(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2009-8603
(P2009-8603A)
(43)公開日　平成21年1月15日(2009.1.15)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
G01N 21/64	(2006.01)	G01N	21/64	F	2G043
C12M 1/34	(2006.01)	C12M	1/34	B	2G058
G01N 35/00	(2006.01)	G01N	35/00	B	4B029
G01N 35/08	(2006.01)	G01N	35/08	A	4B063
C12M 1/00	(2006.01)	C12M	1/00	A	

審査請求 未請求　請求項の数 13　ＯＬ　（全 23 頁）　最終頁に続く

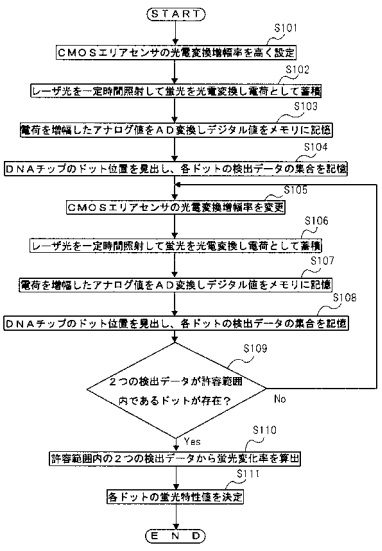
(21)出願番号　特願2007-172157 (P2007-172157)
(22)出願日　平成19年6月29日 (2007.6.29)

(71)出願人　000001007
キヤノン株式会社
東京都大田区下丸子３丁目３０番２号
(74)代理人　100123788
弁理士　宮崎　昭夫
(74)代理人　100106138
弁理士　石橋　政幸
(74)代理人　100127454
弁理士　緒方　雅昭
(72)発明者　相馬　恒範
東京都大田区下丸子３丁目３０番２号　キヤノン株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】蛍光検出装置および生化学反応分析装置と蛍光検出方法

(57)【要約】
【課題】検出可能な蛍光の輝度の範囲を広げ、使用可能な対象物の範囲を広げられる蛍光検出装置および方法を提供する。
【解決手段】１回目の蛍光検出を行った後に検出条件を変えて（光電変換増幅率を低くして）２回目の蛍光検出を行う。全エリアの中に、２回の検出データがいずれも許容範囲内であるドットが１つでもあれば、その２つの検出データから蛍光変化率（蛍光褪色率）を求める。１回目の検出データが許容範囲内であるエリアは、その検出データをそのまま蛍光特性値とする。１回目の検出データが許容範囲外であるエリアは、２回目の検出データを蛍光変化率で補正した値を蛍光特性値とする。２回の検出データがいずれも許容範囲内であるドットがない場合には、全エリアの中の少なくとも１つのドットで、許容範囲内の２つの検出データが得られるまで、検出条件をその都度変えながら蛍光検出を繰り返す。
【選択図】図３



【特許請求の範囲】
【請求項１】
対象物から発せられる蛍光を検出する蛍光検出部を含み、前記蛍光検出部による前記対象物に対する蛍光検出の際に、前記対象物の情報に基づいて検出条件が設定される、蛍光検出装置。
【請求項２】
前記蛍光検出部は、同一の前記対象物に対する複数回の蛍光検出を、少なくとも１つの検出条件が異なる状態で行うものである、請求項１に記載の蛍光検出装置。
【請求項３】
前記蛍光検出部が、前記検出条件として、光電変換増幅率、または光電変換増幅における零レベルのオフセットを変えることができる、請求項１または２に記載の蛍光検出装置。
【請求項４】
前記蛍光検出部はＣＭＯＳセンサまたはＣＣＤセンサを含む、請求項３に記載の蛍光検出装置。
【請求項５】
前記対象物に励起光を照射する励起光発生部を有し、
該励起光発生部が、前記検出条件として、前記励起光の照射時間を変えることによって光電変換継続時間を変えることができる、または、前記励起光の強度を変えることができる、請求項１に記載の蛍光検出装置。
【請求項６】
前記励起光発生部はレーザ光発生器である、請求項５に記載の蛍光検出装置。
【請求項７】
前記蛍光検出部は、前記対象物の検出領域の全域に対して蛍光検出を行い、前記検出領域を分割した複数のエリアのそれぞれの検出データの集合を求めるものであり、
前記蛍光検出部に、前記対象物に対して、少なくとも１つの検出条件を変えて２回の蛍光検出を行なわせ、前記検出領域内の前記全エリアの中に、前記２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在するか否かを調べ、前記２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在する場合には、当該２回の蛍光検出時の検出データの集合に基づいて前記各エリアの蛍光特性値を決定し、前記２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在しない場合には、前記検出領域内の前記全エリアの中のいずれかのドットにおいて前記許容範囲内に入っている２つの検出データが得られるまで、前記検出条件をその都度変えて蛍光検出を繰り返し、当該２つの検出データが得られた際のそれぞれの蛍光検出時の検出データの集合に基づいて前記各エリアの蛍光特性値を決定する制御部をさらに有する、
請求項１から６のいずれか１項に記載の蛍光検出装置。
【請求項８】
前記制御部は、前記検出領域内の前記全エリアの中の少なくとも１つのドットにおいて前記許容範囲内に入っている２つの検出データが得られたら、該２つの検出データから蛍光変化率を求め、前記検出領域内の、前記許容範囲内に入っている２つの検出データが得られたドットが存在しないエリアに関しては、前記蛍光変化率を用いて検出データを補正して蛍光特性値を決定する、請求項７に記載の蛍光検出装置。
【請求項９】
請求項１から８のいずれか１項に記載の蛍光検出装置と、生化学反応の反応場となるチャンバを含む生化学反応カートリッジとを有する、生化学反応分析装置。
【請求項１０】
対象物から発せられる蛍光を検出する蛍光検出方法において、
蛍光検出は前記対象物の検出領域の全域に対して行い、前記検出領域を分割した複数のエリアのそれぞれの検出データの集合を求めるものであり、
前記対象物に対して、少なくとも１つの検出条件を変えて２回の前記蛍光検出を行い、

前記検出領域内の前記全エリアの中に、前記２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在するか否かを調べ、
前記２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在する場合には、当該２回の蛍光検出時の検出データの集合に基づいて前記各エリアの蛍光特性値を決定し、
前記２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在しない場合には、前記検出領域内の前記全エリアの中のいずれかのドットにおいて前記許容範囲内に入っている２つの検出データが得られるまで、前記検出条件をその都度変えて蛍光検出を繰り返し、当該２つの検出データが得られた際のそれぞれの蛍光検出時の検出データの集合に基づいて前記各エリアの蛍光特性値を決定する
ことを特徴とする蛍光検出方法。
【請求項１１】
前記検出領域内の前記全エリアの中の少なくとも１つのドットにおいて前記許容範囲内に入っている２つの検出データが得られたら、該２つの検出データから蛍光変化率を求め、前記検出領域内の、前記許容範囲内に入っている２つの検出データが得られたドットが存在しないエリアに関しては、前記蛍光変化率を用いて検出データを補正して蛍光特性値を決定する、請求項１０に記載の蛍光検出方法。
【請求項１２】
前記少なくとも１つの検出条件は、光電変換増幅率、光電変換継続時間、または前記対象物に照射する励起光の強度である、請求項１０または１１に記載の蛍光検出方法。
【請求項１３】
前記検出データは輝度データであり前記蛍光特性値は輝度値である、請求項１０から１２のいずれか１項に記載の蛍光検出方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、例えば、検体中の細胞、微生物、染色体、核酸等のサンプルを抗原抗体反応や核酸ハイブリダイゼーション反応等の生化学反応を利用して検出するための蛍光検出装置および生化学反応分析装置と蛍光検出方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
血液等の検体を分析する分析装置には、抗原抗体反応を利用した免疫学的な方法や、核酸ハイブリダイゼーションを利用する方法がある。免疫学的な方法の一例では、被検出物質と特異的に結合する抗体または抗原等のタンパク質をプローブとして用いる。プローブを微粒子、ビーズ、またはガラス板等の固相表面に固定して、検体中の被検出物質との抗原抗体反応を行わせる。核酸ハイブリダイゼーションを利用する方法の一例では、一本鎖の核酸をプローブとして用い、微粒子、ビーズ、ガラス板等の固相表面に固定して、検体中の被検出物質と核酸ハイブリダイゼーションを行わせる。これらの方法は、酵素、蛍光物質、または発光性物質等の、検知感度の高い標識物質を担持した特異的な相互作用を有する標識化物質である標識化抗体、標識化抗原、または標識化核酸等を用いる。そして、抗原抗体化合物またはハイブリダイズされた二本鎖の核酸を検出して、被検出物質（ターゲット）の有無の検出やその定量を行う。
【０００３】
これらの技術を発展させたものとして、例えば特許文献１には、互いに異なる塩基配列を有する多数のＤＮＡ（デオキシリボ核酸）プローブを、基板上にアレイ状に並べた、いわゆるＤＮＡアレイが開示されている。
【０００４】
また、非特許文献１には、多種類のタンパク質をメンブレンフィルタ上に並べ、ＤＮＡアレイと同様な構成のタンパク質アレイを作製する方法が開示されている。このように、ＤＮＡアレイやタンパク質アレイ等を用いることによって、極めて多数の項目の検査を一

