

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3824135号
(P3824135)

(45) 発行日 平成18年9月20日(2006.9.20)

(24) 登録日 平成18年7月7日(2006.7.7)

(51) Int. Cl.

GO 1 N 21/64 (2006.01)

F I

GO 1 N 21/64

F

請求項の数 1 (全 7 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2001-2264 (P2001-2264) (22) 出願日 平成13年1月10日 (2001.1.10) (65) 公開番号 特開2002-207007 (P2002-207007A) (43) 公開日 平成14年7月26日 (2002.7.26) 審査請求日 平成16年10月14日 (2004.10.14)</p> <p>前置審査</p>	<p>(73) 特許権者 000006507 横河電機株式会社 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号</p> <p>(72) 発明者 田名網 健雄 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社内</p> <p>(72) 発明者 杉山 由美子 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社内</p> <p>審査官 横井 亜矢子</p> <p style="text-align: right;">最終頁に続く</p>
--	--

(54) 【発明の名称】 バイオチップ読取り装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

複数の試料をスポット状またはラインアレイ状に配置したバイオチップに複数の光束の光を照射して、受光器により前記複数の試料に応じた画像情報を読取るバイオチップ読取り装置において、

前記複数の試料と前記複数の光束の空間配置を一致させると共に、前記試料からの蛍光画像を受光器の表面とは異なる光軸位置に結像させることを特徴とするバイオチップ読取り装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、バイオチップの試料を励起光で励起し、発生した蛍光の波長を読み取るバイオチップ読取り装置に関し、測定の高速度化、装置の簡素化、試料へのダメージ低減、さらに励起光のレーザをマイクロレンズで集光する際に生ずるスポット内強度分布を平坦化するための改良に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

従来より、DNAや蛋白質などに蛍光物質を標識しこれにレーザ光を照射してその蛍光物質を励起し、これにより発生した蛍光を読取ってDNAや蛋白質などを検出し解析する装置がある。この場合、蛍光物質が標識されたDNAや蛋白質などをアレイ状にスポットし

たバイオチップが利用される。

【0003】

図8は従来の落射型のバイオチップ読取り装置の一例を示す概念的構成図である。この装置は、図8(a)に示すように基板PL上に配列が既知のDNA分子(遺伝子)A, B, C, ...を複数個結合してなるバイオチップ6に、同図(b)のように未知の遺伝子を混合(ハイブリダイゼーション)したものを、同図(c)のような機構により読取るものである。

【0004】

同図(c)において、光源1からの光(レーザ光)はレンズ2で平行光になり、ダイクロイックミラー4を透過した後レンズ3によりバイオチップ6上に集光される。バイオチップ6からの戻り光はレンズ3で平行光に戻り、ダイクロイックミラー4で反射してレンズ8により受光器9に結像する。

10

【0005】

この場合、バイオチップ6を載置したステージ(図示せず)を駆動手段(図示せず)によりXY方向に移動してバイオチップ6表面を走査し、バイオチップ6表面の画像を得る。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、このような従来の装置では次のような課題があった。バイオチップ6に照射される1つのスポットを用いてステージを走査してバイオチップ表面の画像を得ているが、ステージの移動機構が複雑であり、時間もかかるという欠点がある。

20

【0007】

さらに、この場合ビームの光強度は強くなければならないが、光強度が強いと試料の蛍光色素は退色し易いという問題もある。

また、強い光強度のスポットは受光器9やその後段のアナログ・デジタル変換器を飽和させるきらいがあるため、ゲインを下げる必要がある。ゲインを下げると微弱光が測定できなくなり、ダイナミックレンジが狭くなるという欠点もある。

【0008】

本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、従来のように試料を載置したステージを移動する必要がなく、また蛍光色素の退色の心配もなく、簡単な構造で微弱光の測定も可能なバイオチップ読取り装置を実現することにある。

30

【0009】

【課題を解決するための手段】

このような目的を達成するために、請求項1の発明では、複数の試料をスポット状またはラインアレイ状に配置したバイオチップに複数の光束の光を照射して、受光器により前記複数の試料に応じた画像情報を読取るバイオチップ読取り装置において、

前記複数の試料と前記複数の光束の空間配置を一致させると共に、前記試料からの蛍光画像を受光器の表面とは異なる光軸位置に結像させることを特徴とする。

【0010】

このような構成により、従来のようなステージ移動を要することなく、非走査で複数の試料の画像情報を読取ることができる。また同一の読取時間で比較すると光束の本数分だけ弱い光でよい従来のような光強度の強いレーザ光を照射する必要もないため、蛍光色素の退色の心配もなく、微弱光の測定も可能な読取り装置を実現することができる。

