

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-58149

(P2005-58149A)

(43) 公開日 平成17年3月10日(2005.3.10)

(51) Int. Cl.⁷

C12N 15/00
B01D 11/02
C12M 1/00
C12M 1/12
G01N 33/48

F I

C12N 15/00
B01D 11/02
C12M 1/00
C12M 1/12
G01N 33/48

テーマコード(参考)

2G045
4B029
4D056

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-295088 (P2003-295088)
(22) 出願日 平成15年8月19日(2003.8.19)

(71) 出願人 000005201
富士写真フイルム株式会社
神奈川県南足柄市中沼210番地
(74) 代理人 100073184
弁理士 柳田 征史
(74) 代理人 100090468
弁理士 佐久間 剛
(72) 発明者 藤本 圭一
神奈川県南足柄市竹松1250番地 富士
機器工業株式会社内
(72) 発明者 鳥澤 信幸
神奈川県南足柄市竹松1250番地 富士
機器工業株式会社内
Fターム(参考) 2G045 BB03 BB05 CB01 DA13 FA07
4B029 AA27 BB20 DG08
最終頁に続く

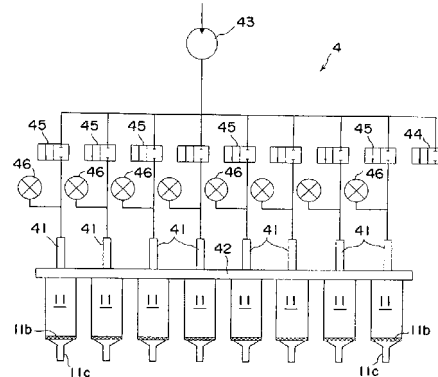
(54) 【発明の名称】 核酸抽出装置

(57) 【要約】

【課題】 短時間で効率よく試料液の核酸を自動的に抽出でき、抽出カートリッジへ作用する加圧エアに起因するコンタミネーションの発生を防止し信頼性を高める。

【解決手段】 フィルター部材を備えた抽出カートリッジ11を用い、試料液を加圧し核酸を吸着させた後、洗浄液により不純物を除去し、回収液により核酸を回収する抽出動作を行うもので搭載機構3と加圧エア供給機構4と分注機構5を備え、加圧エア供給機構4は1台のエアポンプ43と、抽出カートリッジ11への通路を開閉する開閉バルブ45と、カートリッジ内圧を検出する圧力センサ46と、開閉バルブ45上流の圧力を大気開放するリリーフバルブ44を備え、液排出が完了した加圧終了の時点で開閉バルブ45を開作動しリリーフバルブ44を開放作動し、抽出カートリッジ11内に残存する加圧エアを大気開放し液の飛散噴出を阻止する。

【選択図】 図5



【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洗浄液を分注し加圧して不純物を除去した後、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自動的に行う核酸抽出装置であって、

前記抽出カートリッジ、前記試料液および洗浄液の排出液を収容する廃液容器および前記核酸を含む回収液を収容する回収容器を保持する搭載機構と、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と、前記抽出カートリッジに洗浄液および回収液を分注する分注機構とを備え、

10

前記加圧エア供給機構は、1台のエアポンプと、抽出カートリッジへの加圧エアの導入を開閉する開閉バルブと、抽出カートリッジの内圧を検出する圧力センサと、前記エアポンプと前記開閉バルブとの間のエア通路の圧力を大気開放作動するリリーフバルブとを備え、前記抽出カートリッジ内へ加圧エアを導入して密閉し、前記圧力センサの検出により該抽出カートリッジより液排出が完了した時点で、前記開閉バルブを開作動するとともに前記リリーフバルブを大気開放作動し、前記抽出カートリッジ内に残存する加圧エアを前記開閉バルブおよび前記リリーフバルブを経て大気開放することを特徴とする核酸抽出装置。

【請求項 2】

20

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洗浄液を分注し加圧して不純物を除去した後、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自動的に行う核酸抽出装置であって、

複数の前記抽出カートリッジ、前記試料液および洗浄液の排出液を収容する廃液容器および前記核酸を含む回収液を収容する回収容器を保持する搭載機構と、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と、前記抽出カートリッジに洗浄液および回収液を分注する分注機構とを備え、

