

(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2016-183124

(P2016-183124A)

(43) 公開日 平成28年10月20日(2016.10.20)

(51) Int.Cl.  
A01N 1/02 (2006.01)

F I  
A O I N 1/02

テーマコード (参考)  
4H011

審査請求 未請求 請求項の数 14 O L (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願2015-63958 (P2015-63958)  
(22) 出願日 平成27年3月26日 (2015.3.26)

(71) 出願人 801000049  
一般財団法人生産技術研究奨励会  
東京都目黒区駒場四丁目6番1号  
(74) 代理人 100116207  
弁理士 青木 俊明  
(74) 代理人 100089635  
弁理士 清水 守  
(74) 代理人 100096426  
弁理士 川合 誠  
(72) 発明者 白樫 了  
東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大  
学法人東京大学内  
(72) 発明者 高野 清  
東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大  
学法人東京大学内

最終頁に続く

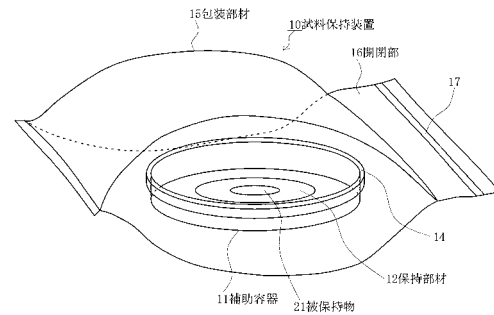
(54) 【発明の名称】 試料保持装置、試料保持方法及び保持部材

(57) 【要約】

【課題】 試料を保護する保護剤を含む被保持物を乾燥した状態で長期間に亘(わた)って保存することができるようにする。

【解決手段】 包装部材15と、該包装部材15内に収容された保持部材12と、該保持部材12の一面に保持された被保持物21と、試料を保護する保護剤を含む被保持物21とを具備する試料保持装置10と、前記被保持物21は乾燥され、前記包装部材15内は真空に保たれている。

【選択図】 図1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

包装部材と、該包装部材内に収容された保持部材と、該保持部材の一面に保持された被保持物であって、試料を保護する保護剤を含む被保持物とを具備する試料保持装置であって、

前記被保持物は乾燥され、前記包装部材内は真空に保たれていることを特徴とする試料保持装置。

## 【請求項 2】

前記被保持物は薄膜状である請求項 1 に記載の試料保持装置。

## 【請求項 3】

前記被保持物は、前記保持部材の一面に形成された水溶液の薄液膜が乾燥されたものであって、非晶質化されている請求項 2 に記載の試料保持装置。

## 【請求項 4】

前記保持部材は、前記一面が親水性であって、前記包装部材内に収容された補助容器内に収容されている請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の試料保持装置。

## 【請求項 5】

前記包装部材は、ガスバリア性を備える材料から成る袋であって、気密に密封可能な開閉部を備える請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の試料保持装置。

## 【請求項 6】

前記被保持物は、前記保護剤とともに試料を含む請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の試料保持装置。

## 【請求項 7】

前記試料は生体分子又は高分子であり、前記保護剤はトレハロースを含む請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の試料保持装置。

## 【請求項 8】

試料を保護する保護剤を含む被保持物を一面に保持する保持部材を包装部材内に収容し、前記被保持物を乾燥させ、前記包装部材内を真空に保つことを特徴とする試料保持方法。

## 【請求項 9】

前記包装部材内の真空を解除し、前記被保持物を水和することによって、前記被保持物を水溶液とすることが可能な請求項 8 に記載の試料保持方法。

## 【請求項 10】

水溶液とされた前記被保持物を再度乾燥させ、前記包装部材内を再度真空に保つことが可能な請求項 9 に記載の試料保持方法。

## 【請求項 11】

試料を保護する保護剤を含む被保持物がその一面に保持された保持部材であって、前記被保持物が薄膜状であり、かつ、乾燥によって非晶質化されていることを特徴とする保持部材。

## 【請求項 12】

前記一面が親水性の表面である請求項 11 に記載の保持部材。

## 【請求項 13】

前記被保持物は、前記保護剤とともに試料を含む請求項 11 又は 12 に記載の保持部材。

## 【請求項 14】

前記試料は生体分子又は高分子であり、前記保護剤はトレハロースを含む請求項 11 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の保持部材。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、試料保持装置、試料保持方法及び保持部材に関するものである。

10

20

30

40

50

## 【背景技術】

## 【0002】

従来、臨床検査で用いられている血液等の検体に含まれるRNA (Ribonucleic Acid)、バイオマーカー等のプロテインを定量測定することは、癌(がん)等の疾患の早期発見、個別化治療の実現等のために不可欠である。しかし、このような生体分子は、体外に抽出すると極めて速やかに劣化が進むため、医療の現場において、保存された過去の検体を用いた検査は、一般化されていない。また、プロテインチップ等の検査キットに用いられている分子のなかには、環境に対して脆(ぜい)弱で劣化しやすいものがある。

## 【0003】

そこで、生体分子等を凍結又は乾燥させ、長期間に亘(わた)って保存する技術が提案されている(例えば、特許文献1参照。 )。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0004】

【特許文献1】特開2008-44953号公報

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

しかしながら、前記従来の方法では、生体分子等の試料を凍結乾燥又は真空乾燥によって乾燥させるために、数十分以上の長い時間が必要となる。また、乾燥させた試料を再水和する際にも、手間と時間とが必要となる。

## 【0006】

本発明は、前記従来の問題点を解決して、試料を保護する保護剤を含む被保持物を乾燥した状態で長期間に亘って保存することができる試料保持装置、試料保持方法及び保持部材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】

## 【0007】

そのために、本発明の試料保持装置においては、包装部材と、該包装部材内に収容された保持部材と、該保持部材の一面に保持された被保持物であって、試料を保護する保護剤を含む被保持物とを具備する試料保持装置であって、前記被保持物は乾燥され、前記包装部材内は真空に保たれている。

