

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4436615号
(P4436615)

(45) 発行日 平成22年3月24日(2010.3.24)

(24) 登録日 平成22年1月8日(2010.1.8)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 27/447 (2006.01)

GO 1 N 27/26 3 1 5 D

GO 1 N 27/26 3 1 5 H

請求項の数 17 (全 13 頁)

(21) 出願番号	特願2003-106770 (P2003-106770)	(73) 特許権者	501442699
(22) 出願日	平成15年4月10日(2003.4.10)		テカン・トレーディング・アクチェンゲゼ
(65) 公開番号	特開2003-315311 (P2003-315311A)		ルシャフト
(43) 公開日	平成15年11月6日(2003.11.6)		TECAN Trading AG
審査請求日	平成18年3月1日(2006.3.1)		スイス、ツェーハー-8708メンネドル
(31) 優先権主張番号	20020610/02		フ、ゼーシュトラ-セ103番
(32) 優先日	平成14年4月12日(2002.4.12)	(74) 代理人	100101454
(33) 優先権主張国	スイス(CH)		弁理士 山田 卓二
(31) 優先権主張番号	60/377318	(74) 代理人	100081422
(32) 優先日	平成14年5月2日(2002.5.2)		弁理士 田中 光雄
(33) 優先権主張国	米国(US)	(74) 代理人	100098280
			弁理士 石野 正弘
		(72) 発明者	ニコラウス・インゲンホーフエン
			スイス、ツェーハー-8708メンネドル
			フ、アルテ・ラントシュトラ-セ48番
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分子を分離するためのストリップホルダー、チャンバーおよび1-Dゲル電気泳動方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ベースプレート(4)を持ち、ゲル電気泳動を用い分子を分離するために、ストリップゲル(3)に適応させるためのキャリア表面を含むストリップホルダー(1)において、

ベースプレート(4)は、キャリア表面(2)に対し下側のレベルにオフセットされた少なくとも1つのストッパー(5)および、少なくとも1つのシール用表面(6)を備え、前記ストッパーは、電気泳動チャンバーのカウンター表面(7)に適用されるように形成され、ストッパー(5)の下側のレベルへのオフセットにより、ストリップゲル(3)を電気泳動チャンバーに導くストリップホルダー(1)の装置の深さが決定され、シール用表面(6)は、ストリップゲル(3)を電気泳動チャンバーに導くストリップホルダー(1)の装着時のシールを確実にすると共に、少なくとも1つのストッパー(5)は、ベースプレート(4)の一部として形成され、少なくとも1つの停止面を形成することを特徴とするストリップホルダー

。

【請求項2】

ベースプレート(4)は、キャリア表面(2)の両端部の各領域に垂直のピン(8)を持ち、そのキャリア表面はストリップゲル(3)の浸透する位置のために設けられ、ベースプレート(4)は、緩衝液を適用するために、キャリア表面(2)の外側にくぼみ(9)を持つ請求項1記載のストリップホルダー。

【請求項3】

シール用表面(6)は、ベースプレートの最も外側の上側端に成型された、1つまたは2

つのシール用縁(12)を有する請求項1記載のストリップホルダー。

【請求項4】

ベースプレート(4)は、化学的に不活性で良好な熱伝導をもつ電氣的に絶縁性の材料で形成され、そして、冷却ユニットの冷却用リブが適用されるための浅いくぼみ(14)を持つ請求項1記載のストリップホルダー。

【請求項5】

ゲル中の分子の等電点電気泳動のためのチャンバー(15)において、請求項1～4のいずれかに記載のストリップホルダー(1)および、上側と下側のカウンター表面(18、18')ならびに周囲の側壁(17)を持つフレーム(16)を含み、
ストリップホルダー(1)は、少なくとも1つのストッパー(5)が下側のカウンター表面(18)に適用されるのと同じ方法で、フレーム(16)内へ挿入され、シール用表面は、側壁(17)の内面(19)に対してきつく押圧することを特徴とするチャンバー。

10

【請求項6】

さらにフレーム(16)の上側のカウンター表面(18')に適用されるためのカバー(20)およびそのカバー(20)に挿入できる2つの電極(24、24')を備える請求項5記載のチャンバー。

【請求項7】

チャンバー(15)に突き出し、ストリップゲル(3)上のチャンバーの内部を制限する突起(21)を含み、前記突起(21)の最も外側の下側端(23)は、シールを形成するために、縁シール(11)のシール用縁(12)の1つ、またはOリング(13)に宛がわれる請求項6記載のチャンバー。

20

【請求項8】

電極ホルダー(24および24')は、決められた2つのレベル(25、25')へ挿入可能に構成され、かつ、各々が電極(27)を含み、その電極は、ストリップホルダー(1)のキャリア表面(2)上にあるストリップゲル(3)の表面(26)と直交に限定的に移動可能である請求項6記載のチャンバー。

【請求項9】

電極(27)は、開口した上部開口(28)、側方に分岐する電気接触子(31)および、下側の開口(29)を部分的にシールするフリットを持つチューブとして構成される請求項8記載のチャンバー。

30

【請求項10】

電極ホルダー(24および24')の少なくとも1つは、更にサンプルチューブ(32)を含み、これは、ストリップホルダー(1)のキャリア表面(2)上にあるストリップゲル(3)の表面(26)と直交に限定的に移動可能である請求項6記載のチャンバー。

