

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5236609号  
(P5236609)

(45) 発行日 平成25年7月17日(2013.7.17)

(24) 登録日 平成25年4月5日(2013.4.5)

(51) Int.Cl. F1  
**GO1N 27/447 (2006.01)**  
 GO1N 27/26 315J  
 GO1N 27/26 301C

請求項の数 17 (全 28 頁)

(21) 出願番号	特願2009-232660 (P2009-232660)	(73) 特許権者	000005049
(22) 出願日	平成21年10月6日 (2009.10.6)		シャープ株式会社
(65) 公開番号	特開2011-80842 (P2011-80842A)		大阪府大阪市阿倍野区長池町22番22号
(43) 公開日	平成23年4月21日 (2011.4.21)	(74) 代理人	110000338
審査請求日	平成24年2月23日 (2012.2.23)		特許業務法人原謙三国際特許事務所
		(72) 発明者	菅野 三奈子
			大阪府大阪市阿倍野区長池町22番22号
			シャープ株式会社内
		(72) 発明者	松永 貴輝
			大阪府大阪市阿倍野区長池町22番22号
			シャープ株式会社内
		(72) 発明者	木下 英樹
			大阪府大阪市阿倍野区長池町22番22号
			シャープ株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サンプル分離吸着器具

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

分離媒体に緩衝液を介して電流を流すことによって、上記分離媒体中のサンプルを分離し、かつ、分離されたサンプルを上記分離媒体からサンプル吸着用部材へ吸着させるサンプル分離吸着器具であって、

上記分離媒体を格納し、かつ分離方向における両端に開口をそれぞれ有するサンプル分離部と、

上記サンプル分離部の一端において上記開口を介して上記分離媒体と接するように設置される、上記サンプルが透過可能な転写補助体と、

上記転写補助体の上記サンプル吸着用部材を接触させた状態で、当該サンプル吸着用部材を保持する保持部とを備え、

上記サンプル分離部の上記一端と上記転写補助体との間に設置される多孔質膜をさらに備え、

上記分離媒体と上記転写補助体とは上記多孔質膜を介して接することを特徴とするサンプル分離吸着器具。

【請求項2】

上記転写補助体における上記分離方向の長さは5.0mm以下であることを特徴とする請求項1に記載のサンプル分離吸着器具。

【請求項3】

上記分離媒体と上記転写補助体とは一体的に構成されることを特徴とする請求項1また

は 2 に記載のサンプル分離吸着器具。

【請求項 4】

上記転写補助体はゲルから構成されることを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載のサンプル分離吸着器具。

【請求項 5】

上記サンプルの分離方向において、上記転写補助体の幅は、上記サンプル分離部の上記一端から上記開口を介して露出する、上記分離媒体の幅以上であることを特徴とする請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載のサンプル分離吸着器具。

【請求項 6】

上記多孔質膜は、上記転写補助体を構成するゲルを含んでおり、

上記多孔質膜の含むゲルと上記転写補助体を構成するゲルとは重合していることを特徴とする請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載のサンプル分離吸着器具。

10

【請求項 7】

上記保持部は、当該保持部と上記転写補助体との間に上記サンプル吸着用部材を挟んで保持する構造を有し、

上記保持部において少なくとも上記サンプル吸着用部材に接する部位から上記分離方向に延びる領域は導電性を有することを特徴とする請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載のサンプル分離吸着器具。

【請求項 8】

上記保持部における上記領域は、導電性を有する物質、または、上記緩衝液を含む多孔性の物質からなる導電媒体によって構成されることを特徴とする請求項 7 に記載のサンプル分離吸着器具。

20

【請求項 9】

上記保持部には、潤滑性を有する密着補助体が設けられ、

上記保持部は、上記密着補助体を介して上記サンプル吸着用部材を保持することを特徴とする請求項 7 または 8 に記載のサンプル分離吸着器具。

【請求項 10】

上記密着補助体はゲルから構成されることを特徴とする請求項 9 に記載のサンプル分離吸着器具。

【請求項 11】

上記保持部には、当該保持部と上記密着補助体との間に、第 2 の多孔質膜がさらに設けられ、

上記保持部は、上記第 2 の多孔質膜および上記密着補助体を介して、上記サンプル吸着用部材を保持することを特徴とする請求項 10 に記載のサンプル分離吸着器具。

30

【請求項 12】

上記第 2 の多孔質膜は、上記密着補助体を構成するゲルを含んでおり、

上記第 2 の多孔質膜の含むゲルと上記密着補助体を構成するゲルとは重合していることを特徴とする請求項 11 に記載のサンプル分離吸着器具。

【請求項 13】

第 1 電極が配置され、第 1 緩衝液が入れられる第 1 緩衝液槽と、

第 2 電極が配置され、第 2 緩衝液が入れられる第 2 緩衝液槽と、

上記サンプル吸着用部材が配置され、第 3 緩衝液が入れられる第 3 緩衝液槽と、を備え、

40

上記第 1 緩衝液槽内には、上記サンプル分離部の上記一端における上記開口が開口しており、

上記第 3 緩衝液槽内には、上記サンプル分離部の他の一端における上記開口が開口しており、

上記保持部において上記サンプル吸着用部材に接する部位の反対側は、上記第 2 緩衝液槽内に面していることを特徴とする請求項 7 から 12 のいずれか 1 項に記載のサンプル分離吸着器具。

50

## 【請求項 1 4】

上記保持部を上記転写補助体に向けて付勢する付勢手段をさらに備えることを特徴とする請求項 7 から 1 3 のいずれか 1 項に記載のサンプル分離吸着器具。

## 【請求項 1 5】

上記保持部は、対向して配置された一对の回転体を 1 つ以上含んで構成され、上記一对の回転体の間に上記サンプル吸着用部材を挟んで保持することを特徴とする請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載のサンプル分離吸着器具。

## 【請求項 1 6】

上記サンプル吸着用部材を上記分離方向に垂直な方向に移動させる移動手段を備えることを特徴とする請求項 1 から 1 5 のいずれか 1 項に記載のサンプル分離吸着器具。

10

## 【請求項 1 7】

上記サンプル分離部を挟んで配置される一对の電極間の電圧を測定する電圧検出手段を、さらに備えており、

上記移動手段は、上記電圧検出手段によって検出された電圧に基づいて、上記サンプル吸着用部材の移動を開始することを特徴とする請求項 1 6 に記載のサンプル分離吸着器具。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

本発明は、生物学的なサンプルを分離しかつ分離されたサンプルを順次吸着用部材へ吸着させるサンプル分離吸着器具に関するものである。

20

## 【背景技術】

## 【0 0 0 2】

ヒトゲノムプロジェクトの終了後、今日まで、様々な疾患と生体高分子の関係性が明らかになりつつある。特に、生体高分子の一つであるタンパク質は生体の細胞、器官、および臓器の機能に直接関与しており、アミノ酸配列および立体構造の相違、糖鎖およびリン酸化などの化学的修飾などによって多くの疾患を引き起こす可能性があることが明らかになり始めている。

## 【0 0 0 3】

このような状況の中、多くのプロテオーム解析が行われている。プロテオームとは、特定の細胞、器官、および臓器の中で翻訳生産されているタンパク質全体のことを意味しており、その解析としては、タンパク質のプロファイリングおよび機能解析などが挙げられる。中でも、タンパク質の翻訳後生体内で合成されたタンパク質はリン酸化などの翻訳後修飾によって、タンパク質の機能の制御を行っていることが知られており、タンパク質の化学的修飾に関する情報の入手は、今後のプロテオーム解析において重要事項の一つとなりうる。そのため、タンパク質が複数混在する試料を、高精度で分離および検出する方法が重要視され、そのための装置の開発が進められている。

30

## 【0 0 0 4】

現在、有益なタンパク質の分離手法としては、ゲル電気泳動、キャピラリー電気泳動、および液体クロマトグラフィーなどがあるが、その簡易性および分離能の高さからゲル電気泳動が一般的に広く利用されている。タンパク質のゲル電気泳動には、1 方向へのみ試料を分離する電気泳動、および 2 方向へ試料を分離する 2 次元電気泳動が存在する。中でも、2 つの条件を基に、一度に多くのタンパク質を分離し、網羅的に解析することが可能な 2 次元電気泳動はプロテオーム解析に広く利用されている。

40

## 【0 0 0 5】

2 次元電気泳動は各タンパク質の分子量および等電点を基に分離および検出する方法である。1 次元目方向への分離には、一定の pH 勾配を有するゲルストリップを用いた等電点電気泳動が利用されている。等電点電気泳動は pH 勾配を有する電解質の両端に電圧を印加すると、各タンパク質の正味の電荷が 0 となる等電点に合致する pH まで移動する性質を利用し、各タンパク質の等電点を基に分離を行う手法である。2 次元目方向への分離

50

には、陰イオン系界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム（SDS）を用いたSDS - ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS - PAGE）が広く利用されている。SDS分子は強い負電荷をもち、ポリペプチド鎖と複合体を形成する。電圧印加によって、このSDS - タンパク質複合体を多孔性のポリアクリルアミドゲル中を移動させると、複合体の移動速度は各タンパク質の分子量によって決定される。そのため、2次元目方向では各タンパク質の分子量を基に分離を行うことができる。

【0006】

現在、タンパク質の化学的修飾の検出には、電気泳動後にウエスタンブロッティング法を行う手法が主にとられている。電気泳動により分離したタンパク質の試料を、転写（ブロッティング）と呼ばれる手法で転写膜に吸着させて固定化させる。その後、転写膜に吸着したタンパク質を、蛍光標識や放射性標識した特定の抗体またはプローブとオーバーレイすると、抗原抗体反応に基づいて特定のタンパク質を検出することが可能となる。この一連の流れのことをウエスタンブロッティングという。転写膜には、試料が結合しやすく、かつ疎水性の高いニトロセルロース膜またはPVDF（Polyvinylidene difluoride）膜などが用いられる。

10

【0007】

このように電気泳動とウエスタンブロッティング法の組み合わせはプロテオーム解析で非常に有効な方法である（例えば、非特許文献1を参照のこと）。

【0008】

従来、電気泳動とウエスタンブロッティング法はそれぞれ独立した装置を用いて研究者の手作業によって行われている。例えば、電気泳動装置にて等電点電気泳動およびSDS - PAGEを行った後、ゲルを装置から取り出して転写装置に移し、転写膜をセットして転写（ブロッティング）を行い、転写膜に抗体またはプローブを手動でオーバーレイするのが一般的である。この操作に用いるゲルは非常に柔らかい材料で扱いにくいいため、操作が煩雑になり、その作業には熟練を要する。そこで、これらの作業を自動化した技術が開発されている。例えば、特許文献1には、電気泳動からブロッティングまでの一連の操作を自動化するサンプル分離吸着器具が開示されている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】特開2007 - 292616号公報（2007年11月8日公開）

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】タンパク質実験ノート（下）：分離同定から機能解析へ（羊土社、2005年、第38～47項）

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

しかしながら、特許文献1に開示されている技術では、サンプルを分離するゲルと転写膜との間に隙間が生じやすく、緩衝液中にサンプルが拡散する可能性があるため、良好なブロッティングが困難であるという問題が存在する。

40

【0012】

本発明は上記課題に鑑みてなされたものであり、サンプルを効率的かつ高精度に転写させることができるサンプル分離吸着器具を提供することを主たる目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明者らは、鋭意検討の結果、以下に示す特徴を有するサンプル分離吸着器具により上記目的を達成できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0014】

