(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2004 年9 月10 日 (10.09.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/077041 A1

(51) 国際特許分類[7]: G01N 27/416, 27/327, 33/53, 37/00, C12M 1/00, 1/34, C12Q 1/68

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/002205

(22) 国際出願日: 2004 年2 月25 日 (25.02.2004)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2003-049614 2003 年2 月26 日 (26.02.2003) JP
特願2004-044368 2004 年2 月20 日 (20.02.2004) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社 東芝 (KABUSHIKI KAISHA TOSHIBA) [JP/JP]; 〒1058001 東京都港区芝浦一丁目１番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 大内 真一 (O'UCHI, Shin-ichi) [JP/JP]. 舟木 英之 (FUNAKI, Hideyuki) [JP/JP]. 本郷 禎人 (HONGO, Sadato) [JP/JP]. 橋本 幸二 (HASHIMOTO, Koji) [JP/JP]. 源間 信弘 (GEMMA, Nobuhiro) [JP/JP]. 岡田 純 (OKADA, Jun) [JP/JP]. 高橋 匡慶 (TAKAHASHI, Masayoshi) [JP/JP].

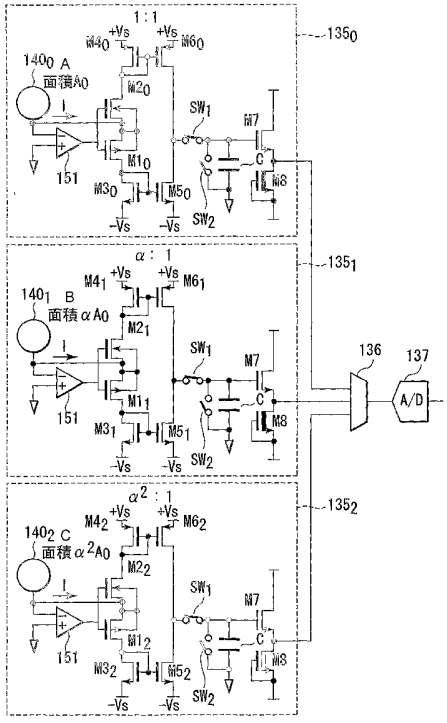
(74) 代理人: 鈴江 武彦, 外(SUZUYE, Takehiko et al.); 〒1000013 東京都千代田区霞が関３丁目７番２号 鈴榮特許綜合法律事務所内 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI,

/続葉有/

(54) Title: ANALYTIC CHIP FOR QUANTIFYING NUCLEIC ACID CONCENTRATION, ANALYTIC DEVICE FOR QUANTIFYING NUCLEIC ACID CONCENTRATION AND ANALYTIC METHOD FOR QUANTIFYING NUCLEIC ACID CONCENTRATION

(54) 発明の名称: 核酸濃度定量分析チップ、核酸濃度定量分析装置および核酸濃度定量分析方法



A...AREA A_0
B...AREA αA_0
C...AREA $\alpha^2 A_0$

(57) Abstract: A device having a plural number of working electrodes (141), each carrying a single nucleic acid probe having a nucleic acid complementary with a target nucleic acid which is immobilized thereon and being different from each other in sensor area, and a normalization circuit for normalizing detection signals obtained in the working electrodes (141) concerning respective sensor areas.

(57) 要約: 標的核酸と相補的な核酸を有する同一の核酸プローブが各々に固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の作用極（１４１）と、作用極（１４１）で得られた検出信号を各々のセンサ面積について正規化する正規化回路とを備える。

WO 2004/077041 A1

NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明　細　書

核酸濃度定量分析チップ、核酸濃度定量分析装置および核酸濃度定量分析方法

技術分野

本発明は，検体中に含まれる標的核酸の濃度を定量的に分析する核酸濃度定量分析チップ、核酸濃度定量分析装置および核酸濃度定量分析方法に関する。

背景技術

従来から、検体中に標的核酸が含まれるか否かを検出する核酸検出のためのＤＮＡチップが存在していた（特許文献１：特開平１０－１４６１８３号公報）。

しかしながら、遺伝子の発現解析を行う際には，検体中に含まれる低濃度の標的核酸の濃度を，広範囲のダイナミックレンジで高精度に測定することが必須となるが、前述のＤＮＡチップでは、十分な定量性およびダイナミックレンジが得られていたとはいえなかった。

発明の開示

本発明の目的は、核酸濃度を広範囲のダイナミックレンジで高精度に測定する核酸濃度定量分析チップ、核酸濃度定量分析装置および核酸濃度定量分析方法を提供することにある。

この発明の一の観点によれば、標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、前記核酸センサの第１の検出信号をセンサ面積について正規化する第１の正規化部とを具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析チップが

提供される。

また、本発明の別の観点によれば、標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、前記核酸センサの第１の検出信号をセンサ面積について正規化する第１の正規化部と、前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を前記センサ面積について正規化する第２の正規化部と、前記第１の正規化部の第１の出力信号電流を電圧変換する第１の電流電圧変換部と、前記第２の正規化部の第２の出力信号電流を電圧変換する第２の電流電圧変換部と、前記第１の電流電圧変換部の第１の出力電圧をＡ／Ｄ変換して第１のデジタルデータを生成し、前記第２の電流電圧変換部の第２の出力電圧をＡ／Ｄ変換して第２のデジタルデータを生成するＡ／Ｄ変換部と、前記第１のデジタルデータから第２のデジタルデータを減算する減算部とを具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析装置が提供される。

また、本発明の別の観点によれば、標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、前記核酸センサの第１の検出信号をセンサ面積について正規化する第１の正規化部と、前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を前記

センサ面積について正規化する第２の正規化部と、前記第１の正規化部の第１の出力信号電流を電圧変換する第１の電流電圧変換部と、前記第２の正規化部の第２の出力信号電流を電圧変換する第２の電流電圧変換部と、前記第１の電流電圧変換部の第１の出力電圧から前記第２の電流電圧変換部の第２の出力電圧を減算する減算部と、前記減算部の第３の出力電圧をＡ／Ｄ変換するＡ／Ｄ変換部とを具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析装置が提供される。

また、本発明の別の観点によれば、標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、前記核酸センサの第１の検出信号から前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を減算する減算部と、前記減算部の減算出力信号をセンサ面積について正規化する正規化部とを具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析チップが提供される。

また、本発明の別の観点によれば、標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、前記核酸センサの検出信号をセンサ面積について正規化し正規化信号を出力する第１の正規化部とを備えた核酸濃度定量分析チップと、前記正規化信号に基づき核酸濃度を算出する核酸濃度算出装置とを具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析装置が提供される。

また、本発明の別の観点によれば、標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサの検出信号を各々のセンサ面積について正規化して正規化信号を出力し、前記正規化信号に基づき核酸濃度を算出することを特徴とする核酸濃度定量分析方法が提供される。

図面の簡単な説明

図１は本発明の第１実施形態に係る核酸濃度定量分析装置の全体構成を示す図。

図２は同実施形態に係る核酸検出用チップの外観構成の変形例を示す図。

図３は同実施形態に係る核酸検出用チップの測定回路のブロック図。

図４は同実施形態に係るモジュールの詳細な構成の一例を示す図。

図５は同実施形態に係る改良したモジュールの詳細な構成を示す図

図６は同実施形態に係る核酸検出用チップの素子断面図の一例を示す図。

図７は同実施形態に係る作用極の電極面積の概念図。

図８は同実施形態に係るプローブ系列を用いた検出結果を示す図。

図９は同実施形態に係る核酸濃度定量分析装置の動作のフローチャート。

図１０は同実施形態に係る校正の具体的な処理の一例のフ

ローチャート。

図１１は同実施形態に係る電流値取得処理の詳細を示すフローチャート。

図１２は同実施形態に係る測定処理の詳細についてのフローチャート。

図１３は同実施形態に係る正規化を行うための回路の詳細な構成を示す図。

図１４は同実施形態に係る核酸濃度定量分析装置の変形例に係る核酸検出用チップの概念図。

図１５は同実施形態に係る減算回路を含む回路の詳細な構成例を示す図。

図１６は同実施形態に係る減算回路の変形例を示す図。

図１７は同実施形態に係るバックグラウンド測定用電極付チップを用いた分析処理フローを示す図。

図１８は同実施形態に係る電流値取得操作の詳細なフローチャート。

図１９は同実施形態に係るさらなる変形例に係る核酸検出用チップの概念図

図２０は同実施形態に係る飽和レベル校正用電極付チップを用いた分析処理フローチャート。

図２１は同実施形態に係る電流値およびビットパターン取得操作の詳細なフローチャート。

図２２は同実施形態に係る飽和レベル校正用電極付チップを用いた測定処理（ｓ２）の詳細な処理フローチャート。

図２３は同実施形態に係る３電極系の電極配置に関する変

形例の平面図。

図２４は同実施形態に係るさらに別の電極配置の変形例の平面図。

図２５は同実施形態に係る補償回路の構成の一例を示す図。

図２６は同実施形態に係る補償回路の一例を示す図。

図２７は同実施形態に係る核酸検出用チップの変形例を示す上面図。

図２８は同実施形態に係るチップ保持用カセットの斜視図。

図２９は同実施形態に係る飽和レベル、バックグラウンドレベル、閾値決定アルゴリズムの一例のフローチャートを示す図。

図３０は同実施形態に係るモジュールの変形例を示す図。

図３１は同実施形態に係る電流検出回路及び正規化回路の概念図。

図３２は本発明の第２実施形態に係るバックグラウンド電流の問題点を説明するための図。

図３３は同実施形態に係る問題点を解決するための回路構成の一例を示す図。

図３４は同実施形態に係る電流電圧変換回路の一例を示す図。

図３５は同実施形態に係る電流電圧変換回路の一例を示す図。

図３６は同実施形態に係る電流電圧変換回路の一例を示す図。

図３７は同実施形態に係る電流電圧変換回路の一例を示す

図。

図３８は本発明の第３実施形態に係るモジュールの構成の一例を示す図。

図３９は本発明の第４実施形態に係るモジュールの構成の一例を示す図。

図４０は本発明の第５実施形態に係るモジュールの構成の一例を示す図。

図４１は本発明の第６実施形態に係るモジュールの構成の一例を示す図。

図４２は同実施形態に係るキャパシタC_bの構成の一例を示す図。

図４３は本発明の第７実施形態に係るオーバーラップファクターγを説明するための図。

図４４は本発明の第８実施形態に係る核酸濃度定量分析チップの要部断面を示す図。

図４５は同実施形態に係る核酸濃度定量分析チップの別の一例を示す模式図。

図４６は同実施形態に係る核酸濃度範囲を説明するための図。

図４７は同実施形態に係る検出グラフをより詳細に示した図。

図４８は同実施形態に係る核酸プローブ固定化領域面積を変化させたグラフ例を示す図。

図４９乃至８１は同実施形態に係るチップの構成例を示す図。

図８２乃至８５は上記実施形態に係る核酸濃度定量分析装置の機能ブロックの一例を示す図。

発明を実施するための最良の形態

以下、図面を参照しながら本発明の実施形態を説明する。

（第１実施形態）

図１は本発明の第１実施形態に係る核酸濃度定量分析装置１の全体構成を示す図である。図１に示すように、核酸濃度定量分析装置１は、分析装置筐体１１と核酸検出用チップ１２からなる。この核酸濃度定量分析装置１は、分析装置筐体１１に核酸検出用チップ１２を装着して核酸検出用チップ１２にアレイ状に設けられたセンサ１２ａから検出される核酸の濃度を定量分析する。

分析装置筐体１１は、送液／温調機器１１１と、チップ／筐体インタフェース１１２と、演算処理装置１１３と、制御機構１１４と、ユーザインタフェース１１５と、記憶装置１１６からなる。送液／温調機器１１１は、送液機器と温調機器からなる。送液機器は、核酸検出用チップ１２への緩衝剤や挿入剤などの薬液の送液と、核酸検出用チップ１２からの薬液の廃液を行う。温調機器は、核酸検出用チップ１２の各センサ１２ａの温度調整を行う加熱機器や冷却機器などからなる。温調機器は、図示しない温度センサの検出温度に基づき所望の温度に核酸検出用チップ１２を調整する。

チップ／筐体インタフェース１１２は、核酸検出用チップ１２内の電子回路に電気的に接続される。このチップ／筐体インタフェース１１２は、核酸検出用チップ１２から得られ

る各種電気信号を演算処理装置１１３に出力する。

演算処理装置１１３は、ユーザインタフェース１１５、記憶装置１１６とともに例えばパーソナルコンピュータと同等の機能を実現する。演算処理装置１１３はＣＰＵなどからなる。ユーザインタフェース１１５はキーボード、マウスなどの入力装置、ディスプレイなどからなる。この演算処理装置１１３に格納されたプログラムが例えば記憶装置１１６から読み出され実行される。これにより、演算処理装置１１３が測定値の各種分析処理を行う分析手段として機能する。その結果、測定ピーク値のフィッティング等の処理を実行することができる。得られた分析処理データは記憶装置１１６に格納される。

図２は本実施形態で用いられる測定回路を集積した低雑音測定の可能な核酸検出用チップ１２の外観構成の変形例を示す図である。図１では、センサ１２ａがアレイ状に設けられている場合を示した。図２の変形例の場合、核酸検出用チップ１２は直線型のチップ形状を有する。チップ本体１２１の表面には直線状の溝部が設けられる。この溝部が薬液などを収容し流すための流路１２２として機能する。この流路１２２は、検体溶液とプローブ核酸とのハイブリダイゼーション反応などの電気化学反応を生じさせるセルとして機能する。チップ本体１２１、流路１２２ともに、薬液やエアの流れる方向に沿って細長の形状を有している。チップ本体１２１の長手方向の長さは２５～５０ｍｍ程度であり、長手方向と垂直、すなわち薬液やエアの流れる方向とは垂直な方向の幅は

５ｍｍよりも小さい。流路１２２内には、複数の電気分解用電極１２３が直線状に配列されている。これら電気分解用電極１２３は、例えば２ｍｍ程度の間隔をもってほぼ等間隔に４つずつ配列されている。これら複数の電気分解用電極１２３の各々が各種電気化学反応を検出するセンサとして機能する。電気分解用電極１２３は、後述するように作用極、対極、参照極の組からなる。代替的には、例えば１つの対極あるいは１つの参照極を、複数の作用極に対して配置してもよいし、作用極、対極及び参照極を１つずつ対応させて配置してもよい。

この流路１２２の薬液やエアの最上流側を流路端１２２ａとすると、流路端１２２ａから流路端１２２ｂに向けて薬液やエアが流れる。もちろん、測定手法によっては、流路端１２２ｂから流路端１２２ａに薬液やエアを逆流させてもよいが、いずれの場合も薬液やエアは一旦から他端に長手方向に沿って流れる。

チップ本体１２１の端部１２１ａ及び１２１ｂには、複数のボンディング用パッド１２４が設けられている。このボンディング用パッド１２４の各々は、電気分解用電極１２３にチップ本体１２１内で電気的に接続されている。このボンディング用パッド１２４にチップ－筐体インタフェース１１２を電気的に接続して測定を行う。これにより、ボンディング用パッド１２４から電気分解用電極１２３で検出される電気信号を取り出し、分析装置筐体１１に出力することができる。

一般的に、核酸を検出するための例えばＤＮＡチップにお

いては、チップ上のセンサとして機能する電極表面上に溶液を流入流出する操作、すなわち送液操作を行わなければならない。この送液を行う流路についてはその容量が多いと検体の総量が多くなってしまう。チップ上にセンサを２次元状のアレイとして配置する場合、流路を蛇行させたり、幅広の流路を設けなければならない。蛇行した細い流路は、上流側から下流側へ流れる薬液にかかる流体抵抗が大きくなり、送液の効率を著しく損ねる。そこで、図２のように、チップ本体１２１、流路１２２を直線型にする。また、この流路１２２に沿って直線状にセンサを配置することにより，送液効率の低下や測定値の局地的なばらつきを回避し得る。

更に、プローブ核酸をチップ上に滴下するのに使用するスポッティングロボットの溶液吐出口も、流路１２２内の電気分解用電極１２３の４つの集合体毎に一次元的に配置する。これにより、一回の位置合わせですべてのプローブ核酸を滴下することができる。その結果、チップ作製過程が効率化し得る。

代替的には、この図２に示す直線状の核酸検出用チップ１２は、例えば図２８に示すように、核酸検出用チップ１２を保持するチップ保持用カセット１２０の溝部１２０ａに、それぞれ等間隔に複数平行に核酸検出用チップ１２をはめ込み固定する。そして、チップ表面を溶液封止用のゴムリングを介してガラス板などで封止する。

図３は核酸検出用チップ１２の測定回路のブロック図である。図３に示すように、チップ１２内には、インタフェース

１３１と、チップ制御回路１３２と、測定信号発生回路１３３と、Ｄ／Ａコンバータ１３４と、複数のモジュール１３５と、セレクタ１３６と、Ａ／Ｄコンバータ１３７が集積されている。

インタフェース１３１は、チップ外部との電気信号の送受を行う。チップ制御回路１３２は、チップ１２外部からインタフェース１３１を介して与えられた測定開始の指令に基づき測定信号発生回路１３３とセレクタ１３６を制御する。測定信号発生回路１３３は、チップ制御回路１３２の指令に基づき電圧掃引を行う。具体的には、測定信号発生回路１３３はデジタルの電圧掃引信号を発生させ、Ｄ／Ａコンバータ１３４に出力する。

Ｄ／Ａコンバータ１３４は、デジタル電圧掃引信号をアナログ測定信号にＤ／Ａ変換して複数のモジュール１３５に出力する。モジュール１３５には、様々な測定回路が集積されている。この測定回路は、例えばポテンシオ・スタットなどの３電極系、溶液系に与える電圧を制御する回路、プローブから出力される電流をコピーし電圧に変換する回路、バックグラウンド信号減算用回路などである。

モジュール１３５の構成は、測定の手法や測定の目的などに応じて種々変更される。例えば、バックグラウンド信号減算用回路を含めずに、減算に相当する処理を演算処理装置１３が担当するようにしてもよい。すなわち、この場合、モジュール１３５内には、通常のセンサと、バックグラウンドレベル検出用センサとを含むセンサ１２ａと、センサ１２ａ

の出力を正規化する正規化回路と、正規化回路の正規化出力を電流電圧変換する電流電圧変換回路とを配置する。そして、電流電圧変換回路の出力電圧をセレクタ１３６，Ａ／Ｄコンバータ１３７、インタフェース１３１を介して核酸検出用チップ１２外に測定データとして出力する。この測定データはさらに、チップ／筐体インタフェース１１２を介して演算処理装置１１３に出力される。演算処理装置１１３は、このチップ／筐体インタフェース１１２からの測定データのうち、通常のセンサからの通常測定データから、バックグラウンドレベル検出用センサからのバックグラウンド測定データを減算する。

モジュール１３５を用いて遺伝子の検出をする場合は、以下の手順を踏む。まず初めに、モジュール１３５内部に設置されたセンサ１２ａを検体に浸漬させ、ハイブリダイゼーション反応を行う。この反応を所定時間行った後、挿入剤が添加された緩衝液にセンサ１２ａを浸漬させ電気分解を行う。電気分解を行う際は、セル内部に浸漬された所定の電極（対極）にＤ／Ａコンバータ１３４からアナログの電圧を入力する。電圧印加側の電極（対極、参照極）とは別に、検出用回路がプローブ核酸の固定化されたセンサ用の検出側電極（作用極）に接続されている。上記電圧入力の再に、所定の掃引電圧を入力するのと同時に、この検出用回路が、挿入剤の電気分解に起因する電流を検出する。この検出用回路は電流電圧変換を行い、検出信号として検出結果を随時セレクタ１３６に出力する。セレクタ１３６は、チップ制御回路１３２の

制御に基づき複数のモジュール１３５のアレイをスキャンする。このスキャンにより得られた時分割多重化された検出信号をＡ／Ｄコンバータ１３７に出力する。Ａ／Ｄコンバータ１３７は、測定信号をＡ／Ｄ変換してデジタル検出信号としてインタフェース１３１を介してチップ外部に出力する。

このように、センサ表面が測定対象である検体溶液に浸漬されると、核酸検出用チップ１２内部では、電気分解測定を行いチップ外部に送出するまでの操作が図３に示す核酸検出用チップ１２内部のハードウェアで行われる。また、チップ外部に取り出されたデータからピークの抽出、閾値との比較、ビットパターンの取得、数表との照合による検体に含まれる拡散濃度の出力までの作業は、図１の分析装置筐体１１内の演算処理装置１１３においてソフトウェア的に行われる。

図４はモジュール１３５の詳細な構成の一例を示す図である。このモジュール１３５は、端子Ｉに入力される掃引電圧に対し、演算増幅器１５２の反転入力端子に接続される抵抗R_sおよびR_fを用いて参照極１４３の電圧を負帰還させることにより、セル内の電極や溶液などの各種条件の変動によらずに溶液中に所望の電圧を印加する３電極方式のポテンシオ・スタットである。

このポテンシオ・スタットは、作用極１４１に対する参照極１４３の電圧が所定の特性に設定されるように対極１４２の電圧を変化させることにより、挿入剤の酸化電流を電気化学的に測定する。以下、作用極１４１，対極１４２および参照極１４３の電極の組を３電極系１４０と称する。

作用極１４１は、標的核酸とは相補的な標的相補核酸を有するプローブ核酸１００が固定化され得るセンサ用の電極であり、セル内の反応電流を検出する電極である。対極１４２は、作用極１４１との間に電圧を印加してセンサに電流を供給する電極である。参照極１４３は、参照極１４３と作用極１４１との間の電圧を所定の電圧に制御すべく、その電極電位を掃引電圧の入力に負帰還させる電極である。この参照極１４３により、セル内の各種検出条件に左右されない精度の高い酸化電流検出が行える。

Ｄ／Ａコンバータ１３４からの電圧掃引信号が配線１５２ｂを介して参照極１４３の参照電圧制御用の演算増幅器１５２の反転入力端子に入力される。

配線１５２ｂには抵抗R_sが接続されている。演算増幅器１５２の非反転入力端子は接地され、出力端子には配線１４２ａが接続されている。

配線１４２ａは核酸検出用チップ１２上の対極１４２に接続されている。対極１４２が複数設けられている場合には、各々の対極１４２に対して並列に配線１４２ａが接続される。これにより、１つの電圧パターンにより複数の対極１４２に同時に電圧を印加することができる。また、電極間電圧をより正確に制御する場合は、演算増幅器１５２および１５３で構成される一式の帰還回路をセンサ用の１つの作用極１４１に対して配置する。この場合、複数の抵抗R_sがＤ／Ａコンバータ１３４の出力に対し並列に接続される。

参照極１４３は配線１４３ａにより演算増幅器１５３の非

反転入力端子に接続されている。演算増幅器１５３の反転入力端子は、その出力端子に接続された配線１５３ｂと配線１５３ａにより短絡している。配線１５３ｂには抵抗R_fが設けられている。配線１５３ｂは配線１５２ｂの抵抗R_sと演算増幅器１５２の反転入力端子の間に接続されている。これにより、電圧掃引信号V_{in}に、参照極１４３の電圧をフィードバックさせた電圧を演算増幅器１５２に入力させる。この入力電圧を反転増幅した出力に基づき参照極１４３と作用極１４１の間の電圧が制御される。

作用極１４１は配線１４１ａにより演算増幅器１５１の反転入力端子に接続されている。演算増幅器１５１の非反転入力端子は接地される。演算増幅器１５１の出力端子に接続された配線１５１ｃと配線１４１ａとは配線１５１ａにより接続されている。配線１５１ｃには抵抗R_wが設けられている。この演算増幅器１５１の出力側の端子Ｏの電圧をV_w、電流をI_wとすると、$V_w = I_w \cdot R_w$が成立する。この端子Ｏから得られる電気化学信号はセレクタ１３６に出力される。

図５は図４に示すモジュール１３５を改良したモジュール１５０の詳細な構成を示す図である。図４と共通する構成には同一符号を付し、その詳細な説明は省略する。対極１４２及び参照極１４３からなる電圧印加側の回路構成は図４と共通する。集積度向上のため、作用極１４１側で抵抗器を使用せず、作用極１４１側に設けられた抵抗R_wに代えて演算増幅器１５１と６つのトランジスタＭ１～Ｍ６からなる回路からなる電流検出回路を用いている。Ｍ１はＰＭＯＳトランジ