【請求項11】

1-Dゲル電気泳動方法において、
脱水されたストリップゲル(3)は、ストリップホルダー(1)のキャリア表面(2)上に位置し、

前記ストリップホルダー(1)は、

ストリップゲル(3)に適応させてゲル電気泳動を用い分子を分離するために、キャリア表面(2)および、キャリア表面(2)に対して下側のレベルにオフセットする少なくとも1つのストッパー(5)を含むベースプレート(4)と、

40

少なくとも1つのシール用表面(6)とを含み、

前記ストッパー(5)は、電気泳動チャンバーのカウンター表面(7)に適用できるように形成され、ストッパー(5)の下側のレベルへのオフセットにより、ストリップゲル(3)を電気泳動チャンバーへ導くストリップホルダー(1)の装置の深さが決定され、そして、シール用表面(6)は、ストリップゲル(3)を電気泳動チャンバーへ導くストリップホルダー(1)の装着時のシールを確実にする方法。

【請求項12】

請求項1から4の1つに記載のストリップホルダーが使用される請求項11記載の方法

50

。

【請求項 1 3】

上記ストリップホルダー(1)は、上側および下側のカウンター表面(18、18')並びに周囲の側壁(17)を持つフレーム(16)内へ挿入され、その際、少なくとも1つのストッパー(5)は、下側のカウンター表面(18、18')に宛がわれ、そしてシール用表面(6)は、側壁(17)の内面(19)に対して確実に押圧する請求項 1 1 記載の方法。

【請求項 1 4】

上記ストリップゲル(3)は、上記電気泳動チャンバー(15)内部(22)の再水和作用溶液に対して層になり、そして、サンプルが前記ストリップゲル(3)に適用される請求項 1 3 記載の方法。

10

【請求項 1 5】

上記電気泳動チャンバー(15)が開放された状態でストリップゲル(3)が適用され、そして、上記電気泳動チャンバー(15)が、フレーム(16)の上側表面(18')に適用されるカバー(20)および、そのカバー(20)内に挿入される2つの電極ホルダー(24、24')で閉じられ、前記電極ホルダー(24、24')は、上側のレベル(25)に挿入され、各電極ホルダーは、ストリップホルダー(1)のキャリア表面(2)にあるストリップゲル(3)の表面(26)と垂直に限定的に可動し、その電極ホルダーを通じ、1つの電極(27)は、サンプルがゲルに拡散するまで、一時、その表面(26)から離れて位置し、その後、前記電極ホルダー(24、24')は下側のレベル(25')へ下降され、2つの電極(27)はその表面(26)と接触する請求項 1 4 に記載の方法。

20

【請求項 1 6】

上記電気泳動チャンバー(15)が開放され、および上記電気泳動チャンバー(15)が、フレーム(16)の上側の表面(18')に適用されるカバー(20)で閉じられ、そして、このカバー(20)内へ挿入できる2つの電極ホルダー(24、24')を用いて、サンプルがストリップゲル(3)に適用され、前記電極ホルダー(24、24')は上側のレベル(25)に挿入され、これらの電極はストリップホルダー(1)のキャリア表面(2)上のあるストリップゲル(3)の表面(26)と直交方向にそれぞれ限定的に可動であり、サンプルがゲル内へ拡散されるまで、一方の電極(27)は一時、この表面(26)に対して離れて位置し、この後、電極ホルダー(24、24')は下側のレベル(25')へ降下され、2つの電極(27)はその表面(26)に接触するようになる請求項 1 4 に記載の方法。

30

【請求項 1 7】

ストリップゲル(3)は、ゲル内の分子の等電フォーカシングが生じるまで、電極(27)を通じて高電圧が印加され、その高電圧は単一チャンネルの制御装置を用いて発生され、その制御装置は、電流パラメータを調整し、それら呼び出して、表示画面に表示できるように、それらのパラメータが格納される請求項 1 5 または 1 6 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、独立の請求項 1 の前文に対応する、ゲル電気泳動を使用して、ストリップゲルに適応させて分子を分離するために、キャリア表面を含むベースプレートを持つストリップホルダーに関し、請求項 6 の前文に対応する、ストリップゲル中の分子を等電フォーカシング(IEF)のためのチャンバーに関し、IEFに続く2次元で電気泳動を実行するために、請求項 1 2 の前文に対応する、2つのプレートとこれらのプレートを分離する少なくとも1つのシールを含むゲル電気泳動カセットに関し、独立の請求項 1 7 の前文に対応する2-Dゲル電気泳動方法に関し、そして、請求項 2 4 の前文に対応する方法を自動的に実行するためのシステムに関する。

40

【0002】

【従来の技術】

25年以上前に、O'Farrell [O'Farrell PH. J. Biol. Chem. 1975, 250:4007-4021] は、二次元のポリアクリルアミド・ゲル電気泳動(2-D PAGE)を使用して、バクテリア大腸菌

50

の蛋白質の高解像度分離用の方法を公表した。その後、この方法は研究され、現在では、その方法は、複雑な蛋白質混合の分析および特性記述用の最も応用技術のうちの1つになっている。

