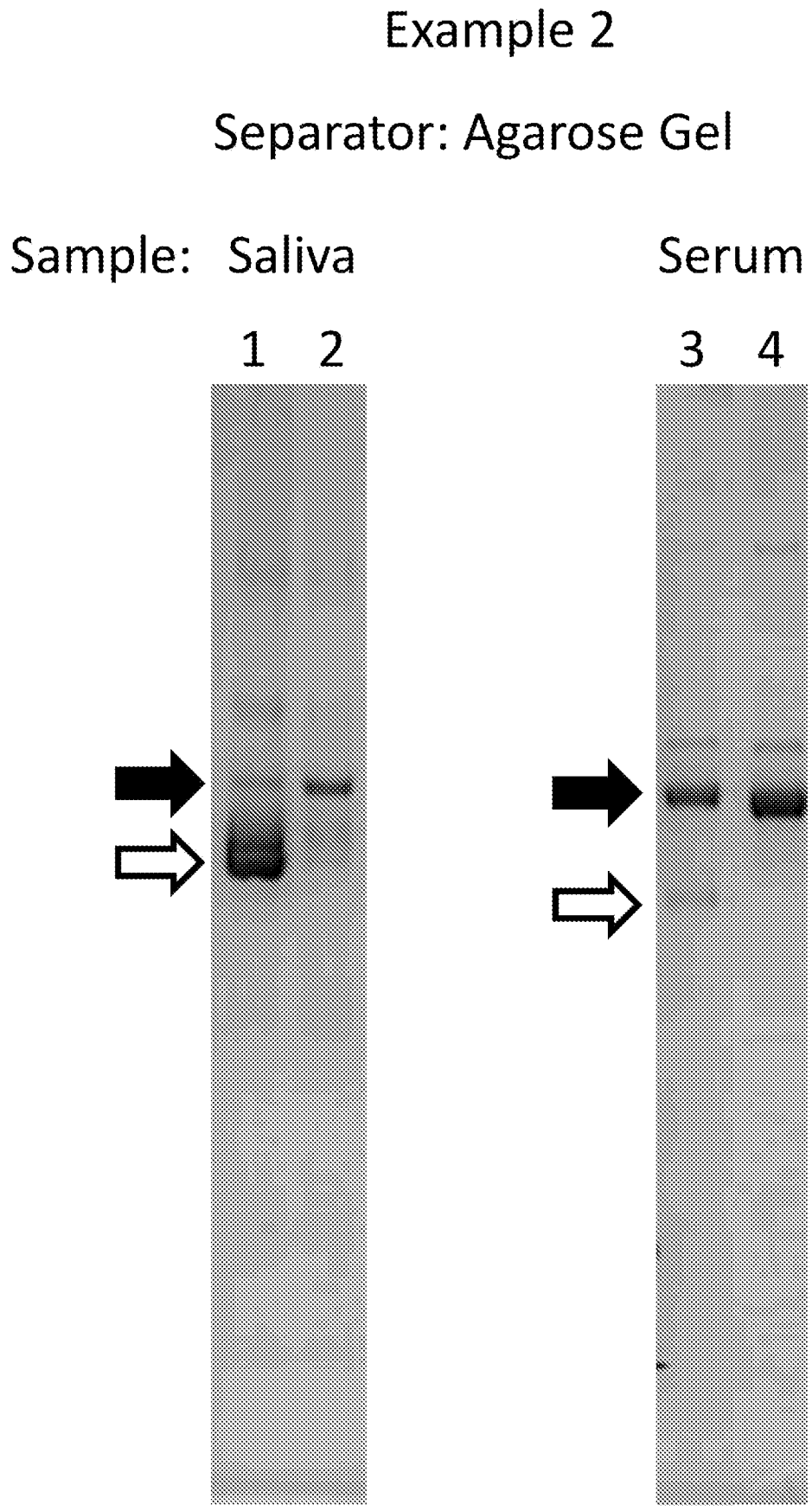


FIG. 7

[図 8]

Example 3

Separator: PAGE

Sample: Serum

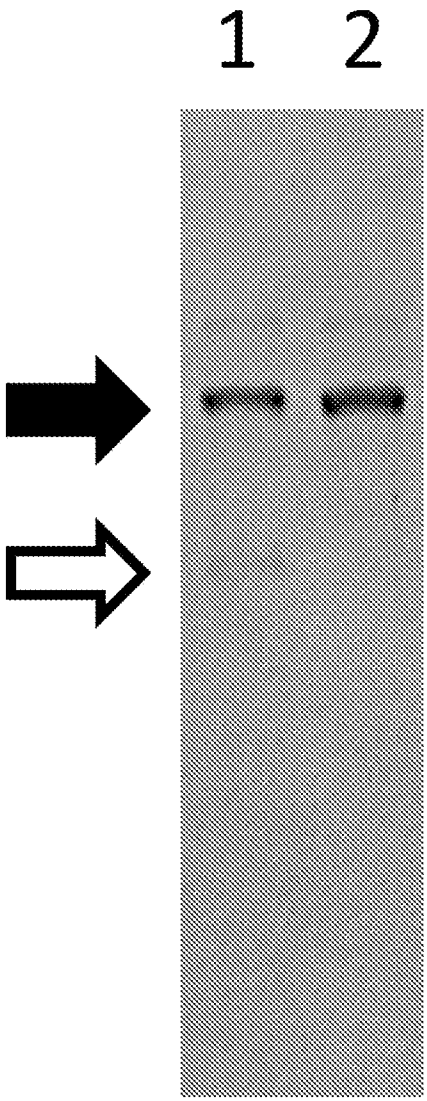


FIG. 8

[図 9]

