



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1826519 B

(45) 授权公告日 2011.01.26

(21) 申请号 200480020896.4

G01N 33/536 (2006.01)

(22) 申请日 2004.06.10

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

US 5922617 A, 1999.07.13, 全文.

165516/2003 2003.06.10 JP

CN 1158659 A, 1997.09.03, 说明书第一, 三
实施例、附图 1-3, 6.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

JP 2002-250726 A, 2002.09.06, 说明书实施
例、附图 1-5.

2006.01.19

(86) PCT 申请的申请数据

EP 0504432 A1, 1992.09.23, 说明书实施
例、附图 1-4.

PCT/JP2004/008476 2004.06.10

(87) PCT 申请的公布数据

JP 2001-238674 A, 2001.09.04, 说明书第
45 段到第 83 段、附图 1-4.

WO2004/111620 JA 2004.12.23

(73) 专利权人 索尼株式会社

US 20020168652 A1, 2002.11.14, 说明书第
48 段, 第 90 段到第 111 段、附图 23-33.

地址 日本东京都

EP 0417305 A1, 1991.03.20, 说明书第 5 栏
第 35 行到第 12 栏第 28 行、附图 1-7.

(72) 发明人 真峰隆义 坂本安广 古木基裕
中尾勇

审查员 钟宇

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

代理人 马高平 杨梧

(51) Int. Cl.

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

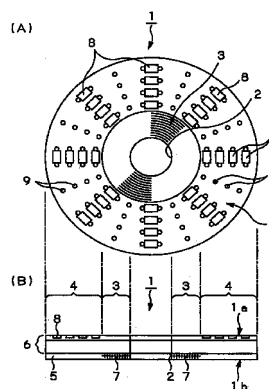
权利要求书 2 页 说明书 10 页 附图 4 页

(54) 发明名称

用于生物测定的基板、生物测定设备和生物
测定方法

(57) 摘要

生物测定基板 (1) 具有类似诸如 CD 的光盘的
平的形状以及圆形的主表面。在圆形基板 (1) 的
中心, 形成有供用于旋转和夹持的卡盘机构插入
的中心孔 (2)。基板 (1) 围绕中心孔 (2) 旋转。基
板 (1) 具有两个区域, 即, 同心形成的记录区 (3)
和反应区 (4)。类似于光盘信息记录介质, 利用激
光束向 / 从记录区 (3) 光学地记录 / 再现信息。
反应区 (4) 是探针 DNA (用于检测的核苷酸链) 和
样品 DNA (目标核苷酸链) 之间发生相互作用、特
别是发生杂交反应的区域。



1. 一种根据探针材料和样品材料之间的相互反应进行生物测定的生物测定基板，所述生物测定基板构造成具有平板形状，并且
所述生物测定基板包括：

反应区，其中允许所述样品材料和荧光标记剂从上侧滴落到多个孔中，并允许所述探针材料被固定，所述反应区用作所述探针材料和所述样品材料之间相互反应的区域，对应于所述荧光标记剂的荧光从下侧照射所述多个孔，和

信息区，其中光从下侧照射，以能够记录和 / 或再现信息，所述信息区不仅包括用于确定所述多个孔的地址凹坑，还能够将分析结果和 / 或检测到的排列图记录到生物测定基板的没有所述地址凹坑的信号记录膜中，

对应于反应区的荧光和对应于信息区的激光能够通过相同的物镜照射。

2. 根据权利要求 1 所述的生物测定基板，其中

所述生物测定基板由包括上层部和形成在其下侧的下层部的基板组成，

所述上层部包括所述反应区，

所述下层部包括所述信息区。

3. 根据权利要求 2 所述的生物测定基板，其中

所述信息区形成在从所述反应区在所述基板的厚度方向上隔开光的焦点深度的位置。

4. 根据权利要求 1 所述的生物测定基板，其中激光束从所述生物测定基板的底面侧照射，以形成可读的地址凹坑，用于确定所述多个孔中各个孔在生物测定基板的平面上的位置的信息。

5. 一种适于根据探针材料和样品材料之间的相互反应进行生物测定的生物测定设备，所述生物测定设备包括：

适于夹持并旋转驱动用于生物测定的基板的基板夹持装置，所述生物测定基板包括：反应区，其中允许所述样品材料和荧光标记剂从上侧滴落到多个孔中，并允许所述探针材料被固定，所述反应区用作所述探针材料和所述样品材料之间相互反应的区域，对应于所述荧光标记剂的荧光从下侧照射所述多个孔；以及信息区，其中光从下侧照射，以能够记录和 / 或再现信息；

荧光检测光学系统，用于对应于所述生物测定基板的反应区照射具有预定波长的荧光，以检测对应于所述荧光从所述荧光标记剂产生的具有预定波长的荧光的存在或不存在；以及

信息记录 / 再现光学系统，用于向所述生物测定基板的信息区照射具有预定波长的光，以根据其反射光进行信息的记录和 / 或再现操作，所述信息区不仅包括用于确定所述多个孔的地址凹坑，还能够将分析结果和 / 或检测到的排列图记录到生物测定基板的没有所述地址凹坑的信号记录膜中，

对应于反应区的荧光和对应于信息区的激光能够通过相同的物镜照射。

6. 根据权利要求 5 所述的生物测定设备，其中

所述生物测定基板形成为使其整体上为圆盘形状，并且

所述基板夹持装置以所述圆盘中心为中心进行旋转驱动。

7. 根据权利要求 5 所述的生物测定设备，其中

所述生物测定基板由包括上层部和形成在其下侧的下层部的基板组成，并包括位于所

述上层部的所述反应区,以及位于所述下层部的所述信息区。

8. 根据权利要求 7 所述的生物测定设备,其中

所述信息区形成在从所述反应区在所述基板的厚度方向上隔开荧光和用于信息记录的光的焦点深度的位置。

9. 根据权利要求 5 所述的生物测定设备,其中激光束从所述生物测定基板的底面侧照射,以形成可读的地址凹坑,用于确定所述多个孔中各个孔在生物测定基板的平面上的位置的信息。

10. 一种根据探针材料和样品材料之间的相互反应进行生物测定的生物测定方法,所述生物测定方法包括:

夹持并旋转驱动用于生物测定的基板,所述生物测定基板包括:反应区,其中允许所述样品材料和荧光标记剂从上侧滴落到多个孔中,并允许所述探针材料被固定,所述反应区用作所述探针材料和所述样品材料之间相互反应的区域,对应于所述荧光标记剂的荧光从下侧照射所述多个孔;以及信息区,其中光从下侧照射,以能够记录和/或再现信息;

向所述生物测定基板的信息区照射具有预定波长的光,以根据其反射光进行信息的记录和/或再现操作,以及

向所述生物测定基板的反应区照射具有预定波长的荧光,以检测对应于所述荧光从所述荧光标记剂产生的具有预定波长的荧光的存在或不存在,所述信息区不仅包括用于确定所述多个孔的地址凹坑,还能够将分析结果和/或检测到的排列图记录到生物测定基板的没有所述地址凹坑的信号记录膜中,

