



(10) 授权公告号 CN 114391098 B

(45) 授权公告日 2024.06.28

(21) 申请号 201980100290.8

(22) 申请日 2019.09.17

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 114391098 A

(43) 申请公布日 2022.04.22

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2022.03.11

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/JP2019/036364 2019.09.17

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02021/053713 JA 2021.03.25

(73) 专利权人 株式会社日立高新技术  
地址 日本东京

(72) 发明人 奥野惠佳 藤冈满 横山徹

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公  
司 31100

专利代理师 胡秋瑾 宋俊寅

(51) Int.Cl.  
G01N 27/447 (2006.01)  
G01N 27/26 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 101344530 A, 2009.01.14  
CN 104870980 A, 2015.08.26

审查员 雷云

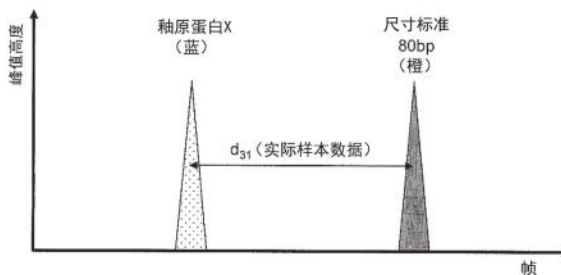
权利要求书4页 说明书11页 附图7页

(54) 发明名称

生物体试料分析装置、生物体试料分析方法

(57) 摘要

本发明的目的是提供一种生物体试料分析装置,用于提高分析结果的准确性,降低试剂成本,缩短所需时间。本发明的生物体试料分析装置将通过测量生物体试料而获取到的第一测量数据与通过测量基准试料而获取到的第二测量数据进行比较,在两者之间的差分超过阈值的情况下,判定需要在重新测量所述生物体试料之前重新测量所述基准试料来重新获取基准值(参见图3A)。



1. 一种生物体试料分析装置,利用电泳来分析生物体试料,其特征在于,包括:  
测量部,该测量部用于在使含有所述生物体试料的样本进行电泳的同时测量所述生物体试料;以及  
运算部,该运算部生成记载了所述测量部的测量结果的测量数据,  
含有所述生物体试料的第一样本包括由所述测量部获取的测量值为已知的第一标准物质,所述生物体试料和所述第一标准物质被赋予彼此不同的荧光标记,  
含有作为用于量化所述生物体试料的基准的基准试料的第二样本包括由所述测量部获取的测量值为已知的第一标准物质,  
所述运算部生成第一测量数据,该第一测量数据记载了通过在使所述第一样本进行电泳的同时测量所述第一样本从而获取的测量结果,  
所述运算部生成第二测量数据,该第二测量数据记载了通过在使所述第二样本进行电泳的同时测量所述第二样本从而获取的测量结果,  
所述运算部通过将所述第一测量数据和所述第二测量数据之间的差分与阈值进行比较,从而判定是否需要在重新测量所述生物体试料之前通过重新测量所述第二样本来重新获取用于量化所述生物体试料的基准值。
2. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,  
所述运算部使用第一对应关系数据来量化在所述第一样本中包含的所述生物体试料,该第一对应关系数据记载了所述第一测量数据所记载的第一数据值与所述第一数据值所表示的测量结果之间的第一对应关系,  
所述运算部使用第二对应关系数据来量化在所述第二样本中包含的所述基准试料,该第二对应关系数据记载了所述第二测量数据所记载的第二数据值与所述第二数据值所表示的测量结果之间的第二对应关系,  
所述运算部使用量化在所述第一样本中包含的所述生物体试料的结果与量化在所述第二样本中包含的所述基准试料的结果相差的量来计算所述差分。
3. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,  
所述第一测量数据记载了通过在使所述第一样本电泳的同时进行测量从而获取的第一荧光强度波形,  
所述第二测量数据记载了通过在使所述第二样本电泳的同时进行测量从而获取的第二荧光强度波形,  
所述运算部计算在所述第一荧光强度波形中表示所述生物体试料的波形和在所述第一荧光强度波形中表示所述第一标准物质的波形之间的第一距离,  
所述运算部计算在所述第二荧光强度波形中表示所述基准试料的波形和在所述第二荧光强度波形中表示所述第一标准物质的波形之间的第二距离,  
所述运算部计算所述第一距离和所述第二距离之间的距离差来作为所述差分。
4. 如权利要求3所述的生物体试料分析装置,其特征在于,  
所述生物体试料是DNA样本,  
所述第二样本是等位基因分型标准物,  
所述第一标准物质是尺寸标准,该尺寸标准具有作为用于测量DNA片段长度的基准尺寸的已知尺寸,

所述运算部使用所述第一测量数据来计算所述生物体试料的DNA片段长度。

5. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,  
当所述差分超过所述阈值时,所述运算部输出表示所述差分超过所述阈值的警报。

6. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,

所述运算部对所述测量部施加使用限制,使得在所述差分超过所述阈值时,所述运算部无法重新测量所述生物体试料,直到通过重新测量所述第二样本从而重新获取用于量化所述生物体试料的基准值为止。

7. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,

所述第一样本和所述第二样本都包括由所述测量部获取的测量值为已知的第一标准物质和第二标准物质,

所述第一测量数据记载了通过在使所述第一样本电泳的同时进行测量从而获取的第一荧光强度波形,

所述第二测量数据记载了通过在使所述第二样本电泳的同时进行测量从而获取的第二荧光强度波形,

所述运算部计算在所述第一荧光强度波形中表示所述生物体试料的波形和在所述第一荧光强度波形中表示所述第一标准物质的波形之间的第一距离,并且计算在所述第一荧光强度波形中表示所述生物体试料的波形和在所述第一荧光强度波形中表示所述第二标准物质的波形之间的第二距离,

所述运算部计算在所述第二荧光强度波形中表示所述基准试料的波形和在所述第二荧光强度波形中表示所述第一标准物质的波形之间的第三距离,并且计算在所述第二荧光强度波形中表示所述基准试料的波形和在所述第二荧光强度波形中表示所述第二标准物质的波形之间的第四距离,

所述运算部计算所述第一距离和所述第二距离之间的第一比率与所述第三距离和所述第四距离之间的第二比率相比较相差的量来作为所述差分,或者

所述运算部计算所述第一距离和所述第二距离之间的第一差分与所述第三距离和所述第四距离之间的第二差分相比较相差的量来作为所述差分。

8. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,

所述测量部测量在使所述第一样本进行电泳时对所述第一样本的测量结果造成影响的第一参数,作为由所述第一测量数据记载的测量结果,

所述测量部测量在使所述第二样本进行电泳时对所述第二样本的测量结果造成影响的第二参数,作为由所述第二测量数据记载的测量结果,

所述运算部计算所述第一参数与所述第二参数相比较相差的量来作为所述差分。

9. 如权利要求8所述的生物体试料分析装置,其特征在于,

作为所述第一参数和所述第二参数,所述测量部对下述中的至少任意一个进行测量:

当使样本进行电泳时流过该样本的电流值;

所述生物体试料分析装置内部的温度、湿度、气压中的至少任一个;

所述生物体试料分析装置外部的温度、湿度、气压中的至少任一个;

测量样本时与该样本一并提供的分离介质的物理值;

测量样本时与该样本一并提供的缓冲液的物理值;

所述分离介质的使用过次数或所述缓冲液的使用过次数；  
自所述分离介质开始使用之日起经过的天数或自所述缓冲液开始使用之日起经过的天数；

所述分离介质的制造批号或所述缓冲液的制造批号；  
使样本进行电泳时使该样本通过的毛细管的使用过次数；  
所述毛细管自开始使用之日起经过的天数；以及  
所述毛细管的制造批号。

10. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,  
所述第一测量数据记载了表示在所述第一样本中包含的所述生物体试料的第一值,  
所述第二测量数据记载了表示在所述第二样本中包含的所述基准试料的第二值,  
作为所述第一值和所述第二值,所述运算部使用下述中的至少任意一个:  
表示所述测量部检测到所述生物体试料的时刻的值;  
表示从所述测量部开始测量到检测所述生物体试料为止所经过的时间长度的值;以及  
表示从所述测量部检测到在样本中包含的除所述生物体试料以外的物质到所述测量部检测到所述生物体试料为止所经过的时间长度的值。

11. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,  
所述生物体试料是DNA样本,  
所述运算部生成通过在使样本电泳的同时进行测量从而获取的荧光强度波形来作为所述测量数据,

