



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112400106 B

(45) 授权公告日 2024. 12. 03

(21) 申请号 201980044608.5

(22) 申请日 2019.06.26

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112400106 A

(43) 申请公布日 2021.02.23

(30) 优先权数据
2018-129123 2018.07.06 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.12.30

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2019/025331 2019.06.26

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/008972 JA 2020.01.09

(73) 专利权人 光技光电集团日本分公司
地址 日本茨城县

(72) 发明人 小木秀也 福泽隆

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127
专利代理师 韩香花 崔成哲

(51) Int.Cl.
G01N 21/64 (2006.01)
G01N 21/05 (2006.01)
G01N 37/00 (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01)

(56) 对比文件
US 2015024401 A1, 2015.01.22
WO 2017119382 A1, 2017.07.13
WO 2017199933 A1, 2017.11.23
审查员 马丽斯文

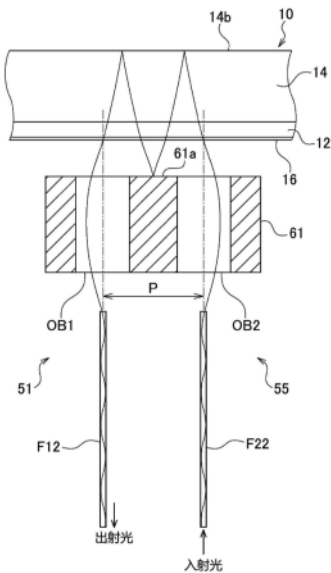
权利要求书2页 说明书13页 附图7页

(54) 发明名称

反应处理装置

(57) 摘要

反应处理装置包括:反应处理容器(10);具备使第1激发光照射样本并对从样本产生的第1荧光进行聚光的第1物镜(OB1)的第1光学头(51);具备使第2激发光照射样本并对从样本产生的第2荧光进行聚光的第2物镜(OB2)的第2光学头(55);以及保持第1光学头(51)及第2光学头(55)的保持构件(61)。第1荧光的波长范围和第2激发光的波长范围的至少一部分重叠。第1物镜OB1的光轴和第2物镜OB2的光轴之间的距离P满足 $2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P$ 、 $P_0 = L \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$ 、 $P_1 = t_1 \cdot NA / \sqrt{n_1^2 - NA^2}$ 、 $P_2 = t_2 \cdot NA / \sqrt{1 - NA^2}$ 、 $P_3 = t_3 \cdot NA / \sqrt{n_3^2 - NA^2}$ 。



1. 一种反应处理装置,其特征在于,包括:

反应处理容器,其具备在第1主表面形成有供样本移动的流路的基板,和密封所述流路地设于所述第1主表面上的流路密封薄膜,

第1光学头,其具备使第1激发光照射所述流路中的样本,并对通过所述第1激发光的照射而从样本产生的第1荧光进行聚光的第1物镜,

第2光学头,其具备使第2激发光照射所述流路中的样本,并对通过所述第2激发光的照射而从样本产生的第2荧光进行聚光的第2物镜,以及

保持构件,其保持所述第1光学头及所述第2光学头;

在所述反应处理装置中,

所述流路包含高温区域、低温区域、以及连接所述高温区域和所述低温区域的连接区域,

为了能够从通过所述流路的所述连接区域的样本检测荧光,所述第1光学头及所述第2光学头被沿形成所述连接区域的流路的方向并列配置,

所述第1荧光的波长范围和所述第2激发光的波长范围的至少一部分重叠,

所述保持构件具有与所述流路密封薄膜相对的面,

所述保持构件的所述相对的面与所述第1物镜和所述第2物镜的激发光出射侧端面处于同一平面,

所述第1物镜的光轴和所述第2物镜的光轴之间的距离P满足以下式:

$$2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P$$

$$P_0 = L \cdot NA / \sqrt{(1 - NA^2)}$$

$$P_1 = t_1 \cdot NA / \sqrt{(n_1^2 - NA^2)}$$

$$P_2 = t_2 \cdot NA / \sqrt{(1 - NA^2)}$$

$$P_3 = t_3 \cdot NA / \sqrt{(n_3^2 - NA^2)}$$

其中,L为从所述保持构件到所述流路密封薄膜的距离, t_1 为所述流路密封薄膜的厚度, t_2 为所述流路的深度, t_3 为从所述流路的底部到所述基板的第2主表面的厚度,NA为所述第1物镜及所述第2物镜的数值孔径, n_1 为所述流路密封薄膜的折射率, n_3 为所述基板的折射率。

2. 如权利要求1所述的反应处理装置,其特征在于,

所述距离P进而满足 $1.1 \times (2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3) \leq P$,且进而优选满足 $1.2 \times (2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3) \leq P$ 。

3. 如权利要求1所述的反应处理装置,其特征在于,

所述距离P满足 $P \leq S - 2 \times \Delta S$,其中,S为配置所述第1光学头及所述第2光学头的流路的直线部分的长度, ΔS 为1mm。

4. 如权利要求1至3的任意一项所述的反应处理装置,其特征在于,

在所述基板的所述流路的底部与所述第2主表面之间,包括吸收激发光的光吸收层。

5. 一种反应处理装置,其特征在于,包括:

反应处理容器,其具备在第1主表面形成有供样本移动的流路的基板,和密封所述流路地设于所述第1主表面上的流路密封薄膜,

第1光学头,其具备使第1激发光照射所述流路中的样本,并对通过所述第1激发光的照射而从样本产生的第1荧光进行聚光的第1物镜,

第2光学头,其具备使第2激发光照射所述流路中的样本,并对通过所述第2激发光的照射而从样本产生的第2荧光进行聚光的第2物镜,以及

保持构件,其保持所述第1光学头及所述第2光学头;

在所述反应处理装置中,

所述流路包含高温区域、低温区域、以及连接所述高温区域和所述低温区域的连接区域,

为了能够从通过所述流路的所述连接区域的样本检测荧光,所述第1光学头及所述第2光学头被沿形成所述连接区域的流路的方向并列配置,

所述第1荧光的波长范围和所述第2激发光的波长范围的至少一部分重叠,

所述保持构件具有与所述流路密封薄膜相对的面,

所述保持构件的所述相对的面与所述第1物镜和所述第2物镜的激发光出射侧端面处于同一平面,

所述基板设有吸收激发光的光吸收层。

6.如权利要求5所述的反应处理装置,其特征在于,

所述光吸收层被以满足吸收系数 α 为 $\alpha \geq 0.58/t_3'$ 的方式形成,其中, t_3' 为所述光吸收层的厚度。

7.如权利要求5所述的反应处理装置,其特征在于,

所述光吸收层被以满足吸收系数 α 为 $\alpha \geq 0.75/t_3'$ 的方式形成,其中, t_3' 为所述光吸收层的厚度。

8.如权利要求5所述的反应处理装置,其特征在于,

所述光吸收层被以满足吸收系数 α 为 $\alpha \geq 1.15/t_3'$ 的方式形成,其中, t_3' 为所述光吸收层的厚度。

9.如权利要求5至8中的任意一项所述的反应处理装置,其特征在于,

所述光吸收层被设于所述流路的底部与所述基板的第2主表面之间。

10.如权利要求5至8中的任意一项所述的反应处理装置,其特征在于,

所述光吸收层被设于所述基板的第2主表面上。

反应处理装置

技术领域

[0001] 本发明涉及被用于聚合酶链式反应(PCR:Polymerase Chain Reaction)的反应处理装置。

背景技术

[0002] 基因检查被广泛应用在各医学领域中的检查、农作物或病原性微生物的识别、食品的安全性评价、以及病原性病毒或各种感染症的检查中。为了高灵敏度地检测微小量的DNA,已知对将DNA的一部分进行扩增而得到的结果进行分析的方法。其中,使用了PCR的方法是对从活体等提取的极微量的DNA的某一部分选择性地扩增的受到瞩目的技术。

[0003] PCR是对将含有DNA的活体样本与由引物或酶等构成的PCR试剂混合而得到的样本施加预定的热循环,反复引起变性、退火和延伸反应,对DNA的特定部分选择性地进行的扩增的技术。

[0004] 在PCR中,一般是向PCR配管或形成有多个孔洞的微板(微孔)等反应处理容器中加入预定量的对象样本来进行的。但近年,使用具备在基板上形成有微细的流路的反应处理容器(也被称为芯片)来进行的技术已被实用化(例如专利文献1)。

[0005] 在先技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1:日本特开2009-232700号公报

发明内容

[0008] 发明要解决的课题

[0009] 在使用具备上述那样的流路的反应处理容器的PCR中,存在因检测样本的定量的变化等目的而使用荧光检测装置的情况。在样本中添加荧光色素,并在PCR的期间使用荧光检测装置向样本照射激发光,来检测从样本发出的荧光。由于随着DNA的扩增的进展而从样本发出的荧光的强度增加,能够将该荧光的强度值作为PCR的进展或反应的终端的判定材料的指标。

[0010] 在PCR中,根据扩增对象而使用混合有多种荧光色素的试剂的情况较多,在这种情况下需要设置多个荧光检测装置。特别是在一边使样本在形成于板状的反应处理容器内的流路中流动、一边检测来自样本的荧光那样的反应处理装置中,为了检测通过一条截面积例如为 2mm^2 以下的流路的样本的荧光,需要沿流路的延伸方向排列多个荧光检测装置。

[0011] 例如,在通过PCR使0-157扩增的情况下,需要同时测定VT1,VT2。例如东洋纺株式会社的检查套装(FIK-362)中,作为荧光色素使用ROX(为通过大致绿色光的照射被激发,并发出大致红色的荧光的荧光色素,以下将这样的荧光的特性称为“绿激发/红荧光”)、Cy5(红激发/红外荧光)。这种情况需要2个荧光检测装置。

[0012] 另外,在检测诺罗病毒的情况下,需要同时测定G1,G2,例如宝生物株式会社的检查套装(RR255A)及东洋纺株式会社的检查套装(FIK-253)中,作为荧光色素都使用了FAM