度に行うことが可能になってきている。
【０００５】
　また、様々な検体分析における、検体による汚染の軽減、反応の効率化、装置の小型化、作業の簡便化等の目的で、内部で生化学反応を行わせる使い捨て可能な生化学反応カートリッジが提案されている。例えば、特許文献２においては、ＤＮＡアレイを含む生化学反応カートリッジ内に複数のチャンバを配設する構成が開示されている。この生化学反応カートリッジによると、圧力差を利用して溶液を各チャンバへ移動させることにより検体中のＤＮＡの抽出、増幅、またはハイブリダイゼーション等の反応を内部で行わせることが可能である。
【０００６】
　そして、このような生化学反応カートリッジ内に外部から溶液を注入する方法としては、外部の電動シリンジポンプや真空ポンプを利用する方法がある。また、生化学反応カートリッジ内部で溶液を移動する方法としては、圧力差以外にも、重力や毛細管現象や電気泳動を利用する方法が知られている。さらに、生化学反応カートリッジの内部に配設できる小型のマイクロポンプとして、特許文献２にはダイアフラムポンプ、特許文献３には発熱素子を利用したポンプ、特許文献４には圧電素子を利用したポンプがそれぞれ開示されている。
【０００７】
　生化学反応カートリッジとして、またはその一部として用いられるＤＮＡチップに、情報記憶用のＩＣを設け、このＩＣに記憶された同定情報を利用してＤＮＡの同定を行う構成がある。具体的には、特許文献５に、ＤＮＡチップの塩基配列情報や検体の情報を情報記憶用ＩＣに書き込むことが開示されている。
【０００８】
　また、ＤＮＡチップ上のサンプルのハイブリダイゼーション状態を検知するために、サンプルに付着した蛍光物質（蛍光標識）を読み取る方法がある。具体的には、特許文献６に、蛍光物質を読み取ってターゲットの検出を行うために、蛍光を発生させるようにＤＮＡチップに照射する励起光を適宜に較正する方法が開示されている。
【０００９】
　さらに、特許文献７には、生化学解析用カセットに化学発光基質を２度に分けて投入することで２回の化学発光を生じさせ、それらの化学発光によるそれぞれの輝度データを求める方法が開示されている。特許文献７では、こうして求めた２つの輝度データを比較することでダイナミックレンジを広げることができる。
【特許文献１】米国特許第５４４５９３４号明細書
【特許文献２】特表平１１－５０９０９４号公報
【特許文献３】特許第２８３２１１７号明細書
【特許文献４】特開２０００－２７４３７５号公報
【特許文献５】特開２００１－１４７２３１号公報
【特許文献６】特表２００２－５３８４２７号公報
【特許文献７】特許第３７１０７５２号明細書
【非特許文献１】アンジェリカ ロイキング（Angelika Lueking）他５名、「プロテイン マイクロアレイズ フォー ジーン エクスプレッション アンド アンチボディ スクリーニング（Protein Microarrays for Gene Expression and Antibody Screening）」、アナリティカル バイオケミストリー（Analytical Biochemistry） Vol.270(1)、アカデミックプレス（Academic Press）、１９９９年５月１５日、p.103～111
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【００１０】
　生化学反応を生じさせるために様々な溶液を内蔵し、検体が供給される生化学反応カートリッジは、二次感染や汚染の防止と、使い勝手の観点から、使い捨てにすることが好ましい。しかし、マイクロポンプを内蔵した生化学反応カートリッジは高価であるという問

題がある。したがって、ポンプを内蔵せずに外部のポンプの作用で溶液を移動し、検体注入後は溶液を外部に流出させずに一連の生化学反応を進められる構造の、使い捨ての生化学反応カートリッジが一般に利用されている。

【００１１】

個々のＤＮＡチップは、ハイブリダイゼーションという単独の生化学反応のみを行うためのものである。しかし、ＤＮＡチップを内蔵する生化学反応カートリッジは、各種の生化学反応を連続的に行い、最後に検出工程を行う場合がある。この検出工程は、例えばＣＭＯＳセンサやＣＣＤセンサを含む蛍光検出部を用いて、標識物質が発する蛍光を検出している。しかし、これらの蛍光検出部は、検出して分析可能な蛍光の輝度のダイナミックレンジが狭く、場合によっては輝度の検出が正確にできないことがある。

【００１２】

そこで本発明の目的は、検出して分析可能な蛍光の輝度のダイナミックレンジを広げることにより、使用可能な対象物の範囲を広げることができる蛍光検出装置および生化学反応分析装置と蛍光検出方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【００１３】

本発明の蛍光検出装置は、対象物から発せられる蛍光を検出する蛍光検出部を含み、蛍光検出部による対象物に対する蛍光検出の際に、対象物の情報に基づいて検出条件が設定されるものである。

【００１４】

本発明の、対象物から発せられる蛍光を検出する蛍光検出方法において、蛍光検出は対象物の検出領域の全域に対して行い、検出領域を分割した複数のエリアのそれぞれの検出データの集合を求めるものである。そして、対象物に対して、少なくとも１つの検出条件を変えて２回の蛍光検出を行い、検出領域内の全エリアの中に、２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在するか否かを調べる。その２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在する場合には、当該２回の蛍光検出時の検出データの集合に基づいて各エリアの蛍光特性値を決定する。その２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在しない場合には、検出領域内の全エリアの中のいずれかのドットにおいて許容範囲内に入っている２つの検出データが得られるまで、検出条件をその都度変えて蛍光検出を繰り返す。そして、当該２つの検出データが得られた際のそれぞれの蛍光検出時の検出データの集合に基づいて各エリアの蛍光特性値を決定する。

【発明の効果】

【００１５】

本発明によると、少なくとも１つの検出条件を変えながら複数回の蛍光検出を行って、それらの検出データに基づいて蛍光特性値を決定することができる。例えば、複数回の蛍光検出の結果、少なくとも１つのドットにおいて許容範囲内に入っている２つの検出データが得られれば、その２つの検出データに基づいて蛍光変化率を求めることができる。そして、その蛍光変化率に基づいて、他の位置の検出データを補正することによって、蛍光特性値を求めることができる。その結果、対象物の検出領域の各エリアの蛍光特性値を求める信頼性が高くなる。

【００１６】

なお、本発明の蛍光検出装置では、対象物の情報に基づいて検出条件が設定可能なので、予め予測される許容範囲に合わせて適切な検出条件が設定できるならば、１回の蛍光検出で蛍光特性値を求めることも可能である。

【発明を実施するための最良の形態】

【００１７】

以下、本発明の実施の形態について図面を参照して説明する。

【００１８】

［第１の実施形態］

図１には、本発明の一実施形態における生化学反応分析装置が概略的に示されている。この生化学反応分析装置の処理装置は、本実施形態において反応場となるチャンバを含む生化学反応カートリッジ１（図７参照）が載置されるテーブル１３を有している。テーブル１３上には、電磁石１４と、ペルチェ素子１５，１６と、第１の通信部２６が配置され、これらは、処理装置全体を制御する制御部１７に接続されている。電磁石１４は、生化学反応カートリッジ１内に電磁力を作用させるものである。ペルチェ素子１５，１６は、生化学反応カートリッジ１の温度を制御するものである。具体的には、ペルチェ素子１５は、後述するＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）によるＤＮＡ増幅時に温度制御するためのものである。一方、ペルチェ素子１６は、後述する、増幅した検体のＤＮＡとＤＮＡプローブ３７とのハイブリダイゼーション時に温度制御するとともに、ハイブリダイゼーションしなかった検体ＤＮＡの洗浄時に温度制御するためのものである。第１の通信部２６は、処理装置のデータを、後述する生化学反応カートリッジ１内のＩＣチップ２５（図７参照）に記憶させるために、ＩＣチップ２５に対して電力の送信や信号の送受信を行うものである。

【００１９】

テーブル１３の両側には、電動シリンジポンプ１８，１９と、これらのポンプ１８，１９によって空気を排出または吸引するための出入口であり、それぞれ１０個ずつのポンプノズル２０，２１を有するポンプブロック２２，２３とが配置されている。電動シリンジポンプ１８，１９とポンプノズル２０，２１の間には、図示しない複数の電動切換バルブが配置されている。図示しない電動切換バルブとポンプ１８，１９は制御部１７に接続されている。

【００２０】

制御部１７は検査者が入力を行う入力部２４に接続されている。この制御部１７は、ポンプノズル２０，２１を１個ずつ独立して開閉して電動シリンジポンプ１８，１９に対する接続および遮断を制御する。制御部１７は、全てのポンプノズル２０，２１を同時に開閉するなどの制御を行うことができる。また、制御部１７は、電磁石１４およびペルチェ素子１５，１６を適宜に作動させることによって、生化学反応カートリッジ１内での生化学反応を実行させる。

【００２１】

テーブル１３およびポンプブロック２２，２３の外部に、検出部２８が設けられている。この検出部２８は、生化学反応カートリッジ１のＤＮＡチップ１２のハイブリダイゼーション状態を検知するため、すなわち蛍光物質を検出するために設けられている。このＤＮＡチップ１２が蛍光検出の対象物である。

【００２２】

検出部２８には、ステージ２９と、蛍光検出ユニット３０と、第２の通信部３１が設けられており、これらも制御部１７に接続されている。ここでは、蛍光検出ユニット３０と、制御部１７の少なくとも一部の機能部分（蛍光検出に関する機能部分）とを総称して、「蛍光検出装置」と言う。なお、本実施形態では、制御部１７は蛍光検出以外の様々な動作の制御も行うものである。

【００２３】

ステージ２９は、生化学反応カートリッジ１を保持するものである。蛍光検出ユニット３０の詳細な構成については後述するが、主に光学機器で構成され、蛍光体を励起させて発生させた蛍光の強度を検出データとして測定可能なものである。また、蛍光検出ユニット３０は、励起光の強度を適宜に調整することもできる。第２の通信部３１は、生化学反応カートリッジ１内のＩＣチップ２５に対して、電力の送信や信号の送受信を行うものである。