【0003】

2-D PAGEの第1のステップとしての等電フォーカシング(IEF)の適用は、それらのチャージに基づく蛋白質の分離を許可し、不動のpH勾配を備えた、あるいはそれを備えないポリアクリルアミド・ゲルの中で実行されている [Gorg A, Postel W、および Gunther Sによる不動のpH勾配を備えた2-次元の電気泳動の現状。電気泳動 1988、9:531-546]。第2のステップでは、ポリアクリルアミド・ゲル(それらは陰イオンの洗剤としてナトリウムdodecyl硫酸塩(SDS)を含んでおり、これらはそれらの分子量に基づく蛋白質を分離するのに特にふさわしい)がむしろ使用される。したがって、2-D PAGEは、チャージおよびサイズの2つの依存しないパラメーターに基づき、蛋白質を分離することができる。

10

【0004】

2-D PAGEの第1のステップとして、ストリップゲルを元に戻し、IEFを実行するための装置が米国特許 6,113,766 で公知である。その装置は、予め組み立てられ、乾燥されたゲルストリップを元に戻すために、およびIEFを実行するためにふさわしいチャンバーを含む。この目的のために、ストリップゲルは、チャンバーに置かれるが、その際、ゲルの側面を下側にし、その端部の各領域をチャンバーの床にある1つの電極に静止するように置かれる。ゲルが電極上に押されるように、圧力印加部材を介してストリップゲルの上に特定の圧力をかけるカバーを使用して、そのチャンバーはシールされる。IEF(つまり第1の次元での蛋白質の分離)に続いて、ストリップゲルはチャンバーから取り除かれ、第2の次元で蛋白質の分離の実行のためにSDSポリアクリルアミドゲルに置かれる。これを行う時に、ストリップゲルが破損されると、2-Dゲル電気泳動全体の成功に危険をさらすことになる。さらに、IEFゲルの再水和作用の程度がさらにそのボリュームに影響を及ぼすので、IEFに電氣的な接触を保証するのに十分に大きい、ゲルが破損されないように十分に小さい圧力の達成は非常に困難で複雑である。

20

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

記述された第1の問題の解決策は、ドイツの特許198 31 210(共同の装置中の第1および第2の次元のゲルの実際に同時的な型取りが開示)で公知である。IEFゲルは、狭いエレメントによってSDS-PAGEゲルから単に分けられ、そのエレメントは、IEFの完成の後に除去されてもよく、その結果、スペースがオープンにされ、そこには、両方のゲルを接触させるために接触ゲルで満たされてもよい。SDS-PAGEはこの後に実行されてもよい。この解決は、2-D PAGEの第1の次元と第2の次元間のすべてで、IEFストリップゲルに触れないか移送する必要がないという長所を持つ。しかしながら、IEFが成功しない場合、両方のゲルが廃棄されなければならないという不利がある。さらに、同じバッチのIEFゲルが使用される場合、IEF結果の再現性が著しく改善されることは知られている。これは、第1および第2の次元の多くのゲルが同時に同じ条件の下で処理されなければならないことを意味し、このことは非常に高価になってしまう。

30

【0006】

上述の第1の問題の別の解決策は米国特許5,993,627に示されている。2-Dゲル電気泳動を実行するための完全に自動システムでは、第1および第2の次元の両方のゲルが処理される。そのシステムは、電気泳動、その後の着色、および分析を実行するための装置を含む。そのシステムは、SDSゲルを形成するための型(かさばる電極も同時に形成される)の中へそのゲルを転送することにより、Gelbond(登録商標)で作成された「後退する試料」上のIEFゲルの生産に基づく。そのシステムは、1つの容器(IEFチャンバー)から他方(SDS-PAGEチャンバー、着色用チャンバーおよび走査用ベッド)までゲルを把持し移送するために、多数のロボットアームおよび(または)把持ツールを要求する。Gelbond(登録商標)の試料は、IEFのストリップの安定性を改善するが、示唆された方法は複雑になり、高価であり、また、システムはそれに相応して高価になる。

40

50

【0007】

【課題を解決するための手段】

この発明は、関連する分野と既知の欠点を除去するか少なくとも最小限にする、代替装置を提供することを目的とする。その目的は、独立の請求項1の特徴の結合による第1の態様によって達成され、請求項6の特徴の結合による第2の態様によって達成され、請求項12の特徴の結合による第3の態様によって達成され、独立の請求項17の特徴の結合による第4の態様によって達成され、そして請求項24の特徴の結合による第5の態様によって達成される。この発明の有利で洗練されたものおよび追加的の特徴は添付した請求項に起因する。この発明は、概要と典型的な図面(それらはこの発明の範囲を限定するものではない)を参照して以下に詳細に述べる。

10

【0008】

【発明の実施の形態】

図1は、ゲル電気泳動を使用して分子を分離するためにストリップゲル3に適応させるためのキャリアー表面2を含むベースプレート4を有するストリップホルダー1を示す。ベースプレート4は、キャリアー表面2に関してより低いレベルにオフセットする、少なくとも1つのストッパー5および少なくとも1つのシール用表面6を含む。このストッパーは、電気泳動チャンバーのカウンター表面7に適用され、この構成によって、ストリップゲル3を電気泳動チャンバーへ運ぶ、ストリップホルダー1の装置の深さが決定され、また、ストリップゲル3を電気泳動チャンバーへ運ぶ、ストリップホルダー1のシール機構を確実にするシール用表面6に適用される。

