(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2006-177837
(P2006-177837A)
(43)公開日　平成18年7月6日(2006.7.6)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
G01N 21/76	(2006.01)	G01N	21/76	ZNA	2G054
C12M 1/00	(2006.01)	C12M	1/00	A	2G058
C12M 1/34	(2006.01)	C12M	1/34	Z	4B029
G01N 21/78	(2006.01)	G01N	21/78	C	
G01N 35/02	(2006.01)	G01N	35/02	D	

審査請求 未請求　請求項の数 17　ＯＬ　（全 20 頁）

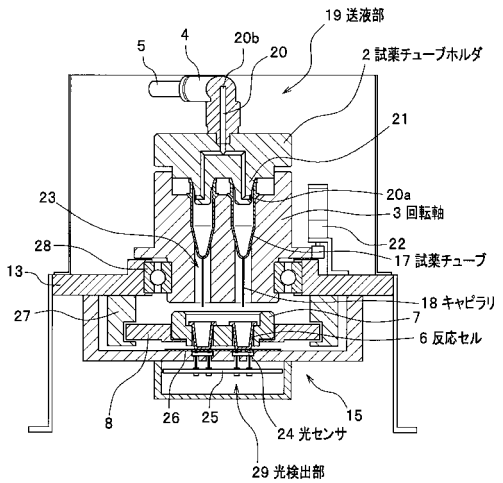
(21)出願番号　特願2004-372619 (P2004-372619)
(22)出願日　平成16年12月24日 (2004.12.24)

(71)出願人　000005108
株式会社日立製作所
東京都千代田区丸の内一丁目６番６号
(74)代理人　100064414
弁理士　磯野　道造
(72)発明者　神原　秀記
東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目２８０番地
株式会社日立製作所
中央研究所内
(72)発明者　梶山　智晴
東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目２８０番地
株式会社日立製作所
中央研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】発光検出装置

(57)【要約】
【課題】　小型の構成にて簡便かつ低コストで、ＤＮＡ塩基配列を決定できる発光検出装置を提供する。
【解決手段】　透明な底部を有する複数の反応セル６と、反応セル６の上方に位置し、反応セルと一対一に対応付けられるキャピラリ１８を備える送液部１９と、反応セル６と一対一に対応して反応セル６の下面に近接して配列された複数の光検出素子２４を有する光検出部２９とを含み、送液部１９から試薬溶液を反応セル６に注入することにより反応セル６内で発生する発光を光検出部２９の複数の光検出素子２４によって個別に検出することを特徴とする発光検出装置１である。
【選択図】　図４



【特許請求の範囲】
【請求項１】
実質的に透明な底部を有する複数の反応セルと、前記反応セルの上方に位置し、前記反応セルと一対一に対応付けられるキャピラリを備える送液部と、前記反応セルと一対一に対応して前記反応セルの下面に近接して配列された複数の光検出素子を有する光検出部とを含み、前記送液部から試薬溶液を前記反応セルに注入することにより前記反応セル内で発生する発光を前記光検出部の光検出素子によって個別に検出することを特徴とする発光検出装置。
【請求項２】
実質的に透明な底部を有する４の倍数個の反応セルと、前記４の倍数個の反応セルの上方に位置し、前記４の倍数個の反応セルと一対一に対応付けられる４の倍数本のキャピラリを備える送液部と、前記４の倍数個の反応セルと一対一に対応して前記４の倍数個の反応セルの下面に近接して配列された複数の光検出素子を有する光検出部とを含み、前記送液部から試薬溶液を前記反応セルに注入することにより前記反応セル内で発生する発光を前記光検出部の光検出素子によって個別に検出することを特徴とする発光検出装置。
【請求項３】
実質的に透明な底部を有する複数の反応セルと、前記反応セルの上方に位置し、前記反応セルと一対一に対応付けられるキャピラリを備える送液部と、前記反応セルと一対一に対応して前記反応セルの下面に近接して配列された複数の光検出素子を有する光検出部とを含み、前記送液部から試薬溶液を前記反応セルに注入することにより前記反応セル内で発生する発光を前記光検出部の光検出素子によって個別に検出する発光検出装置であって、
前記送液部は、試薬溶液を入れる複数の試薬容器と、前記複数の試薬容器に連通する前記複数のキャピラリと、前記複数の試薬容器内を加圧する圧力源と、前記複数の試薬容器と前記圧力源を連通させる流路を含んでなり、
前記圧力源によって前記複数の試薬容器内を所定時間加圧する定圧加圧送液法によって、前記複数のキャピラリの吐出口から前記複数の反応セルに試薬溶液を均等に送液することを特徴とする発光検出装置。
【請求項４】
実質的に透明な底部を有する複数の反応セルと、前記反応セルの上方に位置し、前記反応セルと一対一に対応付けられるキャピラリを備える送液部と、前記反応セルと一対一に対応して前記反応セルの下面に近接して配列された複数の光検出素子を有する光検出部とを含み、前記送液部から試薬溶液を前記反応セルに注入することにより前記反応セル内で発生する発光を前記光検出部の光検出素子によって個別に検出する発光検出装置であって、
前記反応セルを、前記反応セルを保持している保持板を振動させることにより攪拌する攪拌手段と、
少なくとも前記反応セルと前記反応セルと一対一に対応する前記光検出素子との間に、前記反応セルから分離して、透明導電膜を備えたことを特徴とする発光検出装置。
【請求項５】
前記攪拌手段の攪拌周波数が、２０Ｈｚ以上であることを特徴とする請求項４に記載の発光検出装置。
【請求項６】
前記反応セルと前記送液部は、相対的に回転する少なくとも二つの円板あるいは保持板上に配置され、前記円板あるいは前記保持板を回転させて、前記送液部から試薬溶液を前記反応セルに注入することを特徴とする請求項１に記載の発光検出装置。
【請求項７】
前記送液部と前記反応セルは、同一間隔で同一円周上に配置されていることを特徴とする請求項１に記載の発光検出装置。
【請求項８】

前記反応セルと前記光検出部の複数の光検出素子との間にレンズまたは集光デバイスを配置したことを特徴とする請求項１に記載の発光検出装置。
【請求項９】
前記反応セルを一括して攪拌する攪拌手段を備えたことを特徴とする請求項１、請求項２、請求項３または請求項５に記載の発光検出装置。
【請求項１０】
前記攪拌手段は、前記反応セルを保持している保持板を振動させることを特徴とする請求項９に記載の発光検出装置。
【請求項１１】
前記攪拌手段は、前記反応セル中の磁気粒子を磁場生成手段により運動させることを特徴とする請求項９に記載の発光検出装置。
【請求項１２】
前記送液部から注入される前記試薬溶液はデオキシリボヌクレオチド三リン酸、またはこれらの類似体核酸を含む溶液であることを特徴とする請求項１ないし請求項５のいずれか１項に記載の発光検出装置。
【請求項１３】
注入される前記デオキシリボヌクレオチド三リン酸、またはこれらの類似体核酸を含む溶液に対応した送液部を備え、異なる前記反応セルに同時に注入することを特徴とする請求項１２に記載の発光検出装置。
【請求項１４】
４種類の異なるデオキシリボヌクレオチド三リン酸、またはこれらの類似体核酸を含む溶液が異なる４本の送液部に一対一に対応して、異なる前記反応セルに同時に注入することを特徴とする請求項１２に記載の発光検出装置。
【請求項１５】
前記送液部は、試薬溶液を入れる複数の試薬容器と、前記複数の試薬容器に連通する前記複数のキャピラリと、前記複数の試薬容器内を加圧する圧力源と、前記複数の試薬容器と前記圧力源を連通させる流路を含んでなり、
前記圧力源によって前記複数の試薬容器内を所定時間加圧する定圧加圧送液法によって、前記複数のキャピラリの吐出口から前記複数の反応セルに試薬溶液を均等に送液することを特徴とする請求項１、請求項２、請求項４または請求項５に記載の発光検出装置。
【請求項１６】
前記光検出部の光検出側に透明導電膜が配置し、前記透明導電膜を接地されていることを特徴とする請求項１、請求項２、請求項３または請求項５に記載の発光検出装置。
【請求項１７】
前記反応セルに核酸試料、前記核酸試料の一部の配列に相補的な配列を含むプライマー、ＤＮＡポリメラーゼ、ルシフェリンおよびルシフェラーゼのいずれか一つを含む溶液を保持し、前記反応セル内で、前記核酸試料に前記プライマーをハイブリダイズさせ、少なくとも１種の前記デオキシリボヌクレオチド三リン酸またはこれらの類似体と前記ＤＮＡポリメラーゼを用いた相補鎖伸長反応の進行により生成するピロリン酸をアデノシン５’－三リン酸（ＡＴＰ）に変換し、前記ＡＴＰ、前記ルシフェリンおよび前記ルシフェラーゼの反応により生成する生物発光を、前記光検出部の光検出素子で検出することを特徴とする請求項１ないし請求項５のいずれか１項に記載の発光検出装置。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、試薬溶液と反応溶液の生物・化学的反応によって放出される発光を検出する発光検出装置に関する。
【背景技術】
【０００２】
従来、ＤＮＡ塩基配列を自動決定するＤＮＡシーケンサとして、ゲル電気泳動やキャピ

