

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4619403号
(P4619403)

(45) 発行日 平成23年1月26日(2011.1.26)

(24) 登録日 平成22年11月5日(2010.11.5)

(51) Int. Cl.	F 1	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00	A
G O 1 N 21/64 (2006.01)	G O 1 N 21/64	F
G O 1 N 21/03 (2006.01)	G O 1 N 21/03	Z
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	A

請求項の数 19 (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-510570 (P2007-510570)
 (86) (22) 出願日 平成18年3月29日(2006.3.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2006/306550
 (87) 国際公開番号 W02006/104213
 (87) 国際公開日 平成18年10月5日(2006.10.5)
 審査請求日 平成19年8月21日(2007.8.21)
 (31) 優先権主張番号 特願2005-96460 (P2005-96460)
 (32) 優先日 平成17年3月29日(2005.3.29)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 000001993
 株式会社島津製作所
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地
 (73) 特許権者 000003193
 凸版印刷株式会社
 東京都台東区台東1丁目5番1号
 (73) 特許権者 503359821
 独立行政法人理化学研究所
 埼玉県和光市広沢2番1号
 (74) 代理人 100085464
 弁理士 野口 繁雄
 (72) 発明者 中村 祐輔
 神奈川県横浜市鶴見区末広町1丁目7-2
 2 独立行政法人理化学研究所 横浜研究
 所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 反応容器及び反応容器処理装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

平板状の基板に形成されサンプルに反応を起こさせる少なくとも1つの反応部と、
 前記基板に凹部として形成され、反応液よりも比重の低い不揮発性液体を収容しノズル
 で貫通可能なフィルムで封止された不揮発性液体収容部と、
 を少なくとも備え、

前記フィルムは前記不揮発性液体を分注する際にも前記不揮発性液体収容部から剥がさ
 れることなく前記不揮発性液体収容部を封止したままとされるものであり、

前記不揮発性液体は前記不揮発性液体収容部を封止している前記フィルムを貫通したノ
 ズルに吸引され、前記反応部へ分注されるものであることを特徴とする反応容器。

10

【請求項2】

前記基板に凹部として形成され、前記サンプルの反応に使用される試薬を収容し前記ノ
 ズルで貫通可能なフィルムで封止された少なくとも1つの試薬収容部をさらに備えてサン
 プルの反应用試薬キットを構成しており、

前記試薬収容部を封止している前記フィルムも前記試薬を分注する際にも前記試薬収容
 部から剥がされることなく前記試薬収容部を封止したままとされるものであり、

前記試薬は前記試薬収容部を封止している前記フィルムを貫通した前記ノズルに吸引さ
 れ、前記反応部へ分注されるものである請求項1に記載の反応容器。

【請求項3】

前記試薬収容部として複数の多型部位に対応して調製されたタイピング試薬を収容した

20

タイピング試薬収容部を含み、

前記反応部として前記複数の多型部位のそれぞれに対応して蛍光を発するプローブを個別に保持した複数のプローブ配置部を含み、

遺伝子多型診断用試薬キットを構成している請求項 2 に記載の反応容器。

【請求項 4】

前記試薬収容部として複数の多型部位それぞれを挟んで結合する複数のプライマーを含む遺伝子増幅試薬を収容した遺伝子増幅試薬収容部をさらに含み、

前記反応部として前記遺伝子増幅試薬とサンプルとの混合液に対して遺伝子増幅反応を行なわせる増幅反応部をさらに含んでいる請求項 3 に記載の反応容器。

【請求項 5】

前記増幅反応部の液分注用ポートは分注ノズルの先端形状に対応した開口形状をもち、分注ノズルの先端に密着できる弾性素材で構成されている請求項 4 に記載の反応容器。

【請求項 6】

前記増幅反応部の基板肉厚が他の部分よりも薄くなっている請求項 4 又は 5 に記載の反応容器。

【請求項 7】

前記反応部のうち少なくとも前記不揮発性液体が分注されるものはその不揮発性液体を保持できる凹部となっている請求項 1 から 6 のいずれかに記載の反応容器。

【請求項 8】

前記基板に凹部として形成され、サンプルを注入するためのサンプル注入部をさらに備えている請求項 1 から 7 のいずれかに記載の反応容器。

【請求項 9】

少なくとも前記反応部は、使用前は剥離可能なシール材で被われている請求項 1 から 8 のいずれかに記載の反応容器。

【請求項 10】

前記不揮発性液体はミネラルオイル、植物油、動物油、シリコンオイル及びジフェニルエーテルからなる群から選ばれた液体である請求項 1 から 9 のいずれかに記載の反応容器。

【請求項 11】

対象とする多型が一塩基多型である請求項 3 から 10 のいずれかに記載の反応容器。

【請求項 12】

前記サンプルは核酸抽出操作を施していない生体サンプルである請求項 4 から 6 のいずれかに記載の反応容器。

【請求項 13】

前記遺伝子増幅試薬は P C R 反応試薬である請求項 4 から 6 のいずれかに記載の反応容器。

【請求項 14】

前記タイピング試薬はインベータ(登録商標)試薬又はタックマン(登録商標) P C R 試薬である請求項 3 から 6 のいずれかに記載の反応容器。

【請求項 15】

平板状の基板に形成されサンプルに反応を起こさせる反応部、及び前記基板に凹部として形成され、反応液よりも比重の低い不揮発性液体を収容しノズルで貫通可能なフィルムで封止された不揮発性液体収容部を少なくとも備えた反応容器が装着される反応容器装着部であって、前記フィルムが前記不揮発性液体収容部から剥がされることなく前記不揮発性液体収容部を封止したままの状態の前記反応容器が装着される反応容器装着部と、

前記ノズルによる吸引及び吐出のための機構を備えて液を移送して分注する分注部と、

前記分注部の分注動作を少なくとも制御する制御部と、
を備え、

前記制御部は、前記不揮発性液体を前記ノズルで分注する際には、前記不揮発性液体収容部を封止している前記フィルムを前記ノズルで貫通させて前記不揮発性液体を前記ノズ

10

20

30

40

50

ルに吸引し、前記反応部へ分注するように前記分注部の分注動作を制御するものである反応容器処理装置。

【請求項 16】

前記反応部の温度を制御する反応温度制御部をさらに備え、

前記制御部は前記反応温度制御部の温度制御も行なう請求項 15 に記載の反応容器処理装置。

【請求項 17】

前記反応容器はタイピング試薬を収容し前記ノズルで貫通可能で前記反応容器装着部に装着されたときにも剥がされることのないフィルムで封止されたタイピング試薬収容部をさらに備え、前記反応部として複数の多型部位のそれぞれに対応して蛍光を発するプローブを個別に保持した複数のプローブ配置部を備えた遺伝子多型診断用反応容器であり、

前記反応温度制御部として前記プローブ配置部の温度を前記サンプルと前記タイピング試薬との反応液を前記プローブと反応させる温度に制御するタイピング反応温度制御部を備え、

該反応容器処理装置は前記各プローブ配置部に励起光を照射して蛍光を検出する蛍光検出部をさらに備え、

前記制御部は、前記タイピング試薬を前記ノズルで分注する際にも前記タイピング試薬収容部を封止している前記フィルムを前記ノズルで貫通させて前記タイピング試薬を前記ノズルに吸引し、前記反応部へ分注するように前記分注部の分注動作を制御するとともに、

