

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4792192号
(P4792192)

(45) 発行日 平成23年10月12日(2011.10.12)

(24) 登録日 平成23年7月29日(2011.7.29)

(51) Int.Cl.

F 1

B 03 C	1/00	(2006.01)	B 03 C	1/00	B
B 01 D	43/00	(2006.01)	B 01 D	43/00	Z
C 12 M	1/00	(2006.01)	C 12 M	1/00	A
C 12 M	1/38	(2006.01)	C 12 M	1/38	Z
C 12 N	15/09	(2006.01)	C 12 N	15/00	A

請求項の数 8 (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2001-585934 (P2001-585934)
 (86) (22) 出願日 平成13年5月17日 (2001.5.17)
 (65) 公表番号 特表2004-515333 (P2004-515333A)
 (43) 公表日 平成16年5月27日 (2004.5.27)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2001/015882
 (87) 國際公開番号 WO2001/089705
 (87) 國際公開日 平成13年11月29日 (2001.11.29)
 審査請求日 平成20年5月19日 (2008.5.19)
 (31) 優先権主張番号 09/573,540
 (32) 優先日 平成12年5月19日 (2000.5.19)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 595117091
 ベクトン・ディキンソン・アンド・カンパニ
 BECTON, DICKINSON AND COMPANY
 アメリカ合衆国 ニュー・ジャージー O
 7417-1880 フランクリン・レイクス ベクトン・ドライブ 1
 1 BECTON DRIVE, FRANKLIN LAKES, NEW JERSEY 07417-1880, UNITED STATES OF AMERICA
 (74) 代理人 100077481
 弁理士 谷 義一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】液体サンプル内の磁気応答性粒子を操作し、サンプルからDNA又はRNAを収集するシステム及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

それに結合される核酸分子を有し、少なくとも1つのチューブ内に入れられている溶液内に存在する磁気応答性粒子を操作するシステムであって、

前記チューブをその中に受け入れるのに適した少なくとも1つのチューブ用開口を有するチューブ収納容器と、

少なくとも1つの第1の磁石と、

前記第1の磁石を、前記チューブの内壁に向かって前記磁気応答性粒子を引きつけるための前記チューブに対する第1の位置と前記磁気応答性粒子が前記溶液内を浮遊することが許されるための前記チューブに対する第2の位置との間を、選択的に移動させるのに適した磁石移動装置と、そして

前記第1の磁石が前記第2の位置に置かれている時、前記第1の磁石により前記磁気応答性粒子に課せられた磁化を取り除くべく前記磁気応答性粒子に交流磁界をかけるのに適した交流電磁石を含む第2の磁石と、

を備えることを特徴とするシステム。

【請求項2】

前記第2の磁石は、前記チューブに対して静止していることを特徴とする請求項1に記載のシステム。

【請求項3】

前記第1及び第2の磁石は、前記チューブの対向する側面に配置されていることを特徴

とする請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 4】

前記磁石移動装置は、カムとカム駆動装置とを備え、前記カム駆動装置は、前記カムを動かし、前記第 1 の磁石を前記第 1 及び第 2 の位置との間で移動させるのに適していることを特徴とする請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 5】

前記磁石移動装置は、
そこに第 1 の開口を有する少なくとも 1 つの第 1 のパネルと、
そこに少なくとも 1 つの第 2 の開口を有し、前記第 1 の開口に対して横に延びる少なくとも 1 つの第 2 のパネルと、そして

10

前記第 1 の磁石に連結され、前記第 1 及び第 2 の開口を貫通する延長部と、
を備え、

前記第 2 のパネルは、前記延長部に駆動力を適用し、前記延長部を前記第 1 と第 2 の位置との間で前記第 1 及び第 2 の開口に沿って移動させるべく前記第 1 のパネルに対して移動するのに適していることを特徴とする請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 6】

前記第 2 のパネルを動かし、前記第 1 のパネルに対して移動させるのに適したモータをさらに備えることを特徴とする請求項 5 に記載のシステム。

【請求項 7】

それに結合される核酸分子を有し、少なくとも 1 つのチューブ内に入れられている溶液内に存在する磁気応答性粒子を操作する方法であって、

20

チューブ収納容器のチューブ受け入れ用開口に前記チューブを受け入れ、

第 1 の磁石を、前記チューブの内壁に向かって前記磁気応答性粒子を引きつけるための前記チューブに対する第 1 の位置へ、及び前記磁気応答性粒子が前記溶液中を浮遊するこ
とが許されるための前記チューブに対する第 2 の位置へ選択的に移動させ、そして

前記第 1 の磁石が前記第 2 の位置に置かれている時、前記第 1 の磁石により前記磁気応答性粒子に課せられた磁化を取り除くべく前記磁気応答性粒子に交流磁界をかけることを特徴とする方法。

【請求項 8】

前記第 1 の磁石は、カムに連結され、

30

前記選択的移動ステップは、前記カムを動かし、前記第 1 の磁石を前記第 1 及び第 2 の位置との間で移動させるステップを備えることを特徴とする請求項 7 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の背景)

(発明の分野)

本発明は、液体サンプル内の磁気粒子を処理し、該粒子に結合した DNA 又は RNA を効率的かつ効果的に収集するシステムと方法に関する。より詳細には、本発明は、磁気粒子に結合した DNA 又は RNA が液体サンプルから分離ができるよう、液体サンプル中の磁気粒子を保持及び解放するための移動可能な磁石を利用するシステム及び方法に関する。

40

【0002】

(従来技術の説明)

核酸塩基配列決定、拡散ハイブリッド形成による特定の核酸塩基配列決定の直接検出、及び拡散塩基配列決定増幅技術のようないろいろな分子生物学的方法論は、核酸 (DNA 又は RNA) が、残存する細胞様の成分から分離されることを必要としている。このプロセスは、一般的に、サンプル・チューブ内の細胞を収集するステップ及び細胞を熱と、細胞を破裂させチューブ内の溶液中に核酸 (DNA 又は RNA) を解放させる試薬とで溶解するステップを含んでいる。次に、チューブは、遠心分離機内に置かれ、サンプルは、細胞のいろいろな成分がチューブ内で密度層に分けられるように沈降する。核酸層は、ピペッ

50

ト又は何らかの適切な器具によりサンプルから取り除かれ得る。次に、サンプルは、洗浄され、フルオレセインプローブのような適切な試薬で処理され得る。その結果、核酸は、BD プローブテック (BDProbeTec、登録商標) E T システムのような装置内で検出され得る。当該 E T システムは、ベクトン・ディッキンソン・アンド・カンパニー (Becton Dickinson and Company) 社で製造され、アンドリュース (Andrews) 等の米国特許第 6,043,880 号明細書に記載されている。その全内容は、本願に引用して援用されている。細胞サンプルから核酸を分離させるための現在の技術は、概ね適切であるけれども、そのような方法は、時間がかかり、複雑であることが一般的である。さらに、遠心分離プロセスは、核酸を別の細胞成分から分離するのに概ね効果的であるけれども、核酸と同じか又は同程度の密度を有するある種の不純物も核酸層に収集され得るものであり、核酸を持つ細胞サンプルから取り除かれなければならない。

【0003】

近年、核酸を細胞の残存成分からさらに効果的に分離することが可能である技術が発展してきている。このような技術は、常磁性粒子の使用を含み、マセウ・ピー・コリス (Matthew P. Collis) の米国特許第 5,973,138 号明細書に記載されている。その全内容は、本願に引用して援用されている。

【0004】

この技術において、常磁性粒子は、細胞サンプルとともに緩衝溶液中に置かれる。細胞サンプルが溶解され、核酸を解放した後、酸性溶液は、粒子と混合され、核酸は、常磁性粒子に可逆的に結合される。次に、常磁性粒子は、遠心分離、ろ過及び磁力のような公知の技術により溶液の残存物から分離され得る。次に、核酸が結合されている常磁性粒子は、溶液から取り除かれ、核酸を磁性粒子から自由ににさせる適當な緩衝溶液中に置かれ得る。次に、常磁性粒子は、上記技術のいずれかにより核酸から分離される。

【0005】

磁性粒子を操作するシステム及び方法の例は、米国特許第 3,988,240 号、4,895,650 号、4,936,687 号、5,681,478 号、5,804,067 号及び 5,567,326 号各明細書、欧州特許出願第 EP 90 552 A1 号明細書、及び PCT 出願第 WO 96/09550 号明細書に記載されている。前記各文献の全内容は、本願に引用して援用されている。

