

(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2015-139398

(P2015-139398A)

(43) 公開日 平成27年8月3日(2015. 8. 3)

(51) Int.Cl.			F I	テーマコード (参考)		
C 1 2 M	1/00	(2006.01)	C 1 2 M	1/00	A	4 B 0 2 4
C 1 2 M	1/26	(2006.01)	C 1 2 M	1/26		4 B 0 2 9
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	A	

審査請求 未請求 請求項の数 14 O L (全 29 頁)

(21) 出願番号 特願2014-13666 (P2014-13666)
 (22) 出願日 平成26年1月28日 (2014. 1. 28)

(71) 出願人 300090846
 株式会社ライフテック
 埼玉県入間市宮寺字宮ノ台4074番地
 (71) 出願人 504013775
 学校法人 埼玉医科大学
 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38
 (74) 代理人 100112689
 弁理士 佐原 雅史
 (74) 代理人 100128934
 弁理士 横田 一樹
 (72) 発明者 武居 修
 埼玉県入間市宮寺字宮ノ台4074番地
 株式会社ライフテック内

最終頁に続く

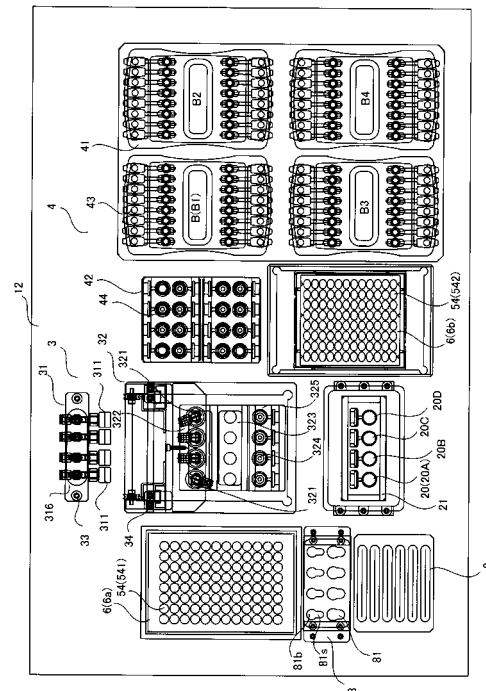
(54) 【発明の名称】 核酸抽出装置および核酸抽出方法

(57) 【要約】

【課題】 小型で安価、かつ作業者への病原体の暴露も抑制し、操作も容易な核酸抽出装置および核酸抽出方法を提供する。

【解決手段】 核酸抽出装置は、前記検体を収容する容器およびフィルタを備えた分離手段と、前記分離手段に接続する加圧手段と、前記分離手段に連結可能となる回収手段と、前記検体を分注する分注手段と、前記分注手段を駆動する駆動手段と、前記加圧手段、前記駆動手段および前記加圧手段の制御を行う制御手段と、を備え、前記制御手段は、前記分注手段を駆動して前記分離手段に前記検体を分注し、前記加圧手段により前記分離手段を加圧して前記検体と前記核酸を分離する。

【選択図】 図3



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

検体から核酸を抽出する核酸抽出装置であって、
前記検体を収容する容器およびフィルタを備えた分離手段と、
前記分離手段に接続する加圧手段と、
前記分離手段に連結可能となる回収手段と、
前記検体を分注する分注手段と、
前記分注手段を駆動する駆動手段と、
前記加圧手段、前記駆動手段および前記加圧手段の制御を行う制御手段と、
を備え、
前記制御手段は、
前記分注手段を駆動して前記分離手段に前記検体を分注し、
前記加圧手段により前記分離手段を加圧して前記検体と前記核酸を分離する、
ことを特徴とする核酸抽出装置。

10

【請求項 2】

前記加圧手段は、
設定圧閾値を超える圧力まで前記分離手段を加圧した後、前記分離手段を前記圧力下で所定時間保持し、その後減圧する加減圧サイクルを、前記分離手段に分注された一の前記検体について複数回実行する、
ことを特徴とする請求項 1 に記載の核酸抽出装置。

20

【請求項 3】

前記加圧手段は、前記所定時間の経過後であっても前記分離手段に加えられた圧力が前記設定圧閾値を下回らない場合に、前記分離手段を減圧する、
ことを特徴とする請求項 2 に記載の核酸抽出装置。

【請求項 4】

前記所定時間の経過後であっても前記分離手段に加えられた圧力が前記設定圧閾値を下回らない場合に、エラーを報知するエラー報知手段を備える、
ことを特徴とする請求項 2 または請求項 3 に記載の核酸抽出装置。

【請求項 5】

前記分離手段に加えられた圧力が前記設定圧閾値を下回らない場合に、追加の前記加減圧サイクルを実行する、
ことを特徴とする請求項 4 に記載の核酸抽出装置。

30

【請求項 6】

前記回収手段に対応した他の回収手段と、
プライマー溶液を保持するプライマー保持手段と、を備え、
前記制御手段によって、前記分注手段を駆動して、前記回収手段に存在する分離された前記核酸および、前記プライマー保持手段で保持される前記プライマー溶液を前記他の回収手段に分注される、
ことを特徴とする請求項 1 ~ 請求項 5 のいずれかに記載の核酸抽出装置。

【請求項 7】

一の前記回収手段に対して前記他の回収手段および前記プライマー保持手段は複数設けられ、
該プライマー保持手段にはそれぞれ異なるプライマー溶液が保持される、
ことを特徴とする請求項 6 に記載の核酸抽出装置。

40

【請求項 8】

前記分注手段のチップを自動で交換するチップ交換手段を備える、
ことを特徴とする請求項 1 ~ 請求項 7 のいずれかに記載の核酸抽出装置。

【請求項 9】

前記分離手段は、固相抽出カラムである、
ことを特徴とする請求項 1 ~ 請求項 8 のいずれかに記載の核酸抽出装置。

50

【請求項 10】

検体から核酸を抽出する核酸抽出方法であって、
前記検体を収容する容器およびフィルタを備えた分離手段に前記検体を分注する工程と

、
前記分離手段を複数回加圧して前記検体から前記核酸を分離する工程と、
前記分離手段から排出される流出液を回収して前記核酸を抽出する工程と、
を具備することを特徴とする核酸抽出方法。

【請求項 11】

前記分離手段に分注された一の前記検体について、設定圧閾値を超える圧力で前記分離手段を加圧した後、前記分離手段を前記圧力下で所定時間保持し、その後減圧する加減圧サイクルを、複数回実行する、
ことを特徴とする請求項 10 に記載の核酸抽出方法。

10

【請求項 12】

前記所定時間の経過後であっても前記分離手段に加えられた圧力が前記設定圧閾値を下回らない場合に、前記分離手段を減圧する、
ことを特徴とする請求項 11 に記載の核酸抽出方法。

【請求項 13】

前記分離手段は、固相抽出カラムである、
ことを特徴とする請求項 10 ~ 請求項 12 のいずれかに記載の核酸抽出方法。

【請求項 14】

抽出した前記核酸にプライマー溶液を添加する工程を具備する、
ことを特徴とする請求項 10 ~ 請求項 13 のいずれかに記載の核酸抽出方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、検体から核酸を抽出し、また核酸を含む溶液を調製する核酸抽出装置および核酸抽出方法に関する。

【背景技術】

【0002】

従来、核酸（デオキシリボ核酸：DNA（deoxyribonucleic acid）またはリボ核酸：RNA（ribonucleic acid））の抽出方法としては、磁気ビーズを用いて分離する方法（例えば、特許文献 1 参照）や、抽出カラムを遠心して分離する方法（例えば、特許文献 2 参照、以下抽出カラム遠心分離法という。）などが知られている。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】特表 2009 - 509549 号公報

【特許文献 2】特開 2009 - 131264 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

40

【0004】

しかしながら、磁気ビーズを用いる分離方法では、高コストである上、例えば、喀痰など粘性が高い検体の場合において核酸の回収率が低いという問題があった。

【0005】

これに対し、抽出カラム遠心分離法は、抽出カラム内に核酸を固定化し、残液等を遠心力によって取り除くことで、最終的に核酸を抽出する方法である。このため、粘性が高い検体であっても核酸の分離が容易であるが、遠心分離機が必須となり、装置の大型化・複雑化が避けられない。また、その装置は高価であるため、抽出コスト低減には限界があった。

【0006】

50

また上記の方法によって抽出した核酸を解析し、喀痰中の病原体が同定される。具体的には、抽出カラム遠心分離法等によって抽出されたある患者の核酸を、複数の容器に分注し、そこに、例えば、複数種の異なるプライマー溶液（所定のプライマー、PCR試薬、酵素および緩衝溶液等で調製した溶液）をそれぞれへ分注した後、それらをPCR反応し解析することで、病原体を同定する。

【0007】

しかし、従来は、核酸および各プライマー溶液の分注作業は手作業で行われており、また患者毎に複数のプライマー溶液の分注が必要であった。このような方法では、単純作業の繰り返しによってミスが生じ易く、作業者に病原体が感染する恐れもあった。また分注作業は、個別の作業は単純であるが、プライマー溶液および患者毎にチップ交換をする必要があり、分注の数が多くなるため、作業全体としては繁雑で手間のかかる作業である。このため、チップの交換忘れや、プライマー（溶液）の混合などによるコンタミネーションが発生するなどの問題が生じた。

10

【0008】

本発明は、小型で安価、かつ作業者への病原体の暴露も抑制し、操作も容易な核酸抽出装置および核酸抽出方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、以下の手段によって、上記課題を解決したものである。

【0010】

20

(1)本発明は、検体から核酸を抽出する核酸抽出装置であって、前記検体を収容する容器およびフィルタを備えた分離手段と、前記分離手段に接続する加圧手段と、前記分離手段に連結可能となる回収手段と、前記検体を分注する分注手段と、前記分注手段を駆動する駆動手段と、前記加圧手段、前記駆動手段および前記加圧手段の制御を行う制御手段とを備え、前記制御手段は、前記分注手段を駆動して前記分離手段に前記検体を分注し、前記加圧手段により前記分離手段を加圧して前記検体と前記核酸を分離することを特徴とする核酸抽出装置である。

【0011】

(2)また、本発明は上記発明に関連して、前記加圧手段は、設定圧閾値を超える圧力まで前記分離手段を加圧した後、前記分離手段を前記圧力下で所定時間保持し、その後減圧する加減圧サイクルを、前記分離手段に分注された一の前記検体について複数回実行する、ことを特徴とするものである。

30

【0012】

(3)また、本発明は上記発明に関連して、前記加圧手段は、前記所定時間の経過後であっても前記分離手段に加えられた圧力が前記設定圧閾値を下回らない場合に、前記分離手段を減圧する、ことを特徴とするものである。

【0013】

(4)また、本発明は上記発明に関連して、前記所定時間の経過後であっても前記分離手段に加えられた圧力が前記設定圧閾値を下回らない場合に、エラーを報知するエラー報知手段を備える、ことを特徴とするものである。

40

【0014】

(5)また、本発明は上記発明に関連して、前記分離手段に加えられた圧力が前記設定圧閾値を下回らない場合に、追加の前記加減圧サイクルを実行する、ことを特徴とするものである。

【0015】

(6)また、本発明は上記発明に関連して、前記回収手段に対応した他の回収手段と、プライマー溶液を保持するプライマー保持手段と、を備え、前記制御手段によって、前記分注手段を駆動して、前記回収手段に存在する分離された前記核酸および、前記プライマー保持手段で保持される前記プライマー溶液を前記他の回収手段に分注される、ことを特徴とするものである。

50

【0016】

(7)また、本発明は上記発明に関連して、一の前記回収手段に対して前記他の回収手段および前記プライマー保持手段は複数設けられ、該プライマー保持手段にはそれぞれ異なるプライマー溶液が保持される、ことを特徴とするものである。

【0017】

(8)また、本発明は上記発明に関連して、前記分注手段のチップを自動で交換するチップ交換手段を備える、ことを特徴とするものである。

【0018】

(9)また、本発明は上記発明に関連して、前記分離手段は、固相抽出カラムである、ことを特徴とするものである。

10

【0019】

(10)また、本発明は、検体から核酸を抽出する核酸抽出方法であって、前記検体を収容する容器およびフィルタを備えた分離手段に前記検体を分注する工程と、前記分離手段を複数回加圧して前記検体から前記核酸を分離する工程と、前記分離手段から排出される流出液を回収して前記核酸を抽出する工程と、を具備することを特徴とする核酸抽出方法である。

【0020】

(11)また、本発明は上記発明に関連して、前記分離手段に分注された一の前記検体について、設定圧閾値を超える圧力で前記分離手段を加圧した後、前記分離手段を前記圧力下で所定時間保持し、その後減圧する加減圧サイクルを、複数回実行する、ことを特徴とするものである。

20

【0021】

(12)また、本発明は上記発明に関連して、前記所定時間の経過後であっても前記分離手段に加えられた圧力が前記設定圧閾値を下回らない場合に、前記分離手段を減圧する、ことを特徴とするものである。