20

【0009】

ストッパー5は、この場合、ベースプレート4を備えた1つの部材で実施され、連続的な周辺部の停止表面を形成する。これとは別に、同じ効果を得るために、停止表面が細分されるか、ベースプレート4に取りつけられた枠と取り替えられてもよい。ベースプレート4は好ましくは化学的に不活性で良好な熱伝導性がある電氣的絶縁材料で製造されるが、そのような枠は、別の材料(例えば金属)から製造され、そして例えば、ベースプレート上に成型されるかネジ止めされてもよい。

【0010】

ベースプレート4は、むしろ、2つのキャリアー表面端部の各々の領域の中に1本の垂直のピン8を持ち、これらのピンは、ストリップゲル3を貫いて位置決めするために用いられる。さらに、ベースプレートは、ストリップゲル3のために、キャリアー表面2の外側の緩衝液を与えるための凹部9を持つようにしてもよい。

30

【0011】

シール用表面6は、1つあるいは2つのシール用の縁12があり、ベースプレートの最も外側の上側端10の上に成型される、縁シール11として適用されてもよい。この縁シール11は、好ましくは、2-構成要素の射出成形方法にて、ストリップホルダー1の1部材としてむしろ形成され、縁シール12は、好ましくはストリップホルダー1よりもより弾性体のもので形成される。スプレーされる縁シールとは別に、Oリング13も、縁シール11の代わりに設けられてもよく、その場合、ストリップホルダーの材質に応じて、Oリング13は周辺の溝に設けられるか、ストリップホルダー上にスプレーされてもよく、かつ／または2-構成要素の射出成形方法にてストリップホルダーと一緒に形成されてもよい。消耗品が好まれるとともに、ストリップホルダーのコスト有効性大量生産のために消耗品と考えて具体化するのが好ましい。

40

【0012】

既に気付くように、ベースプレート4は、好ましくは、化学的不活性、電氣的絶縁材料(IEFは、およそ15kVに慣例的に実行)から製作され、この場合、射出成型が可能なプラスチックが特に好都合である。ベースプレート4はさらに、良好な熱伝導特性を持つべきであり、その結果、IEFゲルの再水和作用中に、およびとりわけIEFゲル電気泳動中に、ゲルの温度はより良好に制御されるようになる。この目的のために、ベースプレートは、好ましくは、冷却ユニットの冷却用リブに適合できるように、より低い穴14を持つ。さらに、

50

ベースプレート4の好ましい特徴は、良好な冷凍耐性を有することであり、その結果(電気泳動が第1の次元で実行された後)、IEFゲル3は、ストリップホルダー1と一緒に冷凍され、ほぼ時間のほとんど任意の希望の時間に対して -80°C で急速冷凍され、必要時に溶解され、そして2-D電気泳動の第2の次元で使用される。この目的のために、ストリップホルダーは、好ましくは非吸湿性活性材料から製作され、その結果、ストリップホルダー1の寸法精度が、繰り返される冷凍および解凍によって害されることはない。

【0013】

更に図1は、ゲルストリップ3内の分子の等電フォーカシング(IEF)のためのチャンバー15を示す。このチャンバーは、ストリップホルダー1と、周囲の側壁17および上側、下側のカウンター表面18、18'を含むフレーム16を備える。ストリップホルダー1は、少なくとも1つのストッパー5がカウンター表面18に適用され、下側のシール用の縁12が側壁17の内面19に対して当接するように、フレーム16内へ挿入される。チャンバーは、さらにフレーム16の上側のカウンター表面18'に適用されるカバー20を含む。

10

【0014】

カバー20は好ましくは、チャンバー15へ突き出て、ストリップゲル3上のチャンバーの内部22を制限する、周囲のリブの形状とした突起21を持つ。同時に、突起21の最も外側の下側端23はシールを形成するために、縁シール11のシール用縁12に適用される。これとは別に、突起21の下側端23も、ストリップホルダー1に付けられたリング13に適用されてもよい。カバーは、好ましくは接触ピンあるいは他の適切な除去可能な接触手段(示されていない)を備え、その結果、回路は、オペレーターの安全性のために、チャンバー15がシールされた時のみ閉じられ、チャンバーが開かれた時に自動的に遮断される。

20

【0015】

図2は、挿入されたストリップゲルを有する閉じたIEFチャンバーに対する縦断面図を示す。断面の方向は、図1内のA-Aで示したラインに沿っている。2つの電極ホルダー24、24'はカバー20に挿入されてもよい。これらの電極ホルダーは、それらが定義されたレベル25、25へそれぞれ挿入でき、かつ、各々が電極27を含むように、提供される。その電極27は、ストリップホルダー1のキャリア表面2上に横たわるストリップゲル3の表面と直交して限定的な可動性を持つ。これらの電極27は、電気的に非伝導性の材質(例えばガラス、プラスチック、陶器)からなる小さいチューブとして提供され、そのチューブの上端は開口28を有し、そして下端の開口29を部分的にシールするフリット(溶解ガラスの急冷により得た材料)30を有する。これとは別に、伝導性の材料もチューブのために使用されてもよい。電極27はさらに側方に分岐する電気的な接触子31を持つ。くぼんだ電極は、緩衝液で少なくとも部分的に満たされ、これにより、高電圧用制御回路(示されていない)とストリップゲル3の2つの極との間の電気的に伝導性の接続が与えられてもよい。フリット30はフィルタであり、これは、緩衝液およびイオンに浸透性があり、またはIEFの間に蛋白質が電極27に移動することを防止し、そして、その浸透性により電極上にこれらの粒子が結晶するのを防止する。特に、IEF電気泳動の自動実行用装置では、汚濁の減じられた速度および(または)より単純なクリーニングは、これらの電極27によるものであると評価される。この浸透性にもかかわらず、フリット30は、緩衝液がその静水圧により、自然発生的に流失しないように、チューブ内の緩衝液に対して十分に大きなフローの抵抗を示す。

