(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第3793658号

(P3793658)

(45)発行日　平成18年7月5日(2006.7.5)　(24)登録日　平成18年4月14日(2006.4.14)

(51)Int.Cl.			F I		
C12M	1/38	(2006.01)	C12M	1/38	A
C12M	1/00	(2006.01)	C12M	1/00	A
C12Q	1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	A

請求項の数 4　(全 10 頁)

(21)出願番号　特願平10-296605
(22)出願日　平成10年10月19日(1998.10.19)
(65)公開番号　特開2000-125847(P2000-125847A)
(43)公開日　平成12年5月9日(2000.5.9)
審査請求日　平成15年2月25日(2003.2.25)

前置審査

(73)特許権者　000005108
株式会社日立製作所
東京都千代田区丸の内一丁目６番６号
(74)代理人　100077816
弁理士　春日　譲
(72)発明者　福圍　真一
茨城県ひたちなか市市毛８８２番地
株式会社　日立製作所　計測器事業部内
(72)発明者　前内原　紀江
茨城県ひたちなか市市毛８８２番地
株式会社　日立製作所　計測器事業部内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】生体試料処理装置

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

生体試料を収容した容器を支持する複数個のホルダーをブロックヒーターを用いて設定温度に保持する温度調節庫を有する生体試料処理装置であって、

複数個のホルダーは、温度調節庫内にて、上記複数個のホルダーどうしが密着するように配置され、これら密着して配置された複数個のホルダーを設定温度に保持する温度調節手段と、

上記温度調節庫内に新たなホルダーが入庫される動作に連動して、上記新たに入れられたホルダーを、上記温度調節庫内で一定期間温度補償する温度補償手段と、

上記密着して配置された複数個のホルダーのうちの一つと、上記一定期間温度補償されたホルダーとの間で熱を移動させるために、上記一定期間温度補償されたホルダーを、上記密着して配置された複数個のホルダーの一つに密着させる送り手段と、

を備える生体試料処理装置。

【請求項２】

請求項１記載の生体試料処理装置において、上記ホルダーは、長方形形状であり、上記送り手段は、一定期間温度補償されたホルダーの長手方向側面が、上記複数個のホルダーの一つの長手方向側面に密着させる生体試料処理装置。

【請求項３】

生体試料を収容した容器を支持する複数個のホルダーをブロックヒーターを用いて設定温度に保持する方法であって、

複数個のホルダーを温度調節庫内に上記ホルダーどうしが密着するように配置し、ヒータにより設定温度に保持し、

上記温度調節庫内に新たなホルダーが入庫される動作に連動して、上記新たに入れられたホルダーを、上記温度調節庫内で一定期間温度補償し、

上記密着して配置された複数個のホルダーのうちの一つと、上記一定期間温度補償されたホルダーとの間で熱を移動させるために、上記一定期間温度補償されたホルダーを、上記互いに密着して配置された複数個のホルダーの一つに密着させて、複数個のホルダーを設定温度に保持する方法。

【請求項４】

請求項３記載の複数個のホルダーを設定温度に保持する方法において、上記ホルダーは、長方形形状であり、一定期間温度補償されたホルダーの長手方向側面が、上記複数個のホルダーの一つの長手方向側面に密着させる複数個のホルダーを設定温度に保持する方。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生体試料の温度処理操作を自動化する装置に係わり、特に、遺伝子診断や検査分野において、生体、特には細菌、中でも結核菌から遺伝子を抽出、分離、精製する操作において、生体試料の溶解を自動化する装置に関する。

【０００２】

【従来の技術】

近年、遺伝子研究の発展に伴って、診断や検査部門において感染症、ガン、遺伝性疾患などの遺伝子診断や親子鑑定、個人識別検査など遺伝子を利用した様々な方法が広範囲に用いられるようになった。

【０００３】

遺伝子検査は、従来の細菌培養検査や抗原－抗体反応を利用した免疫検査などと比較して迅速性、微量検出、早期検出に優れており、今後増々発展していくと考えられる。特に、医療用遺伝子検査においては、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）、Ｂ型およびＣ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ、ＨＣＶ）または結核などの感染症などの急増に伴い、検査キットの開発など急速な発展を遂げ、さらに大量検体処理の要望が高まってきている。