(蓝激发/绿荧光)、ROX(绿激发/红荧光)、Cy5(红激发/红外荧光)。这种情况需要3个荧光检测装置。

[0013] 在像这样使用多个荧光检测装置针对通过流路的样本进行荧光检测的情况下,有可能在荧光检测装置间产生干扰。以下举例来进行说明。

[0014] 在同时向样本添加FAM和ROX作为荧光色素使用的情况下,为激发ROX而照射的激发光的与大致绿色相当的光的波长范围,和从FAM发出的荧光的与大致绿色相当的光的波长范围的一部分存在重叠。该情况下,为激发ROX而照射的激发光的一部分若进入用于检测从FAM发出的荧光的光电转换元件等光检测器中,则成为干扰,有可能无法进行高灵敏度的测定。通常,激发光的光量为数十 μW ,而检测对象的荧光的光量为数 pW 以下的量级。因荧光检测装置被以能够检测这样的微弱光量的荧光的方式构成,所以即使仅有极少的一部分激发光到达该光检测器,也会呈现为较大的噪声。

[0015] 另外,在同时向样本添加ROX和Cy5作为荧光色素使用的情况下,为激发Cy5而照射的激发光的大致红色的光的波长范围,和从ROX发出的荧光的与大致红色相当的光的波长范围的一部分存在重叠。这种情况下,为激发Cy5而照射的激发光的一部分若进入到用于检测从ROX发出的荧光的光检测器中,也会成为噪声,有可能无法进行高灵敏度的荧光测定。

[0016] 本发明鉴于以上课题而完成,其目的在于提供一种在具备多个荧光检测装置的反应处理装置中,能够抑制荧光检测装置间的干扰的技术。

[0017] 用于解决技术课题的技术方案

[0018] 为解决上述课题,本发明的一种方案的反应处理装置包括:具备在第1主表面形成有供样本移动的流路的基板和密封流路地设于第1主表面上的流路密封薄膜的反应处理容器;具备使第1激发光照射流路中的样本并对通过第1激发光的照射而从样本产生的第1荧光进行聚光的第1物镜的第1光学头;具备使第2激发光照射流路中的样本并对通过第2激发光的照射而从样本产生的第2荧光进行聚光的第2物镜的第2光学头;以及保持第1光学头及第2光学头的保持构件。第1光学头及第2光学头被沿流路的长度方向并列配置,第1荧光的波长范围和第2激发光的波长范围的至少一部分重叠,第1物镜的光轴和第2物镜的光轴之间的距离 P 满足 $2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P$ 、 $P_0 = L \cdot \text{NA} / \sqrt{(1 - \text{NA}^2)}$ 、 $P_1 = t_1 \cdot \text{NA} / \sqrt{(n_1^2 - \text{NA}^2)}$ 、 $P_2 = t_2 \cdot \text{NA} / \sqrt{(1 - \text{NA}^2)}$ 、 $P_3 = t_3 \cdot \text{NA} / \sqrt{(n_3^2 - \text{NA}^2)}$ (其中, L 为从保持构件到流路密封薄膜的距离, t_1 为流路密封薄膜的厚度, t_2 为流路的深度, t_3 为从流路的底部到基板的第2主表面的厚度, NA 为第1物镜及第2物镜的数值孔径, n_1 为流路密封薄膜的折射率, n_3 为基板的折射率)。

[0019] 也可以是,距离 P 进而满足 $1.1 \times (2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3) \leq P$,且进而优选满足 $1.2 \times (2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3) \leq P$ 。

[0020] 也可以是,距离 P 满足 $P \leq S - 2 \times \Delta S$ (其中, S 为配置有第1光学头及第2光学头的流路的直线部分的长度, ΔS 为1mm)。

[0021] 也可以是,在位于基板的流路的底部与第2主表面之间,具备吸收激发光的光吸收层。

[0022] 本发明的另一方案也是反应处理装置。该装置包括:具备在第1主表面形成有供样本移动的流路的基板和密封流路地设于第1主表面上的流路密封薄膜的反应处理容器;具

备使第1激发光照射流路中的样本并对通过第1激发光的照射而从样本产生的第1荧光进行聚光的第1物镜的第1光学头;具备使第2激发光照射流路中的样本并对通过第2激发光的照射而从样本产生的第2荧光进行聚光的第2物镜的第2光学头;以及保持第1光学头及第2光学头的保持构件。第1光学头及第2光学头被沿流路的长度方向并列配置,第1荧光的波长范围和第2激发光的波长范围的至少一部分重叠,基板上设有吸收激发光的光吸收层。

[0023] 也可以是,光吸收层被以满足吸收系数 α 为 $\alpha \geq 0.58/t_3'$ (其中, t_3' 为上述光吸收层的厚度)的方式形成。

[0024] 也可以是,光吸收层被以满足吸收系数 α 为 $\alpha \geq 0.75/t_3'$ (其中, t_3' 为上述光吸收层的厚度)的方式形成。

[0025] 也可以是,光吸收层被以满足吸收系数 α 为 $\alpha \geq 1.15/t_3'$ (其中, t_3' 为上述光吸收层的厚度)的方式形成。

[0026] 也可以是,光吸收层被设于流路的底部与基板的第2主表面之间。也可以是,光吸收层被设于基板的第2主表面上。

[0027] 发明效果

[0028] 根据本发明,可以提供一种在具备多个荧光检测装置的反应处理装置中,能够抑制荧光检测装置间的干扰的技术。

附图说明

[0029] 图1的(a)及图1的(b)是用于说明在本发明的实施方式的反应处理装置中可以使用的反应处理容器的图。

[0030] 图2是用于说明本发明的实施方式的反应处理装置的示意图。

[0031] 图3是用于说明荧光检测装置的构成的图。

[0032] 图4是表示配置有第1荧光检测装置的第1光学头和第2荧光检测装置的第2光学头的状态的图。

[0033] 图5是表示光学仿真的模型的图。

[0034] 图6是用于说明2个光学头的中心距的导出的图。

[0035] 图7是表示在本发明的实施例1中改变了2个光学头的中心距时的相对噪声量的变化的图。

[0036] 图8是表示在本发明的实施例2中改变了2个光学头的中心距时的相对噪声量的变化的图。

具体实施方式

[0037] 以下,说明本发明的实施方式的反应处理装置。对各附图中所示的相同或同等的构成要素、构件、处理标注相同的附图标记,并适当省略重叠的说明。另外,实施方式并非限定发明而是示例,并非实施方式所述的所有特征或其组合都一定是发明的本质内容。

[0038] 图1的(a)及图1的(b)是用于说明在本发明的实施方式的反应处理装置中可以使用的反应处理容器10的图。图1的(a)是反应处理容器10的俯视图,图1的(b)是反应处理容器10的主视图。

[0039] 如图1的(a)及图1的(b)所示那样,反应处理容器10由基板14和流路密封薄膜16组

成。

[0040] 基板14优选由针对温度变化较稳定,且不易被所使用的样本溶液侵入的材质形成。更进一步,基板14优选由成形性好、透明性和屏障性良好、并且具有较低的自身荧光性的材质形成。作为这样的材质,有玻璃、硅(Si)等无机材料,以及丙烯酸、聚酯、硅酮等树脂,其中环烯烃聚合物树脂为优选。基板14的尺寸的一个示例为长边75mm,短边25mm,厚度4mm。

[0041] 基板14的第1主表面14a上形成有槽状的流路12,该流路12被流路密封薄膜16密封。形成于基板14的第1主表面14a的流路12的尺寸的一个示例为宽度0.7mm、深度0.7mm。在基板14的流路12的一端的位置形成有与外部联通的第1连通口17。在基板14的流路12的另一端的位置上形成有第2连通口18。形成于流路12的两端的一对第1连通口17和第2连通口18被以在基板14的第2主表面14b(与第1主表面14a为相对侧的面)上露出的方式形成。这样的基板能够利用注射成型或NC加工机等通过切削加工来制作。

[0042] 如图1的(b)所示那样,基板14的第1主表面14a上被贴有流路密封薄膜16。在实施方式的处理容器10中,流路12的大部分被形成为在基板14的第1主表面14a上露出的槽状。这是因为,能够通过利用了金属模具等的注射成型而容易地成形。为了将该槽密封而作为流路使用,基板14的第1主表面14a上粘贴有流路密封薄膜16。

[0043] 流路密封薄膜16可以是一个主表面具有粘合性或接合性,也可以在一个主表面形成有通过按压或紫外线等光焦度照射、加热等来发挥粘合性或接合性的功能层,具备能够容易地与基板14的第1主表面14a紧贴并一体化的功能。流路密封薄膜16优选由包括粘合剂在内都具有较低的自身荧光性的材质形成。在这点上,由环烯烃聚合物、聚酯、聚丙烯、聚乙烯或丙烯酸等树脂构成的透明薄膜适用,但并不限于这些。另外,流路密封薄膜16也可以由板状的玻璃或树脂形成。在这种情况下,由于能够期待刚性,所以有助于防止反应容器10的翘曲或变形。

[0044] 流路12包括能够通过后述的反应处理装置控制多个水准的温度的反应区域。通过使样本在被维持多个水准的温度的反应区域连续往复地移动,能够对样本施加热循环。

[0045] 图1的(a)及图1的(b)所示的流路12的反应区域,包含组合了曲线部与直线部的连续折返的蜿蜒状的流路。在反应容器10被安装于后述的反应处理装置时,预定流路12的纸面右侧为较高温(约95℃)的区域(以下,称为“高温区域”),流路12的左侧为比其低温(约60℃)的区域(以下,称为“低温区域”)。另外流路12的反应区域包含在高温区域和低温区域之间连接二者的连接区域。该连接区域可以为直线状的流路。

[0046] 在像本实施方式这样将高温区域及低温区域设为蜿蜒状的流路的情况下,能够有效地使用构成后述的温度控制装置的加热器等的有效面积,易于减少反应区域内的温度的偏差,同时能够缩小反应处理容器的实体的大小,具有能够使反应处理装置缩小的优点。

[0047] 供于热循环的样本被从第1连通口17及第2连通口18的任意一者导入流路12。导入的方法并不被限于此,例如也可以用移液管或滴定管、注射器等从该连通口直接导入适量的样本。或者,也可以是,介由内置有多孔的PTFE或聚乙烯组成的过滤器的圆锥形的针尖来防止污染的导入方法。这样的针尖一般有许多种类的在销售且能够容易地获得,可以安装在移液管或滴定管、注射器等的尖端来使用。进而,也可以是,利用移液管或滴定管、注射器等进行样本的排出、导入后,通过进一步地加压推动而使样本移动到流路的预定位置。

