

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3819724号

(P3819724)

(45) 発行日 平成18年9月13日(2006.9.13)

(24) 登録日 平成18年6月23日(2006.6.23)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 27/447 (2006.01)

GO 1 N 27/26 3 3 1 E

GO 1 N 21/64 (2006.01)

GO 1 N 27/26 3 1 5 K

GO 1 N 21/64 F

請求項の数 11 (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2001-104250 (P2001-104250)  
 (22) 出願日 平成13年4月3日(2001.4.3)  
 (65) 公開番号 特開2002-303604 (P2002-303604A)  
 (43) 公開日 平成14年10月18日(2002.10.18)  
 審査請求日 平成15年10月2日(2003.10.2)

(73) 特許権者 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 100091096  
 弁理士 平木 祐輔  
 (72) 発明者 古川 貴康  
 茨城県ひたちなか市大字市毛882番地  
 株式会社 日立製作所 計測器グループ内  
 (72) 発明者 三富 雅義  
 茨城県ひたちなか市大字市毛882番地  
 株式会社 日立製作所 計測器グループ内  
 (72) 発明者 大越 義則  
 茨城県ひたちなか市大字市毛882番地  
 株式会社 日立製作所 計測器グループ内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 キャピラリアレイ・ユニット及びその製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

複数のキャピラリと、前記複数のキャピラリを長さ方向の途中で整列保持し当該整列保持した複数のキャピラリに光照射するための開口とキャピラリから発せられた発光を取り出すための開口とを備えるウインドウユニットとを含むキャピラリアレイ・ユニットにおいて、

前記複数のキャピラリは外周に樹脂被覆が施され、前記ウインドウユニットに整列保持された部分で所定長さだけ前記樹脂被覆が剥がされ、前記樹脂被覆が剥がされた部分と剥がされない部分との境界領域に残っている樹脂被覆及び前記境界領域に続く所定長さの樹脂被覆が黒化し、前記樹脂被覆の黒化は樹脂被覆を加熱したことによるものであることを特徴とするキャピラリアレイ・ユニット。

10

【請求項2】

ポリイミド樹脂で被覆した複数のキャピラリを相互に固定してキャピラリアレイとするステップと、

前記キャピラリアレイの長手方向の一部をヒータで加熱して黒化させるステップと、

前記黒化した長手方向の領域中の一部を更に $O_3$ ガスを含む反応性ガスと反応させて被覆を除去するステップとを含むことを特徴とするキャピラリアレイ・ユニットの製造方法。

【請求項3】

ポリイミド樹脂で被覆したキャピラリの長手方向の一部をヒータで加熱して黒化させる

20

ステップと、

前記黒化した長手方向の領域中の一部を更に $O_3$ ガスを含む反応性ガスと反応させて被覆を除去するステップとを含むことを特徴とする電気泳動装置用キャピラリの製造方法。

【請求項 4】

複数のキャピラリと、励起光が照射される前記複数のキャピラリを長さ方向の途中で整列保持する検知部とを含むキャピラリアレイ・ユニットであって、

前記複数のキャピラリは外周に樹脂被覆が施され、前記検知部に整列保持された部分で所定長さだけ前記樹脂被覆が剥がされ、前記樹脂被覆が剥がされた部分と剥がされない部分との境界領域に残っている樹脂被覆及び前記境界領域に続く所定長さの樹脂被覆が黒化し、前記樹脂被覆の黒化が、樹脂被覆を加熱したことによるものであるキャピラリアレイ・ユニット。

10

【請求項 5】

石英管を樹脂により被覆し、石英管が剥き出しとなっている部分を含むキャピラリを含み、該石英管が剥き出しの部分にレーザ光が照射されるキャピラリアレイ・ユニットであって、

被覆が除去されている部分と被覆が除去されていない部分との境界部分の樹脂が加熱することにより黒化されているキャピラリアレイ・ユニット。

【請求項 6】

請求項 5 記載のキャピラリアレイ・ユニットであって、

被覆が除去されている部分と被覆が除去されていない部分との境界領域に残っている樹脂の表面がキャピラリの長手方向となす傾斜角度が 70 度以下であるキャピラリアレイ・ユニット。

