

(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
2020年8月27日(27.08.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/170321 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/00 (2006.01) *C07K 1/30* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2019/005996
- (22) 国際出願日: 2019年2月19日(19.02.2019)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: 株式会社コンフォーカルサイエンス (CONFOCAL SCIENCE INC.) [JP/JP]; 〒1580081 東京都世田谷区深沢 5-14-15 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 田仲 広明 (TANAKA, Hiroaki); 〒1580081 東京都世田谷区深沢 5-14-15 株式会社コンフォーカルサイエンス内 Tokyo (JP). 伊中 浩治 (INAKA, Koji); 〒6391123 奈良県大和郡山市筒井 170番 1号 株式会社丸和栄養食品内 Nara (JP). 嚴 斌 (YAN, Bin); 〒1580081 東京都世田谷区深沢 5-14-15 株式会社コンフォー

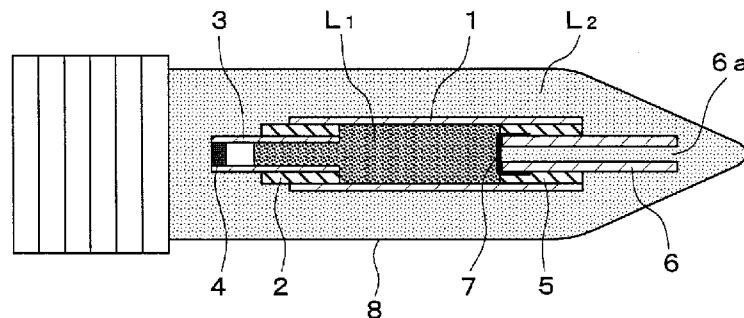
カルサイエンス内 Tokyo (JP). 高橋 幸子 (TAKAHASHI, Sachiko); 〒1580081 東京都世田谷区深沢 5-14-15 株式会社コンフォーカルサイエンス内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 成瀬 重雄 (NARUSE Shigeo); 〒1040061 東京都中央区銀座 3丁目 14番 1号 銀座三丁目ビル 8階 成瀬・清水特許事務所 Tokyo (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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, 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.

(54) Title: BIOPOLYMER CRYSTALLIZATION DEVICE

(54) 発明の名称: 生体高分子結晶化装置



(57) Abstract: The biopolymer crystallization device according to the present invention comprises: a first tubular member which is filled with a solution containing a biopolymer; a second tubular member into which a precipitant is supplied; and a dialysis membrane which allows the passage of the precipitant but not the biopolymer therethrough. The second tubular member has an end face wherein an opening is formed inside the first tubular member. Inside the first tubular member, the precipitant is supplied from the inside of the second tubular member to the biopolymer-containing solution through the opening and the dialysis membrane. Further, this biopolymer crystallization device comprises: an elastic body which is fitted inside the first tubular member; and a reservoir which houses the second tubular member within the inside thereof filled with the precipitant so that the precipitant is supplied to the inside of the second tubular member. The dialysis membrane is in contact with the end face in such a manner as to close the opening. At the same time, the dialysis membrane is fixed in a state of being in contact with the outer peripheral face of the second tubular member and the inner peripheral face of the elastic body.

WO 2020/170321 A1

(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, ST, 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).

添付公開書類 :

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約 : 本発明の生体高分子結晶化装置は、内部に生体高分子を含む溶液が充填された第1の管状部材と、内部に沈澱剤が供給される第2の管状部材と、生体高分子を通過させずに沈澱剤を通過させる透析膜とを備える。第2の管状部材は、第1の管状部材における内部において開口が形成された端面を有する。沈澱剤は、第1の管状部材における内部において、第2の管状部材における内部から開口及び透析膜を通過して、生体高分子を含む溶液に添加される。この生体高分子結晶化装置は、第1の管状部材における内部に嵌入された弾性体と、沈澱剤が充填された内部に第2の管状部材を収容することで、第2の管状部材における内部に沈澱剤を供給するリザーバとをさらに備える。透析膜は、開口を塞ぐように端面に当接し、かつ、第2の管状部材における外周面と弾性体の内周面とに当接した状態において固定されている。

明 細 書

発明の名称：生体高分子結晶化装置

技術分野

[0001] 本発明は、タンパク質等の生体高分子を結晶化させるための結晶化装置に関するものである。

背景技術

[0002] 新規医薬品開発の一法として、疾病に関連するタンパク質等の生体高分子に高い親和性で結合する阻害薬物を考案し、これを新規に合成する方法が知られている。この際に、対象となる疾病関連タンパク質等の生体高分子や、それと阻害薬物が結合した複合体の高精度の3次元構造座標データが、阻害薬物の考案や改良にとって有益な情報になる。このような生体高分子の構造データに基づく新規医薬品開発は、SBDD (Structure Based Drug Discovery/Design) と呼ばれ、製薬企業にとっての必須の技術に成りつつある。