【0006】

磁性又は常磁性粒子操作技術は、核酸を細胞サンプルから分離し、採取するのに効果的であるけれども、磁性又は常磁性粒子を操作する改良された技術がさらに効果的な分離方法を提供するという要求がある。

【0007】

(発明の概要)

本発明の目的は、核酸分子が溶液内で結合され、溶液中の残存成分から核酸分子を効果的に分離する、酸化鉄粒子、磁性、強磁性又は常磁性粒子、又は磁界に応答するその他の粒子のような、磁気応答性粒子を操作する改良されたシステム及び方法を提供することにある。

【0008】

本発明のさらなる目的は、細胞溶液の温度を変更し、核酸分子が溶液中で磁気応答性粒子に結合された状態になることを可能とする溶解技術を実行することはもちろん、磁気応答性粒子を操作し、溶液の残存成分から核酸を適切に分離することを可能とするシステム及び方法を提供することにある。

【0009】

本発明のさらなる目的は、核酸分析調製システム用のシステム及び方法を提供することにある。この核酸分析調製システムは、溶解技術を実行するのに適するようにサンプル溶液を加熱及び冷却することを可能とし、溶解された細胞サンプルの核酸分子が結合された状態になる磁気応答性粒子を操作することをさらに可能とし、その結果、分析調製システムは、核酸分子を充分洗浄し、核酸分子をサンプル分析に置くことができる。

10

20

30

40

50

【0010】

これらの及び他の目的が、サンプル溶液中の核酸分子結合された磁気応答性粒子を操作し、該分子を溶液中の残存成分から分離するシステム及び方法を提供することにより実質上達成される。システム及び方法は、細胞溶液、酸化鉄粒子のような磁気応答性粒子及び酸性溶液が入っている少なくとも1つのサンプル・チューブを収納するチューブ収納容器を含んでいる。チューブ収納容器は、核酸分析を準備するシステムとともに使用するのに適している。チューブ収納容器は、細胞溶液を加熱し、細胞を溶解することを可能とし、核酸分子を磁気応答性粒子に結合状態にすることを可能とする、熱電素子のような加熱及び冷却ユニットを含んでいる。熱電素子もまた、必要とされる場合溶液を急速に冷却するために、使用され得る。チューブ収納容器は、分析調製システムが細胞溶液の残存物を取り除き、粒子を洗浄する間に、チューブの外壁近傍に移動され、分子結合された磁気応答性粒子をチューブ側面に引きつけることができる移動可能な磁石をさらに含んでいる。次に、移動可能な磁石は、分子結合した磁気応答性粒子がチューブの壁から解放されるように、チューブから遠ざかるよう移動される得る。その結果、分析調製システムは、核酸を磁気応答性粒子から自由な状態にさせる適當な緩衝溶液のような溶出試薬を吐出し得る。チューブ収納容器は、チューブに代替磁界を提供すべく活性化される電磁石をさらに含み、磁気応答性粒子が溶出試薬と混合するのを許容すべく磁気応答性粒子を消磁する。その後、分析調製システムがサンプル・チューブから核酸分子を吸引する間に、移動可能な磁石は、サンプル・チューブの近辺まで移動し、磁気応答性粒子をサンプルチューブの壁面に付着させる。分析調製システムでは、その後、分析読み取りシステムにより読み取るために、核酸分子を適當なマイクロタイター・トレイ中に配する。

【0011】

本発明のこれらの、及び他の目的、効果及び新規な特徴は、添付の図面に関連して読めば、下記の詳細な説明からより容易に認識することができるであろう。

【0012】

(好ましい実施形態の詳細な説明)

図1は、核酸分子抽出装置102が使用のために適合されるサンプル分析調製システム100を示す。このシステム100は、カリフォルニア州、サンホセのアデット社(Adept Corp.)により製造されたロボットのようなロボット104、またはその他の好適なロボットを含む。そのようなロボットは、ピペット保持機構を有し、ピペット・チップ・ラック108に収納される複数のピペット・チップ(図示されない)を着脱自在に連結し得る。ロボット104は、吸引機構(図示されない)をさらに含み、以下に詳細に論じるような理由のために、流体をピペット・チップに引き込むために真空状態を創出すべく、あるいは、ピペット・チップから流体を吐出するための圧力を創出すべく作動し得る。

【0013】

図1にさらに示されるように、サンプル・チューブ・ホルダー内の複数のサンプル・インプット・チューブ112は、ロボット104の移動エリアに関して所定の場所に配置される。さらに、大型試薬容器(bulk reagent containers)114は、以下により詳細に論じるような異なる試薬を含み、複数のマイクロタイター・トレイ116は、ロボット104に関して所定の位置に配置される。

【0014】

さらに、抽出装置102の詳細は、図2-9に示され、ここで論じられるであろう。抽出装置102は、酸化鉄または、上述された米国特許番号第5,973,138号に明記されたようなもの等の磁気応答性粒子が入っている複数のチューブ120を置き得る着脱自在のラック118を含む。本明細書の目的のために、用語「磁気応答性粒子」は、酸化鉄粒子、磁性粒子、強磁性粒子、常磁性粒子、ポリマーコーティングされた全てのタイプの粒子、米国特許第5,973,138号に記載された全ての粒子、または磁界に応答する全ての粒子を言う。本実施例において、各チューブ120は、容量が2mLで、酸化鉄粒子及び水酸化カリウムの乾燥スラリー(a dried down slurry)を含む。

【0015】

10

20

30

40

50

抽出装置 102 は、固定側面 122 と、図示されるように固定側面 122 に平行または概ね平行に延びるカム・プレート 124 をさらに含む。抽出装置は、下記にさらに詳細に述べるような理由のために、システム 100 の制御装置（図示されず）によって制御され、カム・プレート 124 を固定側面 122 に対して摺動させる親ネジ（a lead screw）128 に連結されるステッピング・モータ 126 をさらに含む。特に、図 3 に示されるように、抽出装置 102 は、コントローラ（図示されず）に接続されるホーム・センサ 130 を含む。ホーム・センサは、下記に論じられるような理由で、ホーム・フラッグ 132 の位置を検出し、固定側面 122 に対するカム・プレート 124 の位置を制御装置に指示する。

【0016】

10

上記したように、抽出装置 102 は、ラック 118 を含み、該ラック 118 との使用に適応可能である。該ラック 118 の詳細は、図 4、5 により具体的に示される。特に、ラック 118 は、底面 134 及び頂面 136 を含んでいる。底面 134 は、複数の脚部 138、つまみ 140 及び複数の開口 142 をその中に含んでいる。図 5 に示されるように、開口 142 は、チューブ 120 の外面の突起 146 に係合し、例えば、チューブ 120 の頂部でキャップ（図示されず）が回して嵌め込まれている時、該チューブ 120 が開口 142 内で回転することを妨げるように形成された縁部 144 を含んでいる。

【0017】

さらに図 4 に示されるように、ラック 118 の底面 134 は、2 つの開口部を含んでいる。各開口部は、その中に挿入された圧入ナット 148 を有する。各ナットは、チューブ 130 が開口 142 に挿入された後、ラック 118 の頂面 136 を底面 134 に固定する拘束つまみネジ 150 のネジ切り部分を受け入れる。頂面 136 は、チューブ 120 の頂部近傍に位置する肩部 152 に当接する。したがって、ロボット 104 がチューブ 120 へ溶液を加えたり、チューブ 120 から溶液を取り除く時、チューブ 120 がラック 118 から落ちたり、あるいは、上記したピペット・チップによりラックから何かの事情で持ち上げられることが防止される。