前記制御部は前記タイピング反応温度制御部の温度制御及び前記蛍光検出部の検出動作も制御する請求項 16 に記載の反応容器処理装置。

【請求項 18】

前記反応容器は複数の多型部位それぞれをばさんで結合する複数のプライマーを含む遺伝子増幅試薬を収容し前記ノズルで貫通可能で前記反応容器装着部に装着されたときにも剥がされることのないフィルムで封止された遺伝子増幅試薬収容部をさらに備え、前記反応部として前記遺伝子増幅試薬とサンプルとの混合液に対して遺伝子増幅反応を行なわせる増幅反応部をさらに備えた遺伝子多型診断用反応容器であり、

前記反応温度制御部として前記増幅反応部の温度を前記サンプルと遺伝子増幅試薬との反応液内で DNA を増幅させる遺伝子増幅のための温度に制御する増幅反応温度制御部をさらに備え、

前記制御部は、前記遺伝子増幅試薬を前記ノズルで分注する際にも前記遺伝子増幅試薬収容部を封止している前記フィルムを前記ノズルで貫通させて前記遺伝子増幅試薬を前記ノズルに吸引し、前記増幅反応部へ分注するように前記分注部の分注動作を制御するとともに、

前記制御部は前記増幅反応温度制御部の温度制御も行なう請求項 17 に記載の反応容器処理装置。

【請求項 19】

前記ノズルは先端に使い捨て可能なチップを着脱可能に装着したものであり、前記チップにより前記フィルムを貫通して液の吸入を行なう請求項 15 から 18 のいずれかに記載の反応容器処理装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は化学反応を初め、現場において各種自動解析、例えば遺伝子解析の研究や臨床を行なうのに適する反応容器と、それを用いて人間を初めとする動物や植物のゲノム DNA の多型、特に SNP (一塩基多型) を検出するための反応容器処理装置に関するものである。

【背景技術】

【0002】

10

20

30

40

50

遺伝子多型を利用して病気の罹りやすさなどを予測する方法又は装置として、下記のようなものが提案されている。

患者が敗血症に罹りやすいか否か及び／又は敗血症に急速に進行しやすいか否かを決定するために、患者から核酸サンプルを採取し、該サンプル中におけるパターン 2 対立遺伝子、又はパターン 2 対立遺伝子と連鎖不平衡であるマーカー遺伝子を検出し、パターン 2 対立遺伝子又はパターン 2 対立遺伝子と連鎖不平衡であるマーカー遺伝子が検出されれば該患者が敗血症に罹りやすいと判定する（特許文献 1 参照。）。

【 0 0 0 3 】

ヒトの *f l t - 1* 遺伝子中の 1 又はそれ以上の単一ヌクレオチド多型性の診断のために、ヒトの核酸の 1 又はそれ以上の位置：1953、3453、3888（各々 EMBL 受理番号 X51602 中の位置に従う）、519、786、1422、1429（各々 EMBL 受理番号 D64016 中の位置に従う）、454（配列番号 3 に従う）及び 696（配列番号 5 に従う）の配列を決定し、*f l t - 1* 遺伝子中の多型性を参照することにより、そのヒトの体質を決定する（特許文献 2 参照。）。

10

【 0 0 0 4 】

S N P 部位の塩基を判別する、いわゆるタイピングについては多くの手法が報告されている。そのうちの代表的なものは次の方法である。

比較的少量のゲノム DNA を用いて数十万箇所に及ぶ S N P 部位についてタイピングを行なうために、少なくとも一つの塩基多型部位を含む複数の塩基配列を、ゲノム DNA 及び複数対のプライマーを用いて同時に増幅し、増幅した複数の塩基配列を用いて、当該塩基配列に含まれる一塩基多型部位の塩基をタイピング工程により判別する。そのタイピング工程として、インベータ（登録商標）法又はタックマン（登録商標）P C R 法を用いる（特許文献 3 参照。）。

20

【特許文献 1】特表 2002 - 533096 号公報

【特許文献 2】特開 2001 - 299366 号公報

【特許文献 3】特開 2002 - 300894 号公報

【特許文献 4】特許第 3452717 号公報

【非特許文献 1】Hsu T. M., Law S. M., Duan S, Neri B. P., Kwok P. Y., "Genotyping single-nucleotide polymorphisms by the invader assay with dual-color fluorescence polarization detection", Clin. Chem., 2001 Aug;47(8):1373-7

30

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 5 】

本発明の第 1 の目的は、化学反応の測定や遺伝子多型検出を自動化するのに適する反応容器を提供することである。

本発明の第 2 の目的は、本発明の反応容器を用いて化学反応測定や遺伝子多型検出を自動化する装置を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 6 】

第 1 の目的を達成するための本発明の反応容器は、平板状の基板に形成されサンプルに反応を起こさせる少なくとも一つの反応部と、基板に凹部として形成され、反応液よりも比重の低い不揮発性液体を収容しフィルムで封止された不揮発性液体収容部とを少なくとも備えたものである。

40

本発明の反応容器は、同じ基板に凹部として形成され、サンプルの反応に使用される試薬を収容しフィルムで封止された少なくとも一つの試薬収容部をさらに備えてサンプルの反应用試薬キットを構成していてもよい。

【 0 0 0 7 】

フィルムで封止された試薬や不揮発性液体は、本発明の反応容器処理装置内においてそのフィルムを貫通してノズルを挿入することにより、又はそのフィルムを剥がした後にノズルを挿入することにより、そのノズルに吸入し、反応部などの他の場所に移送すること

50

ができる。

【0008】

この反応容器は、化学反応、生化学反応を初め、種々の反応の測定に用いられるものである。この反応容器を反应用試薬キットとした場合の1つの用途として、遺伝子多型検出を挙げることができる。遺伝子多型検出用の反応容器とした場合の第1の形態は、生体サンプルとして遺伝子増幅反応がなされたものをこの反応容器に注入して遺伝子多型を検出する反応容器である。その第1の形態の反応容器は、試薬収容部として複数の多型部位に対応して調製されたタイピング試薬を収容したタイピング試薬収容部を含み、反応部として前記複数の多型部位のそれぞれに対応して蛍光を発するプローブを個別に保持した複数のプローブ配置部を含んで遺伝子多型診断用試薬キットを構成しているものである。

10

【0009】

遺伝子多型検出用の反応容器とした場合の第2の形態は、上記の第1の形態の反应用試薬キットに、試薬収容部として複数の多型部位それぞれを挟んで結合する複数のプライマーを含む遺伝子増幅試薬を収容した遺伝子増幅試薬収容部をさらに含み、反応部として遺伝子増幅試薬とサンプルとの混合液に対して遺伝子増幅反応を行なわせる増幅反応部をさらに含んだものである。

【0010】

第2の形態の遺伝子多型診断用試薬キットにおいては、増幅反応部の液分注用ポートは分注ノズルの先端形状に対応した開口形状をもち、分注ノズルの先端に密着できる弾性素材で構成されていることが好ましい。増幅反応部は温度を変化させるサイクルを繰り返すことから基板の熱伝導性が高い方が好ましい。そのために、増幅反応部の基板肉厚が他の部分よりも薄くなっていることが好ましい。

20

【0011】

ここで、多型部位とプライマーの関係を示すと、1つの多型部位を増幅するためにはその多型部位をはさんで結合する一対のプライマーが必要になる。対象となる生体サンプルには複数種類の多型部位が存在するので、それらの多型部位が互いに離れた位置に存在する場合には多型部位の種類の数2倍の種類のプライマーが必要になる。しかし、2つの多型部位が接近している場合には、それらの多型部位それぞれをはさんでプライマーを結合させて増幅することも、またそれらの2つの多型部位の間にはプライマーを結合させず、2つの多型部位の配列の両側にのみプライマーを結合させて増幅することもできる。したがって、必要なプライマーの種類は必ずしも多型部位の種類の数2倍になるわけではない。本発明における「複数の多型部位それぞれをはさんで結合する複数のプライマー」とは一対のプライマーが1つの多型部位をはさんで結合する場合だけでなく、2又はそれ以上の多型部位をはさんで結合する場合も含めて、複数の多型部位を増幅するのに必要な種類のプライマーという意味で使用している。