40

また、複数の試料をそれぞれ照射している光束が試料の表面とは異なる光軸位置に結像するようにすると、バイオチップスポットの全体がほぼ一様な強度分布となり試料には励起光強度分布の影響が及ばなくなる。さらに、受光器や後段のアナログ・デジタル変換器の強度的な偏りを軽減させることができ、測定のダイナミックレンジを拡大することができる。

なお、バイオチップを対物レンズの集光点よりも遠い光軸位置に載置した場合には、ワーキングディスタンスが広くなりバイオチップ挿脱などの作業性が向上する。

50

【0015】

【発明の実施の形態】

以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。図1は本発明に係るバイオチップ読取り装置の一実施例を示す構成図である。図において、光源1からの光はレンズ2で平行光になり、バイオチップ6の試料ピッチPに等しい間隔で配置されたマイクロレンズアレイMAのマイクロレンズMLにより集光される。その後レンズ3で平行光になり、ダイクロイックミラー4で反射して対物レンズ5によりバイオチップ6上に結像する。

【0016】

バイオチップ6の各スポットは各々に集光された光により励起され、蛍光を発する。その蛍光は対物レンズ6、ダイクロイックミラー4、フィルタ7を順に透過し、レンズ8によ

10

って受光器9に結像する。このようにして、光走査を行うことなく試料表面の像を得ることができる。

なお、マイクロレンズMAによる結像スポットサイズAは図2に示すように試料のサイズS1, S2, ...とほぼ等しくなるようにしてある。

【0017】

図3は本発明の他の実施例図である。図1の場合、バイオチップのスポットはレンズの集光スポットの強度分布で励起されるため、バイオチップのスポット内部の蛍光は一様に励起されず、中央部が強く周辺部が弱い励起となり、蛍光強度にもその分布の影響が出る。すなわち、中央部では強い蛍光が発生するが周辺部では弱い蛍光しか発生しないことになる。また、中央部は周辺部より蛍光色素が退色し易い。

20

【0018】

図3に示す発明はその点を改善したものであり、各構成素子は図1と同じであるが、照射光がバイオチップ6の表面と異なる光軸位置にフォーカスするようにした点が図1のものとは異なる。

【0019】

図3において、光源1からの照射光はレンズ2で平行光になり、バイオチップ8の試料ピッチに等しい間隔で配置されたマイクロレンズMAにより集光される。ここまでは図1のものと同じである。

【0020】

その後ダイクロイックミラー4で反射され、対物レンズ5によりバイオチップ6の表面と異なる光軸位置にフォーカスさせる(図では鎖線で示す)。つまり、バイオチップ6上ではオフフォーカス(デフォーカス)状態にする。

30

【0021】

これにより、図4に示すように試料を照射している光束のフォーカススポットAは試料のサイズS1, S2, S3, S4よりも大きくなる。

図5は試料を照射している光束のフォーカススポットとオフフォーカススポットの強度分布の比較図である。これからも明らかなようにオフフォーカススポットAはバイオチップスポットサイズS1, S2, S3, S4内でほぼ一様な強度分布となることが理解できる。

【0022】

各バイオチップスポットはこのデフォーカスされたレーザ光で励起され、蛍光を発する。この蛍光は対物レンズ5、ダイクロイックミラー4、フィルタ7を透過し、受光器前のレンズ8によって受光器9上へ結像する。この場合、結像レンズ8の位置を調節して受光器9の結像面とバイオチップ6の表面のフォーカスを合わせておく。

40

【0023】

このように、本発明によればバイオチップスポットはその全体がほぼ一様な強度分布で励起されるため、実質上励起光強度分布の影響のない蛍光像を容易に得ることができる。

【0024】

なお、図3では対物レンズ5の集光点より手前にバイオチップを載置したが、図6のように反対に対物レンズ5の集光点よりも遠い位置にバイオチップを載置しても構わない。こ

50

の場合、ワーキングディスタンス d が長くなり、バイオチップの挿脱などの作業がやり易くなるという利点がある。

【0025】

なお、この場合、受光器 9 上にバイオチップスポットの像を結像するとき、オフフォーカスにすると受光素子 (CCD 素子など) や後段のアナログ・デジタル変換器の強度的な偏りを軽減することができ、測定のダイナミックレンジを拡大することができる。