前記加圧エア供給機構は、1台のエアポンプと、各抽出カートリッジへの加圧エアの導入を個別に開閉する開閉バルブと、各抽出カートリッジの内圧を個別に検出する圧力センサと、前記エアポンプと前記開閉バルブとの間のエア通路の圧力を大気開放作動するリリーフバルブとを備え、1つの前記開閉バルブを開作動して対応する抽出カートリッジへ加圧エアを供給してから該開閉バルブを閉作動し、全ての前記開閉バルブが閉状態にあるときに前記リリーフバルブを大気開放作動し、前記エアポンプの駆動継続に伴う過剰加圧エアを前記リリーフバルブを経て大気開放することを特徴とする核酸抽出装置。

30

【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核酸を自動抽出する核酸抽出装置に関し、特に抽出カートリッジへ加圧エアを導入する機構に関するものである。

40

【背景技術】

【0002】

従来、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】

例えば、フィルターを用いた核酸抽出装置としては、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

50

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）。

【特許文献1】特許第2832586号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

上記のような従来の自動抽出装置では、装置が大型で多量の検体を分析するのに適したもので、検体数が少なく分析頻度の少ない場合には、高価で不向きであるとともに、処理効率が低くなる問題を有する。

10

【0005】

また、このような装置においては、短時間で効率よくコンタミネーションが発生しないように処理し、かつ、装置を小型化するなどの点が要望されるが、特許文献1では次のような問題がある。

【0006】

採取全血のように各試料液の特性が異なる場合に、特許文献1のように全体を同時に吸引するものでは、一部のフィルターチューブの吸引が終了してその抵抗がなくなると、他のフィルターチューブに作用する減圧が小さくなって粘度の高い試料液の処理が終了しない場合が生じる。その減圧容量を増大することは装置の小型化を図る際の障害となり、減圧容積が大きいために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。一方、粘度の低い試料液では、フィルターチューブより勢いよく液が排出されて、泡状の飛沫が隣接するフィルターチューブおよびラックに付着してコンタミネーションを生じ、精度低下を招く問題がある。

20

【0007】

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。

【0008】

上記のような点より、本発明では、フィルター部材を備え核酸の吸着・洗浄・回収を行う抽出カートリッジ内に加圧エアを供給し、加圧した各液をフィルター部材を通過させて廃液容器または回収容器に排出するように構成して、処理効率の向上、小型化を図るようにしたものである。その際、加圧された液の全量がフィルター部材を通過した際に、残留加圧エアが抽出カートリッジの排出部より液とともに噴出されてミスト状の排出液が飛散して周囲を汚染し、コンタミネーションの原因となる恐れがある。

30

【0009】

また、抽出カートリッジへ供給する加圧エアを発生するエアポンプが、全ての抽出カートリッジに対する開閉弁が閉状態にある際にも連続駆動される場合に、この状態ではエアポンプの連続駆動によってエア通路には過剰な加圧エアが作用しており、その加圧エアが次に開閉弁が開作動した際に、一度に容積の小さな抽出カートリッジ内に導入されて設定された圧力より多くの加圧エアが供給される可能性があり、内圧が高くなりすぎると、排出液の噴出速度が速くなりすぎて液が飛散してコンタミネーションの原因となるなどの問題が生じる。

40

【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核酸を自動的に抽出できるとともに、抽出カートリッジへ作用する加圧エアに起因するコンタミネーションの発生を防止するようにした核酸抽出装置を提供することを目的とするものである。

【課題を解決するための手段】

【0011】

50

本発明の核酸抽出装置は、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洗浄液を分注し加圧して不純物を除去した後、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自動的に行う核酸抽出装置であって、

前記抽出カートリッジ、前記試料液および洗浄液の排出液を収容する廃液容器および前記核酸を含む回収液を収容する回収容器を保持する搭載機構と、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と、前記抽出カートリッジに洗浄液および回収液を分注する分注機構とを備え、

前記加圧エア供給機構は、1台のエアポンプと、抽出カートリッジへの加圧エアの導入を開閉する開閉バルブと、抽出カートリッジの内圧を検出する圧力センサと、前記エアポンプと前記開閉バルブとの間のエア通路の圧力を大気開放作動するリリーフバルブとを備え、前記抽出カートリッジ内へ加圧エアを導入して密閉し、前記圧力センサの検出により該抽出カートリッジより液排出が完了した時点で、前記開閉バルブを開作動するとともに前記リリーフバルブを大気開放作動し、前記抽出カートリッジ内に残存する加圧エアを前記開閉バルブおよび前記リリーフバルブを経て大気開放することを特徴とするものである。