すなわち、本研究に係るサンプル分離吸着器具は、分離媒体に緩衝液を介して電流を流

50

すことによって、上記分離媒体中のサンプルを分離し、かつ、分離されたサンプルを上記分離媒体からサンプル吸着用部材へ吸着させるサンプル分離吸着器具であって、上記分離媒体を格納し、かつ分離方向における両端に開口をそれぞれ有するサンプル分離部と、上記サンプル分離部の一端において上記開口を介して上記分離媒体と接するように設置される、上記サンプルが透過可能な転写補助体と、上記転写補助体に上記サンプル吸着用部材を接触させた状態で、当該サンプル吸着用部材を保持する保持部とを備えることを特徴としている。

【0015】

本発明に係るサンプル分離吸着器具では、転写補助体は、サンプル分離部の分離方向の一端において開口を介して分離媒体と接するように設置される。また、本発明に係るサンプル分離吸着器具には、サンプル吸着用部材が転写補助体と接触するようにセットされ、その接触状態が保持部によって保持される。

10

【0016】

上記構成では、分離媒体に緩衝液を介して電流を流すことによって、分離媒体中のサンプルが分離される。分離されたサンプルは、分離媒体の分離方向の終端から当該分離媒体に接する転写補助体に移動し、さらに、転写媒体に接するサンプル吸着用部材へと移動する。すなわち、分離媒体中で分離されたサンプルは、転写補助体を介してサンプル吸着用部材へと吸着（転写）される。

【0017】

上記構成によれば、分離媒体中で分離されたサンプルは、転写補助体を介してサンプル吸着用部材へ吸着されるため、サンプルが分離媒体から緩衝液中に拡散してしまうことを防ぐことができる。また、転写補助体が設置されることによって、分離媒体にはサンプル吸着用部材の移動による摩擦力が直接かからないため、分離媒体の破損や変形を防ぐことができる。したがって、サンプルを効率的かつ高精度に転写させることができる。

20

【0018】

また、本発明に係るサンプル分離吸着器具において、上記転写補助体における分離方向の長さは5.0mm以下であることが好ましい。

【0019】

上記構成によれば、サンプル吸着用部材との間に生じる摩擦に起因して転写補助体が破損してしまうことを防ぐことができる。これによって、長時間のサンプル吸着においても、サンプル吸着用部材に対してサンプルを安定して吸着させることができる。また、サンプルが転写補助体内を移動する時間を抑えることによって、分離媒体にて分離されたサンプルが、転写補助体にて余計な分離を起こすことを防ぐことができる。

30

【0020】

また、本発明に係るサンプル分離吸着器具において、上記分離媒体と上記転写補助体とは一体的に構成されてもよい。

【0021】

上記構成によれば、分離媒体の設置と同時に、転写補助体を簡単に設置することができる。

【0022】

また、本発明に係るサンプル分離吸着器具において、上記転写補助体はゲルから構成されることが好ましい。

40

【0023】

上記の構成によれば、転写補助体を構成するゲルの潤滑性を利用して、サンプル吸着用部材との間に生じる摩擦を減少させることができる。これによって、摩擦によるサンプル吸着のむらや歪みを抑制し、サンプルをより高精度に転写させることができる。

【0024】

また、本発明に係るサンプル分離吸着器具では、上記サンプル吸着用部材の移動方向において、上記転写補助体の幅は、上記サンプル分離部の上記一端から上記開口を介して露出する、上記分離媒体の幅以上であることが好ましい。

50

## 【0025】

上記の構成によれば、分離媒体から転写補助体内へのサンプル流入量を減少させることなく、サンプル吸着用部材への効率的なサンプル吸着が可能となる。

## 【0026】

また、本発明に係るサンプル分離吸着器具は、上記サンプル分離部の上記一端と上記転写補助体との間に設置される多孔質膜をさらに備え、上記分離媒体と上記転写補助体とは上記多孔質膜を介して接することが好ましい。

## 【0027】

上記の構成によれば、サンプル分離部内に分離媒体を充填する際、分離媒体をサンプル分離部の一端にまで容易に充填せしめることができる。さらに、分離媒体と転写補助体とが、その間に多孔質膜を介することによって互いに密着することができる。これによって、分離媒体と転写補助体との間に緩衝液が流入するのを防ぐことができるため、サンプルが緩衝液中に拡散してしまうことをより確実に防ぎ、また電流の流れを安定にすることができる。したがって、サンプルをより効率的かつ高精度に転写させることができる。

10

## 【0028】

本研究に係るサンプル分離吸着器具において、上記多孔質膜は、上記転写補助体を構成するゲルを含んでおり、上記多孔質膜の含むゲルと上記転写補助体を構成するゲルとは重合していることが好ましい。

## 【0029】

上記の構成によれば、転写補助体が、サンプル吸着用部材との接触による摩擦によって剥離するのを防ぐことができる。これによって、サンプル吸着用部材へのサンプル吸着をより安定して行うことができる。

20

## 【0030】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具において、上記保持部は、当該保持部と上記転写補助体との間に上記サンプル吸着用部材を挟んで保持する構造を有し、上記保持部において少なくとも上記サンプル吸着用部材に接する部位から上記分離方向に延びる領域は導電性を有することが好ましい。

## 【0031】

上記構成によれば、保持部が、当該保持部と転写補助体との間にサンプル吸着用部材を挟むことによって、サンプル吸着用部材を適切に保持することができる。また、上記構成によれば、サンプル分離方向において、分離媒体、(多孔質膜)、転写補助体、サンプル吸着用部材、および、保持部が電氣的に接続されるため、サンプル分離吸着のための電流を良好に流すことができる。よって、サンプル吸着用部材へのサンプル吸着をより安定して行うことができる。

30

## 【0032】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具において、上記保持部における上記領域は、導電性を有する物質、または、上記緩衝液を含む多孔性の物質からなる導電媒体によって構成されることが好ましい。

## 【0033】

上記の構成によれば、サンプル分離吸着のための部材間の電気接続が良好に確保されるため、サンプル吸着用部材へのサンプル吸着をより安定して行うことができる。

40

## 【0034】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具は、上記保持部には、潤滑性を有する密着補助体が設けられ、上記保持部は、上記密着補助体を介して上記サンプル吸着用部材を保持することが好ましい。

## 【0035】

上記構成によれば、潤滑性を有する密着補助体によって、保持部とサンプル吸着用部材との間に生じる摩擦を減少させることができる。これによって、サンプル吸着用部材の移動をスムーズに行うことができる。

## 【0036】

50

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具において、上記密着補助体はゲルから構成されることが好ましい。

【0037】

上記の構成によれば、密着補助体を構成するゲルの潤滑性を利用して、サンプル吸着用部材との間に生じる摩擦を減少させることができる。また、密着補助体を介したサンプル吸着用部材と保持部との間の密着性が高まるため、保持部は、サンプル吸着用部材をより確実に転写補助体に密着させることができる。

【0038】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具は、上記保持部には、当該保持部と上記密着補助体との間に、第2の多孔質膜がさらに設けられ、上記保持部は、上記第2の多孔質膜および上記密着補助体を介して、上記サンプル吸着用部材を保持することが好ましい。

10

【0039】

上記の構成によれば、保持部と密着補助体とが、その間に第2の多孔質膜を介することによって互いに密着することができる。これによって、保持部は、サンプル吸着用部材をより確実に転写補助体に密着させることができる。

【0040】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具において、上記第2の多孔質膜は、上記密着補助体を構成するゲルを含んでおり、上記第2の多孔質膜の含むゲルと上記密着補助体を構成するゲルとは重合していることが好ましい。

【0041】

上記の構成によれば、密着補助体が、サンプル吸着用部材との接触による摩擦によって剥離するのを防ぐことができる。これによって、保持部は、サンプル吸着用部材をより確実に転写補助体に密着させることができる。

20

【0042】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具は、第1電極が配置され、第1緩衝液が入られる第1緩衝液槽と、第2電極が配置され、第2緩衝液が入られる第2緩衝液槽と、上記サンプル吸着用部材が配置され、第3緩衝液が入られる第3緩衝液槽と、を備え、上記第1緩衝液槽内には、上記サンプル分離部の上記一端における上記開口が開口しており、上記第3緩衝液槽内には、上記サンプル分離部の他の一端における上記開口が開口しており、上記保持部において上記サンプル吸着用部材に接する部位の反対側は、上記第2緩衝液槽内に面していることが好ましい。

30

【0043】

上記構成によれば、サンプル分離のための電気泳動は、第1緩衝液槽に配置された第1電極と、第2緩衝液槽内に配置された第2電極との間で行なわれる。また、サンプル吸着用部材は第3緩衝液槽内の第3緩衝液に浸漬され、サンプル吸着は第3緩衝液槽内で行なわれる。このため、サンプル吸着のための緩衝液は、電気泳動のための緩衝液に限定されず、よりサンプル吸着に適した緩衝液でサンプル吸着用部材を浸漬することができる。したがって、より好適な条件の下でサンプル吸着を行うことができる。

【0044】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具は、上記保持部を上記転写補助体に向けて付勢する付勢手段をさらに備えることが好ましい。

40

【0045】

上記構成によれば、保持部がサンプル吸着用部材を転写補助体に向けて押し付けることができる。これによって、保持部は、サンプル吸着用部材をより確実に転写補助体に密着させることができる。

【0046】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具は、上記保持部は、対向して配置された一对の回転体を1つ以上含んで構成され、上記一对の回転体の間に上記サンプル吸着用部材を挟んで保持してもよい。

【0047】

50

上記構成によれば、保持部がサンプル吸着用部材を適切に保持することができる。また、保持部が導電性を有さずとも、分離および転写のための各部材間の電氣的接続を良好に確保したまま保持部を配置することが容易になる。

【0048】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具は、上記サンプル吸着用部材を上記分離方向に垂直な方向に移動させる移動手段を備えることが好ましい。

【0049】

上記構成によれば、サンプルの吸着時、サンプル吸着用部材は、移動手段によって上記分離方向に対して垂直な方向に移動する。このため、分離媒体にて分離されたサンプルはサンプル吸着用部材に連続的に吸着されていき、分離媒体における各サンプルの移動速度に応じてサンプル吸着用部材におけるサンプル吸着位置が変化する。したがって、好ましい転写パターンを得ることができる。

10

【0050】

また、本研究に係るサンプル分離吸着器具は、上記サンプル分離部を挟んで配置される一対の電極間の電圧を測定する電圧検出手段を、さらに備えており、上記移動手段は、上記電圧検出手段によって検出された電圧に基づいて、上記サンプル吸着用部材の移動を開始することが好ましい。

【0051】

本発明に係るサンプル分離吸着器具では、分離媒体において電気泳動が開始しても、最も移動速度の大きいサンプルが上記境界（分離媒体においてサンプル吸着用部材に接する位置）に到達するまで、サンプル吸着用部材にサンプルが吸着することはない。そのため、仮に、サンプルの吸着が開始するまでの間、サンプル吸着用部材を移動させると、サンプル吸着用部材を余分に使用することになり、無駄が生じる。

20

【0052】

ところで、サンプルが分離媒体における分離方向の終端にまで泳動すると、当該終端の導電率が低下し、その抵抗値が高くなる。このため、定電流条件では電圧値が上昇する（定電圧条件では電流値が低下する）現象が生じる。

