

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年1月9日(09.01.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/008972 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 21/64 (2006.01) *G01N 37/00* (2006.01)
G01N 21/05 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2019/025331
- (22) 国際出願日: 2019年6月26日(26.06.2019)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2018-129123 2018年7月6日(06.07.2018) JP
- (71) 出願人: 日本板硝子株式会社 (NIPPON SHEET GLASS COMPANY, LIMITED) [JP/JP];
- (72) 発明者: 小木 秀也 (OGI Shuya); 〒1086321 東京都港区三田三丁目5番27号 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 森下 賢樹 (MORISHITA Sakaki); 〒1500021 東京都渋谷区恵比寿西2-11-12 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,

(54) Title: REACTION TREATMENT DEVICE

(54) 発明の名称: 反応処理装置

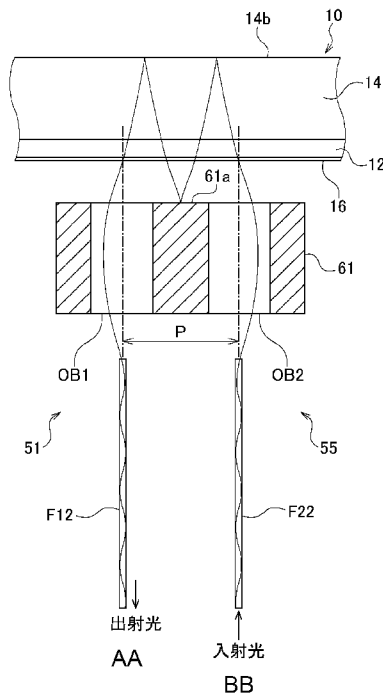


FIG. 5:
AA Emitted light
BB Incident light

(57) Abstract: This reaction treatment device is provided with: a reaction treatment container 10; a first optical head 51 provided with a first objective lens OB1 that irradiates a sample with first excitation light while concentrating first fluorescent light generated from the sample; a second optical head 55 provided with a second objective lens OB2 that irradiates a sample with second excitation light while concentrating second fluorescent light generated from the sample; and a holding member 61 for holding the first optical head 51 and the second



WO 2020/008972 A1

DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

optical head 55. The wavelength range of the first fluorescent light and the wavelength range of the second fluorescent light at least partially overlap. The distance P between the optical axis of the first objective lens OB1 and the optical axis of the second objective lens OB2 satisfies $2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P$, where $P_0 = L \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$, $P_1 = t_1 \cdot NA / \sqrt{n_1^2 - NA^2}$, $P_2 = t_2 \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$, and $P_3 = t_3 \cdot NA / \sqrt{n_3^2 - NA^2}$.

(57) 要約: 反応処理装置は、反応処理容器 10 と、第 1 励起光を試料に照射するとともに、試料から生じた第 1 蛍光を集光する第 1 対物レンズ OB1 を備える第 1 光学ヘッド 51 と、第 2 励起光を試料に照射するとともに、試料から生じた第 2 蛍光を集光する第 2 対物レンズ OB2 を備える第 2 光学ヘッド 55 と、第 1 光学ヘッド 51 および第 2 光学ヘッド 55 を保持する保持部材 61 を備える。第 1 蛍光の波長範囲と第 2 励起光の波長範囲は、少なくとも一部が重複している。第 1 対物レンズ OB1 の光軸と第 2 対物レンズ OB2 の光軸との間の距離 P は、 $2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P$ 、 $P_0 = L \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$ 、 $P_1 = t_1 \cdot NA / \sqrt{n_1^2 - NA^2}$ 、 $P_2 = t_2 \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$ 、 $P_3 = t_3 \cdot NA / \sqrt{n_3^2 - NA^2}$ を満たす。

明 細 書

発明の名称：反応処理装置

技術分野

[0001] 本発明は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR：Polymerase Chain Reaction）に使用される反応処理装置に関する。

背景技術

[0002] 遺伝子検査は、各種医学分野における検査、農作物や病原性微生物の同定、食品の安全性評価、さらには病原性ウイルスや各種感染症の検査にも広く活用されている。微量のDNAを高感度に検出するために、DNAの一部を増幅して得られたものを分析する方法が知られている。中でもPCRを用いた方法は、生体等から採取されたとく微量のDNAのある部分を選択的に増幅する注目の技術である。

[0003] PCRは、DNAを含む生体サンプルと、プライマーや酵素などからなるPCR試薬とを混合した試料に、所定のサーマルサイクルを与え、変性、アニーリングおよび伸長反応を繰り返し起こさせて、DNAの特定の部分を選択的に増幅させるものである。

[0004] PCRにおいては、対象の試料をPCRチューブまたは複数の穴が形成されたマイクロプレート（マイクロウェル）などの反応処理容器に所定量入れて行うことが一般的であるが、近年、基板に形成された微細な流路を備える反応処理容器（チップとも呼ばれる）を用いて行うことが実用化されてきている（例えば特許文献1）。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開2009-232700号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 上記のような流路を備える反応処理容器を用いたPCRでは、試料の定量

的な変化を検出するなどの目的のために蛍光検出装置が用いられる場合がある。試料に蛍光色素を添加し、PCRの間に蛍光検出装置を用いて試料に励起光を照射し、試料から発せられる蛍光を検出する。DNAの増幅が進むにつれ試料から発せられる蛍光の強度が増加するので、その蛍光の強度値をPCRの進捗や反応の終端の判定材料としての指標とすることができる。

[0007] PCRでは、増幅対象によっては複数の蛍光色素を混ぜた試薬をもちいることが多く、この場合は蛍光検出装置を複数設置する必要がある。特に板状の反応処理容器内に形成された流路中を移動させながら、試料からの蛍光を検出するような反応処理装置においては、断面積が例えば 2 mm^2 以下の一本の流路を通過する試料からの蛍光を検出するために、流路の延長方向に複数の蛍光検出装置を配列する必要がある。

[0008] 例えば、PCRでO-157を増幅する場合は、VT1, VT2を同時に測定することになり、例えば東洋紡株式会社の検査キット(FIK-362)は、蛍光色素にROX(略緑色光の照射により励起され、略赤色の蛍光を発する蛍光色素であり、以下このような蛍光の特性を「緑励起/赤蛍光」と称する)、Cy5(赤励起/赤外蛍光)を使用している。この場合、2つの蛍光検出装置が必要となる。

[0009] また、ノロウイルスを検出する場合にはG1, G2を同時に測定することになり、例えばタカラバイオ株式会社の検査キット(RR255A)および東洋紡株式会社の検査キット(FIK-253)は共に、蛍光色素にFAM(青励起/緑蛍光)、ROX(緑励起/赤蛍光)、Cy5(赤励起/赤外蛍光)を使用している。この場合は3つの蛍光検出装置が必要となる。

[0010] このように複数の蛍光検出装置を用いて流路を通過する試料に対して蛍光検出を行う場合、蛍光検出装置間で干渉が生じる可能性がある。以下、例を挙げて説明する。

[0011] 蛍光色素として、FAMとROXを同時に試料に添加して使用する場合、ROXを励起するために照射する励起光の略緑色に相当する光の波長範囲と、FAMから発せられる蛍光の略緑色に相当する光の波長範囲が一部重なる

ことがある。その場合、R O Xを励起するために照射した励起光の一部が、F A Mから発せられる蛍光を検出するための光電変換素子などの光検出器に入ると、ノイズになり、高感度の測定をすることができない虞がある。通常、励起光の光量は数十 μ Wであり、一方、検出対象の蛍光の光量は数pW以下のオーダーである。蛍光検出装置はこのような微弱な光量の蛍光を検出するように構成されているところ、励起光がほんの一部でも該光検出器に到達してしまうと、大きなノイズとなって現れるからである。

[0012] また、蛍光色素としてR O XとC y 5を同時に試料に添加して使用する場合、C y 5を励起するために照射する励起光の略赤色の光の波長範囲と、R O Xから発せられる蛍光の略赤色に相当する光の波長範囲が一部重なることがある。この場合も、C y 5を励起するために照射した励起光の一部が、R O Xから発せられる蛍光を検出するための光検出器に入ると、ノイズになり、高感度の蛍光測定を行うことができない虞がある。

[0013] 本発明はこうした状況に鑑みてなされたものであり、その目的は、複数の蛍光検出装置を備える反応処理装置において、蛍光検出装置間の干渉を抑制できる技術を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0014] 上記課題を解決するために、本発明のある態様の反応処理装置は、試料が移動する流路が第1主面に形成された基板と、流路を封止するように第1主面上に設けられた流路封止フィルムとを備える反応処理容器と、第1励起光を流路中の試料に照射するとともに、第1励起光の照射により試料から生じた第1蛍光を集光する第1対物レンズを備える第1光学ヘッドと、第2励起光を流路中の試料に照射するとともに、第2励起光の照射により試料から生じた第2蛍光を集光する第2対物レンズを備える第2光学ヘッドと、第1光学ヘッドおよび第2光学ヘッドを保持する保持部材とを備える。第1光学ヘッドおよび第2光学ヘッドは、流路の長手方向に並んで配置され、第1蛍光の波長範囲と第2励起光の波長範囲は、少なくとも一部が重複しており、第1対物レンズの光軸と第2対物レンズの光軸との間の距離Pは、 $2 \cdot P_0 + 2$

・ $P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P$ 、ここで $P_0 = L \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$ 、 $P_1 = t_1 \cdot NA / \sqrt{n_1^2 - NA^2}$ 、 $P_2 = t_2 \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$ 、 $P_3 = t_3 \cdot NA / \sqrt{n_3^2 - NA^2}$ を満たす（ただし、 L は保持部材から流路封止フィルムまでの距離、 t_1 は流路封止フィルムの厚さ、 t_2 は流路の深さ、 t_3 は流路の底部から基板の第2主面までの厚さ、 NA は第1対物レンズおよび第2対物レンズの開口数、 n_1 は流路封止フィルムの屈折率、 n_3 は基板の屈折率）。

[0015] 距離 P は、さらに $1 \cdot (2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3) \leq P$ を満たし、さらに好ましくは $1 \cdot 2 \cdot (2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3) \leq P$ を満たしてもよい。

[0016] 距離 P は、 $P \leq S - 2 \times \Delta S$ （ただし、 S は第1光学ヘッドおよび第2光学ヘッドが配置される流路の直線部分の長さ、 ΔS は 1 mm ）を満たしてもよい。

[0017] 基板における流路の底部と第2主面との間に、励起光を吸収する光吸収層を備えてもよい。

[0018] 本発明の別の態様もまた、反応処理装置である。この装置は、試料が移動する流路が第1主面に形成された基板と、流路を封止するように第1主面上に設けられた流路封止フィルムとを備える反応処理容器と、第1励起光を流路中の試料に照射するとともに、第1励起光の照射により試料から生じた第1蛍光を集光する第1対物レンズを備える第1光学ヘッドと、第2励起光を流路中の試料に照射するとともに、第2励起光の照射により試料から生じた第2蛍光を集光する第2対物レンズを備える第2光学ヘッドと、第1光学ヘッドおよび第2光学ヘッドを保持する保持部材と、を備える。第1光学ヘッドおよび第2光学ヘッドは、流路の長手方向に並んで配置され、第1蛍光の波長範囲と第2励起光の波長範囲は、少なくとも一部が重複しており、基板に励起光を吸収する光吸収層が設けられる。