所述运算部通过在所述第一测量数据和所述第二测量数据之间比较所述荧光强度波形中的第一波形和第二波形从而计算所述差分,

作为所述第一波形和所述第二波形,所述运算部使用下述中的至少任一个:  
从进行了荧光标记的样本获取的所述荧光强度波形的峰值位置;  
所述荧光强度波形中来源于X染色体的部分;  
所述荧光强度波形中与由所述测量部获取的测量值为已知的尺寸标准相对应的部分;  
所述荧光强度波形中与为了判定PCR反应的好坏而混合在PCR试剂中的品质传感器相对应的部分;以及

所述荧光强度波形中与作为参照物质混合到样本中的荧光寡核苷酸相对应的部分。

12. 如权利要求1所述的生物体试料分析装置,其特征在于,  
对在所述第一样本中包含的所述生物体试料和在所述第二样本中包含的所述基准试料赋予相同颜色的荧光标记。

13. 一种生物体试料分析方法,利用电泳来分析生物体试料,其特征在于,包括:  
在使含有所述生物体试料的样本进行电泳的同时测量所述生物体试料的步骤;以及  
生成记载了所述测量步骤中的测量结果的测量数据的运算步骤,  
含有所述生物体试料的第一样本包括由所述测量部获取的测量值为已知的第一标准物质,所述生物体试料和所述第一标准物质被赋予彼此不同的荧光标记,

含有作为用于量化所述生物体试料的基准的基准试料的第二样本包括由所述测量部获取的测量值为已知的第一标准物质,

在所述运算步骤中生成第一测量数据,该第一测量数据记载了通过在使所述第一样本

进行电泳的同时测量所述第一样本从而获取的测量结果,

在所述运算步骤中生成第二测量数据,该第二测量数据记载了通过在使所述第二样本进行电泳的同时测量所述第二样本从而获取的测量结果,

在所述运算步骤中通过将所述第一测量数据和所述第二测量数据之间的差分与阈值进行比较,从而判定是否需要在重新测量所述生物体试料之前通过重新测量所述第二样本来重新获取用于量化所述生物体试料的基准值。

## 生物体试料分析装置、生物体试料分析方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种使用电泳来分析生物体试料的生物体试料分析装置。

### 背景技术

[0002] 使用了电泳的DNA分析包括片段分析和序列分析等。片段分析中,可以举出个人鉴定、MSI(Micro Satellite Instability:微卫星不稳定性)分析、MLPA(Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification:多重连接探针扩增技术)等。这里,以个人鉴定为例进行说明,但本专利不一定是专门针对个人鉴定的发明,也可以应用于其他片段分析示例。目前,通过脱氧核糖核酸(DNA)多态性分析进行的DNA鉴定以犯罪调查和血缘关系判定等为目的,正在广泛实施。同一种生物的DNA基本具有相似的碱基序列,但在一部分部位具有不同的碱基序列。像这样在个体间发现DNA上的碱基序列的多样性被称为DNA多态性,并与基因水平上的个体差异的形成有关。

[0003] DNA多态性的形态之一有短串联重复序列(Short Tandem Repeat)(STR)或微卫星。所谓STR,是指2碱基到7碱基长左右的短排列反复数次到数十次的特征性排列模式,已知该重复次数因个体而异。将对STR在特定基因位点上的重复次数的组合进行分析称为STR分析。

[0004] 在以犯罪调查等为目的DNA鉴定中,STR的重复次数的组合使用了利用在个体间不同性质的STR分析。该STR重复次数的差异是由于等位基因(对偶基因,Allele)的不同而出现的,所以以后将各个DNA标记中的STR的重复次数记为等位基因。

[0005] 为了提取一定量用作DNA标记的STR部位的DNA,实施了PCR(Polymerase Chain Reaction:聚合酶链反应)。PCR是通过在目标DNA的两端指定被称为引物序列的一定的碱基序列,从而只重复扩增夹在引物序列之间的DNA片段,获取一定量的目标DNA样本的技术。

[0006] 实施电泳以测量通过PCR得到的目标DNA片段的片段长度。电泳是利用了根据DNA片段的长度,在带电的电泳通道中的泳动速度不同,越长的DNA片段则泳动速度越小这一点的DNA片段分离方法。作为电泳的方法,近年来使用毛细管作为电泳通道的毛细管电泳被广泛使用。

[0007] 在毛细管电泳中,在被称为毛细管的细管中填充凝胶等电泳介质,使样本的DNA片段在该毛细管内泳动。然后,通过测量样本在完成泳动一定距离(通常是毛细管的一端到一端)所需的时间,研究DNA片段长度。各个样本、即各个DNA片段都由荧光色素标记,通过放置在毛细管终端部的光学检测器,检测进行了电泳的样本的荧光信号。

[0008] 通过PCR进行扩增的未知样本的DNA片段中,在进行电泳时混合有用不同于扩增后的DNA片段的荧光色素标记的尺寸标准。尺寸标准是含有已知的碱基长度的DNA片段的试剂,在注入期间以及多个毛细管的情况下,为了校正毛细管间的迁移率之差,作为碱基长度的指标来使用。

[0009] 但是,即使是相同的碱基长度的DNA片段,如果用不同的荧光色素标记,则严格来说迁移率是不同的。由此,仅凭尺寸标准的信息无法准确地计算出用不同色素标记的DNA片

段的迁移率。因此,如以非专利文献1的第28页为代表的试剂盒协议所记载的那样,为了更准确地分析,建议以规定的频度使称为等位基因分型标准物(Allelic ladder)的试剂进行电泳。等位基因分型标准物是用与未知样本相同的荧光色素标记的含有出现频度较高的等位基因的试剂,作为用于确定每个色素的迁移率的校正系数的参照数据来使用。基于这个等位基因分型标准物的参照数据,决定校正系数,在未知样本的数据中校正迁移率,分析DNA片段的碱基长度。

[0010] 以下专利文献1记载了一种关于毛细管凝胶阵列的设定方法和分析方法的技术,该设定方法和分析方法为了确保结果的准确性,通过监视相当于等位基因分型标准物的标准品的结果来监视阵列性能。在该文献中,系统根据之前运行的电泳结果,来判断适用于等位基因分型标准物的电泳的阵列,从而保证了作为参照数据的等位基因分型标准物的准确性。

[0011] 现有技术文献

[0012] 专利文献

[0013] [专利文献1]:US2004/0197925

[0014] 非专利文献

[0015] [非专利文献1]:Global Filer Express PCR Amplification Kit USER GUIDE (Publication Number4477672,Revision E)

## 发明内容

[0016] 发明所要解决的技术问题

[0017] DNA片段的迁移率根据装置内温度、装置外环境的温度、压力、试剂的pH、试剂的劣化程度、运行参数(电压和电泳部温度等)等较大地变化。DNA片段的迁移率的变化量根据被标记的荧光色素的种类和碱基长度的不同而不同。因此,即使在非专利文献1第28页规定的注入次数内,如这些条件从使等位基因分型标准物(参照数据)电泳时开始发生变化,则尺寸标准与DNA片段(用不同于尺寸标准的荧光色素进行标记)之间的相对速度会发生变化。由此,可能给色素间校正带来影响,导致错误的分析结果。或者,即使超过了非专利文献1第28页规定的注入次数,在上述条件没有变化的情况下,尽管实际上不需要重新获取参照数据,也必须使等位基因分型标准物电泳来重新获取参照数据。由此,不必要地增大了试剂成本,此外由于所需时间增加,系统的吞吐量也会降低。

[0018] 在专利文献1中,系统自动选择适合于使等位基因分型标准物电泳的阵列。但是该文献记载的技术的目的并不是判断是否应该通过使等位基因分型标准物电泳来重新获取参照数据。

[0019] 本发明是鉴于上述问题而完成的,其目的是提供一种生物体试料分析装置,其提高分析结果的准确性,降低试剂成本,缩短所需时间。

[0020] 用于解决技术问题的技术手段

[0021] 本发明的生物体试料分析装置将通过测量生物体试料而获取到的第一测量数据与通过测量基准试料而获取到的第二测量数据进行比较,在两者之间的差分超过阈值的情况下,判定需要在重新测量所述生物体试料之前重新测量所述基准试料来重新获取基准值。

[0022] 发明效果

[0023] 根据本发明的生物体试料分析装置,基于通过实际测量生物体试料而获取到的测量数据,判断是否需要重新测量基准试料(例如等位基因分型标准物),因此提高了分析结果的准确性。此外,通过抑制不必要地重新测量基准试料,能实现降低试剂成本和系统的吞吐量增大。