ラリーアレイ電気泳動等の蛍光式ＤＮＡシーケンサが幅広く普及している。これらのＤＮＡシーケンサを用いたＤＮＡ塩基配列決定方法は、ダイデオキシ（サンガー）法で調整したＤＮＡ断片を電気泳動にかける方式である（例えば、非特許文献１参照）。

特に、キャピラリーアレイ電気泳動は、一度に長い塩基配列を決定することができるために、２００３年４月にヒトゲノムコンソーシアムにおいて完了宣言が出されたヒトゲノム解析においても大いに活躍した。

【０００３】

ヒトゲノム解析の完了時期と前後して、ＤＮＡシーケンサに対する需要は、大規模シーケンス向けの高速・大量解析用の装置と、小型の構成にて簡便かつ低コストに使用できる装置とに分かれはじめている。

例えば、遺伝子診断や多型解析など、既知のゲノム情報との比較をおこなう場合には、新たにＤＮＡ全長を決定する必要はなく、目的とする短い範囲のＤＮＡ配列を決定すれば充分なことも多い。この場合、ＤＮＡシーケンサは小型の構成にて簡便かつ低コストな装置であることが好ましい。しかしながら、従来技術であるゲル電気泳動やキャピラリーアレイ電気泳動は、例えば、高圧電源を含んで構成する必要性等から、必ずしも適切であるとは言えない。

【０００４】

そこで、前記要件を満たす方法として、ポリメラーゼによるＤＮＡ相補鎖伸長反応と生物発光検出法を組み合わせた段階的化学反応を用いたパイロシーケンス法（例えば、非特許文献２参照）と呼ばれるＤＮＡ塩基配列決定方法が注目を集めている。

【０００５】

以下に、パイロシーケンス法の基本原理を示す。

パイロシーケンス法では、鋳型ＤＮＡに４種のｄＮＴＰを１種類ずつ順次加えてポリメラーゼによるＤＮＡ相補鎖伸長反応を行い、このＤＮＡ相補鎖伸長反応と並行して発光を検出することにより塩基配列決定を行う。

【０００６】

パイロシーケンス法において、ＤＮＡ相補鎖伸長反応が起こるとｄＮＴＰが取り込まれ、ピロリン酸が生じる。生じたピロリン酸をＡＴＰスルフリラーゼ等の酵素でＡＴＰに変換する。生じたＡＴＰをルシフェラーゼ／ルシフェリン反応系で発光させ、その生物発光を光学的に検出する。その際、どの種類のｄＮＴＰを加えたときに発光したかをモニタすることでＤＮＡ相補鎖伸長反応の有無がわかり、順次ＤＮＡ塩基配列を決定できる。連続する塩基の場合には、ＤＮＡ相補鎖伸長反応で生じるピロリン酸量が取り込まれる塩基数に比例、すなわち発光量に比例するため、発光強度をモニタすることによって、連続する同じ塩基種の数を決定できる。その際、加えたｄＮＴＰがいつまでも反応溶液に残留していると配列決定する上で障害となる。近年、ｄＮＴＰ分解酵素（アピラーゼ）を反応溶液中に共存させて余剰のｄＮＴＰを酵素分解する方式（特許文献１参照）が考案され、装置の自動化が実現されている。

このように、パイロシーケンス法においては、従来のゲル電気泳動やキャピラリーアレイ電気泳動で使用されていた、高圧電源、レーザ光源、ＤＮＡの分離スペース等、大きな構成部品を必要としない。

【特許文献１】特許第３５３３２２３号公報

【非特許文献１】T.A.Brown　ゲノム　メディカル・サイエンス・インターナショナル、２０００年５月２６日発行、ｐ７０－７８

【非特許文献２】Anal. Biochem. 244, 367－373 (1997)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【０００７】

前記したように、生物発光を活用するパイロシーケンス法は、ゲル電気泳動やキャピラリーアレイ電気泳動に比べ、小型の構成にて簡便かつ低コストでＤＮＡ塩基配列を決定できる方法として注目されている。

しかしながら、パイロシーケンサの歴史は長くはなく、現在市販されているパイロシーケンサは、９６穴タイタープレートを反応セルに用い、光学系にＣＣＤカメラを使用した大型の装置（特表2002－518671号公報参照）であって、改善の余地がある。

また、簡便性やコスト面においても、改善の余地が残されている。

反応セルに注入する試薬溶液は少なくとも４種類（ｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＧＴＰまたはｄＴＴＰを含む）であり、通常は４本の試薬チューブと各試薬チューブに連通した４本のノズルとを１組にして試薬溶液を順次注入する。例えば、反応セルが９６個の場合、すなわちタイタープレートを使用する場合には、４本の試薬チューブと各試薬チューブに連通した４本のノズルとのセットを９６組、すなわち、３８４本の試薬チューブと各試薬チューブに連通した３８４本のノズルとを用意する必要があった。この場合、試薬チューブやノズルの本数が多く、製作コストが高くなることと、目詰まり等を防止するためのメンテナンスが煩雑になるという問題があった。

また、ＤＮＡ塩基配列を決定する場合に加える試薬溶液、すなわちｄＮＴＰ溶液量は、反応溶液量の１／１００以下が望ましい。これは、加えるｄＮＴＰ溶液量が多いと反応溶液量が変化し、酵素濃度が低くなり反応速度が遅くなるためである。そのため、ｄＮＴＰ溶液を加える際には、反応溶液を攪拌する必要がある。このことは、特に、装置を小型化、あるいは注入する試薬溶液量を微量化する場合には重要となってくる。例えば、反応溶液量２０μＬの場合には、ｄＮＴＰ溶液量は０．２μＬ以下であり、微量な反応溶液を効率よく攪拌する手段に加えて、微量な試薬溶液を精度よく注入する小型で簡便な手段が必要となる。

本発明は、前記した問題を解決し、小型の構成にて簡便かつ低コストで、ＤＮＡ塩基配列を決定できる発光検出装置を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

前記目的を達成するために、本発明は、実質的に透明な底部を有する複数の反応セルと、前記反応セルの上方に位置し、前記反応セルと一対一に対応付けられるキャピラリを備える送液部と、前記反応セルと一対一に対応して前記反応セルの下面に近接して配列された複数の光検出素子を有する光検出部とを含み、前記送液部から試薬溶液を前記反応セルに注入することにより前記反応セル内で発生する発光を前記光検出部の複数の光検出素子によって個別に検出することを特徴とする発光検出装置である。

【０００９】

このような構成とすることにより、送液部に備えられた全てのキャピラリから試薬溶液を吐出させる構成となり、複雑な駆動部を用いない簡単な装置構成で、一括同時注入を実現でき、さらに、従来技術に比べ試薬チューブやキャピラリの数を少なく構成することができる。また、全てのキャピラリから所定時間毎に試薬溶液が吐出されるため、キャピラリ吐出口の乾燥などを考慮に入れて装置を設計する必要がない。

また、光検出部においては、大きな受光立体角を確保して複雑な光学系を使用せずに高集光効率で発光を検出できるため、簡便に高感度化が達成できる。

【発明の効果】

【００１０】

本発明によれば、小型の構成にて簡便かつ低コストで、ＤＮＡ塩基配列を決定できる発光検出装置を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【００１１】

以下、本発明の発光検出装置を実施するための最良の形態（以下「実施形態」と言う）について、適宜図面を参照しながら詳細に説明する。なお、以下の説明において、同一の構成要素には同一番号を付し、重複する説明は省略する。

【００１２】

まず、図１および図２を用いて、本実施形態にかかる発光検出装置の概略を説明する。図１は、発光検出装置１の外観斜視図であって、図２は、図１から本体カバー９を取り

除いた発光検出装置１の要部を示す斜視図である。

図１に示すように、発光検出装置１の中央上部には、試薬チューブホルダ２と、試薬チューブホルダ２が着脱自在に固定される回転軸３とが配設されている。試薬溶液が入った試薬チューブ１７は、回転軸３から試薬チューブホルダ２を取り外すことによって、試薬チューブホルダ２の下面に装着される（図３参照）。試薬チューブホルダ２の上部には、圧力配管４が回転シール５を介して接続されている。

