

(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
2014 年 1 月 3 日(03.01.2014)



(10) 国際公開番号
WO 2014/003103 A1

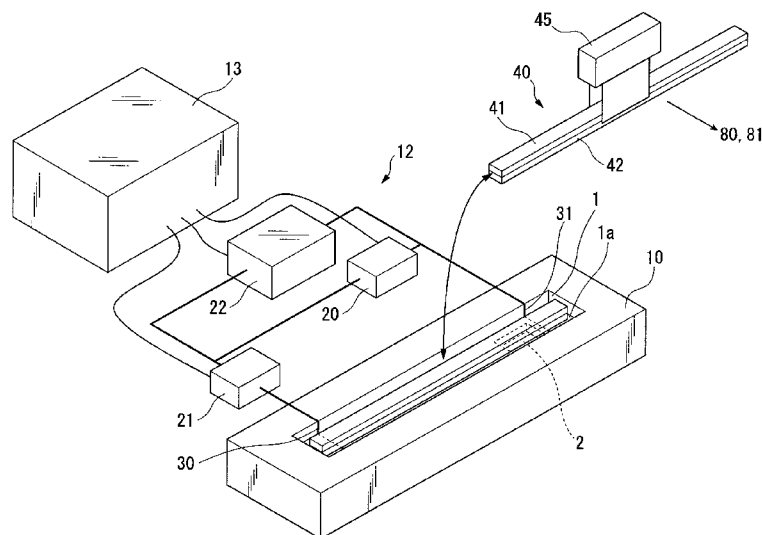
- (51) 国際特許分類:
G01N 27/447 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/067617
- (22) 国際出願日: 2013 年 6 月 27 日(27.06.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-147315 2012 年 6 月 29 日(29.06.2012) JP
特願 2012-147689 2012 年 6 月 29 日(29.06.2012) JP
- (71) 出願人: シャープ株式会社(SHARP KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒5458522 大阪府大阪市阿倍野区長池町 2 2 番 2 2 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 緑川 宇一(MIDORIKAWA, Uichi). 木下英樹(KINOSHITA, Hideki). 鵜沼 豊(UNUMA, Yutaka). 丸尾 祐二(MARUO, Yuji).
- (74) 代理人: 米津 潔, 外(YONETSU, Kiyoshi et al.); 〒5458522 大阪府大阪市阿倍野区長池町 2 2 番 2 2 号 シャープ株式会社内 Osaka (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, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, 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).

[続葉有]

(54) Title: ELECTROPHORESIS INSTRUMENT, ELECTROPHORESIS DEVICE, SAMPLE INTRODUCTION METHOD, AND SAMPLE SEPARATION METHOD

(54) 発明の名称: 電気泳動用器具、電気泳動装置、サンプル導入方法およびサンプル分離方法



(57) Abstract: Provided is an electrophoresis instrument with which it is possible to easily carry out a separation of a biological sample with good reproducibility by isoelectric focusing. The electrophoresis instrument (10) comprises an electrophoresis chamber (1) in which is installed a sample separation medium (42) which separates a biological sample by electrophoresis. A depression (2) for infusing a sample solution including the biological sample is disposed on an installation surface (1a) on the electrophoresis chamber (1), said installation surface (1) being where the sample separation medium (42) is installed.

(57) 要約: 等電点電気泳動による生体サンプルの分離を再現性よく容易に行うことが可能な電気泳動用器具を提供する。電気泳動用器具(10)は、生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体(42)を設置する電気泳動用チャンバー(1)を備えている。電気泳動用チャンバー(1)のサンプル分離媒体(42)が設置される設置面(1a)には、生体サンプルを含むサンプル溶液を注入するための窪み(2)が設けられている。



WO 2014/003103 A1



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

電気泳動用器具、電気泳動装置、サンプル導入方法およびサンプル分離方法

技術分野

[0001] 本発明は、ライフサイエンス技術における生体サンプルの二次元電気泳動に好適に適用可能な電気泳動用器具、電気泳動装置、サンプル導入方法およびサンプル分離方法に関する。

背景技術

[0002] 二次元電気泳動は、一般に分解能が高いので、タンパク質等の生体サンプルの分離方法として優れている。二次元電気泳動によりタンパク質を分離する場合には、一次元方向への分離に等電点電気泳動が利用されている。等電点電気泳動は、ゲルに電圧を印加し、タンパク質の等電点の違いにより分離をおこなう手法である。また、二次元方向への分離には、陰イオン系界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム（SDS）を用いたSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）が広く利用されている。二次元電気泳動は、一度に多くのタンパク質を分離し、網羅的に解析できるため、プロテオーム解析に広く利用されている。

[0003] 等電点電気泳動の従来技術には、生体サンプルを含む膨潤液でドライストリップゲルを膨潤させ、ゲルストリップホルダーに移して等電点電気泳動を行う方法と、予め膨潤液のみでドライストリップゲルを膨潤させ、ゲルストリップホルダーに移した後、試料カップ内に生体サンプルを入れて、等電点電気泳動を行う方法の2つの方法がある。後者はカップローディング法と呼ばれ、生体サンプルの導入を電圧印加しながら行うため生体サンプルの導入効率が良く、生体サンプルをある領域（酸側、あるいは塩基側）より導入することができるため、移動距離が長くなり分解能が向上する方法として臨床サンプルの二次元電気泳動等に使用されている（特許文献1を参照）。

[0004] 一般に上記カップローディング法による等電点電気泳動は、まず、尿素、チオ尿素、3-[(コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-1-プロパンスルホナート(CHAPS)、ジチオトレイトール(DTT)、両性担体(キャリアアンフォライト)を含む水溶液を専用のチャンバーに入れ、ポリアクリルアミドゲルにpH勾配を固定化し乾燥させたドライストリップゲル(IPGゲル)をゲル面を下方にして浸す。乾燥防止のためにパラフィンオイル等のカバー溶液を入れ、数時間静置して上記IPGゲルを膨潤(再水和)する。

[0005] 次に、上記チャンバーからIPGゲルを取り除き、等電点電気泳動用のチャンバーにゲル面を上方にして設置してIPGゲルの上に湿ったろ紙と電極を設置する。その後、ゲル上の任意の位置に試料カップを設置し、試料カップ内に生体サンプルを含むサンプル溶液を添加し、上記のカバーオイルを入れる。試料カップのない領域のゲル上にもカバーオイルを入れゲルが空気中に露出しないようにし、電圧を印加して等電点電気泳動をスタートする。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：日本国公開特許公報「特表2008-510481号公報(2008年4月10日公開)」

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 上記のカップローディング法による等電点電気泳動において、IPGゲルの膨潤工程では寸法安定性のないIPGゲルの上に膨潤液を滴下しても均一に膨潤されないため、ゲル面を下にするのが一般的である。また、電圧を印加する工程では生体サンプル上にカバー溶液を添加する必要があるため、ゲル面を上にする必要がある。さらに、IPGゲルが膨潤した状態でないと試料カップを隙間なく設置できない。以上の理由から、IPGゲルの膨潤後、IPGゲルを移動させる必要がある。

[0008] また上記のように、生体サンプルと水分を多く含むゲルの乾燥防止のためのカバー溶液（一般にパラフィンオイル等）が必要であり、加えて、カップ内の生体サンプルは高濃度で存在しているため、試料カップとゲルの間に沈殿する不純物を除去するためのフィルター（ろ紙等）を挿入するのが通例である。このようなカバー溶液、試料カップ、フィルター等の設置の手間は使用者に熟練を要し、研究者による電気泳動の分離パターンの再現性に影響を与えている。

[0009] このような背景から、等電点電気泳動による生体サンプルの分離を再現性よく容易に行うことが可能な方法が求められていた。

[0010] 本発明の目的は、等電点電気泳動による生体サンプルの分離を再現性よく容易に行うことが可能な電気泳動用器具、電気泳動装置、サンプル導入方法およびサンプル分離方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有する電気泳動用チャンバーを備え、前記電気泳動用チャンバーの前記設置面に、前記生体サンプルを含むサンプル溶液を注入するための窪みが設けられている。

[0012] 本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入方法であって、前記サンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有し、前記設置面に、前記生体サンプルを含むサンプル溶液の濡れ広がりを抑制しつつ前記サンプル溶液を保持するサンプル保持部が設けられてなる電気泳動用チャンバーの前記サンプル保持部に前記サンプル溶液を供給する第1のステップと、前記サンプル保持部に供給した前記サンプル溶液に前記サンプル分離媒体を接触させ、前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入する第2のステップと、を含む。

発明の効果

[0013] 本発明によれば、等電点電気泳動による生体サンプルの分離を再現性よく容易に行うことが可能な電気泳動用器具、電気泳動装置、サンプル導入方法およびサンプル分離方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]第1実施形態の電気泳動装置の概略構成を示す図である。
[図2]電気泳動装置にIEFチップを設置した状態を示す図である。
[図3]電気泳動用器具の平面図および断面図である。
[図4]サンプル導入方法の説明図である。
[図5]サンプル導入方法の説明図である。
[図6]第2実施形態の電気泳動用器具の平面図および断面図である。
[図7]サンプル導入方法の説明図である。
[図8]サンプル導入方法の説明図である。
[図9]サンプル導入方法の他の例の説明図である。
[図10]サンプル導入方法の他の例の説明図である。
[図11]第3実施形態の電気泳動用器具の平面図および断面図である。
[図12]第4実施形態の電気泳動用器具の平面図および断面図である。
[図13]第5実施形態の電気泳動用器具の平面図および断面図である。
[図14]実施例および比較例の二次元電気泳動のパターンを示す図である。
[図15]第6実施形態の電気泳動装置の概略構成を示す図である。
[図16]電気泳動装置にIEFチップを設置した状態を示す図である。
[図17]電気泳動用器具の平面図および断面図である。
[図18]サンプル導入方法の説明図である。
[図19]サンプル導入方法の説明図である。
[図20]サンプル保持部にサンプル分離媒体を密着させた場合と密着させない場合とで、サンプル分離媒体に印加される電圧の均一性がどのように変化するかを説明する図である。
[図21]第7実施形態の電気泳動用器具の平面図および断面図である。

[図22]サンプル導入方法の説明図である。

[図23]サンプル導入方法の説明図である。

[図24]サンプル保持部にサンプル分離媒体を密着させた場合と密着させない場合とで、サンプル分離媒体に印加される電圧の均一性がどのように変化するかを説明する図である。

[図25]第8実施形態の電気泳動用器具の平面図および断面図である。

[図26]サンプル導入方法の説明図である。

[図27]サンプル導入方法の説明図である。

[図28]電気泳動用器具に設けられるサンプル保持部の他のバリエーションの一例を示す平面図である。

発明を実施するための形態

[0015] [第1実施形態]

図1は、第1実施形態の電気泳動装置12の概略構成を示す図である。図2は、電気泳動装置12にIEF (IsoElectric Focusing) チップ40を設置した状態を示す図である。

[0016] 電気泳動装置12は、電気泳動用器具10、カバー50、電源22、電圧測定器20、電流測定器21、電圧制御機13および搬送アーム45を備えている。

[0017] 電気泳動用器具10は、IEFチップ40を設置するための電気泳動用チャンバー1を備えている。電気泳動用チャンバー1は、電気泳動用器具10の一面に形成された矩形状の溝であり、電気泳動用チャンバー1の底面が、IEFチップ40が設置される設置面1aである。電気泳動用チャンバー1の上部はカバー50で覆われている。

[0018] 電気泳動用チャンバー1には、IEFチップ40の酸性側の端部に接続される第1電極30と、IEFチップ40の塩基性側の端部に接続される第2電極31と、が設置されている。電気泳動用チャンバー1の設置面1aには、タンパク質や核酸などの生体サンプルを含むサンプル溶液を注入するための窪み2が設けられている。窪み2は、第1電極30と第2電極31との間

に設けられている。

[0019] 第1電極30および第2電極31は電源22に接続されている。電源22は、電圧制御機13によって制御される。電圧制御機13としては、通常のパーソナルコンピュータを用いることができる。電源22は、LabVIEW (Laboratory Virtual Instrumentation Engineering Workbench) などの開発環境を用いて制御される。

[0020] 電圧制御機13は、電源22に指定の電圧を印加するための信号を発信する。電源22から第1電極30および第2電極31に供給される電圧および電流は、電圧測定器20および電流測定器21によってそれぞれモニターされる。電圧測定器21および電流測定器20は、例えば、1回/0.1秒以上の頻度で電圧および電流の検出が行われる。

[0021] IEFチップ40は、一次元電気泳動用のサンプル分離媒体42と、サンプル分離媒体42を支持する支持体41と、を備えている。サンプル分離媒体42は、等電点電気泳動により生体サンプルを分離する媒体である。サンプル分離媒体42としては、二次元電気泳動の一次元目用ゲルとして通常用いられるものが利用でき、例えば、ポリアクリルアミド、アガロース、寒天、およびデンプンからなる群より選ばれるゲル化剤によりゲル化された固定化pH勾配 (Immobilized pH gradient: IPG) ゲルなどが好適である。支持体41は例えばプラスチック製の板やフィルムなどを用いることができる。

[0022] サンプル分離媒体42は緩衝液を含んでいてもよい。緩衝液は、水素イオン濃度に対する緩衝作用のある溶液 (少量の酸や塩基を加えたり、多少濃度に変化したりしてもpHが大きく変化しないようにした溶液) であり、弱酸とその塩を含む溶液などが代表的である。緩衝液としては、極性の分子を含有していない緩衝液を用いることが好ましく、例えば、8M Urea, 2M Thiourea, 4% CHAPS (3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]propanesulfonate), 20mM dithiothreitol, 0.5% Ampholyteの組成の緩衝液が好適である。

[0023] IEFチップ40は、搬送アーム45によって電気泳動用チャンバー1に設置され、生体サンプルの導入と二次元電気泳動の一次元目の電気泳動 (等

電点電気泳動）が行われる。本実施形態では、電気泳動用チャンバー 1 において生体サンプルの導入と等電点電気泳動の双方を行うこととするが、生体サンプルの導入を電気泳動用チャンバー 1 で行い、等電点電気泳動を他の電気泳動用チャンバー（第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1）で行うようにしてもよい。

[0024] 電気泳動装置 1 2 には、二次元目の電気泳動（SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE））により生体サンプルの分離を行うための第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0 が設けられている。一次元目の電気泳動が完了した IEF チップ 4 0 は、搬送アーム 4 5 によって第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0 に搬送される。

[0025] 第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0 は、サンプル分離媒体 4 2 と、サンプル分離媒体 4 2 に接続される第 2 のサンプル分離媒体であるポリアクリルアミドゲルと、を設置する設置面を有している。第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0 は、設置面に設置されたサンプル分離媒体 4 2 および第 2 のサンプル分離媒体に電圧を印加して生体サンプルの分離を行う。電気泳動用チャンバー 1 では、サンプル分離媒体 4 2 が設置される部分の設置面には窪みが設けられているが、第 2 の電気泳動用チャンバーでは、サンプル分離媒体 4 2 および第 2 のサンプル分離媒体が設置される部分の設置面には窪みは設けられていない。設置面を平坦化することにより、サンプル分離媒体 4 2 および第 2 のサンプル分離媒体に対して安定的に電圧を印加することができる。

[0026] 図 3（a）は、電気泳動用器具 1 0 の平面図であり、図 3（b）は、電気泳動用器具 1 0 の断面図である。

[0027] 電気泳動用器具 1 0 は直方体形状を有し、電気泳動用器具 1 0 の中央部には細長い矩形状の電気泳動用チャンバー 1 が形成されている。電気泳動用チャンバー 1 の長手方向一端側には、サンプル分離媒体 4 2 の酸性側の端部が接触する第 1 電極 3 0 が設置されており、電気泳動用チャンバー 1 の長手方向他端側には、サンプル分離媒体 4 2 の塩基性側の端部が接触する第 2 電極 3 1 が設置されている。

- [0028] 電気泳動用チャンバー 1 の長手方向一端側および長手方向他端側には、第 1 電極 3 0 および第 2 電極 3 1 を保持するための第 1 電極保持部 4 および第 2 電極保持部 5 がそれぞれ設けられている。第 1 電極保持部 4 および第 2 電極保持部 5 は、サンプル分離媒体 4 2 の酸性側の端部および塩基性側の端部をそれぞれ挟むように設置面 1 a から突出して設けられている。
- [0029] 電気泳動用チャンバー 1 の底面（I E F チップが設置される設置面 1 a）には、サンプル溶液を注入するための窪み 2 が形成されている。本実施形態では、窪み 2 は、電気泳動用チャンバー 1 の中心部よりも酸性側または塩基性側に偏って配置されているが、窪み 2 を形成する位置は特に限定されず、例えば、電気泳動用チャンバー 1 の中心部に窪み 2 を形成してもよい。
- [0030] 本実施形態の場合、窪み 2 は第 1 電極 3 0 よりも第 2 電極 3 1 に近い側に設けられているが、窪み 2 は第 2 電極 3 1 よりも第 1 電極 3 0 に近い側に設けられていてもよい。窪み 2 を電気泳動用チャンバー 1 の中心部よりも酸性側または塩基性側に偏って配置することで、等電点電気泳動により生体サンプルを分離する際に、生体サンプルの移動距離が長くなり、分解能が向上する。
- [0031] 窪み 2 の容積は、窪み 2 に注入されるサンプル溶液の体積よりも若干小さいことが好ましい。この構成によれば、窪み 2 にサンプル溶液を注入した際に、サンプル溶液が設置面 1 a から盛り上がり、サンプル溶液がサンプル分離媒体 4 2 に確実に接触する。サンプル溶液が少ない場合には、緩衝液をサンプル溶液に加え、窪み 2 がサンプル溶液によって満たされるようにすることが好ましい。
- [0032] 窪み 2 の面積は、サンプル溶液とサンプル分離媒体 4 2 との間に十分な接触面積が確保できる面積であればよく、特に限定されるものではない。図 3 では、窪み 2 の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも大きくなっているが、窪み 2 の幅はサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも小さくてもよい。窪み 2 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、窪み 2 の上部がサンプル分離媒体 4 2 によって完全には覆われないので、サンプ

ル分離媒体 4 2 をサンプル溶液に接触させた際に生じる気泡をサンプル溶液の外部に排出し易くなる。

[0033] 窪み 2 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、サンプル溶液の乾燥を防ぐために電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバー 5 0 で覆うことが好ましい。窪み 2 の全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅と同じかそれよりも狭い場合には、電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバー 5 0 で覆う必要はない。

[0034] 図 4 および図 5 は、サンプル分離媒体に生体サンプルを導入するサンプル導入方法の説明図である。図 4 (a) および図 5 (a) は、電気泳動用器具の平面図であり、図 4 (b) および図 5 (b) は、電気泳動用器具の断面図である。

[0035] 本実施形態のサンプル導入方法は、二次元電気泳動によって生体サンプルを分離するサンプル分離方法に適用される。本実施形態のサンプル分離方法は、本実施形態のサンプル導入方法を用いてサンプル分離媒体 4 2 に生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、第 1 電極 3 0 と第 2 電極 3 2 との間に電圧を印加して、生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第 1 電気泳動ステップと、第 1 電気泳動ステップによって生体サンプルの分離が行われたサンプル分離媒体 4 2 を第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0 に搬送する搬送ステップと、第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0 に搬送されたサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加し、生体サンプルを SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) によって分離する第 2 電気泳動ステップと、を含む。

[0036] 本実施形態のサンプル導入方法は、サンプル分離媒体 4 2 が設置される設置面 1 a の窪み 2 に生体サンプルを含むサンプル溶液 S を注入する第 1 のステップと、窪み 2 に注入したサンプル溶液 S にサンプル分離媒体 4 2 を接触させ、サンプル分離媒体 4 2 に生体サンプルを導入する第 2 のステップと、を含む。

[0037] 具体的には、まず図 4 に示すように、タンパク質や核酸などの生体サンプ

ルを含むサンプル溶液 S を電気泳動用チャンバー 1 の設置面 1 a に設けられた深さ 0.5 mm ~ 1 mm 程度のサンプル溶液注入用の窪み 2 に注入する。窪み 2 の深さは、0 mm よりも深く 1.5 mm よりも浅い範囲であれば最適な実験結果を得ることができ、0.5 mm 以上 1 mm 以下の範囲であれば、より好ましい実験結果が得られる。サンプル溶液 S は設置面 1 a から若干盛り上がるようにし、サンプル分離媒体にサンプル溶液 S が確実に接触するようにする。サンプル溶液 S の量が不足している場合には、緩衝液を加えてサンプル溶液 S の量を調整し、窪み 2 がサンプル溶液 S で満たされるようにする。

[0038] 次に、図 5 に示すように、緩衝液でサンプル分離媒体 4 2 を飽和膨潤させた IEF チップ 4 0 を搬送アーム 4 5（図 2 参照）を用いて電気泳動用チャンバー 1 に設置し、サンプル溶液 S の入った窪み 2 をサンプル分離媒体 4 2 によって覆い、窪み 2 にサンプル分離媒体 4 2 を密着させる。そして、第 1 電極 3 0 と第 2 電極 3 1 の間に 200 V 程度の電圧を印加して、電荷を持つ生体サンプルをサンプル分離媒体 4 2 に導入する。その後、搬送アーム 4 5（図 2 参照）によりサンプル分離媒体 4 2 を窪み 2 に押し込んで 6000 V まで電圧を上昇させ、等電点電気泳動を行う。

[0039] 等電点電気泳動が行われた後、搬送アーム 4 5（図 2 参照）を用いて IEF チップ 4 0 を電気泳動用チャンバー 1 から取り出す。そして、サンプル分離媒体 4 2 を SDS を含む溶液に浸して SDS 平衡化し、SDS-PAGE 用のサンプル分離媒体（ポリアクリルアミドのゲル）に接続させる。そして、搬送アーム 4 5 により IEF チップ 4 0 を第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0（図 2 参照）に搬送し、二次元目の電気泳動（SDS-PAGE）を行う。

[0040] 以上のように、本実施形態の電気泳動装置 1 2 では、電気泳動用チャンバー 1 にサンプル溶液 S を供給し、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル溶液 S に被せて生体サンプルの導入を行う。そして、そのまま電気泳動用チャンバー 1 内でサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加し、等電点電気泳動を行う。サン

プル分離媒体 4 2 への生体サンプルの導入時に乾燥防止のオイルや不純物除去用のろ紙などを使用しないので、煩雑な操作がなく、再現性の高いデータが得られる。

[0041] また、本実施形態の電気泳動装置 1 2 では、電圧を印加しながら生体サンプルの導入を行い、生体サンプルの導入後、窪み 2 がサンプル分離媒体 4 2 で満たされた状態（窪み 2 の内壁面および底面にサンプル分離媒体 4 2 が密着した状態）でサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加する。そのため、サンプル分離媒体 4 2 に電圧が均一に印加され、サンプル導入効率が高く、均一なフォーカシングと高分解能な分離が行われる。よって、等電点電気泳動による生体サンプルの分離を再現性よく容易に行うことが可能となる。

[0042] [第 2 実施形態]