[0048] 作为样本,可例举向包含一或二种以上的DNA的混合物中,添加了作为PCR试剂的

荧光探针、耐热性酶以及脱氧核苷三磷酸(dATP、dCTP、dGTP、dTTP)的样本。进而,混合与反应处理对象的DNA产生特异反应的引物,进而根据情况混合TaqMan等荧光探针(TaqMan/TaqMan是罗氏诊断产品的注册商标)。也可以使用市售的实时PCR用试剂套装等。

[0049] 图2是用于说明本发明的实施方式的反应处理装置30的示意图。

[0050] 本实施方式的反应处理装置30包括载置有反应处理容器10的反应处理容器载置部(未图示)、温度控制系统32以及CPU36。温度控制系统32如图2所示那样,针对被载置于反应处理容器载置部的反应处理容器10,被构成为能够高精度地将反应处理容器10的流路12的纸面右侧的区域维持并控制在约95℃(高温区域),将纸面左侧的区域维持并控制在约60℃(低温区域)的方式。

[0051] 温度控制系统32是维持反应区域的各温度区域的温度的,具体地说,包括:用于加热流路12的高温区域的高温用加热器60,用于加热流路12的低温区域的低温用加热器62,用于测量各温度区域的实际温度的例如热电偶等的温度传感器(未图示),控制高温用加热器60的温度的高温用加热器驱动器33,以及控制低温用加热器62的温度的低温用加热器驱动器35。通过温度传感器被测量到的实际温度信息被发送到CPU36。CPU36基于各温度区域的实际温度信息,控制各加热器驱动器以使各加热器的温度达到预定的温度。各加热器例如可为电阻加热元件或帕尔贴元件等。温度控制系统32进而也可以包括用于使各温度区域的温度控制性提高的其他要素部件。

[0052] 本实施方式的反应处理装置30进而包括用于使被导入到反应处理容器10的流路12内的样本20在流路12内移动的送液系统37。送液系统37包括:第1泵39,第2泵40,用于驱动第1泵39的第1泵驱动器41,用于驱动第2泵40的第2泵驱动器42,第1配管43,以及第2配管44。

[0053] 反应处理容器10的第1连通口17连接有第1配管43的一端。优选在第1连通口17和第1配管43的一端的连接部上配置有用于确保气密性的密封件45或密封圈。第1配管43的另一端与第1泵39的输出相连接。同样,反应处理容器10的第2连通口18连接有第2配管44的一端。优选在第2连通口18和第2配管44的一端的连接部上配置有用于确保气密性的密封件46或密封圈。第2配管44的另一端与第2泵40的输出相连接。

[0054] 第1泵39、第2泵40例如可以是由隔膜泵组成的微型增压泵。作为第1泵39、第2泵40,例如可以使用株式会社村田制作所制造的微型增压泵(型号MZB1001T02)等。该微型增压泵在动作时能够使次级侧的压力比初级侧升高,但在停止的瞬间或停止时初级侧和次级侧的压力变得相等。

[0055] CPU36介由第1泵驱动器41、第2泵驱动器42控制来自第1泵39、第2泵40的送风或加压。来自第1泵39、第2泵40的送风或加压通过第1连通口17、第2连通口18作用于流路内的样本20,成为推进力使样本20移动。更详细地说,通过使第1泵39、第2泵40交替动作,因施加到样本20的某一个端面的压力比施加到另一端面的压力大,所以能得到使样本20移动的推进力。通过使第1泵39、第2泵40交替动作,使样本20在流路内往复式地移动,并能够停止在反应处理容器10的流路12内的各温度区域,其结果,能够对样本20施加热循环。更具体地说,通过重叠施加在高温区域变性、在低温区域退火和延伸的各工序,使样本20种的目标DNA选择性地扩增。换言之,可以将高温区域看作变形温度域,将低温区域看作退火・延伸温度域。另外在各温度区域滞留的时间可以通过改变样本20在各温度区域的预定位置停止的时

间来适当设定。

[0056] 本实施方式的反应处理装置30进而包括第1荧光检测装置50及第2荧光检测装置54。如上述的那样,样本20中添加有预定的荧光色素。由于随着DNA的扩增的进展,从样本20发出的荧光信号的强度增加,能够将该荧光信号的强度值作为PCR的进度或反应的终端的判定材料的指标。

[0057] 作为第1荧光检测器50及第2荧光检测器54,可以使用日本板硝子株式会社制造的光纤型荧光检测器FLE-510,其是非常紧凑的光学系统,能够迅速地进行测定,并且不论在明亮的场所或黑暗的场所都能检测荧光。该光纤型荧光检测器能够将其激发光/荧光的波长特性事先调谐为适合样本20所发出的荧光特性,能够对具有各种特性的样本提供最合适的光学检测系统,进而由于光纤型荧光检测器带来的光线直径的细小度,适合用于检测来自存在于流路等较小或较细的区域中的样本的荧光。

[0058] 第1荧光检测装置50包括:第1光学头51、第1荧光检测用激发光源/检测器模块52、以及连接第1光学头51和第1荧光检测用激发光源/检测器模块52的光纤F12。同样,第2荧光检测装置54包括:第2光学头55、第2荧光检测用激发光源/检测器模块56、以及连接第2光学头55和第2荧光检测用激发光源/检测器模块56的光纤F22。

[0059] 第1荧光检测用激发光源/检测器模块52、第2荧光检测用激发光源/检测器模块56中分别包含激发光用光源、波分复用器、荧光检测器、以及用于控制它们的驱动器等。第1光学头51、第2光学头55分别由透镜等光学系统组成,承担激发光对样本的指向性照射和样本发出的荧光的聚光的功能。被第1光学头51、第2光学头55聚光的荧光分别通过光纤F12、F22而被第1荧光检测用激发光源/检测器模块52、第2荧光检测用激发光源/检测器模块56内的波分复用器与激发光分开,被荧光检测器转换为电信号。荧光检测装置的构成的详细后述。

[0060] 在本实施方式的反应处理装置30中,第1光学头51被以能够从通过连接高温区域与低温区域的连接区域内的一部分区域12a(称为“第1荧光检测区域12a”)的样本20检测荧光的方式配置。另外,第2光学头55被以能够从通过连接区域内的另一部分区域12b(称为“第1荧光检测区域12b”)的样本20检测荧光的方式配置。由于通过使样本20在流路内重叠往复移动从而反应进展,样本20所包含的预定的DNA进行扩增,通过监控检测到的荧光的量的变动,能够实时地了解DNA扩增的进度。

[0061] 图3是用于说明荧光监测装置的构成的图。图3中说明第1荧光检测装置50的构成,但第2荧光检测装置54除了带通滤波器的中心波长不同这点以外也是相同构成。

[0062] 如图3所示那样,第1荧光检测装置50包括:第1光学头51、第1荧光检测用激发光源/检测器模块52、以及连接第1光学头51和第1荧光检测用激发光源/检测器模块52的光纤F12。第1荧光检测用激发光源/检测器模块52包括:第1激发光源64、第1波分复用器65、以及第1荧光检测器66,这些功能性要素被由光纤连接,激发光及荧光在光纤内传播。

[0063] 在第1激发光源64的附近,带通滤波器A1被以透射第1激发光源64出射的激发光的方式配置。第1波分复用器65具有带通滤波器B1。在第1荧光检测器66的附近,带通滤波器C1被以透射入射到第1荧光检测器66的荧光的方式配置。这些带通滤波器的波长特性例如被根据FAM等荧光色素的激发/荧光相关的波长特性来设计。带通滤波器分别具有使特定的波长范围的光高效率地透射(例如透射率75%以上),并使其以外的波长的光高效率地反射(例如反射率75%以上;优选85%以上)的分光功能。

[0064] 在本实施方式中,第1荧光检测装置50被构成为能够检测含有FAM作为荧光色素的样品的荧光。

[0065] 第1激发光源64只要是之后能够对目标波长的光进行分光的光源即可,不特别限定,例如可以使用LD或LED、白色光源等。从第1激发光源64出射的激发光被带通滤波器A1分光,仅使中心波长为约470nm的预定范围的波长的光(以下称为“激发光OE1”) 在光纤F11内传播。

[0066] 激发光OE1入射到第1波分复用器65,被由透镜L1校准后到达带通滤波器B1。由于通滤波器B1被以反射激发光OE1的方式设计,激发光OE1被透镜L1再次聚光,并入射到光纤F12。激发光OE1在光纤F12内传播,到达第1光学头51。第1光学头51中具备第1物镜OB1,使激发光OE1按预定的工作距离作为激发光而照射样本20。图3中表示作为第1物镜OB1使用折射率分布型透镜的示例。

[0067] 若激发光OE1照射到样本20,则样本20内的荧光色素被激发,从样本20出射荧光OF1。荧光OF1被由第1光学头51的第一物镜OB1聚光并入射到光纤F12,在光纤F12内传播。荧光OF1入射到第1波分复用器65,被由透镜L1校准后到达带通滤波器B1。

[0068] 一般,通过激发光的照射而产生的荧光的波长比激发光的波长更长。即若将激发光的中心波长设为 λ_e 、将荧光的中心波长设为 λ_f ,则 $\lambda_e < \lambda_f$ 。因此,为仅将荧光OF1导入第1荧光检测器66,作为带通滤波器B1,使用具有使波长 λ_e 的光反射、使波长 λ_f 的光透射那样的光谱特性的设备。带通滤波器B1被以透射荧光OF1中与激发光OE1的波长不重叠的范围的波长的光的方式设计。通过带通滤波器B1后的荧光OF1被透镜L2聚光并入射到光纤F13。另外,由于带通滤波器B1具有使激发光反射并使荧光透射的功能,可以使用与其中心波长相对应,能够使包含 λ_e 的波长范围的光反射并使包含 λ_f 的波长范围的光透射的边缘滤波器(edge filter)来代替带通滤波器。

[0069] 在光纤F13内传播的荧光OF1到达第1荧光检测器66。为严密地调整波长域,荧光OF1也可以在入射到第1荧光检测器66前通过带通滤波器C1。第1荧光检测器66中仅入射通过了带通滤波器B1和C1的、中心波长为约530nm的预定范围的波长的光。第1荧光检测器66例如为PD或APD、光电倍增管等光电转换元件。通过第1荧光检测器66被转换为电信号的信号,被进行后述的信号处理。

