

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4151483号
(P4151483)

(45) 発行日 平成20年9月17日 (2008.9.17)

(24) 登録日 平成20年7月11日 (2008.7.11)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 21/64 (2006.01)

GO 1 N 21/64

F

GO 1 N 21/03 (2006.01)

GO 1 N 21/03

Z

請求項の数 3 (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願2003-165516 (P2003-165516)
 (22) 出願日 平成15年6月10日 (2003.6.10)
 (65) 公開番号 特開2005-3450 (P2005-3450A)
 (43) 公開日 平成17年1月6日 (2005.1.6)
 審査請求日 平成18年6月6日 (2006.6.6)

(73) 特許権者 000002185
 ソニー株式会社
 東京都港区港南1丁目7番1号
 (74) 代理人 100067736
 弁理士 小池 晃
 (74) 代理人 100086335
 弁理士 田村 榮一
 (74) 代理人 100096677
 弁理士 伊賀 誠司
 (72) 発明者 眞峯 隆義
 東京都品川区北品川6丁目7番35号 ソ
 ニー株式会社内
 (72) 発明者 坂本 安広
 東京都品川区北品川6丁目7番35号 ソ
 ニー株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオアッセイ用基板並びにバイオアッセイ装置及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

上層部と、その下側に形成された下層部とを有する円板状に形成された基板から構成され、

上記上層部は、半径方向に分割した内周側又は外周側の何れか一方に、サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとともにプローブ物質が固定可能とされ、プローブ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイが行われる場となり、上記蛍光標識剤に対する励起光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域を有し、

上記下層部は、上記基板に照射される光の焦点深度よりも上記反応領域から厚み方向に離間した位置に、下側から光を照射することにより情報を記録及び/又は再生することが可能な情報領域とを有し、

上記情報領域のうち、上側に上記反応領域が形成されている領域には、この反応領域に形成された各ウェルを特定するためのアドレスピットが各ウェルの近傍に対応されて形成されているバイオアッセイ用基板。

【請求項 2】

上層部と、その下側に形成された下層部とを有する円板状に形成された基板から構成され、上記上層部は、半径方向に分割した内周側又は外周側の何れか一方に、サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとともにプローブ物質が固定可能とされ、プローブ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイが行われる場となり、上

10

20

記蛍光標識剤に対する励起光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域を有し、上記下層部は、上記基板に照射される光の焦点深度よりも上記反応領域から厚み方向に離間した位置に、下側から光を照射することにより情報を記録及び／又は再生することが可能な情報領域とを有し、上記情報領域のうち、上側に上記反応領域が形成されている領域には、この反応領域に形成された各ウェルを特定するためのアドレスピットが各ウェルの近傍に対応されて形成されるバイオアッセイ用基板を、保持するとともに上記円板中心を軸に回転駆動させる基板保持手段と、

上記バイオアッセイ基板の上記反応領域に対して所定の波長の励起光を対物レンズを介して照射し、当該励起光に応じて上記蛍光標識剤から発生される所定の波長の蛍光の有無を検出する励起光検出光学系と、

上記励起光検出光学系を構成する上記対物レンズを介して、上記バイオアッセイ基板の上記情報領域に対して所定の波長の光を照射し、その反射光に基づき情報の記録及び／又は再生を行う情報記録／再生光学系とを備えるバイオアッセイ装置。

【請求項 3】

上層部と、その下側に形成された下層部とを有する円板状に形成された基板から構成され、上記上層部は、半径方向に分割した内周側又は外周側の何れか一方に、サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされとともにプローブ物質が固定可能とされ、プローブ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイが行われる場となり、上記蛍光標識剤に対する励起光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域を有し、上記下層部は、上記基板に照射される光の焦点深度よりも上記反応領域から厚み方向に離間した位置に、下側から光を照射することにより情報を記録及び／又は再生することが可能な情報領域とを有し、上記情報領域のうち、上側に上記反応領域が形成されている領域には、この反応領域に形成された各ウェルを特定するためのアドレスピットが各ウェルの近傍に対応されて形成されているバイオアッセイ用基板を、保持するとともに上記円板中心を軸に回転駆動させ、

上記バイオアッセイ基板の上記情報領域に対して所定の波長の光を対物レンズを介して照射し、その反射光に基づき情報の記録及び／又は再生を行い、

上記励起光検出光学系を構成する上記対物レンズを介して、上記バイオアッセイ基板の上記反応領域に対して所定の波長の励起光を照射し、当該励起光に応じて上記蛍光標識剤から発生される所定の波長の蛍光の有無を検出するバイオアッセイ方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、例えばDNAチップ等のバイオアッセイ用基板並びにバイオアッセイ用基板を用いてバイオアッセイを行うバイオアッセイ装置に関する。より詳細には、プローブ物質とサンプル物質との間の相互作用の場となる反応領域が形成されたバイオアッセイ用基板、並びに、当該反応領域に存在する蛍光標識剤から発生された蛍光を検出するバイオアッセイ装置及び方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

現在、マイクロアレイ技術によって所定のDNAが微細配列された、いわゆるDNAチップ又はDNAマイクロアレイ（以下、DNAチップと総称する。）と呼ばれるバイオアッセイ用の基板が、遺伝子の突然変異、SNPs（一塩基多型）分析、遺伝子発現頻度解析等に利用されており、創薬、臨床診断、薬理ジェノミクス、法医学その他の分野において広範に活用され始めている。

【0003】

このDNAチップは、ガラス基板やシリコン基板上に多種多数のDNAオリゴヌクレオチド鎖や、cDNA（complementary DNA）等が配置されていることから、ハイブリダイゼーション等の物質間の相互反応の網羅的解析が可能となる。

【0004】

DNAチップを用いたDNA解析手法は、例えば、DNAチップ上に固相化（固定化）されたプローブDNAに対して、細胞、組織等から抽出したmRNA（messenger RNA）を逆転写PCR（Polymerase Chain Reaction）反応等によって蛍光プローブdNTPを組み込みながらPCR増幅してサンプルDNAを生成し、そのサンプルDNAをDNAチップ上に滴下して、プローブDNAとサンプルDNAとをハイブリダイゼーションのハイブリダイゼーションを行い、所定の検出器で蛍光測定を行う。