【００２４】

さらに、制御部１７の指令によって生化学反応カートリッジ１をテーブル１３上から検出部２８へ搬送するカートリッジ搬送部２７が設けられ、制御部１７に接続されている。

【００２５】

次に、蛍光検出ユニット３０の構成について、図２を参照して説明する。蛍光検出ユニット３０は、主に、レーザ光発生器（励起光発生部）３８と、エクスパンダ３２と、ビームホモジナイザ３３と、蛍光フィルタ３４と、レンズ群３５と、蛍光検出部３６とを有している。

【００２６】

レーザ光発生器３８は、レーザ光（励起光）を照射して、生化学反応カートリッジ１のＤＮＡチップ１２に位置する検体中の蛍光物質を励起して蛍光を発生させるためのレーザ光源である。エクスパンダ３２は、レーザ光発生器３８からのレーザ光をＤＮＡチップ１２の測定領域の範囲に広げるものである。ビームホモジナイザ３３は、エクスパンダ３２によって広げられたレーザ光の強度を、全域にわたって一様にするものである。蛍光フィルタ３４は、ＤＮＡチップ１２からの蛍光を透過させるが、レーザ光のＤＮＡチップ１２による反射光を遮断するものである。レンズ群３５は、ＤＮＡチップ１２からの蛍光を蛍光検出部３６に集光させる。蛍光検出部３６は、レンズ群３５により集光された光が入射され、その入射光を検出するものである。

【００２７】

蛍光検出部３６は、図示しないが、蛍光検出の対象物であるＤＮＡチップ１２の検出領域に対応する検出部を有するＣＭＯＳエリアセンサを含み、その検出部が２次元的に分割された各エリアごとに、入射された蛍光を光電変換して電荷として蓄積する。さらにＣＭＯＳエリアセンサは、電荷を電圧に変換する際の光電変換増幅率を、制御部１７からの指示に従って変更することができる。すなわち、蛍光検出部３６のＣＭＯＳエリアセンサは、蛍光検出の１つの検出条件である光電変換増幅率を、対象物の情報に基づいて設定および変更することができる条件設定機能を有している。ここで言う対象物の情報とは、例えば、ＩＣチップに記憶されている情報、または、前回のスキャン（蛍光検出）時に求められた情報である。なお、ＣＭＯＳセンサの代わりにＣＣＤセンサを用いることもできる。

【００２８】

蛍光検出部３６は、図示しないが、ＡＤ変換部とメモリとをさらに有している。そして、蛍光検出に伴う電荷の蓄積終了時に、ＣＭＯＳエリアセンサの各エリアの個々の電荷の増幅後の電圧値を、アナログ－デジタル変換した上で、蛍光輝度を表すデジタル値としてメモリに記憶する。このデジタル値（検出データ）は制御部１７に転送され、２回目以降の蛍光検出における蛍光検出値とともに、制御部１７による結果の算出に利用される。なお、ここで言う「検出データ」とは測定した数値そのものである。一方、後述する「蛍光特性値」とは、測定した検出データに基づき、その一部を加工するなどして、対象物の特性を表す指標として最終的に決定した数値を意味する。ここでは、「検出データ」も「蛍光特性値」も蛍光の輝度値で表される。

【００２９】

次に、この蛍光検出ユニット３０の動作について詳細に説明する。

【００３０】

後述するが、本実施形態では、前段階の処理工程において、例えばＤＮＡのハイブリダイゼーション反応などの生化学反応を生化学反応カートリッジ１内で行わせる。そして、本実施形態では、このような生化学反応の処理が行われた生化学反応カートリッジ１が、検査部２８に搬送されて蛍光検出ユニット３０により蛍光検出される。

【００３１】

蛍光検出工程に先立って、生化学反応カートリッジ１のＩＣチップ２５から制御部１７に情報が送られ、この生化学反応カートリッジ１の用途に基づいて予想される輝度の許容範囲が設定される。後述する蛍光検出工程において求められた検出データは、この許容範囲と適宜比較される。

【００３２】

図３に示すフローチャートを参照して、蛍光検出工程についてより詳しく説明する。まず、ステップＳ１０１において、蛍光検出部３６のＣＭＯＳエリアセンサの光電変換増幅率を高く設定する。そして、ステップＳ１０２において、レーザ光発生器３８を作動させ

る。これにより、励起光であるレーザ光が、生化学反応カートリッジ１のＤＮＡチップ１２に照射される。すると、前段階の処理工程にて生化学反応カートリッジ１内でハイブリダイゼーション反応が起こることによりＤＮＡチップ１２内に捕捉された蛍光標識が、レーザ光に励起されて蛍光を発する。蛍光標識が発した蛍光は、蛍光フィルタ３４とレンズ群３５を通過して、蛍光検出部３６のＣＭＯＳエリアセンサに到達する。そして、ＣＭＯＳエリアセンサによって蛍光が光電変換されて電荷として蓄積される。この電荷の蓄積は、レーザ光発生器３８が所定時間だけ作動させられた後に停止するまで継続する。こうしてＣＭＯＳエリアセンサの個々のエリアに蓄積された電荷はそれぞれ、ステップＳ１０１において高く設定された光電変換増幅率で増幅されたアナログ電圧値となる。さらに、ステップＳ１０３において、これらのアナログ電圧値はそれぞれ、ＡＤ変換部においてデジタル値に変換されてメモリに記憶される。便宜上、このデジタル値を「検出データ（輝度データ）」という。

【００３３】

ステップＳ１０４において、蛍光検出部３６のメモリに記憶された各エリア（対象物であるＤＮＡチップ１２を分割した複数のエリアの各々）の検出データ（デジタル値）の集合が、制御部１７に転送される。制御部１７は、画像処理によりＤＮＡチップ１２の検出領域のどこに蛍光を発するドットが存在するかを導き出す。そして、そのドットの中心付近のエリアの検出データの平均を算出し、それをそのエリアの検出データとする。全エリアについてこのようにしてそれぞれ決定された検出データの集合を、１回目の検出データの集合としてメモリに記憶する。

【００３４】

次に、ステップＳ１０５において、蛍光検出部３６のＣＭＯＳエリアセンサの光電変換増幅率を低く設定し直す。これが検出条件の変更である。そして、ステップＳ１０２～１０４と同様に、ステップＳ１０６において、レーザ光発生器３８を作動させ、レーザ光を生化学反応カートリッジ１のＤＮＡチップ１２に照射する。ＤＮＡチップ１２内に捕捉された蛍光標識がレーザ光を受けて蛍光を発し、この蛍光が蛍光フィルタ３４とレンズ群３５を介してＣＭＯＳエリアセンサにより受光される。所定時間だけレーザ光発生器３８が作動させられた後に停止させられ、その間にＣＭＯＳエリアセンサの各エリアに蓄積された電荷は、ステップＳ１０７において、低く設定された光電変換増幅率で増幅される。そして、アナログ電圧値からデジタル値（検出データ）に変換されメモリに記憶される。さらに、ステップＳ１０８において、メモリに記憶された各エリアのデジタル値（検出データ）の集合が制御部１７に転送される。そして、ＤＮＡチップ１２の検出領域内の蛍光を発するドットが求められ、そのドットの中心付近のエリアの検出データの平均を算出し、それをそのエリアの検出データとする。全エリアについてこのようにしてそれぞれ決定された検出データの集合を、２回目の検出データの集合としてメモリに記憶する。

【００３５】

このようにして記憶された１回目の検出データの集合と２回目の検出データの集合を、ステップＳ１０９において、制御部１７が、予め記憶されている許容範囲と比較する。すなわち、個々の検出データが、生化学反応分析用のデータとして使用できる許容範囲の下限値より大きく上限値より小さいか否かを判定する。１回目の検出データの集合と２回目の検出データの集合とを対比して、ＤＮＡチップ１２の検出領域内に、１回目と２回目の両方の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドット（例えば図４のドットＢ）が存在するか否かを確認する。そのようなドットが存在する場合には、レーザ光の照射はそれ以上繰り返さず、これらの２回の検出データ（輝度データ）の集合に基づいてＤＮＡチップ１２の蛍光特性値（輝度値）を以下の通り決定する。

【００３６】

ステップＳ１０９において、２回の蛍光検出の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドット（ドットＢ）が存在すると確認された場合には、ステップＳ１１０において、制御部１７が蛍光変化率（蛍光褪色率）Ｔを算出する。

$$T = \{B_2 \times (R_1 \div R_2)\} \div B_1$$

ここで、ドットＢの１回目の検出データがB_1、２回目の検出データがB_2、１回目の蛍光検出時の光電変換増幅率がR_1、２回目の蛍光検出時の光電変換増幅率がR_2である。

【００３７】

続いて、ステップＳ１１１において、制御部１７が各ドットの輝度値（蛍光特性値）を決定する。１回目の検出データが、許容範囲内であったドット（例えばドットＡおよびドットＢ）に関しては、１回目の検出データをそのままドットの輝度値として決定する。一方、１回目の蛍光検出時の検出データが許容範囲の上限値より大きく２回目の蛍光検出時の検出データが許容範囲の上限値以下であったドット（例えばドットＣ）に関しては、次の計算式で輝度値Ｋを決定する。

$$K = \{ (C_2 \times (R_1 \div R_2) \} \div T$$

C_2は、ドットＣにおける２回目の蛍光検出時の検出データである。

【００３８】

このように、１回目の検出データが許容範囲外であったドットＣの輝度値は、２回目の検出データを、ドットＢの２つの検出データに基づいて算出された蛍光褪色率を用いて補正することによって決定される。

【００３９】

なお、前記した条件に当てはまらないドット、例えば、２回の蛍光検出時の輝度データがいずれも許容範囲外であったドットが存在する場合には、それは輝度値不明のドットとみなす。