【0012】

また、本発明の他の核酸抽出装置は、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洗浄液を分注し加圧して不純物を除去した後、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自動的に行う核酸抽出装置であって、

複数の前記抽出カートリッジ、前記試料液および洗浄液の排出液を収容する廃液容器および前記核酸を含む回収液を収容する回収容器を保持する搭載機構と、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と、前記抽出カートリッジに洗浄液および回収液を分注する分注機構とを備え、

前記加圧エア供給機構は、1台のエアポンプと、各抽出カートリッジへの加圧エアの導入を個別に開閉する開閉バルブと、各抽出カートリッジの内圧を個別に検出する圧力センサと、前記エアポンプと前記開閉バルブとの間のエア通路の圧力を大気開放作動するリリーフバルブとを備え、1つの前記開閉バルブを開作動して対応する抽出カートリッジへ加圧エアを供給してから該開閉バルブを閉作動し、全ての前記開閉バルブが閉状態にあるときに前記リリーフバルブを大気開放作動し、前記エアポンプの駆動継続に伴う過剰加圧エアを前記リリーフバルブを経て大気開放することを特徴とするものである。

【発明の効果】

【0013】

上記のような本発明によれば、抽出カートリッジ、廃液容器および回収容器を保持する搭載機構と、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と、抽出カートリッジに洗浄液および回収液を分注する分注機構とを備え、フィルター部材を備えた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核酸をフィルター部材に吸着させた後、洗浄液を分注して不純物を洗浄排出した後、回収液を分注してフィルター部材に吸着した核酸を分離して回収する抽出動作を自動的に行って短時間で効率よく試料液の核酸を自動的に抽出できる機構をコンパクトに構成することができる。

【0014】

さらに、加圧エア供給機構は、エアポンプと加圧エアの導入を開閉する開閉バルブとの間のエア通路の圧力を大気開放作動するリリーフバルブを備え、抽出カートリッジからの液の排出が終了した時点で開閉バルブを開作動するとともにリリーフバルブを大気開放作動して抽出カートリッジ内に残存する加圧エアを大気開放することにより、抽出カートリッジの排出部より液と共に残存エアが噴出されてミスト状に飛散するのを防止でき、これ

に起因するコンタミネーションの発生が防止できる。

【0015】

また、他の発明では、個別に開閉する開閉バルブを順次開閉作動して抽出カートリッジに加圧エアを導入する際に、1つの開閉バルブを開作動して対応する抽出カートリッジへ加圧エアを供給してからその開閉バルブを閉作動し、次の開閉バルブを開作動するまでの全ての開閉バルブが閉状態にあるときに、リリースバルブを大気開放作動してエアポンプの駆動継続に伴う過剰加圧エアを大気開放することにより、抽出カートリッジに導入される加圧エアが常に適正状態となり、内圧上昇による排出液の異常噴射などが発生することなく、これに起因するコンタミネーションの発生が防止できる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

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は加圧エア供給機構のエア系統図、図6は抽出カートリッジ内圧力の変動を示す図、図7は抽出動作の工程図、図8は抽出カートリッジの斜視図である。

【0017】

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8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11aの底部にフィルター部材11bが保持され、筒状本体11aのフィルター部材11b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11cが所定長さに突出形成され、筒状本体11aの側部両側に縦方向の突起11d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11bを通して排出部11c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11aは上部と下部に分割され嵌着する構造となっている。

【0018】

そして、核酸抽出装置1は基本的に図7(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7(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7(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11bを通して試料液Sを通過させ、このフィルター部材11b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。

【0019】

次に図7(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11b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。

【0020】

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11b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に排出し回収する。

【0021】

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

10

20

30

40

50

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 1 1 b 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、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。

10

【0022】

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、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 1 1 b 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% 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。

20

【0023】

「洗浄液 W」は、核酸と一緒にフィルター部材 1 1 b 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。

30

【0024】

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

【0025】

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 1 1、廃液容器 1 2 および回収容器 1 3 を保持する搭載機構 3 と、抽出カートリッジ 1 1 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 1 1 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。

40

【0026】

< 搭載機構 >

搭載機構 3 は、装置本体 2 の前方下部に搭載台 2 1 を備え、この搭載台 2 1 上に複数の抽出カートリッジ 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。