【0053】

そこで、上記構成によれば、電圧検出手段が、電極間の電圧値をモニターすると、サンプルが分離媒体とサンプル吸着用部材との境界を通過するタイミングに、電圧値の上昇を検出することができる。移動手段が、電圧検出手段の検出した電圧の上昇に基づいて、サンプル吸着用部材の移動を開始すれば、サンプルによるサンプル吸着用部材への吸着を開始してからサンプル吸着用部材を移動させることができる。したがって、サンプル吸着用部材を効率的に使用することができる。

30

【発明の効果】

【0054】

本発明に係るサンプル分離吸着器具は、分離媒体に緩衝液を介して電流を流すことによって、上記分離媒体中のサンプルを分離し、かつ、分離されたサンプルを上記分離媒体からサンプル吸着用部材へ吸着させるサンプル分離吸着器具であって、上記分離媒体を格納し、かつ分離方向における両端において開口をそれぞれ有するサンプル分離部と、上記サンプルが透過可能であり、かつ上記サンプル分離部における一方の上記開口において上記分離媒体と接するように設置される転写補助体と、上記転写補助体に上記サンプル吸着用部材を接触させた状態で、当該サンプル吸着用部材を保持する保持部とを備えるため、サンプルを効率的かつ高精度に転写させることができる。

40

【図面の簡単な説明】

【0055】

【図1】本発明の第1の実施形態に係るサンプル分離吸着器具の概略構造を示す断面図である。

【図2】本発明の第1の実施形態に係るサンプル分離吸着器具の概略構造を示す斜視図である。

50

【図 3】本発明の第 1 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具のサンプル吸着に係る構造を拡大して示す断面図である。

【図 4】本発明の第 1 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具のサンプル吸着に係る構造を拡大して示す断面図である。

【図 5】本発明の第 1 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具のサンプル分離部の構成例を拡大して示す断面図である。

【図 6】転写補助体の設置例を示す上面図である。

【図 7】転写補助体の他の例を示す断面図である。

【図 8】本発明の第 2 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具の概略構造を示す斜視図である。

10

【図 9】本発明の第 2 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具の概略構造を示す断面図である。

【図 10】本発明の第 2 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具のサンプル吸着に関連する構造を拡大して示す断面図である。

【図 11】本発明の第 2 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具のサンプル吸着に関連する構造を拡大して示す断面図である。

【図 12】本発明の第 3 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具の概略構造を示す断面図である。

【図 13】本発明の第 3 の実施形態に係るサンプル分離吸着器具のサンプル吸着に関連する構造を拡大して示す断面図である。

20

【図 14】(a) は実施例 1 に係るサンプル分離吸着器具を用いてサンプル吸着を行った結果を示す図であり、(b) は比較例 1 に係るサンプル分離吸着器具を用いてサンプル吸着を行った結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0056】

〔第 1 実施形態〕

本発明に係るサンプル分離吸着器具の一実施形態について、図 1 ~ 7 に基づいて説明すれば以下の通りである。

【0057】

なお、本明細書において「吸着」なる用語は、「転写」を意味することを意図している。

30

【0058】

図 1 は、本発明の第 1 実施形態に係るサンプル分離吸着器具 100 の概略構成を示す断面図であり、図 2 はサンプル分離吸着器具 100 の概略構成を示す斜視図であり、図 3 はサンプル分離吸着器具 100 のサンプル吸着に関与する構造を拡大して示す断面図である。

【0059】

なお、以下の説明では、サンプル分離吸着器具 100 において、図 1 に示す上下方向を Z 軸方向とし、サンプルの分離方向を X 軸方向とし、X 軸および Z 軸のいずれにも垂直な方向を Y 軸方向としている。

40

【0060】

図 1 ~ 図 3 に示すように、サンプル分離吸着器具 100 は、陰電極 1、陽電極 2、第 1 緩衝液を入れるための第 1 緩衝液槽 3、第 2 緩衝液を入れるための第 2 緩衝液槽 4、分離媒体 6 を格納するサンプル分離部 5、吸着用部材 ( サンプル吸着用部材 ) 7 を保持するための保持部 8、およびこれらを収容する収容容器 9 を備えている。また、サンプル分離部 5 の先端部 ( 一端 ) 13 には転写補助体 10 が取り付けられる。

【0061】

本実施形態では、第 1 緩衝液槽 3 に第 1 緩衝液を、第 2 緩衝液槽 4 に第 2 緩衝液を入れたとき、陰電極 1 と陽電極 2 とが、第 1 および第 2 緩衝液、分離媒体 6、転写補助体 10、吸着用部材 7、ならびに保持部 8 を介して、電氣的に接続される。陰電極 1 と陽電極 2

50

とが電氣的に接続されることによって、分離媒体 6 内のサンプルが電気泳動して分離し、分離したサンプルがさらに、転写補助体 10 を介して吸着用部材 7 へ吸着することができる。

【0062】

また、本実施形態では、分離後のサンプルが吸着用部材 7 に吸着する際、吸着用部材 7 が図 1 および図 2 中の矢印方向（Z 方向）に移動する。これによって、サンプルを吸着用部材 7 に連続的に吸着させることが可能となる。なお、吸着用部材 7 の移動については、適当な移動手段（図示しない）を用いて行えばよい。

【0063】

以下に、各部材について詳細に説明する。

10

【0064】

第 1 緩衝液槽 3 および第 2 緩衝液槽 4 は、第 1 緩衝液および第 2 緩衝液がそれぞれ充填される槽であり、その内側には陰電極 1 および陽電極 2 がそれぞれ配置される。第 1 緩衝液および第 2 緩衝液としては、特に限定されず、一般に電気泳動に用いられる組成の緩衝液から、用途、目的に応じて、適宜選択することができる。なお、第 1 緩衝液と第 2 緩衝液は同じ緩衝液を使用しても構わない。

【0065】

陰電極 1 および陽電極 2 は、導電性のある素材から形成すればよいが、電極のイオン化を防ぐため、素材には白金を用いることが好ましい。

【0066】

20

サンプル分離部 5 は、その内部に分離媒体 6 を格納するように構成されており、収容容器 9 に固定されている。また、サンプル分離部 5 は、サンプルを分離する分離方向の両端となる部位に、それぞれ開口を有している。具体的には、第 1 緩衝液槽 3 側に第 1 開口 11 を有し、第 2 緩衝液槽 4 側に第 2 開口 12 を有している。よって、分離媒体 6 は、サンプル分離部 5 の内部を X 軸方向に貫通するように格納される。分離媒体 6 は、格納時、第 1 開口 11 を介して第 1 緩衝液槽 3 内に面し、第 2 開口 12 を介して第 2 緩衝液槽 4 内に面する。なお、サンプル分離部 5 は、例えば、アクリルまたはガラス等の絶縁体を用いて作製することができる。

【0067】

分離媒体 6 は、電気泳動によってサンプルを分離するための媒体であり、一般に電気泳動法に用いられる媒体、例えば、ポリアクリルアミドゲルまたはアガロースゲル等を用いることができる。あるいは、いわゆるナノピラーと呼ばれる超微細柱をサンプル分離部 5 の内部に等間隔で林立させた構成であってもよい。

30

【0068】

分離媒体 6 は、分離すべきサンプルを含んだ状態で、サンプル分離部 5 に格納されてもよいし、あるいは、サンプル分離部 5 に格納された後に、サンプルを添加されてもよい。サンプルとしては、特に限られないが、生物材料（例えば、生物個体、体液、細胞株、組織培養物、または組織断片）からの調製物を用いることができ、好ましくはポリペプチドまたはポリヌクレオチドを用いることができる。また、市販されている試薬等を用いてもよい。

40

【0069】

吸着用部材 7 は、サンプルを吸着するための部材である。図 2 に示すように、吸着用部材 7 は、吸着用部材 7 は第 2 緩衝液槽 4 内に配置され、第 2 緩衝液を第 2 緩衝液槽 4 に入れることによって第 2 緩衝液槽 4 内の第 2 緩衝液に浸った状態になる。この状態によれば、吸着用部材 7 の乾燥が防止されるため、陰電極 1 と陽電極 2 との電氣的な接続が好適になる。

【0070】

吸着用部材 7 は、強度を確保できる材料からなることが好ましく、例えば、サンプルがタンパク質の場合には P V D F ( P o l y v i n y l i d e n e d i f l u o r i d e ) 膜等を用いることができる。なお、P V D F 膜は予めメタノールなどを用いて親水化処

50

理を行っておくことが好ましい。また、他にもナイロン、ニトロセルロースなどの、従来用いられている核酸またはタンパク質が結合しやすい膜を用いることができる。

【0071】

本実施形態に係るサンプル分離吸着器具100は、吸着用部材7を取り付けた状態で提供されてもよく、あるいは、使用者が吸着用部材7を後からセットする構成で提供されてもよい。

【0072】

保持部8は、第2緩衝液槽4内に配置され、吸着用部材7が転写補助体10に接触した状態になるよう、吸着用部材7を保持する構成を有する。このとき、保持部8は、陰電極1と陽電極2との間に起こる電氣的接続を阻害しないように構成されることが好ましい。本実施形態における保持部8は、図1に示すように、陰電極1と陽電極2の間に配置されるため、導電性を有する物質から構成されることが好ましい。

10

【0073】

例えば、保持部8は、PVA(Polyvinyl alcohol)スポンジ、シリコンスポンジ、または生化学用濾紙等といった多孔性物質を緩衝液に浸して空気を抜き、緩衝液で満たした物質から構成されても構わない。この場合、サンプル分離吸着器具100は、使用者が、予め緩衝液が満たされた状態の多孔性物質を取り付ける構成で提供されてもよいし、使用者が自ら多孔性物質に緩衝液を満し、それを取り付ける構成で提供されてもよいし、あるいは、使用者がサンプル分離吸着器具100に多孔性物質を取り付けた後に、多孔性物質に緩衝液を満す構成で提供されてもよい。

20

【0074】

転写補助体10は、サンプルが透過可能なものであればよく、サンプル分離部5の先端部13において第2開口12を介して分離媒体6と接するように取り付けられる。ここで、吸着用部材7は、取り付けられた転写補助体10と接触するように、保持部8によって保持される。このため、分離媒体6から吸着用部材7へのサンプルの転写は、従来技術とは異なり、転写補助体10を介して行なわれる。このため、サンプルの緩衝液中への自己拡散(流出)を防ぐことができる。したがって、サンプルの緩衝液への流出によるサンプル吸着量の減少が抑制され、効率のよいサンプルの転写が可能となる。また、吸着用部材7の移動による摩擦が分離媒体6に直接生じることがないため、安定したサンプル分離結果を得ることができる。

30

【0075】

なお、転写補助体10は、吸着用部材7と接触する際、接触面が一定になる(窪みや歪みがない)ことが望ましい。具体的には、後述にて図5を参照して説明しているが、転写補助体10がZ軸方向に曲線を描いている場合であっても、吸着用部材7と転写補助体10とはY軸方向に一定に接していることが望ましい。

【0076】

転写補助体10としては、例えばゲルが挙げられる。転写補助体10がゲルから構成されると、吸着用部材7の潤滑性が高まり、吸着用部材7の移動の際に生じる摩擦力を減らすことができ、摩擦力によるサンプルの転写パターンのムラが抑制される。

