明　細　書

発明の名称 ： サンプル分離器具およびサンプル分離吸着装置

技術分野

[0001] 本発明は、サンプル分離器具およびサンプル分離吸着装置に関する。

本願は、２０１４年１２月４日に、日本に出願された特願２０１４－２４５８５７号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 分子生物学や生化学においては、複数のタンパク質や核酸などが含まれる試料（サンプル）から個別のタンパク質や核酸等の生体分子を分離し、検出する分析が行われる。サンプルから個別の生体分子を分離する手法として、ポリアクリルアミドゲル電気泳動（Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis）が知られている。ＰＡＧＥは、担体分子としてポリアクリルアミドを含むゲル（分離媒体）を用い、生体分子の分子量の差を検出する方法である。

[0003] また、分離した各々の生体分子は、転写膜と呼ばれる樹脂性のシートに吸着させて保持される。この操作のことを「転写」と称することがある。

[0004] 転写された生体分子は、蛍光試薬等で標識された抗体を用いて、抗原抗体反応によって検出される。このような抗体を用いて生体分子を検出する手法はウエスタンブロッティング法として知られている。

[0005] 近年、上述したサンプルの分離と、分離した各々の生体分子の検出と、を自動化する技術が提案されている（例えば、特許文献１，２参照）。

[0006] 特許文献１，２に提案された装置は、いずれも、サンプルの電気泳動を行うゲルを収容したサンプル分離部と、分離した生体分子の転写を行う転写膜（サンプル吸着部材、吸着用部材）とを有している。これらの装置では、サンプル分離部内のゲルでサンプルの分離を行った後に、サンプル分離部と転写膜とを接触させた状態で、サンプル分離部と転写膜とにまたがるように電圧を印加する。このようにすることで、サンプル分離部で分離した生体分子を、さらに転写膜にまで電気泳動させることができ、サンプルの分離と、分

離した生体分子の転写（転写膜への吸着）とを１つの装置で連続的に行うことができる。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：特開２００７－２９２６１６号公報

特許文献2：特開２０１０－８３７６号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 上記特許文献に記載された技術では、サンプル分離部と転写膜とが接触している箇所の接触面積が変動すると、転写の状態が安定せず、生体分子の安定した検出が困難となる。

そのため、安定した転写を可能とする器具が求められていた。

[0009] 本発明は、複数のタンパク質や核酸が含まれたサンプルについて良好に分離させるとともに、安定して転写膜に転写させることが可能なサンプル分離器具である。また、このようなサンプル分離器具を有し、サンプルの分離と転写膜への吸着とを安定して連続的に実施可能とするサンプル分離吸着装置を提供する。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明の一形態は、電気泳動用の分離媒体を収納する収容部と、多孔質材料を形成材料とする支持体と、を有し、前記収容部は、前記分離媒体が充填される内部空間を有するとともに、前記内部空間と連通する供給口および排出口が設けられ、前記支持体は、前記排出口を塞いで設けられているサンプル分離器具を提供する。

[0011] 本発明の一形態においては、前記排出口において前記支持体を保持する保持部材をさらに有する構成としてもよい。

[0012] 本発明の一形態においては、前記内部空間に収容される分離媒体をさらに有し、前記分離媒体は、前記支持体と一体的に形成されている構成としても

よい。

[0013] 本発明の一形態においては、前記分離媒体が、ポリアクリルアミドゲルである構成としてもよい。

[0014] 本発明の一形態は、第１緩衝液を貯留する第１緩衝液槽と、第２緩衝液を貯留する第２緩衝液槽と、前記第１緩衝液槽に配置された第１電極と、前記第２緩衝液槽に配置された第２電極と、前記第１緩衝液槽に配置され、上記のサンプル分離器具と、サンプルを転写する転写体と、を備え、前記サンプル分離器具は、前記供給口が前記第１緩衝液槽の内部で開口すると共に、前記排出口が前記第２緩衝液槽の内部に位置しており、前記サンプル分離器具が有する前記支持体は、前記転写体の一方の面と接し、前記第２電極は、前記転写体の他方の面と接しているサンプル分離吸着装置を提供する。

[0015] 本発明の一形態においては、前記転写体は、前記支持体に対して相対的に移動可能に設けられている構成としてもよい。

発明の効果

[0016] 本発明によれば、複数のタンパク質や核酸が含まれたサンプルについて良好に分離させるとともに、安定して転写膜に転写させることが可能なサンプル分離器具を提供することができる。また、このようなサンプル分離器具を有し、サンプルの分離と転写膜への吸着とを安定して連続的に実施可能とするサンプル分離吸着器具を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0017] [図1]第１実施形態に係るサンプル分離器具の説明図である。