【０００４】

このように、遺伝子検査は優れた検査方法であり、実用化に至っているが、検査手法は煩雑であり、熟練を要する技術である。このような状況の中、簡便性、省力化、大量処理、さらには検査担当者の安全性の観点から、遺伝子検査の自動化が望まれている。

【０００５】

上記のような遺伝子検査の工程は、検査試料からの（１）核酸の抽出工程、（２）核酸の精製工程、（３）核酸の増幅工程（ＤＮＡプローブ法など、必要としない方法もある）、（４）目的核酸の検出工程の４つの工程から構成されている。上記工程の中で、（３）及び（４）の工程は、既に自動機器が開発されている。

【０００６】

また、（１）及び（２）の工程については、特公平８－１５４３７号公報、特開平４－９９４７７号公報、特開平３－２２４４７４号公報に記載された自動化装置がある。

【０００７】

しかし、上述したような装置は、細胞内から核酸を遊離する操作において主にウイルスを対象にしている。ＨＩＶ、ＨＢＶやＨＣＶなどのウイルスや動物細胞は比較的脆弱なコート蛋白質や細胞膜に覆われているので、容易に細胞内から核酸を遊離できる。例えば、蛋白質変性剤である塩酸グアニジンを血清に添加し、６０℃、１０分間加熱することにより、ウイルスＲＮＡを得ている（臨床病理、４６、１５１－１５７、１９９８）。

【０００８】

一方、細菌は細胞壁に覆われており、酵素処理、熱処理、機械的な磨砕や超音波破砕など特別な処理を必要とする場合がある。中でも、結核菌は細胞壁中に多量のミコール酸を含

み、強固な細胞壁を形成しているため、遺伝子の抽出には困難を伴っている。このような場合、上述のような装置は、用手法による菌体の破砕処理を必要としている。

【０００９】

【発明が解決しようとする課題】

以上のように、従来技術はいずれも蛋白質変性剤や界面活性剤などで、細胞内から容易に生体分子を遊離できる場合に限られており、細菌など生体分子の遊離に特別な処理を必要とするような検体試料に対応できる自動化装置ではなかった。

【００１０】

本発明の目的は、酵素溶液、界面活性剤溶液、有機溶液、酸水溶液、アルカリ水溶液など生体試料から生体分子を遊離させるための処理液を含む試料溶液を一定時間、一定温度に保持する温度処理を行う温度調節器と自動化のために生体試料を移動する機構を有する自動化生体試料処理装置を実現することである。

【００１１】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するために、本発明は次のように構成される。

（１）生体試料を収容した容器を支持する複数個のホルダーをブロックヒーターを用いて設定温度に保持する温度調節庫を有する生体試料処理装置であって、複数個のホルダーは、温度調節庫内にて、上記複数個のホルダーどうしが密着するように配置され、これら密着して配置された複数個のホルダーを設定温度に保持する温度調節手段と、上記温度調節庫内に新たなホルダーが入庫される動作に連動して、上記新たに入れられたホルダーを、上記温度調節庫内で一定期間温度補償する温度補償手段と、上記密着して配置された複数個のホルダーのうちの一つと、上記一定期間温度補償されたホルダーとの間で熱を移動させるために、上記一定期間温度補償されたホルダーを、上記密着して配置された複数個のホルダーの一つに密着させる送り手段とを備える。

【００１２】

温度調節器内をホルダーを移動させる際に、ホルダーを互いに密着させることにより、ホルダーどうしの接触面から熱が移動する。従って、新たに温度調節器内に入ってきたホルダーは、既に温度調節器内にあるホルダーからも熱が移動することにより、迅速に一定温度に達することができる。

【００１３】

また、各ホルダーどうしが密着することにより、各ホルダー間の温度のばらつきが低減され、均一な温度が可能になる。

【００１４】

また、新たなホルダーが入る前段階にて、温度調節器とは独立した温度補償器でホルダー間を移動する熱量を補償することにより、迅速かつ精度の優れた温度制御が可能になる。

【００１５】

（２）好ましくは、上記（１）において、上記ホルダーは、長方形形状であり、上記送り手段は、一定期間温度補償されたホルダーの長手方向側面が、上記複数個のホルダーの一つの長手方向側面に密着させる。