30

40

【0016】

上述のオープンのバージョンの代わりとして、電極チューブは、補給線(不図示の入り口)を除いてそれらの上端が密閉されてもよい。出口は、従って、側方に分岐する電気的な接触子31の代わりに位置する。入り口および出口は、次に温度制御および(または)緩衝液のろ過用の循環システムに接続される。その後、適切な高電圧用の制御回路への電気的な接続も入り口か出口を通じて与えられる。

【0017】

50

この発明によるストリップホルダー１および(または)チャンバー１５を使用する２-Dゲル電気泳動方法の第１の部分(第１の次元)は、むしろ以下のように動作する。

【００１８】

脱水したストリップゲル３は、ストリップホルダー１のキャリアー表面２に置かれる。

【００１９】

このストリップホルダー１は、周囲の側壁１７および上側、下側のカウンター表面１８、１８'を持つ、フレーム１６に挿入される、そのような方法で、少なくとも１つのストッパー５が下側のカウンター表面１８に適用され、シール用表面６を、側壁１７の内面１９に対してしっかりと当接する。

【００２０】

このチャンバー１５の内部のストリップゲル３は、再水和作用溶液と共に層になる。これとは別に、蒸発ロスを回避するために、ストリップゲル３は、サンプルの適用の前に、油と共に層になるかもしれない。この場合、サンプルは、この再水和作用解決に既に含まれているかもしれない。その場合、サンプルはストリップゲルに適用され、および／又は、その後(好ましくは、チャンバーをオープンにしてストリップの形状で、または、チャンバーを閉じ、高電圧スイッチをオンにしてサンプルチューブ３２を通じ、以下参照)、ストリップゲル内に導入される。

【００２１】

そのチャンバーは、カバー２０を使用して閉じられることにより、フレーム１６の上側のカウンター表面１８'に適用され、また、２つの電極ホルダー２４、２４'がそのカバー２０内に挿入可能となる。この場合、電極ホルダーは、上側のレベル２５に挿入される。各電極は、ストリップホルダー１のキャリア表面２上に横たわるストリップゲル３の表面２６に対して垂直に限定的に可動し、それにより、１つの電極２７は、一時、その表面２６に離れて位置する。

【００２２】

サンプルがゲルへ拡散された後、電極ホルダーは下側のレベル２５以下に降下し、これにより、両方の電極２４、２４'はストリップゲル３の表面２６と接触する。

【００２３】

ストリップゲル３は、ゲル中の分子の等電フォーカシング(IEF)が生じるまで、電極２４、２４'を通じて高電圧が印加される。この場合、電気的な高電圧は、好ましくは、単一のチャンネル・制御装置(これは電流パラメーターを調整し、さらにそれらが例えば、ディスプレイ画面に呼び出されるように、それらを格納する)を使用して生成される。

【００２４】

この発明による方法の第１の変形例に基づき、ゲル上へのサンプルの適用は、チャンバー１５がオープンの時に、ゲル３上にストリップ形のサンプルを適用することにより実行されてもよい。これは好ましくは、ピペッター(これは特定の量のサンプルに分配して複成する)を使用して実行される。チャンバー１５はその後、フレーム１６のカウンター表面１８'の上に適用されるカバー２０および、そのカバー２０内に挿入可能な２つの電極２４、２４'を使用して閉じられる。各電極ホルダーはストリップホルダー１のキャリア表面２上にあるストリップゲル３の表面２６に垂直に可動であり、この場合、一時、一方の電極２７がその表面２６から離れて位置するように、電極ホルダーが、そのサンプルがゲル内へ拡散するまで、上側のレベル２５に挿入される。前述のＺ方向への移動が制限された電極は、様々な方法で生成されてもよい。電極２７は、Ｚ方向(本質的に水平に位置するIEFゲルの表面に垂直)に自由にガイドされてもよく、その結果、電極は、それらの組込み重量(チューブ、フリットおよび緩衝液充填物を含む)によってIEFゲルに印加される。電極２７は、それらが、所定の圧力でもってIEFゲル表面に適用されるように、１つ以上のスプリング要素(示されていない)を使用して、それらのＺ位置の中で調節されてもよい。電極のＺ軸可動性は、したがって少なくとも１つのスプリング要素および(または)１つのストッパー端(共に不図示)によって一方の端部が制限され、その結果、電極ホルダー２４、２４'が上側のレベル２５に挿入されたなら、電極はゲル表面２６と接触しないかも

10

20

30

40

50

しれない。Z軸の可動の双方の変形例は、ゲルに対して柔軟に、一方、信頼できる接触を許可し、その結果、IEFのための電氣的な接触は、ゲルが損傷されることなく、保証される。電極ホルダー24、24'は続いて、下側のレベル25'まで降下され、両方の電極27はIEFの実行のためにこの表面26と接触する。