図 6 (a) は、第 2 実施形態の電気泳動用器具 6 0 の平面図であり、図 6 (b) は電気泳動用器具 6 0 の断面図である。

[0043] 本実施形態において第 1 実施形態と異なる点は、サンプル溶液を注入するための窪み 6 1 を電気泳動用チャンバー 1 の中心部を挟んで第 1 電極 3 0 に近い側から第 2 電極 3 1 に近い側まで細長く形成した点と、電気泳動用チャンバー 1 で生体サンプルの導入が行われたサンプル分離媒体 4 2 を第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1（図 2 参照）に搬送し、第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1 で等電点電気泳動を行う点である。

[0044] 窪み 6 1 の長さは、第 1 電極 3 0 と第 2 電極 3 1 との間の距離よりも若干短い。窪み 6 1 の幅は、サンプル分離媒体 4 2 の幅と概ね同じであり、窪み 6 1 の上部はサンプル分離媒体 4 2 によって完全に覆われるようになっている。窪み 6 1 の容積は、窪み 6 1 に注入されるサンプル溶液の体積よりも若干小さい。

[0045] 第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1 は、サンプル分離媒体 4 2 が設置される設置面が平坦な電気泳動用チャンバーである。第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1 は、設置面に窪みが形成されていない点で電気泳動用チャンバー 1 と異なるが、それ以外の構成は電気泳動用チャンバー 1 と同じである。よって、

第3の電気泳動用チャンバー81の詳細構成の図示は省略する。

[0046] 図7および図8は、サンプル分離媒体に生体サンプルを導入するサンプル導入方法の説明図である。図7(a)および図8(a)は、電気泳動用器具の平面図であり、図7(b)および図8(b)は、電気泳動用器具の断面図である。

[0047] 図7に示すように、タンパク質や核酸などの生体サンプルを含むサンプル溶液Sを電気泳動用チャンバー1の設置面1aに設けられた深さ0.5mmよりも浅いサンプル溶液注入用の窪み61に注入する。本実施形態では、第1実施形態と異なり、サンプル分離媒体42として、膨らむ余地の残った未飽和膨潤のサンプル分離媒体を用いる。

[0048] 次に、IEFチップ40を搬送アーム45(図2参照)を用いて電気泳動用チャンバー1に設置し、サンプル溶液Sの入った窪み2をサンプル分離媒体42によって覆い、窪み2にサンプル分離媒体42を密着させる。そして、図8に示すように、第1電極30と第2電極31の間に200V程度の電圧を印加して、電荷を持つ生体サンプルをサンプル分離媒体42に導入する。未飽和膨潤のサンプル分離媒体42は、生体サンプルの導入と同時に、より膨潤して、サンプル分離媒体42が窪み61の底部にまで行き渡る。そのため、サンプル分離媒体42に電圧が均一に印加され、生体サンプルが効率的にサンプル分離媒体42に導入される。

[0049] 次に、サンプル分離媒体42を搬送アーム45(図2参照)を用いて第3の電気泳動用チャンバー81(図2参照)に設置する。そして、第3の電気泳動用チャンバー81に設けられた第1電極および第2電極を用いてサンプル分離媒体42に6000Vの電圧を印加し、等電点電気泳動により生体サンプルの分離を行う。

[0050] 等電点電気泳動が行われた後、搬送アーム45(図2参照)を用いてIEFチップ40を第3の電気泳動用チャンバー81から取り出す。そして、サンプル分離媒体42をSDSを含む溶液に浸してSDS平衡化し、SDS-PAGE用のサンプル分離媒体(ポリアクリルアミドのゲル)に接続させる

。そして、搬送アーム 45 により I E F チップ 40 を第 2 の電気泳動用チャンバー 80（図 2 参照）に搬送し、二次元目の電気泳動（S D S - P A G E）を行う。

[0051] 以上説明した本実施形態の電気泳動装置によれば、窪み 61 がサンプル分離媒体 42 の長手方向に細長く形成されているため、生体サンプルがサンプル分離媒体 42 全体に均一に導入されやすい。また、等電点電気泳動を設置面が平坦な第 3 の電気泳動用チャンバー 81 を用いて行うため、サンプル分離媒体 42 全体に均一に電圧が印加され、均一なフォーカシングと高分解能な分離が可能となる。

[0052] なお、本実施形態では、サンプル分離媒体 42 として、未飽和膨潤のサンプル分離媒体を用いたが、図 9 に示すように、サンプル分離媒体 42 として、緩衝液によって飽和膨潤させたサンプル分離媒体を用いてもよい。図 9 の例では、窪み 61 の深さは図 7 の例よりも浅い。飽和膨潤したサンプル分離媒体 42 を用いても、図 10 に示すように、サンプル分離媒体 42 に 200 V 程度の電圧を印加することで、サンプル分離媒体 42 に生体サンプルが導入される。

[0053] 本実施形態の電気泳動装置では、サンプル溶液を注入するための窪み 61 の幅がサンプル分離媒体 42 の幅より大きくなっても構わない。窪み 61 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 42 の幅よりも広い場合には、窪み 61 の上部がサンプル分離媒体 42 によって完全には覆われないので、サンプル分離媒体 42 をサンプル溶液に接触させた際に生じる気泡をサンプル溶液の外部に排出し易くなる。

[0054] 窪み 61 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 42 の幅よりも広い場合には、サンプル溶液の乾燥を防ぐために電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバーで覆うことが好ましい。窪み 61 の全部の幅がサンプル分離媒体 42 の幅と同じかそれよりも狭い場合には、電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバーで覆う必要はない。

[0055] [第 3 実施形態]

図 1 1 (a) は、第 3 実施形態の電気泳動用器具 6 2 の平面図であり、図 1 1 (b) は電気泳動用器具 6 2 の断面図である。

[0056] 本実施形態において第 1 実施形態と異なる点は、電気泳動用チャンバー 7 0 の中央部分の幅をサンプル分離媒体 4 2 と略同じ幅まで狭めて、サンプル分離媒体 4 2 の乾燥を防止するようにした点である。

[0057] 電気泳動用チャンバー 7 0 は、サンプル分離媒体 4 2 の幅と略同じ幅を有する第 1 の部分 7 1 と、サンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い幅を有する第 2 の部分 7 2 と、を有する。第 1 の部分 7 1 は、第 1 電極 3 0 と第 2 電極 3 1 との間の距離と概ね同じ長さを有しており、第 2 の部分 7 2 は、第 1 の部分 7 1 の長手方向一端側および他端側に接続されている。

[0058] 第 2 の部分 7 2 は、第 1 の部分 7 1 よりも深く形成されており、第 1 電極 3 0、第 1 電極保持部 4、第 2 電極 3 1 および第 2 電極保持部 5 は、第 2 の部分 7 2 に設置されている。サンプル分離媒体 4 2 の長さは第 1 の部分 7 1 の長さよりも若干長く、サンプル分離媒体 4 2 の長手方向一端側および長手方向他端側は、第 2 の部分 7 2 に突き出ている。

[0059] サンプル溶液を注入するための窪み 6 3 は、第 1 の部分 7 1 の底面（サンプル分離媒体 4 2 の設置面 7 1 a）に設けられている。窪み 6 3 の幅は、サンプル分離媒体 4 2 の幅と概ね同じであり、窪み 6 3 の上部はサンプル分離媒体 4 2 によって完全に覆われるようになっている。窪み 6 3 の容積は、窪み 6 3 に注入されるサンプル溶液の体積よりも若干小さい。

[0060] 本実施形態の電気泳動装置によれば、電気泳動用チャンバー 7 0 の第 1 の部分 7 1 が、サンプル分離媒体 4 2 と同じ幅を有しているため、サンプル分離媒体 4 2 の側面が第 1 の部分 7 1 の内壁によって覆われ、サンプル分離媒体 4 2 の乾燥が防止される。よって、生体サンプルの分離を再現性よく容易に行うことが可能である。

[0061] なお、本実施形態の電気泳動装置では、サンプル溶液を注入するための窪み 6 3 の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも大きくなっても構わない。窪み 6 3 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合

には、窪み 6 3 の上部がサンプル分離媒体 4 2 によって完全には覆われないので、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル溶液に接触させた際に生じる気泡をサンプル溶液の外部に排出し易くなる。

[0062] 窪み 6 3 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、サンプル溶液の乾燥を防ぐために電気泳動用チャンバー 7 0 の上部をカバーで覆うことが好ましい。窪み 6 3 の全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅と同じかそれよりも狭い場合には、電気泳動用チャンバー 7 0 の上部をカバーで覆う必要はない。

[0063] また、本実施形態では、電気泳動用チャンバー 7 0 の一部のみをサンプル分離媒体 4 2 と略同じ幅としたが、電気泳動用チャンバー 7 0 の全部をサンプル分離媒体 4 2 と略同じ幅としてもよい。

[0064] [第 4 実施形態]

図 1 2 (a) は、第 4 実施形態の電気泳動用器具 6 4 の平面図であり、図 1 2 (b) は電気泳動用器具 6 4 の断面図である。

[0065] 本実施形態において第 3 実施形態と異なる点は、サンプル溶液を注入するための窪み 6 5 を電気泳動用チャンバー 7 0 の中心部を挟んで第 1 電極 3 0 に近い側から第 2 電極 3 1 に近い側まで細長く形成した点である。

[0066] 窪み 6 5 は、第 1 の部分 7 1 の底面（サンプル分離媒体 4 2 の設置面 7 1 a）に設けられている。窪み 6 5 の長さは、第 1 電極 3 0 と第 2 電極 3 1 との間の距離よりも若干短い。窪み 6 5 の幅は、サンプル分離媒体 4 2 の幅と概ね同じであり、窪み 6 5 の上部はサンプル分離媒体 4 2 によって完全に覆われるようになっている。窪み 6 5 の容積は、窪み 6 5 に注入されるサンプル溶液の体積よりも若干小さい。

[0067] 本実施形態の電気泳動装置によれば、窪み 6 5 がサンプル分離媒体 4 2 の長手方向に細長く形成されているため、生体サンプルがサンプル分離媒体 4 2 全体に均一に導入されやすい。

[0068] なお、本実施形態の電気泳動装置では、サンプル溶液を注入するための窪み 6 5 の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも大きくなっても構わない。窪

み65の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体42の幅よりも広い場合には、窪み65の上部がサンプル分離媒体42によって完全には覆われないので、サンプル分離媒体42をサンプル溶液に接触させた際に生じる気泡をサンプル溶液の外部に排出し易くなる。

[0069] 窪み65の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体42の幅よりも広い場合には、サンプル溶液の乾燥を防ぐために電気泳動用チャンバー70の上部をカバーで覆うことが好ましい。窪み65の全部の幅がサンプル分離媒体42の幅と同じかそれよりも狭い場合には、電気泳動用チャンバー70の上部をカバーで覆う必要はない。

[0070] [第5実施形態]

図13(a)は、第5実施形態の電気泳動用器具66の平面図であり、図13(b)は電気泳動用器具66の断面図である。

[0071] 本実施形態において第4実施形態と異なる点は、サンプル溶液を注入するための窪み69が部分的に拡幅されてサンプル分離媒体42の側方に露出している点である。

[0072] 電気泳動用チャンバー70の第1の部分71の幅は、サンプル分離媒体42の幅よりも若干大きい。窪み69は、サンプル分離媒体42の幅と概ね同じ幅を有する第1の部分67と、サンプル分離媒体42の幅よりも広い幅を有する第2の部分68と、を有する。第1の部分67の長さは、電気泳動用チャンバー70の第1の部分71の長さよりも若干短く、第2の部分68は、第1の部分67の長手方向一端側および長手方向他端側に接続されている。

[0073] 本実施形態の電気泳動装置では、第1の部分67の上部はサンプル分離媒体42によって完全に覆われるが、第2の部分68の上部はサンプル分離媒体42によって完全には覆われない。そのため、サンプル分離媒体42をサンプル溶液に接触させた際に生じる気泡をサンプル溶液の外部に排出し易くなる。

[0074] [第1変形形態]

上記実施形態では、サンプル溶液を注入するための窪みの形状として、矩形形状やI字形状を例示したが、窪みの形状はこれに限定されない。例えば、楕円や円などの曲線で形成された窪みや、矩形以外の多角形を有する窪みを形成してもよい。また、窪みの個数は1個に限らず、複数個形成することもできる。

実施例

[0075] 図14(b)は、第1実施形態の電気泳動装置を用いて行った二次元電気泳動のパターン(実施例)を示す図である。図14(a)は、従来のゲルストリップホルダー内にて生体サンプルを導入した場合の二次元電気泳動のパターン(比較例)を示す図である。図14中に示した矢印のスポットのように、図14(b)の二次元電気泳動のパターンの方が図14(a)の二次元電気泳動のパターンに比べて分解能の向上が見られ、鮮明なスポットが検出できた。

[0076] [実施形態1から5のまとめ]

本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有する電気泳動用チャンバーを備え、前記電気泳動用チャンバーの前記設置面に、前記生体サンプルを含むサンプル溶液を注入するための窪みが設けられている。

[0077] また、本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、前記窪みが、前記第2電極よりも前記第1電極に近い側または前記第1電極よりも前記第2電極に近い側に設けられていてもよい。

[0078] また、本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、前記窪みが、前記電気泳動用チャンバーの中心部を挟んで前記第1電極に近い側から前記第2電極に近い側まで形成されていてもよい。

[0079] また、本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、前記窪みの容積が、前記窪みに注入される前記サンプル溶液の体積よりも小さくてもよい。

[0080] また、本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、前記サンプル分離媒体が

、膨潤したゲルであってもよい。

[0081] また、本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、前記電気泳動用チャンバーの少なくとも一部が、前記サンプル分離媒体と略同じ幅に形成されていてもよい。

[0082] また、本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、前記窪みの少なくとも一部が、前記サンプル分離媒体よりも広い幅で形成されていてもよい。

[0083] 本発明の一態様に係る電気泳動装置は、本発明の電気泳動用器具と、前記サンプル分離媒体を前記電気泳動用チャンバーに設置する搬送アームと、を備えている。

[0084] また、本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、前記サンプル分離媒体を設置する第2の電気泳動用チャンバーを備え、前記搬送アームは、前記電気泳動用チャンバーと前記第2の電気泳動用チャンバーとの間で前記サンプル分離媒体を搬送してもよい。

[0085] また、本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、前記サンプル分離媒体を設置する平坦な設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有する第3の電気泳動用チャンバーを備え、前記搬送アームは、前記第3の電気泳動用チャンバーと前記第2の電気泳動用チャンバーとの間で前記サンプル分離媒体を搬送してもよい。

[0086] 本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入方法であって、前記サンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、前記設置面に設けられた窪みと、を有する電気泳動用チャンバーの前記設置面の窪みに前記生体サンプルを含むサンプル溶液を注入する第1のステップと、前記窪みに注入した前記サンプル溶液に前記サンプル分離媒体を接触させ、前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入する第2のステップと、を含む。

[0087] また、本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、前記第2のステップでは、前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加しながら前記サンプル

分離媒体に前記サンプル溶液を接触させてもよい。

[0088] 本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、本発明のサンプル導入方法を用いて前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加して、前記生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第1電気泳動ステップと、を含む。

[0089] また、本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、前記第1電気泳動ステップによって前記生体サンプルの分離が行われた前記サンプル分離媒体を第2の電気泳動用チャンバーに搬送する搬送ステップと、前記第2の電気泳動用チャンバーに搬送された前記サンプル分離媒体に電圧を印加し、前記生体サンプルをSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離する第2電気泳動ステップと、を含んでもよい。

[0090] 本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、本発明のサンプル導入方法を用いて前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、前記サンプル分離媒体を設置する平坦な設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有する第3の電気泳動用チャンバーに前記サンプル分離媒体を設置し、前記サンプル分離媒体を前記第3の電気泳動用チャンバーの前記設置面に密着させた状態で、前記第3の電気泳動用チャンバーの前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加して、前記生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第1電気泳動ステップと、を含む。

[0091] また、本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、前記第1電気泳動ステップによって前記生体サンプルの分離が行われた前記サンプル分離媒体を第2の電気泳動用チャンバーに搬送する搬送ステップと、前記第2の電気泳動用チャンバーに搬送された前記サンプル分離媒体に電圧を印加し、前記生体サンプルをSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離する第2電気泳動ステップと、を含んでもよい。

[0092] [第6実施形態]

図 1 5 は、第 6 実施形態の電気泳動装置 1 4 の概略構成を示す図である。

図 1 6 は、電気泳動装置 1 4 に I E F (IsoElectric Focusing) チップ 4 0 を設置した状態を示す図である。

[0093] 電気泳動装置 1 4 は、電気泳動用器具 1 1、カバー 5 0、電源 2 2、電圧測定器 2 0、電流測定器 2 1、電圧制御機 1 3 および搬送アーム 4 5 を備えている。

[0094] 電気泳動用器具 1 1 は、I E F チップ 4 0 を設置するための電気泳動用チャンバー 1 を備えている。電気泳動用チャンバー 1 は、電気泳動用器具 1 1 の一面に形成された矩形状の溝であり、電気泳動用チャンバー 1 の底面が、I E F チップ 4 0 が設置される設置面 1 a である。電気泳動用チャンバー 1 の上部はカバー 5 0 で覆われている。

[0095] 電気泳動用チャンバー 1 には、I E F チップ 4 0 の酸性側の端部に接続される第 1 電極 3 0 と、I E F チップ 4 0 の塩基性側の端部に接続される第 2 電極 3 1 と、が設置されている。電気泳動用チャンバー 1 の設置面 1 a には、タンパク質や核酸などの生体サンプルを含むサンプル溶液を保持するためのサンプル保持部 7 が設けられている。サンプル保持部 3 は、第 1 電極 3 0 と第 2 電極 3 1 との間に設けられている。

[0096] 第 1 電極 3 0 および第 2 電極 3 1 は電源 2 2 に接続されている。電源 2 2 は、電圧制御機 1 3 によって制御される。電圧制御機 1 3 としては、通常のパーソナルコンピュータを用いることができる。電源 2 2 は、LabVIEW (Laboratory Virtual Instrumentation Engineering Workbench) などの開発環境を用いて制御される。

[0097] 電圧制御機 1 3 は、電源 2 2 に指定の電圧を印加するための信号を発信する。電源 2 2 から第 1 電極 3 0 および第 2 電極 3 1 に供給される電圧および電流は、電圧測定器 2 0 および電流測定器 2 1 によってそれぞれモニターされる。電圧測定器 2 1 および電流測定器 2 0 は、例えば、1 回／0. 1 秒以上の頻度で電圧および電流の検出が行われる。

[0098] I E F チップ 4 0 は、一次元電気泳動用のサンプル分離媒体 4 2 と、サン

プル分離媒体 4 2 を支持する支持体 4 1 と、を備えている。サンプル分離媒体 4 2 は、等電点電気泳動により生体サンプルを分離する媒体である。サンプル分離媒体 4 2 としては、二次元電気泳動の一次元目用ゲルとして通常用いられるものが利用でき、例えば、ポリアクリルアミド、アガロース、寒天、およびデンプンからなる群より選ばれるゲル化剤によりゲル化された固定化 pH 勾配 (Immobilized pH gradient: IPG) ゲルなどが好適である。支持体 4 1 は例えばプラスチック製の板やフィルムなどを用いることができる。

[0099] サンプル分離媒体 4 2 は緩衝液を含んでいてもよい。緩衝液は、水素イオン濃度に対する緩衝作用のある溶液（少量の酸や塩基を加えたり、多少濃度が増えたりしても pH が大きく変化しないようにした溶液）であり、弱酸とその塩を含む溶液などが代表的である。緩衝液としては、極性の分子を含有していない緩衝液を用いることが好ましく、例えば、8M Urea, 2M Thiourea, 4% CHAPS (3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]propanesulfonate), 20mM dithiothreitol, 0.5% Ampholyte の組成の緩衝液が好適である。

[0100] IEF チップ 4 0 は、搬送アーム 4 5 によって電気泳動用チャンバー 1 に設置され、生体サンプルの導入と二次元電気泳動の一次元目の電気泳動（等電点電気泳動）が行われる。本実施形態では、電気泳動用チャンバー 1 において生体サンプルの導入と等電点電気泳動の双方を行うこととするが、生体サンプルの導入を電気泳動用チャンバー 1 で行い、等電点電気泳動を他の電気泳動用チャンバー（第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1）で行うようにしてもよい。

[0101] 電気泳動装置 1 4 には、二次元目の電気泳動（SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)）により生体サンプルの分離を行うための第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0 が設けられている。一次元目の電気泳動が完了した IEF チップ 4 0 は、搬送アーム 4 5 によって第 2 の電気泳動用チャンバー 8 0 に搬送される。

[0102] 図 1 7 (a) は、電気泳動用器具 1 0 の平面図であり、図 1 7 (b) は、電気泳動用器具 1 0 の断面図である。

- [0103] 電気泳動用器具 11 は直方体形状を有し、電気泳動用器具 11 の中央部には細長い矩形状の電気泳動用チャンバー 1 が形成されている。電気泳動用チャンバー 1 の長手方向一端側には、サンプル分離媒体 42 の酸性側の端部が接触する第 1 電極 30 が設置されており、電気泳動用チャンバー 1 の長手方向他端側には、サンプル分離媒体 42 の塩基性側の端部が接触する第 2 電極 31 が設置されている。
- [0104] 電気泳動用チャンバー 1 の長手方向一端側および長手方向他端側には、第 1 電極 30 および第 2 電極 31 を保持するための第 1 電極保持部 4 および第 2 電極保持部 5 がそれぞれ設けられている。第 1 電極保持部 4 および第 2 電極保持部 5 は、サンプル分離媒体 42 の酸性側の端部および塩基性側の端部をそれぞれ挟むように設置面 1a から突出して設けられている。
- [0105] 電気泳動用チャンバー 1 の底面（IEFチップが設置される設置面 1a）には、サンプル溶液を保持するためのサンプル保持部 7 が形成されている。サンプル保持部 7 は、サンプル溶液の濡れ広がりを抑制しつつ、サンプル溶液を設置面 1a の特定領域に保持するものである。サンプル保持部 7 は、例えば、サンプル保持部 7 の周囲の設置面 1a よりも親水性の高い親水性部として構成される。サンプル保持部 7 を親水性部とした場合、サンプル保持部 7 に供給されたサンプル溶液はサンプル保持部 7 の外側に濡れ広がらない。そのため、サンプル溶液はサンプル保持部 7 に安定的に保持される。
- [0106] 親水性部は、例えば、設置面 1a の一部に UV 処理などの親水処理を施す、設置面 1a の一部にサンプル溶液に対して濡れ性の高い親水性の膜を形成する、設置面 1a の一部を親水性の高い材料で形成する、などの方法により形成することができる。また、設置面 1a の一部に撥水性の膜を形成する、設置面 1a の一部を撥水性の高い材料で形成する、などの方法により、設置面 1a の一部に撥水性部を形成し、撥水性部に挟まれた領域にサンプル溶液を保持させることもできる。
- [0107] 本実施形態では、サンプル保持部 7 は、電気泳動用チャンバー 1 の中心部を挟んで第 1 電極 30 に近い側から第 2 電極 31 に近い側まで細長く形成さ