30

多型には変異、欠失、重複、転移等が含まれる。多型の代表的なものはSNPである。

生体サンプルは血液、唾液、ゲノムDNAなどである。

遺伝子増幅試薬の一例はPCR反応試薬である。

【0012】

SNPのタイピングには増幅工程に入る段階でゲノムDNAの調整が必須であり、そこに手間とコストがかかる。DNAを増幅するPCR法だけに着目すれば、前処理なしで血液などのサンプルから直接PCR反応を行なわせる方法も提案されている。ここでは、遺伝子を含むサンプル中の目的とする遺伝子を増幅する核酸合成法において、遺伝子を含むサンプル中の遺伝子包含体もしくは遺伝子を含むサンプルそのものを遺伝子増幅反応液に添加して、添加後の該反応液のpHが8.5 - 9.5 (25)で遺伝子を含むサンプル中の目的とする遺伝子を増幅する(特許文献4参照。)。

40

【0013】

既に構築されているタイピングシステムは、タイピングしようとする複数のSNP領域をPCR法で増幅するために、最初に採取するDNA量は少なくすむが、PCR法で増幅する前に予め生体サンプルからDNAを抽出しておくという前処理が必要である。その

50

ためにその前処理に時間と手間がかかる。

直接PCR法とタイピング方法を結びつけたときに、タイピングを目的とする複数のSNP部位について同時に増幅を行なうような自動化システムはこれまで構築されていなかった。

タイピング工程はインベータ(登録商標)法やタックマン(登録商標)PCR法を使用することができる。その場合、タイピング試薬はインベータ(登録商標)試薬又はタックマン(登録商標)PCR試薬である。

【0014】

図11は本発明の反応容器を遺伝子多型診断用試薬キットとして使用して遺伝子多型を検出する際の検出方法を概略的に示したものである。ここでは、増幅工程にはPCR法、10

タイピング工程にはインベータ(登録商標)法を使用するものとして説明する。

PCR工程では血液などの生体サンプル2にPCR反応試薬4を添加するか、逆にPCR反応試薬4に生体サンプル2を添加する。

【0015】

PCR反応試薬4は予め調整されたものであり、測定しようとするSNP部位のための複数のプライマーを含み、それにpHを調整するためのpH緩衝液、4種類のデオキシリボヌクレオチド類、熱安定性合成酵素、及びMgCl₂、KCl等の塩類などの必要な試薬が添加されている。その他に、界面活性剤や蛋白などの物質を必要に応じて添加することができる。本発明で用いることのある増幅工程のPCR法は、目的とする複数のSNP部位を同時に増幅させるものである。生体サンプルは核酸抽出操作を施しているものであってもよく、核酸抽出操作を施していないものであってもよい。核酸抽出操作を施していない生体サンプルから直接PCR法によりそれらのSNP部位を含む複数のゲノムDNAを増幅させる場合には、それらのSNP部位のための複数のプライマーを含む遺伝子増幅反応試薬を生体サンプルに作用させ、サンプル2と混合したときに25℃でのpHが8.5 - 9.5となる条件下でPCR反応を起こさせる。20

【0016】

pH緩衝液は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンと塩酸、硝酸、硫酸等の鉱酸の組合せのほか、種々のpH緩衝液を使用することができる。pH調整された緩衝液は、PCR反応試薬の中で10mMから100mMの間の濃度で使用するのが好ましい。

プライマーはPCR反応によるDNA合成の開始点として働くオリゴヌクレオチドをいう。プライマーは合成したものであってもよく、生物界から単離したものであってもよい。30

【0017】

合成酵素はプライマー付加によるDNA合成用の酵素であり、化学合成系も含む。適切な合成酵素としては、E. coliのDNAポリメラーゼI、E. coliのDNAポリメラーゼのクレノーフラグメント、T4DNAポリメラーゼ、TaqDNAポリメラーゼ、T. litoralis DNAポリメラーゼ、TthDNAポリメラーゼ、PfuDNAポリメラーゼ、Hot Start Taqポリメラーゼ、KOD DNAポリメラーゼ、EX TaqDNAポリメラーゼ、逆転写酵素などがあるが、これらに限定されるものではない。「熱安定性」は、高温下、好ましくは65 - 95℃でもその活性を保持する化合物の性質を意味する。40

【0018】

PCR工程では、生体サンプル2とPCR反応試薬4との混合液を所定の温度サイクルに従ってPCR反応を行なわせる。PCR温度サイクルは、変性、プライマー付着(アニーリング)及びプライマー伸長の3工程を含み、そのサイクルを繰り返すことによりDNAを増幅させる。各工程の一例は、変性工程が94℃で1分間、プライマー付着工程が55℃で1分間、プライマー伸長が72℃で1分間である。生体サンプルはゲノム抽出操作を施したものであってもよいが、ここではゲノム抽出操作を施していないものを使用する。ゲノム抽出操作を施していない生体サンプルであっても、PCR温度サイクルの高温下でDNAが血球や細胞から遊離し、PCR反応に必要な試薬がDNAに接触して反応が進む。50

【 0 0 1 9 】

PCR反応終了後、タイピング試薬としてインベータ(登録商標)試薬6が添加される。インベータ(登録商標)試薬6には蛍光を発するフレット(FRET)プローブ及びクリベース(Cleavase:構造特異的DNA分解酵素)が含まれている。フレットプローブはゲノムDNAと全く無関係な配列をもつ蛍光標識オリゴであり、SNPの種類によらず配列は共通であることが多い。

【 0 0 2 0 】

次に、インベータ(登録商標)試薬6が添加された反応液を複数のプローブ配置部8に添加して反応をさせる。各プローブ配置部8には、複数のSNP部位のそれぞれに対応してインベータ(登録商標)プローブとレポータープローブが個別に保持されており、反応液がインベータ(登録商標)プローブと反応し、そのレポータープローブに対応するSNPが存在すれば蛍光を発する。

【 0 0 2 1 】

インベータ(登録商標)法については、特許文献3の段落[0032]から[0034]に詳しく記載されている。

各レポータープローブはそれに対応したSNPの塩基に応じて2種類のものを用意すれば、そのSNPがホモ接合体であるかヘテロ接合体であるかを判別することができる。

【 0 0 2 2 】

タイピング工程で使用するインベータ(登録商標)法は、アレル特異的オリゴとタイピング対象のSNPを含むDNAとをハイブリダイゼーションすることによりSNP部位をタイピングする方法であり、タイピング対象のSNPを含むDNAと、タイピング対象のSNPのそれぞれのアレルに特異的な2種類のレポータープローブ及び1種類のインベータ(登録商標)プローブと、DNAの構造を認識して切断するという特殊なエンドヌクレアーゼ活性を有する酵素とを用いる方法である(特許文献3参照。)