对应于反应区的荧光和对应于信息区的激光能够通过相同的物镜照射。

11. 根据权利要求 10 所述的生物测定方法,其中激光束从所述生物测定基板的底面侧照射,以形成可读的地址凹坑,用于确定所述多个孔中各个孔在生物测定基板的平面上的位置的信息。

用于生物测定的基板、生物测定设备和生物测定方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于生物测定的基板（例如，DNA 芯片等），以及使用该生物测定基板进行生物测定的生物测定设备。具体而言，本发明涉及一种其中形成有用作探针材料和样品材料之间相互反应的区域的反应区的生物测定基板，以及用于检测从反应区中的荧光标记剂中产生的荧光的生物测定设备和生物测定方法。

[0002] 本申请要求于 2003 年 6 月 10 日提交的日本专利申请 No. 2003-165516 的优先权，这里将其全部内容引作参考。

背景技术

[0003] 目前，生物测定基板是所谓的 DNA 芯片或 DNA 微阵列（下文中统称为 DNA 芯片），其中预定的 DNA 物质由微阵列技术精细地布置，该生物测定基板用于基因突变，SNPs（一价多型）分析，和 / 或基因表现频率分析等，并开始广泛应用于制药、临床诊断、药理染色体、法医学和 / 或其它领域。

[0004] 在这种 DNA 芯片中，由于大量不同的 DNA 低聚核苷酸链或 cDNA（互补 DNA）物质等布置在玻璃基板或硅基板上，因此可以对材料之间的相互反应（例如，杂交等）进行广泛的分析。

[0005] 在使用 DNA 芯片的 DNA 分析技术中，采用了这样一种方法，其相对于例如已在 DNA 芯片上变成固相状态（固定）的探针 DNA，通过逆转写 PCR 反应等方法，一边组装荧光探针 dNTP，一边对从细胞和 / 或组织中提取的 mRNA（信使核糖核酸）进行 PCR（聚合酶链反应）扩增，来产生样品 DNA，并将该样品 DNA 滴到 DNA 芯片上，以进行探针 DNA 和样品 DNA 的杂交，并用预定的检测器进行荧光测量。

[0006] 这里，例如，在日本专利申请早期公开 No. 2001-238674 公报和 PCT 专利申请早期公开 No. 2002-501174 公报中，提出 DNA 芯片具有圆盘形状，以将光盘领域中的基板技术应用用于 DNA 分析。

[0007] 在进行已应用光盘技术的 DNA 分析的情况下，可以应用这种伺服技术用光检测器在圆盘形状的 DNA 芯片旋转时来检测从荧光标记中产生的荧光，从而通过寻址技术来确定荧光的光发射位置。因此，可以增加待处理样品材料的数量，并可以提高检测准确度和检测速度。

[0008] 然而，在传统的 DNA 芯片技术中，由于 DNA 芯片本身的集成数和集成密度较小，因此不能说由单一化验得到的分析量是充分的。因此，使用者较难自由设定待检测材料的种类和数量，以及所用基板上的布置分类（分组）。

[0009] 此外，在使用 DNA 芯片的传统分析技术中，DNA 芯片的待检测材料的种类或分组的信息、DNA 芯片的分析结果以及用于 DNA 芯片的分析程序等在相对于不同信息记录介质被分开记录的状态下使用。出于该原因，DNA 芯片和记录分析结果的信息记录介质之间的联系较弱。因此，对 DNA 芯片和信息进行整体管理就较困难。

发明内容

[0010] 本发明的目的是提供一种用于生物测定的基板,其能够以更多的方式处理信息,并提供一种利用这种用于生物测定的基板来进行生物测定的生物测定设备和生物测定方法。

[0011] 根据本发明的基板是这样一种用于生物测定的基板,其中根据探针材料和样品材料之间的相互反应进行生物测定,该生物测定基板构造成具有平板形状,该生物测定基板包括:反应区,其中允许样品材料和荧光标记剂从上侧滴落,允许探针材料被固定,反应区用作探针材料和样品材料之间相互反应的区域,并形成多个孔(well),对应于荧光标记剂的荧光从下侧照射该多个孔;以及信息区,其中光从下侧照射,以能够记录和/或再现信息。

[0012] 生物测定基板包括材料之间进行相互反应的反应区以及记录信号的信息区。

[0013] 根据本发明的生物测定设备是一种适于根据探针材料和样品材料之间的相互反应进行生物测定的生物测定设备,其包括:适于夹持并旋转地驱动用于生物测定的基板的基板夹持装置,该生物测定基板包括:反应区,其中允许样品材料和荧光标记剂从上侧滴落,允许探针材料被固定,反应区用作探针材料和样品材料之间相互反应的区域,并形成多个孔,相对于荧光标记剂的荧光从下侧照射该多个孔;以及信息区,其中光从下侧照射,以能够记录和/或再现信息;荧光检测光学系统,用于对应于生物测定基板的反应区照射具有预定波长的荧光,以检测对应于荧光从荧光标记剂产生的具有预定波长的荧光的存在或不存在;以及信息记录/再现光学系统,用于向生物测定基板的信息区照射具有预定波长的光,以根据其反射光进行信息的记录和/或再现操作。

[0014] 在该生物测定设备中,根据材料之间的相互反应对生物测定基板进行生物测定,并对其进行信息的记录和/或再现操作,生物测定基板包括材料之间进行相互反应的反应区以及记录信号的信息区。

[0015] 根据本发明的生物测定方法是一种根据探针材料和样品材料之间的相互反应进行生物测定的生物测定方法,其包括:夹持并旋转地驱动用于生物测定的基板,该生物测定基板包括:反应区,其中允许样品材料和荧光标记剂从上侧滴落,允许探针材料被固定,反应区用作探针材料和样品材料之间相互反应的区域,并形成多个孔,相对于荧光标记剂的荧光从下侧照射该多个孔;以及信息区,其中光从下侧照射,以能够记录和/或再现信息;向生物测定基板的信息区照射具有预定波长的光,以根据其反射光进行信息的记录和/或再现操作,以及向生物测定基板的反应区照射具有预定波长的荧光,以检测对应于荧光从荧光标记剂产生的具有预定波长的荧光的存在或不存在。

[0016] 在该生物测定方法中,根据材料之间的相互反应对生物测定基板进行生物测定,并对其进行信息的记录和/或再现操作,生物测定基板包括材料之间进行相互反应的反应区以及记录信号的信息区。

附图说明

[0017] 图1是本发明实施例的生物测定基板的俯视图和横截面图。

[0018] 图2是示出生物测定基板的DNA层的层叠结构的横截面图。

[0019] 图3是示出孔的底面上的OH基改性的硅烷分子的示意图。

- [0020] 图 4 是示出结合到孔的底面上的探针 DNA 的示图。
- [0021] 图 5 是本发明实施例的 DNA 分析器的框图。
- [0022] 图 6 是示出向孔滴落溶液时的操作的示图。
- [0023] 图 7 是示出荧光标记剂嵌入在探针 DNA 和样品 DNA 的双螺旋内的状态的示图。