[0019] 光吸収層は、吸収係数 α が $\alpha \geq 0.58 / t_3'$ （ただし t_3' は光吸収層の厚さ）を満たすように形成されてもよい。

[0020] 光吸収層は、吸収係数 α が $\alpha \geq 0.75 / t_3'$ （ただし t_3' は光吸収層の厚さ）を満たすように形成されてもよい。

[0021] 光吸収層は、吸収係数 α が $\alpha \geq 1.15 / t_3'$ （ただし t_3' は光吸収層の厚さ）を満たすように形成されてもよい。

[0022] 光吸収層は、流路の底部と基板の第2主面との間に設けられてもよい。光吸収層は、基板の第2主面上に設けられてもよい。

発明の効果

[0023] 本発明によれば、複数の蛍光検出装置を備える反応処理装置において、蛍光検出装置間の干渉を抑制できる技術を提供できる。

図面の簡単な説明

[0024] [図1]図1(a)および図1(b)は、本発明の実施形態に係る反応処理装置で使用可能な反応処理容器を説明するための図である。

[図2]本発明の実施形態に係る反応処理装置を説明するための模式図である。

[図3]蛍光検出装置の構成を説明するための図である。

[図4]第1蛍光検出装置の第1光学ヘッドと第2蛍光検出装置の第2光学ヘッドが配置された状態を示す図である。

[図5]光学シミュレーションのモデルを示す図である。

[図6]2つの光学ヘッドの中心間距離の導出を説明するための図である。

[図7]本発明の実施例1において、2つの光学ヘッドの中心間距離を変えたときの相対ノイズ量の変化を示す図である。

[図8]本発明の実施例2において、2つの光学ヘッドの中心間距離を変えたときの相対ノイズ量の変化を示す図である。

発明を実施するための形態

[0025] 以下、本発明の実施形態に係る反応処理装置について説明する。各図面に示される同一または同等の構成要素、部材、処理には、同一の符号を付するものとし、適宜重複した説明は省略する。また、実施の形態は、発明を限定するものではなく例示であって、実施の形態に記述されるすべての特徴やその組み合わせは、必ずしも発明の本質的なものであるとは限らない。

[0026] 図1(a)および図1(b)は、本発明の実施形態に係る反応処理装置で使用可能な反応処理容器10を説明するための図である。図1(a)は、反応処理容器10の平面図であり、図1(b)は、反応処理容器10の正面図である。

[0027] 図1(a)および図1(b)に示すように、反応処理容器10は、基板14と、流路封止フィルム16とから成る。

[0028] 基板14は、温度変化に対して安定で、使用される試料溶液に対して侵されにくい材質から形成されることが好ましい。さらに、基板14は、成形性がよく、透明性やバリア性が良好で、且つ、低い自己蛍光性を有する材質から形成されることが好ましい。このような材質としては、ガラス、シリコン(Si)等の無機材料をはじめ、アクリル、ポリプロピレン、ポリエステル、シリコーンなどの樹脂、中でもシクロオレフィンが好適である。基板14の寸法の一例は、長辺75mm、短辺25mm、厚み4mmである。

[0029] 基板14の第1主面14aには溝状の流路12が形成されており、この流路12は、流路封止フィルム16により封止されている。基板14の第1主面14aに形成される流路12の寸法の一例は、幅0.7mm、深さ0.7mmである。基板14における流路12の一端の位置には、外部と連通する第1連通口17が形成されている。基板14における流路12の他端の位置には、第2連通口18が形成されている。流路12の両端に形成された一対の第1連通口17および第2連通口18は、基板14の第2主面14b(第1主面14aと反対側の面)に露出するように形成されている。このような基板は射出成形やNC加工機などによる切削加工によって作製することができる。

[0030] 図1(b)に示すように、基板14の第1主面14a上には、流路封止フィルム16が貼られている。実施形態に係る反応処理容器10において、流路12の大部分は基板14の第1主面14aに露出した溝状に形成されている。金型等を用いた射出成形により容易に成形できるようにするためである。この溝を封止して流路として活用するために、基板14の第1主面14a

上に流路封止フィルム16が貼られる。

[0031] 流路封止フィルム16は、一方の主面が粘着性や接着性を備えていてもよいし、押圧や紫外線などのエネルギー照射、加熱等により粘着性や接着性を発揮する機能層が一方の主面に形成されていてもよく、容易に基板14の第1主面14aと密着して一体化できる機能を備える。流路封止フィルム16は、粘着剤も含めて低い自己蛍光性を有する材質から形成されることが望ましい。この点でシクロオレフィン、ポリエステル、ポリプロピレン、ポリエチレンまたはアクリルなどの樹脂からなる透明フィルムが適しているが、これらに限定されない。また、流路封止フィルム16は、板状のガラスや樹脂から形成されてもよい。この場合はリジッド性が期待できることから、反応処理容器10の反りや変形防止に役立つ。

[0032] 流路12は、後述する反応処理装置により複数水準の温度の制御が可能な反応領域を備える。複数水準の温度が維持された反応領域を連続的に往復するように試料を移動させることにより、試料にサーマルサイクルを与えることができる。

[0033] 図1(a)および図1(b)に示す流路12の反応領域は、曲線部と直線部とを組み合わせた連続的に折り返す蛇行状の流路を含んでいる。後述の反応処理装置に反応処理容器10が搭載された際に、流路12の紙面右側が比較的高温(約95℃)の領域(以下、「高温領域」と称する)となり、流路12の左側がそれより低温(約60℃)の領域(以下、「低温領域」と称する)となることが予定されている。また流路12の反応領域は、高温領域と低温領域の間に両者を接続する接続領域を含む。この接続領域は、直線状の流路であってよい。

[0034] 本実施形態のように高温領域および低温領域を蛇行状の流路とした場合、後述の温度制御手段を構成するヒータ等の実効面積を有効に使うことができ、反応領域内での温度のばらつきを低減することが容易であるとともに、反応処理容器の実体的な大きさを小さくでき、反応処理装置を小さくできるという利点がある。

- [0035] サーマルサイクルに供される試料は、第1連通口17および第2連通口18のいずれか一方から流路12に導入される。導入の方法はこれらに限られないが、例えばピペットやスポイト、シリンジ等で該連通口から適量の試料を直接導入してもよい。あるいは、多孔質のPTFEやポリエチレンからなるフィルタが内蔵してあるコーン形状のニードルチップを介してコンタミネーションを防止しながらの導入方法であってもよい。このようなニードルチップは一般的に数多くの種類のものが販売され容易に入手でき、ピペットやスポイト、シリンジ等の先端に取り付けて使用することが可能である。さらにピペットやスポイト、シリンジ等による試料の吐出、導入後、さらに加圧して推すことにより流路の所定の場所まで試料を移動させてもよい。
- [0036] 試料としては、例えば、一または二以上の種類のDNAを含む混合物に、PCR試薬として蛍光色素、耐熱性酵素および4種類のデオキシリボヌクレオシド三リン酸(dATP、dCTP、dGTP、dTTP)を添加したものがあげられる。さらに反応処理対象のDNAに特異的に反応するプライマー、さらに、場合によってはTaqMan等の蛍光プローブを混合する(TaqMan/タックマンはロシュ ダイアグノスティックズゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツングの登録商標)。市販されているリアルタイムPCR用試薬キット等も使用することができる。
- [0037] 図2は、本発明の実施形態に係る反応処理装置30を説明するための模式図である。
- [0038] 本実施形態に係る反応処理装置30は、反応処理容器10が載置される反応処理容器載置部(図示せず)と、温度制御システム32と、CPU36とを備える。温度制御システム32は、図2に示すように、反応処理容器載置部に載置される反応処理容器10に対して、反応処理容器10の流路12における紙面右側の領域を約95℃(高温領域)、紙面左側の領域を約60℃(低温領域)に精度よく維持、制御できるように構成されている。
- [0039] 温度制御システム32は、反応領域の各温度領域の温度を維持するものであって、具体的には、流路12の高温領域を加熱するための高温用ヒータ6

0と、流路12の低温領域を加熱するための低温用ヒータ62と、各温度領域の実温度を計測するための例えば熱電対等の温度センサ（図示せず）と、高温用ヒータ60の温度を制御する高温用ヒータドライバ33と、低温用ヒータ62の温度を制御する低温用ヒータドライバ35とを備える。温度センサによって計測された実温度情報は、CPU36に送られる。CPU36は、各温度領域の実温度情報に基づいて、各ヒータの温度が所定の温度となるよう各ヒータドライバを制御する。各ヒータは例えば抵抗加熱素子やペルチェ素子等であってよい。温度制御システム32はさらに、各温度領域の温度制御性を向上させるための他の要素部品を備えてもよい。

[0040] 本実施形態に係る反応処理装置30は、さらに、反応処理容器10の流路12内に導入された試料20を流路12内で移動させるための送液システム37を備える。送液システム37は、第1ポンプ39と、第2ポンプ40と、第1ポンプ39を駆動するための第1ポンプドライバ41と、第2ポンプ40を駆動するための第2ポンプドライバ42と、第1チューブ43と、第2チューブ44とを備える。

[0041] 反応処理容器10の第1連通口17には、第1チューブ43の一端が接続される。第1連通口17と第1チューブ43の一端の接続部には、気密性を確保するためのパッキン45やシールが配置されることが好ましい。第1チューブ43の他端は、第1ポンプ39の出力に接続される。同様に、反応処理容器10の第2連通口18には、第2チューブ44の一端が接続される。第2連通口18と第2チューブ44の一端の接続部には、気密性を確保するためのパッキン46やシールが配置されることが好ましい。第2チューブ44の他端は、第2ポンプ40の出力に接続される。

[0042] 第1ポンプ39、第2ポンプ40は、例えばダイヤフラムポンプからなるマイクロブローポンプであってよい。第1ポンプ39、第2ポンプ40としては、例えば株式会社村田製作所製のマイクロブローポンプ（型式MZB1001T02）などを使用することができる。このマイクロブローポンプは、動作時に一次側より二次側の圧力を高めることができるが、停止した瞬間

または停止時には一次側と二次側の圧力が等しくなる。

[0043] CPU36は、第1ポンプドライバ41、第2ポンプドライバ42を介して、第1ポンプ39、第2ポンプ40からの送風や加圧を制御する。第1ポンプ39、第2ポンプ40からの送風や加圧は、第1連通口17、第2連通口18を通じて流路内の試料20に作用し、推進力となって試料20を移動させる。より詳細には、第1ポンプ39、第2ポンプ40を交互に動作させることにより、試料20のいずれかの端面にかかる圧力が他端にかかる圧力より大きくなるため、試料20の移動に係る推進力が得られる。第1ポンプ39、第2ポンプ40を交互に動作させることによって、試料20を流路内で往復式に移動させて、反応処理容器10の流路12の各温度領域で停止させることができ、その結果、試料20にサーマルサイクルを与えることが可能となる。より具体的には、高温領域において変性、低温領域においてアニーリング・伸長の各工程を繰り返し与えることにより、試料20中の目的のDNAを選択的に増幅させる。言い換えれば高温領域は変性温度域、低温領域はアニーリング・伸長温度域とみなすことができる。また各温度領域に滞留する時間は、試料20が各温度領域の所定の位置で停止する時間を変えることによって適宜設定することができる。