### 附图说明

[0024] 图1是示出了实施方式1的生物体试料分析装置100的结构图。

[0025] 图2是说明生物体试料分析装置100的动作顺序的流程图。

[0026] 图3A是在S202中获取的实际样本数据中的荧光强度波形的示例。

[0027] 图3B是参照数据中的荧光强度波形的示例。

[0028] 图4是例示 $d_{31}$ 的差分 and DNA片断长度的标准偏差之间的关系的图表。

[0029] 图5是实施方式2的实际样本数据中的荧光强度波形的示例。

[0030] 图6是表示聚合物在容易劣化的30°C环境下进行16次电泳时 $d_{51}$ 、 $d_{52}$ 、 $d_{53}$ 的推移的图表。

[0031] 图7是示出获取图6的数据时 $d_{54}$ 和 $d_{55}$ 的推移的图表。

[0032] 图8是例示 $d_{55}/d_{54}$ 的差分 and DNA片断长度的标准偏差之间的关系的图表。

[0033] 图9是例示当使样本在毛细管内电泳时第二电流表112测量的电流值的变动的图表。

[0034] 图10是例示 $I_2$ 的差分 and DNA片断长度的标准偏差之间的关系的图表。

[0035] 图11是例示装置外的温度差 and DNA片段长度的标准偏差之间的关系的图表。

### 具体实施方式

[0036] <实施方式1>

[0037] 图1是本发明的实施方式1的生物体试料分析装置100的结构图。生物体试料分析装置100是通过使生物体试料电泳来进行测量的装置。以下,作为生物体试料,对测量DNA分子片段长度的示例进行说明。

[0038] 生物体试料分析装置100包括检测部116、恒温槽118、传送机125、高压电源104、第一电流表105、第二电流表112、毛细管102、泵机构103。检测部116以光学方式检测样本。恒温槽118使毛细管102保持恒温。传送机125将各种容器传送到毛细管阴极端。高压电源104将高电压施加到毛细管102上。第一电流表105测量高压电源104所输出的电流。第二电流表112测量流过阳极侧电极111的电流。泵机构103将聚合物注入毛细管102中。

[0039] 毛细管102包括卡头129、检测部116和毛细管头133。当在毛细管102上出现破损或品质劣化时,当使用期限到期时,当使用次数用完时等,更换为新的毛细管102。

[0040] 毛细管102由内径数十至数百微米、外形数百微米的玻璃管构成,为了提高强度,在表面上涂覆有聚酰亚胺。但是,激光照射的光照射部的聚酰亚胺被膜被去除,使得内部发光容易泄漏到外部。毛细管102的内部填充有用于在电泳时提供电泳速度差的分离介质。分离介质包括流动性分离介质和非流动性分离介质,但是在本实施方式1中使用流动性聚合物。

[0041] 检测部116是毛细管102的一部分区域。当激发光从光源114照射到检测部116时,从样本产生具有依赖于样本的波长的荧光(下文中称为信息光),并将其发射到毛细管102外部。信息光通过衍射光栅132在波长方向上被分光。光学检测器115通过检测被分光后的信息光来分析样本。

[0042] 毛细管阴极端127分别通过金属制成的中空电极126被固定,毛细管前端从中空电极126突出0.5mm左右。安装在每个毛细管上所有的中空电极126一体地安装在卡头129上。所有的中空电极126与搭载在装置主体上的高压电源104导通,当电泳或样本导入等需要施加电压时,中空电极126作为阴极电极进行动作。

[0043] 与毛细管阴极端127相反一侧的毛细管端部(另一端部)通过毛细管头133捆绑成一个。毛细管头133能耐压密封地连接到块107。由高压电源104输出的高电压施加在卡头129和毛细管头133之间。注射器106从另一端部将新聚合物填充到毛细管内。为了提高测量的性能,在每次测量中实施在毛细管中填充聚合物的替换。

[0044] 泵机构103由注射器106和用于对注射器106进行加压的机构系统构成。块107是用于分别连通注射器106、毛细管102、阳极缓冲容器110、和聚合物容器109的连接构件。

[0045] 用于检测来自样本的信息光的光学检测部包括光源114、用于对检测部116内的发光进行检测的光学检测器115、衍射光栅132。当检测通过电泳被分离的毛细管中的样本时,通过光源114来照射毛细管的检测部116,通过衍射光栅132对来自检测部116的发光进行分光,光学检测器115对上述被分光后的信息光进行检测。

[0046] 为了使内部保持恒定温度,用隔热材料覆盖恒温槽118,由加热冷却机构120来控制温度。风扇119使恒温槽118内的空气循环和搅拌,从而将毛细管102的温度在位置上保持均匀且恒定。

[0047] 传送机125具有最多3个电动机和线性致动器,能够在上下、左右和深度方向的最多3个轴上移动。可以将至少一个以上容器放置在传送机125的移动台130上。移动台130包括电动手柄131,用户能通过手柄131抓住和释放各个容器。因此,缓冲容器121、清洗容器122、废液容器123和样本容器124能根据需要传送到毛细管阴极端127。不必要的容器保管在装置内的规定收纳位置。

[0048] 运算装置200从光学检测器115获取信息光的检测结果,通过分析该信息光的检测结果来生成后述的荧光强度波形,并实施计算测量对象物质的碱基长度等处理。在后面描述由运算装置200实施的处理的详细情况以及图1中所示的其他部件。以下,有时将向运算装置200提供测量结果的各个部件统称为“测量部”。例如,运算装置200可以由中央处理单元(Central Processing Unit)(CPU)等构成。

[0049] 图2是说明生物体试料分析装置100的动作步骤的流程图。在S201中,使作为分析对象的实际样本电泳。在S202中,根据通过电泳获取的光谱波形数据计算各个荧光色素的荧光强度。在S203中,从荧光强度的波形中检测峰值。此时,也可以实施假峰而导致位置计算(Size Call)处理。假峰而导致位置计算(Size Call)是指通过在得到的峰值时刻和尺寸标准的已知DNA片段长度之间实施映射,从而得到峰值时刻和DNA片段长度之间的对应关系的处理。在该步骤中可以使用后述的校准曲线。在S204中,将通过使等位基因分型标准物电泳从而获取到的参照数据与在S202至S203中获取到的荧光强度波形进行比较。在S205中,基于S204的比较结果来判定S202至S203中的测量数据的准确性。

[0050] 图3A是在S202中获取的实际样本数据中的荧光强度波形的示例。在这里,作为样本,使用了包含80bp(base pair:碱基对)的片段(橙色的荧光标记)作为尺寸标准,并且还包含性别判定用基因座即釉原蛋白(Amelogenin)的源自X染色体的片段(蓝色的荧光标记)的样本。在后面阐述的等位基因分型标准物中也含有与这两个相同的片段。等位基因分型标准物中的各个片段具有作为“基准试剂”的作用,该“基准试剂”作为用于量化实际样本内的生物体试剂的基准。在S204中,获取在荧光强度波形上出现的这两个峰值之间的差 $d_{31}$ 。

[0051] 图3B是参照数据中的荧光强度波形的示例。参照数据是记载通过使等位基因分型标准物电泳后获取到的与样本同样的荧光强度波形的数据。可以在参照数据中获取 $d_{31}$ 。DNA片断的迁移率从之前获取参照数据时开始发生变化的情况下,假设实际样本数据中的 $d_{31}$ 和参照数据中的 $d_{31}$ 之间产生了偏差。因此,在步骤S204至步骤S205中,通过检查 $d_{31}$ 的偏差是否收敛在阈值以内,能判定实际样本数据的准确性。

[0052] 为了提高S204至S205中的判定精度,期望能够尽可能准确地计算 $d_{31}$ 。由于尺寸标准提供了实际样本和等位基因分型标准物双方中的碱基长度的基准波形,因此希望将其作为基准。来源于X染色体的片段也是无论男女都会出现的,因此适合作为基准。因此,在图3A~3B中,使用这些计算 $d_{31}$ 。同样地,也可以使用适于作为计算 $d_{31}$ 的基准的其他片段峰值。

[0053] 由于荧光强度波形中,在测量对象物质通过检测部116时成为峰值,因此能将 $d_{31}$ 作为荧光强度波形上的峰值时刻之间的差分进行计算。或者,在每秒数据帧的数目被规定的情况下,还能使用数据帧数来代替时刻。另外,可以使用适当的数值,该适当的数值能确定荧光强度波形上的峰值位置。

[0054] 图4是例示 $d_{31}$ 的差分 and DNA片断长度的标准偏差之间的关系关系的图表。使用釉原蛋白(Amelogenin)的来源于X染色体的片段作为测定的试剂。在聚合物容易劣化的30°C环境下,通过相对于使等位基因分型标准物进行1次电泳,使实际样本进行14次电泳,从而计算 $d_{31}$ 。图4上的数据点与各测量次数相对应。