【0025】

方法の第2の変形に基づき、電極ホルダー24、24'が下側のレベル25'へ直接に挿入されるよう、サンプルのゲル上への適用は、フレーム16のカウンター表面の上側18'に適用されるカバー20および、そのカバー20内に挿入できる2つの電極ホルダー24、24'を用い、チャンバー15を閉じることにより実行されてもよい。この方法では、一度に1つの電極27および少なくとも1つのサンプルチューブ32(例えば、変形例1のように、それらのすべては、ストリップホルダー1のキャリア表面2上にあるストリップゲル3の表面と垂直に限定的に可動である)は、この表面26と接触するようになる。続いて、電圧がゲル上に印加されている状態で、そのサンプルはサンプルチューブ32からストリップゲルの中に引き出される。

【0026】

適切な自動システム(示されていない)でのこの方法の実行は、この場合特に好ましく、そのシステムは、1つ以上のIEFチャンバーを形成するための動作プラットフォームを含み、かつ、IEFチャンバーを冷やすための冷却装置を装備してもよい。そのようなシステムは、さらに、ロボットを制御するためのコンピュータ、IEFチャンバーの個々の制御のための単一チャンネルの高電圧制御回路およびディスプレイ・スクリーンだけでなく、チャンバーの個々の部品を、IEFチャンバーおよび又はSDS-PAGEカセットへ、またはそこから転送するためのロボットアームを含んでもよい。そのようなシステム(これは、それは多数のチャンネルを持つピペッターを含む)を使用して、再水和作用溶液も、自動的に所定量の量が供給されてもよく、その結果、超過しない再水和作用溶液がチャンバーから除去されなくてはならない。もし要求されれば、この方法は1次元の電気泳動を実行した後

【0027】

図3は、等電フォーカシングに続き、第2の次元で電気泳動を実行するためのSDS-PAGEカセット33に対する垂直方向の切断を示し、挿入されたストリップホルダー1およびIEFストリップゲル3を含む。このカセット33は、これらのプレートを分離する2つのプレート34、35および少なくとも1つのシール36を含む。ストリップホルダー1は、少なくとも1つのストッパー5(むしろプレート厚さの寸法だけ下側のレベルから離してセットされる)が、カウンター表面7として作用するプレートの外側表面34に適用され、シール用表面6がくぼみ37の内面38に対してしっかりと密閉するように、これらのプレート34のうちの1つのくぼみ37に挿入される。この場合、ストリップゲル3は、プレート34と35との間のスペース4をほとんど満たし、そして、キャリアー表面2は、正面のプレート34の内面と本質的に同じ高さになる。

【0028】

シール36は、本質的に平面で1部材からなり、そして、プレート34、35の外側端の領域に本質的に位置する、環状のシールとして適用され、このシール36には、両側39上に、周囲に環状で、弾性的に変形可能なシール用エッジ40を持ち、このシール用エッジ40はプレートに対して押圧する。シール36はさらに、付属のこぶ41を含み、これは、シール用エッジ40の外側領域の中に延在し、両プレート34、35に設けられた、対応する穴42嵌め込まれる。

【0029】

プレート(この場合正面プレート34)の少なくとも1つは、エッジ40の密閉の内部で、ゲル(換気の第2のあき44)、バッファーあるいは染料の導入のために、あるいはゲル、緩衝液あ染料の置換または導入のために、シール用エッジ40の内側形成されてたスペースの領域で位置して、第1の開口43を含む。正面および後ろのプレート34、35はまた、シール36によってカバーされる空間領域の内側に、分離用媒体を導くための第3の開

口45を含む。

【0030】

図4は、SDS-PAGEカセット33のシールに対する拡大した詳細断面(図3の中の円に対応する)を示す。本質的に平坦なシール36は、本質的にプレート34、35の外部端の領域に位置し、周囲に環状で弾力的に変形可能なシール用エッジ40を持ち、これは、プレート34、35に対して押圧する。付属のこぶ41(それらは、それらのシール用エッジ40の外側の領域に存在)は交互に位置する。その結果、シールはその生産(例えば射出成形)用の製造工程の後に型から容易に取り除かれる。これにもかかわらず、2つの付属のこぶ41が、常に互いに近接して位置し、そのため、それらはプレート34、35の間で直接的な接続のように作用する。カセット33が組み立てられる場合、プレート34、35に付属のこぶ41のために設けられた穴42の中へ付属のこぶ41を嵌め込むことは、3つの主要な要素は仮に一体的に保持され、カセット33が支持デバイス(不図示)の中へ設けられる間に正確に位置するという効果がある。

10

【0031】

プレート34、35は、ガラスからむしろ生産される。シール36は、SDSゲルの弾性に本質的に相当する弾性を持つが、シールの強固さは、そのゲルのものより大きい。SDSゲルを捕捉する必要があるために、かつ、またはSDSゲルが注意深く扱われるかもしれないために、シール36はそのようなゲルへ重合されるクリップ46を含んでもよい。これらのクリップはむしろ(ネットワーク構造、穴、こぶおよびその他同種のものを持つ)緩和パターンを持ち、それは、SDSゲルとの密接な接触を生むのにふさわしい。化学結合は、ゲルとシールのクリップの間でむしろ与えられる。