20

【0018】

抽出装置 102 のより詳細が図 6 - 9 に示され、ここで論じられるであろう。図示されるように、抽出装置 102 は、固定側面 122 の間に、したがって、抽出装置 102 内部に配置される複数の放熱ブロック（heat sink block）154 を含んでいる。本実施例において、抽出装置は、6 つの放熱ブロック 154 を含んでいる。放熱ブロックは、特に図 6 に示されるように、抽出装置 102 のベース・プレート 156 に支持されている。側面 122 各々は、垂直又は概ね垂直方向に延びている固定カム・スロット 158 を含んでいる。該カム・スロットは、傾斜カムスロット 162（図 2 参照）及びそれぞれの固定カム・スロット 158 を貫通する肩付きネジ（shoulder screws）160（図 2、3 参照）を受け入れる。本実施例において、傾斜カムスロット 162 は、垂直線に対して 45° 又は約 45° の角度で延びている。以下により詳細に述べられるように、各一対の肩付きネジ 160（抽出装置 102 の両側に整列された2つの肩付きネジ）は、例えば、少なくとも1つの永久磁石 166 が取り付けられている、アルミニウム棒のような1本の金属棒であり得るそれぞれの磁石キャリア 164 に結合されている。磁石 166 は、例えば、ネオジミウム磁石であってもよい。本実施例において、抽出装置 102 は、7 対の肩付きネジ 160 及び7つの対応する磁石キャリア 164 及びそれぞれの磁石 166 を含んでいる。肩付きネジ 160 は、図に示されるように磁石キャリア 164 の各端部に挿入されている。さらに図示されるように、ナイロンスリープ 167 が各肩付きネジ 160 の周りに配置され、該肩付きネジ 160 の周りを回転することができ、肩付きネジ 160 と、それぞれ固定カムスロット 158 及び傾斜カムスロット 162 を形成している固定側面 122 及びカムプレート 124 の縁部との間の摩擦を減少させる。以下に詳細に述べるように、モータ取付台 125 及びカムプレート 124 に連結されているステッピング・モータ 126 が固定側面 122 に対して水平又は概ね水平方向にカム・プレート 124 を移動させると、傾斜カムスロット 162 は、肩付きネジ 160 を固定カムスロット 158 に沿って垂直方向に

30

40

50

強制的に移動させ、その結果、以下に述べられる理由のため、磁石キャリア 164 及び各磁石 166 を上昇又は下降させる。

【0019】

さらに図 6、7 に示されるように、熱電装置 168 は、それぞれの放熱ブロック 154 それぞれの上面に搭載されている。それぞれのチューブ・ブロック 170 は、図示されるように熱電装置 168 それぞれの上面に配置されている。

【0020】

さらに図 8、9 に示されるように、それぞれのチューブ・ブロック 170 それぞれは、それぞれのチューブ 120 をそれぞれ受け入れるのに適している複数の開口 172 を含んでいる。また、本実施例において、3つの熱電装置 168 が、それぞれのチューブ・ブロック 170 と関連し、したがって、3つの熱電装置が、それぞれの放熱ブロック 154 それぞれの上面に搭載されている。熱電装置 168 は、当業者にとって良く知られているよう 10 に、制御装置（図示されず）の制御の下に、チューブ・ブロック 170 に熱を加えるか又はチューブ 170 から熱を引き出すために制御され得る。チューブ・ブロック 170 それぞれは、また、チューブ・ブロックの温度を感知し、制御装置が熱電装置 168 を適切に制御できるように制御装置に信号を提供する抵抗温度素子（a resistive temperature device）（R T D）センサ 174 を有している。

【0021】

さらに図に示されるように、チューブ・ブロック 170 それぞれは、回路基板に搭載されている複数の電磁石 180 を有する電磁石用回路基板 178 が受け入れられるスロット状開口 176 を有している。電磁石 180 それぞれは、電磁気コア 184 を取り囲んでいるプリフォーム・コイル（a preform coil）182 を含み、接続用パッド 188 を介して制御装置（図示されず）に連結される P C B トレース 186 に直列に連結されている。以下に詳細に述べられるように、制御装置は、電磁石 180 に電流を流し、電磁石に交流（A C）磁界を発生させる。

【0022】

さらに図 6、7 に示されるように、隣り合うチューブ・ブロック 170 は、十分な距離で間隔を置いて配置され、磁石キャリア 164 と永久磁石 166 がチューブ用開口 172 に接近して摺動し、したがって、以下に詳細に述べられる目的のために、チューブ 120 に接近して摺動することを可能としている。本実施例において、各チューブ・ブロック 170 は、チューブ列を含んでいる。チューブ列各々は、8つの開口 172 を有している。抽出装置 102 は、6つのチューブ・ブロック 170 を含んでいる。したがって、抽出装置 102 は、96 個の開口 172 を含んでいる。

【0023】

システム 100 に対する抽出装置 102 の操作が、図 1 - 3、6、7 及び 10 - 12 を参考してここで述べられる。最初に、細胞が入っているサンプルがサンプル・インプット・チューブ 112 内に用意される。これらのサンプルは、血液、尿及び脳脊髄液のような生物学的液体、組織ホモジネート及び環境サンプルを含むどのようなタイプのものであってもよい。これらは、所定の核酸（D N A 又は R N A）に関して分析される。開始ステップ 1000 後、ステップ 1010において、ロボット 104 は、ピペット・チップ・ラック 108 に移動すべく最初に制御され、複数のピペット・チップ、例えば、4つのピペット・チップ（図示されず）を持ち上げる。次に、ロボット 104 は、サンプル・チューブ 112 の各番号の上方にピペット・チップを配置し、該それぞれのピペット・チップ内にサンプルを吸い上げるべく制御される。続いて、ロボットは、ピペット・チップを抽出装置 102 上方に移動させ、抽出装置 102 に配置されているラック 118 内に予め装填されているそれぞれのサンプル・チューブ 120 内にサンプルを解放する。

【0024】

各サンプル・チューブ 120 は、磁気応答性粒子が予め供給されている。ポリマー被覆を有する粒子を含む、磁気応答性粒子のどのようなタイプのものが使用されてもよいけれども、上記引用された米国特許第 5,973,138 号明細書に開示されている粒子が好ま 50

しい。サンプル・チューブ112各々は、また、細胞サンプルを溶解する溶解溶液を有している。

【0025】

上記プロセスは、サンプル・インプット・チューブ112からの全てのサンプルが、抽出装置102の対応するチューブ120内に挿入されるまで続く。各回に吸い上げられるサンプルの数（すなわち、本実施例においては、4つのサンプル）は、要求通りに変化してもよいことが知られている。また、ロボットが、そのサンプルをサンプル・チューブ112からピペット・チップ内に吸い上げ、次にこれらのサンプルを対応するチューブ120内に分配するたびに、ロボットは、ピペット・チップを廃棄すべく廃棄位置に移動することが知られている。続いて、ロボット104は、4つの新しいピペット・チップを選択し、4つの新しいサンプルをインプット・チューブ112からチューブ120に運ぶ。10

【0026】

全てのサンプルがそれぞれのサンプル・チューブ120内に充填されるやいなや、ステップ1020において、制御装置は、熱電装置168を制御し、チューブ120内の溶液に熱を加え、サンプルを溶解する。本実施例において、チューブ120内の溶液は、70又は約70の温度に加熱される。溶解が完了するやいなや、制御装置は、熱電装置168を制御し、チューブ・ロック170、サンプル・チューブ120及びその中に入っている溶液から熱を抜き取り、溶液を概ね室温にまで冷却する。

【0027】

溶解及び冷却プロセスが完了するやいなや、ロボット104は、ステップ1030において、サンプル・チューブ120内に、米国特許第5,973,138号明細書に記載されている溶液のような適切な酸性溶液を運ぶべく制御される。これを行うために、ロボット104は、ピペット・チップ・ラック108、大型試薬容器114、抽出装置102及びピペット廃棄部分（図示されず）間をあちこちに移動し、酸性溶液を、例えば、4つのチューブ120に同時に運ぶ。ロボット104は、酸性溶液を4つの対応するチューブ120に運ぶ。この時点で、制御装置は、電磁石178を制御し、粒子が酸性溶液と自由に混合できるように粒子190を消磁させる（磁気を除く）AC磁界を発生させる。本実施例において、AC磁界は、秒当り60回又は約60回の割合で適用される。次いで、ロボット104は、制御された方法で、溶液をピペット・チップ内に吸い上げ、溶液をチューブ120内に向かって吐き出すことにより、さらに、最低限のチップの浸水（minimum tip submersion）を維持するという制御された方法で、ピペット・チップをチューブ120内外に上げ下げすることにより、チューブ120内の溶液を混合する。2030

【0028】

ロボット104が4つの対応するチューブ120に酸性溶液を運び、混合操作を完了するやいなや、制御装置は、電磁石をオフに切り換え、AC磁界を取り除く。細胞サンプル・チューブ120に加えられた酸性溶液は、核酸分子を磁気応答性粒子190に結合された状態にさせる。酸性溶液がサンプル・チューブ120のサンプルに加えられるやいなや、制御装置は、ステップ1040において、ステッピング・モータ126を制御し、カム・プレート124を図10の矢印Aによって指示される方向に移動させる。これにより、肩付きネジ160は、磁石164がチューブ120に隣り合って配置されるように、固定カム・スロット158に沿って上方に動かされる。その結果、分子結合された粒子190は、磁石164により引きつけられ、例えば、図7に示されるように、チューブ120の側面に付着した状態になる。40