[0055] 荧光强度波形本身是记载光强度的数据,并非直接表示DNA片段长度。因此,需要用于从荧光强度波形中获取DNA片段长度,进而以图4的形式绘制实际样本和等位基因分型标准物之间的差分的步骤。以下说明获取图4的数据点的步骤。

[0056] 在测量实际样本的过程中,通过参照与尺寸标准对应的荧光强度波形峰值的帧时刻,从而能得到实际样本内所含的物质(包括测量对象)的荧光强度波形峰值与该荧光强度波形峰值相对应的碱基长度之间的对应关系(第一对应关系)。这是因为峰值的帧时刻与迁移率相对应,并且迁移率与DNA断片长度之间存在对应关系。运算装置200使用该对应关系生成校准曲线。该校准曲线也可以描述帧时刻和碱基长度之间的对应关系。针对等位基因分型标准物,同样也通过获取对应关系(第二对应关系)来生成校准曲线。

[0057] 运算装置200使用实际样本的荧光强度波形峰值和校准曲线来确定测量对象物质(这里是釉原蛋白(Amelogenin)的来源于X染色体的片段)的碱基长度。对于等位基因分型标准物中的相同测量对象物质,同样也确定碱基长度。由此,能对DNA样本进行量化(即确定碱基长度)。在这个量化过程中,能得到量化结果的实际样本的片段的碱基长度与等位基因分型标准物的片段的碱基长度的标准偏差(图4中的纵轴)。

[0058] 两个样本的碱基长度之间有时会产生差分。运算装置200还对当实际样本和等位基因分型标准物双方的碱基长度被确定时的 $d_{31}$ 的差分进行确定。通过将把这些碱基长度差和

$d_{31}$ 的差分绘制为数据点,能生成图4的图表。

[0059] 根据图4所示的图表,在该生物体试料分析装置100中,为了将实际样本的测量结果与等位基因分型标准物的测量结果的碱基长度标准偏差维持在0.15bp以下, $d_{31}$ 的差分需要在3帧以下。因此,例如,当 $d_{31}$ 的差分达到2帧以上时,为了提高数据准确性,运算装置200可以输出推荐使等位基因分型标准物再次电泳的警告(例如,画面上的消息显示,以下相同)。此外,当 $d_{31}$ 的差分为3帧以上时,运算装置200可以进行锁定,以便在通过重新测量等位基因分型标准物来重新获取基准值(例如,尺寸标准的帧时刻等)之前无法重新测量实际样本。因此,用户能在适当的定时重新测量等位基因分型标准物以保证数据的准确性,或者降低试剂成本。

[0060] 运算装置200可以在实际样本和等位基因分型标准物之间比较进行量化后的DNA片段长度来代替 $d_{31}$ 的差分。因为必定会发生通过校准曲线确定DNA片断长度的步骤。在这种情况下,如果实际样本和等位基因分型标准物之间的碱基长标准偏差达到0.15bp以上,则锁定测量部。

[0061] <实施方式1:总结>

[0062] 本实施方式1的生物体试料分析装置100通过比较第一测量数据(实际样本)和第二测量数据(等位基因分型标准物)之间的差分与阈值,来判定是否需要重新测量第二样本(等位基因分型标准物)。由此,捕捉由环境等引起的DNA片断的迁移率变化,能高精度地判定是否需要重新获取参照数据。

[0063] 本实施方式1的生物体试料分析装置100分别针对实际样本和等位基因分型标准物获取尺寸标准的荧光强度波形峰值和测量对象物质的荧光强度波形峰值之间的帧间距离 $d_{31}$ ,并将两个测量数据之间的 $d_{31}$ 的差分与阈值进行比较。为了确定DNA片段长度必须包含尺寸标准,因此适合作为计算 $d_{31}$ 差分的基准。也就是说,由于能够准确地计算出 $d_{31}$ 的差分,因此能够高精度地判定是否需要重新获取参照数据。

[0064] <实施方式2>

[0065] 在实施方式1中,使用了1个尺寸标准的荧光强度波形峰值和测量对象物质的荧光强度波形峰值之间的帧距离。在本发明的实施方式2中,说明将测量对象物质的荧光强度波形峰值与2个尺寸标准的荧光强度波形峰值进行比较的示例。由此来提高帧距离的精度。生物体试料分析装置100的结构与实施方式1相同。

[0066] 图5是实施方式2的实际样本数据中的荧光强度波形的示例。对于图5所示的示例,使用碱基长度80bp的片段和碱基长度100bp的片段(分别为橙色的荧光标记)作为尺寸标准。提供尺寸标准以外的峰值的片段在图5中作为控制峰值的片段(黄色的荧光标记)示出。作为控制峰值,选择用与尺寸标准不同的色素进行标记、且出现在两个尺寸标准峰值之间的峰值。

[0067] 运算装置200监视数据点数的分差 $d_{54}$ 和 $d_{55}$ ,并将其与阈值进行比较。如后述那样,可以将这些比值 $d_{55}/d_{54}$ (或 $d_{54}/d_{55}$ )与阈值进行比较,并且可以将 $d_{54}$ 和 $d_{55}$ 之间的差分(或差分的绝对值)与阈值进行比较。以下将对监视这些比值的示例进行说明。

[0068] 图6是表示聚合物在容易劣化的30°C环境下实施16次电泳时的 $d_{51}$ 、 $d_{52}$ 、 $d_{53}$ 的推移的图表。横轴为实施次数的编号(注入编号)。 $d_{51}$ 至 $d_{53}$ 对应于从测量开始时到检测到各个峰值的时刻的经过时间。

[0069] 图7是表示获取到图6的数据时 $d_{54}$ 和 $d_{55}$ 的推移的图表。根据图7可知,随着时间经过, $d_{54}$ 减少,与之相对地 $d_{55}$ 增加。这表示,随着聚合物发生劣化,以黄色进行荧光标记的片段相对于以橙色进行荧光标记的片段更快地移动。为了检测该偏差,运算装置200监视 $d_{55}/d_{54}$ 的值。

[0070] 图8是例示了 $d_{55}/d_{54}$ 的差分 and DNA片断长度的标准偏差之间的关系关系的图表。关于DNA片断长度标准偏差,可以用与图4中说明的方法相同的方法来求出。运算装置200能计算实际样本中的 $d_{55}/d_{54}$ 与等位基因分型标准物中的 $d_{55}/d_{54}$ 之间的差分,并能如图8所示那样绘制该差分与DNA片段长度标准偏差之间的关系。

[0071] 根据图8所示的图表,在该生物体试料分析装置100中,为了将实际样本的测量结果与等位基因分型标准物的测量结果的碱基长度标准偏差维持在0.15bp以下, $d_{55}/d_{54}$ 之间的差分需要在大约4%以下。因此,运算装置200也可以与实施方式1同样地,当 $d_{55}/d_{54}$ 的差分为3.5%以上时输出警报,当 $d_{55}/d_{54}$ 的差分为4.0%以上时对测定部施加锁定。由此,能够发挥与实施方式1同样的效果。

[0072] <实施方式3>

[0073] 在以上实施方式中,说明了样本中包括尺寸标准的峰值和其它片段峰值的示例。在本发明的实施方式3中,说明在不使用尺寸标准的片段峰值的情况下,判定是否需要重新测量等位基因分型标准物的示例。生物体试料分析装置100的结构与实施方式1~2相同。

[0074] 在本实施方式3中,在存在多个荧光强度波形峰值的样本中,将在447bp附近具有峰值的片段(红色的荧光标记)的碱基长度作为控制峰值进行监视。作为控制峰值,选择了用与尺寸标准不同的色素进行标记、且在电泳容易紊乱的检测范围内的长碱基侧出现的峰值。

[0075] 运算装置200计算实际样本中的控制峰值的碱基长度和等位基因分型标准物中的控制峰值的碱基长度之间的标准偏差。标准偏差的计算步骤与在实施方式1中说明的步骤相同。当该标准偏差例如达到0.14bp以上时,与实施方式1同样地,运算装置200输出推荐使用等位基因分型标准物再次电泳的警告,当该标准偏差达到0.15bp以上时,运算装置200对测量部施加锁定。由此,能够发挥与实施方式1同样的效果。另外,与实施方式1~2相比,由于要监视的片段峰值较少,因此能够简化判定是否需要重新测量等位基因分型标准物的步骤。

[0076] 如实施方式1所说明的那样,当运算装置200比较碱基长度时,使用帧时刻和校准曲线。因此,也可以使用实际样本和等位基因分型标准物之间的控制峰值时差,来代替对碱基长度本身进行比较。可以说这些步骤实质上是比较相同的测量结果(即碱基长度)。

