

(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2017-201954

(P2017-201954A)

(43) 公開日 平成29年11月16日(2017.11.16)

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード (参考)		
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)	C 1 2 Q	1/68	A	2 G 0 4 5		
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	A	2 G 0 5 4		
G O 1 N	33/58	(2006.01)	G O 1 N	33/58	A	4 B O 2 9		
G O 1 N	21/78	(2006.01)	G O 1 N	21/78	C	4 B O 6 3		
C 1 2 M	1/00	(2006.01)	C 1 2 M	1/00	A			

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 19 頁)

(21) 出願番号 特願2016-96810 (P2016-96810)
 (22) 出願日 平成28年5月13日 (2016.5.13)

(71) 出願人 000002369
 セイコーエプソン株式会社
 東京都新宿区新宿四丁目1番6号
 (74) 代理人 100116665
 弁理士 渡辺 和昭
 (74) 代理人 100164633
 弁理士 西田 圭介
 (74) 代理人 100179475
 弁理士 仲井 智至
 (72) 発明者 上原 雅行
 長野県諏訪市大和3丁目3番5号 セイコーエプソン株式会社内
 Fターム(参考) 2G045 AA25 DA13 FB12
 2G054 AA03 AB10 CA22 CB01 CE02
 EA03 FA09

最終頁に続く

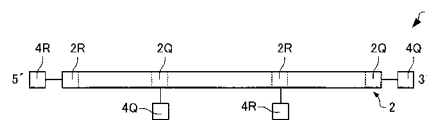
(54) 【発明の名称】 蛍光標識プローブ、核酸増幅反応用試薬、および核酸増幅反応方法

(57) 【要約】

【課題】 蛍光を高感度で検出することができる蛍光標識プローブを提供する。

【解決手段】 オリゴヌクレオチドと、前記オリゴヌクレオチドに結合されたレポーター色素と、前記オリゴヌクレオチドに結合されたクエンチャーと、を含み、前記レポーター色素および前記クエンチャーのうち少なくとも一方は、前記オリゴヌクレオチドに複数結合されている、蛍光標識プローブ。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

オリゴヌクレオチドと、
前記オリゴヌクレオチドに結合されたレポーター色素と、
前記オリゴヌクレオチドに結合されたクエンチャーと、
を含み、
前記レポーター色素および前記クエンチャーのうち少なくとも一方は、前記オリゴヌクレオチドに複数結合されている、蛍光標識プローブ。

【請求項 2】

請求項 1 において、
前記クエンチャーは、前記オリゴヌクレオチドに複数結合されている、蛍光標識プローブ。

10

【請求項 3】

請求項 1 または 2 において、
前記レポーター色素は、前記オリゴヌクレオチドに複数結合されている、蛍光標識プローブ。

【請求項 4】

請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項において、
前記オリゴヌクレオチドに対する前記クエンチャーの結合数は、前記オリゴヌクレオチドに対する前記レポーター色素の結合数よりも多い、蛍光標識プローブ。

20

【請求項 5】

請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項において、
前記オリゴヌクレオチドにおいて、前記レポーター色素と前記クエンチャーとは、交互に配置されている、蛍光標識プローブ。

【請求項 6】

請求項 5 において、
前記オリゴヌクレオチドにおいて、隣り合う前記レポーター色素と前記クエンチャーとの間の塩基数は、10 塩基以下である、蛍光標識プローブ。

【請求項 7】

請求項 1 ないし 6 のいずれか 1 項に記載の蛍光標識プローブを含む、核酸増幅反応用試薬。

30

【請求項 8】

請求項 7 に記載の核酸増幅反応用試薬と核酸とを含む反応液に、熱サイクルを付与する、核酸増幅反応方法。

【請求項 9】

請求項 8 において、
前記熱サイクルにおいて、アニーリング反応および伸長反応のための加熱時間は、1 秒以上 10 秒以下である、核酸増幅反応方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】**

40

【0001】

本発明は、蛍光標識プローブ、核酸増幅反応用試薬、および核酸増幅反応方法に関する。

【背景技術】**【0002】**

近年、遺伝子の利用技術の発展により、遺伝子診断や遺伝子治療など遺伝子を利用した医療が注目されている他、農畜産分野においても品種判別や品種改良に遺伝子を用いた手法が多く開発されている。遺伝子を利用するための技術として、PCR (Polymerase Chain Reaction) 法などの技術が広く普及している。今日では、PCR 法は生体物質の情報解明において必要不可欠な技術となっている。

50

【0003】

PCR法は、増幅の対象とする核酸（標的核酸）および試薬を含む溶液（反応液）に熱サイクルを施すことで、標的核酸を増幅させる手法である。熱サイクルは、2段階以上の温度を周期的に反応液に施す処理である。PCR法においては、2段階または3段階の熱サイクルを施す手法が一般的である。

【0004】

例えば特許文献1には、オリゴヌクレオチドにレポーター蛍光色素およびクエンチャー色素が結合したプローブを用いて、反応液からの蛍光をリアルタイムに測定するリアルタイム検出PCR法が記載されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特開平10-248579号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、特許文献1に記載のプローブでは、例えば、PCRの反応時間（変性反応のための時間や、アニーリング反応/伸長反応のための時間）を短縮させると（PCRを高速化させると）、核酸と十分にハイブリダイゼーションせず、反応液からの蛍光を高感度で検出することができない場合があった。

【0007】

本発明のいくつかの態様に係る目的の1つは、蛍光を高感度で検出することができる蛍光標識プローブを提供することにある。また、本発明のいくつかの態様に係る目的の1つは、蛍光を高感度で検出することができる核酸増幅反応用試薬を提供することにある。また、本発明のいくつかの態様に係る目的の1つは、蛍光を高感度で検出することができる核酸増幅反応方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明に係る蛍光標識プローブは、
オリゴヌクレオチドと、
前記オリゴヌクレオチドに結合されたレポーター色素と、
前記オリゴヌクレオチドに結合されたクエンチャーと、
を含み、

前記レポーター色素および前記クエンチャーのうち少なくとも一方は、前記オリゴヌクレオチドに複数結合されている。

【0009】

このような蛍光標識プローブでは、蛍光を高感度で検出することができる。

【0010】

本発明に係る蛍光標識プローブにおいて、

前記クエンチャーは、前記オリゴヌクレオチドに複数結合されていてもよい。

【0011】

このような蛍光標識プローブでは、クエンチャーが1つしかオリゴヌクレオチドに結合されていない場合に比べて、クエンチング効果（消光効果）を高めることができる。したがって、このような蛍光標識プローブでは、蛍光を高感度で検出することができる。

【0012】

本発明に係る蛍光標識プローブにおいて、

前記レポーター色素は、前記オリゴヌクレオチドに複数結合されていてもよい。

【0013】

このような蛍光標識プローブでは、レポーター色素が1つしかオリゴヌクレオチドに結合されていない場合に比べて、リアルタイムPCRにおいて蛍光を測定した場合に蛍光強

10

20

30

40

50

度を大きくすることができる。したがって、このような蛍光標識プローブでは、蛍光を高感度で検出することができる。

【0014】

本発明に係る蛍光標識プローブにおいて、

前記オリゴヌクレオチドに対する前記クエンチャーの結合数は、前記オリゴヌクレオチドに対する前記レポーター色素の結合数よりも多くてもよい。

【0015】

このような蛍光標識プローブでは、例えばクエンチャーの結合数とレポーター色素の結合数とが同じである場合に比べて、クエンチング効果を高めることができる。

【0016】

本発明に係る蛍光標識プローブにおいて、

前記オリゴヌクレオチドにおいて、前記レポーター色素と前記クエンチャーとは、交互に配置されていてもよい。

【0017】

このような蛍光標識プローブでは、レポーター色素とクエンチャーと間の距離を小さくすることができ、クエンチング効果を高めることができる。

【0018】

本発明に係る蛍光標識プローブにおいて、

前記オリゴヌクレオチドにおいて、隣り合う前記レポーター色素と前記クエンチャーとの間の塩基数は、10塩基以下であってもよい。

【0019】

このような蛍光標識プローブでは、オリゴヌクレオチドにおいて、隣り合うレポーター色素とクエンチャーとの間の距離を小さくすることができ、クエンチング効果を高めることができる。