具体实施方式

[0024] 就应用了本发明的用于 DNA 分析的生物测定基板,以及使用这种生物测定基板进行 DNA 分析的生物测定设备,现在将给出解释作为本发明应用的实际实施例。应当指出,在本申请中,“生物测定”是指基于材料之间的杂交或其它相互反应的生物化学分析。

[0025] (生物测定基板)

[0026] 图 1 是以模型形式示出本发明实施例的生物测定基板 1 的顶视图(图 1(A))和横截面图(图 1(B))的示图。

[0027] 生物测定基板 1 是平板形状,其主表面类似光盘(例如,CD(压缩盘)、DVD(数字多功能盘))等的表面,是圆形的。此外,在生物测定基板 1 的圆心,形成中心孔 2。当将生物测定基板 1 装载(附接)到 DNA 分析器中时,用于夹持生物测定基板 1 并使其旋转的卡盘机构插入到中心孔 2 中。

[0028] 如图 1(A)所示,生物测定基板 1 的圆形主表面分为两个区域,记录区 3 和反应区 4,它们在径向同心地形成。在该示例中,记录区 3 位于内圆周侧,反应区 4 位于外圆周侧。记录区 3 可以位于外圆周侧,反应区 4 可以位于内圆周侧。记录区 3 是这样的区域:与光盘信息记录介质相似,照射激光束,光学地进行信息的记录/再现。反应区 4 是用作探针 DNA(用于检测的核苷酸链)和样品 DNA(做标记或标志的核苷酸链)之间相互反应的区域,具体地说,是探针 DNA 和样品 DNA 之间杂交反应的区域。

[0029] 生物测定基板 1 的层叠结构由信息层 5 和 DNA 层 6 形成,如图 1(B)所示。这里,假设信息层 5 位于下层,DNA 层 6 位于上层。此外,假设生物测定基板 1 的 DNA 层 6 侧的表面称为顶面 1a,信息记录层 5 侧的表面称为底面 1b。

[0030] 在信息层 5 处,信号记录膜 7(例如,凹坑或相变材料等)形成在对应于记录区 3 的平面区域中,激光束照射到信号记录膜 7 上,以进行数据的再现或记录/再现。这种信号记录膜 7 可以用类似光盘(例如,CD(压缩盘)、DVD(数字多功能盘))等的盘的制备方法形成。

[0031] 激光束从生物测定基板 1 的底面 1b 侧照射到信号记录膜 7,以进行信号的再现或记录/再现。此外,信息层 5 由允许在 DNA 分析时照射的具有荧光波长的光线和控制光以及在 DNA 分析时从荧光标记剂发出的荧光透过的材料形成。例如,信息层 5 由诸如石英玻璃、硅、聚碳酸酯或聚苯乙烯等的材料形成。应当指出,照射的荧光和控制光的具体细节以及发出的荧光将在以后描述。

[0032] 如图 2 所示,DNA 层 6 是由从底层侧(即,从信息层 5 侧)开始的基层 10、透明电极层 11、固相层 12 以及层 13 形成的层叠结构,孔将形成在层 13 中(下面根据情况需要简单称为孔形成层)。

[0033] 基层 10 是允许照射的具有荧光波长的光线和控制光、以及发出的荧光透过的材料,具体细节将在后面描述。例如,基层 10 由诸如石英玻璃、硅、聚碳酸酯或聚苯乙烯等的

材料形成。

[0034] 透明电极层 11 是形成在基层 10 上的层。透明电极层 11 由具有光透射特性并具有传导性的材料（例如，ITO（氧化铟锡））制成。透明电极层 11 通过例如溅镀或电子束蒸镀等形成基层 10 上的薄膜，其厚度为约 250nm。

[0035] 固相层 12 是形成在透明电极层 11 上的层。固相层 12 由允许探针 DNA 的一端处于固相状态的材料形成。在该示例中，固相层 12 是表面通过例如溅镀或电子束蒸镀由硅烷改性形成有 SiO_2 膜的层，其厚度为约 50nm。

[0036] 孔形成层 13 是形成在固相层 12 上的层。孔形成层 13 是形成有助于使探针 DNA 和样品 DNA 之间发生杂交反应的多个孔 8 的层。孔具有凹入的形状，使得生物测定基板 1 的顶面 1a 开放，并具有深度和尺寸，从而当包括样品 DNA 的溶液等滴落时可以保留或保持该溶液。例如，孔 8 形成开口部尺寸在长度和宽度方向为 $100\mu\text{m} \times 100\mu\text{m}$ ，深度为约 $5\mu\text{m}$ 的尺寸。固相层 12 在孔 8 处露出于底面 14。这种孔形成层 13 是这样形成的：例如通过在固相层 12 上用旋涂方法（spin-coat）等涂覆感光的聚酰亚胺，以使其具有约 $5\mu\text{m}$ 的厚度，从而通过使用预定构图的光掩膜来使涂覆的感光聚酰亚胺曝光并显影。

[0037] 此外，在孔 8 处，为了使一端被功能团改性的探针 DNA 结合到底面 14（固相层 12 露出的部分），底面 14 被功能团表面改性。例如，在孔 8 处，如图 3 所示，底面 14（由 SiO_2 形成的固相层 12）被具有 OH 基 16 的硅烷分子 17 表面改性。出于这个原因，一端被例如 NCO 基改性的探针 DNA 可以结合到孔 8 的底面 14。如上所述，在生物测定基板 1 中，由于探针 DNA 的一端可以结合到孔 8 的底面 14，因此探针 DNA (P) 物质可以结合成，使链从底面 14 在垂直方向延伸，如图 4 所示。

[0038] 此外，在生物测定基板 1 中，如图 1 所示，多个孔 8 设置为从主表面的中心以例如约 $400\mu\text{m}$ 的间隔等距布置在外圆周方向的径向多个柱上。应当指出，在该示例中，形成孔 8 的平面区域是反应区 4 的范围。

[0039] 此外，在生物测定基板 1 处，激光束从生物测定基板 1 的底面 1b 侧照射，以形成可读的地址凹坑 9。地址凹坑 9 是用于确定各孔 8 在生物测定基板 1 的平面上的位置的信息。通过从地址凹坑 9 光学地读取信息，可以确定多个存在的孔 8 中处于正被激光束照射位置的孔 8。设置这种地址凹坑 9 的结果是，通过滴液单元（将在以后描述）可以控制溶液滴落位置，通过物镜可以控制荧光检测位置。

[0040] 由于如上所述的生物测定基板 1 形成具有圆盘形状，因此可以利用与光盘系统的再现系统相似的再现系统来进行用于控制激光束聚焦位置的聚焦伺服控制、用于控制激光束相对于径向的照射位置和滴液单元的滴落位置的定位伺服控制、以及地址凹坑 9 的信息检测处理。即，记录在地址凹坑 9 的信息内容和地址凹坑 9 附近的孔 8 相互联系，以读出地址凹坑 9 的信息，从而仅对确定的一个孔 8 照射激光束，确定发出荧光的孔 8 的位置，或者控制确定的一个孔 8 和滴液单元的位置之间的相对位置，从而可以向确定的一个孔 8 滴落溶液。