【0005】

ここで、DNAチップの形状を円板状として、光ディスクの分野で培われた基板技術をDNA解析に応用することが提案されている（特許文献1及び特許文献2参照。）。10

【0006】

光ディスクの技術が応用されたDNA解析を行う場合、円板状にしたDNAチップを回転させながら蛍光標識から発生する蛍光を光検出器で検出し、その蛍光の発光位置をアドレス技術で特定するといったサーボ技術を適用することが可能となり、被処理サンプル物質数の増大並びに検出精度及び検出速度の向上を図ることができる。

【0007】

【特許文献1】

特開2001-238674号公報

【特許文献2】

特表2002-501174号公報

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、従来のDNAチップ技術では、該DNAチップ自体の集積数、集積密度が少なかったので、一度のアッセイで達成できる解析量が充分とは言えず、検出用物質の種類と数、更にはその基板上における配置分け（グルーピング）を、ユーザが自由に設定することが困難であった。

【0009】

また、従来のDNAチップを用いた解析手法では、そのDNAチップの検出用物質の種類やグルーピングの情報、そのDNAチップによる解析結果、さらにはDNAチップの解析プログラム等を、別途異なる情報記録媒体に記録して用いていた。そのため、DNAチップと、解析結果等が記録されている情報記録媒体との連関が弱く、DNAチップと情報とを一体的に管理することが困難であった。 30

【0010】

本発明は、以上のような実情を鑑み、より多様的に情報を取り扱うことができるようにしたバイオアッセイ用基板を提供し、また、そのバイオアッセイ用基板を用いてバイオアッセイを行うバイオアッセイ装置及び方法を提供することを目的とする。

【0011】

【課題を解決するための手段】

本発明に係るバイオアッセイ用基板は、上層部と、その下側に形成された下層部とを有する円板状に形成された基板から構成され、上層部は、半径方向に分割した内周側又は外周側の何れか一方に、サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとともに
プローブ物質が固定可能とされ、プローブ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイが行われる場となり、蛍光標識剤に対する励起光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域を有し、下層部は、基板に照射される光の焦点深度よりも反応領域から厚み方向に離間した位置に、下側から光を照射することにより情報を記録及び
又は再生することが可能な情報領域とを有し、情報領域のうち、上側に反応領域が形成されている領域には、この反応領域に形成された各ウェルを特定するためのアドレスビットが各ウェルの近傍に対応されて形成されている。 40

【0012】

このバイオアッセイ用基板では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と、信号が記録される情報領域とを有する。 50

【 0 0 1 3 】

本発明に係るバイオアッセイ装置は、上層部と、その下側に形成された下層部とを有する円板状に形成された基板から構成され、上層部は、半径方向に分割した内周側又は外周側の何れか一方に、サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされ、プロンプ物質が固定可能とされ、プロンプ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイが行われる場となり、蛍光標識剤に対する励起光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域を有し、下層部は、基板に照射される光の焦点深度よりも反応領域から厚み方向に離間した位置に、下側から光を照射することにより情報を記録及び/又は再生することが可能な情報領域とを有し、情報領域のうち、上側に反応領域が形成されている領域には、この反応領域に形成された各ウェルを特定するためのアドレスピットが各ウェルの近傍に対応されて形成されるバイオアッセイ用基板を、保持するとともに円板中心を軸に保持するとともに円板中心を軸に回転駆動させる基板保持手段と、バイオアッセイ基板の反応領域に対して所定の波長の励起光を対物レンズを介して照射し、当該励起光に応じて蛍光標識剤から発生される所定の波長の蛍光の有無を検出する励起光検出光学系と、励起光検出光学系を構成する対物レンズを介して、バイオアッセイ基板の情報領域に対して所定の波長の光を照射し、その反射光に基づき情報の記録及び/又は再生を行う情報記録/再生光学系とを備える。

10

【 0 0 1 4 】

このバイオアッセイ装置では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と信号が記録される情報領域とを有するバイオアッセイ用基板に対して、物質間相互反応に基づくバイオアッセイを行うとともに、情報の記録及び/又は再生を行う。

20

【 0 0 1 5 】

本発明に係るバイオアッセイ方法は、上層部と、その下側に形成された下層部とを有する円板状に形成された基板から構成され、上層部は、半径方向に分割した内周側又は外周側の何れか一方に、サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされ、プロンプ物質が固定可能とされ、プロンプ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイが行われる場となり、蛍光標識剤に対する励起光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域を有し、下層部は、基板に照射される光の焦点深度よりも反応領域から厚み方向に離間した位置に、下側から光を照射することにより情報を記録及び/又は再生することが可能な情報領域とを有し、情報領域のうち、上側に反応領域が形成されている領域には、この反応領域に形成された各ウェルを特定するためのアドレスピットが各ウェルの近傍に対応されて形成されているバイオアッセイ用基板を、保持するとともに円板中心を軸に回転駆動させ、バイオアッセイ基板の情報領域に対して所定の波長の光を対物レンズを介して照射し、その反射光に基づき情報の記録及び/又は再生を行い、励起光検出光学系を構成する対物レンズを介して、バイオアッセイ基板の反応領域に対して所定の波長の励起光を照射し、当該励起光に応じて蛍光標識剤から発生される所定の波長の蛍光の有無を検出する。

30

【 0 0 1 6 】

このバイオアッセイ方法では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と信号が記録される情報領域とを有するバイオアッセイ用基板に対して、物質間相互反応に基づくバイオアッセイを行うとともに、情報の記録及び/又は再生を行う。

40

【 0 0 1 7 】

【 発明の実施の形態 】

以下、本発明を適用した具体的な実施の形態として、本発明を適用したDNA解析用のバイオアッセイ用基板及びこのバイオアッセイ用基板を用いてDNA解析を行うバイオアッセイ装置について説明をする。なお、本願において「バイオアッセイ」とは、ハイブリダイゼーションその他の物質間の相互反応に基づく生化学分析を意味する。

【 0 0 1 8 】

(バイオアッセイ用基板)

図1に本発明の実施の形態のバイオアッセイ用基板1の上面(図1(A))及び断面(図

50

1 (B)) を模式的に表した図を示す。

【 0 0 1 9 】

バイオアッセイ用基板 1 は、例えば、C D (Compact Disk)、D V D (Digital Versatile Disk) 等の光ディスクと同様の主面が円形の平板状の形状を呈している。また、バイオアッセイ用基板 1 の円の中心には、中心孔 2 が形成されている。中心孔 2 には、当該バイオアッセイ用基板 1 が D N A 解析装置に装着されたときに、当該バイオアッセイ用基板 1 を保持及び回転させるためのチャッキング機構が挿入される。