【００１６】

（３）生体試料を収容した容器を支持する複数個のホルダーをブロックヒーターを用いて設定温度に保持する方法であって、複数個のホルダーを温度調節庫内に上記ホルダーどうしが密着するように配置し、ヒータにより設定温度に保持し、上記温度調節庫内に新たなホルダーが入庫される動作に連動して、上記新たに入れられたホルダーを、上記温度調節庫内で一定期間温度補償し、上記密着して配置された複数個のホルダーのうちの一つと、上記一定期間温度補償されたホルダーとの間で熱を移動させるために、上記一定期間温度補償されたホルダーを、上記互いに密着して配置された複数個のホルダーの一つに密着させて、複数個のホルダーを設定温度に保持する。

【００１７】

（４）好ましくは、上記（３）において、上記ホルダーは、長方形形状であり、一定期

間温度補償されたホルダーの長手方向側面が、上記複数個のホルダーの一つの長手方向側面に密着させる複数個のホルダーを設定温度に保持する。

【００２５】

【発明の実施の形態】

図１は、本発明の一実施形態である自動化体試料処理装置の主要部の概略構成図である。図１において、試料液を内包する長方形形状のホルダー１は、送り手Ａ２により、このホルダー１の長手方向に沿って移動され、温度調節庫５内に入れられる。そして、送り手Ｂ３によりホルダー１は、このホルダー１の長手方向にほぼ垂直な方向に、一個のホルダー１の幅寸法分だけ、図の上方向に移動される。このようにして、順次、温度調節庫５内に送られて来たホルダー１は、温度調節庫５内で、ホルダー１の長手方向側面どうしが互いに密着して配置される。そして、温度調整庫５内のホルダー１のうち、図の最上部に位置するホルダー１が、送り手Ｃ４により、このホルダー１の長手方向に移動され、温度調節庫５から外に排出される。

【００２６】

温度調節庫内５には、あらかじめ３個のホルダーが有り、送り手Ａ２、Ｂ３、Ｃ４により、ホルダー１は一個づつ送られ、温度調節庫５内には４個のホルダー１が、入庫され出庫されるまで滞留されることとなり、この滞留時間が温度処理設定時間となる。温度調節については、長方形形状の４本のヒータ７が、温度調節庫５内の、滞留される４つのホルダー１のそれぞれに対応する位置に配置され、温度調節器コントローラ６により、これら４本のヒータ７を処理設定温度に制御する。なお、この一実施形態におけるヒータ７は、加熱器のみを示すものではなく、冷却器を含むものである。

【００２７】

ここで、上記自動化生体処理装置において、温度調節器としては、ブロックヒータ（ドライバス）、定温水槽、送風定温槽、定温空気槽などを使用することが考えられる。しかし、定温水槽は、不凍液、水または油などを使用し、これらが試料容器に付着し移動することから、雰囲気の汚染などが発生しやすいため、生体試料処理装置には不適切である。また、定温空気槽は、試料の温度調節に時間がかかる点や温度制御が不均一になり易い問題があるため、これも生体試料処理装置には不適切である。

【００２８】

また、温度の不均一性を解消できる送風定温槽では、送風が直接当たる試料と当たらない試薬間とで温度が不均一になる問題や、送風方向により装置構成が制約または複雑になる問題がある。

【００２９】

以上の点を鑑み、ブロックヒータが温度制御、装置の簡素化および経済性に適していると考えられ、この実施形態においては、ブロックヒータが採用されている。

【００３０】

一方、温度補償器コントローラ８で制御される補償ヒータ９が、送り手Ａ２により入庫された直後のホルダー１の位置に対応する位置に配置されている。そして、温度調節庫５内にあるホルダー１から新たに温度調節庫５内に送られてきたホルダー１に移動する熱量相当を、ホルダー１が温度調節庫５内に送られ既に温度調節庫５内のあるホルダー１に接触する前から一定時間補償する。この場合、温度補償器コントローラ８は、ホルダー１が、温度調節庫５に入庫される動作に連動して、補償ヒータ９によるホルダー１の加熱を制御する。

