

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4286926号
(P4286926)

(45) 発行日 平成21年7月1日(2009.7.1)

(24) 登録日 平成21年4月3日(2009.4.3)

(51) Int. Cl.		F 1			
C 1 2 M	1/00	(2006.01)	C 1 2 M	1/00	A
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)	C 1 2 Q	1/68	A
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	A

請求項の数 1 (全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平10-134819	(73) 特許権者	594199337
(22) 出願日	平成10年5月18日(1998.5.18)		オルソークリニカル ダイアグノスティクス、インコーポレイティド
(65) 公開番号	特開平11-4677		アメリカ合衆国、ニューヨーク 1465
(43) 公開日	平成11年1月12日(1999.1.12)		O、ロチェスター、インディゴ クリーク
審査請求日	平成17年5月18日(2005.5.18)		ドライブ 100
(31) 優先権主張番号	60/047059	(74) 代理人	100077517
(32) 優先日	平成9年5月19日(1997.5.19)		弁理士 石田 敬
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100086276
			弁理士 吉田 維夫
		(74) 代理人	100088269
			弁理士 戸田 利雄
		(74) 代理人	100082898
			弁理士 西山 雅也

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 反応容器

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

核酸物質の増幅及び検出のための、隣接する複数のチャンバーを含んで成る反応容器であって、

各チャンバーは前壁、後壁、二枚の側壁及び底壁を含み、該前壁及び該後壁はそれらの最上縁部で終了し上部開口部を成しており、各チャンバーの側壁は、複数のチャンバーを並べて一体接続するように、隣接するチャンバーと共通の側壁を含み、

各チャンバーの前壁は、該最上縁部の下方にすべてのチャンバーにわたっている液体添加口を含み、該共通の側壁は該添加口で終了しており、

該添加口の上方の該上部開口部の内側には、該最上縁部の下方へ移動した時に各チャンバーの添加口を塞ぎ且つ各チャンバーに栓をするように形造られた移動可能な弾性プラグが搭載されており、該プラグは、該最上縁部の下方へ移動した時にすべてのチャンバーについて同時にその添加口を閉鎖するように、該反応容器内のすべてのチャンバーに差し渡されている反応容器。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、核酸物質の増幅及び検出を、好ましくは均質系PCR法によって実施するための反応容器に関する。

【0002】

10

20

【従来の技術】

PCR増幅を行った後、捕捉した標的核酸物質を閉鎖容器内で分離、検出する方法において、このような容器を処理装置で個別的ではあるが並列に処理することが知られている。そのような容器の例が米国特許第5,229,297号に、またそのような処理装置の例が米国特許第5,089,233号に、それぞれ記載されている。これらの例は、主として、増幅及び検出を独立したチャンバーで且つ独立した工程において行う不均質系PCRに使用される。このような系は、診断目的用のPCRを使用する上で、未使用容器のキャリアオーバー汚染を防止する制限により、ブレイクスルーとなるが、二次的な欠点がある。各容器は、試料を別々に添加して封止しなければならないが、また、増幅された標的を独立した検出部位へ移動しなければならない。対照的に、均質系PCRは、独立したチャンバー内で増幅及び検出を別々に処理する必要がない。

10

【0003】**【発明が解決しようとする課題】**

従って、本発明がなされる以前は、試料の添加及びその後の封止を一度に全部一緒に行った複数の容器において均質系PCRが実施できるような装置に対するニーズが存在していた。

【0004】**【課題を解決するための手段】**

本発明は、より具体的には以下のように達成される：

核酸物質の増幅及び検出のための、隣接する複数のチャンバーを含んで成る反応容器であって、

20

各チャンバーは前壁、後壁、二枚の側壁及び底壁を含み、該前壁及び該後壁はそれらの最上縁部で終了し上部開口部を成しており、各チャンバーの側壁は、複数のチャンバーを並べて一体接続するように、隣接するチャンバーと共通の側壁を含み、

各チャンバーの前壁は、該最上縁部の下方にすべてのチャンバーにわたっている液体添加口を含み、該共通の側壁は該添加口で終了しており、

該添加口の上方の該上部開口部の内側には、該最上縁部の下方へ移動した時に各チャンバーの添加口を塞ぎ且つ各チャンバーに栓をするように形造られた移動可能な弾性プラグが搭載されており、該プラグは、該最上縁部の下方へ移動した時にすべてのチャンバーについて同時にその添加口を閉鎖するように、該反応容器内のすべてのチャンバーに差し渡されている反応容器。

30

【0005】**実施態様**

以下の説明は、容器が特定の形状を有し且つ均質系PCR反応に用いられる好ましい実施態様の特徴について行うものである。さらに、本発明は、容器の形状及びその内部での反応とは無関係に有用ではあるが、その前壁が、説明するように、共通のプラグによってすべての容器について封止が行われる液体添加口を有することが必要である。