[0077] <实施方式4>

[0078] 在上述实施方式中,说明了使用样本的荧光强度波形数据来判定是否需要重新测量等位基因分型标准物的示例。在本发明的实施方式4中,说明通过测量对DNA片段的迁移率造成影响的其他参数来代替荧光强度波形,从而判定是否需要重新测量等位基因分型标准物的示例。生物体试料分析装置100的结构与实施方式1~2相同。

[0079] 图9是例示当使样本在毛细管内电泳时第二电流表112测量的电流值的变动的图。第二电流表112测量在毛细管内流动的电流。可以认为,在毛细管内流动的电流对毛细管内的DNA片段的迁移率带来影响。因此,通过测量图9中的电流值 $I_1$ 或 $I_2$ ,判定从上次获取参照

数据后迁移率是否较大地变化(即是否需要重新测量等位基因分型标准物)。

[0080] 在图9中, $I_1$ 是毛细管内的样本电泳开始时的电流值。 $I_2$ 为电泳刚结束前的电流值。可以使用例如像这些电流值相对于经过时间的斜率那样的派生值。以下对使用 $I_2$ 的示例进行说明。

[0081] 图10是例示 $I_2$ 的差分 and DNA片断长度的标准偏差之间的关系的图表。在聚合物易劣化的30°C环境下实施16次电泳,获取第1次 $I_2$ 与第16次 $I_2$ 之间的变化量(为方便起见,称为 $I_{2\_var}$ )。另外,分别在实际样本和等位基因分型标准物上获取 $I_{2\_var}$ ,将实际样本和等位基因分型标准物之间的 $I_{2\_var}$ 之间的差分作为图10的横轴。纵轴与实施方式1~2相同,是实际样本和等位基因分型标准物之间的DNA片段长度差。每次获取到 $I_{2\_var}$ 的差分,就绘制一个图10的数据点。

[0082] 根据图10所示的图表,在该生物体试料分析装置100中,为了将实际样本的测量结果与等位基因分型标准物的测量结果的碱基长度标准偏差维持在0.15bp以下, $I_{2\_var}$ 的差分需要小于2.25 $\mu$ A。因此,运算装置200也可以与实施方式1同样地,当 $I_{2\_var}$ 的差分为2.0 $\mu$ A以上时输出警报,当 $I_{2\_var}$ 的差分为2.25 $\mu$ A以上时对测定部施加锁定。由此,能够发挥与实施方式1同样的效果。

[0083] 作为对DNA片段迁移率带来影响的参数,可以使用流过毛细管的电流值以外的参数。例如,作为测量这些参数的传感器,在图1中例示出了装置内传感器140、聚合物传感器141、缓冲液传感器142和装置外传感器143。装置内传感器140是用于获取生物体试料分析装置100内的环境信息的传感器,而装置外传感器143是用于获取生物体试料分析装置100外的环境信息的传感器。作为环境信息的示例,可例举温度、湿度、气压等。聚合物传感器141是用于获取关于聚合物品质的信息的传感器组,例如PH传感器或电传导率传感器。尽管聚合物传感器141在图1中示出了设置在聚合物容器209内的示例,但不限于该位置。缓冲液传感器142是用于获取与缓冲液的品质有关的信息的传感器组,作为示例有温度传感器。尽管缓冲液传感器142在图1中示出了设置在阳极缓冲容器110内的示例,但不限于该位置。此外,也可以设定在缓冲容器121内。聚合物和缓冲液的使用过次数、经过天数、批号、毛细管的使用过次数、经过天数、批号等耗材的相关信息等可以作为输入值。

[0084] 可以将多个对DNA的迁移率造成影响的上述参数组合使用,也可以与实施方式1~3所示的片段的帧位置的监视组合使用。

[0085] <实施方式5>

[0086] 在本发明的实施方式5中,说明将装置外传感器143测量的环境温度作为对DNA片段的迁移率造成影响的参数来进行测量的示例。生物体试料分析装置100的结构与实施方式1~2相同。

[0087] 图11是例示装置外的温度差和DNA片段长度的标准偏差之间的关系的图表。图11的横轴是在测量实际样本时由装置外传感器143测量到的温度与在测量等位基因分型标准物时由装置外传感器143测量到的温度之间的差分。纵轴是针对470bp的片段计算出的DNA片段长度标准偏差。在4台生物体试料分析装置100中实施同样的测量,并如图11所示那样绘制各测量结果。在20°C环境下使等位基因分型标准物电泳,分别在22°C、28°C、30°C环境下测量实际样本。

[0088] 根据图11所示的图表,在该生物体试料分析装置100中,为了将实际样本的测量结

果的碱基长度标准偏差维持在0.15bp以下,测量等位基因分型标准物时与测量实际样本时之间的温度差需要大致小于10°C。因此,运算装置200也可以与实施方式1同样地,当温度差为8°C以上时输出警报,当温度差为10°C以上时对测量部施加锁定。由此,能够发挥与实施方式1同样的效果。

[0089] <关于本发明的变形例>

[0090] 此外,本发明并非限定于上述的实施方式,还包含各种变形例。例如,上述的实施方式是为了便于理解地说明本发明而进行的详细说明,本发明不必限定于要包括所说明的所有结构。此外,可将某个实施方式的结构的一部分替换为其它实施方式的结构,此外,也可以在某个实施方式的结构中追加其它实施方式的结构。另外,也可以对各实施方式的一部分结构添加、删除、替换其他结构。

[0091] 在以上实施方式中,判定阈值(例如S205中的阈值、实施方式3中与差分进行比较的阈值等)可以是系统固定值,也可以是用户设定的值。阈值可以与应用、试剂类型、电泳参数等相关联地单独设定。电泳参数是电泳温度、电泳电压、升压速度等与电泳动作有关的参数。

[0092] 在实施方式1~3中,作为监视荧光强度波形峰值的片段,可以分别单个使用检测范围内的短碱基侧的片段、长碱基侧的片段和中间长度的片段,也可以是将多个上述片段组合。

[0093] 虽然在实施方式2中,将 $d_{55}/d_{54}$ 设为监视对象,但是可以将两个峰值间距离相减所得的值、将一个峰值间距离除以峰值间距离之和所得的值等的值作为监视对象。此外,作为监视对象的峰值可以全部用不同的荧光色素进行标记,也可以含有用相同荧光色素进行标记的片段。作为监视对象的峰值可以不是两个,例如可以监视四个以上的荧光强度波形峰值。例如,可以监视到与试剂盒中所含的荧光色素种类相同数量的峰值,也可以监视到该数量以上个数的峰值。

[0094] 在实施方式3中,作为监视对象的片段可以是容易被试剂盒干扰的碱基长度片段,或者与之相比位于长碱基侧、短碱基侧、两者之间的片段等。可以监视除了尺寸标准以外的两个以上的片段峰值。

[0095] 在实施方式1~3中,要监视的片段峰值的帧位置可以是特定片段的绝对位置(相当于从开始测量起的经过时间),也可以是由多个片段规定的相对位置(相当于测量对象物质的峰值时刻与其他物质的峰值时刻之间的差分)。所监视的片段峰值可以是三个以上。

[0096] 在实施方式1~3中,除了尺寸标准之外,所监视的片段还可以是不依赖于样本的峰值。例如,可以例举(a)所有样本中出现的等位基因的峰值,(b)为判定PCR反应的好坏而包含在试剂盒中的品质传感器等。此外,在PCR之前或之后,可以将荧光标记的寡核苷酸混合到样本中,并监视其峰值。

[0097] 在上述实施方式中,作为锁定测量部的方法,只要是使样本无法量化的方法,则可以使用任意方法。例如,可以考虑切断对光源的供电、切断用于电泳的电源、操作用软件的功能受到限制等。也可以使用其他适当的方法。

[0098] 在上述实施方式中,将等位基因分型标准物作为提供测量DNA片段长度的基准的基准样本来进行例示。本发明的对象并不限于此,只要能够提供作为用于量化生物体试料的基准的参照数据并与实际样本数据进行比较,就可以使用除等位基因分型标准物以外的

基准样本。

[0099] 在上述实施方式中,作为生物体试料的示例说明了测量DNA片段长度,但是本发明也可以适用于除此以外的生物体试料。也就是说,对于通过电泳来进行量化的生物体试料,可以将本发明应用于基于实际样本数据与参照数据(提供量化的基准的基准样本的测量结果)之间的差分来判定是否需要重新测量基准样本的情况。

