

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4522800号
(P4522800)

(45) 発行日 平成22年8月11日(2010.8.11)

(24) 登録日 平成22年6月4日(2010.6.4)

(51) Int.Cl.		F I	
C 1 2 N 15/00	(2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z
C 1 2 M 1/00	(2006.01)	C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 M 1/04	(2006.01)	C 1 2 M 1/04	
C 1 2 M 1/12	(2006.01)	C 1 2 M 1/12	

請求項の数 3 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2004-262091 (P2004-262091)	(73) 特許権者	306037311 富士フイルム株式会社 東京都港区西麻布2丁目26番30号
(22) 出願日	平成16年9月9日(2004.9.9)	(74) 代理人	100073184 弁理士 柳田 征史
(65) 公開番号	特開2005-110669 (P2005-110669A)	(74) 代理人	100090468 弁理士 佐久間 剛
(43) 公開日	平成17年4月28日(2005.4.28)	(72) 発明者	白井 孝 神奈川県南足柄市竹松1250番地 富士 機器工業株式会社内
審査請求日	平成19年3月8日(2007.3.8)	(72) 発明者	宮戸 崇裕 神奈川県南足柄市竹松1250番地 富士 機器工業株式会社内
(31) 優先権主張番号	特願2003-328251 (P2003-328251)	審査官	福間 信子
(32) 優先日	平成15年9月19日(2003.9.19)		最終頁に続く
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		

(54) 【発明の名称】 抽出装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

フィルター部材を備えた抽出カートリッジを用い、該抽出カートリッジに核酸を含む試料液を注入し該試料液中の核酸を前記フィルター部材に吸着させる抽出装置において、

前記抽出カートリッジに加圧エアを導入する加圧エア供給機構は、移動する加圧ヘッドと、該加圧ヘッドに設置され加圧エアを噴出する複数のエアノズルと、該エアノズルの先端と前記抽出カートリッジの開口部との間に圧接されるシール材とを備え、

前記シール材は、平板状で前記複数のエアノズルのエア噴出口に対応する位置に複数の連通穴が貫通形成されて各エアノズル共通に一体化され、前記加圧ヘッドに脱着交換可能に保持されたことを特徴とする抽出装置。

【請求項2】

フィルター部材を備えた抽出カートリッジを用い、該抽出カートリッジに核酸を含む試料液を注入し加圧して該試料液中の核酸を前記フィルター部材に吸着させた後、前記抽出カートリッジに回収液を分注し加圧して前記フィルター部材に吸着した核酸を分離して回収液とともに回収する抽出動作を行う抽出装置であって、

前記抽出カートリッジに加圧エアを導入する加圧エア供給機構は、前記抽出カートリッジに対して昇降移動する加圧ヘッドと、この加圧ヘッドに設置され下端開口より加圧エアを噴出する複数のエアノズルと、該エアノズルの直下に配設され前記加圧ヘッドの下降に伴って前記エアノズルの先端と前記抽出カートリッジの上端開口部との間に圧接されてシールを行うシール材とを備え、

前記シール材は、平板状で前記複数のエアノズルのエア噴出口に対応する位置に複数の連通穴が貫通形成されて各エアノズル共通に一体化され、前記加圧ヘッドに脱着交換可能に保持されたことを特徴とする抽出装置。

【請求項3】

前記シール材は、前記加圧ヘッドに脱着可能なブラケットに保持されたことを特徴とする請求項1または2に記載の抽出装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、フィルター部材を備えた抽出カートリッジを用いて試料液の特定物質として 10
の核酸を抽出する抽出装置に関し、特に抽出カートリッジに加圧エアを供給する加圧エア供給機構に関するものである。

【背景技術】

【0002】

従来の抽出法、例えば核酸抽出法としては、遠心法によるもの、磁気ビーズを用いるもの、フィルターを用いるものなどがある。

【0003】

フィルターを用いた抽出装置としては、フィルターを収容したフィルターチューブをラックに多数セットし、これに試料液を分注し、上記ラックの底部の周囲をシール材を介してエアチャンバーで密閉して内部を減圧し、全フィルターチューブを同時に排出側より吸引して試料液を通過させて核酸をフィルターに吸着し、その後、洗浄液および溶出液を分注して、同様に減圧吸引して洗浄・溶出するようにした機構が提案されている（例えば、特許文献1参照）。 20

【0004】

また、フィルターを用いた他の抽出方法として、試料液の核酸を吸着させた後、離脱させて回収する特定のフィルターを備えた分離精製ユニットに、試料液を注入し加圧して抽出する方式が採用されたものがある（例えば、特許文献2参照）。

【特許文献1】特許第2832586号公報

【特許文献2】特開2003-128691号公報

【発明の開示】 30

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

上記のような特許文献1および2に記載されたものでは、本発明の対象とする抽出装置としては次のような問題がある。

【0006】

引用文献1では、減圧方式による核酸抽出装置を示しており、全体を同時に吸引するものでは、減圧容積が大きいために装置が大型化し、減圧を作用させるまでの時間が掛かり、また、液が全部排出されたことの検出が困難で、時間設定が長く、処理効率の向上の障害となる。特に、全体の真空吸引では、1つの抽出カートリッジへの試料液注入不良、抽出カートリッジの装填ミス等によってエア抵抗がないものがあると、正常な作動を確保することができず、また、多数の抽出カートリッジを個別に吸引する機構を構成することも困難である。 40

【0007】

一方、特許文献2では、加圧方式によりフィルターを使って、核酸抽出物を吸着させ、回収する方式が示されているが、具体的な抽出装置については示されておらず、この加圧方式を採用した抽出装置では、その加圧コントロール方法や、加圧時の排出液の飛散によるコンタミネーションの発生、密閉性の確保等が問題となることが予想される。

【0008】

特に、抽出カートリッジに加圧エアを供給するためには、エアノズルの先端部位を抽出カートリッジの開口部に圧接し、エア漏れが生じないように密閉状態にシールし、抽出力 50

ートリッジ内を所定の加圧状態とする必要がある。このとき、抽出カートリッジの開口部分にエアノズルの先端をシール材を介して押圧させることになるが、抽出カートリッジには試料液（検体液）が注入されることから、その開口部分にはこの試料液が付着している可能性があり、異なる試料液間で同じシール材を連続使用すると、シール材に付着した試料液が次の抽出カートリッジに転移付着してコンタミネーションの要因となる問題がある。