[0044] 本実施形態に係る反応処理装置30は、さらに、第1蛍光検出装置50および第2蛍光検出装置54を備える。上述したように、試料20には所定の蛍光色素が添加されている。DNAの増幅が進むにつれ試料20から発せられる蛍光信号の強度が増加するので、その蛍光信号の強度値をPCRの進捗や反応の終端の判定材料としての指標とすることができる。

[0045] 第1蛍光検出装置50および第2蛍光検出装置54としては、非常にコンパクトな光学系で、迅速に測定でき、かつ明るい場所か暗い場所かにもかわらず、蛍光を検出することができる日本板硝子株式会社製の光ファイバ型蛍光検出器FLE-510を使用することができる。この光ファイバ型蛍光検出器は、その励起光／蛍光の波長特性を試料20の発する蛍光特性に適するようにチューニングしておくことができ、様々な特性を有する試料につい

て最適な光学・検出系を提供することが可能であり、さらに光ファイバ型蛍光検出器によってもたらされる光線の径の小ささから、流路などの小さいまたは細かい領域に存在する試料からの蛍光を検出するのに適している。

[0046] 第1蛍光検出装置50は、第1光学ヘッド51と、第1蛍光検出用励起光源／検出器モジュール52と、第1光学ヘッド51と第1蛍光検出用励起光源／検出器モジュール52とを接続する光ファイバF12とを備える。同様に、第2蛍光検出装置54は、第2光学ヘッド55と、第2蛍光検出用励起光源／検出器モジュール56と、第2光学ヘッド55と第2蛍光検出用励起光源／検出器モジュール56とを接続する光ファイバF22とを備える。

[0047] 第1蛍光検出用励起光源／検出器モジュール52、第2蛍光検出用励起光源／検出器モジュール56にはそれぞれ、励起光用光源、波長合分波器、蛍光検出器、これらを制御するためのドライバ等が含まれている。第1光学ヘッド51、第2光学ヘッド55はそれぞれ、レンズ等の光学系からなり、励起光の試料への指向性照射と試料から発せられる蛍光の集光の機能を担う。第1光学ヘッド51、第2光学ヘッド55で集光された蛍光はそれぞれ、光ファイバF12、F22を通じて第1蛍光検出用励起光源／検出器モジュール52、第2蛍光検出用励起光源／検出器モジュール56内の波長合分波器により励起光と分けられ、蛍光検出器によって電気信号に変換される。蛍光検出装置の構成の詳細については後述する。

[0048] 本実施形態に係る反応処理装置30においては、高温領域と低温領域とを接続する接続領域内の一部の領域12a（「第1蛍光検出領域12a」と称する）を通過する試料20から蛍光を検出することができるように第1光学ヘッド51が配置される。また、接続領域内の別の一部の領域12b（「第2蛍光検出領域12b」と称する）を通過する試料20から蛍光を検出することができるように第2光学ヘッド55が配置される。試料20は流路内を繰り返し往復移動させられることで反応が進み、試料20に含まれる所定のDNAが増幅するので、検出された蛍光の量の変動をモニタリングすることで、DNAの増幅の進度をリアルタイムで知ることができる。

- [0049] 図3は、蛍光検出装置の構成を説明するための図である。図3では、第1蛍光検出装置50の構成を説明するが、第2蛍光検出装置54もバンドパスフィルタの中心波長が異なる点を除き、同じ構成である。
- [0050] 図3に示すように、第1蛍光検出装置50は、第1光学ヘッド51と、第1蛍光検出用励起光源／検出器モジュール52と、第1光学ヘッド51と第1蛍光検出用励起光源／検出器モジュール52とを接続する光ファイバF12とを備える。第1蛍光検出用励起光源／検出器モジュール52は、第1励起光源64と、第1波長合分波器65と、第1蛍光検出器66とを備え、これらの機能性要素は光ファイバで接続されており、励起光および蛍光は光ファイバ内を伝搬する。
- [0051] 第1励起光源64の近傍には、第1励起光源64から出射された励起光が透過するようにバンドパスフィルタA1が配置される。第1波長合分波器65は、バンドパスフィルタB1を有している。第1蛍光検出器66の近傍には、第1蛍光検出器66に入射する蛍光が透過するようにバンドパスフィルタC1が配置される。これらのバンドパスフィルタの波長特性は、例えばFAMなどの蛍光色素の励起／蛍光に関わる波長特性に応じて設計される。それぞれのバンドパスフィルタは、特定の波長の範囲の光を高い効率で透過（例えば透過率75%以上）させ、それ以外の波長の光を高い効率で反射させる（例えば反射率が75%以上；望ましくは85%以上）分光機能を有する。
- [0052] 本実施形態において第1蛍光検出装置50は、FAMを蛍光色素として含有する試料からの蛍光を検出可能に構成される。
- [0053] 第1励起光源64は、後に目的の波長の光を分光することができる光源であれば特に限定されず、例えばLDやLED、白色光源などを用いることができる。第1励起光源64から出射した励起光は、バンドパスフィルタA1によって分光され、中心波長を約470nmとする所定の範囲の波長の光（以下「励起光OE1」と称する）のみが光ファイバF11内を伝搬する。
- [0054] 励起光OE1は、第1波長合分波器65に入射し、レンズL1によってコ

リメートされたのちにバンドパスフィルタB 1に到達する。バンドパスフィルタB 1は励起光OE 1を反射するように設計されているので、励起光OE 1はレンズL 1によって再び集光され、光ファイバF 1 2に入射する。励起光OE 1は光ファイバF 1 2内を伝搬し、第1光学ヘッド5 1に到達する。第1光学ヘッド5 1には第1対物レンズOB 1が備えられており、励起光OE 1は所定の作動距離で試料2 0に励起光として照射される。図3では、第1対物レンズOB 1として、屈折率分布型レンズを用いた例を示している。

[0055] 励起光OE 1が試料2 0に照射されると、試料2 0内の蛍光色素が励起され、試料2 0から蛍光OF 1が出射される。蛍光OF 1は第1光学ヘッド5 1の第1対物レンズOB 1によって集光され、光ファイバF 1 2に入射し、光ファイバF 1 2内を伝搬する。蛍光OF 1は、第1波長合分波器6 5に入射し、レンズL 1によってコリメートされたのちにバンドパスフィルタB 1に到達する。

[0056] 一般的に、励起光の照射により生じる蛍光の波長は、励起光の波長よりも長くなる。すなわち、励起光の中心波長を λ_e とし、蛍光の中心波長を λ_f とすると、 $\lambda_e < \lambda_f$ である。そこで、蛍光OF 1のみを第1蛍光検出器6 6に導くために、バンドパスフィルタB 1として、波長 λ_e の光を反射し、波長 λ_f の光を透過させるようなスペクトル特性を有するものを用いる。バンドパスフィルタB 1は、蛍光OF 1のうち励起光OE 1の波長と重ならない範囲の波長の光を透過するように設計されている。バンドパスフィルタB 1を通過した蛍光OF 1は、レンズL 2によって集光され光ファイバF 1 3に入射する。また、バンドパスフィルタB 1は、励起光を反射し蛍光を透過させる機能を有するので、それらの中心波長に対応して、 λ_e を含む波長範囲の光を反射し λ_f を含む波長範囲の光を透過させることのできるエッジフィルタをバンドパスフィルタの代わりに使用することができる。

[0057] 光ファイバF 1 3内を伝搬した蛍光OF 1は、第1蛍光検出器6 6に到達する。波長域を厳密に調整するために、蛍光OF 1は第1蛍光検出器6 6に入射する前にバンドパスフィルタC 1を通過してもよい。第1蛍光検出器6

6には、バンドパスフィルタB1とC1を通過した、中心波長を約530nmとする所定の範囲の波長の光のみが入射する。第1蛍光検出器66は、例えばPDやAPD、フォトマル（フォトマルチプライヤー）などの光電変換素子である。第1蛍光検出器66によって電気的信号に変換された信号は、後述の信号処理がなされる。

[0058] 図3に示す第1蛍光検出装置50において、各要素は、光を効率よく伝送や結合をさせたり、バンドパスフィルタの利用効率を向上させるためのレンズを含んでもよい。レンズとしては屈折率分布レンズ、ボールレンズや非球面レンズなどを用いることができる。また、図3に示す第1蛍光検出装置50において、光ファイバF11、F12およびF13はシングルモードファイバまたはマルチモードファイバなどを用いることができる。

[0059] 上記のように構成された第1蛍光検出装置50は、中心波長が470nmであり波長範囲が約450~490nmの光を第1励起光OE1として試料に照射し、試料から発せられた、中心波長が530nmであり波長範囲が約510~550nmである第1蛍光OF1を検出する。波長に関する特性は、上記のように各バンドパスフィルタの透過または反射特性の組み合わせによって決定され、それらの変更やカスタマイズも可能であることは当業者が理解できるところである。

[0060] 一方、本実施形態において第2蛍光検出装置54は、ROXを蛍光色素として含有する試料からの蛍光を検出可能に構成される。第2蛍光検出装置54は、中心波長が530nmであり波長範囲が約510~550nmの光を第2励起光OE2として試料に照射し、中心波長が610nmであり波長範囲が約580~640nmである第2蛍光OF2を検出する。

[0061] 図4は、第1蛍光検出装置50の第1光学ヘッド51と第2蛍光検出装置54の第2光学ヘッド55が配置された状態を示す。第1光学ヘッド51は、流路12の第1蛍光検出領域12aを通過する試料20から蛍光を検出できるように配置される。第2光学ヘッド55は、流路12の第2蛍光検出領域12bを通過する試料20から蛍光を検出できるように配置される。第1

光学ヘッド51および第2光学ヘッド55は、保持部材（図4には図示せず、図5参照）により保持される。

[0062] 図4に示すように、第1光学ヘッド51は、光ファイバF12内を伝搬した第1励起光OE1を第1対物レンズOB1で集光して第1蛍光検出領域12aを通過する試料20に照射し、試料20から発生した第1蛍光OF1を第1対物レンズOB1で集光して光ファイバF12に入射させる。同様に、第2光学ヘッド55は、光ファイバF22内を伝搬した第2励起光OE2を第2対物レンズOB2で集光して第2蛍光検出領域12bを通過する試料20に照射し、試料20から発生した第2蛍光OF2を第2対物レンズOB2で集光して光ファイバF22に入射させる。

[0063] 第1対物レンズOB1、第2対物レンズOB2としては、パワーが正のレンズまたはレンズ群、例えば屈折率分布レンズであるセルフオック（登録商標）マイクロレンズを使用することができる。第1対物レンズOB1、第2対物レンズOB2は、例えば直径が1.8mm、開口数（NA）が0.23、作動距離（WD）が1mm～3mmのものを使用できる。

[0064] 本実施形態において、第1蛍光検出装置50の第1励起光源は、第1変調信号によって変調され、点滅発光する。同様に、第2蛍光検出装置54の第2励起光源は、第2変調信号によって変調され、点滅発光する。

[0065] 本実施形態では、一本の流路12を通過する試料20を検出するために、第1光学ヘッド51および第2光学ヘッド55が流路12の長手方向に並んで配置される。上述したように、第1蛍光検出装置50は、中心波長が470nmであり波長範囲が約450～490nmの第1励起光OE1を照射し、中心波長が530nmであり波長範囲が約510～550nmである第1蛍光OF1を検出する。また、第2蛍光検出装置54は、中心波長が530nmであり波長範囲が約510～550nmの第2励起光OE2を照射し、中心波長が610nmであり波長範囲が約580～640nmである第2蛍光OF2を検出する。したがって、第2励起光OE2の波長範囲（約510～550nm）と、第1蛍光OF1の波長範囲（約510～550nm）は