【００１３】

反応セル６は、試薬チューブ１７と連通したキャピラリ１８（図３参照）から吐出される試薬溶液と、あらかじめ反応セル６内に分注されていた反応溶液との反応の場である。本実施形態においては、例えば、ＤＮＡ相補鎖伸長反応の場であると同時に、ルシフェリンールシフェラーゼ発光反応の場である。

なお、本実施形態において「試料」とは、分析の対象となる物質であって、生体試料に限定されない。また、生体試料においても、核酸に限定されない。また、「反応溶液」とは、少なくとも試料を含み、さらに、注入される試薬溶液との反応や発光反応に必要な、緩衝溶液、化合物、酵素等を適宜含んでいるものとする。

【００１４】

反応セル６は、出入自在なトレー８の中央に反応セルホルダ７を介して配設されており、装置稼動時にはトレー８の収容にともなって、試薬チューブ１７に連通するキャピラリ１８の下部垂直方向にそれぞれ搬入される。また、反応セル６を取り出したり交換したりする場合には、トレー８を引き出すことで、反応セル６が装置外に搬出される。なお、トレー８は、ガイド２７（図４参照）によって保持されており、トレー８の出入は、本体カバー９上に設置されたエジェクトボタン１０により操作することができる。

【００１５】

以下、本実施形態においては、トレー８が発光検出装置１内に収容された状態であって、４つの反応セル６は、試薬チューブ１７に連通するキャピラリ１８の下部垂直方向にそれぞれ位置しているものとする。さらに、試薬チューブホルダ２下面には試薬チューブ１７が装着され、試薬チューブホルダ２は回転軸３に固定されているものとする。

【００１６】

本体カバー９、扉１１および遮光板１２は、発光検出装置１内部を遮光するための遮光部材として機能する。また、扉１１は、試薬溶液の交換や、回転軸３および後記する送液部１９（図４参照）のメンテナンスのために適宜開扉される。

【００１７】

図２に示すように、回転軸３は、ベース１３の上部に、回転軸受２８（図４参照）を介して水平方向に回動自在に保持されている。さらに、ベース１３の上部には、回転軸３の周囲をコ字型に囲むシールド１４が設けられ、迷光を防ぐと同時に電気的なノイズを防ぐ。

一方で、ベース１３の下方には、反応セル６を保持したトレー８と、反応セル６内で生じた光を検出するための光センサ２４（図４参照）を格納したシールドケース１５が配設されている。

なお、ベース１３はスタンド１６により支持されている。

【００１８】

次に、図３および図４を参照して、本実施形態にかかる発光検出装置１について、詳細に説明する。

【００１９】

図３は、試薬チューブ１７に連通したキャピラリ１８と、反応セル６との対応関係を説明するための図である。

なお、試薬チューブ１７、キャピラリ１８および反応セル６に関し、それぞれの対応関係を説明するために構成要素ごとに示す場合には、例えば、試薬チューブであれば、１７ａ、１７ｂ、１７ｃ、１７ｄ等、末尾にアルファベットを付した符号により説明するが、構成要素全体を示す場合には、試薬チューブ１７のように示して説明する。

【００２０】
４本の試薬チューブ１７ａ－１７ｄには、試薬溶液として、異なる４種のデオキシヌクレオチド溶液（ｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＧＴＰまたはｄＴＴＰを含む）またはその誘導体が１種類ずつ入っており、各試薬チューブ１７ａ－１７ｄに連通した４本のキャピラリ１８ａ－１８ｄからそれぞれの試薬溶液が、圧力配管４から供給される空気圧により吐出される。各キャピラリ１８ａ－１８ｄのそれぞれの下部垂直方向には、各キャピラリ１８ａ－１８ｄと一対一に対応付けられる４つの反応セル６ａ－６ｄが配設されており、キャピラリ１８ａ－１８ｄから吐出される試薬溶液は、それぞれの下部垂直方向にある反応セル６ａ－６ｄ内に注入される。

【００２１】
図４は、図２で示した発光検出装置１の要部について、一点鎖線Ａ－Ａ’により垂直方向に切断し矢示方向から見た場合の縦断面図である。
送液部１９は、試薬チューブ１７と、試薬チューブ１７と連通したキャピラリ１８と、試薬チューブホルダ２内に形成されたガス流路２０と、回転シール５と、圧力配管４と、図示しない圧力源とによって構成される。

【００２２】
試薬チューブホルダ２の下面には、試薬チューブ開口部を密嵌するための４つの凸部２１が形成されている。さらに、密嵌後の状態において、試薬チューブ内壁と着接していない各凸部２１の突端側には、ガス流路２０の下端であるガス供給口２０ａが形成されている。ガス供給口２０ａの数、すなわち、試薬チューブホルダ２に装着される試薬チューブ１７の数に応じて、ガス流路２０は試薬チューブホルダ２内で分岐している。なお、反応溶液の飛散防止のために、ガス供給口２０ａはガスが反応溶液液面に直接噴出されない角度で設けることが好ましい。
ガス流路２０の上端２０ｂは、回転シール５を介して圧力配管４と接続されており、ガス流路２０は試薬チューブ１７と圧力配管４とを連通させている。圧力配管４は、電磁弁等の圧力切り替え装置（図示せず）を介して３気圧（０．３ＭＰａ・Ｇ)以上の高圧ボンベやコンプレッサ等の圧力源（図示せず）に接続されている。なお、回転シール５は回転軸３の中央に配設されており、回転軸３が回転しても圧力配管４がねじれることはない。

【００２３】
試薬チューブ１７中の試薬溶液の反応セル６への送液には、定圧加圧送液法が好適である。
定圧加圧送液法は、圧力源からの圧縮空気（１～２気圧（０．１～０．２ＭＰａ・Ｇ）程度）を使用して、電磁弁等の圧力切り替え装置により数秒程度の空気圧力を加えることにより行うものである。
圧力源から圧力配管４を介して送られる圧力は、複数の試薬チューブ１７全てに均等に送られるので、１度のガス供給作業によって全部の試薬チューブ１７から同時に試薬溶液を吐出させることができる。このような構成とすることにより、発光検出装置１を簡略化することができる。
なお、本実施形態で使用する定圧加圧送液法式による試薬チューブ１７の吐出量は、次のＨａｇｅｎ－Ｐｏｉｓｅｕｉｌｌｅの（１）式に従う。

【００２４】
$$Q = \Delta P \cdot \pi \cdot r^4 \cdot t / (8 \mu L) \cdots (1)$$
（１）式において、ΔＰ：加えた圧力、ｒ：微小細管の内径、ｔ：圧力を加えた時間、μ：溶液の粘性、Ｌ：微小細管の長さである。
（１）式で示すように、定圧加圧送液法においては、キャピラリ（微小細管）１８は流量制御用部材であって、内径や長さの異なるキャピラリ１８を選択することによって、流量を調節することができる。
例えば、大気圧程度（２気圧（０．２ＭＰａ・Ｇ)以下）の低圧力使用、加圧時間２秒以下および吐出量０．２μＬ以下、の条件を満たすためには、内径２５μｍ、長さ２０ｍｍのキャピラリ１８を使用することが好適である。