【0026】

また、図 7 (a) に示すようにバイオチップ 6 への入射光を傾けても構わない。これにより励起光は元の光路へは戻らず、励起光の背景光除去が可能になる。特に、同図 (b) のように受光器 9 上で蛍光像と励起光の反射像とが重ならないように結像させると、後の画像処理で容易に除去することができる。

10

【0027】

図 7 のように入射光を斜めにしても、蛍光は 360 度発光のため、対物レンズ 5 で損失なく集光され受光器 9 へ結像する。

なお、入射光を斜めにする代わりに、入射光の光軸は垂直にしておき、バイオチップ 6 の方をその入射軸に対して傾けるようにしても構わない。

また、実施例において試料は円形であるが、矩形やライン状であっても構わない。

【0028】

【発明の効果】

以上説明したように本発明によれば次のような効果がある。

20

(1) 従来のようなステージ移動を要することなく、非走査で複数の試料の画像情報を読取ることができるため容易に測定の高速度が図られる。

また同一の読取時間で比較するとビームの本数分だけ弱い光でよいいため従来のような光強度の強いレーザー光を照射する必要もないため、蛍光色素の退色の心配もなく、簡単な構造で微弱光の測定も可能な読取り装置を実現することができる。

【0029】

(2) また、複数の試料をそれぞれ照射している光束を前記試料の表面とは異なる光軸位置に結像するようにしたときは、バイオチップスポットはその全体がほぼ一様な強度分布となり、試料に励起光強度分布の影響が及ばなくなる。

(3) 試料からの蛍光画像が受光器の表面とは異なる光軸位置に結像するようにすると、受光器や後段のアナログ・デジタル変換器の強度的な偏りを軽減させることができ、容易に測定のダイナミックレンジを拡大できる。

30

【0030】

(4) 更に、照射光が試料に対して斜め入射となるような関係にすると、試料からの蛍光画像と励起光とが分離し、背景光除去が可能になる。

(5) 試料からの蛍光画像と励起光が受光器上で離れた位置に結像するように構成した場合は、画像処理で励起光の反射像を容易に除去できる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明に係るバイオチップ読取り装置の一実施例を示す構成図である。

【図 2】結像スポットサイズと試料のサイズとの比較図である。

40

【図 3】本発明に係るバイオチップ読取り装置の他の実施例を示す構成図である。

【図 4】フォーカススポットサイズと試料のサイズとの比較図である。

【図 5】光束のフォーカススポットとオフフォーカススポットの強度分布の比較図である。

【図 6】バイオチップ載置位置の一実施例図である。

【図 7】バイオチップへの入射光を傾けた場合の説明図である。

【図 8】従来のバイオチップ読取り装置の一例を示す構成図である。

【符号の説明】

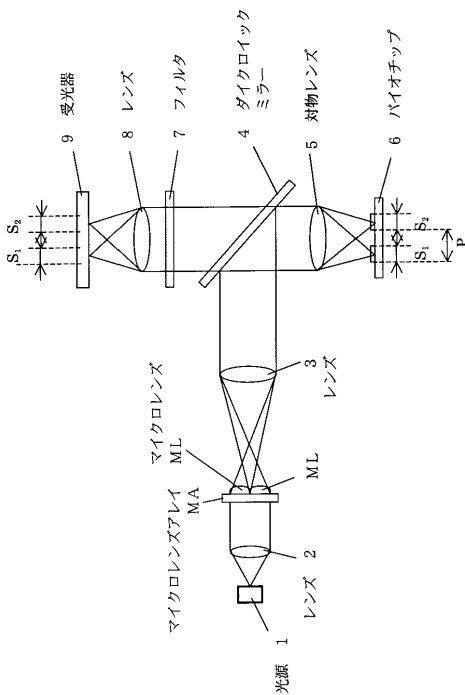
1 光源

2, 3, 8 レンズ

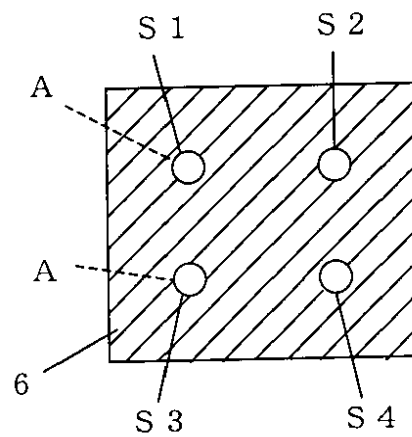
50

- 4 ダイクロイックミラー
 - 5 対物レンズ
 - 6 バイオチップ
 - 7 フィルタ
 - 8 レンズ
 - 9 受光器
- MA マイクロレンズアレイ
ML マイクロレンズ