【００３１】

また、温度調節庫５の底面は、熱伝導性の良好な材質、例えばアルミニウムでできており、上記の制御により一定時間温度勾配が生じる。

【００３２】

温度制御のポイントは、上述した温度勾配により、すでに温度調節庫５内にあるホルダー１が保持する試料液の温度が設定温度から変化しないようにする点である。ホルダー１から生体試料容器を通して試料液に熱が伝わる速度よりも、熱伝導率の高いホルダー１に温

度調節庫５内のヒータ７から熱が伝わる速度およびホルダー１間で熱が伝わる速度の方が速いので、この時間差の中で、温度補償を行うことにより上記温度変化を回避する。

【００３３】

なお、図１は、本発明を説明するために簡略に記載しており、温度調節庫５の側面や上面またはホルダー１の出入り口に温度調節機構や保温構造を有することが可能である。

【００３４】

図２は、分注機構を有する生体試料処理装置の一実施形態を示す図である。

図２において、分注機１０はＸ－Ｙアーム１１上を自由に動くことが可能で、Ｚ軸方向（図の紙面表裏方向）にも駆動できる。分注機１０はチップラック１２上のチップ１３をその先端に挿入し、処理液１４を分取した後、ホルダー１上にある試料容器中に添加する。処理液１４は複数種類の処理液が配置可能であり、添加位置も任意に設定できる。

【００３５】

試料容器内への処理液１４の添加が終了したホルダー１は送り手モータ１５により駆動される送り手Ａ２により温度調節庫５内に移動され、送り手Ｂ３により既に、温度調節庫５内にあるホルダー１と密着させられ、試料液の温度処理が開始される。このとき、送り手Ｄ１６によりホルダー１が、送り手Ａ２の方向に１ホルダー分だけ移動され、処理時間から計算された滞留時間になるように次の分注操作まで待機させられる。

【００３６】

次に、温度処理が終了したホルダー１は、送り手Ｃ４により温度調節庫５の外に取り出され、送り手Ｅ１７によりホルダーラック１８に乗せられる。なお、この段階のホルダー１の試料容器内にも処理液を添加することが可能である。

【００３７】

また、使用済みチップ１３はチップ回収部１９により、分注機１０の先端から離脱し回収され、分注機１０は次の操作まで待機する。

上記の操作を繰返すことで、多量のサンプルも自動的かつ連続的に処理することが可能になる。

【００３８】

図３は、ホルダーどうしを重ねたときに互いに１ｍｍの間隔が開くホルダーが保持する試料液の昇温時間と、互いに密着するホルダーが保持する試料液の昇温時間との相違結果を示すグラフであり、縦軸が温度を示し、横軸が時間（分）を示す。図３中のＡが重ねたときに１ｍｍの間隔が開くホルダーが保持する試料液の昇温時間であり、図中のＢが重ねたときに密着するホルダーが保持する試料液の昇温時間である。

【００３９】

図３に示すグラフから明らかなように、密着するホルダーの方が昇温が速く、６０℃到達時間において、間隔が開くホルダーより１．５分速い。特に、昇温開始１分までの温度の立上りに顕著な違いがあり、ホルダー側面からホルダー側面に伝わった熱量が、初期の昇温に寄与していると考えられる。

【００４０】

図４は、温度補償機構を使用しない場合であって、密着型のホルダーにおいて新たに温度調節庫５内にホルダーが入ってきた時の、温度調節庫５内に滞留していたホルダーが保持する試料液の液温の変化を示すグラフである。開始６．５分後に、新たなホルダーが滞留していたホルダーに接触すると、液温が約１℃低下した。これは、図３から予想されたように温度の低い新しいホルダーに熱を奪われたことが原因である。

【００４１】

図５は、本発明の温度補償機構（温度補償器コントローラ８、補償ヒータ９）を使用した場合であって、図４に示した結果が得られたと同じ温度調節器内に滞留していたホルダー内の試料液の液温の変化を示すグラフである。