【0009】

しかし、エアノズルは抽出カートリッジに対して接離移動するように設置しなければならず、しかも複数のエアノズルを配設して処理効率の上昇を図るようにすると、上記コンタミネーションの発生を防止することは繁雑な作業となる。特に、各エアノズルの先端にシール材を装着したものは、小さなシール材を脱着交換する作業が面倒で作業効率が低く、抽出装置の稼働効率の低下を招く原因となり、シール材の作製適性にも欠ける。

10

【0010】

本発明はこのような点に鑑みなされたもので、短時間で効率よく試料液の特定物質として核酸を抽出できるとともに抽出カートリッジに加圧エアを供給する工程でのコンタミネーションの発生を効率よく防止するようにした抽出装置を提供することを目的とするものである。

【0011】

特に、特許文献2のフィルター方式による核酸抽出を良好に実現できる抽出装置を提供するものである。

20

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明の抽出装置は、フィルター部材を備えた抽出カートリッジを用い、該抽出カートリッジに特定物質を含む試料液を注入し該試料液中の特定物質を前記フィルター部材に吸着させる抽出装置において、前記抽出カートリッジに加圧エアを導入する加圧エア供給機構は、移動する加圧ヘッドと、該加圧ヘッドに設置され加圧エアを噴出する複数のエアノズルと、該エアノズルの先端と前記抽出カートリッジの開口部との間に圧接されるシール材とを備え、前記シール材は、平板状で前記複数のエアノズルのエア噴出口に対応する位置に複数の連通穴が貫通形成されて各エアノズル共通に一体化され、前記加圧ヘッドに脱着交換可能に保持されたことを特徴とするものである。

30

【0013】

本発明の他の抽出装置は、フィルター部材を備えた抽出カートリッジを用い、該抽出カートリッジに核酸を含む試料液を注入し加圧して該試料液中の核酸を前記フィルター部材に吸着させた後、前記抽出カートリッジに回収液を分注し加圧して前記フィルター部材に吸着した核酸を分離して回収液とともに回収する抽出動作を行う抽出装置であって、

前記抽出カートリッジに加圧エアを導入する加圧エア供給機構は、前記抽出カートリッジに対して昇降移動する加圧ヘッドと、この加圧ヘッドに設置され下端開口より加圧エアを噴出する複数のエアノズルと、該エアノズルの直下に配設され前記加圧ヘッドの下降に伴って前記エアノズルの先端と前記抽出カートリッジの上端開口部との間に圧接されてシールを行うシール材とを備え、前記シール材は、平板状で前記複数のエアノズルのエア噴出口に対応する位置に複数の連通穴が貫通形成されて各エアノズル共通に一体化され、前記加圧ヘッドに脱着交換可能に保持されたことを特徴とするものである。

40

【0015】

また、前記加圧ヘッドに固定された支持部に直接、シール材を挿入セットするようにしてもよい。

【発明の効果】

【0016】

上記のような本発明によれば、フィルター部材を備えた抽出カートリッジに特定物質として核酸を含む試料液を注入して核酸をフィルター部材に吸着させる抽出動作を短時間で効率よく行って試料液の核酸を抽出できる機構をコンパクトに構成することができる。

50

【 0 0 1 7 】

さらに、加圧エア供給機構は、移動する加圧ヘッドと、該加圧ヘッドに設置され加圧エアを噴出する複数のエアノズルと、該エアノズルの先端と前記抽出カートリッジの開口部との間に圧接されるシール材とを備え、シール材は各エアノズル共通に一体化され加圧ヘッドに脱着交換可能に保持されたことにより、シール材が任意かつ容易に交換可能でコンタミネーション防止が簡易かつ効率的に行える。

【 0 0 1 8 】

前記シール材を平板状で複数のエアノズルのエア噴出口に対応する位置に複数の連通穴が貫通形成されてなるものでは、シール材の作製が容易であり、複数のエアノズルに対するシール材の交換が一度の交換作業で効率よく行える。また、シール材を加圧ヘッドに脱着可能なブラケットに保持したものでは、工具なしで任意の時期に交換可能となり、ユーザーによる取り外し交換も容易となり、例えば、一抽出動作毎に交換してコンタミネーションを確実に防止することができる。

【 発明を実施するための最良の形態 】

【 0 0 1 9 】

以下、本発明の実施の形態を図面に沿って説明する。図 1 は抽出装置の一つの実施の形態における核酸抽出装置のカバーを除去した状態を示す斜視図、図 2 は核酸抽出装置の概略機構図、図 3 は搭載機構におけるラックの斜視図、図 4 はラックの使用状態を示す斜視図、図 5 は図 1 とは異なる形態の加圧ヘッドの押圧状態を示す要部斜視図、図 6 は図 5 のブラケットを外した状態の加圧ヘッドの斜視図、図 7 は図 5 の加圧ヘッドのエアノズルを示す斜視図、図 8 はエアノズルの押圧動作を示す部分断面図であり、図 9 は抽出動作の工程図、図 10 は抽出カートリッジの斜視図である。

【 0 0 2 0 】

一実施形態の核酸抽出装置 1 の機構を説明する前に、この核酸抽出装置 1 は、図 10 に示すような抽出カートリッジ 11 (フィルターカートリッジ) を用いて試料液中の特定物質としての核酸を抽出するものである。この抽出カートリッジ 11 は、上端が開口した筒状本体 11 a の底部にフィルター部材 11 b が保持され、筒状本体 11 a のフィルター部材 11 b より下方部位はロート状に形成され、下端中心部に細管ノズル状の排出部 11 c が所定長さに突出形成され、筒状本体 11 a の側部両側に縦方向の突起 11 d が形成されてなる。上部開口より後述の試料液、洗浄液、回収液が分注され、上部開口より加圧エアが導入され、各液をフィルター部材 11 b を通して排出部 11 c より後述の廃液容器 12 または回収容器 13 に流下排出する。なお、図示の場合、筒状本体 11 a は上部と下部に分割され嵌着する構造となっている。

【 0 0 2 1 】

そして、核酸抽出装置 1 は基本的に図 9 (a) ~ (g) に示すような抽出工程によって核酸の抽出精製を行う。まず図 9 (a) 工程で、廃液容器 12 上に位置する抽出カートリッジ 11 に溶解処理された核酸を含む試料液 S を注入する。次に図 9 (b) 工程で、抽出カートリッジ 11 に加圧エアを導入して加圧し、フィルター部材 11 b を通して試料液 S を通過させ、このフィルター部材 11 b に核酸を吸着させ、通過した液状成分は廃液容器 12 に排出する。