【0022】

(13)また、本発明は上記発明に関連して、前記分離手段は、固相抽出カラムである、ことを特徴とするものである。

【0023】

(14)また、本発明は上記発明に関連して、抽出した前記核酸にプライマー溶液を添加する工程を具備する、ことを特徴とするものである。

30

【発明の効果】

【0024】

本発明によれば、小型で安価、かつ作業への病原体の暴露も抑制し、操作も容易な核酸抽出装置および核酸抽出方法を提供できる。

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1】本実施形態に係る核酸抽出装置の外観斜視図である。

【図2】本実施形態の核酸抽出装置の主要部分を抜き出して示す概略図である。

【図3】本実施形態の核酸抽出装置内の基台の上面図である。

40

【図4】本実施形態の核酸抽出部を示す図であり、(a)正面図であり、(b)側面図である。

【図5】本実施形態の核酸抽出部の動作を示す概要側面図である。

【図6】分注部を示す図であり、(a)正面図であり、(b)側面図である。

【図7】本実施形態の核酸抽出装置を用いた核酸抽出方法の一例を示すプロトコル図である。

【図8】加圧部のエラー検出機構について説明する図であり、(a)正常時の状態を示す図であり、(b)カラム詰まりによるエラーを検出した状態の図である。

【図9】表示部に表示される画面遷移の一例である。

【図10】表示部に表示される画面遷移の一例である。

50

【図 1 1】従来技術に係る抽出カラム遠心法を用いた核酸抽出方法と本実施形態の核酸抽出方法によって病原体の同定を行った結果である。

【図 1 2】従来技術に係る抽出カラム遠心法を用いた核酸抽出方法と本実施形態の核酸抽出方法を比較した図である。

【発明を実施するための形態】

【0026】

以下、図面を参照して、本発明の実施形態に係る核酸抽出装置および核酸抽出方法について詳細に説明する。

【0027】

図 1 は、本実施形態に係る核酸抽出装置 10 の外観斜視図である。核酸抽出装置 10 は、ハウジング 1 と、表示部 2 と、核酸抽出部 3 と、プライマー処理部 4 と、分注部 5 と、制御部 C T を有する。なお、図 1 では説明の便宜上制御部 C T を核酸抽出装置 10 の外部に示しているが、制御部 10 は、核酸抽出装置 10 の内部に設けられるものである。

10

【0028】

ハウジング 1 には、前面扉 11 が設けられている。前面扉 11 は例えば左右端に設けられたスライダー（不図示）によって上下方向にスライド開閉可能となっている。

【0029】

表示部 2 は、所定の情報を表示するとともに、入力も可能とするタッチパネルであり、ハウジング 1 の前面（例えば、前面扉 11 の下方）に設けられる。

【0030】

ハウジング 1 の内部の基台 12 には、核酸抽出部 3 とプライマー処理部 4 が設けられている。また、ハウジング 1 の天井部分には、分注部 5 がハウジング 1 内を上下左右前後方向に移動自在に懸垂している。分注部 5 は、複数の分注シリンダ 50 と、これらを保持するシリンダ保持部 51 と、駆動部 52 を備えている。

20

【0031】

核酸抽出部 3 は、加圧部 31 と分離部 32 とここでは不図示の移動機構を備えている。加圧部 31 は分離部 32 を加圧し、これにより、検体中に含まれる核酸を分離・抽出する。なお、本実施形態の検体は例えば患者の喀痰であり、抽出する核酸は例えば、喀痰内の DNA（病原体を含む）である。

【0032】

プライマー処理部 4 は、プライマー溶液分注用のチューブ（以下、PCR（polymerase chain reaction）チューブという。）を保持する PCR チューブ保持部 41 と、複数のプライマー溶液を収容するプライマー保持部 42 を備えている。プライマー処理部 4 では、核酸抽出部 3 にて抽出された核酸が PCR チューブに分注されるとともに、各種プライマー溶液が各 PCR チューブに分注される。このときプライマー溶液には PCR に必要な所定のプライマー、PCR 試薬、酵素および緩衝溶液等が既に含まれている。

30

【0033】

図 2 は、本実施形態の加圧部 31 と、分離部 32 の一部を抜き出して示す概略図である。分離部 32 は、固相抽出カラム 321 および、核酸の回収用チューブ 324 を有する。固相抽出カラム 321 は、例えば、カラム C M 内にガラス繊維や荷電樹脂などからなるフィルタ（メンブレン）F を備えたものであり、フィルタ F への核酸の吸着性を利用して検体と核酸を分離する。すなわち、親水的な性質を持つ核酸は、疎水性の高い溶液中ではフィルタ F に吸着し、疎水的な性質を持つタンパク質や脂質などはそのまま流れ落ち易い状態となる。

40

【0034】

加圧部 31 は、加圧用カラムキャップ 311、加圧チューブ 312、加圧シリンジ 313、圧力センサ 315 などからなる。加圧用カラムキャップ 311 は固相抽出カラム 321 の上方を密閉する。そして加圧用カラムキャップ 311 には加圧チューブ 312 の一端が連結し、加圧チューブ 312 の他端は、加圧シリンジ 313 に連結している。加圧シリンジ 313 は、円筒形のシリンジ 313a と可動式のプランジャ 313b からなり、加圧

50

チューブ 3 1 2 を介して固相抽出カラム 3 2 1 を加圧する。また、例えば加圧チューブ 3 1 2 には圧力センサ 3 1 5 が取り付けられ、固相抽出カラム 3 2 1 の圧力（固相抽出カラム 3 2 1 に加えられる圧力）を測定できるようになっている。

【 0 0 3 5 】

本実施形態の核酸抽出部 3 では、固相抽出カラム 3 2 1 のカラム C M 内に、喀痰などの検体を分注し、加圧部 3 1 により加圧することで、病原体を含む核酸がフィルタ F に吸着し、廃液がフィルタ F を通過して固相抽出カラム 3 2 1 の外部に流出する。廃液は、廃液用のチューブに排出してもよいし、廃液槽に排出してもよい。その後、固相抽出カラム 3 2 1 を核酸の回収用チューブ 3 2 4 上に配置し、核酸の回収用溶液または蒸留水を固相抽出カラム 3 2 1 に分注して加圧すると、フィルタ F に吸着していた核酸が回収用チューブ 3 2 4 に回収される。

10

【 0 0 3 6 】

また、核酸抽出装置 1 0 は、検体の固相抽出カラム 3 2 1 への分注、加圧部 3 1 による加圧、および抽出した核酸の P C R チューブへの分注、さらに当該 P C R チューブへのプライマー溶液の添加までを、全て自動化し、連続処理することができる。

【 0 0 3 7 】

図 3 ~ 図 6 は、核酸抽出装置 1 0 内の構成を示す図であり、図 3 が、基台 1 2 の上面図である。図 4 が核酸抽出部 3 を抽出して示す図であり、図 4 (a) が正面図、図 4 (b) が側面図である。図 5 が核酸抽出部 3 の動作の様子を示す外観側面図である。図 6 が分注部 5 を抽出して示す図であり、図 6 (a) が正面図、図 6 (b) が側面図である。

20

【 0 0 3 8 】

図 3 に示すように、核酸抽出部 3 と、プライマー処理部 4 とは基台 1 2 の同一面上に併設されている。

【 0 0 3 9 】

核酸抽出部 3 の分離部 3 2 は、固相抽出カラム 3 2 1 と、固相抽出カラム 3 2 1 を複数個（ここでは 4 個）横並びで保持するカラム保持部 3 2 2 と、廃液槽 3 2 3 と、回収用チューブ 3 2 4 と、回収用チューブ 3 2 4 を保持する回収用チューブ保持部 3 2 5 とを有する。加圧部 3 1 は、加圧用カラムキャップ 3 1 1 と、加圧用カラムキャップ 3 1 1 を保持するキャップ保持部 3 1 6 と、ここでは不図示の加圧チューブ、加圧シリンジ、圧力センサなど（図 2 参照）を有する。また、核酸抽出部 3 は、キャップ保持部 3 1 6 を上下（基台 1 2 に対して垂直）方向に移動する第 1 移動機構 3 3 と、カラム保持部 3 2 2 を上下方向に移動すると共に、カラム保持部 3 2 2 および回収用チューブ保持部 3 2 5 をそれぞれ、前後（基台 1 2 に対して水平）方向に移動する第 2 移動機構 3 4 を備える。

30

【 0 0 4 0 】

固相抽出カラム 3 2 1 は、第 2 移動機構 3 4 によって加圧用カラムキャップ 3 1 1 の下方に移動可能であり、加圧用カラムキャップ 3 1 1 により密閉される。

【 0 0 4 1 】

廃液槽 3 2 3 は、固相抽出カラム 3 2 1 から排出される廃液を回収する槽であり、第 2 移動機構 3 4 によって固相抽出カラム 3 2 1 の下方に移動可能である。また、回収用チューブ 3 2 4 は、分離された核酸を回収するチューブであり、第 2 移動機構 3 4 によって廃液槽 3 2 3 とは異なるタイミングで、固相抽出カラム 3 2 1 の下方に移動可能である。

40

【 0 0 4 2 】

ここでは一例として、カラム保持部 3 2 2 は 4 つの固相抽出カラム 3 2 1 を一度に保持可能であり、これに対応して、加圧用カラムキャップ 3 1 1、回収用チューブ 3 2 4、検体用チューブ 2 0 (2 0 A , 2 0 B , 2 0 C , 2 0 D) もそれぞれ 4 個設けられている。すなわち、一度に 4 種の検体（ 4 人分の検体）の核酸抽出作業を並列処理することができるようになっている。

【 0 0 4 3 】

プライマー処理部 4 は、P C R チューブ保持部 4 1 と、プライマー保持部 4 2 を備えている。P C R チューブ保持部 4 1 で保持される P C R チューブ 4 3 は、1 つの検体に対し

50

て複数個（例えば12個から16個）準備され、これらがマトリクス状に配列されて1つのブロックBを構成している。すなわちここでは、4つの検体に対応して、4ブロック（B1～B4）のPCRチューブ保持部41が配置されている。プライマー保持部42は、複数個（例えば16個）のプライマーチューブ44を備え、これらがマトリクス状に配列されて複数種類（例えば16種類）の異なるプライマー溶液が保持されている。1ブロックのPCRチューブ43の数は、プライマー保持部42のプライマーチューブ44の数に対応しているか、それ以上の数である。

【0044】

基台12には、分注部の分注シリンダ（ここでは不図示）の先端に着脱可能なチップ54をマトリクス状に立てて配列保持するチップラック（チップホルダ）6（6a、6b）を備える。チップは例えば、1000 μ L用チップ541と、20 μ L用チップ542がある。チップラック6aには1000 μ L用チップが保持され、チップラック6bには20 μ L用チップが保持される。

10

【0045】

また、廃棄チップを収納する廃棄チップ置場8、試薬槽9、複数の検体用チューブ20を配列保持する検体置場21が設けられている。検体置場21は、攪拌機能と温度調節機能を有している。

【0046】

図4を参照して、核酸抽出部3についてさらに説明する。同図では、加圧部31と分離部32とがいずれも初期位置にある状態を示している。また同図（b）では右を前方（手前）側とし、左を後方（奥）側としている。

20

【0047】

同図（a）（b）に示すように、初期位置では、上下（基台12に垂直）方向の位置関係において、キャップ保持部316および各加圧用カラムキャップ311（311A、311B、311C、311D）が上段に、カラム保持部322および各固相抽出カラム321（321A、321B、321C、321D）が中段に、回収用チューブ保持部325、各回収用チューブ324（324A、324B、324C、324D）および回収用チューブ324の奥部（後部）側に位置する廃液槽323が下段に配置される。

【0048】

また、同図（b）に示すように、初期位置では、前後（水平）方向の位置関係において、キャップ保持部316および加圧用カラムキャップ311が最後部（最奥部）に、回収用チューブ324および回収用チューブ保持部325が最前部（作業側）に、そして、カラム保持部322、固相抽出カラム321および廃液槽323が最奥部と最前部の中間部に配置される。また、初期位置では、固相抽出カラム321の上方は開放され、回収用チューブ324の上方も開放されている。なお、キャップ保持部316は、回転軸316Cを中心に破線矢印方向に回動可能となっている。

30

【0049】

第1移動機構33は、キャップ保持部316を上下（基台12に対して垂直）方向に移動させる。キャップ保持部316の移動の範囲は距離Vである。第2移動機構34は、カラム保持部322を上下方向に移動させる。カラム保持部322の移動の範囲は距離V2である。つまりこの例では、第1移動機構33が、初期位置から下方に距離V1（ $V1 < V$ ）までキャップ保持部316を移動させる間は、カラム保持部322は停止しているが、キャップ保持部316の移動量が距離V1を超えると、第1移動機構33がキャップ保持部316を移動させるとともに、第2移動機構34がカラム保持部322を初期位置から下方に移動させる。両者の移動量は距離V2である。つまり垂直方向においては、キャップ保持部316が単独で移動する場合と、キャップ保持部316とカラム保持部322とが同期して移動する場合とがある。

40

【0050】

第2移動機構34はまた、カラム保持部322を前後（基台12に対して水平）方向に移動させる。カラム保持部322の移動の範囲は距離H1である。第2移動機構34はさ

50

らに、回収用チューブ保持部 3 2 5 を前後方向に移動させる。回収用チューブ保持部 3 2 5 の移動の範囲は距離 H である。つまり、第 2 移動機構 3 4 は、初期位置から後方に距離 H 1 までカラム保持部 3 2 2 と回収用チューブ保持部 3 2 5 を一体的に移動させる。距離 H 1 を超えると、カラム保持部 3 2 2 の移動は停止するが、回収用チューブ保持部 3 2 5 は、距離 H 1 を超えても後方に移動可能である。距離 H 1 を超えたあとの回収用チューブ保持部 3 2 5 の移動量は距離 H 2 である。つまり、第 2 移動機構 3 4 は、水平方向に 2 段階で回収用チューブ保持部 3 2 5 を移動させる。