Example 4

Separator: Semipermeable membrane

Sample: Serum

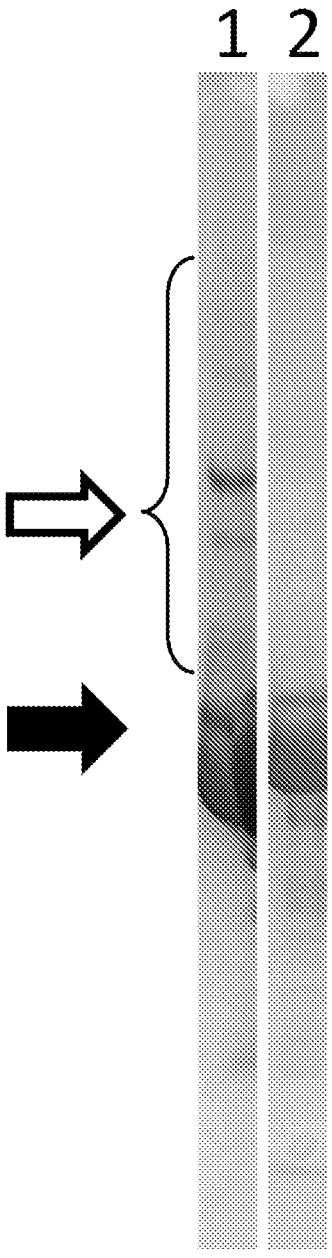


FIG. 9

[図 10]

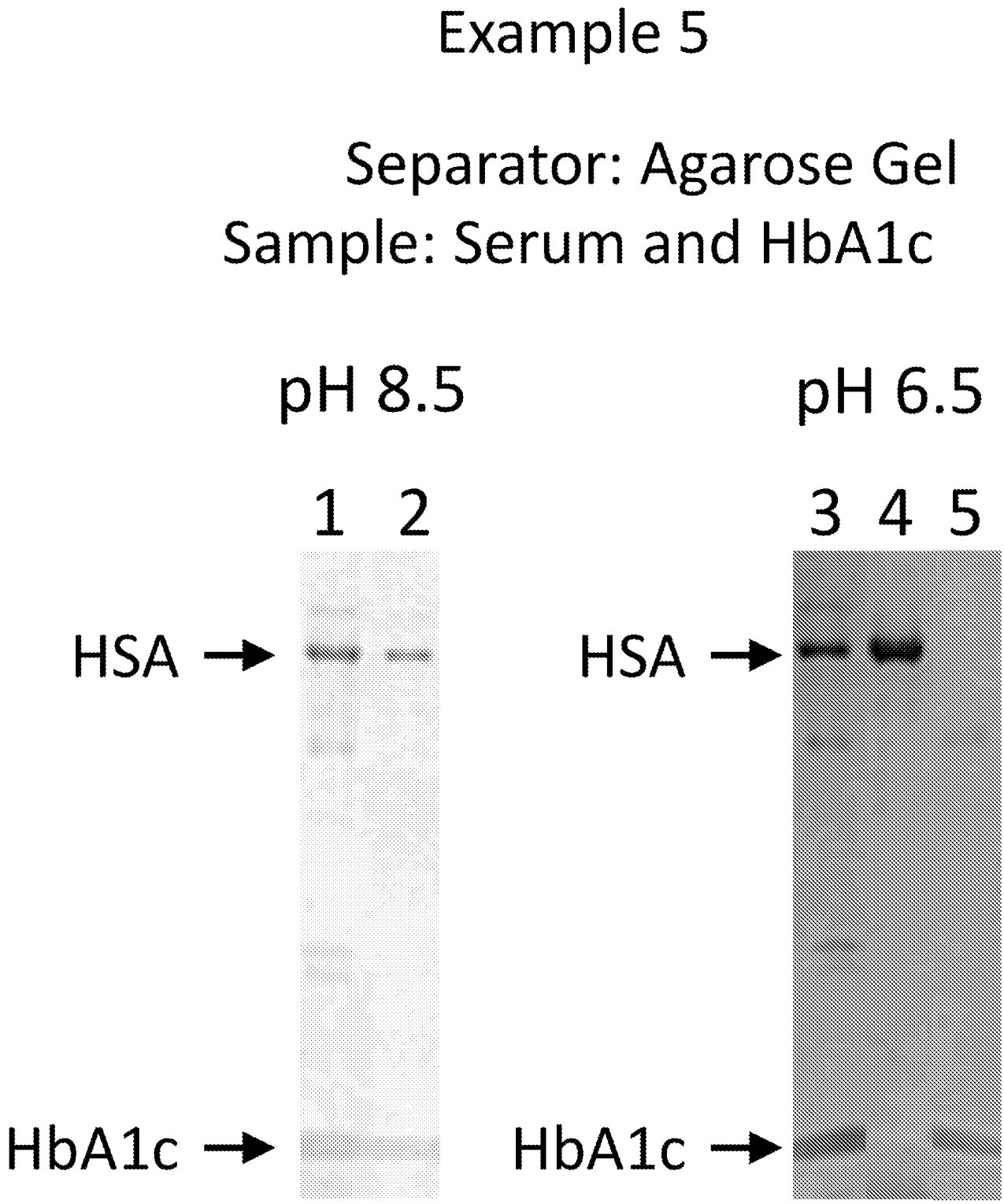

Example 5
Separator: Agarose Gel
Sample: Serum and HbA1c
pH 8.5
pH 6.5
1 2
3 4 5
HSA
HSA
HbA1c
HbA1c

FIG. 10

[図 11]