【 0 0 2 3 】

本発明の反応容器において、前記フィルムはノズルで貫通可能なものであることが好ましい。

反応部のうち少なくとも不揮発性液体が分注されるものはその不揮発性液体を保持できる凹部となっていることが好ましい。

同じ基板に凹部として形成され、サンプルを注入するためのサンプル注入部をさらに備えていてもよい。

少なくとも反応部は、使用前は剥離可能なシール材で被われていることが好ましい。

タイピング試薬はインベータ(登録商標)試薬又はタックマン(登録商標)PCR試薬である。

【 0 0 2 4 】

第2の目的を達成するための本発明の反応容器処理装置は、サンプルに反応を起こさせる反応部、及び反応液よりも比重の低い不揮発性液体を収容した不揮発性液体収容部を少なくとも備えた反応容器を装着する反応容器装着部と、図1に示されるように、ノズル28による吸引及び吐出のための機構を備えて液を移送して分注する分注部112と、分注部112の分注動作を少なくとも制御する制御部118とを備えている。

この反応容器処理装置は反応部の温度を制御する反応温度制御部をさらに備え、制御部116は反応温度制御部の温度制御も行なうようにすることができる。

【 0 0 2 5 】

この反応容器処理装置を遺伝子多型検出装置として使用する場合には、その第1の形態は、反応容器としてタイピング試薬を収容したタイピング試薬収容部をさらに備え、反応部として複数の多型部位のそれぞれに対応して蛍光を発するプローブを個別に保持した複数のプローブ配置部を備えた遺伝子多型診断用反応容器を使用する。そして、図1に示されるように、反応温度制御部としてプローブ配置部の温度をサンプルとタイピング試薬との反応液をプローブと反応させる温度に制御するタイピング反応温度制御部110を備え、この反応容器処理装置は各プローブ配置部に励起光を照射して蛍光を検出する蛍光検出

部64をさらに備える。制御部118はタイピング反応温度制御部110の温度制御及び蛍光検出部64の検出動作も制御するものとなる。

タイピング反応としてインベータ(登録商標)反応を使用する場合は、タイピング反応温度制御部110はインベータ(登録商標)反応のための温調部となる。

【0026】

この反応容器処理装置を遺伝子多型検出装置として使用する第2の形態は、反応容器として複数の多型部位それぞれをはさんで結合する複数のプライマーを含む遺伝子増幅試薬を収容した遺伝子増幅試薬収容部をさらに備え、反応部として遺伝子増幅試薬とサンプルとの混合液に対して遺伝子増幅反応を行なわせる増幅反応部をさらに備えた遺伝子多型診断用反応容器を使用する。そして、図1に示されるように、反応温度制御部として増幅反応部の温度をサンプルと遺伝子増幅試薬との反応液内でDNAを増幅させる遺伝子増幅のための温度に制御する増幅反応温度制御部120をさらに備え、制御部118は増幅反応温度制御部120の温度制御も行なうものとなる。

10

【0027】

遺伝子増幅反応としてPCR反応を使用する場合は、増幅反応温度制御部120はPCR反応のための温度サイクル用の温調部となる。

制御部118を外部から操作したり検査結果を表示したりするために、制御部118にパーソナルコンピュータ(PC)122を接続してもよい。

ノズルの一例は、先端に使い捨て可能なチップを着脱可能に装着したものである。反応容器の液体収容部がフィルムで封止されていて、そのフィルムで封止された状態で反応容器処理装置に装着される場合には、そのチップにより反応容器のフィルムを貫通して液の吸入を行なうものとなる。

20

【発明の効果】

【0029】

本発明の反応容器は、1つの基板に反応部と反応液よりも比重の低い不揮発性液体を収容しているので、反応部で反応液の表面を不揮発性液体で被うことにより、反応液が反応部で加熱されても反応液が蒸発してしまう事態をさけることができる。

さらに試薬収容部も備えたものは、サンプルの反応用試薬キットとなって、試薬を別途配置する煩わしさがなくなる。

【0030】

この反応容器を遺伝子多型診断用試薬キットとして使用する第1の形態は、タイピング試薬収容部、不揮発性液体収容部及びプローブ配置部を一体的に備えているので、複数の多型部位が増幅されたDNAサンプルについてそれらの多型部位を同時にタイピングすることができ、多型のタイピングを簡単な工程で短時間に行なうことができる。

30

【0031】

また、この反応容器を遺伝子多型診断用試薬キットとして使用する第2の形態は、さらに遺伝子増幅試薬収容部と増幅反応部まで一体的に備えているので、生体サンプルから目的とする複数の多型部位を同時に増幅させた後に、それらの多型部位を同時にタイピングすることができ、多型のタイピングを簡単な工程で短時間に行なうことができる。

【0032】

試薬や不揮発性液体を封止しているフィルムをノズルで貫通可能なものとしておけば、反応容器処理装置内での液の移送が容易になる。

反応部が凹部となっていて不揮発性液体を保持できるようになっておれば、反応部での反応液の蒸発をより効果的に防ぐことができる。

反応部を剥離可能なシール材で被っておけば、使用前はシール材で被っておき、使用時にシール材を剥離することにより、使用前に埃や汚れの付着を防止することができる。

40

【0033】

増幅反応部を備えている反応容器においては、増幅反応部の液分注用ポートを分注ノズルの先端形状に対応した開口形状にして分注ノズルの先端に密着できる弾性素材で構成しておけば、増幅反応部への混合液の注入動作、及び増幅反応部からの反応液の回収を容易

50

に行なうことができるようになる。

【0034】

本発明の反応容器処理装置では、ノズルにより液の移送を行なうので、簡単な機構で分注動作を行なうことができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0035】

反応液よりも比重の低い不揮発性液体としては、ミネラルオイル（鉱油）、植物油、動物油、シリコンオイル又はジフェニルエーテルなどを用いることができる。ミネラルオイルはペトロラタムから蒸留により得られる液体の炭化水素混合物であり、流動パラフィン、流動ペトロラタム、ホワイト油などとも呼ばれ、低比重の軽油も含む。動物油としてはタラの肝油、オヒョウ油、ニシン油、オレンジラフィー油又はサメの肝油などを用いることができる。また、植物油としてはカノーラ油、扁桃油、綿実油、トウモロコシ油、オリブ油、ピーナツ油、ベニバナ油、ゴマ油、大豆油などを用いることができる。

10

【0036】

図2A及び図2Bは反応容器の第1の実施例であり、図2Aは正面図、図2Bは平面図である。

平板状の基板10の同じ側に試薬収容部14及び不揮発性液体収容部16が凹部として形成されている。不揮発性液体としてはミネラルオイルを使用し、以後、不揮発性液体収容部をミネラルオイル収容部と称す。基板10の同じ側にはさらに、反応部18も形成されている。試薬収容部14とミネラルオイル収容部16はフィルム20で封止されており、試薬とミネラルオイルをノズルで吸入して他の場所に移送する際には、そのフィルム20を取り除いてノズルで吸入するか、又はそのフィルム20をノズルで貫通可能なものとしておいてノズルを貫通させてノズルで吸入する。そのようなフィルム20は、例えばアルミニウム箔、アルミニウムとPET（ポリエチレンテレフタレート）フィルムなどの樹脂フィルムとの積層膜などであり、容易に剥がれないように融着や接着により貼りつけられている。

20

基板10の表面は、フィルム20上から、試薬収容部14、ミネラルオイル収容部16及び反応部18を被う大きさの剥離可能なシール材22で被われている。

【0037】

この反応容器の具体的な用途の一例は、PCR反応によりDNAを増幅させたサンプル反応液を注入し、インベータ（登録商標）反応によりSNPを検出する遺伝子多型診断用試薬キットとなったものである。図2A及び図2Bを参照して、その遺伝子多型診断用試薬キットとしての実施例を詳細に説明する。

30

平板状の基板10の同じ側にサンプル注入部12、タイピング試薬収容部14、及びミネラルオイル収容部16が凹部として形成されている。基板10の同じ側にはさらに、複数のプローブ配置部18も形成されている。

