

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6029366号  
(P6029366)

(45) 発行日 平成28年11月24日(2016.11.24)

(24) 登録日 平成28年10月28日(2016.10.28)

(51) Int.Cl.	F I	
GO 1 N 27/447 (2006.01)	GO 1 N 27/447	3 1 5 K
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 27/447	3 2 1 Z
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	GO 1 N 27/447	3 2 5 E
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	GO 1 N 27/447	3 0 1 C
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	GO 1 N 37/00	1 0 1
請求項の数 10 (全 19 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2012-162685 (P2012-162685)  
 (22) 出願日 平成24年7月23日(2012.7.23)  
 (65) 公開番号 特開2014-21052 (P2014-21052A)  
 (43) 公開日 平成26年2月3日(2014.2.3)  
 審査請求日 平成27年2月3日(2015.2.3)

(73) 特許権者 501387839  
 株式会社日立ハイテクノロジーズ  
 東京都港区西新橋一丁目24番14号  
 (74) 代理人 100091096  
 弁理士 平木 祐輔  
 (74) 代理人 100105463  
 弁理士 関谷 三男  
 (74) 代理人 100102576  
 弁理士 渡辺 敏章  
 (72) 発明者 佐保山 友加里  
 茨城県ひたちなか市大字市毛882番地  
 株式会社日立ハイテクノロジーズ 那珂事  
 業所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 前処理・電気泳動用一体型カートリッジ、前処理一体型キャピラリ電気泳動装置及び前処理一体型キャピラリ電気泳動方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

生体サンプルから核酸を抽出する工程、目的の領域についてPCR反応を行う工程、増幅された核酸についてサイクルシーケンス反応を行う工程の少なくとも1つと、キャピラリ電気泳動により核酸を分析する工程とにそれぞれ対応する複数の区画構造を1枚の基板上に有し、前記複数の区画構造として、(1)生体サンプルを注入する反応槽と、前記反応に用いる試薬を内蔵した試薬槽と、前記反応槽の反応産物を精製する担体を内蔵する担体槽と、各槽間を接続する複数の流路と、前段に位置する区画構造の前記担体槽と前記反応槽を接続する流路と、前記担体槽と次段に位置する区画構造の前記反応槽を接続する流路と、前記流路を開閉して送液を調整する複数の調節弁とを有する1つ又は複数の第1の区画と、(2)泳動溶液を内蔵する泳動溶液槽と、キャピラリ電気泳動で使用する電解質を含む緩衝液を内蔵した陰極緩衝液槽と、キャピラリの先端部を洗浄してサンプル間のコンタミネーションを防止する洗浄液を内蔵した洗浄液槽と、前段に位置する前記第1の区画の前記担体槽と前記泳動溶液槽とを接続する流路と、前記流路を開閉して送液を調整する調節弁とを有する第2の区画と、を有する前処理・電気泳動用一体型カートリッジと、前記前処理・電気泳動用一体型カートリッジを載置する載置台と、前記載置台の内部又は表面に配置され、前記前処理・電気泳動用一体型カートリッジ内の溶液温度を調整する温度調整機構と、キャピラリ電気泳動機構と、前記調節弁の開閉を制御し、前記第1及び第2の区画内及び間の送液を制御すると共に

10

20

、前記キャピラリー電気泳動機構の制御を通じ、電気泳動動作を制御するコントローラであって、電気泳動動作に際し、前記キャピラリーの先端部を前記泳動溶液槽に挿入して生体サンプルを前記キャピラリーに導入した後、前記キャピラリーの先端部を前記陰極緩衝液槽に浸して高電圧を印加させる、コントローラと

を有し、

前記生体サンプルから核酸を抽出する工程と、目的の領域についてPCR反応を行う工程と、増幅された核酸についてサイクルシーケンス反応を行う工程の少なくとも1つと、キャピラリー電気泳動により核酸を分析する工程までの全工程を、1枚の前記前処理・電気泳動用一体型カートリッジを用い、自動で実行する前処理一体型キャピラリー電気泳動装置

10

【請求項2】

請求項1に記載の前処理一体型キャピラリー電気泳動装置において、

前記第1の区画はPCR反応を行う工程に対応する1つの区画構造を有し、前記第2の区画は電気泳動の工程に対応する1つの区画構造を有するとき、

前記コントローラは、生体サンプルから精製された核酸の溶液を、前記第1の区画の前記反応槽に注入して前処理を開始する

ことを特徴とする前処理一体型キャピラリー電気泳動装置。

【請求項3】

請求項1に記載の前処理一体型キャピラリー電気泳動装置において、

前記第1の区画はPCR反応を行う工程とサイクルシーケンス反応を行う工程に対応する2つの区画構造を有し、前記第2の区画は電気泳動の工程に対応する区画構造を有するとき、

20

前記コントローラは、生体サンプルから精製された核酸の溶液を、前記第1の区画を構成する前記2つの区画構造のうち前段に位置する区画構造の前記反応槽に注入して前処理を開始する

ことを特徴とする前処理一体型キャピラリー電気泳動装置。

【請求項4】

請求項1に記載の前処理一体型キャピラリー電気泳動装置において、

(1)前記キャピラリー電気泳動機構を構成する前記キャピラリーに供給する緩衝液及びポリマを保持するディスペンサ容器であり、その出力口が前記キャピラリーの先端に接続されるディスペンサ容器と、(2)前記緩衝液と前記ポリマの前記ディスペンサ容器内における初期状態での混合を妨げる隔壁と、(3)前記ディスペンサ容器の内部を加圧及び減圧するピストンと、(4)先端部分が前記ディスペンサ容器の内部に突き出した状態で設置され、前記ピストンによる加圧操作時に前記先端部分で前記隔壁を破り、前記緩衝液と前記ポリマを混合する陽極端子とを含むポンプ・パuffaユニット

30

を有することを特徴とする前処理一体型キャピラリー電気泳動装置。

【請求項5】

生体サンプルから核酸を抽出する工程、目的の領域についてPCR反応を行う工程、増幅された核酸についてサイクルシーケンス反応を行う工程の少なくとも1つと、キャピラリー電気泳動により核酸を分析する工程とにそれぞれ対応する複数の区画構造を1枚の基板上に有し、

40

前記複数の区画構造として、

生体サンプルを注入する反応槽と、前記反応に用いる試薬を内蔵した試薬槽と、前記反応槽の反応産物を精製する担体を内蔵する担体槽と、各槽間を接続する複数の流路と、前段に位置する区画構造の前記担体槽と前記反応槽を接続する流路と、前記担体槽と次段に位置する区画構造の前記反応槽を接続する流路と、前記流路を開閉して送液を調整する複数の調節弁とを有する1つ又は複数の第1の区画と、

泳動溶液を内蔵する泳動溶液槽と、キャピラリー電気泳動で使用する電解質を含む緩衝液を内蔵した陰極緩衝液槽と、キャピラリーの先端部を洗浄してサンプル間のコンタミネーションを防止する洗浄液を内蔵した洗浄液槽と、前段に位置する前記第1の区画の前記担体

50

槽と前記泳動溶液槽とを接続する流路とその調整弁とを有する第2の区画とを有する前処理・電気泳動用一体型カートリッジ。

【請求項6】

請求項5に記載の前処理・電気泳動用一体型カートリッジにおいて、前記第1の区画はPCR反応を行う工程に対応する1つの区画構造を有し、前記第2の区画は電気泳動の工程に対応する1つの区画構造を有することを特徴とする前処理・電気泳動用一体型カートリッジ。

【請求項7】

請求項5に記載の前処理・電気泳動用一体型カートリッジにおいて、前記第1の区画はPCR反応を行う工程とサイクルシーケンス反応を行う工程に対応する2つの区画構造を有し、前記第2の区画は電気泳動の工程に対応する区画構造を有することを特徴とする前処理・電気泳動用一体型カートリッジ。