[0003] ところで、上記タンパク質の3次元構造座標データを、X線回析や中性子線回析等によって構造解析するにあたっては、高品質な上記タンパク質等の生体高分子の結晶を得る必要が有る（下記特許文献1）。そこで、近年においては、タンパク質等の生体高分子の溶液に沈澱剤を添加させて溶液の溶解度を低下させ、上記生体高分子を結晶化させる必要性が高まっており、その一つとして透析法が一部で採用されている。

[0004] 例えば、図9(a)は、上記透析法に用いられる従来のハンプトンリサーチ社製の透析ボタン容器を示すもので、この透析ボタン容器20は、中央部に上面に開口するチャンバー21が形成されるとともに、下部外周にリングの嵌合溝22が形成されたものである。

[0005] この透析ボタン容器20を用いて、例えばタンパク質を結晶化させるには、先ず上記チャンバー21に上記タンパク質の試料溶液L₁を充填し、表面張力で幾分ドーム型に持ち上がった当該溶液L₁上からタンパク質を透過させない透析膜23を被せてリング24によって固定する。

[0006] そして、この透析ボタン容器20は、これを図9(b)に示すように沈澱剤L₂が充填された容器25内に載置して、上記透析膜23を通過する沈澱剤L₂によって溶液の溶解度を低下させることにより、チャンバー21内のタンパク質を結晶化させるものである。

[0007] ところが、上記透析ボタン容器20を用いた透析法においては、試料となるタンパク質を多量に用意することが難しく、特に疾病に関連するタンパク質等の生体高分子は、一般に調製が困難であることから、数μL~数十μLといった微量な試料を取り扱う必要が有る。また、透析膜23のセット時に、上記溶液と透析膜23との間に泡が介在し易く、よって当該作業に熟練を要するという問題点があった。加えて、チャンバー21に数μLといった少量の試料を充填する際に、貴重な当該試料の損失も生じ易いという問題点もあった。

[0008] さらに、容器25内に透析ボタン容器20を配置する際に、沈澱剤L₂との間に急激に浸透圧差が生じることによりチャンバー21内に気泡が発生し易く、これを回避するための結晶化条件を設定することも容易では無いという問題点もあった。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：特表2002-526745号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0010] 本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであり、タンパク質等の生体高分子を透析法によって結晶化させるに際して、沈澱剤から生体高分子溶液側に急激に浸透圧差が生じることが無く、しかも貴重な試料溶液の損失も回避することができて作業性に優れる生体高分子結晶化装置を提供することを課題とするものである。

課題を解決するための手段

[0011] 上記課題を解決するため、本発明の第1の側面では、内部に生体高分子を含む溶液が充填された第1の管状部材と、内部に沈澱剤が供給される第2の管状部材と、前記生体高分子を通過させずに前記沈澱剤を通過させる透析膜とを備え、前記第2の管状部材は、前記第1の管状部材における内部において開口が形成された端面を有しており、前記沈澱剤は、前記第1の管状部材における内部において、前記第2の管状部材における内部から前記開口及び前記透析膜を通過して前記生体高分子を含む溶液に添加される生体高分子結晶化装置であって、前記第1の管状部材における内部に嵌入された弾性体と、前記沈澱剤が充填された内部に前記第2の管状部材を収容することで、前記第2の管状部材における内部に前記沈澱剤を供給するリザーバとをさらに備え、前記透析膜は、前記開口を塞ぐように前記端面に当接し、かつ、前記第2の管状部材における外周面と前記弾性体の内周面とに当接した状態において固定されていることを特徴とするものである。

前記した本発明において、前記第1の管状部材における内部に挿入された導入管をさらに備えることができる。

[0012] また、本発明の第2の側面では、生体高分子を含む溶液が充填される透明な第1の管状部材と、この第1の管状部材の一端部を塞ぐ封止部材と、上記第1の管状部材の他端部にシール部材を介して挿入される第2の管状部材と、この第2の管状部材の上記第1の管状部材内に位置する一端開口を塞ぐ透析膜と、内部に上記第1および第2の管状部材が収納されるとともに上記沈澱剤溶液が充填されて上記第2の管状部材内に当該沈澱剤溶液を供給するリザーバとを備えてなり、上記シール部材は、外径寸法が上記第1の管状部材の内径寸法よりも大きく形成されることにより上記第1の管状部材の上記他端部に密に嵌入されるとともに、内径寸法が上記第2の管状部材の外径よりも小さく形成されることにより上記第2の管状部材が密に嵌入される筒状の弾性体からなり、上記透過膜は、沈澱剤を透過させるとともに上記生体高分子を透過させない素材からなり、その外周部が上記第2の管状部材の外周面と上記シール部材の内周面との間に挟持されていることを特徴とするもので