[0041] 此外，在生物测定基板 1 中，形成用于生物测定的材料之间发生相互反应的区域（孔 8），以及进行与光盘相似的各种信息的记录 / 再现的信号记录膜 7。这样，形成圆盘形状的基板可以更加有用并且是多用途的。

[0042] 例如，“有关生物测定基板 1 的操作控制的信息”、“有关在孔 8 内变为固相状态的

探针 DNA 的信息”以及“有关化验结果的信息”等可以记录到生物测定基板 1 上。

[0043] 作为有关生物测定基板 1 的操作控制的信息的实例,记录有例如,使用生物测定基板 1 进行 DNA 分析的化验程序、相应化验所需的各种数据、化验程序的更新信息、生物测定基板 1 的操作说明书和 / 或分析器,和 / 或化验处理的程序等。

[0044] 将有关生物测定基板 1 的操作控制的这种信息记录到带有材料之间进行相互反应的区域的同一基板上,可以消除将有关操作控制的信息记录到其它记录介质上的需要。

[0045] 此外,作为有关在孔 8 内变为固相状态的探针 DNA 的信息的实例,记录有布置在各孔 8 处的探针 DNA 物质的种类及其布置位置、各孔 8 内的探针 DNA 的说明、探针 DNA 和疾病之间的关系、以及生物测定基板 1 的制造商和 / 或制造日期等。

[0046] 将有关在孔 8 内变为固相状态的探针 DNA 的信息记录到探针 DNA 变为固相状态的同一基板上,可以可靠且容易地管理生物测定基板 1。

[0047] 此外,作为有关化验结果的信息的实例,记录有有关被化验的人的信息(姓名、年龄、性别等);化验日期、化验地点、被化验的人和化验结果数据(已从反应区读出的原始数据)、基于化验结果(视觉化验结果数据,和 / 或指示出与疾病的相关联性的数据等)的 DNA 分析结果、相应被化验人的过去的化验结果(以前的化验记录或历史)、以及相应被化验人的其它化验结果等。

[0048] 将这种有关化验结果的信息记录到其中用作化验结果源的样品 DNA 已进行杂交的同一基板上,可以使化验结果的处理变得可靠且容易。

[0049] 当然,其它数据也可以记录到生物测定基板 1 上,而不局限于上述的信息。

[0050] 应当指出,虽然主表面在生物测定基板 1 上分为记录区 3 和反应区 4 两个区域,但是记录区 3 和反应区 4 可以在平面区域上相互交叠。在该情况下,信号记录膜 7 的位置形成在从反应区 4 的厚度方向、从所照射的用于激发荧光(将在后面描述)和控制激光束(其控制光将在后面描述)的激光束的焦点深度远离或隔开的位置即可。即,这是因为,如果类似于光盘 2 的两层(双层)记录,将信号记录膜 7 定位在焦点的前方,则激光束充分地到达反应区 4。

[0051] (DNA 分析器)

[0052] 下面,将参照图 5 解释用于通过使用上述生物测定基板 1 进行 DNA 分析的 DNA 分析器 21。

[0053] 如图 5 所示,DNA 分析器 21 包括用于夹持生物测定基板 1 并使其旋转的盘装载单元 22、用于贮存杂交反应的各种溶液并用于将溶液滴到生物测定基板 1 的孔 8 中的滴液单元 23、用于检测来自生物测定基板 1 的孔 8 的荧光的荧光检测单元 24、用于对上述各单元进行管理和控制的控制 / 伺服单元 25、以及用于对生物测定基板 1 的信号记录膜 7 进行信号记录 / 再现的记录 / 再现单元 26。

[0054] 盘装载单元 22 包括适于嵌入到生物测定基板 1 的中心孔 2 中以夹持生物测定基板 1 的卡盘机构 31,以及用于驱动卡盘机构 31 以使生物测定基板 1 旋转的主轴电机 32。盘装载单元 22 在生物测定基板 1 保持水平的状态下旋转地驱动生物测定基板 1,使得顶面 1a 侧为向上方向。

[0055] 滴液单元 23 包括用于贮存样品溶液 S 的贮存单元 33、以及将贮存单元 33 内的样品溶液滴到生物测定基板 1 上的滴头 34。滴头 34 设置在水平装载的生物测定基板 1 的顶

面 1a 上方。此外,滴头 34 构造为,根据从生物测定基板 1 的地址凹坑 9 读出的位置信息和旋转同步信息控制在径向相对于生物测定基板 1 的相对位置,以将包括探针 DNA、样品 DNA 或荧光标记剂的样品溶液 S 以精确的方式滴到预定的孔 8 中。

[0056] 荧光检测单元 24 包括光学头 40。光学头 40 设置在底侧,即,水平装载的生物测定基板 1 的底面 1b 侧。光学头 40 适于通过例如滑板机构(sledmechanism)(未示出)等在生物测定基板 1 的径向运动。

[0057] 光学头 40 包括物镜 41、用于可运动地支承物镜 41 的双轴致动器 42、以及光导镜 43。物镜 41 由双轴致动器 42 支承,使得其中心轴基本垂直于生物测定基板 1 的表面。因此,物镜 41 可以将从生物测定基板 1 的底侧入射的光束会聚到生物测定基板 1(上)。双轴致动器 42 在垂直于生物测定基板 1 的表面的方向和生物测定基板 1 的径向两个方向上可运动地支承物镜 41。通过驱动双轴致动器 42,可以使已由物镜 41 会聚的光的焦点在垂直于生物测定基板 1 的表面的方向及其径向上移动。因此,在光学头 40 中,可以进行与光盘系统中的焦点控制和定位控制相似的控制操作。

[0058] 光导镜 43 设置为相对于光路径 X 成 45° 角。光路径 X 是荧光 P、荧光 F、控制光 V 和反射光 R 入射到光学头 40 上以及从光学头 40 发出的光路径。荧光 P 和控制光 V 从光路径 X 入射到光导镜 43 上。光导镜 43 作用为反射荧光 P 和控制光 V,以使它们偏折 90° ,从而使这些光线入射在物镜 41 上。已入射在物镜 41 上的荧光 P 和控制光 V 由物镜 41 会聚。这样会聚的光线照射到生物测定基板 1 上。此外,荧光 F 和控制光 V 的反射光 R 的光线通过物镜 41 从生物测定基板 1 入射到光导镜 43 上。光导镜 43 作用为使荧光 F 和反射光 R 发生反射,以使它们偏折 90° ,从而将这些光线发射到光路径 X 上。在该示例中,用于使光学头 40 做滑板运动的驱动信号以及用于驱动双轴致动器 42 的驱动信号由控制/伺服单元 25 给出(从控制/伺服单元 25 送出)。

[0059] 此外,荧光检测单元 24 包括用于发射荧光 P 的荧光光源 44、用于将从荧光光源 44 发出的荧光 P 变为平行光束的准直透镜 45、以及第一分色镜 46,第一分色镜 46 用于在光路径 X 上使由准直透镜 45 变为平行光束的荧光 P 发生偏折,以将这样得到的偏折光束照射到光导镜 43 上。