【請求項8】

生体サンプルから核酸を抽出する工程、目的の領域についてPCR反応を行う工程、増幅された核酸についてサイクルシーケンス反応を行う工程の少なくとも1つと、キャピラリー電気泳動により核酸を分析する工程とにそれぞれ対応する複数の区画構造を1枚の基板上に有し、前記複数の区画構造として、(1)生体サンプルを注入する反応槽と、前記反応に用いる試薬を内蔵した試薬槽と、前記反応槽の反応産物を精製する担体を内蔵する担体槽と、各槽間を接続する複数の流路と、前段に位置する区画構造の前記担体槽と前記反応槽を接続する流路と、前記担体槽と次段に位置する区画構造の前記反応槽を接続する流路と、前記流路を開閉して送液を調整する複数の調節弁とを有する1つ又は複数の第1の区画と、(2)泳動溶液を内蔵する泳動溶液槽と、キャピラリー電気泳動で使用する電解質を含む緩衝液を内蔵した陰極緩衝液槽と、キャピラリーの先端部を洗浄してサンプル間のコンタミネーションを防止する洗浄液を内蔵した洗浄液槽と、前段に位置する前記第1の区画の前記担体槽と前記泳動溶液槽とを接続する流路と、前記流路を開閉して送液を調整する調整弁とを有する第2の区画と、を有する前処理・電気泳動用一体型カートリッジと、前記前処理・電気泳動用一体型カートリッジを載置する載置台と、前記載置台の内部又は表面に配置され、前記前処理・電気泳動用一体型カートリッジ内の溶液温度を調整する温度調整機構と、キャピラリー電気泳動機構と、前記調節弁の開閉を制御し、前記第1及び第2の区画内及び間の送液を制御すると共に、前記キャピラリー電気泳動機構の制御を通じ、電気泳動動作を制御するコントローラとを有する前処理一体型キャピラリー電気泳動装置における前処理一体型キャピラリー電気泳動方法において、

前記コントローラは、

前処理・電気泳動用一体型カートリッジを構成する前記第1の区画の構造に応じ、前記生体サンプルから核酸を抽出する工程と、目的の領域についてPCR反応を行う工程と、増幅された核酸についてサイクルシーケンス反応を行う工程の少なくとも1つと、キャピラリー電気泳動により核酸を分析する工程までの全工程を、1枚の前記前処理・電気泳動用一体型カートリッジの上で自動実行させるように制御し、

電気泳動動作に際し、前記キャピラリーの先端部を前記泳動溶液槽に挿入して生体サンプルを前記キャピラリーに導入した後、前記キャピラリーの先端部を前記陰極緩衝液槽に浸して高電圧を印加させる

ことを特徴とする前処理一体型キャピラリー電気泳動方法。

【請求項9】

請求項8に記載の前処理一体型キャピラリー電気泳動方法において、前記前処理に対応する区画が、PCR反応を行う工程に対応する1つの区画構造のみを有するとき、

前記コントローラは、生体サンプルから精製された核酸の溶液を、前記第1の区画の前記反応槽に注入した後前記前処理を開始する

ことを特徴とする前処理一体型キャピラリー電気泳動方法。

【請求項10】

10

20

30

40

50

請求項 8 に記載の前処理一体型キャピラリー電気泳動方法において、  
前記前処理に対応する区画が、PCR 反応を行う工程とサイクルシーケンス反応を行う  
工程に対応する 2 つの区画構造を有するとき、

前記コントローラは、生体サンプルから精製された核酸の溶液を、前記第 1 の区画を構成する前記 2 つの区画構造のうち前段に位置する区画構造の前記反応槽に注入して前処理を開始する

ことを特徴とする前処理一体型キャピラリー電気泳動方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、例えば生体サンプルから核酸を抽出し、増幅・標識付加をする前処理から電気泳動までの全工程で使用可能な前処理・電気泳動用一体型カートリッジ、並びに、全工程を自動実行可能な前処理一体型キャピラリー電気泳動装置及び方法に関する。

【背景技術】

【0002】

遺伝子診断やDNA鑑定などの生体サンプルを遺伝子レベルで解析する手法では、一般に、(1) 生体サンプルから核酸を抽出する工程、抽出された核酸を増幅する工程、核酸に標識を付ける工程などの前処理反応を実行する段階と、(2) 前処理後の核酸の塩基配列を読み出す電気泳動の段階が順番に実行される。これらの各段階には、それぞれ複数の試薬を混合し、加熱し、分注する操作があり、解析にあたって多くの作業量が必要とされる。

【0003】

そこで作業性向上などを目的として、前処理の各工程で必要になる操作を、展開液の貯蔵槽・流路などを組み入れたカートリッジ上で自動的に実行する手法が知られている（例えば特許文献 1 参照）。

【0004】

また、核酸の電気泳動には、一般に、キャピラリー電気泳動装置が用いられる。従来のキャピラリー電気泳動装置の一例として、特許文献 2 に記載のものがある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献 1】特開 2007 - 330179 号公報

【特許文献 2】米国特許第 5366608 号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

ところが、特許文献 1 は、遺伝子解析の各工程を自動化する技術を記載しているが、生体サンプルから又は核酸から電気泳動を経て塩基配列を得るまでの一連の操作全体を自動化することは想定していない。このため、従来技術では、各工程で使用するカートリッジやサンプルを対応装置に載せ替える作業が必ず発生し、そのための作業が煩雑であった。

【0007】

そこで、本発明は、サンプル液から核酸を抽出する段階又はその後の核酸を増幅し、標識を付ける前処理の段階から、核酸を電気泳動し塩基配列を読み出すまでの一連の操作を全自動で実行可能とする技術を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は、1 つ又は複数の工程から構成される前処理から電気泳動までの一連の反応に使用可能な一体型カートリッジと、当該カートリッジを使用して前処理から電気泳動までの一連の反応を 1 つの装置だけで実現する前処理一体型キャピラリー電気泳動装置及び方法を提供する。

【発明の効果】

10

20

30

40

50

## 【 0 0 0 9 】

本発明によれば、前処理から電気泳動までの一連の反応を1つの装置及び1つのカートリッジを用いて実行することができ、作業性の向上が期待される。前述した以外の課題、構成及び効果は、以下の実施形態の説明により明らかにされる。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 1 0 】

【 図 1 】 実施例 1 に係る前処理一体型キャピラリ電気泳動装置の構成例を示す図。

【 図 2 】 実施例 1 に係る前処理・電気泳動用展開液の一体型カートリッジの上面構成例を示す図。

【 図 3 】 キャピラリアレイの上面構成を示す図。

10

【 図 4 】 ポンプ・バッファユニットの断面構成例を示す図。

【 図 5 】 実施例 1 に係る前処理工程を説明する図。

【 図 6 】 核酸抽出区画の上面構成例を示す図。

【 図 7 】 PCR 区画の上面構成例を示す図。

【 図 8 】 サイクルシーケンス区画の上面構成例を示す図。

【 図 9 】 泳動区画の上面構成例を示す図。

【 図 1 0 】 前処理一体型キャピラリ電気泳動装置の動作手順を説明するフローチャート。

【 図 1 1 】 実施例 2 に係るカートリッジの上面構成例を示す図。

【 図 1 2 】 実施例 4 に係るカートリッジの上面構成例を示す図。

## 【 発明を実施するための形態 】

20

## 【 実施例 】

## 【 0 0 1 1 】

以下、図面に基づいて、本発明の実施の形態を説明する。なお、本発明の実施態様は、後述する実施例に限定されるものではなく、その技術思想の範囲において、種々の変形が可能である。

## 【 0 0 1 2 】

## [ 実施例 1 ]

## [ 前処理一体型キャピラリ電気泳動装置の構成 ]

図 1 は、実施例 1 に係る前処理一体型キャピラリ電気泳動装置 1 0 0 の構成を示す。前処理一体型キャピラリ電気泳動装置 1 0 0 は、前処理から電気泳動までの一連の反応・操作を、本明細書で提案するカートリッジ 2 0 0 を用いることにより、全自動で実行する装置である。カートリッジ 2 0 0 の詳細については後述する。