【 0 0 2 2 】

次に図 9 (c) 工程で抽出カートリッジ 11 に洗浄液 W を自動分注し、(d) 工程で抽出カートリッジ 11 に加圧エアを導入して加圧し、フィルター部材 11 b に核酸を保持したままその他の不純物の洗浄除去を行い、通過した洗浄液 W は廃液容器 12 に排出される。この (c) 工程および (d) 工程を複数回繰り返してもよい。

【 0 0 2 3 】

その後、(e) 工程で抽出カートリッジ 11 の下方の廃液容器 12 を回収容器 13 に交換してから、(f) 工程で抽出カートリッジ 11 に回収液 R を自動分注し、(g) 工程で抽出カートリッジ 11 に加圧エアを導入して加圧し、フィルター部材 11 b と核酸の結合力を弱め、吸着されている核酸を離脱させて、核酸を含む回収液 R を回収容器 13 に排出し回収

10

20

30

40

50

する。

【0024】

上記抽出カートリッジ11におけるフィルター部材11bは、基本的には核酸が通過可能な多孔性であり、その表面は試料液中の核酸を化学的結合力で吸着する特性を有し、洗浄液による洗浄時にはその吸着を保持し、回収液による回収時に核酸の吸着力を弱めて離すように構成されてなる。その一例の具体的構成は、特開2003-128691号の核酸の分離精製方法に詳述されているように、例えば、上記フィルター部材11bは表面に水酸基を有する有機高分子で構成されている。表面に水酸基を有する有機高分子としては、アセチルセルロースの表面鹸化物が好ましい。アセチルセルロースとしては、モノアセチルセルロース、ジアセチルセルロース、トリアセチルセルロースのいずれでもよいが、
10 特にはトリアセチルセルロースが好ましい。その表面が鹸化処理液（例えば、NaOH）との接触により鹸化され、その構造体はアセチルセルロースのままである。表面鹸化処理の程度（表面鹸化度）で表面の水酸基の量（密度）がコントロールでき、水酸基の数が多い方が核酸の吸着効果が高くなる。例えば、トリアセチルセルロースなどのアセチルセルロースの場合には、表面鹸化率が約5%以上であることが好ましく、10%以上であることがさらに好ましい。アセチルセルロースは多孔性膜が好適である。

【0025】

前記「核酸を含む試料液S」は、細胞またはウイルスを含む検体を溶解処理することにより核酸を液中に分散させた溶液に水溶性有機溶媒を添加したものである。例えば診断分野においては、検体として採取された全血、血漿、血清、尿、便、精液、唾液等の体液、
20 あるいは植物（またはその一部）、動物（またはその一部）など、あるいはそれらの溶解物およびホモジネートなどの生物材料から調製された溶液が対象となる。「溶解処理」は、細胞膜および核膜を溶解して核酸を可溶化する試薬（例えば、グアニジン塩、界面活性剤およびタンパク質分解酵素を含む溶液）を含む水溶液で処理するもので、例えば、対象となる試料が全血の場合、フィルター部材11bへの非特異吸着および目詰まりを防ぐために赤血球および各種タンパク質を分解、低分子化し、抽出の対象である核酸を可溶化させるために白血球および核膜の溶解を行う。「水溶性有機溶媒」としてはエタノール、イソプロパノールまたはプロパノールなどが挙げられ、中でもエタノールが好ましい。水溶性有機溶媒の濃度は好ましくは5~90重量%であり、さらに好ましくは20~60重量%
30 %である。エタノールの添加濃度は、凝集物を生じない程度でできるだけ高くすることが特に好ましい。

【0026】

「洗浄液W」は、核酸と一緒にフィルター部材11bに付着した試料液中の不純物を洗い流す機能を有し、核酸の吸着はそのまま不純物を離脱させる組成を有する。主剤と緩衝剤、および必要に応じて界面活性剤を含む水溶液からなる。主剤としてはメタノール、エタノール、イソプロパノール、n-イソプロパノール、ブタノール、アセトン等の約10~100重量%（好ましくは20~100重量%、さらに好ましくは40~80重量%）の水溶液が挙げられる。

【0027】

「回収液R」は、塩濃度が低いことが好ましく、特には0.5M以下の塩濃度の溶液、
40 例えば、精製蒸留水、TEバッファ等が使用される。

【0028】

前記核酸抽出装置1は、図1および図2に示すように、装置本体2に、複数の抽出カートリッジ11、廃液容器12および回収容器13を保持する搭載機構3と、抽出カートリッジ11に加圧エアを導入する加圧エア供給機構4と、抽出カートリッジ11に洗浄液Wおよび回収液Rを分注する分注機構5などを備えてなる。次に各機構3~5を具体的に説明する。

【0029】

< 搭載機構 >

搭載機構3は、装置本体2の前方下部に搭載台21を備え、この搭載台21上に複数の
50

抽出カートリッジ 1 1、廃液容器 1 2 および回収容器 1 3 を保持したラック 6 が載置される。ラック 6 は、図 3 にも示すように、スタンド 6 1 とカートリッジホルダー 6 2 と容器ホルダー 6 3 とを備える。

【 0 0 3 0 】

スタンド 6 1 は両側の柱状部 6 1 a に上下移動可能にカートリッジホルダー 6 2 を保持し、柱状部 6 1 a の間の下部の底板 6 1 b 上に前後移動可能に容器ホルダー 6 3 を保持している。

【 0 0 3 1 】

カートリッジホルダー 6 2 は、前後のプレート材の接合による 2 分割構造に構成され、横方向に延びる保持部 6 2 a の両端に上下方向に延びる支持脚 6 2 b を備える。その支持脚 6 2 b がスタンド 6 1 の柱状部 6 1 a の上下方向の摺動溝 6 1 c に上下移動可能に挿入され、この支持脚 6 2 b がスタンド 6 1 に内蔵された付勢部材（不図示）によって上方に付勢されている。保持部 6 2 a には複数の保持孔 6 2 c が並設され、上方より抽出カートリッジ 1 1 が挿入され、抽出カートリッジ 1 1 の筒状本体 1 1 a の側部両側に形成された突起 1 1 d（図 1 0 参照）の下端がカートリッジホルダー 6 2 内の係合部材（不図示）に係合保持される。係合部材は移動可能で、移動時には突起 1 1 d との係合を解除して抽出カートリッジ 1 1 を全部同時に下方に落下廃棄するようになっている。