[0060] 荧光光源 44 是包括激光源的光发射装置,激光源具有使荧光标记剂激发的波长。在该示例中,从荧光光源 44 发出的荧光 P 是具有 405nm 的波长的激光束。应当指出,对于荧光 P 的波长,可以采用足以激发荧光标记剂的任何波长。准直透镜 45 将从荧光光源 44 发出的荧光 P 变为平行光束。第一分色镜 46 是具有波长选择性的反射镜,用于仅允许具有荧光 P 的波长的光发生反射,并允许具有荧光 F 和控制光 V(其反射光 R)的波长的光透过。第一分色镜 46 以具有 45° 角的方式嵌入到光路径 X 上,用于使从准直透镜 45 发出的荧光 P 发生反射,以使其偏折 90° ,并将荧光 P 照射到光导镜 43 上。

[0061] 此外,荧光检测单元 24 包括用于检测荧光 F 的雪崩光电二极管 47、用于会聚荧光 F 的会聚透镜 48、以及第二分色镜 49,该第二分色镜 49 用于使从光学头 40 发射到光路径 X 上的荧光 F 偏折,以将这样得到的偏折光照射到雪崩光电二极管 47 上。

[0062] 雪崩光电二极管 47 是具有极高敏感度的光检测器,能够检测具有极少光量的荧光 F。在该示例中,由雪崩光电二极管 47 检测到的荧光 F 的波长约为 470nm。此外,荧光 F 的波长根据荧光标记剂的种类而不同。会聚透镜 48 是用于将荧光 F 会聚到雪崩光电二极

管 47 上的透镜。第二分色镜 49 以具有 45° 角的方式嵌入到光路径 X 上,并且设置成从光导镜 43 侧观察时位于第一分色镜 46 之后。因此,荧光 F、控制光 V 和反射光 R 入射到第二分色镜 49 上,而荧光 P 不入射到第二分色镜 49 上。第二分色镜 49 是具有波长选择性的反射镜,用于仅允许具有荧光 F 的波长的光发生反射,并允许具有控制光 (其反射光 R) 的波长的光透过。第二分色镜 49 使从光学头 40 的光导镜 43 发出的荧光 F 发生反射,以使其偏折 90° ,从而通过会聚透镜 48 将荧光 F 照射到雪崩光电二极管 47 上。

[0063] 雪崩光电二极管 47 产生对应于以此方式检测到的荧光 F 的光量的电信号,以将这样产生的电信号送到控制 / 伺服单元 25。

[0064] 此外,荧光检测单元 24 包括用于发射控制光 V 的控制光源 50、用于将从控制光源 50 发出的控制光 V 变为平行光束的准直透镜 51、用于检测控制光 V 的反射光 R 的光电检测电路 52、用于产生散光以将反射光 R 会聚到光电检测电路 52 的柱面透镜 53、以及用于分离控制光 V 和反射光 R 的光分离器 54。

[0065] 控制光源 50 是包括用于发射例如 780nm 的激光束的激光源的光发射装置。在该示例中,控制光 V 的波长设定为可以检测到地址凹坑 9 并且可以对信号记录膜 7 进行信息记录 / 再现的波长。此外,控制光 V 的波长设定为不同于荧光 P 和荧光 F 的波长。对于控制光 F 的波长,可以采用如上所述设定的任何波长,而不局限于 780nm。准直透镜 51 将从控制光源 50 发出的控制光 V 变为平行光束。变为平行光束的控制光 V 入射到光分离器 54 上。

[0066] 光电检测电路 52 包括用于检测反射光 R 的检测器、以及用于由检测到的反射光 R 产生聚焦误差信号、定位误差信号、地址凹坑 9 的再现信号以及信号记录膜 7 的再现信号的信号产生电路。由于反射光 R 是由控制光 V 在生物测定基板 1 上反射而产生的光,因此其波长与控制光的波长相同,为 780nm。

[0067] 在该示例中,在激光束由光学头 40 照射到生物测定基板 1 的反应区 4 (外圆周侧的区域) 上的情况下,聚焦误差信号是表示由物镜 32 会聚的光的聚焦位置以及相对于生物测定基板 1 的 DNA 层 6 的位置偏移量的误差信号,定位误差信号是表示预定孔 8 的位置和焦点位置之间相对于盘径向的位置偏移量的信号。在激光束由光学头 40 照射到生物测定基板 1 的记录区 3 (内圆周侧的区域) 上的情况下,聚焦误差信号是表示由物镜 32 会聚的光的聚焦位置与信号记录膜 7 之间的位置偏移量的误差信号,定位误差信号是表示信号记录膜 7 的轨道位置和焦点位置之间相对于盘径向的位置偏移量的信号。

[0068] 仅在激光束照射到反应区 4 (外圆周侧的区域) 上的情况下,检测到地址凹坑 9 的再现信号,该信号是表示记录在生物测定基板 1 处的地址凹坑 9 中描述的信息内容的信号。通过读出该信息内容,可以确定控制光 V 现在照射的孔 8。

[0069] 仅在激光束照射到记录区 3 (内圆周侧的区域) 上的情况下,检测到信号记录膜 7 的再现信号,该信号是表示记录在信号记录膜 7 的轨道处的信息内容的信号。

[0070] 光电检测电路 52 向控制 / 伺服单元 25 传送聚焦误差信号、定位误差信号以及地址凹坑 9 的再现信号,这些信号都是根据反射光 R 产生的。

[0071] 柱面透镜 53 是用于将反射光 R 会聚到光电检测电路 52 上并用于产生散光的透镜。通过以该方式产生散光,光电检测电路 52 可以产生聚焦误差信号。

[0072] 光分离器 54 由光分离表面 54a 和 $1/4$ (四分之一) 波片 54b 构成,光分离表面 54a

包括偏转分束器。光分离器 54 具有的功能是,光分离表面 54a 允许从 1/4 波片 54b 的相反侧入射的光透过,从而在透射光的反射光从 1/4 波片 54b 侧入射的情况下,光分离表面 54a 使其发生反射。在光分离器 54 处,光分离表面 54a 以具有 45° 角的方式嵌入到光路径 X 上,并设置成从光导镜 43 侧观察时位于第二分色镜 49 之后。因此,光分离器 54 用于使从准直透镜 51 发出的控制光 V 透过,以使控制光 V 入射到光学头 40 内的光导镜 43 上,并使从光学头 40 的光导镜 43 发出的反射光 R 发生反射,以使这样获得的反射光偏折 90°,从而使反射光 R 通过柱面透镜 53 照射到光电检测电路 52。

[0073] 控制 / 伺服单元 25 根据由荧光检测单元 24 检测到的聚焦误差信号、定位误差信号以及地址凹坑 9 的再现信号来执行各种伺服控制操作。

[0074] 在激光束照射到反应区 (外圆周侧的区域) 上的情况下,控制 / 伺服单元 25 根据聚焦误差信号驱动光学头 40 内的双轴致动器 42,以控制物镜 41 和孔 8 之间的间距,根据定位误差信号驱动光学头 40 内的双轴致动器 42,以控制物镜 41 和孔 8 之间在径向的位置关系,并根据地址凹坑 9 的再现信号执行光学头 40 的滑板运动控制,以使光学头 40 运动到预定的径向位置。