ある。

この発明において、上記密閉容器は、ガラスまたは石英からなってもよい。

発明の効果

[0013] 本発明の第1の側面では、第2の筒状部材における端面（開口が形成された端面）に透析膜が当接した状態を弾性体により維持することで、上記開口から第2の筒状部材における外部に流出した沈澱剤が「多方向に」拡散する過程で透析膜を通過するのではなく、第2の筒状部材における内部に充填された沈澱剤が「上記開口を通過する方向に」流れる過程で透析膜を通過することになる。このため、第2の筒状部材における内部に充填された沈澱剤が透析膜を通過する面積を小さく維持し、短時間で多量の沈澱剤が透析膜を通過することを抑制することができる。よって、急激な浸透圧差の発生を抑制することができる。

したがって、本発明では、急激な浸透圧差の発生を抑制するために、第2の筒状部材における内部に供給する沈澱剤の濃度や流量などを調整する必要がなくなる。このため、内部に沈澱剤が充填されたりザーバに第2の管状部材を収容し、第2の管状部材における内部に自然に沈澱剤が供給される状態を維持することができる。よって、複雑な操作を必要とせずに、生体高分子を含む溶液に沈澱剤を添加することができる。

[0014] 本発明の第2の側面では、一端部が塞がれて内部に生体高分子を含む溶液が充填される透明な第1の管状部材と、この第1の管状部材の他端部にシール部材を介して挿入されて沈澱剤溶液が供給される第2の管状部材との2重管構造とし、第2の管状部材の上記第1の管状部材内に位置する一端開口に透析膜を固定しているために、上記第1の管状部材内に透析膜を介して沈澱剤溶液が拡散する流路を確保することができ、よって急激な浸透圧差が加わることを回避することができる。

加えて、上記第1の管状部材内に生体高分子の溶液を充填する際には、上記第1の管状部材よりも細径のポリイミドチューブ等を利用して、容易に上

記溶液を第1の管状部材内に注入することができるために、貴重な生体高分子の溶液を損失したり、あるいは気泡が混入したりすることも回避することが可能になる。

図面の簡単な説明

- [0015] [図1]本発明の一実施形態における要部を示す縦断面図である。
- [図2]本発明の一実施形態の全体を示す縦断面図である。
- [図3]図1の第1及び第2の管状部材を組み立てた状態を示す縦断面図である。
- [図4]図4の第1及び第2の管状部材を容器内において保存する状態を示す縦断面図である。
- [図5]第2の管状部材内に沈澱剤溶液を充填する状態を示す縦断面図である。
- [図6]図5の第1の管状部材内に生体高分子の溶液を充填する状態を示す縦断面図である。
- [図7]図6の生体高分子の溶液を充填後に第1の管状部材の一端部を封止した状態を示す縦断面図である。
- [図8]本発明の実施例の結果を示す顕微鏡写真である。
- [図9] (a) は透析法に用いられる従来の透析ボタン容器を示す正面図であり、(b) は上記透析ボタン容器を沈澱剤が充填された容器内に載置して内部のタンパク質を結晶化させる状態を示す一部断面視した正面図である。

発明を実施するための形態

- [0016] 図1及び図2は、本発明に係る生体高分子結晶化装置の一実施例を示すもので、図中符号1が生体高分子を含む溶液 L_1 が充填される第1の管状部材である。

この第1の管状部材は、透明なガラス管からなるもので、本実施形態においては外径が2.5mm、内径が1.9mm、長さが18mmに形成されている。そして、この第1の管状部材1の一端部1aには、円筒状のシリコンチューブ2を介して透明なガラス管からなる導入管3が挿入されている。

- [0017] ここで、シリコンチューブ2は、外径寸法が第1の管状部材1の内径寸法

よりも大きく形成されることにより第1の管状部材1の一端部1aに密に嵌入されるとともに、内径寸法が導入管3の外径よりも小さい形成されることにより導入管3が密に嵌入されている。

[0018] ちなみに、本実施形態においては、シリコンチューブ2は、外径が2.0mm、内径が1.0mm、長さが5mmに形成され、導入管3は、外径が1.2mm、内径が0.7mm、長さが8mmに形成されている。そして、この導入管3の端部は、内部に生体高分子を含む溶液 L_1 が充填された後に、無毒性の粘土4（封止部材）によって塞がれている。

[0019] また、第1の管状部材1の他端部1bには、円筒状のシリコンチューブ（シール部材、弾性体）5を介して透明なガラス管からなる第2の管状部材6が挿入されている。この第2の管状部材6は、後述するように内部に沈澱剤溶液 L_2 が供給されるもので、第1の管状部材1の外方に延出する端部6aが開口されている。