【 0 0 5 1 】

図 5 は、第 1 移動機構 3 3 , 第 2 移動機構 3 4 による、加圧用カラムキャップ 3 1 1、固相抽出カラム 3 2 1、廃液槽 3 2 3 , 回収用チューブ 3 2 4 の移動の態様を示す、図 4 (b) に対応する側面概要図である。なお同図において、第 1 移動機構 3 3 , 第 2 移動機構 3 4、キャップ保持部 3 1 6 およびカラム保持部 3 2 2 の図示は省略している。また同図では右を前方 (手前) 側とし、左を後方 (奥) 側としている。

10

【 0 0 5 2 】

図 5 (a) に示す初期位置では、加圧用カラムキャップ 3 1 1 は上段且つ最後部に位置し、固相抽出カラム 3 2 1 は中段且つ中間部に位置し、回収用チューブ 3 2 4 は下段且つ最前部に位置する。廃液槽 3 2 3 は下段で回収用チューブ 3 2 4 の後方且つ固相抽出カラム 3 2 1 の直下に位置する。第 1 の移動状態では、第 2 移動機構 3 4 (ここでは不図示) によって固相抽出カラム 3 2 1 と廃液槽 3 2 3 とが後方に向かって移動する。これらの移動量は距離 H 1 である。

20

【 0 0 5 3 】

これにより、同図 (b) に示すように加圧用カラムキャップ 3 1 1 の直下に固相抽出カラム 3 2 1 が位置し、固相抽出カラム 3 2 1 の直下に廃液槽 3 2 3 が位置する。なお、回収用チューブ 3 2 4 も廃液槽 3 2 3 の移動に伴って後方に移動する (距離 H 1) が、図示のごとく回収用チューブ 3 2 4 の上方は開放されている。固相抽出カラム 3 2 1 と廃液槽 3 2 3 の移動は同時であってもよいし、同時でなくても良い。両者が後方に距離 H 1 で移動した結果、図 5 (b) に示すように垂直方向において、加圧用カラムキャップ 3 1 1 と固相抽出カラム 3 2 1 の鉛直方向の軸中心が略一致し、廃液槽 3 2 3 がこれらの直下に位置するようになればよい。

【 0 0 5 4 】

第 2 の移動状態では、第 1 移動機構 3 3 (ここでは不図示) によって加圧用カラムキャップ 3 1 1 が下方に向かって移動する。加圧用カラムキャップ 3 1 1 の移動量が距離 V 1 に達すると、中段に位置する固相抽出カラム 3 2 1 の上端と当接する (同図 (c)) 。

30

【 0 0 5 5 】

第 1 移動機構 3 3 は同図 (d) に示すように、さらに加圧用カラムキャップ 3 1 1 を下方に向かって移動させ、これに伴って第 2 移動機構 3 4 (不図示) が固相抽出カラム 3 2 1 を下方に向かって移動させる。これらの移動量は、距離 V 2 である。つまり、固相抽出カラム 3 2 1 は加圧用カラムキャップ 3 1 1 によって密閉された状態で、距離 V 2 を移動する。

【 0 0 5 6 】

その後、例えば上下方向の移動のみ初期位置 (図 5 (b)) に戻った後、第 3 の移動状態に遷移する。第 3 の移動状態では、第 2 移動機構 3 4 (不図示) によって回収用チューブ 3 2 4 (および廃液槽 3 2 3) が後方に向かって移動する。これらの移動量は距離 H 2 である。

40

【 0 0 5 7 】

これにより、同図 (e) に示す用に、加圧用カラムキャップ 3 1 1 の直下に固相抽出カラム 3 2 1 が位置し、固相抽出カラム 3 2 1 の直下に回収用チューブ 3 2 4 が位置する。廃液槽 3 2 3 も回収用チューブ 3 2 4 の移動に伴って後方に移動する (距離 H 2) が、図示のごとく廃液槽 3 2 3 上方は開放されている。なお、固相抽出カラム 3 2 1 と廃液槽 3 2 3 (回収用チューブ 3 2 4) は同図 (a) に示す初期位置に戻ってもよく、その場合は

50

固相抽出カラム 3 2 1 が後方に移動し（移動量は距離 H_1 ）、回収用チューブ 3 2 4 も後方に移動する（移動量は距離 $H_1 + H_2 = H$ ）。なおこれらの移動は同時であってもよいし、同時でなくても良い。つまり、固相抽出カラム 3 2 1 が後方に移動（移動量は距離 H_1 ）し、回収用チューブ 3 2 4 も後方に移動（移動量は初期位置から距離 H 、または、第 2 の移動状態の位置から距離 H_2 ）した結果、図 5（e）に示すように垂直方向において、加圧用カラムキャップ 3 1 1、固相抽出カラム 1 3 および回収用チューブ 3 2 4 の鉛直方向の軸中心が略一致するようになればよい。

【0058】

第 4 の移動状態では、第 1 移動機構 3 3（ここでは不図示）によって加圧用カラムキャップ 3 1 1 が下方に向かって移動する。加圧用カラムキャップ 3 1 1 の移動量が距離 V_1 に達すると、中段に位置する固相抽出カラム 3 2 1 の上端と当接する（同図（f））。

10

【0059】

第 1 移動機構 3 3 は、さらに加圧用カラムキャップ 3 1 1 を下方に向かって移動させ、これに伴って第 2 移動機構 3 4（不図示）が固相抽出カラム 3 2 1 を下方に向かって移動させる。これらの移動量は、距離 V_2 である。つまり、固相抽出カラム 3 2 1 は加圧用カラムキャップ 3 1 1 によって密閉された状態で、距離 V_2 を移動し、固相抽出カラム 3 2 1 の下端は、回収用チューブ 3 2 4 に内包される（同図（g））。

【0060】

一例として、キャップ保持部 3 1 6 は、初期位置に向かって（上方に）付勢手段（例えばコイルばねなど）によって付勢されており、カラム保持部 3 2 2 も初期位置に向かって（上方に）付勢手段（例えばコイルばねなど）によって付勢されている。従って、第 1 移動機構 3 3 および第 2 移動機構 3 4 を付勢力に抗って下方へ押圧することで、キャップ保持部 3 1 6 およびカラム保持部 3 2 2 は下方に移動し、押圧が解除されると、キャップ保持部 3 1 6 およびカラム保持部 3 2 2 は初期位置に復帰する。しかしこれに限らず、モータなどによって初期位置に復帰させるものとしてもよい。また第 2 移動機構 3 4 の水平方向の移動は、モータなどによって行われる。

20

【0061】

次に図 6 を参照して、分注部 5 について説明する。

【0062】

分注部 5 は、複数（ここでは例えば 8 本）の分注シリンダ 5 0 を保持するシリンダ保持部 5 1 と、駆動部 5 2 とを有する。駆動部 5 2 は、複数の分注シリンダ 5 0 を個別に移動させる第 1 駆動部 5 2 1 と、分注部 5 を一体的に移動させる第 2 駆動部 5 2 2 を有する。ここでは、シリンダ保持部 5 1 が前方（手前側）に $1000 \mu\text{L}$ 用の分注シリンダ 5 0 1 を 4 本保持し、後方側（奥側）に $20 \mu\text{L}$ 用の分注シリンダ 5 0 2 を 4 本保持する場合を例に示している。

30

【0063】

分注部 5 は、図 1 に示すハウジング 1 の天井部に設けた案内レールに沿ってコンピュータによるシーケンス制御にしたがって 3 次元空間を自由に移動制御される。さらに、分注部 5 の各分注シリンダ 5 0 は、個別にあるいは複数本同時に、分注部 5 に対して上下方向または前後方向に移動可能となっている。分注シリンダ 5 0 はその先端に交換可能なチップ 5 4 が取り付けられている。すなわち、 $1000 \mu\text{L}$ 用の分注シリンダ 5 0 1 には $1000 \mu\text{L}$ 用のチップ 5 4 1 が取り付けられ、 $20 \mu\text{L}$ 用の分注シリンダ 5 0 2 には $20 \mu\text{L}$ 用のチップ 5 4 2 が取り付けられている。チップ 5 4 は、分注シリンダ 5 0 の先端部分に押し込むことによって係合可能であり、チップ 5 4 と分注シリンダ 5 0 を逆方向に引き離すと容易に離脱可能となっている。

40

【0064】

図 3 を参照して、チップ 5 4 を分注シリンダ 5 0 に取り付ける場合は、チップラック 6 の孔部に分注シリンダ 5 0 を挿入する。これにより、チップラック 6 内に収容されたチップ 5 4 が、分注シリンダ 5 0 の先端に押し込まれ、取り付けられる。一方、チップ 5 4 を離脱する場合は、廃棄チップ置場 8 に分注シリンダ 5 0 を挿入する。廃棄チップ置場 8 に

50

は、チップ 5 4 の径より大径の大孔部 8 1 b とチップ 5 4 の径より小径の小孔部 8 1 s とが連続した離脱部 8 1 が設けられており（図 3 参照）、大孔部 8 1 b に分注シリンダ 5 0 を挿入し、そのまま小孔部 8 1 s まで分注シリンダ 5 0 を移動させて分注シリンダ 5 0 を上昇させると、小孔部 8 1 s によってチップ 5 4 のみ上昇が規制され、分注シリンダ 5 0 の先端から離脱する。なお、離脱部 8 1 も、チップ 5 4 1、5 4 2 のサイズに対応して 2 つのサイズが備えられている。このようにして、チップ 5 4 の着脱も自動で行うことができる。

【 0 0 6 5 】

シリンダ保持部 5 1 の後端部分には加圧用カラムキャップ 3 1 1 を押下する押圧部 5 5 が設けられている。

10

【 0 0 6 6 】

このように、この核酸抽出装置 1 0 は、核酸抽出部 3 および分注部 5 の駆動部 5 2 が、核酸抽出処理プログラムによって核酸抽出部 3 および分注部 5 を所定の位置に移動して、検体から核酸を抽出する核酸抽出処理、および核酸を含む溶液を調製する処理が実行できるようになっている。

【 0 0 6 7 】

すなわち、制御部 C T は、分注部 5 を駆動して固相抽出カラム 3 2 1 に検体を分注し、核酸抽出部 3 において固相抽出カラム 3 2 1 を加圧して検体と核酸を分離する。また、制御部 C T は、分注部 5 を駆動して、分離された核酸を各ブロックの P C R チューブ 4 3 に分注し、さらに各 P C R チューブ 4 3 に各種プライマー溶液を分注する。なお、核酸抽出装置 1 0 の内部には蛍光灯、および殺菌灯なども配備されている。

20

【 0 0 6 8 】

次に、図 7 のプロトコル図を参照して、本実施形態の核酸抽出装置 1 0 で実行される核酸抽出処理の手順を説明する。なお、図 7 における括弧内の数字は、処理のステップを示すものとする。また、ステップ P 1、ステップ P 2 は操作者が手作業で行う前処理工程であり、ステップ 1 以降のステップが核酸抽出装置 1 0 で自動実行される処理である。この例ではステップ P 1、P 2 を作業者が手動で行う場合を例に説明するが、これらもプログラムに組み込むことで、核酸抽出装置 1 0 によって自動実行することが可能となる。

【 0 0 6 9 】

なお、図 7 のプロトコル図は、患者の喀痰から核酸を抽出する場合の核酸抽出処理を例に示している。また、以下の説明における核酸抽出装置 1 0 の各構成の符号は、図 1 ~ ~ 図 6 に示した各構成を示すものとする。

30

【 0 0 7 0 】

< 前処理工程 >

【 0 0 7 1 】

ステップ P 1 では、4 本の検体用チューブ 2 0 (2 0 A ~ 2 0 D) に、タンパク質分解 (消化処理) のためにプロテアーゼを 2 3 μ L 分注する。検体用チューブ 2 0 は、例えば患者毎に準備される (図 3 参照) 。

【 0 0 7 2 】

ステップ P 2 では、各検体用チューブ 2 0 のそれぞれに、検体を 2 0 0 μ L 分注する。検体は、患者 A ~ 患者 D の喀痰であり、検体用チューブ 2 0 A に患者 A、検体用チューブ 2 0 B に患者 B、検体用チューブ 2 0 C に患者 C、検体用チューブ 2 0 D に患者 D、の喀痰がそれぞれ分注される。検体用チューブ 2 0 は、核酸抽出装置 1 0 の検体置場 2 1 に載置する。

40

【 0 0 7 3 】

また、チップが十分に収容されたチップラック 6 (6 a、6 b) を載置するとともに、新たな固相抽出カラム 3 2 1 をカラム保持部 3 2 2 に、新たな回収用チューブ 3 2 4 を回収用チューブ保持部 3 2 5 に、新たな P C R チューブ 4 3 を P C R チューブ保持部 4 1 に、それぞれ載置する。また、試薬槽 9 および、プライマー溶液 (所定のプライマー、P C R 試薬、酵素、緩衝溶液、d N T P (4 種類のデオキシリボヌクレオチド三リン酸 (d A

50

TP, dCTP, dGTP, dTTP)を混合したもの)および、水を調製した溶液)を入れたプライマチューブ44を、核酸抽出装置10の所定位置に載置する。

【0074】

<核酸抽出工程(制御部CTによる自動運転)>

【0075】

ステップ1では、核酸抽出装置10を初期化する。制御部CTは、加圧部31、分離部32を図4に示す初期位置に移動する。また制御部CTは、第2駆動部522を駆動して分注部5を初期位置に移動する。分注部5の初期位置は例えば、チップラック6aの上方とする。