## 【0008】

本発明の他の試料保持装置においては、さらに、前記被保持物は薄膜状である。

## 【0009】

本発明の更に他の試料保持装置においては、さらに、前記被保持物は、前記保持部材の一面に形成された水溶液の薄液膜が乾燥されたものであって、非晶質化されている。

## 【0010】

本発明の更に他の試料保持装置においては、さらに、前記保持部材は、前記一面が親水性であって、前記包装部材内に収容された補助容器内に収容されている。

## 【0011】

本発明の更に他の試料保持装置においては、さらに、前記包装部材は、ガスバリア性を備える材料から成る袋であって、気密に密封可能な開閉部を備える。

## 【0012】

本発明の更に他の試料保持装置においては、さらに、前記被保持物は、前記保護剤とともに試料を含む。

## 【0013】

本発明の更に他の試料保持装置においては、さらに、前記試料は生体分子又は高分子であり、前記保護剤はトレハロースを含む。

## 【0014】

10

20

30

40

50

本発明の試料保持方法においては、試料を保護する保護剤を含む被保持物を一面に保持する保持部材を包装部材内に収容し、前記被保持物を乾燥させ、前記包装部材内を真空に保つ。

【0015】

本発明の他の試料保持方法においては、さらに、前記包装部材内の真空を解除し、前記被保持物を水和することによって、前記被保持物を水溶液とすることが可能である。

【0016】

本発明の更に他の試料保持方法においては、さらに、水溶液とされた前記被保持物を再度乾燥させ、前記包装部材内を再度真空に保つことが可能である。

【0017】

本発明の保持部材においては、試料を保護する保護剤を含む被保持物がその一面に保持された保持部材であって、前記被保持物が薄膜状であり、かつ、乾燥によって非晶質化されている。

【0018】

本発明の他の保持部材においては、さらに、前記一面が親水性の表面である。

【0019】

本発明の更に他の保持部材においては、さらに、前記被保持物は、前記保護剤とともに試料を含む。

【0020】

本発明の更に他の保持部材においては、さらに、前記試料は生体分子又は高分子であり、前記保護剤はトレハロースを含む。

【発明の効果】

【0021】

本発明によれば、試料を保護する保護剤を含む被保持物を乾燥した状態で長期間に亘って保存することができる試料保持装置を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】本発明の実施の形態における試料保持装置の構成を示す模式透視図である。

【図2】本発明の実施の形態における試料保持装置の断面図である。

【図3】本発明の実施の形態における包装部材の斜視図である。

【図4】本発明の実施の形態におけるガラス板の上面に滴下されたトレハロース水溶液の液滴の側面を示す写真である。

【図5】本発明の実施の形態における補助容器に収容された保持部材の写真である。

【図6】本発明の実施の形態における試料を真空乾燥させるための装置の斜視図である。

【図7】本発明の実施の形態における試料の酵素活性の残効性を測定した結果を示す図である。

【図8】既知のトレハロースの赤外吸収スペクトルを示す図である。

【図9】既知の結合音ピークと水分量との関係を示す図である。

【図10】既知の結合音ピークから水分量を算出する方法を説明する図である。

【図11】本発明の実施の形態における被保持物の赤外吸収スペクトルを測定した結果を示す第1の図である。

【図12】本発明の実施の形態における被保持物の赤外吸収スペクトルを測定した結果を示す第2の図である。

【図13】本発明の実施の形態における被保持物の赤外吸収スペクトルを測定した結果を示す第3の図である。

【図14】本発明の実施の形態における被保持物の赤外吸収スペクトルを測定した結果を示す第4の図である。

【発明を実施するための形態】

【0023】

以下、本発明の実施の形態について図面を参照しながら詳細に説明する。

10

20

30

40

50

## 【0024】

図1は本発明の実施の形態における試料保持装置の構成を示す模式透視図、図2は本発明の実施の形態における試料保持装置の断面図、図3は本発明の実施の形態における包装部材の斜視図である。

## 【0025】

図において、10は、本実施の形態における試料保持装置であって、核酸、酵素、ホルモン、その他各種プロテイン等の生体分子や高分子のような試料を保護する保護剤を含む被保持物21を保持する装置である。前記試料は、例えば、臨床検査で用いられている血液等の検体に含まれる物質であり、病理検査、生物学的検査等の各種の観察、検出、測定等の対象となるものである。

10

## 【0026】

図に示されるように、本実施の形態における試料保持装置10は、補助容器11と、該補助容器11の内部に収容された保持部材12と、前記補助容器11の周囲を覆う包装部材15とを備える。なお、図1においては、説明の都合上、包装部材15が膨らんだ状態となっているが、内部を真空にした場合には、図2に示されるように、包装部材15は補助容器11の周囲に密着した状態となる。

## 【0027】

前記補助容器11は、図に示される例においては、ペトリ皿のように、円板状の底板11a及び円筒状の側板11bを含む、上面が開放された容器であって、上面が円板状の蓋(ふた)部材14によって閉止されているが、例えば、直方体状の容器であってもよいし、いかなる形状の容器であってもよい。なお、前記蓋部材14は、図に示される例のように、補助容器11と別個に形成されたものであってもよいが、補助容器11と一体的に形成されたものであってもよい。また、前記補助容器11及び蓋部材14の材料は、例えば、透明なポリスチレンであるが、必ずしも透明である必要はなく、いかなる種類の材料であってもよい。なお、前記補助容器11又は蓋部材14の少なくとも一方には、内部と外部とを連通する通気口14aが形成されている。図に示される例においては、蓋部材14に複数の通気口14aが形成されている。

20

## 【0028】

また、前記包装部材15は、ポリプロピレン等の樹脂フィルムから成る袋状の部材であって、前記補助容器11の挿入及び取り出しが可能な開閉部16であって、気密に密封可能及び開放可能な開閉部16を少なくとも1つ備えるものである。図に示される例において、前記包装部材15は、平面視において長形状の袋であって、長方形の3辺は恒久的に閉止され、残りの1辺が開閉部16となっている。前記包装部材15の材料は、ガスバリア性を備え、水分や酸素を透過することなく、かつ、ある程度の遮光性を備える材料であれば、いかなる種類の材料であってもよく、例えば、アルミニウム箔(はく)であってもよいし、複数種類の樹脂フィルムやアルミニウム箔等をラミネートしたものであってもよい。

30

## 【0029】

なお、前記開閉部16は、開放状態においては、図3に示されるように、上膜部16aと下膜部16bとが分離可能であって、その間に、開口16cが形成される。また、閉止状態においては、上膜部16aと下膜部16bとを加熱して融着させることによって形成されたシール部17により、前記開閉部16は気密に密封され、水分や酸素が透過不能となる。なお、前記シール部17は、いかなる種類のものであってもよく、例えば、上膜部16aに連続する凸条を形成し、下膜部16bに連続する凹条を形成し、前記凸条と凹条とを咬(か)み合わせて形成される気密に密封可能で開閉可能なチャックであってもよいが、ここでは、上膜部16aと下膜部16bとを融着させたものとして説明する。