【0038】

サンプル注入部12はPCR反応によりDNAを増幅させた生体サンプル反応液が注入されるものであるが、使用前の状態ではまだサンプルが注入されない空の状態を提供される。タイピング試薬収容部14は複数の多型部位に対応して調製されたタイピング試薬を10～300 μ L収容しており、ミネラルオイル収容部16は反応液の蒸発を防ぐためのミネラルオイルを20～300 μ L収容しており、これらのタイピング試薬収容部14とミネラルオイル収容部16はノズルで貫通可能なフィルム20で封止されている。

40

【0039】

各プローブ配置部18は複数の多型部位のそれぞれに対応して蛍光を発するプローブを個別に保持しており、ミネラルオイル収容部16からのミネラルオイルが分注されたときにそのミネラルオイルを保持できる凹部となっている。各プローブ配置部18の凹部の大きさは、例えば直径が100 μ m～2mm、深さが50 μ m～1.5mmの円形である。

【0040】

基板10の表面は、フィルム20上から、サンプル注入部12、タイピング試薬収容部

50

14、ミネラルオイル収容部16及びプローブ配置部18を被う大きさの剥離可能なシール材22で被われている。このシール材22もアルミニウム箔、アルミニウムと樹脂との積層膜などであるが、貼りつけ強度はフィルム20よりは弱く、粘着剤などにより剥離可能な程度に貼りつけられている。

【0041】

基板10は底面側から蛍光を測定するために、低自蛍光性(それ自身からの蛍光発生が少ない性質のこと)で光透過性の樹脂、例えばポリカーボネートなどの素材で形成されている。基板10の厚さは0.3~4mm、好ましくは1~2mmである。低自蛍光性の観点から基板10の厚さは薄い方が好ましい。

【0042】

この実施例の反応容器の使用方法を示す。

図3に示されるように、使用時にシール材22が剥がされる。タイピング試薬収容部14とミネラルオイル収容部16を封止しているフィルム20は剥がされないでそのまま残っている。

サンプル注入部12に外部でPCR反応によりDNAが増幅されたサンプル反応液24がピペット26などにより2~20 μ L注入される。その後、この反応容器が検出装置に装着される。

【0043】

検出装置において、図4に示されるように、ノズル28がフィルム20を貫通してタイピング試薬収容部14に挿入されてタイピング試薬が吸入され、タイピング試薬はそのノズル28によりサンプル注入部12に移送される。サンプル注入部12ではノズル28による吸入と吐出が繰り返されることにより、サンプル反応液とタイピング試薬が混合される。

【0044】

その後、PCR反応液とタイピング試薬との反応液がノズル28により各プローブ配置部18へ分注される。各プローブ配置部18にはノズル28によりミネラルオイル収容部16からミネラルオイルが分注される。プローブ配置部18へのミネラルオイルの分注は、プローブ配置部18への反応液の分注前であってもよい。各プローブ配置部18ではミネラルオイルが0.5~10 μ Lずつ分注されて、そのミネラルオイルが反応液の表面を被い、検出装置のタイピング反応温度制御部での加熱を伴うタイピング反応時間中の反応液の蒸発を防止する。

各プローブ配置部18では反応液がプローブと反応して所定のSNPがあればそのプローブから蛍光が発せられる。蛍光は基板10の裏面側から励起光を照射することにより検出する。

【0045】

図5A、図5B及び図5Cは反応容器の第2の実施例である。図5Aは正面図、図5Bは平面図、図5Cは図5BのX-X線位置での拡大断面図である。

この反応容器は核酸抽出操作を施していない生体サンプルをサンプルとして注入し、PCR反応によるDNAの増幅と、インベータ(登録商標)反応によるSNP検出を共に行なうものである。ただし、核酸抽出操作を施していない生体サンプルを注入してもよい。

【0046】

平板状の基板10aの同じ側に、図2A及び図2Bの実施例と同じサンプル注入部12、タイピング試薬収容部14、ミネラルオイル収容部16、及び複数のプローブ配置部18が形成されている。この反応容器では、さらに遺伝子増幅試薬収容部30、PCR終了液注入部31、及び増幅反応部32が基板10aの同じ側に形成されている。

【0047】

遺伝子増幅試薬収容部30も基板10aに凹部として形成され、複数の多型部位それぞれを挟んで結合する複数のプライマーを含む遺伝子増幅試薬を収容している。遺伝子増幅試薬収容部30はタイピング試薬収容部14及びミネラルオイル収容部16とともに、ノズルで貫通可能なフィルム20で封止されている。遺伝子増幅試薬収容部30にはPCR

10

20

30

40

50

反応試薬が2～300 μ L収容されている。タイピング試薬収容部14には図2A及び図2Bの実施例と同様に、タイピング試薬が10～300 μ L収容されており、ミネラルオイル収容部16には20～300 μ Lのミネラルオイルが収容されている。

【0048】

PCR終了液注入部31は増幅反応部32でPCR反応を終了した反応液とタイピング試薬とを混合するためのもので、基板10aに凹部として形成され、使用前の状態では空の状態を提供される。

増幅反応部32はPCR反応試薬とサンプルとの混合液に対して遺伝子増幅反応を行なわせるものである。

【0049】

増幅反応部32の部分の断面を拡大して図6に示す。図6は図5BのY-Y線位置での断面図である。図6に示されるように、増幅反応部32の液分注用ポート34a, 34bはノズル28の先端形状に対応した形状の開口36a, 36bをもち、ノズル28の先端に密着できるようにPDMS(ポリジメチルシロキサン)やシリコーンゴムなどの弾性素材で構成されている。

【0050】

増幅反応部32は熱伝導率をよくするためにその部分の基板10aの下面側が、図5C、図6に示されるように肉厚が薄くなっている。その部分の肉厚は、例えば0.2～0.3mmである。

サンプル注入部12は、この実施例では核酸抽出操作を施していない生体サンプルが注入されるが、使用前の状態ではまだサンプルが注入されない空の状態を提供される。

【0051】

図2A及び図2Bの実施例と同じく、タイピング試薬収容部14は複数の多型部位に対応して調製されたタイピング試薬を収容しており、ミネラルオイル収容部16は反応液の蒸発を防ぐためのミネラルオイルを収容している。

各プローブ配置部18も図2A及び図2Bの実施例と同じく、複数の多型部位のそれぞれに対応して蛍光を発するプローブを個別に保持しており、ミネラルオイル収容部16からのミネラルオイルが分注されたときにそのミネラルオイルを保持できる凹部となっている。

【0052】

基板10aの表面は、フィルム20上から、サンプル注入部12、PCR終了液注入部31、タイピング試薬収容部14、ミネラルオイル収容部16、遺伝子増幅試薬収容部30、増幅反応部32及びプローブ配置部18を被う大きさの剥離可能なシール材22で被われている。フィルム20とシール材22の材質及びその貼りつけ方法は図2A及び図2Bの実施例と同じである。

基板10aも底面側から蛍光を測定するために、低自蛍光性で光透過性の樹脂、例えばポリカーボネートなどの素材で形成されている。基板10の厚さは1～2mmである。

【0053】

この実施例の反応容器の使用方法を示す。

図7A及び図7Bに示されるように、使用時にシール材22が剥がされる。タイピング試薬収容部14、ミネラルオイル収容部16及び遺伝子増幅試薬収容部30を封止しているフィルム20は剥がされないでそのまま残っている。