[図2]第１実施形態に係るサンプル分離器具の説明図である。

[図3]第２実施形態に係るサンプル分離器具の説明図である。

[図4]第２実施形態に係るサンプル分離器具の説明図である。

[図5]第３実施形態に係るサンプル分離吸着装置の概略斜視図である。

[図6]第３実施形態に係るサンプル分離吸着装置の断面図である。

[図7]第４実施形態に係るサンプル分離吸着装置の説明図である。

発明を実施するための形態

[0018] ［第１実施形態］

以下、図１、図２を参照しながら、本発明の第１実施形態に係るサンプル分離器具について説明する。なお、以下の全ての図面においては、図面を見やすくするため、各構成要素の寸法や比率などは適宜異ならせてある。

[0019] 以下に説明する本発明に係るサンプル分離器具や、後述するサンプル分離装置は、生体分子の混合物であるサンプルをゲル電気泳動により分離し、検出する操作において好適に用いることができる。

[0020] なお、本明細書において「生体分子」とは、生体内の反応に関与する生体関連分子であり、天然由来分子、合成分子、天然由来分子と合成分子とのいずれか一方または両方を含む複合体のいずれでもよい。

[0021] 解析対象物である生体分子は、通常は高分子化合物であり、生体由来又は生体関連の高分子化合物であることが好ましく、タンパク質、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）、リボ核酸（ＲＮＡ）、ペプチド核酸、糖、これらの二種以上が結合又は相互作用して形成された複合体が例示できる。生体分子が生体由来のものである場合、動物、植物及び微生物のいずれに由来するものでもよい。

[0022] 電気泳動により分離し、転写膜へと転写して抗体で検出される（ウエスタンブロッティング法により検出される）生体分子は、タンパク質又はタンパク質を含む複合体であることが多い。本発明のサンプル分離器具またはサンプル分離吸着装置は、このようなタンパク質又はタンパク質を含む複合体（サンプル）を対象として用いられる。

[0023] 図１は、サンプル分離器具１の説明図である。以下の説明においては、サンプル分離器具１のことを、単に「分離器具１」と称することがある。図１（ａ）は分離器具１の分解斜視図、図１（ｂ）は分離器具１の斜視図、図１（ｃ）は、図１（ｂ）の線分Ｉｃ－Ｉｃにおける矢視断面図である。

[0024] 図１に示すように、分離器具１は、収容部１０と、支持体２０と、保持部材３０とを有する。

[0025] （収容部）

図１（ａ）に示すように、収容部１０は、第１部材１１、第２部材１２、スペーサ１３，１４を有している。

第１部材１１および第２部材１２は、平面視矩形の板状部材である。第１部材１１と第２部材１２とは、短手方向の長さが一致し、長手方向の長さは第１部材１１の方が第２部材１２よりも長い構成となっている。

[0026] スペーサ１３，１４は、第１部材１１の長手方向の長さと同じ長さを有する角柱である。

[0027] これら第１部材１１、第２部材１２、スペーサ１３，１４を有する収容部１０は、同じ形成材料を用いて形成することとしてもよく、異なる形成材料を用いて形成してもよい。

収容部１０の形成材料としては、アクリル樹脂やポリカーボネート樹脂等の樹脂材料や、ガラス、セラミックのような無機材料などを挙げることができる。第１部材１１および第２部材１２のいずれか一方または両方は、光透過性を有する材料を用いて形成することとしてもよい。

[0028] さらに、第１部材１１および第２部材１２については、互いに対向する面に、後述する分離媒体を好適に保持するための表面処理を施すこととしてもよい。

[0029] 図１（ａ）（ｂ）に示すように、収容部１０を組み立てるには、まず平面視において第１部材１１と第２部材１２との短手方向の端部位置を一致させるとともに、長手方向の一端の位置を一致させる。そして、第１部材１１の短手方向の両端において第１部材１１の長手方向に沿ってスペーサ１３，１４を配置させた状態で、第１部材１１と第２部材１２とでスペーサ１３，１４を挟持して固定する。

[0030] 図１（ｂ）（ｃ）に示すように、収容部１０は、内部空間１０ｃを有し、一端側に供給口１０ａ、他端側に排出口１０ｂを有する扁平した角筒状の構造物である。内部空間１０ｃには、後述する電気泳動用の分離媒体を収容する。

[0031] 供給口１０ａは、第２部材１２において大きく開口している。これにより

、作業者は、分離媒体の充填時やサンプルの供給時に操作が容易となり、作業性が向上する。

[0032]（支持体）

支持体２０は、多孔質材料を形成材料とする直方体状の部材である。図１に示すように、分離器具１においては、支持体２０は、収容部１０の排出口１０ｂを塞ぐようにして設けられている。また、支持体２０は、収容部１０の排出口１０ｂから突出して設けられている。