【 0 0 2 0 】

バイオアッセイ用基板 1 の円形の主面は、図 1 (A) に示すように、半径方向に同心円状に形成された記録領域 3 及び反応領域 4 の 2 つの領域に分けられている。本例では、記録領域 3 が内周側に位置し、反応領域 4 が外周側に位置している。記録領域 3 が外周側に位置し、反応領域 4 が内周側に位置してもよい。記録領域 3 は、光ディスク情報記録媒体と同様に、レーザ光を照射して光学的に情報の記録再生がされる領域である。反応領域 4 は、プローブ D N A (検出用ヌクレオチド鎖) とサンプル D N A (標的ヌクレオチド鎖) との相互反応の場、具体的にはハイブリダイゼーション反応の場となる領域である。

【 0 0 2 1 】

バイオアッセイ用基板 1 の層構造は、図 1 (B) に示すように、情報層 5 と D N A 層 6 とから形成されている。ここでは、情報層 5 が下層、D N A 層 6 が上層に位置するものとする。また、バイオアッセイ用基板 1 の D N A 層 6 側の表面を上面 1 a、情報記録層 5 側の表面を下面 1 b というものとする。

【 0 0 2 2 】

情報層 5 には、記録領域 3 に対応する平面領域に、例えばピットや相変化材料等のレーザ光が照射されることによりデータの再生又は記録再生がされる信号記録膜 7 が形成されている。このような信号記録膜 7 は、C D (Compact Disk)、D V D (Digital Versatile Disk) 等の光ディスクと同様のディスク作成方法により形成することができる。

【 0 0 2 3 】

信号記録膜 7 は、バイオアッセイ用基板 1 の下面 1 b 側からレーザ光を照射することにより、信号の再生又は記録再生がされる。また、情報層 5 は、D N A 解析時に照射される励起光及び制御光、並びに、D N A 解析時に蛍光標識剤から発光される蛍光の波長を透過する材料により形成されている。例えば、情報層 5 は、石英ガラス、シリコン、ポリカーボネート、ポリスチレン等の材料で形成されている。なお、励起光、制御光及び蛍光については詳細を後述する。

【 0 0 2 4 】

D N A 層 6 は、図 2 に示すように、下層側から (すなわち情報層 5 側から)、基板層 1 0 と、透明電極層 1 1 と、固相化層 1 2 と、ウェル形成層 1 3 とから形成された層構造となっている。

【 0 0 2 5 】

基板層 1 0 は、詳細を後述する励起光及び制御光並びに蛍光の波長の光を透過する材料である。例えば、基板層 1 0 は、石英ガラス、シリコン、ポリカーボネート、ポリスチレン等の材料で形成されている。

【 0 0 2 6 】

透明電極層 1 1 は、基板層 1 0 上に形成された層である。透明電極層 1 1 は、例えば I T O (インジウム-スズ-オキシド) 等の光透過性があり且つ導電性を有する材料から形成されている。透明電極層 1 1 は、基板層 1 0 上に例えばスパッタリングや電子ビーム蒸着等により 2 5 0 n m 程度の厚さに成膜される形成される。

【 0 0 2 7 】

固相化層 1 2 は、透明電極層 1 1 上に形成された層である。固相化層 1 2 は、プローブ D N A の一端を固相化させるための材料から形成されている。本例では、固相化層 1 2 は、シランにより表面修飾可能な SiO_2 が、例えばスパッタリングや電子ビーム蒸着により 5 0 n m 程度の厚さに成膜された層となっている。

【 0 0 2 8 】

ウェル形成層 1 3 は、固相化層 1 2 上に形成された層である。ウェル形成層 1 3 は、プローブ DNA とサンプル DNA との間のハイブリダイゼーション反応を起させる複数のウェル 8 が形成された層である。ウェルは、バイオアッセイ用基板 1 の上面 1 a が開口したくぼみ状となっており、サンプル DNA が含まれた溶液等が滴下されたときにその溶液を保留することができる程度の深さ及び大きさとなっている。例えば、ウェル 8 は、開口部が 1 0 0 μ m 四方の大きさに形成され、深さが 5 μ m 程度とされて、底面 1 4 に固相化層 1 2 が露出している。このようなウェル形成層 1 3 は、例えば、固相化層 1 2 上に感光性ポリミドをスピンコート等で 5 μ m 程度の厚さに塗布し、塗布した感光性ポリミドを所定のパターンでフォトリソグラフィを用いて露光及び現像することで形成される。

10

【 0 0 2 9 】

さらに、ウェル 8 は、一端が官能基により修飾されたプローブ DNA が底面 1 4 (固相化層 1 2 が露出した部分) に結合するように、当該底面 1 4 が官能基により表面修飾されている。例えば、ウェル 8 は、図 3 に示すように、OH 基 1 6 を有するシラン分子 1 7 により、底面 1 4 (SiO_2 から形成されている固相化層 1 2) が表面修飾されている。このため、ウェル 8 の底面 1 4 には、例えば NCO 基で一端が修飾されたプローブ DNA を結合させることができる。このようにバイオアッセイ用基板 1 では、ウェル 8 の底面 1 4 に、プローブ DNA の一端を結合させることができるので、図 4 に示すように、底面 1 4 から垂直方向に鎖が伸びるように、プローブ DNA (P) を結合させることができる。

20

【 0 0 3 0 】

また、バイオアッセイ用基板 1 では、図 1 に示すように、複数のウェル 8 が、主面の中心から外周方向に放射状に向かう複数の列上に、例えば 4 0 0 μ m 程度の間隔で等間隔に並んで配置されている。ただし、ここでは、ウェル 8 が形成される平面領域は、反応領域 4 の範囲である。

【 0 0 3 1 】

また、バイオアッセイ用基板 1 には、バイオアッセイ用基板 1 の下面 1 b 側からレーザ光を照射することにより読み取り可能なアドレスピット 9 が形成されている。アドレスピット 9 は、バイオアッセイ用基板 1 の平面上における各ウェル 8 の位置を特定するための情報である。アドレスピット 9 から情報を光学的に読み取ることによって、複数存在するウェル 8 のうち、現在レーザ光を照射している位置の 1 つのウェル 8 がどれであるかを特定することが可能となる。このようなアドレスピット 9 が設けてあることによって、後述する滴下装置による溶液の滴下位置の制御や、対物レンズによる蛍光検出位置の特定を行うことができる。