【００２５】
回転軸３は、回転モータ２２を駆動力として回転する。さらに、前記したように、回転軸３の上部には試薬チューブホルダ２が固定されているため、回転軸３の回転にともなって、試薬チューブホルダ２と試薬チューブホルダ２に装着された試薬チューブ１７も回転する。
また、回転軸３の内部には、試薬チューブホルダ２に装着した４本の試薬チューブ１７を収容するために、軸方向に４つの貫通孔２３が形成されている。
なお、回転モータ２２は図示しないモータ制御手段によって制御することができる。例えば、モータ制御手段は、回転角と回転の時間間隔等を規定したプログラムを実装した制御部（ＣＰＵ）であってもよい。４本のキャピラリ１８と４つの反応セル６を備えてなる本実施形態においては、キャピラリ１８と反応セル６を、所定時間毎に９０°ずつ回動させるプログラム制御が好適である。あるいは、時間間隔の代わりに、検出される発光強度が所定値以下まで減衰する毎に、所定角度ずつ回動させるように規定したプログラムであってもよい。
【００２６】
反応セル６の底部は透明な部材からなり、反応セル６は、反応セルホルダ７内に円周状に形成された貫通孔に上方から嵌入される。その結果、反応セル６内で生じた光を、反応セル６の底部より下方で検出することができる構成となっている。なお、反応セル６の底部は、実質的に透明であればよく、必ずしも全ての波長の光を透過させる必要はない。少なくとも、反応セル６の底部は、検出を所望する波長の光を透過させることができればよい。また、必ずしも１００％の効率で光を透過させる必要はなく、正確な光の透過率が分かっていれば、測定後に、この透過率に基づいて測定値を補正すればよい。
【００２７】
光検出部２９は、少なくとも、光センサ２４と、光センサ２４の検出信号を増幅するために電気的に接続されたアンプ２５とを含んで構成され、ベース１３に固定されたシールドケース１５に格納されている。
光センサ２４は、反応セル６の下部垂直方向に、反応セル６と一対一に対応付けられて配設されている。光センサ２４を反応セル６毎に配設したことで、反応セル６の間隔、配設およびサイズに関係なく高感度で光を検出することができる。なお、アンプ２５は、アンプ２５毎に生じる出力誤差を考慮し、１個のアンプ２５に対して４個の光センサ２４を接続する構成を適用しているが、必ずしもこの構成に限定されない。
本実施形態では、レンズ等を使用した複雑な光学系を使用せず、簡便な方式で集光効率を高めるために、光センサ２４を反応セル６に可能な限り近づけて受光角を大きくする密着型とし、部品数低減と光軸調整不要な簡単な構造で高集光効率が達成可能な構成としている。ただし、装置の構成によっては、反応セル６と光センサ２４との間に、適宜レンズや集光デバイス等を配置することを妨げるものではない。
【００２８】
前記したように、本実施形態では反応セル６に光センサ２４が近接し、高倍率のアンプ２５を使用しているため、静電誘導によるノイズ（微小擬電流）を検出してしまう問題がある。このノイズは、試薬溶液の注入時、または、後記する攪拌にともなう反応セルホルダ７またはトレー８の振動時に検出されやすい。
このノイズを除去するために、本実施形態では、反応セル６と、この反応セル６に対応する光センサ２４との間に、透明導電膜２６ａを備えた構成としている。
【００２９】
図５（ａ）は、本実施形態の透明導電膜２６ａの設置形態を説明するための要部拡大断面図である。
図５（ａ）に示すように、光センサ２４の上部垂直方向を含むシールドケース１５上面に、光透過性および化学的安定性に優れた石英ガラス板２６を配設し、石英ガラス板２６の下面をＩＴＯ（酸化インジウム）またはSnO_2からなる透明導電膜２６ａでコーティングする構成としている。このように、透明導電膜２６ａを反応セル６に固着させるので

はなく、反応セル６から分離して構成することで、反応セル６にかかるコストを低減させることができ、使い捨て可能な反応セル６を提供することができる。なお、透明導電膜２６ａはシールドケース１５に面して接地しており、導電性接着剤等によりシールドケース１５に貼着されている。

【００３０】

なお、本実施形態においては、透明導電膜２６ａを反応セル６から分離して構成したが、この構成には限定されない。例えば、透明導電膜２６ａを反応セル６と一体に形成してもよい。

ここで、図５（ｂ）は、通常の透明導電膜２６ａの設置形態を適用した場合を説明するための要部拡大断面図である。本実施形態においても、図５（ａ）のような分離した構成としない場合には、例えば、図５（ｂ）に示すように、反応セル６の底部部材として石英ガラス板２６を適用し、石英ガラス板２６下面をＩＴＯまたはSnO_2からなる透明導電膜２６ａでコーティングする構成とすることができる。

【００３１】

本実施形態において、１度に反応セル６に注入される試薬溶液量は、あらかじめ反応セル６内に分注されていた反応溶液の約１／１００であって、相対的に少量である。従って、反応による発光強度を適切に検出するためには、試薬溶液の自然拡散を待つのではなく、試薬溶液注入後に速やかに反応セル６を攪拌することが好適である。

【００３２】

一つの攪拌手段として、例えば、振動モータを挙げることができる。

振動モータ（図示せず）は、反応セル６を保持する反応セルホルダ７、あるいは、反応セルホルダ７を保持するトレー８に設置されている。反応セルホルダ７あるいはトレー８を振動モータと接触・振動させることによって、全ての反応セル６を一括攪拌することができる。なお、振動モータには、例えば、携帯電話等に使用する小型の振動モータが利用できる。

【００３３】

その他の攪拌手段として、例えば、磁気粒子等を挙げることができる。

具体的には、反応セル６内に磁気粒子等を添加し、反応セル６外に設けられた磁場生成手段（図示せず）によって反応セル６内に磁場をかけることで磁気粒子等を運動させて反応溶液を攪拌する。なお、この場合には、注入後数秒の攪拌を行えばよい。

【００３４】

ただし、反応セル６を振動モータにより攪拌する場合には、振動にともなって、透明導電膜２６ａがシールドケース１５と離間して接地が取れなくなる場合を考慮する必要がある。そこで、前記した透明導電膜２６ａの各設置形態について、振動モータによる攪拌の影響を実験例を参照しながら説明する。

なお、磁気粒子による攪拌は、反応セル６の振動が起こらないので、前記した問題は考慮に入れなくてもよい。

【００３５】

[実験例１]

実験例１においては、図５（ａ）で示した本実施形態の透明導電膜２６ａの設置形態と、図５（ｂ）で示した通常の透明導電膜２６ａの設置形態を適用した場合について、振動モータによる攪拌の影響を示すための実験を行っている。

【００３６】

[検出条件]

実験例１で使用した透明導電膜２６ａをコーティングした石英ガラス板２６の性能は、波長４５０～６００ｎｍにおいて透過率９０％以上、面積抵抗１０００～１５００Ωである。光センサ２４には、浜松ホトニクス製ホトダイオードS1133－01を使用し、光センサ２４の出力は、電流電圧変換増幅アンプ（BURR BROWN製OPA129UB）および１０ＧΩの抵抗を用いて、1×10^{10}に増幅し、２段目のオペアンプ（ANALOG DEVICES製OP07）を用いてトータルゲイン1.8×10^{11}に増幅した。

なお、実験例１はノイズを検出するための測定であるため、試薬溶液や反応溶液等は使用していない。

【００３７】

[実験結果]

本実施形態の透明導電膜２６ａの設置形態（図５（ａ）参照）におけるノイズ測定結果を図７（ａ）に、通常の透明導電膜２６ａの設置形態を適用した場合（図５（ｂ）参照）におけるノイズ測定結果を図７（ｂ）に示す。図７（ａ）および図７（ｂ）ともに、ノイズは検出されない。すなわち、両者ともに振動による攪拌を行っていない場合であるため、透明導電膜２６ａはシールドケース１５に接地されており、透明導電膜２６ａのノイズ遮断機能は有効に機能している。

【００３８】

図６（ａ）は、本実施形態の透明導電膜２６ａの設置形態（図５（ａ）参照）において、振動モータにより攪拌している状態を説明するための模式図であり、攪拌時のノイズ測定結果を図７（ｃ）に示す。図７（ｃ）において、ノイズは検出されない。振動モータにより、振動攪拌の際に反応セル６が上下に動いても、透明導電膜２６ａはシールドケース１５に貼着されているため、透明導電膜２６ａのノイズ遮断機能は有効に機能している。

【００３９】

図６（ｂ）は、通常の透明導電膜２６ａの設置形態を適用した場合（図５（ｂ）参照）において、振動モータにより攪拌している状態を説明するための模式図であり、攪拌時のノイズ測定結果を図７（ｄ）に示す。図７（ｄ）において、ノイズが検出された（時間１５秒において、－０．０４Ｖ程度の信号強度を検出したことを示す）。振動攪拌による反応セルの上下動のために、反応セル底部に形成された透明導電膜はシールドケース１５と離間して接地がとれなくなるためである。

従って、実験例１の結果によれば、攪拌手段として振動モータを用いる場合には、本実施形態の透明導電膜２６ａの設置形態（図５（ａ）参照）が好適であることが示された。

【００４０】

[実験例２]

実施例２においては、振動モータによる攪拌の至適条件を検討するための実験を行っている。

【００４１】

[検出条件]

反応に用いた反応溶液は２０μＬであり、試薬溶液（デオキシヌクレオチド溶液）を０．２μＬ注入した。未反応の試料ＤＮＡ（鋳型ＤＮＡ）の量は、同一試薬溶液（デオキシヌクレオチド溶液）を再度注入し、反応した量とした。試薬溶液および反応溶液の組成については、後記する実施例「表１」を参照する。

装置等の設定は、実験例１の検出条件に従った。

【００４２】

[実験結果]

図８は、振動モータの振動数と未反応ＤＮＡ鎖の割合との相関関係を示している。

振動モータの攪拌周波数が２０Ｈｚ以上で未反応物の割合が、数％以下になった。特に、攪拌周波数２５Ｈｚ以上では、未反応物の割合はほぼ０％で、完全に反応が進んでいることが分かる。図示を省略したが、さらに、攪拌周波数を大きくすると反応セル６が振動しなくなり、逆に反応効率が低下する。１００Ｈｚ以上では１０％以上の未反応が起こる。