【0020】

本発明に係る核酸増幅反应用試薬は、

本発明に係る蛍光標識プローブを含む。

【0021】

このような核酸増幅反应用試薬では、本発明に係る蛍光標識プローブを含むため、蛍光を高感度で検出することができる。

【0022】

本発明に係る核酸増幅反応方法は、

本発明に係る核酸増幅反应用試薬と核酸とを含む反応液に、熱サイクルを付与する。

【0023】

このような核酸増幅反応方法では、本発明に係る核酸増幅反应用試薬を用いるため、蛍光を高感度で検出することができる。

【0024】

本発明に係る核酸増幅反応方法は、

前記熱サイクルにおいて、アニーリング反応および伸長反応のための加熱時間は、1秒以上10秒以下である。

【0025】

このような核酸増幅反応方法では、PCRの反応時間の短縮化（PCRの高速化）を図ることができる。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】本実施形態に係る蛍光標識プローブを説明するための図。

【図2】本実施形態に係る蛍光標識プローブを説明するための図。

【図3】本実施形態に係る蛍光標識プローブを説明するための図。

【図4】本実施形態の変形例に係る蛍光標識プローブを説明するための図。

【図5】本実施形態に係る核酸増幅反应用カートリッジを模式的に示す断面図。

10

20

30

40

50

- 【図6】本実施形態に係る核酸増幅反应用カートリッジを模式的に示す断面図。
 【図7】本実施形態に係る核酸増幅反应用カートリッジを模式的に示す断面図。
 【図8】本実施形態に係る核酸増幅反应用カートリッジを模式的に示す断面図。
 【図9】本実施形態に係る核酸増幅反応装置を模式的に示す斜視図。
 【図10】本実施形態に係る核酸増幅反応装置を模式的に示す斜視図。
 【図11】本実施形態に係る核酸増幅反応装置を模式的に示す分解斜視図。
 【図12】本実施形態に係る核酸増幅反応装置を模式的に示す断面図。
 【図13】本実施形態に係る核酸増幅反応装置を模式的に示す断面図。
 【図14】本実施形態に係る核酸増幅反応装置の機能ブロック図。
 【図15】本実施形態に係る核酸増幅反応方法を説明するためのフローチャート。
 【図16】標準条件および高速条件におけるPCR結果を示すグラフ。
 【図17】標準条件および高速条件における電気泳動評価の結果を示す写真。
 【発明を実施するための形態】

10

【0027】

以下、本発明の好適な実施形態について、図面を用いて詳細に説明する。なお、以下に説明する実施形態は、特許請求の範囲に記載された本発明の内容を不当に限定するものではない。また、以下で説明される構成の全てが本発明の必須構成要件であるとは限らない。

【0028】

1. 蛍光標識プローブ

20

まず、本実施形態に係る蛍光標識プローブについて説明する。図1は、本実施形態に係る蛍光標識プローブ1を説明するための図である。

【0029】

蛍光標識プローブ1は、PCRにおいて、核酸の増幅量を定量するために用いられる。具体的には、蛍光標識プローブ1は、反応液からの蛍光をリアルタイムに測定するリアルタイムPCRに用いられる。蛍光標識プローブ1は、例えば、加水分解プローブである。蛍光標識プローブ1は、図1に示すように、オリゴヌクレオチド2と、レポーター色素4Rと、クエンチャー4Qと、を含む。

【0030】

オリゴヌクレオチド2は、複数のヌクレオチドがホスホジエステル結合で重合したものである。オリゴヌクレオチドを構成するヌクレオチドは、dATP (Deoxyadenosine triphosphate)、dCTP (Deoxycytidine triphosphate)、dGTP (Deoxyguanosine triphosphate)、またはdTTP (Thymidine triphosphate)である。

30

【0031】

オリゴヌクレオチド2は、標的核酸となる鋳型核酸と相補的塩基対を構成することができる塩基配列を有している。鋳型核酸は、DNA (Deoxyribo Nucleic Acid)、またはRNA (Ribo Nucleic Acid)である。

【0032】

40

オリゴヌクレオチド2の塩基数(オリゴヌクレオチド2を構成するヌクレオチドの数)は、例えば、10塩基以上50塩基以下であり、好ましくは、15塩基以上40塩基以下である。塩基数を15塩基以上とすることにより、PCRにおける蛍光強度を大きくすることができる。塩基数を40塩基以下とすることにより、蛍光標識プローブ1が鋳型核酸の意図せぬ部分にハイブリダイゼーションすることを抑制することができる。

【0033】

レポーター色素4Rおよびクエンチャー4Qは、オリゴヌクレオチド2に結合している。レポーター色素4Rは、例えば、一本鎖DNAにハイブリダイゼーション(アニーリング)して二本鎖構造を形成している間、レポーター色素4Rに近接しているクエンチャー4Qによって(クエンチング効果によって)、発光が抑制されている。しかし、ポリ

50

メラゼのエキソヌクレアーゼ活性によって蛍光標識プローブ1が加水分解されると、クエンチング効果が解消し、レポーター色素4Rは、発光する。この発光により、核酸の増幅量を定量することができる。

【0034】

レポーター色素4Rおよびクエンチャー4Qは、オリゴヌクレオチド2を構成するヌクレオチドのうちdTTPに結合する。なお、レポーター色素4Rおよびクエンチャー4Qは、オリゴヌクレオチド2の5'末端および3'末端に限り、dATPにも結合することができる。図示の例では、レポーター色素4Rは、オリゴヌクレオチド2のうちレポーター結合ヌクレオチド2Rに結合し、クエンチャー4Qは、オリゴヌクレオチド2のうちクエンチャー結合ヌクレオチド2Qに結合している。

10

【0035】

レポーター色素4Rおよびクエンチャー4Qのうち少なくとも一方は、オリゴヌクレオチド2に複数結合している。図示の例では、レポーター色素4Rおよびクエンチャー4Qの各々は、オリゴヌクレオチド2に複数結合している。具体的には、オリゴヌクレオチド2に対するレポーター色素4Rおよびクエンチャー4Qの結合数は、それぞれ2である。

【0036】

複数のレポーター色素4Rのうちの1つは、5'末端のヌクレオチドに結合している。複数のクエンチャー4Qのうちの1つは、3'末端のヌクレオチドに結合している。なお、図示はしないが、レポーター色素4Rは、5'末端のヌクレオチドに結合していなくてもよいし、クエンチャー4Qは、3'末端のヌクレオチドに結合していなくてもよい。

20

【0037】

オリゴヌクレオチド2において、例えば、レポーター色素4Rとクエンチャー4Qとは、交互に配置されている。すなわち、オリゴヌクレオチド2において5'末端から3'末端に向かうに連れて、レポーター結合ヌクレオチド2Rとクエンチャー結合ヌクレオチド2Qとは、交互に登場する。図示の例では、オリゴヌクレオチド2において、3'末端側のレポーター結合ヌクレオチド2Rは、2つのクエンチャー結合ヌクレオチド2Qの間に位置している。5'末端側のクエンチャー結合ヌクレオチド2Qは、2つのレポーター結合ヌクレオチド2Rの間に位置している。