30

【 0 0 3 2 】

以上のようなバイオアッセイ用基板 1 では、円板状に形成されているため、光ディスクシステムと同様の再生システムを利用することにより、レーザ光のフォーカシング位置を制御するためのフォーカシングサーボ制御、半径方向に対するレーザ光の照射位置や滴下装置による滴下位置の制御のための位置決めサーボ制御、並びに、アドレスピット 9 の情報検出処理をすることができる。つまり、アドレスピット 9 に記録してある情報内容と、そのアドレスピット 9 の近傍にあるウェル 8 とを対応させておくことにより、アドレスピット 9 の情報を読み出すことで、特定の 1 つのウェル 8 に対してのみレーザ光を照射して蛍光が発光しているウェル 8 の位置を特定したり、特定の 1 つのウェル 8 の位置と滴下装置との相対位置を制御して、その特定の 1 つのウェル 8 に対して溶液を滴下したりすることができる。

40

【 0 0 3 3 】

また、さらに、バイオアッセイ用基板 1 では、バイオアッセイ用の物質間の相互反応を起させる領域 (ウェル 8) とともに、光ディスクと同様に各種の情報の記録再生を行う信号記録膜 7 が形成されており、円板状に形成した基板をより有用且つ多様的に利用することが可能となる。

【 0 0 3 4 】

50

例えば、バイオアッセイ用基板 1 に、「バイオアッセイ用基板 1 の動作制御に関する情報」、「ウェル 8 に固相化されているプローブ DNA に関する情報」、「検査結果に関する情報」等を記録することができる。

【0035】

バイオアッセイ用基板 1 の動作制御に関する情報の具体例としては、例えば、バイオアッセイ用基板 1 を用いて DNA の解析を行う際の検査プログラム、その検査に必要な各種のデータ、検査プログラムのアップデート情報、当該バイオアッセイ用基板 1 や解析装置の取り扱い説明書、検査処理の手順等を記録する。

【0036】

このようなバイオアッセイ用基板 1 の動作制御に関する情報を、物質間の相互反応を起させる領域とともに同一基板に記録することによって、動作制御に関連する情報を別の記録媒体に記録して頒布する必要がなくなる。

10

【0037】

また、ウェル 8 に固相化されているプローブ DNA に関する情報の具体例としては、各ウェル 8 に配置されているプローブ DNA の種別やその配置位置、各ウェル 8 内のプローブ DNA の説明、プローブ DNA と疾病との関係、バイオアッセイ用基板 1 の製造者や製造日時等を記録する。

【0038】

このようなウェル 8 に固相化されているプローブ DNA に関する情報を、そのプローブ DNA が固相化されている同一基板に記録することによって、バイオアッセイ用基板 1 の管理を確実且つ容易に行うことが可能となる。

20

【0039】

また、検査結果に関する情報の具体例としては、被検査者に関する情報（名前、年齢、性別等）、検査日時、検査場所、検査者、検査結果データ（反応領域から読み取った生データ）、検査結果に基づく DNA 解析結果（ビジュアル的な検査結果データや疾病との関連付けを示すデータ等）、その被検査者の過去の検査結果（検査履歴）、その被検査者の他の検査結果等を記録する。

【0040】

このような検査結果に関する情報を、検査結果のソースとなるサンプル DNA がハイブリダイゼーションされた同一基板に記録することによって、検査結果の取り扱いが確実且つ容易になる。

30

【0041】

バイオアッセイ用基板 1 では、以上のような情報に限らず、他のデータも記録することももちろん可能である。

【0042】

なお、バイオアッセイ用基板 1 では、主面を記録領域 3 と反応領域 4 との 2 つの領域に分けているが、記録領域 3 と反応領域 4 とが平面領域上で重なっていてもよい。この場合には、信号記録膜 7 の位置が反応領域 4 から厚み方向に、蛍光を励起するために照射するレーザー光（詳細を後述する励起光）や制御用のレーザー光（詳細を後述する制御光）の焦点深度より離間した位置に形成されていればよい。つまり、光ディスクの 2 層記録と同様に焦点の手前に信号記録膜 7 が位置すれば、反応領域 4 に充分到達するためである。

40

【0043】

（DNA 解析装置）

つぎに、上述したバイオアッセイ用基板 1 を用いて DNA 解析を行う DNA 解析装置 2 1 について、図 5 を参照して説明をする。

【0044】

DNA 解析装置 2 1 は、図 5 に示すように、バイオアッセイ用基板 1 を保持して回転をさせるディスク装填部 2 2 と、ハイブリダイゼーションのための各種溶液を貯留するとともにバイオアッセイ用基板 1 のウェル 8 にその溶液を滴下する滴下部 2 3 と、バイオアッセイ用基板 1 のウェル 8 から蛍光を検出するための蛍光検出部 2 4 と、上記の各部の管理

50

及び制御を行う制御/サーボ部 25 と、バイオアッセイ用基板 1 の信号記録膜 7 に対して信号の記録再生を行う記録再生部 26 とを備えている。

【0045】

ディスク装填部 22 は、バイオアッセイ用基板 1 の中心孔 2 内に挿入して当該バイオアッセイ用基板 1 を保持するチャッキング機構 31 と、チャッキング機構 31 を駆動することによりバイオアッセイ用基板 1 を回転させるスピンドルモータ 32 と有している。ディスク装填部 22 は、上面 1a 側が上方向となるようにバイオアッセイ用基板 1 を水平に保持した状態で、当該バイオアッセイ用基板 1 を回転駆動する。

【0046】

滴下部 23 は、試料溶液 S を貯留する貯留部 33 と、貯留部 33 内の試料溶液 S をバイオアッセイ用基板 1 に滴下する滴下ヘッド 34 とを有している。滴下ヘッド 34 は、水平に装填されたバイオアッセイ用基板 1 の上面 1a の上方に配置されている。さらに、滴下ヘッド 34 は、バイオアッセイ用基板 1 のアドレスピット 9 から読み出される位置情報及び回転同期情報に基づいてバイオアッセイ用基板 1 との相対位置を半径方向に制御し、プローブ DNA、サンプル DNA 又は蛍光標識剤を含有する試料溶液 S を所定のウェル 8 に正確に追従して滴下する構成とされている。