[0100] 在以上的实施方式中,说明了监视 $d_{31}$ 等数值,使得DNA片段长度的标准偏差为例如0.15bp以下的示例。代替DNA片段长度的标准偏差,实际样本的DNA片段长度与等位基因分型标准物的DNA片段长度之间的差分可以为适当的阈值以下。即使在这种情况下,也可以获取与本发明相同的效果。监视的数值与以上实施方式相同。

[0101] 标号说明

[0102] 102毛细管

[0103] 103泵机构

[0104] 104高压电源

[0105] 105第一电流表

[0106] 106注射器

[0107] 107块

[0108] 109聚合物容器

[0109] 110阳极缓冲容器

[0110] 111阳极侧电极

[0111] 112第二电流表

[0112] 113电磁阀

[0113] 114光源

[0114] 115光学检测器

[0115] 116检测部

[0116] 118恒温槽

[0117] 119风扇

[0118] 120加热冷却机构

[0119] 121缓冲容器

[0120] 122清洗容器

[0121] 123废液容器

[0122] 124样本容器

[0123] 125传送机

[0124] 126中空电极

[0125] 127毛细管阴极端

[0126] 129卡头

[0127] 130移动台

[0128] 131手柄

[0129] 132衍射光栅

[0130] 133毛细管头

- [0131] 140 装置内传感器
- [0132] 141 聚合物传感器
- [0133] 142 缓冲液传感器
- [0134] 143 装置外传感器
- [0135] 200 运算装置。