、重複している。この場合、第2光学ヘッド55から照射された第2励起光OE2の一部が第1光学ヘッド51で検出されると、この第2励起光OE2は第1光学ヘッド51の後段のバンドパスフィルタB1、C1では除去されず、第1蛍光検出器66に到達する虞がある。この第2励起光OE2は第1蛍光検出器66においてはノイズであり、本来検出すべき第1蛍光OF1を検出できない虞がある。

[0066] 第1光学ヘッド51と第2光学ヘッド55を十分離間して配置すればこのような問題は生じないが、この場合は反応処理装置30のサイズが大型化する。本発明者は、このような背反する課題を解決すべく、2つの光学ヘッドを並べて配置した場合に一方の光学ヘッドから照射された励起光が他方の光学ヘッドにノイズとして回り込む現象を、光学シミュレーションにより解析した。

[0067] 図5は、光学シミュレーションのモデルを示す図である。本光学シミュレーションでは、第1対物レンズOB1および第2対物レンズOB2は、直径1.8mm、中心屈折率1.616 (@530nm)、 \sqrt{A} (光学定数) 0.346 mm^{-1} (@530nm)、レンズ長4.45mmの屈折率分布型レンズとした。光ファイバF12、F22は、コア径200 μm 、クラッド径220 μm 、NA0.3のマルチモードファイバとした。対物レンズとマルチモードファイバとの間の作動距離は1.8mmとした。

[0068] また図5に示すように、第1対物レンズOB1および第2対物レンズOB2は、ステンレス製の保持部材61により保持されるものとした。第1対物レンズOB1の光軸と第2対物レンズOB2の光軸との間の距離を「中心間距離P」と呼ぶ。第1対物レンズOB1、第2対物レンズOB2の側面は、厚さ10 μm のエポキシ接着剤層を介して保持部材61に固定される。また、保持部材61の上面61aは、第1対物レンズOB1、第2対物レンズOB2の励起光出射側端面と面一となっている。

[0069] 反応処理容器10に関しては、基板14として、厚み4mmのシクロオレフィンポリマ製基板 (屈折率1.53) を用いた。基板14の下面には、幅

0.7 mm、深さ0.7 mmの断面正形状の流路12を形成し、流路12の下面を厚さ0.1 mmの流路封止フィルム16（シクロオレフィンポリマ製、屈折率1.53）で封止した。本光学シミュレーションでは、流路12中に、流路が空の場合は屈折率1の物質（空気に対応）が存在し、流路に試料がある場合は屈折率1.333の物質（水に対応）が存在するモデルを採用した。

[0070] 対物レンズと試料との間の距離は、等倍結像系となる作動距離1.8 mm（対物レンズとマルチモードファイバとの間の作動距離と合わせる）を基準とし、光路中に流路封止フィルム16が存在することによる結像位置のずれ分だけ補正して（遠ざけて）、流路12の下面（流路封止フィルム16の上面）が結像位置となるようにした。

[0071] 以上のようなモデルを構成して、光ファイバF22の第2対物レンズOB2と逆側の端面に光を入射させて第2対物レンズOB2から光を照射した場合について、光学シミュレーションを行った。光学シミュレーションの結果が図5に図示されている。

[0072] 図5に示すように、第2光学ヘッド55の第2対物レンズOB2から発せられた光線（励起光に対応）は、流路12を透過して基板14の第2主面14bで反射され、その反射光が流路12を逆向きに透過する。その後、光線は2つの対物レンズ間の保持部材61の上面61aで反射され、再び流路12を透過して基板14の第2主面14bで反射される。その反射光が再度流路12を逆向きに透過して第1光学ヘッド51の第1対物レンズOB1で受光され、光ファイバF12を通して出射される。本光学シミュレーションから、このような光路により、一方の光学ヘッドから照射された励起光が他方の光学ヘッドにノイズとして回り込むことが分かった。

[0073] 図6は、2つの光学ヘッドの中心間距離Pの導出を説明するための図である。図5で説明したように、第2光学ヘッド55の第2対物レンズOB2から出射して第1光学ヘッド51の第1対物レンズOB1で受光される光線について、第2対物レンズOB2から出射する光線が第2対物レンズOB2の

光軸となす角（流路封止フィルム16に対する入射角）を θ 、第2対物レンズOB2と流路封止フィルム16の間の空気層63と流路封止フィルム16との界面での屈折角を θ_1 、流路封止フィルム16と流路12との界面での屈折角を θ_2 、流路12と基板14との界面での屈折角を θ_3 、流路封止フィルム16の屈折率を n_1 、流路12の屈折率を n_2 （流路12内に試料が存在する場合と存在しない場合（すなわち空気の場合）で異なる）、基板14の屈折率を n_3 とすると、各界面に対してスネルの法則を適用することにより、以下の（1）式が成り立つ。

$$\sin \theta = n_1 \cdot \sin \theta_1 = n_2 \cdot \sin \theta_2 = n_3 \cdot \sin \theta_3 \quad \dots (1)$$

[0074] また、幾何学的対称性を考慮して、2つの光学ヘッドの中心間距離Pは、光路の流路長手方向成分の和として以下の（2）式のように表すことができる。

$$\begin{aligned} P &= (L \cdot \tan \theta + t_1 \cdot \tan \theta_1 + 2 \cdot t_2 \cdot \tan \theta_2 + 2 \cdot t_3 \cdot \tan \theta_3) \times 2 \\ &= 2 \cdot L \cdot \tan \theta + 2 \cdot t_1 \cdot \tan \theta_1 + 4 \cdot t_2 \cdot \tan \theta_2 + 4 \cdot t_3 \cdot \tan \theta_3 \quad \dots (2) \end{aligned}$$

（2）式において、Lは保持部材61の上面61aから流路封止フィルム16までの距離（mm）、 t_1 は流路封止フィルム16の厚さ（mm）、 t_2 は流路12の深さ（mm）、 t_3 は流路12の底部から基板14の第2主面14bまでの厚さ（mm）である。

[0075] $\sin \theta$ と $\tan \theta$ の間には、以下の（3）式の関係が成り立つ。

$$1 / \tan^2 \theta + 1 = 1 / \sin^2 \theta \quad \dots (3)$$

（3）式を変形すると、以下の（4）式が得られる。

$$\tan \theta = \sin \theta / \sqrt{1 - \sin^2 \theta} \quad \dots (4)$$

[0076] （4）式の関係をもとに（2）式に適用すると、以下の（5）式が得られる。

$$P = 2 \cdot L \cdot \sin \theta / \sqrt{1 - \sin^2 \theta} + 2 \cdot t_1 \cdot \sin \theta_1 / \sqrt{1 - \sin^2 \theta_1} + 4 \cdot t_2 \cdot \sin \theta_2 / \sqrt{1 - \sin^2 \theta_2} + 4 \cdot t_3$$

$$\cdot \sin \theta_3 / \sqrt{(1 - \sin^2 \theta_3)} \quad \dots (5)$$

(5) 式に (1) 式を代入すると、以下の (6) 式が得られる。

$$P = 2 \cdot L \cdot \sin \theta / \sqrt{(1 - \sin^2 \theta)} + 2 \cdot t_1 \cdot \sin \theta / (\sqrt{(n_1^2 - \sin^2 \theta)}) + 4 \cdot t_2 \cdot \sin \theta / \sqrt{(n_2^2 - \sin^2 \theta)} + 4 \cdot t_3 \cdot \sin \theta / \sqrt{(n_3^2 - \sin^2 \theta)} \quad \dots (6)$$

[0077] (6) 式において、右辺の第3項は、 n_2 が小さいとき（すなわち流路12に試料が入っておらず、空気するとき）に大きくなり、中心間距離Pは、 θ が最大値 θ_{max} （開き角）のとき、すなわち光学ヘッドの対物レンズのNAに対応する θ のときに最大値 P_{max} となる。

[0078] 以上より、 θ_{max} に対応する開口数をNAとすると、 P_{max} は、以下の (7) 式のように表すことができる。

$$P_{max} = 2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 \quad \dots (7)$$

$$\text{ただし、} P_0 = L \cdot NA / \sqrt{(1 - NA^2)}$$

$$P_1 = t_1 \cdot NA / \sqrt{(n_1^2 - NA^2)}$$

$$P_2 = t_2 \cdot NA / \sqrt{(1 - NA^2)}$$

$$P_3 = t_3 \cdot NA / \sqrt{(n_3^2 - NA^2)}$$

[0079] 2つの光学ヘッドの中心間距離Pを (7) 式で表される P_{max} よりも大きくすれば、一方の光学ヘッド（第2光学ヘッド55）から照射された励起光の他方の光学ヘッド（第1光学ヘッド51）への回り込みを回避できる。すなわち、本実施形態に係る反応処理装置30において、中心間距離Pは以下の (8) 式を満たす。

$$P_{max} = 2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P \quad \dots (8)$$

中心間距離Pが (8) 式を満たすように光学ヘッドを配置することにより、一方の光学ヘッドから照射された励起光の他方の光学ヘッドへの回り込みを回避できるので、蛍光検出装置間の干渉を抑制できる。その結果、安定した蛍光信号が得られ、良好な測定精度を有する反応処理装置を実現することができる。

[0080] ここで、各パラメータの誤差等を考慮して、 $1.1 \times P_{max} \leq P$ （すなわち

安全率 1.1) とすることが好ましく、 $1.2 \times P_{max} \leq P$ (すなわち安全率 1.2) とすることがさらに好ましい。

[0081] 上記では、中心間距離 P の下限について説明したが、中心間距離 P の上限は、2つの光学ヘッドを配置する流路 12 の直線部分の長さ S (mm) に応じて定めることができる。流路 12 の直線部分の長さ S は、流路 12 における接続領域の長さである (図1参照)。第1光学ヘッド 51 および第2光学ヘッド 55 はそれぞれ、流路 12 の直線部分の端から所定長 ΔS (mm) だけ内側に光軸が位置するように配置されることが好ましい。すなわち、2つの光学ヘッドは、中心間距離 P が $P \leq S - 2 \times \Delta S$ を満たすように配置されることが好ましい。例えば ΔS は 1 mm であってよい。このように光学ヘッドを配置することにより、安定した蛍光検出を行うことができる。

[0082] なお、上述の実施形態では、流路 12 を断面正方形の流路としたが、流路 12 の断面形状は、例えば長方形、台形、半円形、その他の任意の形状であってよく、光学ヘッドの光軸と交わる点を流路 12 の底部として、上記と同様に扱うことができる。

[0083] 上述の実施形態において、基板 14 における流路 12 の底部と第2主面 $14b$ との間に、励起光を吸収する光吸収層を設けてもよい。図5に示すように、一方の光学ヘッド (第2光学ヘッド 55) からノイズ光として他方の光学ヘッド (第1光学ヘッド 51) に回り込む励起光は、基板 14 における流路 12 の底部と第2主面 $14b$ との間を4回透過している。従って、基板 14 における流路 12 の底部と第2主面 $14b$ との間に光吸収層を設けることにより、一方の光学ヘッドから他方の光学ヘッドに回り込むノイズ光を減衰させることができるので、より確実に蛍光検出装置間の干渉を抑制できる。