Example 6-1

Separator: Agarose Gel+ additive (SP or HA)
Sample: Saliva

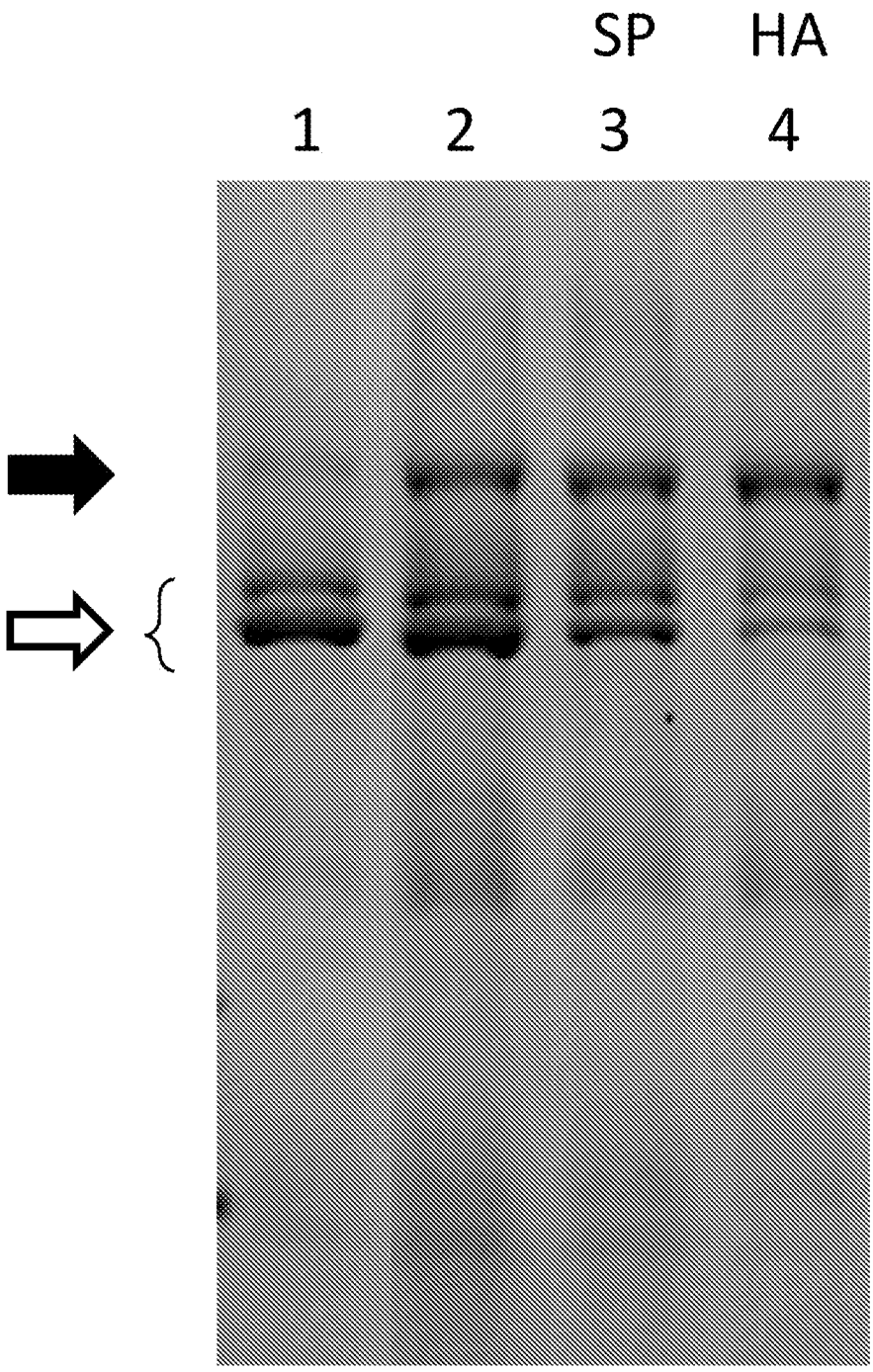


FIG. 11

[図 12]

Example 6-2

Separator: Agarose Gel + additive (SQ)
Sample: Saliva

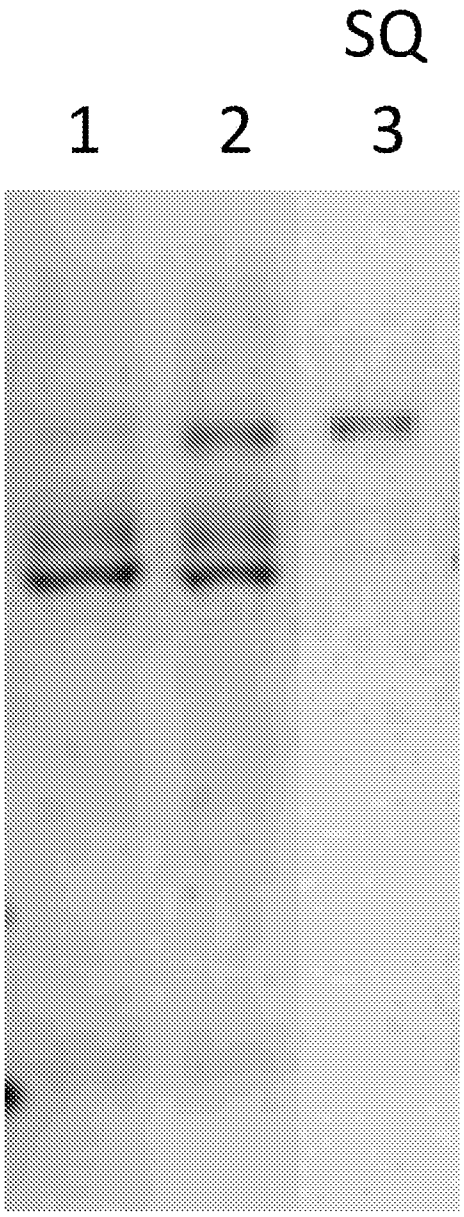


FIG. 12

[図 13]