40

## 【0030】

前記保持部材12は、ガラスから成る円板状の板部材であり、その下面が補助容器11の底板11aと対向するような姿勢で前記補助容器11内に収容され、その上面に薄膜状の被保持物21が付与されている。該被保持物21は、試料を保護する保護剤を含むもの

50

であって、必ずしも試料を含んでいなくてもよいが、ここでは、説明の都合上、試料と保護剤とを混合した混合剤である場合についてのみ説明する。

【0031】

また、前記被保持物21は、保持部材12の上面に形成された水溶液の薄液膜を乾燥させたものであり、ガラス化（非晶質化）されており、水和物を含んでいないものである。前記薄液膜を乾燥させる方法は、自然乾燥であってもよいが、ここでは、説明の都合上、真空乾燥である場合についてのみ説明する。

【0032】

なお、前記試料は、上述のような生体分子や高分子であって水和性のあるもの、すなわち、水溶液となり得るものであれば、いかなる種類のものであってもよいが、本発明の発明者は、東京化成工業株式会社が販売する酵素の一種であるアルコールデヒドロゲナーゼ（Alcohol Dehydrogenase：ADH）を試料として用いて、後述される実験を行った。また、前記保護剤としては、上述のような生体分子や高分子を保護し得るものであって、水溶液となり得るものであれば、いかなる種類のものであってもよく、例えば、蔗（しょ）糖等の二糖類であるが、本発明の発明者は、株式会社林原が販売するトレハロース（Trehalose：Trh）二水和物、又は、該トレハロース二水和物とシグマアルドリッチジャパン合同会社が販売するデキストラン（Dextran：Dex）との混合物を用いた。

10

【0033】

前記保持部材12は、上面が親水性の基板であればいかなる種類のものであってもよいが、本発明の発明者は、シグマ光機株式会社が販売する直径20〔mm〕、厚さ2〔mm〕のフッ化カルシウム（CaF<sub>2</sub>）のガラス板（製品名：OPCF-20C02-P）の上面に表面処理を施したものをを用いた。該表面処理は、株式会社魁半導体が販売する卓上プラズマ表面処理装置（製品名：YHS-R）を使用して、5分間行われた。この表面処理を施すことによって、前記ガラス板の上面は親水性となった。

20

【0034】

次に、前記保持部材12の上面に付与された被保持物21を乾燥させる方法について説明する。ここでは、説明の都合上、真空乾燥させる方法についてのみ説明する。

【0035】

図4は本発明の実施の形態におけるガラス板の上面に滴下されたトレハロース水溶液の液滴の側面を示す写真、図5は本発明の実施の形態における補助容器に収容された保持部材の写真、図6は本発明の実施の形態における試料を真空乾燥させるための装置の斜視図である。なお、図4において、（a）はガラス板の上面に表面処理を施さない場合の写真、（b）はガラス板の上面に表面処理を施した場合の写真である。

30

【0036】

まず、室温環境下において、表面処理を施したガラス板の上面である保持部材12の親水性の上面に、マイクロピペットを用いて、5〔μl〕の被保持物21の水溶液を滴下する。なお、前記被保持物21は、あらかじめ水分が付与され、水溶液となっている。すると、図4（b）に示されるように、前記保持部材12の上面に、被保持物21の液滴が薄く広がり、図5に示されるように、直径10〔mm〕の薄液膜が形成された。そして、該薄液膜が形成された保持部材12を補助容器11の底板11a上に載置する。なお、あらかじめ補助容器11の底板11a上に載置しておいた保持部材12の上面に、被保持物21の水溶液を滴下して、薄液膜を形成することもできる。

40

【0037】

図4（a）には、比較のために、表面処理を施していないガラス板の上面に滴下された被保持物21の水溶液の液滴が示されている。また、図5において、保持部材12は補助容器11の底板11a上に載置されている。なお、保持部材12の上面の複数の黒点は、オイルペイントのマーカであって、直径10〔mm〕の円周を示している。

【0038】

図4及び5に示される例において、被保持物21は、試料であるアルコールデヒドロゲ

50

ナーゼと、保護剤であるトレハロース及びデキストランの混合物とを混合したものである。なお、表面処理を施したガラス板の上面にトレハロース水溶液を滴下すると薄液膜が形成されることは既知であり、また、かかる薄液膜を急速乾燥すると、ガラス化することは、本発明の発明者によって発見済みである（例えば、非特許文献1参照。）。そして、トレハロース及びデキストランの混合物にアルコールデヒドロゲナーゼを混合した被保持物21の水溶液も、トレハロース水溶液と同様に、表面処理を施したガラス板の上面に滴下すると、薄液膜が形成される。

【非特許文献1】高野清、白樫了、「常温急速乾燥したトレハロース水溶液膜の赤外吸収スペクトルと含水率の測定」、低温生物工学会誌、Vol.60, No.2, pp.115-118, 2014。

【0039】

続いて、室温環境下において、前記被保持物21の薄液膜が形成された保持部材12が底板11a上に載置された補助容器11の上面を、蓋部材14によって閉止する。そして、該蓋部材14によって上面が閉止された補助容器11を、袋状の包装部材15内に収納する。

【0040】

続いて、室温環境下において、図6に示されるような真空装置30を用い、前記包装部材15内を減圧して真空にし、被保持物21の薄液膜を真空乾燥させる。なお、ここで、「真空」とは、JISの区分による低真空(100[Pa]以上)に該当する圧力範囲であるものとする。

【0041】

前記真空装置30は、包装部材15内を減圧して真空にすることができる装置であればいかなる種類の装置であってもよいが、本発明の発明者は、株式会社タカトテクニカが販売する卓上真空包装機(製品名:VP-300)を用いた。

【0042】

前記真空装置30は、本体31の上部に形成されたチャンバ33と、前記本体31の上部にヒンジ32aを介して取り付けられた開閉蓋32と、前記チャンバ33内に配設された加熱部材35と、前記本体31の前面に配設された操作パネル36と、前記本体31の内部に配設された図示されない真空ポンプとを備える。前記チャンバ33は、縦約380[mm]、横約330[mm]の平面視において長形状の上面が開放された底の浅い凹部であって、前記開閉蓋32によって上面が気密に閉止される。そして、気密に閉止されたチャンバ33内は、前記真空ポンプによって減圧される。また、前記加熱部材35は、通電することによって温度が上昇し、包装部材15の開閉部16の一部を加熱して融着させることができる。