【0047】

蛍光検出部 24 は、光学ヘッド 40 を有している。光学ヘッド 40 は、水平に装填されたバイオアッセイ用基板 1 の下方側、すなわち、下面 1b 側に配置されている。光学ヘッド 40 は、例えば、図示していないスレッド機構等により、バイオアッセイ用基板 1 の半径方向に移動自在とされている。

【0048】

光学ヘッド 40 は、対物レンズ 41 と、対物レンズ 41 を移動可能に支持する 2 軸アクチュエータ 42 と、導光ミラー 43 とを有している。対物レンズ 41 は、その中心軸がバイオアッセイ用基板 1 の表面に対して略垂直となるように 2 軸アクチュエータ 42 に支持されている。従って、対物レンズ 41 は、バイオアッセイ用基板 1 の下方側から入射された光束を当該バイオアッセイ用基板 1 に対して集光することができる。2 軸アクチュエータ 42 は、バイオアッセイ用基板 1 の表面に対して垂直な方向、及び、バイオアッセイ用基板 1 の半径方向の 2 方向に対物レンズ 41 を移動可能に支持している。2 軸アクチュエータ 42 を駆動することにより、対物レンズ 41 により集光された光の焦点を、バイオアッセイ用基板 1 の表面に対して垂直な方向及び半径方向に移動させることができる。従って、この光学ヘッド 40 では、光ディスクシステムにおけるジャストフォーカス制御並びに位置決め制御と同様の制御を行うことができる。

【0049】

導光ミラー 43 は、光路 X 上に対して 45° の角度で配置されている。光路 X は、励起光 P、蛍光 F、制御光 V 及び反射光 R が、光学ヘッド 40 に対して入射及び出射する光路である。導光ミラー 43 には、励起光 P 及び制御光 V が光路 X 上から入射される。導光ミラー 43 は、励起光 P 及び制御光 V を反射して 90° 屈折させて、対物レンズ 41 に入射する。対物レンズ 41 に入射された励起光 P 及び制御光 V は、当該対物レンズ 41 により集光されてバイオアッセイ用基板 1 に照射される。また、導光ミラー 43 には、蛍光 F 及び制御光 V の反射光 R が、バイオアッセイ用基板 1 から対物レンズ 41 を介して入射される。導光ミラー 43 は、蛍光 F 及び反射光 R を反射して 90° 屈折させて、光路 X 上に出射する。なお、光学ヘッド 40 をスレッド移動させる駆動信号及び 2 軸アクチュエータ 42 を駆動する駆動信号は、制御/サーボ部 25 から与えられる。

【0050】

また、蛍光検出部 24 は、励起光 P を出射する励起光源 44 と、励起光源 44 から出射された励起光 P を平行光束とするコリメータレンズ 45 と、コリメータレンズ 45 により平行光束とされた励起光 P を光路 X 上で屈折させて導光ミラー 43 に照射する第 1 のダイクロックミラー 46 とを有している。

【0051】

10

20

30

40

50

励起光源 44 は、蛍光標識剤を励起可能な波長のレーザ光源を有する発光手段である。励起光源 44 から出射される励起光 P は、ここでは波長が 405 nm のレーザ光である。なお、励起光 P の波長は、蛍光標識剤を励起できる波長であればどのような波長であってもよい。コリメータレンズ 45 は、励起光源 44 から出射された励起光 P を平行光束にする。第 1 のダイクロックミラー 46 は、波長選択性を有する反射鏡であり、励起光 P の波長の光のみを反射して、蛍光 F 及び制御光 V (その反射光 R) の波長の光を透過する。第 1 のダイクロックミラー 46 は、光路 X 上に 45° の角度を持って挿入されており、コリメータレンズ 45 から出射された励起光 P を反射して 90° 屈折させ、導光ミラー 43 に励起光 P を照射している。

【0052】

10

また、蛍光検出部 24 は、蛍光 F を検出するアバランジェフォトダイオード 47 と、蛍光 F を集光する集光レンズ 48 と、光学ヘッド 40 から光路 X 上に出射された蛍光 F を屈折させてアバランジェフォトダイオード 47 に照射する第 2 のダイクロックミラー 49 とを有している。

【0053】

アバランジェフォトダイオード 47 は、非常に感度の高い光検出器であり、微弱な光量の蛍光 F を検出することが可能である。なお、アバランジェフォトダイオード 47 により検出する蛍光 F の波長は、ここでは 470 nm 程度である。また、この蛍光 F の波長は、蛍光標識剤の種類により異なるものである。集光レンズ 48 は、アバランジェフォトダイオード 47 上に蛍光 F を集光するためのレンズである。第 2 のダイクロックミラー 49 は、光路 X 上に 45° の角度を挿入されているとともに、導光ミラー 43 側から見て第 1 のダイクロックミラー 46 の後段に配置されている。従って、第 2 のダイクロックミラー 49 には、蛍光 F、制御光 V 及び反射光 R が入射し、励起光 P は入射しない。第 2 のダイクロックミラー 49 は、波長選択性を有する反射鏡であり、蛍光 F の波長の光のみを反射して、制御光 (反射光 R) の波長の光を透過する。第 2 のダイクロックミラー 49 は、光学ヘッド 40 の導光ミラー 43 から出射された蛍光 F を反射して 90° 屈折させ、集光レンズ 48 を介してアバランジェフォトダイオード 47 に蛍光 F を照射する。

20

【0054】

アバランジェフォトダイオード 47 では、このように検出した蛍光 F の光量に応じた電気信号を発生し、その電気信号を制御/サーボ部 25 に供給する。

30

【0055】

また、励起光検出部 24 は、制御光 V を出射する制御光源 50 と、制御光源 50 から出射された制御光 V を平行光束とするコリメータレンズ 51 と、制御光 V の反射光 R を検出するフォトディテクト回路 52 と、非点収差を生じさせてフォトディテクト回路 52 に対して反射光 R を集光するシリンドリカルレンズ 53 と、制御光 V と反射光 R とを分離する光セパレータ 54 とを有している。