【0076】

制御部CTは、第1駆動部521を駆動して、分注部5を下降させて各分注シリンダ501(501A、501B、501C、501D)の先端をチップラック6a内に挿入し、分注シリンダ501の先端に1000 μ L用のチップ(第1番目のチップ541)を装着する(図3参照)。以下、第1駆動部521、第2駆動部522についての説明は省略するが、分注部5を移動する場合には、第2駆動部522を駆動し、分注シリンダ50を一括であるいはそれぞれに移動する場合には、第1駆動部521を駆動する。

【0077】

その後制御部CTは、分注部5を試薬槽9上の所定の位置に移動し、各分注シリンダ501のそれぞれにバッファALを200 μ L吸引する。

【0078】

制御部CTは分注部5を検体置場21に移動し、各検体用チューブ20A~20D上方に各分注シリンダ501(501A、501B、501C、501D)をそれぞれ配置する。そして、各分注シリンダ501を下降して、検体用チューブ20A~20DにそれぞれバッファALの全量を吐出する。その後制御部CTは、分注部5を廃棄チップ置場8に移動し、各分注シリンダ501を下降させて第1番目のチップ541を離脱、廃棄した後、分注部5を初期位置へ移動する。

【0079】

ステップ2では検体用チューブ20A~20DのそれぞれについてバッファALと検体の混合液を15秒間攪拌する。続くステップ3では、これらを56の温度下で所定時間(10分から120分間、好適には、10分から一昼夜)インキュベート(培養)する。既述のごとく検体置場21は、攪拌機能と温度調節機能を有している。

【0080】

ステップ4では、各分注シリンダ501に新たなチップ54を装着する(チップを交換する)。すなわち制御部CTは、分注部5をチップラック6a上に移動し、下降させて各分注シリンダ501に、第2番目のチップ541(1000 μ L用チップ)を装着する。その後制御部CTは、分注部5を試薬槽9上に移動し、エタノールを200 μ L吸引して検体用チューブ20A~20Dの上方に分注部5を移動する。制御部CTは、検体用チューブ20A~20Dのそれぞれにエタノールを全量吐出する。その後、制御部CTは、分注部5を廃棄チップ置場8に移動し、各分注シリンダ501を下降させて第2番目のチップ541を離脱、廃棄した後、分注部5を初期位置に移動する。ステップ5では、制御部CTは、検体用チューブ20A~20Dを15秒間攪拌する。

【0081】

次にステップ6では、制御部CTは、分注部5をチップラック6a上に移動し、下降させて各分注シリンダ501に新たな第3番目のチップ541(1000 μ L用チップ)を装着し、分注部5を検体用チューブ20A~20Dの上方に移動する。制御部CTは、分注部5を下降し、各分注シリンダ501により検体用チューブ20A~20D内の混合液を吸引する。その後制御部CTは、固相抽出カラム321の上方に分注部5を移動し、各固相抽出カラム321(321A、321B、321C、321D)にそれぞれ、混合液を全量吐出する。その後、制御部CTは、分注部5を廃棄チップ置場8に移動し、分注シリンダ501を下降させて第3番目のチップ541を離脱、廃棄する。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 2 】

次に制御部 C T は、各固相抽出カラム 3 2 1 が対応する各加圧用カラムキャップ 3 1 1 (3 1 1 A、3 1 1 B、3 1 1 C、3 1 1 D) の直下に位置し、廃液槽 3 2 3 が固相抽出カラム 3 2 1 の下方に位置するようにカラム保持部 3 2 2 と回収用チューブ保持部 3 2 5 を後方に移動する (図 5 (a) (b) に示す第 1 の移動状態)。そして、分注部 5 をキャップ保持部 3 1 6 の上方に移動した後、下降させ、分注部 5 の押圧部 5 5 によってキャップ保持部 3 1 6 を下方に移動させる。これにより加圧用カラムキャップ 3 1 1 が下降し、対応する固相抽出カラム 3 2 1 と当接する (図 5 (b) (c) に示す第 2 の移動状態)。制御部 C T が分注部 5 をさらに下降させると、加圧用カラムキャップ 3 1 1 によって固相抽出カラム 3 2 1 が密閉された状態で、両者がさらに下方に移動する (図 5 (d))。

10

【 0 0 8 3 】

ステップ 7 では、制御部 C T は加圧部 3 1 の加圧シリンジ 3 1 3 を制御して、密閉された固相抽出カラム 3 2 1 のそれぞれに所定の空気圧を加え、設定圧閾値を超える圧力まで圧力を増加させて、第一の加圧を行う。その後制御部 C T は、加圧 (圧力の増加) を停止するとともに、固相抽出カラム 3 2 1 に対して設定圧閾値を超える圧力の印加状態を、所定時間維持する。加圧および所定時間の加圧停止により、各固相抽出カラム 3 2 1 は、少なくとも一部の核酸がフィルタに吸着し、廃液が廃液槽 3 2 3 に排出 (溶出) される。これにより、各固相抽出カラム 3 2 1 に加えられていた圧力は所定時間内に減圧 (自然減圧) し、設定圧閾値を下回る。制御部 C T が、加圧部 3 1 の押圧を解除すると、各加圧用カラムキャップ 3 1 1 および各固相抽出カラム 3 2 1 が上昇する。固相抽出カラム 3 2 1 が初期位置で停止した後も加圧用カラムキャップ 3 1 1 はさらに上昇し、初期位置に復帰するとともに固相抽出カラム 3 2 1 の上方が開放される。これにより、固相抽出カラム 3 2 1 は大気圧下に開放され、固相抽出カラム 3 2 1 に印加されていた圧力が減少する。なお本実施形態において、「加圧」とは圧力を増加させている状態をいい、「加圧の停止」とは圧力の増加 (変化) を停止する状態をいい、「減圧」とは圧力を減少させている状態をいう。また本実施形態の「減圧」は、固相抽出カラム 3 2 1 を大気圧下に開放することによって、設定圧閾値を超える圧力から大気圧に戻す (圧力を減少させる) 場合を例に説明するが、減圧には、大気圧への開放に代えて (あるいはこれに加えて) 吸引することによって設定圧閾値を超える圧力から圧力を減少させる場合も含まれる。

20

【 0 0 8 4 】

ステップ 8 では、制御部 C T は、再び分注部 5 の押圧部 5 5 によってキャップ保持部 3 1 6 を下方に移動させる。これにより加圧用カラムキャップ 3 1 1 が下降し、固相抽出カラム 3 2 1 が密閉される。この状態で加圧部 3 1 の加圧シリンジ 3 1 3 を制御して、密閉された固相抽出カラム 3 2 1 のそれぞれに所定の空気圧を加えて (圧力を増加させて)、第二の加圧を行う。制御部 C T は、設定圧閾値を超えて設定した圧力の印加状態を所定時間維持する (加圧 (圧力の増加) を停止する) (図 5 (b) ~ (d))。

30

【 0 0 8 5 】

第二の加圧の加圧設定 (加圧 (送気) 速度、送気量)、は、一例として第一の加圧の加圧設定と同等であり、また加圧を維持する時間 (加圧停止の時間) も、第一の加圧と同等である。第一の加圧では、検体を含む混合液の全量を溶出することができず、検体中に核酸が残存する場合がある。しかし、本実施形態では、第二の加圧 (および第二の加圧停止) を行うことにより、各固相抽出カラム 3 2 1 に検体を含む混合液が残っている場合であっても、全てが溶出され、検体中の核酸がフィルタに吸着し、廃液が廃液槽 3 2 3 に排出される。これにより、各固相抽出カラム 3 2 1 に印加された圧力は減圧 (自然減圧) する。制御部 C T が、加圧部 3 1 の押圧を解除すると、加圧用カラムキャップ 3 1 1 および固相抽出カラム 3 2 1 が上昇する。固相抽出カラム 3 2 1 が初期位置で停止した後も加圧用カラムキャップ 3 1 1 はさらに上昇し、初期位置に復帰するとともに固相抽出カラム 3 2 1 の上方が開放され、固相抽出カラム 3 2 1 は大気圧下に開放されて、固相抽出カラム 3 2 1 に印加された圧力が減少する。その後制御部 C T は、分注部 5、加圧部 3 1 および分離部 3 2 を初期位置に復帰させる。

40

50

【0086】

このように本実施形態では、各固相抽出カラム321をそれぞれ設定圧閾値を超える圧力まで加圧した後、加圧を停止して各固相抽出カラム321を設定圧閾値を超える圧力で所定時間保持し、その後減圧する加減圧サイクルを、各固相抽出カラム321に分注され、移された一の検体について複数回（ここでは2回）実行することにより、検体から核酸を抽出するものである。第一の加圧と第二の加圧を行うことで、確実に各固相抽出カラム321中の検体の全量を溶出させ、検体中の核酸をフィルタFに吸着させることができる。

【0087】

ステップ9では、制御部CTは、分注部5をチップラック6a上に移動し、下降させて各分注シリンダ501に、第4番目のチップ541（1000 μ L用チップ）を装着する。その後制御部CTは、分注部5を試薬槽9上に移動し、バッファAW1（洗浄液）を500 μ L（750 μ L）吸引した後、分注部5をカラム保持部322上に移動し、各固相抽出カラム321にバッファAW1の全量を吐出する。その後、制御部CTは、分注部5を廃棄チップ置場8に移動し、分注シリンダ501を下降させて第4番目のチップ541を離脱、廃棄した後、分注部5を初期位置に移動する（図3参照）。

10

【0088】

ステップ10では、制御部CTは、固相抽出カラム321が加圧用カラムキャップ311の直下に位置し、廃液槽323が固相抽出カラム321の下方に位置するようにカラム保持部322と回収用チューブ保持部325を後方に移動する（図5（b））。そして、分注部5をキャップ保持部316の上方に移動した後、分注部5の押圧部55によってキャップ保持部316を下方に移動させる。これにより加圧用カラムキャップ311が下降し、固相抽出カラム321が密閉された状態で、両者がさらに下方に移動する（図5（c）（d））。

20

【0089】

そして制御部CTは、加圧部31の加圧シリンジ313を制御して、密閉された各固相抽出カラム321に所定の空気圧を加えて（圧力を増加させて）、第三の加圧を行い、各固相抽出カラム321のフィルタを洗浄する。核酸はフィルタに吸着したまま、バッファAW1により洗浄され、洗浄液が廃液槽323に排出される（図5（d））。その後制御部CTは、加圧部31の押圧を解除し、加圧用カラムキャップ311を上昇させて固相抽出カラム321の上方を開放する。キャップ保持部316は初期位置に復帰する。

30

【0090】

ステップ11では、制御部CTは、分注部5をチップラック6a上に移動し、下降させて各分注シリンダ501に、第5番目のチップ541（1000 μ L用チップ）を装着する。その後、制御部CTは分注部5を試薬槽9上に移動し、バッファAW2（洗浄液）を500 μ L（750 μ L）吸引し、分注部5をカラム保持部322上に移動して各固相抽出カラム321にバッファAW2の全量を吐出する。バッファAW1とバッファAW2はアルコール濃度が異なる洗浄液である。その後、制御部CTは分注部5を廃棄チップ置場8に移動し、各分注シリンダ501を下降させて第5番目のチップ541を離脱、廃棄し、分注部5を初期位置に移動する（図3参照）。

40

【0091】

ステップ12では、制御部CTは、固相抽出カラム321が加圧用カラムキャップ311の直下に位置し、廃液槽323が固相抽出カラム321の下方に位置するようにカラム保持部322と回収用チューブ保持部325を後方に移動する（図5（b））。そして、分注部5をキャップ保持部316の上方に移動した後、分注部5の押圧部55によってキャップ保持部316を下方に移動させる。これにより加圧用カラムキャップ311が下降し、固相抽出カラム321が密閉された状態で、両者がさらに下方に移動する（図5（c）（d））。

【0092】

そして制御部CTは、加圧部31の加圧シリンジ313を制御して、密閉された各固相

50

抽出カラム 3 2 1 に所定の空気圧を加えて（圧力を増加させて）、第四の加圧を行い、各固相抽出カラム 3 2 1 のフィルタを洗浄する。核酸はフィルタに吸着したまま、バッファ A W 2 により洗浄され、洗浄液が廃液槽 3 2 3 に排出される。その後制御部 C T は、加圧部 3 1 の押圧を解除し、加圧用カラムキャップ 3 1 1 を上昇させて固相抽出カラム 3 2 1 の上方を開放する。キャップ保持部 3 1 6 は初期位置に復帰する。

【 0 0 9 3 】

ステップ 1 3 では、制御部 C T は、固相抽出カラム 3 2 1 が加圧用カラムキャップ 3 1 1 の直下に位置し、4 つの回収用チューブ 3 2 4（3 2 4 A、3 2 4 B、3 2 4 C、3 2 4 D）がそれぞれ対応する固相抽出カラム 3 2 1 の直下に位置するようにカラム保持部 3 2 2 と回収用チューブ保持部 3 2 5 を後方に移動する（図 5（d）（f）に示す第 4 の移動状態）。

10

【 0 0 9 4 】

ステップ 1 4 では、制御部 C T は、分注部 5 をチップラック 6 a 上に移動し、下降させて各分注シリンダ 5 0 1 に第 6 番目のチップ 5 4 1（1 0 0 0 μ L 用チップ）を装着し、分注部 5 を試薬槽 9 上に移動してバッファ A E（回収用溶液）または蒸留水を 5 0 0 μ L 吸引する。引き続き制御部 C T は、分注シリンダ 5 0 1 を各固相抽出カラム 3 2 1 上に移動してそれぞれに回収用溶液または蒸留水の全量を吐出する。その後、固相抽出カラム 3 2 1 は、室温で 1 分～5 分、静置される。制御部 C T は、分注部 5 を廃棄チップ置場 8 に移動し、分注シリンダ 5 0 1 を下降させて第 6 番目のチップ 5 4 1 を離脱、廃棄し、分注部 5 を初期位置に移動する。