スタ、Ｍ２はＮＭＯＳトランジスタである。

図４に示したモジュール１３５では、回路の集積化を効率的に行うのに不利な要素が含まれている。この不利な要素とは、抵抗R_wである。抵抗R_wと演算増幅器１５１で構成されるトランスインピーダンス増幅回路は、極一般的な構成である。すなわち、このトランスインピーダンス増幅回路は、作用極１４１の電位を溶液、回路等周囲の条件にかかわらず一定に保つ動作を実現し、かつ作用極１４１からの電流を作用極１４１の電位を変化させることなく自由に取り出すことを可能にする回路であり、電気分解測定に一般的に用いられる。作用極１４１から取り出される電流が微弱であり、これを高精度に測定しようとする場合、この抵抗は、素子自身が発生する雑音が低いものを選ばなければならなく、かつその抵抗値も大きくなければならない。この要件を満たす抵抗を集積回路上で実現しようとすると、素子面積が大きくなる等により、集積回路の特徴を生かした実現が困難となる。よって、抵抗素子はチップ外部に単体素子で実装されている場合が多い。この場合、装置全体が大きくなり、更に測定の同時性が損なわれるなどの不都合が生じる。

そこで、本実施形態の場合、図５に示すように、抵抗素子を用いない電流検出回路が提供される。図５において、演算増幅器１５１の出力端子はトランジスタＭ１及びＭ２のゲートに接続される。また、作用極１４１に接続された配線１５１ａは、トランジスタＭ１のソース及びトランジスタＭ２のソースに接続される。また、トランジスタＭ１及びＭ２のボ

ディーはともに配線１５１ａに短絡される。トランジスタＭ１のドレインはトランジスタＭ３のドレインに接続される。トランジスタＭ３のソースは－Ｖｓの負電源に接続され、ゲートはトランジスタＭ５のゲート及びトランジスタＭ３のドレインに短絡されている。これにより、トランジスタＭ３とＭ５がカレントミラー構造をなしている。

トランジスタＭ５のソースは－Ｖｓの負電源に接続され、ドレインはトランジスタＭ６のドレインに接続されている。トランジスタＭ６のゲートはトランジスタＭ４のゲートおよびドレインと短絡されている。また、トランジスタＭ４とＭ６のソースは、＋Ｖｓの正電源に接続される。これにより、トランジスタＭ４とトランジスタＭ６がカレントミラー構造をなしている。

電流Ｉが図５中矢印の方向、すなわち作用極１４１から電流検出回路側に流れる場合、トランジスタＭ５に流れる電流が出力側に取り出される。逆に、同図矢印と逆方向、すなわち電流検出回路側から作用極１４１側に電流が流れる場合は、トランジスタＭ６を流れる電流が取り出される。その電流は電流計１５４で計測される。

このような構成において、トランジスタＭ１からＭ６までのそれぞれのトランスコンダクタンスをそれぞれβ_1，β_2，β_3，β_4，β_5，β_6とすると、良好な線形性を成立させるためには、$\beta_1 = \beta_2$，および$\beta_3 = \beta_4$，$\beta_5 = \beta_6$が成立することが必要である。なお、$\beta_3 = \beta_5$，$\beta_4 = \beta_6$が成立する場合は，測定するもとの電流と出力される電流との比が

１：１となる。測定電流を増幅したい場合には、β_3：β_5＝１：Ｂ、β_4：β_6＝１：Ｂとする。これにより、１：Ｂの増幅率が現される。すなわち、ＭＯＳＦＥＴのゲート長およびゲート幅をＬ，ｗとし、トランジスタＭ１～Ｍ６（ＭＯＳＦＥＴ）のゲート長を$Ｌ_1$～$Ｌ_6$、ゲート幅を$ｗ_1$～$ｗ_6$とすると、（$ｗ_3$／$Ｌ_3$）：（$ｗ_5$／$Ｌ_5$）＝１：Ｂ，（$ｗ_4$／$Ｌ_4$）：（$ｗ_6$／$Ｌ_6$）＝１：Ｂと設計すればよい。なお、本明細書において、増幅は、１倍を超える倍率で増幅する場合のみならず、１倍で増幅する場合も含まれるものとする。

この図５に示す回路動作を酸化電流の観測を例にとり説明する。

作用極１４１で酸化が起こるとき、酸化電流は作用極１４１から電流検出回路側に流れ込む。このときに生ずる電圧降下により、配線１５１ａ側の電位が上昇する。そして、演算増幅器１５１の出力端子の電位は演算増幅器により逆に大きく下げられ、トランジスタＭ１がオン状態となる。これにより、トランジスタＭ３に電流が流れ、配線１５１ａの電位は負帰還がかかり接地電位に固定される。一方、トランジスタＭ３を流れる電流はトランジスタＭ５にコピーされる。このトランジスタＭ５を流れる電流は電流計１５４で計測可能である。

還元電流が観測される場合には、酸化電流の場合とは正負が逆の特性が作用極１４１側の電流検出回路で生じる。すなわち、配線１５１ａ側の電位が電流によって生ずる電圧降下によって、演算増幅器１５１の非反転端子の電位に対して下

げられ、トランジスタＭ２がオン状態になる。これにより、トランジスタＭ４に電流が流れる。このトランジスタＭ４に流れる電流はトランジスタＭ６にコピーされる。このトランジスタＭ６を流れる電流は電流計１５４で自由に取り出し可能である。

このように、還元電流観測の場合は、酸化電流観測におけるトランジスタＭ１、Ｍ３およびＭ５の動作と逆特性で同じ動作がトランジスタＭ２、Ｍ４およびＭ６で行われる。これにより、酸化および還元電流の双方の電流計測が可能となる。

なお，トランジスタＭ１とＭ２のボディーを短絡する場合には、Ｎ型基板のプロセスの場合にはＰＭＯＳを、Ｐ型基板のプロセスの場合にはＮＭＯＳをそれぞれ完全に素子分離する必要がある。これはプロセスによっては実現可能であるが、必ずしも完全に分離することが必要ではない。たとえば、Ｎ型基板Ｐウェルプロセスの場合、ＰＭＯＳのボディーを完全に分離することは難しい。この場合、トランジスタＭ１のボディーは正電源に直結される。この回路でも同等の回路機能が実現される。さらに、トランジスタＭ２のボディーをも負電源に直結しても同等の回路機能が実現される。ただし、この場合，$\beta_3=\beta_4$，$\beta_5=\beta_6$を出来る限り正確に実現するのが望ましい。

図６は作用極１４１を含む核酸検出用チップ１２の素子断面図の一例を示す図である。図６に示すように、下地であるＳｉ基板１６１には、ＬＳＩ化された回路が標準的なＣＭＯＳプロセスを経て作製される。

Ｓｉ基板１６１には、絶縁膜、半導体膜、金属膜などからなる回路が形成されている。Ｓｉ基板１６１中にはウェル１６２が形成されている。Ｓｉ基板１６１表面には、個々の素子間を分離するフィールド酸化膜１６３が形成されている。ウェル１６２の各々の中には、ウェル１６２よりも浅い拡散層１６６ａ及び１６６ｂが形成されている。フィールド酸化膜１６３の上面を含め、Ｓｉ基板１６１上に全面にゲート酸化膜１６５が形成されている。拡散層１６６ａ及び１６６ｂの間であってゲート酸化膜１６５上にはゲート電極１６７が形成されている。

さらにこのゲート酸化膜１６５の上面及びゲート電極１６７の上面及び側面を覆うように、層間絶縁膜１６８が形成されている。この層間絶縁膜１６８中には、ゲート電極１６７に電気的に接続するように、ＡｌやＣｕなどの金属からなる第１コンタクトプラグ169_1及び第１層配線169_2が、層間絶縁膜１６８上まで延在して形成されている。層間絶縁膜１６８の上には、第１コンタクトプラグ169_1及び第１層配線169_2の上面及び側面を含めてＴＥＯＳなどにより層間絶縁膜１７０が形成されている。

この層間絶縁膜１７０中には、第１層配線169_2に電気的に接続するように、ＡｌやＣｕなどの金属からなる第２コンタクトプラグ171_1及び第２層配線171_2が層間絶縁膜１７０の上まで延在して形成されている。層間絶縁膜１７０の上には、第２コンタクトプラグ171_1及び第２層配線171_2の上面及び側面を含めて、層間絶縁膜１７２が形成

されている。

層間絶縁膜１７２には、第２層配線１７１$_2$に電気的に接続するように、溝部（以下、小溝部と称する）が形成されている。図６では小溝部は１つしか設けられていないが、実際には電極数や電極群の数に応じて複数設けられる。この小溝部底面以外の層間絶縁膜１７２の表面および小溝部側面には、パッシベーション膜１９１が層間絶縁膜１７２を覆うように形成されている。小溝部外のパッシベーション膜１９１の上には、小溝部から所定の距離離れて他の小溝部と仕切るための酸化膜やフォトレジスト膜などからなる絶縁膜１９４が形成されている。この絶縁膜１９４により仕切られた溝部（以下、大溝部と称する）には、小溝部底面から側面さらには小溝部外のパッシベーション膜１９１表面まで延在するようにＴｉ電極１９２およびＡｕ電極１９３が順次積層して埋め込み形成されている。このＡｕ電極１９３上にプローブ核酸１００が固定化される。

次に、上述した核酸検出用チップ１２の製造方法を説明する。

まず、ＬＯＣＯＳプロセスを用いてＳｉ基板１６１の一部に例えば８００ｎｍの膜厚のフィールド酸化膜１６３を形成する。次いで、このフィールド酸化膜１６３をマスクとして不純物イオン注入及び拡散などの工程を経てＳｉ基板１６１の表面にウェル１６２を形成する。次いで、Ｓｉ基板１６１及びフィールド酸化膜１６３の表面を酸化して例えば５０ｎｍの膜厚のゲート酸化膜１６５を形成する。その後、さらに

このゲート酸化膜１６５上に例えば５００ｎｍの膜厚のポリシリコン膜を形成する。次に、素子形成領域上のポリシリコン膜を選択的に除去して素子形成領域上にポリシリコン膜を選択的に残存させる。この選択的に残存したポリシリコン膜はゲート電極１６７として機能する。次に、素子形成領域上に選択的に残存させたゲート電極１６７をマスクとして不純物イオン注入及び拡散などの工程を経てウェル１６２中に拡散層１６６ａ及び１６６ｂを形成する。この拡散層１６６ａ及び１６６ｂとゲート電極１６７により、拡散層１６６ａ及び１６６ｂをソースあるいはドレインとするトランジスタが形成される。

次に、装置全面に例えば１５５０ｎｍの膜厚のＢＰＳＧなどの層間絶縁膜１６８を形成する。そして、この層間絶縁膜１６８中に拡散層１６６ａに貫通するようにコンタクトを形成する。

次に、このコンタクトが充填するように層間絶縁膜１６８上に例えば８００ｎｍの膜厚のＡｌ－Ｓｉ－Ｃｕなどからなる金属膜を形成する。この金属膜を選択的に除去することにより拡散層１６６ａに電気的に接続される第１コンタクトプラグ169_1及び第１層配線169_2が形成される。

次に、この第１コンタクトプラグ169_1及び第１層配線169_2の上面及び側面を含め、層間絶縁膜１６８上に例えば１０５０ｎｍの膜厚のＴＥＯＳなどの層間絶縁膜１７０を形成する。そして、この層間絶縁膜１７０中に第１層配線169_2に貫通するようにコンタクトを形成する。そして、こ

のコンタクトが充填するように層間絶縁膜１７０上に例えば１０００ｎｍの膜厚のＡｌ－Ｓｉ－Ｃｕなどからなる金属膜を形成する。この金属膜を選択的に除去することにより第１層配線169_2に電気的に接続される第２コンタクトプラグ171_1及び第２層配線171_2が形成される。

次に、この第２コンタクトプラグ171_1及び第２層配線171_2の上面及び側面を含め、層間絶縁膜１７０上に例えばＯｎ－Ａｌ　ＰＳＧなどからなる例えば１０５０ｎｍの膜厚の層間絶縁膜１７２を形成する。そして、この層間絶縁膜１７２中に第２層配線171_2に貫通するようにコンタクトを形成する。そして、このコンタクトの底面および側面を覆い、また層間絶縁膜１７２表面まで延在するように、例えば１００ｎｍの膜厚のＯＰＳｉＮからなるパッシベーション膜１９１を形成する。そして、このパッシベーション膜１９１のうち、小溝部底面に形成されたものを選択的に除去する。これにより、第２層配線171_2表面が露出する。

次いで、この第２層配線171_2を覆い、かつ小溝部底面および側面、さらには小溝部外のパッシベーション膜１９１表面まで例えば１００ｎｍの膜厚のＴｉ膜および例えば２００ｎｍの膜厚のＡｕ膜を順次積層形成する。そして、小溝部外のパッシベーション膜１９１表面に形成された部分をパターニングする。その結果、小溝部底面および側面、さらにはパッシベーション膜１９１表面の一部まで延在したＴｉ電極１９２およびＡｕ電極１９３が形成される。

さらに、これらＴｉ電極１９２およびＡｕ電極１９３の上

面及び側面を含めて、パッシベーション膜１９１の上に絶縁膜１９４を形成する。そして、この絶縁膜１９４上をＴｉ電極１９２およびＡｕ電極１９３が露出するようにパターニングして選択的に除去する。これにより、大溝部が形成される。

なお，図６においては小溝部外のＡｕ／Ｔｉ膜に絶縁膜１９４が掛からないようにパターニングする例が示されているが、この限りではない。Ａｕ／Ｔｉ膜に掛かるように絶縁膜１９４をパターニングし、残存部分でセンサ用電極の面積を決定してもよい。

また、絶縁膜１９４の形成およびパターニングを行った後、大溝部にＴｉ電極１９２およびＡｕ電極１９３を形成してもよい。

絶縁膜１９４で仕切られる大溝部がセルとして機能する。すなわち、この大溝部に検体溶液２００が滴下され、さらには緩衝剤、エア、挿入剤などが導入されることにより、Ａｕ電極１９３上で電気化学反応が生じる。

また、この絶縁膜１９４のほかにパッキン、Ｏリングなどを用いて検体溶液２００、緩衝剤、エア，挿入剤を導入する領域を確保してもよい。

このように、図６は作用極１４１を含む核酸検出用チップ１２の断面構造を示したが、対極１４２および参照極１４３についても同様の断面構造をなす。この場合、対極１４２や参照極１４３が作用極１４１と同じ大溝部に互いに離間して配置される構成をなす。対極１４２や参照極１４３の場合、Ａｕ電極１９３上にプローブ核酸１００を固定化させる必要

は無い。もちろん、作用極１４１として用いる場合であっても、利用目的に応じてプローブ核酸１００を固定化させずに利用してもよい。また、測定目的に応じて、各電極の面積を種々変更することができる。

図７は本実施形態の核酸定量分析を行うための作用極１４１の電極面積の概念図である。図７に示すように、同一の核酸からの電流あるいはバックグラウンド電流を測定するための作用極１４１の電極面積は、もっとも大きい面積をA_0とすると、A_0、αA_0、$\alpha^2 A_0$、$\alpha^3 A_0$、…（$\alpha < 1$）というように、等比級数をなす。

電流検出型の核酸検出用チップにおいて、電極面積を小さくし、その分ハイブリダイゼーションに費やす時間を長くして特異的な信号の絶対量を高くする。これは、挿入剤として利用される電気化学的に活性な標識物質が、電極の表面、特に核酸が固定化される領域に非特異に結合する量を少なくするためである。これにより、核酸２本鎖に特異的に結合する挿入剤から得られる信号の比率を高めることができる。すなわち、バックグラウンドレベルに対する信号レベルを高めることができる。この場合、検出感度の最小濃度C_{min}(copy/ml)は電極面積Ａ(cm^2)に対し、

$$\ln C_{min} = 0.721 \ln A + 8$$

の関係を持つ。この関係式によれば、プローブ分子数の面密度が一定の場合、１種類の核酸を固定した作用極１４１の電極面積Ａの各々が等比数列に従う１組のプローブ系列を用いる。これにより、広い検出感度のダイナミックレンジを実

現可能な核酸分析装置が実現される。なお、電極面積Ａの各々は、実質的に等比数列をなす関係にあればよい。すなわち、電極面積Ａの各々は、等比数列から±１０％の範囲の値をとっていればよい。核酸の定量分析では、図７のような電極の系列を一組作り、同一の濃度に調製した単一のプローブを固定化し、ある濃度の検体を適当な時間ハイブリダイズすればよい。また、同じ電極系列に対して固定化されるプローブの分子数の面密度は共通するように設定される。

図７に示すプローブ系列を用いた検出結果を図８に示す。図８は、検体溶液とハイブリダイズするプローブ核酸を固定化して所定の時間ハイブリダイズさせた場合の信号強度と、そのようなプローブ核酸を固定化しない場合に同様の条件で測定した信号強度を示している。縦軸の信号強度は、センサ（電極）表面上に固定化したプローブすべてにハイブリダイゼーションが起こったときに得られる信号強度で正規化してある。以下、正規化された信号強度を正規化信号強度と称する。

ある核酸濃度の検体をある一定の時間ハイブリダイズすると、小さいセンサ面上では反応時間中にほとんどのプローブ核酸にハイブリダイゼーションが起こるため、正規化信号強度は１に限りなく近い。逆に、大きいセンサ面上ではハイブリの起こったプローブ核酸の絶対数が少なく、バックグラウンドレベルと同等な信号強度しか得られない。この中間に位置するセンサ面の面積が適正な電極上では、バックグラウンドレベルと信号強度１の間の大きさの正規化信号強度が得ら

れる。適正な電極とは、例えば図８において$\alpha^4 A_0$の電極面積を持つ電極である。ここで、複数の濃度既知の核酸を予め測定し，バックグラウンドレベルと飽和レベルすなわち正規化信号強度１との間で信号の得られる電極面積と核酸濃度の関係を算出しておく。この関係を予め知っていれば、核酸濃度を同定できる。核酸濃度を同定するため、濃度未知の核酸についても、どの面積のセンサ面で正規化信号強度が飽和レベルとバックグラウンドレベルの間に現れたかを知ればよい。更には、その信号強度の大きさによって、より正確に濃度を知ることが可能となる。

センサ面上から得られ、未だ電極面積で正規化していない信号の絶対値は電極面積に比例すると考えられる。したがって、センサ面の電極面積をある因子α（$\alpha < 1$）で小さくすれば、信号の絶対値もこれに応じて低くなる。電流検出型の核酸検出用チップでこれを行おうとする場合、より高感度のポテンショスタットを用いることが必要である。よって、センサと同一基板上のよりセンサに近い部位に測定回路を集積化して配置することが望ましい。

次に、上述した核酸濃度定量分析装置１の動作を図９～図１２のフローチャートに沿って説明する。

定量分析は、図９に示すように、校正（ｓ１）を行った後、測定（ｓ２）を経て終了する。校正は、測定対象たる検体溶液に含まれる核酸濃度を分析する前のビットパターンを得るための処理である。ビットパターンとは、測定対象の濃度の判定条件を示すデータである。

図１０は校正（ｓ１）の具体的な処理の一例のフローチャートである。図１０に示すように、まず核酸を含まない溶液Ｔに、プローブ核酸が固定化されていないセンサ１２ａ、あるいはプローブ核酸は固定化されているが溶液Ｔとはハイブリダイズしないプローブ核酸が固定化されたセンサ１２ａを浸漬する（ｓ１１）。そして、電流値取得処理を実行する（ｓ１２）。得られた電流値に基づきバックグラウンドレベル（電流値）が定められる。

（ｓ１２）に示す電流値取得処理の具体的な処理フローは後述する図１１のフローチャートに示される。

次に、核酸を含む溶液Ｓの測定を行う（ｓ１３）。具体的には、測定を行うべきレンジをカバーするＮ種類の濃度C_0，C_1，…，C_{N-1}（ｉ＝０，１，…，Ｎ－１）の核酸溶液S_0，S_1，…，S_{N-1}を、Ｍ種類の電極面積A_j（ｊ＝０，１，…，Ｍ－１）についてＭ×Ｎ個用意する。そして、濃度C_iの核酸溶液S_iを、同一の核酸プローブが固定化されたＭ種類の異なる電極面積A_jのセンサ１２ａ内に滴下する（ｓ１４）。これにより、センサ１２ａに固定化されたプローブ核酸と核酸溶液S_i中の核酸がハイブリダイズする。そして、（ｓ１２）と同様の要領で電流値取得処理を実行する（ｓ１５）。この（ｓ１５）の電流値取得処理の測定条件は（ｓ１２）と同一に定められる。濃度C_iの核酸溶液S_iについて測定が終了すると、ｉ＝ｉ＋１とされ、さらに別濃度の核酸溶液S_iについての測定が行われる（ｓ１６）。すべての濃度でかつすべての電極面積A_j、すべての核酸溶液Ｓ

$_i$についてＭ×Ｎ個の電流値Ｉ$_p$（ｉ，ｊ）が得られると、閾値Ｉ$_{th}$が設定される（ｓ１７）。

閾値の設定は、飽和電流値Ｉ$_{st}$とバックグラウンド電流値Ｉ$_{bg}$との間の電流値に設定される。すなわち、（飽和電流値Ｉ$_{st}$）＞（閾値Ｉ$_{th}$）＞（バックグラウンド電流値Ｉ$_{bg}$）となる。

閾値を定めるためには、飽和電流値を知る必要がある。理想的な飽和電流値は、基板上のプローブ核酸が全て２本鎖を形成している場合に得られる。この飽和電流値を得るには、予め２本鎖を形成した核酸を固定化した電極から信号を取得するような実験を行えばよい。この場合、２本鎖を形成していないプローブ核酸が固定化された電極上の面密度と同等の密度で核酸が固定化するのが望ましい。

ハイブリダイズ済みの電極を予め作製することが困難であれば、充分濃い標的核酸濃度を持った試料を充分な時間ハイブリダイズさせる。これにより、実際的な飽和レベルを定めることが可能となる。

代替的には、複数の核酸溶液Ｓ$_i$について異なる面積Ａ$_j$のセンサで測定を行い、得られたデータを分析する。これにより、実際的な飽和レベルの定義することが可能となる。この場合、飽和電流値はセンサ面積に比例する性質を利用して次のように行う。まず、各電極から得られる電流値を面積によって正規化しておく。この正規化された電流値を異なる面積間で比較した場合、ある面積より小さな開口面積の電極から得られる正規化電流値が、バックグラウンドの正規化電流

値より充分大きく、かつ面積にかかわらずほぼ一定の値であれば、この正規化電流値を全ての電極における飽和レベルすなわち正規化信号強度１と定義することが可能である。

また，バックグラウンドレベルを測ることについても同様のことが言える。すなわち、異なる複数の核酸濃度の溶液について得られるデータ、および異なる面積の電極から得られたデータを分析することにより、バックグラウンドレベルを推定することが出来る。この推定では、まず、得られた電流値を面積について正規化する。そして、得られた正規化電流値を異なる面積間で比較したとき、ある面積より大きな開口面積の電極から得られる複数の正規化電流値が飽和レベルより充分小さく、かつ面積にかかわらずほぼ一定の値であれば，この正規化電流値を全ての電極におけるバックグラウンドレベルと定義することが可能である。

具体的な閾値算出のための飽和レベル、バックグラウンドレベルの決定アルゴリズムの一例を図２９のフローチャートに沿って説明する。

予め濃度が与えられた異なるＮ種類の濃度の核酸溶液S_i（ｉ＝０，１，…，Ｎ－１）について、また１本鎖が固定化された異なる面積A_j（ｊ＝０，１，…，Ｍ－１）のセンサ１２ａすべてについて、（ｓ１３）～（ｓ１６）に示したような操作により電流ピーク値I_p（ｉ，ｊ）を取得する（ｓ８１）。このピーク値の取得はより後段の回路やソフトウェアにより実行されてもよい。ピーク値取得を後段で行う場合、この（ｓ８１）では複数の時間における電流値Ｉを取得して