【００４０】

このようにしてＤＮＡチップ１２の各ドットの蛍光特性値（輝度値）をそれぞれ決定する。こうして決定された各エリアの蛍光特性値が、後述する生化学反応分析時に用いられる。

【００４１】

ところで、ステップＳ１０９において、２回の蛍光検出の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在しないと確認された場合（図５参照）には、検出条件を変えて、レーザ光の照射および蛍光の受光を繰り返す。すなわち、ステップＳ１０５において蛍光検出部３６のＣＭＯＳエリアセンサの光電変換増幅率を変更する。なお、光電変換増幅率をさらに低くしてもよいが、高くしてもよい。これは、２回の蛍光検出時の検出データが概ね許容範囲の上限値よりも高かったか、あるいは下限値よりも低かったかに基づいて決めればよい。

【００４２】

その後、前記したのと同様に、ステップＳ１０６において、レーザ光発生器３８を作動させ、ＤＮＡチップ１２内に捕捉された蛍光標識からの蛍光をＣＭＯＳエリアセンサにより受光する。その際のＣＭＯＳエリアセンサの各エリアに蓄積された電荷を、ステップＳ１０７において、新たな光電変換増幅率で増幅し、デジタル値（検出データ）に変換してメモリに記憶する。さらに、ステップＳ１０８において、全エリアの検出データの集合を求め、３回目の検出データの集合としてメモリに記憶する。

【００４３】

それから、ステップＳ１０９において、１～３回目の検出データの集合を、制御部１７に記憶されている許容範囲と比較し、１～３回目の検出データのうち２つの検出データが許容範囲内に入っているドットが存在するか否かを確認する。そのようなドットが存在する場合には、レーザ光の照射はそれ以上繰り返さず、それらの２回の検出データの集合に基づいてＤＮＡチップ１２の各エリアの蛍光特性値（輝度値）を決定する。例えば、図６に示す例では、ドットＢとドットＣにおいて２回目の検出データと３回目の検出データがいずれも許容範囲内に入っている。従って、２回目の検出データの集合と３回目の検出データの集合に基づいて、蛍光変化率（蛍光褪色率）を求め、全エリアの輝度値（蛍光特性値）をそれぞれ決定する。これらのステップＳ１１０～Ｓ１１１は前記したのと実質的に同じであるから、説明は省略する。

【００４４】

ステップＳ１０９において、１～３回目の検出データのうち２つの検出データが許容範囲内に入っているドットが存在していない場合には、検出条件（光電変換増幅率）を順次変えながら、ステップＳ１０５～Ｓ１０９を繰り返す。このステップＳ１０５～Ｓ１０９は、検出領域内の少なくとも１つのドットにおいて許容範囲内に入っている２つの検出データが得られるまで繰り返す。少なくとも１つのドットにおいて許容範囲内に入っている２つの検出データが得られたら、ステップＳ１１０～Ｓ１１１によって、その２つの検出データから蛍光変化率を求め、全エリアの蛍光特性値を決定する。なお、ステップＳ１０５～Ｓ１１１は、複数回繰り返される場合であっても、何回目の蛍光検出の検出データを取り扱うかという点のみが異なり、実質的には同じである。

【００４５】

次に、前記した蛍光検出工程の前段階の処理の反応場となる生化学反応カートリッジ１について詳細に説明する。

【００４６】

生化学反応カートリッジ１の本体（筐体）は、透明または半透明の合成樹脂から構成されている。図７に示すように、生化学反応カートリッジ１の上部の検体入口がゴムキャップ２により封止されている。生化学反応カートリッジ１の側面には複数のノズル入口３ａ～３ｊが設けられ、ゴムキャップ３により封止されている。カートリッジ１の両側面とも同様の構成になっている。

【００４７】

生化学反応カートリッジ１には、不揮発性の記憶部と通信部を有するＩＣチップ２５が設けられている。ＩＣチップ２５の記憶部には、生化学反応カートリッジ１を識別するための識別情報（ＩＤ）、生化学反応カートリッジ１の種別、処理工程の手順、生化学反応の結果を分析するための情報などが書き込まれている。

【００４８】

図８は生化学反応カートリッジ１の平面断面図を示している。前記したように片側の側面には１０個のノズル入口３ａ～３ｊが設けられ、反対側の側面にも１０個のノズル入口３ｋ～３ｔが設けられている。ノズル入口３ａ～３ｊは流路４ａ～４ｊを介してチャンバ５ａ～５ｊに連通している。反対側のノズル入口３ｋ，３ｌ，３ｍ，３ｏ，３ｒ，３ｔは、それぞれ流路４ｋ，４ｌ，４ｍ，４ｏ，４ｒ，４ｔを介してチャンバ５ｋ，５ｌ，５ｍ，５ｏ，５ｒ，５ｔに連通している。ノズル入口３ｎ，３ｐ，３ｑ，３ｓはチャンバに連通しておらず予備になっており、使用されない。

【００４９】

検体入口はチャンバ７に連通し、チャンバ７は流路６ａ，６ｂ，６ｃ，６ｋを介してチャンバ５ａ，５ｂ，５ｃ，５ｋに連通するとともに、流路１０を介してチャンバ８に連通している。チャンバ８は流路６ｇ，６ｏを介してチャンバ５ｇ，５ｏに連通するとともに、流路１１を介してチャンバ９に連通している。チャンバ９は流路６ｈ，６ｉ，６ｊ，６ｒ，６ｔを介してチャンバ５ｈ，５ｉ，５ｊ，５ｒ，５ｔに連通している。流路１０は流路６ｄ，６ｅ，６ｆ，６ｌ，６ｍを介してチャンバ５ｄ，５ｅ，５ｆ，５ｌ，５ｍに連通している。

【００５０】

チャンバ９の底面に設けられた角孔に、ＤＮＡチップ１２が、プローブ面を上にして貼り付けられている。ＤＮＡチップ１２は、１平方インチ（約６４５ｍｍ^2）程度の大きさのガラス板の固相表面に、数十～数十万種類の異なるＤＮＡプローブ３７が高密度に並べられたものである。本実施形態では、このＤＮＡチップ１２を用いて、検体中のＤＮＡとハイブリダイゼーション反応を行わせることによって、一度に数多くの遺伝子を検査できる。これらのＤＮＡプローブ３７はマトリックス状に規則正しく並べられており、それぞれのＤＮＡプローブ３７のアドレス（何行・何列と示される位置）を、情報として容易に取り出すことができる。なお、検査の対象となる遺伝子としては、感染症ウィルス、細菌、疾患関連遺伝子、各個人の遺伝子多型等がある。

【００５１】

ここで、本実施形態において検体の処理を行うための、各チャンバ５ａ～５ｔのセッティングの一例を示す。チャンバ５ａには、細胞壁を破壊するＥＤＴＡ（エチレンジアミン四酢酸）を含む第１の溶血剤が、チャンバ５ｂには、界面活性剤等のタンパク質変性剤を含む第２の溶血剤がそれぞれ収容されている。チャンバ５ｃには、ＤＮＡが吸着するシリカコーティングされた磁性体粒子が収容されている。チャンバ５ｌ、チャンバ５ｍには、ＤＮＡの抽出の際にＤＮＡの精製を行うために用いられる第１、第２の抽出洗浄剤がそれぞれ収容されている。

【００５２】

チャンバ５ｄには、ＤＮＡを磁性体粒子から溶出する低濃度塩のバッファからなる溶出液が収容されている。チャンバ５ｇには、ＰＣＲに必要な薬剤、すなわち、プライマ、ポリメラーゼ、ｄＮＴＰ溶液、バッファ、蛍光剤を含むＣｙ３－ｄＵＴＰ（アマシャム　バイオサイエンス株式会社製の蛍光標識）等の混合液が収容されている。チャンバ５ｈ，５ｊには、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光物質（蛍光標識）付きの検体ＤＮＡと蛍光物質（蛍光標識）とを洗浄するための界面活性剤を含む洗浄剤が収容されている。チャンバ５ｉには、ＤＮＡチップ１２を含むチャンバ９内を乾燥させるためのアルコールが収容されている。

【００５３】

なお、チャンバ５ｅは血液のＤＮＡ以外の塵埃を溜めるためのチャンバである。チャンバ５ｆは、チャンバ５ｌ，５ｍからの第１、第２の抽出洗浄剤の廃液を溜めるためのチャンバである。チャンバ５ｒは第１、第２の洗浄剤の廃液を溜めるためのチャンバである。チャンバ５ｋ，５ｏ，５ｔは、溶液がノズル入口に流れ込まないようにするために設けられたブランクのチャンバである。

【００５４】

本実施形態では、この生化学反応カートリッジ１に血液等の液体状の検体を注入して、前記した処理装置（図１参照）にセットする。そして、生化学反応カートリッジ１の内部で、ＤＮＡ等の抽出および増幅を行わせ、増幅された検体ＤＮＡと生化学反応カートリッジ１の内部にあるＤＮＡチップ１２のＤＮＡプローブ３７との間で、ハイブリダイゼーションを行わせる。一方、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光物質（蛍光標識）付きの検体ＤＮＡと蛍光物質（蛍光標識）の洗浄を行うことができる。

【００５５】

このような処理装置および生化学反応カートリッジ１を用いて、本実施形態において検体の生化学反応を生化学反応カートリッジ１内にて生じさせる方法について具体的に説明する。

【００５６】

まず、検査者が、図示しない注射器等を用いて、血液を検体入口からチャンバ７に注入する。その後に、検査者は生化学反応カートリッジ１をテーブル１３上に置く。そして、ポンプブロック２２，２３を図１の矢印の方向に移動させると、ポンプノズル２０，２１が、生化学反応カートリッジ１の両側部のノズル入口３ａ～３ｔに、ゴムキャップ３を貫通して挿入される。