【0029】

次に、ステップ1050において、ロボット104は、ピペット・チップを使用し、チューブ120から溶液を取り去り、廃液容器（図示されず）に溶液を廃棄すべく制御される。上記された操作におけると同様に、ロボット104がピペット・チップを使用し、それぞれのチューブ120から溶液を取り去る毎に、ロボット104は、残っているチューブ120にプロセスを繰り返す前に、ピペット・チップを廃棄し、新しいピペット・チップを使用する。50

【0030】

続いて、ステップ1060において、ロボット104は、各々のチューブ120に洗浄溶液を加えるべく制御される。洗浄溶液がチューブ120に加えられている時、制御装置は、カム・プレート124を制御し、図11、12に矢印Bで指示される方向に移動させる。これにより、肩付きネジ160は、磁石キャリア164を、したがって永久磁石166を、それらのそれぞれの固定スロット158内下方に動かす。磁石166がチューブ120から離れて移動させられると、粒子190は、チューブ120の底に向かって落下することを許される。この時点で、制御装置は、ステップ1070において、電磁石178を制御し、粒子がチューブ120に加えられている洗浄溶液と自由に混合できるように、粒子190の磁気を取り除くAC磁界を発生する。数回の一連の迅速な吸引及び分配サイクル（例えば、5-30サイクル又は適宜の数）が、粒子と溶液との混合を実行するのに使用される。ロボット104が洗浄溶液を混合することを完了するやいなや、制御装置は電磁石をオフに切り換え、AC磁界を取り除く。10

【0031】

洗浄溶液が加えられ、粒子と混合された後、制御装置は、ステップ1080において、ステッピング・モータ126を制御し、カム・プレート124を図10の矢印Aに沿う方向に移動させ、磁石166を上方に動かし、チューブ120に近づける。したがって、磁石166は、分子結合された粒子190を、図7に示されるように、再度チューブの側面に固定する。続いて、ロボット104は、ピペット・チップ（図示されず）を使用し、チューブ120から洗浄溶液を取り除くべく制御される。この洗浄ステップは、必要に応じて何回も繰り返され、ステップ1090において決定されるように、例えば、2回、粒子を洗浄してもよい。20

【0032】

次に、ロボット104は、ステップ1100において、チューブ120に、上記引用した米国特許5,973,138号明細書に記載されているもののような溶出試薬を加えるべく制御される。この時間中、制御装置は、カム・プレート124を制御し、図11、12の矢印Bにより指示されている方向に移動させる。これにより、肩付きネジ160は、磁石キャリア164を、したがって、永久磁石166を、それらのそれぞれの固定カム・スロット158内下方に動かす。磁石166がチューブ120から離れて移動されると、粒子190は、チューブ120の底に向かって溶出溶液中に落ちることが許される。溶出溶液は、分子を粒子190から自由にされた状態にさせる。また、制御装置は、電磁石178を制御し、粒子がチューブ120に加えられる溶出溶液と自由に混合し得るように、粒子190から磁気を取り除くAC磁界を発生し得る。上記した方法と同様の方法で、ロボット104は、溶出溶液が大型試薬容器114から加えられる各グループのチューブ120に対して新しいピペット・チップを使用する。30

【0033】

溶出溶液が加えられ、全てのチューブ120内で混合された後、ステッピング・モータ126は、ステップ1120において、図10に示されるように、A方向に沿ってカム・プレート124を移動させ、磁石166をチューブ120の近くに移動させるべく制御される。続いて、ロボット104は、ピペット・チップを使用し、粒子190から解放された核酸分子を含有している溶出溶液をマイクロタイタ-・トレイ116に移すべく制御される。既に述べられた操作と同様に、ロボット104は、新しいピペット・チップ分を使用し、各群のサンプルをそれぞれのプライミング容器（priming wells）及びマイクロタイター・トレイ116に移す。サンプルが全てプライミング容器に移されるやいなや、ロボット104は、新しいピペット・チップ群を使用し、サンプルを増幅容器（amplification wells）及びマイクロタイター・トレイ（図示されず）に移す。サンプルがすべて増幅容器に移されるやいなや、マイクロタイター・トレイは、上述したBDプロープテック（登録商標）ETシステムのような適当な読み取り装置に置かれてもよい。そして、プロセスは、ステップ1140において終了する。別の実施態様において、ロボットは、マイクロタイター・トレイを移動させる又は搬送する必要性を排除しつつ、プライミング容器か4050

ら BD プローブテック（登録商標） E T システムの增幅ステージへサンプルを直接的に移してもよい。

【 0 0 3 4 】

抽出装置の別の実施態様が、図14-22に関してここで説明される。これらの図に示される抽出装置202は、ラック218が上記したもののようないくつかの複数のチューブ220を受け入れ得ることにおいて、上記したラック118に類似している取り外し可能なラック218を含んでいる。本実施例において、それぞれのチューブ120は、2mLの容積を有し、酸化鉄粒子と水酸化カリウムの乾燥スラリを含んでいる。

(0 0 3 5)

抽出装置は、固定側面 222 及び図に示されるように固定側面 222 に平行又は概ね平行に延びているカム・プレート 224 をさらに含んでいる。抽出装置は、システム 100 の制御装置（図示されず）により制御され、上記したようにカム・プレート 124 と同様の方法で、固定側面 222 に対してカム・プレート 224 を摺動させる、親ネジ 228 に連結されているステッピング・モータ 226 をさらに含んでいる。抽出装置 102 と同様に、抽出装置 202 は、制御装置（図示されず）に連結されているホーム・センサ（永久磁石停止センサ）230 を含んでいる。ホーム・センサ 230 は、ホーム・フラッグ 232 を検出し、永久磁石 266（図 21、22 参照）が下方（停止）位置にあるように、カム・プレート 224 が固定側面 222 に対して配置されていることを制御装置に指示する。

【 0 0 3 6 】

上記したように、抽出装置 202 は、ラック 218 を含み、該ラック 218 との使用に適応できる。該ラック 218 の詳細は、図 16-19 により専門的に示されている。特に、ラック 218 は、底面 234 及び頂面 236 を含んでいる。底面 234 は、複数の脚部 238、つまみ 240 及び複数の開口 242 をそこに含んでいる。

(0 0 3 7)

図16にさらに示されるように、ラック218の底面234は、4つのスロット246（2つは図示されていない）をそこに含んでいる。各ナットは、チューブ230が開口部242内に挿入された後、ラック218の頂面236を底面234に固定する、それぞれのチューブ・ラック用ファスナ250の係合部248を受け入れる。頂面236は、チューブ220の上面252に当接し、その結果、ロボット104がチューブ220へ溶液を加えたり、チューブ220から溶液を取り除く時、チューブ220がラック218から落ちたり、あるいは、上記したピペット・チップによりラックから何かの事情で持ち上げられることが防止される。頂面236は、また、チューブ220に接近できるようにしている開口部253を含んでいる。

[0 0 3 8]

抽出装置 202 のさらなる詳細が、ここで説明される。図 21、22 に示されるように、抽出装置 202 は、固定側面 222 間に、したがって、抽出装置の内部に配置されている複数のチューブ・ブロック 254 を含んでいる。本実施例において、抽出装置は、8 つの連なったチューブに対応して、8 つのチューブ・ブロック 254 を含んでいる。上記した熱電装置 168 に似ているが加熱のみで冷却しない抵抗加熱装置 255 が、各チューブ・ブロック 254 に連結され、そのそれぞれのチューブ・ブロック 254 を加熱し、上記したように溶解操作を実行する。しかしながら、もし望むならば、抵抗加熱装置 255 は、代わりに、加熱及び冷却が可能である熱電装置 168 に類似した熱電装置として形成されてもよい。各チューブ・ブロック 254 は、また、チューブ 220 を受け入れるために複数のチューブ用開口 256 を含んでいる。さらに、各チューブ・ブロック 254 は、適切な温度を維持するために必要であるように、制御装置が抵抗加熱装置 255 を制御できるように、制御装置（図示されず）に温度測定値を提供する RTD を含んでいる。

[0 0 3 9]

各固定側面 222 は、ベース・プレート 257 により支持されており、また、垂直、又は概ね垂直な方向に伸びているカム・スロット 258 を含んでいる。カム・スロットは、カム