[0070] 在图3所示的第1荧光检测装置50中,各要素也可以包含用于使光高效地传送或结合、使带通滤波器的利用效率提高的透镜。作为透镜可以使用折射率分布型透镜、球透镜或非球面透镜等。另外,在图3所示的第1荧光检测装置50中,光纤F11、F12及F13可以使用单模光纤或多模光纤等。

[0071] 如上述那样构成的第1荧光检测装置50将中心波长为470nm且波长范围为约450~490nm的光作为第1激发光OE1照射到样本,并检测从样本发出的、中心波长为530nm且波长范围为约510~550nm的第1荧光OF1。本领域技术人员应能够理解,波长相关的特性如上述那样根据各带通滤波器的透射或反射特性的组合而被决定,它们可以变更或定制。

[0072] 另一方面,在本实施方式中,第2荧光检测装置54被构成为能够检测含有ROX作为荧光色素的样本的荧光。第2荧光检测装置54使中心波长为530nm且波长范围为约510~550nm的光作为第2激发光OE2照射到样本,并检测中心波长为610nm且波长范围为约580~640nm的第2荧光OF2。

[0073] 图4表示第1荧光检测装置50的第1光学头51和第2荧光检测装置54的第2光学头55被配置的状态。第1光学头51被以能够检测通过流路12的第1荧光检测区域12a的样本20的荧光的方式配置。第2光学头55被以能够检测从流路12的第2荧光检测区域12b通过的样本20的荧光的方式配置。第1光学头51及第2光学头55被保持构件(图4中未图示、参照图5)保持。

[0074] 如图4所示那样,第1光学头51使在光纤F12内传播的第1激发光OE1由第1物镜OB1聚光并照射到通过第1荧光检测区域12a的样本20,使从样本20发出的第1荧光OF1由第1物镜OB1聚光并入射到光纤F12。同样,第2光学头55使在光纤F22内传播的第2激发光OE2由第2物镜OB2聚光并照射到通过第2荧光检测区域12b的样本20,使从样本20发出的第2荧光OF2由第2物镜OB2聚光并入射到光纤F22。

[0075] 作为第1物镜OB1、第2物镜OB2,可以使用光焦度为正的透镜或透镜组,例如为折射率分布型透镜的SELFOC(注册商标)微透镜。第1物镜OB1、第2物镜OB2例如可以使用直径为1.8mm、数值孔径(NA)为0.23、工作距离(WD)为1mm~3mm的物镜。

[0076] 在本实施方式中,第1荧光检测装置50的第1激发光源通过第1调制信号被调制并闪烁发光。同样,第2荧光检测装置54的第2激发光源通过第2调制信号被调制并闪烁发光。

[0077] 在本实施方式中,第1光学头51及第2光学头55被沿流路的长度方向并列配置,以检测通过一条流路12的样本20。如上述那样,第1荧光检测装置50照射中心波长为470nm且波长范围为约450~490nm的第1激发光OE1,并检测中心波长为530nm且波长范围为约510~550nm的第1荧光OF1。另外,第2荧光检测装置54照射中心波长为530nm且波长范围为约510~550nm的第2激发光OE2,并检测中心波长为610nm且波长范围为约580~640nm的第2荧光OF2。因此,第2激发光OE2的波长范围(约510~550nm)和第1荧光OF1的波长范围(约510~550nm)重叠。在此情况下,若第2光学头55照射的第2激发光OE2的一部分被第1光学头51检测到,则该第2激发光OE2有可能不被第1光学头51的后级的带通滤波器B1、C1除去,到达第1荧光检测器66。该第2激发光OE2在第1荧光检测器66中为噪声,有可能无法检测出本来应检测的第1荧光OF1。

[0078] 若将第1光学头51和第2光学头55充分地分开配置则不会产生这样的问题,但这种情况下反应处理装置30的尺寸会大型化。本发明人为解决这样的矛盾的课题,通过光学仿真解析了在2个光学头并列配置的情况下,从一者的光学头照射的激发光会作为噪声而进入到另一者的光学头的现象。

[0079] 图5是表示光学仿真的模型的图。在本光学仿真中,第1物镜OB1及第2物镜OB2为直径1.8mm、中心折射率1.616(@530nm)、 $\sqrt{A}$ (光学常数) 0.346mm^{-1} (@530nm)、透镜长度4.45mm的折射率分布型透镜。光纤F12、F22为芯径200 μm 、包层直径220 μm 、NA0.3的多模光纤。物镜和多模光纤之间的工作距离设为1.8mm。

[0080] 另外如图5所示,第1物镜OB1及第2物镜OB2被不锈钢制的保持构件61保持。将第1物镜OB1的光轴与第2物镜OB2的光轴之间的距离称为“中心距P”。第1物镜OB1、第2物镜OB2的侧面介由厚度10 μm 的环氧树脂粘合剂层而被固定于保持构件61。另外,保持构件61的上表面61a,与第1物镜OB1、第2物镜OB2的激发光出射侧端面处于同一平面。

[0081] 关于反应处理容器10,作为基板14使用厚度4mm的环烯烃聚合物制基板(折射率1.53)。基板14的下表面上形成有宽度0.7mm、深度0.7mm的剖面正方形的流路12,流路12的

下表面由厚度0.1mm的流路密封薄膜16(环烯烃聚合物制,折射率1.53)密封。在本光学仿真中,采用了在流路12中,流路为空的情况下存在折射率1的物质(与空气对应),流路中有样本的情况下存在折射率1.333的物质(与水对应)的模型。

[0082] 物镜与样本之间的距离以等倍成像系统的工作距离1.8mm(和物镜与多模光纤之间的工作距离一致)为基准,仅对光路中因流路密封薄膜16的存在而造成的成像位置的偏移量进行修正(使其远离),以使流路12的下表面(流路密封薄膜16的上表面)成为成像位置。

[0083] 构成以上这样的模型,在使光入射到光纤F22的与第2物镜OB2相反侧的端面并从第2物镜OB2照射光的情况下,进行光学仿真。光学仿真的结果如图5所示。

[0084] 如图5所示那样,从第2光学头55的第2物镜OB2发出的光线(与激发光对应),透射过流路12并在基板14的第2主表面14b被反射,该反射光反方向地透射过流路12。之后,光线在2个物镜之间的保持构件61的上表面61a被反射,再次透射过流路12并在基板14的第2主表面14b被反射。该反射光再次反方向地透射过流路12并在第1光学头51的第1物镜OB1被受光,通过光纤F12被出射。根据本光学仿真,了解到通过这样的光路,从一个光学头照射的激发光会作为噪声而进入到另一个光学头。

[0085] 图6是用于说明2个光学头的中心距P的导出的图。如图5中说明的那样,关于从第2光学头55的第2物镜OB2出射并被第1光学头51的第1物镜OB1受光的光线,将从第2物镜OB2出射的光线与第2物镜OB2的光轴所成的角(针对流路密封薄膜16的入射角)设为 θ 、将第2物镜OB2和流路密封薄膜16之间的空气层63与流路密封薄膜16的界面的折射角设为 θ_1 、将流路密封薄膜16与流路12的界面的折射角设为 θ_2 、将流路12与基板14的界面的折射角设为 θ_3 、将流路密封薄膜16的折射率设为 n_1 、将流路12的折射率设为 n_2 (根据流路12内存在样本的情况和不存在样本的情况(即空气的情况)而不同)、将基板14的折射率设为 n_3 ,通过针对各界面适用斯涅尔定律,以下的式(1)成立。

$$[0086] \quad \sin\theta = n_1 \cdot \sin\theta_1 = n_2 \cdot \sin\theta_2 = n_3 \cdot \sin\theta_3 \cdots (1)$$

[0087] 另外,考虑到几何学的对称性,2个光学头的中心距P作为光路的流路长度方向分量的和,可以如以下的式(2)那样地表示。

$$[0088] \quad P = (L \cdot \tan\theta + t_1 \cdot \tan\theta_1 + 2 \cdot t_2 \cdot \tan\theta_2 + 2 \cdot t_3 \cdot \tan\theta_3) \times 2$$

$$[0089] \quad = 2 \cdot L \cdot \tan\theta + 2 \cdot t_1 \cdot \tan\theta_1 + 4 \cdot t_2 \cdot \tan\theta_2 + 4 \cdot t_3 \cdot \tan\theta_3 \cdots (2)$$

[0090] 在式(2)中,L为从保持构件61的上表面61a到流路密封薄膜16的距离(mm), t_1 为流路密封薄膜16的厚度(mm), t_2 为流路12的深度(mm), t_3 为从流路12的底部到基板14的第2主表面14b的厚度(mm)。

[0091] $\sin\theta$ 与 $\tan\theta$ 之间,以下的式(3)的关系成立。

$$[0092] \quad 1/\tan^2\theta + 1 = 1/\sin^2\theta \cdots (3)$$

[0093] 若将式(3)变形则得到以下的式(4)。

$$[0094] \quad \tan\theta = \sin\theta / \sqrt{1 - \sin^2\theta} \cdots (4)$$

[0095] 若将式(4)的关系适用于式(2),则得到以下的式(5)。

$$[0096] \quad P = 2 \cdot L \cdot \sin\theta / \sqrt{1 - \sin^2\theta} + 2 \cdot t_1 \cdot \sin\theta_1 / \sqrt{1 - \sin^2\theta_1} + 4 \cdot t_2 \cdot \sin\theta_2 / \sqrt{1 - \sin^2\theta_2} + 4 \cdot t_3 \cdot \sin\theta_3 / \sqrt{1 - \sin^2\theta_3} \cdots (5)$$

[0097] 若在式(5)中代入式(1),则得到以下的式(6)。

$$P = 2 \cdot L \cdot \sin \theta / \sqrt{(1 - \sin^2 \theta)} + 2 \cdot t_1 \cdot \sin \theta / (\sqrt{(n_1^2 - \sin^2 \theta)}) + 4 \cdot t_2 \cdot \sin \theta / \sqrt{(n_2^2 - \sin^2 \theta)} + 4 \cdot t_3 \cdot \sin \theta / \sqrt{(n_3^2 - \sin^2 \theta)} \dots (6)$$