20

【 0 0 9 5 】

ステップ 1 5 では、分注部 5 をキャップ保持部 3 1 6 の上方に移動した後に下降させ、分注部 5 の押圧部 5 5 によってキャップ保持部 3 1 6 を下方に移動させる。これにより加圧用カラムキャップ 3 1 1 が下降し、固相抽出カラム 3 2 1 が密閉された状態で、両者がさらに下方に移動し、加圧用カラムキャップ 3 1 1 により固相抽出カラム 3 2 1 が密閉される（図 5（e）（f））。

【 0 0 9 6 】

そして制御部 C T は、加圧部 3 1 の加圧シリンジ 3 1 3 を制御して、密閉された各固相抽出カラム 3 2 1 に所定の空気圧を加えて（圧力を増加させて）、第五の加圧を行う。これにより、各固相抽出カラム 3 2 1 のフィルタに吸着していた核酸がバッファ A E または蒸留水とともに対応する回収用チューブ 3 2 4 に排出され、5 0 0 μ L の核酸精製溶液が得られる（図 5（g））。

30

【 0 0 9 7 】

制御部 C T は、加圧部 3 1 の押圧を解除し、分離部 3 2 および分注部 5 を初期位置に移動する。

【 0 0 9 8 】

< プライマー溶液分注工程（制御部 C T による自動運転） >

【 0 0 9 9 】

以降の工程では、得られた核酸精製溶液にプライマー溶液を分注する。

【 0 1 0 0 】

すなわち、ステップ 1 6 では、制御部 C T は、分注部 5 をチップラック 6 b 上に移動し、下降させて各分注シリンダ 5 0 2 に第 7 番目のチップ 5 4 2（2 0 μ L 用チップ）を装着する（図 2 参照）。そして、制御部 C T は、上方が開放されている各回収用チューブ 3 2 4（3 2 4 A、3 2 4 B、3 2 4 C、3 2 4 D）の上方に分注部 5 を移動する。制御部 C T は、各回収用チューブ 3 2 4 から核酸精製溶液を吸引し、P C R チューブ 4 3 に吐出する。回収用チューブ 3 2 4 A の核酸精製溶液は、ブロック B 1 の全 P C R チューブ 4 3 に吐出され、回収用チューブ 3 2 4 B の核酸精製溶液は、ブロック B 2 の全 P C R チューブ 4 3 に吐出され、回収用チューブ 3 2 4 C の核酸精製溶液は、ブロック B 3 の全 P C R チューブ 4 3 に吐出され、回収用チューブ 3 2 4 D の核酸精製溶液は、ブロック B 4 の全 P C R チューブ 4 3 に吐出される。この例では、ブロック B 1、B 2、B 3、B 4 はそれ

40

50

ぞれ異なる検体の核酸が抽出されている。

【0101】

その後、ブロック B 1 からブロック B 4 の各 PCR チューブ 4 3 に各種プライマー溶液が分注される。すなわち、制御部 C T は、分注部 5 を廃棄チップ置場 8 に移動し、分注シリンダ 5 0 1 を下降させて第 7 番目のチップ 5 4 2 を離脱、廃棄し、分注部 5 をチップラック 6 b 上に移動し、例えば、左端部の分注シリンダ 5 0 2 A のみを下降させて、第 8 番目のチップ 5 4 2 (2 0 μ L 用チップ) を装着する。そして、プライマー保持部 4 2 の上方に分注部 5 を移動して分注シリンダ 5 0 2 A でプライマー溶液 (第 1 のプライマー溶液) を吸引し、ブロック B 1 の 1 番目の PCR チューブ 4 3 に吐出する。その後、左端部の分注シリンダ 5 0 2 A の第 8 番目のチップ 5 4 2 (2 0 μ L 用チップ) を廃棄し、第 9 番目のチップ 5 4 2 (2 0 μ L 用チップ) を装着する。そして、プライマー保持部 4 2 の上方に分注部 5 を移動して分注シリンダ 5 0 2 A で次のプライマー溶液 (第 2 のプライマー溶液) を吸引し、ブロック B 1 の 2 番目の PCR チューブ 4 3 に吐出する。以降、プライマー溶液毎に分注シリンダ 5 0 2 A のチップを交換し、プライマー保持部 4 2 の複数のプライマー溶液 (例えば、16 種類のプライマー溶液) を、ブロック B 1、すなわち患者 A の核酸精製溶液が分注された 16 の PCR チューブ 4 3 に分注する。そしてブロック B 2 ~ B 4 についても同様に処理する。なお、検体が 1 種類の場合もあるため、本実施形態ではブロック毎にプライマー溶液の分注を行う場合を例に説明したが、プライマー溶液の分注はどのような順序で行っても良い。

10

【0102】

以上のようにして自動運転が終了すると、患者 (検体) 毎の核酸精製溶液に 16 種のプライマー溶液が分注された混合溶液が、4 患者分、調製される。

20

【0103】

作業者は、核酸抽出装置 1 0 が停止した後、プライマー保持部を取り出し、リアルタイム PCR 工程で増幅させて、230 nm、260 nm、280 nm について吸光度測定を行う。

【0104】

このように、本実施形態によれば、操作者が、検体毎に用意された検体用チューブに、プロテアーゼを検体を分注した以降は、核酸抽出工程からプライマー溶液分注工程までを核酸抽出装置 1 0 によって自動連続処理できる。なお、既述のごとく、ステップ P 1、P 2 の前処理工程も自動化が可能である。

30

【0105】

また、図 7 では、ステップ 1 以降を核酸抽出装置 1 0 による自動制御とした。しかし、ステップ 3 のインキュベーションの工程が長時間 (例えば 2 時間以上) の場合には、装置稼働率が低下する。従って、破線で示すステップ 4 以降を自動制御するプログラムとしてもよい。

【0106】

本実施形態は、一例として、特許 4 6 6 5 2 0 3 号に記載の H I R A T A N (Human cell-controlled Identification of the Respiratory Agent from TAN(痰)) 法の前処理に用いて好適である。H I R A T A N 法とは、呼吸器感染症の診断に利用されている迅速診断法である。H I R A T A N 法は、種々の肺炎起炎菌と人細胞に特異的な定量 PCR 増幅反応を利用して病原体を同定する判定手法であるため、各プライマー溶液に対する操作、すなわち同定しようとする菌種の数だけのプライマー溶液や、PCR 溶液の準備、検体 (患者の喀痰) の分注操作が必要になる。この手法において、例えば、プライマー溶液が 16 種存在する場合、一患者に対して用意する PCR チューブは 16 本、プライマー溶液分注操作も 16 回、検体の分注操作も 16 回必要となり、非常に煩雑な操作になる上、単純作業の繰り返しによるミス、コンタミネーションの発生や、操作者への感染等の問題が生じる。

40

【0107】

本実施形態では、これらの操作を自動化することにより、複雑な操作でのミスの回避、

50

コンタミネーションによるミス回避、操作者への感染や負担の軽減が可能となり、ひいては判定コストの低減を実現できる。

【0108】

また、核酸抽出工程において、遠心分離機が不要となるので、装置の小型化、低価格化が実現する。さらに、核酸抽出工程では、操作も複雑で工程が多く、時間も要するため、自動化が望まれる部分であったが、本実施形態によれば、自動化によって操作時間の短縮、結果の再現性向上を実現できる。

【0109】

<カラム詰まりの検出>

【0110】

以上説明したように、本実施形態は、固相抽出カラム321を加圧して核酸を抽出するものであるが、固相抽出カラム321の圧力を監視することで、カラム詰まりを検出することができる。

【0111】

図8は、加圧部31のエラー検出機能について説明する図であり、図8(a)が正常時の状態を示す図であり、図8(b)がカラム詰まりによるエラーを検出した状態の図である。

【0112】

図8(a)に示すように、核酸抽出部3(加圧部31)が正常に動作している場合は、加圧部31の加圧(圧力増加)の開始から所定の第一の時間T1内に設定圧閾値を超え、最大圧力に達する。そして加圧を停止し、その状態で所定の第二の時間T2が経過すると、固相抽出カラム321の検体が溶出し、それとともに固相抽出カラム321内が減圧(自然減圧)されて、所定の第三の時間T3内に、設定圧閾値を下回る。

【0113】

しかし、検体の粘性が特に高い場合など、固相抽出カラム321のカラム詰まり(フィルタ詰まり)が生じた場合、同図(b)に示すように、第二の時間T2を経過しても、固相抽出カラム321内の圧力が減圧(自然減圧)せず、設定圧閾値を下回らなくなる場合がある。

【0114】

本実施形態では、加圧部31の圧力センサ315によって、第二の時間T2内に固相抽出カラム321内の圧力が設定圧閾値を下回らないこと(設定圧閾値を超えた圧力が固相抽出カラム321に印加されている時間が第二の時間T2を超えたこと)を検出すると、核酸抽出装置10の運転を一時停止し、加圧部31による固相抽出カラム321の密閉状態を開放して大気圧に戻す。そして、その場合にはエラー表示を表示部等に表示し(さらには音声を出力してもよい)でカラム詰まりであることを報知する。エラーの報知後は、ステップ7~8の追加の加減圧サイクルを自動実行する。なお、エラーの報知後は、核酸抽出装置10の運転を停止し、操作者のエラーの解除(例えば、解除ボタンの操作など)を条件として、ステップ7~8の追加の加減圧サイクルを実行するようにしてもよい。

【0115】

従来の抽出カラム遠心法では、所定の時間の遠心分離処理が終了後、作業者がチューブ内の廃液の排出量を目視してカラム詰まりを判断していた。この場合、毎回の遠心分離作業が終了しない限り、カラム詰まりの判定ができず、作業時間の増加を招く一因となっていた。これに対し本実施形態では、固相抽出カラム321を加圧(圧力の増加)、および加圧停止(一定圧力下での保持)後、一般的な溶出時間(第二の時間T2)を経過してもなお、設定圧閾値の圧力を下回らない場合は、直ちにカラム詰まりと判断できるので、カラム詰まりが生じた場合の作業時間を大幅に短縮することができる。

【0116】

なお、加圧部による加圧速度および保持時間、カラム詰まりと判断する際の第二の時間T2、設定圧閾値、処理回数は、検体の種類や分量などによって適宜選択できる。例えば、固相抽出カラム321を加圧(圧力の増加)、および加圧停止(一定圧力下での保持)

10

20

30

40

50

減圧処理（大気圧への開放）の加減サイクルを5回行い、5回目のカラム圧力によるカラム詰まり判断を行ってもよい。また、検体が少量である場合や、また多量である場合には溶出時間（第二の時間T2）を短く、もしくは長く設定してもよい。

【0117】

図9および図10は、表示部に表示される画面遷移の一例である。

【0118】

表示部2は種々のスイッチやキーが設けられ、これら进行操作することで種々の制御条件を入力したり、プログラムを変更したりできるようになっている。本実施形態の核酸抽出装置10は、スタンドアロン操作が可能である。

【0119】

表示部2からは制御部CTへも制御条件が入力できるようになっており、これにより制御部CT内部のデータ格納部のデータやプログラムを書き換え変更して設定できる。表示部2から入力される制御条件に応じてプログラムが実行され、核酸抽出処理の手順が実行される。

【0120】

さらに表示部2には、作業手順や現在実行中の作業なども表示できる。また、各種パラメータ設定も可能である。パラメータ設定の一例としては、固相抽出カラム321のろ過設定（各加圧工程毎の送気量、送気速度、限界圧等の設定）や、攪拌設定（攪拌時間、攪拌速度、加速度等の設定）がある。また自動運転が正常に終了したことを知らせる正常終了表示、例えばチップ不足等によって強制終了したことを知らせるエラー表示、何らかの異常の発生によって運転が非常停止中であることを知らせる非常停止表示等の表示も行う。また、例えば加圧処理中には、表示部の表示切り替えによって、ろ過圧カレントグラフの表示も可能である。ろ過圧カレントグラフは、加圧部の加圧センサをモニタリングするセンサによって、リアルタイムで加圧状態を表示するものである。

【0121】

図11は、従来手法の一例として抽出カラム遠心法によって核酸（ここではDNA）を調製して病原体の同定を行った実験と、本実施形態の核酸抽出装置10によって核酸（ここではDNA）を調製して病原体の同定を行った実験の結果をまとめた図である。表の左が従来手法の結果であり、右が本実施形態の自動調製の結果である。なお、従来手法では遠心機を用いることから遠心法という場合があり、本実施形態では固相抽出カラムに圧縮した空気を送ることから遠心法に対して圧送法という場合がある。

【0122】

従来手法（遠心法）では、複数の検体について手動で核酸抽出のための分注作業を行い、遠心分離機を用いてDNAを抽出した後、各検体のDNA精製溶液に、手動で1検体毎に複数のプライマー溶液を分注し、PCR分析を行った。これに対し、本実施形態の核酸抽出装置10による圧送法では上述のごとく、これら複数の検体について自動化処理を行った。なお、図7のステップP1～ステップ3の工程までは共通の作業として手動で行った。