【００４２】

図５において、開始６分後に新たなホルダーが接触した時、昇温速度は若干低下したものの液温の低下は見られず、本発明の温度補償効果があったと考えられる。

【００４３】
以上のように、本発明の一実施形態によれば、酵素溶液、界面活性剤溶液、有機溶液、酸水溶液、アルカリ水溶液など生体試料から生体分子を遊離させるための処理液を含む試料溶液を一定時間、一定温度に保持する温度処理を行う温度調節器と自動化のために生体試料を移動する機構を有する自動化生体試料処理装置を実現することができる。
【００４４】
つまり、従来のように、ホルダーどうしを密着させない場合には、熱が移動するのはヒータとホルダーとが接触する面であり、主にホルダーの底面、側面や上面である。
【００４５】
これに対して、本発明のように、温度調節庫５（温度調節器）内をホルダー１単位で順次移動させる際にホルダー１同士を接触させ密着させる場合はホルダー１同士の接触面からも熱が移動することになる。従って、新たに温度調節器５に入ってきたホルダー１は、既に温度調節器５内にあるホルダー１からも熱が移動することにより、迅速に一定温度に達することができる。
【００４６】
また、各ホルダー１同士が密着することにより、ホルダー１間の温度のばらつきが低減され、均一な温度が可能になる。しかし、温度調節器５内にあるホルダー１は熱が移動することにより、温度が変化する。
【００４７】
そこで、新たなホルダー１が入る温度調節器５部分に、本体とは別に独立した温度補償器（８、９）でホルダー１間を移動する熱量を補償することにより、迅速かつ精度の優れた温度制御が可能になる。
【００４８】
この場合ヒータ面は連続しているために一定時間以上に補償温度を保つと温度調節器本体の設定温度の精度が悪化するので、制御温度に保つ時間はホルダーの移動に連動して設定される。尚、設定温度及び設定時間はヒータ容量、ホルダーサイズ、温度環境により決定される。
【００４９】
また、図２に示した、分注機構を有する生体試料処理装置の実施形態においては、生体試料容器を支持するホルダー１が連続的に移動しながら保温可能な温度調節器５と、細胞処理液１４を生体試料容器内に添加する分注機１０から構成される生体試料処理装置を備え、（１）生体試料容器に処理液１４を分注する工程、（２）ホルダー１を温度調節器５に移動する工程、（３）生体試料容器を一定時間一定温度に保持する工程からなる。
【００５０】
そして、上記工程（１）、（２）、（３）を任意の回数繰り返すことや各工程の組替えや組み合わせも可能である。また、工程（３）の後に温度調節器５とは別に独立した温度調節器により一定温度に試料を保持することも可能である。例えば、１．菌体にドデシル硫酸ナトリウム／水酸化ナトリウムを添加し、一定時間、保温処理する工程、２．菌体にリゾチーム、リパーゼ、サブチリシンなどの酵素溶液を添加し、保温処理により十分に酵素反応させた後、ドデシル硫酸ナトリウム、ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル等の界面活性剤により核酸を遊離させる工程などが挙げられる。
【００５１】
また、生体試料としては喀痰、尿、便、血液、髄液、体毛および臓器、皮膚、骨などの組織片、さらにこれらに含まれている微生物（マイコバクテリウム科を含む）、ウイルス、原虫が対象となる。また、生体分子としてはＤＮＡ、ＲＮＡ、ｍＲＮＡ、蛋白質などが対象となる。
【００５２】
また、生体試料を内包する容器を支持するホルダー１の材質は、熱伝導率が高く成型可能であれば良く、例えば金属、中でもアルミニウムなどが対象となる。
【００５３】

生体試料から生体分子を遊離させるための処理液として界面活性剤溶液が利用でき、例えばドデシル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、Ｎ－ラウロイルサルコシンナトリウム、ポリオキシエチレン（１０）オクチルフェニルエール、ポリオキシエチレン（９）オクチルフェニルエーテルおよびポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートなどが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【００５４】

また、生体試料から生体分子を遊離させるための処理液として酵素溶液が利用でき、例えばリゾチーム、プロテイナーゼＫ、プロナーゼ、ズブチリシンなどが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【００５５】

また、生体試料から生体分子を遊離させるための処理液として有機溶液が利用でき、例えばエタノール、フェノール、クロロホルム、軽油などが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【００５６】

また、生体試料から生体分子を遊離させるための処理液として酸水溶液が利用でき、例えば塩酸、硫酸、硝酸などが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【００５７】

また、生体試料から生体分子を遊離させるための処理液としてアルカリ水溶液が利用でき、例えば水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウムなどが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【００５８】