[0033] 支持体２０は、排出口１０ｂにおいて、接着剤や両面粘着テープあるいは圧着、熱溶着により固定されているとよい。接着剤としては、酢酸ビニル樹脂系接着剤や、合成ゴム系接着剤を用いることができる。

[0034] 詳しくは後述するが、収容部１０に収容される分離媒体としては、水と、水を担持する高分子量の担体分子と、を含むゲル状の物質が好適に用いられる。支持体２０は、排出口１０ｂにおいて、このような分離媒体を支持する機能を有する。

[0035] そのため、支持体２０は、水に不溶性で、分離媒体のゲル化を阻害せず、分離媒体との密着性を有する程度の親水性を有する多孔質材料であることが好ましい。例えば、線維化樹脂のフェルト（不織布加工品）等を好適に用いることができる。繊維化樹脂の形成材料としては、ポリエチレンテレフタラート(ＰＥＴ)、ポリエチレン(ＰＥ)、ポリプロピレン(ＰＰ)を例示することができる。

[0036] 支持体２０の形成材料である繊維化樹脂は、１種のみ用いることとしてもよく、２種以上の混合物であってもよい。また、支持体２０の形成材料である繊維化樹脂は、親水化処理等の追加処理を行ったものでもよい。支持体２０としては、ＰＥＴ樹脂の繊維化樹脂を形成材料とするフェルトが好ましい。

[0037] このような支持体２０は、例えば、１０Ｎの圧力が加わったときであってもほぼ変形しない程度の剛性を有していると好ましい。このような剛性を有する支持体２０を用いると、後述する転写操作中に支持体２０が変形しにく

く、安定した操作が可能となる。なお、上記では支持体２０を直方体状の部材で説明しているが、それに限定されず、膜状などの支持できる形状であれば構わない。

[0038] （保持部材）

保持部材３０は、収容部１０の排出口１０ｂ側の端部に設けられている。保持部材３０は、収容部１０の排出口１０ｂと連通する貫通孔３０ａを有している。貫通孔３０ａは、排出口１０ｂに面する側から、排出口１０ｂとは反対側まで同じ径となるように設けられている。

[0039] 保持部材３０は、収容部１０の排出口１０ｂから突出する支持体２０を貫通孔３０ａの内部に収容し、支持体２０の側面２０ａを保持している。貫通孔３０ａに収容された支持体２０は、端面２０ｘの位置が貫通孔３０ａの端部と一致する、または貫通孔３０ａの端部からわずかに突出するように配置している。

[0040] また、図１（ｃ）に示すように、保持部材３０は、収容部１０側とは反対側の端面３０ｘが、線分Ｉｃ－Ｉｃの矢視方向の断面において湾曲している。そのため、分離器具１を線分Ｉｃ－Ｉｃの矢視方向の断面で見たとき、分離器具１の排出口１０ｂ側の先端は、支持体２０の端面２０ｘとなっている。

[0041] 保持部材３０は、収容部１０と同様の形成材料を用いて形成することができる。

[0042] 分離器具１の組み立て時には、まず保持部材３０の貫通孔３０ａ内に支持体２０を挿入し、その後、別途組み立てた収容部１０の排出口１０ｂに支持体２０を挿入するとよい。

このようにすることで、組み立て作業が容易となる。

[0043] 図２は、内部空間１０ｃに分離媒体を収容した分離器具１の一例についての説明図である。図２（ａ）は、図１（ｃ）に対応する断面図であり、図２（ｂ）は、図１（ｂ）の線分IIｂ－IIｂにおける矢視断面図である。

[0044] 分離媒体４０は、生体分子を電気泳動時に保持するものであり、且つ生体

分子が電気泳動時に内部を移動可能なものである。ゲル電気泳動では、通常、水と、水を担持する高分子量の担体分子と、を含むゲル状の分離媒体を用いる。

[0045] ゲル電気泳動では、サンプルを付した分離媒体について、一端側と他端側とに電位差を生じさせると、荷電粒子であるタンパク質がゲル内を移動する。その際、ゲル中の担体分子がタンパク質の移動を遮る「分子ふるい効果」のため、タンパク質の電荷、分子量、形等の違いに基づいて、電圧印加時に単位時間当たりのタンパク質の移動距離が異なる。その結果、分析対象物に含まれる複数のタンパク質を個別に分離することができる。

[0046] 分離媒体４０は、上述のような電気泳動について通常用いられるものであれば使用可能である。分離媒体４０の形成材料は、分離対象であるサンプルの内容、またはサンプルに含まれると予想される生体分子の種類に応じて適宜選択すればよく、ポリアクリルアミドゲル、ジメチルアクリルアミドゲル、アガロースゲル等を例示できる。

[0047] このような分離媒体４０は、分離器具１の供給口１０ａから分離媒体４０の前駆体（モノマーおよび架橋剤）を流し入れ、内部空間１０ｃで前駆体を重合させゲル化させることで得られる。