【0043】

具体的には、まず、開閉蓋32を開放姿勢にした状態で、開閉部16が加熱部材35の上に載置されるような姿勢で、前記包装部材15をチャンバ33内に載置する。続いて、開閉蓋32を閉止姿勢にしてロックした後、真空ポンプを作動させて気密に閉止されたチャンバ33内を減圧する。本発明の発明者は、室温環境下において、チャンバ33内を42[Torr]以下にまで減圧し、かかる減圧状態を99[s]維持した。これにより、保持部材12上に形成された被保持物21の薄液膜は、急速に真空乾燥される。

【0044】

そして、前記真空装置30は、所定の減圧時間(例えば、99[s])が経過すると、真空ポンプを停止させて減圧を停止するが、その直前に、自動的に加熱部材35に通電するので、前記開閉部16にシール部17が形成される。続いて、開閉蓋32を開放姿勢にした後、前記包装部材15をチャンバ33内から取り出すと、図2に示されるように、包装部材15内が真空となった試料保持装置10を得ることができる。

【0045】

このようにして得られた試料保持装置10の包装部材15内の薄膜状の被保持物21は、そのままの状態、すなわち、真空乾燥された包装部材15内に保持された状態で、長期間(例えば、数ヶ月以上)に亘り、室温環境下において保存可能である。同様に、前記被

10

20

30

40

50

保持物 2 1 の薄液膜に含まれる生体分子や高分子のような試料も、長期間に亘り、室温環境下において、不活性な状態で保存可能である。これは、前記被保持物 2 1 に含まれるトレハロース及びデキストランの混合物が、ガラス化され、かつ、水和物を含まない状態となって前記試料を包み込んでいるからである、と考えられる。また、前記試料自体もガラス化されているからである、とも考えられる。

【 0 0 4 6 】

また、このようにして真空乾燥された包装部材 1 5 内に保持された状態の被保持物 2 1 は、例えば、シール部 1 7 を切断除去することによって、開閉部 1 6 を開放して包装部材 1 5 内の真空を解除した後、水分を付与して再度水和させることにより、水溶液の状態、すなわち、初期状態に復帰する。すると、前記被保持物 2 1 に含まれる試料も、活性な状態、すなわち、初期状態に復帰する。これにより、前記試料を各種の観察、検出、測定等の対象として使用することができる。

10

【 0 0 4 7 】

さらに、このようにして初期状態に復帰した被保持物 2 1 を、再度、同様の方法によって、真空乾燥させ、包装部材 1 5 内を真空に維持すると、再度、長期間に亘り、室温環境下において保存可能となる。この場合、前記被保持物 2 1 の薄液膜に含まれる試料も、同様に、再度、長期間に亘り、室温環境下において、不活性な状態で保存可能となる。

【 0 0 4 8 】

そして、このようにして再度真空乾燥され、真空の包装部材 1 5 内に保持された状態の被保持物 2 1 は、開閉部 1 6 を開放して包装部材 1 5 内の真空を解除した後、水分を付与して水和することによって、再度初期状態に復帰する。同様に、前記被保持物 2 1 に含まれる試料も、再度初期状態に復帰し、各種の観察、検出、測定等の対象として使用し得る状態となる。

20

【 0 0 4 9 】

つまり、真空乾燥されて真空の包装部材 1 5 内に保持された状態の被保持物 2 1 及び該被保持物 2 1 に含まれる試料は、その後、複数回に亘り、初期状態への復帰と、保存可能な状態への復帰とを繰り返すことができる。

【 0 0 5 0 】

また、前記被保持物 2 1 は、試料を含まないもの、すなわち、保護剤のみを含むものであってもよい。この場合も、被保持物 2 1 の薄液膜は、真空乾燥されて真空の包装部材 1 5 内に保持された状態で、長期間に亘り、室温環境下において保存可能である。また、複数回に亘り、初期状態への復帰と、保存可能な状態への復帰とを繰り返すことができる。そして、試料を保存する必要があるときには、保護剤のみを含む被保持物 2 1 の薄液膜を初期状態に復帰させ、そこに試料の水溶液を付与して、試料と保護剤とを混合した混合剤である被保持物 2 1 を得ることができるので、当該被保持物 2 1 の薄液膜を、上述のようにして真空乾燥することとなる。

30

【 0 0 5 1 】

さらに、前記被保持物 2 1 を乾燥させる方法は、必ずしも真空乾燥に限定されるものでなく、いかなる方法であってもよく、例えば、自然乾燥であってもよい。

【 0 0 5 2 】

次に、本発明の発明者が行った実験の内容及び結果について説明する。まず、試料の酵素活性の残効性を測定する実験について説明する。

40

【 0 0 5 3 】

図 7 は本発明の実施の形態における試料の酵素活性の残効性を測定した結果を示す図である。なお、図において、( a ) は真空乾燥の場合の測定結果を示す図、( b ) は自然乾燥の場合の測定結果を示す図である。

【 0 0 5 4 】

本発明の発明者は、上述の方法に従って真空乾燥された試料保持装置 1 0 内に保持された状態の被保持物 2 1 に含まれる試料であるアルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性の残効性を測定した。

50

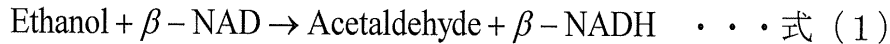


## 【 0 0 5 5 】

なお、アルコールデヒドロゲナーゼは、次の式(1)で示されるように、エタノールを脱水してアセトアルデヒドにするとともに、付随的に  $\text{NAD}^+$  を還元して  $\text{NADH}$  にするための触媒として機能する。

## 【 0 0 5 6 】

## 【 数 1 】



## 【 0 0 5 7 】

そして、アルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性は、株式会社日立ハイテクサイエンスが販売するコロナ吸光マイクロプレートリーダー(製品名: MTP-310)を用い、次の式(2)に従って、蛍光分光分析法によって測定された。

## 【 0 0 5 8 】

## 【 数 2 】

$$\text{ADH activity (U/ml)} = \frac{\Delta A / \text{min} * V * D}{6.3 * d * v} \quad \dots \text{式 (2)}$$