【００４３】

なお、以上説明した本発明は、その技術思想のおよぶ範囲で、種々の変更実施を行うことができる。例えば、本実施形態においては、反応セル６は移動せず、キャピラリ１８が回転する構成を示したが、キャピラリ１８を移動させずに反応セル６を回転させる構成としてもよい。

【００４４】

また、本実施形態では反応セルの数を塩基の種類に対応して４つとして説明したが、８個、１２個、１６個等、４の倍数個の反応セルを設けてもよい。さらに、増加させた反応セルの数に対応させて試薬チューブの数を適宜増加させてもよい。以下、反応セルの数に関する変形例を、適宜図面を参照して説明する。

【００４５】

図９は、反応セルの数に関する変形例１を示す図である。

変形例１においては、４つの反応セル１０６ａ－１０６ｄに加え、それぞれの反応セル１０６ａ－１０６ｄの外周方向にさらに４つの反応セル１０６ｅ－１０６ｈを設けた構成である。また、各反応セル１０６ａ－１０６ｈの上部垂直方向には試薬チューブ１１７ａ－１１７ｈに連通したキャピラリ１１８ａ－１１８ｈを配設している。なお、変形例１においては、試薬チューブ１１７ａ－１１７ｄと試薬チューブ１１７ｅ－１１７ｈそれぞれについて、異なった４種のデオキシヌクレオチド溶液（ｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＧＴＰまたはｄＴＴＰを含む）またはその誘導体が１種類ずつ入っている。

このような構成とすることで、回転軸３の数を増加させることなく反応セル６の数を増加させることができ、一度に分析できる試料数を増やすことができる。

【００４６】

図１０は、反応セルの数に関する変形例２を示す図である。

図１０に示すように、半径方向に隣接するキャピラリ（例えば、２１８ａと２１８ｅ）が、同一の試薬溶液を吐出する場合、１本の試薬チューブ２１７につき、複数本のキャピラリ２１８を連通させる構成としてもよい。このような構成とすることで、試薬チューブ２１７の数を減らすことができるため、試薬溶液の交換を簡易に行うことができる。

【００４７】

図１１は、反応セルの数に関する変形例３を示す図である。

変形例３は、４の倍数個の反応セル３０６ａ－３０６ｈが、円周上に等間隔に配設されている場合である。また、各反応セル３０６ａ－３０６ｈの上部垂直方向には試薬チューブ３１７ａ－３１７ｈに連通したキャピラリ３１８ａ－３１８ｈを配設している。この場合、例えば、３１８ａ、３１８ｂ、３１８ｃ、３１８ｄ、３１８ｅ、３１８ｆ、３１８ｇ、３１８ｈの順に、それぞれ、ｄＡＴＰ、ｄＧＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＴＴＰ、ｄＡＴＰ、ｄＧＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＴＴＰを含む試薬溶液を吐出させるように配列させ、４５°ずつ回動させればよい。このような構成とすることで、回転軸３や送液部１９の数を増加させることなく反応セル６の数および試薬チューブ１７の数を増加させることができる。また、前記した実施形態の回転角が９０°であったのに比べ、回転軸３を駆動させる回転モータ２２の作業を減少させることができる。

【００４８】

また、図示していないが、反応セルの数に関する変形例４として、縦８穴×横１２穴の９６穴マイクロプレートを反応セル６として適用する場合について説明する。９６穴マイクロプレート中の互いに隣接する縦２穴×横２穴の計４つのウェル毎に、順次、図３で示した１つの送液部１９、すなわち、４本のキャピラリ１８をそれぞれ上部垂直方向に配設する構成とすることができる。このような構成とすることで、多くとも２４個の送液部１９、すなわち、９６本の試薬チューブ１７と、各試薬チューブ１７に連通した９６本のキャピラリ１８によって、９６試料を同時に分析することができる。

なお、市販のマイクロタイタープレートを反応セル６として適用する場合には、隣接するウェル（反応セル）同士の発光のクロストークを防止するために、反応セルホルダ７にクロストーク防止用の仕切りを設けることが好ましい。

【００４９】

また、反応セル６の数がキャピラリ１８の数よりも多い場合には、送液部１９にアクチュエータを設け、４つの反応セル６の分析完了毎に、次の４つの反応セル６に送液部１９を移動させる構成としてもよい。

【実施例】

【００５０】

次に、本発明の発光検出装置１の効果を確認した実施例をＤＮＡ塩基配列決定方法を例にさらに詳細に説明する。

なお、本実施例は、図３で示したように、本実施形態の構成である４つの反応セル６と４種のｄＮＴＰに対応した４つの試薬チューブ１７を備えた発光検出装置１によって塩基配列の決定を行った。従って、本実施例における、反応セル６、試薬チューブ１７およびキャピラリ１８の対応関係は、図３を参照して説明する。

【００５１】

本実施例で使用した透明導電膜２６ａをコーティングした石英ガラス板２６の性能は、波長４５０～６００ｎｍにおいて透過率９０％以上、面積抵抗１０００～１５００Ωである。光センサ２４には、浜松ホトニクス製ホトダイオードS1133－01を使用し、光センサ２４の出力は、電流電圧変換増幅アンプ（BURR BROWN製OPA129UB）および１０ＧΩの抵抗を用いて、1×10^{10}に増幅し、２段目のオペアンプ（ANALOG DEVICES製OP07）を用いてトータルゲイン1.8×10^{11}に増幅した。

【００５２】

本装置で行うＤＮＡ塩基配列決定方法の原理は、ＤＮＡに相補鎖結合したプライマーの伸長反応時に生成するピロリン酸（ＰＰｉ）をルシフェリン／ルシフェラーゼ系の生物発光反応法で検出するものである。以下に、反応スキームを説明する。

【００５３】

測定対象の試料ＤＮＡに伸長反応用プライマーをハイブリダイズさせる。試料ＤＮＡと伸長反応用プライマーがハイブリダイズした状態にＤＮＡポリメラーゼを用いてＤＮＡ相補鎖伸長反応を行う。その際、試薬溶液としてデオキシリボヌクレオチド三リン酸（あるいは類似対核酸）溶液を１種類ずつ、順次加えていくと、ＤＮＡ相補鎖伸長反応が起きた場合のみ、ＰＰｉが生じる。ＤＮＡ相補鎖伸長反応により生じたＰＰｉは、ＡＰＳ（アデノシン５’－ホスホスルフェイト）存在下でＡＴＰスルフリラーゼにより、SO_4^{2-}（硫酸イオン）を生じて、ＡＴＰに変換される。ＡＴＰスルフリラーゼにより変換されたＡＴＰは、マグネシウムイオンおよびO_2（酸素）存在下でルシフェラーゼによるルシフェリンの酸化反応に使用され、光を発する。その際、CO_2（炭酸ガス）が生じると共に、ＡＴＰはＰＰｉとＡＭＰに、ルシフェリンはオキシルシフェリンに変換される。ルシフェリン／ルシフェラーゼ系の生物発光に伴い生じたＰＰｉは、再度ＡＰＳ存在下でＡＴＰスルフリラーゼにより、ＡＴＰに変換され、発光反応が繰り返し起こり、発光は持続する。本ＤＮＡ塩基配列決定方法は、ｄＮＴＰ溶液を順番に繰り返し加え、発光の有無を検出しながら１個ずつ塩基配列を決定していく方法（Ahmadian, Aら、Analytical Biochemistry 280 (2000) 103－110 およびZhou, Gら、Electrophoresis 22 (2001) 3497－3504参照）であり、本発明の発光検出装置１を用いて容易に行うことができる。

以下、本実施例の具体的な測定方法を説明する。

【００５４】

本実施例では、試料ＤＮＡとして以下に示す遺伝子（thiopurine S－methyltransferase gene)、および、この配列の３’端と相補的な配列であるシーケンシング用プライマーを使用した。

【００５５】

thiopurine S－methyltransferase gene

5’－tgttgaagtaccagcatgcaccatgggggacgctgctcatcttcttaaagatttgatttttctcccataaaatgttttttctctttctggtaggacaaatattggcaaatttgacatgatttgggatagaggagcattagttgccattaatccaggtgatcgcaaatggtaagtaatttttt-3’

シーケンシング用プライマー

5’-aaaattacttaccatttgcgatca-3’

