

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-517314
(P2014-517314A)

(43) 公表日 平成26年7月17日(2014.7.17)

(51) Int.Cl. F I テーマコード (参考)
GO 1 N 27/447 (2006.01) GO 1 N 27/26 3 2 5 E
 GO 1 N 27/26 3 2 5 B

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁)

(21) 出願番号 特願2014-515016 (P2014-515016)
 (86) (22) 出願日 平成24年6月15日 (2012.6.15)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年1月7日 (2014.1.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/CA2012/050404
 (87) 国際公開番号 W02012/171127
 (87) 国際公開日 平成24年12月20日 (2012.12.20)
 (31) 優先権主張番号 61/497,586
 (32) 優先日 平成23年6月16日 (2011.6.16)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 513314425
 ブリティッシュ コロンビア キャンサー
 エイジェンシー ブランチ
 British Columbia Ca
 ncer Agency Branch
 カナダ ブリティッシュコロンビア州 ヴ
 イ5ゼット 1エル3, バンクーバー, ウ
 エスト10番アヴェニュー 675
 (74) 代理人 110001302
 特許業務法人北青山インターナショナル
 クープ, ロビン ジェイ. ノエル
 (72) 発明者
 カナダ ブリティッシュコロンビア州 ヴ
 イ5ワイ 3エル9, バンクーバー, アル
 バータストリート 3080

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 核酸の自動サイズ選択

(57) 【要約】

配列決定技術用DNAライブラリの作成を含め、広範な適用を有する核酸分子のサイズ選択装置及び方法。標的画分の進行を検出する画像化技術、及び電気泳動を制御する画像化からのフィードバックを使用する、複数の核酸試料のサイズ選択用自動ハイスループットシステム。時限式核酸抽出用の予測アルゴリズムを生成することにより、サイズ選択された要求サイズ範囲の核酸分子を提供する。

【選択図】 図 1

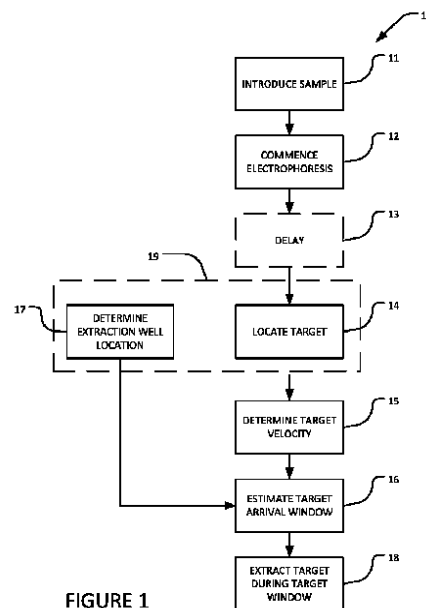


FIGURE 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

核酸のサイズ選択方法において、
 電気泳動によりチャンネルに沿って試料から核酸を移動させる工程；
 前記チャンネルに沿った前記核酸の基準画分の進行を自動的に監視する工程；
 前記監視に基づき、前記チャンネルにおける拔出ウェルへの前記核酸の標的画分の推定到達時間を推定する工程；及び
 前記推定到達時間に前記拔出ウェルから前記標的画分を含有する流体を抽出する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法において、前記基準画分が前記標的画分と同じであることを特徴とする方法。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の方法において、前記基準画分が前記標的画分と異なり、及び前記標的画分の前記推定到達時間を推定する工程が、前記拔出ウェルへの前記基準画分の推定到達時間と前記拔出ウェルへの前記標的画分の前記推定到達時間との差を推定する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 4】

請求項 1 乃至 3 の何れか一項に記載の方法において、前記監視する工程が、間隔を置いた時点で前記チャンネルの画像を得る工程と、前記画像において前記基準画分に対応する範囲を特定する工程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項 5】

請求項 4 に記載の方法において、前記標的画分の前記推定到達時間を推定する工程が、前記画像の 2 つ以上における前記基準画分の位置の差に基づき前記標的画分の平均速度を決定する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 6】

請求項 4 又は 5 に記載の方法において、前記核酸を前記チャンネルに沿って移動させる前に、前記核酸を色素と組み合わせる工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の方法において、前記色素がフルオロフォア又は発色団を含むことを特徴とする方法。

【請求項 8】

請求項 6 又は 7 に記載の方法において、前記画像の各々を得る工程が、前記チャンネルの複数の異なる露光像が得られるように撮像デバイス进行操作する工程と、前記複数の異なる露光像を組み合わせる前記画像を得る工程とを含み、ここで前記画像は前記複数の異なる露光像のいずれよりも大きいダイナミックレンジを有することを特徴とする方法。

【請求項 9】

請求項 6 乃至 8 の何れか一項に記載の方法において、前記画像を得る間に前記チャンネルを可視光又は紫外光で照射する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の方法において、前記可視光又は前記紫外光が、前記色素の吸収帯に対応する波長を含むことを特徴とする方法。

【請求項 11】

請求項 1 乃至 10 の何れか一項に記載の方法において、前記拔出ウェルへの前記標的画分の到達時間をスケジュールする工程；前記予定到達時間を前記推定到達時間と比較する工程、及び前記予定到達時間と前記推定到達時間との間の任意の差に基づき電気泳動信号の 1 つ又は複数の電気泳動パラメータを調整する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 12】

請求項 11 に記載の方法において、前記 1 つ又は複数の電気泳動パラメータを調整する工程が、前記電気泳動信号のデューティサイクルを調整する工程を含むことを特徴とする

10

20

30

40

50

方法。

【請求項 1 3】

請求項 1 1 又は 1 2 に記載の方法において、前記 1 つ又は複数の電気泳動パラメータを調整する工程が、前記電気泳動信号の電位を調整する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 1 乃至 1 3 の何れか一項に記載の方法において、前記予定到達時間と前記推定到達時間との差を含む誤差信号に基づく前記 1 つ又は複数の電気泳動パラメータの比例フィードバック制御により、前記チャンネルに沿った前記核酸の移動速度を制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 1 乃至 1 4 の何れか一項に記載の方法において、前記チャンネルへの電気泳動信号の印加を一時的に中断することにより前記推定到達時間と前記予定到達時間との差を低減する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 乃至 1 5 の何れか一項に記載の方法において、画像解析により前記チャンネルにおける前記拔出ウェルの位置を決定する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 7】

請求項 1 6 に記載の方法において、前記拔出ウェルへの前記核酸の前記標的画分の前記推定到達時間を推定する工程が、一部には、前記画像解析により決定されるとおりの前記拔出ウェルの前記位置に基づくことを特徴とする方法。

【請求項 1 8】

請求項 1 乃至 1 7 の何れか一項に記載の方法において、前記拔出ウェルから前記標的画分を含有する流体を抽出する工程が、前記標的画分に含まれる核酸のサイズ範囲から自動的に決定される期間にわたり実施されることを特徴とする方法。

【請求項 1 9】

請求項 1 8 に記載の方法において、前記標的画分の前縁及び後縁の前記拔出ウェルへの推定到達時間を推定する工程と、前記標的画分の前記前縁及び前記後縁の前記拔出ウェルへの前記推定到達時間を基準として前記標的画分の抽出し開始時刻及び停止時刻を調整する工程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 9 に記載の方法において、前記標的画分の前記前縁が前記拔出ウェルに到達すると電気泳動速度が増加するように、前記チャンネルの電気泳動を自動的に制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 2 1】

請求項 1 乃至 2 0 の何れか一項に記載の方法において、前記チャンネルが複数のチャンネルのうちの一つであり、前記方法が、前記複数のチャンネルにおける複数の試料を処理するように並行して実施されることを特徴とする方法。

【請求項 2 2】

請求項 2 1 に記載の方法において、前記複数のチャンネルの各々の前記電気泳動パラメータが、独立して制御されることを特徴とする方法。

【請求項 2 3】

請求項 2 1 又は 2 2 に記載の方法において、ピペッターを含むロボットシステムを操作して前記複数の試料を前記複数のチャンネルに移す工程をさらに含むことを特徴とする方法。

【請求項 2 4】

請求項 2 3 に記載の方法において、前記拔出ウェルから前記標的画分を含有する前記流体を抽出する工程が、前記ロボットシステムを操作してピペット先端を前記拔出ウェルに入れる工程、前記ピペッターを操作して前記拔出ウェルから前記流体を引き込む工程、及び前記ロボットシステムを操作して前記取り出された流体を終着ウェルに移す工程を含むことを特徴とする方法。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

請求項 24 に記載の方法において、前記チャンネルの第 1 及び第 2 のチャンネルにおける前記核酸の動きを、前記第 1 のチャンネルの前記標的画分の前記推定到達時間が前記第 2 のチャンネルの前記標的画分の前記推定到達時間と異なるように自動的に制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 26】

請求項 23 に記載の方法において、前記ピペッターがマルチチャンネルピペッターを含み、前記拔出ウェルから前記標的画分を含有する前記流体を抽出する工程が、前記ロボットシステムを操作して前記マルチチャンネルピペッターの前記チャンネル用のピペット先端を、対応する複数の前記チャンネルの前記拔出ウェルに入れ、前記ピペッターを操作して前記拔出ウェルから前記流体を引き込み、且つ前記ロボットシステムを操作して前記取り出された流体を対応する複数の終着ウェルに移すことにより、複数の前記チャンネルで同時に実施されることを特徴とする方法。

10

【請求項 27】

請求項 26 に記載の方法において、前記複数の前記チャンネルにおける前記核酸の動きを、前記複数の前記チャンネルの各々の前記標的画分の前記推定到達時間が同じになるように自動的に制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 28】

請求項 27 に記載の方法において、前記複数のチャンネルの前記標的画分が、複数の異なる標的画分を含むことを特徴とする方法。

20

【請求項 29】

請求項 1 乃至 28 の何れか一項に記載の方法において、前記核酸の前記標的画分が、目的の核酸分子に連結されたアダプターを含み、及び前記核酸の前記基準画分が、前記目的の核酸分子に連結されない前記アダプターを含むことを特徴とする方法。

【請求項 30】

請求項 1 乃至 29 の何れか一項に記載の方法において、前記監視する工程が、前記チャンネルに沿った前記核酸の複数の基準画分の進行を自動的に監視する工程を含み、前記基準画分が、前記核酸の前記複数の基準画分のうちの一つであることを特徴とする方法。

【請求項 31】

請求項 30 に記載の方法において、前記核酸の前記複数の基準画分が、既知のサイズの DNA 又は RNA ラダーを含むことを特徴とする方法。

30

【請求項 32】

請求項 1 乃至 31 の何れか一項に記載の方法において、前記核酸の前記標的画分のサイズ又はサイズ範囲を指定する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 33】

請求項 1 乃至 32 の何れか一項に記載の方法において、前記核酸が少なくとも第 1 の標的画分と第 2 の標的画分とを含み、前記推定する工程及び抽出する工程が、

前記チャンネルにおける前記拔出ウェルへの前記第 1 の標的画分の推定到達時間を推定する工程；

40

前記第 1 の標的画分の前記推定到達時間に前記拔出ウェルから前記第 1 の標的画分を含有する流体を抽出する工程；

前記チャンネルにおける電気泳動を継続する工程；

前記チャンネルにおける前記拔出ウェルへの前記第 2 の標的画分の推定到達時間を推定する工程；及び

前記第 2 の標的画分の前記推定到達時間に前記拔出ウェルから前記第 2 の標的画分を含有する流体を抽出する工程

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 34】

請求項 33 に記載の方法において、前記第 1 の標的画分を含有する前記流体及び前記第

50

2の標的画分を含有する前記流体を別個の終着ウェルに移す工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項35】

請求項33に記載の方法において、前記第1の標的画分を含有する前記流体及び前記第2の標的画分を含有する前記流体を同じ終着ウェルに移す工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項36】

請求項33乃至35の何れか一項に記載の方法において、前記第1の標的画分を抽出す第1の予定時間をスケジュールする工程と、前記第2の標的画分を抽出す第2の予定時間をスケジュールする工程とを含むことを特徴とする方法。

10

【請求項37】

請求項36に記載の方法において、前記第1の標的画分を前記第1の予定時間に前記抽出ウェルに至らせるように前記チャンネルの1つ又は複数の電気泳動パラメータを制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項38】

請求項36に記載の方法において、前記第1の標的画分が抽出された後の前記第2の予定時間に前記第2の標的画分を前記抽出ウェルに至らせるように前記チャンネルの1つ又は複数の電気泳動パラメータを制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項39】

請求項33乃至38の何れか一項に記載の方法において、前記核酸が複数の標的画分を含み、前記複数の標的画分が複数の異なる時間に前記チャンネルの前記抽出ウェルから抽出されることを特徴とする方法。

20

【請求項40】

請求項21乃至28の何れか一項に記載の方法において、前記複数のチャンネルの各チャンネルにおける前記核酸が複数の標的画分を含み、前記チャンネルの各チャンネルにおける前記複数の標的画分が、複数の時間に前記抽出ウェルから抽出されることを特徴とする方法。

【請求項41】

請求項40に記載の方法において、前記複数のチャンネルの前記複数の標的画分の第1の標的画分を共通の第1の予定時間に前記抽出ウェルに至らせるように前記チャンネルの1つ又は複数の電気泳動パラメータを制御する工程を含むことを特徴とする方法。

30

【請求項42】

請求項41に記載の方法において、前記複数のチャンネルの前記複数の標的画分の第1の標的画分を異なる時間に前記抽出ウェルに至らせるように前記チャンネルの1つ又は複数の電気泳動パラメータを制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項43】