【0038】

オリゴヌクレオチド2において、レポーター結合ヌクレオチド2Rと、クエンチャー4Qが結合するクエンチャー結合ヌクレオチド2Qとは、等間隔で配置されていなくてもよいが、図示の例では、等間隔で配置されている。

30

【0039】

オリゴヌクレオチド2において、隣り合うレポーター色素4Rとクエンチャー4Qとの間の塩基数は、例えば、10塩基以下である。すなわち、オリゴヌクレオチド2において、レポーター結合ヌクレオチド2Rとクエンチャー結合ヌクレオチド2Qとの間には、レポーター色素4Rおよびクエンチャー4Qが結合していない未結合ヌクレオチドが8個以下存在し、レポーター結合ヌクレオチド2Rと、クエンチャー結合ヌクレオチド2Qと、ヌクレオチド2R、2Q間の未結合ヌクレオチドと、の数の合計は、10である。図示の例では、オリゴヌクレオチド2において、5'末端側のレポーター結合ヌクレオチド2Rと、5'末端側のクエンチャー結合ヌクレオチド2Qと、の間の塩基数は、10塩基以下である。5'末端側のクエンチャー結合ヌクレオチド2Qと、3'末端側のレポーター結合ヌクレオチド2Rと、の間の塩基数は、10塩基以下である。3'末端側のレポーター結合ヌクレオチド2Rと、3'末端側のクエンチャー結合ヌクレオチド2Qと、の間の塩基数は、10塩基以下である。

40

【0040】

なお、図示はしないが、オリゴヌクレオチド2において、レポーター結合ヌクレオチド2Rとクエンチャー結合ヌクレオチド2Qとは、隣り合ってもよい。すなわち、レポーター結合ヌクレオチド2Rとクエンチャー結合ヌクレオチド2Qとの間の塩基数は、ゼロであってもよい。なお、1つのヌクレオチドに、レポーター色素4Rおよびクエンチャー

50

ー 4 Q の両方を結合させてもよいが、このような結合は、蛍光強度の低下の要因になる可能性があるため、好ましくない。

【 0 0 4 1 】

レポーター色素 4 R としては、例えば、F A M、V I C、H E X、T E T、F I T C 等を用いる。クエンチャー 4 Q としては、例えば、B H Q 1、B H Q 2、T A M R A、D A B C Y L 等を用いる。

【 0 0 4 2 】

蛍光標識プローブ 1 は、例えば、以下の特徴を有する。

【 0 0 4 3 】

蛍光標識プローブ 1 では、クエンチャー 4 Q は、オリゴヌクレオチド 2 に複数結合されている。そのため、蛍光標識プローブ 1 は、クエンチャー 4 Q が 1 つしかオリゴヌクレオチド 2 に結合されていない場合に比べて、クエンチング効果（消光効果）を高めることができる。これにより、蛍光標識プローブ 1 では、リアルタイム P C R において蛍光を測定した場合に蛍光強度のベースライン（バックグラウンド）を低下させることができる。したがって、蛍光標識プローブ 1 では、蛍光を高感度で検出することができる。蛍光標識プローブ 1 によって、例えば、迅速かつ高感度な検査（臨床診断）を行うことができる。

10

【 0 0 4 4 】

なお、「蛍光強度のベースライン」とは、リアルタイム P C R において、標的核酸が増幅していない状態における蛍光強度（例えば熱サイクルを 1 回だけ付与した場合の蛍光強度）のことである。

20

【 0 0 4 5 】

蛍光標識プローブ 1 では、レポーター色素 4 R は、オリゴヌクレオチド 2 に複数結合されている。そのため、蛍光標識プローブ 1 では、レポーター色素 4 R が 1 つしかオリゴヌクレオチド 2 に結合されていない場合に比べて、リアルタイム P C R において蛍光を測定した場合に蛍光強度を大きくすることができる。したがって、蛍光標識プローブ 1 では、蛍光を高感度で検出することができる。

【 0 0 4 6 】

蛍光標識プローブ 1 では、オリゴヌクレオチド 2 において、レポーター色素 4 R とクエンチャー 4 Q とは、交互に配置されている。そのため、蛍光標識プローブ 1 では、レポーター色素 4 R とクエンチャー 4 Q と間の距離を小さくすることができる。これにより、蛍光標識プローブ 1 は、クエンチング効果を高めることができる。例えば、後述する図 4 に示すように、レポーター色素 4 R とクエンチャー 4 Q とが交互に配置されていない場合は、5' 末端のレポーター色素 4 R と、クエンチャー 4 Q と、の間の距離が大きくなってしまふ場合がある。

30

【 0 0 4 7 】

蛍光標識プローブ 1 では、オリゴヌクレオチド 2 において、隣り合うレポーター色素 4 R とクエンチャー 4 Q との間の塩基数は、10 塩基以下である。そのため、蛍光標識プローブ 1 では、オリゴヌクレオチド 2 において、隣り合うレポーター色素 4 R とクエンチャー 4 Q との間の距離を小さくことができ、クエンチング効果を高めることができる。オリゴヌクレオチド 2 において、隣り合うレポーター色素 4 R とクエンチャー 4 Q との間の塩基数が 10 塩基より大きいと、隣り合うレポーター色素 4 R とクエンチャー 4 Q との間の距離が大きくなり、クエンチング効果が低下する場合がある。

40

【 0 0 4 8 】

なお、レポーター色素 4 R およびクエンチャー 4 Q のうち少なくとも一方がオリゴヌクレオチド 2 に複数結合していれば、オリゴヌクレオチド 2 に対するレポーター色素 4 R およびクエンチャー 4 Q の結合数は、特に限定されない。例えば図 2 に示すように、オリゴヌクレオチド 2 に対するレポーター色素 4 R およびクエンチャーの各々の結合数は、3 であってもよい。

【 0 0 4 9 】

また、図 3 に示すように、オリゴヌクレオチド 2 において、レポーター色素 4 R とクエ

50

ンチャー 4 Q とは、交互に配置されていなくてもよい。

【 0 0 5 0 】

2 . 蛍光標識プローブの変形例

次に、本実施形態の変形例に係る蛍光標識プローブについて説明する。図 4 は、本実施形態の変形例に係る蛍光標識プローブ 1 1 を説明するための図である。以下、本実施形態の変形例に係る蛍光標識プローブ 1 1 において、上述した本実施形態に係る蛍光標識プローブ 1 の構成部材と同様の機能を有する部材については同一の符号を付し、その詳細な説明を省略する。

【 0 0 5 1 】

上述した蛍光標識プローブ 1 は、図 1 に示すように、オリゴヌクレオチド 2 に対するレポーター色素 4 R の結合数と、オリゴヌクレオチド 2 に対するクエンチャー 4 Q の結合数とは、同じであった。

【 0 0 5 2 】

これに対し、蛍光標識プローブ 1 1 では、図 4 に示すように、オリゴヌクレオチド 2 に対するクエンチャー 4 Q の結合数は、オリゴヌクレオチド 2 に対するレポーター色素 4 R の結合数よりも多い。図示の例では、クエンチャー 4 Q の結合数は、3 であり、レポーター色素 4 R の結合数は、2 である。蛍光標識プローブ 1 1 では、オリゴヌクレオチド 2 において、レポーター色素 4 R とクエンチャー 4 Q とは、交互に配置されていない。

【 0 0 5 3 】

蛍光標識プローブ 1 1 では、オリゴヌクレオチド 2 に対するクエンチャー 4 Q の結合数は、オリゴヌクレオチド 2 に対するレポーター色素 4 R の結合数よりも多い。そのため、蛍光標識プローブ 1 1 では、例えばクエンチャー 4 Q の結合数とレポーター色素 4 R の結合数とが同じである場合に比べて、クエンチング効果を高めることができる。