[0020] そして、このシリコンチューブ5も、外径寸法が第1の管状部材1の内径寸法よりも大きく形成されることにより第1の管状部材1の他端部1bに密に嵌入されるとともに、内径寸法が第2の管状部材6の外径よりも小さい形成されることにより第2の管状部材6が密に嵌入されている。

[0021] 本実施形態においては、シリコンチューブ5は、外径が2.0mm、内径が1.0mm、長さが5mmに形成され、第2の管状部材6は、外径が1.2mm、内径が0.5mm、長さが10mmに形成されている。

[0022] そして、この第2の管状部材6における第1の管状部材1内の一端開口が、透析膜7によって塞がれている。この透析膜7は、分画分子量が2,000~100,000Daの範囲であって、かつ上記沈澱剤を透過させるとともに上記生体高分子を透過させない素材によって袋状に形成されたもので、その外周部が第2の管状部材6の外周面とシリコンチューブ5の内周面との間に挟持されている。

[0023] ここで、上記透析膜7としては、キュプラアンモニウムレーヨン(CR)や鹼化セルロース(SCA)等の再生セルロース膜(RC)、ヘモファン膜、P

C膜、ビタミンEコーティング膜等の表面改質再生セルロース膜、セルロースジアセテート(CDA)やセルローストリアセテート(CTA)等のセルロースアセテート(CA)、ポリアクリロニトリール(PAN)、ポリメチルメタクリレート(PMMA)、エチレンビニルアルコール共重合体(EVAL)、ポリスルホン(PS)、ポアミド(PA)、ポリエステル系ポリマーアロイ(PEPA)等の合成高分子系膜を用いることができる。

[0024] そして、生体高分子結晶化装置は、第1及び第2の管状部材1、6が、図2に示すような、内部に沈澱剤溶液L₂が充填されて第2の管状部材6内に当該沈澱剤溶液L₂を供給するリザーバ8内に配置されることにより、第1の管状部材1内における生体高分子の結晶化に用いられるものである。

[0025] 次に、図3～図7に基づいて、上記第1及び第2の管状部材1、6の組み立て、並びに上記結晶化を行うための手順について説明する。

先ず、図3に示すように、第1の管状部材1の他端部1bに、シリコンチューブ5を1mm程度押し込む。次いで、第2の管状部材6の一端開口に透析膜7を配して、これらをシリコンチューブ5内に差し込んだ後に、当該シリコンチューブ5と共に第1の管状部材1内に押し込む。

[0026] 他方、第1の管状部材1の一端部1aにおいても、同様にシリコンチューブ2を1mm程度押し込み、次いで導入管3をシリコンチューブ2内に差し込んだ後に、当該シリコンチューブ2と共に第1の管状部材1内に押し込む。

[0027] このようにして、組み立てられた第1、第2の管状部材1、6および導入管3を、図4に示すように、例えば純水L₃を充填したリザーバ8内において保存しておく。

[0028] そして、上記構成からなる生体高分子結晶化装置によって、タンパク質等の生体高分子の結晶化を行うには、先ず図5に示すように、上記第1、第2の管状部材1、6および導入管3を図4に示した保存用のリザーバ8から採りだし、第2の管状部材6の開口端部から、内部にポリイミドチューブ(外径0.38mm、内径0.30mm)をマイクロピペットチップに繋がれた充填治具10を挿入する。そして、この充填治具10から沈澱剤溶液を供給して第2の管状

部材 6 内を上記沈澱剤溶液 L_2 によって満たす。

- [0029] ここで、沈澱剤としては、タンパク質を変性させることなく凝縮させることができる塩あるいは高分子であればよく、一般的には塩化ナトリウム、硫酸アンモニウム、ポリエチレングリコールなどを用いることができる。
- [0030] 次に、図 6 に示すように、導入管 3 の開口端部から、内部にポリイミドチューブ（外径 0.62mm、内径 0.50mm）をマイクロピペットチップに繋げた充填治具 11 を挿入し、この充填治具 11 から生体高分子の溶液 L_1 を第 1 の管状部材 1 内に供給して充填した後に、図 7 に示すように、導入管 3 の開口端部を無毒性の粘土 4 によって封止する。
- [0031] そして、これら第 1、第 2 の管状部材 1、6 および導入管 3 を、図 2 に示すように、沈澱剤溶液 L_2 が充填されたリザーバ 8 内に収納することにより、結晶化を開始させる。
- [0032] 以上説明したように、上記構成からなる生体高分子結晶化装置においては、一端部 1 a が封止部材 4 によって塞がれて内部に生体高分子を含む溶液 L_1 が充填される透明な第 1 の管状部材 1 と、この第 1 の管状部材 1 の他端部 1 b にシリコンチューブ 5 を介して挿入されて沈澱剤溶液 L_2 が供給される第 2 の管状部材 6 との 2 重管構造とし、第 2 の管状部材 6 の第 1 の管状部材 1 内に位置する一端開口に透析膜 7 を固定しているために、第 1 の管状部材 1 内に透析膜 7 を介して沈澱剤溶液 L_2 が拡散する流路を確保することができ、よって急激な浸透圧差が加わることを回避することができる。
- [0033] 加えて、第 1 の管状部材 1 内に生体高分子の溶液 L_1 を充填する際には、第 1 の管状部材 1 よりも細径のポリイミドチューブ等を利用して、容易に上記溶液 L_1 を第 1 の管状部材 1 内に注入することができるために、貴重な生体高分子の溶液を損失したり、あるいは気泡が混入したりすることも回避することもできる。
- [0034] なお、上記実施形態においては、第 1 の管状部材 1 の一端部 1 a を塞ぐ封止部材として、無毒性の粘土 4 を用いた場合についてのみ説明したが、本発明はこれに限定されるものではなく、上記第 1 の管状部材 1 の一端部 1 a を