また、上記生体試料から生体分子を遊離させるための処理液はキレート化剤を含むことができ、例えばＥＤＴＡ、ＥＧＴＡなどが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【００５９】

また、上記生体試料から生体分子を遊離させるための処理液はカオトロピック剤を含むことができ、例えばグアニジン塩酸、グアニジンチオシアン塩酸などが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【００６０】

さらに、上記生体試料から生体分子を遊離させるための処理液はそれぞれどのような組み合わせでも利用することが可能であり、何ら限定されない。

【００６１】

【発明の効果】

本発明によれば、酵素溶液、界面活性剤溶液、有機溶液、酸水溶液、アルカリ水溶液など生体試料から生体分子を遊離させるための処理液を含む試料溶液を一定時間、一定温度に保持する温度処理を行う温度調節器と自動化のために生体試料を移動する機構を有する自動化生体試料処理装置を実現することができる。

【００６２】

また、本発明によれば、試料溶液を一定時間、一定温度に保持する温度処理を迅速かつ高精度に連続して行うこと及び構造が簡便で安価な装置構成が可能となり、生体試料から生体分子を効率よく遊離させるための生体試料処理装置を実現することができる。

【図面の簡単な説明】

【図１】本発明の一実施形態である自動化体試料処理装置の主要部の概略構成図である。

【図２】分注機構を有する生体試料処理装置の一実施形態を示す図である。

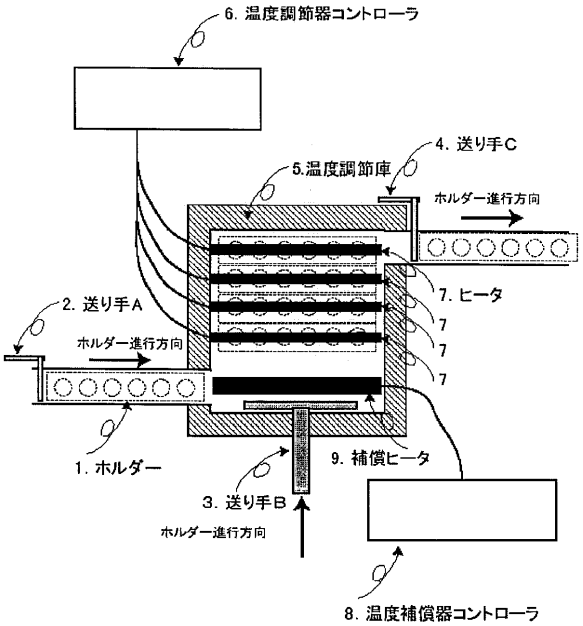
【図３】ホルダー同士を接触させない場合と接触させた場合の試料溶液の液温変化の違いを例を示すグラフである。

【図４】ホルダー密着式の加熱処理において温度補償がない場合の試料溶液の温度変化の例を示すグラフである。

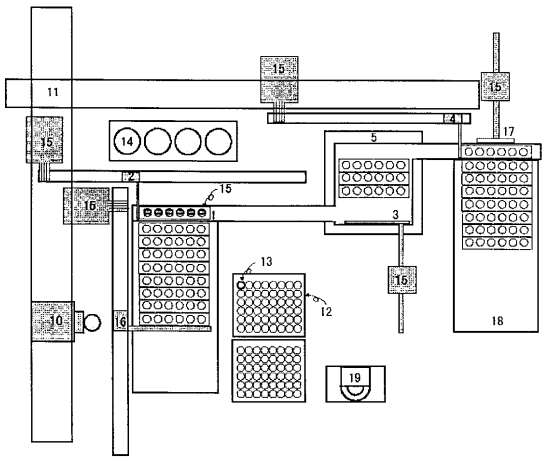
【図５】ホルダー密着式の加熱処理において温度補償した場合の試料溶液の温度変化の例を示すグラフである。

【符号の説明】
1　ホルダー
2　送り手Ａ
3　送り手Ｂ
4　送り手Ｃ
5　温度調節庫
6　温度調節器コントローラ
7　ヒータ
8　温度補償器コントローラ
9　補償ヒータ
１０　分注機
１１　Ｘ－Ｙアーム
１２　チップラック
１３　チップ
１４　処理液
１５　送り手モータ
１６　送り手Ｄ
１７　送り手Ｅ
１８　ホルダーラック
１９　チップ回収部