請求項41又は42に記載の方法において、前記複数のチャンネルの前記複数の標的画分の第2の標的画分を共通の第2の予定時間に前記抽出ウェルに至らせるように前記チャンネルの1つ又は複数の電気泳動パラメータを制御する工程を含むことを特徴とする方法。

40

【請求項44】

請求項41又は42に記載の方法において、前記複数のチャンネルの前記複数の標的画分の第2の標的画分を異なる時間に前記抽出ウェルに至らせるように前記チャンネルの1つ又は複数の電気泳動パラメータを制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項45】

核酸のサイズ選択方法において、

各々が抽出ウェルを含む複数のチャンネルに、核酸を含有する試料を負荷する工程；

前記核酸を電気泳動により前記抽出ウェルに向かって移動させる工程；

前記抽出ウェルからの前記核酸の標的画分の抽出し予定時間をスケジュールする工程；

前記対応する抽出ウェルに向かう前記標的画分の進行を監視する工程；及び

50

前記標的画分が前記予定時間に前記拔出ウェルに到達するよう前記監視に基づき前記チャンネルにおける電気泳動を独立して制御する工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 4 6】

核酸のサイズ選択装置において、

第 1 及び第 2 の端部を有するチャンネル並びに前記チャンネルにおける拔出ウェルと；核酸を試料から前記チャンネルに沿って移動させるため前記チャンネルに電気泳動信号を送出するように接続された電気泳動電源と；

前記チャンネルを撮像するよう取り付けられた撮像デバイスと；

前記撮像デバイスから画像を得るよう接続された制御器であって、

前記画像を解析することにより前記チャンネルに沿った前記核酸の基準画分の進行を自動的に監視し；

前記監視に基づき、前記チャンネルにおける前記拔出ウェルへの前記核酸の標的画分の推定到達時間を推定し；及び

機構を操作して前記推定到達時間に前記拔出ウェルから前記標的画分を含有する流体を抽出

よう構成された制御器と

を含むことを特徴とする装置。

【請求項 4 7】

請求項 4 6 に記載の装置において、前記撮像デバイスがカメラを含むことを特徴とする装置。

【請求項 4 8】

請求項 4 7 に記載の装置において、前記撮像デバイスが、前記チャンネルを可視光又は紫外光で照明するよう構成された照明器を含むことを特徴とする装置。

【請求項 4 9】

請求項 4 6 乃至 4 8 の何れか一項に記載の装置において、前記機構が、試料を前記チャンネルの負荷ウェルに移し、且つ前記拔出ウェルから前記流体を抽出よう動作するピペッターを含むロボットシステムを含むことを特徴とする装置。

【請求項 5 0】

請求項 4 6 乃至 4 9 の何れか一項に記載の装置において、前記チャンネルが、対向する第 1 及び第 2 の側面を有する細長い溝と、前記溝中にある電気泳動媒体とを含み、前記第 1 及び第 2 の側面が、前記第 1 及び第 2 の側面に沿って長手方向に延在するステップを有し、前記電気泳動媒体が前記ステップに達するまで前記溝を充填することを特徴とする装置。

【請求項 5 1】

請求項 5 0 に記載の装置において、前記電気泳動媒体がゲルを含むことを特徴とする装置。

【請求項 5 2】

請求項 5 1 に記載の装置において、前記ゲルがアガロースゲルを含むことを特徴とする装置。

【請求項 5 3】

請求項 5 1 に記載の装置において、前記ゲルがアクリルアミドゲルを含むことを特徴とする装置。

【請求項 5 4】

請求項 5 0 に記載の装置において、前記溝の第 1 及び第 2 の端部にそれぞれ位置する第 1 及び第 2 の緩衝液リザーバを含むことを特徴とする装置。

【請求項 5 5】

請求項 5 4 に記載の装置において、前記第 1 及び第 2 の緩衝液リザーバにそれぞれ第 1 及び第 2 の電極を含み、前記第 1 及び第 2 の電極が前記電気泳動電源に接続されることを特徴とする装置。

10

20

30

40

50

【請求項 5 6】

請求項 5 5 に記載の装置において、ヒンジ式フレームを含み、前記第 1 及び第 2 の電極が前記ヒンジ式フレームに取り付けられ、前記ヒンジ式フレームが、前記第 1 及び第 2 の電極が前記第 1 及び第 2 の緩衝液リザーバ内にある第 1 の位置と、前記第 1 及び第 2 の電極が前記第 1 及び第 2 の緩衝液リザーバから取り出される第 2 の位置との間を動くことができることを特徴とする装置。

【請求項 5 7】

請求項 5 0 乃至 5 6 の何れか一項に記載の装置において、前記溝が 3 mm ~ 11 mm の範囲の幅を有することを特徴とする装置。

【請求項 5 8】

請求項 5 0 乃至 5 7 の何れか一項に記載の装置において、前記溝が 6 mm ~ 12 mm の範囲の深さを有することを特徴とする装置。

【請求項 5 9】

請求項 5 0 ~ 5 8 のいずれか一項に記載の装置において、前記媒体における負荷ウエルを含み、前記媒体の層が前記負荷ウエルと前記溝の前記第 1 及び第 2 の側面の各々との間にあることを特徴とする装置。

【請求項 6 0】

請求項 4 6 乃至 5 9 の何れか一項に記載の装置において、前記機構がピペッターを備えるロボットを含み、前記制御器が、前記ピペッターのピペット先端を前記拔出ウエルの上の位置に動かし、前記ピペット先端を降下させて前記拔出ウエルに入れ、且つ前記流体を前記ピペット先端に吸い込むように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 6 1】

請求項 6 0 に記載の装置において、前記制御器が、前記画像の 1 つ又は複数の画像解析によって前記チャンネルにおける前記拔出ウエルの位置を決定し、且つ前記ピペット先端を前記拔出ウエルの前記決定された位置に動かすように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 6 2】

請求項 4 6 乃至 6 1 の何れか一項に記載の装置において、前記制御器が、前記拔出ウエルへの前記標的画分の前記推定到達時間を前記拔出ウエルへの前記標的画分の目標到達時間と比較し、且つ前記目標到達時間と前記推定到達時間との間の任意の差に基づき前記電気泳動信号の 1 つ又は複数の電気泳動パラメータが調整されるよう前記電気泳動電源を制御するように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 6 3】

請求項 6 2 に記載の装置において、前記 1 つ又は複数の電気泳動パラメータが前記電気泳動信号のデューティサイクルを含むことを特徴とする装置。

【請求項 6 4】

請求項 6 2 又は 6 3 に記載の装置において、前記 1 つ又は複数の電気泳動パラメータが前記電気泳動信号の電位を含むことを特徴とする装置。

【請求項 6 5】

請求項 4 6 乃至 6 1 の何れか一項に記載の装置において、前記制御器が、前記拔出ウエルへの前記標的画分の前記推定到達時間と目標到達時間との差を含む誤差信号に基づく前記 1 つ又は複数の電気泳動パラメータの比例フィードバック制御により、前記チャンネルに沿った前記核酸の移動速度を制御するように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 6 6】

請求項 6 5 に記載の装置において、前記制御器が、前記拔出ウエルへの前記標的画分の前記目標到達時間を生成するように構成されるスケジューラを含むことを特徴とする装置。

【請求項 6 7】

請求項 4 6 乃至 6 1 の何れか一項に記載の装置において、前記拔出ウエルへの前記標的画分の前記推定到達時間と前記拔出ウエルへの前記標的画分の目標到達時間との差を表す

10

20

30

40

50

誤差信号に応答して前記チャンネルに沿った前記標的画分の平均速度が変化するように電気泳動電源を制御するように構成される比例フィードバック制御器を含むことを特徴とする装置。

【請求項 6 8】

請求項 6 2 乃至 6 7 の何れか一項に記載の装置において、前記制御器が、前記チャンネルに対する前記電気泳動信号の印加を一時的に中断することにより、前記推定到達時間と前記目標到達時間との差を低減するように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 6 9】

請求項 4 6 乃至 6 8 の何れか一項に記載の装置において、複数のチャンネルを含み、前記チャンネルが前記複数のチャンネルのうちの一つであることを特徴とする装置。

10

【請求項 7 0】

請求項 6 5 に記載の装置において、複数のチャンネルを含み、前記チャンネルが前記複数のチャンネルのうちの一つであり、前記制御器が、前記複数の前記チャンネルの各々の前記標的画分の前記推定到達時間が同じになるように前記複数のチャンネルの各々の前記電気泳動信号を制御するように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 7 1】

請求項 7 0 に記載の装置において、前記機構が、複数のピペット先端を支持するように構成されるマルチチャンネルピペッターを含み、前記ピペット先端が、前記複数のチャンネルの前記拔出ウェルに同時に挿入されるように離間されることを特徴とする装置。

20

【請求項 7 2】

請求項 7 0 又は 7 1 に記載の装置において前記複数のチャンネルの前記標的画分が、複数の異なる標的画分を含むことを特徴とする装置。

【請求項 7 3】

請求項 6 5 に記載の装置において、複数のチャンネルを含み、前記チャンネルが前記複数のチャンネルのうちの一つであり、前記制御器が、前記複数の前記チャンネルの各々の前記標的画分の前記推定到達時間が異なるように前記複数のチャンネルの各々の前記電気泳動信号を制御するように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 7 4】

核酸のサイズ選択装置において、

拔出ウェルが形成された電気泳動媒体を各々が含む複数のチャンネルと；

30

各チャンネルの端部間に電気泳動電位を印加するように接続可能なマルチチャンネル電気泳動電源であって、前記複数のチャンネルの各々における前記電気泳動電位を独立して制御するように構成される電源と；

前記複数のチャンネルを撮像するように位置決めされたカメラと；

前記カメラから画像を受け取り、且つ前記電源を制御するように接続された制御器であって、前記画像を処理し、前記画像に基づき前記チャンネルに沿った核酸の標的画分の進行を監視し、且つ前記電源を制御して前記対応する標的画分の前記監視された進行に基づき前記チャンネルにおける前記電気泳動電位を変化させるように構成される制御器とを含むことを特徴とする装置。

40

【請求項 7 5】

請求項 7 4 に記載の装置において、前記制御器が、前記拔出ウェルからの前記標的画分の拔出スケジュールを含み、前記制御器が、前記標的画分を前記スケジュールに従う時間に前記拔出ウェルに到達させるよう前記電気泳動電位を制御するように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 7 6】

請求項 7 5 に記載の装置において、ロボットピペッティング装置を含み、前記制御器が、前記スケジュールに従う前記時間に前記拔出ウェルから前記標的画分を拔出すよう前記ロボットピペッティング装置を制御するように構成されることを特徴とする装置。

【請求項 7 7】

核酸の電気泳動に使用されるカセットにおいて、前記カセットが、チャンネルが形成さ

50

れたプレートを含み、前記チャンネルが、対向する第1及び第2の側面を有する細長い溝と、前記溝中の電気泳動媒体とを含み、第1及び第2の側面がステップを有し、前記電気泳動媒体が前記ステップに達するまで前記溝を充填することを特徴とするカセット。

【請求項78】

請求項77に記載のカセットにおいて、前記チャンネルに沿って離間された位置にある負荷ウェルと拔出ウェルとを含むことを特徴とするカセット。

【請求項79】

請求項78に記載のカセットにおいて、前記プレートが、少なくとも前記チャンネルの下方の位置で透明であることを特徴とするカセット。

【請求項80】

請求項77乃至79の何れか一項に記載のカセットにおいて、前記溝の第1及び第2の端部にそれぞれ位置する第1及び第2の緩衝液リザーバを含むことを特徴とするカセット。

【請求項81】

請求項77乃至80の何れか一項に記載のカセットにおいて、前記プレート上に配置される複数の又は平行なチャンネルを含むことを特徴とするカセット。

【請求項82】

請求項81に記載のカセットにおいて、前記負荷ウェルに突入するピンを有する第1のコームを含むことを特徴とするカセット。

【請求項83】

請求項82に記載のカセットにおいて、前記複数のチャンネルの前記負荷ウェルと整列した第1の特徴セットを含み、前記第1のコームが前記第1の特徴セットと係合されることを特徴とするカセット。

【請求項84】

請求項83に記載のカセットにおいて、前記第1のコームの前記ピンが、前記溝より幅が狭いことを特徴とするカセット。

【請求項85】

請求項82乃至4の何れか一項に記載のカセットにおいて、前記拔出ウェルに突入するピンを有する第2のコームを含むことを特徴とするカセット。

【請求項86】

請求項85に記載のカセットにおいて、前記第2のコームの前記ピンが、前記第1のコームの前記ピンより幅が広いことを特徴とするカセット。

【請求項87】

請求項85又は86に記載のカセットにおいて、前記複数のチャンネルの前記拔出ウェルと整列した第2の特徴セットを含み、前記第2のコームが前記第2の特徴セットと係合されることを特徴とするカセット。

【請求項88】

請求項77乃至87の何れか一項に記載のカセットにおいて、前記チャンネルの第1及び第2の壁が、前記媒体を前記第1及び第2の緩衝液リザーバの各々の近傍の位置に保持するための1つ又は複数の突出部又は陥凹部を含むことを特徴とするカセット。