20

【0032】

図5は、ストリップホルダー1の挿入前に組み立てられたSDS-PAGEカセット33の正面のプレート34の平面図を示す。ストリップホルダー1を挿入するためのくぼみ37は、カセット33の上半分にあり、このカセットはSDS-PAGEのためにこの垂直の位置の中でむしろ使用される。正面のプレート34は、ゲル、緩衝液あるいは染料の置換のために、あるいは導入のために、シール用エッジ40内部の限定されたスペースの領域に位置する第1の開口43および(または)第2の開口44をむしろ持つ。さらに、分離用媒体を導入するための第3の開口45が、シール36内部でカバーされたスペースの領域にむしろ位置する。この分離用媒体は、ガス(空気、窒素など)あるいは液体(例えば緩衝液)であり、プレート34からPAGEゲルの注意深い除去のために使用される。その結果、PAGEゲルの表面は、その後、染色溶液にさらされてもよい。

30

【0033】

シール36は、プレート34、35の外部端の領域において本質的に位置でき、上述の周囲に環状で弾力的に変形可能なシール用エッジ40を含み、そして好ましくは、プレート34、35(それはガラスでむしろ作られる)を保護するために、プレート34、35周囲のすべてを、それらの最も外側の端の上に突き出させる。シール36は本質的に、平坦で1つの部材として環状に形成され、正面のプレート34と後のプレート35との間の間隔を決定し、そして、SDSゲルの弾性と実質的に相当する弾性を持つが、シールの強固さは、前記ゲルのそれよりも大きい。シールおよびSDS-PAGEゲルとの間の緊密な接続のために、シール36は、そのようなゲルへ重合されるクリップ46を持つ。そのシールは、したがってゲルの保持のためにフレームとして使用され、ゲルは直接に接触してはならない。ツールおよび(または)ロボットを使用して、シールを把持するために、好ましくはシールはその外側にストラップ47を持つ。そのシール用エッジ40外側の領域では、シール36は、両方のプレート34、35に組み入れられた、対応する穴42へ嵌め込まれるために備えられた付属のこぶ41を含む。

40

【0034】

(好ましくは手によって)仮に組み立てられたカセット33は、正面のプレート34、後部プレート35および、それらの間で位置し、かつ、両方のプレート34、35を接続するシール36を含む。そのようなカセットも、ロボットが適切な手段を使用して、保持用ス

50

トラップをつかむように、ロボットの援助によつて移送されてもよく、この目的のために、シール36はそのこぶ41によって十分なセキュリティでもって両方のプレート34、35を保持する。

【0035】

図6は、組み立てられたSDS-PAGEカセットの正面図を示し、正面のプレートが除去され、くぼみ37および第1の開口43および(または)正面のプレート34の第2の開口44のみが破線にて示される。さらに、分離用媒体の導入のための第3の開口45は、好ましくはシール36の内部でカバーされたスペースの領域に位置する。この分離用媒体はガス(空気、窒素など)あるいは液体(例えば緩衝液)であり、後部プレート35からのPAGEゲルの注意深い除去のために使用される。その結果、PAGEゲルのこの表面はその後、例えば染色溶液にさらされてもよい。

10

【0036】

2-Dゲル電気泳動方法を自動的に実行するためのシステムの動作プラットフォームは、好ましくは、互いと平行に整えられた8個のIEFチャンバーを含む。その結果、IEFチャンバーの温度管理のためにむしろ使用される冷却ユニットは、さらに8個の冷却用のリブを持つ。従って、高電圧用の単一チャンネルの制御装置は、8個のIEFチャンバーの個々の管理のために好ましくはレイアウトされ、自動システムの8個のIEFチャンバーすべての電流パラメーターが呼び出され、例えば、ディスプレイ・スクリーンに表示されるように、さらに、自動システムの8個のIEFチャンバーすべての電流パラメーターを格納してもよい。

20

【0037】

すべての図面ですべての特徴が記載されない場合でも、参照番号は、各ケースで同じ特徴に関している。

【0038】

【発明の効果】

以上説明したように本発明のストリップホルダーでは、ベースプレートに、キャリア表面に対し下側のレベルにオフセットしたストッパーおよびシール用表面を備え、そのストッパーは、電気泳動チャンバーのカウンター表面に適用されるように形成し、このような構成によって、ストリップホルダーの装置の深さを決定し、また、シール用表面により、ストリップホルダーの装着時のシールを確実にしたので、装置の構成を簡素化できる。

30

【図面の簡単な説明】

【図1】 挿入されたIEFのゲルストリップを有する閉じられたIEFチャンバーの垂直断面図

【図2】 挿入されたIEFのゲルストリップを有する閉じられたIEFチャンバーを、図1のA-Aラインでの垂直断面図

【図3】 挿入されたストリップホルダーおよびIEFゲルを有するSDS-PAGEカセットの垂直断面図

【図4】 SDS-PAGEカセットのシール(例えば図3中に示した円)に対する拡大した詳細図

【図5】 ストリップホルダーの挿入の前の組み立てられたSDS-PAGEカセットの正面プレートの平面図

40

【図6】 正面プレートを外した状態の組み立てられたSDS-PAGEカセットの正面図

【符号の説明】

- 1 ストリップホルダー
- 2 キャリア表面
- 3 ストリップゲル
- 4 ベースプレート
- 5 ストッパー
- 6 シール用表面
- 8 ピン
- 11 縁シール