[0084] 次に、本発明の実施例を説明する。

(実施例1)

実施例1では、図5に示す構成において、反射光を強調して評価するために2つの対物レンズ間の保持部材 61 の上面 $61a$ を鏡面 (上面 $61a$ に到達した光がスネルの法則に従って反射する面) とし、第2光学ヘッド 55 の

光ファイバF22の端面の近傍から、 $\phi 200\ \mu\text{m}$ (マルチモードファイバのコア径に対応) 且つランバシャン 17.5° (マルチモードファイバのNA (0.3) に対応) の条件で、光ファイバF22に向けて25000本の光線 (波長 $530\ \text{nm}$) を出射させ、第1光学ヘッド51の光ファイバF12の端面の近傍に配置した評価面に到達する光線の強度を光学シミュレーションにより求めた。2つの光学ヘッドの中心間距離Pを $2.5\ \text{mm}\sim 8.0\ \text{mm}$ の範囲で変えたときの光線の相対強度の変化を図7に示す。

[0085] 上記(7)式に $L=1.735\ \text{mm}$ 、 $NA=0.3$ 、 $t_1=0.1\ \text{mm}$ 、 $t_2=0.7\ \text{mm}$ 、 $t_3=3.3\ \text{mm}$ 、 $n_1=1.53$ 、 $n_3=1.53$ の各パラメータを代入すると、 $P_{\text{max}}=4.65\ \text{mm}$ と求められる。上記において、 $P_{\text{max}}<P$ とすることで一方の光学ヘッドからの励起光が他方の光学ヘッドに回り込むことを防止できることを説明したが、図7に示すシミュレーション結果から、 $P_{\text{max}}=4.65\ \text{mm}<P$ のときに、ノイズを十分小さく抑えられる (相対ノイズ量が約0.1以下) ことが確認できた。また、 $1.1\times P_{\text{max}}=5.12\ \text{mm}\leq P$ のときに、ノイズをより小さく抑えることができ (相対ノイズ量が約0.1未満)、 $1.2\times P_{\text{max}}=5.58\ \text{mm}\leq P$ のときに、確実にノイズの発生を抑えることができる (相対ノイズ量が0.05未満) ことが確認できた。

[0086] なお、実施例1では、対物レンズとして $NA=0.3$ のマルチモードファイバからの出射光を有効に取り込むことのできる仕様の屈折率分布型レンズを用いており、且つ、対物レンズの入射側・出射側の作動距離が等しくなるような構成 (等倍結像系) にしている。したがって、流路封止フィルム16がない状態で光軸上の焦点位置から入射光線を見込む角度である開き角に対応するNAは、マルチモードファイバからの出射光のNAと概略等しいと見なすことができる。

[0087] (実施例2)

実施例2では、第2光学ヘッド55の第2対物レンズOB2の出射端面に $\phi 0.8\ \text{mm}$ のピンホールを配置した。それ以外の条件は実施例1と同様と

し、評価面に到達する光線の強度を光学シミュレーションにより求めた。2つの光学ヘッドの中心間距離Pを2.5mm~6.0mmの範囲で変えたときの光線の相対強度の変化を図8に示す。

[0088] 実施例2におけるNAは、流路封止フィルム16がない状態での光軸上の焦点位置からピンホールの開口を見込む角度の正弦として、 $NA = \sin \theta = \sin (\tan^{-1} (0.4 / 1.8)) = 0.22$ と求められる。上記(7)式に $L = 1.735 \text{ mm}$ 、 $NA = 0.22$ 、 $t_1 = 0.1 \text{ mm}$ 、 $t_2 = 0.7 \text{ mm}$ 、 $t_3 = 3.3 \text{ mm}$ 、 $n_1 = 1.53$ 、 $n_3 = 1.53$ の各パラメータを代入すると、 $P_{\max} = 3.36 \text{ mm}$ と求められる。図8に示すシミュレーション結果から、 $P_{\max} = 3.36 \text{ mm} < P$ のときに、ノイズを十分小さく抑えられる(相対ノイズ量が約0.1以下)ことが確認できた。また、 $1.1 \times P_{\max} = 3.70 \text{ mm} \leq P$ のときに、ノイズをより小さく抑えることができ(相対ノイズ量が約0.1未満)、 $1.2 \times P_{\max} = 4.03 \text{ mm} \leq P$ のときに、確実にノイズの発生を抑えることができる(相対ノイズ量が0.05未満)ことが確認できた。

[0089] 次に、本発明の別の実施形態について説明する。上述の実施形態では、励起光波長と蛍光波長とが互いに重なる2つの光学ヘッドを並べて配置する場合に、2つの光学ヘッドの中心間距離Pが(8)式を満たすように構成することで、一方の光学ヘッドから照射された励起光の他方の光学ヘッドへの回り込みを抑制している。しかしながら、図7、図8に示す光学シミュレーションの結果から、基板14に設けた光吸収層によりノイズ光の強度を一桁低減(すなわち10%に低減)することができれば、2つの光学ヘッドの中心間距離Pが(7)式に示す P_{\max} 以下の場合でも、ノイズ量を許容レベルにすることが期待できる。

[0090] 一般に、入射光強度を I_0 、出射光強度を I とすると、物質の吸光度は、 $-\ln(I/I_0)$ で表すことができる。基板14の光吸収層を4回透過してノイズ光を10%とするためには、光吸収層の吸光度を $-1/4 \cdot \ln(0.1) \doteq 0.58$ とすればよい。したがって、基板14の光吸収層の吸光度A

が、 $A \geq 0.58$ を満たしていれば、一方の光学ヘッドから他方の光学ヘッドに回り込むノイズ光の強度を10%以下に低減できることになる。実際の光線は、図6に示すように、基板14の光吸収層に対して θ_3 の角度で入射する。光吸収層の厚さを t_3' とすると、光吸収層を1回透過する際の光路長は $t_3' / \cos \theta_3$ となるが、余裕をみて最小値 t_3' を光路長として扱い、厚さ t_3' で吸収係数 $\alpha \geq 0.58 / t_3'$ を満たすように光吸収層を設ければよい。このような光吸収層を基板14に設けることにより、一方の光学ヘッドから他方の光学ヘッドに回り込むノイズ光を減らすことができるので、蛍光検出装置間の干渉を抑制できる。

[0091] 上記ではノイズ光を10%まで低減する光吸収層を説明したが、ノイズ光を5%まで低減できればより好ましく、1%まで低減できればさらに好ましい。ノイズ光を5%程度まで低減するためには、対象波長に対して吸収係数 $\alpha \geq -1/4 \cdot \ln(0.05) / t_3' \doteq 0.75 / t_3'$ を満たすように光吸収層を設ければよい。また、ノイズ光を1%程度まで低減するためには、対象波長に対して吸収係数 $\alpha \geq -1/4 \cdot \ln(0.01) / t_3' \doteq 1.15 / t_3'$ を満たすように光吸収層を設ければよい。

[0092] 光吸収層は、基板14自体を光吸収性の材料で形成することにより、基板14における流路12の底部と第2主面14bとの間の全体に設けてもよいし、基板14の厚さ方向の一部に設けてもよい。あるいは、基板14の第2主面14b上に、基板14と屈折率のマッチングのとれた状態で別体として光吸収層が設けられてもよい。ここで、「屈折率のマッチングのとれた状態」とは、界面前後の屈折率差が0.025以下であることを意味する。

[0093] 以下、上述した本発明の別の実施形態に関し、実施例を説明する。

(実施例3)

実施例3は、基板14における流路12の底部と第2主面14bとの間の全体に光吸収層を設けた実施例である。実施例3では、実施例1と同様に、 $L = 1.735 \text{ mm}$ 、 $NA = 0.3$ 、 $t_1 = 0.1 \text{ mm}$ 、 $t_2 = 0.7 \text{ mm}$ 、 $t_3 = 3.3 \text{ mm}$ 、 $n_1 = 1.53$ 、 $n_3 = 1.53$ とした。実施例3では、中

中心点間距離 P を 3.5 mm とし、実施例1で求めた $P_{\text{max}} = 4.65\text{ mm}$ よりも小さい値とした。基板14における流路12の底部と第2主面14bとの間に、厚み $t_3' = 3.3\text{ mm}$ で吸収係数 $\alpha = 0.58 / 0.33 = 1.76\text{ cm}^{-1}$ の光吸収層を設け、実施例1と同様に評価面に到達する光線の強度を光学シミュレーションにより求めた。

[0094] 光学シミュレーションの結果、実施例3では、流路12内に試料が存在しない場合に相対ノイズ量が 0.02 となり、流路12内に試料が存在する場合に相対ノイズ量が 0.03 となった。図7から、実施例1においては、中心点間距離 P が 3.5 mm のとき、流路12内に試料が存在しない場合の相対ノイズ量が 0.19 であり、流路12内に試料が存在する場合の相対ノイズ量が 0.31 であるので、基板14に光吸収層を設けた実施例3は、実施例1と比較してノイズ量を約 10% に低減できることが確認できた。

[0095] (実施例4)

実施例4は、基板14の第2主面14b上に光吸収層を設けた実施例である。実施例4では、実施例2と同様に、第2光学ヘッド55の第2対物レンズOB2の出射端面に $\phi 0.8\text{ mm}$ のピンホールを配置した構成とした。実施例4では、中心点間距離 P を 2.75 mm とし、実施例2で求めた $P_{\text{max}} = 3.36\text{ mm}$ よりも小さい値とした。また、実施例4では、基板14の第2主面14b上に、屈折率 1.53 で厚さ 0.1 mm の実質的に吸収のない樹脂層を介して、屈折率 1.53 、厚さ 1.0 mm で吸収係数 $\alpha = 0.58 / 0.1 = 5.8\text{ cm}^{-1}$ の光吸収層を設け、流路12内に試料が存在する条件で上記実施例と同様に評価面に到達する光線の強度を光学シミュレーションで求めた。

[0096] 光学シミュレーションの結果、実施例4では、相対ノイズ量が 0.1 となった。図8から、実施例2においては、中心点間距離 P が 2.75 mm のとき、流路12内に試料が存在する場合の相対ノイズ量が 0.85 であるので、基板14の第2主面14b上に光吸収層を設けた実施例4は、実施例2と比較してノイズ量を約 12% に低減できることが確認できた。

[0097] (実施例5)

実施例5では、基板14の第2主面14b上に設ける光吸収層の吸収係数のみ実施例4から変更した。実施例5では、光吸収層の吸収係数 α を、 $\alpha = 0.75 / 0.1 = 7.5 \text{ cm}^{-1}$ とし、上記実施例と同様に評価面に到達する光線の強度を光学シミュレーションで求めた。

[0098] 光学シミュレーションの結果、実施例5では、相対ノイズ量が0.05となった。実施例2（中心点間距離 $P = 2.75 \text{ mm}$ ）のときの相対ノイズ量（0.85）と比較すると、実施例5はノイズ量を約6%に低減できることが確認できた。

[0099] また、光吸収層の吸収係数 α を 7.5 cm^{-1} とした実施例5において、基板14と光吸収層との間に設けた樹脂層の屈折率を $1.530 \sim 1.505$ （屈折率差：0.025）の範囲で変化させて同様の光学シミュレーションを実施したところ、評価面に到達する光線の最大強度は、樹脂層の屈折率を 1.530 とした場合と比較して2%程度の増加に止まっていた。

[0100] (実施例6)