ム・スロット 262 を貫通し、それぞれのカム・スロット 258 に入る肩付きネジ 260 を受け入れる。本実施例において、カム・スロット 262 は、垂直線に対して 45°、又は約 45° の角度で延びている。以下に詳細に述べるように、各対の肩付きネジ 260（抽出装置 202 の両側に設けられている 2 つの整列された肩付きネジ 260）は、少なくとも 1 つの永久磁石 266 が搭載されているアルミニウム棒のような、例えば、1 本の金属棒であり得る、それぞれの磁石キャリア 264 に連結されている。磁石 266 は、例えば、ネオジミウム磁石であってもよい。本実施例では、抽出装置は、9 対の肩付きネジ 260 と 9 本の対応する磁石キャリア 264 とそれらのそれぞれの磁石 266 を含んでいる。肩付きネジ 260 は、図示されるように、磁石キャリア 264 のそれぞれの端部に挿入されている。さらに図示されるように、ナイロン・スリーブ 267 が各肩付きネジ 260 の周りに配置され、肩付きネジ 260 の周りを回転し、肩付きネジ 260 とそれぞれカムスロット 258 及びカムスロット 262 が形成されている固定側面 222 の縁部及びカム・プレート 224 との間の摩擦を減少させることができる。抽出装置 102 に関して上記した方法と同様の方法で、モータ取付台 225 とカム・プレート 224 とに接続されているステッピング・モータ 226 が、固定側面 222 に対して水平な、又は概ね水平な、方向にカム・プレート 224 を移動させると、カム・スロット 262 は、固定カム・スロット 258 に沿って垂直方向に肩付きネジ 260 を強制的に移動させ、その結果、上記した理由のために、磁石キャリア 264 及びそれらのそれぞれの磁石 266 を上昇又は下降させる。

【0040】

さらに図示されるように、それに取り付けられている複数の電磁石 270 を有する電磁石用回路基板 268 が、各チューブ・ブロック 254 の下に配置される。電磁石 270 各々は、制御装置（図示されず）に連結される接続部 272 を含んでいる。電磁石 178 に関して上記したように、制御装置は、電磁石に交流（AC）磁界を発生させる電磁石 270 に電流を流す。

【0041】

さらに図示されるように、隣り合うチューブ・ブロック 254 は、十分な距離で間隔を置いて配置され、磁石キャリア 264 と永久磁石 266 がチューブ開口 256 に接近して摺動し、したがって、永久磁石 166 に関して上記した目的のために、チューブ 220 に接近して摺動することを可能としている。本実施例において、各チューブ・ブロック 254 は、チューブ列を含んでいる。各チューブ列は、12 の開口 256 を有する。上記したように、抽出装置 202 は、8 つのチューブ・ブロック 254 を含んでいる。したがって、抽出装置 202 は、96 の開口 254 を含んでいる。

【0042】

システム 100 に対する抽出装置 202 の操作は、上記した抽出装置 102 の操作と類似しており、図 1、10-14 及び 20-22 を参照してここで説明する。最初に、細胞が入っているサンプルが、サンプル・インプット・チューブ 112（図 1 参照）内に用意される。これらのサンプルは、所定の核酸（DNA 又は RNA）に関して分析されるはずである、血液、尿及び脳脊髄液のような生物学的液体、組織ホモジネート及び環境サンプルを含むどのようなタイプのものであってもよい。開始ステップ 1000（図 13 参照）の後、ステップ 1010 において、ロボット 104 は、ピペット・チップ・ラック 108 に移動すべく最初に制御され、複数のピペット・チップ、例えば、4 つのピペット・チップ（図示されず）を持ち上げる。次に、ロボット 104 は、サンプル・チューブ 112 の各番号の上方にピペット・チップを配置し、該それぞれのピペット・チップ内にサンプルを吸い上げるべく制御される。続いて、ロボットは、ピペット・チップを抽出装置 202 上方に移動させ、抽出装置 202 に配置されているラック 218 内に予め装填されているそれぞれのサンプル・チューブ 220 内にサンプルを解放する。

【0043】

各サンプル・チューブ 220 には、上記したものと同様に、磁気応答性粒子 190 が予め供給されている。サンプル・チューブ 112 各々は、また、細胞サンプルを溶解する溶解

10

20

30

40

50

溶液を含んでいる。

【0044】

上記プロセスは、サンプル・インプット・チューブ112からの全てのサンプルが、抽出装置202の対応するチューブ220内に挿入されるまで続く。各回に吸い上げられるサンプルの数（すなわち、本実施例においては、6つのサンプル）は、要求通りに変化してもよいことが知られている。また、ロボットが、そのサンプルをサンプル・チューブ112からピペット・チップ内に吸い上げ、次にこれらのサンプルを対応するチューブ220内に分配するたびに、ロボットは、ピペット・チップを廃棄すべく廃棄位置に移動することが知られている。続いて、ロボット104は、6つの新しいピペット・チップを選択し、6つの新しいサンプルをインプット・チューブ112からチューブ220に運ぶ。

10

【0045】

全てのサンプルがそれぞれのサンプル・チューブ220内に充填されるやいなや、ステップ1020において、制御装置は、抵抗加熱装置255を制御し、チューブ220内の溶液に熱を加え、サンプルを溶解する。本実施例において、チューブ220内の溶液は、70又は約70の温度に加熱される。溶解が完了するやいなや、制御装置は、抵抗加熱装置255をオフにし、自然対流によりチューブ・ブロック254、サンプル・チューブ220及びその中に含まれる溶液が溶解温度より低い温度に冷却されることを可能とする。

【0046】

溶解及び冷却プロセスが完了するやいなや、ロボット104は、ステップ1030において、サンプル・チューブ120内に、米国特許第5,973,138号明細書に記載されている溶液のような適切な酸性溶液を運ぶべく制御される。これを行うために、ロボット104は、ピペット・チップ・ラック108、大型試薬容器114、抽出装置202及びピペット廃棄部分（図示されず）間をあちこちに移動し、酸性溶液を、例えば、6つのチューブ220に同時に運ぶ。ロボット104は、酸性溶液を6つの対応するチューブ220に運ぶ。この時点で、制御装置は、電磁石270を制御し、粒子が酸性溶液と自由に混合できるように粒子190を消磁させるAC磁界を発生させる。本実施例において、AC磁界は、秒当り60回又は約60回の割合で適用される。次いで、ロボット104は、制御された方法で、溶液をピペット・チップ内に吸い上げ、溶液をチューブ220内に向かって吐き出すことにより、さらに、最低限のチップの浸水を維持するという制御された方法で、ピペット・チップをチューブ220内外に上げ下げすることにより、チューブ220内の溶液を混合する。

20

【0047】

ロボット104が6つの対応するチューブ220に酸性溶液を運び、混合操作を完了するやいなや、制御装置は、電磁石をオフに切り換え、AC磁界を取り除く。細胞サンプル・チューブ220に加えられた酸性溶液は、核酸分子を磁気応答性粒子190に結合された状態にさせる。酸性溶液がサンプル・チューブ220のサンプルに加えられるやいなや、制御装置は、ステップ1040において、ステッピング・モータ226を制御し、カム・プレート224を図10の矢印Aによって指示される方向に移動させる。これにより、肩付きネジ260は、磁石264がチューブ220に隣り合って配置されるように、固定カム・スロット258に沿って上方に動かされる。その結果、分子結合された粒子190は、磁石264により引きつけられ、例えば、図22に示されるように、チューブ220の側面に付着した状態になる。

30

【0048】

次に、ステップ1050において、ロボット104は、ピペット・チップを使用し、チューブ220から溶液を取り去り、廃液容器（図示されず）に溶液を廃棄すべく制御される。上記された操作におけると同様に、ロボット104がピペット・チップを使用し、それぞれのチューブ220から溶液を取り去る毎に、ロボット104は、残っているチューブ220にプロセスを繰り返す前に、ピペット・チップを廃棄し、新しいピペット・チップを使用する。

40

50

【0049】

次に、ロボット104は、ステップ1060において、チューブ220各々に洗浄溶液を加えるべく制御される。洗浄溶液がチューブ220に加えられている時、制御装置は、カム・プレート224を制御し、図11、12の矢印Bにより指示される方向に移動させる。これにより、肩付きネジ260は、磁石キャリア264を、したがって永久磁石266を、それらのそれぞれの固定カム・スロット258の下方に動かす。磁石266がチューブ220から離れて移動されると、粒子190は、チューブ220の底に向けて落下することが許される。この時点で、制御装置は、ステップ1070において、電磁石270を制御し、粒子がチューブ220に加えられている洗浄溶液と自由に混合できるように、粒子190から磁気を除くAC磁界を発生させる。数回（例えば、5-30回又は適宜の回数）の一連の迅速な吸引及び分配サイクルが、粒子と溶液との混合を実行するのに使用される。ロボット104が洗浄溶液を混合することを完了するやいなや、制御装置は、電磁石270をオフに切り換え、AC磁界を取り除く。10