れている。サンプル保持部 7 の長さは、第 1 電極 30 と第 2 電極 31 との間の距離よりも若干短い。サンプル保持部 7 の幅は、サンプル分離媒体 42 の幅と概ね同じであり、サンプル保持部 7 の上部はサンプル分離媒体 42 によって完全に覆われるようになっている。

[0108] 図 18 および図 19 は、サンプル分離媒体に生体サンプルを導入するサンプル導入方法の説明図である。図 18 (a) は、電気泳動用器具の平面図であり、図 18 (b)、図 19 (a)、図 19 (b) および図 19 (c) は、電気泳動用器具の断面図である。

[0109] 本実施形態のサンプル導入方法は、二次元電気泳動によって生体サンプルを分離するサンプル分離方法に適用される。本実施形態のサンプル分離方法は、本実施形態のサンプル導入方法を用いてサンプル分離媒体 42 に生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、第 1 電極 30 と第 2 電極 32 との間に電圧を印加して、生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第 1 電気泳動ステップと、第 1 電気泳動ステップによって生体サンプルの分離が行われたサンプル分離媒体 42 を第 2 の電気泳動用チャンバー 80 に搬送する搬送ステップと、第 2 の電気泳動用チャンバー 80 に搬送されたサンプル分離媒体 42 に電圧を印加し、生体サンプルを SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) によって分離する第 2 電気泳動ステップと、を含む。

[0110] 本実施形態のサンプル導入方法は、サンプル分離媒体 42 が設置される設置面 1a に生体サンプルを含むサンプル溶液 S を供給する第 1 のステップと、設置面 1a に供給したサンプル溶液 S にサンプル分離媒体 42 を接触させ、サンプル分離媒体 42 に生体サンプルを導入する第 2 のステップと、を含む。

[0111] 具体的には、まず図 18 に示すように、タンパク質や核酸などの生体サンプルを含むサンプル溶液 S を電気泳動用チャンバー 1 の設置面 1a に設けられたサンプル保持部 7 に供給する。サンプル保持部 7 はその周辺部よりもサンプル溶液 S に対する親和性が高いので、サンプル溶液 S はサンプル保持部

7の外側に濡れ広がらず、サンプル保持部7に確実に保持される。サンプル溶液Sは、表面張力によって設置面1aから盛り上がるため、サンプル分離媒体にサンプル溶液Sが確実に接触する。

[0112] 次に、図19(a)に示すように、緩衝液でサンプル分離媒体42を膨潤させたIEFチップ40を搬送アーム45を用いて電気泳動用チャンバー1に設置し、サンプル保持部7に保持されたサンプル溶液Sにサンプル分離媒体42を接触させる。サンプル分離媒体42としては、膨らむ余地の残った未飽和膨潤のサンプル分離媒体を用いることが好ましい。サンプル溶液Sは、表面張力によって設置面1aから盛り上がっているため、サンプル溶液Sはサンプル分離媒体42に確実に接触する。そして、図19(b)に示すように、第1電極30と第2電極31の間に200V程度の電圧を印加して、電荷を持つ生体サンプルをサンプル分離媒体42に導入する。その後、図19(c)に示すように、搬送アーム45によりサンプル分離媒体42をサンプル保持部3(設置面1a)に向けて押し込み、サンプル保持部7にサンプル分離媒体42を密着させた状態で6000Vまで電圧を上昇させ、等電点電気泳動を行う。

[0113] 等電点電気泳動が行われた後、搬送アーム45を用いてIEFチップ40を電気泳動用チャンバー1から取り出す。そして、サンプル分離媒体42をSDSを含む溶液に浸してSDS平衡化し、SDS-PAGE用のサンプル分離媒体(ポリアクリルアミドのゲル)に接続させる。そして、搬送アーム45によりIEFチップ40を第2の電気泳動用チャンバー80(図2参照)に搬送し、二次元目の電気泳動(SDS-PAGE)を行う。

[0114] 以上のように、本実施形態の電気泳動装置14では、電気泳動用チャンバー1にサンプル溶液Sを供給し、サンプル分離媒体42をサンプル溶液Sに接触させて生体サンプルをサンプル分離媒体42に導入する。そして、そのまま電気泳動用チャンバー1内でサンプル分離媒体42に電圧を印加し、等電点電気泳動を行う。そのため、サンプル分離媒体42への生体サンプルの導入時に乾燥防止のオイルや不純物除去用のろ紙などを使用する必要がない

。よって、煩雑な操作がなく、再現性の高いデータが得られる。

[0115] また、本実施形態の電気泳動装置 14 では、サンプル分離媒体 42 に生体サンプルを導入した後、サンプル保持部 7 にサンプル分離媒体 42 を密着させた状態でサンプル分離媒体 42 に電圧を印加する。そのため、サンプル分離媒体 42 に電圧が均一に印加され、サンプル導入効率が高く、均一なフォーカシングと高分解能な分離が行われる。よって、等電点電気泳動による生体サンプルの分離を再現性よく容易に行うことが可能となる。

[0116] 図 20 は、サンプル保持部にサンプル分離媒体 42 を密着させた場合と密着させない場合とで、サンプル分離媒体 42 に印加される電圧の均一性がどのように変化するかを説明する図である。図 20 (a) は、サンプル分離媒体 42 をサンプル保持部に密着させず、サンプル保持部とサンプル分離媒体 42 との間にサンプル溶液 S が残っている状態でサンプル分離媒体 42 に電圧を印加したときのサンプル分離媒体 42 の内部およびその周辺部の電気力線の様子を示す図である。図 20 (b) は、サンプル分離媒体 42 をサンプル保持部に密着させ、サンプル保持部とサンプル分離媒体 42 との間にサンプル溶液 S が介在しない状態でサンプル分離媒体 42 に電圧を印加したときのサンプル分離媒体 42 の内部およびその周辺部の電気力線の様子を示す図である。

[0117] なお、電気力線のシミュレーションに際しては、サンプル分離媒体 42 とサンプル溶液 S の誘電率を水と同じ誘電率とした。

[0118] 図 20 (a) に示すように、サンプル分離媒体 42 とサンプル保持部との間にサンプル溶液 S が残った状態でサンプル分離媒体 42 に電圧を印加すると、サンプル分離媒体 42 の内部の電気力線は、サンプル溶液 S と接している部分で、サンプル溶液 S のほうに大きく湾曲する。そのため、サンプル分離媒体 42 に生体サンプルが導入されていても、サンプル溶液 S と接している部分から、生体サンプルがサンプル分離媒体 42 の外部に漏出する。

[0119] 図 20 (b) に示すように、サンプル分離媒体 42 をサンプル保持部に密着させた状態でサンプル分離媒体 42 に電圧を印加すると、サンプル分離媒

体 4 2 の内部の電気力線は均一になり、サンプル分離媒体 4 2 全体に均一な電圧が印加される。よって、均一なフォーカシングと高分解能な分離が可能となる。

[0120] 以上、電気泳動装置および電気泳動用チャンバーの好適な形態について説明したが、電気泳動装置および電気泳動用チャンバーの構成はこれに限定されない。

[0121] 例えば、本実施形態では、サンプル保持部 7 を第 1 電極 3 0 の近傍から第 2 電極 3 1 の近傍まで細長く形成したが、サンプル保持部 7 を形成する位置は特に限定されない。例えば、電気泳動用チャンバー 1 の中心部にサンプル保持部 3 を形成してもよく、電気泳動用チャンバー 1 の中心部よりも酸性側または塩基性側に偏った位置にサンプル保持部 7 を形成してもよい。サンプル保持部 7 がサンプル分離媒体 4 2 の長手方向に細長く形成されている場合には、生体サンプルがサンプル分離媒体 4 2 全体に均一に導入されやすくなる。サンプル保持部 7 が電気泳動用チャンバー 1 の中心部よりも酸性側または塩基性側に偏って配置されている場合には、等電点電気泳動により生体サンプルを分離する際に、生体サンプルの移動距離が長くなり、分解能が向上する。

[0122] また、本実施形態では、サンプル保持部 7 の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅と略同じ幅となっているが、サンプル保持部 7 の幅はこれに限定されない。例えば、サンプル保持部 7 の幅はサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも大きくてもよく、サンプル分離媒体 4 2 の幅よりも小さくてもよい。サンプル保持部 7 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、サンプル保持部 7 の上部がサンプル分離媒体 4 2 によって完全には覆われないので、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル溶液に接触させた際に生じる気泡をサンプル溶液の外部に排出し易くなる。

[0123] サンプル保持部 7 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、サンプル溶液の乾燥を防ぐために電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバー 5 0 で覆うことが好ましい。サンプル保持部 7 の全部の幅

がサンプル分離媒体 4 2 の幅と同じかそれよりも狭い場合には、電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバー 5 0 で覆う必要はない。

[0124] また、本実施形態では、搬送アーム 4 5 によってサンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部 7 に密着させたが、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部 7 に密着させる方法はこれに限定されない。例えば、サンプル分離媒体 4 2 にサンプル溶液 S を吸収させた際のサンプル分離媒体 4 2 の膨潤によってサンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部 7 に密着させてもよい。

[0125] [第 7 実施形態]

図 2 1 は、第 7 実施形態の電気泳動装置 2 3 の概略構成を示す図である。

[0126] 本実施形態において第 6 実施形態と異なる点は、サンプル保持部 2 がサンプル溶液を注入するための窪みとして構成されている点である。

[0127] 本実施形態では、サンプル保持部 2 は、電気泳動用チャンバー 1 の中心部を挟んで第 1 電極 3 0 に近い側から第 2 電極 3 1 に近い側まで細長く形成されている。サンプル保持部 3 の長さは、第 1 電極 3 0 と第 2 電極 3 1 との間の距離よりも若干短い。サンプル保持部 3 の幅は、サンプル分離媒体 4 2 の幅と概ね同じであり、サンプル保持部 3 の上部はサンプル分離媒体 4 2 によって完全に覆われるようになっている。サンプル保持部 3 の容積は、サンプル保持部 3 に注入されるサンプル溶液の体積よりも若干小さい。サンプル保持部 3 の深さは、サンプル分離媒体の厚みよりも浅く、サンプル分離媒体をサンプル保持部 3 に向けて押し込んだときに、サンプル分離媒体 4 2 がサンプル保持部 3 の底面および内壁面に密着するようになっている。

[0128] 図 2 2 および図 2 3 は、サンプル分離媒体に生体サンプルを導入するサンプル導入方法の説明図である。図 2 2 (a) は、電気泳動用器具 1 5 の平面図であり、図 2 2 (b)、図 2 3 (a)、図 2 3 (b) および図 2 3 (c) は、電気泳動用器具 1 5 の断面図である。

[0129] 本実施形態では、まず、図 2 2 に示すように、タンパク質や核酸などの生体サンプルを含むサンプル溶液 S を電気泳動用チャンバー 1 の設置面 1 a に設けられた深さ 0.5 mm ~ 1 mm 程度のサンプル保持部 3 に注入する。サ

ンプル保持部3の深さは、0 mmよりも深く15 mmよりも浅い範囲であれば最適な実験結果を得ることができ、0.5 mm以上1 mm以下の範囲であれば、より好ましい実験結果が得られる。サンプル溶液Sは設置面1 aから若干盛り上がるようにし、サンプル分離媒体にサンプル溶液Sが確実に接触するようにする。サンプル溶液Sの量が不足している場合には、緩衝液を加えてサンプル溶液Sの量を調整し、サンプル保持部3がサンプル溶液Sで満たされるようにする。

[0130] 次に、図23 (a) に示すように、緩衝液でサンプル分離媒体42を飽和膨潤させたIEFチップ40を搬送アーム45を用いて電気泳動用チャンバー1に設置し、サンプル溶液Sの入ったサンプル保持部2をサンプル分離媒体42によって覆い、サンプル保持部3にサンプル分離媒体42を密着させる。そして、図23 (b) に示すように、第1電極30と第2電極31の間に200 V程度の電圧を印加して、電荷を持つ生体サンプルをサンプル分離媒体42に導入する。サンプル分離媒体42をサンプル保持部2の底部まで行き渡らせた状態で電圧を印加することにより、サンプル分離媒体42に電圧が均一に印加され、生体サンプルが効率的にサンプル分離媒体42に導入されるようになる。その後、図23 (c) に示すように、搬送アーム45によりサンプル分離媒体42をサンプル保持部3に押し込んで6000 Vまで電圧を上昇させ、等電点電気泳動を行う。

[0131] 等電点電気泳動が行われた後、搬送アーム45を用いてIEFチップ40を電気泳動用チャンバー1から取り出す。そして、サンプル分離媒体42をSDSを含む溶液に浸してSDS平衡化し、SDS-PAGE用のサンプル分離媒体（ポリアクリルアミドのゲル）に接続させる。そして、搬送アーム45によりIEFチップ40を第2の電気泳動用チャンバー80（図2参照）に搬送し、二次元目の電気泳動（SDS-PAGE）を行う。

[0132] 以上のように、本実施形態の電気泳動装置23では、電気泳動用チャンバー1にサンプル溶液Sを供給し、サンプル分離媒体42をサンプル溶液Sに被せて生体サンプルの導入を行う。そして、そのまま電気泳動用チャンバー

1 内でサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加し、等電点電気泳動を行う。サンプル分離媒体 4 2 への生体サンプルの導入時に乾燥防止のオイルや不純物除去用のろ紙などを使用しないので、煩雑な操作がなく、再現性の高いデータが得られる。

[0133] また、本実施形態の電気泳動装置 2 3 では、サンプル分離媒体 4 2 に生体サンプルを導入した後、サンプル保持部 3 にサンプル分離媒体 4 2 を密着させた状態でサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加する。そのため、サンプル分離媒体 4 2 に電圧が均一に印加され、サンプル導入効率が高く、均一なフォーカシングと高分解能な分離が行われる。よって、等電点電気泳動による生体サンプルの分離を再現性よく容易に行うことが可能となる。

[0134] 図 2 4 は、サンプル保持部にサンプル分離媒体 4 2 を密着させた場合と密着させない場合とで、サンプル分離媒体 4 2 に印加される電圧の均一性がどのように変化するかを説明する図である。図 2 4 (a) は、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部の底面および内壁面に密着させず、サンプル保持部の底面および内壁面とサンプル分離媒体 4 2 との間にサンプル溶液 S が残っている状態でサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加したときのサンプル分離媒体 4 2 の内部およびその周辺部の電気力線の様子を示す図である。図 2 4 (b) は、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部の底面および内壁面に密着させ、サンプル保持部の底面および内壁面とサンプル分離媒体 4 2 との間にサンプル溶液 S が介在しない状態でサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加したときのサンプル分離媒体 4 2 の内部およびその周辺部の電気力線の様子を示す図である。

[0135] なお、電気力線のシミュレーションに際しては、サンプル分離媒体 4 2 とサンプル溶液 S の誘電率を水と同じ誘電率とした。

[0136] 図 2 4 (a) に示すように、サンプル分離媒体 4 2 とサンプル保持部の底面および内壁面との間にサンプル溶液 S が残った状態でサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加すると、サンプル分離媒体 4 2 の内部の電気力線は、サンプル溶液 S と接している部分で、サンプル溶液 S のほうに大きく湾曲する。そ

のため、サンプル分離媒体 4 2 に生体サンプルが導入されていても、サンプル溶液 S と接している部分から、生体サンプルがサンプル分離媒体 4 2 の外部に漏出する。

[0137] 図 2 4 (b) に示すように、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部の底面および内壁面に密着させた状態でサンプル分離媒体 4 2 に電圧を印加すると、サンプル分離媒体 4 2 の内部の電気力線は均一になり、サンプル分離媒体 4 2 全体に均一な電圧が印加される。よって、均一なフォーカシングと高分解能な分離が可能となる。

[0138] 以上、電気泳動装置および電気泳動用チャンバーの好適な形態について説明したが、電気泳動装置および電気泳動用チャンバーの構成はこれに限定されない。

[0139] 例えば、本実施形態では、サンプル保持部 3 を第 1 電極 3 0 の近傍から第 2 電極 3 1 の近傍まで細長く形成したが、サンプル保持部 3 を形成する位置は特に限定されない。例えば、電気泳動用チャンバー 1 の中心部にサンプル保持部 3 を形成してもよく、電気泳動用チャンバー 1 の中心部よりも酸性側または塩基性側に偏った位置にサンプル保持部 3 を形成してもよい。サンプル保持部 2 がサンプル分離媒体 4 2 の長手方向に細長く形成されている場合には、生体サンプルがサンプル分離媒体 4 2 全体に均一に導入されやすくなる。サンプル保持部 3 が電気泳動用チャンバー 1 の中心部よりも酸性側または塩基性側に偏って配置されている場合には、等電点電気泳動により生体サンプルを分離する際に、生体サンプルの移動距離が長くなり、分解能が向上する。

[0140] また、本実施形態では、サンプル保持部 3 の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅と略同じ幅となっているが、サンプル保持部 3 の幅はこれに限定されない。例えば、サンプル保持部 3 の幅はサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも大きくてもよく、サンプル分離媒体 4 2 の幅よりも小さくてもよい。サンプル保持部 3 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、サンプル保持部 3 の上部がサンプル分離媒体 4 2 によって完全には覆わ

れないので、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル溶液に接触させた際に生じる気泡をサンプル溶液の外部に排出し易くなる。

[0141] サンプル保持部 3 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、サンプル溶液の乾燥を防ぐために電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバー 5 0 で覆うことが好ましい。サンプル保持部 3 の全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅と同じかそれよりも狭い場合には、電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバー 5 0 で覆う必要はない。

[0142] また、本実施形態では、搬送アーム 4 5 によってサンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部 3 の底面および内壁面に密着させたが、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部 3 の底面および内壁面に密着させる方法はこれに限定されない。例えば、サンプル分離媒体 4 2 にサンプル溶液 S を吸収させた際のサンプル分離媒体 4 2 の膨潤によってサンプル分離媒体 4 2 をサンプル保持部 3 の底面および内壁面に密着させてもよい。

[0143] また、本実施形態では、電気泳動用チャンバー 1 において生体サンプルの導入と等電点電気泳動の双方を行うようにしたが、生体サンプルの導入を電気泳動用チャンバー 1 で行い、等電点電気泳動を他の電気泳動用チャンバー（第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1）で行うようにしてもよい。

[0144] 第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1 は、サンプル分離媒体 4 2 が設置される設置面が平坦な電気泳動用チャンバーである。第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1 は、設置面に窪みが形成されていない点で電気泳動用チャンバー 1 と異なるが、それ以外の構成は電気泳動用チャンバー 1 と同じである。よって、第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1 の詳細構成の図示は省略する。

[0145] 電気泳動用チャンバー 1 において生体サンプルの導入を行ったサンプル分離媒体 4 2 は、搬送アーム 4 5（図 1 6 参照）を用いて第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1（図 1 6 参照）に設置する。そして、第 3 の電気泳動用チャンバー 8 1 に設けられた第 1 電極および第 2 電極を用いてサンプル分離媒体 4 2 に 6 0 0 0 V の電圧を印加し、等電点電気泳動により生体サンプルの分離を行う。この場合、等電点電気泳動を設置面が平坦な第 3 の電気泳動用チャン

バー 8 1 を用いて行うため、サンプル分離媒体 4 2 全体に均一に電圧が印加され、均一なフォーカシングと高分解能な分離が可能となる。

[0146] [第 8 実施形態]

図 2 5 (a) は、第 3 実施形態の電気泳動用器具 1 6 の平面図であり、図 2 5 (b) は、同電気泳動用器具 1 6 の断面図である。

[0147] 本実施形態において第 7 実施形態と異なる点は、サンプル保持部 1 7 が電気泳動用チャンバー 1 の中心部よりも酸性側または塩基性側に偏って配置されている点である。本実施形態の場合、サンプル保持部 1 7 は第 1 電極 3 0 よりも第 2 電極 3 1 に近い側に設けられているが、サンプル保持部 1 7 は第 2 電極 3 1 よりも第 1 電極 3 0 に近い側に設けられていてもよい。

[0148] サンプル保持部 1 7 の容積は、サンプル保持部 1 7 に注入されるサンプル溶液の体積よりも若干小さいことが好ましい。この構成によれば、サンプル保持部 1 7 にサンプル溶液を注入した際に、サンプル溶液が設置面 1 a から盛り上がり、サンプル溶液がサンプル分離媒体 4 2 に確実に接触する。

[0149] サンプル保持部 1 7 の面積は、サンプル溶液とサンプル分離媒体 4 2 との間に十分な接触面積が確保できる面積であればよく、特に限定されるものではない。図 2 5 では、サンプル保持部 1 7 の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも大きくなっているが、サンプル保持部 1 7 の幅はサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも小さくてもよい。サンプル保持部 1 7 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、サンプル保持部 1 7 の上部がサンプル分離媒体 4 2 によって完全には覆われないので、サンプル分離媒体 4 2 をサンプル溶液に接触させた際に生じる気泡をサンプル溶液の外部に排出し易くなる。

[0150] サンプル保持部 1 7 の一部若しくは全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅よりも広い場合には、サンプル溶液の乾燥を防ぐために電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバー 5 0 (図 1 5 参照) で覆うことが好ましい。サンプル保持部 1 7 の全部の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅と同じかそれよりも狭い場合には、電気泳動用チャンバー 1 の上部をカバー 5 0 (図 1 5 参照) で覆う

必要はない。

[0151] 図26および図27は、サンプル分離媒体に生体サンプルを導入するサンプル導入方法の説明図である。図26(a)は、電気泳動用器具16の平面図であり、図26(b)、図27(a)、図27(b)および図27(c)は、電気泳動用器具16の断面図である。

[0152] 本実施形態では、まず、図26に示すように、タンパク質や核酸などの生体サンプルを含むサンプル溶液Sを電気泳動用チャンバー1の設置面1aに設けられた深さ0.5mm~1mm程度のサンプル保持部17に注入する。サンプル保持部17の深さは、0mmよりも深く15mmよりも浅い範囲であれば最適な実験結果を得ることができ、0.5mm以上1mm以下の範囲であれば、より好ましい実験結果が得られる。サンプル溶液Sは設置面1aから若干盛り上がるようにし、サンプル分離媒体にサンプル溶液Sが確実に接触するようにする。サンプル溶液Sの量が不足している場合には、緩衝液を加えてサンプル溶液Sの量を調整し、サンプル保持部17がサンプル溶液Sで満たされるようにする。

[0153] 次に、図27(a)に示すように、緩衝液でサンプル分離媒体42を飽和膨潤させたIEFチップ40を搬送アーム45を用いて電気泳動用チャンバー1に設置し、サンプル溶液Sの入ったサンプル保持部17をサンプル分離媒体42によって覆い、サンプル保持部17にサンプル分離媒体42を密着させる。そして、図27(b)に示すように、第1電極30と第2電極31の間に200V程度の電圧を印加して、電荷を持つ生体サンプルをサンプル分離媒体42に導入する。その後、図27(c)に示すように、搬送アーム45によりサンプル分離媒体42をサンプル保持部17に押し込んで6000Vまで電圧を上昇させ、等電点電気泳動を行う。