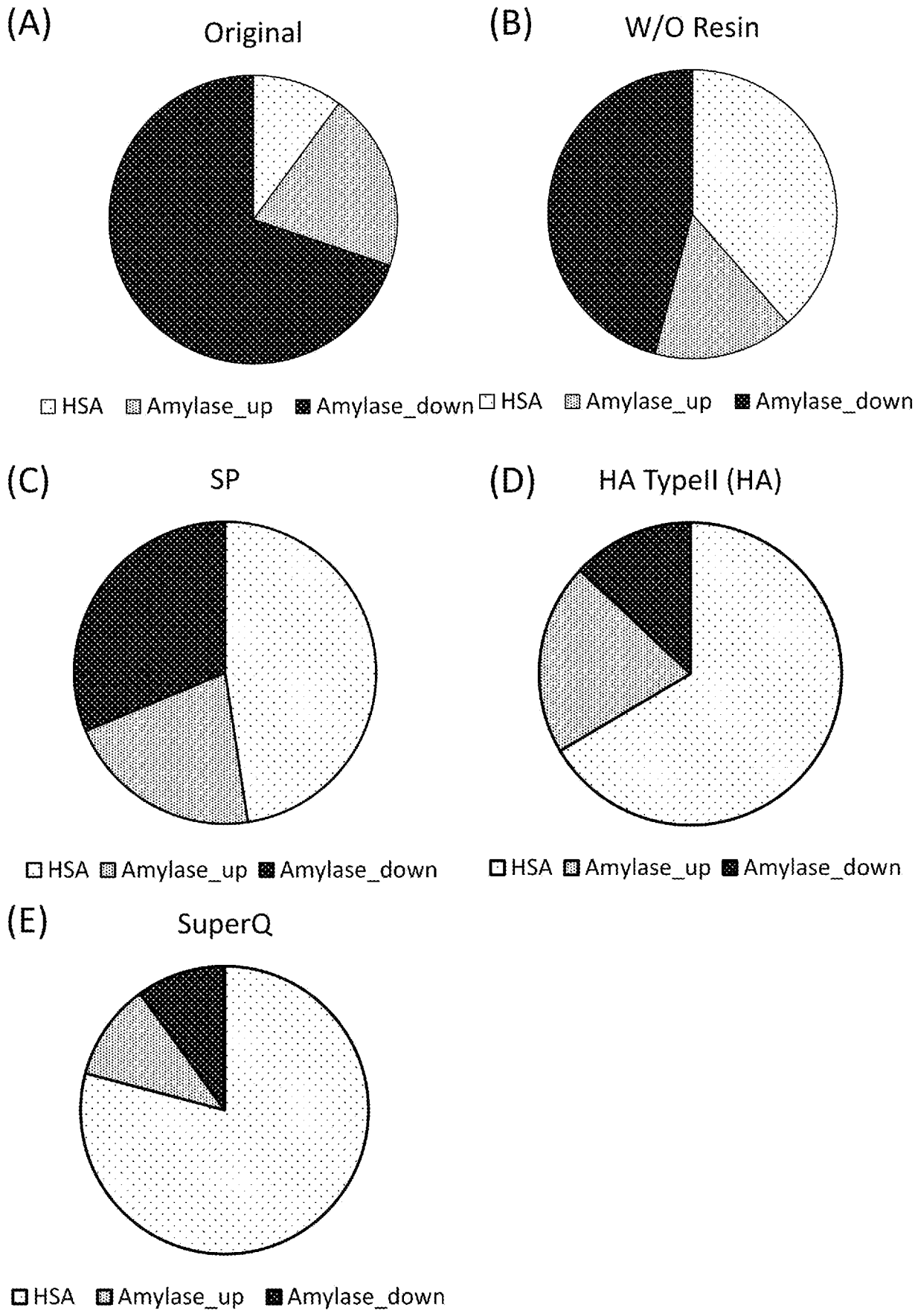

(A)
Original
HSA
Amylase_up
Amylase_down
(B)
W/O Resin
HSA
Amylase_up
Amylase_down
(C)
SP
HSA
Amylase_up
Amylase_down
(D)
HA TypeII (HA)
HSA
Amylase_up
Amylase_down
(E)
SuperQ
HSA
Amylase_up
Amylase_down

FIG. 13

[図 14]