【００５７】

検査者が、入力部２４から実験開始の命令を入力すると処理が始まる。図９は生化学反応およびその後処理の手順を説明するフローチャートである。

【００５８】

まず、ステップＳ１で、制御部１７が、ポンプノズル２０，２１を制御してノズル入口３ａ，３ｋのみを開にし、電動シリンジポンプ１８から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１９から空気を吸引する。それによって、チャンバ５ａ内の第１の溶血剤を、血液の入ったチャンバ７に流し込む。この様子が、チャンバ５ａ，７，５ｋを通る断面図である図１０に示されている。

【００５９】

本実施形態では、空気の供給および吸引のタイミングをずらすことによって各チャンバ

への加圧および減圧を制御して、カートリッジ１内を、溶液を円滑に流すことができる。また、ノズル入口３ａ，３ｏのみを開にして、電動シリンジポンプ１８，１９によって空気の噴出および吸引を交互に繰り返して、チャンバ７の溶液を流路１０に流し、その後に戻す動作を繰り返して攪拌を行う。あるいは、電動シリンジポンプ１９から空気を連続して噴出することによって、気泡を発生させながら攪拌を行う。

【００６０】

次に、ステップＳ２において、ノズル入口３ｂ，３ｋのみを開にして、ステップＳ１と同様の原理でチャンバ５ｂ内の第２の溶血剤をチャンバ７に流し込む。そして、ステップＳ１と同様の攪拌を行う。

【００６１】

さらに、ステップＳ３において、ノズル入口３ｃ，３ｋのみを開にして、ステップＳ１，Ｓ２と同様の原理でチャンバ５ｃ内の磁性体粒子をチャンバ７に流し込む。そして、ステップＳ１と同様の攪拌を行う。このステップＳ３によって、ステップＳ１，Ｓ２において細胞が溶解して得られたＤＮＡが磁性体粒子に付着する。

【００６２】

そして、ステップＳ４で電磁石１４をオンにし、ノズル入口３ｅ，３ｋのみを開にし、電動シリンジポンプ１９から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１８から空気を吸引して、チャンバ７内の溶液をチャンバ５ｅに移動させる。この移動の際に、磁性体粒子およびＤＮＡを、流路１０の電磁石１４の上方位置で捕捉する。

【００６３】

このように、ステップＳ１～Ｓ４にて、幅１～２ｍｍ程度で高さ０．２～１ｍｍ程度の小さい流路１０上で、流動状態のＤＮＡを、磁性体粒子を利用して極めて効率良く捕捉する。なお、仮に、捕捉ターゲット物質がＤＮＡではなく、ＲＮＡまたはタンパク質の場合にも同様に効率の良い捕捉が行える。

【００６４】

次に、ステップＳ５において電磁石１４をオフにし、ノズル入口３ｆ，３ｌのみを開とする。そして、電動シリンジポンプ１９から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１８から空気を吸引して、チャンバ５ｌ内の第１の抽出洗浄液をチャンバ５ｆに移動させる。この際に、ステップＳ４で捕捉された磁性体粒子およびＤＮＡが、抽出洗浄液と共に移動して洗浄が行われる。さらに、電磁石１４をオンにして、ステップＳ４と同様の原理で磁性体粒子およびＤＮＡと抽出洗浄液とをチャンバ５ｌ内とチャンバ５ｆの間を２回往復させる。それによって、洗浄された磁性体粒子およびＤＮＡを流路１０の電磁石１４の上方位置に回収し、第１の抽出洗浄液をチャンバ５ｌに戻す。

【００６５】

ステップＳ６において、ノズル入口３ｆ，３ｍのみを開いてステップＳ５と同様の工程を行う。すなわち、チャンバ５ｍ内の第２の抽出洗浄液と、磁性体粒子およびＤＮＡとを移動させて、磁性体粒子およびＤＮＡをさらに洗浄してから電磁石１４の上方位置に回収し、第２の抽出洗浄液をチャンバ５ｍに戻す。

【００６６】

続いて、ステップＳ７において電磁石１４をオンにしたまま、ノズル入口３ｄ，３ｏのみを開にし、電動シリンジポンプ１８から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１９から空気を吸引する。それによって、チャンバ５ｄ内の溶出液をチャンバ８に移動させる。この溶出液の作用によって、磁性体粒子とＤＮＡが分離し、ＤＮＡのみが溶出液とともにチャンバ８に移動し、磁性体粒子は流路１０内に残る。

【００６７】

このステップＳ７において、ＤＮＡの抽出および精製が行われる。本実施形態では、抽出洗浄液を収容するチャンバ５ｌ，５ｍと、洗浄後の廃液を溜めるためのチャンバ５ｆが用意されているので、カートリッジ１内でＤＮＡの抽出および精製を行うことが可能である。

【００６８】

次に、ステップＳ８において、ノズル入口３ｇ，３ｏのみを開にし、電動シリンジポンプ１８から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１９から空気を吸引する。それによって、チャンバ５ｇ内の前記したＰＣＲ用薬剤をチャンバ８に流し込む。さらに、ノズル入口３ｇ，３ｔのみを開にし、電動シリンジポンプ１８，１９による空気の噴出および吸引を交互に繰り返し、チャンバ８の溶液の攪拌を行う。そして、ペルチェ素子１５を制御して、チャンバ８内の溶液を９６℃の温度に１０分保持した後に、９６℃・１０秒、５５℃・１０秒、７２℃・１分のサイクルを３０回繰り返してＰＣＲを行い、溶出されたＤＮＡを増幅する。

【００６９】

ステップＳ９でノズル入口３ｇ，３ｔのみを開にし、電動シリンジポンプ１８から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１９から空気を吸引して、チャンバ８内の溶液をチャンバ９に移動させる。さらに、ペルチェ素子１６を制御して、チャンバ９内の溶液を４５℃で２時間保持し、ハイブリダイゼーションを行わせる。この時、電動シリンジポンプ１８，１９による空気の噴出および吸引を交互に繰り返して、チャンバ９内の溶液の攪拌を行いながら、ハイブリダイゼーションを進める。このように、本実施形態では、チャンバ９がハイブリダイゼーションの反応場になっている。

【００７０】

次にステップＳ１０において、同じく４５℃に保持したまま、今度はノズル入口３ｈ、３ｒのみを開にし、電動シリンジポンプ１８から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１９から空気を吸引する。それによって、チャンバ９内の溶液をチャンバ５ｒに移動させるとともに、チャンバ５ｈ内の第１の洗浄液を、チャンバ９を通してチャンバ５ｒに流し込む。このように、ノズル入口３ｈにポンプノズル２０を挿入し空気を噴出して加圧し、ノズル入口３ｒにポンプノズル２１を挿入し空気を吸引して減圧することによって、チャンバ５ｈ内の第１の洗浄液が、チャンバ９を通してチャンバ５ｒ内に流れ込む。この様子が、チャンバ５ｈ，９，５ｒを通る断面図である図１１に示されている。電動シリンジポンプ１８，１９の吸引および噴出を交互に繰り返して、この溶液をチャンバ５ｈ，９，５ｒの間を２回往復させ、最後にチャンバ５ｈに戻す。このようにして、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光標識付きの検体ＤＮＡと蛍光標識とが洗浄される。

【００７１】

さらに、ステップＳ１１において、同じく４５℃に保持したまま、ノズル入口３ｊ、３ｒのみを開いて、ステップＳ１０と同様の工程を行う。すなわち、チャンバ５ｊ内の第２の洗浄液をチャンバ９を通してチャンバ５ｒに流し込んでＤＮＡの洗浄をさらに行い、最後に溶液をチャンバ５ｊに戻す。

【００７２】

本実施形態では、第１、第２の洗浄液を収容するチャンバ５ｈ，５ｊと、洗浄後の廃液を溜めるためのチャンバ５ｒが用意されているので、前記の通り生化学反応カートリッジ１内でＤＮＡチップ１２の洗浄を行うことが可能である。

【００７３】

ステップＳ１２で、ノズル入口３ｉ，３ｒのみを開にし、電動シリンジポンプ１８から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１９から空気を吸引して、チャンバ５ｉ内のアルコールを、チャンバ９を通してチャンバ５ｒに移動させる。その後に、ノズル入口３ｉ，３ｔのみを開にし、電動シリンジポンプ１８から空気を噴出し、電動シリンジポンプ１９から空気を吸引してチャンバ９内を乾燥させる。

【００７４】

以上述べたステップＳ１～Ｓ１２によって、検体の生化学反応（例えばＤＮＡのハイブリダイゼーション）を生化学反応カートリッジ１内で行わせることができる。

【００７５】

詳述しないが、前記した各ステップＳ１～Ｓ１２が完了する度に、第１の通信部２６からＩＣチップ２５の通信部（図示せず）に向けて、その都度、信号を送信している。この信号は、各ステップの完了と、その工程の各種条件と、終了時刻とを表すものであり、Ｉ

Ｃチップ２５の記憶部（図示せず）に記憶される。

【００７６】

以上説明した処理工程（ステップＳ１～Ｓ１２）の後に、ステップＳ１３において、ポンプブロック２２，２３を生化学反応カートリッジ１から離れる方向に移動させる。それによって、ポンプノズル２０，２１が生化学反応カートリッジ１のノズル入口３ａ～３ｔから外れる。そして、ステップＳ１４において、カートリッジ搬送部２７（図１参照）を用いて、生化学反応カートリッジ１をテーブル１３から検出部２８に搬送する。ステップＳ１５において、ＤＮＡチップ１２に捕捉された、ハイブリダイゼーションされたＤＮＡを蛍光検出ユニット３０によって検出する。検出結果は、第２の通信部３１から、ＩＣチップ２５の通信部（図示せず）に向けて送信され、ＩＣチップ２５の記憶部（図示せず）に記憶される。こうして、ステップＳ１～Ｓ１２の各工程の（時間経過を含む）推移および各種条件と、その各工程を経たＤＮＡチップ１２の検出結果とが、生化学反応カートリッジ１のＩＣチップ２５に記憶される。この蛍光検出工程（ステップＳ１５）の詳細については、前述したステップＳ１０１～Ｓ１１１（図３参照）の通りである。