【請求項89】

請求項77乃至88の何れか一項に記載のカセットにおいて、前記溝が3mm～11mmの範囲の幅を有することを特徴とするカセット。

【請求項90】

請求項77乃至89の何れか一項に記載のカセットにおいて、前記溝が6mm～12mmの範囲の深さを有することを特徴とするカセット。

【請求項91】

請求項77乃至90の何れか一項に記載のカセットにおいて、前記チャンネルを覆って接着された無菌剥離式カバーを含むことを特徴とするカセット。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2011年6月16日に出願された、「Method and Apparatus for Automated Size Selection of Nucleic Acids」と題される米国仮特許出願第61/497586号明細書のパリ条約による優先権を主張し、この仮特許出願は、本明細書によってあらゆる目的から参照により本明細書に援用される。アメリカ合衆国の目的上、本願は、米国特許法第119条に基づき、2011年6月16日に出願された「Method and Apparatus for Automated Size Selection of Nuclei

10

【0002】

本発明は、核酸の自動サイズ選択に関する。本発明の態様は、核酸をサイズに基づき選択するのに有用な方法及び装置を提供する。

【背景技術】

【0003】

DNA又はRNAなどの核酸をサイズによって選択することが望ましい適用は、広範囲に及ぶ。例えば、サイズ選択は、配列決定及び他の適用に使用するDNAライブラリの作成において用いられる。

20

【0004】

様々なDNAサイズ選択技術が存在する。それらの技術のあるものは、望ましくないことに、多大な労力を要する。DNAサイズ選択方法の一つは、ゲルにおいてDNA含有試料の電気泳動を実施することである。異なるサイズのDNAはゲル中での移動度が異なるため、電気泳動によりDNAはサイズ毎に異なるバンドに分離される。目標とするサイズ範囲のDNAを含有するバンドを特定し、次に手でゲルから切り取ることができる。次に目標のDNAをゲルから抽出することができる。

【0005】

一部の電気泳動システムは、ゲルに形成されたウェルを含む。電気泳動によってDNAがウェルに流れ込み得る。InvitrogenのE-gel及びLonzaのFlash Gel(商標)が、かかるウェルを提供する。

30

【0006】

Y型チャンネルサイズ選択機械が、もう一つのDNAサイズ選択技術である。例えば、SageのPippin Prep(商標)機及びCaliperのXT(商標)機である。これらの機械は、目標とするサイズ範囲のDNAを側方チャンネルへと分流し、分子量カットオフフィルタに突き当たって分流されたDNAを収集することにより、試料から目標とするサイズ範囲のDNAを抽出することができる。

【0007】

Beckman Coulter他から入手可能な固相可逆固定化ビーズ(Solid Phase Reversible Immobilization: SPRI)のビーズを用いてもよく、これにより特定のサイズのDNAを捕捉し、次に洗浄及びpHの変化後にDNAを遊離させ得る。

40

【0008】

ハイスループットを提供することのできるDNAサイズ選択技術が依然として必要とされている。より少ない労力で正確なDNAサイズ選択を提供することのできるDNAサイズ選択技術が依然として必要とされている。

【発明の概要】

【0009】

この発明は、同時に適用し得る多くの態様を有する。それらの態様の一部は独立した適

50

用を有する。一態様は、核酸の自動サイズ選択装置を提供する。別の態様は、核酸の自動サイズ選択装置を制御するためのコンピュータシステムを提供する。別の態様は、核酸の自動サイズ選択方法を提供する。核酸には、DNA及び/又はRNAが含まれ得る。別の態様は、核酸の自動サイズ選択にとりわけ有用なカートリッジを提供する。

【0010】

一例示的实施形態において、核酸は、各々がチャンネルの一端に負荷ウェルを有し、且つ下流に拔出ウェルを有するアガロースチャンネルに個々にDNA試料を負荷することにより、サイズ選択される。負荷後、核酸に対して電気泳動が実施され、核酸は拔出ウェルに向かって移動するに従いサイズ毎に分離される。このプロセスの間、チャンネルは一定の間隔で画像化され、ソフトウェアアルゴリズムがこれらの画像を使用して基準バンドを特定し、目標の核酸断片が拔出ウェルに到達する時間を予測する。チャンネル流もまた、直流電圧のパルス幅変調によって個々に制御可能であり、従って隣接する試料が異なる速度で流れている場合、2つの試料を同時に拔出する必要がないように拔出し時間を変更することができる。

10

【0011】

本発明の別の態様は、DNA、RNAなどの核酸のサイズ選択方法を提供する。かかる方法は、電気泳動によりチャンネルに沿って試料から核酸を移動させる工程；チャンネルに沿った核酸の基準画分の進行を自動的に監視する工程；監視に基づき、チャンネルにおける拔出ウェルへの核酸の標的画分の推定到達時間を推定する工程；及び推定到達時間に拔出ウェルから標的画分を含有する流体を拔出する工程を含む。基準画分は標的画分と同じであっても、又は異なってもよい。例えば、一部の实施形態では、基準画分は、試料中に豊富に含まれている核酸（試料に当初から存在するか、或いはサイズマーカーとして試料に添加される）を含むことができ、標的画分は、基準画分とサイズが異なる核酸を含むことができる。チャンネルに沿った標的画分の進行は、基準画分の進行から推測されてもよい。例えば、標的画分は、一定の割合だけ基準画分に先行するか、又はそれより遅れることが分かってもよい。一部の实施形態では、核酸の標的画分は、目的の核酸分子に連結されるアダプターを含み、及び核酸の基準画分は、目的の核酸分子に連結されないアダプターを含む。一部の实施形態では、この方法は、チャンネルに沿った核酸の複数の基準画分の進行を自動的に監視する工程を含み得る。複数の基準画分は、既知のサイズのDNA又はRNAラダーを含み得る。

20

30

【0012】

一部の实施形態では、監視する工程は、間隔を置いた時点で、チャンネルの画像を得る工程、及び画像において基準画分に対応する範囲を特定する工程を含む。画像は、例えば、チャンネルを観察するために装備されたカメラによって取得されてもよい。カメラは、多数のチャンネルを同時に撮像してもよい。複数のチャンネルにおける基準画分（これは異なるチャンネルについて同じである必要はない）の進行は、同じ画像セットを使用して監視されてもよい。標的画分の推定到達時間は、ある場合には、画像の2つ以上における基準画分の位置の差に基づく標的画分の平均速度に基づき推定されてもよい。画像は高ダイナミックレンジ画像を含み得る。例えば、画像は高ダイナミックレンジセンサを使用して得られてもよく、又は2つ以上の異なる露光像から合成されてもよい。一部の实施形態では、画像は10ビット又は12ビット以上のビット深度を有する。一部の实施形態では、画像の各々を得る工程は、チャンネルの複数の異なる露光像が得られるように撮像デバイスを操作する工程、及び複数の異なる露光像を組み合わせて画像を得る工程を含み、ここで画像は、複数の異なる露光像のいずれよりも大きいダイナミックレンジを有する。

40

【0013】

一部の实施形態は、標的画分のサイズ又はサイズ範囲を指定する工程を含む。例えば、標的画分のサイズ又はサイズ範囲は、絶対項で指定されても、又は基準画分の1つ又は複数との相対で指定されてもよい。例えば、標的画分のサイズ又はサイズ範囲は、基準画分からの一定の割合の先行又は遅れとして指定されてもよい。一部の实施形態は、拔出ウェルへの標的画分の到達時間をスケジュールする工程；予定到達時間を推定到達時間と比較

50

する工程、及び予定到達時間と推定到達時間との間の任意の差に基づき電気泳動信号の1つ又は複数の電気泳動パラメータを調整する工程を含む。かかる実施形態において、異なるチャンネルにおける標的画分は、異なる時間に拔出ウェルに到達させてもよい（予定時間に各チャンネルで作業を行うピペッターを備えるロボットなどの単一の機構を使用した標的画分の拔出しを促進する）。また、かかる実施形態において、異なるチャンネルにおける標的画分は、同じ時間に拔出ウェルに到達させてもよい（予定時間にいくつかのチャンネルで同時に作業を行うマルチチャンネルピペッターを備えるロボットなどのマルチチャンネル機構を使用した標的画分の拔出しを促進する）。

【0014】

1つ又は複数の電気泳動パラメータを調整する工程は、電気泳動信号のデューティサイクルを調整する工程、電気泳動信号の電位を調整する工程又は電気泳動信号を定義する他のパラメータを調整する工程を含み得る。

10

【0015】

一部の実施形態では、この方法は、画像解析によって1つ又は複数のチャンネルにおける拔出ウェル及び/又は負荷ウェルの位置を決定する。これにより、異なるチャンネルの拔出ウェルが異なる位置にあるシステムが促進され、また、拔出ウェル及び/又は負荷ウェルの位置のばらつきの自動補償も促進される。

【0016】

本発明の別の態様は、核酸のサイズ選択装置を提供する。この装置は、第1及び第2の端部を有するチャンネル並びにチャンネルにおける拔出ウェル；核酸を試料からチャンネルに沿って移動させるためチャンネルに電気泳動信号を送出するように接続された電気泳動電源；チャンネルを撮像するように取り付けられた撮像デバイス；撮像デバイスから画像を得るように接続された制御器を含む。制御器は、画像を解析することによりチャンネルに沿った核酸の基準画分の進行を自動的に監視し；監視に基づき、チャンネルにおける拔出ウェルへの核酸の標的画分の推定到達時間を推定し；及び機構を操作して推定到達時間に拔出ウェルから標的画分を含有する流体を拔出するように構成される。

20

【0017】

撮像デバイスは電子カメラを含み得る。カメラは、核酸と会合した色素の発光帯域外の光を減衰させるフィルタを備えてもよい。

【0018】

一部の実施形態では、この機構は、試料をチャンネルの負荷ウェルに移し、且つ拔出ウェルから流体を拔出すよう動作するピペッターを含むロボットシステムを含む。一部の実施形態では、ピペッターは、複数の試料を複数のチャンネルに同時に導入する能力又は複数のチャンネルの拔出ウェルから同時に流体を拔出す能力を有するマルチチャンネルピペッターを含む。

30

【0019】

一部の実施形態では、チャンネルは、対向する第1及び第2の側面を有する細長い溝と溝中の電気泳動媒体とを含み、第1及び第2の側面が、第1及び第2の側面に沿って長手方向に延在するステップを有し、電気泳動媒体がステップに達するまで溝を充填する。

【0020】

電気泳動媒体は、例えば、アガロースゲル、アクリルアミドゲル、又は変性アクリルアミドゲルなどのゲルを含み得る。

40

【0021】

一部の実施形態では、制御器は、画像の1つ又は複数の画像解析によってチャンネルにおける拔出ウェルの位置を決定し、且つピペット先端を決定された拔出ウェルの位置に動かすように構成される。

【0022】

一部の実施形態では、制御器は、拔出ウェルへの標的画分の推定到達時間を、拔出ウェルへの標的画分の目標到達時間と比較し、且つ目標到達時間と推定到達時間との間の任意の差に基づき電気泳動信号の1つ又は複数の電気泳動パラメータが調整されるよう電気泳

50

動電源を制御するように構成される。

【0023】

一部の実施形態では、制御器は、拔出ウェルへの標的画分の推定到達時間と目標到達時間との差を含む誤差信号に基づく1つ又は複数の電気泳動パラメータの比例フィードバック制御によりチャンネルに沿った核酸の移動速度を制御するように構成される。

【0024】

一部の実施形態では、制御器は、拔出ウェルへの標的画分の目標到達時間を生成するように構成されるスケジューラを含む。

【0025】

この装置は、拔出ウェルへの標的画分の推定到達時間と拔出ウェルへの標的画分の目標到達時間との差を表す誤差信号に応答してチャンネルに沿った標的画分の平均速度が変化するよう電気泳動電源を制御するように構成される比例フィードバック制御器を含み得る。一部の実施形態では、制御器は、チャンネルに対する電気泳動信号の印加を一時的に中絶することにより、推定到達時間と目標到達時間との差を低減するように構成される。

10

【0026】

本発明の別の態様は、核酸のサイズ選択用カセットを提供する。このカセットは、チャンネルが形成されたプレートを含み、チャンネルは対向する第1及び第2の側面を有する細長い溝と溝中の電気泳動媒体とを含み、第1及び第2の側面はステップを有し、電気泳動媒体がステップに達するまで溝を充填する。プレートは、プレートをロボットに対して既知の位置に固定するための1つ又は複数の穴、溝又は他の特徴を有し得る。チャンネルは、負荷ウェルと拔出ウェルとの双方を、チャンネルに沿って離間された位置に含み得る。プレートは任意選択で、少なくともそのチャンネルの下方の位置で透明であってもよい。

20

【0027】

本発明のさらなる態様及び本発明の例示的实施形態の特徴が、添付の図面に示され、及び/又は以下に記載される。

【図面の簡単な説明】

【0028】

添付の図面は、本発明の非限定的で例示的な実施形態を示す。

【0029】

【図1】図1は、例示的实施形態に係る核酸のサイズ選択方法を示す。

30

【図1A】図1Aは、代替的な例示的方法を示す。

【図2】図2は、一つのチャンネルの画像を概略的に示す。

【図2A】図2Aは、チャンネルに沿った位置の関数としての密度を示すプロットである。

【図3】図3は、所定のサイズのDNAに対応するピークの特定制法を示す。

【図4】図4は、例示的实施形態に係る装置を示す。

【図5】図5は、例示的なロボットを示す。

【図5A】図5Aは、例示的なデッキを示す。

【図5B】図5Bは、例示的なカメラアセンブリを示す。

40

【図6】図6は、例示的なグラフィック表示のスクリーンショットである。

【図7】図7は、例示的なチャンネルプレートの平面図である。

【図7A】図7Aは、個々のチャンネルの断面である。

【図7B】図7Bは、負荷ウェル又は拔出ウェルの形成に有用な例示的なコームを示す。

【図7C】図7Cは、別の実施形態に係る例示的なチャンネルプレートの平面図である。

【図7D】図7Dは、供給ウェル及び拔出ウェルを形成するためコームが係合されたチャンネルプレートの斜視図である。

【発明を実施するための形態】

【0030】

当業者に対してより完全な理解を提供することを目的に、以下の記載全体を通して具体

50

的な詳細が示される。しかしながら、本開示が不必要に曖昧になることを避けるため、周知の要素は詳細には図示又は説明されていないこともある。従って、記載及び図面は、制限する意味でなく、例示の意味で捉えられるべきである。

