【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】平成27年4月23日(2015.4.23)

【公開番号】特開2013-183648(P2013-183648A)
【公開日】平成25年9月19日(2013.9.19)
【年通号数】公開・登録公報2013-051
【出願番号】特願2012-49185(P2012-49185)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｍ　1/00　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/68　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｍ　1/00　Ａ
Ｃ１２Ｑ　1/68　Ａ

【手続補正書】
【提出日】平成27年3月4日(2015.3.4)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００５３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００５３】
図１５は、本発明における連続した使い捨て反応槽１の利用方法の実施形態の一例、ならびに逆転写反応を行うことができる反応槽１を備えた反応槽部の実施形態の一例を示す模式図である。本発明の反応槽１は、上記図１３の説明で述べたように、使い捨てチップとして用いる事ができる。この場合、図１５のＡ－Ａ断面図でも示したように、例えば、高速遺伝子増幅反応を行う反応槽部１０１５は典型的にはPCRを行うための反応槽１、反応槽１を固定するＯリング１０１０などの断熱性と密閉性が保証されたスペーサーで反応槽１の上下を挟み込む反応槽枠２と熱交換槽３、反応槽を搬送するためのガイドレール１０１１を備えることで、ガイドレール１０１１に沿って複数の反応槽１を反応槽部１０１５に搬送することができる。反応槽１を反応で用いるときには、反応槽枠２と熱交換槽３で挟み込む事でＯリング１０１０によって反応槽１を固定化させ、液体リザーバタンク４からの液体の導入を行うことができる。他方、搬送するときには、反応槽枠２と熱交換槽３を反応槽１から離してＯリング１０１０を緩める事で、反応槽１のチップをガイドレール１０１１に沿って移動させ、交換することができる。図１５のＡ－Ａ断面図からもわかるように、反応槽枠２は、光学的に反応槽１上に配置した反応液を観察し計測するために光学的に透明な構成を取ることができる。この場合、二枚の薄いガラス板１０１３の間にＩＴＯなどの抵抗による発熱が効果的に起こる透明電極１０１４が挟み込まれており、光学的観測に支障を与える事無く反応槽枠２の温度を制御することができる。特に温度センサー１６を内側のガラス板１０１３内面に設置し、７５℃以上の温度に調整することで反応槽枠２内面での結露を防ぎ、蒸気圧の変化を防ぐ事が出来、その結果によって反応槽１の上に配置した反応液の蒸発を防ぐ事ができる。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００５４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００５４】
また、ガイドレール１０１１上の、反応槽部１０１５の前段に逆転写反応槽部１０１６

を配置する事で、ＲＮＡサンプルをｃＤＮＡに逆転写して、後段の反応槽部１０１５にて高速遺伝子増幅を行うことができる。逆転写反応槽部１０１６では、図１５のＢ－Ｂ断面図からもわかるように、反応槽枠２と同様な構成の枠は、光学的に反応槽１上に配置した反応液を観察し計測するために光学的に透明な構成を取ることができる。この場合、二枚の薄いガラス板１０１３の間にＩＴＯなどの抵抗による発熱が効果的に起こる透明電極１０１４が挟み込まれており、光学的観測に支障を与える事無く枠内部の温度を制御することができる。特に温度センサー１６を内側のガラス板１０１３内面に設置し、約７５℃以上の温度に調整することで反応槽枠２内面での結露を防ぎ、蒸気圧の変化を防ぐ事が出来、その結果によって反応槽１の上に配置した反応液の蒸発を防ぐ事ができる。反応槽１の下面には、逆転写反応用温度プレート１０１２が配置されており、逆転写に最適な温度として例えば、５０℃に設定された状態で、反応槽１に密着させることでPCR溶液が入った反応槽１のプレートの温度を５０℃で３０分程度反応させて逆転写が完了したところで、その後ガイドレールを反応槽部１０１５にスライドすることでPCRを始めることができる。

【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６０】
図２０は、反応液の容量を効果的に制御し、従来の液滴の滴下だけでは実現できない、より広い表面積で熱交換槽と接する事ができる反応液の空間配置を反応槽１１０１中に実現するために、微細加工技術によって、反応液の導入経路と、反応領域を反応槽中に構成した実施例の一例を模式的に示したものである。本実施例で示したマイクロ流路型反応槽１４０１は、上記、図１から１９で示した実施例で用いてきた熱伝導性に優れたアルミニウム薄板等の反応槽１４０４上に、ポリジメチルシロキサン（PDMS）等の光学的な透過性と弾性を持った素材からなる流路形成用高分子１４０３を接着したものである。このチップにはサンプル注入口１４０５と、毛細管現象によってサンプル注入口から反応液が導入されて通過するマイクロ流路１４０２と、反応液が満たされる反応液リザーバ１４０７、そして、反応液を回収するときにこれを押す事で空気圧によってサンプル注入口１４０５から反応液を回収するために用いる空気リザーバ１４０６が配置されている。この実施例では、反応液を注入口１４０５に導入した後に、上記図１あるいは図１３で示した高速遺伝子増幅装置にて遺伝子増幅を行った後に、サンプル回収用空気リザーバ１４０６を押して、反応液をサンプル注入口１４０５から回収することができる。例えば、流し込む反応溶液は5μL以下が妥当であり、注入口１４０５から反応液リザーバ１４０７までの容積を5μL以内に抑える方が望ましい。また、上記実施例では、空気リザーバを用いたが、図２０Ａ‘－Ａ’断面図のように、空気リザーバの位置をサンプル排出口１４０８にしても良い。この場合には、反応後の反応液の回収の場合には、サンプル注入口１４０５から空気を吹き込むことでサンプル排出口１４０８から回収することができる。また、図２０の実施例では、反応液リザーバ１４０７の高さをマイクロ流路１４０２より高く設定したが、より効果的に熱交換を行うためには、なるべく反応液リザーバ１４０７の高さを低くして面積を広げる事で、より効率的なPCR反応を行うことができる。