【0027】

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

50

ている。

【0028】

カートリッジホルダー62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62aの両端に上下方向に延びる支持脚62bを備える。その支持脚62bがスタンド61の柱状部61aの上下方向の摺動溝61cに上下移動可能に挿入され、この支持脚62bがスタンド61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62aには複数の保持孔62cが並設され、上方より抽出カートリッジ11が挿入され、抽出カートリッジ11の筒状本体11aの側部両側に形成された突起11d（図8参照）の下端がカートリッジホルダー62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11dとの係合を解除して抽出カートリッジ11を全部同時に下方に落下廃棄するようになっている。

10

【0029】

このカートリッジホルダー62は上面の両側にピン孔62dを備え、使用状態では後述の押えピン49（図1参照）の先端49a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62が上昇した位置では、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の排出部11cの下端は容器ホルダー63にセットされた廃液容器12および回収容器13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62が下降した際には抽出カートリッジ11の排出部11cが廃液容器12または回収容器13の内部に所定量挿入されるように設定されている。

【0030】

容器ホルダー63は、横方向に延びる廃液容器保持孔63aと回収容器保持孔63bとを平行2列に備え、後側の廃液容器保持孔63aに複数の廃液容器12が、前側の回収容器保持孔63bに複数の回収容器13がそれぞれ列状に保持される。廃液容器保持孔63aおよび回収容器保持孔63bはカートリッジホルダー62の保持孔62cと等ピッチで等位置に配設され、複数保持された各抽出カートリッジ11の下方にそれぞれ廃液容器12および回収容器13が位置するように設定されている。この廃液容器12と回収容器13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。

20

【0031】

上記容器ホルダー63はスタンド61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63の容器交換移動（前後動）は、搭載台21に設置された作動部材31（図2参照）が、スタンド61の底板61bに形成された開口を通して、容器ホルダー63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32（DCモータ）の駆動に応じた作動部材31の移動動作に応じて容器ホルダー63が後退移動され、カートリッジホルダー62の下方に回収容器13が位置するように作動する。非作動時には廃液容器12がカートリッジホルダー62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32の作動は位置センサ33a, 33bの検出に応じて制御される。

30

【0032】

なお、廃液容器保持孔63aおよび回収容器保持孔63bは有底に設けられ、廃液容器12または回収容器13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汚染が発生しないようになっている。

40

【0033】

< 加圧エア供給機構 >

加圧エア供給機構4は、前記搭載機構3のラック6に対して昇降移動する加圧ヘッド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、図5のエア系統図にも示すように、加圧エアを発生するエアポンプ43と、エア通路を大気開放するリリーフバルブ44と、各エアノズル41に対し設置されエアポンプ43による加圧エアの供給を個別に開閉する開閉バルブ45と、各エアノズル41に設置され抽出カートリッジ11の内圧を検出する圧力センサ46とを備え、順次抽出カートリッジ11に加圧エアを送給する。

50

【0034】

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。

【0035】

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。

【0036】

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）が開口されたシート状のシール材42が配設され、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。

【0037】

リリーフバルブ44（図5）は通常は閉状態にあり、エアポンプ43から開閉バルブ45へ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、検出圧力が加圧上限用の指定圧力（例えば90kPa）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、抽出カートリッジ11よりの液排出の完了に伴う圧力低下の検出により加圧終了を判定し次の工程に移行するなどの制御が行われる。

【0038】

また、前記圧力センサ46による抽出カートリッジ11内の圧力変動より、カートリッジホルダー62への抽出カートリッジ11のセットの有無検出、液の有無検出、液量不足の検出、フィルター詰まりの検出を行うようになっている。詳細は図6により後述する。

【0039】

図5に示したリリーフバルブ44の大気開放作動は、抽出カートリッジ11からの液が排出された加圧終了の判定に応じて対応する開閉バルブ45の開作動と同時に行い、抽出カートリッジ11内に残留する加圧エアを抜いて先端排出部11cからのエア噴出による液飛散を阻止する。なお、このリリーフバルブ44の作動の場合には、本実施の形態では抽出カートリッジ11が複数であるが、1本としても適用が可能である。

【0040】

また、上記リリーフバルブ44の大気開放作動の他の形態としては、全部の開閉バルブ45が閉じているときに大気開放作動し、連続駆動されるエアポンプ43による過剰加圧エアを逃がし、連続運転している間に圧力が上昇した加圧エアが開閉バルブ45の開作動に伴って急激に抽出カートリッジ11内に供給されるのを防止するようにしている。