【0077】

転写補助体10のゲルとしては、サンプルの透過に影響しないものであれば限定はされないが、例えばポリアクリルアミドゲル、アガロースゲル、ハイドロゲル、およびトポロジカルゲルなどが挙げられる。

40

【0078】

本実施形態では、サンプル分離部5に分離媒体6を格納する前に、サンプル分離部5の先端部13に転写補助体10を取り付けてもよいし、サンプル分離部5に分離媒体6を格納してから転写補助体10を取り付けてもよい。

【0079】

転写補助体10のZ軸方向の幅は、サンプル分離部5の先端部13における(第2開口12を介して露出する)分離媒体6のZ方向の幅以上であることが好ましく、サンプル分

50

分離部5の先端部13における(第2開口12を介して露出する)分離媒体6のZ方向の幅と同じ大きさであることがさらに好ましい。これによって、分離媒体6から転写補助体10へのサンプル流入量を減少させることなく、吸着用部材7への効率的なサンプル吸着が可能となる。さらに、転写補助体10のZ方向の幅を必要十分な大きさに抑えることによって、分離媒体6の先端部に移動したサンプルが転写補助体10内にて拡散させるのを防ぎ、サンプルの転写パターンをより鮮明なものにすることが可能となる。

#### 【0080】

また、転写補助体10のX軸方向の長さは、5.0mm以下であることが好ましく、1.0mm以下であることがさらに好ましい。転写補助体10の厚さがこの範囲にあれば、サンプルが転写補助体10内を移動する際に、サンプル分離部5で分離されたサンプルパターンが変形してしまうことを防ぐことができる。また、転写補助体10の厚さが5.0mm以下であれば、転写補助体10の破損や剥離等が生じ難くなる。さらに転写補助体10の厚さが1.0mm以下であれば、転写補助体10の強度が保たれ、吸着用部材7と転写補助体10との間に生じる摩擦力により耐えることができるため、転写補助体10の破損や剥離等を防ぐことができる。

10

#### 【0081】

転写補助体10を目的の厚さ(目的のX軸方向の長さ)に形成する方法としては、例えば、ガラス板やアクリル板等の板状部材上に目標の厚さのスペーサーを挟み、サンプル分離部5を均等に浮かせた状態で、サンプル分離部5の内部にゲルを注入し、重合させてもよい。あるいは、適当な厚さの転写補助体10を取り付けた後、均一に目的の厚さになるように、カッター、レーザーカッター、または水圧等で切断することによって、目的の厚さの転写補助体10を形成してもよい。

20

#### 【0082】

(多孔質膜)

次に、本実施形態のさらに好ましい例について図4を参照して説明する。図4は、本実施形態に係るサンプル分離吸着器具100を概略的にしめす断面図である。

#### 【0083】

本実施形態では、図4に示すように、多孔質膜14が、サンプル分離部5の先端部13に取り付けられ、サンプル分離部5と転写補助体10との間に配置されることが好ましい。また、多孔質膜14が、少なくとも転写補助体10を構成するゲルを含んでいることがさらに好ましい。

30

#### 【0084】

仮に、分離媒体6と転写補助体10との間に隙間があると、緩衝液にサンプルが流出することがあり、また電流の流れが不安定になりサンプルの転写が乱れるおそれがある。そこで、サンプル分離部5の先端部13に多孔質膜14を取り付ければ、サンプル分離部5内に分離媒体6を充填する際、容易に分離媒体6をサンプル分離部5の先端部13にまで充填せしめることができる。これによって、転写補助体10と分離媒体6とを隙間なく密着させることができるので、隙間からのサンプルの流出を防ぐことができるとともに、安定した通電状態を確保することができる。

#### 【0085】

また、多孔質膜14に転写補助体10を構成するゲルと同じ部材を含ませる場合、多孔質膜14内のゲル部材と転写補助体10とを重合させることができる。これによって、摩擦に対する転写補助体10の耐久度が上昇し、転写補助体10は吸着用部材7との接触による摩擦力に対してより耐えることが可能になる。

40

#### 【0086】

多孔質膜14は、サンプルを吸着することなく、透過することが可能で、強度があるものであれば、特に限定されない。多孔質膜14としては、例えば、親水性PVDF(Polyvinylidene difluoride)膜、PES(Polyether sulphone)膜、ニトロセルロース膜、および正電荷付加のナイロン膜等を用いることができる。

50

## 【 0 0 8 7 】

本実施形態に係るサンプル分離吸着器具 1 0 0 は、予めサンプル分離部 5 に多孔質膜 1 4 が固定された状態で提供されてもよく、あるいは、使用者が後からサンプル分離部 5 に多孔質膜 1 4 を固定する構成で提供されてもよい。多孔質膜 1 4 をサンプル分離部 5 に固定するためには、粘着テープや接着剤等によって接着したり、クリップ等を用いて挟持したりすればよい。

## 【 0 0 8 8 】

また、転写補助体 1 0 を多孔質膜 1 4 に取り付けるタイミングとしては、多孔質膜 1 4 をサンプル分離部 5 に固定した後でもよいし、多孔質膜 1 4 をサンプル分離部 5 に固定する前でもよい。

10

## 【 0 0 8 9 】

次に、分離媒体 6 および転写補助体 1 0 の形成方法について、分離媒体 6 と転写補助体 1 0 と同じポリアクリルアミドゲルを用いる場合を用いて説明する。

## 【 0 0 9 0 】

まず、多孔質膜 1 4 をサンプル分離部 5 に固定した後に、分離媒体 6 および転写補助体 1 0 を形成する方法について説明する。この方法では、多孔質膜 1 4 を取り付けたサンプル分離部 5 に対し、先端部 1 3 側から第 2 開口 1 2 を介してゲル重合前のアクリルアミド溶液を注ぎ込む。

## 【 0 0 9 1 】

その後、転写補助体 1 0 を形成させるために、サンプル分離部 5 を、多孔質膜 1 4 を下側にして平らなガラス板やアクリル板の上に置き、さらにアクリルアミド溶液が漏れないような密閉容器に入れる。これによって、多孔質膜 1 4 を介して染み出てきたアクリルアミド溶液が平らに重合される。サンプル分離部 5 の先端部 1 3 からアクリルアミド溶液を注入することによって、多孔質膜 1 4 と分離媒体 6 の間に空気が入らず、より効果的に分離媒体 6 および転写補助体 1 0 を形成することが可能となる。ゲル重合後、転写補助体 1 0 を残すように、必要のないアクリルアミドゲルを除去すればよい。

20

## 【 0 0 9 2 】

なお、アクリルアミド溶液をサンプル分離部 5 に注入する際、サンプル分離部 5 の第 1 開口 1 1 から注入すると、多孔質膜 1 4 と分離媒体 6 との間に空気が入りやすく、その部分が空洞となってゲル重合されてしまう可能性が高くなる。このため、アクリルアミド溶液を注入した後、密閉容器を左右に揺らし、空気を抜く作業が必要となる。

30

## 【 0 0 9 3 】

一方、多孔質膜 1 4 をサンプル分離部 5 に固定する前に分離媒体 6 および転写補助体 1 0 を形成する方法について説明する。この方法では、多孔質膜 1 4 の上に取り付けたい転写補助体 1 0 の大きさの型を載せ、型に分離媒体 6 を構成するゲルを注入し、転写補助体 1 0 が形成されたら、型と余分なゲルを除去する。こうして作成した多孔質膜 1 4 をサンプル分離部 5 の先端部 1 3 に取り付け、分離媒体 6 用のゲルをサンプル分離部に注入する。

## 【 0 0 9 4 】

上述のいずれの方法を利用しても、多孔質膜 1 4 に分離媒体 6 または転写補助体 1 0 を構成するゲルを含ませることも可能となる。

40

## 【 0 0 9 5 】

次に、サンプル分離部 5 に取り付けられた多孔質膜 1 4 および転写補助体 1 0 の構成例について図 5 および図 6 を参照して説明する。

## 【 0 0 9 6 】

図 5 ( a ) ~ ( c ) は、本実施形態に係るサンプル分離吸着器具 1 0 0 を概略的に示す断面図である。図 5 ( a ) ~ ( c ) に示すように、サンプル分離部 5 への設置に際して、多孔質膜 1 4 および転写補助体 1 0 は様々な形態をとり得る。

## 【 0 0 9 7 】

例えば、多孔質膜 1 4 は、図 5 ( a ) に示すようにサンプル分離部 5 の外側からサン

50

ル分離部 5 の先端部 1 3 を覆う形態でもよい。また、多孔質膜 1 4 は、図 5 ( b ) に示すようにサンプル分離部 5 の内側にてサンプル分離部 5 の先端部 1 3 を覆う形態でもよい。また、多孔質膜 1 4 の両端は、図 5 ( c ) に示すようにサンプル分離部 5 と分離媒体 6 との間に入り込んでいてもよい。

【 0 0 9 8 】

なお、サンプル分離部 5 の内側に多孔質膜 1 4 を取り付ける場合には、サンプル分離部 5 と多孔質膜 1 4 の間に、分離媒体 6 や緩衝液等が入らないよう、サンプル分離部 5 と多孔質膜 1 4 とを密着させる必要がある。そうすることで、サンプル分離部 5 にて分離されたサンプルは多孔質膜 1 4 を介して吸着用部材 7 に全て転写される。

【 0 0 9 9 】

また、転写補助体 1 0 は、図 5 ( a ) および ( c ) に示すように、Z 軸方向に曲線を描いていても構わない。このとき、上述と同様に、転写補助体 1 0 の X 軸方向の長さが 5 . 0 mm 以下であることが好ましく、1 . 0 mm 以下であることがさらに好ましい。また、このとき、転写補助体 1 0 と吸着用部材 7 との Y 軸方向の接触が一定になることが望ましい。転写補助体 1 0 が Z 方向に曲線を描くことによって、転写補助体 1 0 と吸着用部材 7 の Y 軸方向の接触幅が小さくなり、より高精度にサンプル転写をすることが可能になる。

【 0 1 0 0 】

また、転写補助体 1 0 は、図 5 ( b ) に示すように、その一部がサンプル分離部 5 の内部にあっても構わない。こうすることで、サンプル分離部 5 の先端部 1 3 に転写補助体 1 0 を取り付けた時と同様の効果を得ることが可能となる。

【 0 1 0 1 】

図 6 ( a ) および ( b ) は、本実施形態に係るサンプル分離吸着器具 1 0 0 を概略的にしめす上面図である。

【 0 1 0 2 】

図 6 ( a ) および ( b ) に示すように、転写補助体 1 0 には Z 軸方向に切断されたスリットが入っていても構わない。このとき、転写補助体 1 0 は、サンプル吸着 ( 転写 ) に関与する領域、すなわち、Y 軸方向において各サンプルが存在する領域に取り付けられており、スリットは各領域の間に存在する。

【 0 1 0 3 】

図 6 ( a ) では、S D S - P A G E のレーンに対応する位置に転写補助体 1 0 a を取り付けており、レーンではない位置にはスリットが配置されている。また、図 6 ( b ) では、一次元電気泳動後のサンプルに対応する領域に転写補助体 1 0 c を取り付け、また、サンプルと同時に泳動する分子量マーカーに対応する領域に転写補助体 1 0 b を取り付けている。図 6 ( b ) では、転写補助体 1 0 b を二次元電気泳動後のサンプルが透過し、転写補助体 1 0 b を泳動後の分子量マーカーが透過する。