気密的に封じることが可能である限りにおいて、様々な封止部材を用いることができる。

[0035] また、ガラス製の導入管3の端部をマイクロバーナで溶融したり、あるいは当該導入管3を弾力性を有する素材で形成して、端部を圧密処理したりして封止部材とすることも可能である。さらに、第1の管状部材1の一端部1aに、上述したシリコンチューブ2および導入管3を設けることなく、直接第1の管状部材1の端部を上記無害性の粘土4等によって封止するようにしてもよい。

[0036] また、第1及び第2の管状部材1、6の素材としては、本実施形態において示したガラスの他、石英も好適に用いることができ、例えばポリカーボネートのような透明な合成樹脂を用いることも可能である。

実施例

[0037] 上記実施形態に示した生体高分子結晶化装置を用いてタンパク質の結晶化実験を行った。

本実験においては、タンパク質試料溶液（生体高分子溶液 L_1 ）として、25 mg/ml lysozyme, 5% PEG 4000, 0.3 M NaCl, 50 mM acetate buffer pH 4.5 を用いるとともに、初期の沈澱剤溶液 L_2 として、5% PEG 4000, 0.5M NaCl, 50 mM acetate buffer pH 4.5 の組成の溶液を用いた。

[0038] そして、第1の管状部材1内に上記タンパク質試料溶液 L_1 を充填し、上記沈澱剤溶液 L_2 を満たしたりザーバ8内に横置きで静置して結晶化を開始した。

[0039] 次いで、実験開始から12日後に、上記第1の管状部材1等を、5% PEG 4000, 0.7 M NaCl, 50 mM acetate buffer pH 4.5 の組成からなる沈澱剤溶液 L_2 を満たしたりザーバ8中に移し、同様に横置きで静置して結晶を生成させた。

[0040] この結果、実験開始から14日後に、図8(a)に示すように結晶が生成し、実験開始から1ヶ月後に、図8(b)に示すように、成長中の結晶が約450 μ mになった。

符号の説明

- [0041]
- 1 第1の管状部材
 - 4 無毒性の粘土（封止部材）
 - 5 シリコンチューブ（シール部材、弾性体）
 - 6 第2の管状部材
 - 7 透析膜
 - 8 リザーバ
 - L₁ 生体高分子溶液
 - L₂ 沈澱剤溶液

請求の範囲

[請求項1]

内部に生体高分子を含む溶液が充填された第1の管状部材と、
内部に沈澱剤が供給される第2の管状部材と、
前記生体高分子を通過させずに前記沈澱剤を通過させる透析膜とを
備え、

前記第2の管状部材は、前記第1の管状部材における内部において
開口が形成された端面を有しており、

前記沈澱剤は、前記第1の管状部材における内部において、前記第
2の管状部材における内部から前記開口及び前記透析膜を通過して前
記生体高分子を含む溶液に添加される生体高分子結晶化装置であって
、

前記第1の管状部材における内部に嵌入された弾性体と、
前記沈澱剤が充填された内部に前記第2の管状部材を収容することで
、前記第2の管状部材における内部に前記沈澱剤を供給するリザーバ
とをさらに備え、

前記透析膜は、前記開口を塞ぐように前記端面に当接し、かつ、前記
第2の管状部材における外周面と前記弾性体の内周面とに当接した状
態において固定されていることを特徴とする生体高分子結晶化装置。

[請求項2]

前記第1の管状部材における内部に挿入された導入管をさらに備え
ることを特徴とする請求項1に記載の生体高分子結晶化装置。

[請求項3]

生体高分子を含む溶液が充填される透明な第1の管状部材と、この
第1の管状部材の一端部を塞ぐ封止部材と、上記第1の管状部材の他
端部にシール部材を介して挿入される第2の管状部材と、この第2の
管状部材の上記第1の管状部材内に位置する一端開口を塞ぐ透析膜と
、内部に上記第1および第2の管状部材が収納されるとともに上記沈
澱剤溶液が充填されて上記第2の管状部材内に当該沈澱剤溶液を供給
するリザーバとを備えてなり、