【００７７】

この蛍光検出工程が終わった後、ステップＳ１６において、制御部１７が、蛍光検出したパターンを分析する。なお、生化学反応カートリッジ１が、予め処理装置に記憶されていない種別である場合には、検出パターンの分析にあたって、ＩＣチップ２５に書き込まれている分析用情報を読み込み、その分析用情報に基づいて分析を行う。

【００７８】

ここで、本実施形態における蛍光検出と分析の原理について説明する。例えば、生化学反応カートリッジ１およびＤＮＡチップ１２が感染症検出用のものである場合には、ＤＮＡプローブ３７の設定の仕方によって、いくつかの感染症が一度に検出できる。ＤＮＡプローブ３７が５×５のマトリックス状に配置されたＤＮＡチップ１２を例にとって考えると、感染症Ａ～Ｅがそれぞれ単独で検出されたときのパターンが図１２（ａ）～（ｅ）に示す５通りとなるように設定できる。なお、図１２（ａ）～（ｅ）において、黒丸は、ターゲットがＤＮＡプローブ３７とハイブリダイゼーションして捕捉されており、ターゲットに付着した蛍光物質（蛍光標識）が蛍光を発している状態を示す。一方、白丸は、ターゲットがＤＮＡプローブ３７とハイブリダイゼーションせず捕捉されずに、蛍光標識が存在しない状態を示している。

【００７９】

図１２（ａ）～（ｅ）に示す例では、同一列に含まれるＤＮＡプローブ３７は全て、同じ感染症に感染したときに存在するＤＮＡとハイブリダイゼーションするように設定されている。そして、各列毎に異なる感染症のＤＮＡに対応するように設定されている。従って、図１２（ａ）のパターンの検出結果が得られた場合には、感染症Ａへの感染が認められ、同様に、図１２（ｂ）～（ｅ）のパターンの検出結果が得られた場合には、それぞれ感染症Ｂ～Ｅへの感染が認められる。このような検出パターンに基づく感染判断方法は、制御部１７に予め記憶されている分析用情報に含まれている。

【００８０】

このように、蛍光物質が付着したＤＮＡプローブ３７の配列パターンに基づいて、目的とする検体分析を精度良く行うためには、ステップＳ１５において、蛍光検出を精度良く行うことが重要である。

【００８１】

［第２の実施形態］

次に、本発明の第２の実施形態について説明する。第１の実施形態と実質的に同一の構成および同一のステップについては、同一の符号を付与して説明を省略する。また、以下の説明では、主に第１の実施形態と相違する点についてのみ述べており、第１の実施形態と同じ内容（例えば生化学反応分析装置全体の構成や生化学カートリッジの構成や処理工程等）については説明を繰り返さない。

【００８２】

本実施形態では、図１３に示す蛍光検出ユニット４０の蛍光検出部４６のＣＭＯＳエリアセンサが、一定の光電変換増幅率で電荷を電圧に変換する。すなわち、蛍光検出時の検出条件の１つである光電変換増幅率は一定である。その代わり、他の検出条件であるレーザ光発生器４８の作動時間が変えられる。レーザ光発生器４８の作動時間は、レーザ光のＤＮＡチップ１２への照射時間であり、光電変換継続時間であると言える。

【００８３】

本実施形態では、図１４に示すように、ステップＳ２０１において、レーザ光発生器４８を作動させ、レーザ光を生化学反応カートリッジ１のＤＮＡチップ１２に照射し、励起された蛍光を蛍光検出部４６のＣＭＯＳエリアセンサにて受光する。このレーザ光の照射時間、すなわちレーザ光発生器４８の作動時間をL_1とする。ステップＳ１０３において、ＣＭＯＳエリアセンサに蓄積された電荷を増幅したアナログ電圧値をＡＤ変換したデジタル値を、「検出データ（輝度データ）」としてメモリに記憶する。さらに、ステップＳ１０４において、各エリアの検出データ（デジタル値）の集合から、蛍光を発するドットの位置を導き出す。そして、全エリアの検出データの集合を、１回目の検出データの集合としてメモリに記憶する。

【００８４】

次に、ステップＳ２０２において、レーザ光発生器４８を再び作動させ、レーザ光をＤＮＡチップ１２に照射し、蛍光を蛍光検出部４６のＣＭＯＳエリアセンサにて受光する。この時、レーザ光の照射時間、すなわちレーザ光発生器４８の作動時間を、ステップＳ２０１における作動時間L_1よりも短いL_2にする。その後、前記したのと同様に、ステップＳ１０７において検出データをメモリに記憶し、ステップＳ１０８において、各エリアの検出データの集合から、蛍光を発するドットの位置を導き出す。そして、全エリアの検出データの集合を、２回目の検出データの集合として記憶する。光電変換継続時間が変わっているため、当然、１回目の検出データと２回目の検出データは異なるものである。

【００８５】

そして、ステップＳ１０９において、１回目の検出データの集合と２回目の検出データの集合を許容範囲と比較する。ＤＮＡチップ１２の検出領域内に、１回目と２回目の両方の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドット（例えば図１５のドットＢ）が存在するか否かを確認する。

【００８６】

ステップＳ１０９において、２回の蛍光検出の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドット（ドットＢ）が存在すると確認された場合には、ステップＳ２０３において、制御部１７が蛍光変化率（蛍光褪色率）Ｔを算出する。

$T = \{B_2 \times (L_1 \div L_2)\} \div B_1$

ここで、ドットＢの１回目の検出データがB_1、２回目の検出データがB_2である。

【００８７】

続いて、ステップＳ２０４において、制御部１７が各ドットの輝度値（蛍光特性値）を決定する。１回目の蛍光検出時の検出データが、許容範囲内であったドット（例えばドットＡおよびドットＢ）に関しては、１回目の検出データをそのままドットの輝度値として決定する。一方、１回目の蛍光検出時の検出データが許容範囲の上限値より大きく２回目の蛍光検出時の検出データが許容範囲の上限値以下であったドット（例えばドットＣ）に関しては、次の計算式で輝度値Ｋを決定する。

$K = \{(C_2 \times (L_1 \div L_2)\} \div T$

C_2は、ドットＣにおける２回目の蛍光検出時の検出データである。

【００８８】

このように、１回目の蛍光検出時の検出データが許容範囲外であったドットＣの輝度値は、２回目の蛍光検出時の検出データを、ドットＢの２つの検出データに基づいて算出された蛍光褪色率を用いて補正することによって決定される。

【００８９】

なお、前記した条件に当てはまらないドット、例えば、２回の蛍光検出時の輝度データ

がいずれも許容範囲外であったドットは、輝度値不明のドットとみなす。

【００９０】

このようにしてＤＮＡチップ１２の各ドットの輝度値（蛍光特性値）をそれぞれ決定する。

【００９１】

ステップＳ１０９において、２回の蛍光検出の検出データがいずれも許容範囲内に入っているドットが存在しないと確認された場合（図１６参照）には、レーザ光発生器４８の作動時間を変えて、レーザ光の照射および蛍光の受光を繰り返す。すなわち、ステップＳ２０２において、レーザ光の照射時間、すなわちレーザ光発生器４８の作動時間を変更する。作動時間をさらに短くするか長くするかは、２回の蛍光検出時の検出データが概ね許容範囲の上限値よりも高かったか、下限値よりも低かったかに基づいて決めればよい。

【００９２】

このように、ステップＳ２０２において、変更された作動時間だけレーザ光発生器３８を作動させ、蛍光をＣＭＯＳエリアセンサにより受光し、ＣＭＯＳエリアセンサの各エリアで電荷を蓄積する。そして、前記したのと同様に、ステップＳ１０７において、電荷を増幅しデジタル値（検出データ）に変換してメモリに記憶する。さらに、ステップＳ１０８において、全エリアの検出データの集合を求め、３回目の検出データの集合として記憶する。

【００９３】

それから、ステップＳ１０９において、１～３回目の検出データの集合を、制御部１７に記憶されている許容範囲と比較し、１～３回目の検出データのうち２つの検出データが許容範囲内に入っているドットが存在するか否かを確認する。そのようなドットが存在する場合には、レーザ光の照射はそれ以上繰り返さず、それらの２回の検出データの集合に基づいてＤＮＡチップ１２の蛍光特性値（輝度値）を決定する。例えば、図１７に示す例では、ドットＢとドットＣにおいて２回目の検出データと３回目の検出データがいずれも許容範囲内に入っている。従って、２回目の検出データの集合と３回目の検出データの集合に基づいて、蛍光変化率（蛍光褪色率）を求め、全エリアの輝度値（蛍光特性値）を決定する。これらのステップＳ２０３～Ｓ２０４は前記したのと実質的に同じであるから、説明は省略する。

【００９４】

ステップＳ１０９において、１～３回目の検出データのうち２つの検出データが許容範囲内に入っているドットが存在していない場合には、検出条件（レーザ光発生器４８の作動時間）を順次変えながら、ステップＳ１０５～Ｓ１０９を繰り返す。このステップＳ１０５～Ｓ１０９は、検出領域内の少なくとも１つのドットにおいて許容範囲内に入っている２つの検出データが得られるまで繰り返す。少なくとも１つのドットにおいて許容範囲内に入っている２つの検出データが得られたら、ステップＳ２０３～Ｓ２０４によって、その２つの検出データから蛍光変化率を求め、全エリアの蛍光特性値を決定する。なお、ステップＳ２０２からＳ２０４までは、複数回繰り返される場合であっても、何回目の蛍光検出の検出データを取り扱うかという点のみが異なり、実質的には同じである。