【 0 0 3 2 】

このカートリッジホルダー 6 2 は上面の両側にピン孔 6 2 d を備え、使用状態では後述の押えピン 4 9（図 1 参照）の先端 4 9 a が係合して下方に押し下げられる。図 3 のようにカートリッジホルダー 6 2 が上昇した位置では、カートリッジホルダー 6 2 に保持された抽出カートリッジ 1 1 の排出部 1 1 c の下端は容器ホルダー 6 3 にセットされた廃液容器 1 2 および回収容器 1 3 より上方に位置しているが、図 4 に示すように、カートリッジホルダー 6 2 が下降した際には抽出カートリッジ 1 1 の排出部 1 1 c が廃液容器 1 2 または回収容器 1 3 の内部に所定量挿入されるように設定されている。

【 0 0 3 3 】

容器ホルダー 6 3 は、横方向に延びる廃液容器保持孔 6 3 a と回収容器保持孔 6 3 b とを平行 2 列に備え、後側の廃液容器保持孔 6 3 a に複数の廃液容器 1 2 が、前側の回収容器保持孔 6 3 b に複数の回収容器 1 3 がそれぞれ列状に保持される。廃液容器保持孔 6 3 a および回収容器保持孔 6 3 b はカートリッジホルダー 6 2 の保持孔 6 2 c と等ピッチで等位置に配設され、保持された各抽出カートリッジ 1 1 の下方にそれぞれ廃液容器 1 2 および回収容器 1 3 が位置するように設定されている。この廃液容器 1 2 と回収容器 1 3 とは混同防止のためにサイズ、形状等が異なったものを使用するのが好ましい。

【 0 0 3 4 】

上記容器ホルダー 6 3 はスタンド 6 1 に内蔵された不図示の付勢部材によって前方に付勢されている。容器ホルダー 6 3 の容器交換移動（前後動）は、搭載台 2 1 に設置された作動部材 3 1（図 2 参照）が、スタンド 6 1 の底板 6 1 b に形成された開口を通して、容器ホルダー 6 3 の底部の係合孔（不図示）に係合されて行われる。容器交換モータ 3 2（DC モータ）の駆動に応じた作動部材 3 1 の移動動作に応じて容器ホルダー 6 3 が後退移動され、カートリッジホルダー 6 2 の下方に回収容器 1 3 が位置するように作動する。非作動時には廃液容器 1 2 がカートリッジホルダー 6 2 の下方に位置するように不図示の付勢部材で付勢されている。上記容器交換モータ 3 2 の作動は位置センサ 3 3 a、3 3 b の検出に応じて制御される。

【 0 0 3 5 】

なお、廃液容器保持孔 6 3 a および回収容器保持孔 6 3 b は有底に設けられ、廃液容器 1 2 または回収容器 1 3 がセットされていない状態で誤って液が滴下しても外部に流出して機器を汚染しないようになっている。

【 0 0 3 6 】

< 加圧エア供給機構 >

加圧エア供給機構 4 は、図 1 および図 2 に示すように、前記搭載機構 3 のラック 6 に対

10

20

30

40

50

して昇降移動する加圧ヘッド40と、この加圧ヘッド40に1列に並んで設置された複数(図の場合8個)のエアノズル41と、加圧エアを発生するエアポンプ43と、リリーフバルブ44と、各エアノズル41に設置され個別に開閉する開閉バルブ45と、各エアノズル41に設置された圧力センサ46を備え、順次抽出カートリッジ11に加圧エアを送給する。

【0037】

前記加圧ヘッド40は、装置本体2の中間フレーム22と上フレーム23との間に上下方向に設置されたガイドロッド24に上下移動可能に保持されている。同様に上下方向に設置されたボールネジ25に加圧ヘッド40に設置されたボールナット40aが螺合し、昇降モータ47(パルスモータ)の駆動に伴うタイミングベルト、プーリを介したボールネジ25の回転により加圧ヘッド40が、フォトセンサ48a~48cの検出に伴う制御により昇降移動される。加圧ヘッド40の両側には押えピン49を有し、この押えピン49はスプリング49bで下方に付勢されて上下移動可能で、先端49aがカートリッジホルダー62の上面のピン孔62dに係合して位置を規制して押えるようになっている。

10

【0038】

上記押えピン49は、カートリッジホルダー62を押圧作動している状態で、後述の洗浄液分注ノズル51wおよび回収液分注ノズル51rの横方向移動と干渉しないように、カートリッジホルダー62の前側位置を押えるように配設されている。

【0039】

エアノズル41は加圧ヘッド40にそれぞれ上下移動可能にかつ下方に付勢されて設置され、その下方にはエアノズル41に対応した連通孔42a(図2参照)が開口された平板状(シート状)のシール材42が配設されている。このシール材42は各エアノズル41で共通に一体化され、加圧ヘッド40に脱着交換可能に保持されている。そして、加圧ヘッド40が下降移動した際に、カートリッジホルダー62にセットされた抽出カートリッジ11の上端開口を、エアノズル41先端でシール材42を介して押圧して密閉し、連通孔42aを通して抽出カートリッジ11内へ加圧エアが送給可能となる。上記シール材42は抽出処理が終了した際に交換されるものであり、図1の場合には、加圧ヘッド40の前方の開口より、各エアノズル41で共通の平板状のシール材42を一度に脱着交換するようになっている。

20

【0040】

なお、上記エアノズル41およびシール材42の具体的構造については、加圧ヘッドの形態は異なるが、図5から図8によって後述する。

30

【0041】

前記リリーフバルブ44はエアポンプ43と開閉バルブ45との間の通路のエアを排出する際に大気開放作動される。開閉バルブ45は選択的に開作動されて、エアポンプ43からの加圧エアを対応するエアノズル41を経て抽出カートリッジ11内に導入するようにエア回路が構成されている。圧力センサ46は各エアノズル41に設置され、抽出カートリッジ11の内圧を個別に検出するものであり、検出圧力が所定圧力範囲(例えば50~200kPa、好ましくは80~120kPa)となったときに対応する開閉バルブ45を開作動して加圧エアの送給を停止したり、また、圧力が所定値以下に低下したことの検出により液排出終了を判定する制御などが行われる。