サンプル注入部12にサンプル25がピペット26などにより0.5～2 μ L注入される。図2A及び図2Bの実施例では、注入されるサンプルは外部でPCR反応によりDNAが増幅されたサンプル反応液であるが、この実施例で注入されるサンプルは核酸抽出操作を施していない生体サンプル、例えば血液である。サンプルは核酸抽出操作を施した生体サンプルであってもよい。サンプル注入後、この反応容器が検出装置に装着される。

【0054】

検出装置において、図8A及び図8Bに示されるように、ノズル28がフィルム20を貫通して遺伝子増幅試薬収容部30に挿入されてPCR反応試薬が吸入され、PCR反応

10

20

30

40

50

試薬はそのノズル 28 によりサンプル注入部 12 に 5 ~ 20 μ L 移送される。サンプル注入部 12 ではノズル 28 による吸入と吐出が繰り返されることにより、サンプル反応液と PCR 反応試薬が混合されて PCR 反応液となる。

【0055】

次に、図 6 A に示されるように、その PCR 反応液がノズル 28 により増幅反応部 32 へ注入される。すなわち、ノズル 28 が増幅反応部 32 の一方のポート 34 a に挿入されてその PCR 反応液 38 が注入され、続いて増幅反応部 32 での反応中に PCR 反応液 38 が蒸発するのを防ぐために、ポート 34 a , 34 b にノズル 28 によりミネラルオイル 40 が注入されてポート 34 a , 34 b での PCR 反応液 38 の表面がミネラルオイル 40 で被われる。

10

【0056】

PCR 反応終了後、PCR 反応液がノズル 28 により回収されるが、このとき回収を容易にするために、図 6 B に示されるように、増幅反応部 32 の一方のポート 34 a からミネラルオイル 40 が注入される。反応終了後の PCR 反応液 38 a は他方のポート 34 b に押しやられる。そこで、そのノズル 28 が挿入され、PCR 反応液 38 a がノズル 28 に吸入される。ポート 34 a , 34 b はその開口 36 a , 36 b の形状がノズル 28 の形状に合わせて形成され、かつ弾性素材で形成されているので、ノズル 28 がポート 34 a , 34 b に密着して液漏れを防ぎ、PCR 反応液の注入と回収の操作が容易である。

ノズル 28 により増幅反応部 32 から回収された反応終了後の PCR 反応液 38 a は PCR 終了液注入部 31 に移送されて注入される。

20

【0057】

次に、ノズル 28 がフィルム 20 を貫通してタイピング試薬収容部 14 に挿入されてタイピング試薬が吸入され、タイピング試薬はそのノズル 28 により PCR 終了液注入部 31 に移送されて注入される。PCR 終了液注入部 31 ではノズル 28 による吸入と吐出が繰り返されることにより、PCR 反応液とタイピング試薬が混合される。

【0058】

その後、PCR 反応液とタイピング試薬との反応液がノズル 28 により各プローブ配置部 18 へ 0.5 ~ 4 μ L 分注される。各プローブ配置部 18 にはノズル 28 によりミネラルオイル収容部 16 からミネラルオイルが分注される。プローブ配置部 18 へのミネラルオイルの分注は、プローブ配置部 18 への反応液の分注前であってもよい。各プローブ配置部 18 ではミネラルオイルが反応液の表面を被い、検出装置のタイピング反応温度制御部での加熱を伴うタイピング反応時間中の反応液の蒸発を防止する。

30

各プローブ配置部 18 では反応液がプローブと反応して所定の SNP があればそのプローブから蛍光が発せられる。蛍光は基板 10 の裏面側から励起光を照射することにより検出する。

【0059】

以下、各反応試薬の組成を示して、本発明を詳細に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

PCR 反応試薬は既知のものであり、例えば特許文献 3 の段落 [0046] に記載されているような、プライマー、DNA ポリメラーゼ及び TaqStart (CLONTECH Laboratories 社製) を含む反応試薬を使用することができる。また、PCR 反応試薬には AmpDirect (島津製作所製) が混入されていてもよい。プライマーは、例えば、特許文献 3 の表 1 に記載されている SNP ID 1 ~ 20、配列番号を 1 ~ 40 などを使用することができる。

40

【0060】

タイピング試薬としてインベータ(登録商標)試薬を使用する。そのインベータ(登録商標)試薬としては、インベータ(登録商標)アッセイキット(Third Wave Technology 社製)を使用する。例えば、シグナルバッファー、フレットプローブ、構造特異的 DNA 分解酵素及びアレル特異的プローブを特許文献 3 の段落 [0046] に記載されているような濃度に調製されたものである。

【0061】

50

図9は本発明の反応容器を試薬キットとして用い、生体サンプルのSNPを検出するための簡易型反応容器処理装置の一実施例を示したものである。装置内に上下に一对のヒートブロック60と62が配置されて反応容器装着部を構成しており、本発明の反応容器41にサンプルが注入されたものが5枚平行に下側ヒートブロック60上に並べて設置される。これらのヒートブロック60, 62は、矢印で示されるY方向に移動することができる。

上側のヒートブロック62にはノズル28による液の移送や吸入、吐出の際に蓋が開くように開閉可能な窓が設けられている。

【0062】

下側のヒートブロック60は増幅反応部32の温度を所定の温度サイクルになるように制御する増幅反応温度制御部と、プローブ配置部18の温度をDNAとプローブとを反応させる温度に制御するタイピング反応温度制御部とを備えている。増幅反応温度制御部の温度は、例えば94、55及び72の3段階にその順に変化させられ、そのサイクルが繰り返されるように設定されている。タイピング反応温度制御部の温度は、例えば63に設定されている。

反応容器41として図2A及び図2Bの実施例のように増幅反応部を備えていないものを使用する場合には、増幅反応部の温度を制御する増幅反応温度制御部は不要である。

【0063】

またヒートブロック60の下部には蛍光検出を行なう検出器64が配置されており、検出器64は図の矢印X方向に移動してプローブ配置部18からの蛍光を検出する。ヒートブロック60には蛍光検出のために開口が設けられている。反応容器装着部によるプローブ配置部18のY方向移動と、検出器64のX方向移動により各プローブでの蛍光検出を行なう。

ノズル28による液の移送や吸入、吐出を行なうために、分注部として送液アーム66が設けられており、送液アーム66はノズル28を備えている。ノズル28はその先端に使い捨て可能なチップ70が着脱可能に装着される。

【0064】

ヒートブロック60, 62、蛍光検出部64及び送液アーム66の動作を制御するために、それらの近くに制御部118が配置されている。制御部118はCPUを備えて、動作のためのプログラムを保持している。制御部118はヒートブロック60, 62により実現されるタイピング反応部110や増幅部120の温度制御、蛍光検出部64の検出動作、及び分注部112の送液アーム66の分注動作を制御する。

反応容器41として図2A及び図2Bの反応容器のように遺伝子増幅反応部を備えていないものを使用する場合には、遺伝子増幅反応部の温度を制御する増幅部は必要ではなく、制御部118も増幅部の温度制御のための機能を備える必要がない。

【0065】

図10は検出器64を詳細に示したものである。検出器64は励起光源として473nmのレーザ光を発するレーザダイオード(LD)や発光ダイオード(LED)92を備え、そのレーザ光を反応容器41のプローブ配置部の底面に集光して照射する一对のレンズ94, 96を備えている。レンズ94はレーザダイオード92からのレーザ光を集光して平行光にするものであり、レンズ96は平行にされたレーザ光を反応容器41の底面に収束させて照射する対物レンズである。対物レンズ96はまた、反応容器41から発生する蛍光を集光するレンズとしても作用する。一对のレンズ94, 96の間にはダイクロイックミラー98が設けられており、ダイクロイックミラー98は励起光を透過させ、蛍光を反射させるように波長特性が設定されている。ダイクロイックミラー98の反射光(蛍光)の光路上にはさらにダイクロイックミラー100が配置されている。ダイクロイックミラー100は525nmの光を反射し605nmの光を透過するように波長特性が設定されている。ダイクロイックミラー100による反射光の光路上には525nmの蛍光を検出するようにレンズ102と光検出器104が配置され、ダイクロイックミラー100による透過光の光路上には605nmの蛍光を検出するようにレンズ106と光検出器10