【0123】

また、病原体の同定には、従来手法も本実施形態も、急性呼吸器感染の起炎病原体を鑑別するHIRA-TAN法を採用した。HIRA-TAN法を簡単に説明すると、鑑別対象となる病原体が、気道定着病原体であり、まず対象の気道分泌物（例えば、患者の喀痰）を含む検体から抽出した核酸（例えば、DNA）中の、対象の細胞に由来する遺伝子のコピー数を測定し、抽出したDNA中の、病原体に由来する遺伝子のコピー数を測定する。そして、対象の細胞に由来する遺伝子のコピー数に対する、病原体に由来する遺伝子のコピー数の相対数を算出する。この工程を複数の対象について行い、各々の対象について相対数を得る。そして、各々の対象の相対数と、各々の対象の臨床診断結果との比較により、臨床診断において起炎病原体陽性となる相対数の下限値；及び/又は臨床診断において起炎病原体陰性となる相対数の上限値を鑑別基準値と決定し、鑑別基準値と遺伝子のコピー数の相対数とに基づいて、病原体が起炎病原体であるか否かを鑑別する手法である。

10

20

30

40

50

【0124】

H I R A - T A N法では、検体中の遺伝子（病原体）の相対コピー数を、P C R分析において、一定の蛍光強度に達した時点のサイクル数（C t値：Cycle threshold）で表す。そして、図11に示す C tがヒト細胞を内部コントロールとした病原体細胞の相対量であって、コントロール（比較対象）であるヒト細胞のC t値（C t_{h u m a n}）から、ある病原体のC t値（C t_{p a t h o g e n}）を差し引いた値（すなわち、 $-(C t_{p a t h o g e n} - C t_{h u m a n})$ ）である。また、ここでは肺炎症例における病原体の同定を行っており、これらの病原体の鑑別基準値（Positive cutoff value）は、L y t A > - 4、P . a e r > - 2、K P N E > - 4、H I N F > - 1、M C A T > 0とした。

【0125】

この結果、全検体のうち、破線で示す検体305のみが異なる判定となっており、従来法の判定結果が正答であると仮定した場合における、遠心法と比較した本実施形態の圧送法の正答率（合致率）は95%であった。ただし、検体305において、遠心法によるC tは-4.03で陰性であり、圧送法によるC tは-3.87で陽性である。この場合、病原体L y t Aの鑑別基準値が-4であり、いずれも鑑別基準値に近く、判定が難しい例であるとは言える。しかし、H I R A - T A N法における、C tは過去の被験者統計解析によるものであり、必然的に誤差を含むため、より陽性値に近い結果の方が実際に好ましい。これらを考慮すると、遠心法のC t（-4.03）は偽陽性であるともいえる。従って、これを陽性と判定した本実施形態の圧送法の方が優れているといえる。

【0126】

図12も、従来手法の遠心法と本実施形態の圧送法の比較を示す図であり、病原体の同定を行った結果である。

【0127】

なお、従来手法と本実施形態の調製方法において、上記のステップP1～3は共通に行っている。

【0128】

患者（検体）の数は50人であり、治療対象となる定着型病原体数、および治療対象となる非定着型病原体数は、従来手法も本実施形態の場合もいずれも同数である。

【0129】

また、光の吸収率（吸光度）による平均DNA純度（A260nm/A280nm）は、従来方法が1.76であり、本実施形態も1.73であってほぼ近い値となった。なお、この値は、1.8でDNA純度が良好であるとされる。また、平均ヒト細胞コピー数（C t_{h u m a n}値、図ではC t値）は、従来手法が24.05に対して、本実施形態では24.11であった。

【0130】

この結果からも本実施形態は、治療対象と判定する患者数が従来方法と完全一致し（もちろん患者も一致している）、平均DNA純度およびヒト細胞コピー数（C t値）も略一致しているといえ、本実施形態の調製方法の正確性が実証できた。

【0131】

さらに、核酸抽出から結果報告の平均時間（1検体あたりの時間（h））は、従来手法が4時間であるのに対し、本実施形態では3時間であった。ここで、核酸抽出から結果報告の平均時間のうちの2時間は、検体の酵素反応に必要な時間であって、両者に必須な（共通な）時間である。従って、この時間を除いた平均時間で比較すると、従来手法が2時間であるのに対し、本実施形態では1時間となり、本実施形態によれば、従来と比較して判定時間を半減することができるという顕著な効果が現れた。

【0132】

加えて、本実施形態では、操作者への病原体の暴露が少なく、再現性も高めることができ、操作者の作業時間の解放による判定コストも大幅に低減できる。

【0133】

また、遠心分離機が不要となるため、装置の小型化、低価格化が実現する。

10

20

30

40

50

【 0 1 3 4 】

以上、本発明を実施形態により詳述してきたが、具体的な構成はこの実施形態に限られるものでなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲の設計変更等があっても本発明の範囲に含まれるものである。

【 0 1 3 5 】

すなわち、上記の実施形態では核酸抽出部 3 とプライマー処理部 4 とを 1 つの核酸抽出装置 10 内に納めた場合を例に説明したが、核酸抽出部のみを有する核酸抽出装置であってもよい。また、核酸抽出部 3 とプライマー処理部 4 とが別体であって、連続処理が可能ないように製造ライン化された核酸抽出装置であってもよい。また P C R 蛍光分析装置も核酸抽出装置 10 に含めて 1 ユニット化したものであってもよい。

10

【 0 1 3 6 】

また、上記の実施形態において前処理工程（ステップ P 1 , P 2 ）を自動プログラムに組み込むことで、ステップ 1 から自動制御することができる。

【 0 1 3 7 】

また、自動制御プログラムを書き換えることで種々の操作が可能となる。例えば、上記の実施形態では 4 検体を同時処理する場合を例に説明したが、1 検体 ~ 3 検体の同時処理としてもよい。また、目的に応じて、核酸抽出処理のみ自動化し、プライマー溶液分注は手作業で行うプログラムを保持させたり、又はその逆のプログラムを保持させることもでき、操作者が適宜選択して実施することも可能となる。

【 0 1 3 8 】

20

また、固相抽出カラム 3 2 1 の加減圧サイクルの減圧について、加圧用カラムキャップ 3 1 1 を開放し、固相抽出カラム 3 2 1 を大気圧下に開放することによって、設定圧閾値を超える圧力から大気圧に戻す（減圧する）場合を例に説明したが、これに限らず、固相抽出カラム 3 2 1 を大気圧下に開放することに代えて（あるいはこれに加えて）、核酸抽出部 3 に引圧手段（例えば、吸引装置など）を設け、固相抽出カラム 3 2 1 を引圧する（吸引する）ことによって設定圧閾値を超える圧力から圧力を減少させるようにしてもよい。

【 0 1 3 9 】

また、カラム詰まりの検出における減圧についても、加圧用カラムキャップ 3 1 1 を開放し、固相抽出カラム 3 2 1 を大気圧下に開放することによって減圧する場合に限らず、固相抽出カラム 3 2 1 を大気圧下に開放することに代えて（あるいはこれに加えて）、核酸抽出部 3 に引圧手段（例えば、吸引装置など）を設け、固相抽出カラム 3 2 1 を引圧する（吸引する）ことによって設定圧閾値を超える圧力から減圧するようにしてもよい。

30

【 0 1 4 0 】

また、上記実施例では核酸として、検体中の D N A を抽出する場合を例に説明したが、これに限らず、R N A の抽出にも適用できる。また上記実施例では患者の喀痰から病原体を同定するための前処理に用いる D N A の抽出を例に説明したが、これに限らず、例えば血液中の D N A（または R N A）の抽出や、食品中の D N A（または R N A）の調製などにも広く適用することができる。

【 産業上の利用可能性 】

40

【 0 1 4 1 】

本発明は、核酸の分析による病原体の同定の前処理として、核酸を調製する場合などに用いることができる。

【 符号の説明 】

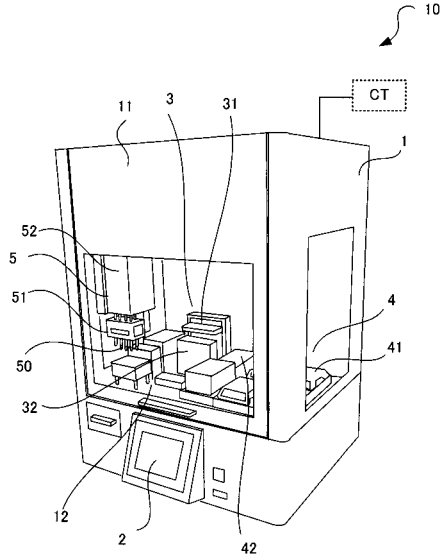
【 0 1 4 2 】

- 1 ハウジング
- 2 表示部
- 3 核酸抽出部
- 4 プライマー処理部
- 5 分注部

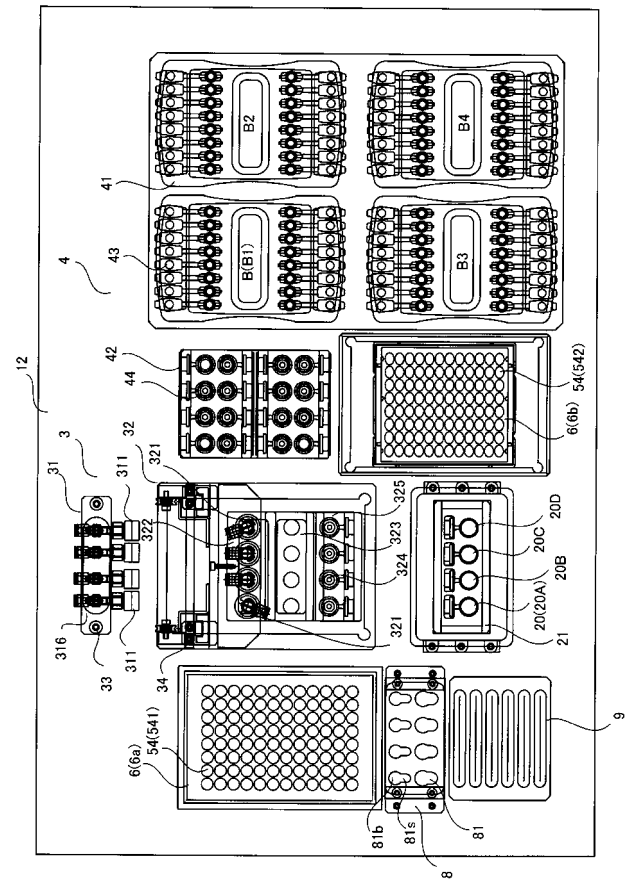
50

6	チップラック	
8	廃棄チップ置場	
9	試薬槽	
10	核酸抽出装置	
20	検体用チューブ	
31	加圧部	
32	分離部	
33	第1移動機構	
34	第2移動機構	
41	チューブ保持部	10
42	プライマー保持部	
50	分注シリンダ	
54	チップ	
311	加圧用カラムキャップ	
312	加圧チューブ	
313	加圧シリンジ	
313a	シリンジ	
313b	プランジャ	
315	圧力センサ	
316	キャップ保持部	20
321	固相抽出カラム	
323	廃液槽	
324	回収用チューブ	
325	回収用チューブ保持部	
521	第1駆動部	
522	第2駆動部	