【 0 1 0 4 】

このように転写補助体 1 0 にスリットを設ければ、分離したサンプルが転写補助体 1 0 を通過する領域のみでサンプル吸着 ( 転写 ) が行なわれるため、転写補助体 1 0 での拡散をより軽減することができる。

【 0 1 0 5 】

なお、Y 軸方向においてサンプルが存在する領域に転写補助体 1 0 が取り付けられていれば、スリットの数および、スリットの大きさは限定されない。

【 0 1 0 6 】

( 転写補助体の他の例 )

次に、本実施形態のさらに他の例について図 7 を参照して説明する。図 7 は、本実施形態に係るサンプル分離吸着器具 1 0 0 を概略的に示す断面図である。

【 0 1 0 7 】

本実施形態において、転写補助体 1 0 は、分離媒体 6 と一体的に構成されていてもよい。具体的には、図 7 に示すように、転写補助体 1 0 を別途設けることなく、分離媒体 6 が、サンプル分離部 5 の先端部 1 3 から突出していてもよい。このとき、分離媒体 6 の突出

10

20

30

40

50

部分が転写補助体10として機能し、吸着用部材7と接触している。これによって、サンプルの緩衝液中への自己拡散（流出）を防ぐことができる。したがって、サンプルの緩衝液への流出によるサンプル吸着量の減少が抑制され、効率のよいサンプルの転写が可能となる。

#### 【0108】

また、上述した転写補助体10の厚さと同じく、サンプル分離部5の先端部13より突出している分離媒体6の突出部分の長さ（X軸方向の長さ）は5.0mm以下であることが好ましい。これによって、分離媒体6と吸着用部材7との間に生じる摩擦力による分離媒体6の突出部分の破損を防ぐことができ、長時間のサンプル吸着にも耐えることが可能となる。

10

#### 【0109】

分離媒体6と転写補助体10とを一体的にする場合、サンプル分離吸着器具100は、予めサンプル分離部5の内部に分離媒体6が格納されて突出部が形成された状態で提供されてもよい。あるいは、サンプル分離吸着器具100は、使用者が後からサンプル分離部5内に分離媒体6のゲルを充填し、ゲルを切断して必要な長さ分だけ突出部を形成する構成として提供されてもよい。

#### 【0110】

##### 〔第2実施形態〕

本発明の第2の実施形態について図8から図11に基づいて説明すれば以下の通りである。

20

#### 【0111】

上述した実施形態1に対する本実施形態の主な相違点は、第3緩衝液槽16を設けている点、および、保持部8が導電媒体17および絶縁構造体18から構成される点にある。したがって、以下では、上記相違点を中心に説明する。また、吸着用部材7の移動手段および分離媒体6へのサンプル導入からサンプル吸着までの流れについても、本実施形態において説明する。

#### 【0112】

なお、本実施形態では、説明の便宜上、実施形態1における構成要素と対応する機能を有する構成要素には、同一符号を付し、その説明を省略する場合がある。

#### 【0113】

図8は、本実施形態に係るサンプル分離吸着器具110の構成を概略的に示す斜視図であり、図9はその断面図である。図10は、図9におけるサンプル分離部5の先端部13付近を概略的に示す拡大図である。

30

#### 【0114】

サンプル分離吸着器具110は、図8および図9に示すように、陰電極（第1電極）1、第1緩衝液を入れるための第1緩衝液槽3、陽電極（第2電極）2、第2緩衝液を入れるための第2緩衝液槽4、サンプル分離部5、第3緩衝液を入れるための第3緩衝液槽16、保持部8、付勢部15、移動アーム27、および、吸着用部材7を保持する移動アーム（移動手段）28を備えている。

#### 【0115】

まず、本実施形態における第3緩衝液槽16について以下に説明する。

40

#### 【0116】

本実施形態では、サンプル分離部5と第2緩衝液槽4との間に第3緩衝液槽16が配置されている。第2緩衝液槽4と第3緩衝液槽16とは、保持部8と隔壁19とによって隔てられている。このため、電気泳動用の緩衝液とサンプル吸着（転写）用の緩衝液とに異なる緩衝液を用いることが可能である。具体的には、第1緩衝液槽3と第2緩衝液槽4とを利用して電気泳動が行なわれ、第3緩衝液槽16においてサンプル吸着（転写）が行なわれる。

#### 【0117】

これによって、吸着用部材7を浸漬する緩衝液を第2緩衝液に限定する必要がなくなり

50

、吸着用部材をより適した緩衝液に浸漬することが可能となり、より最適な条件でサンプル吸着（転写）を行うことが可能になる。

【0118】

次に、本実施形態における保持部8について、図9および図10を参照して以下に説明する。

【0119】

本実施形態では、保持部8は、導電性を有する導電媒体17と、絶縁性を有する絶縁構造体18とから構成されている。ここで、導電媒体17は、絶縁構造体18の内部をX軸方向に貫通するように収納されている。また、導電媒体17および転写補助体10は、それぞれが吸着用部材7に接するように、吸着用部材7を挟んで配置される。このとき、保持部8において吸着用部材7に接する部位の反対側は、第2緩衝液槽4内に面している。

10

【0120】

これによって、保持部8が陰電極1から陽電極2までの電氣的接続を遮断することがない。さらには、陰電極1と陽電極2の間に起こる電氣的接続が保持部8内の導電媒体17に収束され、より効率的にサンプル吸着を行うことが可能となる。

【0121】

絶縁構造体18としては、例えば、ガラスおよびアクリル等の絶縁体から作製することができる。また、導電媒体17としては、導電性が確保でき、ある程度の強度のあるものであれば、特に限定はされない。例えば、導電媒体17として、ポリアクリルアミドゲル、アガロースゲル、ナノピラー、またはハイドロゲルが絶縁構造体18内に充填されてもよい。また、保持部8の極簡単な構成としては、ガラスの間に導電ゴムを挟んだ形状のもので構わない。

20

【0122】

本実施形態に係るサンプル分離吸着器具110は、絶縁構造体18に予め導電媒体17が充填された状態で提供されてもよく、使用者が後から保持部8の内部に導電媒体17を充填する構成で提供されてもよい。

【0123】

次に、本実施形態の他の例について、図11を参照して説明する。図11は本実施形態に係るサンプル分離吸着器具100を概略的に示す断面図である。

【0124】

本実施形態では、保持部8の先端部21（吸着用部材7を保持する側）に、第2の多孔質膜22および密着補助体23が設けられており、吸着用部材7と保持部8の間に配置されていることが好ましい。このとき、第2の多孔質膜22および密着補助体23は多孔質膜14及び転写補助体10と同様の効果を保持部8に対して与えることができ、吸着用部材7と保持部8との間に生じる摩擦を減少させることができる。

30

【0125】

第2の多孔質膜22は、導電性を確保でき、強度があるものであれば、特に限定されない。第2の多孔質膜22としては、例えば、PVDF（Polyvinylidene difluoride）膜、PES（Polyether sulphone）膜、ニトロセルロース膜、および正電荷付加のナイロン膜、PTFE（Polytetrafluoroethylene）膜等を挙げることができる。

40

【0126】

密着補助体23は、ある程度の強度および潤滑性を有するものであれば限定されないが、導電性が確保できるゲルから構成されることが好ましい。例えば、密着補助体23は、ポリアクリルアミドゲル、アガロースゲル、ナノピラー、ハイドロゲル、またはトポロジカルゲル等から形成されてもよい。

【0127】

保持部8に対して密着補助体23および第2の多孔質膜22の両方が取り付けられる場合、実施形態に係るサンプル分離吸着器具100は、予め保持部8に第2の多孔質膜22が固定された状態で提供されてもよく、あるいは、使用者が後から保持部8に第2の多孔

50

質膜 2 2 を固定する構成で提供されてもよい。第 2 の多孔質膜 2 2 を保持部 8 に固定するためには、粘着テープや接着剤等によって接着したり、クリップ等を用いて挟持したりすればよい。

【 0 1 2 8 】

また、密着補助体 2 3 を第 2 の多孔質膜 2 2 に取り付けるタイミングとしては、第 2 の多孔質膜 2 2 を保持部 8 に固定した後でもよいし、第 2 の多孔質膜 2 2 を保持部 8 に固定する前でもよい。

【 0 1 2 9 】

次に、密着補助体 2 3 および導電媒体 1 7 を形成する方法について、密着補助体 2 3 と導電媒体 1 7 に同じポリアクリルアミドゲルを用いる場合を用いて説明する。まず、第 2 の多孔質膜 2 2 を保持部 8 (絶縁構造体 1 8) に固定した後に、導電媒体 1 7 および密着補助体 2 3 の形成する方法について説明する。この方法では、第 2 の多孔質膜 2 2 を取り付けた絶縁構造体 1 8 に対し、先端部 2 1 側から、その内側にゲル重合前のアクリルアミド溶液を注ぎ込む。

【 0 1 3 0 】

その後、密着補助体 2 3 を生成させるために、第 2 の多孔質膜 2 2 を下側にして、保持部 8 を平らなガラス板やアクリル板の上に置き、さらに、アクリルアミド溶液が漏れないような密閉容器に入れる。重合後、絶縁構造体 1 8 の内側には導電媒体 1 7 が形成され、また、第 2 の多孔質膜 2 2 を介して染み出てきたアクリルアミド溶液が平らに重合されることによって密着補助体 2 3 が形成される。

【 0 1 3 1 】

上記方法では、保持部 8 の先端部 2 1 からアクリルアミド溶液を注入するため、第 2 の多孔質膜 2 2 と導電媒体 1 7 との間に空気が入らず、より効果的に導電媒体 1 7 および密着補助体 2 3 を生成することが可能となる。ゲル重合後には、密着補助体 2 3 を残すように、必要のないアクリルアミドゲルを除去すればよい。

【 0 1 3 2 】

なお、アクリルアミド溶液を保持部 8 に注入する際、保持部 8 の先端部 2 1 の反対側から注入すると、第 2 の多孔質膜 2 2 と導電媒体 1 7 との間に空気が入りやすく、その部分が空洞となってゲル重合されてしまう可能性が高くなる。そのため、アクリルアミド溶液を注入した後、密閉容器を左右に揺らし、空気を抜く作業が必要となる。

【 0 1 3 3 】

一方、第 2 の多孔質膜 2 2 を保持部 8 (絶縁構造体 1 8) に固定する前に、密着補助体 2 3 と導電媒体 1 7 を形成する方法について説明する。この方法では、第 2 の多孔質膜 2 2 の上に取り付けたい密着補助体 2 3 の大きさの型を載せ、型に密着補助体 2 3 を構成するゲルを注入し、密着補助体 2 3 が形成されたら、型と余分なゲルを除去する。こうして密着補助体 2 3 が形成された第 2 の多孔質膜 2 2 を保持部 8 の先端部 2 1 に取り付ければよい。

【 0 1 3 4 】

なお、本発明はこれに限られず、保持部 8 の先端部 2 1 に、密着補助体 2 3 のみが取り付けられてもよい。

【 0 1 3 5 】

また、本実施形態において、保持部 8 は、付勢部 (付勢手段) 1 5 によって、サンプル分離部 5 に向かって付勢されている。なお、本実施形態における保持部 8 は、収容容器 9 中で分離方向 (X 方向) にスライド可能な構成である。そこで、付勢部 1 5 が保持部 8 を付勢することによって、保持部 8 は、サンプル分離部 5 に向かってスライドし、吸着用部材 7 を付勢する。これによって、保持部 8 は、吸着用部材 7 をより確実に転写補助体 1 0 に密着させることができる。