30

## 【 0 0 1 3 】

前処理一体型キャピラリ電気泳動装置 1 0 0 は、キャピラリアレイ 4 0 0、ポンプ・バッファユニット 4 5 0、恒温ユニット 4 1 0、ヒータ 5 0 0、送液ポンプ 5 2 0、調節弁ユニット 5 5 0、オートサンブラユニット 6 0 0、検出ユニット 7 0 0、高圧電源ユニット 8 0 0、コントローラ 9 0 0 を有している。これらユニットの詳細については後述する。なお、コントローラ 9 0 0 は、前処理一体型キャピラリ電気泳動装置 1 0 0 を構成する各部の動作を制御する。また、カートリッジ 2 0 0 は、不図示の載置台に載置され、載置台の内部にヒータ 5 0 0 が取り付けられる。

40

## 【 0 0 1 4 】

## [ カートリッジの構成 ]

本実施例で使用するカートリッジ 2 0 0 は、その表面に流路や調節弁を形成した 1 枚の平板状の基板で構成される。本実施例では、1枚のカートリッジ 2 0 0 を核酸抽出から泳動サンプルの準備までの一連の操作で使用する。各操作は、次項以降で詳細に説明する前処理一体型キャピラリ電気泳動装置 1 0 0 の各ユニットの協働により全自動で実行される。本実施例では、1回の測定につき、原則、1枚のカートリッジ 2 0 0 を使い切るものとする。

## 【 0 0 1 5 】

図 2 に、本実施例で使用するカートリッジ 2 0 0 の全体構成を示す。カートリッジ 2 0

50

0は、大きく分けて4つの区画で構成される。生体サンプルから核酸を抽出するまでの反応に使用する核酸抽出区画201と、核酸の増幅と精製に使用するPCR区画202と、サイクルシーケンス反応により標識を核酸に付加する際に使用するサイクルシーケンス区画203と、キャピラリ電気泳動で使用する泳動区画204である。各区画の構造及び操作方法については後述する。

#### 【0016】

##### [キャピラリアレイの構成]

図3に、キャピラリアレイ400の上面構成を示す。キャピラリアレイ400は、1本以上のキャピラリ401を束ねた構成を有している。キャピラリ401は、内径が数十～数百マイクロン、外径が数百マイクロンのガラス管で構成され、表面はポリイミド等でコーティングされている。キャピラリ401の内部には、電気泳動時に、サンプルに泳動速度差を与える分離媒体が充填されている。

10

#### 【0017】

キャピラリ401の一端には、キャピラリヘッド402が設けられる。キャピラリヘッド402は、キャピラリ401を束ねる部材である。このキャピラリヘッド402を通じ、ポンプ・バッファユニット450とキャピラリアレイ400とが接続される。キャピラリ401の他端には陰極電極403が形成されている。陰極電極403は、サンプル・溶液等に接触する。なお、キャピラリヘッド402の近傍位置には検出部404が設けられている。この検出部404において、キャピラリ401内で泳動分離されたサンプルの読み取りが行われる。キャピラリ401が破損又は品質劣化したときは、必要に応じて取り換えられる。

20

#### 【0018】

##### [恒温ユニットの構成]

恒温ユニット410は、電気泳動時に、キャピラリアレイ400の温度を設定温度に保つ機能を有している。恒温ユニット410は、ヒータが取り付けられた温度制御基板と断熱材とでキャピラリアレイ400を挟み込む構成の平板状の部品である。温度制御基板には、フィードバック用の温度センサが取り付けられている。ここで、キャピラリアレイ400の陰極電極403側の一端は、恒温ユニット410に固定されている。これにより、キャピラリヘッド402の先端を所望の位置に固定することができる。

#### 【0019】

##### [ポンプ・バッファユニットの構成]

ポンプ・バッファユニット450は、キャピラリアレイ400(具体的には、個々のキャピラリ401)にポリマなどの分離媒体を充填するために用いられるポンプである。

30

#### 【0020】

図4に、ポンプ・バッファユニット450の詳細構造を示す。ポンプ・バッファユニット450は、ディスポーザ容器451と、容器内を密閉し内部へ圧力をかけるピストン452と、ディスポーザ容器451の先端とキャピラリアレイ400とを接続するバルブ453と、バルブ453又はピストン452に固定された陽極電極454を有する。

#### 【0021】

陽極電極454の先端は、ディスポーザ容器451の底面(出力口の設けられた面)から内側に突き出ている。

40

#### 【0022】

ディスポーザ容器451の内部には、ピストン452を引いた状態(初期状態)で、分離媒体456が収容されている。なお、ピストン452の先端には薄膜455で囲まれた小袋が取り付けられており、その内部には陽極緩衝液457が充填されている。このように、ピストン452を引いた状態では、ディスポーザ容器451の内側は2つの区画に分割されている。従って、分離媒体456と陽極緩衝液457が混ざることはない。

#### 【0023】

分離媒体456をキャピラリアレイ400内に充填する際には、外部から圧力を掛けてピストン452がディスポーザ容器451の内側に押し込まれる。この際、ディスポーザ

50

容器 4 5 1 の内側には高い圧力が掛かる。これにより、分離媒体 4 5 6 がバルブ 4 5 3 を通過してキャピラリ 4 0 1 内に充填される。

【 0 0 2 4 】

電気泳動時には、さらに圧力をかけてピストン 4 5 2 をディスプレイ容器 4 5 1 のさらに内側に押し込む。この際、ピストン 4 5 2 のストローク量が一定量を超えると、陽極電極 4 5 4 の先端が薄膜 4 5 5 を突き破る。これにより、分離媒体 4 5 6 と陽極緩衝液 4 5 7 がディスプレイ容器 4 5 1 の内部で混合される。

【 0 0 2 5 】

なお、ポンプ・バッファユニット 4 5 0 においては、分離媒体 4 5 6 と陽極緩衝液 4 5 7 とが同一部品内の別領域に保存されていても良い。ただし、陽極電極 4 5 4 は、常時、陽極緩衝液 4 5 7 に接している必要がある。

10

【 0 0 2 6 】

[ ヒータの構成 ]

ヒータ 5 0 0 は、カートリッジ 2 0 0 に保持される溶液の保温、熱サイクルなどの温度調整に用いられる。図 1 に示す例の場合、ヒータ 5 0 0 は、カートリッジ 2 0 0 の載置台の内側又は表面に配置される。例えばヒータ 5 0 0 とカートリッジ 2 0 0 は、固定具などで固定される。

【 0 0 2 7 】

[ 送液ポンプの構成 ]

送液ポンプ 5 2 0 は、カートリッジ 2 0 0 に形成された調節弁に空気などを送り、カートリッジ内の流路・槽を加圧・減圧し、カートリッジ 2 0 0 内での溶液の送液を調整する。

20

【 0 0 2 8 】

[ 調節弁ユニットの構成 ]

調節弁ユニット 5 5 0 は、カートリッジ 2 0 0 に形成された調節弁を開閉する機構部である。

【 0 0 2 9 】

[ オートサンブラユニットの構成 ]

オートサンブラユニット 6 0 0 は、カートリッジ 2 0 0 を、初期セット位置に、次に前処理反応ユニット部に、そしてキャピラリ 4 0 0 のサンプル導入端に、順番に運搬するロボット装置である。

30

【 0 0 3 0 】

[ 検出ユニットの構成 ]

検出ユニット 7 0 0 は、キャピラリアレイ 4 0 0 の検出部 4 0 4 に対し、レーザやLEDなどの光源から出力された励起光 7 0 1 を照射し、キャピラリ 4 0 1 より発する散乱光 7 0 2 などを検出器 7 0 3 で検出する。検出した光は、不図示の測定装置に出力される。測定装置は、検出された散乱光 7 0 2 の信号強度に基づいてサンプルを分析する。

【 0 0 3 1 】

[ 高圧電源ユニットの構成 ]

高圧電源ユニット 8 0 0 は、陽極電極 4 5 4 と陰極電極 4 0 3 に接続されており、ポリマが充填されたキャピラリ 4 0 1 に高電圧を印加することにより電気泳動を実行する。