10

20

30

40

50

8が配置されている。この2つの検出器104, 108による2種類の蛍光検出により、各プローブ配置位置に固定されたインベータ(登録商標)プローブに対応したSNPの有無と、そのSNPがホモ接合体であるかヘテロ接合体であるかが検知される。標識蛍光体としては、例えばFAM、ROX、VIC、TAMRA、Redmond Redなどを使用することができる。

【0066】

図10の検出器64は1光源による励起光で励起し、2波長の蛍光を測定するように構成されているが、検出器64としては2波長の蛍光測定のために異なる励起波長で励起できるように2光源を使用するように構成してもよい。

【0067】

本発明の反応容器処理装置を用いた診断装置は、図12に示されるように、本発明の反応容器のうちの遺伝子多型診断用反応容器を処理する反応容器処理装置200と、ディスク装置やドラム装置などの記憶装置からなり、特定の多型又は複数の多型の組合せについての診断値を記憶したデータベース202と、液晶ディスプレイやCRTなどの表示装置204と、反応容器処理装置200により検出された多型解析結果に基づいてデータベース202から診断値を読み出して表示装置204に表示するコンピュータからなる診断処理装置206とを備えている。

【産業上の利用可能性】

【0068】

本発明は種々の化学反応の測定のほか、例えば遺伝子解析の研究や臨床分野において、種々の自動分析に利用することができ、例えば、人間を初めとして、動物や植物のゲノムDNAの多型、特にSNP(一塩基多型)を検出することができ、さらにその結果を用いて病気罹患率の診断や、投与薬剤の種類と効果及び副作用との関係などの診断のほか、動物や植物の品種判定、感染症診断(感染菌の型判定)などを行なうのにも利用することができる。

【図面の簡単な説明】

【0069】

【図1】本発明を概略的に示すブロック図である。

【図2A】反応容器の第1の実施例の正面図である。

【図2B】反応容器の第1の実施例の平面図である。

【図3A】同実施例の反応容器を使用したSNP検出方法の工程の前半部を示す正面図である。

【図3B】同実施例の反応容器を使用したSNP検出方法の工程の前半部を示す平面図である。

【図4A】同実施例の反応容器を使用したSNP検出方法の工程の後半部を示す正面図である。

【図4B】同実施例の反応容器を使用したSNP検出方法の工程の後半部を示す平面図である。

【図5A】反応容器の第2の実施例を示す正面図である。

【図5B】反応容器の第2の実施例を示す平面図である。

【図5C】反応容器の第2の実施例を示す図5BのX-X線位置での拡大断面図である。

【図6A】同実施例での増幅反応部を反応液が注入された状態で図5BのY-Y線位置での拡大断面図として示す図である。

【図6B】同実施例での増幅反応部を反応液を回収する状態で図5BのY-Y線位置での拡大断面図として示す図である。

【図7A】同実施例の反応容器を使用したSNP検出方法の工程の前半部を示す正面図である。

【図7B】同実施例の反応容器を使用したSNP検出方法の工程の前半部を示す平面図である。

【図8A】同実施例の反応容器を使用したSNP検出方法の工程の後半部を示す正面図で

10

20

30

40

50

ある。

【図 8 B】同実施例の反応容器を使用した S N P 検出方法の工程の後半部を示す平面図である。

【図 9】本発明の反応容器を試薬キットとして用い、生体サンプルの S N P を検出するための簡易型反応容器処理装置の一実施例を示す概略斜視図である。

【図 10】同検出装置における検出器を示す概略構成図である。

【図 11】本発明が関係することのある S N P 検出方法を概略的に示すフローチャート図である。

【図 12】本発明の反応容器処理装置を用いた診断装置を概略的に示すブロック図である。

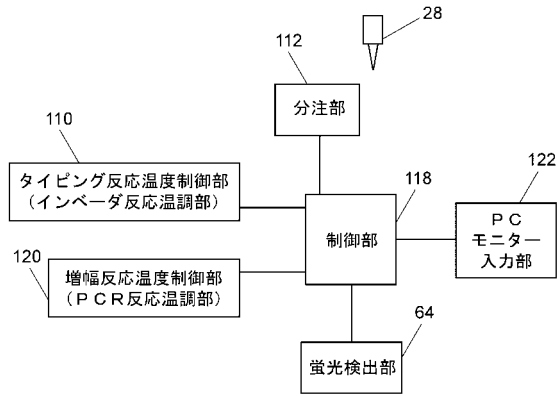
10

【符号の説明】

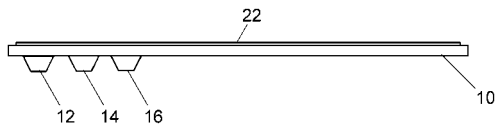
【 0 0 7 0 】

2	サンプル	
4	P C R 反応試薬	
6	インベータ(登録商標)試薬	
8	プローブ配置部	
10, 10a	基板	
12	サンプル注入部	
14	タイピング試薬収容部	
16	ミネラルオイル収容部	20
18	プローブ配置部	
20	フィルム	
22	シール材	
28	ノズル	
30	遺伝子増幅試薬収容部	
31	P C R 終了液注入部	
32	増幅反応部	
34a, 34b	増幅反応部のポート	
36a, 36b	ポートの開口	
41	反応容器	30
60, 62	ヒートブロック	
64	検出器	
66	送液アーム	
70	チップ	
200	反応容器処理装置	
202	データベース	
204	表示装置	
206	診断処理装置	