40

【0042】

図5~図7に基づいて押圧部分を説明するが、この形態の加圧ヘッド140は、図1の形態の加圧ヘッド40とは形状が異なっているが、基本的な機能は同様である。また、図1の形態の加圧ヘッド40では、シール材42の交換は、このシール材42を加圧ヘッド40より直接脱着していたが、図5~図7に示す形態の加圧ヘッド140では、シール材42を保持するブラケット15を脱着して交換するように構成されている。

【0043】

この形態の加圧ヘッド140は、図1と同様に、前記ラック6のカートリッジホルダー62に保持された抽出カートリッジ11に対して昇降移動可能に設置され、下端開口より

50

加圧エアを噴出する複数のエアノズル41を、抽出カートリッジ11への押圧方向に独立して移動可能に保持している。また、上記エアノズル41の直下に配設され加圧ヘッド140の下降に伴ってエアノズル41の先端と抽出カートリッジ11の上端開口部との間に圧接されてシールを行うシール材42は、エアノズル41を覆って下方より加圧ヘッド140の下部に脱着可能に装着されたブラケット15の底部に保持されている。

【0044】

つまり、加圧ヘッド140の下端部には係合溝140b(図6)が形成され、一方、ブラケット15の壁部15aの上部内面には係合突起15bが形成され、両者の係合によってブラケット15の脱着構造が構成されてなる。ブラケット15は底面に矩形窓状の底部開口15cを有し、この底部開口15cの形状より大きいシール材42がその上面に保持されている。また、ブラケット15の側面部15dは開放され、この側面部15dの開放部位を利用してシール材42の交換が行われる。なお、上記係合突起15bの下部には該突起を成形するための型挿入穴15eが形成される。

10

【0045】

エアノズル41は加圧ヘッド140にそれぞれ上下移動可能に挿通支持され、その外周に設置された圧縮コイルバネ16によって下方の押圧方向に付勢されている。各エアノズル41は抽出カートリッジ11に対する押圧時にその高さ変動に応じて別個に独立して上下移動し、位置関係のバラツキを吸収し、圧縮コイルバネ16の変形量でシール用押圧力を得て、圧接シールを行うようになっている。

【0046】

20

シール材42は、各エアノズル41で共通一体化された1枚の平板状であり、各エアノズル41のエア噴出口41c(図7)に対応する位置に連通孔42aが貫通形成されている。シール材42の材質は、例えば、硬度30°~50°のシリコンゴムを用いるのが好適である。

【0047】

図7および図8に示すように、エアノズル41の本体部41aの下端部には、本体部41aより径が小さい凸型円筒形状の先端部41bを有し、この先端部41bの端面中央に加圧エアを噴出するエア噴出口41cが開口している。

【0048】

そして、図8のように、上記エアノズル41の先端部41bの外径:Aは、抽出カートリッジ11の上端開口部の内径:Bより小さく設定されている。また、シール材42の厚さ:tは、 $(B - A) / 2 < t < [(B - A) / 2] + 0.95$ (mm)の範囲が好適である。つまり、基本的に $(B - A) < 2t$ であり、エアノズル先端部外径Aと抽出カートリッジ内径Bとの差をシール材42の厚さtの2倍以下とする。例えば、抽出カートリッジ内径Bが6.7mmのとき、エアノズル先端部外径Aが5.2~6.0mmで、シール材42の厚さtが0.8~1.3mmとなる。

30

【0049】

上記のような加圧ヘッド140が加圧エア供給のために、図8(a)の上昇位置より抽出カートリッジ11に向けて下降移動した際に、カートリッジホルダー62にセットされた抽出カートリッジ11の上端開口を、図8(b)に示すように、エアノズル41先端でシール材42を介して押圧して密閉し、連通孔42aを通して抽出カートリッジ11内へ加圧エアが送給可能となる。その際、エアノズル41の独立移動により、それぞれのエアノズル41で高さ位置の変化に対して微調整され、複数の抽出カートリッジ11、シール材42、エアノズル先端の位置関係のバラツキが、この構造・動作により吸収され、各エアノズル41の圧接シールが均等に確実に確保できる。

40

【0050】

また、押圧時には、エアノズル41に設置された圧縮コイルバネ16の変形量でシール用押圧力を得る。つまり、加圧ヘッド140が降下し、まずシール材42が抽出カートリッジ11に接し、さらなる加圧ヘッド140の下降で抽出カートリッジ11がシール材42を押し上げてエアノズル41の先端に押しつけるように作用し、圧縮コイルバネ16の

50

バネ初期荷重を越えると、この圧縮コイルバネ 16 が縮みシール密閉に必要な荷重がかかる。加圧ヘッド 140 は圧縮コイルバネ 16 が全屈しない位置で降下を停止し、必要以上の荷重がかからないようになっている。

【0051】

さらに、前記エアノズル先端部外径：A と、抽出カートリッジ内径：B と、シール材厚さ：t との寸法設定により、エアノズル 42 と抽出カートリッジ 11 の位置関係のバラツキ吸収と少ない荷重での密着性向上とが両立できる。

【0052】

つまり、押圧力を高めればシール性は良好となるが、押圧のための大きな駆動力が必要であると共に、シール材 42 の耐破断性、耐久性が要求されることになり、B - A の径差、t の設定により、押圧力の低減化が図れる。例えば、密閉圧力 180 kPa を得るのに必要な押圧荷重は、本発明構造では約 8 N、B < A とした大径ノズルとすると約 10 N 必要となり、エアノズル先端をテーパ状として先端外径を B > A としても約 10 N と大きくなる。

【0053】

抽出処理が終了した後にシール材 42 を交換時する際には、ブラケット 15 をシール材 42 とともに加圧ヘッド 140 より取り外し、このブラケット 15 に保持されているシール材 42 を取り出して廃棄し、新たなシール材 42 を装填したブラケット 15 を再び加圧ヘッド 140 に装着する。または、シール材 42 をブラケット 15 ごと交換することもできる。このシール材 42 の交換は、毎回行うのが好ましいが、抽出カートリッジ 11 への試料液の付着状態などを観察し、必要時に適宜行うようにしてもよい。

【0054】

前記実施形態で挙げているエアポンプ 43 は、ダイヤフラム型ポンプの例であるが、プランジャ型ポンプ、シリンジポンプ等の加圧エア源となるものであれば採用可能である。