[0048] 具体的には、支持体２０の外側に液漏れ防止のためのカバーを設置した後、供給口１０ａから分離媒体４０の前駆体を流し入れ、前駆体を重合させてゲル化させる。カバーは、使用前に取り外すこととすると、支持体２０の端面２０ｘの保護材としても機能する。

[0049] 前駆体を流し入れる前に、予め供給口１０ａ側に櫛歯状の治具を配置しておき、治具が浸漬するまで前駆体を流し入れた後に治具を取り除くことで、図２（ｂ）に示すように、分離媒体４０の端部に複数の溝４０ａを設けることとしてもよい。治具の形状により、複数の溝４０ａの間隔を制御することができる。例えば、複数の溝４０ａを等間隔に設け、溝４０ａにサンプルを注入することで、分離媒体４０においてサンプル間の間隔を等間隔に制御しやすい。

[0050] 上述のようにして分離媒体４０を収容すると、前駆体を内部空間１０ｃに流し入れた際に、前駆体は内部空間１０ｃのみならず、多孔質材料を形成材料とする支持体２０にも含浸する。このような状態で前駆体を重合させると、分離媒体４０は、内部空間１０ｃに収容されるとともに多孔質材料である支持体２０の内部空間にも充填される。そのため、分離媒体４０は、供給口１０ａの端部から支持体２０の端面２０ｘまで、単一部材で形成されることとなる。また、分離媒体４０と支持体２０とは、一体的に形成されていればよい。たとえば、上記に記載のように分離媒体４０が支持体２０に含浸することで分離媒体４０と支持体２０が一体に形成されることや、分離媒体４０と支持体２０とが接着剤によって一体に形成されていればよい。

[0051] 上述のように分離媒体４０は水と高分子の担体分子とを有するゲル状物質であるため、ゲルの含水量の変化や温度変化により収縮する場合がある。たとえば、分離媒体４０を収容した後に、排出口１０ｂに支持体２０を配置することにより、分離媒体４０が支持体２０と一体的に形成されていない場合、分離媒体４０は等方的に収縮するため、内部空間１０ｃ内に収縮し、分離媒体４０が排出口１０ｂ側から後退するおそれがある。その場合、分離媒体４０は支持体２０と離間し、サンプルの分離操作や、後述するサンプルの転写の状態に不具合が生じるおそれがある。

[0052] しかし、上述のように、分離媒体４０と支持体２０とが一体的に形成される構造を採用すると、分離媒体４０が収縮する場合、分離媒体４０は支持体２０側に引き寄せられるようにして収縮する。そのため、分離媒体４０は排出口１０ｂ側から後退することなく、排出口１０ｂ側の端部の位置を一定に保つことができる。

[0053] 以上のような構成の分離器具１によれば、複数のタンパク質や核酸が含まれたサンプルについて良好に分離させるとともに、安定して転写膜に転写させることが可能なサンプル分離器具を提供することができる。

[0054] なお、分離器具１においては、保持部材３０を有することとしたが、保持部材３０を用いることなく、収容部１０と支持体２０とで分離器具を構成す

ることとしてもよい。

[0055] また、収容部１０は、第１部材１１、第２部材１２、スペーサ１３，１４で構成されることとしたが、これに限らない。例えば、第１部材１１とスペーサ１３、１４とが単一部材で構成された構造物と、第２部材１２とを用いて収容部を構成することとしてもよい。

[0056] ［第２実施形態］

図３、４は、本発明の第２実施形態に係るサンプル分離器具について説明する説明図であり、サンプル分離器具の先端側（排出口側）の形状を示す部分断面図である。第２実施形態に係るサンプル分離器具は、サンプル分離器具の先端側の形状が第１実施形態のサンプル分離器具１と異なっている。そのため、分離器具１と共通する部材については説明を省略する。

[0057] 図３に示すサンプル分離器具２（分離器具２）は、収容部１０の排出口１０ｂ側の端部に保持部材３１が設けられている。保持部材３１は、収容部１０の排出口１０ｂと連通する貫通孔３１ａを有している。貫通孔３１ａは、排出口１０ｂに面する側の開口径Ｌ１よりも、排出口１０ｂとは反対側の開口径Ｌ２のほうが小さくなるように設けられている。

ここでは、分離器具２の厚さ方向（第１部材１１と第２部材１２との積層方向）の幅が変化することで、開口径Ｌ１と開口径Ｌ２とが変化している構成を採用している。

[0058] 分離器具２は、支持体２１を有している。支持体２１は、多孔質材料を形成材料とする部材であり、図３の視野の断面視形状が、分離器具２の厚さ方向に幅が漸減する台形状となっている。すなわち、支持体２１は、分離器具２の内部空間側の幅Ｗ１よりも、内部空間とは反対側の幅Ｌ２のほうが小さくなっている。なお、図では、支持体２１の収容部１０側の端部が収容部１０の排出口１０ｂの外に位置しているが、支持体２１の少なくとも一部が排出口１０ｂに収容されていてもよい。