[0154] 等電点電気泳動が行われた後、搬送アーム45を用いてIEFチップ40を電気泳動用チャンバー1から取り出す。そして、サンプル分離媒体42をSDSを含む溶液に浸してSDS平衡化し、SDS-PAGE用のサンプル分離媒体（ポリアクリルアミドのゲル）に接続させる。そして、搬送アーム

45によりI E Fチップ40を第2の電気泳動用チャンバー80（図2参照）に搬送し、二次元目の電気泳動（SDS - PAGE）を行う。

[0155] 以上のように、本実施形態の電気泳動用器具16では、サンプル保持部17が電気泳動用チャンバー1の中心部よりも酸性側または塩基性側に偏って配置されている。そのため、等電点電気泳動により生体サンプルを分離する際に、生体サンプルの移動距離が長くなり、分解能が向上する。

[0156] [第2変形形態]

図28（a）ないし図28（e）は、電気泳動用器具18に設けられるサンプル保持部19の他のバリエーションの一例を示す平面図である。

[0157] 図28（a）は、楕円形のサンプル保持部19が電気泳動用チャンバー1の中心部に設けられている例である。図28（b）は、楕円形のサンプル保持部19が電気泳動用チャンバー1の中心部よりも第2電極31側に偏って設けられている例である。図28（c）は、楕円形のサンプル保持部19が電気泳動用チャンバー1の中心部よりも第1電極30側に偏って設けられている例である。図28（d）は、楕円形の3つのサンプル保持部19が電気泳動用チャンバー1の長手方向に沿って互いに離間して配置されている例である。図28（e）は、第1電極30側と第2電極31側の辺が円弧状に湾曲した略矩形のサンプル保持部19が電気泳動用チャンバー1の中心部を挟んで第1電極30に近い側から第2電極31に近い側まで細長く形成されている例である。

[0158] 図28に示したサンプル保持部19の形状、配置、個数は一例であって、これ以外の様々な形状、配置、個数を有するサンプル保持部19を電気泳動用チャンバー1に形成することができる。このようなサンプル保持部19は、サンプル溶液に対して親和性を有する親水性部として構成されていてもよく、サンプル溶液を注入するための窪みとして構成されていてもよい。

[0159] [第3変形形態]

上記実施形態および第1変形形態では、電気泳動用チャンバー1の設置面1aにサンプル溶液Sを保持するサンプル保持部3, 7, 17, 19を設け

た。サンプル保持部 3, 7, 17, 19 は、サンプル溶液 S の濡れ広がり
を抑制するものであるが、サンプル溶液 S が多少濡れ広がっても生体サ
ンプルの導入時に大きな問題が生じない場合には、電気泳動用チャン
バー 1 の設置面 1 a にサンプル保持部 3, 7, 17, 19 を設けなくてもよい。

[0160] 例えば、電気泳動用チャンバー 1 の幅がサンプル分離媒体 4 2 の幅と略同
じ幅である場合には、サンプル溶液 S の濡れ広がりには問題にならない。よ
って、サンプル保持部を設けずに、単に設置面 1 a にサンプル溶液 S を供給し
て、その上にサンプル分離媒体 4 2 を被せるだけで、サンプル分離媒体 4 2
に生体サンプルを導入することが可能である。サンプル分離媒体 4 2 に生体
サンプルを導入した後は、電気泳動用チャンバー 1 の設置面 1 a にサ
ンプル分離媒体 4 2 を密着させて第 1 電極 3 0 と第 2 電極 3 1 との間に電圧を印加
することで、均一なフォーカシングと高分解能な分離が行われる。

[0161] [実施形態 6 から 8 のまとめ]

本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、生体サンプルを電気泳動によ
って分離するサンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入
方法であって、前記サンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サ
ンプル分離媒体の両端部に接続される第 1 電極および第 2 電極と、を有し、
前記設置面に、前記生体サンプルを含むサンプル溶液の濡れ広がりを抑制し
つつ前記サンプル溶液を保持するサンプル保持部が設けられてなる電気泳
動用チャンバーの前記サンプル保持部に前記サンプル溶液を供給する第 1 の
ステップと、前記サンプル保持部に供給した前記サンプル溶液に前記サ
ンプル分離媒体を接触させ、前記サンプル分離媒体に前記生体サ
ンプルを導入する第 2 のステップと、を含む。

[0162] また、本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、前記第 2 のステップ
では、前記第 1 電極と前記第 2 電極との間に電圧を印加しながら前記サ
ンプル分離媒体に前記サンプル溶液を接触させてもよい。

[0163] また、本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、前記サ
ンプル保持部が、前記サンプル保持部の周囲の前記設置面よりも親水性の
高い親水性部であ

ってもよい。

[0164] また、本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、前記サンプル保持部が、前記設置面に設けられた窪みであってもよい。

[0165] また、本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、前記窪みの深さが、前記サンプル分離媒体の厚みよりも小さくてもよい。

[0166] また、本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、前記サンプル保持部が、前記第2電極よりも前記第1電極に近い側または前記第1電極よりも前記第2電極に近い側に設けられていてもよい。

[0167] また、本発明の一態様に係るサンプル導入方法は、前記サンプル分離媒体が、膨潤したゲルであってもよい。この場合、完全に膨潤されていないゲルの方が、サンプル溶液を吸収できるため好ましい。

[0168] 本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、本発明のサンプル導入方法を用いて前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加して、前記生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第1電気泳動ステップと、を含む。

[0169] また、本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、前記第1電気泳動ステップでは、前記サンプル分離媒体を前記設置面に密着させた状態で前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加してもよい。

[0170] また、本発明の一態様に係るサンプル分離方法の前記サンプル分離媒体を前記電気泳動用チャンバーの設置面に密着させる方法としては、次の方法がある。第1の方法は、サンプル分離媒体である未飽和膨潤ゲルがサンプル溶液を吸収し膨潤することで、サンプル分離媒体が電気泳動用チャンバーの設置面に密着する方法である。第2の方法は、サンプル分離媒体を搬送アームによって電気泳動用チャンバーの設置面に押し付ける方法である。すなわち、前記サンプル導入ステップでは、前記サンプル分離媒体がサンプル溶液を吸収し膨潤することにより、前記サンプル分離媒体が前記設置面に密着してもよい。また、前記第1電気泳動ステップでは、前記サンプル分離媒体を搬

送アームによって前記設置面に押し付けることにより、前記サンプル分離媒体を前記設置面に密着させてもよい。

[0171] また、本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、前記第 1 電気泳動ステップによって前記生体サンプルの分離が行われた前記サンプル分離媒体を第 2 の電気泳動用チャンバーに搬送する搬送ステップと、前記第 2 の電気泳動用チャンバーに搬送された前記サンプル分離媒体に電圧を印加し、前記生体サンプルを SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離する第 2 電気泳動ステップと、を含んでもよい。

[0172] 本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、本発明のサンプル導入方法を用いて前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、前記サンプル分離媒体を設置する平坦な設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第 1 電極および第 2 電極と、を有する第 3 の電気泳動用チャンバーに前記サンプル分離媒体を設置し、前記サンプル分離媒体を前記第 3 の電気泳動用チャンバーの前記設置面に密着させた状態で、前記第 3 の電気泳動用チャンバーの前記第 1 電極と前記第 2 電極との間に電圧を印加して、前記生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第 1 電気泳動ステップと、を含む。

[0173] また、本発明の一態様に係るサンプル分離方法は、前記第 1 電気泳動ステップによって前記生体サンプルの分離が行われた前記サンプル分離媒体を第 2 の電気泳動用チャンバーに搬送する搬送ステップと、前記第 2 の電気泳動用チャンバーに搬送された前記サンプル分離媒体に電圧を印加し、前記生体サンプルを SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離する第 2 電気泳動ステップと、を含んでもよい。

[0174] 本発明の一態様に係る電気泳動用器具は、生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第 1 電極および第 2 電極と、を有する電気泳動用チャンバーを備え、前記電気泳動用チャンバーの前記設置面に、前記生体サンプルを含むサンプル溶液の濡れ広がりを抑制しつつ前記サンプル溶液を保持する

サンプル保持部が設けられている。

産業上の利用可能性

[0175] 本発明は、タンパク質や核酸などの生体サンプルを電気泳動により分離し、分離した生体サンプルを含むサンプル分離媒体を切り出して質量分析装置によって同定したり、あるいは、分離した生体サンプルをサンプル分離媒体から膜に転写し、免疫反応などを利用して生体サンプルを検出したりする手段に好適に利用することができる。

符号の説明

[0176] 1, 70…電気泳動用チャンバー、1a, 71a…設置面、2, 61, 63, 65, 69…窪み、3, 7, 17, 19…サンプル保持部、10, 11, 15, 16, 18, 60, 62, 64, 66…電気泳動用器具、12, 14, 23…電気泳動装置、30…第1電極、31…第2電極、42…サンプル分離媒体、45…搬送アーム、80…第2の電気泳動用チャンバー、81…第3の電気泳動用チャンバー、S…サンプル溶液

請求の範囲

- [請求項1] 生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有する電気泳動用チャンバーを備え、
前記電気泳動用チャンバーの前記設置面に、前記生体サンプルを含むサンプル溶液を注入するための窪みが設けられている電気泳動用器具。
- [請求項2] 前記窪みは、前記第2電極よりも前記第1電極に近い側または前記第1電極よりも前記第2電極に近い側に設けられている請求項1に記載の電気泳動用器具。
- [請求項3] 前記窪みは、前記電気泳動用チャンバーの中心部を挟んで前記第1電極に近い側から前記第2電極に近い側まで形成されている請求項1に記載の電気泳動用器具。
- [請求項4] 前記窪みの容積は、前記窪みに注入される前記サンプル溶液の体積よりも小さい請求項1ないし3のいずれか1項に記載の電気泳動用器具。
- [請求項5] 前記サンプル分離媒体は、膨潤したゲルである請求項1ないし4のいずれか1項に記載の電気泳動用器具。
- [請求項6] 前記電気泳動用チャンバーの少なくとも一部が、前記サンプル分離媒体と略同じ幅に形成されている請求項1ないし5のいずれか1項に記載の電気泳動用器具。
- [請求項7] 前記窪みの少なくとも一部が、前記サンプル分離媒体よりも広い幅で形成されている請求項1ないし6のいずれか1項に記載の電気泳動用器具。
- [請求項8] 請求項1ないし7のいずれか1項に記載の電気泳動用器具と、
前記サンプル分離媒体を前記電気泳動用チャンバーに設置する搬送アームと、を備えている電気泳動装置。
- [請求項9] 前記サンプル分離媒体を設置する第2の電気泳動用チャンバーを備

え、

前記搬送アームは、前記電気泳動用チャンバーと前記第 2 の電気泳動用チャンバーとの間で前記サンプル分離媒体を搬送する請求項 8 に記載の電気泳動装置。

[請求項10] 前記サンプル分離媒体を設置する平坦な設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第 1 電極および第 2 電極と、を有する第 3 の電気泳動用チャンバーを備え、

前記搬送アームは、前記第 3 の電気泳動用チャンバーと前記第 2 の電気泳動用チャンバーとの間で前記サンプル分離媒体を搬送する請求項 9 に記載の電気泳動装置。

[請求項11] 生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入方法であって、

前記サンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第 1 電極および第 2 電極と、前記設置面に設けられた窪みと、を有する電気泳動用チャンバーの前記設置面の窪みに前記生体サンプルを含むサンプル溶液を注入する第 1 のステップと、

前記窪みに注入した前記サンプル溶液に前記サンプル分離媒体を接触させ、前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入する第 2 のステップと、を含むサンプル導入方法。

[請求項12] 前記第 2 のステップでは、前記第 1 電極と前記第 2 電極との間に電圧を印加しながら前記サンプル分離媒体に前記サンプル溶液を接触させる請求項 11 に記載のサンプル導入方法。

[請求項13] 請求項 11 または 12 に記載のサンプル導入方法を用いて前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、

前記第 1 電極と前記第 2 電極との間に電圧を印加して、前記生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第 1 電気泳動ステップと、を含むサンプル分離方法。

[請求項14] 前記第1電気泳動ステップによって前記生体サンプルの分離が行われた前記サンプル分離媒体を第2の電気泳動用チャンバーに搬送する搬送ステップと、

前記第2の電気泳動用チャンバーに搬送された前記サンプル分離媒体に電圧を印加し、前記生体サンプルをSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離する第2電気泳動ステップと、を含む請求項13に記載のサンプル分離方法。

[請求項15] 請求項11または12に記載のサンプル導入方法を用いて前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、

前記サンプル分離媒体を設置する平坦な設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有する第3の電気泳動用チャンバーに前記サンプル分離媒体を設置し、前記サンプル分離媒体を前記第3の電気泳動用チャンバーの前記設置面に密着させた状態で、前記第3の電気泳動用チャンバーの前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加して、前記生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第1電気泳動ステップと、を含むサンプル分離方法。

[請求項16] 前記第1電気泳動ステップによって前記生体サンプルの分離が行われた前記サンプル分離媒体を第2の電気泳動用チャンバーに搬送する搬送ステップと、

前記第2の電気泳動用チャンバーに搬送された前記サンプル分離媒体に電圧を印加し、前記生体サンプルをSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離する第2電気泳動ステップと、を含む請求項15に記載のサンプル分離方法。

[請求項17] 生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入方法であって、

前記サンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体

の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有し、前記設置面に、前記生体サンプルを含むサンプル溶液の濡れ広がりを抑制しつつ前記サンプル溶液を保持するサンプル保持部が設けられてなる電気泳動用チャンバーの前記サンプル保持部に前記サンプル溶液を供給する第1のステップと、

前記サンプル保持部に供給した前記サンプル溶液に前記サンプル分離媒体を接触させ、前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入する第2のステップと、を含むサンプル導入方法。

[請求項18] 前記第2のステップでは、前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加しながら前記サンプル分離媒体に前記サンプル溶液を接触させる請求項17に記載のサンプル導入方法。

[請求項19] 前記サンプル保持部は、前記サンプル保持部の周囲の前記設置面よりも親水性の高い親水性部である請求項17または18に記載のサンプル導入方法。

[請求項20] 前記サンプル保持部は、前記設置面に設けられた窪みである請求項17または18に記載のサンプル導入方法。

[請求項21] 前記窪みの深さは前記サンプル分離媒体の厚みよりも小さい請求項20に記載のサンプル導入方法。

[請求項22] 前記サンプル保持部は、前記第2電極よりも前記第1電極に近い側または前記第1電極よりも前記第2電極に近い側に設けられている請求項17～21のいずれか1項に記載のサンプル導入方法。

[請求項23] 前記サンプル分離媒体は、膨潤したゲルである請求項17～22のいずれか1項に記載のサンプル導入方法。

[請求項24] 請求項17～23のいずれか1項に記載のサンプル導入方法を用いて前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、

前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加して、前記生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第1電気泳動ステップと、

を含むサンプル分離方法。

[請求項25] 前記第1電気泳動ステップでは、前記サンプル分離媒体を前記設置面に密着させた状態で前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加する請求項24に記載のサンプル分離方法。

[請求項26] 前記サンプル導入ステップでは、前記サンプル分離媒体がサンプル溶液を吸収し膨潤することにより、前記サンプル分離媒体が前記設置面に密着する請求項25に記載のサンプル分離方法。

[請求項27] 前記第1電気泳動ステップでは、前記サンプル分離媒体を搬送アームによって前記設置面に押し付けることにより、前記サンプル分離媒体を前記設置面に密着させる請求項25に記載のサンプル分離方法。

[請求項28] 前記第1電気泳動ステップによって前記生体サンプルの分離が行われた前記サンプル分離媒体を第2の電気泳動用チャンバーに搬送する搬送ステップと、

前記第2の電気泳動用チャンバーに搬送された前記サンプル分離媒体に電圧を印加し、前記生体サンプルをSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離する第2電気泳動ステップと、を含む請求項24～27のいずれか1項に記載のサンプル分離方法。

[請求項29] 請求項17～23のいずれか1項に記載のサンプル導入方法を用いて前記サンプル分離媒体に前記生体サンプルを導入するサンプル導入ステップと、

前記サンプル分離媒体を設置する平坦な設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有する第3の電気泳動用チャンバーに前記サンプル分離媒体を設置し、前記サンプル分離媒体を前記第3の電気泳動用チャンバーの前記設置面に密着させた状態で、前記第3の電気泳動用チャンバーの前記第1電極と前記第2電極との間に電圧を印加して、前記生体サンプルを等電点電気泳動によって分離する第1電気泳動ステップと、を含むサンプル分離方法。

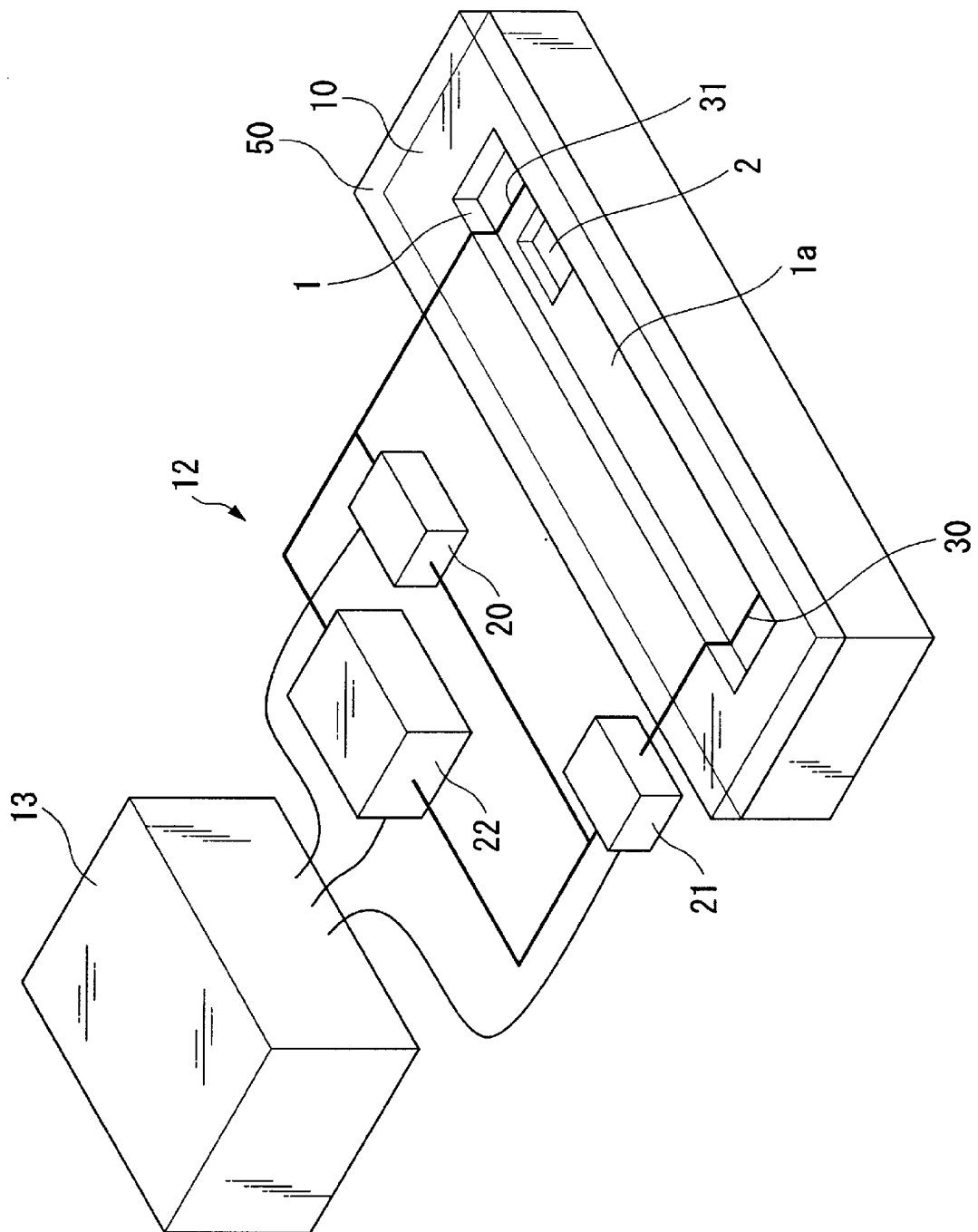
[請求項30] 前記第1電気泳動ステップによって前記生体サンプルの分離が行われた前記サンプル分離媒体を第2の電気泳動用チャンバーに搬送する搬送ステップと、

前記第2の電気泳動用チャンバーに搬送された前記サンプル分離媒体に電圧を印加し、前記生体サンプルをSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離する第2電気泳動ステップと、を含む請求項29に記載のサンプル分離方法。

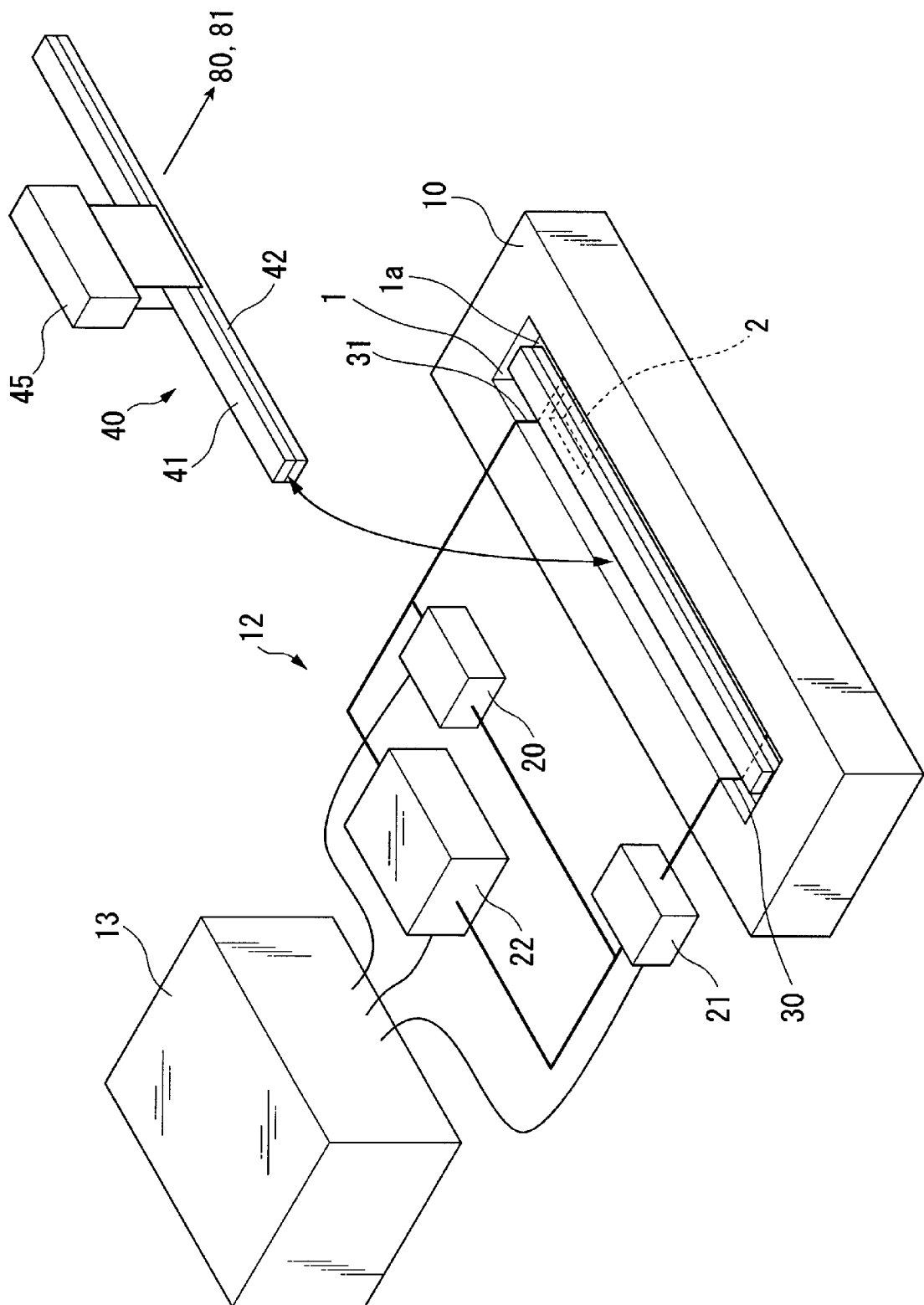
[請求項31] 生体サンプルを電気泳動によって分離するサンプル分離媒体を設置する設置面と、前記サンプル分離媒体の両端部に接続される第1電極および第2電極と、を有する電気泳動用チャンバーを備え、