40

【 0 0 3 2 】

[ コントローラの構成 ]

コントローラ 9 0 0 は、ヒータ 5 0 0 と、送液ポンプ 5 2 0 と、調節弁ユニット 5 5 0 が連携して動作するように各部の動作を制御する。

【 0 0 3 3 】

[ 前処理から電気泳動までの動作の概要 ]

続いて、前処理一体型キャピラリ電気泳動装置において自動的に実行される一連の動作について説明する。

【 0 0 3 4 】

50

## (1) 前処理動作

ここでは、図5を参照し、前処理の処理内容の概要を説明する。なお、前処理とは、スワブや血液などの生体サンプルから核酸を抽出し、分析用（キャピラリ電気泳動による塩基配列解析）にサンプルを処理する操作である。前処理は、大まかに3つの工程に分けることができる。核酸抽出1100、PCR反応1200、サイクルシーケンス反応1300である。なお、解析対象によっては、核酸抽出1100とPCR反応1200のみで前処理を終え、キャピラリ電気泳動1400を実行する場合もある。

## 【0035】

3つの工程は、どれも同じ手順で実行することができる。すなわち、(1)試薬とサンプルの混合1101、(2)反応の進行1102、(3)核酸と担体の吸着1103、(4)担体の洗淨1104、(5)核酸の溶出1105の5つである。このうち、(1)と(2)は反応の実施であり、(3)～(5)は反応物の精製である。

以下、各段階で、コントローラ900により実行される制御動作の内容を説明する。

## 【0036】

## (1-1) 核酸抽出

核酸抽出1100では、まず、(1)の制御動作1101が実行される。この制御動作1101では、まず、サンプルがカートリッジ200に挿入される。サンプルは、試薬が貯蔵されている反応槽へと送液され、混合される。サンプルは例えば生体サンプルである。また、試薬は例えば細胞可溶化液、緩衝液などである。

## 【0037】

次に、(2)の制御動作1102が実行される。この制御動作1102では、ヒータ500により、カートリッジ200の温度が適切な反応温度に過熱又は冷却される。この温度調整により、生体サンプルが溶解され、核酸が露出される。

## 【0038】

続いて、(3)の制御動作1103が実行される。この制御動作1103では、溶解させたサンプルを担体槽に送液して担体と混合し、核酸を担体表面に吸着させる。次に、(4)の制御動作1104が実行される。この制御動作1104では、洗淨液が担体槽に送液され、担体に吸着している核酸以外の試薬・サンプルが洗い流される。なお、廃液は廃液槽に送液される。最後に、(5)の制御動作1105が実行される。この制御動作1105では、溶出液を担体槽に送液し、担体に吸着している核酸を回収する。

## 【0039】

## (1-2) PCR反応

PCR反応1200においても、まず、(1)の制御動作1101が実行される。この制御動作1101では、まず、核酸抽出後のサンプルが核酸抽出区画201からPCR区画202に送液される。サンプルは、試薬（プライマ、dNTP、緩衝液、酵素）が貯蔵されている反応槽へと送液され、混合される。

## 【0040】

次に、(2)の制御動作1102が実行される。この制御動作1102では、ヒータ500の熱サイクルにより、カートリッジ200内の混合溶液の温度が適切な反応温度に過熱又は冷却される。この温度調整により、核酸のうち目的領域のみが増幅される。

## 【0041】

続いて、(3)の制御動作1103が実行される。この制御動作1103では、反応産物を担体槽に送液して担体と混合し、核酸を担体表面に吸着させる。次に、(4)の制御動作1104が実行される。この制御動作1104では、洗淨液が担体槽に送液され、担体に吸着している核酸以外の試薬・サンプルが洗い流される。なお、廃液は廃液槽に送液される。最後に、(5)の制御動作1105が実行される。この制御動作1105では、溶出液を担体槽に送液し、担体に吸着している核酸を回収する。

## 【0042】

## (1-3) サイクルシーケンス反応

サイクルシーケンス反応1300においても、まず、(1)の制御動作1101が実行さ

10

20

30

40

50

れる。この制御動作 1 1 0 1 では、まず、PCR 反応後の産物が PCR 区画 2 0 2 からサイクルシーケンス区画 2 0 3 に送液される。PCR 区画 2 0 2 からの産物は、試薬（プライマ、蛍光標識した dNTP、酵素、緩衝液など）が貯蔵されている反応槽へと送液され、混合される。

#### 【 0 0 4 3 】

次に、(2)の制御動作 1 1 0 2 が実行される。この制御動作 1 1 0 2 では、ヒータ 5 0 0 の熱サイクルにより、カートリッジ 2 0 0 内の混合溶液の温度が適切な反応温度に過熱又は冷却される。この温度調整により、核酸に蛍光標識した dNTP をハイブリダイズする。

#### 【 0 0 4 4 】

続いて、(3)の制御動作 1 1 0 3 が実行される。この制御動作 1 1 0 3 では、反応産物を担体槽に送液して担体と混合し、核酸を担体表面に吸着させる。次に、(4)の制御動作 1 1 0 4 が実行される。この制御動作 1 1 0 4 では、洗浄液が担体槽に送液され、担体に吸着している核酸以外の試薬・サンプルが洗い流される。なお、廃液は廃液槽に送液される。最後に、(5)の制御動作 1 1 0 5 が実行される。この制御動作 1 1 0 5 では、溶出液を担体槽に送液し、担体に吸着している核酸を回収する。すなわち、反応産物から余分な蛍光、プライマなどを除去し、核酸を回収する。核酸は、泳動区画 2 0 4 に回収される。

#### 【 0 0 4 5 】

##### ( 2 ) 泳動動作

泳動区画 2 0 4 に回収された核酸について、キャピラリ電気泳動 1 4 0 0 が実施される。

#### 【 0 0 4 6 】

##### [ 各区画の構造と送液 ]

続いて、カートリッジ 2 0 0 を構成する各区画内における送液手順について具体的に説明する。なお、核酸抽出区画 2 0 1、PCR 区画 2 0 2、サイクルシーケンス区画 2 0 3 のおおよその構成と送液のための手順は同じである。なお、カートリッジ 2 0 0 は、生体サンプルが吸着し難い材料、例えば石英ガラス、PMMA、ポリカーボネートなどで構成することが望ましい。

#### 【 0 0 4 7 】

図 6 に、核酸抽出区画 2 0 1 の構成例を示す。核酸抽出区画 2 0 1 は、試薬を内蔵する試薬槽 2 1 1 と、挿入した生体サンプルと試薬とを混合する反応槽 2 1 2 と、反応産物の精製に用いる担体を内蔵した担体槽 2 1 3 と、担体を洗浄する洗浄液を内蔵した洗浄液槽 2 1 4 と、担体槽から核酸以外の溶液を回収する廃液槽 2 1 5 と、担体から核酸を回収するための溶出液を内蔵した溶出液槽 2 1 6 とを有している。

#### 【 0 0 4 8 】

試薬槽 2 1 1 は、試薬が保管された状態で運搬できるように、密閉構造を採用する。一方で、空の試薬槽 2 1 1 に対して分析直前に任意の試薬を注入し、分析しても良い。

#### 【 0 0 4 9 】

各槽 2 1 1 ~ 2 1 6 の間には、流路 2 4 1 ~ 2 4 6 と、流路の開閉を調節する調節弁 2 3 1 ~ 2 3 7 が設けられている。なお、流路 2 4 6 は、核酸抽出区画 2 0 1 と PCR 区画 2 0 2 とを接続する流路である。その他、核酸抽出区画 2 0 1 には、送液ポンプ 5 2 0 による加圧により溶液を送液するために使用するポート 2 1 7 ~ 2 2 0 と、ポート流路 2 2 1 ~ 2 2 4 が形成されている。ポート流路 2 2 1 ~ 2 2 4 は、ポート 2 1 7 ~ 2 2 0 とそれぞれに対応する槽とを個別に接続する流路である。