[0059] 図４に示すサンプル分離器具３（分離器具３）は、収容部１０の排出口１０ｂ側の端部に保持部材３２が設けられている。保持部材３２は、収容部１

０の排出口１０ｂと連通する貫通孔３２ａを有している。貫通孔３２ａは、排出口１０ｂの開口径Ｌ３よりも、小さい開口径Ｌ４となるように設けられている。

[0060] 分離器具３は、支持体２２を有している。支持体２２は、多孔質材料を形成材料とする部材である。支持体２２は、図４の視野の断面視形状において、排出口１０ｂ側の端部が分離器具３の厚さ方向に張り出している。すなわち、支持体２２は、分離器具３の内部空間側の幅Ｗ３よりも、内部空間とは反対側の幅Ｌ４のほうが小さくなっている。

[0061] 以上のような構成の分離器具２、３によれば、上述の分離器具１と同様に安定して転写膜に転写させることが可能なサンプル分離器具を提供することができる。また、支持体２１、２２を採用することにより、支持体の脱落を抑制し、安定した作業が可能となる。

[0062] ［第３実施形態］

図５，６は、本発明の第３実施形態に係るサンプル分離吸着装置１００について説明する説明図である。以下の説明においては、サンプル分離吸着装置１００のことを、単に「分離吸着装置１００」と称することがある。図５は、分離吸着装置１００の概略斜視図である。図６は、分離吸着装置１００の断面図であり、使用時の様子を示す図である。

[0063] 図５，６に示すように、本実施形態の分離吸着装置１００は、サンプル分離部１１０と、サンプル吸着部１２０と、を有している。

[0064] サンプル分離部１１０は、第１緩衝液槽１１１と、第１電極１１２と、橋梁部１１３と、上述した本発明に係るサンプル分離器具と、を有している。図５では、サンプル分離器具として、第１実施形態で示した分離器具１を有することとして示している。

[0065] 第１緩衝液槽１１１は、緩衝液を貯留する内部空間１１１ａを有する容器である。第１緩衝液槽１１１には、分離器具１が取り付けられている。

[0066] 第１緩衝液槽１１１に取り付けられた分離器具１は、供給口１０ａが第１緩衝液槽１１１の内部空間１１１ａで開口している。また、分離器具１の保

持部材３０側の先端は、第１緩衝液槽１１１の底部よりも下方に突出して設けられている。

[0067] 第１電極１１２は、第１緩衝液槽１１１の内部空間１１１ａに配置されている。第１電極１１２としては、例えば白金電極を用いることができる。

[0068] 橋梁部１１３は、第１緩衝液槽１１１を挟持し、所定の高さ方向に持ち上げた状態で支持する部材である。橋梁部１１３は、第１緩衝液槽１１１を支持した状態で、分離器具１の厚さ方向（図中、符号Ｄで示す白抜き矢印の方向）に移動可能に設けられている。また、橋梁部１１３は、第１緩衝液槽１１１の高さ位置を調整するための調整手段が設けられていてもよい。

[0069] サンプル吸着部１２０は、第２緩衝液槽１２１と、第２電極１２２と、転写体１２３と、を有している。

[0070] 第２緩衝液槽１２１は、平面視矩形を呈し、緩衝液を貯留する内部空間１２１ａを有する容器である。サンプル分離部１１０の橋梁部１１３は、第２緩衝液槽１２１の両側に配置されており、第１緩衝液槽１１１および分離器具１が第２緩衝液槽１２１を跨ぐようにして、第２緩衝液槽１２１の上方に配置されている。

[0071] 第１緩衝液槽１１１に取り付けられた分離器具１は、排出口１０ｂが第２緩衝液槽１２１の内部空間１２１ａに位置している。

[0072] 第２電極１２２は、平面視矩形を呈する板状の部材であり第２緩衝液槽１２１の内部空間１２１ａに配置されている。第２電極１２２としては、例えば白金電極を用いることができる。

[0073] 第２電極１２２は第１電極１１２と電気的に接続されており、第１電極１１２と第２電極１２２との間に電圧を印加可能となっている。その際、第１電極１１２を陰極、第２電極１２２を陽極として用いる。

[0074] 転写体１２３は、平面視矩形を呈する板状または膜状の部材であり、生体分子を吸着し保持できる部材である。転写体１２３の形成材料は、分離対象であるサンプルの内容、またはサンプルに含まれると予想される生体分子の種類に応じて適宜選択すればよく、ＰＶＤＦ（ポリフッ化ビニリデン）、ニ