おけばよい。

この（ｓ８１）で得られた電流ピーク値を、それぞれ電極面積A_j（ｊ＝０，１，…，Ｍ－１）によって第１の正規化（ｓ８２）を行い第１正規化電流値I_n（ｉ，ｊ）を得る。これにより、単位面積あたりの電流値が得られる。次いで、最も濃度の濃い核酸溶液S_{N-1}と最も小さな開口面積A_{M-1}のセンサ１２ａの組み合わせから得られた電流I_n（Ｎ－１，Ｍ-１）を飽和電流と仮定し、最も薄い核酸溶液S_0と最も大きな開口面積A_0のセンサの組み合わせから得られた電流I_n（０，０）をバックグラウンド電流と仮定する（ｓ８３）。

（ｓ８２）の第１の正規化は、後述する図１３ではカレントミラー回路の電流増幅率を調整することにより実現される。

次に、個々の測定電流値I_n（ｉ，ｊ）について、シグモイド関数による評価のための（飽和電流値）-（バックグラウンド電流値）により第２の正規化処理を行う。具体的には、以下の式により第２正規化電流値I_0（ｉ，ｊ）を得る（ｓ８４）。

$I_0(i,j) = \{I_n(i,j) - I_n(0,0)\} / \{I_n(N-1,M-1) - I_n(0,0)\}$

次いで、それぞれの濃度の測定から得られた電極一式についてのデータ系列をシグモイド関数にフィッティングする（ｓ８５）。次に、フィッティング結果が所定の値以下か否かを判定する（ｓ８６）。フィッティング結果が所定の誤差の中に入っていれば、仮定した値を飽和レベル、バックグラ

ウンドレベルと決定する（ｓ８８）。所定の誤差を超える場合には、ｉ、ｊのいずれかを変えた、異なる核酸についての電流値を飽和レベルI_{st}、バックグラウンドレベルI_{bg}と仮定する（ｓ８７）。

このように、（ｓ８８）で与えられた飽和レベル及びバックグラウンドレベルに対して、（飽和電流値I_{st}）＞（閾値I_{th}）＞（バックグラウンド電流値I_{bg}）を満たす閾値I_{th}を設定すればよい。なお、ここで挙げた閾値設定処理はほんの一例にすぎない。例えば、（ｓ８４）における面積当たりの電流値に対する第１の正規化処理は、シグモイド関数以外の関数へのフィッティングを用いた評価を行う場合、飽和電流値I_{st}に基づき正規化処理を行なってもよい。この場合、正規化電流値I_0（ｉ，ｊ）は以下の通りになる。

$I_0(i, j) = I_n(i, j) / I_n(N-1, M-1)$

このように閾値I_{th}を設定し、またこの閾値I_{th}とハイブリダイゼーション時間の関係を設定すれば、閾値I_{th}を超えた電極の数と、濃度を予め測定した校正用の試料との間に１対１の関係を見出すことができる。例えば閾値I_{th}を超えた場合を“１”、閾値I_{th}を超えない場合を“０”とビットで表現すると、溶液の濃度が低い順に、ビットデータＢはそれぞれ$\{B(A_0)、B(A_0\alpha^1)、B(A_0\alpha^2)、B(A_0\alpha^3)、\cdots、B(A_0\alpha^{N-1})、\} = \{B(A_0)、B(A_1)、\cdots, B(A_{N-3})、B(A_{N-2})、B(A_{N-1})\} = \{0, 0, \cdots, 0, 0, 0\}、\{0, 0, \cdots, 0,$

０，１｝、｛０，０，…，０，１，１｝、…、｛１，１，１，１，…，１｝などと示される。このビットデータＢの組（以下、ビットパターンと称する）を各核酸濃度C_iについて取得する（ｓ１８）。

次に、得られたビットパターンについて、濃度と一対一に対応しているか否かを判定する（ｓ１９）。

ある濃度と他の濃度のビットパターンが一致しないような閾値を設定するのが望ましい。このためには、具体的には、ビットパターンを各濃度C_iについて求めた後、互いに最も近い濃度に関するビットパターン同士が一致しているか否かを比較する。両者が一致している場合には、閾値I_{th}を変えて再度ビットパターンを求める。両者が一致しなくなるまで比較及びビットパターン算出を繰り返せばよい。このような処理は、演算処理装置１１３が実行可能である。隣接する濃度のビットパターン同士の比較、比較結果が不一致の場合の閾値I_{th}の再設定、これら比較および再設定をビットパターン同士が不一致となるまで繰り返す各処理を記憶装置１１６にプログラムとして記憶しておく。演算処理装置１１３は、このプログラムを読み出し実行すればよい。このように閾値I_{th}を変えることにより、濃度ごとに異なるビットパターンが得られ、核酸濃度の分析精度が向上する。

なお、閾値I_{th}は、正規化された飽和電流値I_{st}と正規化されたバックグラウンド電流値I_{bg}の間であればいかなる値をとってもよい。閾値I_{th}は第１の正規化により電極面積で正規化された電流値との大小の比較に用いられるもの

であるため、複数の電極面積の電極について１つの閾値I_{th}が設定されればよい。

電極面積の倍率αを小さくしていくと、分析精度は向上するが、どうしても近い濃度同士のビットパターンが一致してしまう場合がある。この場合、最も近い濃度同士のビットパターンが一致する場合でも（ｓ１８）に戻らず（ｓ２０）に進むような処理にしてもよい。

この（ｓ１９）の判定処理により、各濃度ごとに異なるビットパターンが得られる。得られたビットパターンは、例えば以下のような判定テーブルとして記憶装置１１６に格納しておく。

表１

ハイブリダイゼーション時間 t_0		
核酸	濃度	ビットパターン $\{A_0, \cdots A_j, \cdots, A_{M-1}\}$
S_0	C'_0	{00…000}
S_1	C'_1	{00…001}
S_2	C'_2	{00…011}
・・・	・・・	・・・
S_{N-1}	C'_{N-1}	{11…111}
閾値		
I_{th1}		
ハイブリダイゼーション時間 t_1		
核酸	濃度	ビットパターン $\{A_0, \cdots A_j, \cdots, A_{M-1}\}$
S'_0	C'_0	{00…000}
S'_1	C'_1	{00…001}
S'_2	C'_2	{00…011}
・・・	・・・	・・・
S'_{N-1}	C'_{N-1}	{11…111}
閾値		
I_{th2}		

表１に示すように、ビットパターンがハイブリダイゼーション時間ｔおよび溶液の核酸濃度C_iに対応付けて格納される（ｓ２０）。また、この判定テーブルとともに、その判定の基礎とした閾値I_{th1}，I_{th2}…が対応付けて格納される。このように、電極面積A_j及び核酸濃度C_iごとに、Ｍ×Ｎ個のビットデータがハイブリダイゼーション時間ごとに得られると、校正処理が終了する。

濃度測定のダイナミックレンジを変えるには、ハイブリダイゼーション時間を変えればよい。これにより、同じセンサ系列で測定を行うことが可能となる。

（ｓ１２）や（ｓ１５）の電流値取得処理の詳細は図１１のフローチャートに示す通りである。まず、一定の温度および時間でハイブリダイゼーションを行い（ｓ３１）、面積の異なる電極で挿入剤を導入して電流値Ｉを測定する（ｓ３２）。得られた電流値Ｉは、電極面積で正規化される（ｓ３３）。この電流値の測定、正規化は図３のモジュール１３５内で実行される。正規化を行う回路の詳細構成については後述する。そして、モジュール１３５からセレクタ１３６、Ａ／Ｄコンバータ１３７を介して正規化された電流値I_nが演算処理装置１１３に出力される。演算処理装置１１３は、得られた正規化電流値I_nのピーク値I_{np}をフィッティング処理により算出する（ｓ３４）。

なお、これら電流値の測定の各処理は、必ずしもここで説明した処理に限定されない。例えば、電極面積の正規化も含め演算処理装置１１３側で行うようにしてもよいし、ピーク値算出処理をモジュール１３５内で行うようにしてもよい。また、図２９の例に示したように、ピーク値I_p算出を第１の正規化よりも前に行ってもよい。

次に、図９の（ｓ２）測定処理の詳細について図１２のフローチャートに沿って説明する。この測定処理は、図１０に示した校正処理の（ｓ２０）に示すような判定テーブルが得られた後に実行される。なお、予め判定テーブルが得られていれば、測定処理（ｓ２）の前に校正処理（ｓ１）を行わなくてもよい。

まず、測定の対象とする検体の溶液をセンサ１２ａが配置

されたセル内に導入し、検体溶液にセンサ１２ａを浸漬させる（ｓ２１）。次に、図１１に示すフローに沿って（ｓ３１）～（ｓ３４）の過程を経て電流値を取得する（ｓ２２）。次に、（ｓ２０）で得られ、記憶装置１１６に格納された閾値I_{th}が読み出される。演算処理装置１１３は、この閾値I_{th}と（ｓ２２）の測定電流値とを比較し、ビットデータＢを取得する（ｓ２３）。このビットデータＢは、（ｓ１８）と同様の要領で例えば閾値I_{th}を超えた場合を“１”、閾値I_{th}を超えない場合を“０”とビットで表現することにより得られる。このビットデータＢを各電極面積A_jについて求め、ビットパターンを取得する。演算処理装置１１３は、このビットパターンに一致するビットパターンを表１で検索し、そのビットパターンに対応付けられた核酸濃度C_iを検体の濃度に決定する（ｓ２４）。以上により測定処理が終了する。

図１３は（ｓ３３）や（ｓ８２）における正規化を行うための回路の詳細な構成を示す図である。図１３において図３や図５など他の図面と共通する構成には同一符号を付し、詳細な説明は省略する。

図１３に示すように、それぞれA_0、αA_0、$\alpha^2 A_0$（$\alpha < 1$）の異なる電極面積の作用極１４１を持つ３電極系140_0、140_1、140_2を有するモジュール135_0、135_1、135_2の信号出力がセレクタ１３６に接続される。６つのトランジスタ$M1_0$～$M6_0$、$M1_1$～$M6_1$、$M1_2$～$M6_2$からなる正負電流用カレントミラーを備えた電流検

出回路は図５の構成と共通する。図１３では、３電極系１４０$_0$、１４０$_1$、１４０$_2$の対極１４２および参照極１４３側の構成については省略してある。図１３の例では、これらモジュール１３５$_0$、１３５$_1$、１３５$_2$、特に正負電流用カレントミラーが、センサで得られた検出電流をセンサ面積について正規化する回路として機能する。

正負電流用カレントミラーの電流取り出し側には、スイッチＳＷ$_1$を介してトランジスタＭ７のゲートが接続されている。このトランジスタＭ７のソースはディプレッションモードのＮ型ＭＯＳＦＥＴ　Ｍ８のドレインとセレクタ１３６に接続されている。トランジスタＭ８のソースはそのゲートに接続されている。これは、ソースフォロアと呼ばれる回路構成の一つである。もちろん，別の手法で構成するソースフォロアやボルテージフォロアなどのバッファを用いてもよい。また、正負電流用カレントミラーの電流取り出し側とトランジスタＭ７の間にはスイッチＳＷ$_2$およびキャパシタＣからなるスイッチトキャパシタが設けられる。このスイッチトキャパシタの機能により、スイッチＳＷ$_2$を開いた状態でキャパシタＣにカレントミラーを介して流れる電荷を蓄積し、スイッチＳＷ$_2$を閉じることでこの電荷を逃がすことができる。

スイッチＳＷ$_1$およびＳＷ$_2$を以下のような順序で開閉制御することにより、各モジュール１３５$_0$～１３５$_2$の電流をセレクタ１３６に選択的に出力することができる。

具体的には、まずスイッチＳＷ$_1$とオンにし、スイッチＳＷ$_2$をオフにし、時間Δｔの流れる電流ｉを積分しキャパシ

タＣの両端にチャージする。これにより、キャパシタＣの両端には電流の時間積分値に比例した電圧Δｔｉ/Ｃが生じる。そして、スイッチＳＷ$_1$およびＳＷ$_2$ともにオフにする。トランジスタＭ７及びＭ８では、この電圧Δｔｉ／Ｃをセレクタ１３６に出力する。スイッチＳＷ$_1$をオフにし、スイッチＳＷ$_2$をオンにすることでリセットすることができる。このとき、Δｔを電流の変化が十分少ない微小値として定めれば、出力電圧と電流の間に比例関係が成立する。その結果、電流電圧変換が行われる。

トランジスタＭ４$_i$とＭ６$_i$のゲートの（ゲート幅）／（ゲート長）の比、すなわち入力側に対する出力側の電流増幅率を、最も大きな電極Ａ$_0$に対する電極面積の逆比に設定する。他のＭ３$_i$とＭ５$_i$についても同様である。図１３の例では、Ａ$_0$の電極面積が最も大きい。したがって、Ｍ４$_0$とＭ６$_0$並びにＭ３$_0$とＭ５$_0$の（ゲート幅）／（ゲート長）は１：１、Ｍ４$_1$とＭ６$_1$並びにＭ３$_1$とＭ５$_1$の（ゲート幅）／（ゲート長）はα：１、Ｍ４$_2$とＭ６$_2$並びにＭ３$_2$とＭ５$_2$の（ゲート幅）／（ゲート長）はα^2：１である。ここで、α＜１である。

すなわち、６つのトランジスタからなる電流検出回路の出力側に正規化回路が付加された構成をなす。図３１は図１３に示す回路構成の概念図である。各３電極系１４０$_0$，１４０$_1$，１４０$_2$からの電流は、電流検出回路３２０$_0$，３２０$_1$，３２０$_2$で検出される。検出電流は各々正規化回路３２１内の正規化回路３２１$_0$，３２１$_1$，３２１$_2$に出力さ

れ、電極面積A_jについて正規化され、セレクタ１３６に出力される。

これにより、モジュール135_1における検出電流は$1/\alpha$倍に、モジュール135_2における検出電流は$1/\alpha^2$倍に増幅される。したがって、最も大電流のモジュール135_0の大きさに正規化することができ、電流電圧変換回路の変換比やＡ／Ｄコンバータなどを共通化することができる。

なお、図１３では説明の便宜のため３つのモジュールを例に説明したが、これに限定されない。他の電極面積α^3A_0、α^4A_0、…を有するモジュールについても上記と同様の構成を有することはもちろんである。もちろん、電極面積は濃度測定の精度に応じて種々設定できる。一般的には、系の最大の電極面積をA_{max}とすると、A_1の電極面積のカレントミラーでの増幅率$a = A_{max}/A_1$で表される。

図１４～図１８は図１～図１３に示す核酸濃度定量分析装置１の変形例に係わる。

図１４はこの変形例の核酸検出用チップ１２の概念図である。図１４の201_1と201_2で示されるのは、図４や図５の対極１４２および参照極１４３と電圧掃引信号発生手段との間に設けられた電圧印加側回路である。160_1および160_2で示されるのは、図４や図５の作用極１４１側に接続された電流検出回路および正規化回路である。電流検出部分は、図４の例では演算増幅器１５１および抵抗R_wからなる回路に対応し、図５の例ではトランジスタＭ１～Ｍ６および演算増幅器１５１からなる回路に対応する。

１４０ｂはバックグラウンド信号測定用（ネガティブコントロール用）３電極系、１４０ｄはプローブ用（検体測定用）３電極系である。これら３電極系１４０ｂおよび１４０ｄは、図４や図５に示す作用極１４１、対極１４２および参照極１４３からなる。バックグラウンド信号測定用３電極系１４０ｂに属する作用極１４１には固定化されていない。プローブ用３電極系１４０ｄに属する作用極１４１には１本鎖プローブが図４や図５と同様に固定化されている。あるいはバックグラウンド信号測定用３電極系１４０ｂに属する作用極１４１には、プローブ用３電極系１４０ｄに属する作用極１４１に固定化された核酸と相補性が例えば５０％以下の核酸をプローブとして固定化してもよい。ここで相補性とは、比較する２つの核酸断片に関して、対応する箇所の塩基が同一である塩基数の全塩基数に対する割合である。このネガティブコントロール用のプローブに検体核酸が結合する率は、プローブ用３電極系１４０ｄに固定化されるプローブに比較して十分に小さいため、バックグラウンドレベルを同時にモニタすることが可能とある。

電流検出回路および正規化回路160_1および160_2の測定信号は減算回路２０２に出力される。減算回路２０２は、プローブ用３電極系１４０ｄからの測定信号からバックグラウンド信号測定用３電極系１４０ｄからの測定信号を減算してセレクタ１３６に出力する。

電極の面積によって、バックグラウンドレベルも異なってくるため、互いに同じ面積の電極をバックグラウンドモニタ

用と信号測定用で対に設ける。

このような構成により、プローブ用３電極系１４０ｄからの検出信号からバックグラウンド信号測定用３電極系１４０ｂからの検出信号を減算することができ、プローブ起因の信号からバックグラウンドレベルを差し引いた正味の信号を得ることができる。その結果、実験条件の揺らぎによるバックグラウンドレベルの変化が常にモニタされ、測定の精度が向上する。

なお、図１４では言及していないが、電流電圧変換回路を適宜配置可能である。例えば、減算回路202_2の後段に電流電圧変換回路を配置した場合、減算回路202_2の出力信号電流を電流電圧変換回路が電圧変換してセレクタ１３６に出力する。あるいは、減算回路202_2の前段で電流検出回路160_1，160_2の後段に電流電圧変換回路を配置してもよい。この場合、電流検出回路160_1，160_2の出力信号電流を電流電圧変換回路が電圧変換して減算回路202_2に出力する。

図１５は減算回路２０２を含む回路の詳細な構成例である。この図１５の回路例は、電流検出、電流正規化、電流電圧変換、減算、Ａ／Ｄ変換の順に処理を行う回路である。図１５に示すように、図１３に示すような演算増幅器１５１、トランジスタＭ１～Ｍ６、スイッチトキャパシタがバックグラウンド側とプローブ検出側で同じ構成をなす。スイッチトキャパシタの出力が差動増幅器２０４に接続される。差動増幅器２０４が図１４の減算回路２０２に相当する。

図１３と同様の要領により、トランジスタＭ１～Ｍ６が電流の正規化を行う。そして、キャパシタＣおよびスイッチＳＷ$_1$およびＳＷ$_2$からなるスイッチトキャパシタ（電流電圧変換回路）を操作し、バックグラウンド信号測定用３電極系１４０ｂから得られる電流に比例する電圧値と、プローブ用３電極系１４０ｄから得られる電流に比例する電圧値とをそれぞれ差動増幅器２０４に出力する。差動増幅器２０４は、これら電圧値の差分をセレクタ１３６に出力する。

この図１５の回路構成によれば、電流を演算に用いるのはカレントミラーの２次側で行うため、３電極系電気化学反応などの動作に影響を与えない。この図１５に示す回路の特徴は、Ａ／Ｄコンバータ１３７によってデータ変換を行う前に減算を行うため、Ａ／Ｄコンバータ１３７の精度で決定されるダイナミックレンジを有効に活用することができる。

なお、この図１５に示した回路トポロジはほんの一例にすぎず、上記と同様の処理を様々な回路および手法により実現可能である。

図１６は図１５に示される減算回路の変形例を示す図である。この図１６も、図１５と同様にバックグラウンド側測定回路とプローブ側測定回路の構成が共通する。すなわち、この図１６の回路例は、電流検出、電流正規化、電流電圧変換、減算、Ａ／Ｄ変換の順に処理を行う回路である。

図１６に示すように、バックグラウンド信号測定用３電極系１４０ｂと演算増幅器１５１ｂとの接続関係は図１５と共通する。演算増幅器１５１ｂの出力は、ＰＭＯＳトランジス

タＭＰ３およびＮＭＯＳトランジスタＭＮ１のゲートに接続される。バックグラウンド信号測定用３電極系１４０ｂの作用極１４１ｂにはＮＭＯＳトランジスタＭＮ１のソースおよびＰＭＯＳトランジスタＭＰ３のソースに接続される。ＮＭＯＳトランジスタＭＮ１の基板電極とソースは短絡され、そのドレインはＰＭＯＳトランジスタＭＰ１のドレインおよびゲートに接続される。ＰＭＯＳトランジスタＭＰ１の基板電極およびソースは短絡され、電圧が正電源電圧＋Ｖｓに保持される。ＰＭＯＳトランジスタＭＰ１とＰＭＯＳトランジスタＭＰ２のゲートが接続されている。ＰＭＯＳトランジスタＭＰ２のソースと基板電極が短絡され、電圧が正電源電圧＋Ｖｓに保持される。このＰＭＯＳトランジスタＭＰ１およびＭＰ２によりカレントミラー構造をなす。ＰＭＯＳトランジスタＭＰ２のドレインはＮＭＯＳトランジスタＭＮ２のドレインおよびゲートに接続される。ＮＭＯＳトランジスタＭＮ２の基板電極とソースは接地され、そのゲートは差動増幅器２１１の反転入力端子に接続される。

ＰＭＯＳトランジスタＭＰ３のドレインはＮＭＯＳトランジスタＭＮ３のゲートおよびドレイン、ＮＭＯＳトランジスタＭＮ４のゲートに接続される。ＮＭＯＳトランジスタＭＮ３の基板電極およびソースは短絡され、電圧が負電源電圧－Ｖｓに保持される。ＮＭＯＳトランジスタＭＮ４のソースと基板電極は短絡され、電圧が負電源電圧－Ｖｓに保持される。このＮＭＯＳトランジスタＭＮ３およびＭＮ４によりカレントミラー構造をなす。

ＮＭＯＳトランジスタＭＮ４のドレインはＰＭＯＳトランジスタＭＰ４のゲートおよびドレインさらには差動増幅器２１２の反転入力端子に接続される。ＰＭＯＳトランジスタＭＰ４の基板電極とソースは接地される。

以上のうち、トランジスタＭＰ１、ＭＰ２、ＭＮ１およびＭＮ２が還元電流の測定の際に動作し、トランジスタＭＰ３、ＭＰ４、ＭＮ３およびＭＮ４が酸化電流の測定の際に動作する。

以上に示されるバックグラウンド信号測定用の測定回路とプローブ信号測定用の測定回路は共通の回路構成をなし、バックグラウンド信号測定用の符号１４０ｂ、１５１ｂ、ＭＰ１、ＭＰ２、ＭＮ１、ＭＮ２、ＭＰ３、ＭＰ４、ＭＮ３、ＭＮ４で示される各構成要素が、プローブ信号測定用の符号１４０ｄ、１５１ｄ、ＭＰ６、ＭＰ５、ＭＮ６、ＭＮ５、ＭＰ８、ＭＰ７、ＭＮ８、ＭＮ７で示される各構成要素に対応する。

そして、ＮＭＯＳトランジスタＭＮ５のゲートおよびＰＭＯＳトランジスタＭＰ５のドレインが差動増幅器２１１の非反転入力端子に接続される。また、ＰＭＯＳトランジスタＭＰ７のゲートとＮＭＯＳトランジスタＭＮ７のドレインが差動増幅器２１２の非反転入力端子に接続される。

差動増幅器２１１の出力はＮＭＯＳトランジスタＭＮ１１のドレインに接続される。ＮＭＯＳトランジスタＭＮ１１のゲートはＮＭＯＳトランジスタＭＮ１２のゲートと接続され端子ＳＥで取り出され、ＮＭＯＳトランジスタＭＮ１１の基

板電極とソースの電圧は電圧V_{out1}として取り出される。

差動増幅器２１２の出力はＮＭＯＳトランジスタＭＮ１２のドレインに接続される。ＮＭＯＳトランジスタＭＮ１２の基板電極とソースの電圧は電圧V_{out2}として取り出される。

酸化電流が検出される場合には、差動増幅器２１２がプローブ用３電極系１４０ｄ側の作用極１４１ｄ側から検出される電流からバックグラウンド信号測定用３電極系１４０ｂ側の作用極１４１ｂ側から検出される電流を差し引きＮＭＯＳトランジスタＭＮ１１に出力する。この電流によりＮＭＯＳトランジスタＭＮ１１に与えられる電圧V_{out1}が減算値である。

還元電流測定の場合には差動増幅器２１１が差動増幅器２１２と同様の動作により減算した電流値をＮＭＯＳトランジスタＭＮ１２に出力する。この電流によりＮＭＯＳトランジスタＭＮ１２に与えられる電圧V_{out2}が減算値である。