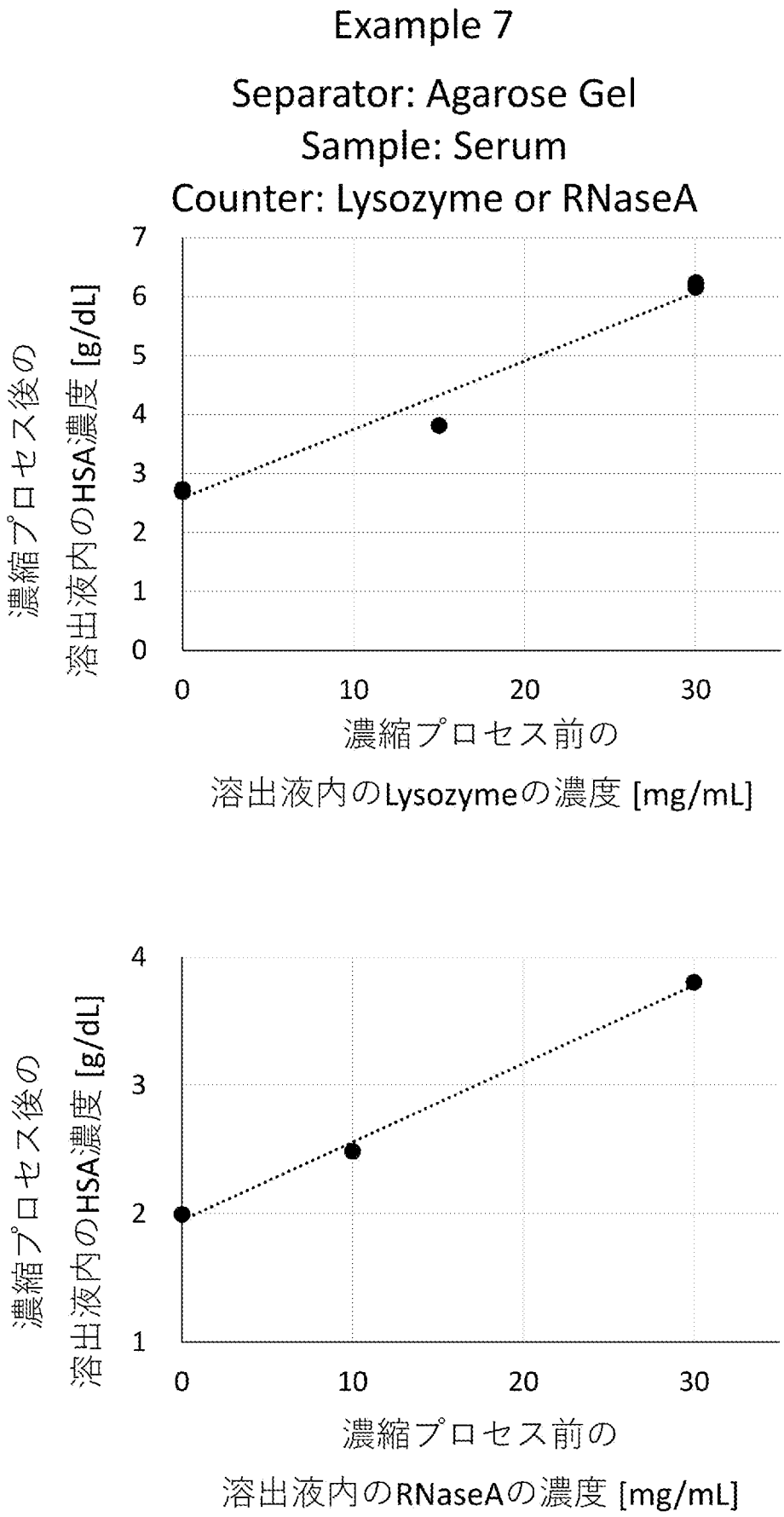

Example 7
Separator: Agarose Gel
Sample: Serum
Counter: Lysozyme or RNaseA
濃縮プロセス後の
溶出液内のHSA濃度 [g/dL]
0
1
2
3
4
5
6
7
0
10
20
30
濃縮プロセス前の
溶出液内のLysozymeの濃度 [mg/mL]
濃縮プロセス後の
溶出液内のHSA濃度 [g/dL]
1
2
3
4
0
10
20
30
濃縮プロセス前の
溶出液内のRNaseAの濃度 [mg/mL]

FIG. 14

[図 15]

Example 8

Separator: PAGE
Sample: Saliva

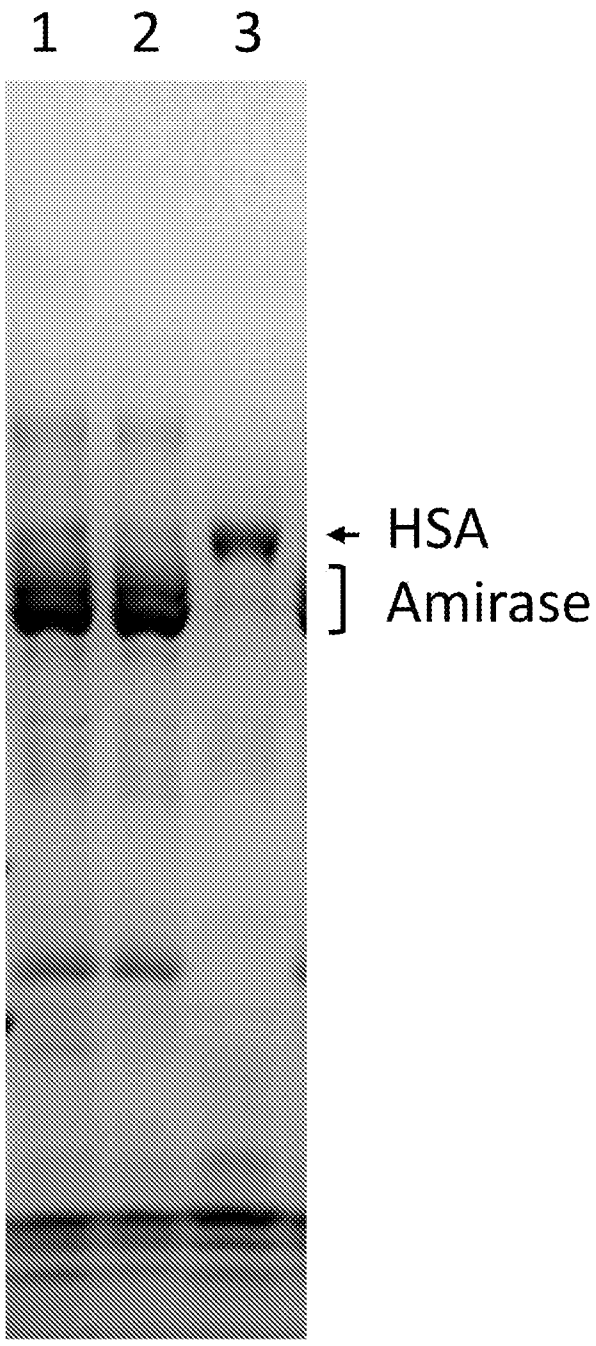


FIG. 15

[図 16]