[0099] 在式(6)中,右边的第3项在 n_2 较小时(即流路12中未加入样本,为空气时)变大,中心距P在 θ 为最大值 $\theta_{\max}$ (开口角(開き角))时,即为光学头的物镜的NA所对应的 θ 时成为最大值 $P_{\max}$ 。

[0100] 根据以上,将 $\theta_{\max}$ 所对应的数值孔径设为NA,则 $P_{\max}$ 可以如以下的式(7)那样地表示。

$$P_{\max} = 2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 \dots (7)$$

$$\text{其中, } P_0 = L \cdot NA / \sqrt{(1 - NA^2)}$$

$$P_1 = t_1 \cdot NA / \sqrt{(n_1^2 - NA^2)}$$

$$P_2 = t_2 \cdot NA / \sqrt{(1 - NA^2)}$$

$$P_3 = t_3 \cdot NA / \sqrt{(n_3^2 - NA^2)}$$

[0106] 若使2个光学头的中心距P比式(7)所表示的 $P_{\max}$ 大,则能够避免从一者的光学头(第2光学头55)照射的激发光进入到另一者的光学头(第1光学头51)。即在本实施方式的处理装置30中,中心距P满足以下的式(8)。

$$P_{\max} = 2 \cdot P_0 + 2 \cdot P_1 + 4 \cdot P_2 + 4 \cdot P_3 < P \dots (8)$$

[0108] 通过使中心距P满足式(8)地配置光学头,由于能够避免从一者的光学头照射的激发光进入到另一方的光学头,能够抑制荧光检测装置间的干扰。其结果,能够得到稳定的荧光信号,实现具有良好的测定精度的反应处理装置。

[0109] 在此,考虑到各参数的误差等,优选设为 $1.1 \times P_{\max} \leq P$ (即安全率1.1),进而优选设为 $1.2 \times P_{\max} \leq P$ (即安全率1.2)。

[0110] 上述中说明了中心距P的下限,但中心距P的上限可以根据配置有2个光学头的流路12的直线部分的长度S(mm)来决定。流路12的直线部分的长度S为流路12中的连接区域的长度(参照图1)。第1光学头51及第2光学头55优选分别被以光轴位于从流路12的直线部分的一端靠内侧预定长度 ΔS (mm)处的方式配置。即优选2个光学头被以中心距P满足 $P \leq S - 2 \times \Delta S$ 的方式配置。例如 ΔS 可以为1mm。通过像这样地配置光学头,能够进行稳定的荧光检测。

[0111] 此外,在上述实施方式中,使流路12为剖面正方形的流路,但流路12的剖面形状例如也可以为长方形、梯形、半圆形、其他任意的形状,可以将与光学头的光轴相交的点作为流路12的底部而与上述同样地配置。

[0112] 在上述实施方式中,也可以在基板14的流路12的底部与第2主表面14b之间设有吸收激发光的光吸收层。如图5所示那样,来自一者的光学头(第2光学头55)的作为噪声光进入到另一者的光学头(第1光学头51)的激发光,4次从基板14上的流路12的底部与第2主表面14b之间透射过。因此,通过在位于基板14的流路12的底部与第2主表面14b之间设有光吸收层,由于能够使从一者的光学头进入到另一者的光学头的噪声光衰减,能够更可靠地抑制荧光检测装置间的干扰。

[0113] 下面,说明本发明的实施例。

[0114] (实施例1)

[0115] 在实施例1中,在如图5所示的构成中,为了重点评价反射光而将2个物镜间的保持构件61的上表面61a设为镜面(到达上表面61a的光根据斯涅尔定律而进行反射的面),从第2光学头55的光纤F22的端面附近以 $\phi 200\mu\text{m}$ (与多模光纤的芯径对应)且朗伯(lambertian) 17.5° (与多模光纤的NA(0.3)对应)的条件,向光纤F22出射25000条的光线(波长530nm),通过光学仿真求得到达配置于第1光学头51的光纤F12的端面附近的评价面的光线的强度。2个光学头的中心距P在2.5mm~8.0mm的范围内变化时的光线的相对强度的变化在图7表示。

[0116] 若在上述式(7)中带入 $L=1.735\text{mm}$ 、 $\text{NA}=0.3$ 、 $t_1=0.1\text{mm}$ 、 $t_2=0.7\text{mm}$ 、 $t_3=3.3\text{mm}$ 、 $n_1=1.53$ 、 $n_3=1.53$ 的各参数,则求得 $P_{\text{max}}=4.65\text{mm}$ 。在上述中,说明了通过使 $P_{\text{max}}<P$ 而能够防止来自一方的光学头的激发光进入到另一方的光学头,但根据图7所示的光学仿真的结果可以确认,在 $P_{\text{max}}=4.65\text{mm}<P$ 时能够将噪声抑制得足够小(相对噪声量为约0.1以下)。另外,可以确认,在 $1.1\times P_{\text{max}}=5.12\text{mm}\leq P$ 时能够将噪声抑制得更小(相对噪声量不足约0.1),在 $1.2\times P_{\text{max}}=5.58\text{mm}\leq P$ 时能够可靠地抑制噪声的发生(相对噪声量不足0.05)。

[0117] 此外,在实施例1中,作为物镜,使用能够有效地引入来自 $\text{NA}=0.3$ 的多模光纤的出射光的规格的折射率分布型透镜,且物镜的入射侧、出射侧的工作距离相等那样地构成(等倍成像系统)。因此,在没有流路密封薄膜的状态下,从光轴上的焦点位置看入射光线的角度即开口角所对应的NA,可以看作与来自多模光纤的出射光的NA大致相等。

[0118] (实施例2)

[0119] 在实施例2中,在第2光学头55的第2物镜OB2的出射端面配置了 $\phi 0.8\text{mm}$ 的针孔。除此以外的条件与实施例1相同,通过光学仿真求得到达评价面的光线的强度。2个光学头的中心距P在2.5mm~6.0mm的范围内变化时的光线的相对强度的变化在图8表示。

[0120] 实施例2中的NA,作为没有流路密封薄膜16的状态下的从光轴上的焦点位置看的针孔的开口的角度的正弦,求得 $\text{NA}=\sin\theta=\sin(\tan^{-1}(0.4/1.8))=0.22$ 。若在上述式(7)中带入 $L=1.735\text{mm}$ 、 $\text{NA}=0.22$ 、 $t_1=0.1\text{mm}$ 、 $t_2=0.7\text{mm}$ 、 $t_3=3.3\text{mm}$ 、 $n_1=1.53$ 、 $n_3=1.53$ 的各参数,则求得 $P_{\text{max}}=3.36\text{mm}$ 。根据图8所示的光学仿真的结果可以确认,在 $P_{\text{max}}=3.36\text{mm}<P$ 时能够将噪声抑制得足够小(相对噪声量为约0.1以下)。另外,可以确认,在 $1.1\times P_{\text{max}}=3.70\text{mm}\leq P$ 时能够将噪声抑制得更小(相对噪声量不足约0.1),在 $1.2\times P_{\text{max}}=4.03\text{mm}\leq P$ 时能够可靠地抑制噪声的发生(相对噪声量不足0.05)。

[0121] 下面,说明本发明的其他实施方式。上述实施方式中,在激发光波长与荧光波长互相重叠的2个光学头排列配置的情况下,通过使2个光学头的中心距P以满足式(8)的方式构成,来抑制从一者的光学头照射的激发光进入到另一者的光学头。但是,根据图7、图8所示的光学仿真的结果,若能够通过设于基板14的光吸收层使噪声光的强度降低一位(即减少到10%),则即使2个光学头的中心距P在式(7)所示的 P_{max} 以下的情况下,也能够期待使噪声量为允许水平。

[0122] 一般地,若将入射光强度设为 I_0 、将出射光强度设为 I ,则物质的吸光度可以用 $-\ln(I/I_0)$ 来表示。为了使噪声光4次透射过基板14的光吸收层而成为10%,使光吸收层的吸光度为 $-1/4\cdot\ln(0.1)\cong 0.58$ 即可。因此,若基板14的光吸收层的吸光度A满足 $A\cong 0.58$,则能够使从一方的光学头进入到另一方的光学头的噪声光的强度减少到10%以下。实际的光线

如图6所示那样,向基板14的光吸收层以 θ_3 的角度入射。若将光吸收层的厚度设为 t_3' ,则透射过1次光吸收层时的光路长度为 $t_3'/\cos\theta_3$,留有富裕地将最小值 t_3' 设为光路长度,并以厚度为 t_3' 且吸收系数满足 $\alpha \geq 0.58/t_3'$ 的方式设置光吸收层即可。通过将这样的光吸收层设于基板14,能够减少从一者的光学头进入到另一者的光学头的噪声光,故能够抑制荧光检测装置间的干扰。

[0123] 在上文说明了使噪声光减少到10%的光吸收层,但若能使噪声光降低到5%则更优选,若能降低到1%则最优选。为了使噪声光降低到5%程度,针对对象波长以吸收系数满足 $\alpha \geq -1/4 \cdot \ln(0.05)/t_3' \approx 0.75/t_3'$ 的方式设置光吸收层即可。另外,为了使噪声光降低到1%程度,针对对象波长以吸收系数满足 $\alpha \geq -1/4 \cdot \ln(0.01)/t_3' \approx 1.15/t_3'$ 的方式设置光吸收层即可。

[0124] 通过使基板14自身由光吸收性的材料形成,光吸收层可以设于基板14上的流路12的底部与第2主表面14b之间的整体,也可以设于基板14的厚度方向的局部。或者,也可以是,在基板14的第2主表面14b上,光吸收层作为独立体以与基板14取得折射率的匹配的状态被设置。在此,“取得折射率的匹配的状态”是指界面前后的折射率差为0.025以下的意

思。

[0125] 以下,针对上述的本发明的另外的实施方式说明实施例。

[0126] (实施例3)