【0050】

洗浄溶液が加えられ、粒子と混合された後、制御装置は、ステップ1080において、ステッピング・モータ226を制御し、カム・プレート224を図10に示される矢印Aに沿う方向に移動させ、磁石266を上方に動かし、チューブ220に近づける。したがって、磁石266は、分子結合された粒子190を、図22に示されるように、再度チューブの側面に固定する。続いて、ロボット104は、ピペット・チップ（図示されず）を使用し、チューブ220から洗浄溶液を取り除くべく制御される。この洗浄ステップは、必要に応じて何回も繰り返され、ステップ1090において決定されるように、例えば、2回、粒子を洗浄してもよい。20

【0051】

次に、ロボット104は、ステップ1100において、チューブ220に、上記引用した米国特許5,973,138号明細書に記載されているもののような溶出試薬を加えるべく制御される。この時間中、制御装置は、カム・プレート224を制御し、図11、12の矢印Bにより指示されている方向に移動させる。これにより、肩付きネジ260は、磁石キャリア264を、したがって、永久磁石266を、それらのそれぞれの固定カム・スロット158内下方に動かす。磁石166がチューブ220から離れて移動されると、粒子190は、チューブ220の底に向かって溶出溶液中に落ちることが許される。溶出溶液は、分子を粒子190から自由にされた状態にさせる。また、制御装置は、電磁石270を制御し、粒子がチューブ120に加えられる溶出溶液と自由に混合し得るように、粒子190から磁気を除くAC磁界を発生し得る。上記した方法と同様の方法で、ロボット104は、溶出溶液が大型試薬容器114から加えられる各グループのチューブ220に対して新しいピペット・チップを使用する。30

【0052】

溶出溶液が加えられ、全てのチューブ220内で混合された後、ステッピング・モータ226は、ステップ1120において、図10に示されるように、A方向に沿ってカム・プレート224を移動させ、磁石266をチューブ120の近くに移動させるべく制御される。続いて、ロボット104は、ピペット・チップを使用し、粒子190から解放された核酸分子が入っている溶出溶液をプライミング容器及びマイクロタイタ-・トレイ116に移すべく制御される。40

【0053】

サンプルが全てプライミング容器に移されるやいなや、ロボット104は、新しいピペット・チップ群を使用し、サンプルを增幅容器及びマイクロタイタ-・トレイ（図示されず）に移す。サンプルがすべて增幅容器に移されるやいなや、マイクロタイタ-・トレイは、上述したBDプローブテック（登録商標）ETシステムのような適当な読み取り装置に置かれててもよい。そして、プロセスは、ステップ1140において終了する。別の実施態様において、ロボットは、マイクロタイタ-・トレイを移動させる又は搬送する必要性を排除しつつ、プライミング容器からBDプローブテック（登録商標）ETシステムの增幅50

ステージへサンプルを直接的に移してもよい。

【0054】

以上、本発明の2つの代表的な実施態様のみが詳細に説明されてきたが、当業者にとって、本発明の新規な内容及び利点から大きく逸脱することなく該代表的実施態様において多くの改良が可能であることが容易に理解されるであろう。そのような改良は全て特許請求の範囲の請求項に定められる本発明の範囲内に含まれることを意図している。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の実施形態による核酸分子抽出装置を採用する核酸分析調製システムの実施例の略図である。

【図2】 図1に示される核酸分子抽出装置の斜視図である。

10

【図3】 図2に示される核酸分子抽出装置の平面図である。

【図4】 図1ないし3に示される核酸分子抽出装置とともに用いられるチューブ・ラックの例の拡大斜視図である。

【図5】 図4に示されるチューブ・ラック中の開口部の形状の例の詳細図である。

【図6】 図3の線6-6に沿う核酸分子抽出装置の断面図である。

【図7】 図6の核酸分子抽出装置の部分の詳細図である。

【図8】 図1-3、6及び7に示す核酸分子抽出装置に含まれるチューブ・ラック、電磁石及び熱電装置の関係の例を示す拡大斜視図である。

【図9】 図8に示される電磁石プリント回路基板の側面図である。

【図10】 移動可能な電磁石が図6及び7に示される位置に配された場合に、図1-3、6及び7に示される固定側面と核酸分子抽出装置の摺動カムとの関係を示す線図である。

20

【図11】 電磁石がチューブから離れて下向きに移動される場合の図1-3、6及び7に示される核酸分子抽出装置の固定面と摺動カムとの関係を示す線図である。

【図12】 移動可能な電磁石がチューブから最も離れた下方位置に位置される場合の図1-3、6及び7に示される核酸モジュール抽出装置の固定側面と摺動カムとの関係を示す線図である。