前記電気泳動用チャンバーの前記設置面に、前記生体サンプルを含むサンプル溶液の濡れ広がりを抑制しつつ前記サンプル溶液を保持するサンプル保持部が設けられている電気泳動用器具。

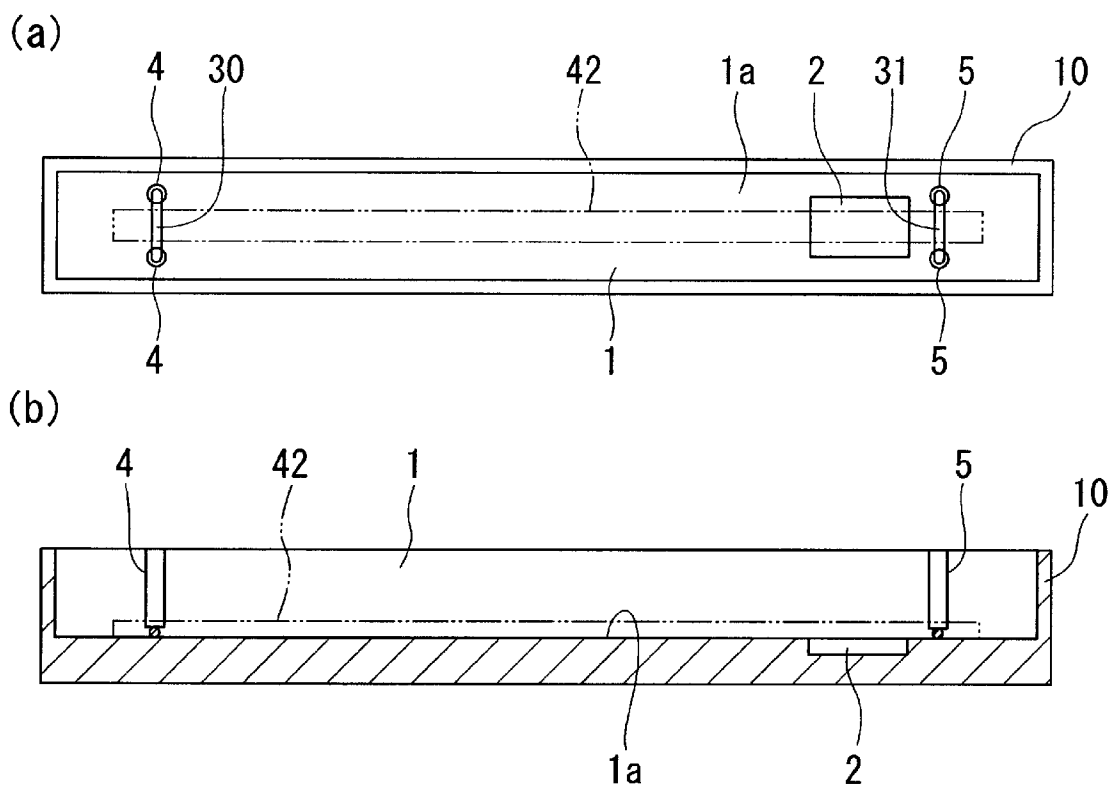
[図1]



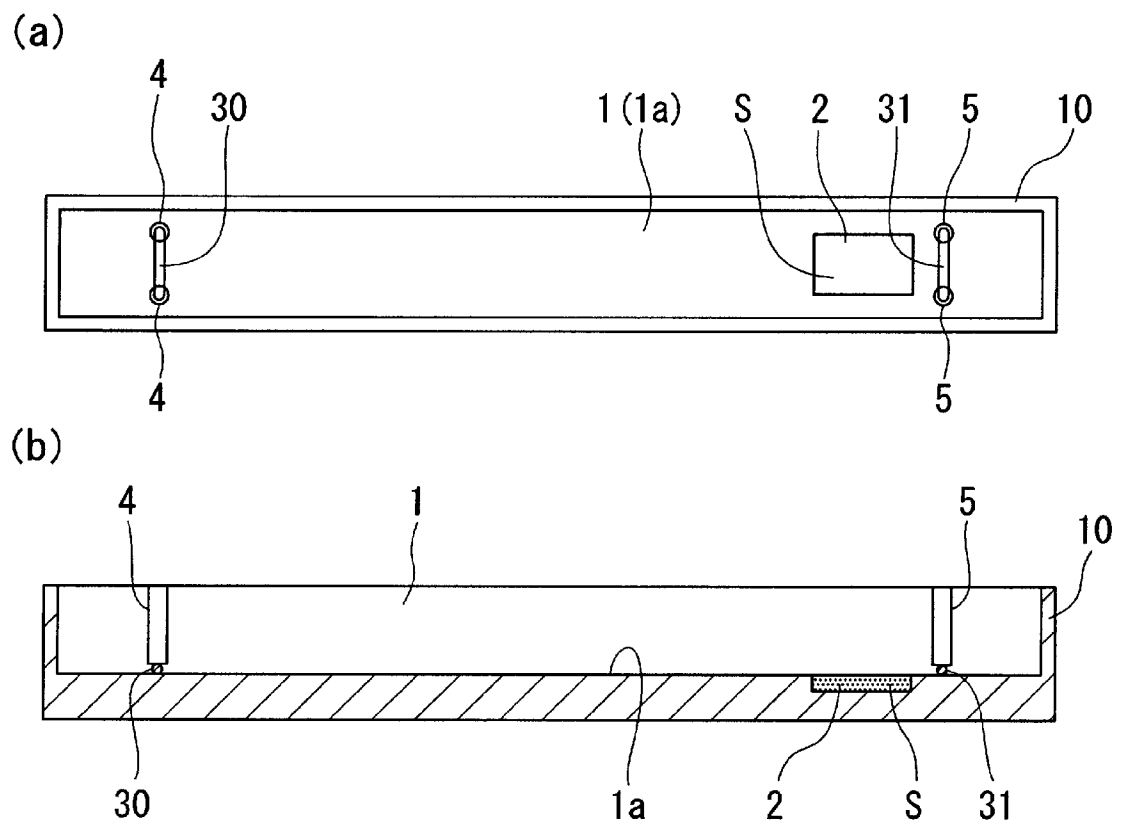
[図2]



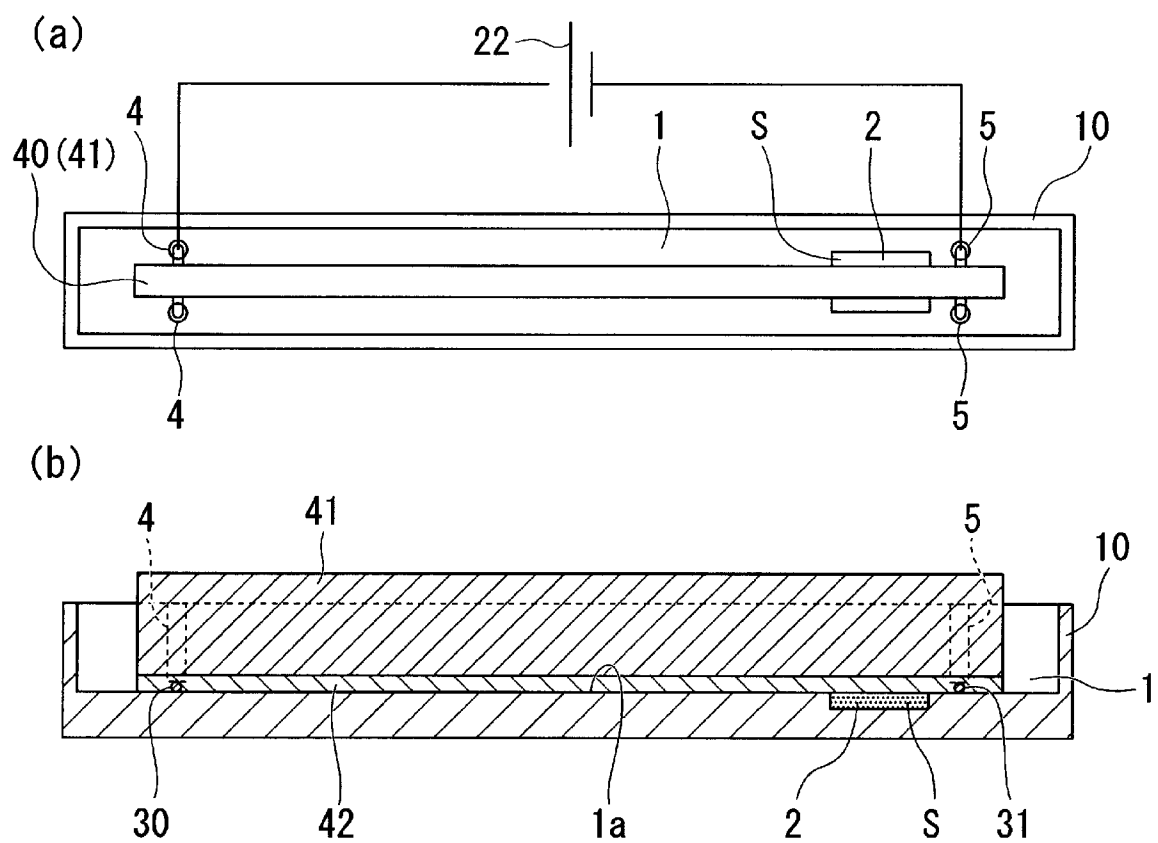
[図3]



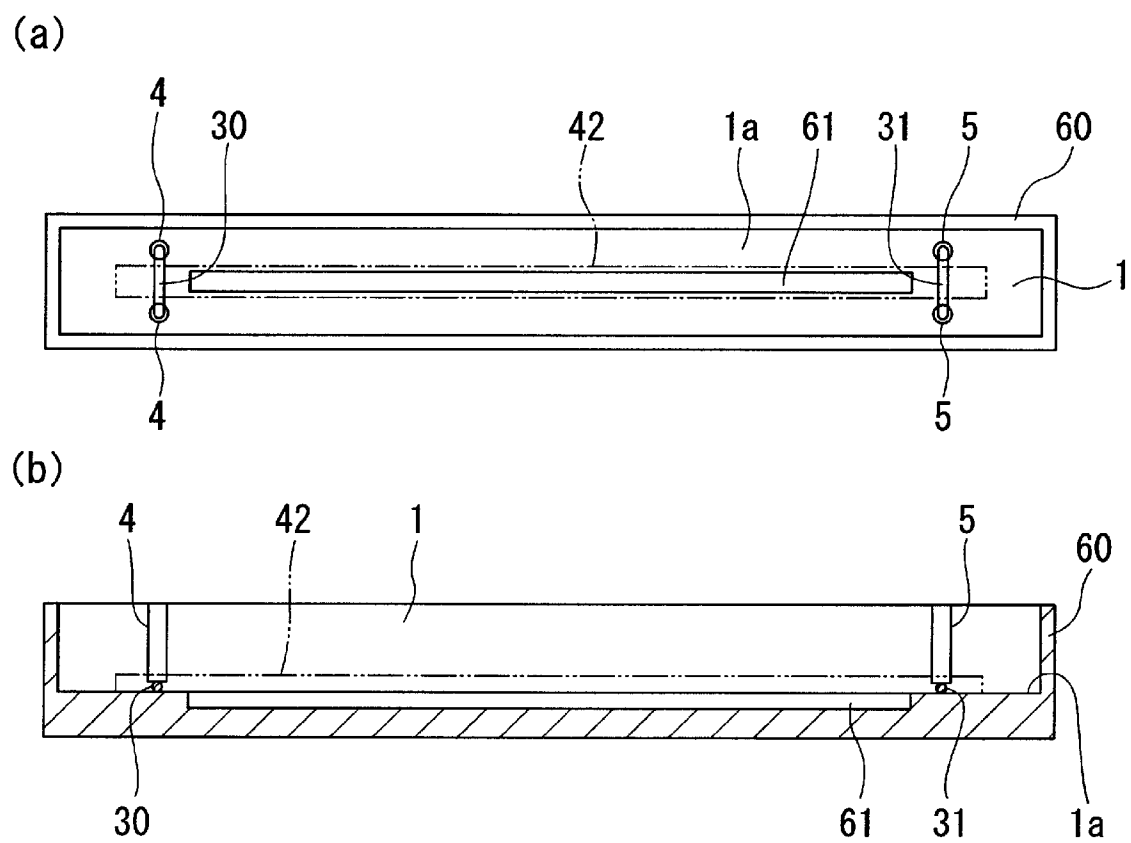
[図4]



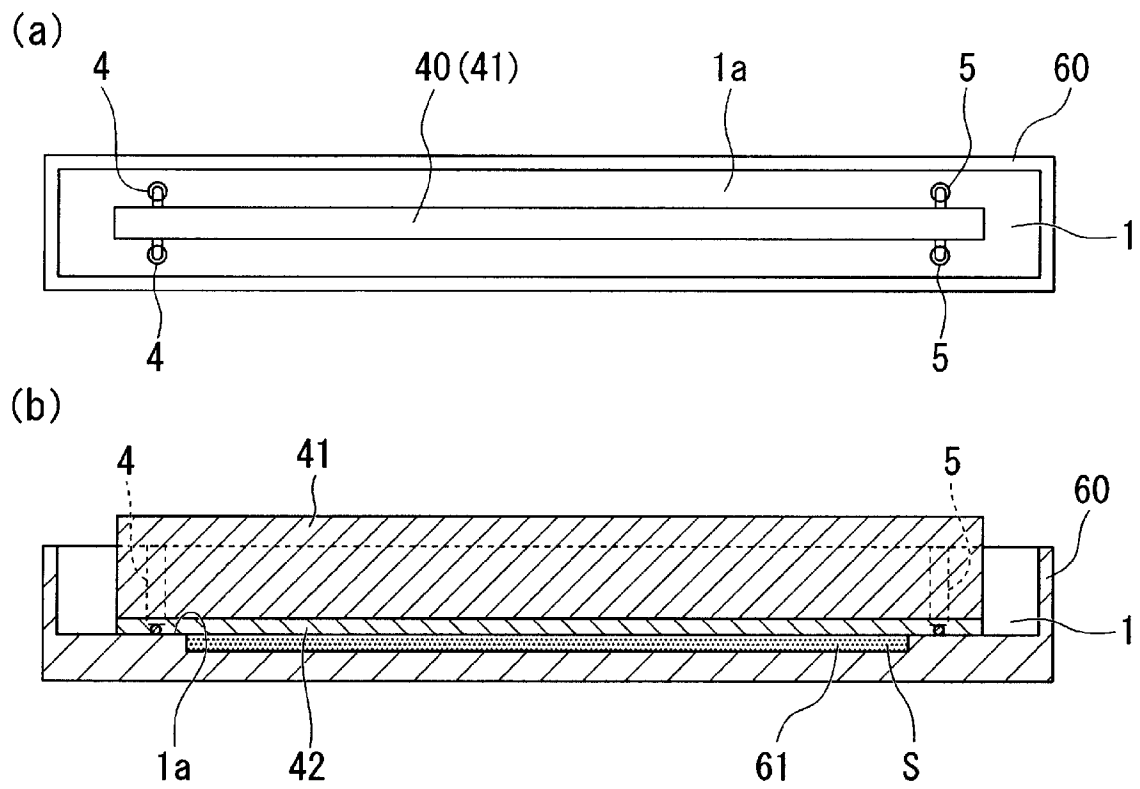
[図5]



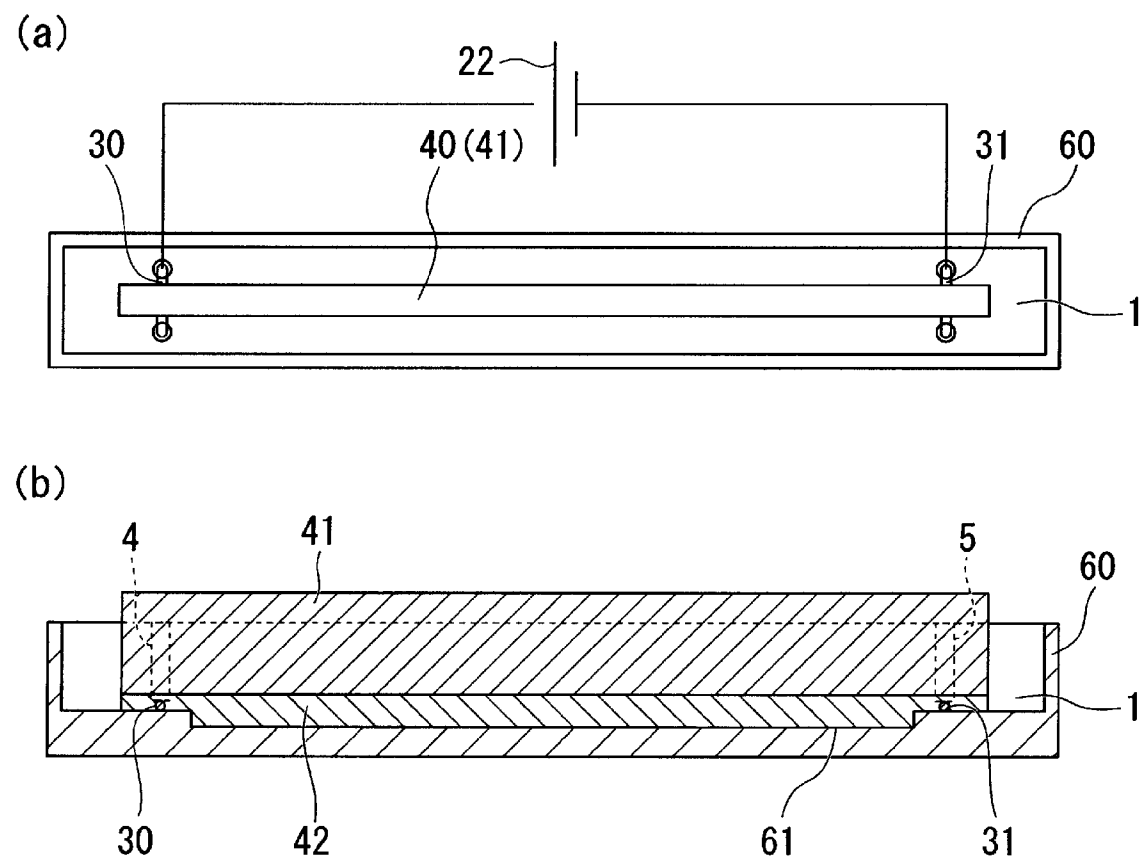
[図6]



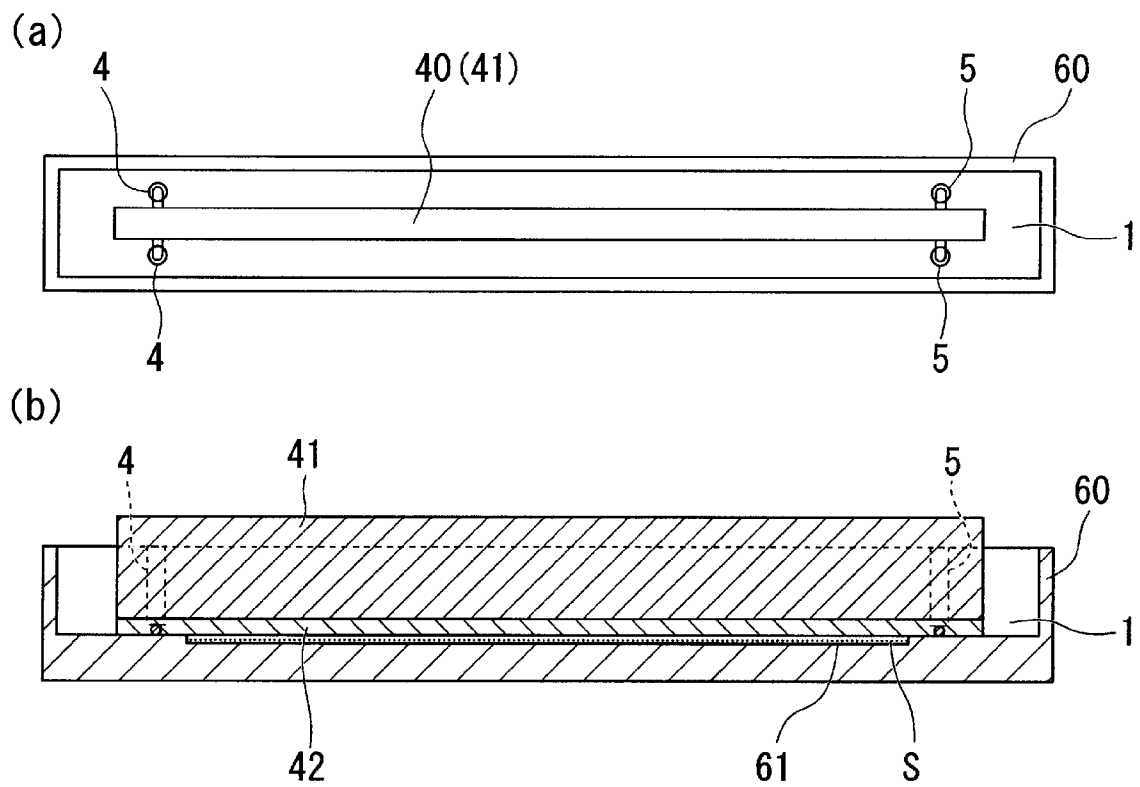
[図7]