【００９５】

［第３の実施形態］

図示しないが、本発明の第３の実施形態では、ＣＭＯＳエリアセンサの光電変換増幅率およびレーザ光発生器の作動時間は一定である。そして、レーザ光発生器から照射される励起光であるレーザ光の強度、すなわちレーザ光発生器の出力パワーを、蛍光検出の度に変更可能である。すなわち、１回目の蛍光検出時のレーザ光の強度（レーザ光発生器の出力パワー）と異なる強度のレーザ光で、２回目の蛍光検出を行う。そして、２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内であるドットの有無を調べる。第１および第２の実施形態と同様に、そのようなドットが存在した場合には、両検出データから蛍光変化率（蛍光褪色率）を求め、全エリアの輝度値（蛍光特性値）を決定する。そのようなドットが存在しない場合には、検出領域内の少なくとも１つのドットにおいて許容範囲内に入っ

ている２つの検出データが得られるまで、レーザ光の強度をその都度変えながら蛍光検出を繰り返す。その他の具体的な構成およびステップは、第１および第２の実施形態と同様であるため説明を省略する。

【００９６】

［第４の実施形態］

図示しないが、本発明の第４の実施形態では、ＣＭＯＳエリアセンサの光電変換増幅率、レーザ光発生器の作動時間、レーザ光の強度（レーザ光発生器の出力パワー）は一定である。そして、蛍光フィルタによる蛍光透過率を、蛍光検出の度に変更可能である。例えば、蛍光透過率が異なる複数の蛍光フィルタを、ＤＮＡチップ１２からの蛍光の光路内に選択的に挿入可能な構成にしておき、１回目の蛍光検出時と２回目の蛍光検出時で異なる蛍光フィルタを用いる。それによって、１回目の蛍光検出時の蛍光透過率と異なる蛍光透過率で、２回目の蛍光検出を行う。そして、２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内であるドットの有無を調べる。第１および第２の実施形態と同様に、そのようなドットが存在した場合には、両検出データから蛍光変化率（蛍光褪色率）を求め、全エリアの輝度値（蛍光特性値）を決定する。そのようなドットが存在しない場合には、検出領域内の少なくとも１つのドットにおいて許容範囲内に入っている２つの検出データが得られるまで、蛍光透過率をその都度変えながら蛍光検出を繰り返す。その他の具体的な構成およびステップは、第１～３の実施形態と同様であるため説明を省略する。

【００９７】

［第５の実施形態］

図示しないが、本発明の第５の実施形態では、ＣＭＯＳエリアセンサの光電変換増幅率、レーザ光発生器の作動時間、レーザ光の強度（レーザ光発生器の出力パワー）、蛍光フィルタの蛍光透過率は一定である。そして、ＣＭＯＳエリアセンサの光電変換増幅における零レベルのオフセットを、蛍光検出の度に変更可能である。すなわち、ＣＭＯＳエリアセンサの光電変換時の増幅率自体は一定であるが、その増幅の基準となる零レベルが変えられることにより、検出データに違いが生じる。そこで、１回目の蛍光検出時の光電変換増幅の零レベルと異なる零レベルにて、２回目の蛍光検出を行う。そして、２回の蛍光検出時の検出データがいずれも許容範囲内であるドットの有無を調べる。第１および第２の実施形態と同様に、そのようなドットが存在した場合には、両検出データから蛍光変化率（蛍光褪色率）を求め、全エリアの輝度値（蛍光特性値）を決定する。そのようなドットが存在しない場合には、検出領域内の少なくとも１つのドットにおいて許容範囲内に入っている２つの検出データが得られるまで、光電変換増幅における零レベルをその都度変えながら蛍光検出を繰り返す。その他の具体的な構成およびステップは、第１～４の実施形態と同様であるため説明を省略する。

【００９８】

以上説明した通り、本発明によると、蛍光検出とそれを利用した生化学反応分析が、信頼性高く行えるようになる。

【００９９】

従来は、蛍光検出時の検出データが、蛍光検出およびそれに付随する分析を行える許容範囲を外れていた場合には、蛍光検出およびそれに付随する分析が行えない場合があった。１回の蛍光検出で対象物の検出領域内の全エリアにおいて許容範囲内の検出データが得られるように検出条件を設定することは至難の業であった。特に、１つの対象物中に高輝度の部分と低輝度の部分が混在している場合には、対象物の全域に亘って蛍光特性値を求めることが非常に困難であった。

【０１００】

これに対し、本発明では、少なくとも２回の蛍光検出のデータを利用しており、少なくとも１つの検出条件が違う状態で少なくとも２回の蛍光検出を行う。そして、２つの検出データがいずれも許容範囲内に入っている箇所（ドット）が、検出領域内の全エリアの中に１つでもあれば、そのドットの２つの検出データによって、蛍光変化率（例えば蛍光褪色率）を導き出す。この蛍光変化率を補正データとして利用して、他の箇所の検出データ

を補正することによって、各エリアの蛍光特性値を決定する。仮に、２回の蛍光検出では２つの検出データがいずれも許容範囲内に入っている箇所（ドット）が存在しない場合には、そのようなドットが見つかるまで、検出条件をその都度変えながら蛍光検出を繰り返せばよい。

【０１０１】

このように、本発明によると、蛍光変化率を算出できるように、２つの検出データがいずれも許容範囲内に入っている箇所（ドット）が見つかるまで、検出条件をその都度変えながら蛍光検出を繰り返す。そして、この蛍光変化率を補正データとして用いて蛍光特性値を求める。従って、様々な対象物に関して、ほぼ確実に蛍光特性値を求めることができ、従来のように対象物の種類によっては蛍光特性値が容易に求められないという事態を、ほとんどなくすことができる。言い換えると、１度の蛍光検出ではカバーできない輝度のダイナミックレンジの広い対象物に対しても、容易に蛍光検出可能である。

【０１０２】

ただし、この蛍光検出および生化学分析が、感染症の判定や各種がんの判定等の用途に用いられる場合には、その対象物の輝度の許容範囲は予め予測できる。したがって、予測される許容範囲を生化学反応カートリッジ１のＩＣチップ２５に記憶させておくことができる。その場合、本発明の蛍光検出装置において、ＩＣチップ２５に記憶されている許容範囲に応じた検出条件の設定を行うことができれば、蛍光検出を複数回ではなく１回のみ行うだけで済むこともある。

【図面の簡単な説明】

【０１０３】

【図１】本発明の第１の実施形態の生化学反応分析装置の構成を示すブロック図である。

【図２】図１に示す生化学反応分析装置の蛍光検出装置の要部を示す概略側面図である。

【図３】図２に示す蛍光検出装置の蛍光検出工程を示すフローチャートである。

【図４】図３に示す蛍光検出工程の、３つのドットにおける１回目の検出データと２回目の検出データの一例を示すグラフである。

【図５】図３に示す蛍光検出工程の、３つのドットにおける１回目の検出データと２回目の検出データの他の例を示すグラフである。

【図６】図５に示す３つのドットにおける２回目の検出データと３回目の検出データの一例を示すグラフである。

【図７】図１に示す生化学反応分析装置の生化学反応カートリッジの斜視図である。

【図８】図７に示す生化学反応カートリッジの平面断面図である。

【図９】図１に示す生化学反応分析装置における処理工程を示すフローチャートである。

【図１０】図７，８に示す生化学反応カートリッジのチャンバの一部を通る縦断面図である。

【図１１】図７，８に示す生化学反応カートリッジの他のチャンバを通る縦断面図である。

【図１２】（ａ）～（ｅ）は、ＤＮＡチップの蛍光検出パターンの例を示す模式図である。

【図１３】図１に示す生化学反応分析装置の蛍光検出装置の他の例を示す概略側面図である。

【図１４】図１３に示す蛍光検出装置の蛍光検出工程を示すフローチャートである。

【図１５】図１３に示す蛍光検出工程の、３つのドットにおける１回目の検出データと２回目の検出データの一例を示すグラフである。

【図１６】図１３に示す蛍光検出工程の、３つのドットにおける１回目の検出データと２回目の検出データの他の例を示すグラフである。

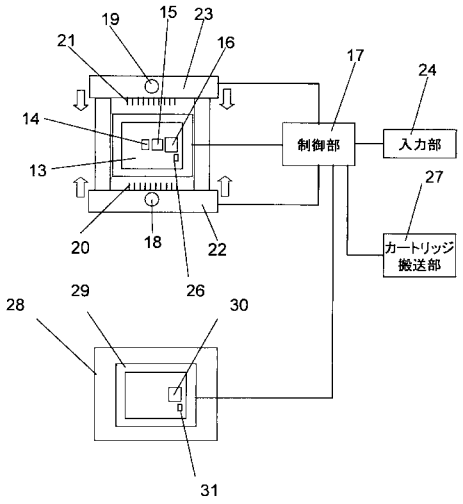
【図１７】図１６に示す３つのドットにおける２回目の検出データと３回目の検出データの一例を示すグラフである。

【符号の説明】

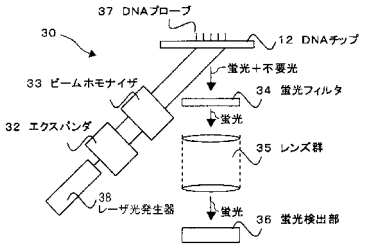
【０１０４】

１　　生化学反応カートリッジ
１２　ＤＮＡチップ（対象物）
１７　制御部（蛍光検出装置）
３０，４０　蛍光検出ユニット（蛍光検出装置）
３８，４８　レーザ光発生器（励起光発生部）
３６，４６　蛍光検出部