【００５６】

本実施例で使用した試薬溶液および反応溶液の組成を「表１」に示す。

なお、ここで使用した試薬溶液および反応溶液の組成や濃度は、測定法の一例であり、装置構成や試料ＤＮＡ等に応じて適宜変更できる。

【００５７】
【表１】

各溶液の試薬組成

試薬溶液	dNTP (300μM dATP αS, 200μM CTP, 200μM dGTP, or 200μM dTTP) 5.0 μM APS 10 mM Tris-acetate buffer, pH7.75
反応溶液	Sample DNA 0.1 M Tris-acetate buffer, pH7.75 0.5 mM EDTA 5.0 mM magnesium acetate 0.1 % (v/v) bovine serum albumin 1.0 mM dithiothreitol 0.1 U/μl DNA polymerase I, Exo-klenow Fragment 1.0 U/ml ATP sulfurylase 2.0 mg/ml luciferase 20 mM D-luciferin

【００５８】
各反応セル６には、反応溶液を合計３１μＬ分注し（うち、１μＬはプライマーアニーリング処理が施された試料ＤＮＡであり、測定直前に添加している）、この反応溶液に、試薬溶液（デオキシヌクレオチド溶液）０．３μＬを順次注入して、発光反応を測定した。

ここで、プライマーアニーリング処理が施された試料ＤＮＡとは、試料ＤＮＡ（４００ｆｍｏｌ）と１．５倍量のシーケンシング用プライマーをアニーリングバッファー中（10 mM Tris-acetate buffer、pH7.75、2 mM magnesium acetate）でハイブリダイゼイション（９５℃、２０秒→６０℃、１２０秒→室温）を行ったものである。ただし、試料ＤＮＡとシーケンシング用プライマーとのハイブリダイゼイションの方法は、前記したものに限定されない。例えば、反応セル６に試料ＤＮＡとシーケンシング用プライマーを添加した後に、ハイブリダイゼイションに必要な所定の温度操作を行ってもよい。

なお、本実施例においては、４つの反応セル６内に同一の試料ＤＮＡを含む同一の反応溶液を分注している。

【００５９】
試薬チューブ１７ａ、試薬チューブ１７ｂ、試薬チューブ１７ｃおよび試薬チューブ１７ｄには、試薬溶液として、それぞれｄＡＴＰαＳ溶液、ｄＧＴＰ溶液、ｄＴＴＰ溶液およびｄＣＴＰ溶液が保持されている。また、各試薬溶液には、ＡＰＳが含まれている（「表１」参照）。

なお、本実施例においては、ｄＡＴＰの代わりに、類似体であるｄＡＴＰαＳを使用している。ｄＡＴＰαＳは、ｄＡＴＰ同様に、ＤＮＡ相補鎖伸長反応の際にＤＮＡ３’端に付加しピロリン酸を放出する基質として機能する一方で、ルシフェラーゼに対する基質特異性、すなわち基質としての働きはｄＡＴＰの場合の２桁以下であるため、ｄＡＴＰを使用した場合に比べてバックグランドノイズの大きさが非常に小さくなる。従って、試薬溶液としてｄＡＴＰの代わりにｄＡＴＰαＳを使用することにより、感度が向上するため、より好ましい。

【００６０】
測定開始直後には、反応セル６ａ、反応セル６ｂ、反応セル６ｃおよび反応セル６ｄの

上部には、それぞれ、試薬チューブ１７ａ、試薬チューブ１７ｂ、試薬チューブ１７ｃおよび試薬チューブ１７ｄが配設されている。

【００６１】

ＤＮＡ塩基配列の決定は、４つの反応セル６中の反応溶液に同時にｄＮＴＰ溶液を注入し、所定時間後試薬チューブ１７を反時計回りに９０°回転し、次のｄＮＴＰ溶液を同時に注入して行う。

ここで、図１２を参照して、本実施例において、各反応セル６に注入されるｄＮＴＰ溶液の順番を示す。なお、前記したように本実施例においては、ｄＡＴＰの代わりにｄＡＴＰαＳを使用しているが、４種ｄＮＴＰの関係を簡潔に示すために、図中ではｄＡＴＰと示す。

試薬溶液注入の時間間隔は、３０～９０秒である。通常は反応の進行を確実にするために１反応１分とし、1塩基配列決定に４分要するが、試薬溶液および反応溶液の組成ならびに試料ＤＮＡの塩基配列によって適宜変更される。

【００６２】

図１３は、本実施例における各反応セル６の発光検出データである。図１３（ａ）、（ｂ）、（ｃ）および（ｄ）のＤＮＡ塩基配列データは、それぞれ、図１２に示す反応セル６ａ、反応セル６ｂ、反応セル６ｃおよび反応セル６ｄに対応している。全ての反応セル６において、重複するＤＮＡ塩基配列データを得た。なお、本実施例においては、前記したように、４つの反応セル６において、同一の試料ＤＮＡの塩基配列を分析している。

本実施例の結果から、本発明にかかる発光検出装置１を使用することで、全ての反応セル６において同時かつ適切にＤＮＡ塩基配列を決定することができることを示した。

【産業上の利用可能性】

【００６３】

ここで開示した装置は簡便なＤＮＡシーケンサとして、さらには一塩基伸長反応等のＤＮＡ検査装置として大きく産業分野に活用される。さらに、ＡＴＰ測定による細菌検査、あるいは小型ルミノメータとしても活用できる。

【図面の簡単な説明】

【００６４】

【図１】本発明の一実施形態である発光検出装置の外観斜視図である。

【図２】図１に示す発光検出装置から本体カバーを取り除いたときの発光検出装置の要部を示す斜視図である。

【図３】本発明の一実施形態である送液部と反応セルとの対応関係を説明するための図である。

【図４】本発明の一実施形態である発光検出装置の要部の縦断面図である。

【図５】透明導電膜の設置形態を説明するための要部拡大断面図であって、（ａ）は、本実施形態の透明導電膜２６ａの設置形態であり、（ｂ）は、通常の透明導電膜の設置形態を適用した場合である。

【図６】図５に示した透明導電膜の設置形態において、振動モータにより攪拌している状態を説明するための模式図であって、（ａ）は、本実施形態の透明導電膜の設置形態、（ｂ）は、通常の透明導電膜の設置形態を適用した場合について、それぞれの攪拌時の構成を示す。

【図７】本実施形態および通常の透明導電膜の設置形態において、それぞれ、非攪拌時と攪拌時のノイズの検出結果である。

【図８】振動モータの振動数と反応効率の相関関係を示す測定データである。

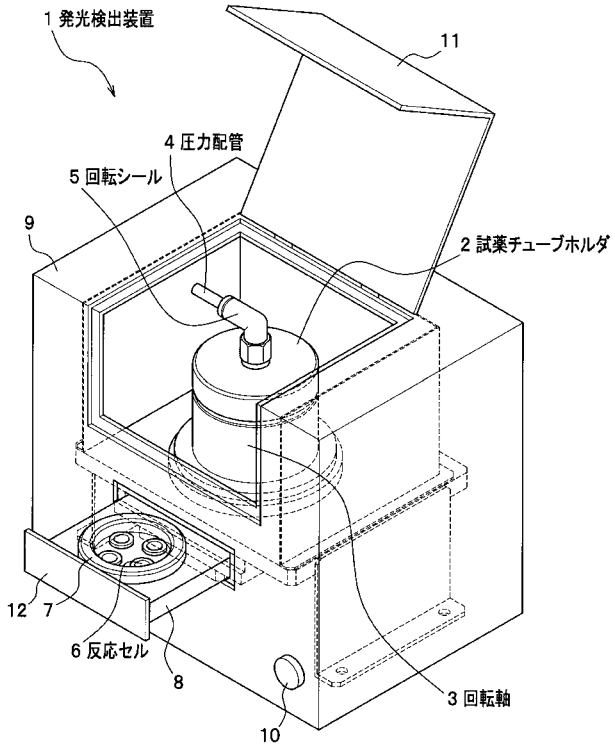
【図９】反応セルの数に関する変形例１である送液部と反応セルとの対応関係を説明するための図である。

【図１０】反応セルの数に関する変形例２である送液部と反応セルとの対応関係を説明するための図である。

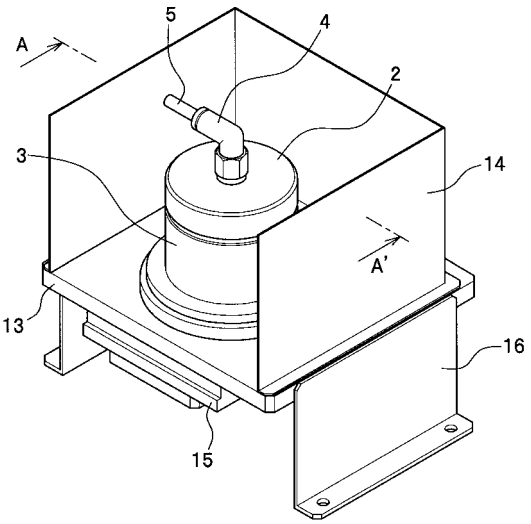
【図１１】反応セルの数に関する変形例３である送液部と反応セルとの対応関係を説明するための図である。