次に、図１７および図１８を用いてバックグラウンド測定用電極付チップを用いた分析処理フローを説明する。

分析処理が校正（ｓ１）および測定（ｓ２）からなる点は図９と共通する。

校正処理（ｓ１）は、図１７に示す（ｓ４１）～（ｓ４８）の処理からなる。まず、核酸を含む溶液S_iの測定（ｓ４１）として、既知の濃度C_iの核酸溶液S_iを異なる電極面積A_j（ｊ＝０，１，…，Ｎ－１）のセンサ１２ａを有するセル内に導入する（ｓ４２）。そして、後述する電流値取得操作を行う（ｓ４３）。そして、次は濃度C_{i+1}の核酸

溶液S_{i+1}の電流値取得（ｓ４４）というように、Ｎ種類のすべての核酸溶液S_i（ｉ＝０，１，２，…，Ｎ－１）について、またすべての電極面積A_jのセンサ１２ａについて電流値が取得される。次に、（ｓ１７）と同様の手法により閾値算出を行う（ｓ４５）。なお、この閾値算出の際に、算出の基礎とする電流値I_p、I_n、I_0は、後述の図１８のフローチャートに示すように、それぞれプローブ信号からバックグラウンド信号が減算された電流値が算出され用いられる。

次に、演算処理装置１１３は、（ｓ４５）で得られた閾値I_{th}と各核酸溶液S_iの各測定で取得された正規化された電流値I_nとをそれぞれ比較する。正規化した電流値I_nが閾値I_{th}を超える場合には“１”と、超えない場合には“０”と判定する。電極系列全体でこの判定処理を行い得られた判定結果の組をビットパターンとして取得する（ｓ４６）。次に、演算処理装置１１３は、（ｓ１９）と同様の要領で、得られたビットパターンと濃度が一対一に対応するか否かを判定する（ｓ４７）。対応していれば（ｓ４８）に進む。（ｓ４８）では、演算処理装置１１３は、（ｓ２０）と同様の要領でビットパターンがハイブリダイゼーション時間ｔおよび溶液の核酸濃度C_iに対応付けて判定テーブルとして閾値I_{th}とともに格納する。対応していなければ、再度閾値I_{th}の設定処理に戻る。

図１８は図１７の（ｓ４３）に示す電流値取得操作の詳細なフローチャートである。図１８に示すように、まず図１１

の（ｓ１１）および（ｓ１２）の要領で、一定の温度および時間でハイブリダイゼーションを行う（ｓ４３１）。そして、面積の異なる各電極に挿入剤を与えてバックグラウンドレベル、プローブ電流それぞれの電流値を測定する（ｓ４３２）。得られた電流値は、例えば図１３のトランジスタ$M1_i$～$M6_i$で示されるカレントミラー回路により電極面積A_jについて正規化され（ｓ４３３）、さらに例えば図１４の減算回路２０２でプローブ電流値からバックグラウンド電流値が減算される（ｓ４３４）。そして、（ｓ３４）と同様の要領で、得られた減算値のピーク値をフィッティング処理により求める（ｓ４３５）。

以上のように、図９、図１１および図１７、図１８に示す処理フローを経てバックグラウンドレベルを差し引いた正味のプローブ信号を得ることができる。

低濃度の核酸の検出においては，測定において得られる真の信号成分に対する様々な雑音成分の排除が非常に重要である。この図１４～図１８に示される変形例によれば、その雑音成分として考えられる挿入剤が核酸２本鎖以外に吸着される際に信号電流に混入する電流分を排除することができる。

図１９～図２２は、図１～図１３に示す核酸濃度定量分析装置１、図１４～図１８で説明されたバックグラウンド計測用電極付きチップを用いた分析装置１のさらなる変形例に係わる。図１９は、この変形例に係る核酸検出用チップ１２の概念図である。

図１９に示すように、図１４に示すようなバックグラウン

ド信号測定用３電極系１４０ｂおよびプローブ用３電極系１４０ｄに加えて、飽和レベル校正用３電極系１４０ｓが設けられる。飽和レベル校正用３電極系１４０ｓについても、３電極系１４０ｂおよび１４０ｄと同様に、互いに同じ面積の電極を信号測定用やバックグラウンドモニタ用と対に設ける。飽和レベルは電極の面積によって変わるからである。

これら３電極系１４０ｂ、１４０ｄおよび１４０ｓの基本的な構成は共通するが、飽和レベル校正用３電極系１４０ｓの作用極141_sには、既にハイブリダイゼーションが生じた２本鎖プローブが固定化されている。図１４と共通する構成には同一符号を付し、詳細な説明は省略する。

飽和レベル校正用３電極系１４０ｓには、電圧掃引信号が電圧印加側回路201_3を介して入力される。飽和レベル校正用３電極系１４０ｓの出力は電流検出回路および正規化回路160_3を介して減算回路３０２に接続される。減算回路２０２では、図１４と同様にプローブ電流信号からバックグラウンド電流信号を減算してセレクタ１３６に出力するのに対して、減算回路２０３は、飽和レベル電流信号からバックグラウンド電流信号を減算してセレクタ１３６に出力する。

このように、バックグラウンドレベルと飽和レベルの双方が測定できるため、測定データを電極面積と、飽和レベルからバックグラウンドレベルを差し引いた値の双方で正規化することができる。このため、実験条件の揺らぎにかかわらず、閾値I_{th}を適性な値に常に合わせることができる。適正値とは、例えば飽和レベルとバックグラウンドレベルの中間値、

すなわち（閾値I_{th}）＝（（飽和レベルI_{st}）－（バックグラウンドレベルI_{bg}））／２である。これにより、測定精度がさらに向上する。従って、閾値I_{th}を測定の都度設定する必要が無くなる。

なお、図１９では言及していないが、電流電圧変換回路を適宜配置可能である。例えば、減算回路202_2の後段に電流電圧変換回路を配置した場合、減算回路202_2の出力信号電流を電流電圧変換回路が電圧変換してセレクタ１３６に出力する。あるいは、減算回路202_2の前段で電流検出回路160_1，160_2の後段に電流電圧変換回路を配置してもよい。この場合、電流検出回路160_1，160_2の出力信号電流を電流電圧変換回路が電圧変換して減算回路202_2に出力する。

次に、図２０～図２２を用いて飽和レベル校正用電極付チップを用いた分析処理フローを説明する。

分析処理が校正（ｓ１）および測定（ｓ２）からなる点は図９と共通する。

校正処理（ｓ１）は、図２０に示す（ｓ５１）～（ｓ５５）の処理からなる。まず、核酸を含む溶液S_iの測定（ｓ５１）として、既知の濃度C_iの核酸溶液S_iを異なる電極面積A_j（ｊ＝０，１，…，Ｎ－１）のセンサ１２ａを有するセル内に導入する（ｓ５２）。そして、後述する電流値およびビットパターン取得操作を行う（ｓ５３）。そして、次は濃度C_{i+1}の核酸溶液S_{i+1}の電流値およびビットパターン取得（ｓ５４）というように、Ｎ種類のすべての核酸溶

液S_i（i＝0，1，2，…，N－1）について、またすべての電極面積A_jのセンサ12aについて電流値が取得される。次に、演算処理装置113は、（s20）と同様の要領でビットパターンがハイブリダイゼーション時間tおよび溶液の核酸濃度C_iに対応付けて判定テーブルとして格納する（s55）。

図21は（s54）における電流値およびビットパターン取得操作の詳細なフローチャートである。まず、図21に示すように、図11の（s11）および（s12）の要領で、一定の温度および時間でハイブリダイゼーションを行う（s541）。そして、面積A_jの異なる各電極に挿入剤を与えてバックグラウンドレベル、プローブ電流、飽和レベル各々の電流値I_{bg}，I，I_{st}を測定する（s542）。得られた電流値I_{bg}，I，I_{st}は、例えば図13のトランジスタ$M1_i$～$M6_i$で示されるカレントミラー回路により正規化され（s543）、さらに例えば図19に示す減算回路202で測定値IからバックグラウンドレベルI_{bg}が減算され、かつ減算回路302で飽和レベルI_{st}からバックグラウンドレベルI_{bg}が減算される（s544）。そして、演算処理装置113は、（s34）と同様の要領で、得られた（測定値I）－（バックグラウンドレベルI_{bg}）の減算値および（飽和レベルI_{st}）－（バックグラウンドレベルI_{bg}）の各々のピーク値をフィッティング処理により求める（s545）。｛（飽和レベルI_{st}）－（バックグラウンドレベルI_{bg}）｝／2の値が閾値I_{th}に設定される（s546）。

次いで、演算処理装置１１３は、得られた閾値I_{th}と測定値Ｉを比較する。比較の結果、（測定値Ｉ）＞（閾値I_{th}）の場合には演算処理装置１１３は“１”と、（測定値Ｉ）≦（閾値I_{th}）の場合には“０”と判定し、ビットデータを取得する（ｓ５４７）。

図２２は飽和レベル校正用電極付チップを用いた測定処理（ｓ２）の詳細な処理フローチャートである。図２２に示すように、まず測定の対象とする検体の溶液をセンサ１２ａが配置されたセル内に導入し、検体溶液にセンサ１２ａを浸漬させる（ｓ６１）。次に、図２１の（ｓ５４１）～（ｓ５４７）の要領で電流値およびビットパターンを取得する（ｓ６２）。次に、演算処理装置１１３は、検体溶液について得られた電極系列全体のビットパターンを図２０の校正処理（ｓ１）の（ｓ５５）において得られた判定テーブルと照合し、一致したビットパターンを溶液濃度Ｃに決定する（ｓ６３）。以上により測定が終了する。

なお、図１９～図２２に示す実施形態では、飽和レベルとバックグラウンドレベルの双方を検出する３電極系を設ける例を示したが、バックグラウンドレベルを検出する３電極系を設けず、飽和レベル校正用３電極系１４０ｓとプローブ用３電極系１４０ｄの組のみに省略することもできる。この場合、図１４に示すバックグラウンドレベル用の構成を飽和レベル校正用の構成に置換し、減算の正負を逆にすればよい。あるいは、プローブ用測定信号と飽和レベル測定信号の比を対となるセンサ間でとり、この比が１００％でない対から得

られる信号の強度から検体中に含まれる標的核酸の濃度を決定するようにしてもよい。

図２３は図１～図１３、図１４～図１８、図１９～図２２の各実施形態における３電極系１４０の電極配置の詳細な構成の一例を示す平面図である。図２３では説明の便宜のため２つの隣接する３電極系140_1および140_2について説明するが、複数の３電極系140_i（ｉ＝０，１，…、Ｎ－１）についても同様の構成をなす。３電極系140_1，140_2ともに、例えば７００μｍ×７００μｍの正方形の領域に設けられている。対極142_1および142_2、参照極143_1および143_2の構成は共通し、作用極141_1および141_2はその面積が異なる。作用極141_1および141_2は３電極系140_1，140_2の形成領域の中心位置に配置され、これら作用極141_1および141_2の３方向を囲むように対極142_1および142_2がコの字形に設けられている。また、作用極141_1および141_2から見て対極142_1および142_2が配置されていない側には参照極143_1および143_2が配置されている。

このように、３電極のいずれの距離をもほぼ一定位置に配置できるように、１つの作用極141_1および141_2の各々に１つずつ対極142_1および142_2および参照極143_1および143_2を配置している。対極142_1、142_2、参照極143_1、143_2のはいずれも同一構成であるため、その位置関係は等距離になる。

さらに、この３電極系140_1および140_2の電圧印加

側のフィードバック回路も１つの作用極１４１$_1$および１４１$_2$の各々に１つずつ接続する。３１２$_1$，３１２$_2$，３１１$_1$，３１１$_2$は下部配線に接続するためのコンタクトである。

Ａ／Ｄコンバータ１３７の精度を十分生かすには、図１５や図１６に示した通り、検出電流をアナログ回路で減算することが有効である。この場合、図１８等で示した通り、減算をした後でのピーク高さ解析を行うこととなる。バックグラウンド測定用３電極系１４０ｂ、プローブ用３電極系１４０ｄ、飽和レベル校正用３電極系１４０ｓの間でピーク位置がずれてしまった場合、解析結果の測定精度に悪影響を与える可能性がある。このピーク位置のずれは、溶液抵抗成分が存在するためである場合が多い。

図２３のように作用極１つずつに対極、参照極を設けることで、複数の作用極に対し対極や参照極を一つ設けた場合に生ずる溶液抵抗のばらつきをなくすことができる。また、フィードバックループを複数の作用極に対し一つしか持っていない場合に比較して、わずかな測定条件の違いに応じて正確に参照極と対照極の間の電圧を制御できる。

図２４は図２３とは別の電極配置の平面図である。

図２４において、３電極系５４０は０．５ｍｍ平方の領域に４つの作用極５４１$_1$～５４１$_4$が所定の間隔をおいて配置されている。１つの参照極５４３が、この４つの作用極５４１$_1$～５４１$_4$を所定の間隔をおいて囲むように配置されてる。さらに、１つの対極５４２がこの参照極５４３から所

定の間隔をおいて囲むように配置されている。この３電極系５４０は、２ｍｍ平方の領域におさまるように配置されている。各作用極５４１$_1$～５４１$_4$から対極５４２，参照極５４３への距離はいずれもほぼ同じである。各電極は作用極５４１$_1$～５４１$_4$の中心から見て対称の位置に配置され、例えばＡｕからなる。

４つの作用極５４１$_1$～５４１$_4$の電極面積は図２４の例では共通する場合を示しているが、異なる電極面積としてもよい。５４４$_1$～５４４$_4$、５４５、５４６は下部配線に接続するためのコンタクト、５４７～５４９は電極下部に形成されたＡｌ配線であり、図５の断面構造の第２層配線１７１$_2$に対応する。

このように、複数の作用極に対して１つの参照極あるいは１つの対極を配置してもよい。このような配置は、回路の大きさの制約や，基板上に滴下できる溶液の液滴半径などの制約がある場合に有効である。

また、作用極を参照極および対極で囲む構造は，作用極に対して外界の静電気的、電磁的な外乱を避ける効果も持っており、測定の雑音対策に有効である。また、電界の分布に集中が生じにくいという点でも、測定の揺らぎを軽減するのに有効である。

なお、これら図２３および図２４に示したのは、平面的な電極配置構造を示しているが、これに限定されない。例えば各電極１４１～１４３を３次元立体構造とすることもできる。

図２５は図１～図１３、図１４～図１８、図１９～図２２

の各実施形態における掃引電圧のオフセット及び線形性を補償する機能を付加した補償回路６００の構成の一例を示す図である。図５と共通する構成には同一の符号を付し、詳細な説明は省略する。補償回路６００は、例えばアレイ状にモジュール１３５が配置されている場合に、半導体製造プロセスの位置的な不均一性や、素子寸法の設計値に対するずれなどに起因する掃引電圧のオフセットや線形性を補償する回路である。

この補償回路６００は、図１の分析装置筐体１１に設けられ、分析装置筐体１１に核酸検出用チップ１２を装着して核酸検出用チップ１２と送液／温調機器１１１とを物理的に接続する。また、核酸検出用チップ１２とチップ－筐体インタフェース１１２とを電気的に接続すると、自動的に核酸検出用チップ１２の各モジュール１３５中の配線１４２ａおよび配線１４３ａにセレクタ１５６及び１５６を介してスイッチSW_3およびスイッチSW_4が電気的に接続されるように構成されている。各モジュール１３５の各配線１４２ａ及び配線１４３ａからの信号は、セレクタ１５６及び１５５により選択されてスイッチSW_3及びSW_4側に出力される。

図２５に示す対極１４２に接続された演算増幅器１５２の出力がスイッチSW_3を介して抵抗Ｒ１及びキャパシタC_aが並列接続された回路に接続される。また、これら抵抗Ｒ１及びキャパシタC_aには抵抗Ｒ２の一端に接続される。抵抗Ｒ２の他端は、スイッチSW_4及び演算増幅器６０１の非反転入力に接続される。

これら抵抗Ｒ１、キャパシタＣ$_a$及び抵抗Ｒ２は、３電極１４１～１４３が備えられたセル内の溶液系を模擬した回路である。抵抗値、容量値は、例えばＲ１＝１ＭΩ、Ｃ$_a$＝２００ｎＦ、Ｒ２＝１ｋΩに設定される。

演算増幅器６０１の反転入力と出力は短絡され、ボルテージフォロワとして機能する。演算増幅器６０１の出力はＡ／Ｄコンバータ６０２を介して補償論理回路６０３に接続される。

補償論理回路６０３は、各モジュール１３５で生成される掃引電圧のオフセットや線形性を補償する機能を備えた回路であり、ハードウェア及びソフトウェアの組合せで実現されてもよいし、ハードウェアのみで実現されてもよい。補償論理回路６０３は、各モジュール１３５から得られる測定値をメモリ６０３ａに格納する。そして、補償論理回路６０３は、格納された測定値に基づきオフセット補償および線形性補償のための信号を電圧源６０７に出力する。電圧源６０７は、補償論理回路６０３から指示された電圧を演算増幅器１５２の非反転入力端子に印加する。

以下、この補償回路６００の動作を説明する。

分析装置筐体１１に核酸検出用チップ１２を装着することにより、スイッチＳＷ$_3$にはセレクタ１５５の出力が、スイッチＳＷ$_4$にはセレクタ１５６の出力が電気的に接続される。溶液測定の前に、スイッチＳＷ$_3$及びＳＷ$_4$の双方をオンにする。また、補償論理回路６０３からの指令に基づき、電圧源６０７は演算増幅器１５２の非反転入力端子に所定の電圧

Vを印加する。これにより、溶液系を模擬した抵抗Ｒ１、キャパシタ$Ｃ_{a}$及び抵抗Ｒ２に電圧$Ｖ_{tk}$が付与される。この電圧$Ｖ_{tk}$は（ｋ＝１，２，…，Ｋ）、演算増幅器６０１、Ａ／Ｄコンバータ６０２を介して補償論理回路６０３に出力される。補償論理回路６０３は、この出力電圧$Ｖ_{tk}$を、Ｋ個のすべてのモジュール１３５についてメモリ６０３ａに順次格納していく。なお、モジュール１３５の選択はセレクタ１５５及び１５６によりなされるが、セレクタ１５５及び１５６による順次選択操作は、分析装置筐体１１側の回路が制御する。そして、補償論理回路６０３は、例えばすべてのモジュール１３５についての出力電圧$Ｖ_{tk}$の平均値$Ｖ_{tav}$を算出する。そして、補償論理回路６０３は、この平均値$Ｖ_{tav}$と各出力電圧$Ｖ_{tk}$の差（$Ｖ_{tk}－Ｖ_{tav}$）が予め定められた範囲にあるか否かを判定する。予め定められた範囲にあれば、補償論理回路６０３は、「良品」であることを表示部６０８に表示し、予め定められた範囲になければ、「不良品」であることを表示部６０８に表示する。

「良品」と判定された場合、各モジュール１３５の出力電圧$Ｖ_{tk}$の平均値$Ｖ_{tav}$に対する差を平均値とともにオフセット$Ｖ_{kof}$としてメモリ６０３ａに格納しておく。実測定の際に、このメモリ６０３ａのオフセット$Ｖ_{kof}$に応じた補正値により、各モジュール１３５から得られた実測値をそれぞれ補正することにより、得られた実測値の測定誤差を補正できる。また、実測定の際に、出力電圧$Ｖ_{tk}$の平均値$Ｖ_{tav}$に応じた補正値により、各モジュール１３５の掃引電

圧を補正することもできる。具体的には、実測定の際に電圧源６０７からオフセット補償電圧－V_{tav}を印加することにより、オフセットが補償できる。

このように、参照極１４３に現れる反転出力電圧より、所定の電圧からのずれ、すなわち帰還回路のオフセットや入力電圧に対する出力電圧のずれを知ることが出来る。特に、オフセットに関しては、演算増幅器１５２の非反転入力に与える電圧を調整することにより除去することができ、帰還の精度を高めることができる。アレイ状に作製されるモジュール１３５を含む半導体回路は、並進対称性を満たすように同一チップ中に配置される。これは、半導体製造工程での条件不均一性が生じた場合に、その影響がアレイ中のどの要素にも等しく現れるようにするような工夫である。より具体的には、異なるモジュール内部に存在する演算増幅器１５２は全て同じ方位に配置される。演算増幅器１５１，１５３についても同様である。この工夫を行うと、モジュール間で発生する差異が少なくなる。よって、演算増幅器１５２の非反転入力端子に共通な電圧を加えるだけで、オフセットの大部分を同時に解消することが可能となる。

図２６は図１～図１３、図１４～図１８、図１９～図２２の各実施形態において、さらにオフセットのみならず、測定回路の線形性、比例係数などの設計値に対するずれを補償する補償回路６１０の一例を示す図である。図５や図１３と共通する構成には同一の符号を付し、詳細な説明は省略する。

この補償回路６１０は、図１の分析装置筐体１１に設けら

れ、分析装置筐体１１に核酸検出用チップ１２を装着して核酸検出用チップ１２と送液／温調機器１１１とを物理的に接続する。また、核酸検出用チップ１２とチップ－筐体インタフェース１１２とを電気的に接続すると、自動的に核酸検出用チップ１２のＡ／Ｄコンバータ１３７と補償回路６１０の補償論理回路６１７が電気的にインタフェース１３１を介して接続される。その結果、かつセレクタ６１４の出力が各モジュール135_0、135_1の作用極１４１に接続されるようになっている。モジュール135_0、135_1の各々の電極面積はA_0、αA_0、各々の電流増幅率は、１：１、α：１である。なお、ここでは説明の便宜のため図２６を用いて２つのモジュール135_0、135_1を取り上げて説明しているが、３つ以上のモジュールについても同様に適用可能であることはもちろんである。

図２６に示すように、補償回路６１０は、メモリ６１２、表示部６１６を有する補償論理回路６１７、電流源６１３、電圧源６１５およびセレクタ６１４からなる。補償論理回路６１７の出力は電流源６１３及び電圧源６１５に接続される。電流源６１３はスイッチSW_5を介してセレクタ６１４入力に接続される。電圧源６１５の出力は、各モジュール135_0、135_1の演算増幅器１５１の非反転入力に接続される。電流源６１３から作用極１４１に接続された各モジュール135_0、135_1の電流検出回路に電流を流すことにより、実測定時に観測される電流をモジュール外部から擬似的に与えることができる。

スイッチSW_5をオンにし、電流源６１３からセレクタ６１４を介して選択的に各モジュール135_0、135_1の作用極１４１側に電流を流す。この段階では、電圧源６１５からは電圧は印加されない。この電流は、電流検出回路及び正規化回路、セレクタ１３６、Ａ／Ｄコンバータ１３７を経て補償論理回路６１７に出力される。補償論理回路６１７は、Ａ／Ｄコンバータ１３７からの信号から線形性、比例係数やオフセットなどを計測し、その計測値をメモリ６１２に格納しておく。

以上の事前測定が終了した後、図９に示すように校正（ｓ１）および測定（ｓ２）を行い、得られた測定結果に計測値に基づく修正を加える。

これにより、カレントミラー回路を含めた測定回路の線形性、比例係数、オフセットなどの設計値に対するずれを補正した測定結果を得ることができる。

また、電流源６１３の入力に対する各モジュール１３５の応答を分析し、その結果に基づき適切な電圧を電圧源６１５から演算増幅器１５１の非反転入力端子に入力する。これにより、図２５の場合と同様なオフセット補償を行うことが可能である。

具体的には、モジュール135_0、135_1のセンサ各々について仕様で定められたオフセットの上限値ΔI_0，ΔI_1と同等の大きさで、かつ符号の異なる電流$\pm\Delta I_0$，$\pm\Delta I_1$をそれぞれのモジュール135_0、135_1にセレクタ６１４を通じて入力し、その応答を観測する。$+\Delta I_0$，$+$

ΔI_1が入力された場合の出力値が正のある値であり、かつ$-\Delta I_0$，$-\Delta I_1$が入力された場合の出力値が負のある値となる場合、注目しているモジュールのセンサは仕様を満たすこととなる。ここで、装置の作製過程が仕様に対し適当であれば、適切な電圧を演算増幅器１５１の非反転入力端子に入力することにより、全てのモジュール１３５において、$+\Delta I_0$，$+\Delta I_1$が入力された場合の出力値が正でかつ$-\Delta I_0$，$-\Delta I_1$が入力された場合の出力値が負となるような条件を見つけることが可能である。この条件が満たされたとき、オフセット除去が最適に行われたこととなる。