【0055】

<分注機構>

分注機構 5 は、ラック 6 上を横方向に移動可能なノズル移動台 50 に設置された洗浄液分注ノズル 51w および回収液分注ノズル 51r と、洗浄液ボトル 56w に収容された洗浄液 W を洗浄液分注ノズル 51w に給送する洗浄液供給ポンプ 52w と、回収液ボトル 56r に収容された回収液 R を回収液分注ノズル 51r に給送する回収液供給ポンプ 52r と、搭載台 21 に載置された廃液ボトル 57 などを備える。

【0056】

ノズル移動台 50 は、装置本体 2 の縦壁 26 に水平方向に設置されたガイドレール 27 に保持されて横方向に移動可能であり、その移動が不図示のノズル移動モータ（パルスモータ）によって各抽出カートリッジ 11 上で順次停止し、復帰状態では廃液ボトル 57 上に停止するように駆動制御される。洗浄液分注ノズル 51w および回収液分注ノズル 51r は先端が下方に向けて屈曲され、洗浄液分注ノズル 51w は切替弁 55w を介して洗浄液供給ポンプ 52w に接続され、洗浄液供給ポンプ 52w は切替弁 55w を介して洗浄液ボトル 56w に接続され、回収液分注ノズル 51r は切替弁 55r を介して回収液供給ポンプ 52r に接続され、回収液供給ポンプ 52r は切替弁 55r を介して回収液ボトル 56r に接続されている。洗浄液ボトル 56w および回収液ボトル 56r はそれぞれ装置本体 2 の側部に装着される。洗浄液供給ポンプ 52w および回収液供給ポンプ 52r はシリンジポンプで構成され、そのピストン部材がそれぞれポンプモータ 53w, 53r（パルスモータ）によってセンサ 54w, 54r の位置検出に基づいて所定量の洗浄液 W および回収液 R を分注するように駆動制御される。

【0057】

すなわち、洗浄液 W または回収液 R を分注する場合には、切替弁 55w または 55r を洗浄液ボトル 56w または回収液ボトル 56r 側に切り替え、ポンプモータ 53w または 53r を駆動して洗浄液供給ポンプ 52w または回収液供給ポンプ 52r のピストン部材

10

20

30

40

50

を後退作動させ、洗浄液Wまたは回収液Rを洗浄液供給ポンプ52wまたは回収液供給ポンプ52rの内部に吸引収容し、続いて切替弁55wまたは55rを洗浄液分注ノズル51wまたは回収液分注ノズル51r側へ切り替え、ポンプモータ53wまたは53rを駆動して洗浄液供給ポンプ52wまたは回収液供給ポンプ52rのピストン部材を押込作動させ、廃液ボトル57に対して通路内のエアを排出するまで洗浄液または回収液を洗浄液分注ノズル51wまたは回収液分注ノズル51rより吐出させた後、洗浄液供給ポンプ52wまたは回収液供給ポンプ52rの駆動を停止させる。その後、洗浄液分注ノズル51wまたは回収液分注ノズル51rを抽出カートリッジ11上に移動させてから、洗浄液供給ポンプ52wまたは回収液供給ポンプ52rの駆動量を制御して所定量の洗浄液Wまたは回収液Rを抽出カートリッジ11へ分注するものである。

10

【0058】

そして、上記のような各機構3~5は、装置本体2の上部に設置された操作パネル7の入力操作に対応し、連係された不図示の制御ユニットにより内蔵されたプログラムに基づいて駆動制御される。

【0059】

上記核酸抽出装置1による抽出動作を具体的に説明する。ここでは図1の加圧ヘッド40で説明する。まず搭載機構3のラック6におけるカートリッジホルダー62に抽出カートリッジ11をセットし、容器ホルダー63に廃液容器12および回収容器13をそれぞれセットし、このラック6を装置本体2の搭載台21に載置し、シール材42も交換し準備を行う。次に、溶解処理された試料液Sをピペット等によって各抽出カートリッジ11

20

【0060】

その後、操作パネル7の操作によって装置を作動させると、加圧エア供給機構4の昇降モータ47の駆動によって加圧ヘッド40が下降移動し、押えピン49の先端49aがカートリッジホルダー62のピン孔62dに係合して押さえつけて、このカートリッジホルダー62を下降させて位置を規制すると共に、抽出カートリッジ11の下端排出部11cを廃液容器12内に所定量挿入させて、排出液が飛散等によって外部に漏れてコンタミネーションの原因とならないようにする。さらに加圧ヘッド40が下降移動してシール材42を介して各エアノズル41の下端部が抽出カートリッジ11の上端開口に圧接して密閉

30

【0061】

その後、加圧エアの供給が行われるもので、全部の開閉バルブ45が閉状態でエアポンプ43が駆動され、まず1番目の開閉バルブ45が開作動される。そして、1番目のエアノズル41を通して1番目の抽出カートリッジ11にエアポンプ43からの加圧エアが供給され、その圧力センサ46の検出によって所定圧力範囲に上昇すると1番目の開閉バルブ45を開作動するのに続いて、2番目の開閉バルブ45が開作動されて2番目のエアノズル41を通して2番目の抽出カートリッジ11に加圧エアが供給される。この動作を順

40

【0062】

次に、洗浄処理に移行するが、上記加圧エア供給後の加圧ヘッド40の上昇は、エアノズル41(シール材42)が抽出カートリッジ11より離れ、ノズル移動台50の移動が許容できる高さまで上昇した位置で停止し、押えピン49がカートリッジホルダー62を押さえつけ、抽出カートリッジ11の下端が廃液容器12内に挿入されている図4の状態

50

を保持して行う。そして、ノズル移動台50を移動させて洗浄液分注ノズル51wを1番目の抽出カートリッジ11上に停止させて洗浄液Wを所定量分注し、ノズル移動台50を次の抽出カートリッジ11に移動させて順次洗浄液Wを分注する。全部の抽出カートリッジ11への洗浄液Wの分注が終了すると、加圧ヘッド40が下降移動し、各エアノズル41の下端部がシール材42を介して抽出カートリッジ11の上端開口に圧接して密閉してから、前述と同様に開閉バルブ45が順次開作動されて各抽出カートリッジ11に加圧エアが供給される。圧力が作用した洗浄液Wは、フィルター部材11bを通過して核酸以外の不純物の洗浄除去を行い、洗浄液Wは下端部の排出部11cより廃液容器12に排出される。全部の抽出カートリッジ11における洗浄液Wが全てフィルター部材11bを通過して排出されると、加圧ヘッド40が初期の位置まで上昇作動される。洗浄処理を複数回行う場合には上記動作を繰り返す。