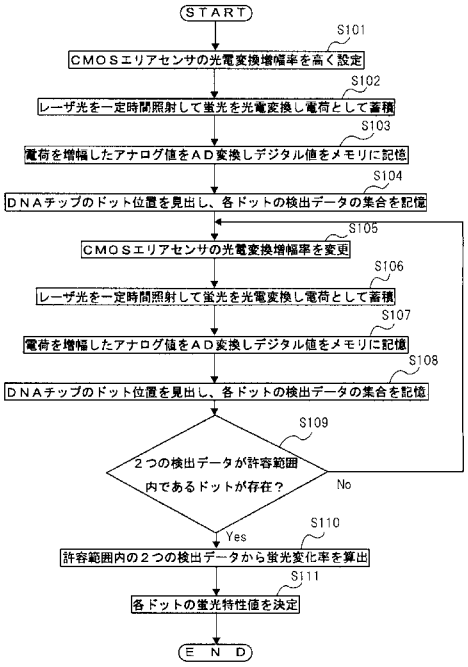
【図１】



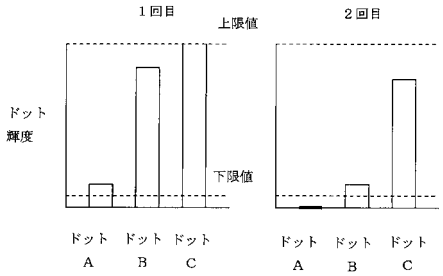
【図２】



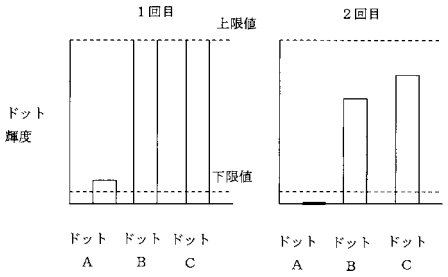
【図３】



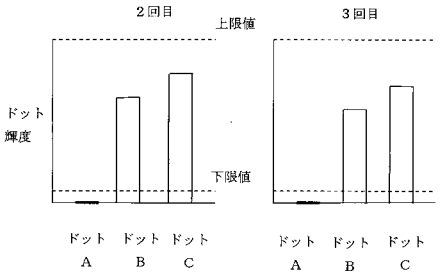
【図４】



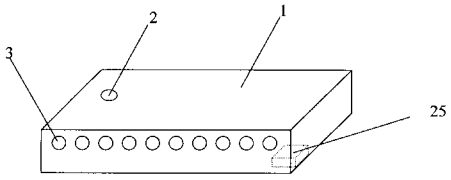
【図５】



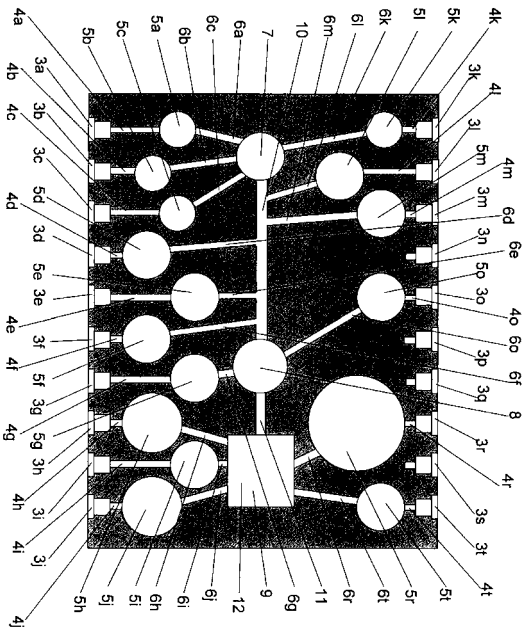
【図６】



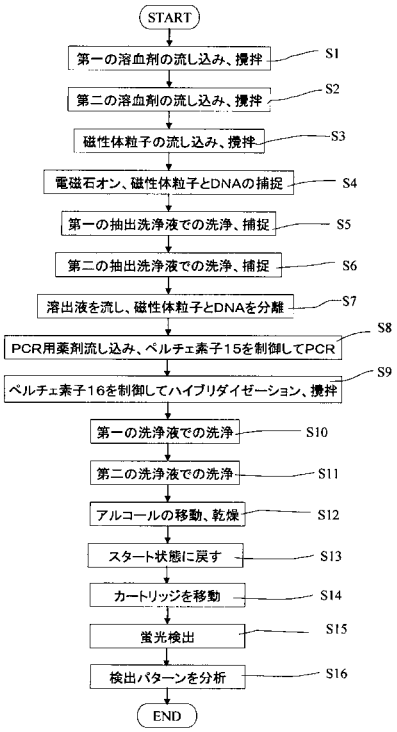
【図７】



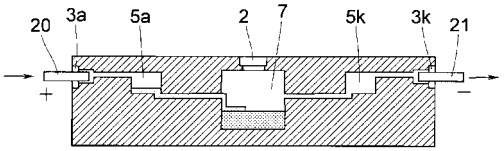
【図８】



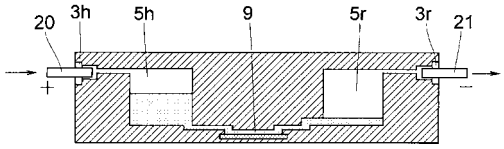
【図９】



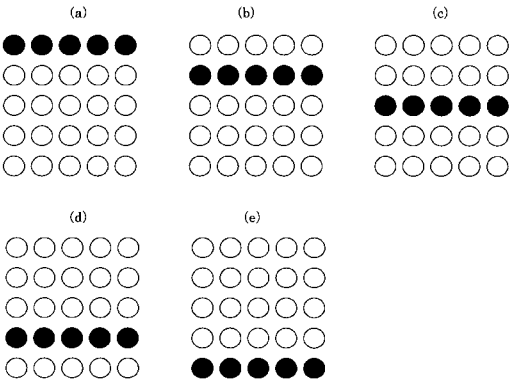
【図１０】



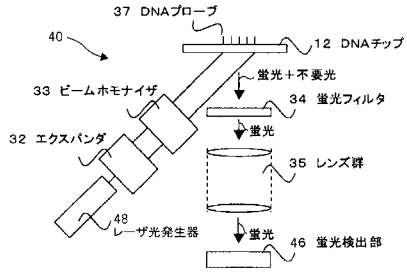
【図１１】



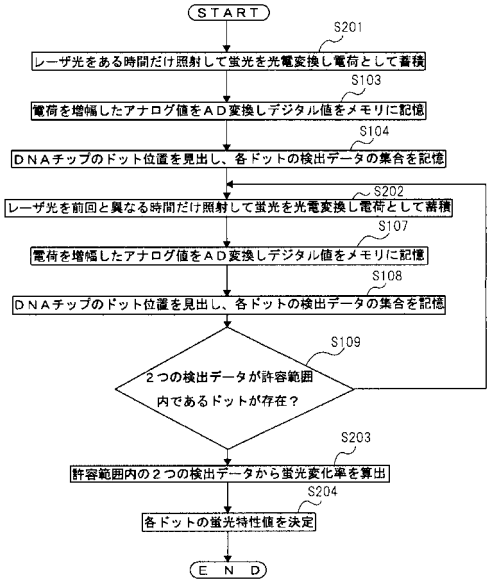
【図１２】



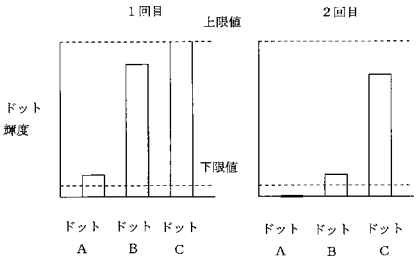
【図１３】



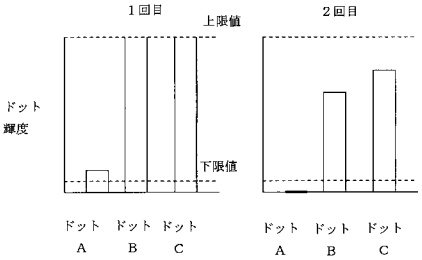
【図１４】



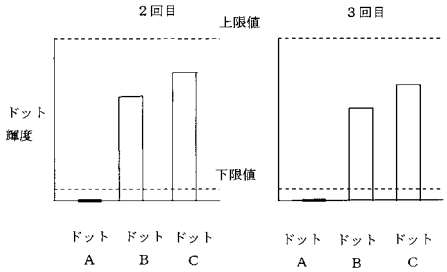
【図１５】


１回目
２回目
上限値
下限値
ドット
輝度
ドット A
ドット B
ドット C

【図１６】


１回目
２回目
上限値
下限値
ドット
輝度
ドット A
ドット B
ドット C

【図１７】


２回目
３回目
上限値
下限値
ドット
輝度
ドット A
ドット B
ドット C

フロントページの続き

(51)Int.Cl.												テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｑ 1/68 (2006.01)							Ｃ１２Ｑ 1/68				Ａ	
Ｆターム(参考)	2G043	AA01	BA16	CA04	DA01	DA02	DA05	DA06	DA08	EA01	FA01	
		FA09	GA07	GA28	GB07	GB21	HA01	HA15	KA09	LA01	LA03	
		NA01	NA05	NA06	NA13	NA14						
	2G058	BB02	BB19	CA01	DA07	EB15	FA07	GA01				
	4B029	AA07	BB11	BB20	CC01	CC08	FA15					
	4B063	QA01	QA18	QA19	QQ08	QQ42	QR08	QR62	QR66	QS25	QS34	
		QX02										