#### 【 0 0 5 0 】

調節弁 2 3 1 は、試薬槽 2 1 1 と反応槽 2 1 2 を接続する流路 2 4 1 に配置され、調節弁 2 3 2 は、反応槽 2 1 2 と担体槽 2 1 3 を接続する流路 2 4 2 に配置され、調節弁 2 3 3 は、洗浄液槽 2 1 4 と担体槽 2 1 3 を接続する流路 2 4 3 に配置され、調節弁 2 3 4 と調節弁 2 3 5 は、担体槽 2 1 3 と廃液槽 2 1 5 を接続する流路 2 4 4 に配置され、調節弁 2 3 6 は、溶出液槽 2 1 6 と担体槽 2 1 3 を接続する流路 2 4 5 に配置され、調節弁 2 3 7 は担体槽 2 1 3 と PCR 区画 2 0 2 を接続する流路 2 4 6 に配置される。

## 【 0 0 5 1 】

担体槽 2 1 3 は、反応槽 2 1 2、洗浄液槽 2 1 4、廃液槽 2 1 5、溶出液槽 2 1 6 とそれぞれ異なる流路 2 4 2、2 4 3、2 4 4、2 4 5 で接続されている。なお、全ての流路の流れ方向は決められており、原則として逆流を許さない。

## 【 0 0 5 2 】

また、試薬槽 2 1 1、洗浄液槽 2 1 4、廃液槽 2 1 5、溶出液槽 2 1 6 は、それぞれポート流路 2 2 1 ~ 2 2 4 を介して、ポート 2 1 7 ~ 2 2 0 と接続されている。

## 【 0 0 5 3 】

担体槽 2 1 3 に配置される担体は、ガラスビーズ、グラスウール、多孔質ガラス等の核酸が特に吸着しやすいものが望ましい。より精製の度合いを上げる場合には、予めビオチンが付加されたプライマを反応に用い、担体槽 2 1 3 にストレプトアビジンを表面修飾しておく方法がある。洗浄液は、アルコールなどの有機溶剤を高濃度に含むものであり、担体を複数回洗浄することで担体から核酸以外の成分を取り除く。

10

## 【 0 0 5 4 】

図 7 に、PCR 区画 2 0 2 の構成例を示す。PCR 区画 2 0 2 は、試薬を内蔵する試薬槽 2 5 1 と、核酸抽出区画 2 0 1 の生成物と試薬とを混合し、熱サイクルを実施する反応槽 2 5 2 と、反応産物の精製に用いる担体を内蔵した担体槽 2 5 3 と、担体を洗浄する洗浄液を内蔵した洗浄液槽 2 5 4 と、担体槽から核酸以外の溶液を回収する廃液槽 2 5 5 と、担体から核酸回収するための溶出液を内蔵した溶出液槽 2 5 6 を有する。

## 【 0 0 5 5 】

20

各槽 2 5 1 ~ 2 5 6 の間には、流路 2 8 1 ~ 2 8 6 と、流路の開閉を調節する調節弁 2 7 1 ~ 2 7 7 が設けられている。なお、流路 2 8 6 は、PCR 区画 2 0 2 とサイクルシーケンス区画 2 0 3 とを接続する流路である。この他、PCR 区画 2 0 2 には、送液ポンプ 5 2 0 による加圧により溶液を送液するために使用するポート 2 5 7 ~ 2 6 0 と、ポート流路 2 6 1 ~ 2 6 4 が形成されている。ポート流路 2 6 1 ~ 2 6 4 は、ポート 2 5 7 ~ 2 6 0 とそれぞれに対応する槽とを個別に接続する流路である。PCR 区画 2 0 2 の場合も、全ての流路の流れ方向は決められており、原則として逆流を許さない。

## 【 0 0 5 6 】

図 8 に、サイクルシーケンス区画 2 0 3 の構成例を示す。サイクルシーケンス区画 2 0 3 は、試薬を内蔵する試薬槽 3 1 1 と、PCR 区画 2 0 2 の生成物と試薬とを混合し、熱サイクルを実施する反応槽 3 1 2 と、反応産物の精製に用いる担体を内蔵した担体槽 3 1 3 と、担体を洗浄する洗浄液を内蔵した洗浄液槽 3 1 4 と、担体槽から核酸以外の溶液を回収する廃液槽 3 1 5 と、担体から核酸回収するための溶出液を内蔵した溶出液槽 3 1 6 を有する。

30

## 【 0 0 5 7 】

各槽 3 1 1 ~ 3 1 6 の間には、流路 3 4 1 ~ 3 4 6 と、流路の開閉を調節する調節弁 3 3 1 ~ 3 3 7 が設けられている。なお、流路 3 4 6 は、サイクルシーケンス区画 2 0 3 と泳動区画 2 0 4 を接続する流路である。この他、サイクルシーケンス区画 2 0 3 には、送液ポンプ 5 2 0 による加圧により溶液を送液するために使用するポート 3 1 7 ~ 3 2 0 と、ポート流路 3 2 1 ~ 3 2 4 が形成されている。ポート流路 3 2 1 ~ 3 2 4 は、ポート 3 1 7 ~ 3 2 0 とそれぞれに対応する槽とを個別に接続する流路である。サイクルシーケンス区画 2 0 3 の場合も、全ての流路の流れ方向は決められており、原則として逆流を許さない。

40

## 【 0 0 5 8 】

図 9 に、泳動区画 2 0 4 の構成例を示す。泳動区画 2 0 4 は、泳動溶液槽 3 5 1 と、電解質を含む緩衝液を内蔵する陰極緩衝液槽 3 5 2 と、キャピラリの洗浄を行う洗浄水を内蔵した洗浄水槽 3 5 3 を有する。このうち、泳動溶液槽 3 5 1 は、流路 3 4 6 を介してサイクルシーケンス区画 2 0 3 と接続されている。この他、泳動区画 2 0 4 には、送液ポンプ 5 2 0 による加圧により溶液を送液するために使用するポート 3 5 4 と、ポート流路 3 5 5 が形成されている。ポート流路 3 5 5 は、ポート 3 5 4 と泳動溶液槽 3 5 1 を接続す

50

る。

#### 【0059】

なお、本実施例では、図6～図8に示すように、核酸抽出区画201～サイクルシーケンス区画203の各区画の洗浄液槽と廃液槽が別々に形成されている場合について説明した。しかし、該当区画の洗浄液槽と廃液槽は1つに共通化されていても良い。また、本実施例では、カートリッジ200を構成する区画の数が4つの場合について説明したが、解析対象となるサンプル又はスタートとなるサンプルのタイプにより、区画の数は増減してもよい。

#### 【0060】

[送液に伴う調節弁の開閉]

以下では、カートリッジ200を使用して、前処理とキャピラリー電気泳動を実施する手順について説明する。前処理からキャピラリー電気泳動までの一連の手順は、基本的に、送液による試薬の混合と加熱処理の組み合わせにより実現される。以下の説明では、溶液の送液に、最も一般的な方法である、ポンプによる加圧方式を採用するものとして説明する。

#### 【0061】

当初、カートリッジ200に搭載された調節弁とポートは全て閉じた状態にあり、必要に応じて開く操作を行う。閉じた状態の調節弁は溶液類を通さない一方で、空気・ガス等の気体は通す機構を有している。この種の特性を有する調節弁は既知であるので詳細な説明については省略する。

#### 【0062】

核酸抽出区画201、PCR区画202、サイクルシーケンス区画203における溶液の送液は、各区画についてそれぞれ5回の送液操作を順番に実施することで完了する。ここでは、1番目の核酸抽出区画201を例に説明する。PCR区画202及びサイクルシーケンス区画203における送液操作はこれに倣う。

#### 【0063】

操作(1)