【0056】

制御光源 50 は、例えば 780 nm の波長のレーザ光を出射するレーザ光源を有する発光手段である。なお、制御光 V の波長は、アドレスピット 9 が検出でき、且つ、信号記録膜 7 に対して情報の記録及び再生ができる波長に設定されている。さらに、制御光 V の波長は、励起光 P 及び蛍光 F の波長と異なった波長に設定されている。このような波長であれば、制御光 V の波長は、780 nm に限らずどのような波長であってもよい。コリメータレンズ 51 は、制御光源 50 から出射された制御光 V を平行光束にする。平行光束とされた制御光 V は光セパレータ 54 に入射される。

40

【0057】

フォトディテクト回路 52 は、反射光 R を検出するディテクタと、検出した反射光 R からフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号、及び、アドレスピット 9 の再生信号、並びに、信号記録膜 7 の再生信号を生成する信号生成回路とを有している。反射光 R は、制御光 V がバイオアッセイ用基板 1 で反射して生成された光であるので、その波長は、制御光と同一の 780 nm である。

50

【 0 0 5 8 】

なお、光学ヘッド 4 0 によりバイオアッセイ用基板 1 の反応領域 4 (外周側の領域) にレーザ光を照射している場合、フォーカスエラー信号は、対物レンズ 3 2 により集光された光の合焦位置とバイオアッセイ用基板 1 の DNA 層 6 との位置ずれ量を示すエラー信号となり、位置決めエラー信号は、所定のウェル 8 の位置と焦点位置とのディスク半径方向に対する位置ずれ量を示す信号となる。光学ヘッド 4 0 によりバイオアッセイ用基板 1 の記録領域 3 (内周側の領域) にレーザ光を照射している場合、フォーカスエラー信号は、対物レンズ 3 2 により集光された光の合焦位置と信号記録膜 7 との位置ずれ量を示すエラー信号となり、位置決めエラー信号は、信号記録膜 7 のトラック位置と焦点位置とのディスク半径方向に対する位置ずれ量を示す信号となる。

10

【 0 0 5 9 】

アドレスビット 9 の再生信号は、反応領域 4 (外周側の領域) にレーザ光を照射している場合のみに検出され、バイオアッセイ用基板 1 に記録されているアドレスビット 9 に記述されている情報内容を示す信号である。この情報内容を読み出すことにより、現在、制御光 V を照射しているウェル 8 を特定することができる。

【 0 0 6 0 】

信号記録膜 7 の再生信号は、記録領域 3 (内周側の領域) にレーザ光を照射している場合のみに検出され、信号記録膜 7 のトラックに記録されている情報内容を示す信号である。

【 0 0 6 1 】

フォトディテクト回路 5 2 は、反射光 R に基づき生成されたフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号及びアドレスビット 9 の再生信号を制御/サーボ部 2 5 に供給する。

20

【 0 0 6 2 】

シリンドリカルレンズ 5 3 は、フォトディテクト回路 5 2 上に反射光 R を集光するとともに非点収差を生じさせるためのレンズである。このように非点収差を生じさせることによりフォトディテクト回路 5 2 によりフォーカスエラー信号を生成させることができる。

【 0 0 6 3 】

光セパレータ 5 4 は、偏向ビームスプリッタからなる光分離面 5 4 a と 1 / 4 波長板 5 4 b により構成されている。光セパレータ 5 4 では、1 / 4 波長板 5 4 b の逆側から入射された光を光分離面 5 4 a が透過し、その透過光の反射光が 1 / 4 波長板 5 4 b 側から入射された場合には光分離面 5 4 a が反射する機能を有している。光セパレータ 5 4 は、光分離面 5 4 a が光路 X 上に 4 5 ° の角度を挿入されているとともに、導光ミラー 4 3 側から見て第 2 のダイクロックミラー 4 9 の後段に配置されている。従って、光セパレータ 5 4 では、コリメータレンズ 5 1 から出射された制御光 V を透過して光学ヘッド 4 0 内の導光ミラー 4 3 に対してその制御光 V を入射させているとともに、光学ヘッド 4 0 の導光ミラー 4 3 から出射された反射光 R を反射することにより 9 0 ° 屈折され、シリンドリカルレンズ 5 3 介してフォトディテクト回路 5 2 に反射光 R を照射する。

30

【 0 0 6 4 】

制御/サーボ部 2 5 は、蛍光検出部 2 4 により検出されたフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号及びアドレスビット 9 の再生信号に基づき、各種のサーボ制御を行う。

【 0 0 6 5 】

反応領域 4 (外周側の領域) にレーザ光を照射している場合には、制御/サーボ部 2 5 は、フォーカスエラー信号に基づき光学ヘッド 4 0 内の 2 軸アクチュエータ 4 2 を駆動して対物レンズ 4 1 とウェル 8 との間隔を制御し、位置決めエラー信号に基づき光学ヘッド 4 0 内の 2 軸アクチュエータ 4 2 を駆動して対物レンズ 4 1 とウェル 8 との半径方向の位置関係を制御し、アドレスビット 9 の再生信号に基づき光学ヘッド 4 0 のスレッド移動制御を行って光学ヘッド 4 0 を所定の半径位置に移動する。

40

【 0 0 6 6 】

記録領域 3 (内周側の領域) にレーザ光を照射している場合には、制御/サーボ部 2 5 は、フォーカスエラー信号に基づき光学ヘッド 4 0 内の 2 軸アクチュエータ 4 2 を駆動して対物レンズ 4 1 と信号記録膜 7 との間隔を制御し、位置決めエラー信号に基づき光学

50

ヘッド40内の2軸アクチュエータ42を駆動して対物レンズ41と信号記録膜7の記録トラックとの半径方向の位置関係を制御する。

【0067】

記録再生部26は、情報記録層7に記録されているデータの再生信号の復調及び復号処理を行ってデータを出力するとともに、情報記録層7に記録する記録データの符号化及び変調を行う。記録再生部26は、再生時には、蛍光検出部24から出力された再生信号が入力され、外部に復調及び復号したデータを出力する。また、記録再生部26は、記録時には、外部から記録データが入力され、符号化及び変調がされたデータを蛍光検出部24に供給して、制御光Vを出射する制御光源50を駆動する。