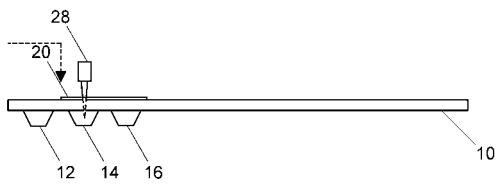
【図 1】



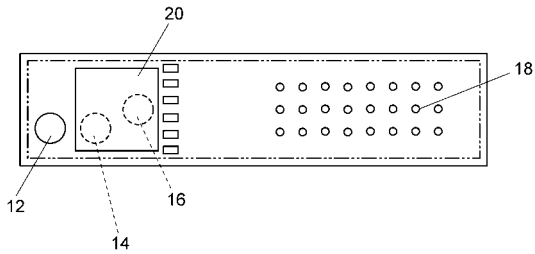
【図 2 A】



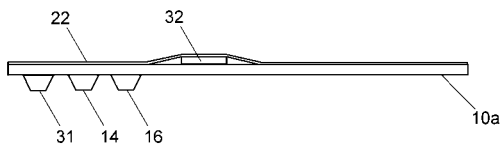
【図 4 A】



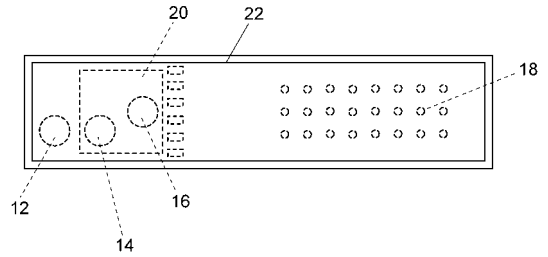
【図 4 B】



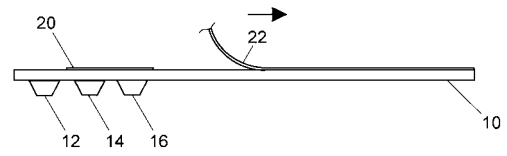
【図 5 A】



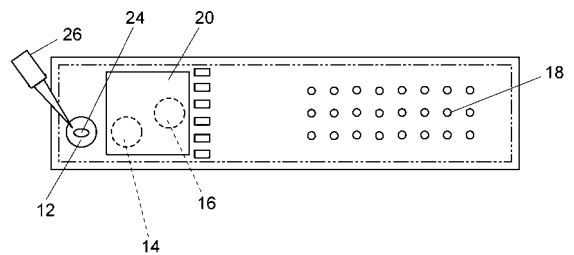
【図 2 B】



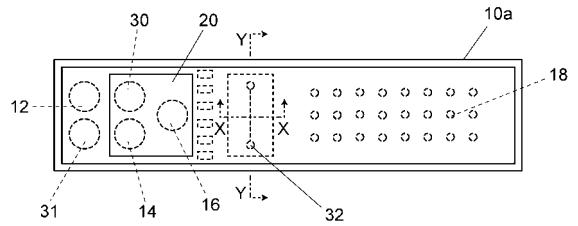
【図 3 A】



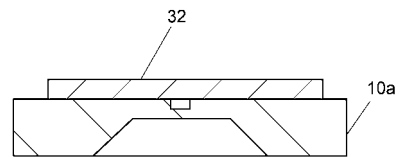
【図 3 B】



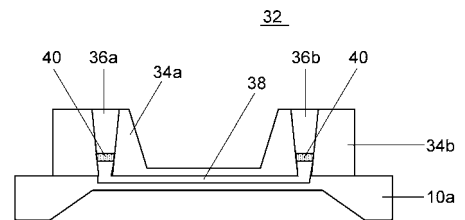
【図 5 B】



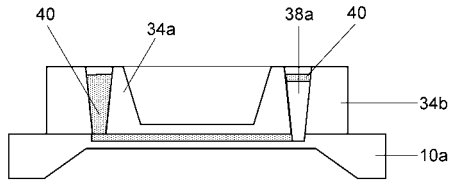
【図 5 C】



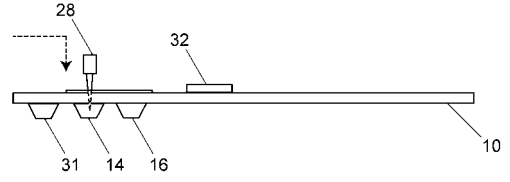
【図 6 A】



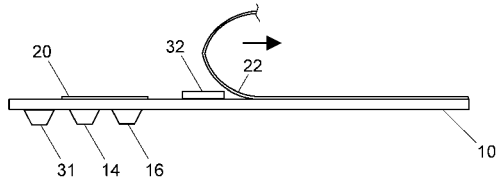
【図 6 B】



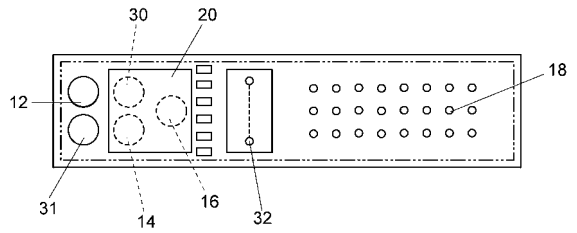
【図 8 A】



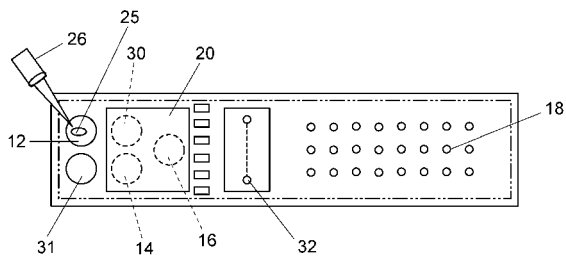
【図 7 A】



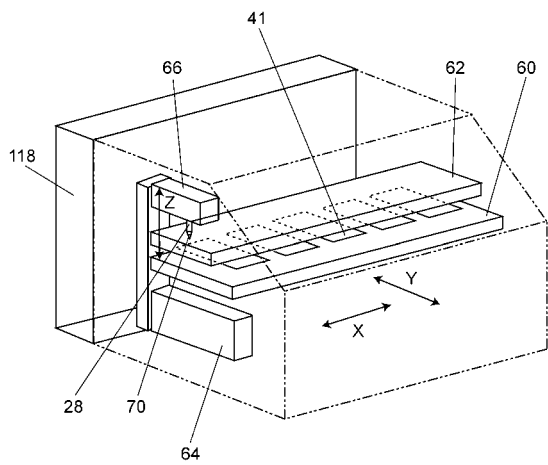
【図 8 B】



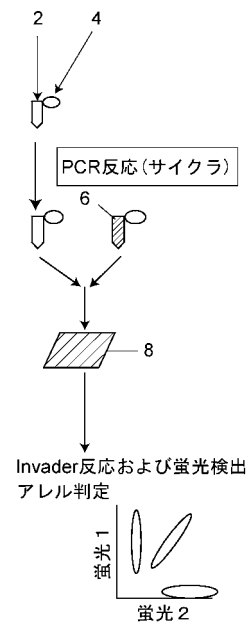
【図 7 B】



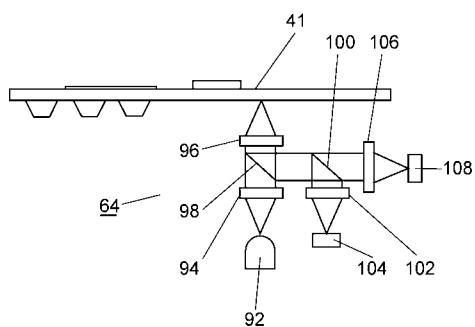
【図 9】



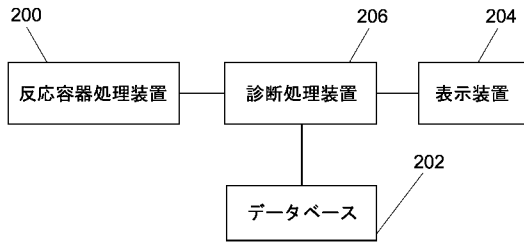
【図 11】



【図 10】



【図 12】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 G 0 1 N 35/00 (2006.01) G 0 1 N 35/00 B
 G 0 1 N 35/00 C

- (72)発明者 大西 洋三
 神奈川県横浜市鶴見区末広町1丁目7-22 独立行政法人理化学研究所 横浜研究所内
- (72)発明者 花房 信博
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内
- (72)発明者 緒方 是嗣
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内
- (72)発明者 此下 竜
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内
- (72)発明者 黒木 広幸
 東京都台東区台東1丁目5番1号 凸版印刷株式会社内
- (72)発明者 佐藤 里佳
 東京都台東区台東1丁目5番1号 凸版印刷株式会社内
- (72)発明者 今川 僚子
 東京都台東区台東1丁目5番1号 凸版印刷株式会社内

審査官 石丸 聡

- (56)参考文献 特開2003-070456(JP,A)
 特開平10-090186(JP,A)
 国際公開第03/027673(WO,A1)
 国際公開第92/001549(WO,A1)
 国際公開第92/001513(WO,A1)
 J. Clin. Microbiol., vol. 34, pages 3115-3119 (1996)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/09
 C12M 1/00
 CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
 JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)