【 0 0 5 4 】

3 . 核酸増幅反应用試薬

次に、本実施形態に係る核酸増幅反应用試薬について説明する。本実施形態に係る核酸増幅反应用試薬は、本発明に係る蛍光標識プローブを含む。本実施形態に係る核酸増幅反应用試薬は、例えば、核酸増幅反应用カートリッジに収容されている。図 5 は、本実施形態に係る核酸増幅反应用カートリッジ 1 0 を模式的に示す断面図である。

【 0 0 5 5 】

核酸増幅反应用カートリッジ 1 0 は、図 5 に示すように、容器 1 2 と、キャップ 1 4 と、を含む。

【 0 0 5 6 】

容器 1 2 は、図 5 に示すように、例えば、円筒状の側壁部 1 2 a と、半球状の底部 1 2 b と、を有している。容器 1 2 は、流路 1 6 を有する。流路 1 6 は、容器 1 2 によって形成されている。流路 1 6 は、円筒状の側壁部 1 2 a の中心軸（図示せず）に沿って延在している。キャップ 1 4 は、容器 1 2 の底部 1 2 b に対向する端部の開口を塞ぐ。キャップ 1 4 は、容器 1 2 に対して、着脱可能である。容器 1 2 およびキャップ 1 4 の材質は、例えば、ガラス、高分子、金属などである。

【 0 0 5 7 】

容器 1 2 の底部 1 2 b に、例えば、凍結乾燥された核酸増幅反应用試薬 2 4 が固定されている。このような核酸増幅反应用カートリッジ 1 0 に、図 6 に示すようにキャップ 1 4 を外してピペット 8 等を用いて鑄型核酸溶液 2 2 を導入すると、導入された鑄型核酸溶液 2 2 は、図 7 に示すように底部 1 2 b まで沈降し、核酸増幅反应用試薬 2 4 と接触する。核酸増幅反应用試薬 2 4 は、鑄型核酸溶液 2 2 の水分によって凍結乾燥が溶けて鑄型核酸溶液 2 2 に取り込まれ、図 8 に示すように反応液 2 0 となる。したがって、反応液 2 0 は、鑄型核酸および核酸増幅反应用試薬 2 4 を含むこととなり、核酸の増幅反応を進行させる場となる。

【 0 0 5 8 】

反応液 2 0 は、核酸増幅反应用カートリッジ 1 0 に収容され、流路 1 6 に配置される。

10

20

30

40

50

反応液 20 は、液体 30 中に液滴の状態 で保持される。図示の例では、反応液 20 の形状は、球状である。反応液 20 は、例えば、液体 30 よりも比重が大きい。反応液 20 は、核酸増幅反作用カートリッジ 10 の移動に伴い、流路 16 を、容器 12 に対して相対的に移動する。

【0059】

鋳型核酸溶液 22 は、鋳型核酸を含む溶液である。鋳型核酸溶液 22 を容器 12 内に導入するときは、キャップ 14 は、容器 12 から取り外され、鋳型核酸溶液 22 の導入後に再び容器 12 に取り付けられる。

【0060】

鋳型核酸溶液 22 は、例えば、次のようにして得られる。すなわち、綿棒などの採取具によって、ヒト・細菌などの生物由来の細胞あるいはウイルスなどの検体が採取され、既知の抽出手法を用いて検体から鋳型核酸が抽出される。その後、既知の精製手法を用いて、所定濃度となるように鋳型核酸溶液が精製される。なお、鋳型核酸溶液 22 における溶液は、例えば、水（蒸留水、滅菌水）や、Tris-EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) 溶液 (TE) である。

10

【0061】

核酸増幅反作用試薬 24 は、核酸増幅反作用カートリッジ 10 に収容され、例えば、容器 12 の底部 12b に凍結乾燥（フリーズドライ）されている。核酸増幅反作用試薬 24 は、核酸の（標的核酸の）増幅反応に使用される試薬である。核酸増幅反作用試薬 24 は、本発明に係る蛍光標識プローブ、プライマー、ポリメラーゼ、および dNTP を含む。

20

【0062】

蛍光標識プローブとしては、例えば、上記の蛍光標識プローブ 1 や蛍光標識プローブ 11 を用いる。反応液 20 に含まれる蛍光標識プローブの濃度は、例えば、 $0.5 \mu\text{M}$ 以上 $50 \mu\text{M}$ 以下であり、好ましくは $3 \mu\text{M}$ 以上 $50 \mu\text{M}$ 以下である。

【0063】

プライマーは、鋳型核酸にアニールするよう設計されている。核酸増幅反作用試薬 24 は、二本鎖構造の鋳型核酸（二本鎖 DNA）が変性した後に、一方の一本鎖構造の鋳型核酸（一本鎖 DNA）にアニールするフォワードプライマー（Forward Primer）と、他方の一本鎖 DNA にアニールするリバースプライマー（Reverse Primer）と、を含む。反応液 20 に含まれるフォワードプライマーおよびリバースプライマーの濃度は、それぞれ、例えば、 $0.4 \mu\text{M}$ 以上 $3.2 \mu\text{M}$ 以下であり、好ましくは $0.8 \mu\text{M}$ 以上 $3.2 \mu\text{M}$ 以下である。反応液 20 に含まれるフォワードプライマーの濃度とリバースプライマーの濃度とは、例えば、同じである。

30

【0064】

ポリメラーゼとしては、特に限定されないが、DNA (Deoxyribonucleic Acid) ポリメラーゼが挙げられる。DNA ポリメラーゼは、一本鎖構造の鋳型核酸（一本鎖 DNA）にアニールしたプライマーの末端に、鋳型核酸の塩基と相補的なヌクレオチドを重合する。DNA ポリメラーゼとしては、耐熱性の酵素や PCR 用酵素が好ましく、例えば、Taq ポリメラーゼ、Tfi ポリメラーゼ、Tth ポリメラーゼ、あるいはそれらの改良型など、非常に多数の市販品があるが、ホットスタートを行える DNA ポリメラーゼが好ましい。反応液 20 に含まれるポリメラーゼの量は、例えば、 0.5U 以上 4U 以下であり、好ましくは 1U 以上 4U 以下である。

40

【0065】

dNTP は、4 種類のデオキシリボヌクレオチド三リン酸 (deoxynucleotide triphosphate) の混合物を表す。すなわち、dNTP は、dATP、dCTP、dGTP、および dTTP の混合物を表す。DNA ポリメラーゼは、アニールしたプライマーの末端に、dATP、dCTP、dGTP、dTTP をつなぎ合わせて、新たな DNA を形成する。反応液 20 に含まれる dNTP の濃度は、例えば、 0.125mM 以上 1mM 以下であり、好ましくは 0.25mM 以上 1mM 以下である。

【0066】

50

なお、反応液 20 は、さらに、水や緩衝液を含んでいてもよい。緩衝液に用いられる塩としては、例えば、トリス、ヘペス、ピペス、リン酸などの塩が挙げられる。

【0067】

また、鋳型核酸として RNA を用いる場合、反応液 20 は、さらに、逆転写酵素を含んでいてもよい。逆転写酵素としては、例えば、アビアンミエロブラストウイルス (Avian Myeloblast Virus)、ラスアソシエテッドウイルス 2 型 (Ras Associated Virus 2 型)、マウスモロニー・ミュリーン・リウケミアウイルス (Mouse Molony Murine Leukemia Virus)、ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (Human Immunodeficiency Virus 1 型) 由来の逆転写酵素を用いる。