また、このとき「良品」、「不良品」の判定も同時に行うことが可能となる。すなわち、最適なオフセット除去が可能となる電圧が存在しない場合、演算処理装置１１３は、測定回路のオフセットが仕様を満たさないため、チップを「不良品」と判定する。

図２７は核酸検出用チップの変形例を示す図である。図２７に示す核酸検出用チップ７００は、ガラス基板７０６の上にＳｉチップ７０２およびアレイ状の３電極系１４０が複数配置されるチップオングラス構造をなす。各３電極系１４０はいずれかのＳｉチップ７０２に配線により接続されており、３電極系１４０における検出信号がＳｉチップ７０２側で信号処理されるようになっている。また、このＳｉチップ７０２がチップ－筐体インタフェース１１２に接続され、信号が演算処理装置１１３に出力される。

以上説明したように本実施形態によれば、電流検出型の核

酸検出用チップ１２を用いて、濃度に対する感度のレンジを広くとり、濃度を定量的に分析できる。

また、集積回路をプローブアレイと同一基板上に集積することにより、測定時間の同時性を保ちつつ電気的な雑音を抑えることが可能になる。

電流測定型チップにおいて同時性が重要になるのは、ヘキストの経時変化のため、またプローブ核酸と標的核酸が構成する２本鎖に対しヘキストの結合量の時間的な累積により、信号強度が変動するためである。特に比較すべき信号を測定する時刻は、できる限り同時性を高めることが望ましい。図１に示すようにプローブをアレイ状に多数実装する核酸検出用チップ１２では、測定用回路をプローブと同数集積しておくことでこれが実現される。回路を集積化することにより、電気的な外乱による雑音も低減が望めるため、同時に周辺回路で発生する電気的な雑音を排除することができる。

さらに本実施形態によれば、プローブで検出された信号と同時刻に観測されたバックグラウンド電流を、プローブから検出された電流から直接的に差し引き、正味の信号電流を正確に得る。これにより、信号レベルがバックグラウンドレベルに対して相対的に小さい場合に、減算回路の後段に位置する例えば増幅回路やＡ／Ｄ変換する回路のダイナミックレンジを有効に利用することができる。特に遺伝子発現解析においては有利な効果である。

本発明は上記実施形態に限定されるものではない。

図５に示したモジュール１５０の構成はほんの一例にすぎ

ない。例えば、図３０に示すように、カレントミラーを多段接続したカスコードカレントミラーを用いてもよい。

図３０において、図５と共通する構成には同一符号を付し、詳細な説明は省略する。図３０に示すように、トランジスタＭ３ａのソースはトランジスタＭ３ｂのドレイン、ゲート及びトランジスタＭ５ｂのゲートに接続される。トランジスタＭ３ａのボディー及びトランジスタＭ３ｂのソースは負電源電圧－Ｖｓに接続される。トランジスタＭ５ａのソース及びトランジスタＭ５ｂのドレインが接続され、トランジスタＭ５ａのボディー及びトランジスタＭ５ｂのソースは負電源電圧－Ｖｓに接続される。

トランジスタＭ３ａ及びＭ５ａからなる一段目のカレントミラーの電流増幅率とトランジスタＭ３ｂ及びＭ５ｂからなる二段目のカレントミラーの電流増幅率は同じに設定される。

トランジスタＭ４ａ、Ｍ４ｂ、Ｍ６ａ、Ｍ６ｂも、トランジスタＭ３ａ、Ｍ３ｂ、Ｍ５ａ、Ｍ５ｂと正負逆特性を有する以外は同一構造をなす。

図５に示した回路では、トランジスタのチャネル変調効果によってカレントミラーの精度が上がらない場合がある。この場合、図３０に示したようなカスコードカレントミラーを用いることにより、電流検出の精度を向上させることができる。

上記実施形態では、核酸の定量分析を行う核酸定量分析装置及び分析方法を示したが、これに限定されない。定量分析の対象は、核酸のみならず、ハイブリダイゼーション反応に

より存在の有無を測定可能なあらゆる塩基配列を有する物質が対象となる。従って、本発明は、所定の塩基配列の定量分析を行う塩基配列定量分析装置及び分析方法として成立する。

従って、図２に示した核酸検出用チップ１２は、核酸検出用に限らず広く塩基配列を検出するための塩基配列検出用チップに置換して本発明を適用可能である。また、図２に示したチップ構成はほんの一例に過ぎず、直線状に電極が配置されず、アレイ状に配置されたチップなど、あらゆる核酸検出用チップに置換して本発明を適用可能である。

また、図５に示した３電極系１４０を有するモジュール１３５は、核酸濃度定量分析装置のみならず、広く電気分解装置として用いることができる。

また、演算処理装置１１３に本発明の機能を実行するためのプログラムを組み込み、当該プログラムにより本発明の機能を実行させる場合を示したが、例えばこれらプログラムを記録したコンピュータ読取可能な記録媒体を演算処理装置１１３に接続された図示しない記録媒体読取装置から読み取り、演算処理装置１１３に当該機能を実行させてもよい。

（第２実施形態）

本実施形態は第１実施形態の改良に係わる。本実施形態は、バックグラウンド電流の影響を低減するものである。

図３２はバックグラウンド電流による問題点を説明するための図である。飽和レベルとバックグラウンドレベルの電流について、電極直径が２０，５０，１００，２００及び５００μｍの５つの例について正規化電流を比較して示している。

バックグラウンド電流に含まれる電流成分のうち、電極面積に比例する成分が電極の周囲長に比例する成分に対し相対的に小さいことが確認できる。この場合、電極の面積を縮小すると、電極の面積に比例する傾向の強い信号電流が相対的に小さくなり、測定の精度が下がる。信号を測定する回路のダイナミックレンジのほとんどをバックグラウンド成分が占めるからである。

上記問題点を解決するためのモジュールの回路構成を図３３に示す。センサ面積が同一、すなわち作用極の面積が同一の３電極系１４０$_a$、１４０$_b$、１４０$_c$を有するモジュール３３０$_0$、３３０$_1$、３３０$_2$の信号出力がセレクタ１３６に接続される。モジュール３３０$_2$はモジュール３３０$_0$及び３３０$_1$のバックグラウンド電流検出用モジュールである。これらモジュール３３０$_0$、３３０$_1$、３３０$_2$以外の構成は、第１実施形態で説明した構成と共通するので、詳細な説明は省略する。

モジュール３３０$_2$において、６つのトランジスタＭ１$_2$～Ｍ６$_2$からなる正負電流用カレントミラーを備えた電流検出回路は図５や図１３の構成と共通するが、その電流増幅率は１：Ｂである。図３３では、３電極系１４０$_a$、１４０$_b$、１４０$_c$の対極１４２および参照極１４３側の構成については省略してある。

また、モジュール３３０$_0$，３３０$_1$，３３０$_2$の各々において、正負電流用カレントミラーの電流取り出し側には、それぞれ演算増幅器３３１$_0$，３３１$_1$，３３１$_2$の反転入

力端子が接続され、その非反転入力端子は接地される。また、演算増幅器331_0，331_1，331_2の反転入力端子と出力には、電流電圧変換や電流増幅を行うための回路332_0，332_1，332_2が接続され、その出力はセレクタ136に接続される。

トランジスタ$M4_2$のゲートは、トランジスタ$M6_2$のゲートのみならず、他のモジュール330_0及びのトランジスタM81のゲートと、モジュール330_1のトランジスタM82のゲートに並列に接続されている。トランジスタ$M3_2$のゲートは、トランジスタ$M5_2$のゲートのみならず、他のモジュール330_0及びのトランジスタM71のゲートと、モジュール330_1のトランジスタM72のゲートに並列に接続されている。各MOSFETのゲート幅は、トランジスタ$M3_2$，$M4_2$，M72，M82，M71，M81とトランジスタ$M5_2$，$M6_2$が1：Bに設定されている。

モジュール330_0において3電極系140_aに信号電流I_{S1}が流れると同時に、モジュール330_1においては3電極系140_bに信号電流I_{S2}が、モジュール330_2においては3電極系140_cにバックグラウンド電流I_{BG}がそれぞれ流れる。このとき、トランジスタ$M3_2$，$M4_2$とトランジスタM71，M81ならびにトランジスタM72，M82で形成されるカレントミラーの効果により、モジュール330_0においてはトランジスタM81からバックグラウンド電流I_{BG}が流れ、電流電圧変換回路b_0には電流$I_{BG}-I_{S1}$が流れる。同様に、モジュール330_1においてはト

ランジスタＭ８２からバックグラウンド電流I_{BG}が流れ、電流電圧変換回路b_1には電流$I_{BG}-I_{S2}$が流れる。モジュール330_2においては、電流BI_{BG}が電流電圧変換回路b_2に流れる。このように、モジュール330_0では、３電極系140_aの核酸電流I_{S1}から、モジュール330_2で検出されたバックグラウンド電流I_{BG}を減算して出力し、モジュール330_1では、３電極系140_bの核酸電流I_{S2}から、モジュール330_2で検出されたバックグラウンド電流I_{BG}を減算して出力する。そして、その後段に設けられた電流電圧変換回路b_0，b_1で、電流電圧変換を行う。

図３４～図３７は電流電圧変換回路b_0、b_1及びb_2の具体的な構成例を示す図である。特に図３４ならびに図３５は図３３における増幅率Ｂが１、すなわち電流の増幅を必要としない場合に適する。

図３４は、電流電圧変換回路の一例を示す図であり、この図３４に示される電流電圧変換回路３４０が電流電圧変換回路b_0～b_2に適用される。図３４に示すように、演算増幅器３３１の反転入力端子と出力端子が抵抗３４１で短絡されている。演算増幅器３３１の出力端子の電圧V_{OUT}は、入力電流I_{IN}に比例する。電流電圧変換回路b_0の例では、演算増幅器331_0の出力端子の出力電圧V_{OUT0}は、入力電流$I_{S1}-I_{BG}$に比例した値となる。電流電圧変換回路b_1の例では、演算増幅器331_1の出力端子の出力電圧V_{OUT1}は、入力電流$I_{S2}-I_{BG}$に比例した値となる。回路b_2の例では、演算増幅器331_2の出力端子の出力電圧V_{OUT}

$_2$は、入力電流ＢＩ$_{BG}$に比例した値、すなわちＢ＝１の場合はＩ$_{BG}$に比例した値となる。

図３５は、電流電圧変換回路の別の一例を示す図であり、この図３５に示される電流電圧変換回路３５０が電流電圧変換回路ｂ$_0$～ｂ$_2$に適用される。図３５に示すように、演算増幅器３３１の反転入力端子には、スイッチ３４３とキャパシタ３４２からなるスイッチトキャパシタが設けられている。このスイッチトキャパシタにより、スイッチ３４３を開いた状態でキャパシタ３４２に前段から流入する電荷を蓄積し、スイッチ３４３を閉じることでこの電荷を逃すことができる。なお、このスイッチトキャパシタを用いた電流電圧変換の原理は、前述の図１３におけるスイッチトキャパシタにおける動作原理と共通するので説明は省略する。演算増幅器３３１の出力端子の電圧Ｖ$_{OUT}$は、入力電流Ｉ$_{IN}$に比例する。この図３５に示す電流電圧変換回路３５０を適用した電流電圧変換回路ｂ$_0$の例では、演算増幅器３３１$_0$の出力端子の出力電圧Ｖ$_{OUT0}$は、入力電流Ｉ$_{S1}$－Ｉ$_{BG}$に比例した値となる。電流電圧変換回路ｂ$_1$の例では、演算増幅器３３１$_1$の出力端子の出力電圧Ｖ$_{OUT1}$は、入力電流Ｉ$_{S2}$－Ｉ$_{BG}$に比例した値となる。電流電圧変換回路ｂ$_2$の例では、演算増幅器３３１$_2$の出力端子の出力電圧Ｖ$_{OUT2}$は、入力電流ＢＩ$_{BG}$に比例した値、すなわちＢ＝１の場合はＩ$_{BG}$に比例した値となる。

図３６及び図３７は、電流電圧変換回路のさらに別の一例を示す図である。図３６に示す電流電圧変換回路３６０は、

さらに電流増幅部を備えている。このため、３電極系１４０$_a$，１４０$_b$，１４０$_c$から出力される電流それぞれをＢ倍に増幅する場合に適する。この図３６を図３３の構成に適用することにより、センサ、減算部、正規化部、電流電圧変換部が順に配置された構成が実現される。

図３６の電流電圧変換回路３６０は、電流電圧変換回路ｂ$_0$及びｂ$_1$に適用され、図３７の電流電圧変換回路３７０は、電流電圧変換回路ｂ$_2$に適用される。なお、図３７に示す回路を電流電圧変換回路ｂ$_2$へ適用した構成は、演算増幅器を設ける必要がなく、演算増幅器３３１$_2$及び回路３３２$_2$からなる図３３の電流電圧変換回路ｂ$_2$の構成ではなくなる。

図３６における電流増幅機能は、図３６のトランジスタＭ１～Ｍ６からなる正負電流用カレントミラーにより実現され、その電流増幅の原理は、図１３などで説明したものと共通するため、その詳細な説明は省略する。この正負電流用カレントミラーによる電流増幅率を１：Ｂとすると、カレントミラーの出力端子には電流ＢＩ$_{IN}$が流れる。これにより、検出電流の正規化が実現される。

正負電流用カレントミラーの電流取り出し側には、スイッチＳＷ$_1$を介してトランジスタＭ７のゲートが接続されている。このトランジスタＭ７のソースはディプレッションモードのＮ型ＭＯＳＦＥＴ　Ｍ８のドレインとセレクタ１３６に接続されている。トランジスタＭ８のソースはそのゲートに接続されている。これは、ソースフォロアと呼ばれる回路構成の一つである。もちろん，別の手法で構成するソースフォ

ロアやボルテージフォロアなどのバッファを用いてもよい。また、正負電流用カレントミラーの電流取り出し側とトランジスタＭ７の間にはスイッチＳＷ$_2$およびキャパシタＣからなるスイッチトキャパシタが設けられ、このスイッチトキャパシタにより、スイッチＳＷ$_2$を開いた状態でキャパシタＣにカレントミラーを介して流れる電荷を蓄積し、スイッチＳＷ$_2$を閉じることでこの電荷を逃がすことができる。

スイッチＳＷ$_1$およびＳＷ$_2$の開閉制御の手法、その手法による電流電圧変換動作については、図１３で説明したものと共通するので詳細な説明は省略する。

図３７に示すように、回路ｂ$_2$に適用される電流電圧変換回路は、図３６に示す回路から、電流増幅機能を実現するカレントミラー及び演算増幅器３３１を省略した構成である。このスイッチＳＷ$_1$、ＳＷ$_2$、キャパシタＣ、トランジスタＭ７及びＭ８を用いた電流電圧変換動作は、図３６や図１３で説明した動作原理と共通するため、詳細な説明は省略する。この図３７では、その前段に既にカレントミラーが配置され、電流増幅が実現されるため、改めて電流増幅回路を設ける必要がない。この図３７の電流電圧変換回路の出力電圧Ｖ$_{OUT}$は入力電流Ｉ$_{IN}$に比例した値をとる。この図３７に示される電流電圧変換回路をｂ$_2$に適用することにより、３電極系１４０$_c$の入力電流Ｉ$_{BG}$に対して、その電流をＢ倍した値に比例し、この電流を電圧に変換した出力電圧Ｖ$_{OUT2}$を得ることができる。

このように、図３３の例では、電極の面積が小さい領域で

は、図３４～図３７のいずれを適用した場合も、電流電圧変換を行う前に、減算回路を使用する。この例では、バックグラウンドレベルを検出する３電極系１４０$_c$からの信号を核酸検出レベルを検出する３電極系１４０$_a$及び１４０$_b$からの信号から減算して出力され、同時にもとのバックグラウンドレベル検出センサからの信号をも出力される。そして、この減算回路の後段に、電流電圧変換回路を配置する。これにより、電極面積に比例する傾向が強い信号成分のみを電流-電圧変換回路およびＡ／Ｄコンバータのダイナミックレンジ全域を用いて測定可能となる。

なお、破線で囲われた回路ａ$_0$～ａ$_2$の部分は、素子間のミスマッチを低減するために、互いに近距離に置くのが望ましい。

このように本実施形態によれば、小さい電極面積を持つセンサを用いて定量分析を行う場合であっても、電流電圧変換前にバックグラウンド電流を減算することにより、バックグラウンド電流の影響を電極面積に比例する測定すべき電流に比して相対的に低減した分析が可能となる。これにより、異なる電極面積間の測定値のミスマッチを低減でき、高精度の定量分析が可能となる。

（第３実施形態）

本実施形態は第１実施形態の改良に係わる。本実施形態は、電流増幅回路を備えたモジュールの別の形態に係わる。第１実施形態や第２実施形態で記載した電流増幅回路を簡素化した構成に係わる。

第１実施形態や第２実施形態では、図５，図１３や図３３，図３６などに示すように、電流をコピーしあるいは増幅する場合、センサ電極電位を基準電位に固定する帰還回路内部に固定されるトランジスタと、コピー動作を実際に行うトランジスタを別の機能ブロックとして実現していた。例えば図５の例の場合、センサ電極電位を基準電位に固定する帰還回路内部に固定されるトランジスタはＭ１及びＭ２であり、電流コピー用のトランジスタはＭ４，Ｍ６の対と、Ｍ３，Ｍ５の対である。

本実施形態の電流増幅回路を備えたモジュールの構成の一例を図３８に示す。図３８のモジュール３８０において、演算増幅器１５１の出力端子はＮＭＯＳトランジスタＭ１及びＭ２のゲートに接続される。

また、３電極系１４０の作用極は、トランジスタＭ１のドレインと演算増幅器１５１の反転入力端子に接続される。演算増幅器１５１の非反転入力端子は接地される。トランジスタＭ１のソースは＋Ｖｓの正電源に接続され、ボディーは－Ｖｓの負電源に接続される。また、トランジスタＭ２のソースは＋Ｖｓの正電源に接続され、ボディーは－Ｖｓの負電源に接続される。トランジスタＭ１とＭ２の電流増幅率は１：１０である。

トランジスタＭ２のドレインは演算増幅器３８１の反転入力端子と、ＰＭＯＳトランジスタＭ３のドレインに接続される。演算増幅器３８１の出力端子はトランジスタＭ３のゲートと、ＰＭＯＳトランジスタＭ４のゲートに接続される。Ｐ

ＭＯＳトランジスタＭ４のボディーは正電源＋Ｖｓに接続され、ソースは－Ｖｓの負電源に接続され、ドレインは電流電圧変換回路３８２に接続される。トランジスタＭ３とＭ４により実現される電流増幅率は１：１０である。

電流電圧変換回路３８２は、演算増幅器３３１及び回路３３２の組合せからなり、具体的には、図３４乃至図３６に記載の電流電圧変換回路のいずれかが適用される。

この図３８の例の場合、入力される電流の極性は酸化電流あるいは還元電流のどちらか単一の極性に限られる。しかし、挿入剤の電気化学反応に起因する電流の極性が予め分かっている場合は、この回路構成にすることによって、ＰＭＯＳトランジスタとＮＭＯＳトランジスタのミスマッチに起因するオフセット電流が流れることを防ぐことが可能である。

また、電流電圧変換回路３８２は、図５と同様の電流計を用いても良いが、その入力ノードは演算増幅器３３１により実現される仮想接地を行うことが望ましい。この回路では、ＮＭＯＳトランジスタとＰＭＯＳトランジスタ両方のペアで１０倍の増幅を行えば、１００倍の増幅を行うことが可能である。

トランジスタＭ１及びＭ２の対により、トランジスタＭ１に流れる電流I_1が１０倍に増幅されてトランジスタＭ２に電流$10I_1$が流れる。また、トランジスタＭ３及びＭ４の対により、トランジスタＭ２からトランジスタＭ３に流れた電流$10I_1$が１０倍に増幅されてトランジスタＭ４に電流$100I_1$が流れる。

このように、本実施形態の電流増幅回路を用いることにより、ＰＭＯＳトランジスタとＮＭＯＳトランジスタのミスマッチに起因するオフセット電流が流れるのを防ぐことができる。

（第４実施形態）

本実施形態は第１実施形態の改良に係わる。本実施形態は、第３実施形態に示した電流増幅回路を用いて電流を正規化する実施形態に係わる。

図３９は本実施形態に係るモジュールの回路構成の一例を示す図である。センサ面積が同一、すなわち作用極の面積が同一の３電極系140_a、140_b、140_cを有するモジュール390_0、390_1、390_2の信号出力がセレクタ１３６に接続される。モジュール390_2はモジュール390_0及び390_1のバックグラウンド電流検出用モジュールである。これらモジュール390_0、390_1、390_2以外の構成は、第１実施形態で説明した構成と共通するので、詳細な説明は省略する。

モジュール390_2の構成は、図３８のモジュール３８０と共通し、その動作は同じである。異なるのは、トランジスタＭ１０とＭ２０により実現される電流増幅率が１：Ｂで、トランジスタＭ３０とＭ４０の電流増幅率が１：１である点である。

モジュール390_0において、３電極系140_aの作用極は、演算増幅器151_0の反転入力端子とＮＭＯＳトランジスタＭ１１のドレインに接続される。演算増幅器151_0の

非反転入力端子は接地される。トランジスタＭ１１のソースは＋Ｖｓの正電源に接続され、ボディーは－Ｖｓの負電源に接続される。また、トランジスタＭ２１のソースは＋Ｖｓの正電源に接続され、ボディーは－Ｖｓの負電源に接続される。

トランジスタＭ２１のドレインは演算増幅器３３１$_0$の反転入力端子と、回路３３２$_0$と、トランジスタＭ３１のドレインに接続される。トランジスタＭ３１のソースは－Ｖｓの負電源に接続され、ボディーは＋Ｖｓの正電源に接続される。また、トランジスタＭ３１のゲートは、バックグラウンド電流用のモジュール３９０$_2$の演算増幅器３８１の出力端子に接続される。これにより、モジュール３９０$_2$においてＢ倍に増幅された電流ＢＩ$_{BG}$がトランジスタＭ３１で取り出される。３電極系１４０$_a$の作用極に流れる電流Ｉ$_{S1}$は、トランジスタＭ２１側でＢ倍に増幅されてＢＩ$_{S1}$となる。したがって、電流電圧変換回路ｂ$_0$に流れ込む電流はＢ（Ｉ$_{S1}$－Ｉ$_{BG}$）となる。そして、電流電圧変換回路ｂ$_0$の出力端子では、電流Ｂ（Ｉ$_{S1}$－Ｉ$_{BG}$）に比例した電圧が取り出される。

モジュール３９０$_1$において、３電極系１４０$_b$の作用極は、演算増幅器１５１$_1$の反転入力端子とＮＭＯＳトランジスタＭ１２のドレインに接続される。演算増幅器１５１$_1$の非反転入力端子は接地される。トランジスタＭ１２のソースは＋Ｖｓの正電源に接続され、ボディーは－Ｖｓの負電源に接続される。また、トランジスタＭ２２のソースは＋Ｖｓの正電源に接続され、ボディーは－Ｖｓの負電源に接続される。

トランジスタＭ２２のドレインは演算増幅器３３１$_1$の反転入力端子と、回路３３２$_1$と、トランジスタＭ３２のドレインに接続される。トランジスタＭ３２のソースは－Ｖｓの負電源に接続され、ボディーは＋Ｖｓの正電源に接続される。また、トランジスタＭ３２のゲートは、バックグラウンド電流用のモジュール３９０$_2$の演算増幅器３８１の出力端子に接続される。これにより、モジュール３９０$_2$においてＢ倍に増幅された電流ＢＩ$_{BG}$がトランジスタＭ３２で取り出される。３電極系１４０$_b$の作用極に流れる電流Ｉ$_{S2}$は、トランジスタＭ２２側でＢ倍に増幅されてＢＩ$_{S2}$となる。したがって、電流電圧変換回路ｂ$_1$に流れ込む電流はＢ（Ｉ$_{S2}$－Ｉ$_{BG}$）となる。そして、電流電圧変換回路ｂ$_1$の出力端子では、電流Ｂ（Ｉ$_{S2}$－Ｉ$_{BG}$）に比例した電圧が取り出される。