20

【請求項 7】

請求項 5 記載のキャピラリアレイ・ユニットであって、前記被覆が、ポリイミド樹脂であるキャピラリアレイ・ユニット。

【請求項 8】

複数のキャピラリと、前記複数のキャピラリを長さ方向の途中で整列保持する検知部とを含むキャピラリアレイ・ユニットと、

前記キャピラリに注入された試料を電気泳動して分離する高電圧電源と、

前記検知部に励起光を照射する励起光学系と、

30

励起光照射によって前記キャピラリ中を泳動している試料から発せられる信号光を検出する受光光学系とを含むキャピラリアレイ電気泳動装置であって、

前記複数のキャピラリは外周に樹脂被覆が施され、前記検知部に整列保持された部分で所定長さだけ前記樹脂被覆が剥がされ、前記樹脂被覆が剥がされた部分と剥がされない部分との境界領域に残っている樹脂被覆及び前記境界領域に続く所定長さの樹脂被覆が黒化し、前記樹脂被覆の黒化が、樹脂被覆を加熱したことによるものであるキャピラリアレイ電気泳動装置。

【請求項 9】

石英管を樹脂により被覆し、該石英管が剥き出しとなっている部分を含むキャピラリと、

40

前記キャピラリに注入された試料を電気泳動して分離する高電圧電源と、

前記石英管が剥き出しの部分にレーザ光を照射する励起光学系と、

レーザ光の照射によって前記キャピラリ中を泳動している試料から発せられる蛍光を検出する受光光学系とを含むキャピラリアレイ電気泳動装置であって、

被覆が除去されている部分と被覆が除去されていない部分との境界部分の樹脂が加熱することにより黒化されている電気泳動装置。

【請求項 10】

請求項 9 記載の電気泳動装置であって、

被覆が除去されている部分と被覆が除去されていない部分との境界領域に残っている樹脂の表面がキャピラリの長手方向となす傾斜角度が 70 度以下である電気泳動装置。

50

## 【請求項 11】

請求項 9 記載の電気泳動装置であって、前記被覆が、ポリイミド樹脂である電気泳動装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、核酸、蛋白質等を分離して検出できる電気泳動装置、特に DNA 試料の塩基配列等を高速に解析できるキャピラリアレイ電気泳動装置に組み込まれるキャピラリアレイ・ユニット、及びその製造方法に関するものである。

## 【0002】

## 【従来の技術】

DNA、蛋白質等の試料分析は最近ますます重要になってきている。このため、DNA シーケンサには高速かつ大処理能力が求められている。この要求に応える装置として、複数本のキャピラリを平面状に配列したキャピラリアレイ電気泳動装置がある。キャピラリアレイ電気泳動装置は、キャピラリアレイ、キャピラリアレイに励起用のレーザ光を照射する励起光学系、試料から発せられた蛍光を検出する受光光学系等より構成される。キャピラリは通常、扱い易いようにポリイミドなどの樹脂による被覆が施されており、その端部からある一定の位置において、ある長さだけ被覆を除去し、石英管を剥き出しの状態にしてある。キャピラリアレイは、このキャピラリを平面状に配列した構造で、この石英管剥き出しの部分を光検出部としてキャピラリアレイの配列面と平行方向から励起用のレーザ光を照射する。レーザ光はキャピラリ石英管のレンズ作用によって集光され、キャピラリアレイの全てのキャピラリ内を泳動している蛍光体標識試料に照射される。レーザ光を照射された試料は蛍光を発光し、それを検出することにより試料測定を行なう。

## 【0003】

## 【発明が解決しようとする課題】

キャピラリの光検出部において被覆を除去する方法としてトーチやライター等の炎で樹脂被覆を燃焼させて除去する方法が知られている。この方法によると、被覆は被覆端面がキャピラリ長手方向の中心軸に概略直角になって除去される。しかし、燃焼によって被覆を除去する方法ではキャピラリ表面に燃えかすが残るため、燃焼後に燃えかすを拭き取る必要があり、その際に石英管を傷付けてしまうことがある。また、燃焼によって樹脂被覆が除去された部分と樹脂被覆が残っている部分との境界では通常、被覆のめくれあがりが生じ、複数本のキャピラリを被覆外径基準で整列させると、配列精度が劣化し安定した品質を確保することができない。更に、熱の制御が難しく、高温過ぎるとガラス管の曲がりや、熱歪みの蓄積による折損が多くなる等の問題がある。

## 【0004】

そのため、被覆除去の新しい方法として、キャピラリアレイの光検出部となる領域を反応室の内部空間に囲い、反応室にオゾンを含む反応性ガスを流し込むと共にその中に囲まれた部分のキャピラリ及び反応性ガスを加熱することで、反応性ガス中に含まれるオゾンを分解して酸素ラジカルを作り出し、反応室内部に位置する樹脂被覆を酸素ラジカルとの酸化反応によりガス状物質に変えて除去する方法が案出された（特願2000-269218号）。