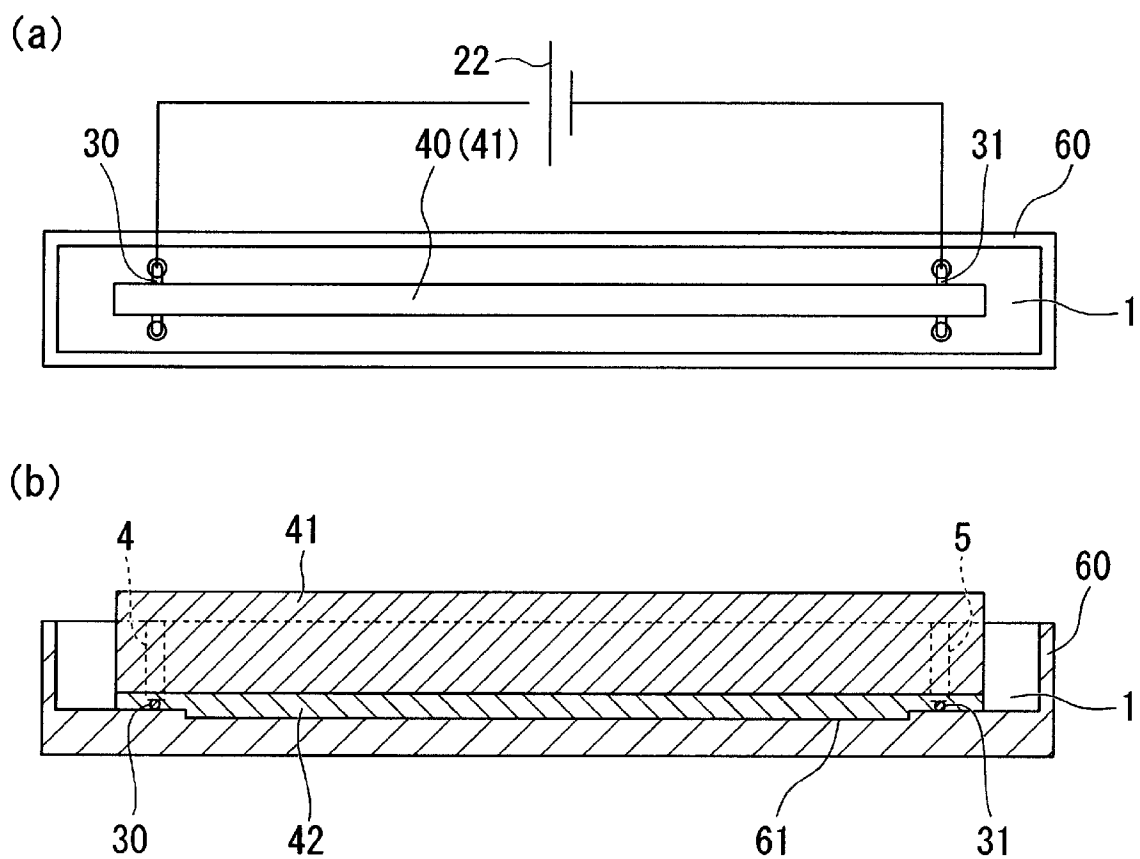
[図8]



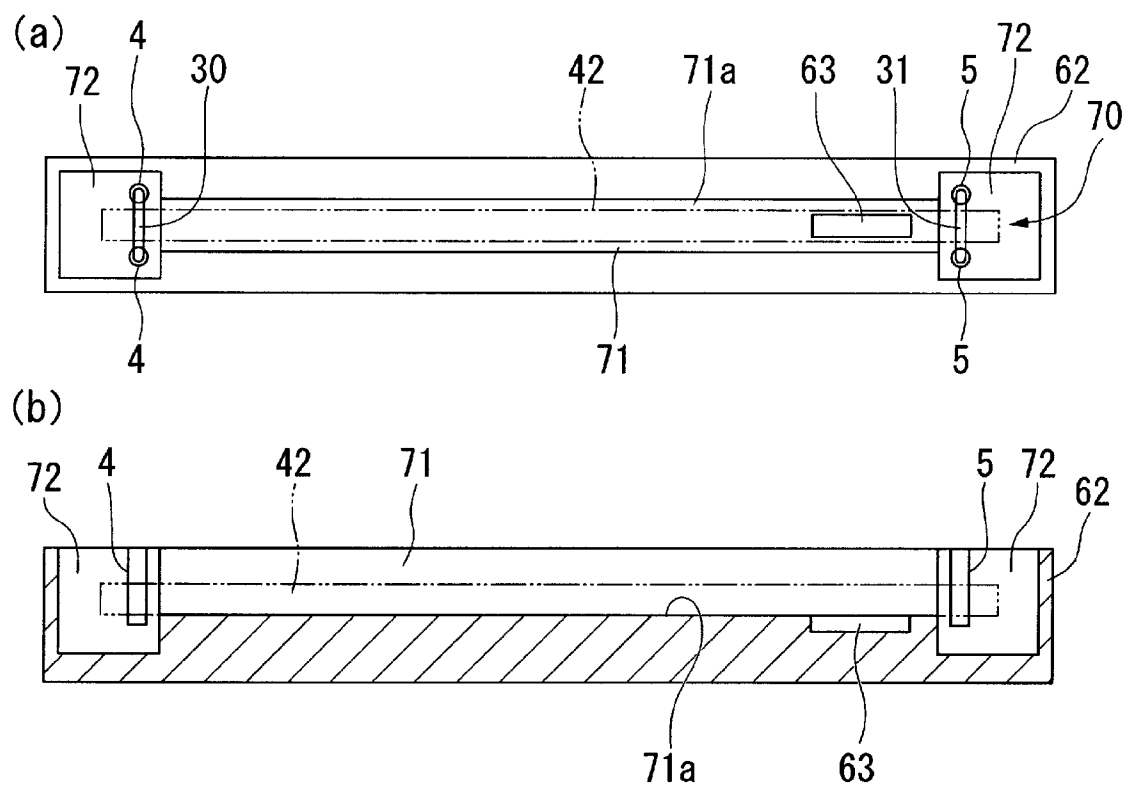
[図9]



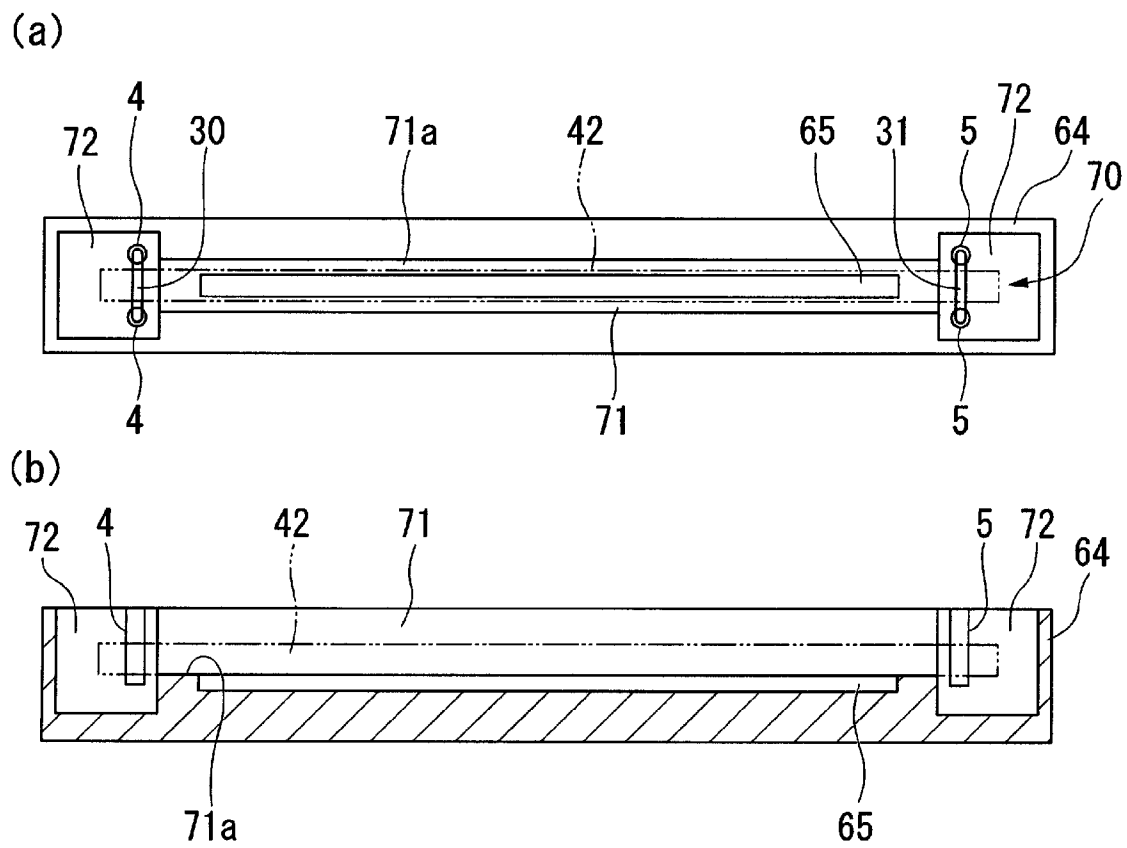
[図10]



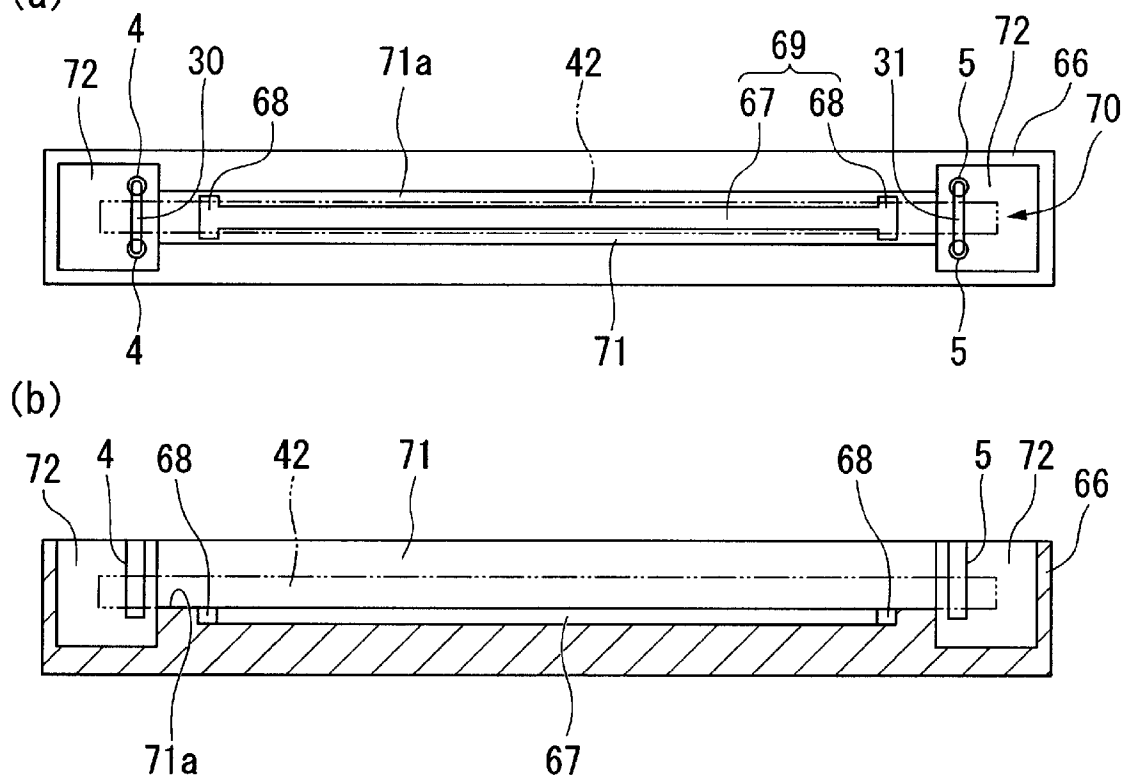
[図11]



[図12]

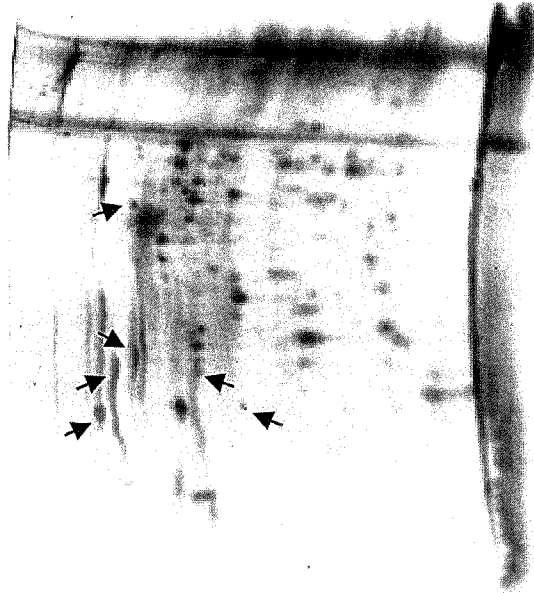


(a)

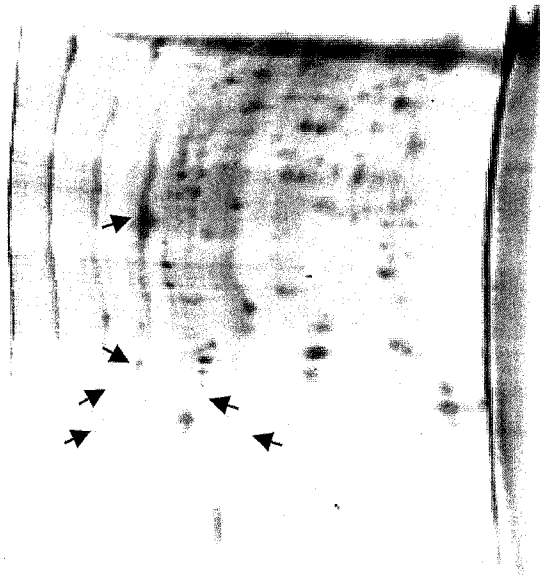


[図14]

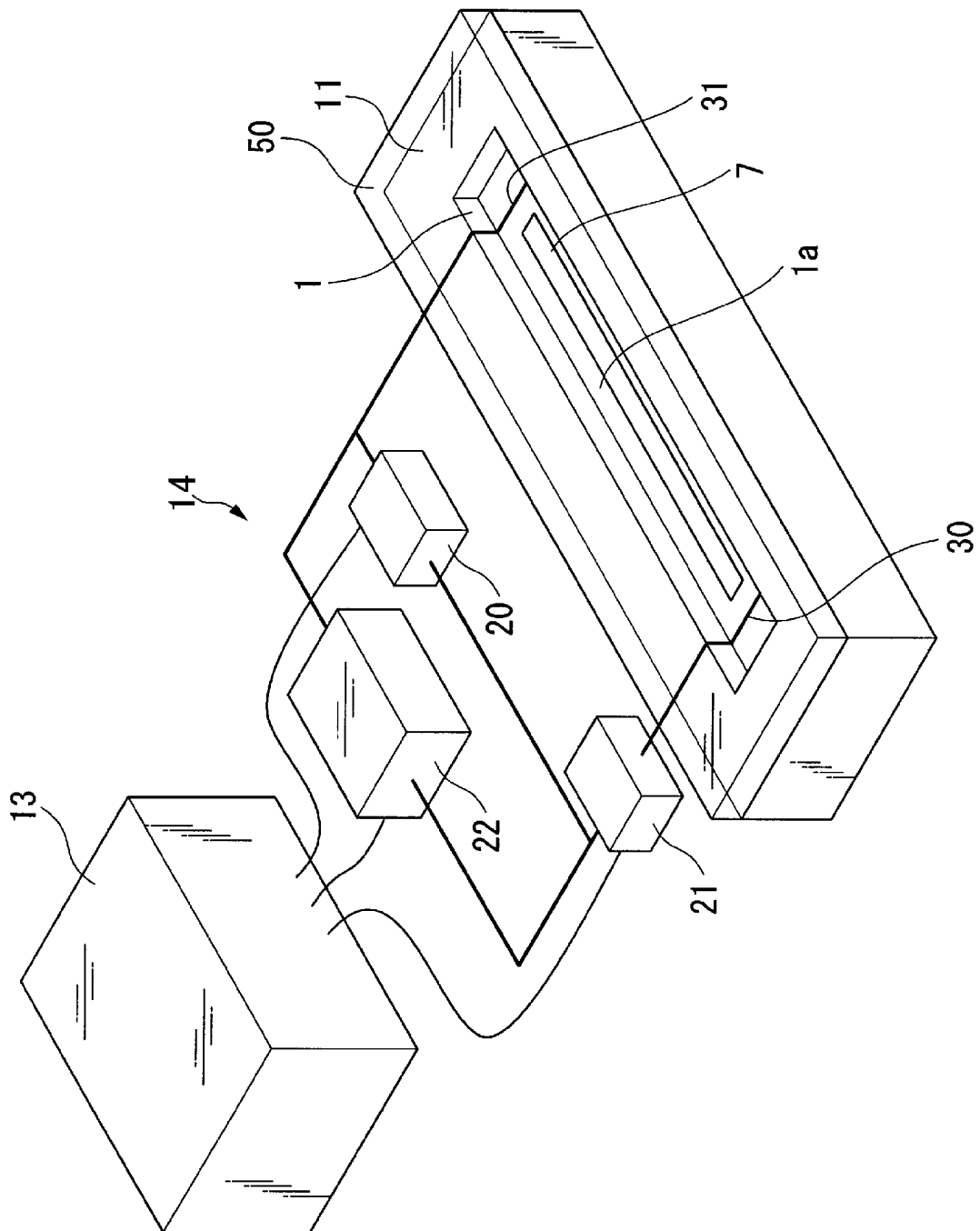
(b)



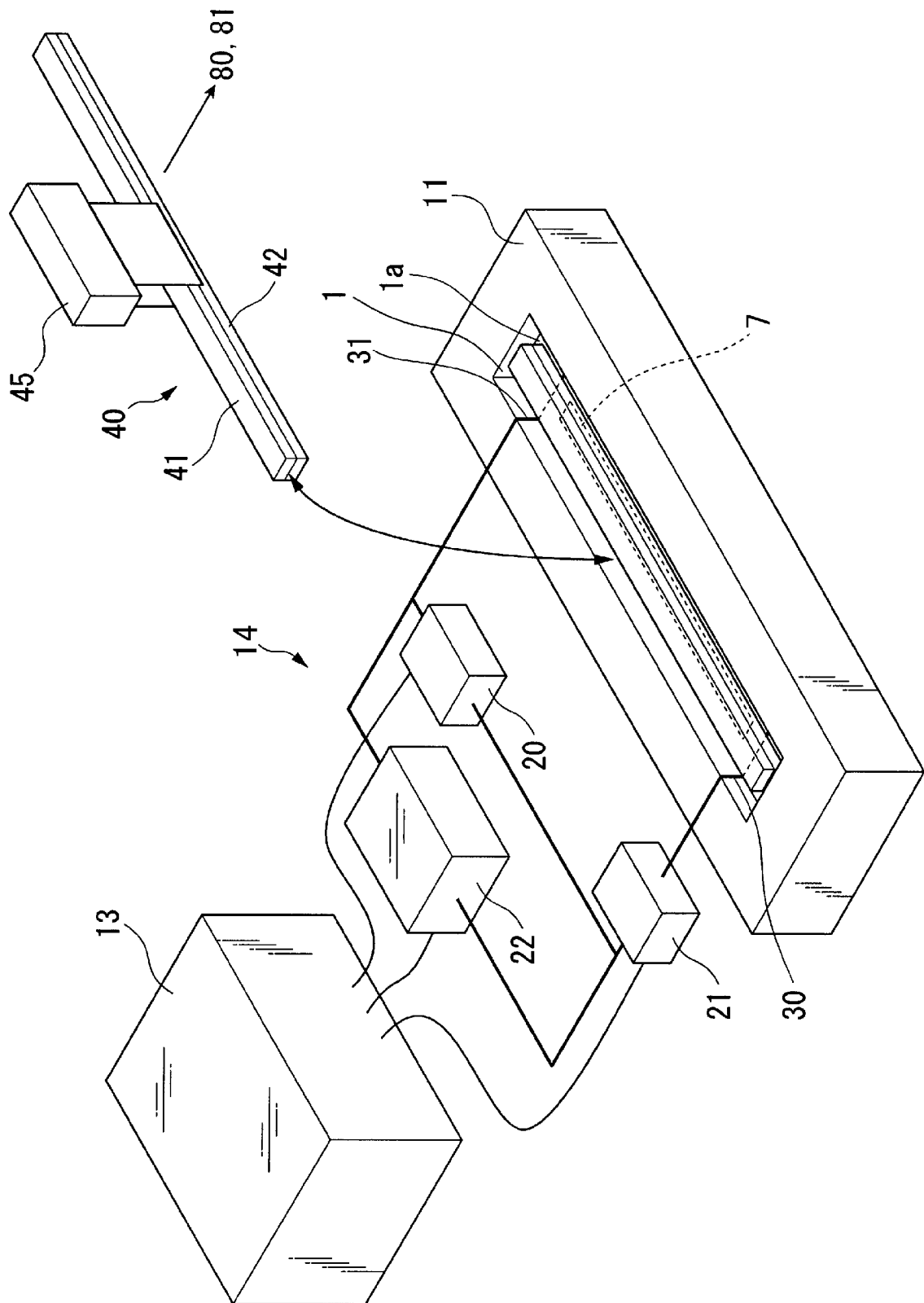
(a)



[図15]

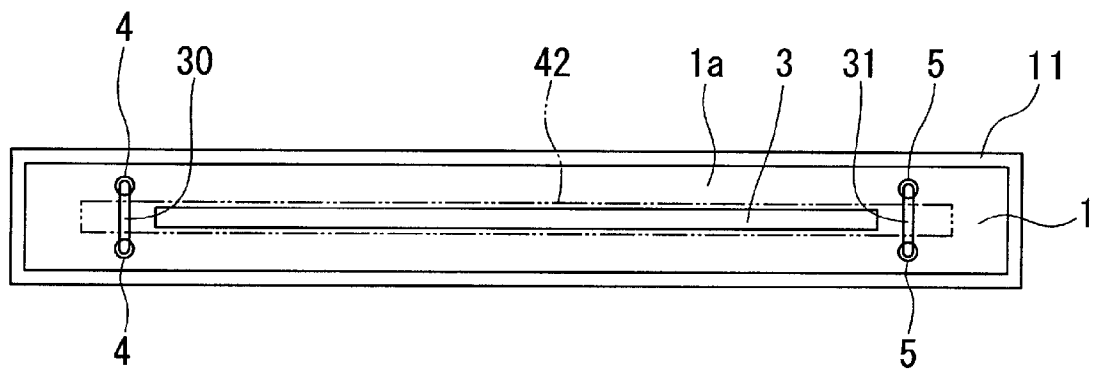


[図16]