【0068】

以上のような構成のDNA解析装置21では、バイオアッセイを行う場合には、次のような動作を行う。

【0069】

DNA解析装置21は、バイオアッセイ用基板1を回転させながら、図6に示すようにウェル8上にサンプルDNA(S)が含有した溶液を滴下し、プローブDNA(P)とサンプルDNA(S)とを相互反応(ハイブリダイゼーション)させる。また、ハイブリダイゼーション処理の済んだバイオアッセイ用基板1上に蛍光標識剤Mを含んだバッファ溶液を滴下して、図7に示すようにプローブDNA(P)とサンプルDNA(S)との二重らせん内に蛍光標識剤Mを挿入する。

【0070】

また、DNA解析装置21は、蛍光標識剤が滴下された後のバイオアッセイ用基板1を回転させ、励起光Pを当該バイオアッセイ用基板1の下面1b側から入射させてウェル8内の蛍光標識剤に照射し、その励起光Pに応じてその蛍光標識剤から発生した蛍光Fをバイオアッセイ用基板1の下方から検出する。

【0071】

ここで、DNA解析装置21では、励起光Pと制御光Vとを同一の対物レンズ41を介してバイオアッセイ用基板1に照射している。そのため、DNA解析装置21では、制御光Vを用いたフォーカス制御、位置決め制御並びにアドレス制御を行うことによって、励起光Pの照射位置、すなわち、蛍光Fの発光位置を特定することが可能となり、その蛍光の発光位置からサンプルDNAと結合したプローブDNAを特定することができる。

【0072】

また、以上のような構成のDNA解析装置21では、データの記録及び再生時には、次のような動作を行う。

【0073】

DNA解析装置21は、励起光Pの出射を停止して、制御光Vのみを出射する。そして、バイオアッセイ用基板1を回転させながらサーボ制御を行い、信号記録膜7上のトラックに対して、データの記録又は再生を行う。

【0074】

(DNA解析方法)

つぎに、DNA解析方法について説明をする。

【0075】

最初に、バイオアッセイ用基板1をDNA解析装置21のディスク装填部22に水平に装填する。

【0076】

続いて、DNA解析装置21により、アドレスビット9に基づく位置制御を行いながらバイオアッセイ用基板1を回転させ、滴下ヘッド34から、一端がNCO基等で修飾されたプローブDNAが含有した溶液を所定のウェル8に対して滴下する。このとき、1つのバイオアッセイ用基板1に対して、複数種類のプローブDNAが滴下する。ただし、1つのウェル8内には1種類のプローブDNAが入るようにする。なお、各ウェル8にいずれの種類のプローブDNAを滴下するかは、予めウェルとプローブDNAとの対応関係を示す

10

20

30

40

50

配置マップ等を信号記録膜 7 から読み出しておき、その配置マップに基づき滴下制御する。

【 0 0 7 7 】

続いて、バイオアッセイ用基板 1 の上面 1 a 側から、電極をウェル 8 内の溶液に挿入して、 1 MV/m 、 1 MHz 程度の交流電界を各ウェル 8 に印加する。このように交流電界を印加すると、プローブ DNA がバイオアッセイ用基板 1 に対して垂直方向に伸張するとともに、プローブ DNA をバイオアッセイ用基板 1 に垂直方向に移動させて、予め表面修飾処理がされた底面 1 4 に対して、プローブ DNA の修飾端を結合させ、ウェル 8 内にプローブ DNA を固相化（固定化）することができる（Masao Washizu and Osamu Kurosawa: “ Electrostatic Manipulation of DNA in Microfabricated Structures ”, IEEE Transaction on Industrial Application Vol.26, No.26, P.1165-1172(1990) 参照）。

10

【 0 0 7 8 】

続いて、DNA 解析装置 2 1 により滴下ヘッド 3 4 からサンプル DNA が含有した溶液をバッファ塩を含む溶液とともに、バイオアッセイ用基板 1 上の各ウェル 8 に滴下する。

【 0 0 7 9 】

続いて、サンプル DNA の滴下後、バイオアッセイ用基板 1 を恒温層等に移し、ウェル 8 内を数十度に加熱し、加熱した状態のまま 1 MV/m 、 1 MHz 程度の交流電界を印加する。このような処理をすると、サンプル DNA とプローブ DNA とが垂直方向に伸張して立体障害の少ない状態となるとともに、サンプル DNA がバイオアッセイ用基板 1 に対して垂直方向に移動する。この結果、互いの塩基配列が対応したサンプル DNA とプローブ DNA とが同一のウェル 8 内にある場合には、それらがハイブリダイゼーションを起こす。

20

【 0 0 8 0 】

続いて、ハイブリダイゼーションを起こさせた後に、DNA 解析装置 2 1 により、インターカレータ等の蛍光標識剤を、バイオアッセイ用基板 1 のウェル 8 内に滴下する。このような蛍光標識剤は、ハイブリダイゼーションを起こしたプローブ DNA とサンプル DNA との二重らせんの間に挿入して結合する。

【 0 0 8 1 】

続いて、バイオアッセイ用基板 1 の表面 1 a を純水等で洗浄し、ハイブリダイゼーションを起こしていないウェル 8 内のサンプル DNA 及び蛍光標識剤を除去する。この結果、ハイブリダイゼーションを起こしたウェル 8 内のみ、蛍光標識剤が残存することとなる。

30

【 0 0 8 2 】

続いて、DNA 解析装置 2 1 により、制御光 F を用いてフォーカスサーボ制御及び位置決めサーボ制御並びにアドレス制御を行いながらバイオアッセイ用基板 1 を回転させ、励起光 P を所定のウェル 8 に照射する。この励起光 P の照射とともに、アドレス情報を検出しながら蛍光 F が発生しているか否かを検出する。

【 0 0 8 3 】

続いて、DNA 解析装置 2 1 は、バイオアッセイ用基板 1 上の各ウェル 8 の位置と蛍光 F の発光の有無を示すマップ作成する。そして、その作成したマップ、並びに、各ウェル 8 にどのような塩基配列のプローブ DNA が滴下されていたかを示す配置マップに基づき、サンプル DNA の塩基配列の解析を行う。この解析の結果を参照して、信号記録膜 7 に記録されているプローブ DNA と疾病との関係の情報に基づき、例えば疾病との関係等を解析してもよい。