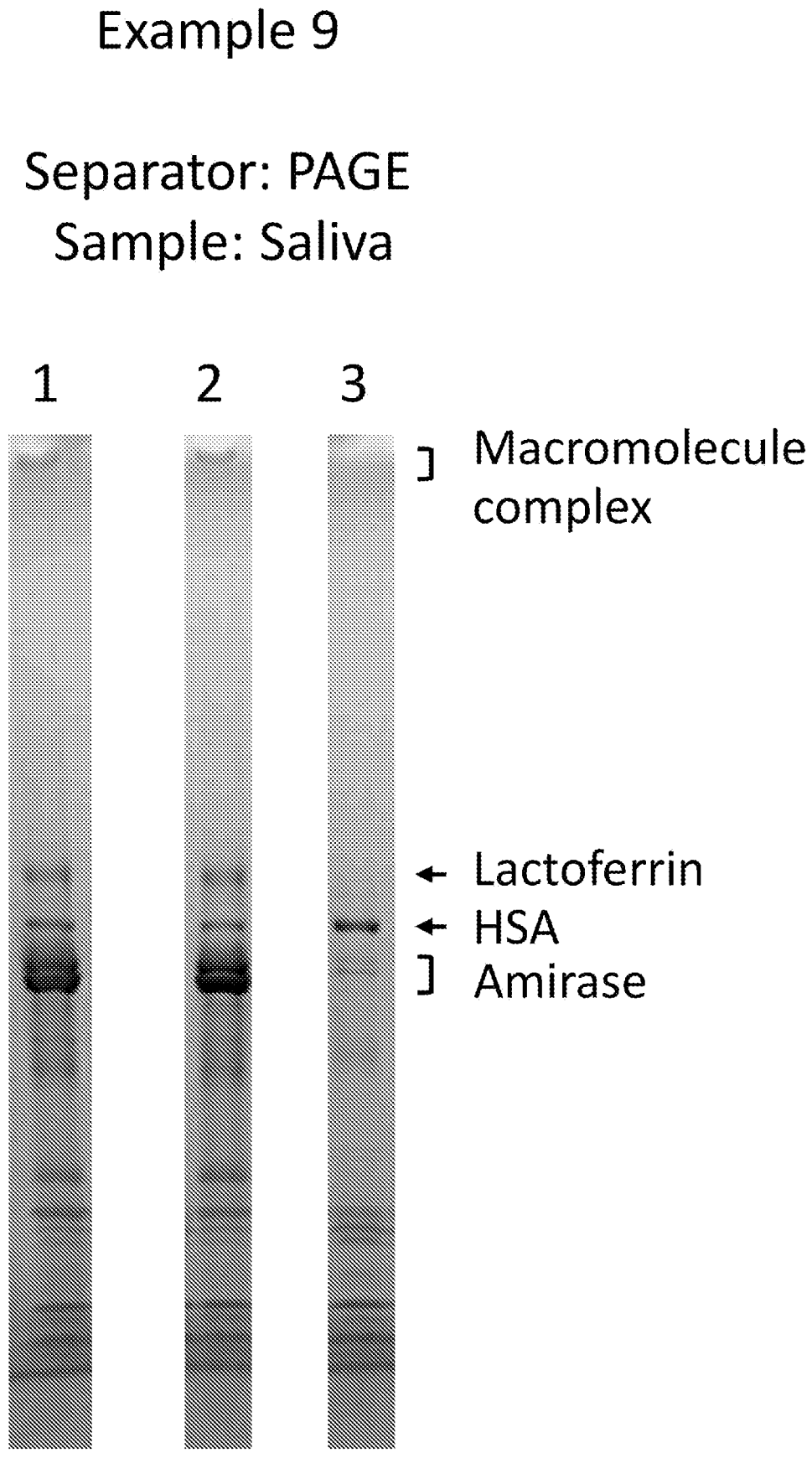

Example 9
Separator: PAGE
Sample: Saliva
1
2
3
Macromolecule complex
Lactoferrin
HSA
Amirase

FIG. 16

[図 17]