【0031】

本発明の一態様は、複数の核酸試料をサイズ選択するための自動化された方法を提供する。この方法は、予測アルゴリズムと併せた画像化を用いることにより、抽出時間を決め、サイズ選択された目標サイズ範囲の核酸を提供する。この方法は、1つ又は複数の電気泳動チャンネルと、1つ又は複数の電気泳動チャンネルの画像を取得するカメラと、対応するチャンネルに試料を導入し、且つサイズ選択された核酸をチャンネルから抽出するためのピペッターを含むロボットとを含む自動化された装置と併せることで有利となるように実施され得る。チャンネルは、例えばアガロースゲル又はアクリルアミドゲルで充填され得る。チャンネルは、各々、チャンネルにおける負荷ウェルと、チャンネルに沿って負荷ウェルから離間された抽出ウェルとを有し得る。

10

【0032】

以下の記載は、DNAのサイズ選択に用いられる例示的な実施形態の構成及び操作を説明する。例えば、DNAは、RNAに由来するcDNAを含み得る。サイズ選択されるDNAは、10bp~10kbpの範囲のサイズを有し得る。しかしながら、本発明は、RNAなどの他の核酸のサイズ選択に適用されてもよい。一部の実施形態では核酸は、剪断された核酸を含む。

20

【0033】

図1は、本発明の例示的な実施形態に係る方法10を示す。ブロック11において、DNA含有試料が、電気泳動によりDNAを移動させることができる媒体が入ったチャンネルの負荷ウェルに導入される。DNA含有試料はまた、DNAと共に負荷ウェルに導入される色素(例えば、SYBR Green(商標)色素又は臭化エチジウム)も含み得る。色素の機能は、媒体中のDNAの検出又は画像化を促進することである。一部の実施形態では、試料中のDNA分子がアダプターを含んでもよく、これはDNA配列決定などの下流適用に有用であり得る。媒体は、例えばアガロースゲル又はアクリルアミドゲルを含み得る。ブロック12において、電気泳動が開始される。電気泳動は、チャンネルの両端の電極間に電位差を印加することにより実施され得る。電位差は、例えば、直流電位、パルス直流電位又は不平衡交流電位を含み得る。印加された電位によりDNAが推進され、チャンネルに沿って負荷ウェルから抽出ウェルに向かって移動する。異なるサイズのDNAはチャンネルにおける移動度が異なるため、DNAはサイズ別に分かれる。

30

【0034】

任意選択のブロック13は、異なるサイズのDNAの濃度を検出することができるように十分にチャンネルに沿って遠くまでDNAを移動させるための遅延を提供する。ブロック14は、目標サイズ範囲の標的DNAのチャンネルに沿った位置を決定することを含む。一部の実施形態では、ブロック14は、カメラでチャンネルの連続画像を得ること、1つ又は複数の画像において1つ又は複数の既知のサイズのDNAに対応する1つ又は複数の目印を検出すること、及び1つ又は複数の目印の1つ又は複数の位置に基づき標的DNAの位置を決定することを含む。ブロック14の出力は、チャンネルに沿った標的DNAの一連の位置である。

40

【0035】

1つ又は複数のサイズ分け基準(例えば目印)は、それがDNAラダーであるにしろ、又は電気泳動図に存在すると予想される固有の特徴であるにしろ、実行時又はその前に指定され得る。用いられるサイズ基準がDNAラダーである場合、DNAラダーは、試料を負荷ウェルに負荷する前に、試料に添加されてもよい。一部の実施形態では、サイズ基準は試料中に固有に存在する。例えば、miRNAから得られたcDNA試料をサイズ選択するため、試料は、cDNA+アダプター断片(例えば、109bpのサイズを有する)並びにアダプター-アダプター断片(例えば、80bpのサイズを有する)の両方を含み得る。アダプター-アダプター断片は、サイズ基準として用いられ得る。

50

【0036】

標的DNAのサイズ範囲は、様々な方法で、例えば絶対項で、又は所与の1つ又は複数の基準との相対で指定されてもよく、それにより入力試料の電気泳動図プロフィールに依存する、或いは非依存するサイズの画分を切り出すことが可能になる。例えば、入力試料が、予想ピーク中心が約250bpである切断されたゲノムDNAである場合、標的画分の移動度範囲はピーク中心との相対で指定されてもよく（例えばピーク中心の移動度の110%～90%）、又は標的は、ピーク中心の実際の移動度と無関係に絶対的なサイズ範囲（例えば150bp～200bp）として指定されてもよい。

【0037】

ブロック15は、チャンネルに沿った標的DNAの平均速度を決定する。ブロック15は、例えば、標的DNAの2つの位置の差を、それらの位置が決定された画像間の経過時間で除すといった単純なものであってよい。ブロック15は3つ以上の位置を考慮に入れてもよい。例えば、ブロック15は複数の速度を平均するか、又はその中央値を求めてもよい。

10

【0038】

ブロック16は、抽出ウェルへの標的DNAの到達時間を推定する。この決定は、予め分かっている、抽出ウェルの所定の位置に基づき得る。一部の実施形態では抽出ウェルの位置は、ブロック17で、ブロック15で得られた画像（或いは、抽出ウェルの位置特定のために得られた別個の画像）において抽出ウェルの画像の位置を特定することにより決定される。この画像認識はモデルベースであってよい（すなわち、ある画像においてチャンネルの画像がどのように見えると予想されるか（ここで画像中に各チャンネルが見出されることが予想される）、及びその画像において抽出ウェルの画像がどのように見えると予想されるかが前もって分かっている）。抽出ウェルの位置を特定することは、例えば、画像において抽出ウェルのモデル画像との相関が最大になる位置を見つけることを含み得る。他のより単純な実施形態では、画像において抽出ウェルの位置を特定することは、画像において抽出ウェルに対応する1つ又は複数の縁部の位置を特定することを含む。

20

【0039】

例えば、推定到達時間は、現在時刻に推定移動時間を足すことにより得てもよい。推定移動時間は、例えば、抽出ウェルの位置と標的DNAの現在の位置との間の距離を、ブロック15で推定されたとおりの標的DNAの現在の速度で除すことにより決定されてもよい。

30

【0040】

ブロック18は、推定到達時間に抽出ウェルから標的DNAを抽出する。ブロック18は、例えば、ピペッターを備えるロボットを制御することにより、推定到達時間又はその前にピペッターを抽出ウェルに入れ、推定到達時間に抽出ウェルから流体をピペッターに引き込むことを含み得る。次にロボットは、収集した流体をリザーバに分注してもよく、ここで流体は保持されるか、又はさらなる処理のため送られ得る。

【0041】

方法10は、様々な変動を有する。一部の実施形態では、標的DNAの速度及び/又は位置に関する情報が、標的DNAの速度の制御に適用される。実行時電気泳動図から得られる位置情報及び時間情報をフィードバックループに用いることにより、標的DNA画分の電気泳動速度が、抽出ウェルへのその到達時間に加えて制御される。

40

【0042】

フィードバック制御を適用することにより、例えば、抽出ウェルへの標的DNAの推定到達時間が調整され得る。推定到達時間は、例えば、電気泳動電界のデューティサイクル及び/又は電圧を調整して、及び/又は電気泳動電界の印加を1回または複数回休止することにより、調整され得る。デューティサイクルを調整することにより標的DNAの速度を調整する実施形態は、デューティサイクルと速度との間の関係が線形的又はほぼ線形的な傾向にあるため、有利であり得る。これは制御を単純化する。電気泳動速度及び抽出しのスケジューリングが、任意の数の試料について同時に制御されてもよい。一実施形態に

50

において、抽出スケジュールリングは、泳動している 96 試料を並列で処理する。

【0043】

図 1 A は代替的な例示的方法 10 A を示し、これは方法 10 と同様であるが、但し、標的 DNA の予定到達時間をスケジュールするブロック 19 と、標的 DNA についてブロック 16 からの推定到達時間を予定到達時間と比較するブロック 20 とを含む。ブロック 21 はブロック 20 から制御信号を受け取り、制御信号に基づき電気泳動パラメータを調整する。ループ 22 は、標的 DNA が予定時間に抽出ウェルに到達するよう標的 DNA の進行を制御するのに十分な速度で周期的に繰り返され得る。

【0044】

ブロック 21 において、電気泳動パラメータは、必要に応じて、標的 DNA の進行を遅らせるか、標的 DNA の進行を速めるか、又は標的 DNA の現在の進行速度を維持するように調整され得る。一部の実施形態では、調整は、単に制御信号の符号（すなわち推定到達時間が予定到達時間より前か、それとも後か）に依存するに過ぎない。他の実施形態には、調整は、少なくとも一部において、推定到達時間と予定到達時間との差の大きさ（又は同等に、推定速度と、予定時間に抽出ウェルに到達する標的 DNA をもたらす速度との差の大きさ）に基づく。

【0045】

典型的な場合、標的 DNA は特定のサイズを有するのでなく、サイズの範囲を有する。従って標的 DNA は、DNA 画分のサイズ範囲並びに電気泳動パラメータにより決定される長さを有する時間ウィンドウの間に抽出ウェルに到達し得る。一部の実施形態では、標的画分は最初に指定され、その画分が抽出されるまで連続的に調整されてもよい。

【0046】

標的 DNA が抽出ウェルに到達する時間の制御は、複数の電気泳動チャンネルが同時に操作されている場合に十分効果的に適用され得る。例えば、複数のチャンネルの各々における DNA の電気泳動が、異なるチャンネルの予定時間が異なるようにして各チャンネルの標的 DNA を予定時間に抽出ウェルに到達させるよう制御され得る。異なるチャンネルの標的 DNA は同じであっても、又は異なってもよい。これにより、ロボットと同じピペッターが 2 つの抽出ウェルから同時に流体を抽出す必要なしに、ロボットを使用してチャンネルの各々から標的 DNA を抽出することが促進され得る。予定時間は、ロボットがスケジュールされた抽出の各々を行うのに十分な時間があることを確実にするように割当てられ得る。

【0047】

電気泳動速度の制御は、チャンネル間の電気泳動速度のばらつき（例えば、電気泳動媒体の不均質性又は異なるチャンネルに用いる電気泳動媒体の他の差異により引き起こされる）を補償するために適用されてもよい。制御はまた、チャンネル間の抽出ウェルの位置の差を補償するためにも適用され得る。制御はまた、異なるチャンネルの標的 DNA の差を補償するためにも適用され得る。

【0048】

一部の実施形態はマルチチャンネルロボットを用いる。例えば、かかるロボットは、先端を複数の抽出ウェルに同時に挿入できるように配置された複数のピペッターを有し得る。例えば、ロボットは、8 個、16 個又は他の何らかの個数のピペッターを備えてもよい。一部のかかる実施形態において、チャンネルは並列に配置され、ロボットは、流体を N 個の隣接する負荷ウェルに同時に導入し、又は N 個の隣接する抽出ウェルから同時に流体を取り出すように構成され得る。

【0049】

マルチチャンネルロボットを使用する一部の実施形態では、複数のチャンネルでの電気泳動は、複数のチャンネルの標的 DNA を同じ予定時間に抽出ウェルに到達させるように制御される。標的 DNA は複数のチャンネル間で異なってもよい。次にロボットは、予定時間にピペット先端を複数のチャンネルの抽出ウェルに入れ、且つ抽出ウェルから同時に流体を抽出すように制御され得る。かかる実施形態により、チャンネルのグループに異な

10

20

30

40

50

る予定到達時間を割り当てることが可能となる。各グループの個々のチャンネルにおける電気泳動は、グループにおける各チャンネルの標的DNAを当該のグループについてスケジュールされた時間に対応する拔出ウェルに到達させるように個別に制御され得る。異なるチャンネルグループの予定時間は、ロボットがスケジュールされた拔出しを行う時間を有するように離間され得る。かかる実施形態は、ハイスループット電気泳動を提供することができる。

【0050】

上記に記載される原理はまた、同じ試料から2つ以上の画分を拔出することが所望される状況において適用され得る。かかる適用では、電気泳動の実施により第1の標的画分が拔出ウェルに運ばれ、その第1の標的画分が拔出され得る。続いて、さらなる電気泳動の実施により第2の画分が拔出ウェルに運ばれ得る。次に第2の画分が拔出され得る。所望される場合、第1及び第2の標的画分は互いに隔離されたままにしておかれ得る。例えば、第1及び第2の標的画分の各々が、拔出ウェルから別個の終着(destination)ウェルに移されてもよい。また、所望される場合には、同じ試料からの複数の画分を同じ終着ウェルに移すことも可能である。

10

【0051】

一部の適用では、同じ試料から3つ以上の画分が拔出され得る。同じ試料から2つ以上の標的画分を拔出する場合、標的画分の各々の拔出しは個別にスケジュールされ得る。第1の予定時間に第1の標的画分がチャンネルから拔出された後、チャンネルの電気泳動パラメータが、第2の標的画分を第2の予定時間に拔出するため拔出ウェルに至らせるように制御され得る。