40

【 0 0 8 4 】

そして、DNA 解析装置 2 1 は、その解析結果や、検出した配置マップ等をバイオアッセイ用基板 1 の信号記録膜 7 に記録して保存する。

【 0 0 8 5 】

【発明の効果】

本発明に係るバイオアッセイ用基板では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と、信号が記録される情報領域とを有する。また、本発明に係るバイオアッセイ装置及び方法では

50

、物質間相互反応を生じさせる反応領域と信号が記録される情報領域とを有するバイオアッセイ用基板に対して、物質間相互反応に基づくバイオアッセイを行うとともに、情報の記録及び/又は再生を行う。

【 0 0 8 6 】

本発明では、同一の対物レンズを介して、ウェルに励起光を照射するとともに、このウェルに対応して近傍に形成されているアドレスピットに光を照射して、このアドレスピットから情報を光学的に読み取ることによって、反射領域に存在するウェルのうち、現在励起光が照射されているウェルを特定することができる。また、本発明では、情報領域のうち、アドレスピットが形成されていない領域を利用して、より多様な使用をユーザに行わせることができる。

10

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明の実施の形態のバイオアッセイ用基板の平面図及び断面図である。

【図 2】上記バイオアッセイ用基板の DNA 層の層構造を示す断面図である。

【図 3】ウェルの底面に修飾される OH 基を有するシラン分子を示す図である。

【図 4】ウェルの底面に結合したプローブ DNA を示す図である。

【図 5】本発明の実施の形態の DNA 解析装置のブロック構成図である。

【図 6】ウェルに対して溶液を滴下している動作を示す図である。

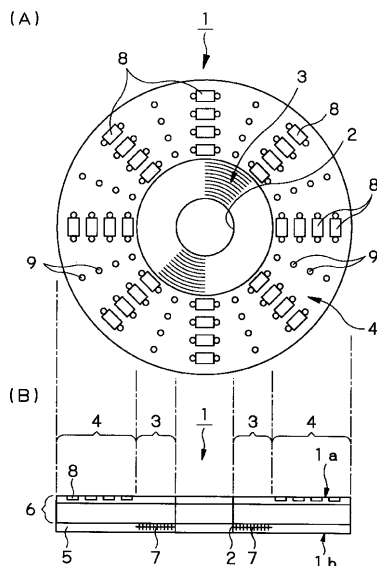
【図 7】プローブ DNA とサンプル DNA との二重らせん内に蛍光標識剤が挿入されている状態を示す図である。

20

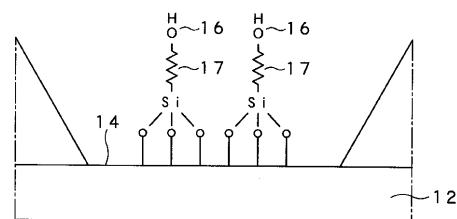
【符号の説明】

1 バイオアッセイ用基板、2 中心孔、3 記録領域、4 反応領域、5 情報層、6 DNA 層、7 信号記録膜、8 ウェル、9 ピット、10 基板層、11 透明電極層、12 固相化層、13 ウェル形成層、21 DNA 解析装置、22 ディスク装填部、23 滴下部、24 蛍光検出部、25 制御/サーボ部、26 記録再生部

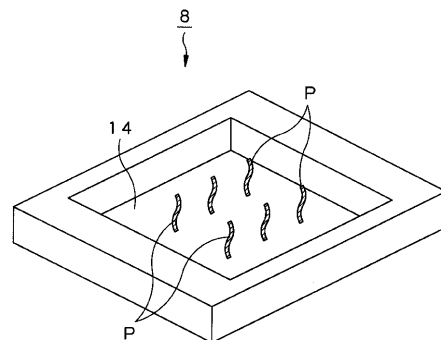
【図 1】



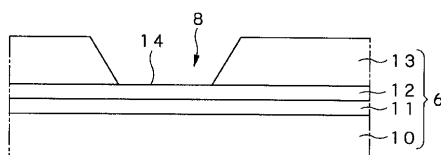
【図 3】



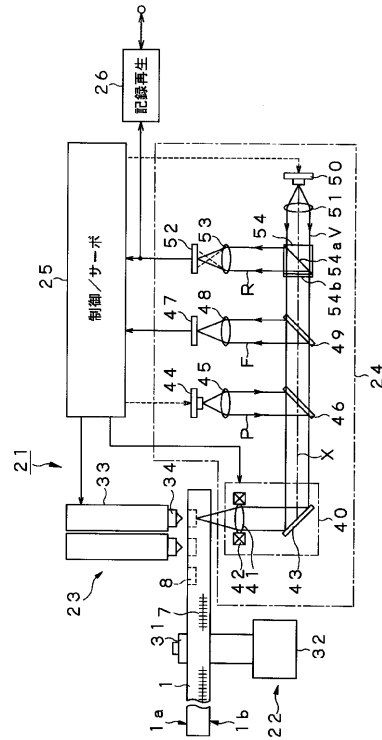
【図 4】



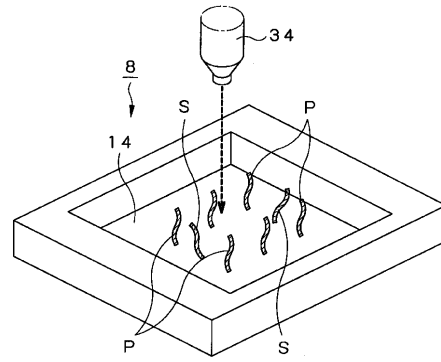
【図 2】



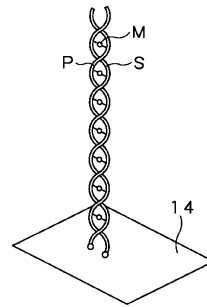
【図 5】



【図 6】



【図 7】



フロントページの続き

- (72)発明者 古木 基裕
東京都品川区北品川6丁目7番35号 ソニー株式会社内
- (72)発明者 中尾 勇
東京都品川区北品川6丁目7番35号 ソニー株式会社内

審査官 横井 亜矢子

- (56)参考文献 特開2001-238674(JP,A)
特表平10-504397(JP,A)
特開2002-250726(JP,A)
特開平03-225278(JP,A)
特開平05-005741(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- G01N 21/00-21/74
 - G01N 33/48-33/98
 - G01N 35/00-35/10
 - JSTPlus(JDreamII)
 - JMEDPlus(JDreamII)
 - JST7580(JDreamII)