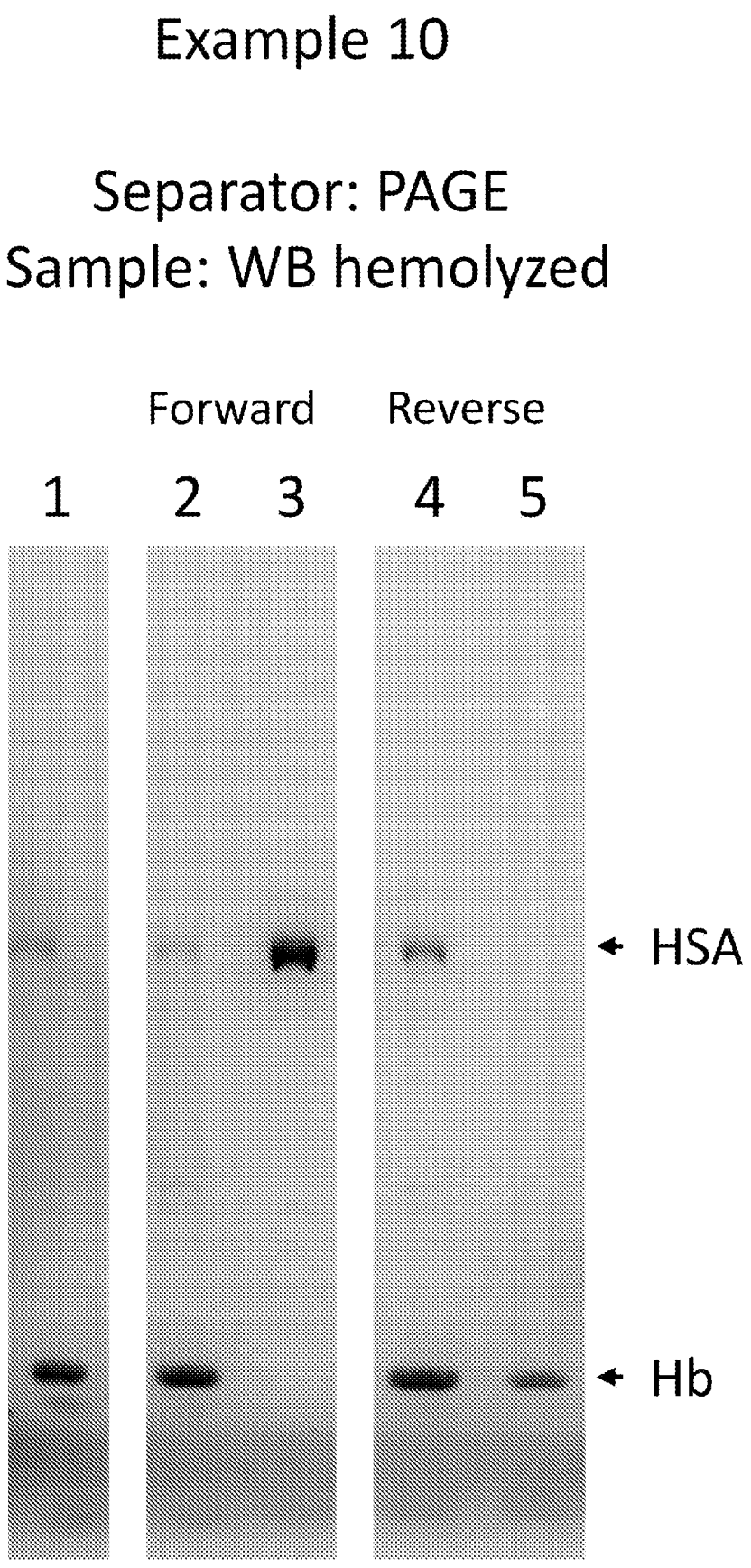

Example 10
Separator: PAGE
Sample: WB hemolyzed
Forward
Reverse
1
2
3
4
5
HSA
Hb

FIG. 17

[図 18]

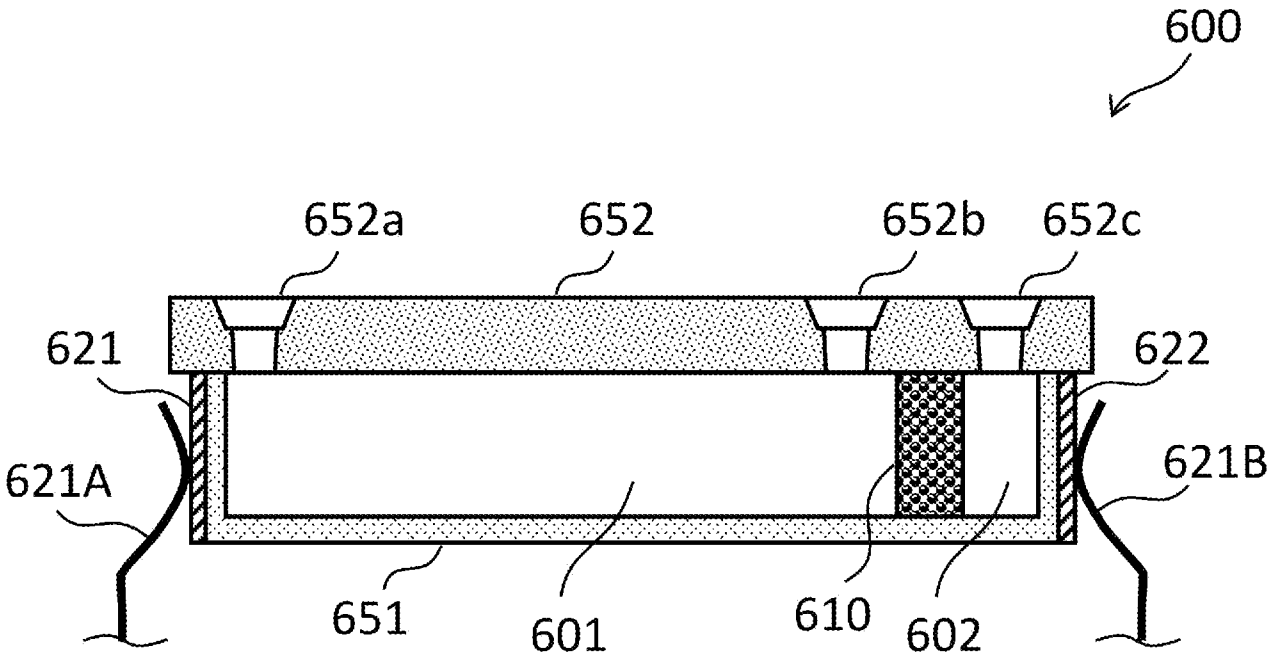


FIG. 18

[図 19]