20

【0052】

一部の実施形態では、電気泳動は、複数のチャンネルにおいて、対応する複数の第1の標的画分を第1の時間に複数のチャンネルの拔出ウェルに至らせるように制御される。次に、第1の標的画分を対応する終着ウェルに移すため、マルチチャンネルピペッター又は他のマルチチャンネル拔出機構が適用され得る。次に複数のチャンネルにおける電気泳動が、チャンネルにおいて第2の標的画分を同じ時間に拔出ウェルに至らせるように制御され得る。第1の標的画分と第2の標的画分との間の間隔が異なるチャンネル間で同じである必要はない。電気泳動は、第2の標的画分を一部のチャンネルで他より速く拔出ウェルに向けて移動させるように制御されてもよい。一部の実施形態では、電気泳動は、第2の標的画分を複数のチャンネルで同じ時間に拔出ウェルに至らせるように制御され、従ってマルチチャンネルピペッターを使用して第2の標的画分を同時に拔出することができる。

30

【0053】

図2は、一つのチャンネル24の像を概略的に示す。チャンネル24は、各端部に緩衝液リザーバ25A、25Bを備える好適な電気泳動媒体のストリップ25を含む。負荷ウェル26Aが、媒体25の緩衝液リザーバ25Aの近傍に位置する。拔出ウェルが、媒体25において負荷ウェル26Aから緩衝液リザーバ25Bに向かって離間された位置に位置する。

【0054】

図2には、負荷ウェル26Aから電気泳動により媒体25に沿って運ばれた様々なDNAバンドも示される。電気泳動下では異なるサイズのDNAは異なる速度で動くため、異なる位置のバンドは異なるサイズのDNAを表す。この像では、異なるバンドは異なる密度を有し得る。バンドは全て、試料中に存在するDNAを表し得る。一部の実施形態では、標的DNAの位置の決定に用い得るサイズスケールを提供するため、既知のサイズのDNA又は一組の既知のサイズのDNA(例えばDNAラダー)が試料に添加され得る。

40

【0055】

一部の実施形態では、DNAラダーなどのサイズ分け基準が入力試料と同じチャンネル24で泳動される。これにより、サイズ分け基準と試料とが別個のチャンネルで泳動される実施形態と比較して、サイズ分けの精度が確保される。

【0056】

50

図 2 A は、チャンネル 2 4 に沿った位置の関数としての密度を示すプロットである。曲線 2 7 のピークは、図 2 に示されるバンドの位置に対応する。上記に記載される方法は、標的 DNA に対応する曲線 2 7 のピークを特定し、又は標的 DNA と既知の 1 つ又は複数のサイズ関係を有する DNA に対応する 1 つ又は複数の他のピークの位置から標的 DNA の現在の位置を推測し得る。

【 0 0 5 7 】

一部の実施形態はスケジューラを提供する。スケジューラは、例えばソフトウェアに実装され得る。スケジューラは、チャンネル 2 4 の供給ウェル 2 6 A への試料の移し替え、チャンネル 2 4 における電気泳動の開始及び抽出ウェル 2 6 B からの標的画分の抽出しをスケジュールし得る。一部の実施形態では、スケジューラはチャンネル 2 4 において試料が泳動されている間に動作し、標的画分（又は標的画分と既知の関係を有するバンド）の進行の監視に応答して再度標的画分の抽出しをスケジュールし直してもよい。スケジュールは、最初は、チャンネルにおける電気泳動の開始時刻から、標的画分が供給ウェル 2 6 A から対応する抽出ウェル 2 6 B まで進行し得ると考えられる最短期間より長い期間だけ離れたタイムスロットにおいて、標的画分の抽出しをスケジュールし得る。この最初のスケジューリングに用いられる時間は、一部の実施形態では、供給ウェル 2 6 A から抽出ウェル 2 6 B までの計測距離に基づき決定され得る。この時間は、利用可能な電気泳動パラメータ範囲のなかで達成可能な最高速度より遅い標的画分の想定平均速度に基づき生成されてもよい。想定平均速度は、標的画分のサイズ及び電気泳動が実施されている媒体の特性の関数であってもよい。

10

20

【 0 0 5 8 】

一部の実施形態では、スケジューラによって標的画分の抽出しのためにスケジュールされる期間の長さは様々であり、標的画分に含まれる核酸のサイズに依存する（より広いサイズ範囲を含む標的画分ほど、サイズの開きが小さい標的画分と比べて抽出しにより長い時間がかかる）。一部の実施形態では、標的画分の前縁及び後縁の抽出ウェルへの推定到達時間を基準として、標的画分の抽出しの開始時刻及び停止時刻が調整される。

【 0 0 5 9 】

一部の実施形態では、スケジューラは、異なるチャンネル 2 4 からの標的画分の抽出し時間の間のコンフリクトを監視する。一部のかかる実施形態において、コンフリクトがある（すなわち異なるチャンネル 2 4 からの標的画分の抽出しに割り当てられた期間が重なる）場合、スケジューラはチャンネル 2 4 の一つからの標的画分の抽出し予定時間を修正してコンフリクトを取り除き得る。予定抽出し時間の変更により、標的画分がスケジュールし直された予定時間に抽出ウェルに到達しようチャンネル 2 4 の標的画分の進行を制御するため、スケジュールし直されたチャンネル 2 4 における電気泳動のパラメータが自動的に変更され得る。

30

【 0 0 6 0 】

一部の実施形態では、チャンネル 2 4 の電気泳動パラメータは、標的画分の前縁が対応する抽出ウェル 2 6 B に到達して抽出しが始まると、電気泳動速度が増加し、それにより標的画分全体を抽出すために抽出しを継続しなければならない時間が短縮されるように制御される。

40

【 0 0 6 1 】

図 3 は、チャンネル 2 4 において所定のサイズの DNA に対応するピークを特定する方法 3 0 を示す。ブロック 3 2 は、既知の電気泳動パラメータを使用して、ある期間、チャンネルに電気泳動を加える。ブロック 3 3 は、ブロック 3 3 の終了時にチャンネルの画像を得る。ブロック 3 4 は、標的 DNA の既知の特性に基づき、チャンネルに沿った位置の範囲を特定する。例えば、チャンネルに沿った位置を DNA サイズと関係付ける所定の検量線 3 5 が提供されてもよい。一部の実施形態では、複数の異なる検量線 3 5 が提供される。異なる検量線は、チャンネル 2 4 において用いられ得る異なる媒体に適用され得る。

【 0 0 6 2 】

ブロック 3 4 は、標的 DNA が見出されるものと予想される位置又は位置の範囲を推定

50

する。推定された位置は、電気泳動が実施されている時間の長さ、チャンネル 24 の媒体、電気泳動パラメータ及び標的 DNA の特性（特にサイズ）の関数であってもよい。操作者が標的 DNA のサイズ又はサイズ範囲を入力し得る。ブロック 34 は適切な検量線 35 を使用して、曲線 27 における標的 DNA に対応する予想ピーク位置を特定し得る。ブロック 36 は範囲 37（図 2A を参照のこと）を設定し、曲線 27 において範囲 37 内にピークを探す。ピークの検出に成功した場合（例えばブロック 39 の YES の結果により決定されるとおり、そのピークが標的 DNA の初期位置として特定される。一つの画像で標的 DNA に対応するピークが特定された後、そのピークが後続の画像にわたり、チャンネルに沿ったその伝播に従い追跡され得る。電気泳動図プロファイルの顕著な特徴を実行時に特定してもよく、それを用いると、より速く動くサイズ基準が視野外に出るときのサイズ完全性の維持に役立ち得る。

【0063】

方法 30 は、DNA ラダー及び / 又は試料中の DNA に対応する 1 つ又は複数のピークを特定するために適用され得る。一部の実施形態では、標的 DNA と異なる 1 つ又は複数のピークが上記に記載したとおり特定及び追跡される。標的 DNA の現在の位置は、かかるピークに対して特定されてもよい。例えば、使用者が、標的 DNA が 1 つ又は複数のかかるピークに先行する又は遅れると予想される量を指定してもよい。

【0064】

図 4 は、例示的实施形態に係る装置 40 を示す。装置 40 は、ロボット 42 により作業域 43 における目標の位置上に位置決めされ得るピペッター 44 を含むロボット 42 を含む。例えば、ロボット 42 は、シングルチャンネルピペットポンプを支持する XYZ ステージを含んでもよく、これはまた緩衝液負荷ライン及び先端吐出機構も支持する。供給プレート 45 が複数の供給ウェル 45A を含む。終着プレート 46 が複数の終着ウェル 46A を含む。作業域 43 内に複数のチャンネル 47 が提供される。

【0065】

ロボット 42 は、ピペッター 44 の位置を制御することができる制御器 42A を含む。制御器 42A は、例えば、以下によってチャンネルを負荷するようにロボット 42 を制御し得る：ステーション 48A でピペット先端 48 を拾い、選択された供給ウェル 45A の上にピペット先端を位置決めし、ピペット先端を降下させて供給ウェル 45A に入れ、ピペット先端 45A に流体を吸い込み、ピペット先端を上昇させて、その位置を選択されたチャンネル 47 の負荷ウェルの上に移し、ピペット先端を降下させて負荷ウェルに入れ、流体を供給ウェルに分注するようピペッターを操作し、ピペット先端を上昇させて、ピペット先端を使用済みピペット先端用の保管エリアに動かし、使用済みピペット先端を切り離す。

【0066】

制御器 42A は、例えば、以下によってチャンネルから標的 DNA を回収するようにロボット 42 を制御し得る：ステーション 48A でピペット先端 48 を拾い、選択されたチャンネルの拔出ウェルの上にピペット先端を位置決めし、標的 DNA の推定される到達の直前にピペット先端を降下させてチャンネルの拔出ウェルに入れ、標的 DNA の予想される到達に対応する時間にわたりピペット先端 45A に流体を吸い込み、ピペット先端を上昇させて、その位置を再度終着ウェル 46A の上に移し、ピペット先端を降下させて終着ウェルに入れ、流体を終着ウェルに分注するようピペッターを操作し、ピペット先端を上昇させて、ピペット先端を使用済みピペット先端用の保管エリアに動かし、使用済みピペット先端を切り離す。

【0067】

本明細書に記載されるとおりの装置は、任意の合理的な数の試料を処理するように構成され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載されるとおりの装置は、同時に 96 個の試料の自動サイズ選択を提供する。他の例示的实施形態では、装置は、同時に 96 個の試料の倍数を処理する。他の例示的实施形態は、他の数の試料を処理するように構成される。

。

【 0 0 6 8 】

ロボット 4 2 として使用するのに好適なロボットは、市販されている。ロボット 4 2 として使用するのに好適なロボットはまた、市販の構成部品から当業者に公知の方法で作製されてもよい。

【 0 0 6 9 】

装置 4 0 は撮像デバイス 5 0 を含み、それには、例えば、チャンネル 4 7 の画像を得るように配置されたカメラが含まれ得る。撮像デバイス 5 0 には、高ダイナミックレンジ撮像デバイスが含まれ得る。例えば、カメラ 5 0 又はカメラ 5 0 から画像を受け取るように接続された制御器が、検出可能なダイナミックレンジを広げるため異なる露光時間で撮られた画像を得て合成するように構成され得る。これにより、最も明るいバンドを飽和させることなしに不鮮明なバンドを見えるようにすることができる。

10

【 0 0 7 0 】

光源 5 2 は、チャンネル 4 7 を照射して、チャンネルに沿って伝播する核酸の撮像を促進する。DNA が色素と会合される場合、光源は、色素の吸収帯に対応する光を発生し得る（例えば色素のフルオロフォアを励起する波長に対応するバンド。光源 5 2 は、この範囲の外側の波長を遮断するフィルタを含み得る。例えば、SYBR Green（商標）色素は 488 nm の光を吸収する。光源は青色光を発生してもよい。例えば、光源は、青色 LED のアレイを含み得る。それに代えて又は加えて、光源は紫外光を発生してもよい。カメラ 5 0 は、色素の蛍光を選択的に通すフィルタを含んでもよい。例えば、SYBR Green（商標）色素は 520 nm の光を発生する。カメラは、520 nm の光を通過させるが、他の波長の光は減衰させる帯域通過フィルタ又はノッチフィルタを有してもよい。

20

【 0 0 7 1 】

例えば、カメラは、カメラがチャンネル 4 7 から一定の距離にあるようにしてロボット 4 2 の構成部品に固定されてもよい。プロトタイプの実施形態では、カメラ 5 0 及び LED 照明器 5 2 はロボット 4 2 の Y 軸アームに固定される。

【 0 0 7 2 】

マルチチャンネル電気泳動電源 5 4 が、チャンネル 4 7 にわたり電気泳動電位を提供するように構成される。電源 5 4 は、単一のユニット又は複数の別個のユニットを含み得る。制御器 5 5 が、カメラ 5 0 から画像を受け取り、電源 5 4 を制御してロボット 4 2 の動作を連動させるように接続される。使用者インタフェース 5 6 により、使用者は制御入力及び情報を提供して装置 4 0 の操作を案内することが可能である。