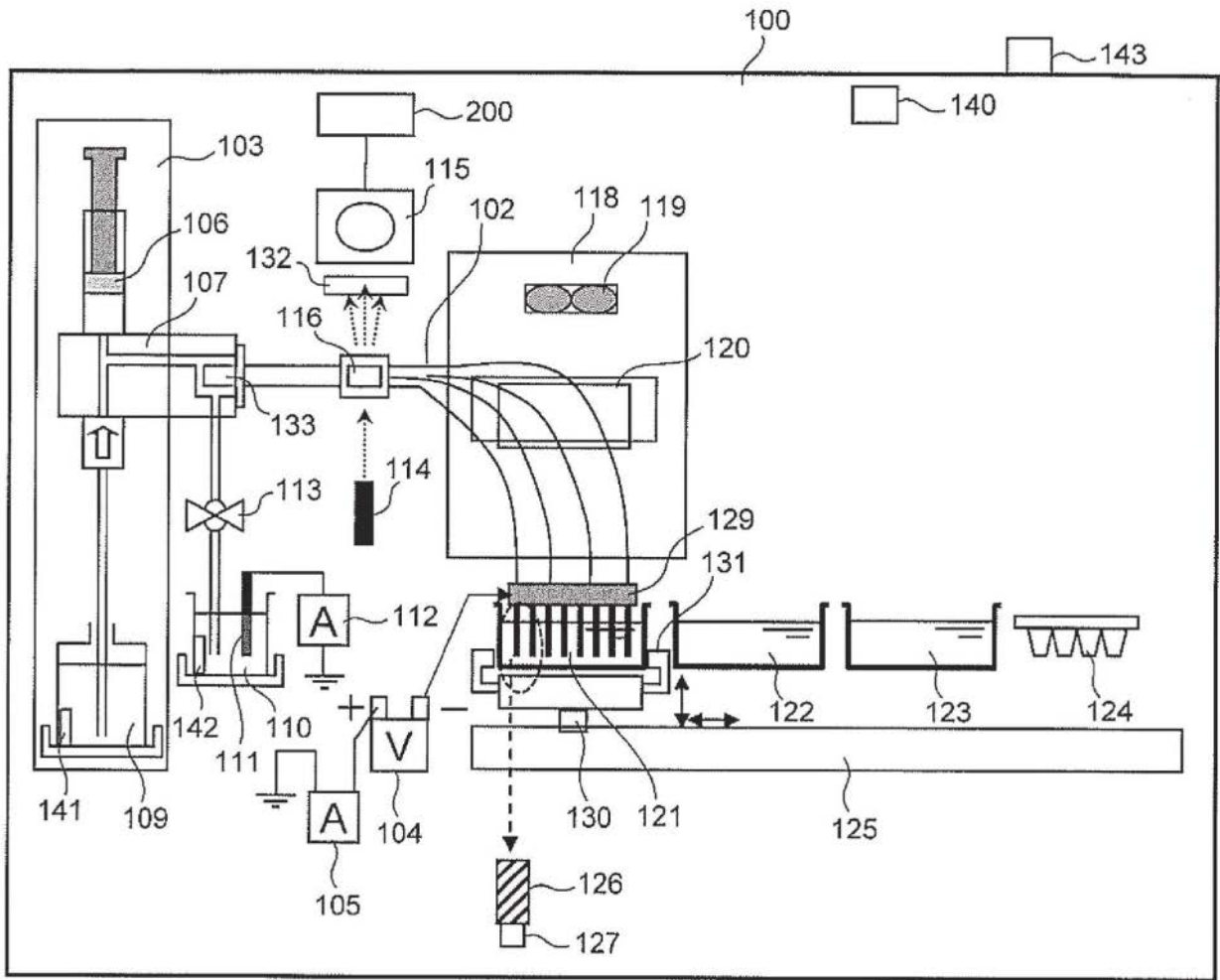


图1

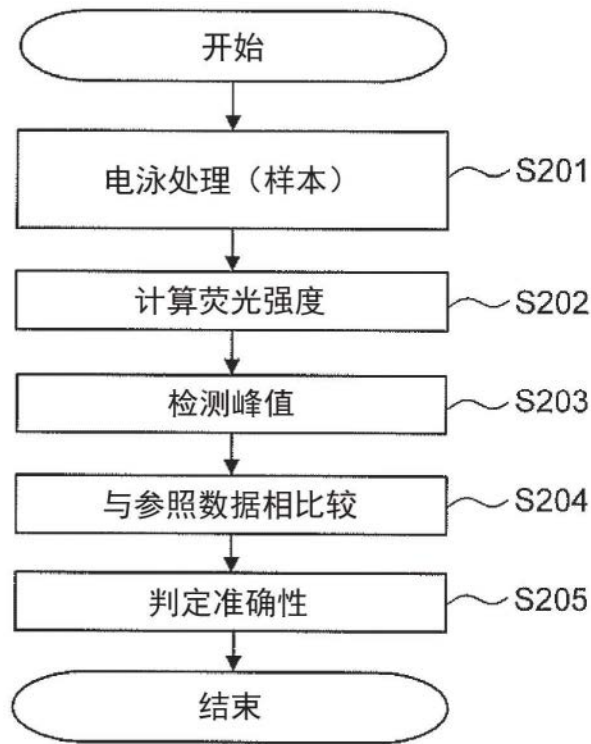


图2

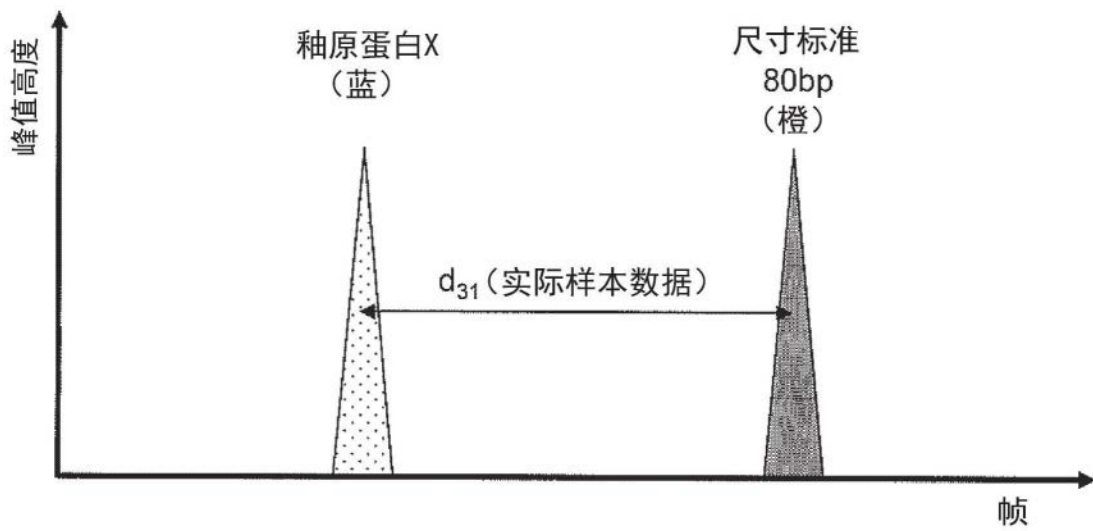


图3A

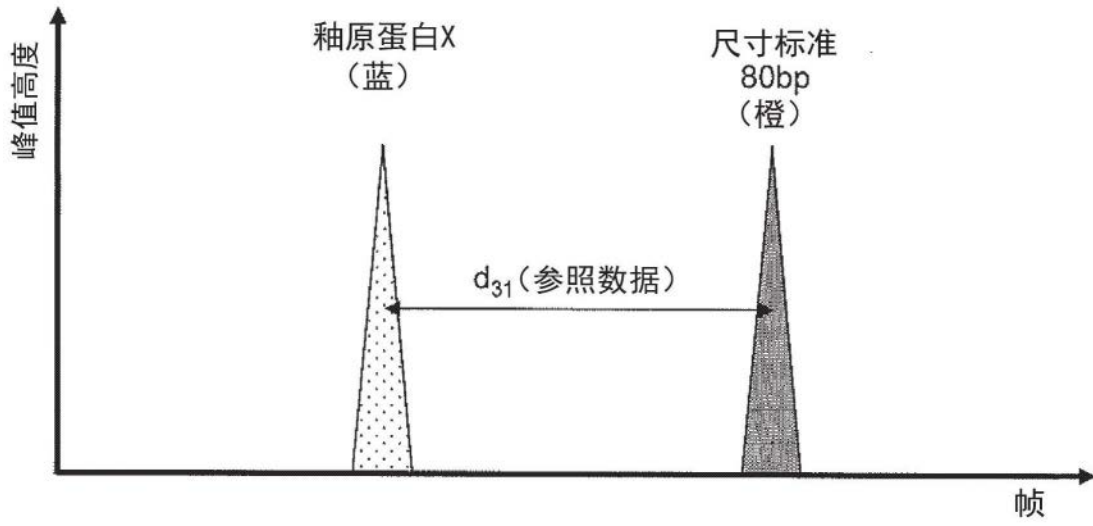


图3B

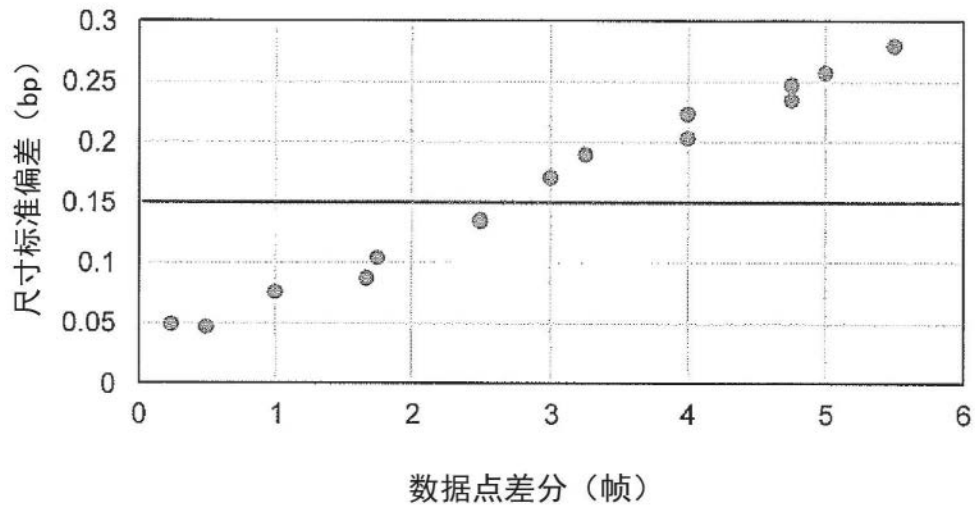


图4

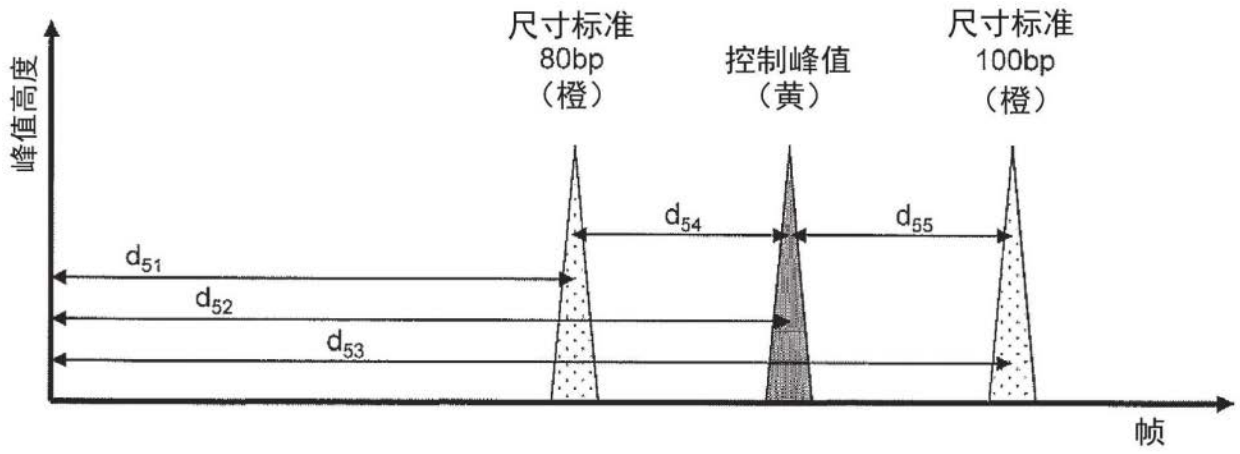


图5