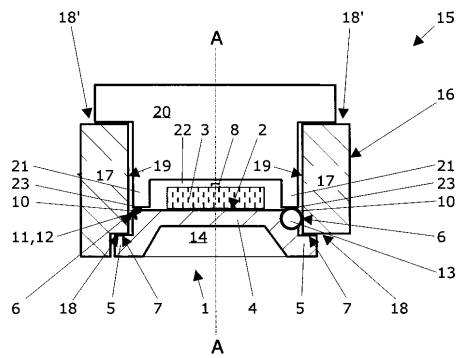
50

- 1 2 シール用の縁
- 1 3 Oリング
- 1 4 低い穴
- 1 5 チャンバー
- 1 6 フレーム
- 1 7 側壁
- 1 8 カウンター表面
- 2 0 カバー
- 2 1 突起
- 2 4 電極ホルダー
- 2 5 レベル
- 2 6 表面
- 2 7 電極
- 2 8 上端の開口
- 2 9 下端の開口
- 3 0 フリット
- 3 1 接触子
- 3 4 プレート
- 3 6 シール
- 4 0 シール用エッジ
- 4 1 付属のこぶ

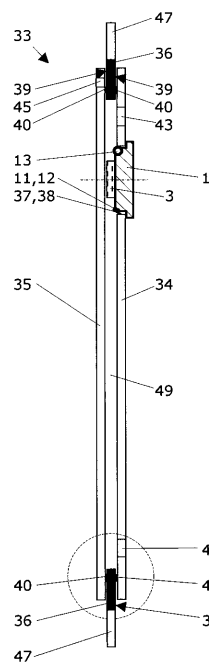
10

20

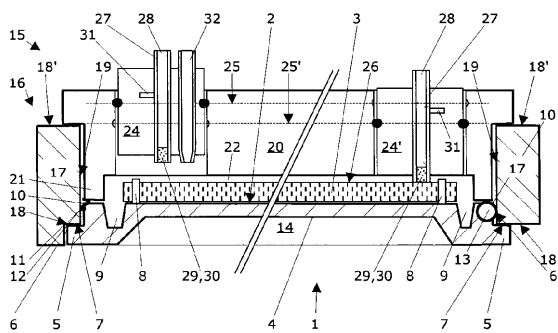
【図 1】



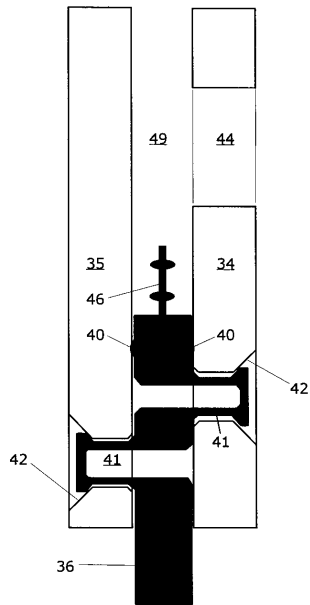
【図 3】



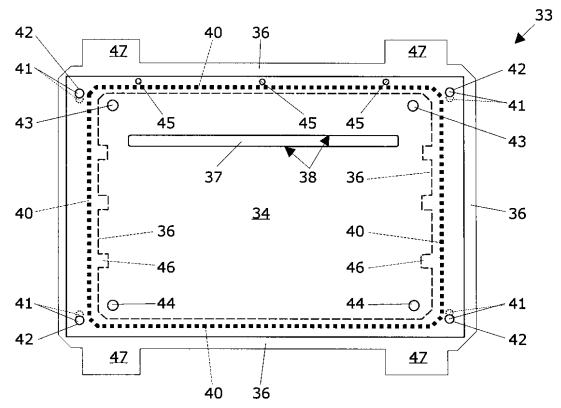
【図 2】



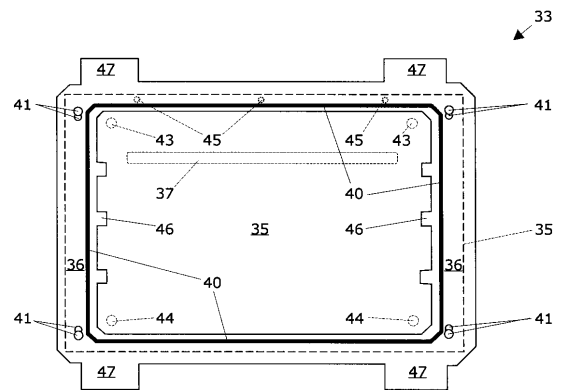
【図 4】



【図 5】



【図 6】



フロントページの続き

- (72)発明者 レモ・ヘーヒリ
スイス、ツェーハー 8 6 3 5 デュルンテン、エツェルシュトラッセ 1 4 番
- (72)発明者 マルツェル・ルティスハウザー
スイス、ツェーハー 8 6 3 3 ヴォルフハウゼン、プファンナーシュトラッセ 5 0 番
- (72)発明者 アントン・ポッシュ
ドイツ連邦共和国デー 8 5 5 6 7 グラフィング、アッシンガーシュトラッセ 2 アー番

審査官 黒田 浩一

- (56)参考文献 特開昭 6 1 - 1 0 4 2 4 8 (J P, A)
特開昭 6 3 - 1 3 8 2 5 0 (J P, A)
特開昭 6 0 - 2 3 6 0 5 7 (J P, A)
特表平 1 0 - 5 1 2 0 4 3 (J P, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., D B名)
G01N 27/447