10

【0068】

液体 30 は、核酸増幅反应用カートリッジ 10 に収容され、流路 16 に配置されている。図示の例では、流路 16 は、反応液 20 および液体 30 で充填されている (満たされている)。液体 30 は、反応液 20 とは混和しない、すなわち混ざり合わない液体である。液体 30 は、さらに鋳型核酸溶液 22 および核酸増幅反应用試薬 24 と混和しない。液体 30 は、反応液 20 とは比重が異なる。具体的には、液体 30 は、反応液 20 よりも比重が小さい。そのため、反応液 20 は、重力の作用によって、重力の作用する方向に移動する。液体 30 は、例えば、ジメチルシリコンオイル、パラフィンオイルなどである。

【0069】

なお、上記では、凍結乾燥された核酸増幅反应用試薬 24 が容器 12 の底部 12b に固定されており、鋳型核酸溶液 22 を容器 12 内に導入して、鋳型核酸溶液 22 が核酸増幅反应用試薬 24 と接触することにより反応液 20 が形成される例について説明した。しかしながら、鋳型核酸と核酸増幅反应用試薬 24 とを含む溶液を、容器 12 外で調製し、該溶液を、液体 30 によって充填された容器 12 内に導入されることで、容器 12 内に反応液 20 が配置されてもよい。

20

【0070】

核酸増幅反应用試薬 24 は、本発明に係る蛍光標識プローブを含む。そのため、核酸増幅反应用試薬 24 は、蛍光を高感度で検出することができる。

【0071】

4. 核酸増幅反応装置

30

次に、本実施形態に係る核酸増幅反応装置について、図面を参照しながら説明する。図 9 および図 10 は、本実施形態に係る核酸増幅反応装置 100 を模式的に示す斜視図であり、図 9 は、蓋体 60 を開いた状態を示し、図 10 は、蓋体 60 を閉じた状態を示している。図 11 は、本実施形態に係る核酸増幅反応装置 100 の本体部 50 を模式的に示す分解斜視図である。図 12 および図 13 は、本実施形態に係る核酸増幅反応装置 100 を模式的に示す図 10 の A-A 線断面図である。図 14 は、本実施形態に係る核酸増幅反応装置 100 の機能ブロック図である。

【0072】

なお、便宜上、図 9 では、核酸増幅反应用カートリッジ 10 を簡略化して図示している。また、図 9 および図 10 では、蛍光測定器 80 の図示を省略している。また、図 12 および図 13 においては、矢印 g の方向は、重力の作用する方向 (重力作用方向) を示し、矢印 R の方向は、加熱部 52, 53 の回転方向を示している。図 12 では、加熱部 52, 53 の配置が第 1 配置である状態を示し、図 13 では、加熱部 52, 53 の配置が第 2 配置である状態を示している。なお、図 14 では、加熱部 52, 53 以外の本体部 50、および蓋体 60 の図示を省略している。

40

【0073】

核酸増幅反応装置 100 は、図 9 ~ 図 14 に示すように、本体部 50 と、蓋体 60 と、移動機構 70 と、蛍光測定器 80 と、処理部 90 と、操作部 92 と、表示部 94 と、記憶部 96 と、を含む。核酸増幅反応装置 100 は、さらに、核酸増幅反应用カートリッジ 10 を含んでもよい。核酸増幅反応装置 100 は、例えば、昇降式 PCR 装置である。

50

【0074】

本体部50は、図11に示すように、例えば、装着部51と、第1加熱部52と、第2加熱部53と、スペーサー54と、底板55と、フランジ56と、固定板57と、を有している。

【0075】

装着部51は、核酸増幅反応用カートリッジ10を装着可能な構造を有している。具体的には、装着部51は、図9に示すように、核酸増幅反応用カートリッジ10を差し込んで（挿入して）装着する構造を有している。図11に示す例では、装着部51は、第1加熱部52の第1ヒートブロック52b、スペーサー54、および第2加熱部53の第2ヒートブロック53bを貫通する貫通孔である。装着部51の数は、複数であってもよく、図示の例の例では、20個である。

10

【0076】

第1加熱部52は、核酸増幅反応用カートリッジ10が装着部51に装着された場合に、図12および図13に示すように、流路16の第1領域16aを第1温度に加熱する。図示の例では、第1加熱部52は、第2加熱部53よりも蓋体60側に位置している。

【0077】

第1加熱部52は、例えば、熱を発生させる機構と、発生した熱を核酸増幅反応用カートリッジ10に伝える部材と、を有している。図11に示す例では、第1加熱部52は、第1ヒーター52aと、第1ヒートブロック52bと、を有している。第1ヒーター52aは、例えば、カートリッジヒーターであり、導線58によって図示しない外部電源に接続されている。第1ヒーター52aは、第1ヒートブロック52bに設けられた穴に挿入されており、第1ヒーター52aが発熱することで第1ヒートブロック52bが加熱される。第1ヒートブロック52bは、第1ヒーター52aから発生した熱を核酸増幅反応用カートリッジ10に伝える部材である。第1ヒートブロック52bは、例えば、アルミニウム製のブロックである。流路16の第1領域16aは、第1ヒートブロック52bによって囲まれる領域である。

20

【0078】

第2加熱部53は、核酸増幅反応用カートリッジ10が装着部51に装着された場合に、流路16の第2領域16bを、第1温度とは異なる第2温度に加熱する。第2加熱部53は、第2ヒーター53aと、第2ヒートブロック53bと、を有している。第2加熱部53は、加熱する核酸増幅反応用カートリッジ10の領域および加熱する温度が第1加熱部52と異なる以外は、第1加熱部52と同様の構造および機能を有している。流路16の第2領域16bは、第2ヒートブロック53bによって囲まれる領域である。

30

【0079】

第1加熱部52および第2加熱部53の温度は、図示しない温度センサー（例えば熱電対）および処理部90によって制御される。処理部90は、例えば、第1加熱部52を第1温度に、第2加熱部53を第2温度に制御することで、核酸増幅反応用カートリッジ10の第1領域16aを第1温度に、第2領域16bを第2温度に加熱することができる。

【0080】

スペーサー54は、第1加熱部52と第2加熱部53との間に設けられている。スペーサー54は、第1加熱部52と第2加熱部53との間を断熱する機能を有している。

40

【0081】

底板55は、核酸増幅反応用カートリッジ10を保持する部材である。底板55は、核酸増幅反応用カートリッジ10の高さ方向の位置を決定する。すなわち、核酸増幅反応用カートリッジ10を底板55に接触する位置まで差し込むことで、加熱部52、53に対して核酸増幅反応用カートリッジ10を所定の位置に保持することができる。底板55には、蛍光測定器80からの励起光、および反応液20の蛍光を通すための貫通孔55aが設けられている。

【0082】

フランジ56および固定板57は、加熱部52、53およびスペーサー54を固定する

50

ための部材である。図示の例では、2枚の固定板57がフランジ56に嵌め合わされており、加熱部52、53、スペーサー54、および底板55は、固定板57に固定されている。

【0083】

蓋体60は、装着部51を覆っている。図9に示す例では、固定板57には磁石部62が設けられ、蓋体60は、磁石部62によって本体部50に固定されることができる。なお、スペーサー54、底板55、フランジ56、固定板57、および蓋体60の材質は、例えば、断熱材である。