[0127] 实施例3是在位于基板14的流路12的底部与第2主表面14b之间的整体上设置光吸收层的实施例。在实施例3中与实施例1同样设为 $L=1.735\text{mm}$ 、 $NA=0.3$ 、 $t_1=0.1\text{mm}$ 、 $t_2=0.7\text{mm}$ 、 $t_3=3.3\text{mm}$ 、 $n_1=1.53$ 、 $n_3=1.53$ 。在实施例3中,将中心距P设为 3.5mm ,设为比实施例1中求得的 $P_{\max}=4.65\text{mm}$ 更小的值。在位于基板14的流路12的底部与第2主表面14b之间,设有厚度 $t_3'=3.3\text{mm}$ 且吸收系数 $\alpha=0.58/0.33=1.76\text{cm}^{-1}$ 的光吸收层,与实施例1同样通过光学仿真求得到达评价面的光线的强度。

[0128] 光学仿真的结果,在实施例3中,流路12内不存在样本的情况下相对噪声量为0.02,流路12内存在样本的情况下相对噪声量为0.03。根据图7,在实施例1中,由于中心距P为 3.5mm 时,流路12内不存在样本的情况下的相对噪声量为0.19,流路12内存在样本的情况下相对噪声量为0.31,可以确认基板14设有光吸收层的实施例3与实施例1相比能够使噪声量减少到约10%。

[0129] (实施例4)

[0130] 实施例4是在基板14的第2主表面14b上设置光吸收层的实施例。在实施例4中,与实施例2同样是在第2光学头55的第2物镜0B2的出射端面上配置了 $\phi 0.8\text{mm}$ 的针孔的构成。在实施例4中,将中心距P设为 2.75mm ,设为比实施例2中求得的 $P_{\max}=3.36\text{mm}$ 更小的值。另外,在实施例4中,在基板14的第2主表面14b上,介由折射率1.53且厚度 0.1mm 的无实质性吸收的树脂层而设有折射率1.53、厚度 1.0mm 且吸收系数 $\alpha=0.58/0.1=5.8\text{cm}^{-1}$ 的光吸收层,在流路12内存在样本的条件下与上述实施例同样地通过光学仿真求得到达评价面的光线的强度。

[0131] 光学仿真的结果,在实施例4中,相对噪声量成为0.1。根据图8,在实施例2中,由于中心距P为 2.75mm 时,流路12内存在样本的情况下相对噪声量为0.85,可以确认在基板14的第2主表面14b上设有光吸收层的实施例4与实施例2相比能够使噪声量减少到约12%。

[0132] (实施例5)

[0133] 在实施例5中,相比于实施例4仅是将设于基板14的第2主表面14b上的光吸收层的吸收系数进行了改变。在实施例5中,将光吸收层的吸收系数 α 设为 $\alpha=0.75/0.1=7.5\text{cm}^{-1}$,与上述实施例同样地通过光学仿真求得到达评价面的光线的强度。

[0134] 光学仿真的结果,在实施例5中,相对噪声量为0.05。与实施例2(中心距 $P=2.75\text{mm}$)时的相对噪声量(0.85)相比较,可以确认实施例5能够使噪声量减少到约6%。

[0135] 另外,在将光吸收层的吸收系数 α 设为 7.5cm^{-1} 的实施例5中,使设于基板14与光吸收层之间的树脂层的折射率在 $1.530\sim 1.505$ (折射率差:0.025)的范围内变化并实施了同样的光学仿真时,到达评价面的光线的最大强度与将树脂层的折射率设为1.530的情况相比止于2%程度的增加。

[0136] (实施例6)

[0137] 实施例6中,相比于实施例4也仅是将设于基板14的第2主表面14b上的光吸收层的吸收系数进行了改变。在实施例6中,将光吸收层的吸收系数 α 设为 $\alpha=1.15/0.1=11.5\text{cm}^{-1}$,与上述实施例同样地通过光学仿真求得到达评价面的光线的强度。

[0138] 光学仿真的结果,在实施例6中,相对噪声量为0.01。与实施例2(中心距 $P=2.75\text{mm}$)时的相对噪声量(0.85)相比较,可以确认实施例6能够使噪声量减少到约1%。

[0139] 以上,根据实施方式说明了本发明。本领域技术人员应理解,这些实施方式为示例,其各构成要素或各处理流程的组合可以有各种变形例,并且这些变形例也属于本发明的范围内。

[0140] 工业可利用性

[0141] 本发明能够利用于聚合酶链式反应(PCR)。

[0142] 附图标记说明

[0143] 10反应处理容器,12流路,14基板,16流路密封薄膜,17第1连通口,18第2连通口,20样本,30反应处理装置,32温度控制系统,33高温用加热器驱动器,35低温用加热器驱动器,36CPU,37送液系统,39第1泵,40第2泵,41第1泵驱动器,42第2泵驱动器,43第1配管,44第2配管,45、46密封件,50第1荧光检测装置,51第1光学头,52第1荧光检测用激发光源/检测器模块,54第2荧光检测装置,55第2光学头,56第2荧光检测用激发光源/检测器模块,60高温用加热器,61保持构件,62低温用加热器,64第1激发光源,65第1波分复用器。