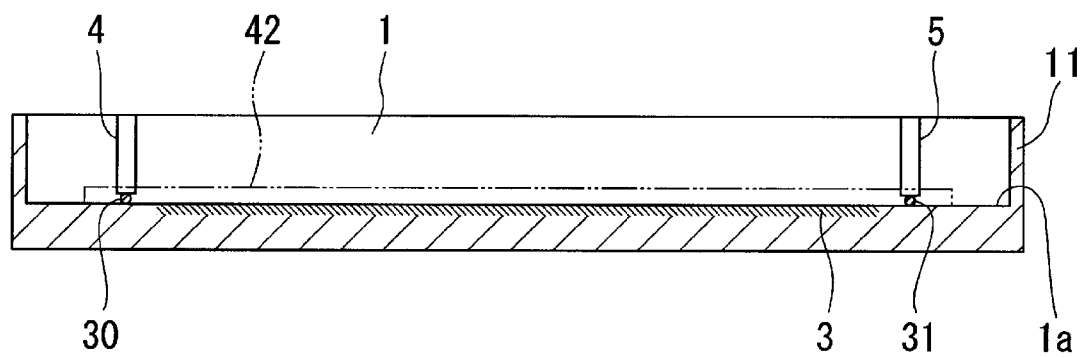


[図17]

(a)

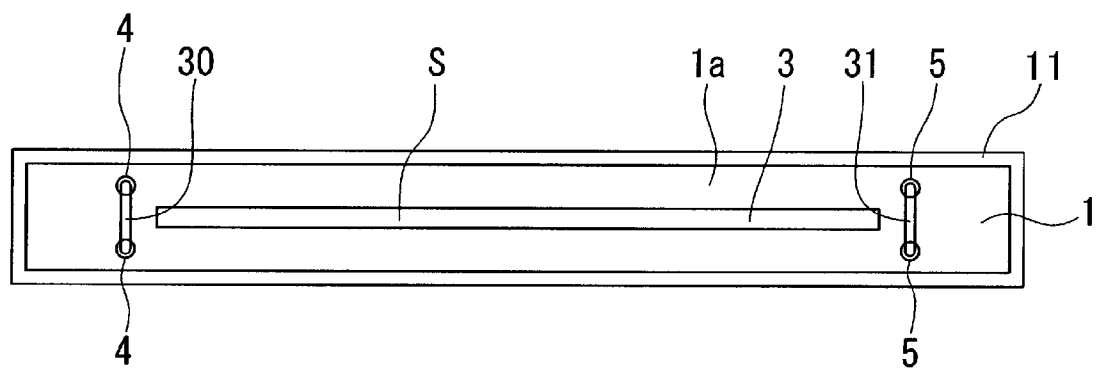


(b)

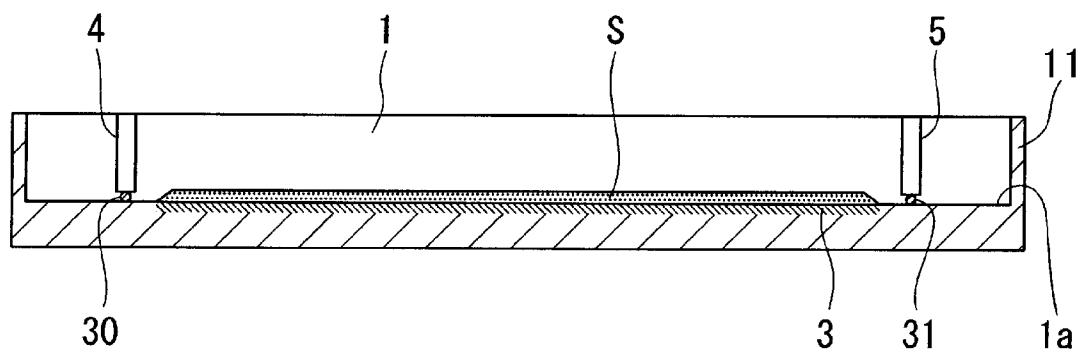


[図18]

(a)

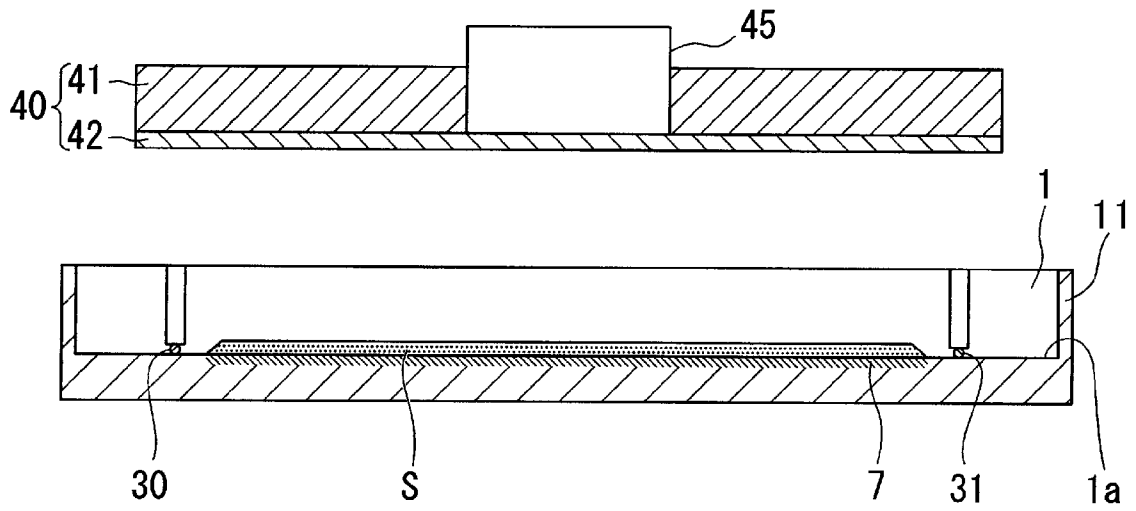


(b)

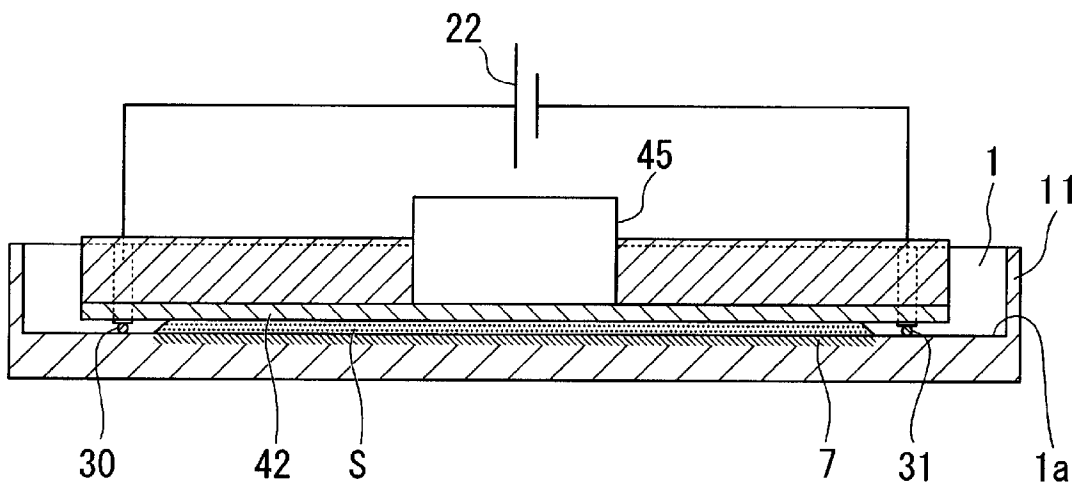


[図19]

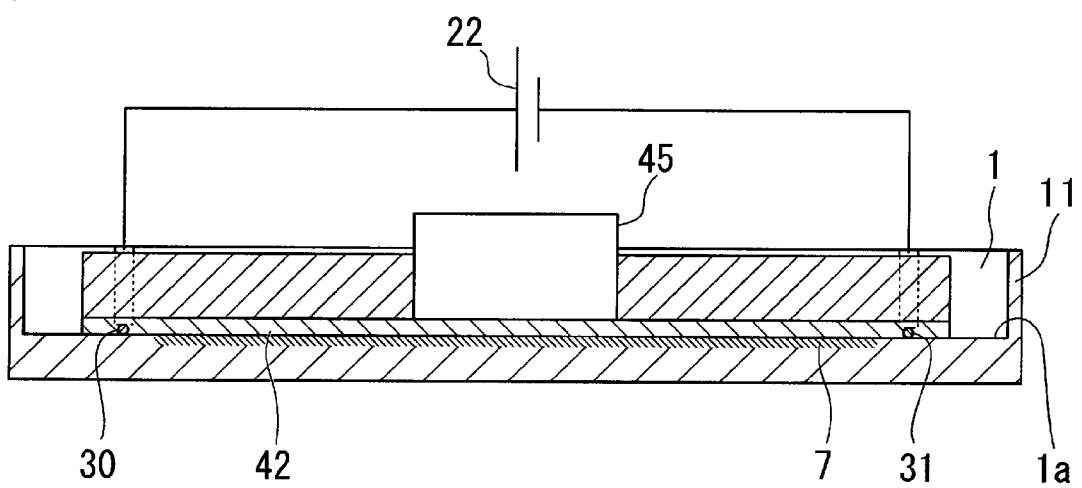
(a)



(b)

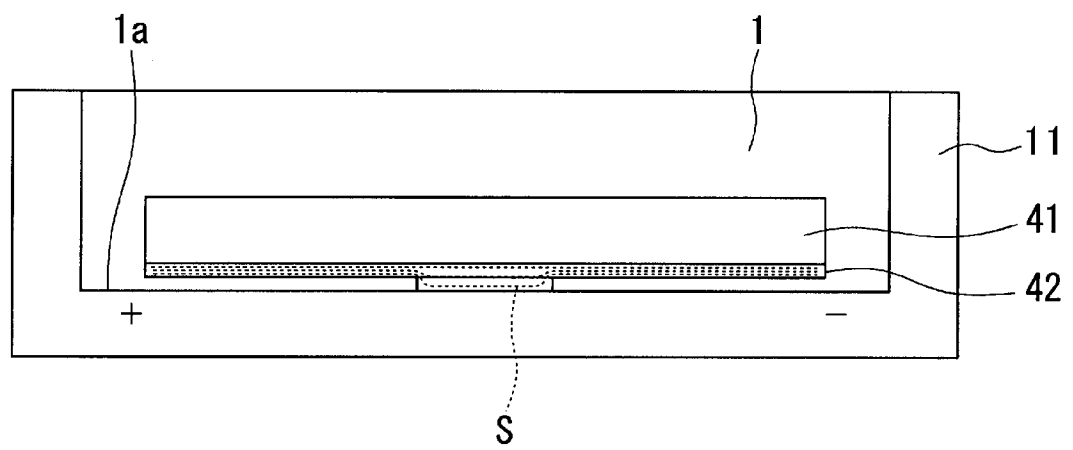


(c)

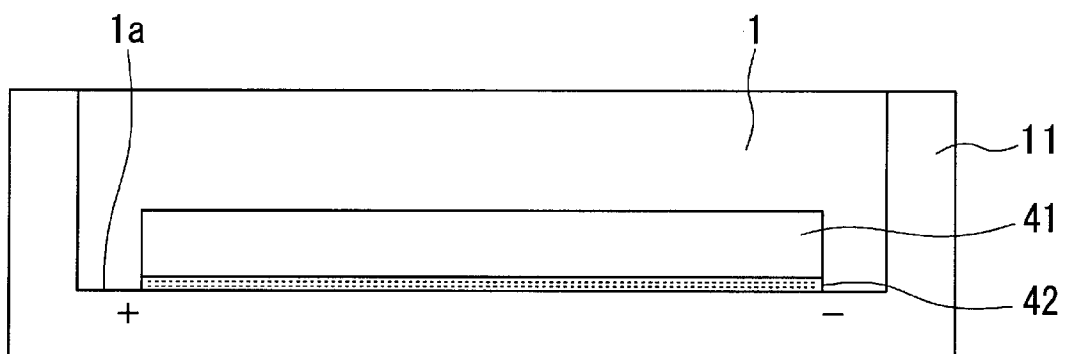


[図20]

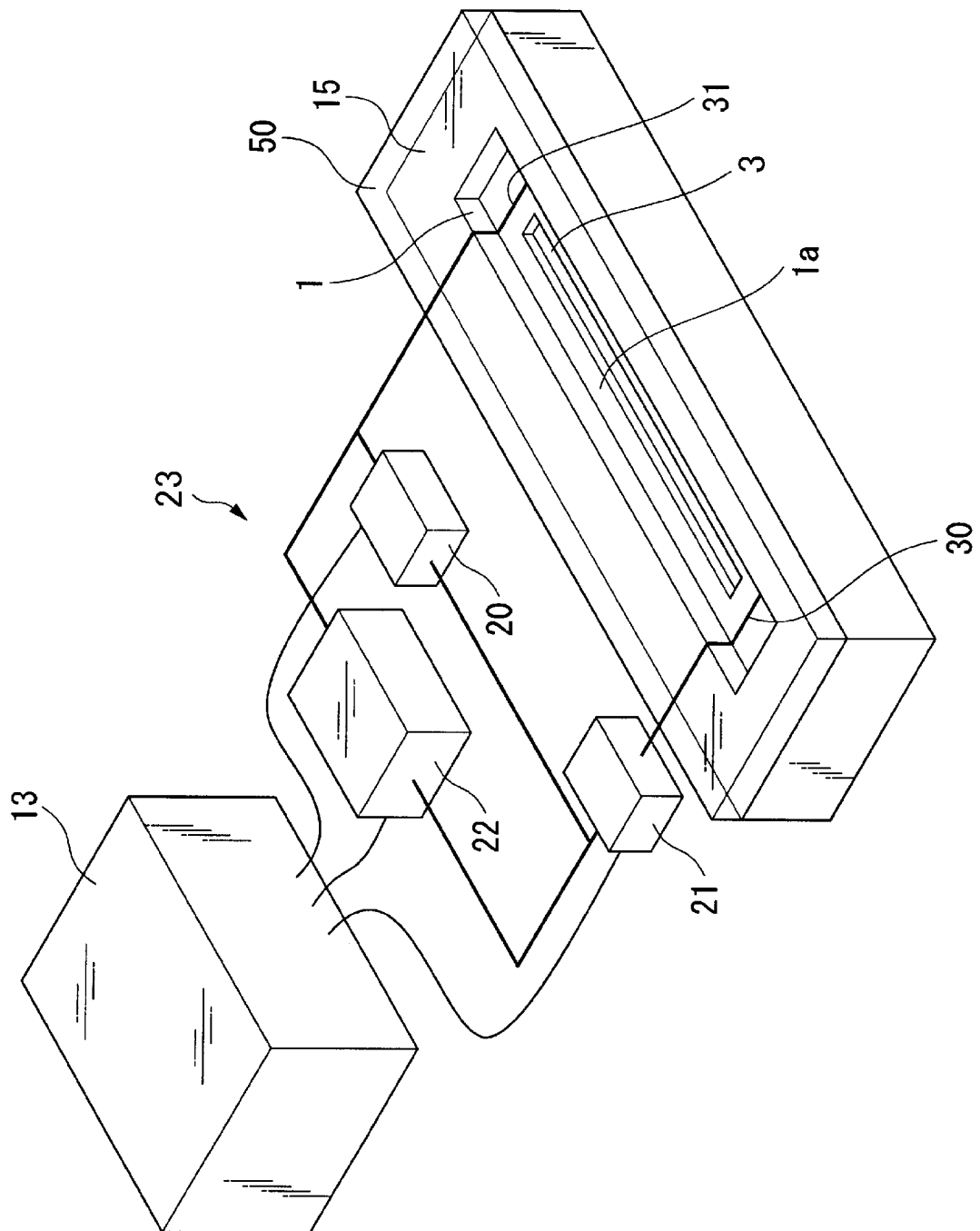
(a)



(b)

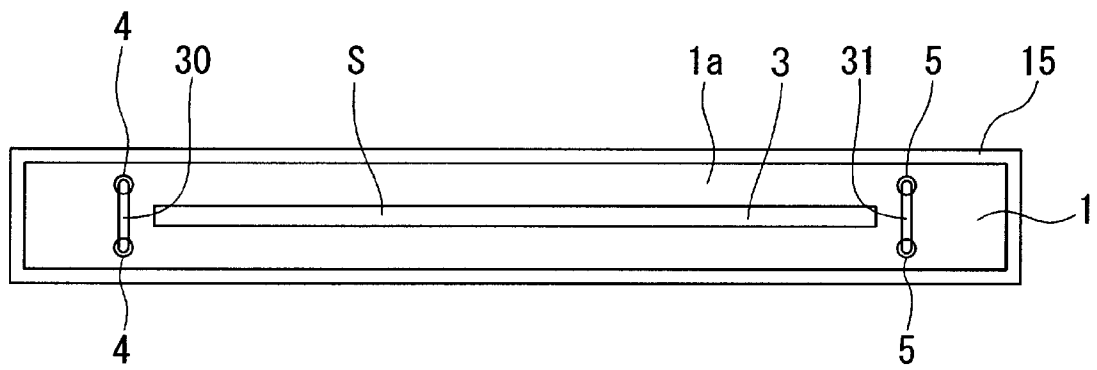


[図21]

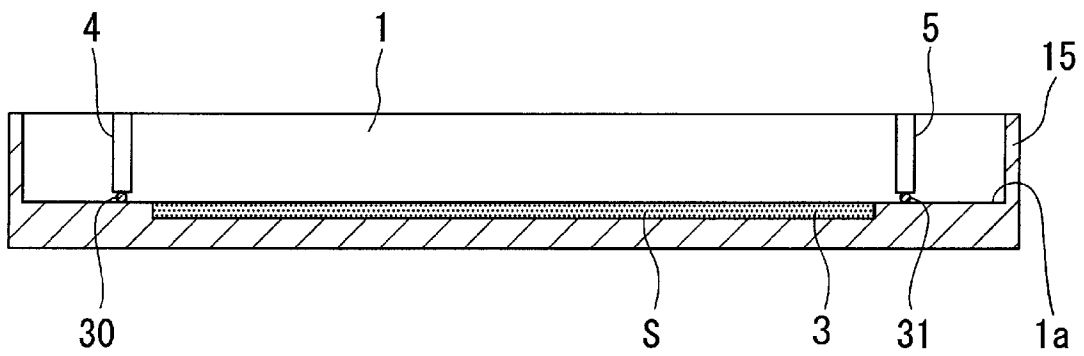


[図22]

(a)

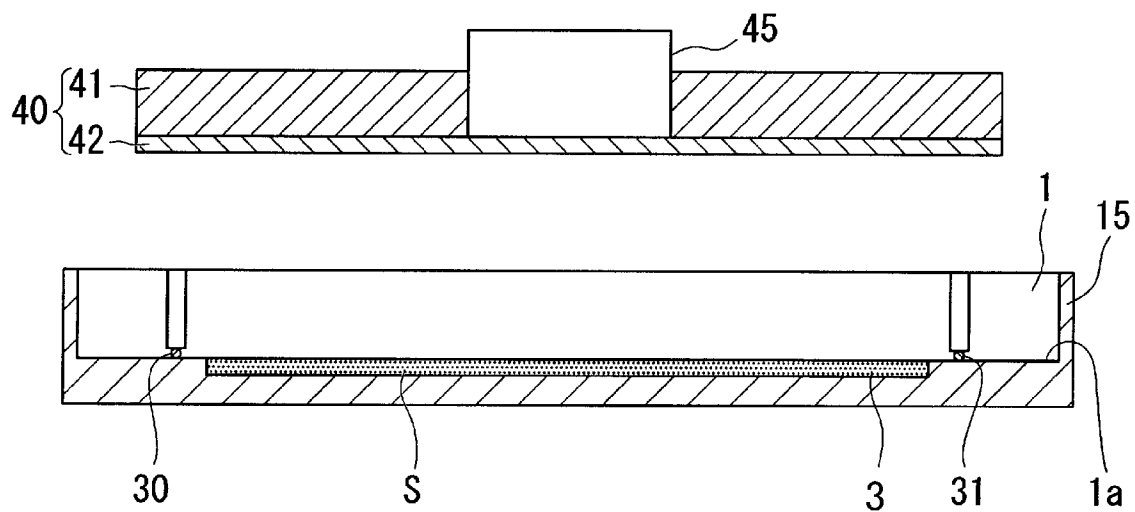


(b)

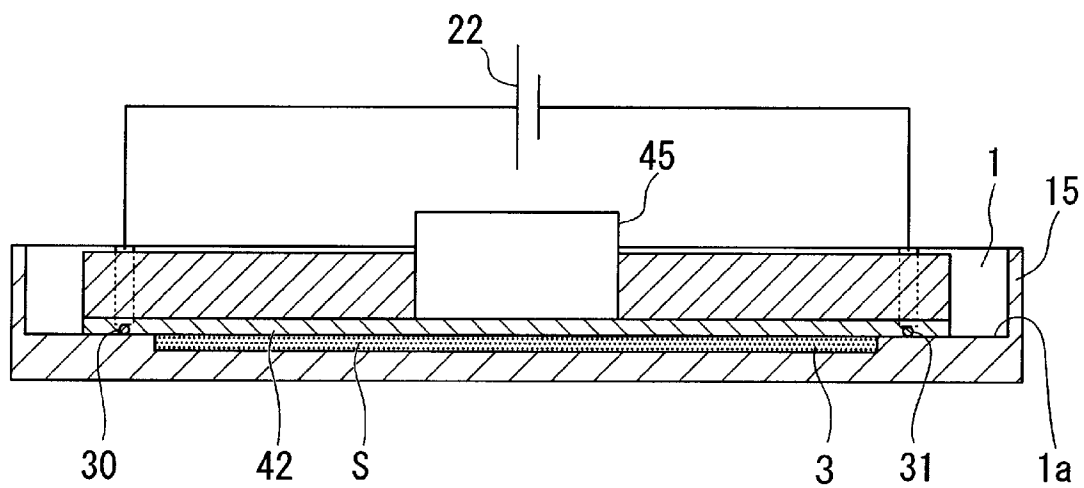


[図23]