なお、上記電流電圧変換回路ｂ$_0$、ｂ$_1$及びｂ$_2$の具体的な構成は、図３４～図３７に示された回路が適用される点は、図３３の例と同様である。

なお、このモジュール３９０$_0$、３９０$_1$、３９０$_2$の電流増幅率をＢ倍としたが、このようなモジュール３９０$_0$、３９０$_1$、３９０$_2$の組み合わせに対して、異なる電流増幅率を電極面積に応じて複数割り当てることにより、正規化が可能となる。すなわち、作用極の電極面積Ａ$_0$のモジュール３９０$_0$、３９０$_1$、３９０$_2$の第１の組み合わせは電流増幅率Ｂ＝１倍、作用極の電極面積αＡ$_0$のモジュール３９０$_0$、３９０$_1$、３９０$_2$の第２の組み合わせはＢ＝１／α倍、

作用極の電極面積$\alpha^2 A_0$のモジュール390_0、390_1、390_2の第3の組み合わせはB＝1／α^2倍、…というように設定することにより、減算、正規化、電流電圧変換を備えたモジュールを実現できる。なお、この図39の例の場合、電流増幅を先に行った後に減算を行う回路である。

このように本実施形態によれば、PMOSトランジスタとNMOSトランジスタのミスマッチに起因するオフセット電流が流れるのを防ぎつつ、正規化、電流増幅、減算及び電流電圧変換を行うモジュールが実現可能である。

（第5実施形態）

本実施形態は第1実施形態の変形例に係わる。本実施形態は電極面積に応じた正規化をカレントミラーのみならず容量素子を用いて行う実施形態に係わる。

図40は本実施形態に係るモジュールの構成の一例を示す図である。図40のモジュール400_0～400_2は、図13のモジュール135_0～135_2の構成とほぼ共通しており、共通する構成には同一符号を付し詳細な説明は省略する。図40のモジュール400_0のキャパシタC_0、モジュール400_0のキャパシタC_1、モジュール400_2のキャパシタC_2は、それぞれ容量値が異なる。

正規化回路に含まれるカレントミラーの増幅度が、素子寸法の制約で十分とることができない場合、電流電圧変換回路に実装されるキャパシタの容量値を小さくすることによってこれを補うことができる。作用極の電極面積$A_x = \alpha_x A_0$の電極から出力される電極に、B_x倍の電流増幅率のカレン

トミラーが接続され、容量値C_xの積分回路に接続される場合、次の等式が成立するようにパラメータが決定される。

$A_x B_x / C_x$＝定数

このパラメータの決定方式に基づき与えられるモジュールの各パラメータの一覧を表２に示す。

表２

X 回路 #	A_X 面積	B_X 電流増幅率	C_X 容量値	$A_X B_X / C_X$
0	A_0	1	C_0	A_0/C_0
1	αA_0	α^{-1}	C_0	A_0/C_0
2	$\alpha^2 A_0$	α^{-1}	αC_0	A_0/C_0
3	$\alpha^3 A_0$	α^{-1}	$\alpha^2 C_0$	A_0/C_0
4	$\alpha^4 A_0$	α^{-2}	$\alpha^2 C_0$	A_0/C_0

表２に示すように、α倍ごとに面積を大きくさせる回路を作成する場合、電流増幅率は、α^{-2}倍が設計制約上の限度であったとする。この場合、容量値をα倍、あるいはα^2倍とすることで、いずれのモジュールも、$A_x B_x / C_x = A_0 / C_0$とした正規化回路を備えたモジュールが実現できる。なお、$0 < \alpha < 1$である。

このように本実施形態によれば、カレントミラーの増幅度が素子寸法の制約上十分とることができない場合であっても、ダイナミックレンジの広い核酸濃度の定量分析が可能となる。

（第６実施形態）

本実施形態は第１実施形態の改良に係わる。本実施形態は、回路の位相補償を行う回路の構成に係わる。

図４１は本実施形態に係るモジュール４１０の構成の一例

を示す図である。モジュール４１０の構成は、図３３のモジュール３３０$_2$の構成とほぼ共通し、その共通する構成には共通する符号を付し、詳細な説明は省略する。すなわち、モジュール３３０$_2$の３電極系１４０$_2$、演算増幅器１５１、トランジスタＭ１$_2$～Ｍ６$_2$からなる正負電流用カレントミラー、電流電圧変換回路ｂ$_2$の各構成は、モジュール４１０の３電極系１４０、演算増幅器１５１、トランジスタＭ１～Ｍ６からなる正負電流用カレントミラー、電流電圧変換回路ｂに対応する。異なるのは、３電極系１４０と演算増幅器１５１の反転入力端子との間にキャパシタＣ$_a$が接続されていること、演算増幅器１５１の出力端子と反転入力端子との間にキャパシタＣ$_b$が接続されていることである。ここで、キャパシタＣ$_a$は分析を行おうとする溶液に起因して生ずる等価的な容量素子を示しており、容量素子Ｃ$_b$が位相補償用の容量素子として機能する。

電気化学測定を行う本回路の場合、このキャパシタＣ$_a$の容量値が非常に大きくなる場合があるため、位相補償を適切に行うためには大きな容量素子Ｃ$_b$が必要になる場合が生ずる。図４２はこのキャパシタＣ$_b$の構成の一例を示す図である。図４２に示すように、基板４２１の上に絶縁層４２２が形成されている。この絶縁層４２２に設けられているコンタクトホールには金属からなる２つのコンタクトプラグ４２３が埋め込み形成されており、絶縁層４２２表面には２つの金属層４２４が２つのコンタクトプラグ４２３上を覆うように選択的に形成される。この２つの金属層４２４はコンタクト

プラグ４２３により基板４２１に電気的に接続される。基板４２１には各種集積回路が形成されている。そして、２つの金属層４２４表面は、溶液４２５中に浸漬される。

このように、集積回路を利用した電気化学アナライザ中で、位相補償を行うために必要な大容量の容量素子を、実際に電気分解を行う溶媒中に発生する電気二重層素子で実現する。同図の２つの金属層４２４を電極として用い、実際に電気化学測定を行う溶液に浸漬する。すなわち、金属層４２４の一方はコンタクトプラグ４２３を介して演算増幅器１５１の反転入力端子に接続され、金属層４２４のもう一方は別のコンタクトプラグ４２３を介して演算増幅器１５１の出力端子に接続される。これにより、センサ付近に生じる大きな容量と同等の容量素子を簡単に実現することができる。

このように、本実施形態によれば、集積回路による容量素子の実現が困難な場合であっても、セル内の構成を用いて容量素子を簡便に実現することができる。

（第７実施形態）

本実施形態は第１実施形態の改良に係わる。本実施形態は、電極面積により異なる各電極の測定可能な濃度のレンジをオーバーラップさせて分析を最適化する実施形態に係わる。

核酸検出センサが飽和レベルの信号を出力する条件を与える最小の核酸濃度をセンサが測定可能なレンジの上端と定義し、同様にバックグラウンドレベルの信号を出力する条件を与える最大の核酸濃度をセンサが測定可能なレンジの下端と定義する。このとき、隣り合うセンサの測定レンジは互いに

オーバーラップしていることが望ましい。

この条件を満たすようにセンサを設計する手法を以下に示す。ｉ番目に大きいセンサ(ただしｉ＝１，２，…，ｎ－１)のセンサ面上に存在するプローブの本数がN_i，そのダイナミックレンジ$d_i(dec)$［$d_i > 0$］を測定レンジ下端の濃度に対する測定レンジ上端の濃度の比と定義する。また、ｉ番目のセンサの測定レンジとこれよりも１段階面積の大きなセンサｉ－１の測定レンジとのオーバーラップする領域の下端に対する上端の比を$d_{i-1,\,i}$（dec）と定義し、さらにこの$d_{i-1,\,i}$とd_{i-1}の比$d_{i-1,\,i}/d_{i-1}$を設計者に任意のパラメータとして与えられるレンジオーバーラップファクターγ(０≦γ＜１)と定義するとき、センサ間の関係が

$$10^{d_{i-1}(1-\gamma)} = \frac{N_{i-1}}{N_i}$$

を満たすセンサ系列を持つチップを用いるのが望ましい。図４３はこのオーバーラップファクターγを説明するための図である。図４３に示すように、センサｉ－１、ｉ、ｉ＋１のダイナミックレンジがd_{i-1}、d_i、d_{i+1}で示されている。センサｉとセンサｉ－１の測定レンジがオーバーラップするのは、γd_{i-1}である。また、センサｉとセンサｉ＋１の測定レンジがオーバーラップするのは、γd_iである。ここで、オーバーラップファクターγはγ≦０．８５であるのが望ましい。またここで、$d_1 = d_2 = \cdots = d_{n-1} = d_n$＝一定と恣意的に設定したセンサ系列を備えたチップを用いるのが望ましい。

また、センサ面上に存在するプローブの本数N_iが面積に比例する条件で、面積比が一定となるチップを用いるのが望ましい。すなわち、センサiの面積をS_iと定義するとき、$S_{i+1}/S_i = S_i/S_{i-1} = \cdots =$一定となるのが望ましい。さらに、この面積比が、特に0．05以上0．5以下で一定となるチップを用いるのが望ましい。すなわち、$0.05 \leqq S_{i+1}/S_i = S_i/S_{i-1} = \cdots \leqq 0.5$となるのが望ましい。センサ系列において、面積の変化があまりに大きすぎる場合にはダイナミックレンジのオーバーラップが少なくなってしまう。また逆に面積の変化が少なすぎるとダイナミックレンジのオーバーラップが大きくなりすぎ、センサ系列全体でのダイナミックレンジを大きく取るにはセンサが多数必要となってしまうため、装置が大規模になってしまう。ここで示された面積比の条件は、このトレードオフにおける適切な条件を示すものである。

このように本実施形態によれば、各電極面積によるダイナミックレンジをオーバーラップさせることにより、測定漏れのない最適な定量分析が可能となる。

（第8実施形態）

本実施形態は第1実施形態の改良に係わる。本実施形態は、定量分析のさらに詳細な装置構成の実施形態に係わる。

第1実施形態に記載の構成によれば、核酸の濃度を定量的に分析するために、それぞれ異なる面積の電極を同一基板上に実装する。このとき、これらの電極に供給される標的核酸溶液は、面積の異なる電極間で拡散が起こらないように壁や

小胞で分離されていることが望ましい。更に、分離された溶液の体積は、電極面積によらず一定で、かつその区切られた溶液に浸漬される電極の数も電極面積にかかわらず一定であることが望ましい。このように装置を構成することが本実施形態の骨子である。これにより、より小さな電極では、プローブの本数に対する標的核酸の絶対数が大きくなり、感度を上げることが出来るからである。ただし、反応時間を十分大きく取る必要がある。

この本実施形態の骨子を実現する構成として、図４４や図４５が考えられる。

図４４は本実施形態の測定装置の原理に基づき作成される核酸濃度定量分析チップの要部断面を示す図である。図４４に示すように、単一の基板４４１上に、複数の電極（作用極）４４２ａ～４４２ｅと、これら電極４４２ａ～４４２ｅ表面をその一部を残して選択的に露出させる疎水性のパッシベーション膜４４３ａ～４４３ｅが形成されている。この電極と絶縁膜との組により、セルが形成される。パッシベーション膜４４３ａ～４４３ｅは、セル毎に電極４４２ａ～４４２ｅの表面をそれぞれ異なる面積だけ露出させている。これにより、セル毎に表面積の異なる作用極を実現することができる。このセルは、それぞれ検体溶液４４４ａ～４４４ｅで浸漬される。また、電極４４２ａ～４４２ｅ上にはプローブ核酸４４５ａ～４４５ｅが固定化される。これらプローブ核酸４４５ａ～４４５ｅと、検体溶液４４４ａ～４４４ｅ中の標的核酸が反応することにより、標的核酸濃度の定量分析が

可能となる。検体溶液４４４ａ～４４４ｅは、区切りを十分に置かず、同一体積で自立してスポットされる。これにより、面積の異なる電極間で拡散が起こらない構成が実現される。セル毎に分離された検体溶液４４４ａ～４４４ｅの体積は、電極面積によらずほぼ一定で、かつその区切られた検体溶液４４４ａ～４４４ｅに浸漬される電極の数も電極面積にかかわらず一定である。

図４５は別の実装を説明するための模式図である。図４５に示すように、基板４５０に、互いに区切られた同一体積の複数の小胞４５１ａ～４５１ｈが設けられている。これら小胞４５１ａ～４５１ｈはそれぞれ流路４５３により１つの標的核酸注入口４５２に接続されている。一例として、図４５では小胞４５１ｃ及び４５１ｈを拡大して示してある。小胞４５１ｃには、小さな面積で、互いに同一面積の複数の電極４５３ｃが設けられ、それぞれにプローブ核酸４５４ｃが固定化されている。小胞４５１ｈには、大きな面積で、互いに同一面積の複数の電極４５３ｈが設けられ、それぞれにプローブ核酸４５４ｈが固定化されている。

本実施形態の原理を、定量可能な核酸濃度の低濃度化及び定量可能な核酸濃度範囲の広域化という観点からより詳細に説明する。

基板表面に核酸プローブを固定化し、検出目的核酸とのハイブリダイゼーションを行うことを利用する核酸検出法における、検出可能な検出目的核酸濃度範囲について以下に述べる。

核酸濃度範囲とは、検出に用いる溶液が一定量とした場合、その溶液中に含まれる核酸分子数範囲と言い換えることができる。本実施形態では、この核酸分子数を基準にして核酸濃度範囲を考える。

図４６は検出可能な検出目的核酸の核酸濃度範囲を説明すための図である。図４６において、上段には、核酸濃度、即ち一定容量の溶液中に含まれる核酸分子数と、単位面積当たりの信号に正規化した正規化信号の関係を示している。中段には、大面積の電極４６１での、この電極４６１に固定化されたプローブ核酸４６２と標的核酸４６３との反応を模式的に示している。下段には、小面積の電極４６６での、この電極４６６に固定化されたプローブ核酸４６２と標的核酸４６３との反応を模式的に示している。上段のグラフ４６４は、中段の大面積の電極４６１における標的核酸濃度と得られる信号量を正規化したものの関係を示しており、グラフ４６５は、下段の小面積の電極４６６における標的核酸濃度と得られる信号量を正規化したものの関係を示している。

この図４６から分かるように、定量可能な核酸分子数の上限は、核酸プローブ固定化領域に固定化されている核酸プローブの分子数によって決定される。全ての核酸プローブが標的核酸分子とハイブリダイゼーションした状態が、定量上限を示す。この核酸プローブ分子数は、核酸プローブ固定化領域の面積と核酸プローブの固定化密度によって決定される。固定化密度は、いくつかの要因によって設定することが可能であるが、ハイブリダイゼーションに寄与できるプローブ分

子数が最大になるように通常設定される。密度が大きすぎても小さすぎても望ましくない。したがって、核酸プローブの固定化密度をある数値に設定した場合、固定化された核酸プローブ数は、核酸プローブ固定化領域面積によって決定される。即ち、定量可能な核酸濃度範囲の上限は核酸プローブ固定化領域面積によって決定されることになる。

一方、核酸濃度範囲の下限は、検出信号のバラツキやノイズ、バックグラウンド信号によって左右されるが、定量可能な上限の濃度に基づき、その 1/10,1/100,1/1000 といった形で通常は定義することができる。

したがって、上記のような設定では、定量可能な核酸濃度範囲は上限下限とも、核酸プローブ固定化領域面積に比例する。

図４７は図４６の上段に示すグラフをより詳細に示したものである。図４７のグラフ４７１は、ノイズレベル４７２から飽和レベル４７３までの範囲を示している。グラフ４７１は、飽和レベル４７３で飽和し、定量可能な濃度範囲で信号量は減少する。一方、グラフ４７１は、定量可能な濃度以下の範囲では、信号は再び一定となる。

図４８は、核酸プローブ固定化領域面積を変化させたグラフ例を示す図である。面積が大きい方から、グラフ４８１～４８４というように、信号量の変化する領域、すなわち濃度を評価可能なレンジが変化するのが分かる。

上記の性質を利用して、①定量可能な核酸濃度の低濃度化と、②定量可能な核酸濃度範囲の広域化という二つの課題に

ついて説明する。

①定量可能な核酸濃度の低濃度化

定量可能な核酸濃度範囲は上限下限とも、核酸プローブ固定化領域面積に比例する。この性質を利用し、面積の小さな核酸プローブ固定化領域を形成したデバイスを利用する。これにより、例えば面積を２ケタ小さくすれば濃度範囲は２ケタ下がる、４ケタ小さくすれば濃度範囲は４ケタ下がるといったように、定量可能な核酸濃度の低濃度化を実現することができる。

②定量可能な核酸濃度範囲の広域化について

定量可能な核酸濃度範囲の下限を仮に上限濃度の 1/100 と仮定する。即ち、定量可能な核酸濃度範囲は２ケタであると仮定する。定量可能な核酸濃度範囲は上限下限とも、核酸プローブ固定化領域面積に比例することを利用すると、核酸プローブ固定化領域面積が２ケタ小さくなると、定量可能な核酸濃度範囲も２ケタ下がることになる。逆に面積が２ケタ大きくなると、濃度範囲も２ケタ上がることになる。

図４９及び図５０はこの核酸濃度範囲を広域化する構成の模式図である。図４９に示すように、基板４９１上に面積の互いに異なる核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄが形成されている。各核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄの面積は、２ケタずつ連続的に異なる。この核酸プローブ固定化領域は、核酸プローブを固定化する電極などで定められる。図５０に示すように、これら核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄの各々を基板４９１から所定の高さま

で囲むように、サンプル保持枠４９３が配置される。このサンプル保持枠４９３に設けられたホールにより、セル領域４９４ａ～４９４ｄが定められる。これらセル領域４９４ａ～４９４ｄは、断面積が同じで、高さが同一、すなわち容積が同じである。

図４９及び図５０に示すように、面積が２ケタずつ連続的に異なる核酸プローブ固定化領域４９４ａ～４９４ｄの各々に、一定量ずつの検出目的核酸含有サンプルを反応させることの可能なデバイスを形成する。これにより、あらゆる濃度範囲で定量が可能となる。濃度の不明なサンプルを定量したい場合にも、必ず核酸プローブ固定化領域４９４ａ～４９４ｄのいずれかが、定量可能な核酸濃度範囲に適合することになる。

核酸濃度の定量分析を実現する別の構成を図７８Ａ～７８Ｄに示す。細長形状の基板７８１上に、同一面積の核酸プローブ固定化領域７８２が複数個ずつ（図７８Ａ～７８Ｄでは４個ずつ）まとめて形成されている。そして、これら核酸プローブ固定化領域７８２を囲むように、細長形状のサンプル保持枠７８３が形成されている。サンプル保持枠７８３は、基板上の領域を複数に区切り、かつ区切られた領域の隣接するもの同士を細い領域で接続する。これにより、同一面積、同一高さ、すなわち同一容積の複数のセル領域７８４ａ～７８４ｆと、これらセル領域７８４ａ～７８４ｆ同士を接続する流路を形成することができる。なお、セル領域７８４ａ及び７８４ｆは試料導入あるいは排出のための室であって、

核酸プローブ固定化領域７８２は設けられていない。図７９は、これらセル領域７８４ａ～７８４ｆの上面がサンプル保持枠フタ７８６で覆われた様子を示す図である。このサンプル保持枠フタ７８６は、サンプル保持枠７８３上に支持され固定されることでセル上面を覆うフタとして機能する。図７９に示すように、両端のセル領域７８４ａ及び７８４ｆにあわせてサンプル注入口７９１ａ及びサンプル出口７９１ｆが設けられている。

このように、定量の目的とする検体核酸の濃度よりも十分低い濃度領域を定量可能な核酸濃度範囲として持つ核酸プローブ固定化領域７８２を並べた装置が形成される。そして、図７８Ａから～図７８Ｄまでに順次示すように、標的核酸を含む検体溶液７８５を、まずサンプル注入口７９１ａから注入し、セル領域７８４ａから７８４ｂ、７８４ｃ、７８４ｄ、７８４ｅ及び７８４ｆへと順次移動させていく。検体溶液７８５の移動は、例えばポンプ等を用いてサンプル注入口７９１ａからセル内を加圧し、あるいはサンプル注入口８９１ｆからセル内の流体を吸引することで実現可能である。以下の実施形態でも、セル内の溶液の移動は同様の原理で行われる。

セル領域７８４ｂで、標的核酸分子は、核酸プローブ固定化領域７８２に固定化された核酸プローブとハイブリダイゼーション反応を起こし結合する。ここで、基板７８１上に形成した核酸プローブ固定化領域７８２は、その定量可能な核酸濃度範囲が十分低い範囲にあるため、検体溶液７８５中に存在する標的核酸分子数は、固定化されている核酸プローブ

数よりも十分多い。ただし、溶液中の標的核酸分子数はハイブリダイズした分子数だけ減少する。二つ目以降の核酸プローブ固定化領域でも同様の現象が起こり、溶液中の標的核酸分子数は徐々に減少していく。溶液中の標的核酸分子数は徐々に減少していくということは、検体溶液の標的核酸濃度が減少するということを示している。検体溶液の標的核酸濃度が減少するということは、いずれ、形成した核酸プローブ固定化領域面積の定量可能な核酸濃度の範囲に到達することを示す。全ての核酸プローブ固定化領域７８２を移動し終わった後に検出を行い、最初に核酸プローブ固定化領域７８２が形成されたセル領域７８４ｂから数えていくつめのセル領域で信号が変化したかを解析することにより、定量を行うことができる。処理が終了した検体溶液７８５は、サンプル出口７９１ｆから排出し得る。

図８０Ａ～８０Ｄ及び図８１は標的核酸濃度がどの濃度領域か全く不明な場合に用いられるチップ構成例を示す図である。図８０Ａ～８０Ｄはサンプル保持枠フタ７８６を外した上面図を、図８１はサンプル保持枠フタ７８６を取り付けた上面図を示している。図７８Ａ～７８Ｄ及び図７９と共通する構成には同一符号を付し、詳細な説明は省略する。図７８Ａ～７８Ｄ及び図７９と異なるのは核酸プローブ固定化領域７８２ｂ～７８２ｅの構成である。図７８Ａ～７８Ｄ及び図７９の例では、核酸プローブ固定化領域７８２はいずれも同一面積をもっている。図８０Ａ～８０Ｄ及び図８１の例の場合、セル領域７８４ｂには同一面積の核酸プローブ固定化領

域７８２ｂが複数形成される。そして、これら核酸プローブ固定化領域７８２ｂよりも大きな面積で同一面積の核酸プローブ固定化領域７８２ｃがセル領域７８４ｃに複数形成される。さらに、これら核酸プローブ固定化領域７８２ｃよりも大きな面積で同一面積の核酸プローブ固定化領域７８２ｄがセル領域７８４ｄに複数形成される。さらに、これら核酸プローブ固定化領域７８２ｄよりも大きな面積で同一面積の核酸プローブ固定化領域７８２ｅがセル領域７８４ｅに複数形成される。このように、セル毎に異なる面積の核酸プローブ固定化領域が配置される。

定量目的核酸濃度がどの領域か全く不明な場合は、このような図８０Ａ～８０Ｄ及び図８１に示す構成が望ましい。図７８Ａ～７８Ｄ及び図７９の例と同様に、セル領域７８４ａから７８４ｂ、７８４ｃ、７８４ｅ、７８４ｆといった順に検体溶液７８５を順次移動させる。そして、各セル領域７８４ｂ～７８４ｅの核酸プローブ固定化領域７８２ｂ～７８２ｅで、検体溶液７８５中の標的核酸と核酸プローブがハイブリダイゼーション反応する。この順では、核酸プローブ固定化領域の小さな領域から大きな領域に順にハイブリダイゼーション反応することとなる。面積の小さな核酸プローブ固定化領域では検体溶液７８５中の標的核酸濃度の減少は少ない。面積が大きくなるにつれて、標的核酸濃度の減少は多くなる。このことを利用し、前述手法と比較して、より大まかにはなるが、広い範囲での定量が可能である。

図７４、図７５Ａ、７５Ｂ、図７６Ａ、７６Ｂはさらに別

のチップ構成例を示す図である。図７４は、サンプル保持枠７４３及びサンプル保持枠フタ７４５を外した上面図を、図７５Ａ、７５Ｂはサンプル保持枠フタ７４５を外した上面図及び側面図を、図７６Ａ、７６Ｂはサンプル保持枠フタ７４５を取り付けた上面図である。上述した図７８Ａ～７８Ｄ、図７９、図８０Ａ～８０Ｄ、図８１に示すチップ例では、検体溶液が一定量とした場合の手法であった。この図７４、図７５Ａ、７５Ｂ、図７６Ａ、７６Ｂのチップ例では、逆に、プローブ固定化領域の面積を一定とし、検体溶液量を変化させる。これにより定量解析が可能である。