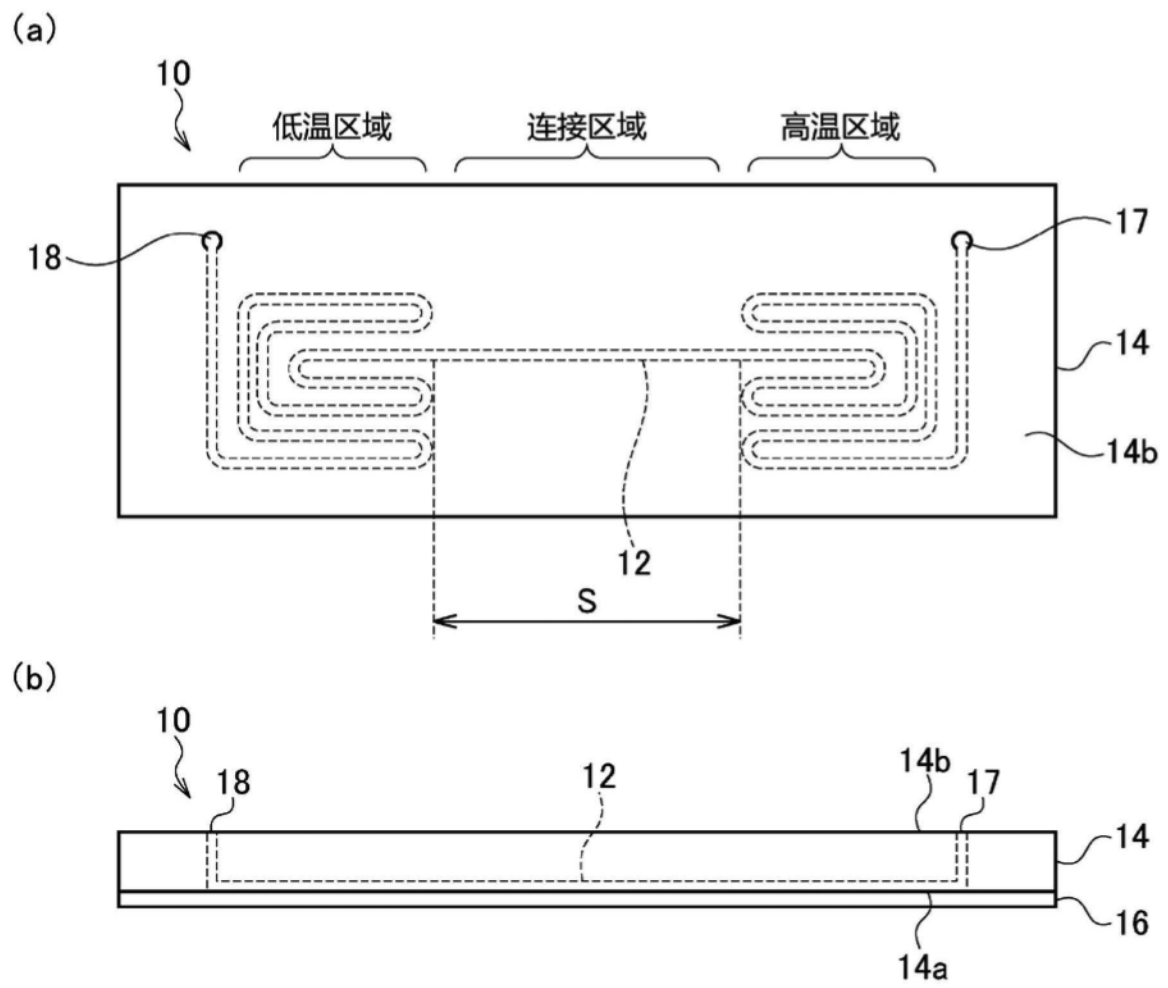


图1

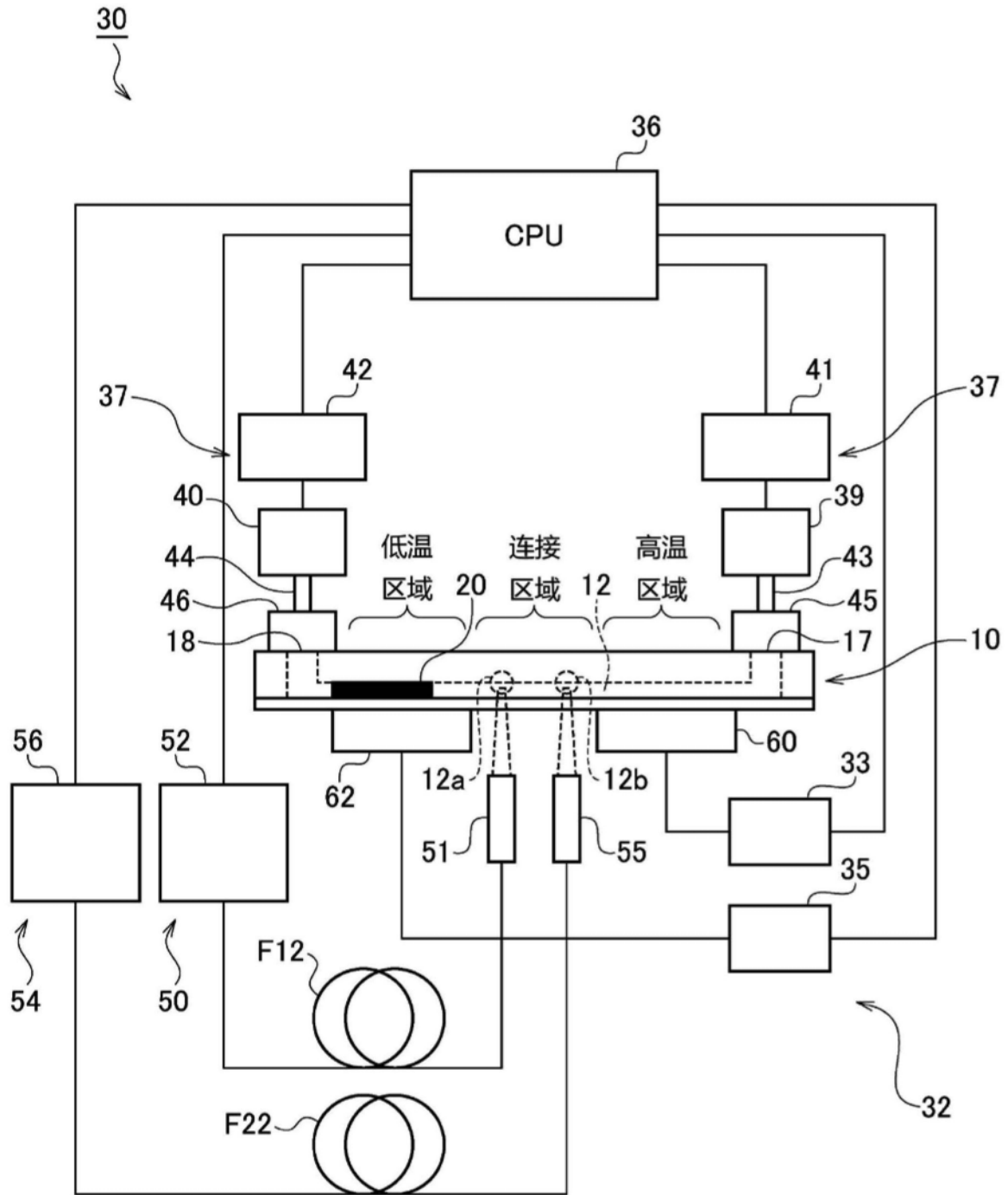


图2

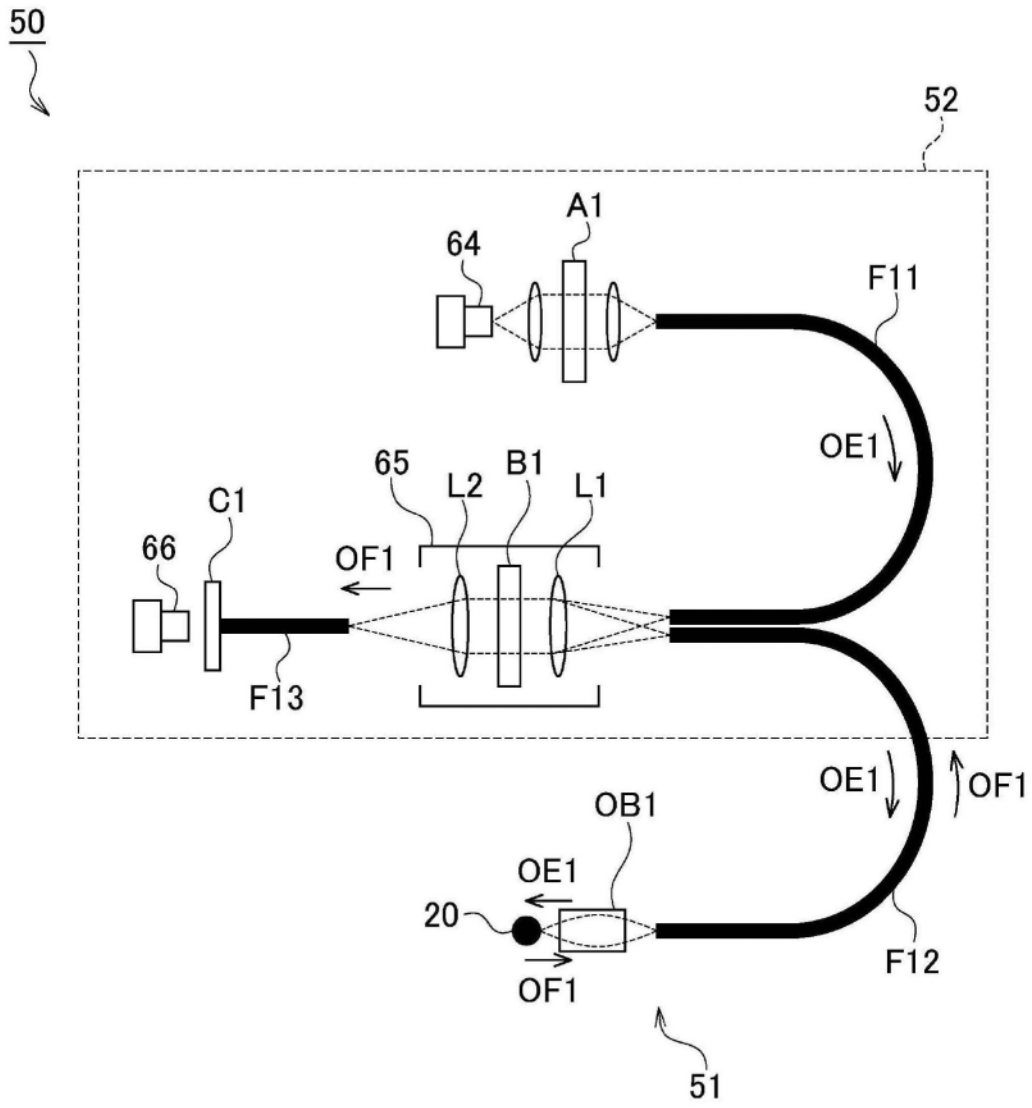


图3

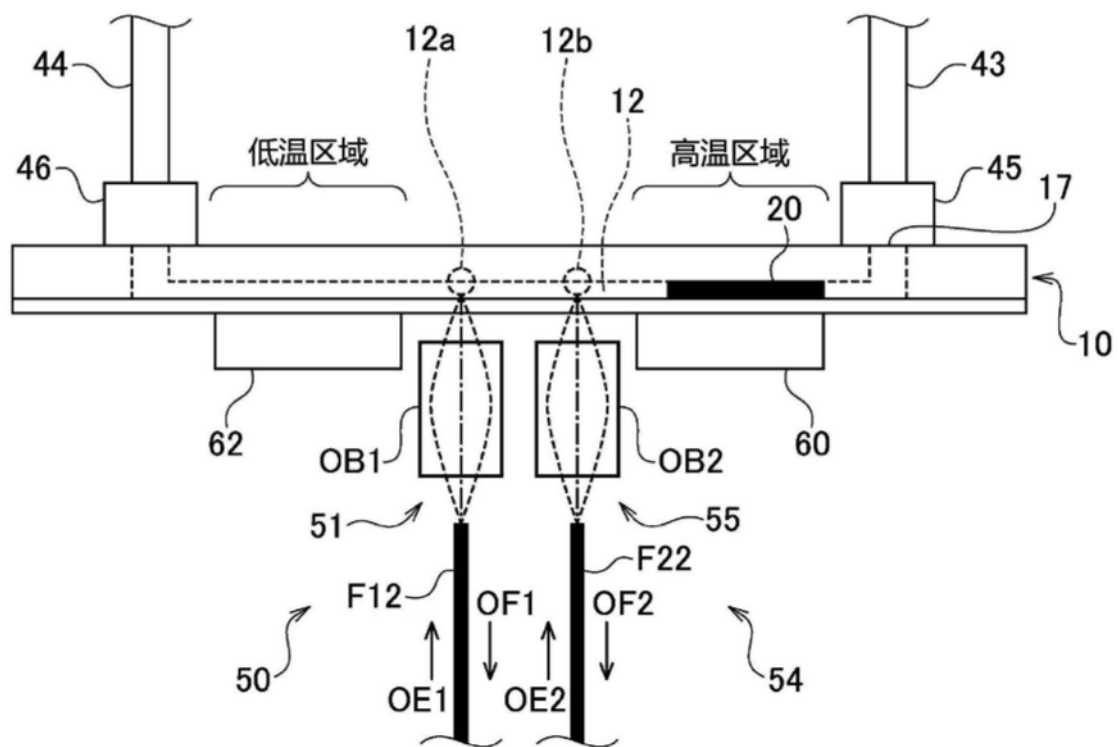


图4