30

【 0 0 7 3 】

例示的なシステムの動作において、供給プレート 4 5 及び終着プレート 4 6 は、ピペット先端を収容する 2 つの先端ボックスと共に装填される。チャンネル 4 7 を含むプレートがデッキに設置され、電極アレイが、それらの電極がチャンネル 4 7 とチャンネルプレートの端部で電氣的に接触するようにして置かれる。一部の実施形態では、電極は、各チャンネルの各端部の緩衝液ウェルに電極を導入することが可能な構造に取り付けられる。例えば、この装置は、各チャンネルに対応する第 1 及び第 2 の電極を有するヒンジ式フレームを含み得る。第 1 及び第 2 の電極はヒンジ式フレームに取り付けられてもよく、ヒンジ式フレームは、第 1 及び第 2 の電極がチャンネルの第 1 及び第 2 の緩衝液リザーバに突入する第 1 の位置と、第 1 及び第 2 の電極が第 1 及び第 2 の緩衝液リザーバから取り出される第 2 の位置との間を移動可能であり得る。

40

【 0 0 7 4 】

制御ソフトウェアは、試料の位置（96 ウェルプレート全体又はそれ未満又はそれを越える）、試料のタイプ及び 1 つ又は複数のチャンネルプレートの位置を用いて構成される。

【 0 0 7 5 】

実行が始まると、チャンネルプレートの緩衝液ウェルが充填される。試料が順次（例えばロボットによりチャンネル 4 7 の負荷ウェル中に）負荷され、電気泳動が始まる。一実施形態では、オンボードカメラ 5 0 を使用して各チャンネル 4 7 における抽出ウェルの位

50

置が特定されることにより、拔出ウェルの位置を手動で設定する必要が回避される。これにより、拔出ウェルをそれらのチャンネル４７内で異なる位置に提供する可能性が促進される。

【 0 0 7 6 】

一部の実施形態は、ピペット先端のＹ位置を計測及び／又は設定するための機構を含む。ピペット先端の正確な位置を知ること、小さいウェルにおける核酸試料の精密な負荷及び回収が促進される。異なるピペット先端の端部は、ピペッターに取り付けられたときにロボットに対していくらか異なる位置にあり得るため、かかる機構は有用である。例示的实施形態では、機構はスイッチ（例えば、マイクロスイッチ、近接スイッチなどであってもよい）を含み、これはピペット先端がスイッチに対して所定の位置にあるときの状態を変化させる。スイッチは、ロボットの作業域における好都合な位置にあってよい。

10

【 0 0 7 7 】

一部の実施形態では、スイッチは、未使用のピペット先端の供給部近傍に位置し、ロボットを動かしてピペット先端をスイッチと当接させることにより各新しいピペット先端のＹ位置が設定されるようにされる。かかる実施形態において、ピペット先端はスイッチの近傍に位置決めされ、次にスイッチに向かってＹ方向に、スイッチが状態を変化させるまで動かされてもよい。この機構を使用して、先端が装填された後に各ピペット先端の端部の位置を個々に計測してもよい。計測された位置を使用して、異なるピペット先端における僅かな整列のずれを補償し得る。示されるシステム４０は、ピペット先端がＹ方向（チャンネル４７と平行な方向）にスイッチに押し付けられたときに切り換わるように配置されるスイッチ４９を含む。

20

【 0 0 7 8 】

図５は、例示的なロボットを示す。図５は、制御器及び電源を収容する下側デッキと、チャンネルプレート及び電極を収容する上側デッキとを示す。その上方には、ポンプを備えたピペット操作ヘッド、緩衝液送液システム並びにチャンネルの撮像用カメラ及びライトがある。

【 0 0 7 9 】

図５Ａは、例示的なデッキを示す。図５Ａは、デッキを所定位置に保つデッキロケータプレートを示す。先端ボックス、供給場所、終着プレート及びチャンネルプレートが全て、デッキに取り付けられる。少なくとも供給場所、終着プレート及びチャンネルプレートは、デッキから取り外し可能である。プレートをロケータピンに対して保持するスプリングピンが提供され、それによりプレートがデッキに据え付けられたときに、供給ウェル、終着ウェル及びチャンネルが既知の位置となる。

30

【 0 0 8 0 】

図５Ｂは、カメラ５０とＬＥＤアレイ５２とを含む例示的なカメラシステムを示す。ＬＥＤアレイ５２は、一部の実施形態では青色フィルタによって被覆されたＬＥＤの青色ＬＥＤなどの青色発光源を含む。

【 0 0 8 1 】

例示的实施形態において、制御器５５は、ソフトウェアにおいて提供される命令を実行するように構成されるプロセッサを含む。ソフトウェアは、使用者により入力されるデータに基づき実行プロトコル（どの試料をどのチャンネルで、どの順序で実行するか、及びそれぞれの拔出しが最後に行きつくのはどの終着ウェルか）を作成する。これは使用者にグラフィカルに伝えられる。

40

【 0 0 8 2 】

図６は、例示的なグラフィック表示のスクリーンショットである。図６は、実行途中のディスプレイを示す。試料が左下から始まって順次負荷されており、最初の２つと半分のプレートの実行が完了している。右側へと残りの試料が実行されていて、各チャンネルの状態が直近の画像に基づきグラフィカルに示される。最上面のプロットは、使用者により選択されたチャンネルの電気泳動図であり、サイズ基準ピーク５９Ａ及び標的領域５９Ｂを示す。

50

【 0 0 8 3 】

上記に記載したとおりのロボットと共に用いられ得るが、しかし他の適用も有し得る本発明の別の態様は、核酸の分離に使用されるチャンネルプレートを提供する。一部の実施形態では、プレートに1つ又は複数のチャンネルが提供される。プレートは、例えば、上記に記載したとおりロボットの作業域内に取り外し可能に置かれ得る。スラブ（例えばスラブゲル）とは対照的に、チャンネルにDNA分離媒体を提供することには、ある試料から他の試料への交差汚染の可能性が低下するという利点がある。

【 0 0 8 4 】

図7は、例示的なチャンネルプレート80の平面図である。プレート80は、ロボット又は他の装置の作業域にプレート80を反復可能に位置決めすることを可能にする位置決めピン又は他の位置決め特徴を受け入れるための穴（図7Aを参照のこと）又はノッチ（図7Cを参照のこと）などの位置特徴81を含む。プレート80に沿って複数のチャンネル24が延在する。各チャンネル24は、好適な電気泳動媒体のストリップ25を含む。ストリップ25の各端部に緩衝液リザーバ25A、25Bが提供される。ストリップ25において緩衝液リザーバ25Aの近傍に負荷ウェル26Aが位置する。ストリップ25において負荷ウェル26Aから緩衝液リザーバ25Bに向かって離間された位置に拔出ウェル26Bが位置する。一部の適用では、異なるチャンネルの拔出ウェル26Bは互いに整列するが、しかしながらこれは必須ではない。一部の適用では、異なるチャンネル24のストリップ25に沿って異なる位置にある拔出ウェル26Bを提供することが、好都合であり得る。

【 0 0 8 5 】

図7Aは、個々のチャンネル24の断面である。チャンネル24は、任意選択でストリップ25の両側面に小さいステップ状縁部を有する。例示される実施形態では、ステップ83が図示される。ステップ83は、角84を提供する。角84はストリップ25に沿って互いに平行に長さ方向に延在する。例示される実施形態では、角84は、プレート80の平坦な上面84A及び下面84Bに平行である。媒体86（例えばアガロースゲル、アクリルアミドゲルなど）が角84の高さまでストリップ25を充填する。ステップ83は、ストリップ85における材料86の上面をストリップ25の長さに沿って平坦にするのに役立つ。材料86がストリップ25に導入されるときに角84が存在することは、材料86の表面張力が材料86の表面にメニスカスを形成する傾向を低減するのに役立つ。材料86をその場所に機械的に固定するため、ストリップ25の端部近傍のストリップ25の壁に、小さいディボット又はディンプル89（図7Cを参照のこと）などの任意選択の特徴が形成されてもよい。

【 0 0 8 6 】

チャンネル24の寸法は様々であってよい。例示の実施形態において、ストリップ25は、約6～12mm、好ましくは8～10mmの範囲の深さを有する。例示の実施形態において、ストリップ25は、3mm～11mm、好ましくは4mm～7mmの幅を有する。しかしながら、本明細書に記載される原理は、他の寸法のチャンネルに適用されてもよい。

【 0 0 8 7 】

プレート80は、好適なプラスチック又は他の電気絶縁材料で作製され得る。一部の実施形態では、プレート80は射出成形され、しかしながらプレート80はまた、機械加工又は任意の他の好適な方法で製造されてもよい。

【 0 0 8 8 】

プレート80は、緩衝液リザーバ25A及び25Bを一時的にせき止めるか、又は充填し、且つ好適な量の固化可能な材料86をストリップ25に注入することにより調製され得る。好ましくは、材料86がキャストされる間、各緩衝液リザーバの全容積が充填され、材料86が緩衝液リザーバに流れ込むことができないようにされる。例えば、ストリップ25にアガロースゲルを、ゲルが液状形態にある間に注入し、次にストリップ25において固化させてもよい。各ストリップに導入される材料86の量は、材料の表面がちょう

ど角 8 4 の高さとなる程度あってよい。

【 0 0 8 9 】

負荷ウェル及び拔出ウェルは、材料がストリップ 2 5 にキャストされている間に材料 8 6 に形成されてもよい。他の実施形態において、負荷ウェル及び / 又は拔出ウェルは、材料 8 6 が固化した後に形成されてもよい。一部の実施形態では、負荷ウェル及び / 又は拔出ウェルは、負荷コーム及び / 又は拔出コームをストリップ 2 5 に沿った適切な位置に置くことにより形成される。図 7 B は例示的なコーム 8 7 を示す。各コーム 8 7 は一列のピン 8 7 A を含む。コーム 8 7 は、プレート 8 0 上にストリップ 2 5 に対して横断方向に、コーム 8 7 が交差するチャンネル 2 4 のストリップ 2 5 にピン 8 7 A が突入して配置されるように置かれ得る。

10

【 0 0 9 0 】

プレート 8 0 は、コーム 8 7 を負荷ウェル及び / 又は拔出ウェルの形成に望ましい整列状態に置くための位置決め特徴 8 8 を含み得る。位置決め特徴 8 8 の複数のセットを提供することにより、ストリップ 2 5 に沿った異なる位置における拔出ウェルの形成を促進してもよい。上述のとおり、実施される分離に適合した位置に拔出ウェルを提供することが望ましいこともある。負荷ウェル 2 6 A と拔出ウェル 2 6 B との間の分離チャンネルの最良の長さは、DNA 又は他の標的核酸の長さ及び目標とする分離程度に依存する。

【 0 0 9 1 】

拔出ウェルの形成用コーム 8 7 は、負荷ウェルの形成に用いられるピン 8 7 A よりいくらか幅の広いピン 8 7 A を有し得る。ストリップ 2 5 の全幅に延在しない負荷ウェル 2 6 A を提供することは、負荷ウェルの側面での試料の損失を回避するのに役立つ。拔出ウェル 2 6 B は、ストリップ 2 5 の全幅又はストリップ 2 5 のほぼ全幅に延在してもよい。

20

【 0 0 9 2 】

様々な実施形態が、負荷ウェルが拔出ウェルより幅広であるチャンネルを提供する。詳細な一例示的实施形態において、負荷ウェルは $1.2 \times 3.5 \times 9$ mm の寸法を有し、拔出ウェルは $1.2 \times 5.5 \times 9$ mm の寸法を有する (すなわち、負荷ウェルより 2 mm 幅広である)。 $1.2 \times 3.5 \times 9$ mm の寸法を有する負荷ウェルにより、最大 37.8μ l の容積の試料を負荷することが可能になる。 $1.2 \times 5.5 \times 9$ mm の寸法を有する拔出ウェルにより、最大 59.4μ l の容積を引き込むことが可能になる。

【 0 0 9 3 】

コーム 8 7 は、ウェルを形成するピン 8 7 A がそれらの取り付けフレームにおいて僅かに (例えば約 0.25 mm) 「浮く」ことができるように設計され得る。これにより、材料 8 6 が固化した後のコーム 8 7 の取り外しが促進される。

30

【 0 0 9 4 】

1 つ又は複数のチャンネル 2 4 を含むプレート 8 0 が、無菌包装に提供される予め調製されたカセットの形態で提供されてもよい。包装は、例えば、チャンネル 2 4 を露出させるため剥離され得る無菌カバーを含み得る。一部の実施形態では、カセットは、コームが負荷ウェル及び / 又は拔出ウェルに挿入されて提供され得る。使用者は使用前にコームを取り除き得る。

【 0 0 9 5 】

図 7 C は、別の実施形態に係る例示的なチャンネルプレートの平面図である。

40

【 0 0 9 6 】

図 7 D は、チャンネル 2 4 への電気泳動媒体のキャストに備えてコーム 8 7 - 1 及び 8 7 - 2 が挿入されたチャンネルプレートの斜視図である。コーム 8 7 - 1 は、一部の実施形態ではコーム 8 7 - 2 より細かいピンを有し得る。

【 0 0 9 7 】

カメラは、複数のチャンネルを撮像し、同時にチャンネルの各々において 1 つ又は複数の基準画分の進行を追跡するのに好都合な手段を提供するが、カメラの代わりに他の手段が用いられてもよい。例えば、チャンネルに沿った位置の関数として核酸の濃度を計測するため、一次元ラインスキャナが提供され得る。さらに、カメラが上方からチャンネルを

50

観察することは必須ではない。一部の実施形態では、チャンネルを有するトレーが、少なくともそれらのチャンネルの下にある部分において透明であり、カメラは下側からプレートを介してチャンネルを観察する。

【0098】

用語の解釈

文脈上明らかに別段の解釈を要する場合を除き、本記載及び特許請求の範囲の全体を通して：

- ・「～を含む」、「～を含んでいる」などは、排他的意味又は網羅の意味とは対照的に、包含の意味で；すなわち、「～が包含されるが、限定はされない」という意味で解釈されるべきである。