10

【0063】

次に、回収処理に移行する。まず洗浄処理後の前記加圧ヘッド40の上昇により、押えピン49が上昇してラック6のカートリッジホルダー62も上昇移動し、抽出カートリッジ11の下端排出部11cが廃液容器12より上方へ移動した後、搭載機構3の作動部材31を作動させて容器ホルダー63を後退移動させ、抽出カートリッジ11の下方に回収容器13を位置させる容器交換を行う。

【0064】

続いて、加圧ヘッド40が下降移動し、押えピン49の先端がカートリッジホルダー62のピン孔62dに係合して押さえつけ、抽出カートリッジ11の先端排出部11cが回収容器13内に挿入されている状態を保持する。そして、ノズル移動台50を移動させて回収液分注ノズル51rを1番目の抽出カートリッジ11上に停止させて回収液Rを所定量分注し、ノズル移動台50を次の抽出カートリッジ11に移動させて順次回収液Rの分注を行う。全部の抽出カートリッジ11への回収液Rの分注が終了すると、前述と同様にさらに加圧ヘッド40が下降し、各エアノズル41の下端部をシール材42を介して抽出カートリッジ11の上端開口に圧接させて密閉してから、開閉バルブ45が順次開作動されて各抽出カートリッジ11に加圧エアが供給される。圧力が作用した回収液Rは、フィルター部材11bを通過してそれに吸着されている核酸を離脱させて、回収液Rとともに核酸が下端部の排出部11cより回収容器13に排出される。全部の抽出カートリッジ11における回収液Rが全て回収容器13に排出されると、加圧ヘッド40が上昇作動され、一連の動作が終了する。

20

30

【0065】

抽出動作が終了したラック6は搭載台21より下ろされ、抽出カートリッジ11および廃液容器12はカートリッジホルダー62および容器ホルダー63より取り出されて廃棄され、一方、回収容器13は容器ホルダー63より取り出され、必要に応じて蓋がされて、次の核酸分析処理等が施される。

【0066】

なお、本実施形態では、洗浄液Wによる洗浄処理を実施しているが、フィルター部材11bの濾過能力によっては必ずしも必要とするものではない。

【0067】

また、上記実施形態では、核酸の抽出装置について記載しているが、必ずしも回収液を用いて回収する必要はなく、フィルター部材に特定物質を接触させたまま分析したり、処理液を入れて反応色を分析することも可能である。

40

【図面の簡単な説明】**【0068】**

【図1】本発明の一つの実施の形態における核酸抽出装置のカバーを除去した状態を示す斜視図

【図2】核酸抽出装置の概略機構図

【図3】搭載機構におけるラックの斜視図

【図4】ラックの使用状態を示す斜視図

50

【図5】図1とは異なる形態の加圧ヘッドの押圧状態を示す斜視図

【図6】図5のブラケットを外した状態の加圧ヘッドの斜視図

【図7】図5の加圧ヘッドのエアノズルを示す斜視図

【図8】エアノズルの押圧動作を示す部分断面図

【図9】抽出動作の工程図

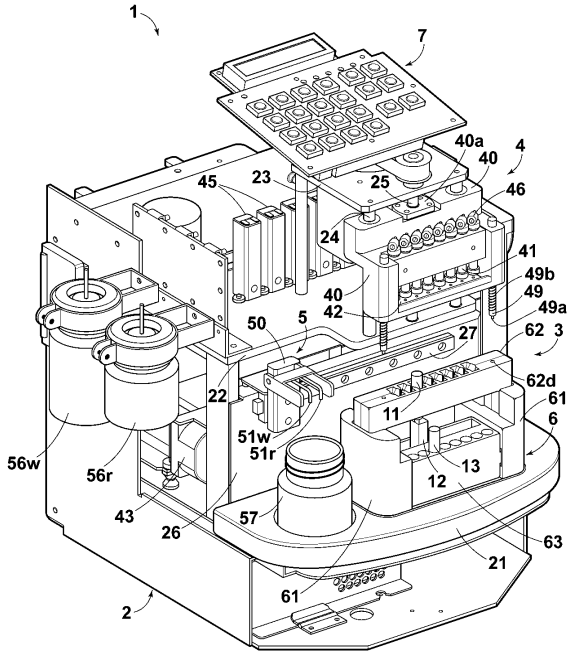
【図10】抽出カートリッジの斜視図

【符号の説明】

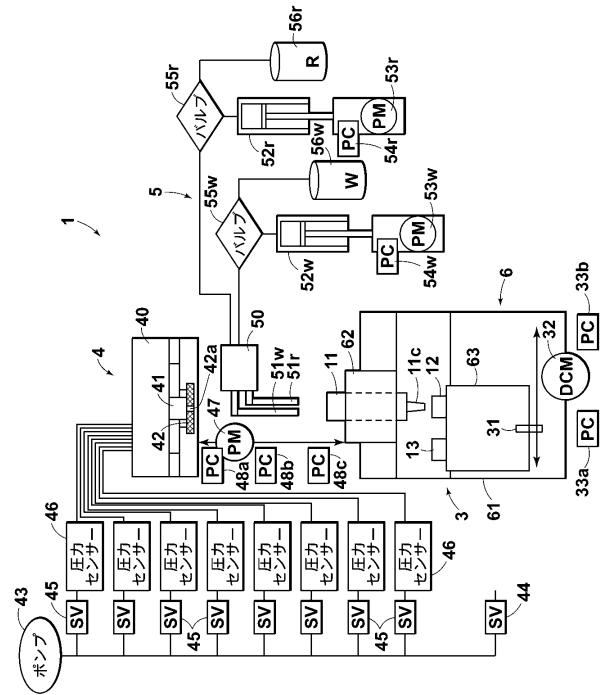
【0069】

1	抽出装置（核酸抽出装置）	
2	装置本体	10
3	搭載機構	
4	加圧エア供給機構	
5	分注機構	
6	ラック	
11	抽出カートリッジ	
11b	フィルター部材	
12	廃液容器	
13	回収容器	
15	ブラケット	
16	圧縮コイルバネ	20
40, 140	加圧ヘッド	
41	エアノズル	
41b	先端部	
41c	エア噴出口	
42	シール材	
42a	連通穴	
43	エアポンプ	
50	ノズル移動台	
51w, 51r	分注ノズル	
62	カートリッジホルダー	30
63	容器ホルダー	
S	試料液	
W	洗浄液	
R	回収液	