【図13】 調製システム、特に、図1-3、6及び7に示される抽出装置によって行われる一連の操作例を示すフローチャートである。

【図14】 図1に示される核酸分子抽出装置の他の例の斜視図である。

30

【図15】 図2に示される核酸分子抽出装置の平面図である。

【図16】 図14及び15に示される核酸分子抽出装置とともに使用されるチューブ・ラックの例の拡大斜視図である。

【図17】 図16に示される組み立てられたチューブ・ラックの斜視図である。

【図18】 図16及び17に示されるチューブ・ラックの平面図である。

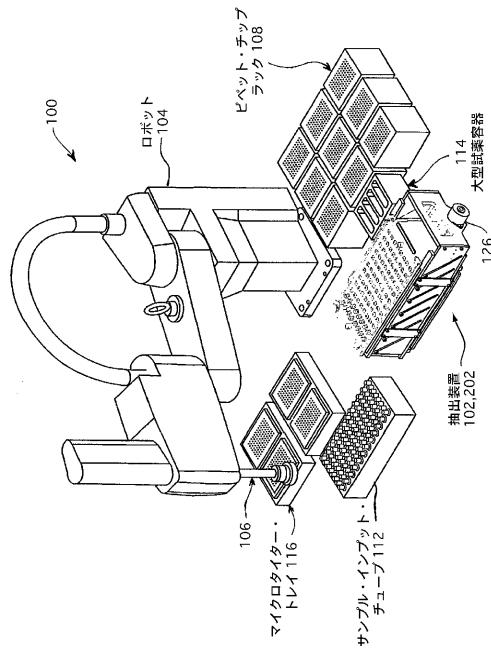
【図19】 図16及び17に示されるチューブ・ラックの側面図である。

【図20】 図14及び15に示される抽出装置の側面図である。

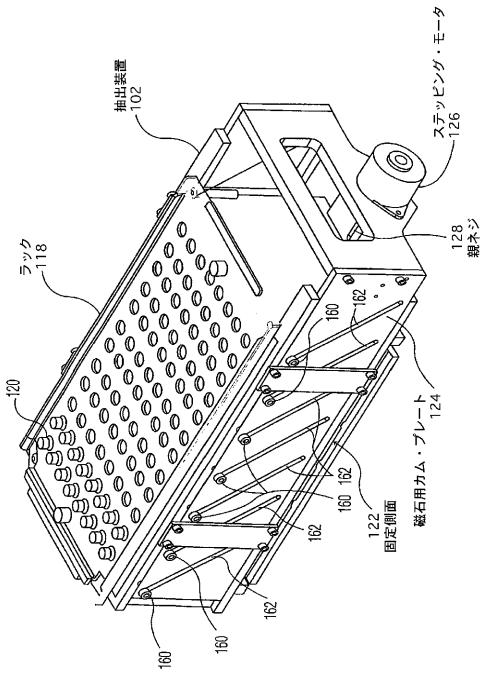
【図21】 図15の線21-21に沿う核酸分子抽出装置の断面図である。

【図22】 図21に明示された核酸分子抽出装置の部分の詳細図である。

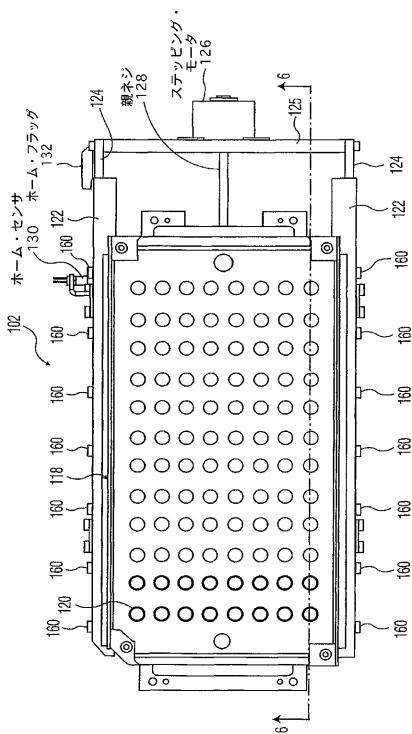
【 図 1 】



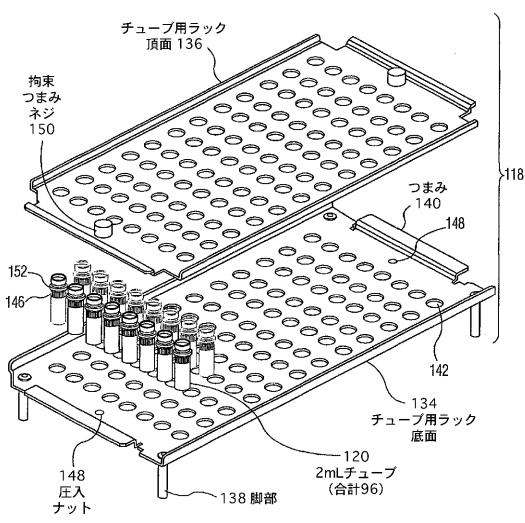
【図2】



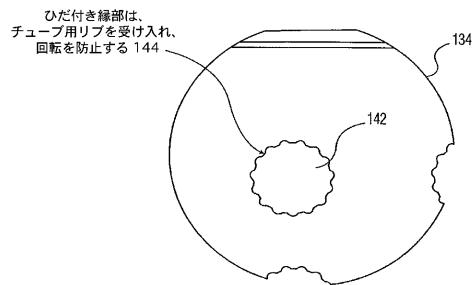
【図3】



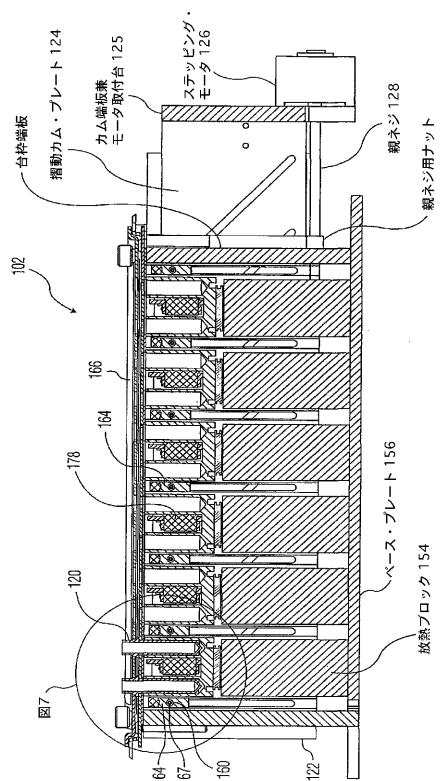
【図4】



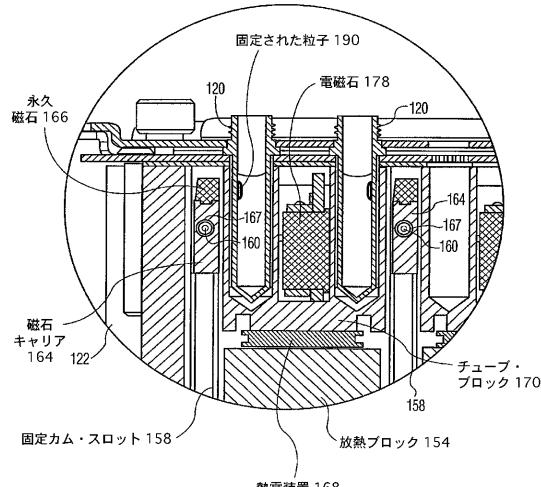
【図5】



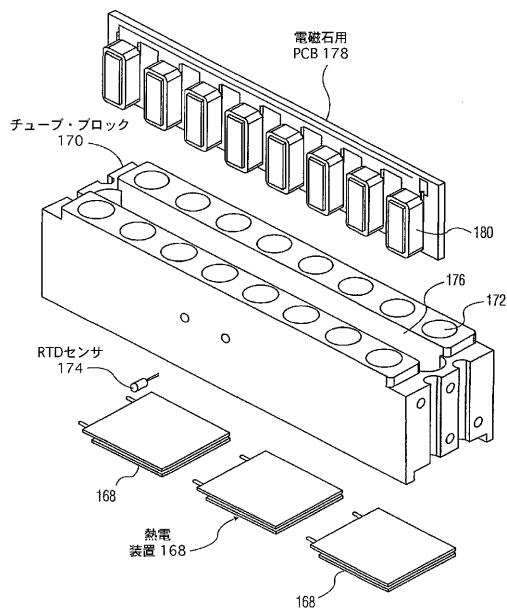
【図6】



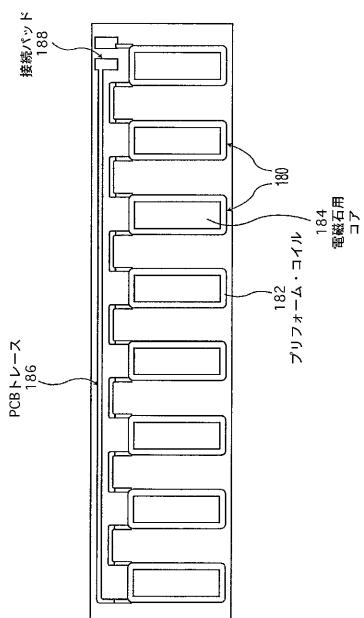
【図7】



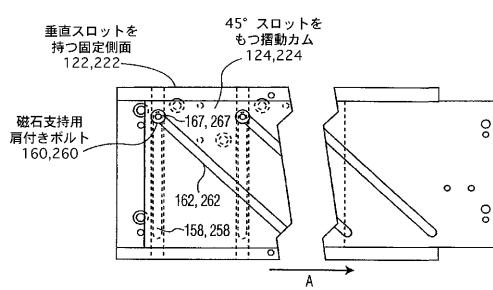
【図8】



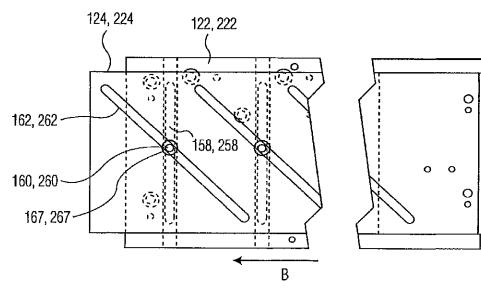
【図9】



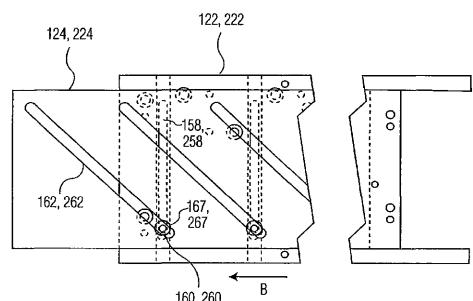
【図10】



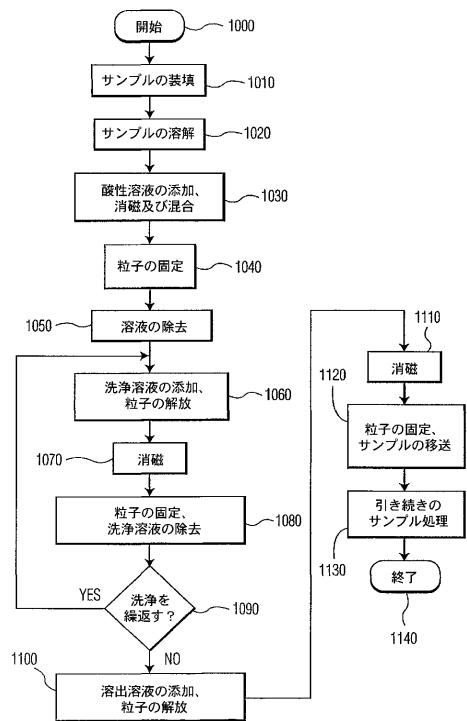