【 0 1 3 6 】

付勢部 1 5 としては、スプリングプランジャー、スポンジ、およびシリコンゴムなど、伸縮性のある部材を利用することができる。

## 【 0 1 3 7 】

次に、分離媒体 6 へのサンプル導入からサンプル吸着までの流れについて、再び図 9 を参照して説明する。

## 【 0 1 3 8 】

例えば、2次元電気泳動を行う場合には、予め1次元目の等電点電気泳動を行ったゲルストリップ 2 4 を、サンプル分離部 5 の接続部 2 5 に載置して、分離媒体 6 に接続させる。ゲルストリップ 2 4 としては、市販されているものを用いればよい。

## 【 0 1 3 9 】

一般に、ゲルストリップ 2 4 は薄く柔軟性があるため、サンプル導入の際には、アクリル等で作製され支持体 2 6 にゲルストリップ 2 4 を固定することが好ましい。支持体 2 6 は移動アーム 2 7 によって移動され、支持体 2 6 に固定されたゲルストリップ 2 4 は、サンプル分離部 5 内の分離媒体 6 の接続部 2 5 に載置される。

## 【 0 1 4 0 】

なお、1次元目の等電点電気泳動を行う機構はサンプル分離吸着器具 1 0 0 に組み込まれていてもよく、この場合、サンプル分離吸着器具 1 0 0 は1次元目の等電点電気泳動から2次元目の電気泳動分離および転写までを自動化することができる。

## 【 0 1 4 1 】

また、SDS - PAGE 等、1次元目の電気泳動を行わない場合には、サンプル分離部 5 に分離媒体 6 を充填する際にウェル（凹み）を作製する。ウェルにサンプルを導入した後は、第1緩衝液槽 3 内にサンプルが流出しないように、アガロースゲル等でサンプルを固定化する。あるいは、サンプルとアガロースゲルと混合してからウェルに導入し、ウェル内で固化させてもよい。

## 【 0 1 4 2 】

分離媒体 6 におけるウェル（凹み）については、通常の SDS - PAGE と同様に、ゲルモノマー溶液（重合してゲルとなる前の液体）をサンプル分離部 5 に流し込み、ゲルモノマーが重合する前にコーム（通常 5 mm 程度の凹凸が複数あるくし状の板）を差込み、ゲル化させた後、コームを取り外すことによって作製することができる。

## 【 0 1 4 3 】

サンプル導入後、陰電極 1 と陽電極 2 との間に電流を流すことによって、電気泳動分離を行うことができる。上記電流としては、50 mA 以下の値を用いることが好ましく、20 mA 以上 30 mA 以下の範囲であることがより好ましい。上記範囲であれば、十分な速さで電気泳動を行いつつ、発熱を抑制することができる。より大きい電流を用いれば、速い電気泳動が可能であるが、高電流は発熱を引き起こし、ゲルやサンプル、電気泳動分離の分解能に悪影響を及ぼすおそれがある。なお、電気泳動時の発熱を防止するために、サンプル分離器具 1 0 0 にペルチェ素子等を用いた冷却機構を設けてもよい。

## 【 0 1 4 4 】

電気泳動の開始後、サンプルが分離媒体 6 と吸着用部材 7 との境界（サンプル分離部 5 の先端部 1 3 付近）に到達した時点で、吸着用部材 7 の引き上げが開始される。吸着用部材 7 の引き上げには、移動アーム 2 8 を用いることができる。移動アーム 2 8 は、吸着用部材 7 を保持して、Z 軸方向に移動させる。これによって、サンプルを吸着用部材 7 に対して連続的に転写させることができる。

## 【 0 1 4 5 】

サンプルが分離媒体 6 と吸着用部材 7 との境界までに達したか否かについては、予め着色されたサンプルの泳動度から判断してもよいし、電圧値をモニターすることによって判断してもよい。

## 【 0 1 4 6 】

予め着色されたサンプルを用いる場合には、例えば、市販の分子量マーカーを利用してよいし、SDS - PAGE キットなどにおいて通常泳動の先頭を示すフロントラインとして用いられる BPB ( Bromophenol Blue ) をサンプルに導入してもよい。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 4 7 】

一方、電圧値をモニターする場合には、例えば、陰電極 1 と陽電極 2 との間の電圧をモニターする電圧モニター（電圧検出手段、図示しない）を用いることができる。サンプルがサンプル分離部 5 の先端部 1 3 に到達し、転写補助体 1 0 と吸着用部材 7 との境界に達すると、当該境界において導電率が小さくなるため、電極間の抵抗値が高まり、電圧値は大きく上昇する。このため、電圧モニターが電圧値の上昇を測定することによって、サンプルの排出を検出することができる。

## 【 0 1 4 8 】

この場合、移動アーム 2 8 は、電圧モニターと接続されていることが好ましい。これによって、電圧モニターが測定した電圧に基づき、自動的に吸着用部材 7 の引き上げを開始することができる。また、電圧モニターは、電圧値をモニターするプログラムとしてサンプル分離吸着器具 1 0 0 に組み込まれていてもよい。これによって、自動的にサンプルの排出を検知し、吸着用部材 7 を引き上げることができる。

10

## 【 0 1 4 9 】

また、吸着用部材 7 の引き上げの際、移動アーム 2 8 は、電圧モニターのモニターする電流値または電圧値に従って、吸着用部材 7 の引き上げ速度を制御してもよい。これによって、サンプルが吸着されない部分を少なくし、無駄のない吸着用部材 7 の使用を可能にするだけでなく、装置を小型化することも可能にする。吸着用部材 7 の引き上げ速度は、十分な分解能をもってサンプルが吸着し得る速度であればよく、当業者であれば適宜設定することができる。

20

## 【 0 1 5 0 】

サンプル吸着の終了後、吸着用部材 7 は移動アーム 2 8 によって回収され、染色や免疫反応等が行なわれる。その後、蛍光検出器などによって、サンプルの分離転写パターンが検出される。サンプル分離吸着器具 1 0 0 に対してこれらの検出機構を組み込むことによって、電気泳動、転写、検出の全工程を自動化してもよい。

## 【 0 1 5 1 】

なお、移動アーム 2 8 は移動アーム 2 7 と兼用でもよい。この場合、移動アーム 2 7 は、ゲルストリップ 2 4 を分離媒体 6 に接続した後、サンプル分離部 5 の先端部 1 3 付近まで移動し、吸着用部材 7 の上部を掴むように動作する。

## 【 0 1 5 2 】

〔第 3 実施形態〕

本発明の第 3 の実施形態について図 1 2 に基づいて説明すれば以下の通りである。

30

## 【 0 1 5 3 】

上述した実施形態 1 および 2 に対する本実施形態の主な相違点は、保持部 2 9 の構成にある。したがって、以下では、上記相違点を中心に説明する。

## 【 0 1 5 4 】

なお、本実施形態では、説明の便宜上、実施形態 1 および 2 における構成要素と対応する機能を有する構成要素には、同一符号を付し、その説明を省略する場合がある。

## 【 0 1 5 5 】

図 1 2 は、本実施形態に係るサンプル分離吸着器具 1 2 0 の構成を概略的に示す断面図である。図 1 3 は、図 1 2 におけるサンプル分離部 5 の先端部 1 3 付近を概略的に示す拡大図である。

40

## 【 0 1 5 6 】

図 1 2 に示すように、本実施形態に係るサンプル分離吸着器具 1 2 0 では、第 2 緩衝液槽 4 の上方に第 1 緩衝液槽 3 が配置されている。ここで、本実施形態においても、サンプル分離部 5 は、第 1 緩衝液槽 3 側に第 1 開口 1 1 を有し、第 2 緩衝液槽 4 側に第 2 開口 1 2 を有している。分離媒体 6 は、サンプル分離部 5 への格納時、第 1 開口 1 1 において第 1 緩衝液槽 3 内に面し、第 2 開口 1 2 において第 2 緩衝液槽 4 内に面する。

## 【 0 1 5 7 】

また、図 1 2 に示すように、サンプル分離部 5 の先端部 1 3 には、多孔質膜 1 4 が分離

50

媒体 6 の先端を覆うようにサンプル分離部 5 の内部に取り付けられ、さらに転写補助体 10 が多孔質膜 14 に接して取り付けられている。

【0158】

本実施形態では、第 1 緩衝液槽 3 に第 1 緩衝液を、第 2 緩衝液槽 4 に第 2 緩衝液を入れたとき、陰電極 1 と陽電極 2 とが、第 1 および第 2 緩衝液、分離媒体 6、多孔質膜 14、転写補助体 10、ならびに吸着用部材 7 を介して、電氣的に接続される。このとき、上記の電氣的接続には保持部 29 が含まれない。

【0159】

すなわち、本実施形態において、保持部 29 は、実施形態 1 および 2 と同様に吸着用部材 7 を保持する構成であるが、陰電極 1 および陽電極 2 による電氣的接続に影響を与えないよう、吸着用部材 7 における転写補助体 10 との接触領域と陽電極 2 との間に挟まれないように配置されている。このとき、保持部 29 は、保持部 29 は絶縁物質で構成されていることが好ましく、例えば、ガラス、アクリル、ゴムなどから構成することができる。

10

【0160】

また、保持部 29 は、図 13 に示すように、回転可能な 4 つ円柱（回転体）から構成されている。保持部 29 を構成する 4 つの円柱は、それぞれ対向する一対の円柱の間に吸着用部材 7 を挟んで保持しており、これによって吸着用部材 7 と転写補助体 10 とを密着させている。

【0161】

保持部 29 を構成する 4 つの円柱は、図 13 中の矢印に示すように、吸着用部材 7 の移動に合わせて回転する。これによって、吸着用部材 7 の移動に際して、保持部 29 と吸着用部材 7 との間の摩擦力を軽減し、吸着用部材 7 への安定した転写を可能にすることができる。また、保持部 29 を構成する 4 つの円柱のうち、サンプル分離部 5 側に配置される円柱は、サンプル分離部 5 と接触してその位置が固定されていてもよい。これによって、サンプル分離部 5 と吸着用部材 7 との接触位置が固定され、再現性よく転写を行うことができる。

20

【0162】

サンプル分離吸着器具 120 へのサンプルの導入は、実施形態 1 および 2 と同様に様々な手法をとり得るが、例えば図 12 に示すように、一次電気泳動が行われたゲルストリップ 24 を、移動アーム 27 および支持体 26 によって、分離媒体 6 に接続させるものであってもよい。

30

【0163】

吸着用部材 7 は、ロール 30 に巻かれて第 2 緩衝液槽 4 内に配置され、転写時には第 2 緩衝液槽 4 の上部から引き出されてもよい。吸着用部材 7 の移動は、移動アーム（図示せず）に引き上げられる形でもよいし、別の槽にあるサンプル吸着用部材回収ロール（図示せず）によって巻き取られる形であっても構わない。これによって、吸着用部材 7 へのサンプルの転写終了後には、別の槽において、ウエスタンプロッキングを行うためのプローブとのハイブリッド形成などを行うことができる。