上記シール部材は、外径寸法が上記第1の管状部材の内径寸法より

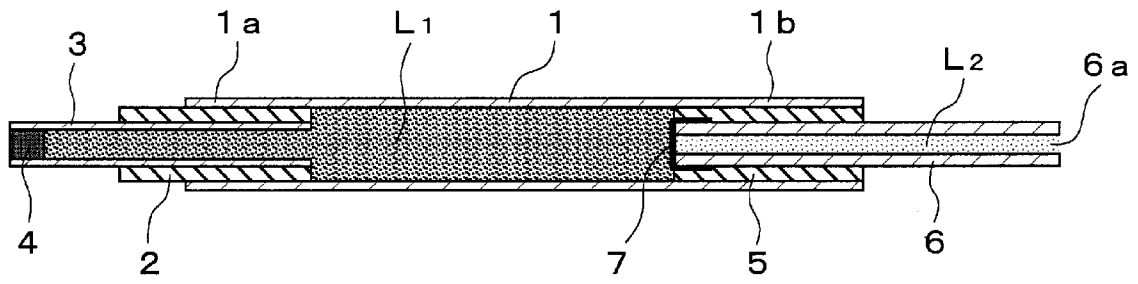
も大きく形成されることにより上記第1の管状部材の上記他端部に密に嵌入されるとともに、内径寸法が上記第2の管状部材の外径よりも小さく形成されることにより上記第2の管状部材が密に嵌入される筒状の弾性体からなり、

上記透過膜は、沈澱剤を透過させるとともに上記生体高分子を透過させない素材からなり、その外周部が上記第2の管状部材の外周面と上記シール部材の内周面との間に挟持されていることを特徴とする生体高分子結晶化装置。

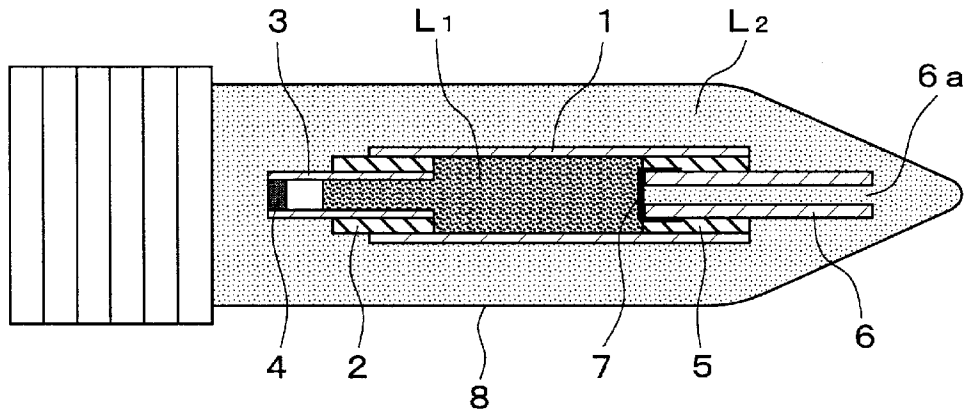
[請求項4]

上記密閉容器は、ガラスまたは石英からなることを特徴とする請求項3に記載の生体高分子結晶化装置。

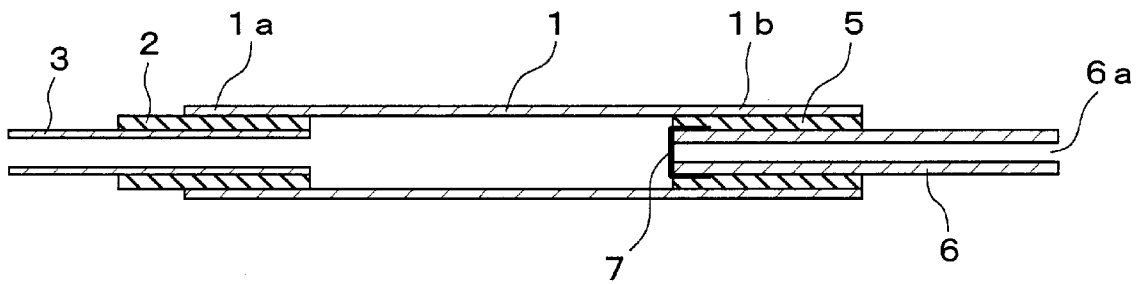
[図1]