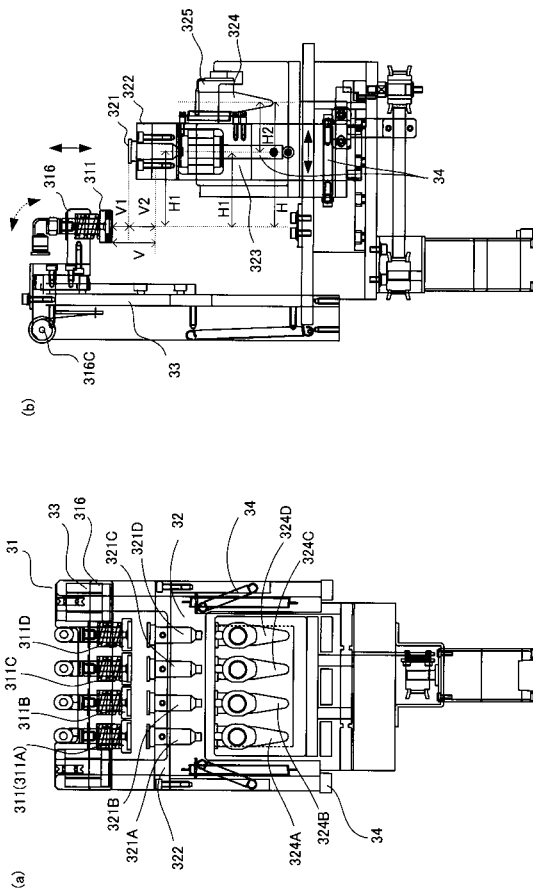
【 図 1 】



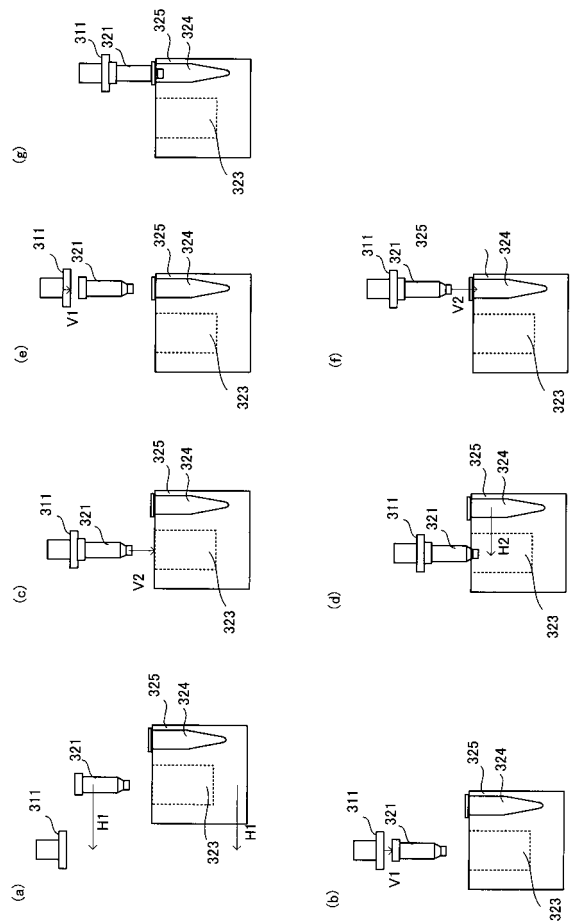
【 図 3 】



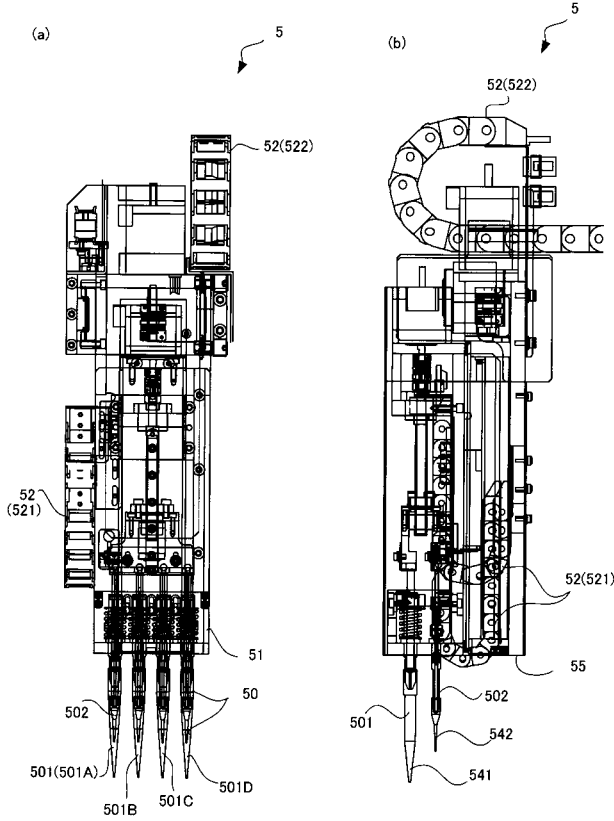
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 1 2 】

サンプル数 (n=50)		手動従来法	自動調製装置
治療対象となる定着型病原体数	29	29	29
治療対象となる非定着型病原体数	2	2	2
平均DNA純度 (A260 nm/A280 nm)	1.76	1.73	1.73
平均ヒト細胞コピ一数 (Ct値)	24.05	24.11	24.11
核酸抽出から結果報告の平均時間/検体 (h)	4.0 h	3.0 h	3.0 h

【 図 1 1 】

$\Delta Ct = -(Ct_{\text{pathogen}} - Ct_{\text{human}})$

Positive cutoff value

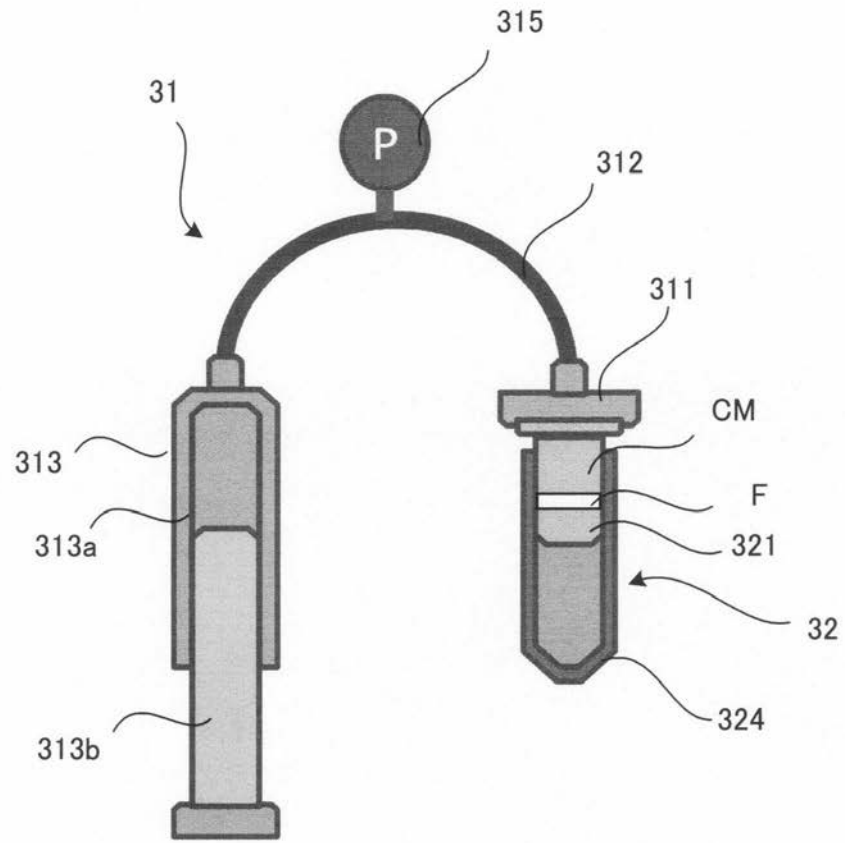
S. pneumoniae(LyfA): $\Delta Ct_{\text{pathogen}} > 4$
Pseudomonas spp.(P. aer): $\Delta Ct_{\text{pathogen}} > 2$
K. pneumoniae(KPNE): $\Delta Ct_{\text{pathogen}} > 4$
H. influenzae(HINF): $\Delta Ct_{\text{pathogen}} > 1$
M. catarrhalis(MCAT): $\Delta Ct_{\text{pathogen}} > 0$

Plus One: 2011.6(9):224474, Epub 2011 Sep 1.

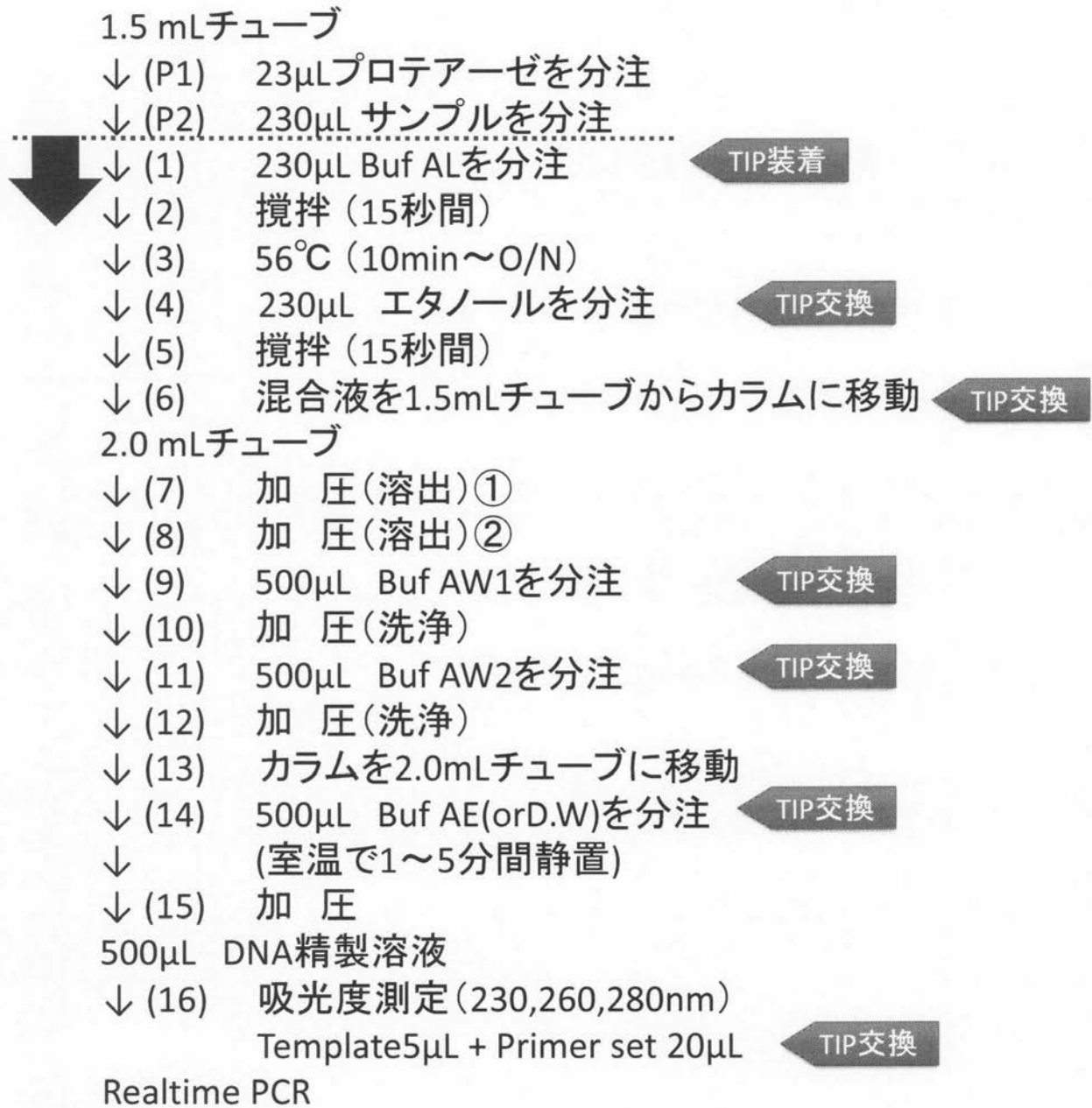
Sample	Primer	従来手法 (遠心法)		本実施形態 (圧送法)		infection
		ΔCt	infection	ΔCt	infection	
207	HINF	4.24	Positive	4.39	Positive	Positive
308	LyfA	5.15	Positive	5.01	Positive	Positive
200	MCAT	-1.16	Negative	-1.25	Negative	Negative
306	LyfA	-3.04	Positive	-3.82	Positive	Positive
325	LyfA	-2.24	Positive	-3.55	Positive	Positive
206	LyfA	N.D.	Negative	-4.66	Negative	Negative
225	LyfA	N.D.	Negative	-8.97	Negative	Negative
225	MCAT	-1.83	Negative	-2.84	Negative	Negative
296	LyfA	-13.11	Negative	-9.25	Negative	Negative
299	LyfA	5.02	Positive	5.17	Positive	Positive
300	LyfA	-2.03	Positive	-2.07	Positive	Positive
305	LyfA	-4.03	Negative	-3.87	Positive	Positive
309	KPNE	3.94	Positive	3.39	Positive	Positive
313	LyfA	1.85	Positive	1.99	Positive	Positive
341	LyfA	-2.09	Positive	-2.16	Positive	Positive
349	P. aer.	8.11	Positive	8.45	Positive	Positive
357	KPNE	0.85	Positive	1.75	Positive	Positive
362	P. aer.	-4.67	Negative	-4.61	Negative	Negative
364	P. aer.	3.11	Positive	3.02	Positive	Positive
376	P. aer.	0.6	Positive	0.6	Positive	Positive