【0164】

以上のように、本実施形態に係るサンプル分離吸着器具 120 においても、実施形態 1 および 2 と同様の効果を得ることができる。

40

【0165】

なお、上述の説明では、サンプルを連続的に吸着させるために、吸着用部材 7 を移動させているが、本発明はこれに限られず、例えば、吸着用部材 7 を移動せず、サンプル分離部 5 自体を移動することによって、第 2 開口 12 と吸着用部材 7 との相対的な位置を変えてもよい。

【実施例】

【0166】

以下、実施例に基づいて本発明をより詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

50

## 【0167】

## 〔第1実施例〕

実施例1として、図8および図9に示すようなサンプル分離吸着器具を作製した。なお、以下の説明において、「幅」はY方向の寸法を、「長さ」はX方向の寸法を、「厚さ」はZ方向の寸法を意味している。

## 【0168】

サンプル分離部5を、幅60mm×長さ30mm×厚さ5mmの寸法でガラスから形成した。サンプル分離部5の先端部13については、分解能を向上させるために、45°の傾斜角を有する先細り形状になるよう作製した。また、先端部13の端面の中央には、Z軸方向に300μmの長さを有する第2開口12を設けた。

10

## 【0169】

サンプル分離部5に分離媒体6を充填する前に、先端部13に多孔質膜14を取り付けた。多孔質膜14が先端部13を覆うように配置し、それを粘着テープで固定した。多孔質膜14には、市販の0.65μmのDurapore（登録商標）メンブレンフィルター（Millipore社製）を使用した。

## 【0170】

次に、pH6.4のBis-Trisバッファーを用いた10%ポリアクリルアミドゲルを用いて、転写補助体10（幅60mm×長さ0.5mm×厚さ0.3mm）と分離媒体6（幅60mm×長さ30mm×厚さ1mm）とを作成した。

## 【0171】

20

分離媒体6および転写補助体10を作成するために、アクリル製の治具（図示せず）を利用した。治具は、ねじ穴の開いたL字の土台部と、サンプル分離部5を固定するための平板から構成されている。平板は、重合前のアクリルアミド溶液が漏れだすのを防ぐため役割も担っている。

## 【0172】

L字の土台部の底面に対し、多孔質膜14を取り付けたサンプル分離部5を、多孔質膜14が下に、接続部25が上に位置するようにセットし、平板と土台部とをネジで固定してサンプル分離部5が固定した。この固定時、転写補助体10における目的のX軸方向長さに合わせて、平板からサンプル分離部5の下端までの高さを調整した。さらに、重合前のアクリルアミド溶液が漏れだすのを防ぐために、サンプル分離部5の側面、および

30

## 【0173】

平板と土台部の底面が接している面を1%アガロースゲルで固定した。

次に、サンプル分離部5の第2開口12から、ゲル重合前のアクリルアミド溶液を注いだ。この際、多孔質膜14にも、同じポリアクリルアミドゲルを含ませた。アクリルアミドゲルを重合させた後、アクリル製の治具からサンプル分離部5を取り出すことによって、サンプル分離部5内に分離媒体6を形成した。また、サンプル分離部5および多孔質膜14の周りについている余分なアクリルアミドゲルを除去することによって、転写補助体10を成形した。

## 【0174】

なお、分離媒体6にサンプル分離部5に充填する際に、ウェル（55mm×5mm×1mmの凹み）を予め作製しておいた。

40

## 【0175】

次に、多孔質膜14および転写補助体10を取り付けたサンプル分離部5を、サンプル分離吸着器具110にセットし、第1緩衝液槽3を緩衝液で満たした。緩衝液としては、pH7.3のMOPSバッファー（Invitrogen社製）を用いた。また、第1緩衝液槽3には白金線で作製した陰電極1を挿入した。

## 【0176】

次に、吸着用部材7を第3緩衝液槽16に挿入し、吸着用部材7の上部を移動アーム28に固定した。吸着用部材7としては、市販のPVDF膜であるImmobilon F L（Millipore社製）を、予めメタノールを用いて親水化処理を施したものを

50

いた。第3緩衝液槽16には、市販のpH7.2のNuPAGE転写バッファー(Invitrogen)に20%メタノールを混合してなる緩衝液を満たした。これによって、吸着用部材7は、緩衝液に浸った状態になった。

【0177】

次に、保持部8(幅60mm×長さ10mm×厚さ10mm)を、収容容器9中でサンプル分離部5に向かってスライド移動できるように設けた。

【0178】

なお、保持部8については、絶縁構造体18をアクリルで作製し、その内部にpH6.4のBis-Trisバッファーを用いた10%ポリアクリルアミドゲル(幅60mm×長さ10mm×厚さ1mm)を充填して導電媒体17とした。導電媒体17の先端部21の形状は平面形状とした。

10

【0179】

次に、第2緩衝液槽4を緩衝溶液で満たした。緩衝溶液としては、上述した第3緩衝液槽16と同様に、市販のpH7.2のNuPAGE転写バッファー(Invitrogen)に20%メタノールを混合してなる緩衝液を用いた。第2緩衝液槽4には白金線で作製した陽電極2を挿入した。

【0180】

次に、保持部8を付勢部15によって移動させることによって、吸着用部材7を、転写補助体10と保持部8内の導電媒体17とに密着させた。

【0181】

20

なお、電圧印加時の発熱防止のために、ペルチェ素子を用いた冷却装置(図示せず)を、収容容器9下部のスペースに装着した。

【0182】

以上によって、実施例1に係るサンプル分離吸着器具を作製した。

【0183】

次に、上述にて作成したサンプル分離吸着器具において、サンプルの分離および転写を行った。

【0184】

まず、サンプルとしては、蛍光色素Cy5(最大励起波長649nm、最大蛍光波長670nm)で染色したマウスの肝臓の可溶性タンパク質を用いた。サンプルは別途、IPGゲル(52mm×1mm×1mm)にて予め1次元目の等電点電気泳動を行い、1MのDTT(dithiothreitol)と、市販のLDSサンプルバッファー(Invitrogen社製)とを混合してなる平衡化バッファーによって平衡化させて、ゲルスリップ24を準備した。

30

【0185】

準備したゲルスリップ24を分離媒体6のウェルに手動で導入した後、サンプルが第1緩衝液槽3の緩衝液中に流出しないように、0.5%のアガロースゲルで固定化した。

【0186】

サンプル導入後、陰電極1と陽電極2との間に電圧を印加し、25mA定電流条件にて、25分の電気泳動分離を行った。上述したLDSサンプルバッファーには染色剤Coomassie G250で染色された追跡用色素が含まれているため、追跡用色素を基に電気泳動の経過を確認することができた。

40

【0187】

電気泳動分離の設定時間経過後、40mA定電流条件に変更し、予めプログラミングされた速度で、移動アーム28によって吸着用部材7の引き上げを開始した。これによって、サンプル分離部5より排出されたサンプルは連続的に吸着用部材7に転写され、また、吸着用部材7は移動アーム28によってプログラムされた速度で回収された。吸着用部材7への転写は120分行った。

【0188】

吸着用部材7への転写終了後は、吸着用部材7に付着した余分なバッファーや化合物を

50

除去するため、吸着用部材 7 を移動アーム 28 から取り外し、純水にて 2 分間攪拌した。

【0189】

その後、蛍光塗料 Cy5 (最大励起波長 649 nm、最大蛍光波長 670 nm) を用いてサンプルを染色した。次いで、GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社製 Typhoon Trio を用い、670 nm バンドパスフィルタ、光原子増倍管電圧 400 V にて、蛍光検出を行った。

【0190】

一方、実施例 1 に対する比較例 1 として、サンプル分離部 5 に多孔質膜 14 および転写補助体 10 を取り付けない他は、実施例 1 と同様の装置を用いて、実施例 1 と同様の方法によってサンプルの分離および転写を行った。

【0191】

比較例 1 では、分離媒体 6 をサンプル分離部 5 に注入する際、実施例 1 に用いたものと同様のアクリル製の治具を使用した。この際、サンプル分離部 5 には多孔質膜 14 を巻かず、サンプル分離部 5 をアクリル製の治具にセットし、サンプル分離部 5 の第 2 開口 12 からゲル重合前の 10% アクリルアミド溶液を注ぎ、ゲル重合後、余分なアクリルアミドゲルを除去した。

【0192】

図 14 (a) は、実施例 1 について、蛍光検出を行った吸着用部材 7 を示す図であり、図 14 (b) は、比較例 1 について、蛍光検出を行った吸着用部材 7 を示す図である。

【0193】

図 14 (a) (b) をそれぞれ比較すると、実施例 1 において、比較例 1 よりも、サンプルスポット数が多く、サンプルの引きずりも少なくなっていることが分かる。したがって、本発明に係るサンプル分離吸着器具によれば、サンプル吸着 (転写) を高精度および高効率で行うことができることが明らかとなった。

【0194】

〔第 2 実施例〕

実施例 2 として、保持部 8 に対して密着補助体 23 および第 2 の多孔質膜 22 を取り付けしたサンプル分離吸着器具を作成した。実施例 2 では、第 1 実施例と同様であるところの説明を割愛し、以下には相違点のみを説明する。

【0195】

保持部 8 を作製する際には、絶縁構造体 18 の内側に導電媒体 17 を充填する前に、その先端部 21 に第 2 の多孔質膜 22 を取り付けた。第 2 の多孔質膜 22 が、先端部 21 を覆うように配置し、それを粘着テープで固定した。このとき、第 2 の多孔質膜 22 は、保持部 8 のスライド移動による影響を受けないように固定することが好ましい。第 2 の多孔質膜 22 としては、市販の 0.65 μm 径の Durapore (登録商標) メンブレンフィルター (Millipore 社製) を使用した。

【0196】

次に、密着補助体 23 (幅 60 mm × 長さ 10 mm × 厚さ 0.3 mm) を作製するために、導電媒体 17 (幅 60 mm × 長さ 10 mm × 厚さ 1 mm) に同じ pH 6.4 の Bis-Tris バッファーを用いた 10% ポリアクリルアミドゲルを使用し、また、アクリル製の治具を利用した。

【0197】

治具としては、分離媒体 6 および転写補助体 10 の作製に用いたものと同様に、L 字の土台部と平板とから構成されたものを用いた。L 字の土台部の底面に、第 2 の多孔質膜 22 を取り付けた保持部 8 を、第 2 の多孔質膜 22 が下に位置するようにセットし、平板と土台部をネジで固定して保持部 8 を固定した。この固定時、密着補助体 23 における目的の X 軸方向の長さに合わせて、平板から保持部 8 の下端までの高さを調整した。さらに、重合前のアクリルアミド溶液が漏れだすのを防ぐため、保持部 8 の側面、および、平板と土台部の底面が接している面を 1% アガロースゲルで固定した。

【0198】

10

20

30

40

50

次に、先端部 2 1 側から、絶縁構造体 1 8 の内側にゲル重合前のアクリルアミド溶液を注いだ。この際、第 2 の多孔質膜 2 2 にも同じポリアクリルアミドゲルを含ませた。アクリルアミドゲルを重合させた後、アクリル製の治具から、保持部 8 を取り出すことによって、導電媒体 1 7 を形成した。また、保持部 8 および第 2 の多孔質膜 2 2 の周りについている余分なアクリルアミドゲルを除去することによって、密着補助体 2 3 を成形した。