## 【 0 0 5 9 】

ここで、Aは吸光度、Vは分析物の総量[mL]、Dは希釈係数、dは光路長、vは酵素水溶液量[mL]である。なお、6.3は、340[nm]での  $\beta\text{-NADH}$  の千モル消光係数である。

## 【 0 0 6 0 】

試料であるアルコールデヒドロゲナーゼは、超純水(18.3[M $\cdot$ cm])によって溶かされて最終的な濃度が10[mg/mL]の水溶液とされ、トレハロース二水和物/デキストラン混合物である保護剤と混合された。該保護剤と前記試料との容積比は、10:1である。また、前記保護剤の最終的な濃度は9.377[w t %]である。

## 【 0 0 6 1 】

トレハロース二水和物/デキストラン混合物である保護剤は、質量比が2:1(T:D=2:1)及び1:2(T:D=1:2)のものを用意した。さらに、保護剤として、トレハロース二水和物のみのもの(T:D=1:0)、及び、デキストランのみのもの(T:D=0:1)も用意した。

## 【 0 0 6 2 】

そして、本発明の発明者は、実験用のサンプルとして、試料を4種類の保護剤(T:D=0:1、T:D=1:2、T:D=2:1及びT:D=1:0)と混合して4種類の被保持物21を用意した。また、試料を保護剤と混合しない(T:D=0:0)、すなわち、保護剤なしの被保持物21も用意した。なお、各種の被保持物21は、3つずつ用意した。続いて、これら被保持物21を、上述の方法に従って、保持部材12の上面に付与して薄液膜とした後に、真空乾燥させた。

## 【 0 0 6 3 】

続いて、本発明の発明者は、真空乾燥された各種の被保持物21を内部にそれぞれ保持する試料保持装置10を65[ ]の温度環境下で保存し、所定の時間が経過する度に、各種の被保持物21に含まれるアルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性を蛍光分光分析法によって測定した。

## 【 0 0 6 4 】

試料保持装置10を65[ ]の温度環境下で保存したのは、室温環境下で保存すると、アルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性が変化するのにあまりにも時間がかかり過ぎ、実験に適さないためである。すなわち、室温よりも高温にすることによって、アルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性の変化を促し、実験を比較的短時間で終了させるためである。なお、試料保持装置10は、パナソニックヘルスケア株式会社(旧:三洋電機株式会社)が販売する乾燥滅菌器(製品名:MOV-112)の内部において、湿度約0[%]、

10

20

30

40

50

温度 65 [ ] の環境下で保存された。

【 0065 】

また、アルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性を測定する際には、真空乾燥された各種の被保持物 21 に超純水を付与することによって、前記被保持物 21 を再度水和させ、アルコールデヒドロゲナーゼの濃度が 5 [ mg / ml ] の水溶液を得た。そして、該水溶液中のアルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性を蛍光分光分析法によって測定した。測定結果は、図 7 ( a ) に示されている。

【 0066 】

なお、本発明の発明者は、真空乾燥の場合と同様に、被保持物 21 を室温で自然乾燥して、各種の被保持物 21 に含まれるアルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性を蛍光分光分析法によって測定した。図 7 ( b ) には、被保持物 21 を、真空乾燥せずに、自然乾燥させた場合の測定結果が示されている。

10

【 0067 】

また、図 7 ( a ) 及び ( b ) に示される Aqueous solution は、参考のために、保護剤と混合することなく、かつ、真空乾燥も自然乾燥もすることなく、アルコールデヒドロゲナーゼの水溶液を冷蔵庫内において、4 [ ] の温度環境下で保存したサンプルである。

【 0068 】

図 7 に示されるように、保護剤と混合しない場合には、アルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性は、時間の経過とともに、著しく低下することが分かる。また、保護剤が T : D = 0 : 1 である場合、すなわち、保護剤にトレハロースが含まれない場合には、アルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性は、時間の経過とともに、緩やかではあるが、低下することが分かる。保護剤にトレハロースが含まれる場合には、デキストランに対するトレハロースの比率が高いほど、アルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性は、時間が経過しても、低下しにくいことが分かる。

20

【 0069 】

また、図 7 ( a ) を図 7 ( b ) と比較すると、被保持物 21 を真空乾燥させた場合のほうが、被保持物 21 を自然乾燥させた場合よりも、アルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性が低下しにくいことが分かる。

【 0070 】

次に、乾燥された被保持物 21 に含まれる水分の状態を測定する実験について説明する。

30

【 0071 】

図 8 は既知のトレハロースの赤外吸収スペクトルを示す図、図 9 は既知の結合音ピークと水分量との関係を示す図、図 10 は既知の結合音ピークから水分量を算出する方法を説明する図、図 11 は本発明の実施の形態における被保持物の赤外吸収スペクトルを測定した結果を示す第 1 の図、図 12 は本発明の実施の形態における被保持物の赤外吸収スペクトルを測定した結果を示す第 2 の図、図 13 は本発明の実施の形態における被保持物の赤外吸収スペクトルを測定した結果を示す第 3 の図、図 14 は本発明の実施の形態における被保持物の赤外吸収スペクトルを測定した結果を示す第 4 の図である。なお、図 8 において、( a ) はトレハロース二水和物の赤外吸収スペクトルを示す図、( b ) はガラス化されたトレハロースの赤外吸収スペクトルを示す図であり、図 10 において、( a ) はガラス化されたトレハロースの赤外吸収スペクトルを示す図、( b ) は ( a ) における結合音ピークの拡大図であり、図 11 ~ 14 において、( a ) は真空乾燥の場合の図、( b ) は自然乾燥の場合の図である。

40

【 0072 】

本発明の発明者は、乾燥されて真空の包装部材 15 内に保持された状態の被保持物 21 が、水和物を含んでおらず、すべてガラス化された状態であることを確認するために、前記被保持物 21 の赤外吸収スペクトルを測定した。

【 0073 】

トレハロース二水和物及びガラス化されたトレハロースの赤外吸収スペクトルは、既知

50

(例えば、非特許文献2参照。)であり、図8(a)及び(b)に示されるようになっている。

【非特許文献2】Gniadecka, Monika, et al., "Water and protein structure in photo aged and chronically aged skin", Journal of investigative dermatology 111.6 (1998) pp.1129-1132.