【0041】

さらに、上記両方の機能を得るようにリリーフバルブ44の大気開放作動を行うようにしてもよい。

【0042】

<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

10

20

30

40

50

分注ノズル 5 1 w および回収液分注ノズル 5 1 r と、洗浄液ボトル 5 6 w に収容された洗浄液 W を洗浄液分注ノズル 5 1 w に給送する洗浄液供給ポンプ 5 2 w と、回収液ボトル 5 6 r に収容された回収液 R を回収液分注ノズル 5 1 r に給送する回収液供給ポンプ 5 2 r と、搭載台 2 1 に載置された廃液ボトル 5 7 などを備える。

【 0 0 4 3 】

ノズル移動台 5 0 は、装置本体 2 の縦壁 2 6 に水平方向に設置されたガイドレール 2 7 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 1 1 上で順次停止し、復帰状態では廃液ボトル 5 7 上に停止するように駆動制御される。洗浄液分注ノズル 5 1 w および回収液分注ノズル 5 1 r は先端が下方に向けて屈曲され、洗浄液分注ノズル 5 1 w は切替弁 5 5 w を介して洗浄液供給ポンプ 5 2 w に接続され、洗浄液供給ポンプ 5 2 w は切替弁 5 5 w を介して洗浄液ボトル 5 6 w に接続され、回収液分注ノズル 5 1 r は切替弁 5 5 r を介して回収液供給ポンプ 5 2 r に接続され、回収液供給ポンプ 5 2 r は切替弁 5 5 r を介して回収液ボトル 5 6 r に接続されている。洗浄液ボトル 5 6 w および回収液ボトル 5 6 r 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 5 2 w および回収液供給ポンプ 5 2 r 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 5 3 w , 5 3 r （パルスモータ）によってセンサ 5 4 w , 5 4 r 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。

10

【 0 0 4 4 】

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 5 5 w または 5 5 r を洗浄液ボトル 5 6 w または回収液ボトル 5 6 r 側に切り替え、ポンプモータ 5 3 w または 5 3 r を駆動して洗浄液供給ポンプ 5 2 w または回収液供給ポンプ 5 2 r のピストン部材を後退作動させ、洗浄液 W または回収液 R を洗浄液供給ポンプ 5 2 w または回収液供給ポンプ 5 2 r の内部に吸引収容し、続いて切替弁 5 5 w または 5 5 r を洗浄液分注ノズル 5 1 w または回収液分注ノズル 5 1 r 側へ切り替え、ポンプモータ 5 3 w または 5 3 r を駆動して洗浄液供給ポンプ 5 2 w または回収液供給ポンプ 5 2 r のピストン部材を押し込ませ、廃液ボトル 5 7 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 5 1 w または回収液分注ノズル 5 1 r より吐出させた後、洗浄液供給ポンプ 5 2 w または回収液供給ポンプ 5 2 r の駆動を停止させる。その後、洗浄液分注ノズル 5 1 w または回収液分注ノズル 5 1 r を抽出カートリッジ 1 1 上に移動させてから、洗浄液供給ポンプ 5 2 w または回収液供給ポンプ 5 2 r 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 1 1 へ分注するものである。

20

30

【 0 0 4 5 】

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。

【 0 0 4 6 】

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。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 6 2 に抽出カートリッジ 1 1 をセットし、容器ホルダー 6 3 に廃液容器 1 2 および回収容器 1 3 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 2 1 に載置して準備を行う。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 1 1 に順次注入する。なお、装置 1 に搭載する前のラック 6 にセットした後またはセットする前の抽出カートリッジ 1 1 に試料液 S を先に注入するようにしてもよい。

40

【 0 0 4 7 】

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 4 7 の駆動によって加圧ヘッド 4 0 が下降移動し、押えピン 4 9 の先端 4 9 a がカートリッジホルダー 6 2 のピン孔 6 2 d に係合して押さえつけて、このカートリッジホルダー 6 2 を下降させて位置を規制すると共に、抽出カートリッジ 1 1 の下端排出部 1 1 c を図 4 のように廃液容器 1 2 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

50

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する。前記押えピン49がカートリッジホルダー62の位置を規制していることで、各抽出カートリッジ11に対し各エアノズル41が正確に圧接して確実な密閉が確保できる。

【0048】

その後、加圧エアの供給が行われるもので、まず1番目の開閉バルブ45が開作動され、残りの開閉バルブ45が閉状態でエアポンプ43が駆動される。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の検出によって加圧上限用の指定圧力に上昇すると1番目の開閉バルブ45を閉作動し、加圧状態で抽出カートリッジ11への圧力を密閉すると共にリリーフバルブ44が開放作動され、続いて、2番目の開閉バルブ45が開作動されると共にリリーフバルブ44が閉作動されて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。この動作を順に繰り返して全ての抽出カートリッジ11に圧力を加える。そして、全部の抽出カートリッジ11への加圧エアの供給が終了して全開閉バルブ45が閉状態となるとエアポンプ43の駆動を停止し、リリーフバルブ44を大気開放作動する。