## 【0005】

この方法で樹脂被覆を除去したとき、樹脂が除去されて石英管が剥き出しになっている部分と樹脂被覆が通常の状態に残っている部分との境界領域において被覆厚さの変化に伴い生じる被覆表面の傾斜の角度は、キャピラリの長手方向中心軸となす角度で通常5度から20度程度であり、キャピラリの外周方向に部分的に被覆の除去むら等が発生しても、最大でも70度以下である。この方法によると、キャピラリ母材の石英管に影響を及ぼすことなく、必要な部分のみ狭い範囲を限定してきれいに樹脂被覆を除去することが可能となる。

## 【0006】

一方、キャピラリアレイの光検出部は、キャピラリ内部に蛍光試料が存在しない状態でレ

10

20

30

40

50

ーザ光を照射しても発光しないことが必要である（蛍光試料が存在しないときの発光を、以下では外面発光という）。しかし、上述の酸化反応によって樹脂被覆を除去して形成した光検出部は外面発光が観察される場合があり、外面発光が観察されるキャピラリではS/N比が低下し検出感度が落ちることが分かった。

本発明の目的は、キャピラリアレイの光検出部に關し、数本のキャピラリを精度良く整列させることができ、外面発光を低減できるキャピラリアレイを提供することである。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、外面発光の原因を解明すべく鋭意研究を重ねた。外面発光の原因として当初は、被覆の除去残り、ゴミ、光検出部と反対側からの反射光、散乱光などを想定した。これらの原因に基づく外面発光は、確実な被覆除去、ゴミ付着防止、検出部と反対方向からの反射防止などである程度低減可能である。しかし、それらの対策を施してもまだ発光値が高いことがある。

【0008】

そこで、さらに研究を重ねたところ、被覆が除去されている部分と被覆が除去されていない部分との境界部分を発光しない黒いペンなどで塗布すると、外面発光が低減することを確認した。これにより、外面発光を低減するには、それ自体蛍光発光性を有する境界部分のポリイミド樹脂を黒色化等により蛍光を発しないようにすることが有効であることが判明した。

【0009】

図1と図2を参照して、本発明者らが解明した外面発光の発生機構とその抑制方法について説明する。図1は、被覆を除去したキャピラリから外面発光が発生する様子を説明する図である。被覆除去された熔融石英管9の表面には僅かに付着した異物39が存在している。矢印のように励起用のレーザ光33を照射すると、この異物39は蛍光を発しないのでレーザ光33が当たったとしても問題ない。しかし、その異物39で散乱された散乱光41が被覆除去されていない部分のポリイミド樹脂10に当たる。するとポリイミド樹脂10は蛍光を発するので、その蛍光40が検出器（図示せず）に到達し、外面発光として検出される。図2は、外面発光抑制手段を設けたキャピラリの説明図である。ポリイミド被覆が除去された部分と除去されていない部分の境界は、ヒータで焦がすなどして黒くして非反射部42を形成している。異物39に励起レーザ光33が当たると、異物からの散乱光41は非反射部42に当たるが、ポリイミド樹脂10に直接当たることはない。このように非反射部42で励起光をガードしているためポリイミド樹脂10からの蛍光発光を防止できる。

【0010】

本発明は、上記のような外面発光の原因究明に基づいてなされたもので、キャピラリの一部のポリイミド樹脂被覆を面ヒータで熱を加えて変色させ、その一部をO<sub>3</sub>ガスを含む反応性ガスとの反応で被覆を除去し、被覆除去部と非除去部の境界の樹脂表面をなだらかにすることを特徴とする。

【0011】

すなわち、本発明によるキャピラリアレイ・ユニットは、複数のキャピラリと、複数のキャピラリを長さ方向の途中で整列保持し当該整列保持した複数のキャピラリに光照射するための開口とキャピラリから発せられた発光を取り出すための開口とを備えるウインドウユニットを含むキャピラリアレイ・ユニットにおいて、複数のキャピラリは外周に樹脂被覆が施され、ウインドウユニットに整列保持された部分で所定長さだけ樹脂被覆が剥がされ、樹脂被覆が剥がされた部分と剥がされない部分との境界領域で樹脂表面がなだらかに接続され、境界領域に残っている樹脂及び境界領域に続く所定長さの樹脂被覆が黒化していることを特徴とする。樹脂被覆が剥がされた部分と剥がされない部分との境界領域で樹脂表面がなだらかに接続されるとは、樹脂被覆が剥がされた部分と剥がされない部分との境界領域に残っている樹脂の表面がキャピラリの長手方向となす傾斜角度が70度以下であることを意味する。