【図１２】本実施例において各反応セル６に注入されるｄＮＴＰ溶液の順番を説明するための図である。
【図１３】本実施例における各反応セルの発光検出データである。
【符号の説明】
【００６５】
１　発光検出装置
２　試薬チューブホルダ（円板）
３　回転軸
４　圧力配管（流路）
５　回転シール（流路）
６　反応セル
７　反応セルホルダ（保持板）
８　トレー（保持板）
９　本体カバー
１０　エジェクトボタン
１１　扉
１２　遮光板
１３　ベース
１４　シールド
１５　シールドケース
１６　スタンド
１７　試薬チューブ（試薬容器）
１８　キャピラリ
１９　送液部
２０　ガス流路（流路）
２０ａ　ガス供給口
２０ｂ　上端
２１　凸部
２２　回転モータ
２３　貫通孔
２４　光センサ（光検出素子）
２５　アンプ
２６　石英ガラス
２６ａ　透明導電膜
２７　ガイド
２８　回転軸受
２９　光検出部

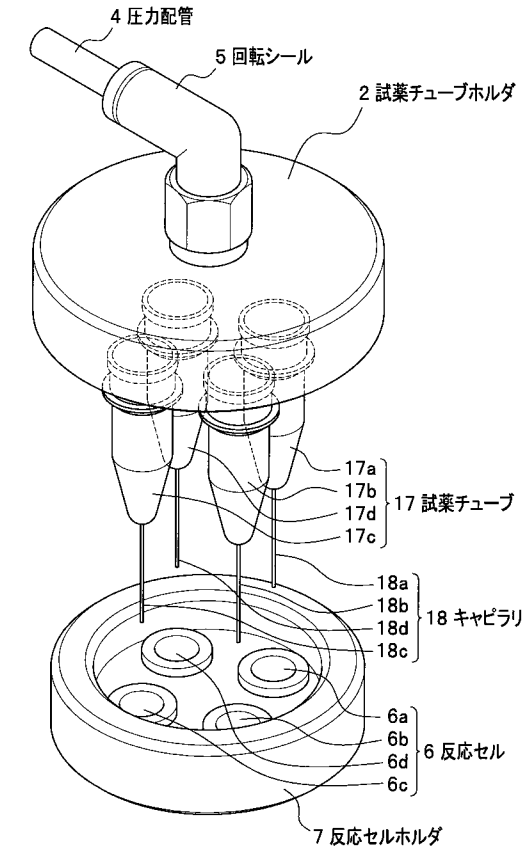
【図１】


1 発光検出装置
11
4 圧力配管
5 回転シール
9
2 試薬チューブホルダ
12
7
6 反応セル
8
3 回転軸
10

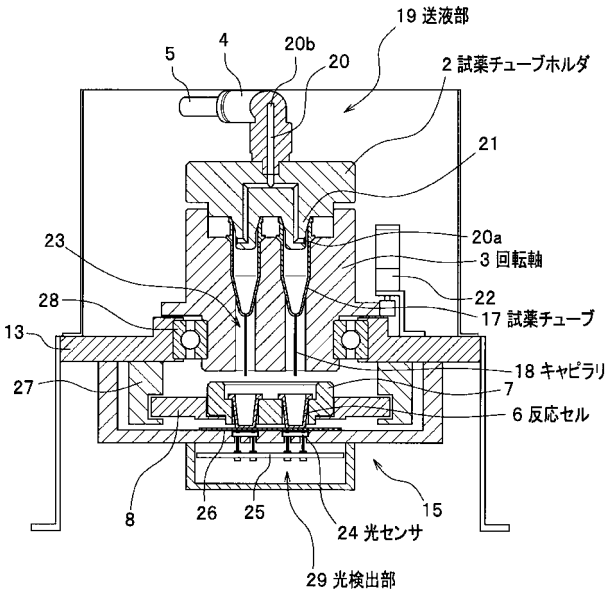
【図２】


A
5
4
2
3
14
A'
13
16
15

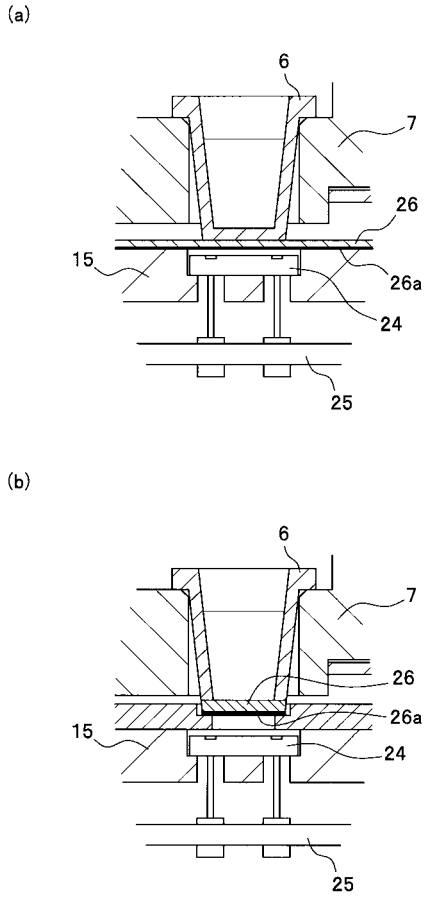
【図３】


4 圧力配管
5 回転シール
2 試薬チューブホルダ
17a
17b
17d
17c
17 試薬チューブ
18a
18b
18d
18c
18 キャピラリ
6a
6b
6d
6c
6 反応セル
7 反応セルホルダ

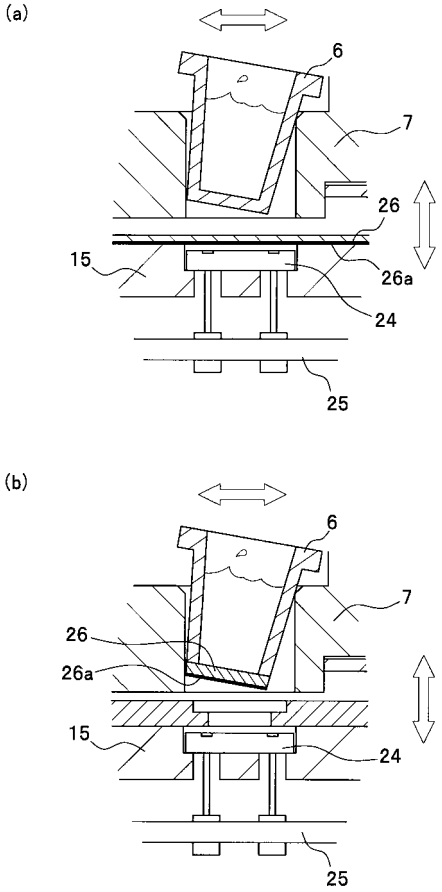
【図４】


19 送液部
5
4
20b
20
2 試薬チューブホルダ
21
23
20a
3 回転軸
28
22
17 試薬チューブ
13
18 キャピラリ
27
7
6 反応セル
8
26
25
24 光センサ
15
29 光検出部