【0006】

このような反応容器は、熱的に薄い形に、すなわち、その主壁面の少なくとも一つを介して100 μ L程度の流体容量について3~5秒程度の指数時定数を示す迅速な伝熱性能を有するようにすることができる。このため、本容器の各チャンバーの熱的時定数は、米国特許第5,229,297号、第8欄、第58~68行に記載されているキュベットのそれに匹敵する。

40

【0007】

また、本容器は、蛍光体マーカーを一端に有するDNAプローブを用いた均質系PCR反応のための蛍光検出を可能ならしめる形状を有する。このようなマーカーを使用する有用なプローブが、例えば、Nature Biotechnology, Vol. 14, 1996年3月(第264頁及び第303~308頁)に記載されている。加熱時、該プローブは解けて相補的DNA標的鎖とハイブリダイズし得る形になり、これにハイブリダイズした標的の量に比例して蛍光を発する二本鎖を生ぜしめる。(このようなプローブは、ハイブリダイズされない場合に

50

はクエンチング分子によって蛍光を発しないようにされる。)

【0008】

さらに具体的に説明すると(図1)、一体接続された複数のチャンバー12、14、16、18から形成された容器10が提供される。各チャンバーは、隣接する一つ又は二つのチャンバーと共有の側壁20を共有している。側壁21、23は端壁を形成する。各チャンバーはさらに後壁22を有する(図2)。この後壁はすべてのチャンバーに共通し、共通の前壁24及び底壁26についても同様である。前壁及び後壁の最上縁部30は開放されており上部開口部32を成している。上部開口部32は、すべてのチャンバーを差し渡し延びている移動可能な弾性プラグ40を保持する。プラグ40は、これを後述のように移動させた時に側壁20がプラグ内部でロックされるように、のこぎり歯状にされている(図1、42、44、46)。チャンバーの壁部12、14、16、18は、厚さ0.508mm(0.02インチ)程度の透明なプラスチック製であることが好ましい。

10

【0009】

前壁24は、すべてのチャンバーを差し渡し延びている液体添加口50を有し、試料液を注入できるようになっている。さらに前壁24は、肩部52において段差が付けられており、厚さが各チャンバーの底部の厚さ「t」にまで薄くなっている。肩部52はまた、プラグ40が下方(図2、矢印56)へ移動した時にプラグ40の表面54に対して有効な封止となる。

【0010】

本容器には、ポリスチレン、アクリル樹脂又はポリカーボネートのよう、蛍光シグナルに対して透明な硬質プラスチックであればいかなるものでも使用することができる。

20

【0011】

各チャンバーについては、各チャンバーは、PCR増幅試薬と共に、そのチャンバー毎の個別具体的なアッセイに特異的な一種又は二種以上の検出試薬を含有する。患者試料DNAを開口部50を通して(矢印60)すべてのチャンバーに注入して各チャンバーの流量を100 μ Lとし、そしてプラグ40を下方(矢印56)へ移動して開口部50を封止すると共に各チャンバーの他のチャンバーとの連絡を封止する。その後、周知のPCR法に従い加熱、冷却により増幅を行い、検出可能な蛍光シグナルを生ぜしめるに十分な量の標的DNAを得る。

30

【0012】

【発明の効果】

このように、本発明の有利な特徴は、均質系PCRが、複数の容器で、一度該容器にすべての液体を存在させてこれを閉鎖した後にはステーション間を移動させる必要もなく、一度で全部実施可能な反応容器が提供されることにある。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明により構築された容器の前方立面図である。

【図2】図1の線II-IIに沿った断面図である。

【符号の説明】

10...容器

12、14、16、18...チャンバー

40

20...共通側壁

21、23...側壁

22...後壁

24...共通前壁

26...底壁

30...最上縁部

32...上部開口部

40...プラグ

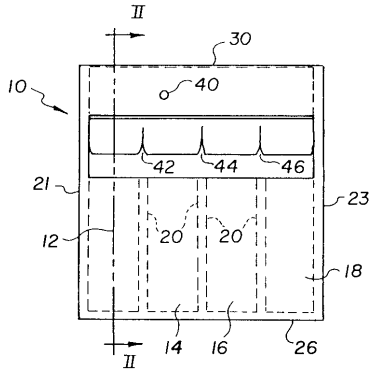
52...肩部

54...表面

50

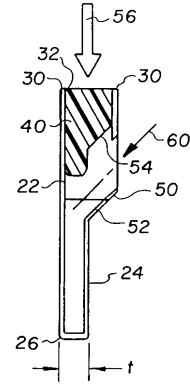
【 図 1 】

図 1



【 図 2 】

図 2



フロントページの続き

(74)代理人 100081330

弁理士 樋口 外治

(72)発明者 ステュアート ジルムーア マクドナルド

アメリカ合衆国, ニューヨーク 14538, パルツニービル, イースト レイク ロード 14
463

審査官 濱田 光浩

(56)参考文献 米国特許第5011663(US, A)

米国特許第4237096(US, A)

米国特許第3595086(US, A)

特開平9-9993(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12M 1/00

C12Q 1/68

C12N 15/00

JSTPlus(JDreamII)

JMEDPlus(JDreamII)