10

20

30

40

50

樹脂の黒化は樹脂をヒータ等で加熱したことによるものであることが製造工程の簡素化の点から好ましい。

【0012】

本発明によるキャピラリアレイ・ユニットの製造方法は、ポリイミド樹脂で被覆した複数のキャピラリを相互に固定してキャピラリアレイとするステップと、キャピラリアレイの長手方向の一部をヒータで加熱して黒化させるステップと、黒化した長手方向の領域中の一部を更に $O_3$ ガスを含む反応性ガスと反応させて被覆を除去するステップとを含むことを特徴とする。

【0013】

本発明による電気泳動装置用キャピラリの製造方法は、ポリイミド樹脂で被覆したキャピラリの長手方向の一部をヒータで加熱して黒化させるステップと、黒化した長手方向の領域中の一部を更に $O_3$ ガスを含む反応性ガスと反応させて被覆を除去するステップとを含むことを特徴とする。

【0014】

【発明の実施の形態】

以下、図面を参照して本発明の実施の形態を説明する。

図3は、本発明によるキャピラリアレイ・ユニット16の説明図である。キャピラリアレイを構成する1本1本のキャピラリ1は、外径が0.1~0.7mm、内径が0.02~0.5mmで、外被はポリイミド樹脂コーティングされている。キャピラリ自体は石英パイプであり複数本(数本から数10本が一般的である)のキャピラリを配列してキャピラリアレイを構成する。キャピラリアレイ・ユニット16は、蛍光標識されたDNAサンプル等が入った試料容器から電気泳動でキャピラリにサンプルを取り込むロードヘッダ31、ロードヘッダ31のサンプル番号順にキャピラリ1を配列固定する検知部(ウインドウユニット)29、複数本のキャピラリを束ねて接着したキャピラリヘッド30を備える。ロードヘッダ31から突出する試料注入端には、キャピラリに泳動電圧を印加するための中空電極32が設けられている。検知部(ウインドウユニット)29は、整列保持したキャピラリアレイに側方から光照射するための開口4とキャピラリから発せられた発光を取り出すための開口6とを備える。

【0015】

図4は、電気泳動システムを示す概略図である。図3に示したキャピラリアレイ・ユニット16は、ロードヘッダ31から突出した中空電極32及びキャピラリ1の試料注入端が蛍光標識されたDNAサンプルを入れた試料容器34を複数入れたサンプルトレイに浸漬され、他端のキャピラリヘッド30は緩衝液が入った緩衝液容器36に耐圧気密で取り付けられる。緩衝液容器36とロードヘッダ31には高電圧電源19から15kV前後の高電圧印加され、キャピラリに注入された試料が電気泳動されて分離する。

【0016】

レーザ光源20は、ミラー21、ビームスプリッタ22、集光レンズ23等からなる励起光学系によって検知部(ウインドウユニット)29に励起光33を照射する。励起光照射によってキャピラリ中を泳動している試料から発せられる信号光である蛍光35は、第1レンズ24、光学フィルタ及び像分割プリズム25、及び第2レンズ26を備える検出レンズ系を介してCCDカメラ27で検出される。検出された信号は、信号処理演算装置28で演算処理される。

【0017】

図示の例の電気泳動システムは、電気泳動するDNAや蛋白質の入ったキャピラリアレイの両側面からレーザ光を照射し、キャピラリのレンズ作用によってレーザ光を集光させることにより全てのキャピラリに励起光を照射し、各キャピラリからの蛍光を検出光学系によって検出する。

【0018】

なお、レーザ光33はキャピラリアレイの片側のみから照射させる構成でもよく、受光光学系も、図4に示す構成に限るものではない。また、キャピラリアレイを構成するキャピ

10

20

30

40

50

ラリ 1 の本数は 16 本に限るものではなく、キャピラリヘッド 30 やロードヘッダ 31 の構成などについても図 4 に示す構成に限るものではない。

【0019】

図 5 は、本発明によるキャピラリアレイ・ユニット 16 の検知部（ウインドウユニット）29 の分解組立図である。検知部は図 5 に示すように、キャピラリ 1、シリコン基板 2、支持基板 3 などから構成される。シリコン基板 2 には、キャピラリ 1 の配列位置決め用として V 溝 8 が形成されている。キャピラリ 1 は、シリコン基板 2 の V 溝 8 に収まるように配列され、その反対側から支持基板 3 により挟み込まれて固定される。