【図11】



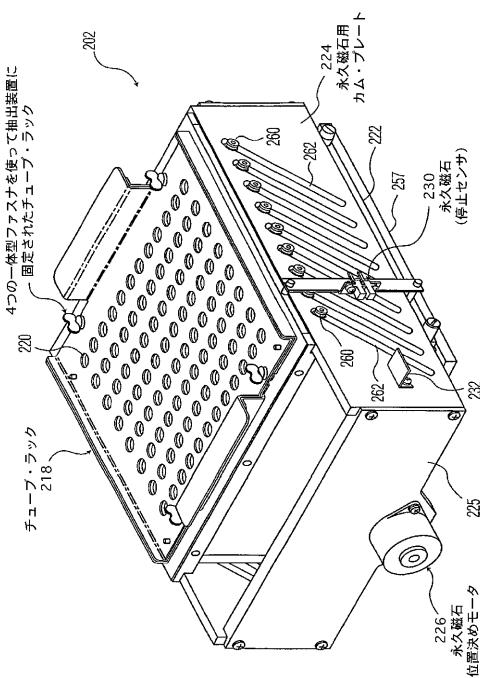
【図12】



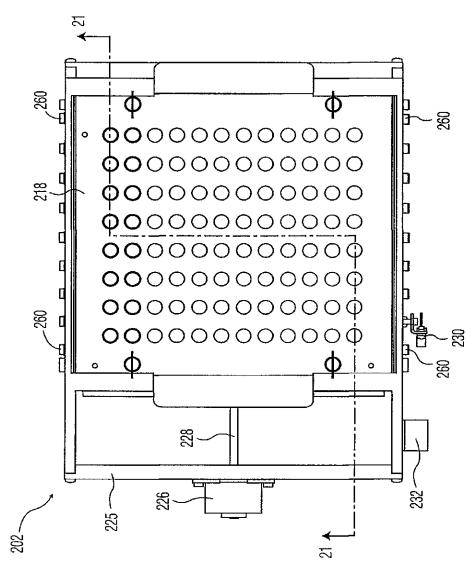
【図13】



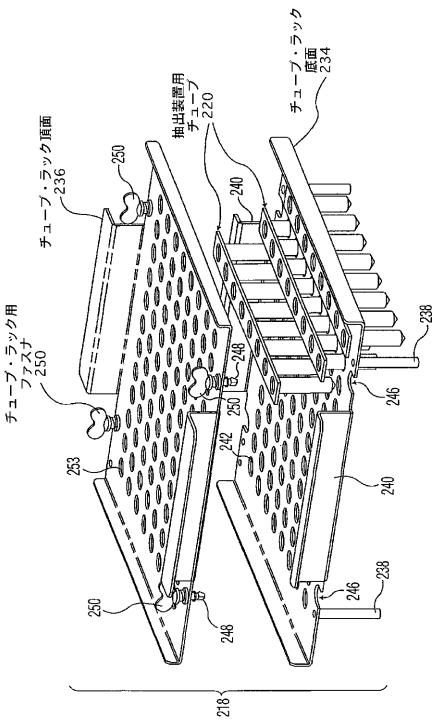
【図14】



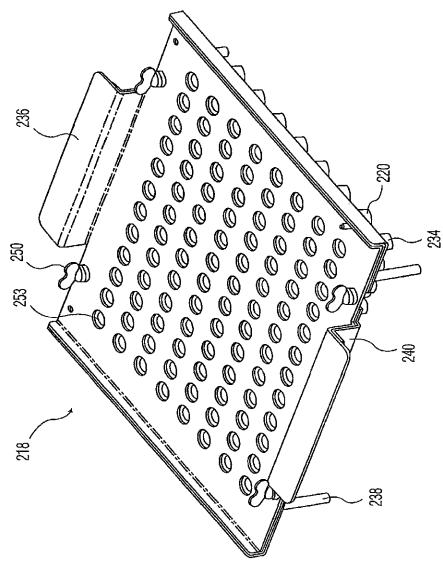
【図15】



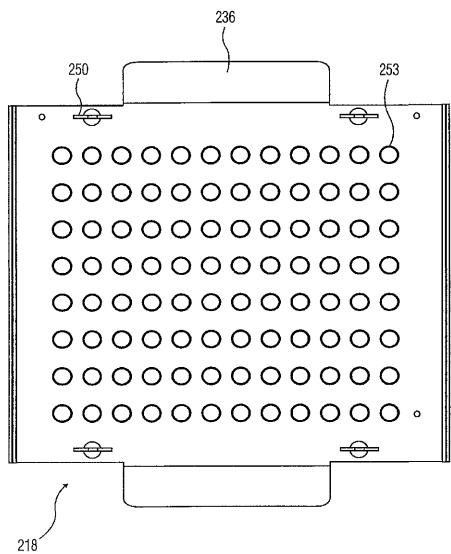
【 四 1 6 】



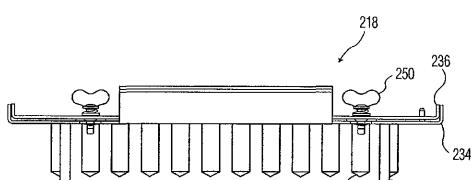
【図17】



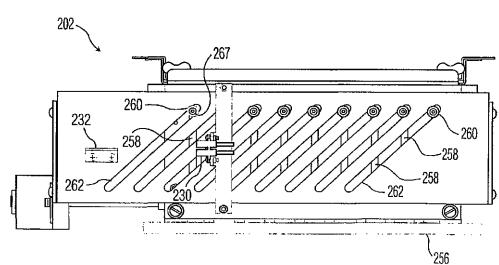
【図18】



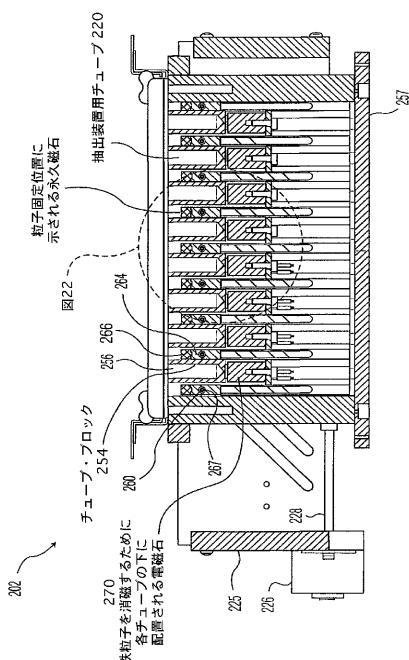
【図19】



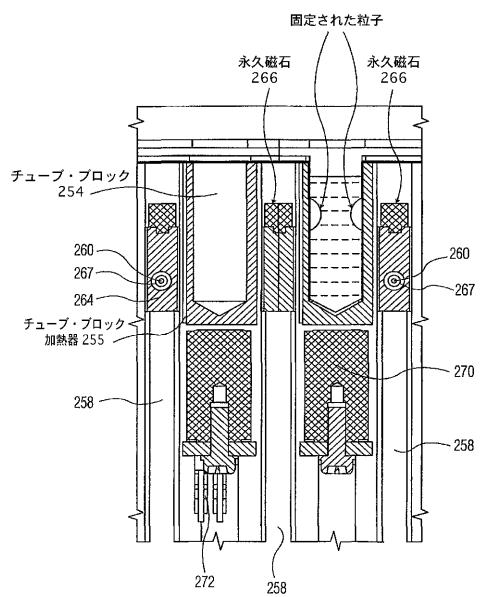
【図20】



【図 2 1】



【図 2 2】



フロントページの続き

(74)代理人 100088915

弁理士 阿部 和夫

(72)発明者 ティモシー ハンセン

アメリカ合衆国 17362 ペンシルベニア州 スプリング グローブ ヘイリック ロード
6051

(72)発明者 ブラッドレイ トマス

アメリカ合衆国 21093 メリーランド州 ティモニウム ノーウィック サークル 21

(72)発明者 ジョン ピアンコ

アメリカ合衆国 21227 メリーランド州 バルティモア リンク アベニュー 5513

(72)発明者 マシュー コリス

アメリカ合衆国 17360 ペンシルベニア州 セブン バレイズ サウス ストリート 11
4

審査官 北村 龍平

(56)参考文献 特開2000-070755(JP,A)

特開昭53-136764(JP,A)

特開平11-156231(JP,A)

特開平11-326338(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

B03C 1/00 - 1/30

C12M 1/00 - 3/10

G01N 35/00 - 37/00