10

【0049】

そして、加圧エアが導入された抽出カートリッジ11では、試料液Sは圧力の作用によりフィルター部材11bを通過して核酸が吸着保持され、その他の液状成分は下端部の排出部11cより廃液容器12に排出される。試料液Sが全てフィルター部材11bを通過すると内圧が液排出完了時点で急激に低下し、これが圧力センサ46によって検出された加圧終了の時点で、対応する開閉バルブ45を開作動して、抽出カートリッジ11内に残留している加圧エアをリリーフバルブ44を介して大気開放し、抽出カートリッジ11の排出部11cから液と共に噴出されるのを阻止する。各圧力センサ46によって全部の抽出カートリッジ11で加圧終了が検出されると、加圧ヘッド40が上昇作動される。

20

【0050】

上記抽出カートリッジ11内への加圧エアの導入に伴う内圧は、正常動作状態においては図6に曲線Aで示す特性で変動し、曲線Bはその変化量を示す微分波形である。まず、開閉バルブ45が開作動されて加圧エアが導入開始された時間0点より圧力が直線的に上昇し、加圧上限用の指定圧力(例えば90kPa)に到達したa点で開閉バルブ45が開作動されて、抽出カートリッジ11の内部空間は加圧状態で密閉される。その圧力が液に作用してフィルター部材11bを通過させるように加圧し、液が徐々に減少するのに伴って圧力が低下し、b点で液の全量がフィルター部材11bを通過して液排出が完了すると、フィルター部材11bでのエア抵抗が低減して圧力は急激に低下する。その圧力変動は微分波形曲線Bでは顕著に発生することからそれを検出し、加圧終了を判定する。

30

【0051】

また、上記加圧終了の判定は、単位時間あたりの圧力低下変化量が所定値以上であることにより行うか、検出圧力が加圧終了判定用の指定圧力以下であることにより行うようにしてもよく、これらを併用して時間短縮を図るのが好ましい。

40

【0052】

試料液Sの加圧の場合には、その粘度等に応じて圧力変動が異なり、粘度が低い液では、a点後のb点に至る圧力低下度合いが大きくなり、b点までの時間が短くなる。また、液の粘度が大きい場合で、フィルター部材11bに軽度の詰まりが生じているときには、a点後のb点に至る圧力低下度合いが小さくなり、b点までの時間が長くなる。

【0053】

そして、前記圧力センサ46により検出された内圧の変動特性から加圧不良状態の検出、例えば、抽出カートリッジ11のセットの有無検出、液の有無検出、密閉不良の検出、また、液量不足の検出、フィルター詰まりの判定検出を行うようになっている。

【0054】

50

まず加圧不良状態の検出は、開閉バルブ45を開作動してエアノズル41より加圧エアを噴出してから所定時間経過後にも圧力センサ46による検出圧力が、例えば10kPaと低く設定された加圧不良判定用の指定圧力に到達しない場合に行うもので、この場合には、エア抵抗が少ない異常状態であって、抽出カートリッジ11がセットされていない状態、または、試料液が注入されていない状態、または、エアノズル41と抽出カートリッジ11との間が密閉不良状態であると判定できる。

【0055】

また、抽出カートリッジ11への試料液Sの注入が規定量でなく微量である場合には、初期圧力は上記加圧不良判定用の指定圧力以上に上昇するが、開閉バルブ45を開作動する加圧上限用の指定圧力までは上昇せず、その途中で液の排出が完了して圧力が急激に低下することにより液量不足であったと判定する。

10

【0056】

一方、フィルター詰まりの検出は、液排出に伴って検出圧力は徐々に低下するが、この圧力低下が少なく、所定時間経過しても前述の液排出完了時の加圧終了判定が行えず、加圧終了判定用の指定圧力より低下しない場合に、フィルター詰まりが発生していると判定する。また、圧力低下変化量が所定値以上とならない時間が所定時間以上継続したことによりフィルター詰まりを検出するようにしてもよい。