[0075] 在激光束照射到记录区 3 (内圆周侧的区域) 上的情况下,控制 / 伺服单元 25 根据聚焦误差信号驱动光学头 40 内的双轴致动器 42,以控制物镜 41 和信号记录膜 7 之间的间距,根据定位误差信号驱动光学头 40 内的双轴致动器 42,以控制物镜 41 与信号记录膜 7 的记录轨道之间在径向的位置关系。

[0076] 记录 / 再现单元 26 对记录在信息记录层 7 处的再现信号进行解调 & 解码处理,以输出这样处理过的数据,并对要记录到信息记录层 7 中的记录数据进行编码操作和调制。在再现时,为记录 / 再现单元 26 提供从荧光检测单元 24 输出的再现信号,以将解调且解码后的数据输出到外部。此外,在记录时,为记录 / 再现单元 26 提供来自外部的记录数据,以将编码且调制的数据送到荧光检测单元 24,从而驱动发出控制光 V 的控制光源 50。

[0077] 上述构造的 DNA 分析器 21,在进行生物测定的情况下,将执行下述操作。

[0078] DNA 分析器 21 将含有 (包括) 样品 DNA (S) 的溶液滴到孔 8 上,如图 6 所示,同时旋转生物测定基板 1,以在探针 DNA (P) 和样品 DNA (P) 之间进行相互反应 (杂交)。此外,将包括荧光标记剂 M 的缓冲溶液滴到已完成杂交处理的生物测定基板 1 上,以使荧光标记剂 M 嵌入到探针 DNA (P) 和样品 DNA (P) 之间的双螺旋中,如图 7 所示。

[0079] 此外,DNA 分析器 21 用于使已滴有荧光标记剂的生物测定基板 1 旋转,以使荧光 P 从生物测定基板 1 的底面 1b 侧入射,使荧光 P 照射到孔 8 内的荧光标记剂上,从而从生物测定基板 1 的下侧方向检测根据这样照射的荧光 P 从荧光标记剂产生的荧光 F。

[0080] 这里,在 DNA 分析器 21 处,荧光 P 和控制光 V 通过同一物镜 41 照射到生物测定基板 1 上。出于这个原因,DNA 分析器 21 利用控制光 V 进行聚焦控制、定位控制以及地址控制,从而可以确定荧光 P 的照射位置,即,荧光 F 的发射位置。因此,从这样获得的荧光的光发射位置可以确定结合到样品 DNA 的探针 DNA。

[0081] 此外,上述构造的 DNA 分析器 21,在进行数据的记录和再现时,将执行下述操作。

[0082] DNA 分析器 21 用于使荧光 P 的发射操作停止,仅发射控制光 V。此外,在旋转生物测定基板 1 时,DNA 分析器 21 进行伺服控制,以对信号记录膜 7 上的轨道进行数据的记录或再现。

[0083] (DNA 分析方法)

[0084] 下面,将解释 DNA 分析方法。

[0085] 首先,将生物测定基板 1 水平装载(附接)到 DNA 分析器 21 的盘装载单元 22。

[0086] 随后,DNA 分析器 21 使生物测定基板 1 旋转,同时根据地址凹坑 9 进行位置控制,从滴头 34 将含有(包括)一端已由 NCO 基改性的探针 DNA 的溶液滴到预定的孔 8。此时,将多种探针 DNA 物质滴到单一生物测定基板 1。在该情况下,一种探针 DNA 适于嵌入到一个孔 8 中。应当指出,从信息记录膜 7 预先读出表示滴到各个孔 8 中的探针 DNA 种类的信息,例如表示孔与探针 DNA 之间的对应关系的排列图等,从而根据该排列图进行滴落控制。

[0087] 随后,将电极从生物测定基板 1 的顶面 1a 侧插入到孔 8 内的溶液中,以向各个孔 8 施加约 1MV/m、1MHz 的交流电场。当以该方式施加交流电场时,探针 DNA 在垂直于生物测定基板 1 的方向上扩展,探针 DNA 在垂直于生物测定基板 1 的方向上运动,以使探针 DNA 的改性端结合到已预先完成表面改性的底面 14,从而能够使探针 DNA 在孔 8 内处于固相状态(使探针 DNA 固定)(参见 Masao Washizu, Osamu Kurosawa. Electrostatic Manipulation of DNA in Macrofabricated Structures. IEEE Transaction on Industrial Application, Vol. 26, No. 26 : 1165-1172(1990))。

[0088] 随后,DNA 分析器 21 将含有(包括)样品 DNA 的溶液连同缓冲盐一起从滴头 34 滴到生物测定基板 1 上的各个孔 8 中。

[0089] 随后,在滴落样品 DNA 之后将生物测定基板 1 转移到恒温室等,以加热孔 8 的内部,使其等于几十度,并在保持受热状态的同时施加约 1MV/m、1MHz 的交流电场。当进行这种处理时,样品 DNA 和探针 DNA 在垂直方向扩展,这使得位阻较小,并且样品 DNA 在垂直于生物测定基板 1 的方向运动。从而,在同一孔 8 内存在相互的基本排列彼此对应的样品 DNA 和探针 DNA 的情况下,这些 DNA 物质发生杂交。

[0090] 随后,在进行杂交之后,DNA 分析器 21 将诸如内插剂(intercalator)等的荧光标记剂滴到生物测定基板 1 的孔 8 中。这种荧光标记剂嵌入到已通过杂交结合起来的探针 DNA 和样品 DNA 之间的双螺旋之间的部分中。

[0091] 随后,用纯净水等冲洗生物测定基板 1 的表面 1a,去除孔 8 内的未进行杂交的样品 DNA 和荧光标记剂。因而,荧光标记剂仅留在其中已进行杂交的孔 8 中。

[0092] 随后,DNA 分析器 21 使生物测定基板 1 旋转,同时利用控制光 F 进行聚焦伺服控制、定位伺服控制以及地址控制,以使荧光 P 照射到预定的孔 8 上。随着荧光 P 的照射,在检测地址信息的同时,检测是否产生荧光 F。

[0093] 随后,DNA 分析器 21 用于制作表示生物测定基板 1 上的各个孔 8 的位置以及存在/不存在荧光 F 的发射的图谱。此外,DNA 分析器 21 根据所制作的图谱以及表示滴到各个孔 8 内的探针 DNA 的基本排列的排列图,对样品 DNA 的基本排列进行分析。通过该分析的结果,可以根据探针 DNA 物质与记录在信号记录膜 7 中的疾病之间的关系的信息,分析例如与疾病等的关系。

[0094] 此外,DNA 分析器 21 将这些分析结果和/或检测到的排列图等记录到生物测定基板 1 的信号记录膜 7 中,以保存它们。

[0095] 应当指出,虽然已经根据附图所示的本发明优选实施例描述了本发明,但是本领域的普通技术人员将理解,本发明不局限于这些实施例,在不偏离由所附权利要求限定的