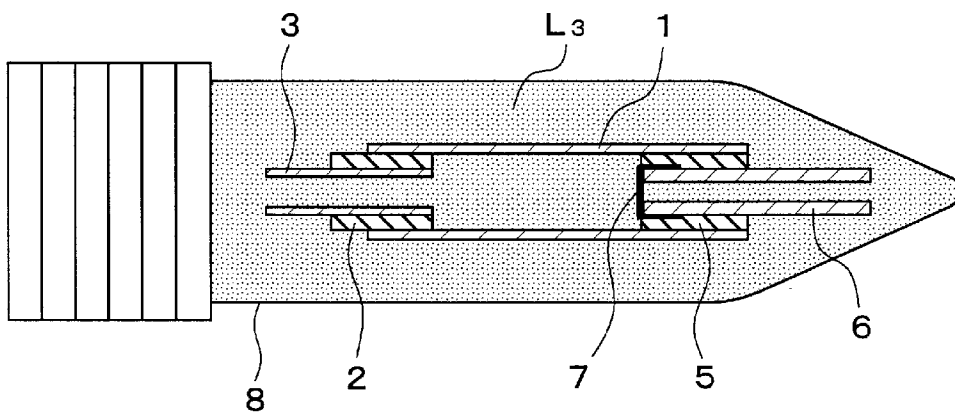
[図2]



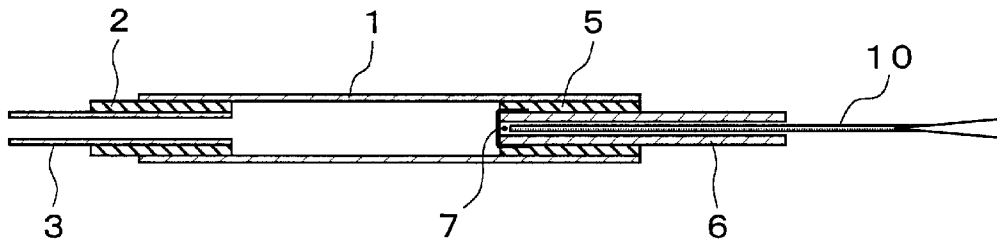
[図3]



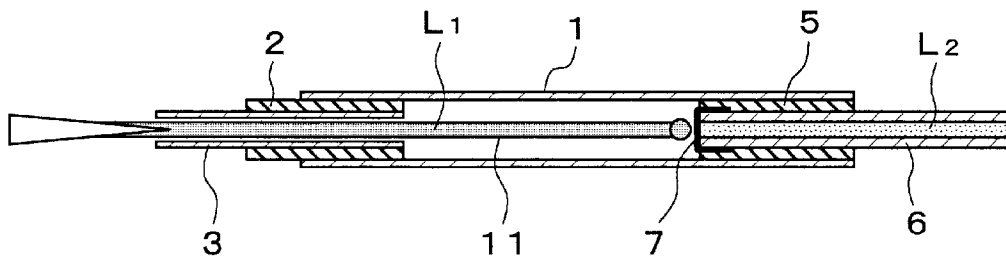
[図4]



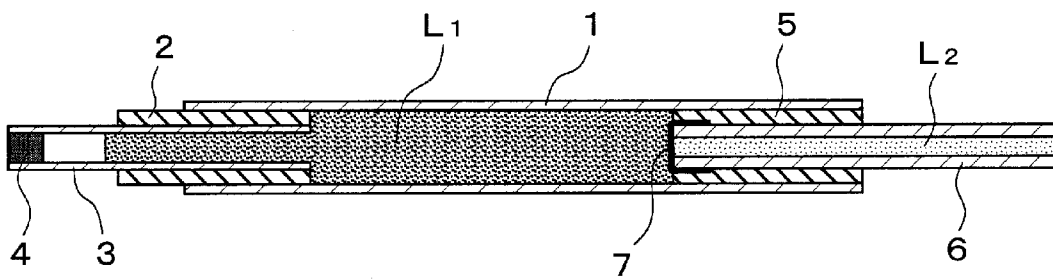
[図5]



[図6]



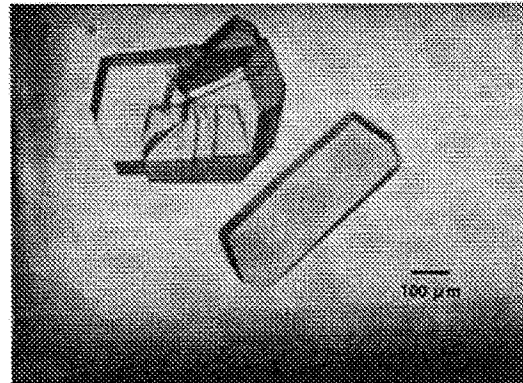
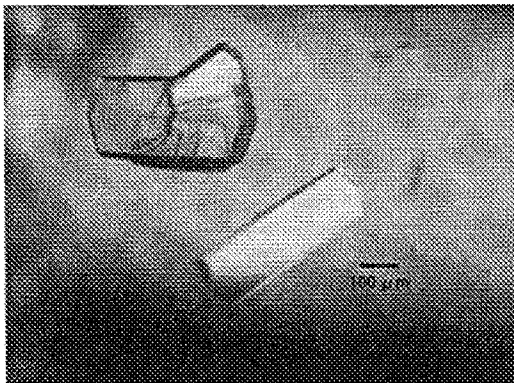
[図7]