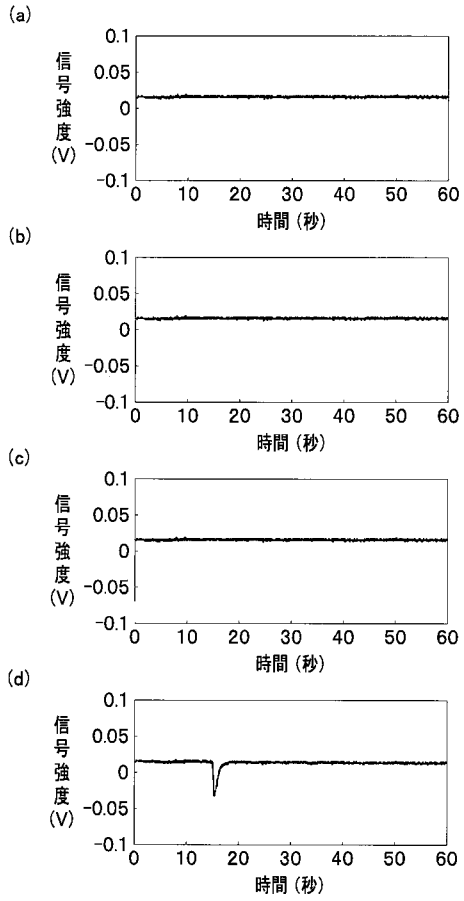
【図５】


(a)
6
7
26
15
26a
24
25
(b)
6
7
26
26a
15
24
25

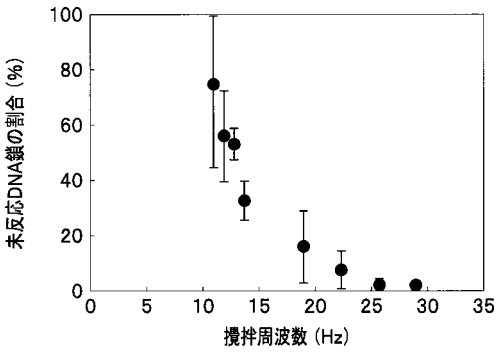
【図６】


(a)
6
7
26
15
26a
24
25
(b)
6
7
26
26a
15
24
25

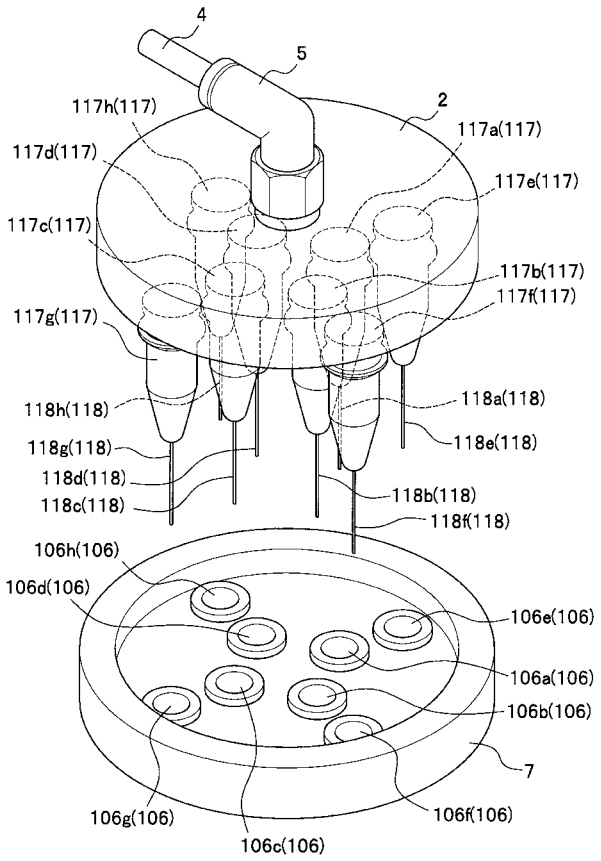
【図７】


(a)
(b)
(c)
(d)
信号強度 (V)
0.1
0.05
0
-0.05
-0.1
0 10 20 30 40 50 60
時間 (秒)

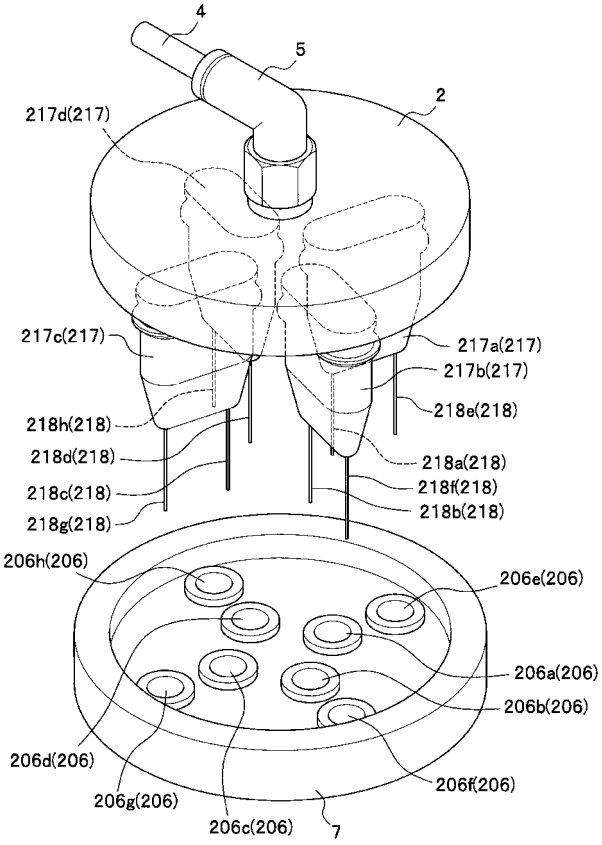
【図８】


未反応DNA鎖の割合 (%)
100
80
60
40
20
0
0 5 10 15 20 25 30 35
攪拌周波数 (Hz)

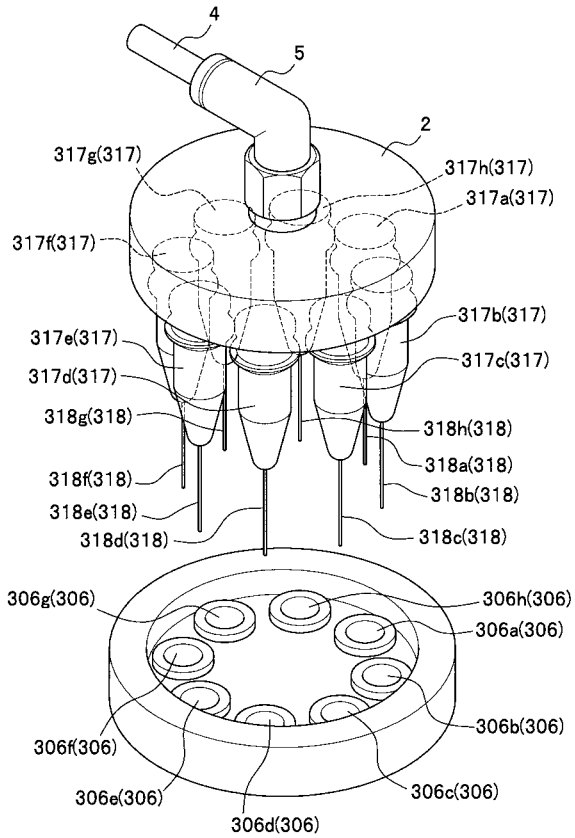
【図９】



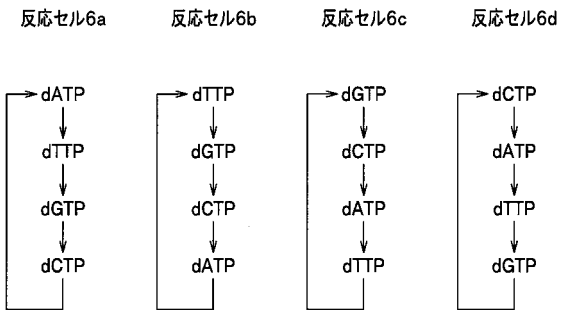
【図１０】



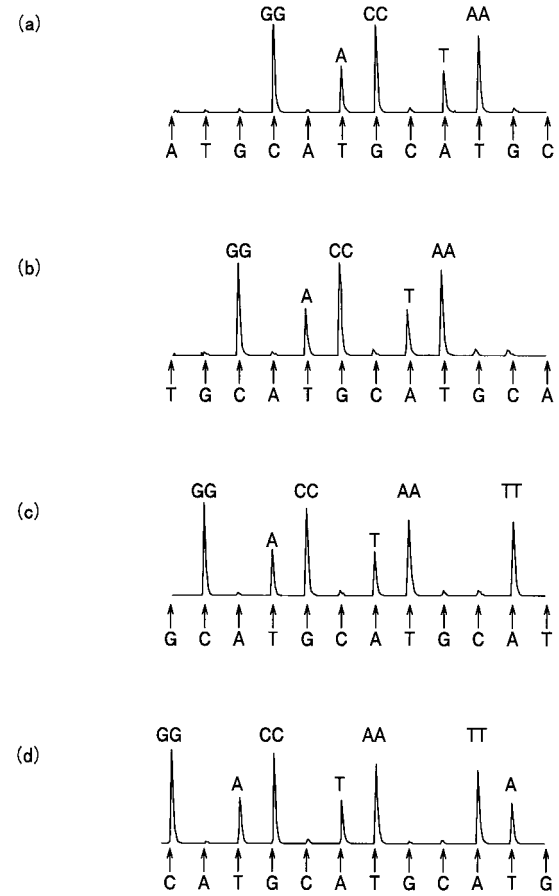
【図１１】



【図１２】



【図１３】



【配列表】

2006177837000001.app

フロントページの続き

(72)発明者　原田　邦男
東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目２８０番地　株式会社日立製作所中央研究所内
(72)発明者　釜堀　政男
東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目２８０番地　株式会社日立製作所中央研究所内

Ｆターム(参考) 2G054 CA22 CE02 EA01 EA02 EA03
2G058 EA11 EA14 FA02 FA03 GA02
4B029 AA07 AA23 CC01 CC10 FA15