本发明的范围和精神的前提下可以实现各种修改、可选择的构造或等同物。

[0096] 工业实用性

[0097] 根据本发明的生物测定基板包括材料之间进行相互反应的反应区,以及记录信号的信息区。此外,根据本发明的生物测定设备和生物测定方法适于根据材料之间的相互反应对包括材料之间进行相互反应的反应区和记录信号的信息区的生物测定基板进行生物测定,并对其进行信息的记录和 / 或再现。

[0098] 因此,在根据本发明的生物测定基板中,使用者可以进行更加广泛的使用。此外,在根据本发明的生物测定设备和生物测定方法中,可以用各种方式使用圆盘形的生物测定基板。

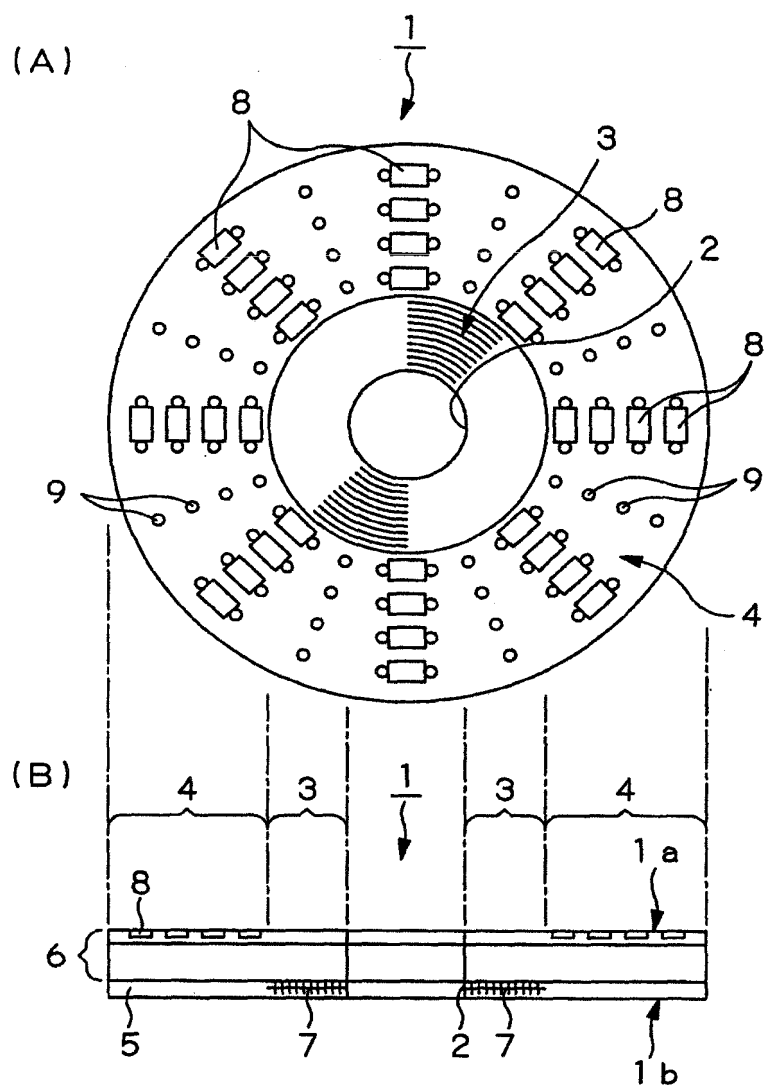