まず、スワブや血液などの生体サンプルを反応槽212に挿入し、シールなどで蓋をして系を密閉した状態にする。この状態で、調節弁231とポート217、218を開け、ポート217から空気を注入する。空気は、ポート217 試薬槽211 反応槽212 担体槽213 廃液槽215 ポート218の順番に流れる。空気がポート217に注入されると、試薬槽211に内蔵された試薬が流路241を通過して反応槽212に流れ、生体サンプルと混ざり合わされる。このとき、必要に応じて、ヒータ500を用いてカートリッジ200を加熱し、反応槽212内の混合液の温度を適温になるよう調整しても良い。

#### 【0064】

操作(2)

続いて、更に調節弁232を開放した状態で、ポート217から空気を注入する。なお、空気の流路は操作(1)と同じである。この場合、反応槽212内の生体サンプルと試薬の混合液が流路242を通過して担体槽213に流れる。このとき、混合液中の核酸は、担体槽213内の担体に付着する。

#### 【0065】

操作(3)

次に、調節弁232とポート217を閉じ、調節弁233～235とポート219を開く。なお、ポート218は開いたままである。この状態でポート219から空気を注入する。この際、空気は、ポート219 洗浄液槽214 担体槽213 廃液槽215 ポート218の順番に流れる。空気がポート219に注入されると、担体槽213にあった混合液は流路244を通過して廃液槽215へと流れ出す。代わりに、洗浄液槽214に内蔵された洗浄液が流路243を通過して担体槽213へと流れ込む。さらに、空気のポート219への注入を継続すると、担体槽213に内蔵されていた洗浄液は、廃液槽215へ

10

20

30

40

50

全て送られる。その後、逆流と混入を防ぐため、調節弁233～235を閉じる。この操作は、複数回繰り返すことで精製の効果を高めることができる。

【0066】

操作(4)

次に、ポート219を閉じ、調節弁236とポート220を開く。ここでも、ポート218は開いたままである。この際、空気は、ポート219 洗浄液槽214 担体槽213 廃液槽215 ポート218の順番に流れる。ポート220から空気を注入すると、溶出液槽216に内蔵されていた溶出液が流路245を通過して担体槽213へと流れ込む。

【0067】

操作(5)

溶出液槽216の溶出液を担体槽213に流し込んだ後は、担体に付着した核酸が溶出液に溶けだすのに十分な時間だけ放置する。その後、ポート218を閉じ、調節弁237とポート258を開ける。この際、PCR区画202に設けられたポート258を開く。これにより、空気は、ポート220 溶出液槽216 担体槽213 反応槽252 担体槽253 廃液槽255 ポート258に順番に流れる。この状態で、ポート220から空気を注入する。すると、担体槽213の溶液は、流路246を通過して次の区画、すなわちPCR区画202の反応槽252に流れ込む。このように、核酸抽出区画201からPCR区画202への送液が完了すると、ポート220及び258を閉じる。

【0068】

本実施例の場合、PCR区画202とサイクルシーケンス区画203は、核酸抽出区画201と同じ構造を有している。従って、PCR区画202とサイクルシーケンス区画203についても、前述した操作(1)～(5)と同様の操作が繰り返し実施される。

【0069】

続いて、泳動区画204における溶液の送液を説明する。泳動区画204の泳動溶液槽351には、予めホルムアミドなどの変性剤が封入されている。サイクルシーケンス区画203から送液された溶出液は、泳動溶液槽351において変性剤と混合される状態となる。なお、泳動区画204には、泳動溶液槽351の他に、陰極緩衝液槽352と洗浄水槽353が設けられているが、各槽からの溶液の蒸発と外部からのコンタミネーションを防ぐため、シールなどの薄膜で各槽の開口が覆われている。

【0070】

キャピラリー電気泳動を行う際には、キャピラリー401の先端が泳動溶液槽351の開口を覆う薄膜を突き破り、槽内の溶液に浸される。薄膜は、キャピラリー先端ではなく、別に用意したニードルを用いて破っても良い。また、各槽の開口はシールで覆う代わりに、スリットが切られたゴム膜で覆い、その切れ目からキャピラリーの先端を挿入しても良い。

【0071】

[前処理一体型キャピラリー電気泳動装置の処理動作]

図10に、本実施例に係る前処理一体型キャピラリー電気泳動装置100の動作手順を示す。各ステップについて、図を補足しながら説明する。

【0072】

(ステップ2001)

前提として、まず、サンプルを導入したカートリッジ200を、前処理一体型キャピラリー電気泳動装置100の載置台に取り付ける。また、ポンプ・バッファユニット450を前処理一体型キャピラリー電気泳動装置100に取り付ける。この状態で、装置本体の電源をオンにすると、本動作手順が開始される。まず、生体サンプル及び試薬が封入されたカートリッジ200が、オートサンプラユニット600に固定される。その際、カートリッジ200の底面とヒータ500は接触している。カートリッジ200の調節弁231～237、271～277、331～337は調節弁ユニット550に接続され、ポート217～220、257～260、317～320は送液ポンプ520に接続される。また、ポンプ・バッファユニット450を、キャピラリーレイ400の一端部と高圧電源ユニッ

10

20

30

40

50

ト 8 0 0 とにそれぞれ接続する。

【 0 0 7 3 】

(ステップ 2 0 0 2 )

この状態で、ヒータ 5 0 0 による温度調整が開始される。温度は、ユーザが使用毎に手動で設定しても良いし、測定の内容に応じて予め定めた温度に自動的に設定しても良い。また、この段階で、レーザ 7 0 1 の照射も開始される。なお、レーザの照射直後は出力が不安定である。従って、検出感度を維持するためには、電気泳動を開始する前に、レーザの照射を開始しておけば良い。

【 0 0 7 4 】

(ステップ 2 0 0 3 )

カートリッジ 2 0 0 、ヒータ 5 0 0 、調節弁ユニット 5 2 0 の 3 つを固定しているオートサンプラユニット 6 0 0 のアームが動き、陰極緩衝液槽 3 5 2 にキャピラリアレイ 4 0 0 の先端が浸される。

10

【 0 0 7 5 】

(ステップ 2 0 0 4 )

次に、ポンプ・バッファユニット 4 5 0 のピストン 4 5 2 に対し、手動又は自動制御により外力が加えられ、内蔵していた分離媒体 4 5 6 がキャピラリアレイ 4 0 0 に充填される。同時に、陽極電極 4 5 4 が陽極緩衝液 4 5 7 に浸された状態になる。

【 0 0 7 6 】

(ステップ 2 0 0 5 )

カートリッジ 2 0 0 では、核酸抽出、PCR 反応、サイクルシーケンス反応が連続で実施される。実施方法については前記の通りである。また、高圧電源ユニット 8 0 0 により、キャピラリの両端に電圧を印加する。この操作は、プレラン (pre-run) と呼ばれる。プレランを長時間実施することにより、キャピラリ電気泳動の分析性能を向上させる効果がある。

20

【 0 0 7 7 】

(ステップ 2 0 0 6 )

調節弁ユニット 5 5 0 と送液ポンプ 5 2 0 により、サイクルシーケンス区画 2 0 3 のサンプルが後段に位置する泳動溶液槽 3 5 1 に送液される。カートリッジ 2 0 0 において試薬・混合液・反応液を送液する際、ポンプ 5 2 0 から注入する空気の量を調整すれば、送液量を調整することができる。なお、各区画における溶出液の全量を、次の槽に送るのではなく、一部を保管しておくことが望ましい、そうすれば、途中から分析を再実施することが可能である。

30

【 0 0 7 8 】

(ステップ 2 0 0 7 )

ここでは、一時的に、電圧の印加が停止される。この状態で、オートサンプラユニット 6 0 0 が動作し、キャピラリアレイ 4 0 0 の先端が泳動溶液槽 3 5 1 に挿入される。

【 0 0 7 9 】

(ステップ 2 0 0 8 )

高圧電源ユニット 8 0 0 からキャピラリアレイの両端に弱い電圧を短時間印加することにより、適量のサンプルを分離媒体が充填されたキャピラリアレイ 4 0 0 に導入する。

40

【 0 0 8 0 】

(ステップ 2 0 0 9 )