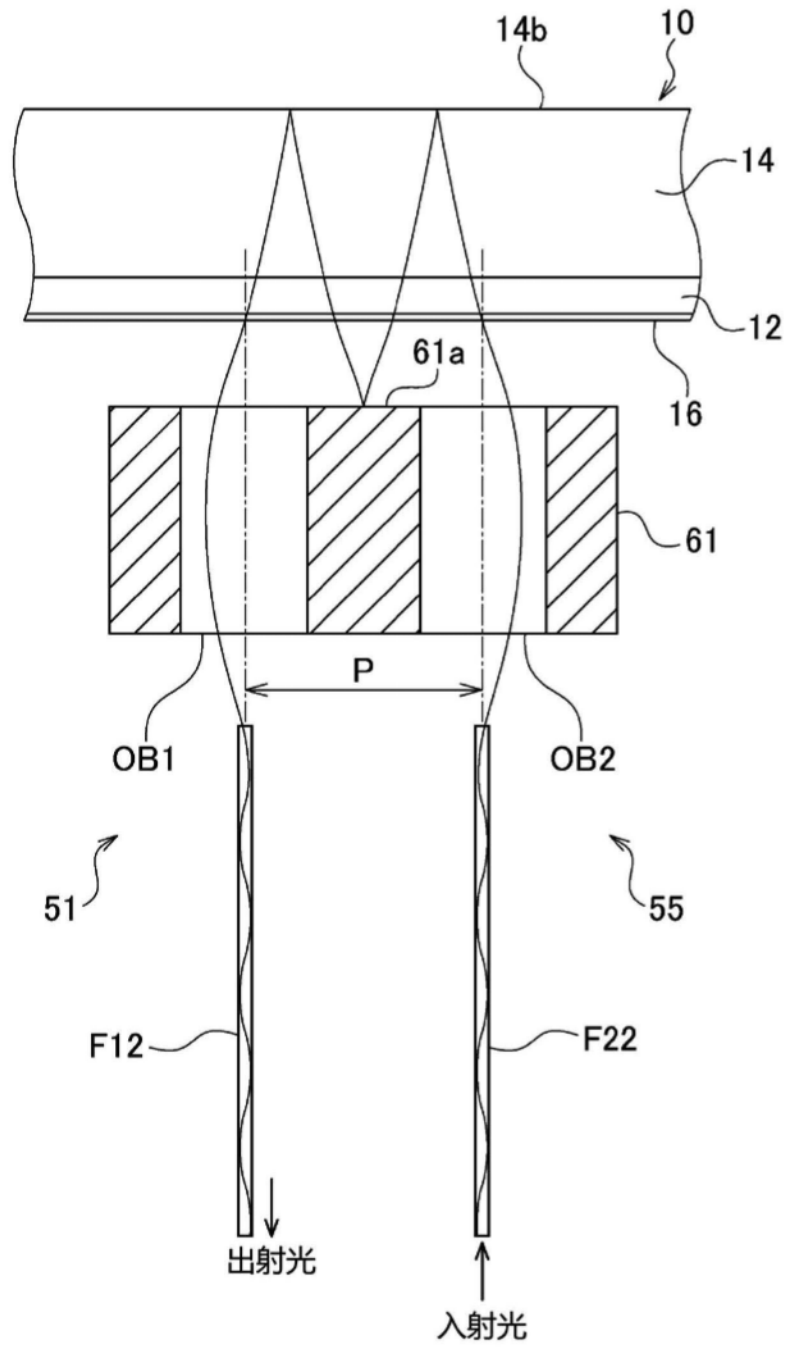


图5

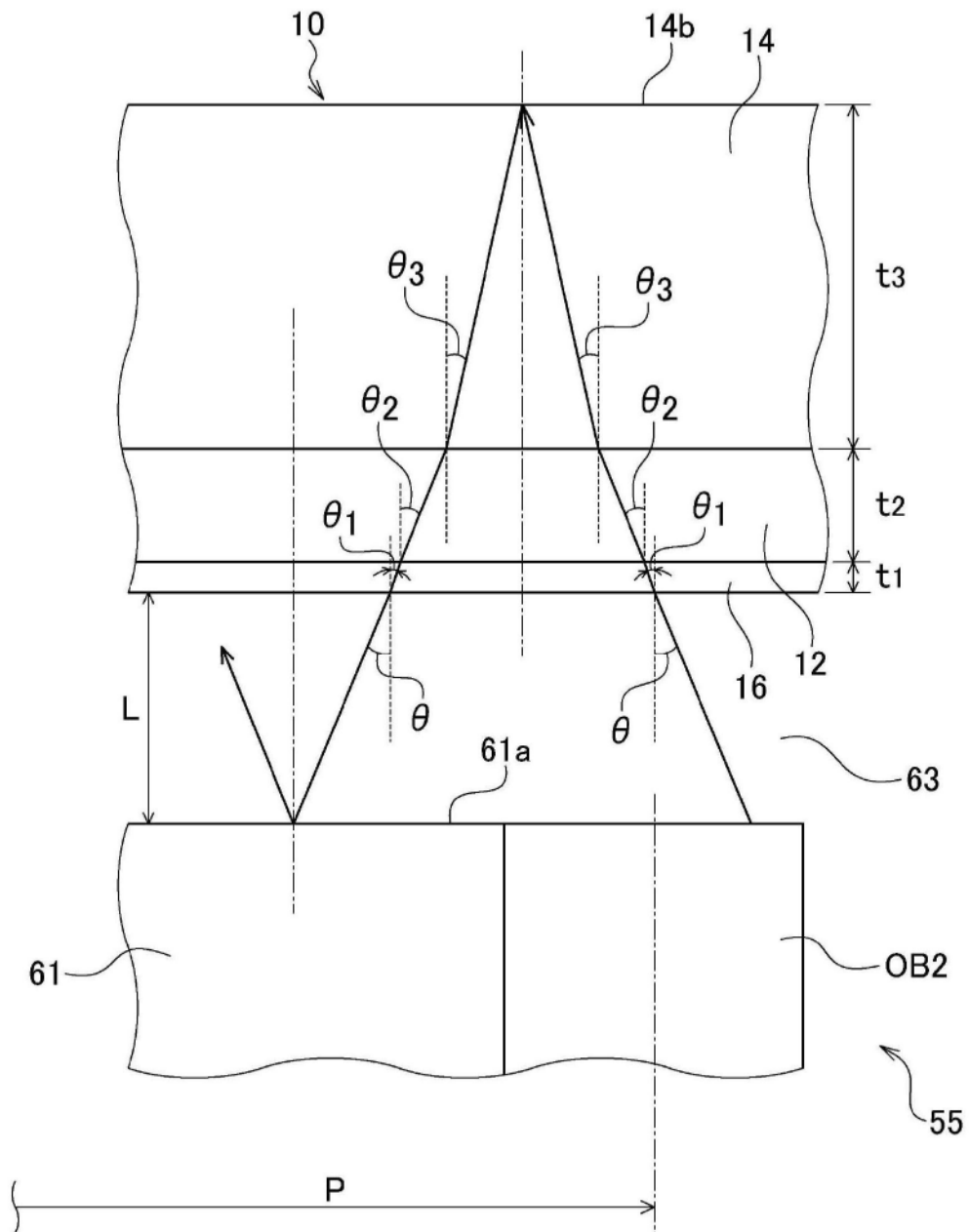


图6

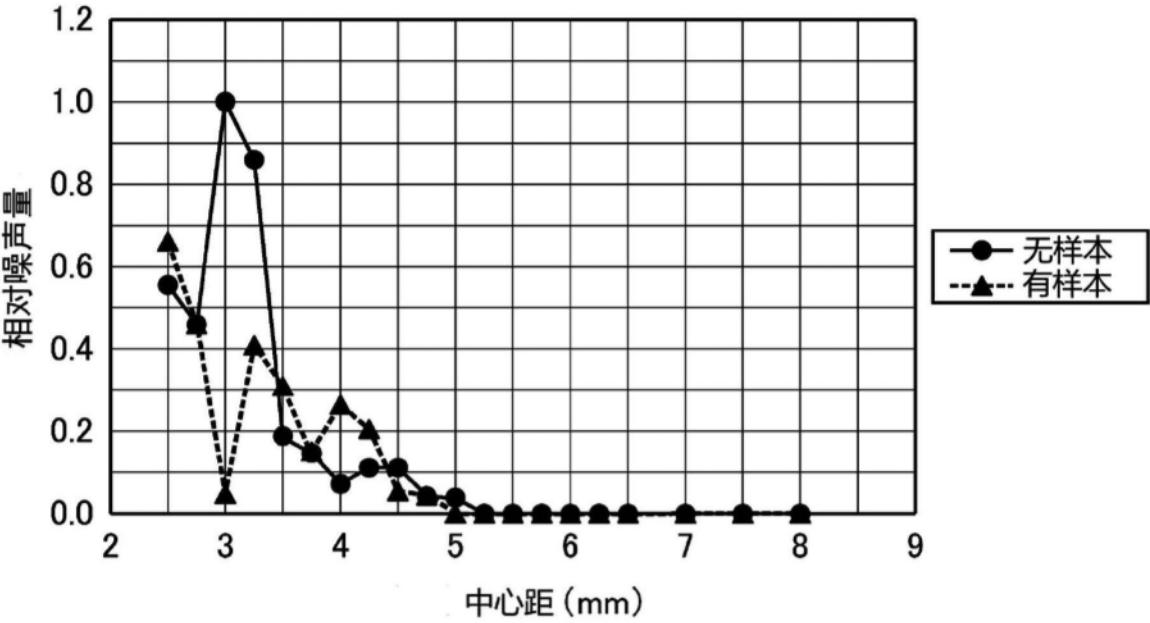


图7

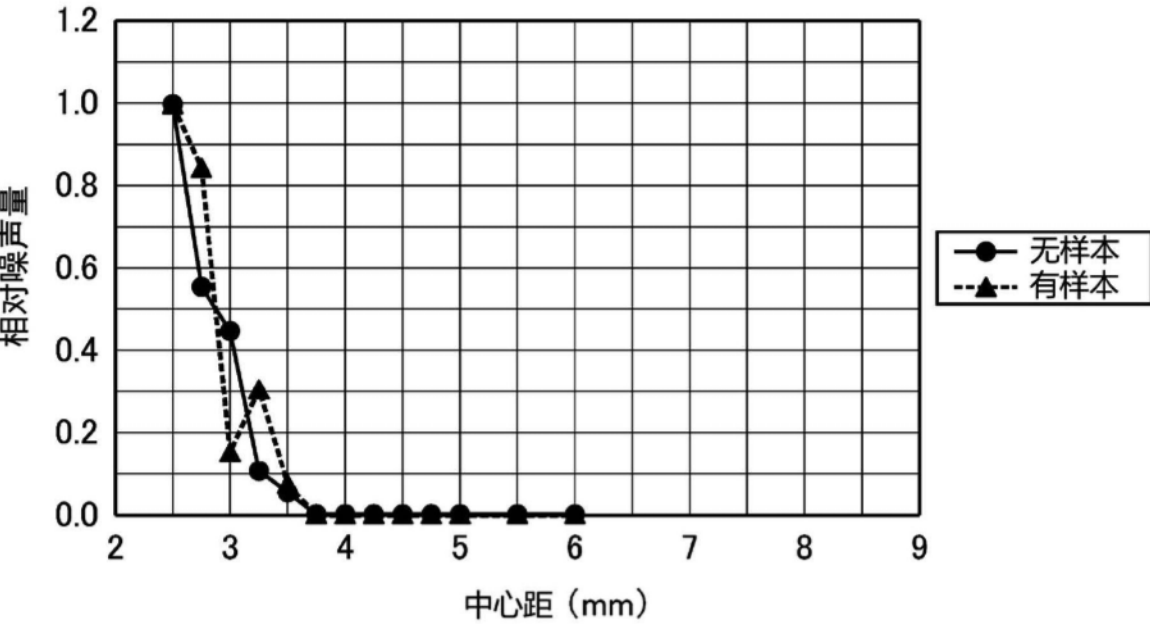


图8