【0084】

移動機構70は、処理部90からの入力信号に基づいて、本体部50を回転させる機構である。これにより、移動機構70は、加熱部52、53を第1配置(図12参照)と第2配置(図13参照)とに切換えることができる。その結果、移動機構70は、反応液20に、核酸を増幅するための熱サイクルを付与するように、反応液20を移動させることができる。第1配置では、第1加熱部52が第2加熱部53よりも、重力作用方向において下方に位置している。第2配置では、第2加熱部53が第1加熱部52よりも、重力作用方向において下方に位置している。移動機構70は、例えば、図示しないモーターおよび駆動軸を有している。駆動軸は、本体部50のフランジ56に接続されている。駆動軸は、核酸増幅反応カートリッジ10の長手方向に対して垂直に設けられており、モーターを動作させると駆動軸を回転の軸として本体部50が回転する。

10

【0085】

蛍光測定器80は、核酸増幅反応カートリッジ10に収容される反応液20の蛍光強度(蛍光輝度)を測定する測定器である。蛍光測定器80は、図13に示すように第2配置において、核酸増幅反応カートリッジ10の底部12bに対して、所定距離を隔てて対向して配置されている。蛍光測定器80は、処理部90からの入力信号に基づいて、反応液20に含まれる蛍光標識プローブの蛍光色素に対応する励起光Lを反応液20に照射し、反応液20で発光する蛍光強度を測定する。なお、蛍光測定器80は、1つの蛍光色素に対応する蛍光強度を測定してもよいし、複数の蛍光色素に対応する蛍光強度を測定してもよい。

20

【0086】

処理部90は、図14に示すように、例えば記憶部96に記憶されているプログラムに従って、移動機構70や蛍光測定器80を制御するための処理を行う。処理部90は、例えば、CPU(Central Processing Unit)などのプロセッサ等により実現される。

30

【0087】

操作部92は、ユーザーによる操作に応じた操作信号を取得し、操作信号を処理部90に送る処理を行う。操作部92は、例えば、ボタン、キー、タッチパネル型ディスプレイ、マイク等により実現される。

【0088】

表示部94は、処理部90によって生成された画像を表示する。表示部94は、例えば、LCD(Liquid Crystal Display)、CRT(Cathode Ray Tube)等により実現される。

40

【0089】

記憶部96は、処理部90が各種の計算処理や制御処理を行うためのプログラムやデータ等を記憶している。また、記憶部96は、処理部90の作業領域として用いられ、処理部90が各種プログラムに従って実行した算出結果等を一時的に記憶するためにも使用される。記憶部96は、例えば、RAM(Random Access Memory)等によって実現される。

【0090】

5. 核酸増幅反応方法

次に、本実施形態に係る核酸増幅反応方法について、図面を参照しながら説明する。図

50

15は、本実施形態に係る核酸増幅反応方法を説明するためのフローチャートである。以下では、一例として、核酸増幅反応装置100を用いて、本発明に係る核酸増幅反应用試薬と標的核酸とを含む反応液20において、核酸を増幅させる方法について説明する。

【0091】

まず、核酸増幅反应用カートリッジ10を、核酸増幅反応装置100の装着部51に装着する(ステップS2)。具体的には、液体30が充填された容器12に反応液20を導入した後、核酸増幅反应用カートリッジ10を装着部51に装着する。例えば、装着部51に核酸増幅反应用カートリッジ10を装着したら、蓋体60によって装着部51を覆う。

【0092】

ここで、加熱部52, 53の配置は、図12に示すように、第1配置である。第1配置においては、重力作用方向における流路16の最下部に第1領域16aが位置する。そのため、液体30よりも比重の大きい反応液20は、第1領域16aに位置する。

【0093】

次に、処理部90は、操作部92から熱サイクル処理を開始する旨の信号を受けると、加熱部52, 53を制御して、核酸増幅反应用カートリッジ10の第1領域16aおよび第2領域16bを加熱させ、流路16に温度勾配を形成する処理を行う(ステップS4)。具体的には、処理部90の処理によって、第1加熱部52は、第1領域16aを第1温度に加熱し、第2加熱部53は、第2領域16bを第1温度よりも低い第2温度に加熱する。これにより、流路16の第1領域16aと第2領域16bとの間には、第1温度と第2温度との間で温度が漸次変化する温度勾配が形成される。ここでは、加熱部52, 53は、第1領域16aから第2領域16bに向けて温度が低くなる温度勾配を形成する温度勾配形成部である。

【0094】

第1温度は、2本鎖DNAの解離(変性反応)に適した温度であり、例えば、95以上110以下である。第2温度は、アニーリング反応および伸長反応に適した温度であり、例えば、50以上75以下である。加熱部52, 53の配置は、第1配置であるので、核酸増幅反应用カートリッジ10を加熱すると、反応液20は、第1温度に加熱される。

【0095】

次に、処理部90は、第1加熱部52が第1温度に到達して第1の時間(第1の期間)が経過したら、移動機構70を制御して、加熱部52, 53の配置を、第1配置から第2配置へ切替える処理を行う(ステップS6)。処理部90は、タイマーを内蔵していてもよい。第1の時間は、変性反応のための加熱時間であり、例えば、1秒以上10秒以下である。具体的には、処理部90は、移動機構70を制御して本体部50を180°回転させる。これにより、加熱部52, 53の配置が第1の配置から第2の配置へ切替えられる。

【0096】

第2の配置は、図13に示すように、第2領域16bを重力作用方向において流路16の最下部に位置させる配置である。第2配置では、第1領域16aと第2領域16bとの重力作用方向における位置関係が第1配置とは逆になる。そのため、反応液20は、重力の作用によって第1領域16aから第2領域16bへと移動する。処理部90は、加熱部52, 53の配置を第2配置とした後に移動機構70の動作を第2の時間(第2の期間)停止させる。これにより、加熱部52, 53の配置は、第2の時間、第2配置に保持される。第2の時間は、アニーリング反応および伸長反応のための加熱時間であり、1秒以上10秒以下である。

【0097】

次に、処理部90は、第1配置から第2配置へ切替えた回数(サイクル数)が、予め記憶部96に記憶されている所定の回数に達したか否か判定する処理を行う(ステップS8)。処理部90は、第1配置から第2配置への切替えを行うたびに、サイクル数を記憶部

10

20

30

40

50

96に記憶させ、該サイクル数と、予め記憶部96に記憶されている所定の回数と、を比較する。

【0098】

処理部90は、ステップS8においてサイクル数が所定の回数に達したと判定した場合（図15において「Yes」の場合）、処理を終了する。

【0099】

一方、処理部90は、ステップS8においてサイクル数が所定の回数に達していないと判定した場合（図15において「No」の場合）、ステップS10に移行する。ステップS10では、処理部90は、移動機構70を制御して、加熱部52, 53の配置を、第2配置から第1配置へ切替える処理を行う。処理部90は、加熱部52, 53の配置を第1配置とした後に移動機構70の動作を、第1の時間停止させる。

10

【0100】

そして、処理部90は、再び、ステップS6へ移行し、加熱部52, 53の配置を第1配置から第2配置へ切替える。

【0101】

以上のように、処理部90は、サイクル数が所定の回数となるまで、第1配置と第2配置との位置を入れ替えながら加熱部52, 53を（本体部50を）回転させることにより、反応液20を流路16において往復運動させる。これにより、核酸増幅反応装置100は、反応液20に、核酸を増幅するための熱サイクルを付与することができる。

【0102】

処理部90は、さらに、上記の熱サイクル処理と同時期に増幅解析処理を行う。これにより、核酸増幅反応装置100では、リアルタイムPCRを行うことができる。具体的には、処理部90は、加熱部52, 53の配置を第2配置に保持するごとに蛍光測定器80に対して測定指示を与えるための信号を入力する。そして、処理部90は、蛍光測定器80の測定結果として蛍光測定器80から蛍光強度を取得し、該蛍光強度を記憶部96に記憶する。