【0074】

図8(a)に示されるように、トレハロース二水和物の場合、波長3500[ $\text{cm}^{-1}$ ]に水分による鋭いピークが存在し、また、波長2800~3000[ $\text{cm}^{-1}$ ]に $\text{CH}_3$ 及び $\text{CH}_2$ による鋸歯状のピークが存在する。一方、図8(b)に示されるように、ガラス化されたトレハロースの場合、波長3500[ $\text{cm}^{-1}$ ]にピークが存在せず、波長2800~3000[ $\text{cm}^{-1}$ ]のピークの形状が異なっている。

10

【0075】

そこで、本発明の発明者は、乾燥された被保持物21の赤外吸収スペクトルを測定し、波長3500[ $\text{cm}^{-1}$ ]のピークの有無及び波長2800~3000[ $\text{cm}^{-1}$ ]のピークの形状に基づいて、被保持物21がすべてガラス化された状態であるか否かを判断した。なお、赤外吸収スペクトルの測定は、日本分光株式会社が販売するフーリエ変換赤外分光光度計(製品名:FT/IR-6100)を用いて、透過法によって行われた。

【0076】

また、波長2000~2200[ $\text{cm}^{-1}$ ]に存在するピークは、H-O-Hの曲げ運動によるものであって、結合音ピーク(2 bend+libration)として知られている。さらに、図9に示されるように、結合音ピークが残留水分と対数関係にあることも知られている(例えば、非特許文献1参照)。なお、結合音ピークは、日本分光株式会社が販売するプログラム(製品名:SEE-4000)を用いて、算出することができる。

20

【0077】

さらに、図10(a)は、ガラス化されたトレハロースの赤外吸収スペクトルの例を示し、図10(b)は、図10(a)における結合音ピークの拡大図を示している。

【0078】

そして、被保持物21の単位面積当たりの残留水分量は、図9に示される式におけるxに、結合音ピークの計測された面積を代入することによって算出することができる。本実施の形態における被保持物21の面積は、図5に示されるように、直径10[mm]であると考えられる。したがって、被保持物21の残留水分量は、次の式(3)に従って算出される。

30

【0079】

【数3】

$$\text{the residual water content} = \frac{W_{\text{water}}}{W_{\text{water}} + W_{\text{solid}}} \times 100\% \quad \dots \text{式(3)}$$

【0080】

ここで、 $W_{\text{water}}$ は残留水分量であって、結合音ピークの計測された面積と単位面積当たりの残留水分量との関係式によって算出される。また、 $W_{\text{solid}}$ は保護剤及びアルコールデヒドロゲナーゼの総重量である。

40

【0081】

この実験でも、本発明の発明者は、試料の酵素活性の残効性を測定する実験と同様に、実験用のサンプルとして、試料を4種類の保護剤(T:D=0:1、T:D=1:2、T:D=2:1及びT:D=1:0)と混合して4種類の被保持物21を用意した。なお、各種の被保持物21は、2つずつ用意した。続いて、これら被保持物21を、上述の方法に従って、保持部材12の上面に付与して薄液膜とした後に、真空乾燥させた。また、同様に、各種の被保持物21を2つずつ用意し、これらの被保持物21を、保持部材12の上面に付与して薄液膜とした後に、室温で自然乾燥させた。

【0082】

50

続いて、本発明の発明者は、真空乾燥及び自然乾燥された各種の被保持物 21 を内部にそれぞれ保持する試料保持装置 10 を 65 [ ] の温度環境下で保存し、1 時間が経過する度に、各種の被保持物 21 の赤外吸収スペクトルを測定した。測定結果は、図 11 ~ 14 に示されている。具体的には、保護剤 (T : D = 1 : 0) の測定結果が図 11 に示され、保護剤 (T : D = 2 : 1) の測定結果が図 12 に示され、保護剤 (T : D = 1 : 2) の測定結果が図 13 に示され、保護剤 (T : D = 0 : 1) の測定結果が図 14 に示されている。図 11 ~ 14 に示される測定結果から、乾燥された被保持物 21 は、すべてガラス化された状態であることが分かる。

#### 【0083】

このように、本実施の形態において、試料保持装置 10 は、包装部材 15 と、包装部材 15 内に收容された保持部材 12 と、保持部材 12 の上面、すなわち、一面に保持された被保持物 21 であって、試料を保護する保護剤を含む被保持物 21 とを具備する。そして、被保持物 21 は乾燥され、包装部材 15 内は真空に保たれている。したがって、試料を保護する保護剤を含む被保持物 21 を、乾燥した状態で長期間に亘って保存することができる。

10

#### 【0084】

また、乾燥された被保持物 21 は薄膜状である。さらに、被保持物 21 は、保持部材 12 の一面に形成された水溶液の薄液膜が乾燥されたものであって、非晶質化されている。したがって、試料の劣化反応の媒体となる水の分子運動を抑制することができる。また、水分子自体を蒸発させることができる。

20

#### 【0085】

さらに、保持部材 12 は、一面が親水性の板部材であって、包装部材 15 内に收容された補助容器 11 内に收容されている。したがって、被保持物 21 の水溶液を容易に薄膜化することができる。

#### 【0086】

さらに、包装部材 15 は、ガスバリア性を備える材料から成る袋であって、気密に密封可能な開閉部 16 を備える。したがって、開閉部 16 の開放及び密封を繰り返すことができ、包装部材 15 内の真空化及び真空解除を繰り返すことができる。

#### 【0087】

さらに、被保持物 21 は、保護剤とともに試料を含む。そして、試料は生体分子又は高分子であり、保護剤はトレハロースを含む。これにより、試料を短時間で乾燥させることができ、かつ、試料を長期間に亘って保存することができる。

30

#### 【0088】

また、本実施の形態における試料保持方法では、試料を保護する保護剤を含む被保持物 21 を一面に保持する保持部材 12 を包装部材 15 内に收容し、被保持物 21 を乾燥させ、包装部材 15 内を真空に保つ。したがって、試料を保護する保護剤を含む被保持物 21 を、乾燥した状態で長期間に亘って保存することができる。

#### 【0089】

また、包装部材 15 内の真空を解除し、被保持物 21 を水和することによって、被保持物 21 を水溶液とすることが可能である。したがって、試料を各種の観察、検出、測定等の対象として用いることができる。

40

#### 【0090】

さらに、水溶液とされた被保持物 21 を再度乾燥させ、包装部材 15 内を再度真空に保つことが可能である。したがって、試料を、長期間に亘って保存しながら、複数回、各種の観察、検出、測定等の対象として用いることができる。