【0057】

この加圧時の圧力上昇不足時の加圧不良検出、液排出完了に伴う加圧終了検出、およびフィルター詰まり検出は、後述の洗浄処理および回収処理においても同様に行われる。

20

【0058】

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。

30

【0059】

なお、前述の加圧不良状態と判定された箇所またはフィルター詰まりが発生した箇所の抽出カートリッジ11へは洗浄液の分注は行わないと共に、加圧エアの供給も行わないように制御する。また、これらの箇所を除いた正常作動部位の複数の開閉バルブ45を同時に開作動して抽出カートリッジ11に対する加圧エアの供給を複数同時に行うようにしてもよい。

40

【0060】

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。

【0061】

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6

50

2のピン孔62dに係合して押さえつける。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。複数の開閉バルブ45を同時に開作動して加圧エアの供給を同時に行うようにしてもよい。圧力が作用した回収液Rは、フィルター部材11bを通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。

10

【0062】

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。

【図面の簡単な説明】

【0063】

【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

20

【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

【図5】加圧エア供給機構のエア系統図

【図6】抽出カートリッジの内圧変動を示す図

【図7】抽出動作の工程図

【図8】抽出カートリッジの斜視図

【符号の説明】

【0064】

- 1 核酸抽出装置
- 2 装置本体
- 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
- 40 加圧ヘッド
- 41 エアノズル
- 43 エアポンプ
- 44 リリーフバルブ
- 45 開閉バルブ
- 46 圧力センサ
- 49 押えピン
- 50 ノズル移動台
- 51w, 51r 分注ノズル
- 52w, 52r 供給ポンプ