実施例6においても、基板14の第2主面14b上に設ける光吸収層の吸収係数のみ実施例4から変更した。実施例6では、光吸収層の吸収係数 α を、 $\alpha = 1.15 / 0.1 = 11.5 \text{ cm}^{-1}$ とし、上記実施例と同様に評価面に到達する光線の強度を光学シミュレーションで求めた。

[0101] 光学シミュレーションの結果、実施例6では、相対ノイズ量が0.01となった。実施例2（中心点間距離 $P = 2.75 \text{ mm}$ ）のときの相対ノイズ量（0.85）と比較すると、実施例6はノイズ量を約1%に低減できることが確認できた。

[0102] 以上、本発明を実施の形態をもとに説明した。この実施の形態は例示であり、それらの各構成要素や各処理プロセスの組合せにいろいろな変形例が可能なこと、またそうした変形例も本発明の範囲にあることは当業者に理解されるところである。

産業上の利用可能性

[0103] 本発明は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）に利用できる。

符号の説明

[0104] 10 反応処理容器、 12 流路、 14 基板、 16 流路封止フィルム、 17 第1連通口、 18 第2連通口、 20 試料、 30 反応処理装置、 32 温度制御システム、 33 高温用ヒータドライバ、 35 低温用ヒータドライバ、 36 CPU、 37 送液システム、 39 第1ポンプ、 40 第2ポンプ、 41 第1ポンプドライバ、 42 第2ポンプドライバ、 43 第1チューブ、 44 第2チューブ、 45, 46 パッキン、 50 第1蛍光検出装置、 51 第1光学ヘッド、 52 第1蛍光検出用励起光源／検出器モジュール、 54 第2蛍光検出装置、 55 第2光学ヘッド、 56 第2蛍光検出用励起光源／検出器モジュール、 60 高温用ヒータ、 61 保持部材、 62 低温用ヒータ、 64 第1励起光源、 65 第1波長合分波器。

請求の範囲

[請求項1]

試料が移動する流路が第1主面に形成された基板と、前記流路を封止するように前記第1主面上に設けられた流路封止フィルムとを備える反応処理容器と、

第1励起光を前記流路中の試料に照射するとともに、前記第1励起光の照射により試料から生じた第1蛍光を集光する第1対物レンズを備える第1光学ヘッドと、

第2励起光を前記流路中の試料に照射するとともに、前記第2励起光の照射により試料から生じた第2蛍光を集光する第2対物レンズを備える第2光学ヘッドと、

前記第1光学ヘッドおよび前記第2光学ヘッドを保持する保持部材と、

を備える反応処理装置であって、

前記第1光学ヘッドおよび前記第2光学ヘッドは、前記流路の長手方向に並んで配置され、

前記第1蛍光の波長範囲と前記第2励起光の波長範囲は、少なくとも一部が重複しており、

前記第1対物レンズの光軸と前記第2対物レンズの光軸との間の距離Pが、以下の式：

$$2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P$$

$$P_0 = L \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$$

$$P_1 = t_1 \cdot NA / \sqrt{n_1^2 - NA^2}$$

$$P_2 = t_2 \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$$

$$P_3 = t_3 \cdot NA / \sqrt{n_3^2 - NA^2}$$

を満たす（ただし、Lは前記保持部材から前記流路封止フィルムまでの距離、 t_1 は前記流路封止フィルムの厚さ、 t_2 は前記流路の深さ、 t_3 は前記流路の底部から前記基板の第2主面までの厚さ、NAは前記第1対物レンズおよび前記第2対物レンズの開口数、 n_1 は前

記流路封止フィルムの屈折率、 n_3 は前記基板の屈折率) ことを特徴とする反応処理装置。

[請求項2] 前記距離 P が、さらに $1.1 \times (2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3) \leq P$ を満たし、さらに好ましくは $1.2 \times (2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3) \leq P$ を満たすことを特徴とする請求項1に記載の反応処理装置。

[請求項3] 前記距離 P が、 $P \leq S - 2 \times \Delta S$ (ただし、 S は前記第1光学ヘッドおよび前記第2光学ヘッドが配置される流路の直線部分の長さ、 ΔS は1mm) を満たすことを特徴とする請求項1または2に記載の反応処理装置。

[請求項4] 前記基板における前記流路の底部と前記第2主面との間に、励起光を吸収する光吸収層を備えることを特徴とする請求項1から3のいずれかに記載の反応処理装置。

[請求項5] 試料が移動する流路が第1主面に形成された基板と、前記流路を封止するように前記第1主面上に設けられた流路封止フィルムとを備える反応処理容器と、

第1励起光を前記流路中の試料に照射するとともに、前記第1励起光の照射により試料から生じた第1蛍光を集光する第1対物レンズを備える第1光学ヘッドと、

第2励起光を前記流路中の試料に照射するとともに、前記第2励起光の照射により試料から生じた第2蛍光を集光する第2対物レンズを備える第2光学ヘッドと、

前記第1光学ヘッドおよび前記第2光学ヘッドを保持する保持部材と、

を備える反応処理装置であって、

前記第1光学ヘッドおよび前記第2光学ヘッドは、前記流路の長手方向に並んで配置され、

前記第1蛍光の波長範囲と前記第2励起光の波長範囲は、少なくと

も一部が重複しており、

前記基板に励起光を吸収する光吸収層が設けられることを特徴とする反応処理装置。

[請求項6] 前記光吸収層は、吸収係数 α が $\alpha \geq 0.58 / t_3'$ （ただし t_3' は前記光吸収層の厚さ）を満たすように形成されることを特徴とする請求項5に記載の反応処理装置。

[請求項7] 前記光吸収層は、吸収係数 α が $\alpha \geq 0.75 / t_3'$ （ただし t_3' は前記光吸収層の厚さ）を満たすように形成されることを特徴とする請求項5に記載の反応処理装置。

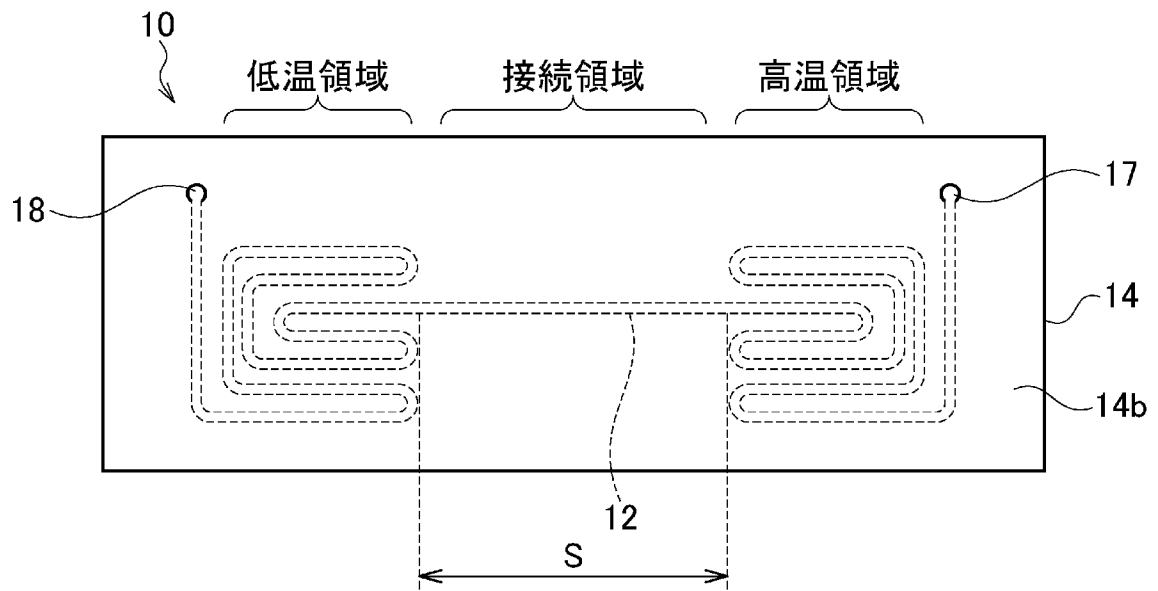
[請求項8] 前記光吸収層は、吸収係数 α が $\alpha \geq 1.15 / t_3'$ （ただし t_3' は前記光吸収層の厚さ）を満たすように形成されることを特徴とする請求項5に記載の反応処理装置。

[請求項9] 前記光吸収層は、前記流路の底部と前記基板の第2主面との間に設けられることを特徴とする請求項5から8のいずれかに記載の反応処理装置。

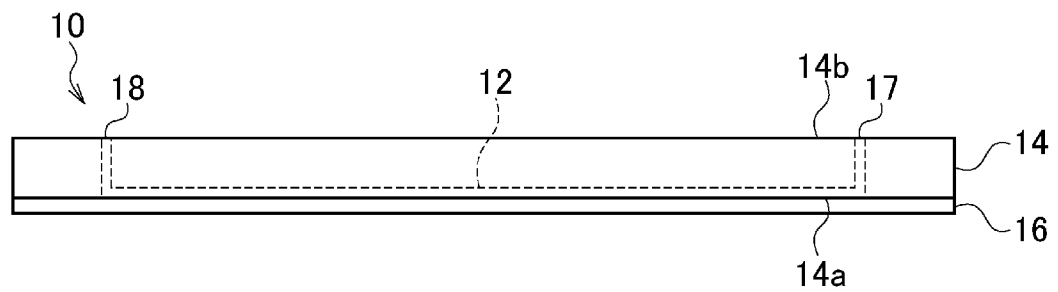
[請求項10] 前記光吸収層は、前記基板の第2主面上に設けられることを特徴とする請求項5から8のいずれかに記載の反応処理装置。

[図1]