図７４に示すように、基板７４１上にマトリクス状に核酸プローブ固定化領域を形成する。そして、これら複数の核酸プローブ固定化領域７４２のうち、例えば６個毎に周りを取り囲むようにサンプル保持枠７４３を形成する。このサンプル保持枠７４３により取り囲まれた複数の領域が、セル領域７４４ａ～７４４ｅとして機能する。各セル領域７４４ａ～７４４ｅが収容する核酸プローブ固定化領域７４２は、何れも同数（図７５Ａ、７５Ｂでは６個）である。セル領域７４４ａ～７４４ｅの面積及び容積はそれぞれ異なる。すなわち、セル領域７４４ａが最も小さい容積であり、７４４ｂ、７４４ｃ、７４４ｄ、７４４ｅとなるにつれ容積が大きくなる。これら各セル領域７４４ａ～７４４ｅには検体溶液が充填される。したがって、セル容積に応じて検体溶液量が変わる。

検体溶液量が少なければ、溶液中に含まれる核酸分子数は少ない。検体溶液量が多ければ、核酸分子数は多い。基板７

４１上に形成した核酸プローブ固定化領域７４２の面積から、検出可能な核酸分子数範囲がわかる。したがって、検出信号量が変化した核酸プローブ固定化領域７４２で反応に用いた検体溶液量から、標的核酸の濃度を計算することが可能である。

この図７４、図７５Ａ、７５Ｂ、図７６Ａ、７６Ｂのチップを用いた定量分析手法は、前述の各手法と併用することができる。すなわち、このセル容積を変化させる手法は、図４９や図５０に示したプローブ固定化領域面積を変化させる手法、あるいは、図７８Ａ～７８Ｄ乃至図８１に示した溶液を移動させる手法と併用され得る。

図４９や図５０に示したプローブ固定化領域面積を変化させる手法では、より小さな面積を形成することで、より低濃度まで検出することが可能になる。しかしながら、小さな面積の電極を形成することは技術的に困難な点が多い。

そこで、図７７Ａ～７７Ｃに示すようなチップ構成例が適用され得る。基板７７１上に核酸プローブ固定化領域７７２ａ～７７２ｇが６個ずつ設けられている。この核酸プローブ固定化領域７７２ａ～７７２ｇのうち、同一面積のものを取り囲むサンプル保持枠７７３が形成され、セル領域７７４ａ～７７４ｇが定められる。

セル領域７７４ａ～７７４ｄまでは、図５０に示したチップ例と同様に、同一のセル容積を持つが、核酸プローブ固定化領域７７２ａが一番大きく、７７２ｂ、７７２ｃ、７７２ｄとなるにつれ順に小さくなる。

一方、セル領域７７４ｄ～７７４ｇまでは、図７５Ａ、７５Ｂに示したチップ例と同様に、核酸プローブ固定化領域７７２ｅ～７７２ｇの面積は同一であるが、そのセル断面積及び容積が異なる。すなわち、セル領域７７４ｄのセル断面積及び容積が一番小さく、セル領域７７４ｅ、７７４ｆ、７７４ｇとなるにつれ容積が大きくなる。

このように、プローブ固定化領域７７２ａ～７７２ｄを大きな面積から順に、可能な範囲で小さな面積までを基板７７１上に形成する。そこまではセル容積、すなわち検体溶液量が一定となる。さらに形成した一番小さな面積のプローブ固定化領域７７２ｄと同一の面積のプローブ固定化領域７７２ｅ～７７２ｇについて、セル断面積及び容積、すなわち検体溶液量を段階的に増加させていく。このように二つの手法を組み合わせることによって定量可能な範囲を低濃度側に広げることが可能である。逆に、形成した一番大きな面積のプローブ固定化領域について、液量を徐々に減少させていけば、定量可能な範囲を高濃度側に広げることが可能である。

ただし、この図７７Ａ～７７Ｃの手法で低濃度側に定量可能範囲を広げるためには、液量を増加させなくてはならず、デバイスサイズが大きくなってしまう。そこで、類似の手法として溶液の乾燥を伴う手法も考えられる。液量を段階的に増加させる代わりに、初めに注入した溶液を乾燥させ、再び溶液を注入するということを繰り返す。これにより、標的核酸の濃縮が起こり、液中の核酸分子数が増加する。一定面積のプローブ固定化領域を複数個形成しておき、この乾燥と再

注入の繰り返し数を段階的に変化させる。検出された信号量が変化したプローブ固定化領域での繰り返し数から、核酸の濃度を計算することが可能である。

次に、これらに記載した手法を具現化したチップ構成例について説明する。

（構成例１）

この構成例１では、異なる面積の核酸プローブ固定化領域を形成したデバイスを用いて核酸定量解析を行う場合の、チップ構成例を示す。

図５１～図５３は構成例１のチップ５１０である。基板５１１上に核酸プローブ固定化領域５１２ａ～５１２ｄを形成した。核酸プローブ固定化領域５１２ａ～５１２ｄは、正円形で、直径は５１２ａが 500μm,５１２ｂが 200μm,５１２ｃが 100μm,５１２ｄが 50μmの４種類の面積のものであり、それぞれ６つずつ形成される。各面積の領域に６種類の異なる配列を持つ核酸プローブを固定化できる。したがって、６種類の異なる配列の標的核酸が混合されたサンプルを定量検出できる。基板上に検体溶液を保持するためのサンプル保持枠５１３が形成される。このサンプル保持枠５１３によって、核酸プローブ固定化領域５１２ａ～５１２ｄの面積ごとに区切られ、セル領域５１４ａ～５１４ｄが定められる。さらにサンプル保持枠５１３上にサンプル保持枠フタ５１５が形成される。このサンプル保持枠フタ５１５には標的核酸サンプルの注入口５１６ａ～５１６ｄとサンプル出口５１６ｅ～５１６ｈが形成されている。

図５４～図６３Ｃは図５１～図５３の構成の変形例を示す。図５１～図５３と同一の構成には同一の符号を付し、詳細な説明は省略する。

図５４～図５６は核酸プローブ固定化領域５１２ａ～５１２ｄを一列に並べずに配置したチップ５５０の構成例である。この構成例では、核酸プローブ固定化領域５１２ａは、それぞれ縦及び横に２個ずつ配置されている。また、核酸プローブ固定化領域５１２ｂ～５１２ｄについても同様である。また、サンプル保持枠フタ５１６ａ～５１６ｈは、セル領域５１４ａ～５１４ｄの対角線上に離れて配置されている。

図５７Ａ、５７Ｂ及び図５８Ａ、５８Ｂはチップ５７０の構成例である。基板５１１自体にサンプル保持枠部５８１を形成した構成例である。このサンプル保持枠部５８１によりサンプル保持溝５８２が設けられ、セル領域５１４ａ～５１４ｄを定めている。それ以外の構成は図５１～図５３と同様である。

図５９Ａ、５９Ｂ及び図６０Ａ、６０Ｂはサンプル保持枠とサンプル保持枠フタを一体化させたチップ５９０の構成例である。図６０Ｂに示すサンプル保持枠５９１により、サンプルを保持し、かつサンプルを保持する枠のフタとして機能する。その他の構成は図５１～図５３と同様である。

図６１Ａ～６１Ｃ、６２Ａ～６２Ｃ、図６３Ａ～６３Ｃはサンプル保持枠フタの変形例である。

図６１Ａ及び６１Ｂは、図５９Ａ、５９Ｂと同様のサンプル保持枠５９１を用いた例を示している。サンプル保持枠５

９１は、セル領域５１４ａ～５１４ｄの側壁が、基板５１１に対して垂直に形成され、また上面が基板５１１に水平に形成されている。これに対して図６１Ｃのように、その断面を半円形にしてもよい。

また、図５４～図５６に示す構成に、図６０Ａ、６０Ｂに示すサンプル保持枠５９１の構成を適用した場合、図６２Ａ～６２Ｃに示すものとなる。図６２Ａ～６２Ｃに示すように、サンプル保持枠６２１が各セル領域内の核酸プローブ固定化領域を区切る。

また、図５４～図５６に示す構成に、図６１Ｃに示すサンプル保持枠６１１の構成を適用した場合、図６３Ａ～６３Ｃに示すものとなる。図６３Ｂ及び６３Ｃに示すように、断面が半円形のサンプル保持枠６２２が各セル領域内の核酸プローブ固定化領域を区切る。

図５４～図６３Ｃの構成は、さらに以下の図６４～図８２の構成に適用できる。

図６４～図６６はさらなるチップ変形例である。図６４～図６６に示すチップ６４０の基本的な構成は図４９及び図５０に示した構成と共通し、共通する構成には同一符号を付し、詳細な説明は省略する。図６４～図６６のチップ６４０の場合、図４９及び図５０に示した核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄをそれぞれ複数個（図では６個）設ける。そして、核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄは、１つずつサンプル保持枠６４１によって区切られる。さらに、このサンプル保持枠６４１上にサンプル保持枠フタ６４２が配

置される。これにより、核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄ毎にセル領域４９４ａ～４９４ｄが定められる。検体溶液サンプルが多種類あり、混合されていない場合に使用できる。

図６７～図６９はさらなるチップ変形例である。図６７～図６９に示すチップ６７０の基本的な構成は図６４～図６６に示した構成と共通し、共通する構成には同一符号を付し、詳細な説明は省略する。チップ６７０の場合、核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄは、同一面積のものについて互いに近接して設けられている。サンプル保持枠６７１は、蛇行する溝が形成されている。この溝と、サンプル保持枠６７１に設けられるサンプル保持枠フタ６７４により、蛇行する１本の細長い形状の単一のセル領域６７３が定められる。このサンプル保持枠フタ６７４のセル領域６７３の両端に対応する位置には、サンプル注入口６７２ａとサンプル出口６７２ｂがそれぞれ形成されている。したがって、一度のサンプル注入で全ての核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄにサンプルが行き渡る。

図７０Ａ～７０Ｄは図６７～図６９の変形例である。図７０Ａは、図６８と同じ上面図である。チップ７００のセル領域７０１の折れ曲がり部分を改良したものが図７０Ｂ及び７０Ｃに示される。図６８のセル領域６７３は、蛇行する流路の断面積がほぼ一定である。これに対して、図７０Ｂ及び７０Ｃに示すセル領域７０１ａ及び７０１ｂは、サンプル保持枠７０２ａ及び７０２ｂで定められる。これらセル領域７０

１ａ及び７０１ｂは、蛇行する流路が一定の断面積ではない。セル領域７０１ａ及び７０１ｂの断面積が蛇行部分で小さくなる。すなわち、流路が細くなる。

これにより、セル領域７０１ａ及び７０１ｂは、サンプル保持領域がその核酸プローブ固定化領域４９２ａ～４９２ｄの面積毎に区切られる。そして、区切られたセル領域同士が互いに細い流路で結合される。

図７０Ｂ及びＣは、上面から見たセル領域７０１ａ及び７０１ｂの形状が、区切り位置で細くなる。代替的には、図７０Ｄに示すように、図６８と同じサンプル保持枠６７１を用い、かつ流路制限部材７０４を区切り位置に配置し、流体の流れを一部制限してもよい。この場合、サンプル保持枠フタ７０３はサンプル保持枠６７１に固定されるが、流路制限部材７０４との間には間隙が設けられる。

図７１～図７３のチップ７１０は、さらなる変形例である。前述の図８０Ａ～８０Ｄ及び図８１とその構成が類似しており、共通する構成には同一符号を付し、詳細な説明は省略する。異なるのは、サンプル注入口７９１ａ側からサンプル出口７９１ｆにかけて、核酸プローブ固定化領域７８２ｅ～７８２ｂが大きな面積から順に各セル領域７８４ｂ～７８４ｅに形成されている点である。その他の構成は、図８０Ａ～８０Ｄ及び図８１と共通する。

（構成例２）

この構成例２では、検体溶液量を制御するセル領域を設けたデバイスを用いて核酸定量解析を行う場合のチップ構成例

を示す。

図７４、７５Ａ、７５Ｂ、７６Ａ、７６Ｂは本構成例２のチップ７４０である。基本的な構成は前述したので省略する。基板７４１とサンプル保持枠７４３とサンプル保持枠フタ７４５によって構成されるセル領域７４４ａ～７４４ｅの断面積が、それぞれ異なる。このチップ７４０の場合、核酸プローブ固定化領域７４２は全て直径５０μｍの正円形状である。セル領域７４４ａ～７４４ｅの断面積が０．００２ｍｍ^2、０．０２ｍｍ^2、０．２ｍｍ^2、２ｍｍ^2、２０ｍｍ^{2}の５種類を形成した。セル領域７４４ａ～７４４ｅの断面積は、基板７４１からの高さ、幅のどちらか、あるいは両方で規定されて構わない。この断面積は、例えば図７６Ｂの例では、基板７４１、サンプル保持枠７４３及びサンプル保持枠フタ７４５で囲まれた領域で示される。

図７７Ａ～７７Ｃは図５１～図５３のチップ５１０の構成と図７４、７５Ａ、７５Ｂ、７６Ａ、７６Ｂのチップ７４０の構成を組み合わせた例である。図７７Ａ～７７Ｃの基本的な構成については前述したので省略する。

核酸プローブ固定化領域７７２ａ～７７２ｇは、面積が小さいほど核酸濃度の低い領域が検出可能範囲となる。さらに、核酸プローブ固定化領域７７２ａ～７７２ｇの面積あたりのサンプル量は多いほど核酸濃度の低い領域が検出可能範囲となる。これらを組み合わせることにより、少ないサンプル量でより広い範囲での核酸定量解析が可能である。

（構成例３）

この構成例３では、検体溶液を、核酸プローブ固定化領域間を移動させることのできるセル領域を形成したデバイスを用いて核酸定量解析を行う場合のチップ構成例を示す。

図７８Ａ～７８Ｄ及び図７９は本構成例３のチップ７８０の一例を示す図である。基本的な構成は前述したので省略する。このチップ７８０では、核酸プローブ固定化領域７８２は全て直径２０μｍの正円で形成される。検体溶液をセル領域７８４ａから７８４ｂに移動し、核酸プローブと標的核酸がハイブリダイゼーション反応を行う時間を十分に経過した後、次のセル領域７８４ｃに移動させる。順次サンプルを移動させ、全てのプローブ固定化領域７８２を経由させる。

図８０Ａ～８０Ｄ及び図８１のチップ８００は図７８Ａ～７８Ｄ及び図７９に示したチップ７８０の変形例である。基本的な構成は前述したので省略する。異なる面積の核酸プローブ固定化領域７８２ｂ～７８２ｅを形成する。そして、小さい面積のものから大きい面積のものへと検体溶液７８５を移動させる。これにより、チップ７８０よりも定量範囲を広くすることが可能である。

このように上記実施形態によれば、電極面積毎に互いに検体溶液を分離して定量分析する環境を整えることにより、面積の異なる電極間で核酸反応が生じず、分析精度が向上する。

（第１実施形態乃至第８実施形態について）

上記第１乃至第８実施形態の構成において、センサ、正規化、減算、電流電圧変換、Ａ／Ｄ変換などの機能ブロックは、以下の図８２～図８５のようにまとめられる。なお、図８２

～８５には、説明の便宜のため、プローブ電流測定用の電極面積の異なる２つのセンサ８２２，８２３と、バックグラウンド電流測定用の電極面積の異なる２つのセンサ８２５，８２６とを配置する例を示したが、これに限定されないことはもちろんである。電極面積の異なる３つ以上のセンサを配置してもよい。

図８２は、第１実施形態の図１４や図１９に示した構成を機能的に示した図である。図８２に示すように、核酸検出センサ部８２１と、バックグラウンドレベル検出センサ部８２４がある。核酸検出センサ部８２１は、電極面積A_0のセンサ８２２と、電極面積αA_0（$\alpha < 1$）のセンサ８２３を備える。バックグラウンドレベル検出センサ部８２４は、電極面積A_0のセンサ８２５と、電極面積αA_0のセンサ８２６を備える。

核酸検出センサ部８２１の出力側には正規化部８２７が配置される。正規化部８２７は、電流増幅部８２８及び８２９からなる。電流増幅部８２８は、センサ８２２の出力電流を１倍に増幅し、減算部８３３に出力する。電流増幅部８２９は、センサ８２３の出力電流を１／α倍に増幅し、減算部８３３に出力する。

バックグラウンドレベル検出センサ部８２４の出力側には正規化部８３０が配置される。正規化部８３０は、電流増幅部８３１及び８３２からなる。電流増幅部８３１は、センサ８２５からの出力電流を１倍に増幅し、減算部８３３に出力する。電流増幅部８３２は、センサ８２６からの出力電流を

１／α倍に増幅し、減算部８３３に出力する。

減算部８３３は、電流増幅部８２８の出力電流から電流増幅部８３１の出力電流を減算して電流電圧変換部８３４に出力する。また、減算部８３３は、電流増幅部８２９の出力電流から電流増幅部８３２の出力電流を減算して電流電圧変換部８３４に出力する。

電流電圧変換部８３４は、２つの電流電圧変換部８３５及び８２６からなる。電流電圧変換部８３５は、電極面積A_0のセンサ８２２，８２５についての減算出力電流を電圧変換してセレクタ１３６に出力する。電流電圧変換部８３６は、電極面積αA_0のセンサ８２３，８２６についての減算出力電流を電圧変換してセレクタ１３６に出力する。

セレクタ１３６及びＡ／Ｄコンバータ１３７の機能については上記各実施形態で示したのと共通する。

図８３は、図３３に図３６を適用した実施形態に対応する機能ブロック図である。図８２と共通する構成には同一符号を付し、詳細な説明は省略する。図８３の場合、センサ８２２，８２３，８２５，８２６の出力電流は減算部８３３に出力される。減算部８３３は、センサ８２２の出力電流からセンサ８２５の出力電流を減算して正規化部８４１の電流増幅部８４２に出力する。また、減算部８３３は、センサ８２３の出力電流からセンサ８２６の出力電流を減算して正規化部８４１の電流増幅部８４３に出力する。

電流増幅部８４２は、減算出力電流を１倍に増幅して電流電圧変換部８３５に出力する。電流増幅部８４３は、減算出

力電流を１／α倍に増幅して電流電圧変換部８３６に出力する。電流電圧変換部８３４から後段の機能は図８２と共通する。

図８４は、上記第１実施形態の構成において、減算を核酸検出用チップ１２外の演算処理装置１１３内で実行する実施形態に対応する。核酸検出センサ部８２１と、バックグラウンドレベル検出センサ部８２４と、正規化部８２７及び８３０までの構成は図８２の例と共通する。電流増幅部８２８，８２９，８３１及び８３２の各出力電流は電流電圧変換部８５２～８５５に出力される。電流電圧変換部８５２～８５５は、各出力を電圧変換してセレクタ１３６に出力する。各出力電圧は、セレクタ１３６、Ａ／Ｄコンバータ１３７を介して核酸検出用チップ１２外の演算処理装置１１３に出力される。演算処理装置１１３内の減算部１１３ａは、センサ８２２の出力データからセンサ８２５の出力データを減算し、センサ８２３の出力データからセンサ８２６の出力データを減算する。

図８５は、図１４，図１５，図１６及び図１９に示される構成に対応する機能ブロック図である。核酸検出センサ部８２１と、バックグラウンドレベル検出センサ部８２４と、正規化部８２７及び８３０と、電流電圧変換部８５１までの構成は図８４の例と共通する。減算部８３３は、電流電圧変換部８５２の出力電圧から電流電圧変換部８５４の出力電圧を減算してセレクタ１３６に出力する。また、減算部８３３は、電流電圧変換部８５３の出力電圧から電流電圧変換部８５５

の出力電圧を減算してセレクタ１３６に出力する。

なお、これら図８２～図８５に示した構成は例示であり、各構成の順序を種々変更することができる。

このように本実施形態によれば、核酸濃度を広範囲のダイナミックレンジで高精度に測定することができる。

産業上の利用可能性

以上説明したようにこの発明は、検体中に含まれる標的核酸の濃度を定量的に分析する核酸濃度定量分析チップ、核酸濃度定量分析装置および核酸濃度定量分析方法の技術分野に有効である。

請　求　の　範　囲

１．標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、

前記核酸センサの第１の検出信号をセンサ面積について正規化する第１の正規化部と

を具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析チップ。

２．さらに、前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、

前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を前記センサ面積について正規化する第２の正規化部と、

前記第１の正規化部の第１の出力信号から第２の正規化部の第２の出力信号を減算する減算部と

を備えることを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

３．さらに、前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、

前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を前記センサ面積について正規化する第２の正規化部と、

前記第１の正規化部の第１の出力信号から第２の正規化部の第２の出力信号を減算する減算部と、

前記減算部の出力信号電流を電圧変換する電流電圧変換部を備えることを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分

析チップ。

４．前記第１の正規化部は、前記核酸センサの第１の検出信号の第１の電流値が正の場合に、この第１の電流値を複製及び増幅する第１のカレントミラーと、第１の電流値が負の場合に第１の電流値を複製及び増幅する第２のカレントミラーとを備えることを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

５．さらに、前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、

前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を前記センサ面積について正規化する第２の正規化部と、

前記第１の正規化部の第１の出力信号から第２の正規化部の第２の出力信号を減算する減算部とを備え、

前記第１の正規化部は、前記核酸センサの第１の検出信号の第１の電流値が正の場合に、前記第１の電流値を複製及び増幅する第１のカレントミラーと、第１の電流値が負の場合に、前記第１の電流値を複製及び増幅する第２のカレントミラーとを備え、

前記第２の正規化部は、前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号の第２の電流値が正の場合に、前記第２の電流値を複製及び増幅する第３のカレントミラーと、前記第２の電流値が負の場合に前記第２の電流値を複製及び増幅する第４のカレントミラーとを備え、

前記減算部は、第１のカレントミラーの第１の出力電流か

ら第３のカレントミラーの第３の出力電流を減算し、第２のカレントミラーの第２の出力電流から第４のカレントミラーの第４の出力電流を減算することを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

６．さらに、前記核酸センサの各々を収容し、前記核酸センサのセンサ面積に応じて互いに分離して複数設けられたセルを備えてなることを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

７．前記核酸センサは第１のセンサと前記第１のセンサよりも小さな電極面積を持つ第２のセンサとを備え、

第１のセンサの第１の測定レンジと第２のセンサの第２の測定レンジがオーバーラップすることを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

８．前記核酸センサは第１のセンサと前記第１のセンサよりも小さな電極面積を持つ第２のセンサとを備え、

第１のセンサの第１の測定レンジと第２のセンサの第２の測定レンジがオーバーラップし、

第１のセンサのダイナミックレンジd_1(dec)を前記第１の測定レンジの第１の下端に対する第１の上端の第１の比と定義し、第１のセンサの第１の核酸プローブの本数がN_1，第２のセンサの第２の核酸プローブの本数がN_2、前記第１の測定レンジと前記第２の測定レンジがオーバーラップする核酸濃度領域の第２の下端に対する第２の上端の第２の比が$d_{1,2}$(dec)、この$d_{1,2}$とd_1の比$d_{1,2}/d_1$をγ（$0 \leqq \gamma < 1$）とすると、

$$10^{d_1(1-\gamma)} = \frac{N_1}{N_2}$$

が成立することを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

９．前記核酸センサは第１のセンサと前記第１のセンサよりも小さな電極面積を持つ第２のセンサとを備え、

第１のセンサの第１の測定レンジと第２のセンサの第２の測定レンジがオーバーラップし、

第１のセンサの第１のダイナミックレンジd_1(dec)を前記第１の測定レンジの第１の下端に対する第１の上端の比と定義するとき、第１のセンサの第１の核酸プローブの本数がN_1，第２のセンサの第２の核酸プローブの本数がN_2、前記第１の測定レンジと前記第２の測定レンジとがオーバーラップする核酸濃度領域の第２の下端に対する第２の上端の第２の比が$d_{1,2}$(dec)、この$d_{1,2}$とd_1の比$d_{1,2}/d_1$をγ（$0 \leqq \gamma < 1$）とすると、

$$10^{d_1(1-\gamma)} = \frac{N_1}{N_2}$$

が成立し、前記γは、$\gamma \leqq 0.85$を満たすことを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