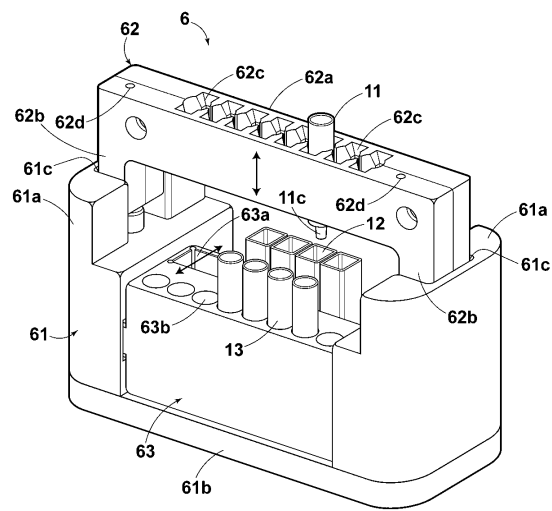
【図1】



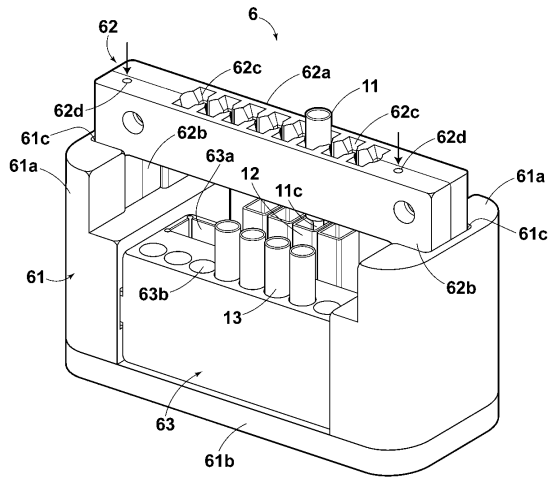
【図2】



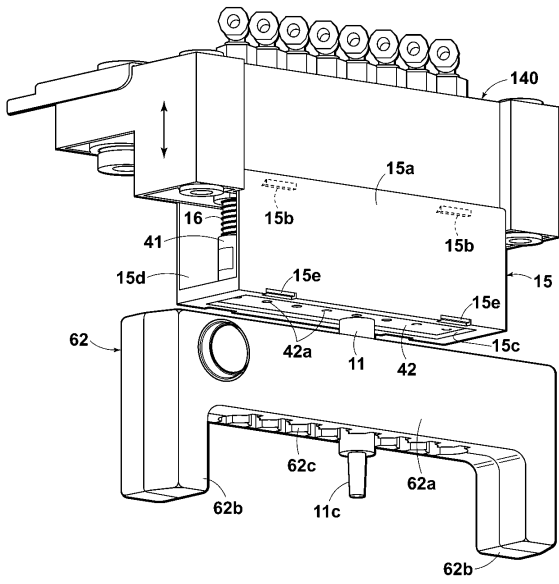
【図3】



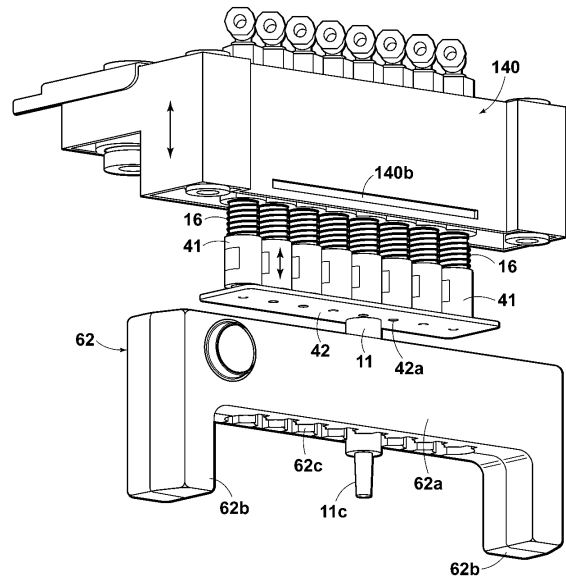
【図4】



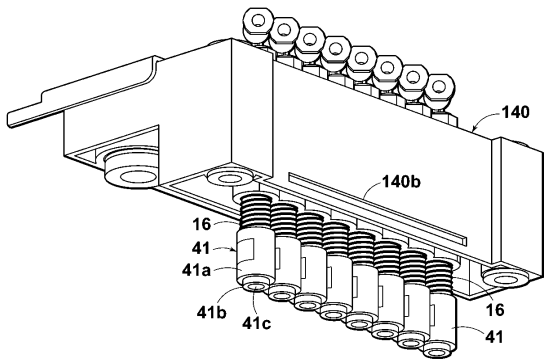
【 図 5 】



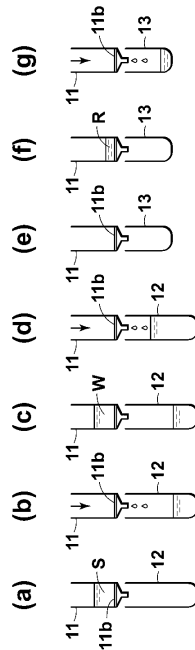
【 図 6 】



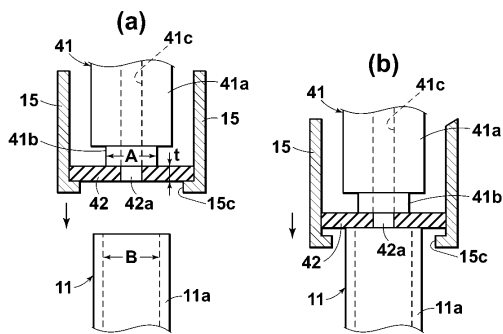
【 図 7 】



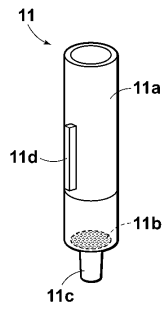
【 図 9 】



【 図 8 】



【 図 10 】



フロントページの続き

(56)参考文献 特表2003-522521(JP,A)
米国特許第05512168(US,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12M 1/00-3/00

BIOSIS/WPIDS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)