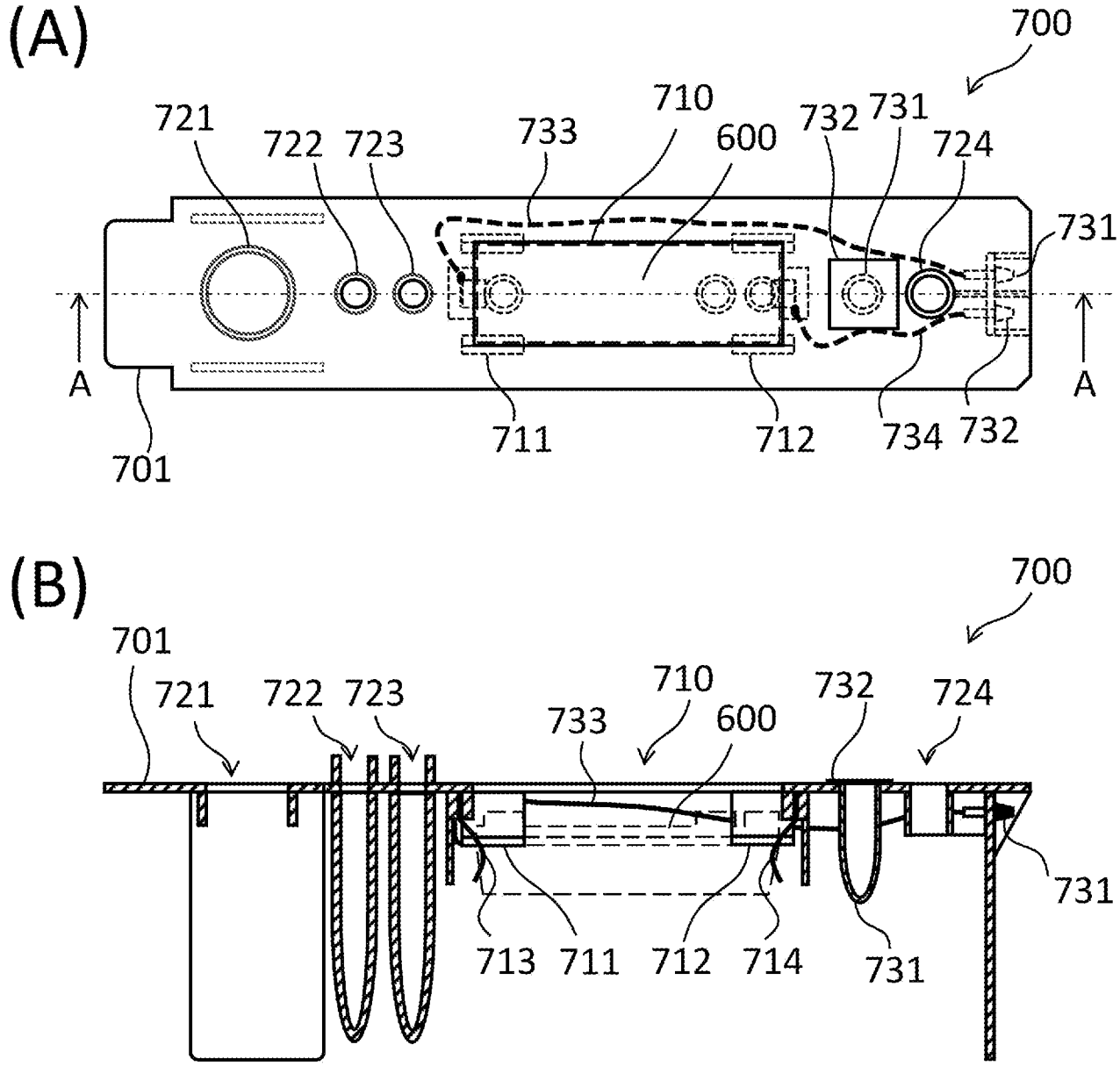

(A)
700
721
722
723
733
710
600
732
731
724
731
A
A
701
711
712
734
732
(B)
700
701
721
722
723
710
733
600
732
724
731
713
711
712
714
731

FIG. 19

TRANSLATION

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/001427

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 1/40(2006.01)i; ***B01D 57/02***(2006.01)i; ***G01N 1/10***(2006.01)i; ***G01N 27/447***(2006.01)i
FI: G01N1/40; G01N1/10 G; G01N27/447 301Z; B01D57/02

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)

G01N1/40; B01D57/02; G01N1/10; G01N27/447

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

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.
X	WO 2021/171794 A1 (NOK CORPORATION) 02 September 2021 (2021-09-02) fig. 4-8	1-4, 8-15, 18-22
Y	fig. 4-8	5-7, 16-17, 23-32
X	JP 2019-138861 A (KABUSHIKI KAISHA TOSHIBA) 22 August 2019 (2019-08-22) fig. 7	1, 8
Y	JP 2019-150016 A (TOYAMA UNIV) 12 September 2019 (2019-09-12) paragraph [0065], fig. 31	23-32
A	JP 4-66118 A (NOK CORPORATION) 02 March 1992 (1992-03-02) entire text, all drawings	1-32
A	JP 2009-65967 A (NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION GUNMA UNIVERSITY) 02 April 2009 (2009-04-02) entire text, all drawings	1-32

☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
25 March 2024	**16 April 2024**

Name and mailing address of the ISA/JP	Authorized officer
Japan Patent Office (ISA/JP) **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Telephone No.

TRANSLATION

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/001427

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2003-230897 A (BABCOCK-HITACHI KABUSHIKI KAISHA) 19 August 2003 (2003-08-19) entire text, all drawings	5-7, 16-17

TRANSLATION

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/001427

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2021/171794 A1	02 September 2021	US 2023/0077861 A1 fig. 4-8	
JP 2019-138861 A	22 August 2019	(Family: none)	
JP 2019-150016 A	12 September 2019	(Family: none)	
JP 4-66118 A	02 March 1992	(Family: none)	
JP 2009-65967 A	02 April 2009	US 2009/0050482 A1 entire text, all drawings	
JP 2003-230897 A	19 August 2003	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2024/001427

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

G01N 1/40(2006.01)i; B01D 57/02(2006.01)i; G01N 1/10(2006.01)i; G01N 27/447(2006.01)i
FI: G01N1/40; G01N1/10 G; G01N27/447 301Z; B01D57/02

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））

G01N1/40; B01D57/02; G01N1/10; G01N27/447

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	１９７１－２０２４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２４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
X	WO 2021/171794 A1（ＮＯＫ株式会社）02.09.2021（2021-09-02） [図4]～[図8]	1-4,8-15,18-22
Y	[図4]～[図8]	5-7,16-17,23-32
X	JP 2019-138861 A（株式会社東芝）22.08.2019（2019-08-22） [図7]	1,8
Y	JP 2019-150016 A（国立大学法人富山大学）12.09.2019（2019-09-12） [0065] [図31]	23-32
A	JP 4-66118 A（エヌオーケー株式会社）02.03.1992（1992-03-02） 全文全図	1-32
A	JP 2009-65967 A（国立大学法人群馬大学）02.04.2009（2009-04-02） 全文全図	1-32
Y	JP 2003-230897 A（バブコック日立株式会社）19.08.2003（2003-08-19） 全文全図	5-7,16-17

☐ 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
“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
“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抵触するものではなく、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	国際調査報告の発送日
25.03.2024	16.04.2024

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）

森口　正治 2J 9403

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2024/001427

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2021/171794 A1	02.09.2021	US 2023/0077861 A1 [図4] ～ [図8]	
JP 2019-138861 A	22.08.2019	（ファミリーなし）	
JP 2019-150016 A	12.09.2019	（ファミリーなし）	
JP 4-66118 A	02.03.1992	（ファミリーなし）	
JP 2009-65967 A	02.04.2009	US 2009/0050482 A1 全文全図	
JP 2003-230897 A	19.08.2003	（ファミリーなし）	