トロセルロース膜等を例示できる。

[0075] 転写体１２３は、第２電極１２２の一面に積層されており、第２電極１２２側とは反対側の面をサンプル分離部１１０側に向けて配置されている。

[0076] 図６に示すように、分離吸着装置１００の使用時には、第１緩衝液槽１１１に緩衝液１５０を貯留し、第２緩衝液槽１２１に緩衝液１６０を貯留する。緩衝液１５０は陰極用の緩衝液であり、緩衝液１６０は陽極用の緩衝液である。

[0077] 緩衝液１５０、１６０は、公知の組成の緩衝液を用いることができ、分離対象であるサンプルの内容、またはサンプルに含まれると予想される生体分子の種類に応じて適宜選択すればよい。好ましいものとしては、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Ｔｒｉｓ）／グリシン緩衝液、Ｔｒｉｓ／グリシン／ドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）緩衝液、酢酸緩衝液、炭酸ナトリウム緩衝液、Ｎ－シクロヘキシル－３－アミノプロパンスルホン酸（ＣＡＰＳ）緩衝液、Ｔｒｉｓ／ホウ酸／エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）緩衝液、Ｔｒｉｓ／酢酸／エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）緩衝液、３－モルホリノプロパンスルホン酸（ＭＯＰＳ）緩衝液、リン酸緩衝液、Ｔｒｉｓ／トリシン緩衝液、Ｔｒｉｓ／メタノール緩衝液、Ｔｒｉｓ／エタノール緩衝液等が例示できる。

[0078] 分離吸着装置１００の使用時には、分離器具１の供給口１０ａから分離媒体４０にサンプルを供給した後、分離器具１を第１緩衝液槽１１１に設置する。その際、分離器具１の支持体２０を所定の圧力にて転写体１２３に押し当てる。

[0079] 転写体１２３に支持体２０を押し当てる際の「所定の圧力」は、０．１Ｎ以上１０Ｎ以下であることが好ましく、２Ｎ以上８Ｎ以下であることがより好ましく、５Ｎ以上６Ｎ以下であることがさらに好ましい。上限値および下限値は任意に組み合わせることができる。

[0080] その後、第１緩衝液槽１１１および第２緩衝液槽１２１に緩衝液１５０を貯留する。第１緩衝液槽１１１においては、供給口１０ａに達する量の緩衝

液１５０を貯留しておく。

第１電極１１２は、緩衝液１５０に浸漬している。

[0081] また、第２緩衝液槽１２１においては、分離器具１の先端である支持体２０の端面２０ｘに達する量の緩衝液１６０を貯留しておく。第２電極１２２および転写体１２３は、緩衝液１６０に浸漬している。

[0082] このような状態で、第１電極１１２および第２電極１２２の間に所定の電圧を印加し、分離器具１の分離媒体４０に付したサンプルに含まれる生体分子を電気泳動させる。電気泳動の種類は特に制限されず、電気泳動に供される生体分子に応じて適宜選択されればよい。生体分子がタンパク質である場合、ＳＤＳ電気泳動、Native電気泳動、Blue Native電気泳動、二次元電気泳動等の電気泳動法を用いることが挙げられる。

[0083] 分離器具１の分離媒体４０に付したサンプルは、分離媒体４０内を支持体２０側に移動しながら、分離媒体４０において、生体分子の電荷、分子量、形等の違いに基づいて分離される（分離操作）。

[0084] サンプルに含まれる生体分子のうち、最も移動速度が速いものが支持体２０に達する頃に、サンプル分離部１１０の橋梁部１１３が第２緩衝液槽１２１の縁に沿って移動を開始する。これにより、分離器具１の支持体２０と転写体１２３とが相対的に移動する。

[0085] 転写体１２３では、支持体２０の移動に伴い、支持体２０を介して排出される生体分子を吸着する位置が変化する。これにより、転写体１２３は、分離媒体４０で分離した生体分子を、再度混合させることなく分離した状態で保持する（転写操作）。

[0086] 転写操作後、生体分子が保持された転写体１２３を取出し、ウエスタンブロッティング法等の公知の方法を実施することで、分離した生体分子の種類や量を検出することができる。

[0087] 以上のような構成の分離吸着装置１００によれば、上述した本発明のサンプル分離器具１を用いているため、サンプルの分離と転写体への吸着とを安定して連続的に実施可能となる。