【 0 1 9 9 】

次に、第 2 の多孔質膜 2 2 および密着補助体 2 3 を取り付けた保持部 8 を、吸着用部材 7 と密着補助体 2 3 とが密着するようにセットした。

【 0 2 0 0 】

上述のように保持部を作製した実施例 2 によれば、実施例 1 よりも、サンプル吸着（転写）を高精度および高効率で行うことができた。

10

【 0 2 0 1 】

本発明は上述した各実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせ得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。

【 0 2 0 2 】

また、本明細書中に記載された学術文献および特許文献の全てが、本明細書中において参考として援用される。

【 産業上の利用可能性 】

【 0 2 0 3 】

20

本発明に係るサンプル分離吸着器具は、例えば創薬研究開発に利用可能であり、また診断用医療関係機器へ応用することも可能である。

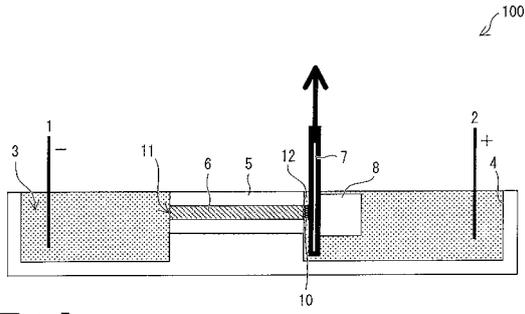
【 符号の説明 】

【 0 2 0 4 】

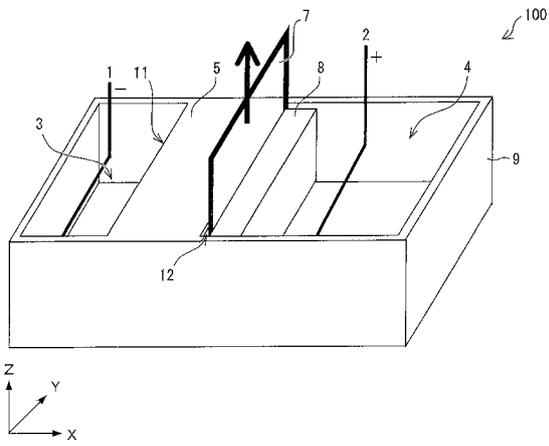
- 5 サンプル分離部
- 6 分離媒体
- 7 吸着用部材（サンプル吸着用部材）
- 8、2 9 保持部
- 1 0 転写補助体
- 1 1 第 1 開口
- 1 2 第 2 開口
- 1 4 多孔質膜
- 1 5 付勢部（付勢手段）
- 1 7 導電媒体
- 1 8 絶縁構造体
- 2 2 第 2 の多孔質膜
- 2 3 密着補助体
- 1 0 0、1 1 0、1 2 0 サンプル分離吸着器具

30

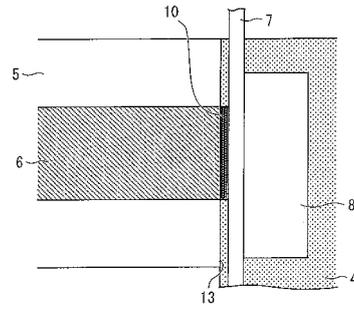
【図1】



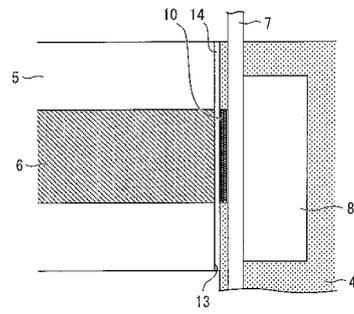
【図2】



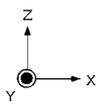
【図3】



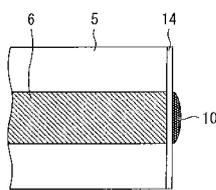
【図4】



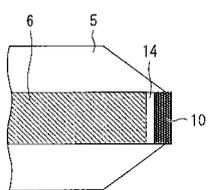
【図5】



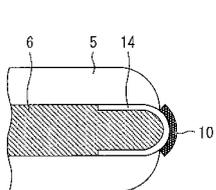
(a)



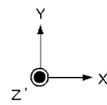
(b)



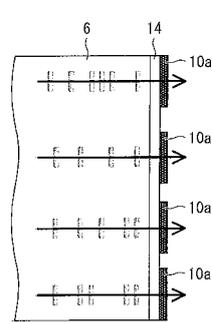
(c)



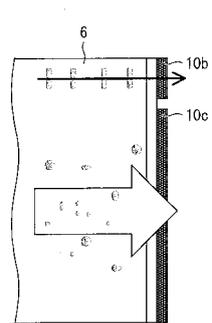
【図6】



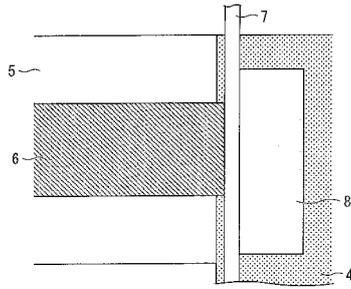
(a)



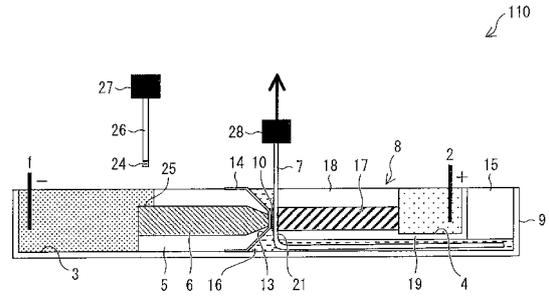
(b)



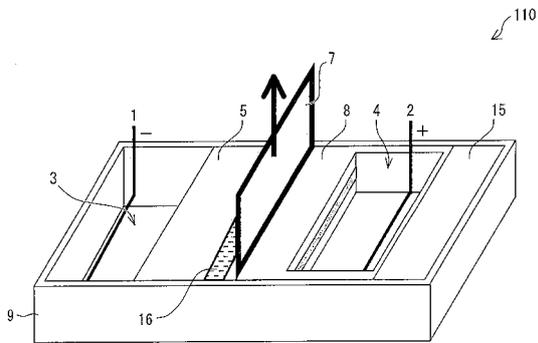
【図 7】



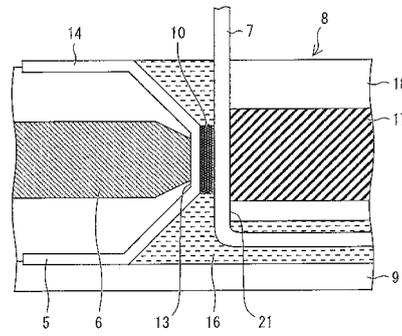
【図 9】



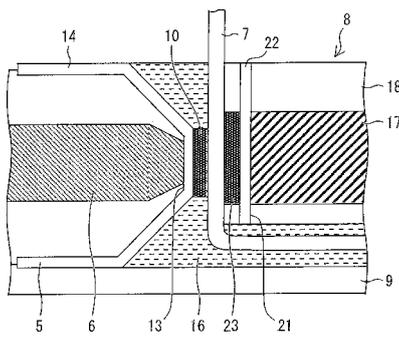
【図 8】



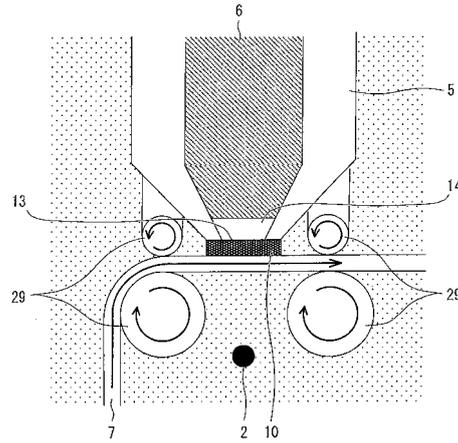
【図 10】



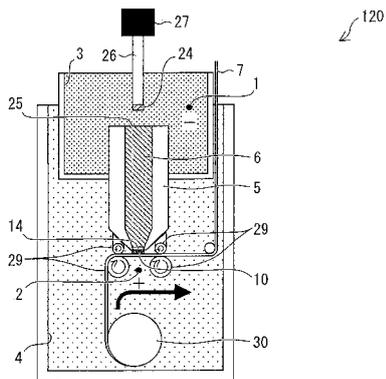
【図 11】



【図 13】

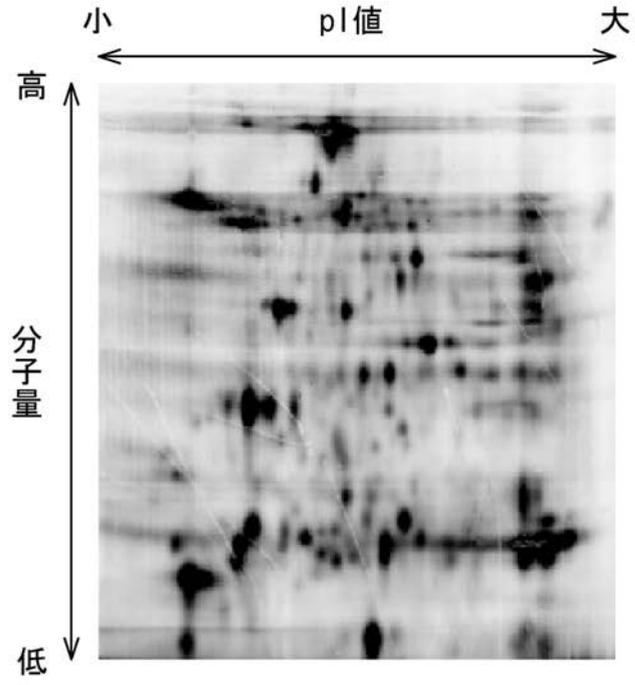


【図 12】

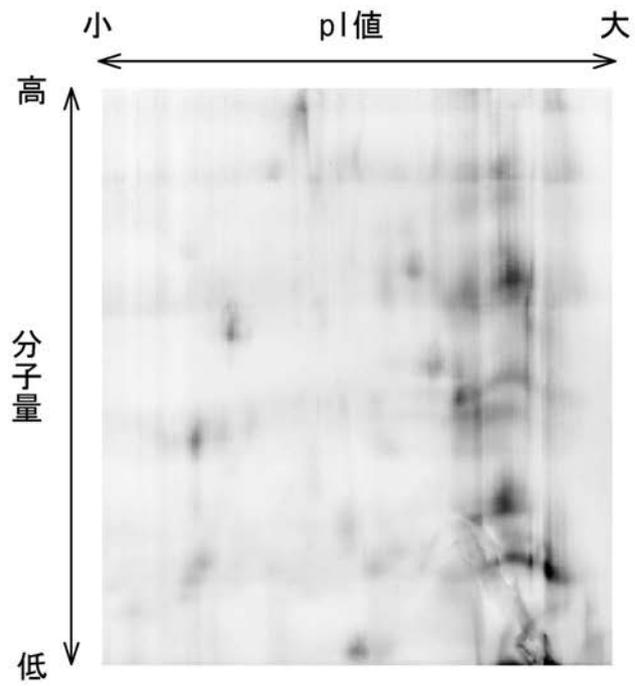


【図14】

(a)



(b)



---

フロントページの続き

審査官 黒田 浩一

- (56)参考文献 特開2010-008376(JP,A)  
特開平01-112147(JP,A)  
特開平04-264253(JP,A)  
特開2011-058968(JP,A)  
特開2007-292616(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G01N 27/447