20

【0103】

さらに、処理部90は、操作部92から入力される信号に基づいて、繰り返すべきサイクル数として設定される回数分の蛍光強度を記憶部96から読み出し、該蛍光強度に基づいてサイクル数に対する蛍光強度の推移を示す増幅曲線を生成してもよい。処理部90は、該増幅曲線に基づいて核酸の増幅効率に対する良否を判定し、判定結果や増幅曲線を表示部94に表示させてもよい。

30

【0104】

なお、上記では、ステップS8において、処理部90は、サイクル数が所定の回数に達したか否かを判定したが、処理部90は、取得した蛍光強度が、予め記憶部96に記憶された所定値に達しか否かを判定してもよい。そして、処理部90は、取得した蛍光強度が所定値に到達したと判定した場合は、処理を終了し、取得した蛍光強度が所定値に到達していないと判定した場合は、ステップS10に移行してもよい。

【0105】

また、上記では、第2温度をアニーリング反応および伸長反応のための温度としたが、第2温度を、アニーリング反応および伸長反応のいずれか一方の反応のための温度とし、第2の時間を、アニーリング反応および伸長反応のいずれか一方の反応のための加熱時間としてもよい。この場合、図示はしないが、核酸増幅反応装置100は、流路16の第3領域（第1領域および第2領域と異なる領域）を、第3温度（第1温度および第2温度と異なる温度）に加熱する第3加熱部を有している。第3温度は、アニーリング反応および伸長反応の他方の反応のための温度であり、第3の時間は、アニーリング反応および伸長反応の他方の反応のための加熱時間である。ただし、PCRの高速化のためには、第2温度を、アニーリング反応および伸長反応のための温度とすることが好ましい。

40

【0106】

本実施形態に係る核酸増幅反応方法では、本発明に係る核酸増幅反应用試薬（例えば核

50

酸増幅反应用試薬 24) と標的核酸 (鋳型核酸) とを含む反応液 20 に熱サイクルを付与する。そのため、本実施形態に係る核酸増幅反応方法では、反応液 20 からの蛍光を高感度で検出することができる。

【0107】

ここで、図 16 は、鋳型核酸をアデノウィルスとした PCR の結果を示すグラフである。本実験では、オリゴヌクレオチドに、レポーター色素およびクエンチャーが 1 つずつ結合した蛍光標識プローブ (参考例に係る蛍光標識プローブ) を用いた。本実験では、第 1 の時間 (変性反応のための時間) を 5 秒、第 2 の時間 (アニーリング反応および伸長反応のための時間) を 20 秒とした標準条件と、第 1 の時間を 4 秒、第 2 の時間を 6 秒とした高速条件と、の 2 種類の条件において、リアルタイム PCR を行った。図 16 に示すように、高速条件および標準条件で 4 回ずつ PCR を行った。図 16 において、横軸は、熱サイクルのサイクル数を示し、縦軸は、蛍光測定器で測定した蛍光強度を示している。

10

【0108】

図 17 は、図 16 における PCR において、高速条件の熱サイクルを 50 回付与した反応液と、標準条件の熱サイクルを 50 回付与した反応液と、の電気泳動の結果である。

【0109】

図 16 に示すように、高速条件では、標準条件に比べて、蛍光強度が低下した。一方、図 17 に示すように、高速条件と標準条件とにおいて、電気泳動評価における差異は確認できなかった。このことから、高速条件の蛍光強度が標準条件の蛍光強度よりも低いことは、核酸が増幅されていないのではなく、核酸と蛍光標識プローブとが十分にハイブリダイゼーションできていないことが要因であると考えられる。

20

【0110】

本実施形態に係る核酸増幅反応方法では、本発明に係る核酸増幅反应用試薬を用いるので、第 2 の時間 (アニーリング反応および伸長反応のための時間) が 1 秒以上 10 秒以下という高速条件において、核酸と蛍光標識プローブとが十分にハイブリダイゼーションできていなくても、反応液からの蛍光を高感度で検出することができる。したがって、本実施形態に係る核酸増幅反応方法では、高速条件の PCR において、特に有効であるといえる。

【0111】

さらに、本実施形態に係る核酸増幅反応方法では、第 2 の時間を 10 秒以下とすることで、PCR の反応時間の短縮化を図ることができる。また、第 2 の時間を 1 秒以上とすることで、核酸増幅反応装置や核酸増幅反应用カートリッジの設計が容易となり、設計の自由度を高めることができる。第 2 の時間を 1 秒未満とすると、核酸増幅反応装置や核酸増幅反应用カートリッジの設計が困難となる場合がある。

30

【0112】

本発明は、本願に記載の特徴や効果を有する範囲で一部の構成を省略したり、各実施形態や変形例を組み合わせたとしてもよい。

【0113】

本発明は、実施の形態で説明した構成と実質的に同一の構成 (例えば、機能、方法及び結果が同一の構成、あるいは目的及び効果が同一の構成) を含む。また、本発明は、実施の形態で説明した構成の本質的でない部分を置き換えた構成を含む。また、本発明は、実施の形態で説明した構成と同一の作用効果を奏する構成又は同一の目的を達成することができる構成を含む。また、本発明は、実施の形態で説明した構成に公知技術を付加した構成を含む。

40

【符号の説明】

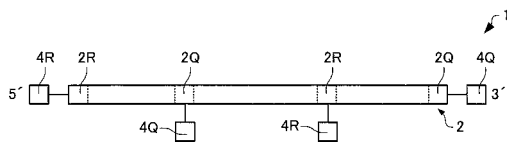
【0114】

1 ... 蛍光標識プローブ、2 ... オリゴヌクレオチド、2 Q ... クエンチャー結合ヌクレオチド、2 R ... レポーター結合ヌクレオチド、4 Q ... クエンチャー、4 R ... レポーター色素、8 ... ピペット、10 ... 核酸増幅反应用カートリッジ、11 ... 蛍光標識プローブ、12 ... 容器、12 a ... 側壁部、12 b ... 底部、14 ... キャップ、16 ... 流路、16 a ... 第 1 領域、1

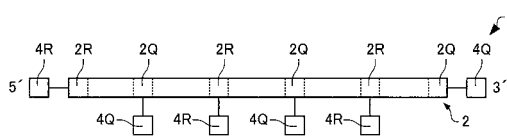
50

6 b ... 第2領域、20 ... 反応液、22 ... 鋳型核酸溶液、24 ... 核酸増幅反应用試薬、30 ... 液体、50 ... 本体部、51 ... 装着部、52 ... 第1加熱部、52 a ... 第1ヒーター、52 b ... 第1ヒートブロック、53 ... 第2加熱部、53 a ... 第2ヒーター、53 b ... 第2ヒートブロック、54 ... スペース、55 ... 底板、55 a ... 貫通孔、56 ... フランジ、57 ... 固定板、58 ... 導線、60 ... 蓋体、62 ... 磁石部、70 ... 移動機構、80 ... 蛍光測定器、90 ... 処理部、92 ... 操作部、94 ... 表示部、96 ... 記憶部、100 ... 核酸増幅反応装置