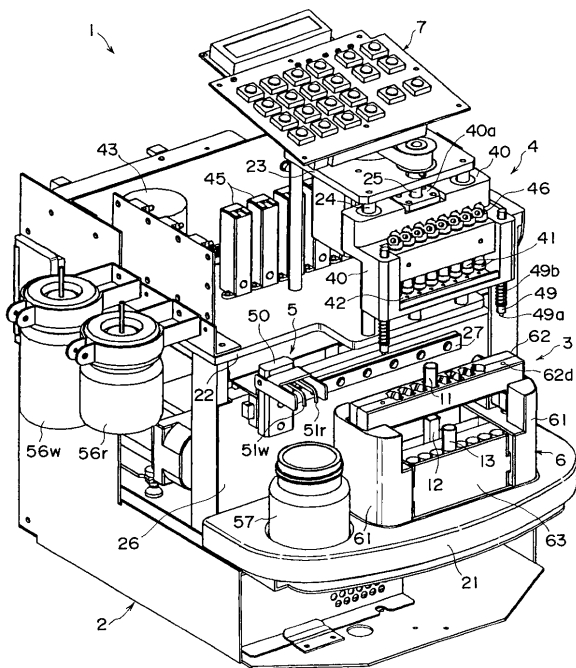
30

40

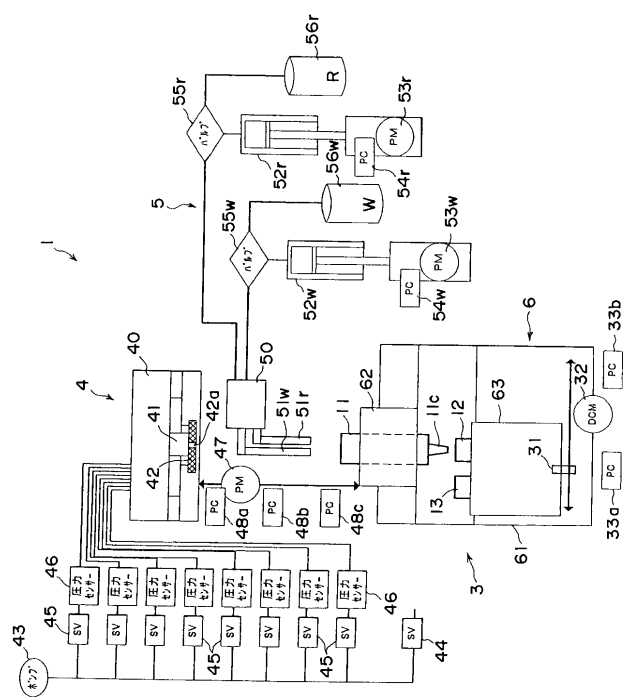
50

- 56w, 56r ボトル
- 61 スタンド
- 62 カートリッジホルダー
- 63 容器ホルダー
- S 試料液
- W 洗浄液
- R 回収液

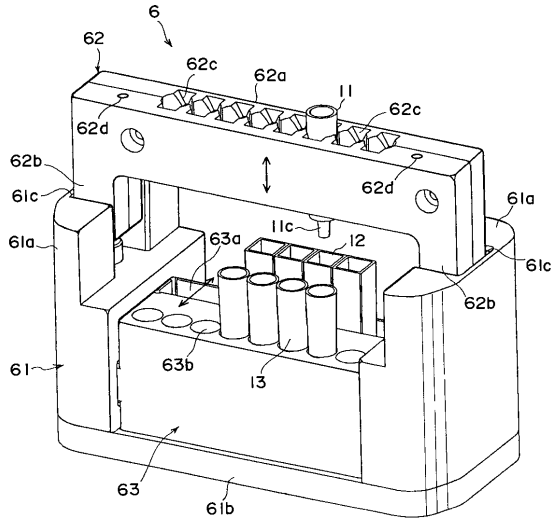
【図1】



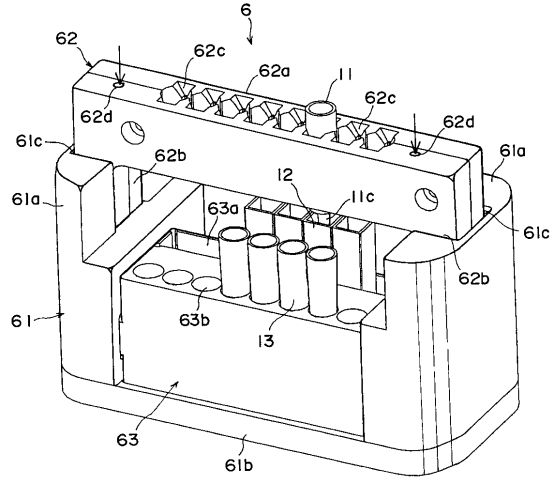
【図2】



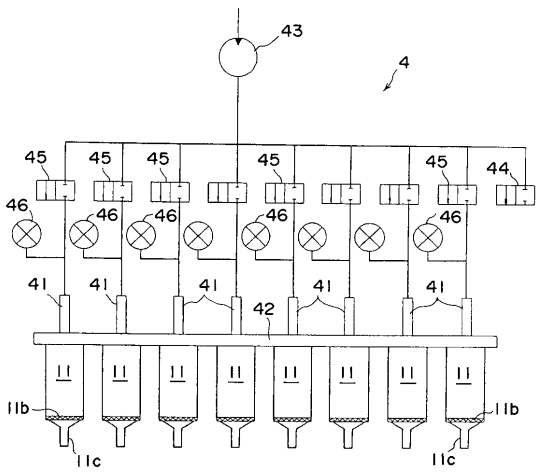
【 図 3 】



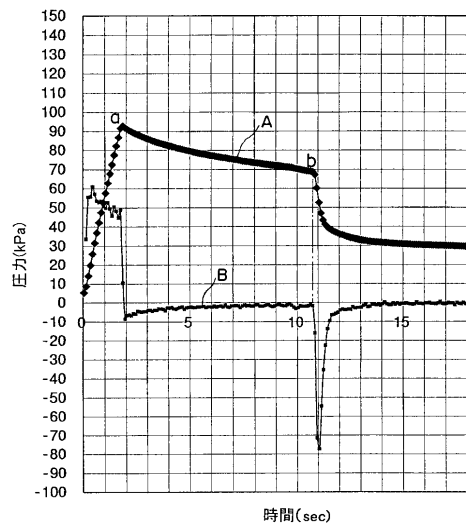
【 図 4 】



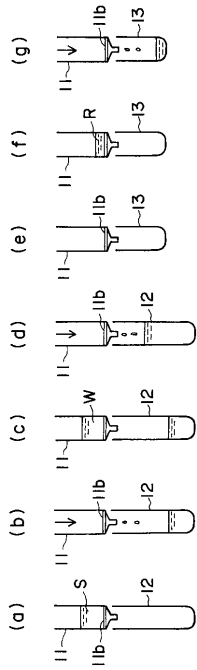
【 図 5 】



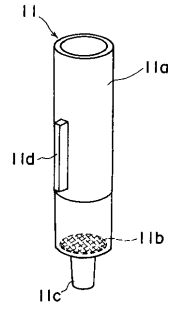
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

// G 0 1 N 33/50

F I

G 0 1 N 33/50

P

テーマコード(参考)

Fターム(参考) 4D056 AB17 AC11 CA06 CA21 CA36 CA40 DA02