再度、オートサンプラユニット 6 0 0 が動作し、キャピラリアレイ 4 0 0 の先端を陰極緩衝液槽 3 5 2 内に封入された陰極緩衝液に浸す。

【 0 0 8 1 】

(ステップ 2 0 1 0 )

高圧電源ユニット 8 0 0 からキャピラリアレイ 4 0 0 に高電圧を印加し、電気泳動を実施する。電気泳動中、キャピラリ 4 0 1 の検出部 4 0 4 には、励起光 7 0 1 が照射される。検出器 7 0 3 は、励起光 7 0 1 によってサンプルが蛍光している様子を検出し、不図示

50

の測定装置に検出結果を出力する。測定装置は、検出結果に基づき、サンプルを分析する。

【0082】

(ステップ2011)

この段階で、電気泳動が終了する。

【0083】

(ステップ2012)

電圧印加の終了後、オートサンプラユニット600が動作し、キャピラリアレイ400の先端を洗浄液槽353に浸す。洗浄水槽353にはキャピラリの先端及び内部を洗浄する洗浄水が封入されている。

10

【0084】

(ステップ2013)

ポンプ・バッファユニット450のピストン452を手動又は自動制御により引き、キャピラリアレイの内部を洗浄液で満たす。この操作を数回繰り返すと、洗浄効果を向上させることができる。

【0085】

[まとめ]

以上説明したように、本実施例に係るカートリッジ200と、前処理(核酸抽出、増幅反応、サイクルシーケンス反応など)一体型キャピラリ電気泳動装置100を組み合わせれば、前処理から電気泳動までの全反応工程の自動化を、1台の装置と1個のカートリッジだけを用いて実行することができる。

20

【0086】

[実施例2]

本実施例では、精製した核酸からキャピラリ電気泳動を実施し、フラグメント解析を行う場合に適したカートリッジ200の構成例を示す。前処理一体型キャピラリ電気泳動装置100の基本的な構成や動作は実施例1と同様である。以下では、本実施例と実施例1との差異点を中心に説明する。

【0087】

図11に、本実施例に係るカートリッジ200の構成例を示す。図11に示すカートリッジ200は、PCR区画202と泳動区画204のみで構成されており、核酸抽出区画201、サイクルシーケンス区画203は省かれている。

30

【0088】

この実施例の場合、精製された核酸の溶液を反応槽252に導入し、その後、シールなどで蓋をして系を密閉した状態にすることで処理工程が開始される。以降の工程は、実施例1と同じである。この場合にも、実施例1と同様の効果を実現することができる。

【0089】

[実施例3]

本実施例では、槽内に封入する試薬を異なるものにするすることで、別の解析の実施を可能とする。先に述べたように、PCR区画202の試薬槽251には、試薬が保管された状態で運搬が可能ないように密閉されている。一方で、空の試薬槽251に対し、分析直前に任意の試薬を注入して解析しても良い。

40

【0090】

一例として、精製した核酸からSTR(ショートタンデムリピート)解析を実施する方法を説明する。なお、前処理一体型キャピラリ電気泳動装置100の基本的な構成や動作は実施例2と同様である。

【0091】

本実施例と実施例2との相違点は、試薬槽251にはPCR反応のための酵素、dNTP、緩衝液等の混合溶液、反応液槽252にはSTR領域に対応した蛍光標識プライマ混合液を封入しておく点である。この場合にも、実施例2と同様の効果を実現することができる。

50

## 【 0 0 9 2 】

## [実施例 4]

本実施例では、精製した核酸から PCR 反応、サイクルシーケンス反応を行える構成について説明する。前処理一体型キャピラリ電気泳動装置 1 0 0 の基本的な構成や動作は実施例 1 と同様である。以下では、実施例 1 と本実施例との差異点を中心に説明する。

## 【 0 0 9 3 】

図 1 2 に、本実施例に係るカートリッジ 2 0 0 の構成例を示す。図 1 2 に示すカートリッジ 2 0 0 は、PCR 区画 2 0 2 と、サイクルシーケンス区画 2 0 3 と、泳動区画 2 0 4 の 3 つのみで構成され、核酸抽出区画 2 0 1 は省かれている。

## 【 0 0 9 4 】

本実施例の場合、反応動作は、反応槽 2 5 2 に精製された核酸の溶液を挿入し、シールなどで蓋をして系を密閉した状態から開始される。以降の工程は実施例 1 と同様である。この場合にも、実施例 1 と同様の効果を実現することができる。

## 【 0 0 9 5 】

## [他の実施例]

本発明は上述した実施例に限定されるものでなく、様々な変形例が含まれる。例えば、上述した実施例は、本発明を分かりやすく説明するために詳細に説明したものであり、必ずしも全ての構成を備えるものに限定されない。また、ある実施例の一部を他の実施例の構成に置き換えることが可能であり、また、ある実施例の構成に他の実施例の構成を加えることも可能である。また、各実施例の構成の一部について、他の構成を追加、削除又は置換することも可能である。

## 【符号の説明】

## 【 0 0 9 6 】

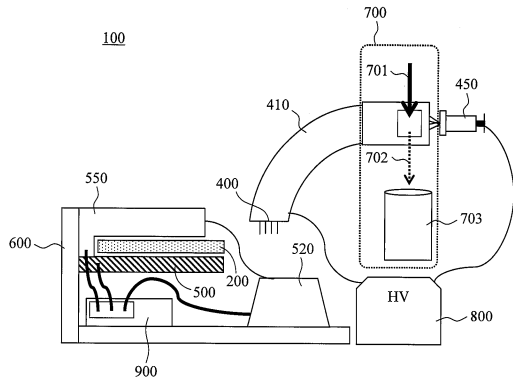
1 0 0 : 前処理一体型キャピラリ電気泳動装置、2 0 0 : カートリッジ、2 0 1 : 核酸抽出区画、2 0 2 : PCR 区画、2 0 3 : サイクルシーケンス区画、2 0 4 : 泳動区画、2 1 1、2 5 1、3 1 1 : 試薬槽、2 1 2、2 5 2、3 1 2 : 反応槽、2 1 3、2 5 3、3 1 3 : 担体槽、2 1 4、2 5 4、3 1 4 : 洗浄液槽、2 1 5、2 5 5、3 1 5 : 廃液槽、2 1 6、2 5 6、3 1 6 : 溶出液槽、2 1 7 ~ 2 2 0、2 5 7 ~ 2 6 0、3 1 7 ~ 3 2 0、3 5 4 : ポート、2 2 1 ~ 2 2 4、2 6 1 ~ 2 6 4、3 2 1 ~ 3 2 4 : ポート流路、2 3 1 ~ 2 3 7、2 7 1 ~ 2 7 7、3 3 1 ~ 3 3 7 : 調節弁、2 4 1 ~ 2 4 6、2 8 1 ~ 2 8 6、3 4 1 ~ 3 4 6、3 5 1 : 泳動溶液槽、3 5 2 : 陰極緩衝液槽、3 5 3 : 洗浄水槽、3 5 5 : 流路、4 0 0 : キャピラリアレイ、4 0 1 : キャピラリ、4 0 2 : キャピラリヘッド、4 0 3 : 陰極電極、4 0 4 : 検出部、4 1 0 : 恒温ユニット、4 5 0 : ポンプ・バッファユニット、4 5 1 : ディスポーザ容器、4 5 2 : ピストン、4 5 3 : バルブ、4 5 4 : 陽極電極、4 5 5 : 薄膜、4 5 6 : 分離媒体 (ポリマ)、4 5 7 : 陽極緩衝液、5 0 0 : ヒータ、5 2 0 : 送液ポンプ、5 5 0 : 調節弁ユニット、6 0 0 : オートサンブラユニット、7 0 0 : 検出ユニット、7 0 1 : 励起光、7 0 2 : 散乱光、7 0 3 : 検出器、8 0 0 : 高圧電源ユニット、9 0 0 : コントローラ。