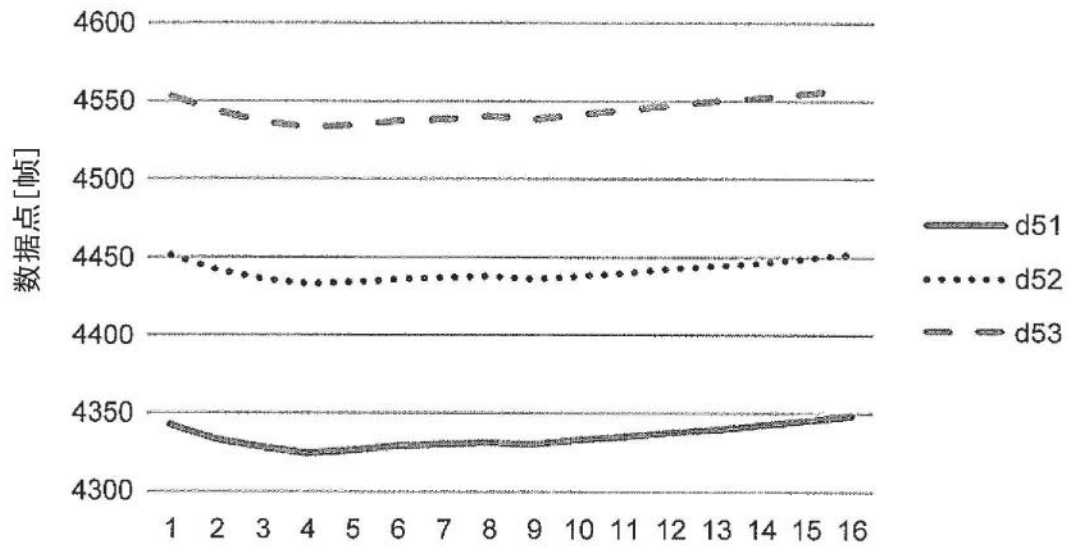


图6

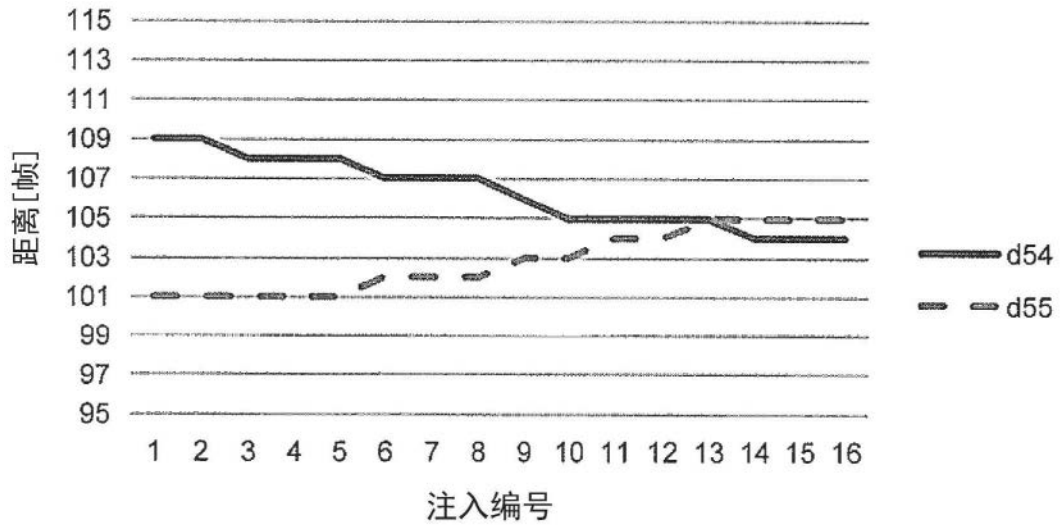


图7

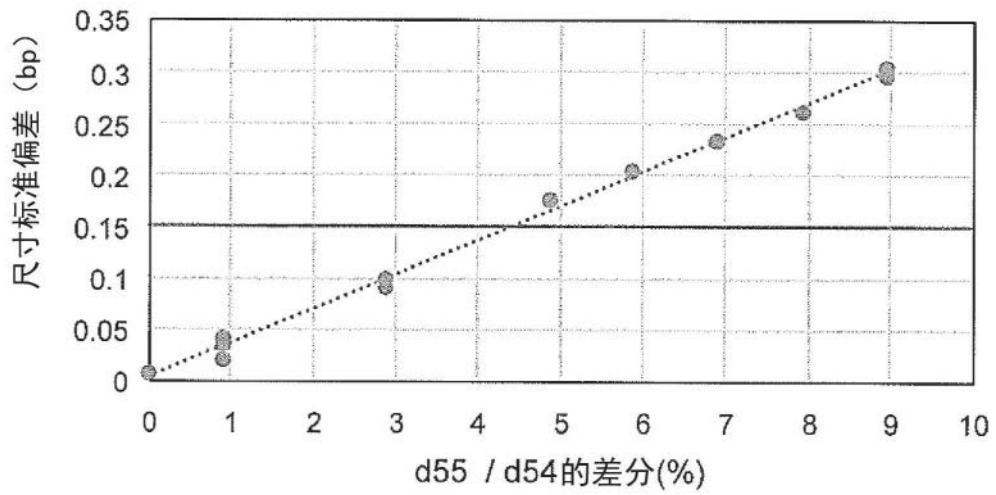


图8

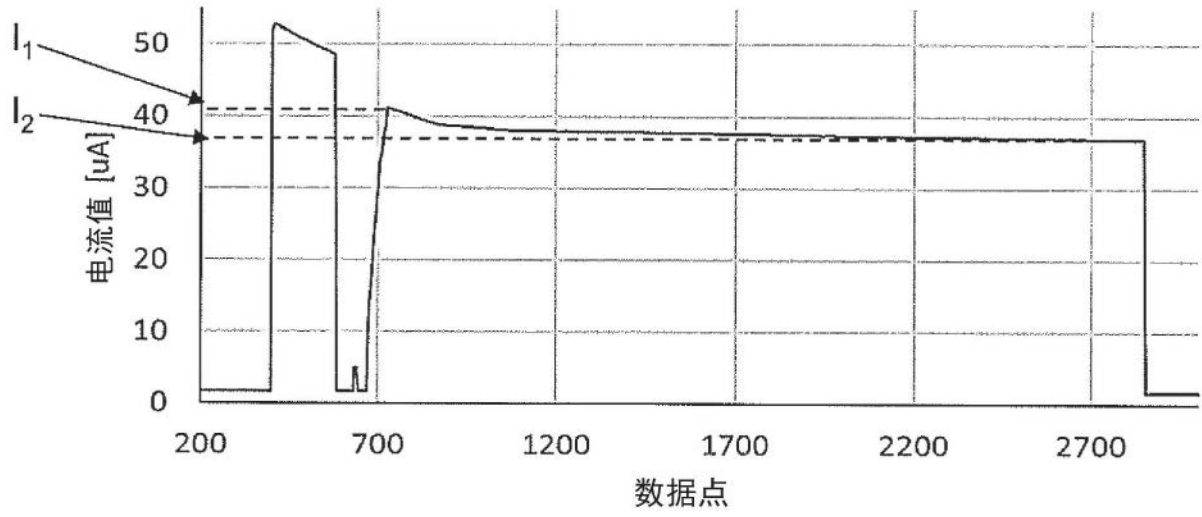


图9

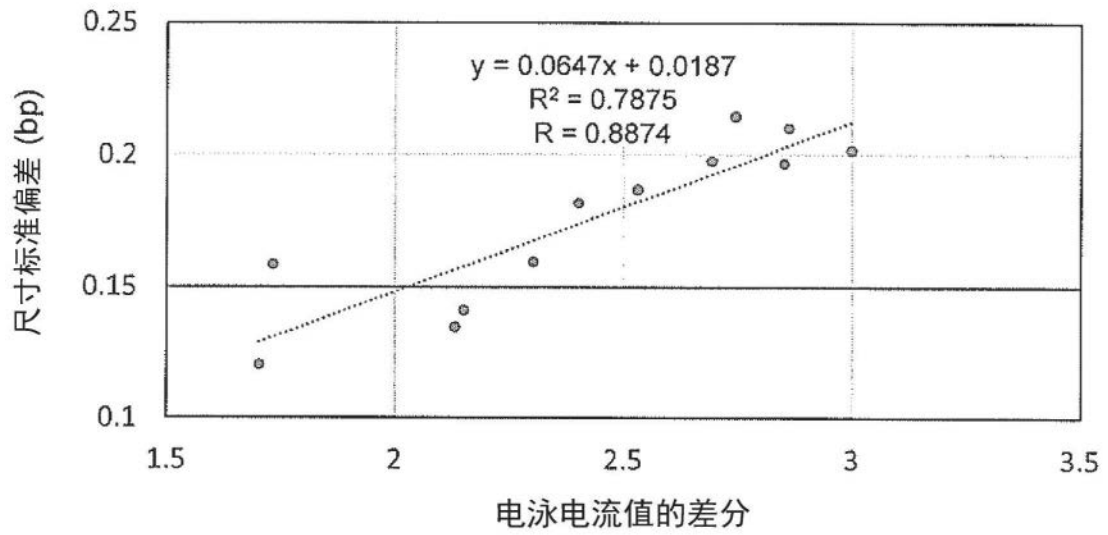


图10

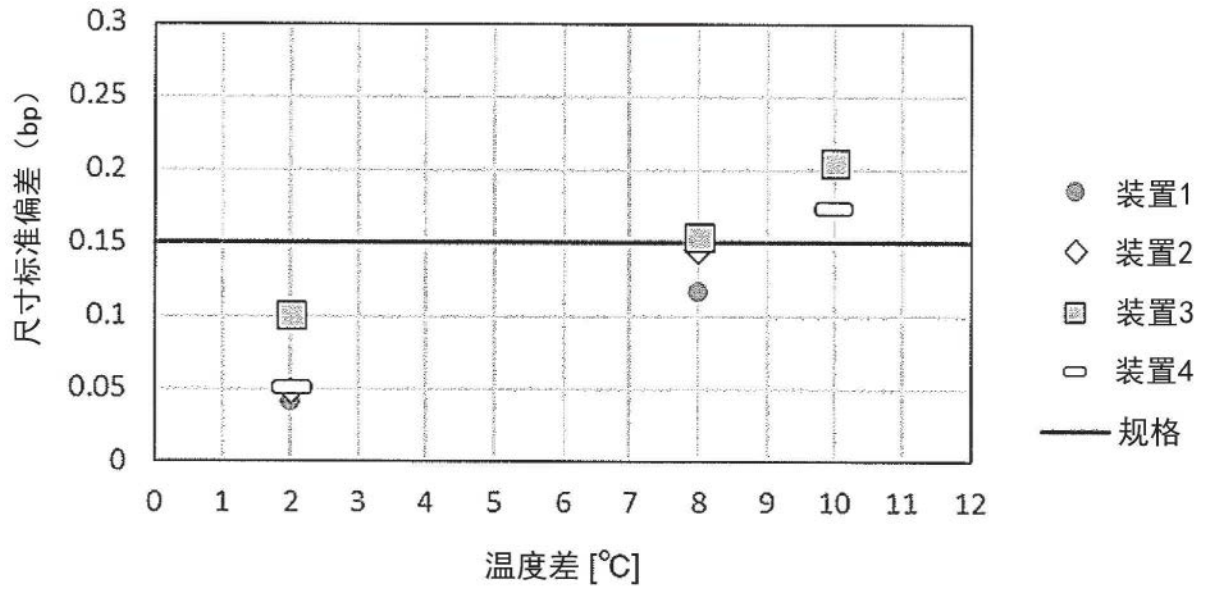


图11