[0088] ［第４実施形態］

図７は、本発明の第４実施形態に係るサンプル分離吸着装置２００（分離吸着装置２００）について説明する説明図であり、図６に対応する図である。

[0089] 分離吸着装置２００は、上述したサンプル分離部１１０と、サンプル吸着部２２０と、を有している。

[0090] サンプル吸着部２２０は、第２緩衝液槽２２１と、第２電極２２２と、転写体２２３と、巻出しロール２２４と、巻取りロール２２５と、を有している。

[0091] 第２緩衝液槽２２１は、上述した第２緩衝液槽１２１と同様の構成を採用できる。

[0092] 第２電極２２２は、たとえば排出口１０ｂの開口径と同等の大きさを有する平面視矩形の板状の部材であり、分離器具１の支持体２０の下方において支持体２０と対向する位置に配置されている。第２電極２２２としては、例えば白金電極を用いることができる。

[0093] 第２電極２２２は第１電極１１２と電気的に接続されており、第１電極１１２と第２電極２２２との間に電圧を印加可能となっている。その際、第１電極１１２を陰極、第２電極２２２を陽極として用いる。

[0094] 転写体２２３は、一方向に延在する帯状の部材であり、生体分子を吸着し保持できる部材である。転写体２２３の形成材料は、上述した転写体１２３と同様の材料を採用可能である。

[0095] 転写体２２３は、ロール状に巻き取った状態で巻出しロール２２４に配置され、巻出しロール２２４から巻き出されながら、支持体２０と第２電極２２２との間を通過し、巻取りロール２２５に巻き取られる。

[0096] このような分離吸着装置２００の使用時には、分離器具１の供給口１０ａから分離媒体４０にサンプルを供給した後、分離器具１を第１緩衝液槽１１１に設置する。その際、分離器具１の支持体２０と第２電極２２２とで転写体２２３を挟持し、支持体２０を所定の圧力にて転写体２２３に押し当てる

。

[0097] 転写体２２３に支持体２０を押し当てる際の「所定の圧力」は、０．１Ｎ以上１０Ｎ以下であることが好ましく、２Ｎ以上８Ｎ以下であることがより好ましく、５Ｎ以上６Ｎ以下であることがさらに好ましい。上限値および下限値は任意に組み合わせることができる。

[0098] このような状態で、第１緩衝液槽１１１および第２緩衝液槽２２１に緩衝液１５０を貯留する。第１電極１１２および第２電極２２２の間に所定の電圧を印加し、分離器具１の分離媒体４０に付したサンプルに含まれる生体分子を電気泳動させる。

[0099] サンプルに含まれる生体分子のうち、最も移動速度が速いものが支持体２０に達する頃に、巻出しロール２２４からロール状に巻き取った転写体２２３を巻出し、巻取りロール２２５が巻き取る。これにより、分離器具１の支持体２０と転写体２２３とが相対的に移動する。

[0100] 転写体２２３では、転写体２２３の移動に伴い生体分子を吸着する位置が変化する。これにより、転写体２２３は、分離媒体４０で分離した生体分子を、再度混合させることなく分離した状態で保持する（転写操作）。

[0101] 転写操作後、生体分子が保持された転写体２２３を取出し、ウエスタンブロッティング法等の公知の方法を実施することで、分離した生体分子の種類や量を検出することができる。

[0102] 以上のような構成の分離吸着装置２００であっても、上述した本発明のサンプル分離器具１を用いているため、サンプルの分離と転写体への吸着とを安定して連続的に実施可能となる。

実施例

[0103] 以下に本発明を実施例により説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

[0104] なお、実施例においては、分離器具として、第１実施形態で説明した分離器具１と同じ構成のものを用いた。また、分離吸着装置として、第３実施形態で説明した分離吸着装置１００と同じ構成のものを用いた。そのため、以

下の説明においては、適宜図１，２に付した符号を用いて説明する。

[0105] ［実施例１］

生体分子サンプルは、生体組織（マウス肝臓）を８ｍｏｌ／Ｌの尿素、２ｍｏｌ／Ｌのチオ尿素、４質量％の3-（3-cholamidepropyl）dimethylammonio-1-propanesulphonate（ＣＨＡＰＳ）、２０ｍｍｏｌ／Ｌのジチオトレイトール（ＤＴＴ）の各水溶液により可溶化し、遠心分離によって不溶な夾雑物を取り除いて抽出したタンパク質溶液を用いた。

[0106] ポリエチレンテレフタラートの多孔質材料で形成した支持体２０が固定された分離器具１に、ゲル重合が阻害されないように十分に減圧下で脱気を行った１０質量％アクリルアミド溶液を注入した。アクリルアミド溶液に、さらにテトラメチルエチレンジアミン（ＴＥＭＥＤ）と過硫酸アンモニウム(ＡＰＳ)を加えてゲル化し、ポリアクリルアミドゲルの分離媒体４０を作製した。