【0020】

各キャピラリ 1 は、ポリイミド樹脂被覆が除去され溶融石英管 9 が露出している部分と、樹脂被覆をヒータなどにより黒色化した非反射部 42 と、通常の樹脂被覆された部分 10 からなる。なお、図 5 に示すように、キャピラリ 1 はシリコン基板 2 において貫通窓 6 を形成した領域のポリイミド樹脂 10 が除去されているが、ポリイミド樹脂 10 を除去する領域はこれに限るものではない。また、キャピラリ 1 の被覆材としてはポリイミド樹脂に限る必要はなく、ポリイミド樹脂と同等の電気絶縁性、およびその他諸特性をもつ材料を用いてもよい。更に、基板 2 としてはシリコン基板に限る必要はなく、ガラス、金属、セラミックス、樹脂などを用いても構わない。

【0021】

図 6、図 7、図 8 の工程図を参照して、本発明によるキャピラリアレイ・ユニットの検知部（ウインドウユニット）の作成方法の一例について説明する。ここで説明するのは、ヒータによる加熱処理によって樹脂被覆部分と被覆除去部分との境界部分及びそれに続く所定長の樹脂被覆領域のポリイミド樹脂を黒化する方法である。

【0022】

まず、図 6 に示すように、面ヒータ 47 の上にキャピラリアレイを設置し、ある一定の温度になってから一定の時間熱を加え、面ヒータ 47 上に設置された領域のポリイミド樹脂 10 を黒化する。もちろんこの時には一本一本のキャピラリを個別に加熱処理してもよいし、アレイ上に整列した状態で複数本のキャピラリを同時に加熱処理してもかまわない。

【0023】

その後、図 7 に示すように、 $O_3$  ガスを含む反応性ガスとの酸化反応でポリイミド樹脂被覆を除去して溶融石英管 9 を露出させる。 $O_3$  ガスを含む反応性ガスとの酸化反応を利用した被覆除去方法によると、被覆除去部と非除去部との境界 11 をなだらかにすることができ、被覆のめくれあがりなどに起因するキャピラリ配列不良をなくすることができる。且つ被覆は、露出している溶融石英管 9 と接する領域まで黒くすることができる。

【0024】

そのあと、図 8 に示すように、ガラス基板 3 とシリコン基板 2 などキャピラリを挟み込み検知部を構成する。この石英管露出部と樹脂被覆部の境界の黒化部 42 が散乱光の反射を防止し、外面発光が低減する。

なお、石英管露出部と樹脂被覆部の境界の黒化は、ペンのようなもので蛍光を発生しないインクを一本一本塗布することで形成してもよい。また、キャピラリ自体に黒いキャピラリを用いることで非反射部を設けてもよい。

【0025】

【発明の効果】

本発明によれば、外面発光を低減することが可能で、S/N 比の向上を達成できる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】被覆を除去したキャピラリから外面発光が発生する様子を説明する図。