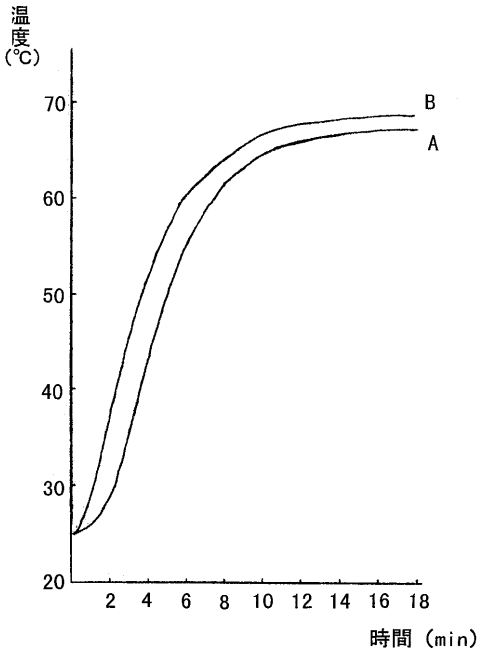
【図１】



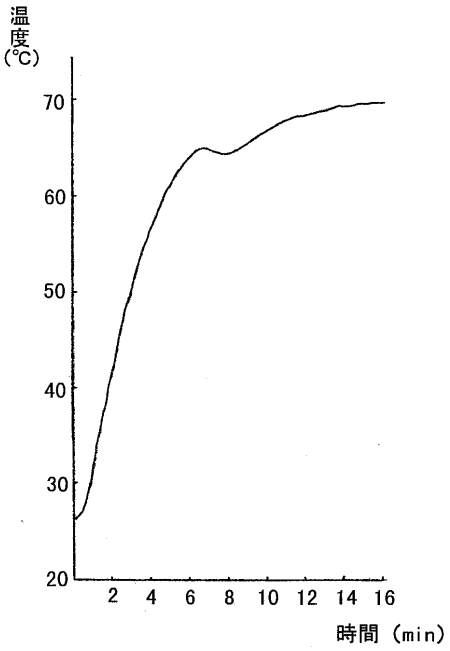
【図２】



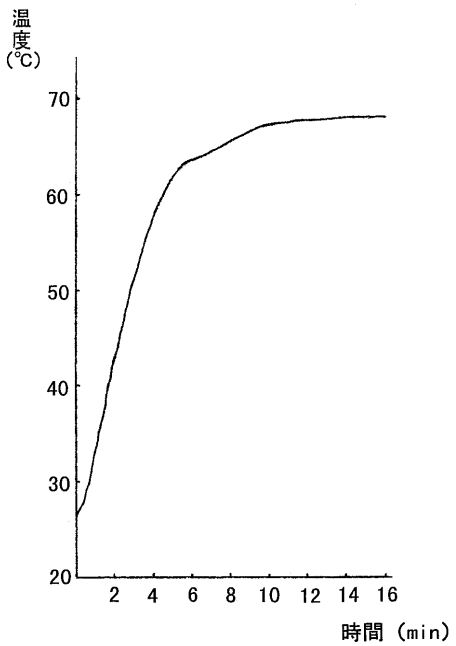
【図３】


温度
(℃)
70
60
50
40
30
20
B
A
2 4 6 8 10 12 14 16 18
時間（min）

【図４】


温度
(℃)
70
60
50
40
30
20
2 4 6 8 10 12 14 16
時間（min）

【図５】


温度
(℃)
70
60
50
40
30
20
2 4 6 8 10 12 14 16
時間（min）

フロントページの続き

(72)発明者　桜井　智也
茨城県ひたちなか市市毛８８２番地　株式会社　日立製作所　計測器事業部内
(72)発明者　保田　健二
茨城県ひたちなか市市毛８８２番地　株式会社　日立製作所　計測器事業部内

審査官　高堀　栄二

(56)参考文献　特開平０３－１８３４６９（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
C12M1/00-3/00
BIOSIS/WPI(DIALOG)
PubMed
JSTPlus(JDream2)