#### 【0091】

本実施の形態では、保護剤が生体分子等の試料の周囲に吸着する一方で、乾燥に伴い薄液膜に含有されている保護剤がガラス化することによって、劣化反応の媒体となる水の分子運動を抑制したり、水分子自体を蒸発させたりする。このような機序によって、従来の技術と比較して、アルコールデヒドロゲナーゼの高い酵素反応を維持することができる。

50

## 【 0 0 9 2 】

特に、迅速に劣化するRNA、プロテイン等を保存することができると、保存された検体を用いた検査によって、時間を遡（さかのぼ）って検体を採取した時点における遺伝子の発現や疾患の状態が精密に分かるので、本発明によって、先端医療の1つであるテーラード創薬に不可欠な、患者の生理化学的状态の時系列データの提供が実現する。

## 【 0 0 9 3 】

また、保存された検体の質が向上すれば、これまでに臨床応用することができなかったバイオマーカーを使うことができるようになることから、これまで捕捉することができなかった疾患の早期検出や個体差を精密に分類することができるので、早期診断や個別化診療に資するところが大きい。

10

## 【 0 0 9 4 】

さらに、長期高品位乾燥保存の実現によって、極めて低い保存コストでヒトの生理状態がハード（検体）として蓄積することができるので、必要に応じて個々人の過去の生理状態の履歴や、種々の疾患に対応する生理状態のライブラリを構築することが可能になる。これらの資産によって、疾患の予防や治療のモニタ精度が格段に向上すると考えられる。

## 【 0 0 9 5 】

すなわち、本発明は、最終的には治療にかかる医療費の抑制や国民の健康管理に有効な基礎技術を提供することができるので、高齢化が進む社会の厚生面においても意義がある。

## 【 0 0 9 6 】

なお、本発明は前記実施の形態に限定されるものではなく、本発明の趣旨に基づいて種々変形させることが可能であり、それらを本発明の範囲から排除するものではない。

20

## 【 産業上の利用可能性 】

## 【 0 0 9 7 】

本発明は、試料保持装置、試料保持方法及び保持部材に適用することができる。

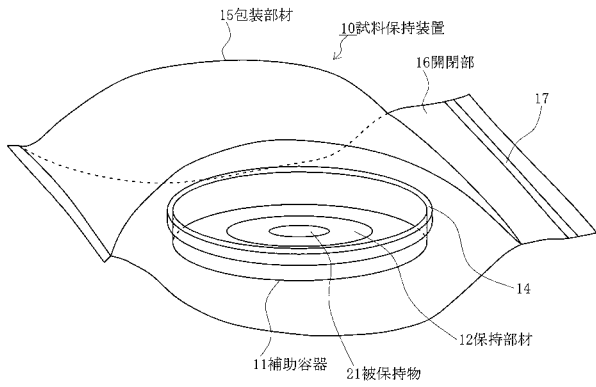
## 【 符号の説明 】

## 【 0 0 9 8 】

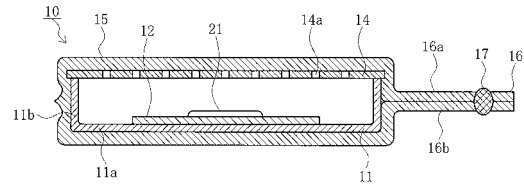
- 1 0 試料保持装置
- 1 1 補助容器
- 1 2 保持部材
- 1 5 包装部材
- 1 6 開閉部
- 2 1 被保持物