10

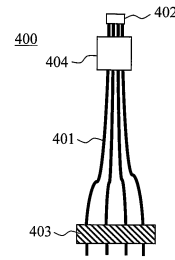
20

30

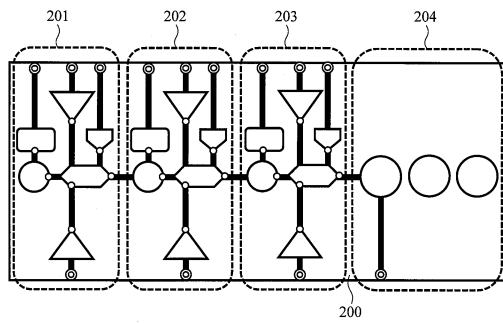
【図1】



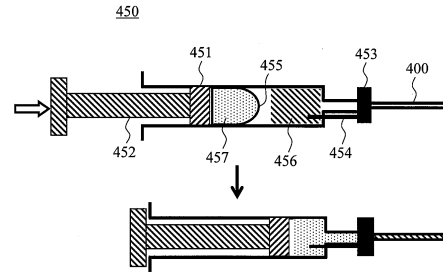
【図3】



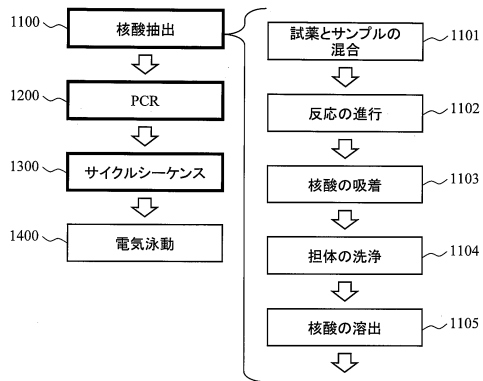
【図2】



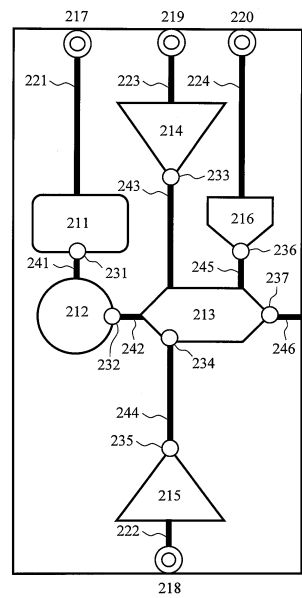
【図4】



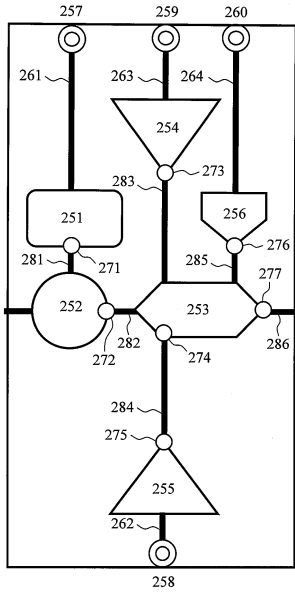
【図5】



【図6】

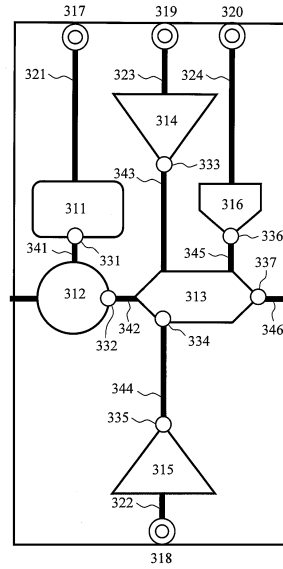


【図7】



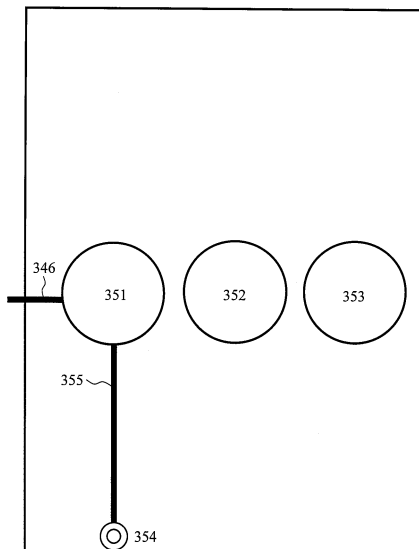
202

【図8】



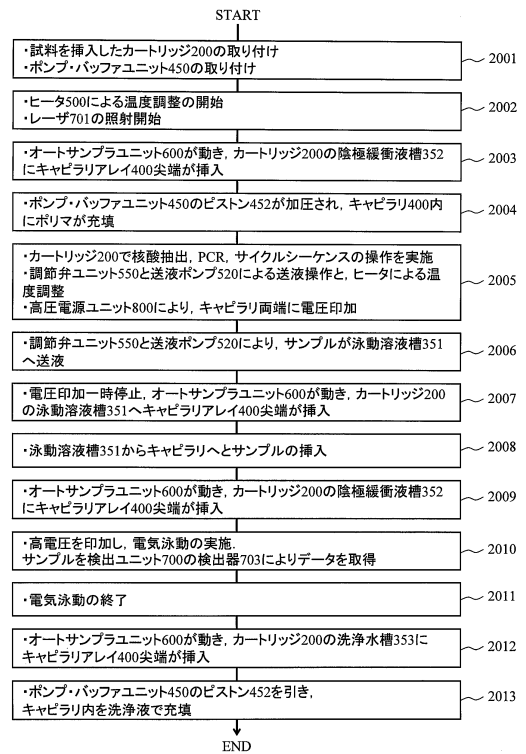
203

【図9】

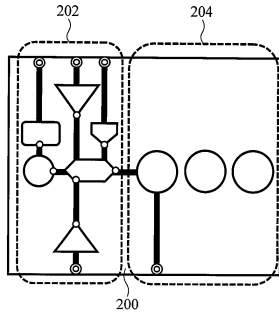


204

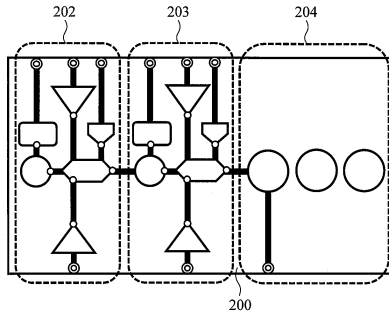
【図10】



【 図 1 1 】



【 図 1 2 】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
C 1 2 M 1/00 A  
C 1 2 M 1/34 B  
C 1 2 Q 1/68 A

(72)発明者 山 崎 基博  
茨城県ひたちなか市大字市毛 8 8 2 番地 株式会社日立ハイテクノロジーズ 那珂事業所内  
(72)発明者 児玉 佳孝  
茨城県ひたちなか市大字市毛 8 8 2 番地 株式会社日立ハイテクノロジーズ 那珂事業所内  
(72)発明者 村松 高道  
茨城県ひたちなか市大字市毛 8 8 2 番地 株式会社日立ハイテクノロジーズ 那珂事業所内

審査官 土岐 和雅

(56)参考文献 国際公開第 0 2 / 0 9 0 9 6 8 ( W O , A 1 )  
特開 2 0 0 4 - 3 0 1 7 6 7 ( J P , A )  
特開 2 0 0 3 - 1 7 7 1 1 4 ( J P , A )  
特開 2 0 0 3 - 2 0 2 3 2 1 ( J P , A )  
特開 2 0 0 4 - 3 1 7 3 6 3 ( J P , A )  
特開 2 0 0 7 - 2 4 4 3 8 9 ( J P , A )  
特開 2 0 0 7 - 3 3 0 1 7 9 ( J P , A )

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)  
G 0 1 N 2 7 / 2 6 ~ 2 7 / 4 9、3 3 / 4 8 ~ 3 3 / 9 8、3 5 / 0 0 ~ 3 7 / 0 0、C 1 2  
M 1 / 0 0 ~ 1 / 4 2、C 1 2 Q 1 / 0 0 ~ 1 / 7 0