- ・「接続される」、「結合される」、又はその任意の変化形は、直接的であれ、又は間接的であれ、2つ以上の要素の間の任意の接続又は結合を意味する；要素間の結合又は接続は、物理的なもの、論理的なもの、又はそれらの組み合わせであってよい。

- ・「本明細書では」、「上記の」、「以下の」、及び同様の意味の語句は、本明細書を記載するために用いられるとき、全体としての本明細書を指すものとし、本明細書のいかなる特定の一部分も指すものではない。

- ・2つ以上の項目のリストに関連して「又は」は、その語句の以下の解釈を全て網羅する：リスト中の項目のいずれか、リスト中の項目の全て、及びリスト中の項目の任意の組み合わせ。

- ・単数形「a」、「an」及び「the」は、任意の適切な複数形の意味も包含する。

【0099】

本記載において、及び任意の添付の特許請求の範囲において（存在する場合）用いられる方向を指示する語句、例えば「垂直」、「横」、「水平」、「上向き」、「下向き」、「前」、「後ろ」、「内向き」、「外向き」、「垂直」、「横」、「左」、「右」、「表」、「裏」、「上部」、「下部」、「下側」、「上側」、「下方」などは、記載及び図示される装置の具体的な向きに依存する。本明細書に記載される主題は、様々な代替的な向きを想定し得る。従って、これらの方向に関する用語は厳密に定義されるものでなく、狭義に解釈されてはならない。

【0100】

本発明の実施形態は、特別に設計されたハードウェア、構成可能なハードウェア、データプロセッサ上で実行可能なソフトウェア（これは任意選択で「ファームウェア」を含み得る）の提供により構成されるプログラム可能なデータプロセッサ、本明細書に詳細に説明されるとおりの方法における1つ又は複数のステップを実施するように特別にプログラムされ、構成され、又は構築された専用コンピュータ又はデータプロセッサ、及び/又はこれらの2つ以上の組み合わせを使用して実装され得る。特別に設計されたハードウェアの例は、論理回路、特定用途向け集積回路（「ASIC」）、大規模集積回路（「LSI」）、超大規模集積回路（「VLSI」）などである。構成可能なハードウェアの例は、1つ又は複数のプログラマブル論理デバイス、例えば、プログラマブルアレイ論理（「PAL」）、プログラマブル論理アレイ（「PLA」）及びフィールドプログラマブルゲートアレイ（「FPGA」）である。プログラム可能なデータプロセッサの例は、マイクロプロセッサ、デジタルシグナルプロセッサ（「DSP」）、組み込みプロセッサ、グラフィックプロセッサ、数値演算コプロセッサ、汎用コンピュータ、サーバコンピュータ、クラウドコンピュータ、メインフレームコンピュータ、コンピュータワークステーションなどである。例えば、デバイス用の制御回路における1つ又は複数のデータプロセッサが、プロセッサがアクセス可能なプログラムメモリにおけるソフトウェア命令を実行することにより、本明細書に記載されるとおりの方法を実装し得る。

【0101】

処理は集中型であっても、又は分散型であってもよい。処理が分散型である場合、ソフトウェア及び/又はデータを含む情報は集中保管されても、又は分散させてもよい。かかる情報は、ローカルエリアネットワーク（LAN）、広域ネットワーク（WAN）、又は

10

20

30

40

50

インターネット、有線又は無線データリンク、電磁信号、又は他のデータ通信路などの通信網を経由して異なる機能ユニット間で交換され得る。

【0102】

例えば、プロセス又はブロックが所与の順序で提示される場合、代替的な例は、異なる順序でステップを有するルーチンを実施し、又は異なる順序でブロックを有するシステムを用いてもよく、一部のプロセス又はブロックを削除し、移動させ、追加し、分割し、組み合わせ、及び/又は修正することにより、代替例又は部分的な組み合わせを提供してもよい。これらのプロセス又はブロックの各々は、様々な異なる方法で実装され得る。また、プロセス又はブロックはときに順次実施されるものとして示されるが、これらのプロセス又はブロックは、代わりに並行して実施されてもよく、又は異なる時点で実施されてもよい。加えて、要素はときに連続的に実施されるものとして示されるが、代わりに要素は、同時に又は異なる順番で実施されてもよい。

10

【0103】

ソフトウェア及び他のモジュールは、サーバ、ワークステーション、パーソナルコンピュータ、組み込みプロセッサ、プロセス制御器、タブレットコンピュータ、及び本明細書に記載される目的に好適な他のデバイスにあってもよい。

【0104】

本発明はまた、プログラム製品の形態で提供され得る。プログラム製品は、データプロセッサにより実行されるとデータプロセッサに本発明の方法を実行させる一組のコンピュータ可読命令を有する任意のトランジトリでない(non-transitory)媒体を含み得る。例えば、コンピュータ可読命令は、本明細書に記載されるとおりのロボット核酸サイズ分けシステムを制御し、及び/又は本明細書に記載されるとおりの核酸サイズ分けシステムにおける操作をスケジュールするようコンピュータをプログラムし得る。本発明に係るプログラム製品は、多種多様な形態のいずれであってもよい。プログラム製品は、例えば、磁気データ記憶媒体、例えばフロッピーディスク、ハードディスクドライブ、光学データ記憶媒体、例えばCD ROM、DVD、電子データ記憶媒体、例えばROM、フラッシュRAM、EPROM、配線チップ又は事前にプログラムされたチップ(例えば、EEPROM半導体チップ)、ナノテクノロジーメモリなどのトランジトリでない媒体を含み得る。プログラム製品上のコンピュータ可読信号は、任意選択で圧縮又は暗号化され得る。

20

30

【0105】

一部の実施形態では、本発明はソフトウェアに実装されてもよい。さらに明確にするため、「ソフトウェア」には、プロセッサ上で実行される任意の命令が含まれ、(限定はされないが)ファームウェア、常駐ソフトウェア、マイクロコードなどを挙げることができる。処理ハードウェア及びソフトウェアのいずれも、当業者に公知のとおり、全体として、又は部分的に、集中型又は分散型(又はそれらの組み合わせ)であってよい。例えば、ソフトウェア及び他のモジュールは、ローカルメモリを経由して、ネットワークを経由して、分散コンピューティングコンテキストにおけるブラウザ又は他のアプリケーションを経由して、又は上記に記載される目的に好適な他の手段を経由してアクセス可能であってよい。

40

【0106】

上記で構成要素(例えばソフトウェアモジュール、プロセッサ、アセンブリ、デバイス、回路等)が参照される場合、特に指示されない限り、当該の構成要素に対する言及は(「~を意味する」との言及を含め)、本発明の示される例示的实施形態の機能を実施する本開示の構造と構造的には等価でない構成要素を含め、当該の構成要素の均等物として、記載される構成要素の機能を実施する(すなわち、機能的に等価な)任意の構成要素を含むものとして解釈されなければならない。

【0107】

システム、方法及び装置の具体例は、説明を目的として本明細書に記載されている。これらは例に過ぎない。本明細書に提供される技術は、上記に記載される例示的なシステム

50

以外のシステムに適用することができる。本発明の実施の範囲内で多くの代替、変更、追加、省略及び並べ替えが可能である。本発明は、以下により得られる変形例を含め、当業者には明らかであろう記載される実施形態に関する変形例を包含する：特徴、要素及び／又は動作を等価な特徴、要素及び／又は動作に置き換える；異なる実施形態の特徴、要素及び／又は動作を混ぜて適合させる；本明細書に記載されるとおりの実施形態の特徴、要素及び／又は動作を、他の技術の特徴、要素及び／又は動作と組み合わせる；及び／又は記載される実施形態の特徴、要素及び／又は動作を組み合わせることを省略する。

【0108】

従って、以下の添付の特許請求の範囲及び今後組み込まれるクレームは、合理的に推論され得るとおりのかかる変更形態、並べ替え形態、追加形態、省略形態及び部分的組み合わせ形態を全て包含するものと解釈されることが意図される。特許請求の範囲の範囲が、これらの例に示される好ましい実施形態により限定されてはならず、全体として本記載と一致する最も広義の解釈が与えられなければならない。

【0109】

数多くの例示的な態様及び実施形態が上記で考察されているが、当業者は、その特定の変更形態、並べ替え形態、追加形態及び部分的組み合わせ形態を認識するであろう。従って、以下の添付の特許請求の範囲及び今後組み込まれるクレームは、かかる変更形態、並べ替え形態、追加形態及び部分的組み合わせ形態を全て包含するものと解釈されることが意図される。