[0107] 第１緩衝液槽１１１には、陰極用の緩衝液１８０ｍＬを貯留し、第２緩衝液槽１２１には陽極用の緩衝液２００ｍＬを貯留した。

[0108] 陰極用の緩衝液としては、１００ｍｍｏｌ／ＬのＭＯＰＳ、５０ｍｍｏｌ／Ｌのビス（２－ヒドロキシエチル）アミノ－トリス（ヒドロキシメチル）メタン）（Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ）、５０ｍｍｏｌ／ＬのＴｒｉｓ、０．２５％のＳＤＳの混合水液を用いた。

[0109] 陽極用の緩衝液としては、１００ｍｍｏｌ／ＬのＭＯＰＳ、５０ｍｍｏｌ／ＬのＢｉｓ－Ｔｒｉｓ、５０ｍｍｏｌ／ＬのＴｒｉｓ、２０体積％ＥｔＯＨの混合水液を用いた。

[0110] 上記タンパク質溶液にＳＤＳ溶液を加えて平衡化した後、供給口１０ａ側に露出した分離媒体４０に添加した。その後、第１電極１１２と第２電極１２２との間に５０ｍＡの定電流で電圧を印加して、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）法により生体分子の分離を行った。

[0111] 転写体に生体分子を吸着させた後、３質量％スキムミルクにてブロッキング処理し、ウエスタンブロッティング法によりタンパク質のバンド像が検出

できることを確認した。

[0112] ［実施例２］

まず、電気泳動装置（シャープ株式会社、Ａｕｔｏ ２Ｄ、ＢＭ－１００）を用い、上記タンパク質溶液をＩＥＦ（等電点電気泳動）チップにて固有の電荷にて分離した（１次元目電気泳動）。ＩＥＦチップのゲル部分をＳＤＳ溶液に含侵し平衡化した後、ＩＥＦチップのゲル部分を、供給口１０ａ側に露出した分離媒体４０に設置した。

[0113] その後、実施例１と同様にして、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）法により生体サンプルの分離を行った（２次元目電気泳動）。

[0114] タンパク質が保持された転写膜を用いて、実施例１と同様にウエスタンブロッティング法により特定のタンパク質が検出できることを確認した。

[0115] 本実施形態では、タンパク質を二次元電気泳動によって展開されている為、本実施形態でタンパク質が転写された転写膜は分子量、等電点などのタンパク質情報を有するプロテインチップとして用いることができる。

[0116] 以上の結果より、本発明が有用であることが確認できた。

産業上の利用可能性

[0117] 本発明は、医学、工学、薬学、理学、農学等の生命科学分野において、広く利用可能である。

符号の説明

[0118] １，２，３…サンプル分離器具（分離器具）

２０，２１，２２…支持体

１０…収容部

１０ａ…供給口

１０ｂ…排出口

１０ｃ…内部空間

３０，３１，３２…保持部材

４０…分離媒体

１００，２００…サンプル分離吸着装置（分離吸着装置）

１１１…第１緩衝液槽

１１２…第１電極

１２１，２２１…第２緩衝液槽

１２２，２２２…第２電極

１２３，２２３…転写体

１５０，１６０…緩衝液

請求の範囲

[請求項1] 電気泳動用の分離媒体を収容することが可能な収容部と、

多孔質材料を形成材料とする支持体と、を有し、

前記収容部は、前記分離媒体を充填することが可能な内部空間を有するとともに、前記内部空間と連通する供給口および排出口が設けられ、

前記支持体は、前記排出口を塞いで設けられているサンプル分離器具。

[請求項2] 前記支持体は、前記排出口から突出している請求項１に記載のサンプル分離器具。

[請求項3] 前記排出口において前記支持体を保持する保持部材をさらに有する請求項１または２に記載のサンプル分離器具。

[請求項4] 前記内部空間に充填される分離媒体をさらに有し、前記分離媒体は、前記支持体と一体的に形成されている請求項１から３のいずれか１項に記載のサンプル分離器具。

[請求項5] 前記分離媒体が、ポリアクリルアミドゲルである請求項１から３４のいずれか１項に記載のサンプル分離器具。

[請求項6] 第１緩衝液を貯留することが可能な第１緩衝液槽と、

第２緩衝液を貯留することが可能な第２緩衝液槽と、

前記第１緩衝液槽に配置された第１電極と、

前記第２緩衝液槽に配置された第２電極と、

前記第１緩衝液槽に配置され、請求項１から５のいずれか１項に記載のサンプル分離器具と、

サンプルを転写する転写体と、を備え、

前記サンプル分離器具は、前記供給口が前記第１緩衝液槽の内部で開口すると共に、前記排出口が前記第２緩衝液槽の内部に位置しており、

前記サンプル分離器具が有する前記支持体は、前記転写体の一方の

面と接し、

前記第２電極は、前記転写体の他方の面と接しているサンプル分離吸着装置。

[請求項7] 前記転写体は、前記支持体に対して相対的に移動可能に設けられている請求項６に記載のサンプル分離吸着装置。