【図 2】外面発光抑制手段を設けたキャピラリの説明図。

【図 3】本発明によるキャピラリアレイ・ユニットの説明図。

【図 4】電気泳動システムを示す概略図。

【図 5】本発明によるキャピラリアレイ・ユニットの検知部（ウインドウユニット）の分解組立図。

10

20

30

40

50

【図6】本発明によるキャピラリアレイ・ユニットの検知部の作成方法を示す工程図。

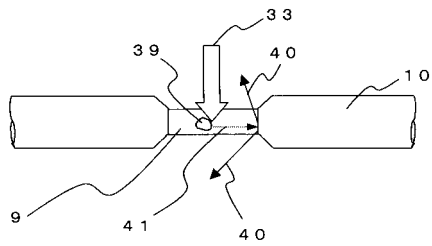
【図7】本発明によるキャピラリアレイ・ユニットの検知部の作成方法を示す工程図。

【図8】本発明によるキャピラリアレイ・ユニットの検知部の作成方法を示す工程図。

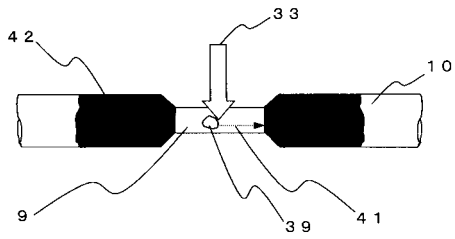
【符号の説明】

1	キャピラリ	
2	シリコン基板	
3	ガラス基板	
4	レーザ照射部	
6	貫通窓	
8	V溝	10
9	溶融石英管	
10	ポリイミド樹脂	
16	キャピラリアレイ・ユニット	
19	高電圧電源	
20	レーザ光源	
21	ミラー	
22	ビームスプリッタ	
23	集光レンズ	
24	第1レンズ	
25	光学フィルタ及び像分割プリズム	20
26	第2レンズ	
27	CCDカメラ	
28	処理演算装置	
29	検知部	
30	キャピラリヘッド	
31	ロードヘッダ	
32	中空電極	
33	レーザ	
34	試料容器	
35	蛍光	30
36	緩衝液溶器	
39	異物	
40	反射光	
41	散乱光	
42	非反射部	
47	面ヒータ	

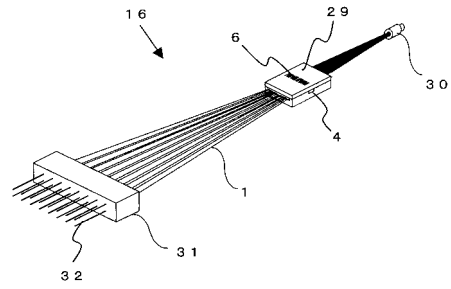
【図 1】



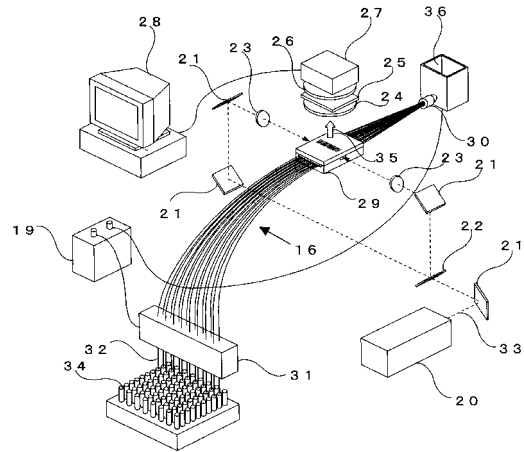
【図 2】



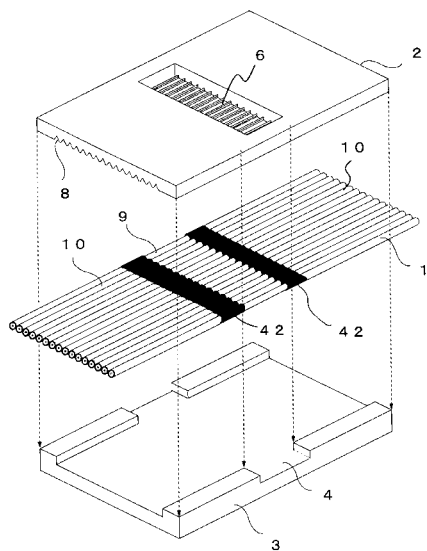
【図 3】



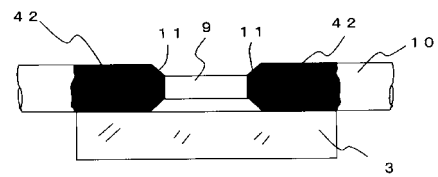
【図 4】



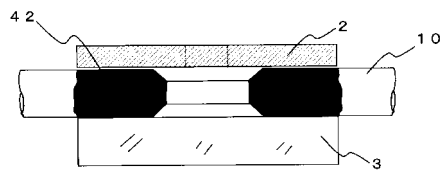
【図 5】



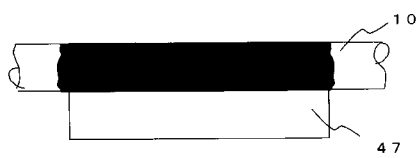
【図 7】



【図 8】



【図 6】





---

フロントページの続き

(72)発明者 大平 司

茨城県ひたちなか市大字市毛 8 8 2 番地 株式会社 日立製作所 計測器グループ内

(72)発明者 軍司 真典

茨城県ひたちなか市大字市毛 8 8 2 番地 株式会社 日立製作所 計測器グループ内

審査官 柏木 一浩

(56)参考文献 特開 2 0 0 1 - 0 0 4 5 9 3 ( J P , A )

特開平 1 0 - 1 6 0 7 0 5 ( J P , A )

特開平 0 5 - 2 4 9 0 8 0 ( J P , A )

特開平 0 3 - 0 4 6 5 5 9 ( J P , A )

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N 27/447