N.D.: Not detected

【 図 2 】

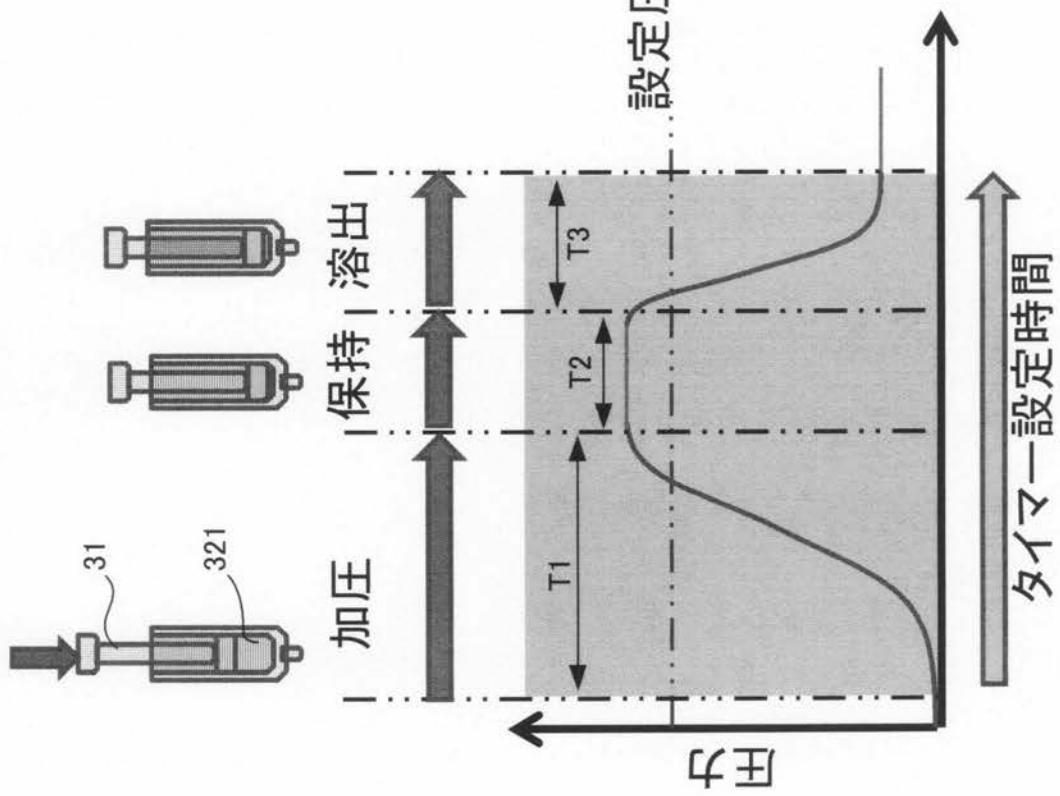


【 図 7 】

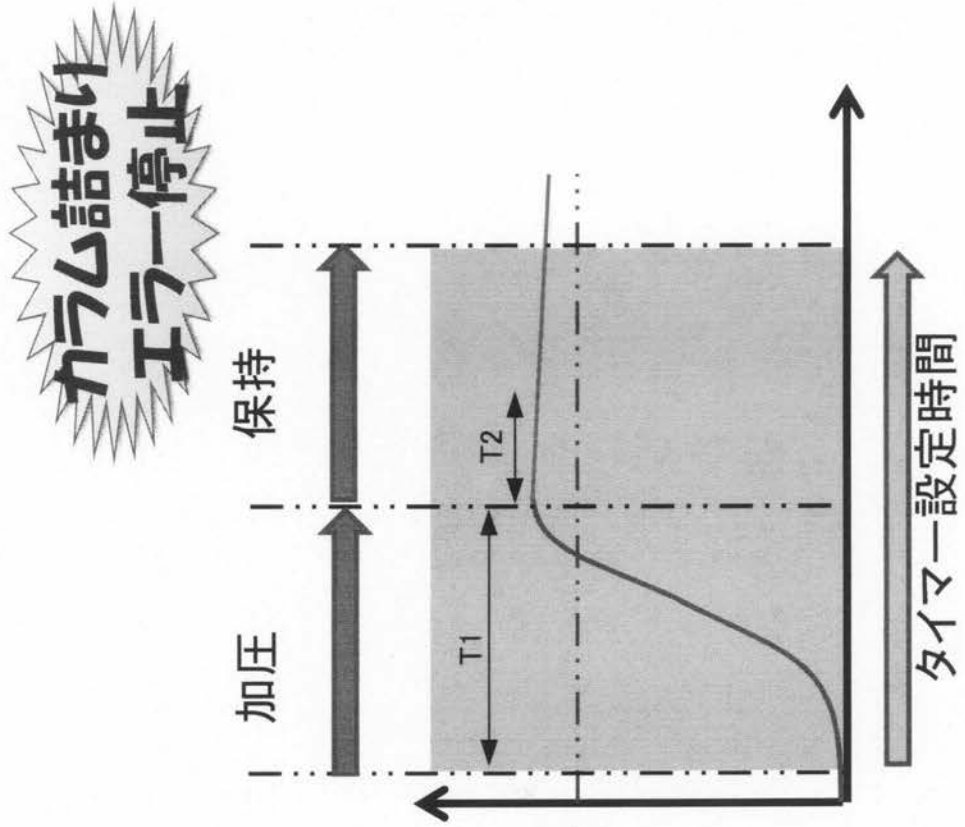


【 図 8 】

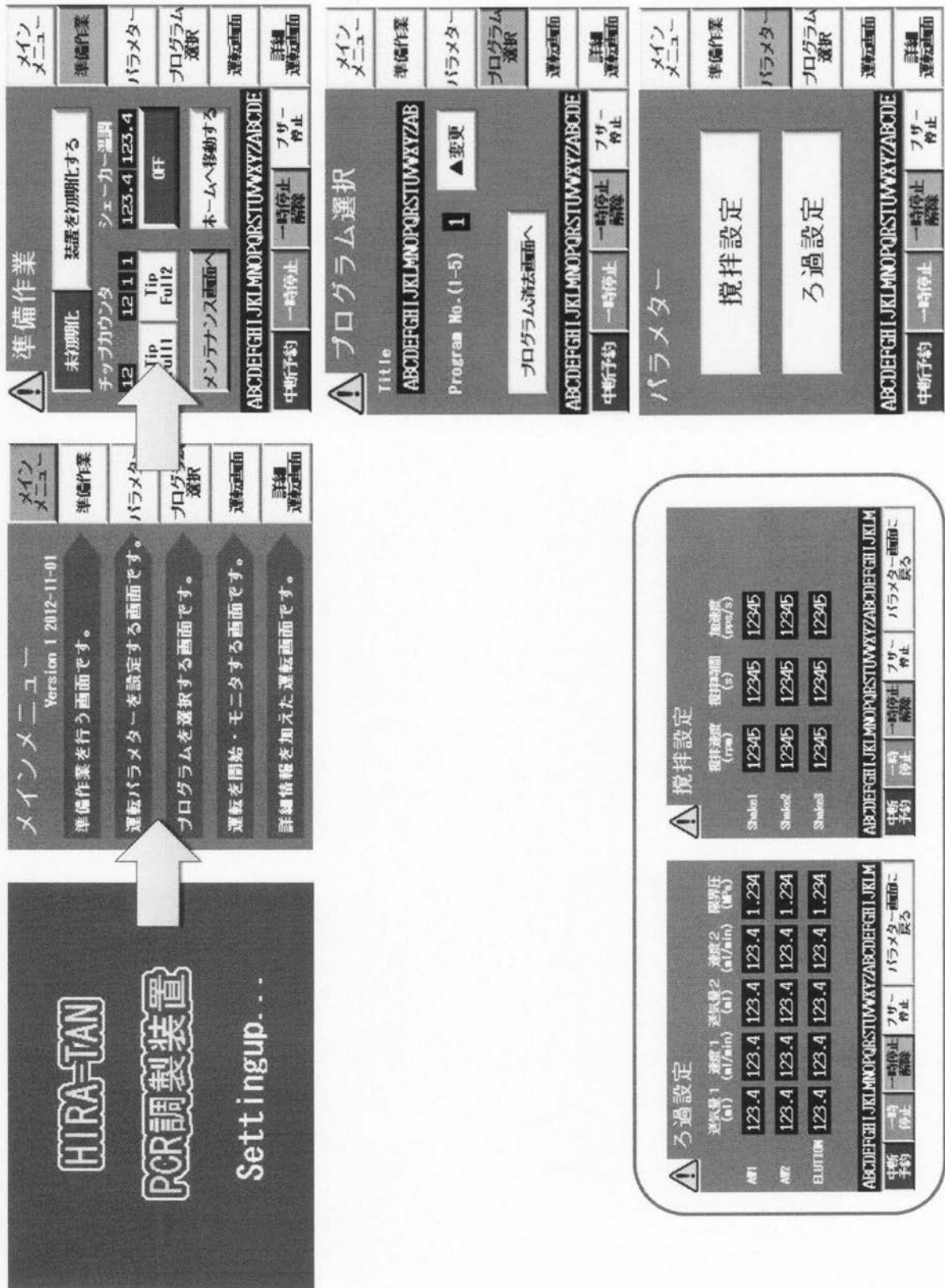
(a)



(b)



【図 9】



準備作業

未初期化 磁置を初期化する

チップカウンタ 12 12 1 1 シェーカー温調 123.4 123.4

Tip Full 123.4 OFF

メンテナンス画面へ

ABCDEF GHI JKLMNOPQRSTUWXY ZABCDE

中断予約 一時停止 一時停止解除 一時停止解除

フザー 停止

メインメニュー 準備作業 パラメータ プログラム選択 運転画面 詳細運転画面

メインメニュー

Version 1 2012-11-01

準備作業を行う画面です。

運転パラメータを設定する画面です。

プログラムを選択する画面です。

運転を開始・モニタする画面です。

詳細情報を加えた運転画面です。

メインメニュー 準備作業 パラメータ プログラム選択 運転画面 詳細運転画面

プログラム選択

Title ABCDEF GHI JKLMNOPQRSTUWXY ZAB

Program No. (1-5) 1 ▲変更

プログラム消去画面へ

ABCDEF GHI JKLMNOPQRSTUWXY ZABCDE

中断予約 一時停止 一時停止解除 一時停止解除

フザー 停止

メインメニュー 準備作業 パラメータ プログラム選択 運転画面 詳細運転画面

ろ過設定

流速1 (ml/min)	流速2 (ml/min)	流速3 (ml/min)	流速4 (ml/min)
123.4	123.4	123.4	1.234
123.4	123.4	123.4	1.234
123.4	123.4	123.4	1.234

加減速 (rpm/s)

12345	12345	12345
12345	12345	12345
12345	12345	12345

ABCDEF GHI JKLMNOPQRSTUWXY ZAB CDEF GHI JKLM

中断予約 一時停止 一時停止解除 一時停止解除

フザー 停止 一時停止解除

パラメータ画面へ 戻る

パラメータ

攪拌設定

ろ過設定

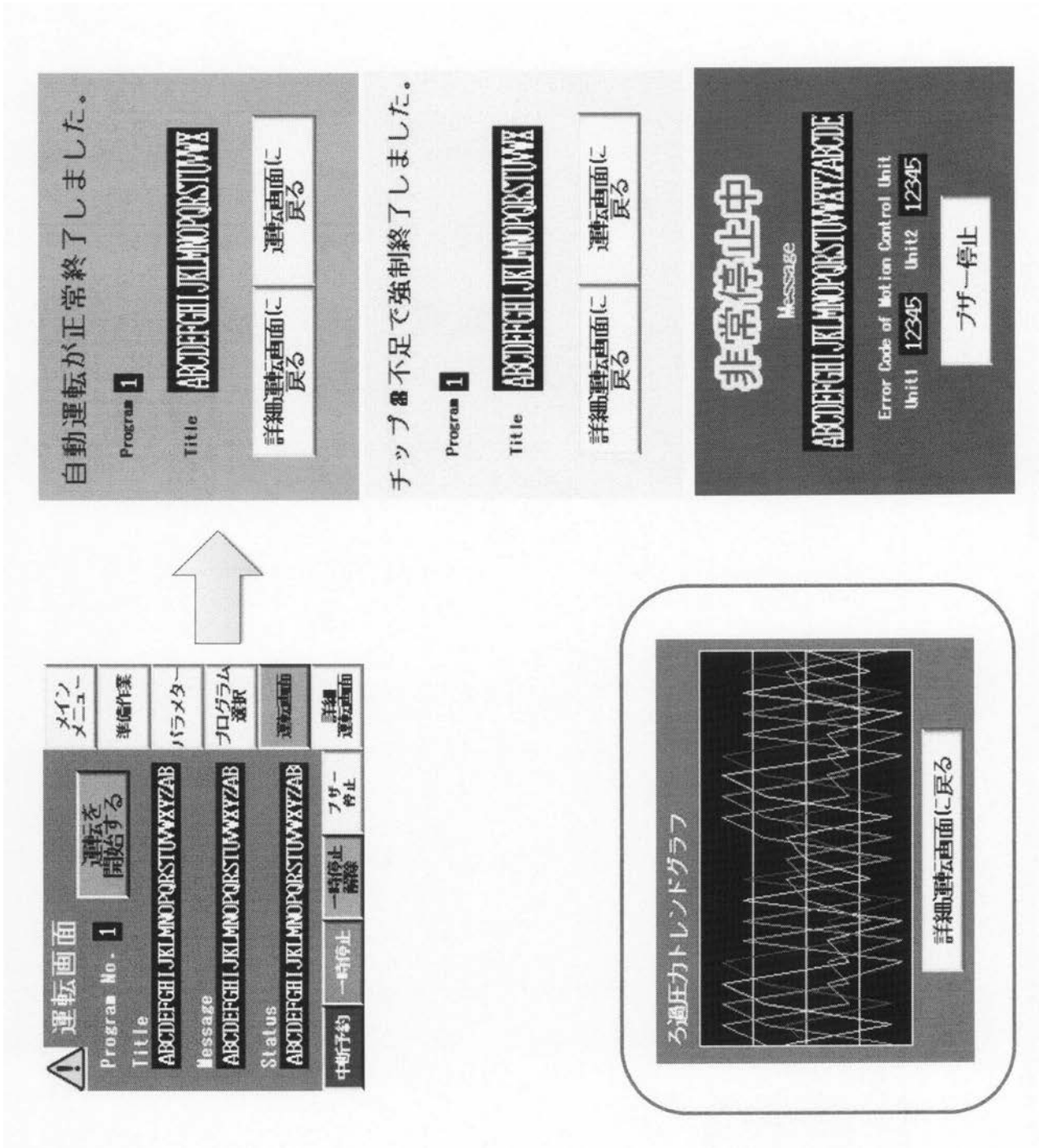
ABCDEF GHI JKLMNOPQRSTUWXY ZAB CDEF GHI JKLM

中断予約 一時停止 一時停止解除 一時停止解除

フザー 停止

メインメニュー 準備作業 パラメータ プログラム選択 運転画面 詳細運転画面

【図 10】



フロントページの続き

- (72)発明者 山本 栄二
埼玉県入間市宮寺字宮ノ台4074番地 株式会社ライフテック内
- (72)発明者 茂木 一
埼玉県入間市宮寺字宮ノ台4074番地 株式会社ライフテック内
- (72)発明者 戸丸 勝博
埼玉県入間市宮寺字宮ノ台4074番地 株式会社ライフテック内
- (72)発明者 平間 崇
埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校法人 埼玉医科大学内
- (72)発明者 萩原 弘一
埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校法人 埼玉医科大学内
- Fターム(参考) 4B024 AA20 CA01 CA11 HA20
4B029 AA09 AA23 BB01 BB20 HA06 HA10