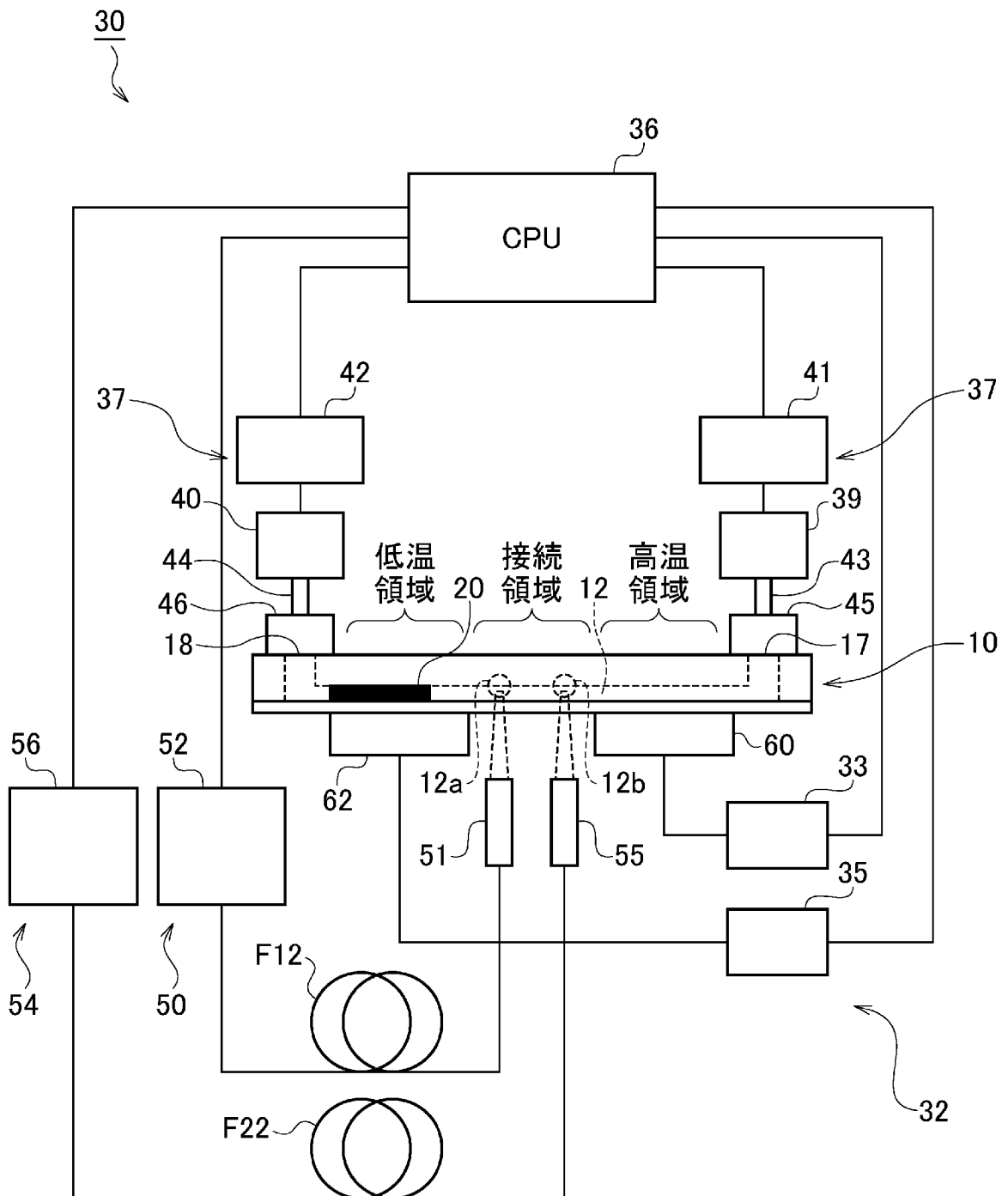
(a)



(b)

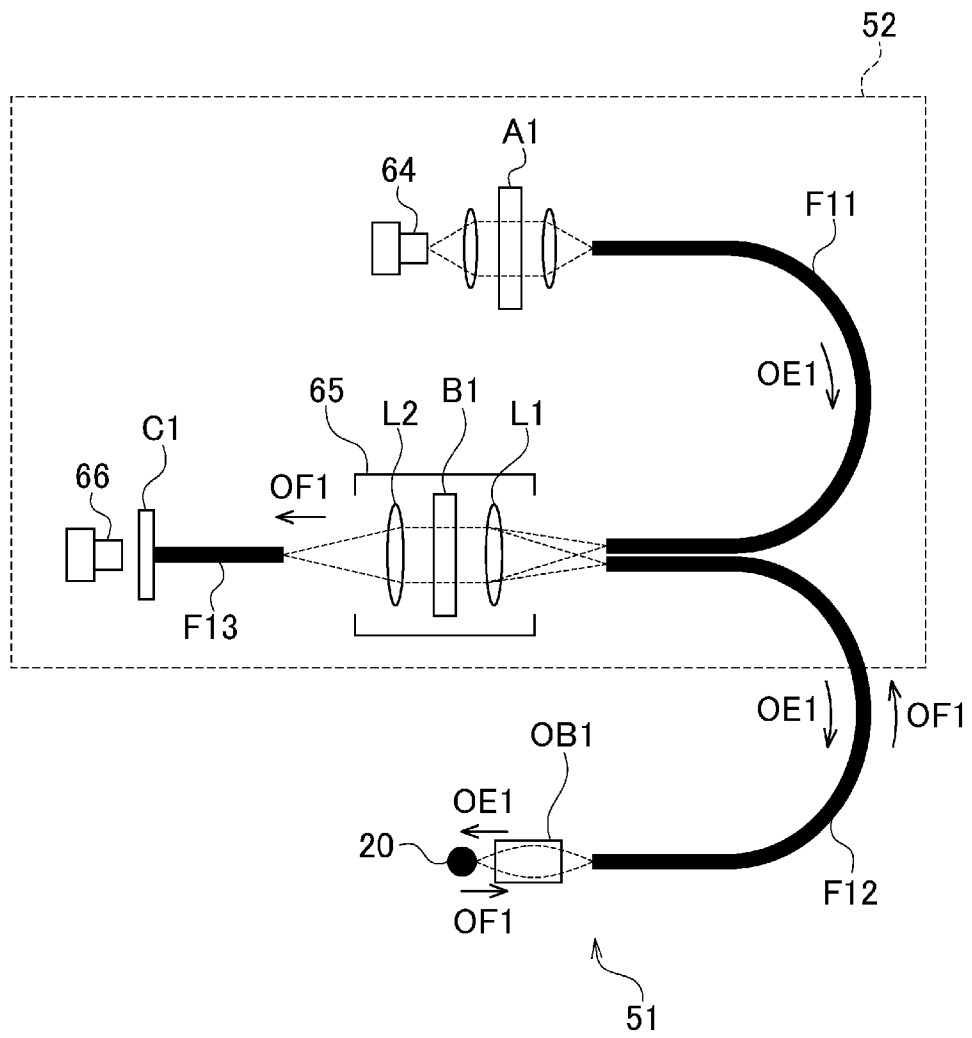


[図2]

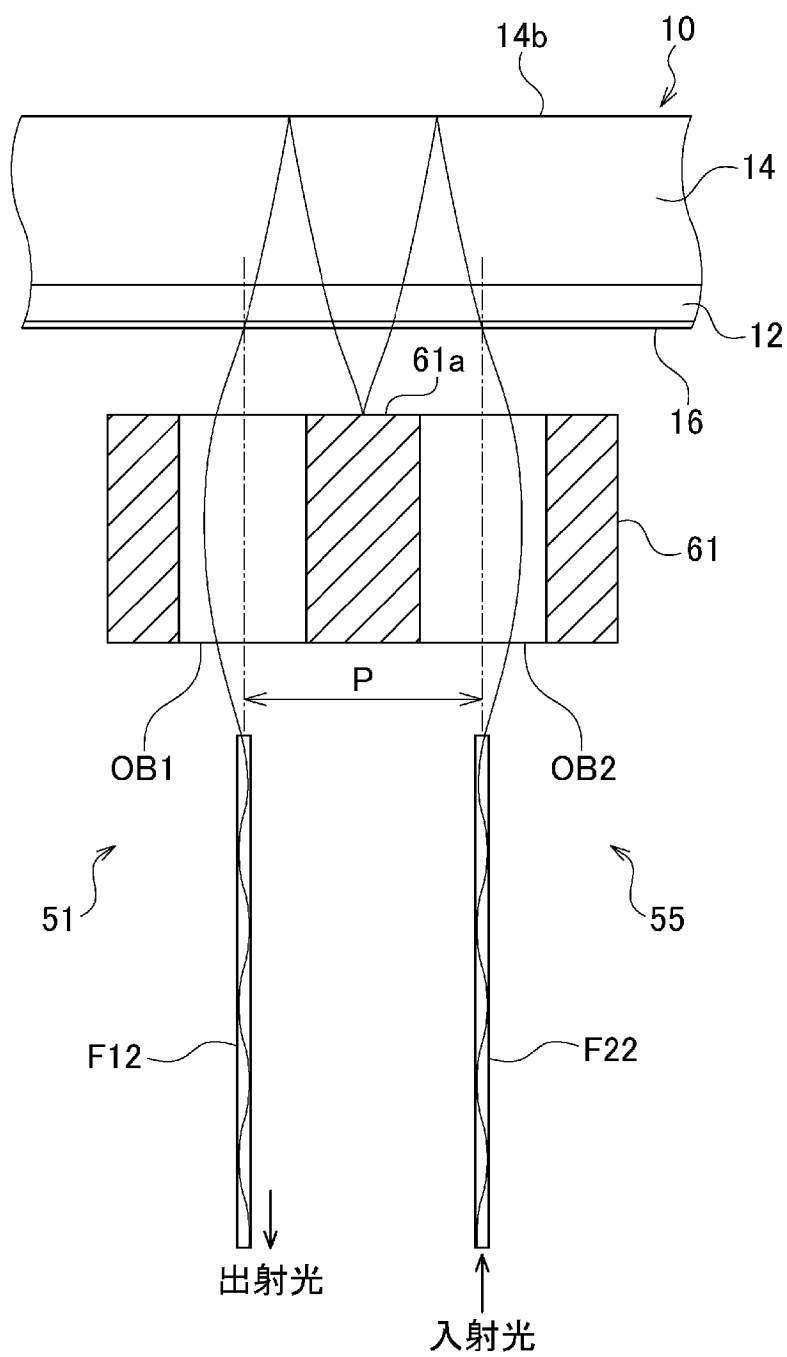


[図3]