图 1

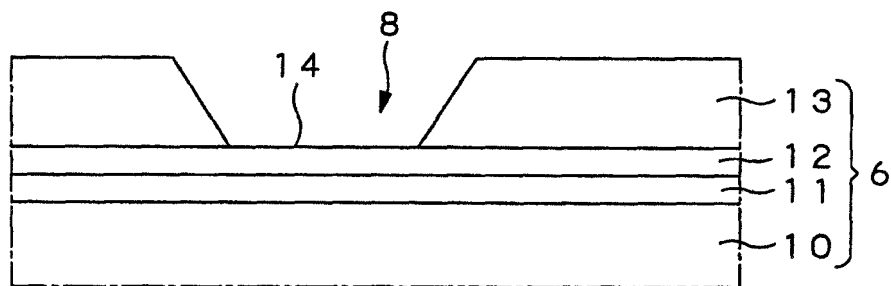


图 2

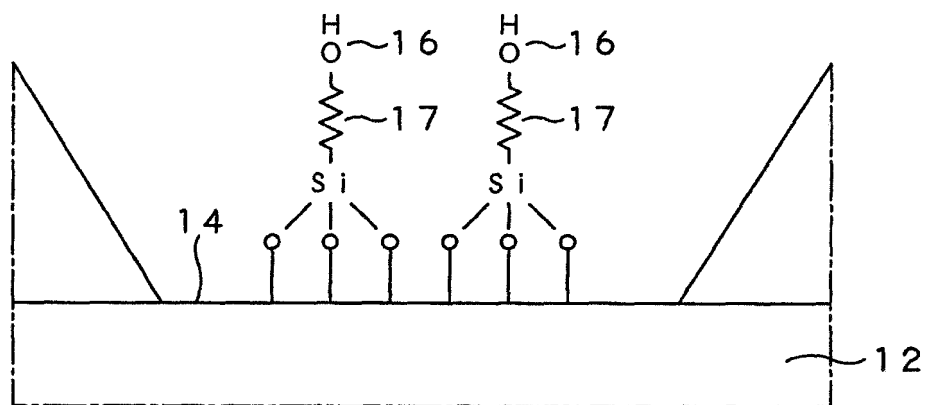


图 3

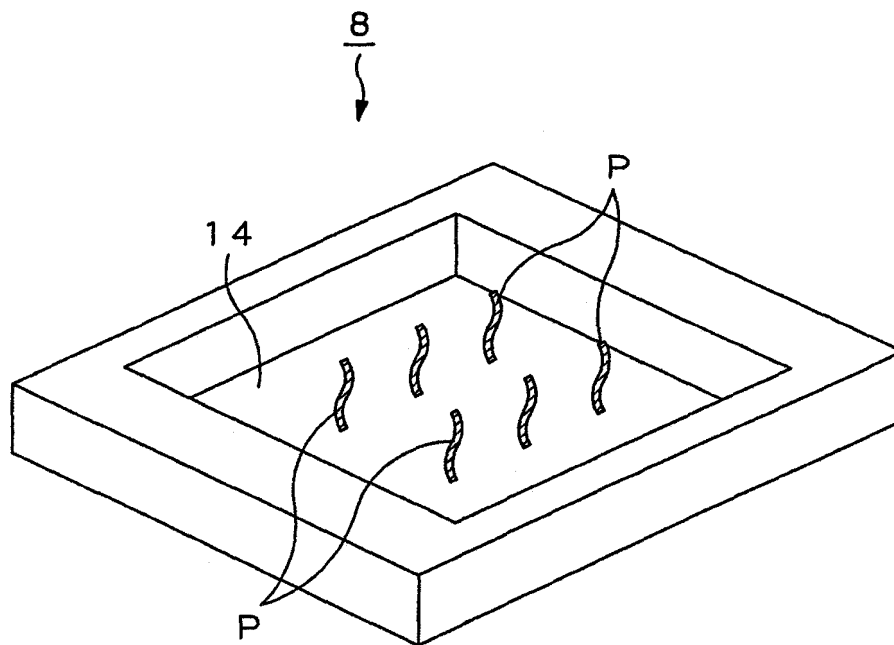


图 4

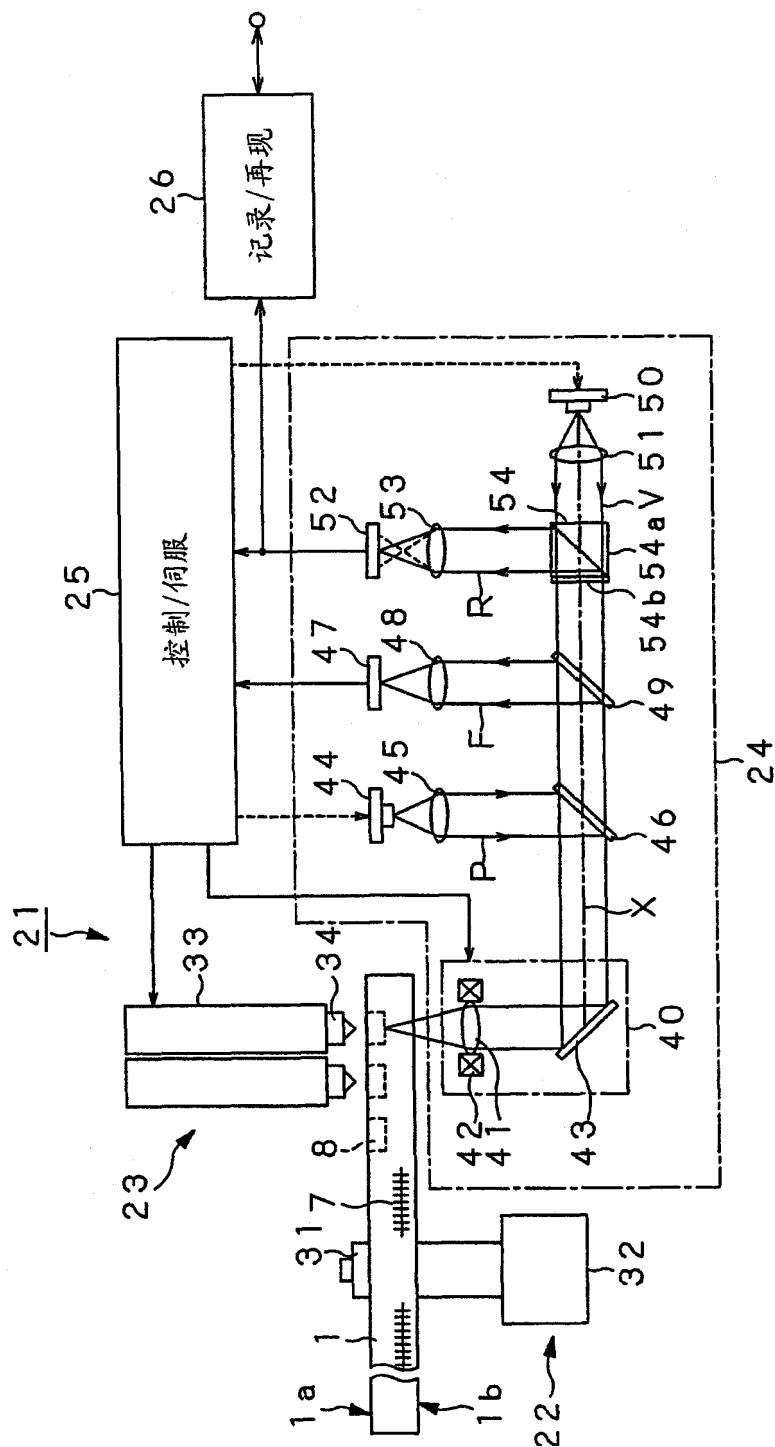


图 5

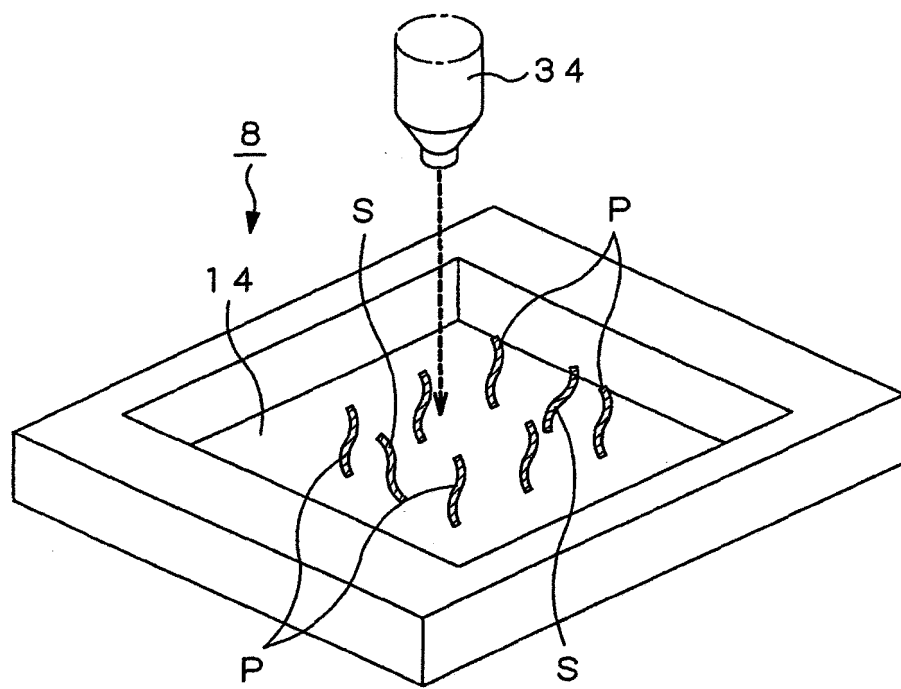


图 6

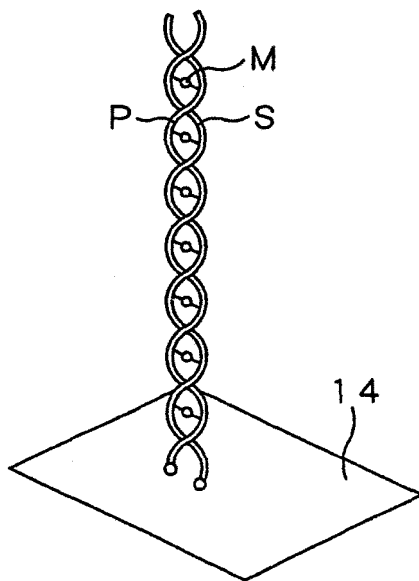


图 7