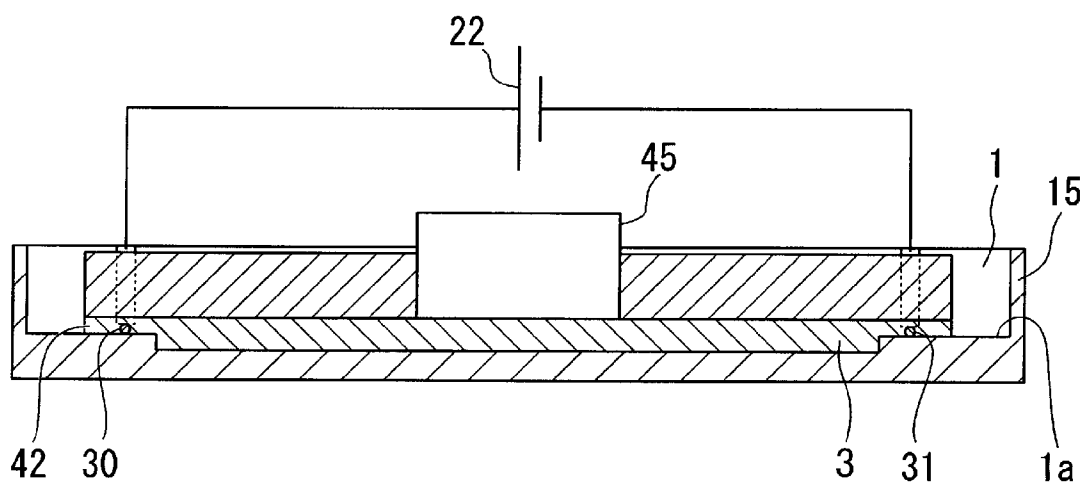
(a)



(b)

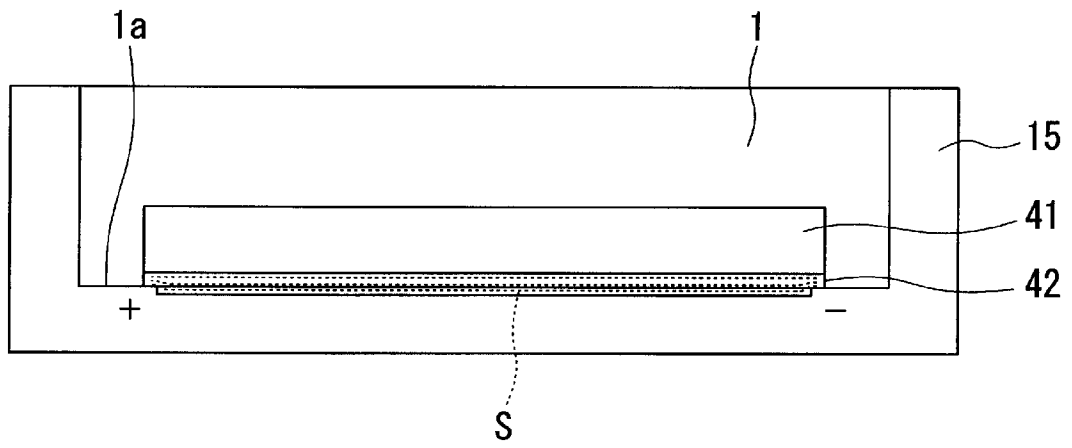


(c)

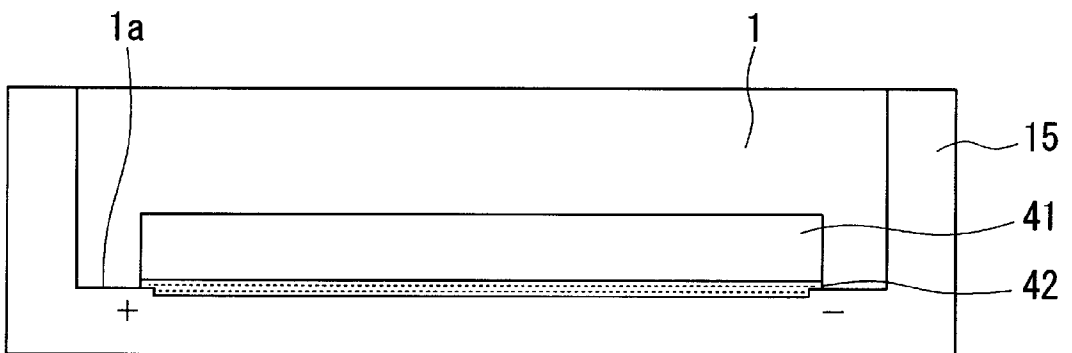


[図24]

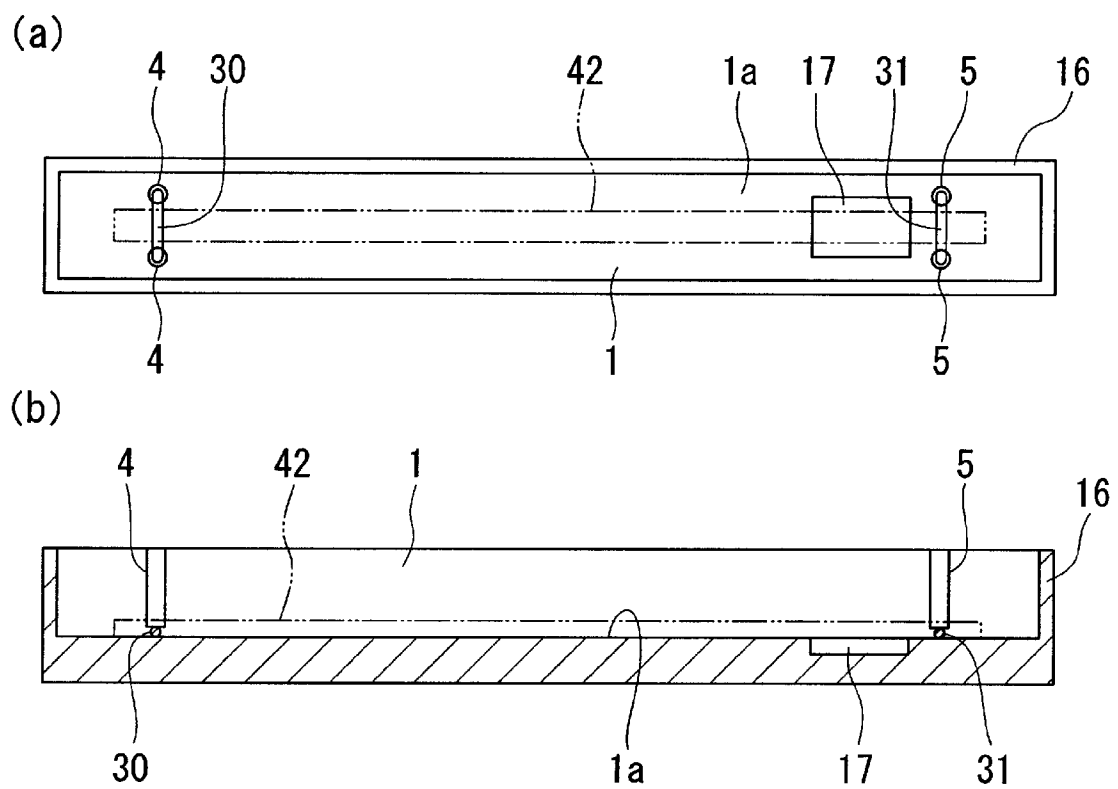
(a)



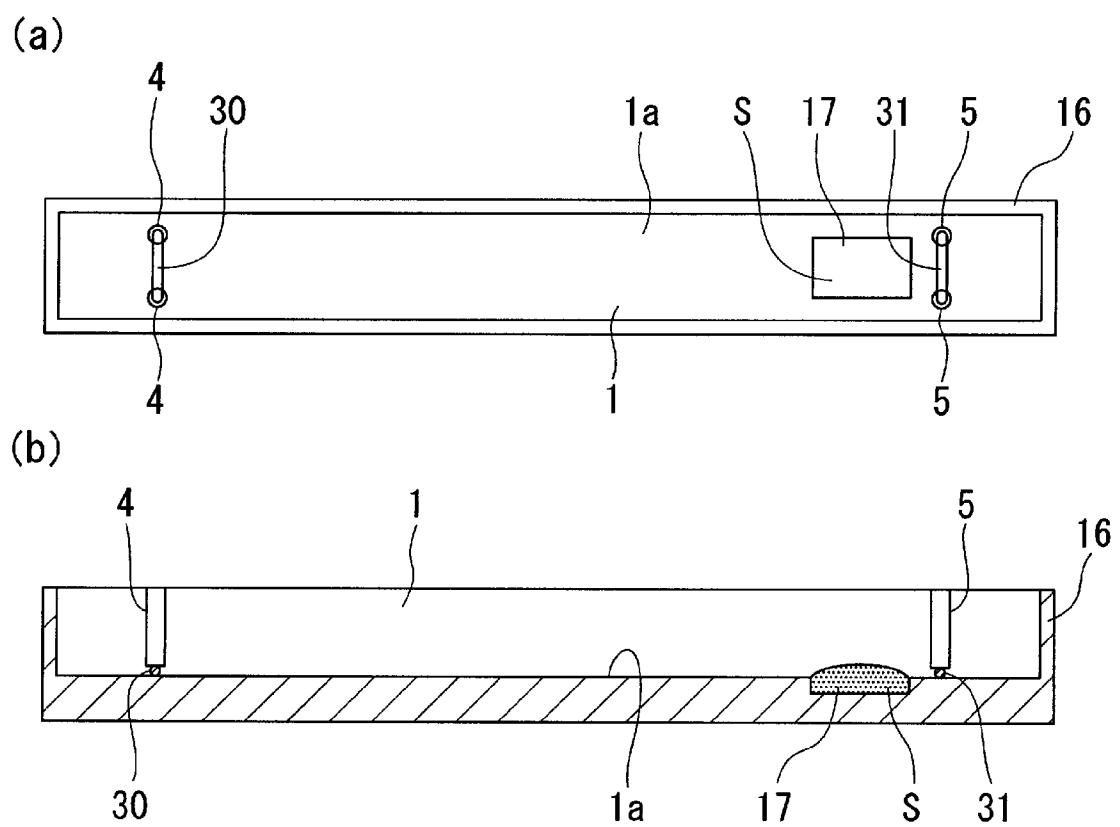
(b)



[図25]

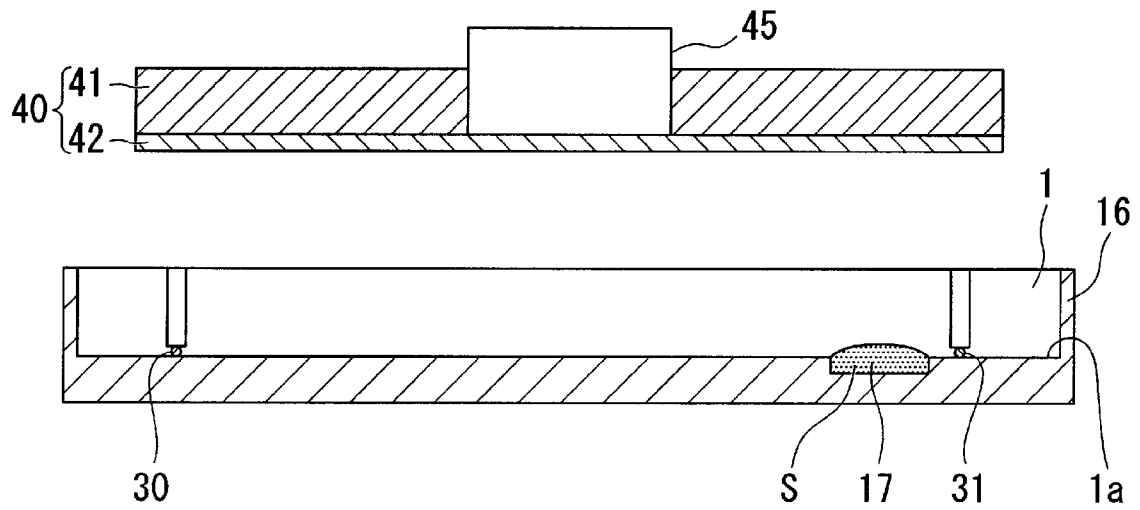


[図26]

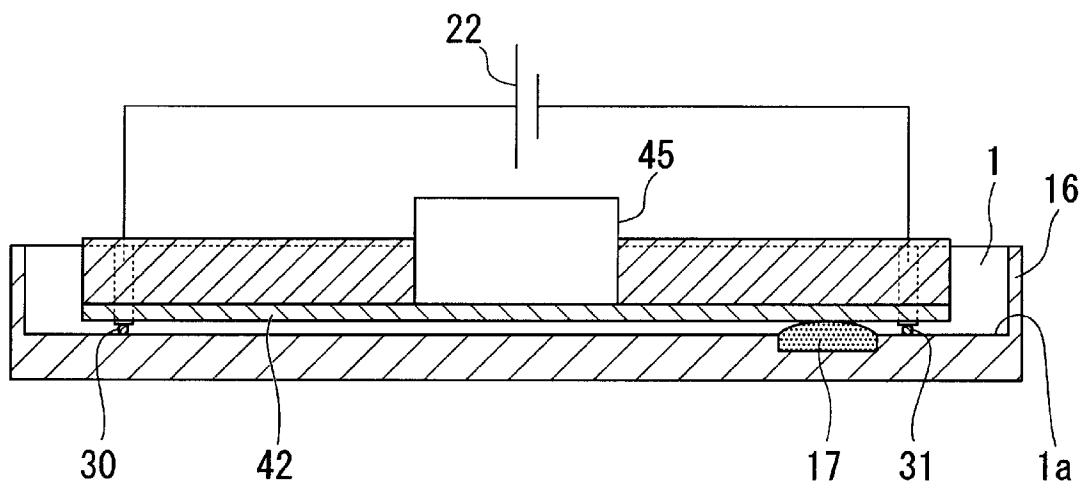


[図27]

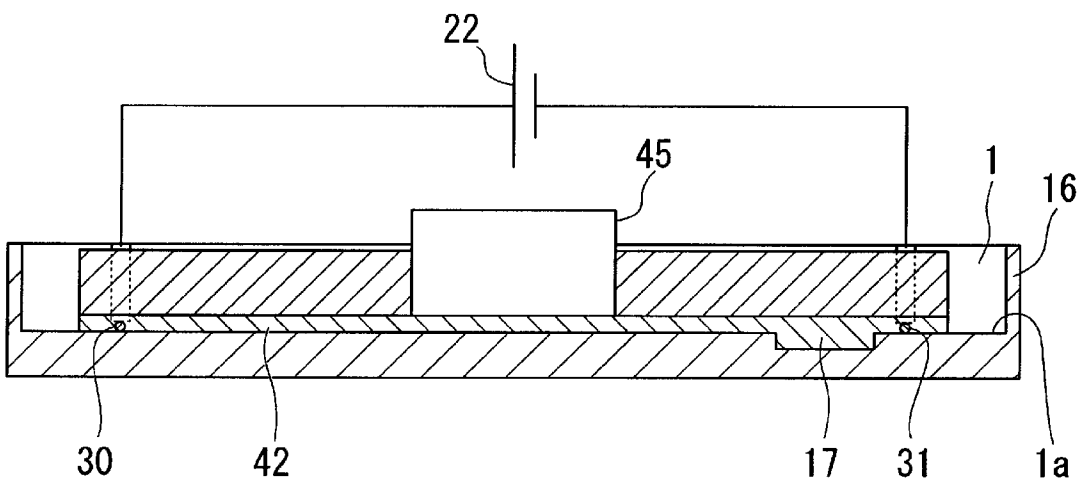
(a)



(b)

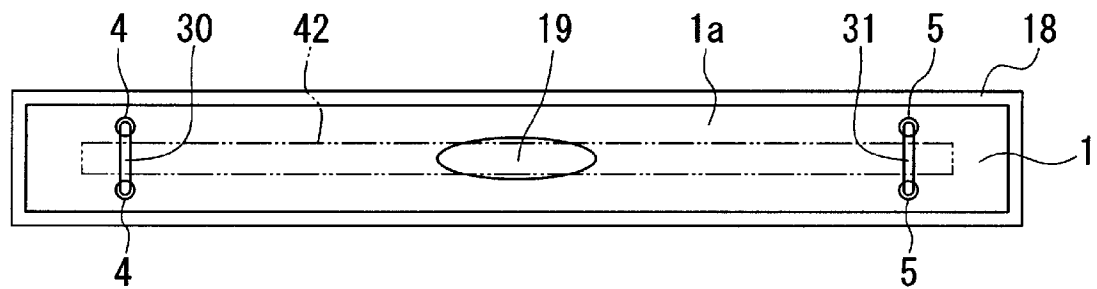


(c)

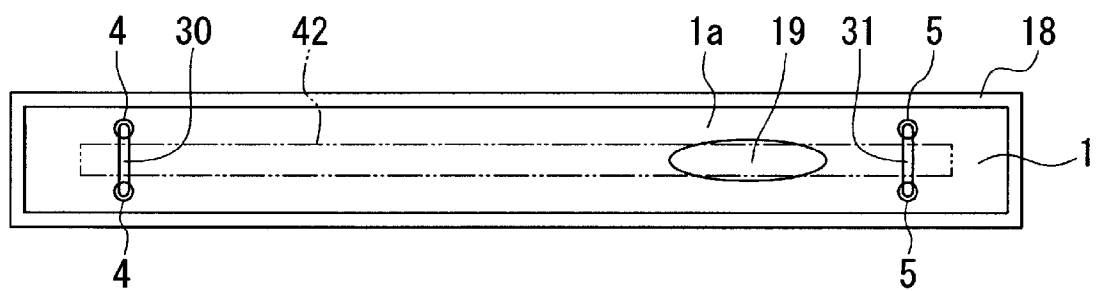


[図28]

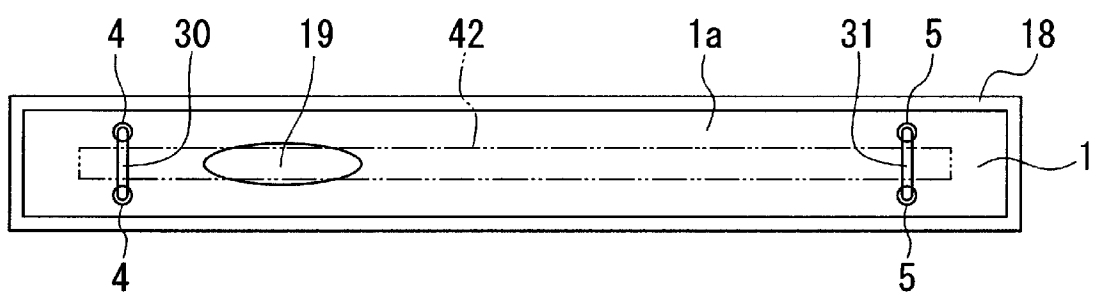
(a)



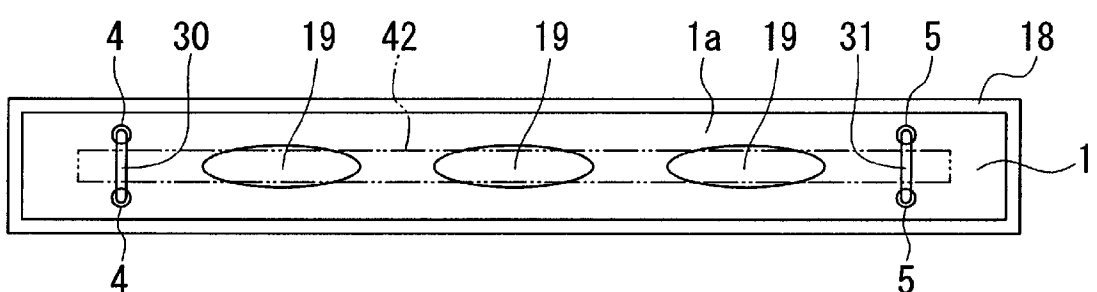
(b)



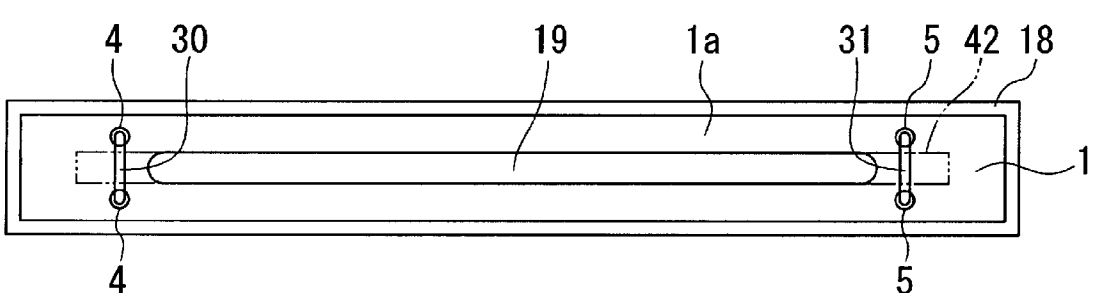
(c)



(d)



(e)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/067617

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N27/447(2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N27/447

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2008-164319 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 17 July 2008 (17.07.2008), claims; paragraphs [0015] to [0024]; fig. 1, 2 (Family: none)	1, 2-7, 8-11, 13, 14, 17, 19-24, 28, 31
Y	JP 2006-258685 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 28 September 2006 (28.09.2006), claims; paragraphs [0011] to [0018]; fig. 1 to 4 (Family: none)	1, 2-7, 8-11, 13, 14, 17, 19-24, 28, 31

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

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

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

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
23 August, 2013 (23.08.13)

Date of mailing of the international search report
10 September, 2013 (10.09.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/067617

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2007-64848 A (Sharp Corp.), 15 March 2007 (15.03.2007), claims; paragraphs [0138] to [0157]; fig. 1 to 5 & US 2007/0045118 A1	8-10, 13, 14, 28
A	JP 2005-345334 A (Shimadzu Corp.), 15 December 2005 (15.12.2005), entire text; all drawings (Family: none)	1-31
A	JP 61-104248 A (Hitachi, Ltd.), 22 May 1986 (22.05.1986), entire text; all drawings & US 4666581 A	1-31
A	JP 2004-69387 A (Moritex Corp.), 04 March 2004 (04.03.2004), entire text; all drawings (Family: none)	1-31

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N27/447 (2006.01) i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. 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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 3 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 3 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 3 年

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

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2008-164319 A（独立行政法人産業技術総合研究所）2008.07.17, 特許請求の範囲、【0015】－【0024】、第1, 2図（ファミリーなし）	1, 2-7, 8-11, 13, 14, 17, 19-24, 28, 31
Y	JP 2006-258685 A（独立行政法人産業技術総合研究所）2006.09.28, 特許請求の範囲、【0011】－【0018】、第1－4図（ファミリーなし）	1, 2-7, 8-11, 13, 14, 17, 19-24, 28, 31

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

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 3 . 0 8 . 2 0 1 3

国際調査報告の発送日

1 0 . 0 9 . 2 0 1 3

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

黒田 浩一

2 J

9 2 1 8

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2007-64848 A (シャープ株式会社) 2007. 03. 15, 特許請求の範囲、 【0 1 3 8】－【0 1 5 7】、第1－5図 & US 2007/0045118 A1	8-10、13、14、 28
A	JP 2005-345334 A (株式会社島津製作所) 2005. 12. 15, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-31
A	JP 61-104248 A (株式会社日立製作所) 1986. 05. 22, 全文、全図 & US 4666581 A	1-31
A	JP 2004-69387 A (株式会社モリテックス) 2004. 03. 04, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-31