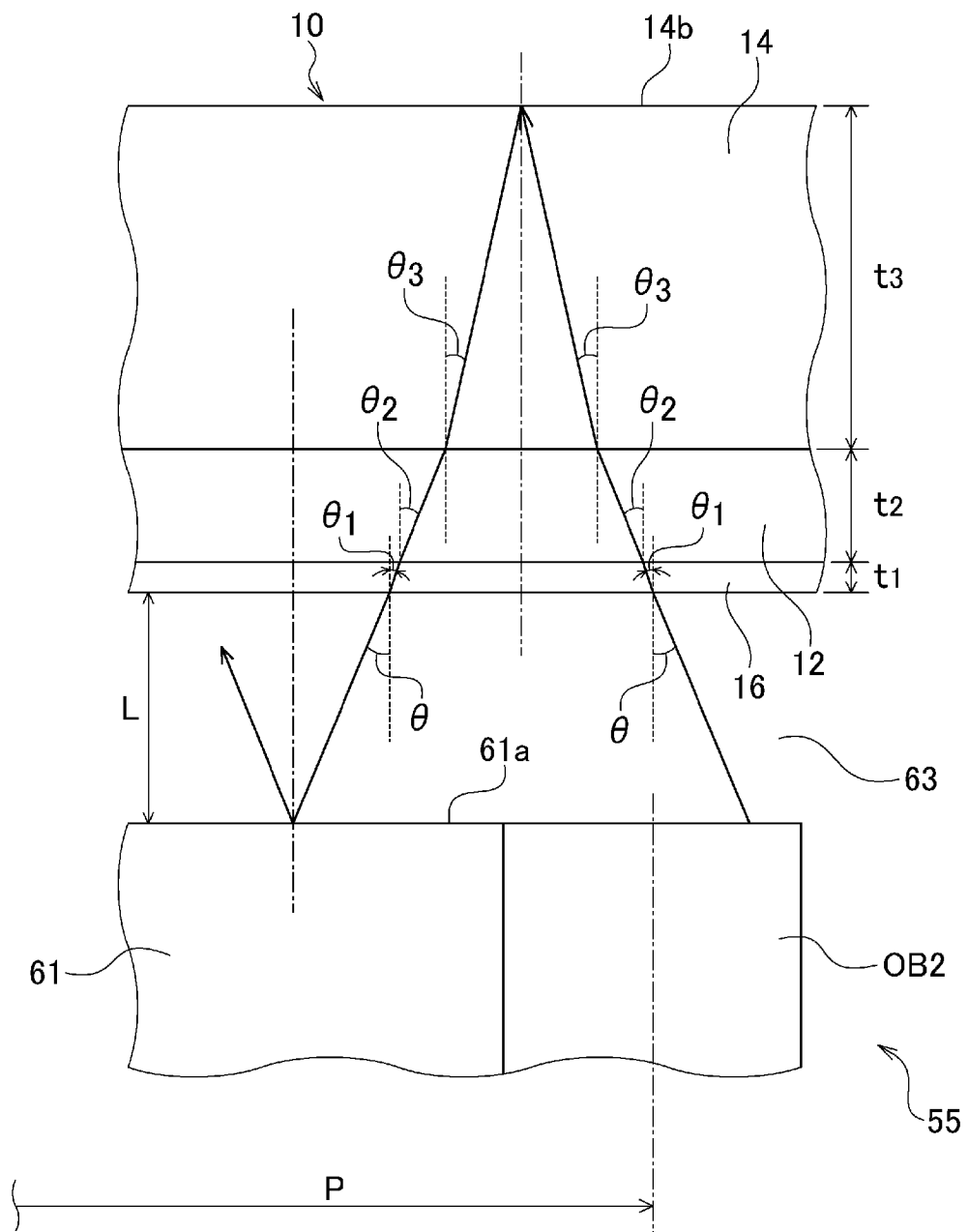
50



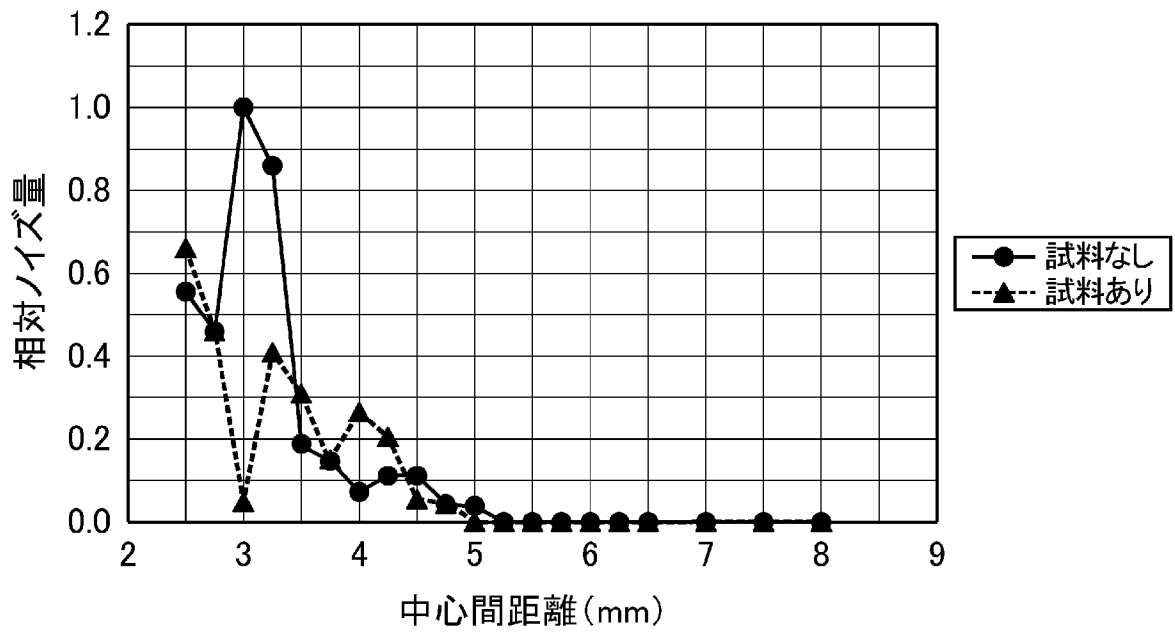
[図5]



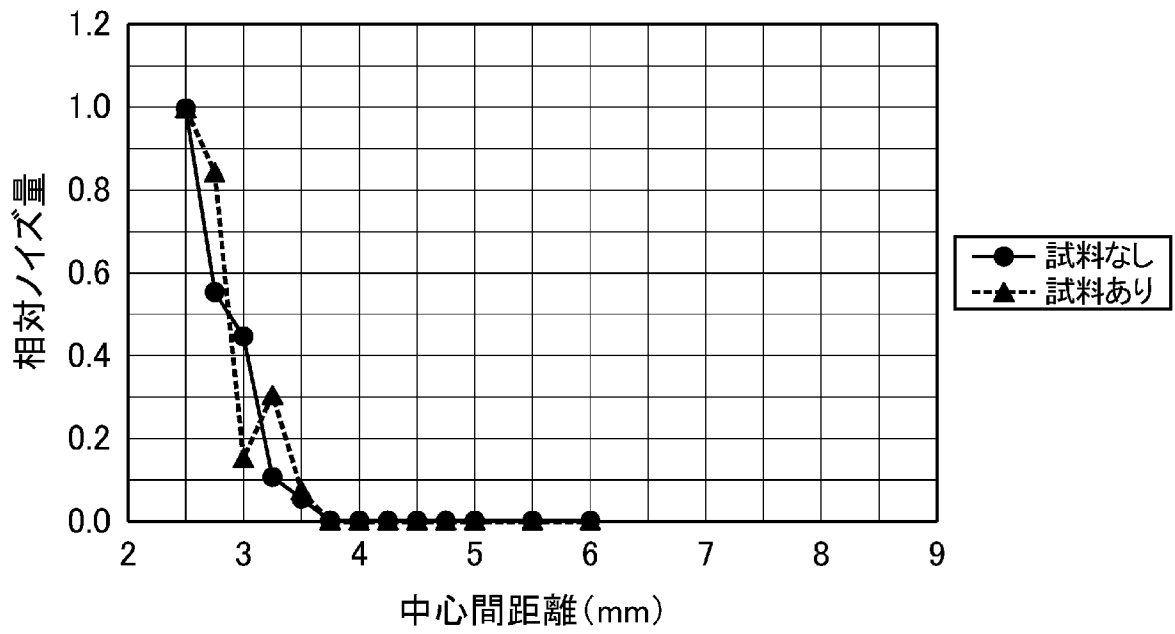
[図6]



[図7]



[図8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/025331

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. G01N21/64 (2006.01) i, G01N21/05 (2006.01) i, G01N37/00 (2006.01) i, C12M1/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. G01N21/00-21/74, G01N37/00, C12Q1/00, C12M1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2015-514218 A (ILLUMINA, INC.) 18 May 2015, paragraphs [0012], [0032]-[0038], fig. 1-7 & US 2013/0260372 A1, paragraphs [0030], [0050]-[0056] fig. 1-7 & WO 2013/151622 A1 & EP 2834622 A1 & AU 2013243998 A & CA 2867665 A1 & KR 10-2015-0000885 A & MX 2014011165 A & HK 1201582 A & CN 204832037 U	1-10

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 22 August 2019 (22.08.2019)	Date of mailing of the international search report 03 September 2019 (03.09.2019)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/025331

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/157270 A1 (NEC CORP.) 06 October 2016, paragraph [0016] & US 2018/0088029 A1, paragraph [0022]	1-10
Y	JP 2011-27748 A (BAYLOR COLLEGE OF MEDICINE) 10 February 2011, claims 10, 49, 70 & WO 2003/021212 A1, claims 10, 49, 70 & US 2003/0058440 A1 & EP 1432966 A1 & CA 2484336 A1 & AU 2002323452 B	1-10
Y	JP 2007-285999 A (FURUKAWA ELECTRIC CO., LTD.) 11 November 2007, paragraph [0004] (Family: none)	1-10
Y	JP 2007-71608 A (SHARP CORP.) 22 March 2007, fig. 5-8, 10-12 & US 2008/0053829 A1, fig. 5-8, 10-12 & WO 2007/029665 A1	1-10
Y	JP 2013-524169 A (QUANTALIFE, INC.) 17 June 2013, paragraph [0099] & US 2012/0194805 A1, paragraph [0116] & WO 2011/120006 A1 & CA 2767113 A1	1-10
A	WO 2017/145230 A1 (HITACHI HIGH-TECHNOLOGIES CORP.) 31 August 2017 & GB 2562428 A & CN 108700517 A	1-10
A	JP 2016-95315 A (IT-IS INTERNATIONAL LTD.) 26 May 2016 & US 2014/0005078 A1 & WO 2010/079338 A2 & EP 2584344 A2 & CA 2749247 A1 & CN 102341694 A	1-10
A	JP 2005-91242 A (HITACHI HIGH-TECHNOLOGIES CORP.) 07 April 2005 & US 2005/0067285 A1	1-10
A	JP 2008-157814 A (SHARP CORP.) 10 July 2008 (Family: none)	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N21/64(2006.01)i, G01N21/05(2006.01)i, G01N37/00(2006.01)I, C12M1/00(2006.01)i		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N21/00-21/74, G01N37/00, C12Q1/00, C12M1/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2019年 日本国実用新案登録公報 1996-2019年 日本国登録実用新案公報 1994-2019年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2015-514218 A (イラミーナ インコーポレーテッド) 2015.05.18, [0012][0032]-[0038], 図 1-7 & US 2013/0260372 A1, paragraphs [0030][0050]-[0056] Figs. 1-7 & WO 2013/151622 A1 & EP 2834622 A1 & AU 2013243998 A & CA 2867665 A1 & KR 10-2015-0000885 A & MX 2014011165 A & HK 1201582 A & CN 204832037 U	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。		
<input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		
の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 22.08.2019	国際調査報告の発送日 03.09.2019	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 伊藤 裕美 電話番号 03-3581-1101 内線 3258	2W 1763

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	WO 2016/157270 A1 (日本電気株式会社) 2016.10.06, [0016] & US 2018/0088029 A1, paragraph [0022]	1-10
Y	JP 2011-27748 A (ベイラー カレッジ オブ メディスン) 2011.02.10, [請求項 10][請求項 49][請求項 70] & WO 2003/021212 A1, claims 10, 49, 70 & US 2003/0058440 A1 & EP 1432966 A1 & CA 2484336 A1 & AU 2002323452 B	1-10
Y	JP 2007-285999 A (古河電気工業株式会社) 2007.11.01, [0004] (ファミリーなし)	1-10
Y	JP 2007-71608 A (シャープ株式会社) 2007.03.22, 図 5-8, 10-12 & US 2008/0053829 A1, Figs. 5-8, 10-12 & WO 2007/029665 A1	4-10
Y	JP 2013-524169 A (クァンタライフ・インコーポレーテッド) 2013.06.17, [0099] & US 2012/0194805 A1, paragraph [0116] & WO 2011/120006 A1 & CA 2767113 A1	4-10
A	WO 2017/145230 A1 (株式会社日立ハイテクノロジーズ) 2017.08.31, & GB 2562428 A & CN 108700517 A	1-10
A	JP 2016-95315 A (アイティーアイエス インターナショナル リミ テッド) 2016.05.26, & US 2014/0005078 A1 & WO 2010/079338 A2 & EP 2584344 A2 & CA 2749247 A1 & CN 102341694 A	1-10
A	JP 2005-91242 A (株式会社日立ハイテクノロジーズ) 2005.04.07, & US 2005/0067285 A1	1-10
A	JP 2008-157814 A (シャープ株式会社) 2008.07.10, (ファミリーなし)	1-10