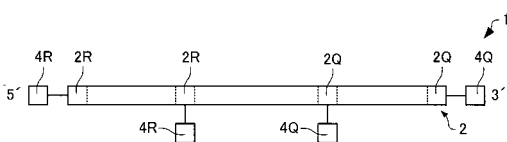
【図1】



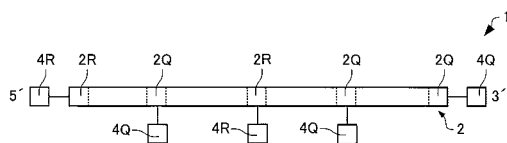
【図2】



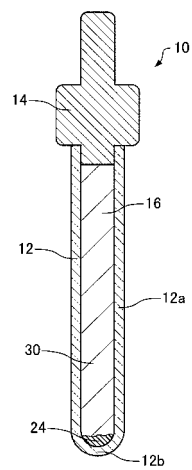
【図3】



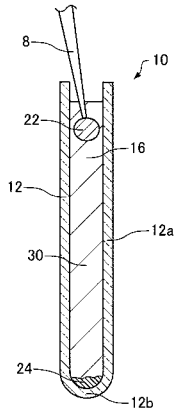
【図4】



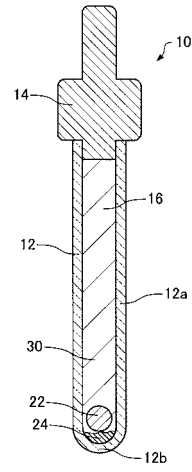
【図5】



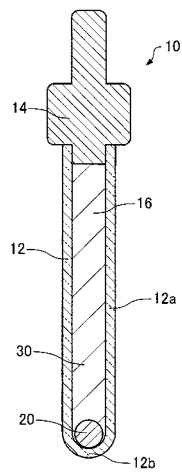
【 図 6 】



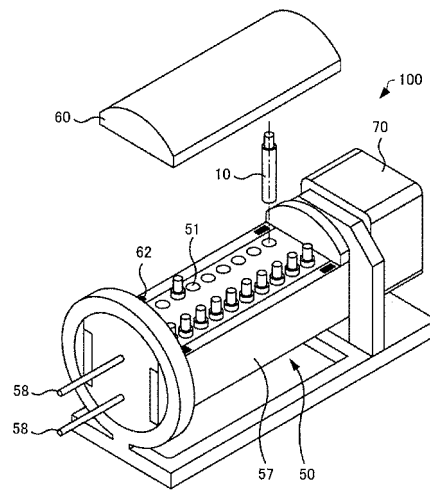
【 図 7 】



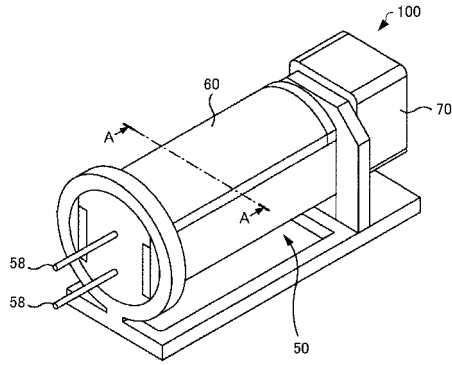
【 図 8 】



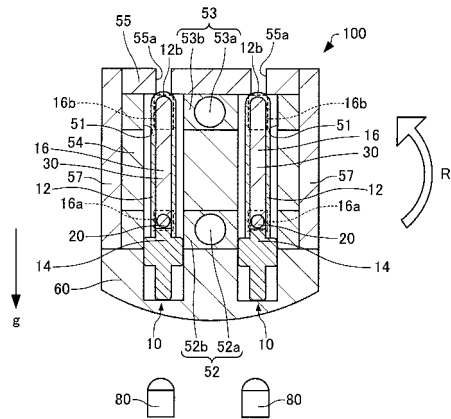
【 図 9 】



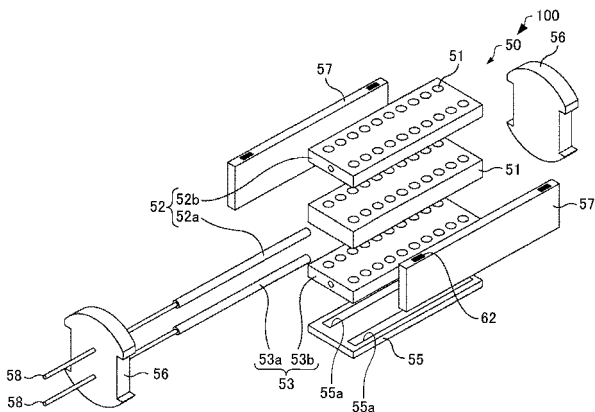
【図10】



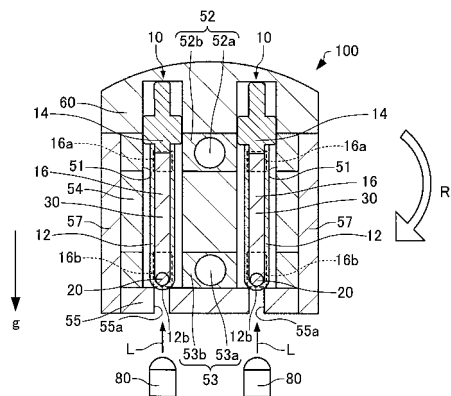
【図12】



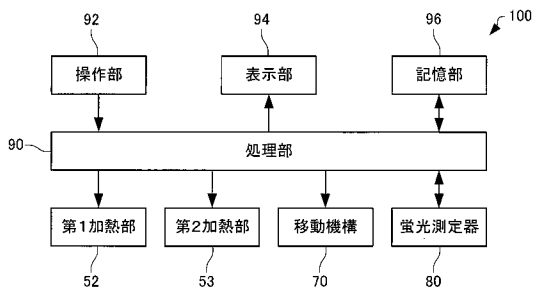
【図11】



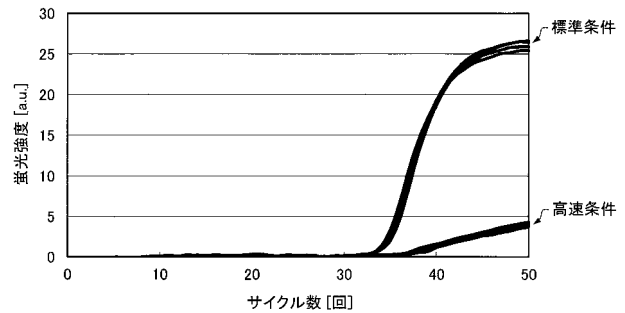
【図13】



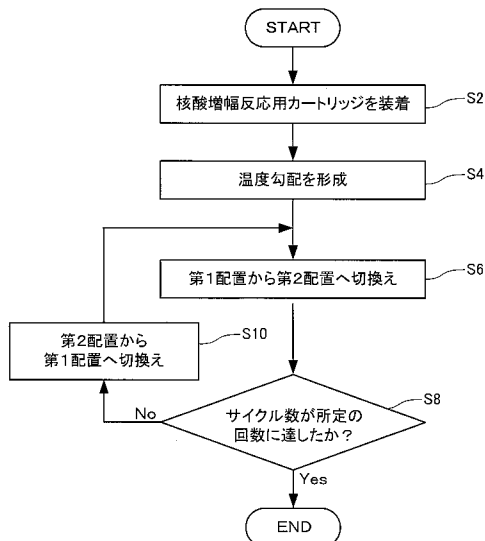
【図14】



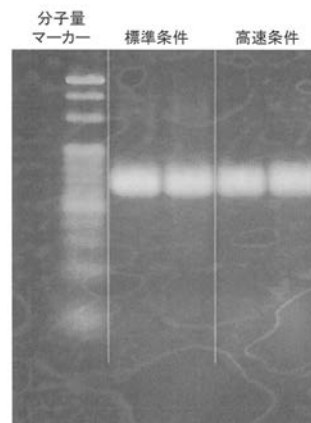
【図16】



【図15】



【図17】



フロントページの続き

Fターム(参考) 4B029 AA27 BB20 CC02
4B063 QA01 QQ42 QR08 QR42 QR56 QR62 QS25 QS36 QX02