[図8]

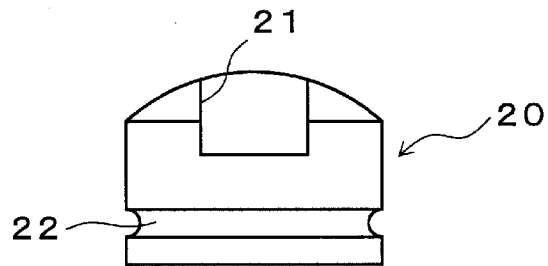
(a)

(b)

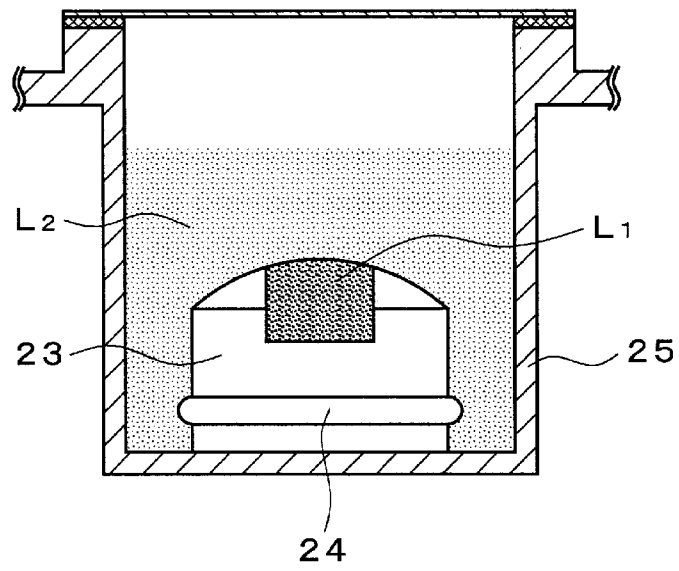


[図9]

(a)



(b)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/005996

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl. C12M1/00 (2006.01) i, C07K1/30 (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)

Int. Cl. C12M1/00, C07K1/30

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2019
 Registered utility model specifications of Japan 1996-2019
 Published registered utility model applications of Japan 1994-2019

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

JSTplus/JMEDplus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2018-145110 A (CHIYODA CORPORATION) 20 September 2018, & WO 2018/159089 A1	1-4
A	WO 2004/106598 A1 (JAPAN AEROSPACE EXPLORATION AGENCY) 09 December 2004, & US 2006/0081173 A1 & EP 1630263 A1	1-4
A	JP 2004-26528 A (JAPAN ATOMIC ENERGY RESEARCH INSTITUTE) 29 January 2004, & US 2003/0233978 A1	1-4
A	JP 1-139102 A (INTOSPACE GMBH) 31 May 1989, & US 5009861 A1 & EP 303224 A2	1-4

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“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
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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
“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)	“&” document member of the same patent family
“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	

Date of the actual completion of the international search 09.05.2019	Date of mailing of the international search report 21.05.2019
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/JP2019/005996

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2007/0025895 A1 (QIN, Zunshe) 01 February 2007 (Family: none)	1-4

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M1/00(2006.01)i, C07K1/30(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 (IPC)) Int.Cl. C12M1/00, C07K1/30											
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 <table style="width:100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2019年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2019年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2019年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2019年	日本国実用新案登録公報	1996-2019年	日本国登録実用新案公報	1994-2019年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2019年										
日本国実用新案登録公報	1996-2019年										
日本国登録実用新案公報	1994-2019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) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII) CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)											
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									
A	JP 2018-145110 A (千代田化工建設株式会社) 2018.09.20, & WO 2018/159089 A1	1-4									
A	WO 2004/106598 A1 (独立行政法人 宇宙航空研究開発機構) 2004.12.09, & US 2006/0081173 A1 & EP 1630263 A1	1-4									
A	JP 2004-26528 A (日本原子力研究所) 2004.01.29, & US 2003/0233978 A1	1-4									
☑ 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 09.05.2019		国際調査報告の発送日 21.05.2019									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/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) 福間 信子	4N 3539								
		電話番号 03-3581-1101 内線	3488								

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
A	JP 1-139102 A (イントゥースペース・ゲゼルシャフト・ミト・ベシ ユレンクテル・ハフツング) 1989.05.31, & US 5009861 A1 & EP 303224 A2	1-4
A	US 2007/0025895 A1 (QIN Zunshe) 2007.02.01, (ファミリーなし)	1-4