30

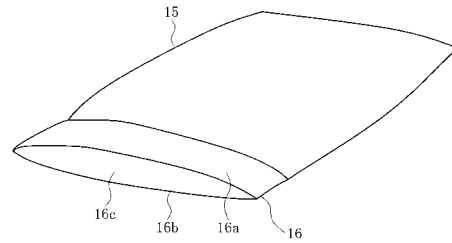
【 図 1 】



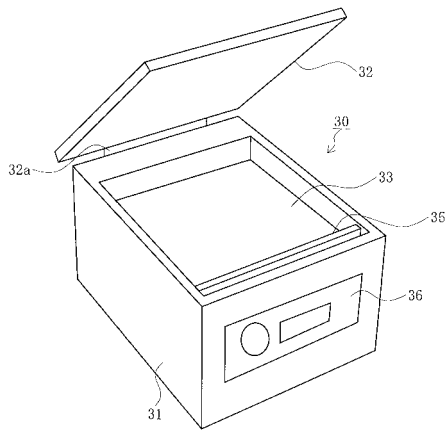
【 図 2 】



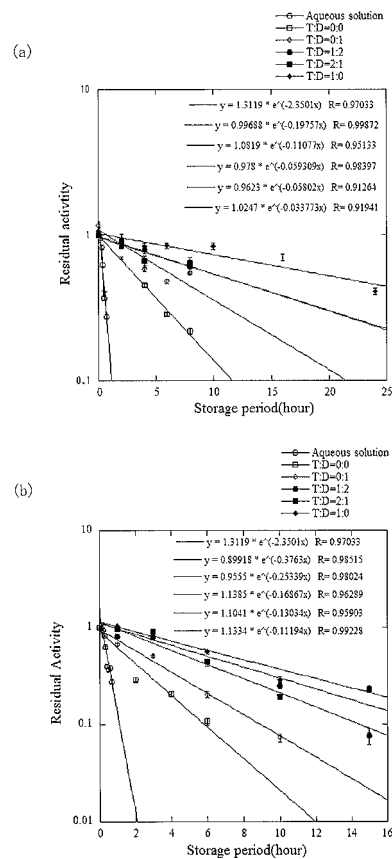
【 図 3 】



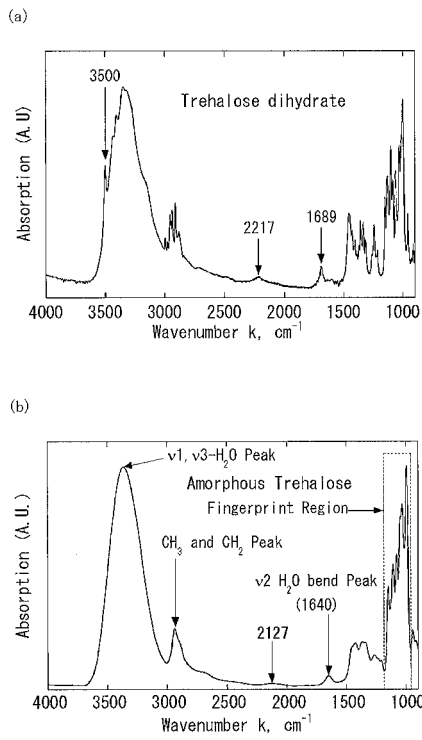
【 図 6 】



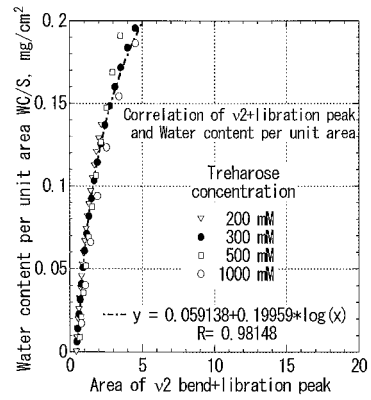
【 図 7 】



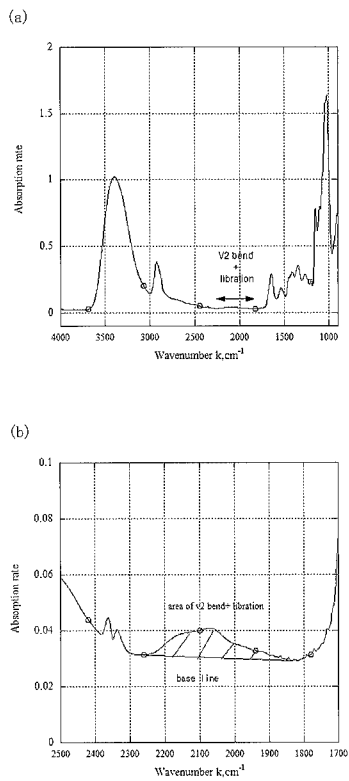
【 図 8 】



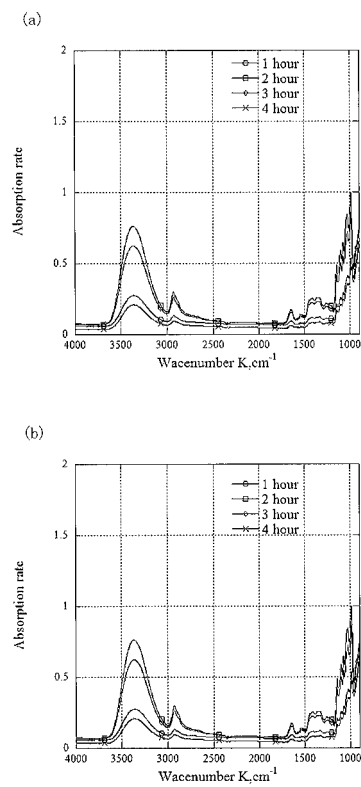
【 図 9 】



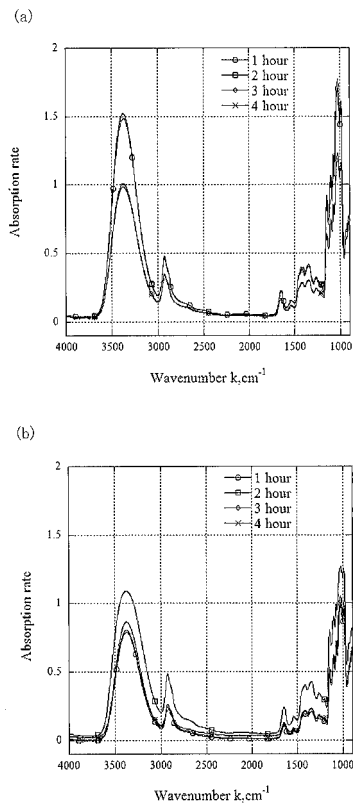
【 図 10 】



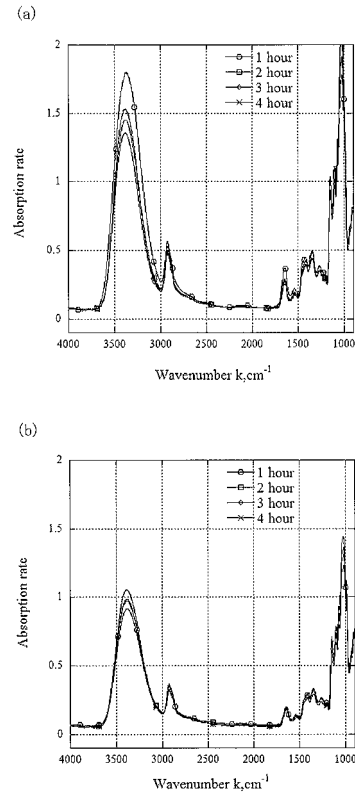
【 図 11 】



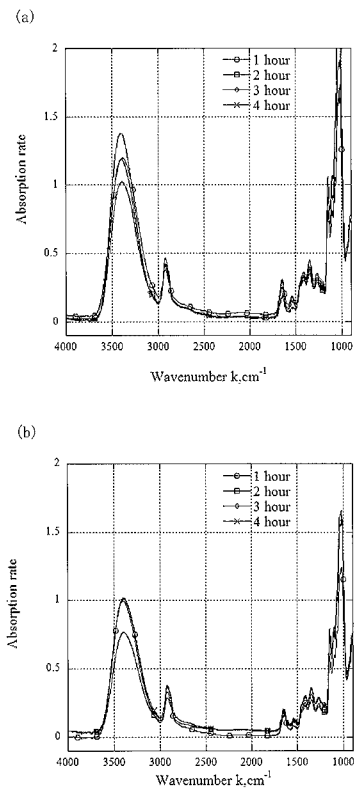
【 図 1 2 】



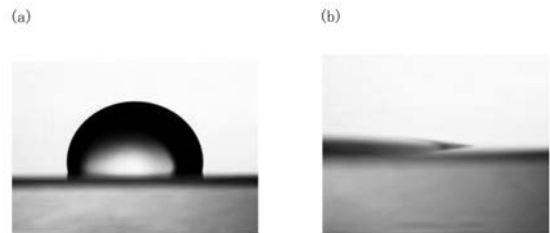
【 図 1 3 】



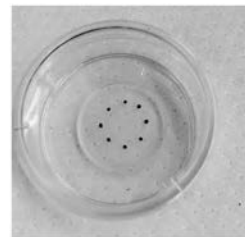
【 図 1 4 】



【 図 4 】



【 図 5 】





フロントページの続き

Fターム(参考) 4H011 BB08 BB19 CA01 CB04 CC01 CD02 CD09 CD10 DH10