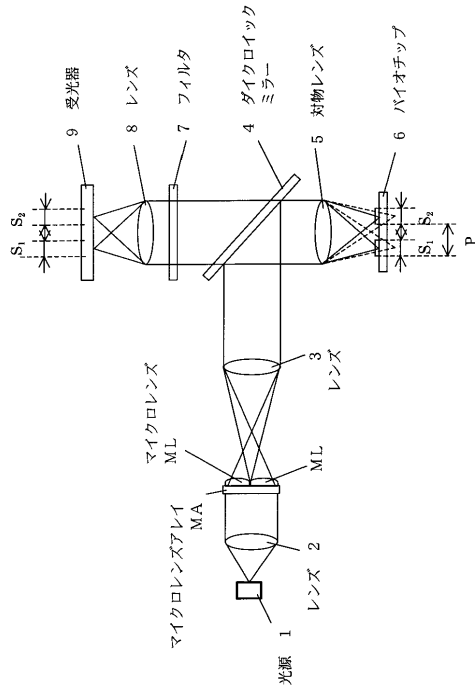
【 図 1 】



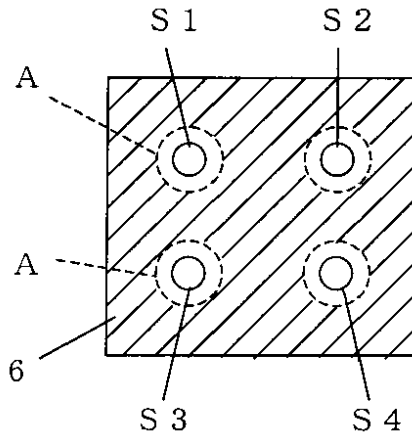
【 図 2 】



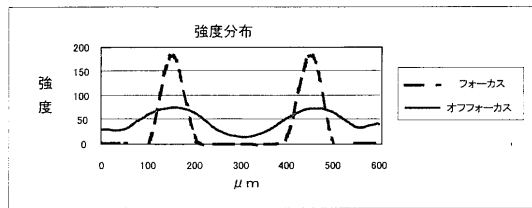
【 図 3 】



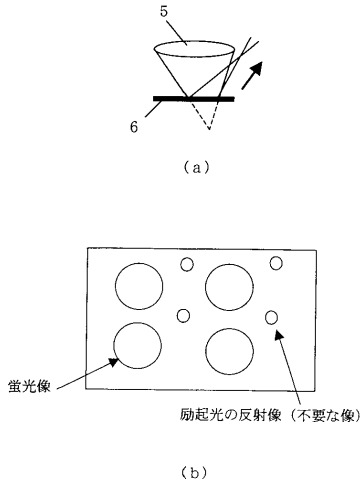
【 図 4 】



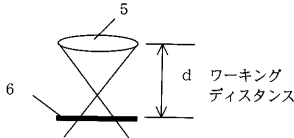
【 図 5 】



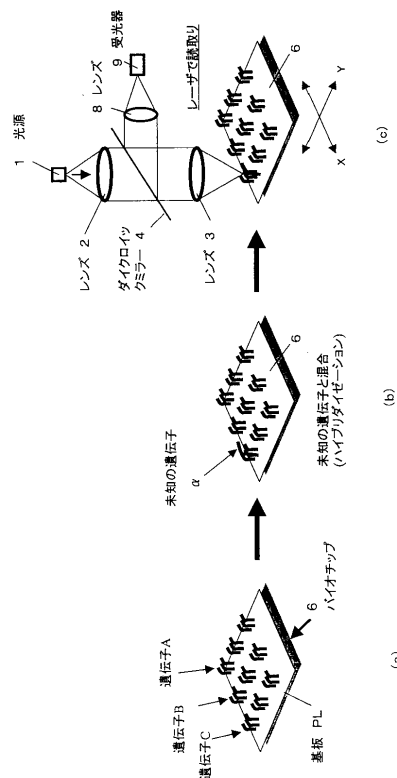
【 図 7 】



【 図 6 】



【 図 8 】



フロントページの続き

- (56)参考文献 英国特許出願公開第02351556(GB,A)
米国特許第06534011(US,B1)
特開平11-072436(JP,A)
特開2000-131237(JP,A)
特開2000-023697(JP,A)
国際公開第99/023474(WO,A1)
国際公開第98/028775(WO,A2)
国際公開第99/008233(WO,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)

G01N 21/62-21/74

G02B 21/00