10

【図1】

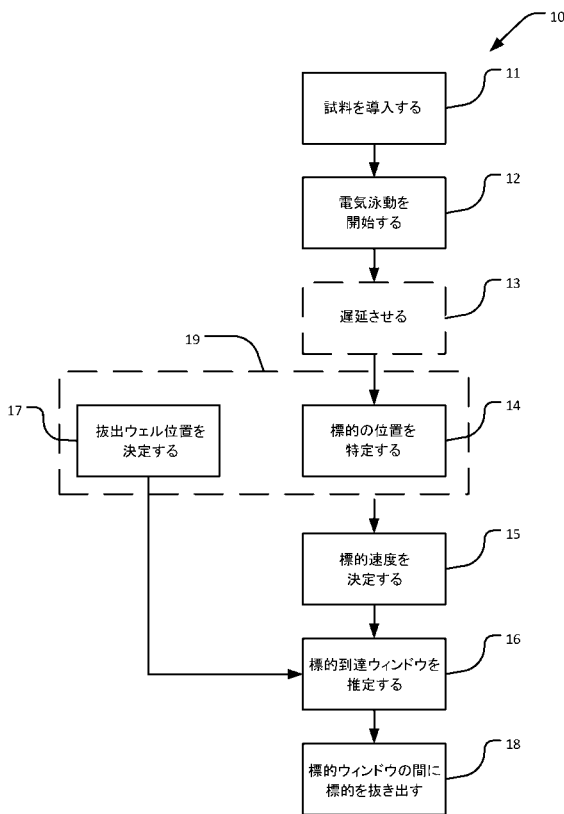


図1

【図1A】

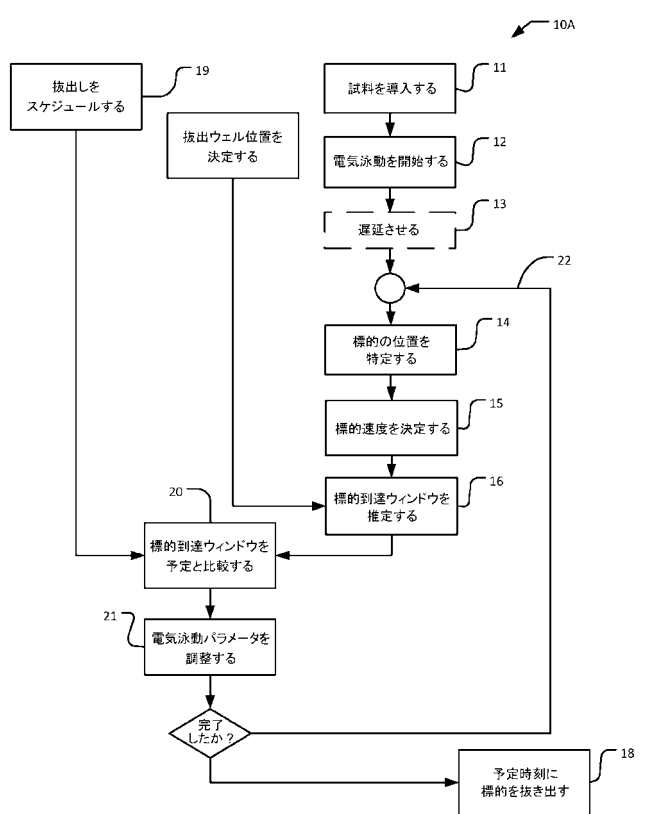


図1A

【図 2 - 2 A】

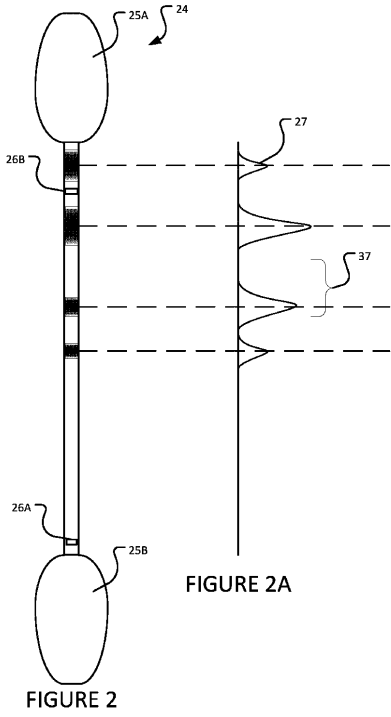


FIGURE 2A

FIGURE 2

【図 3】

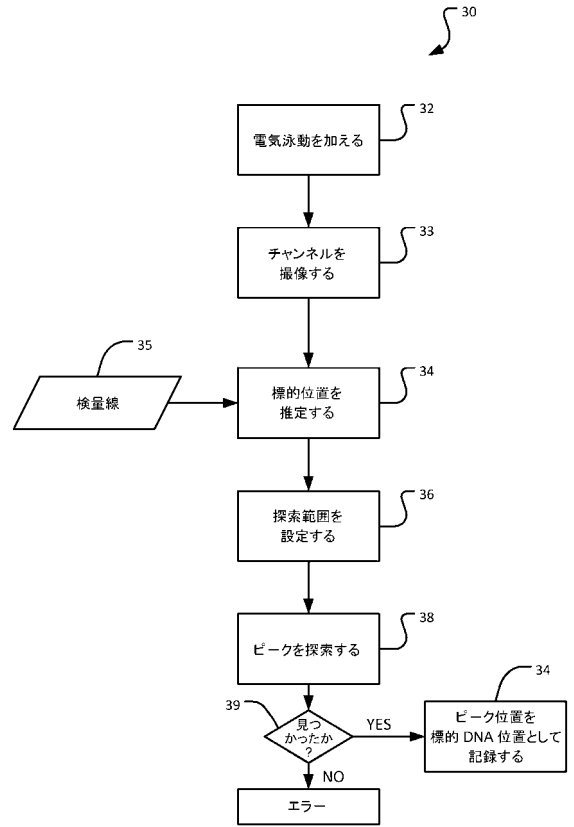


図 3

【図 4】

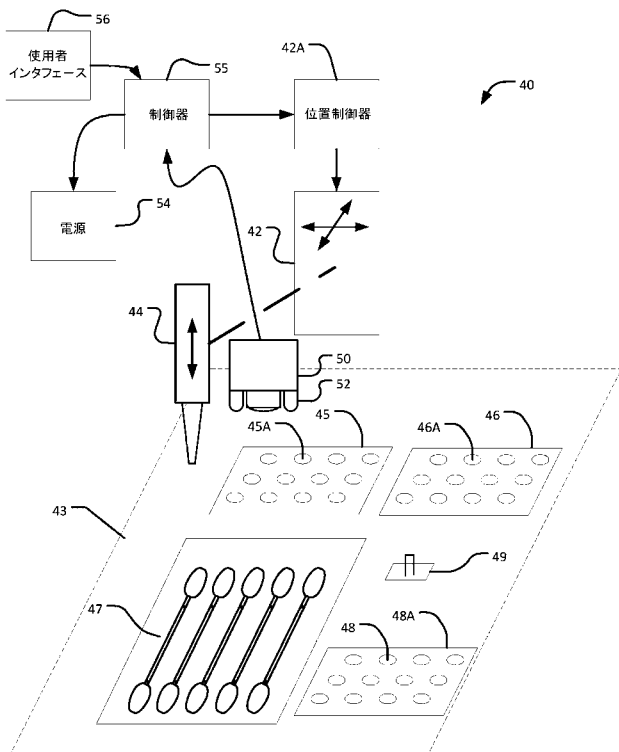


図 4

【図 5】

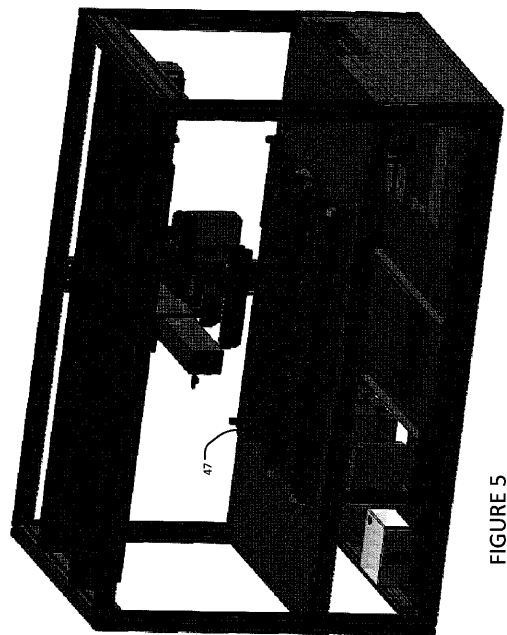


FIGURE 5

【 図 5 A 】

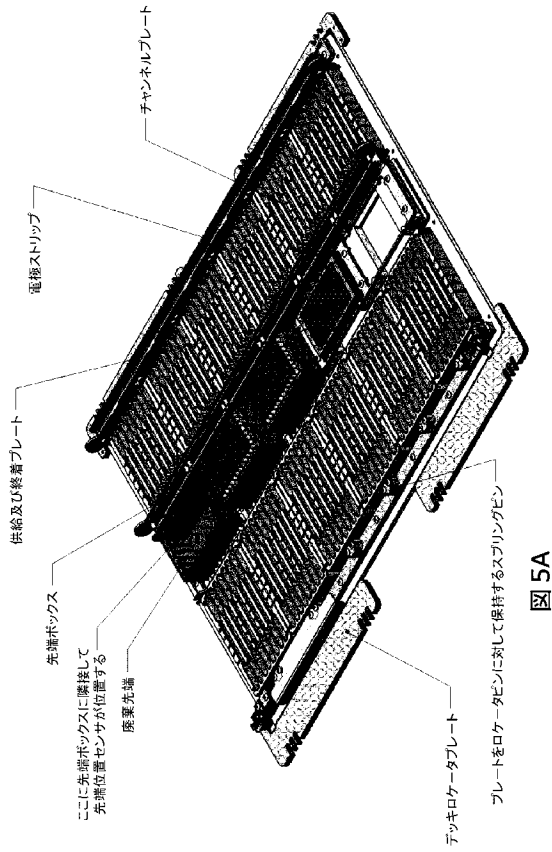


図 5A

【 図 5 B 】

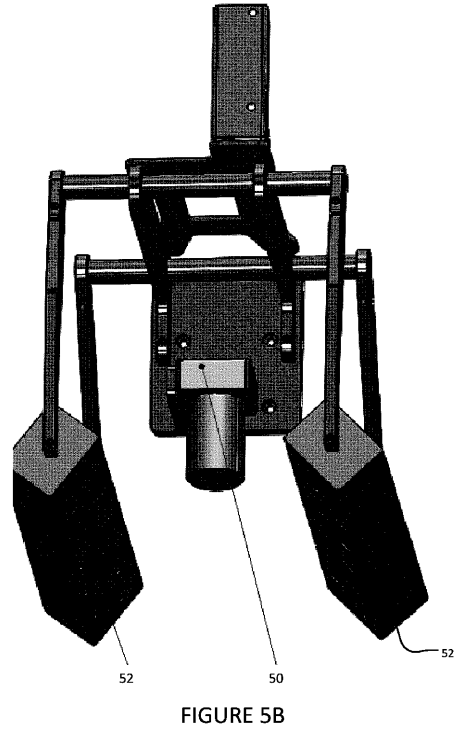


FIGURE 5B

【 図 6 】

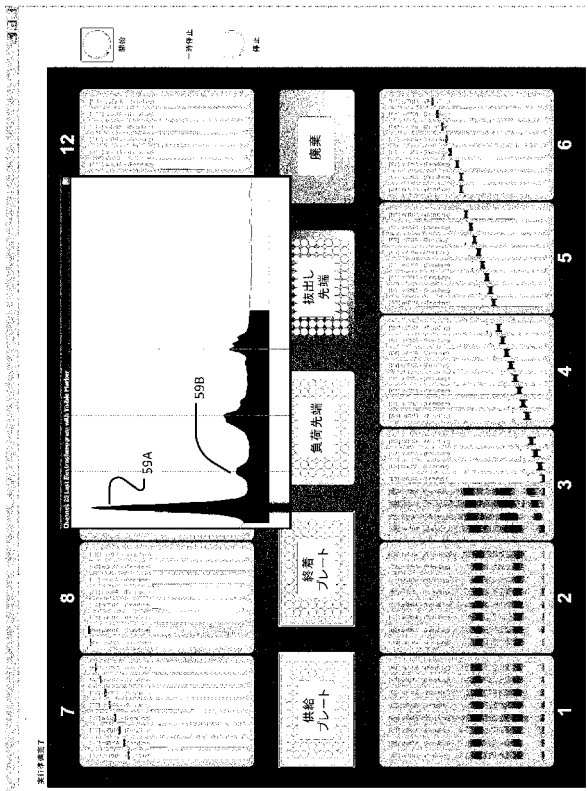


図 6

【 図 7 】

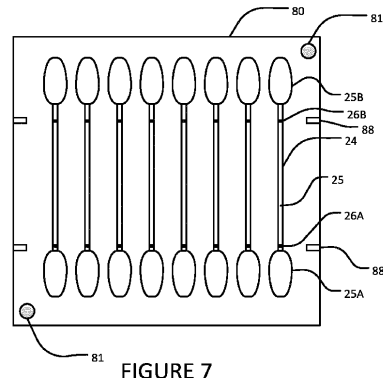


FIGURE 7

【 図 7 A 】

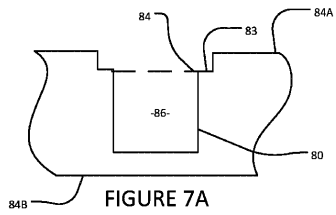


FIGURE 7A

【 図 7 B 】

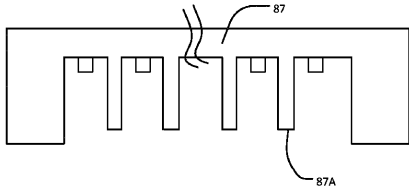


FIGURE 7B

【 図 7 C 】

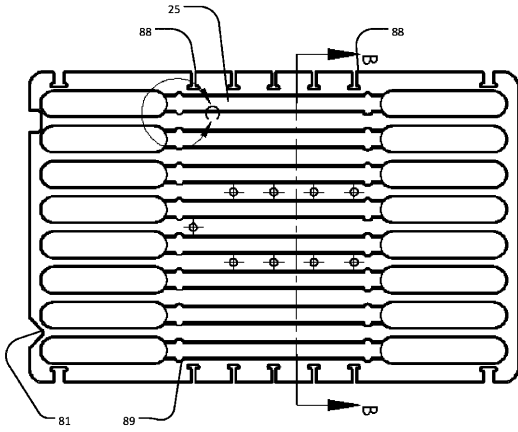


FIGURE 7C

【 図 7 D 】

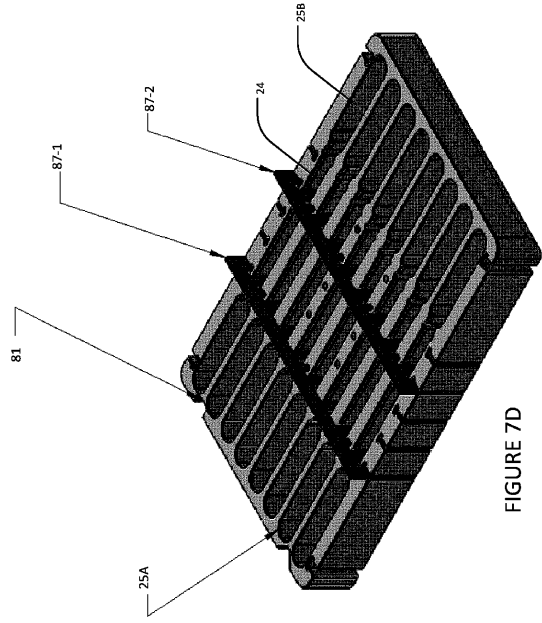


FIGURE 7D

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2012/050404

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: <i>C12Q 1/68</i> (2006.01), <i>C12M 1/34</i> (2006.01), <i>C12M 1/42</i> (2006.01), <i>C12N 15/10</i> (2006.01), <i>G01N 27/447</i> (2006.01) 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) <i>C12Q 1/68</i> (2006.01), <i>C12M 1/34</i> (2006.01), <i>C12M 1/42</i> (2006.01), <i>C12N 15/10</i> (2006.01), <i>G01N 27/447</i> (2006.01) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) Canadian Patent database, TotalPatent, Scopus, NCBI PubMed database, Esp@cenet, Google Patents. Key words: Nucleic acid, size selection, electrophoresis, automatation, imaging, robot, chromatography, gel, controller, high throughput, and combinations thereof.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 2012/024658 A2 (JOVANOVICH, S. et al.) 23 February 2012 (23-02-2012) (Whole document)	1-91
P, X	Pippin Prep: DNA size selection system, operation manual (V 4.7). Sage Science, 25 May 2012 (25-05-2012). Pages 4.1-4.3, 6.1-6.5 and 10.1-10.2.	1-91
X	WO 99/22228 A1 (KARGER, B. et al.) 6 May 1999 (6-05-1999). (Whole document)	1-91
A	COX, J. et al. Automated selection of anti-protein aptamers. Bioorganic and Medicinal Chemistry, 1 October 2001 (01-10-2001); Volume 9(10), pages 2525-2531. ISSN: 0968-0896. (Whole document)	1-91
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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 21 August 2012 (21-08-2012)	Date of mailing of the international search report 27 August 2012 (27-08-2012)	
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001-819-953-2476	Authorized officer Adnan Ali (819) 934-7930	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CA2012/050404

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
WO 2012/024658 A2	20 August 2011 (20-08-2011)	None	
WO 9922228 A1	06 May 1999 (06-05-1999)	CA2306791A1 CA2306791C EP1025434A1 EP1025434A4 JP2001521169A US6660149B1 US2004040851A1 US7323092B2 US2004040850A1 US7578915B2	06 May 1999 (06-05-1999) 15 May 2007 (15-05-2007) 09 August 2000 (09-08-2000) 18 October 2006 (18-10-2006) 06 November 2001 (06-11-2001) 09 December 2003 (09-12-2003) 04 March 2004 (04-03-2004) 29 January 2008 (29-01-2008) 04 March 2004 (04-03-2004) 25 August 2009 (25-08-2009)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA

(72)発明者 スロボダン, ジャレット レイモンド
カナダ ブリティッシュコロンビア州 ヴィ6ワイ 1エイチ1, リッチモンド, サニーディーン
ロード 7780