１０．前記核酸センサは第１のセンサと前記第１のセンサよりも小さな電極面積を持つ第２のセンサとを備え、

第１のセンサの第１の測定レンジと第２のセンサの第２の測定レンジがオーバーラップし、

第１のセンサの第１のダイナミックレンジd_1(dec)を前記

第１の測定レンジの第１の下端に対する第１の上端の第１の比と定義し、第２のセンサの第２のダイナミックレンジd_2(dec)を前記第２の測定レンジの第２の下端に対する第２の上端の第２の比と定義し、第１のセンサの第１の核酸プローブの本数がN_1，第２のセンサの第２の核酸プローブの本数がN_2、前記第１の測定レンジ及び前記第２の測定レンジがオーバーラップする核酸濃度領域の第３の下端に対する第３の上端の第３の比が$d_{1,2}$(dec)、この$d_{1,2}$とd_1の比$d_{1,2}/d_1$をγ（$0 \leqq \gamma < 1$）とすると、

$$10^{d_1(1-\gamma)} = \frac{N_1}{N_2}$$

が成立し、前記第１及び第２のダイナミックレンジd_1とd_2は、$d_1 = d_2$を満たすことを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

１１．前記核酸センサは第１のセンサと前記第１のセンサよりも小さな電極面積を持つ第２のセンサとを備え、

第１のセンサの第１の測定レンジと第２のセンサの第２の測定レンジがオーバーラップし、

前記核酸プローブは電極面積に比例した分子数だけ前記第１及び第２のセンサに固定化される場合に、前記第１及び第２のセンサの第１及び第２の電極面積をそれぞれS_1及びS_2とすると、０．０５$\leqq S_2 / S_1 \leqq$０．５であることを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

１２．前記核酸センサは第１のセンサと、前記第１のセンサよりも小さな電極面積を持つ第２のセンサと、前記第２のセ

ンサよりも小さな電極面積を持つ第３のセンサとを備え、

第１のセンサの第１の測定レンジ及び第２のセンサの第２の測定レンジがオーバーラップし、

前記核酸プローブは電極面積に比例した分子数だけ前記第１乃至第３のセンサに固定化される場合に、前記第１乃至第３のセンサの第１乃至第３の電極面積をそれぞれS_1、S_2及びS_3とすると、$S_2/S_1=S_3/S_2$であることを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

１３．前記核酸センサは第１のセンサと前記第１のセンサよりも小さな電極面積を持つ第２のセンサとを備え、

第１のセンサの第１の測定レンジと第２のセンサの第２の測定レンジがオーバーラップし、

前記核酸プローブは電極面積に比例した分子数だけ前記第１及び第２のセンサに固定化される場合に、前記第１及び第２のセンサの第１及び第２の電極面積をそれぞれS_1及びS_2とすると、$0.05 \leqq S_2/S_1 \leqq 0.5$であり、

前記複数の核酸センサの各々のセンサ面積値が実質的に等比数列をなすことを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

１４．前記核酸センサは第１のセンサと、前記第１のセンサよりも小さな電極面積を持つ第２のセンサと、前記第２のセンサよりも小さな電極面積を持つ第３のセンサとを備え、

第１のセンサの第１の測定レンジと第２のセンサの第２の測定レンジがオーバーラップし、

前記核酸プローブは電極面積に比例した分子数だけ前記第

１乃至第３のセンサに固定化される場合に、前記第１乃至第３のセンサの第１乃至第３の電極面積をそれぞれS_1、S_2及びS_3とすると、$0.05 \leqq S_2/S_1 = S_3/S_2 \leqq 0.5$であることを特徴とする請求項１に記載の核酸濃度定量分析チップ。

１５．標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、

前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、

前記核酸センサの第１の検出信号をセンサ面積について正規化する第１の正規化部と、

前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を前記センサ面積について正規化する第２の正規化部と、

前記第１の正規化部の第１の出力信号電流を電圧変換する第１の電流電圧変換部と、

前記第２の正規化部の第２の出力信号電流を電圧変換する第２の電流電圧変換部と、

前記第１の電流電圧変換部の第１の出力電圧をＡ／Ｄ変換して第１のデジタルデータを生成し、前記第２の電流電圧変換部の第２の出力電圧をＡ／Ｄ変換して第２のデジタルデータを生成するＡ／Ｄ変換部と、

前記第１のデジタルデータから第２のデジタルデータを減算する減算部と

を具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析装置。

１６．標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、

前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、

前記核酸センサの第１の検出信号をセンサ面積について正規化する第１の正規化部と、

前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を前記センサ面積について正規化する第２の正規化部と、

前記第１の正規化部の第１の出力信号電流を電圧変換する第１の電流電圧変換部と、

前記第２の正規化部の第２の出力信号電流を電圧変換する第２の電流電圧変換部と、

前記第１の電流電圧変換部の第１の出力電圧から前記第２の電流電圧変換部の第２の出力電圧を減算する減算部と、

前記減算部の第３の出力電圧をＡ／Ｄ変換するＡ／Ｄ変換部と

を具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析装置。

１７．標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、

前記核酸プローブが固定化されず、かつ各々が異なる前記センサ面積を有するバックグラウンドレベルセンサと、

前記核酸センサの第１の検出信号から前記バックグラウンドレベルセンサの第２の検出信号を減算する減算部と、

前記減算部の減算出力信号をセンサ面積について正規化する正規化部と

を具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析チップ。

１８．さらに、前記正規化部の出力信号電流を電圧変換する電流電圧変換部を備えることを特徴とする請求項１７に記載の核酸濃度定量分析チップ。

１９．標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサと、

前記核酸センサの検出信号をセンサ面積について正規化し正規化信号を出力する第１の正規化部と

を備えた核酸濃度定量分析チップと、

前記正規化信号に基づき核酸濃度を算出する核酸濃度算出装置と

を具備してなることを特徴とする核酸濃度定量分析装置。

２０．前記核酸濃度算出装置は、前記正規化信号と予め定められた閾値を比較し、各々のセンサ面積について２値のビットデータを取得し、

前記２値のビットデータを、予め２値の判定ビットデータと前記各々のセンサ面積について前記核酸の濃度とを対応づけた判定テーブルと照合することにより核酸濃度を決定する

ことを特徴とする請求項１９に記載の核酸濃度定量分析装置。

２１．前記核酸プローブに前記標的核酸が結合した核酸２本鎖が固定化され、かつ各々が異なる前記センサ面積を有する

飽和レベル検出センサとをさらに有することを特徴とする請求項１９に記載の核酸濃度定量分析装置。

２２．標的核酸と相補的な核酸を有する核酸プローブが固定化され、かつ各々が異なるセンサ面積を有する複数の核酸センサの検出信号を各々のセンサ面積について正規化して正規化信号を出力し、

前記正規化信号に基づき核酸濃度を算出する

ことを特徴とする核酸濃度定量分析方法。

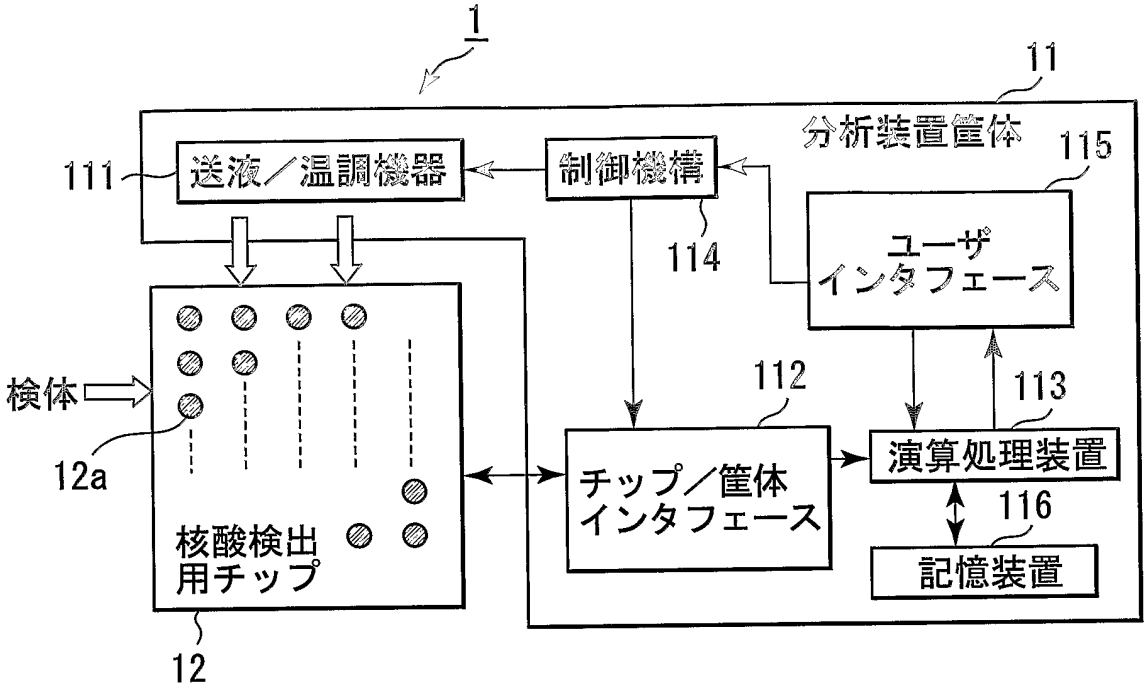

1
11
分析装置筐体
111
送液／温調機器
制御機構
115
114
ユーザ
インタフェース
検体
112
113
12a
チップ／筐体
インタフェース
演算処理装置
116
核酸検出
用チップ
記憶装置
12

FIG. 1

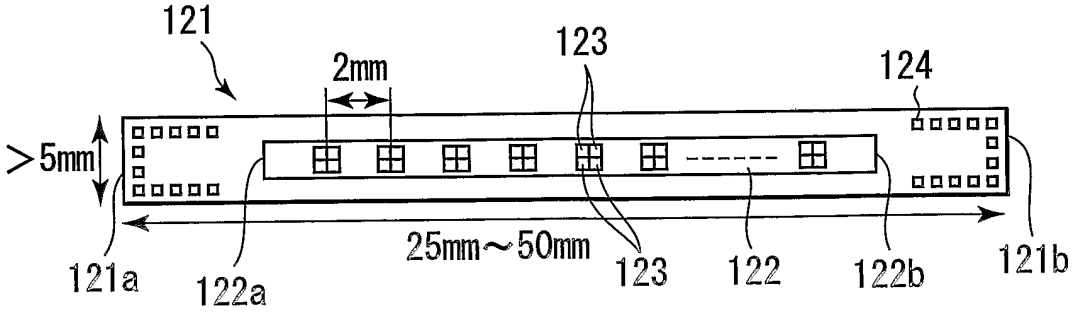

121
2mm
123
124
>5mm
25mm～50mm
121a
122a
123
122
122b
121b

FIG. 2

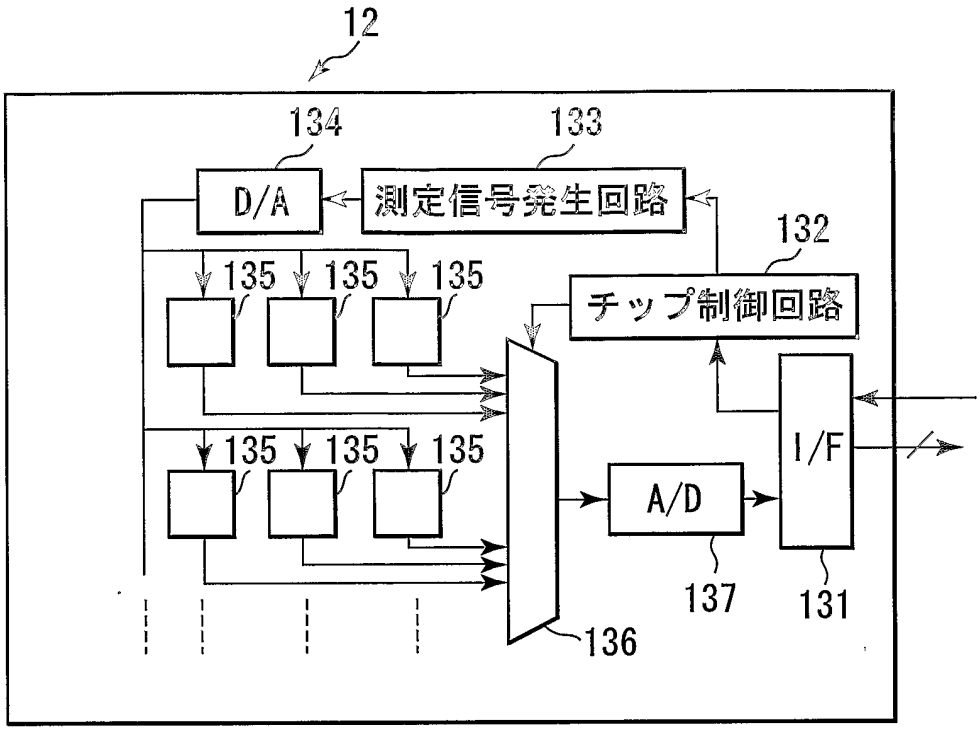

12
134
133
D/A
測定信号発生回路
132
135
135
135
チップ制御回路
135
135
135
I/F
A/D
137
131
136

FIG. 3

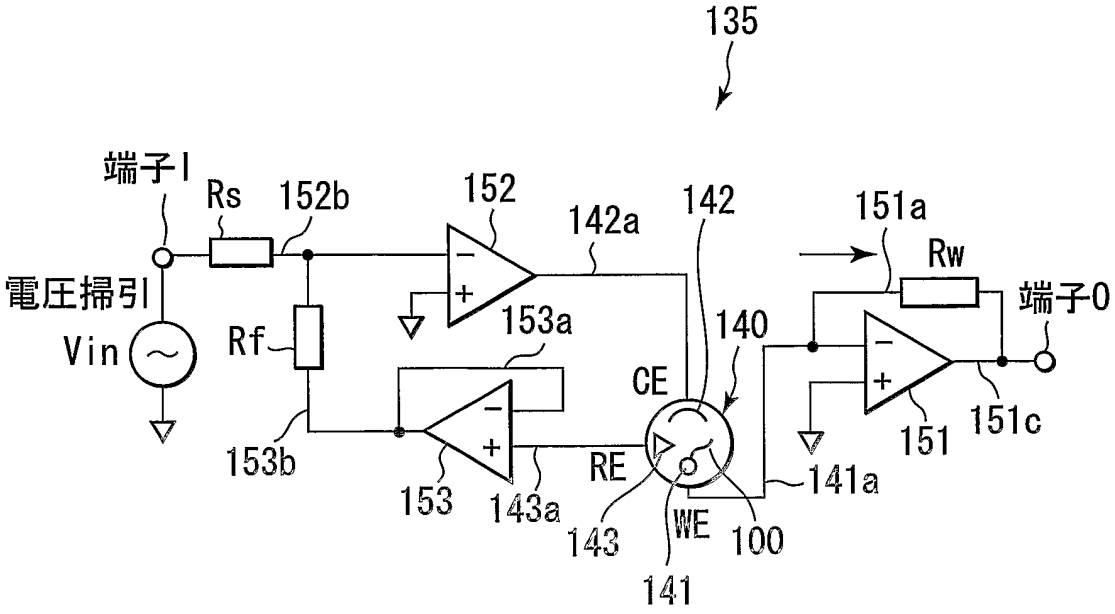

135
端子I
Rs
152b
152
142a
142
151a
Rw
端子O
電圧掃引
Vin
Rf
153a
140
CE
151c
151
153b
153
143a
RE
141a
143
WE
100
141

FIG. 4

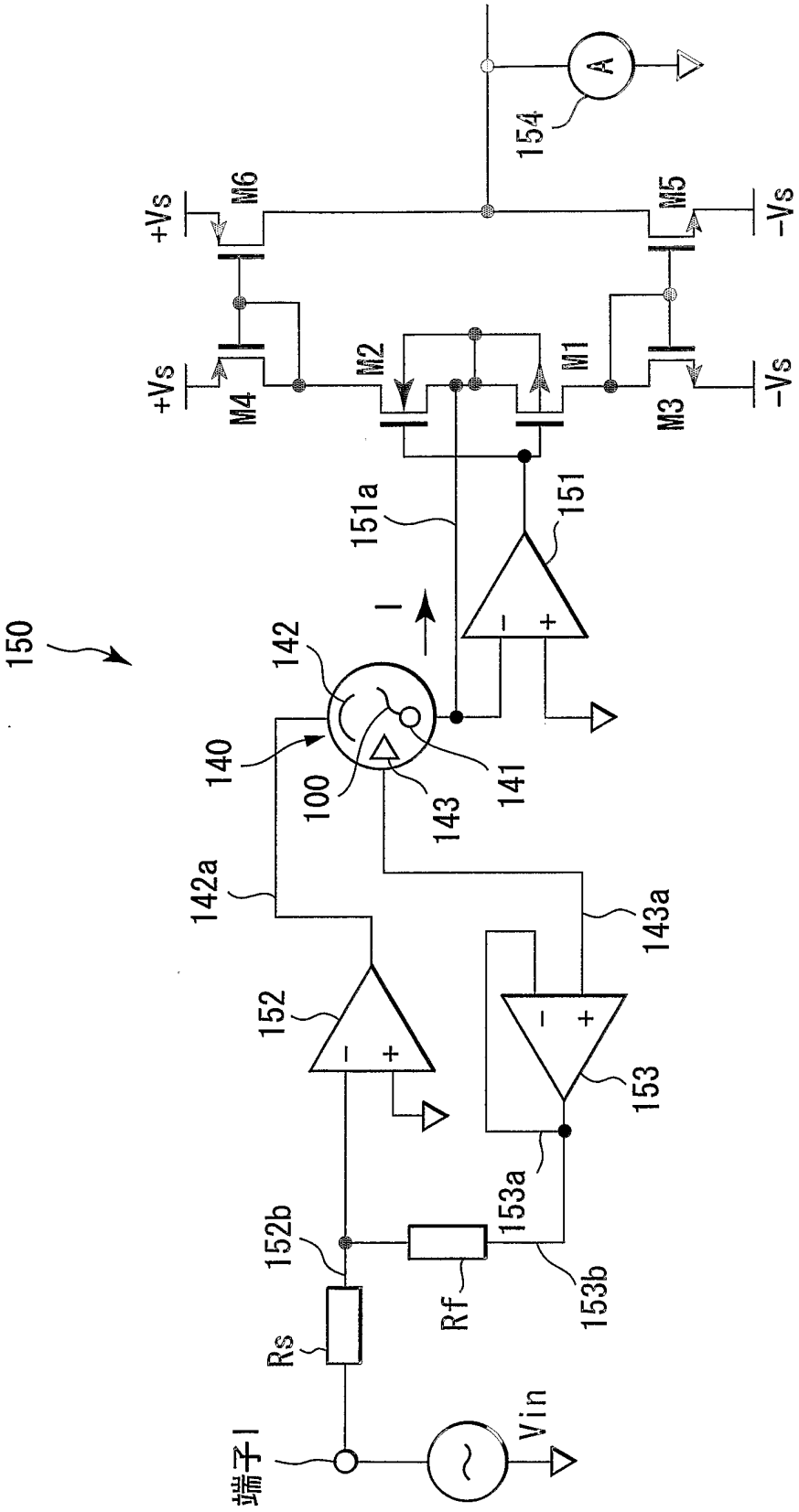

150
154
A
+Vs
M6
M5
-Vs
+Vs
M4
M2
M1
M3
-Vs
151a
151
I
142
140
100
143
141
142a
143a
152
153
153a
152b
Rf
153b
Rs
端子I
Vin

FIG. 5

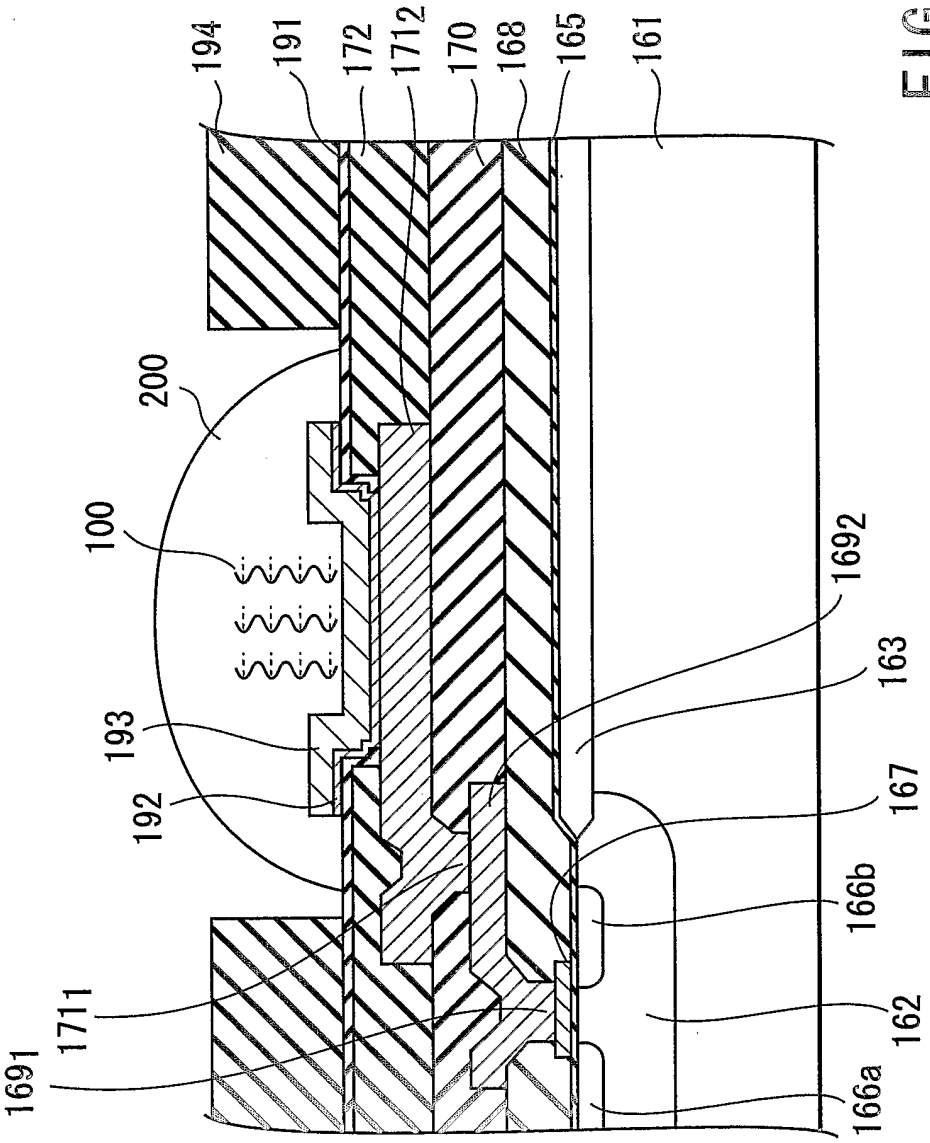

194
191
172
1712
170
168
165
161
200
100
193
192
1692
163
167
166b
162
166a
1711
1691

FIG. 6

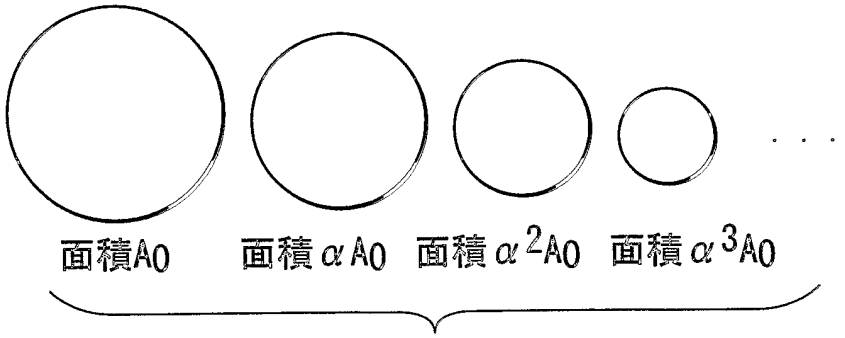


FIG. 7

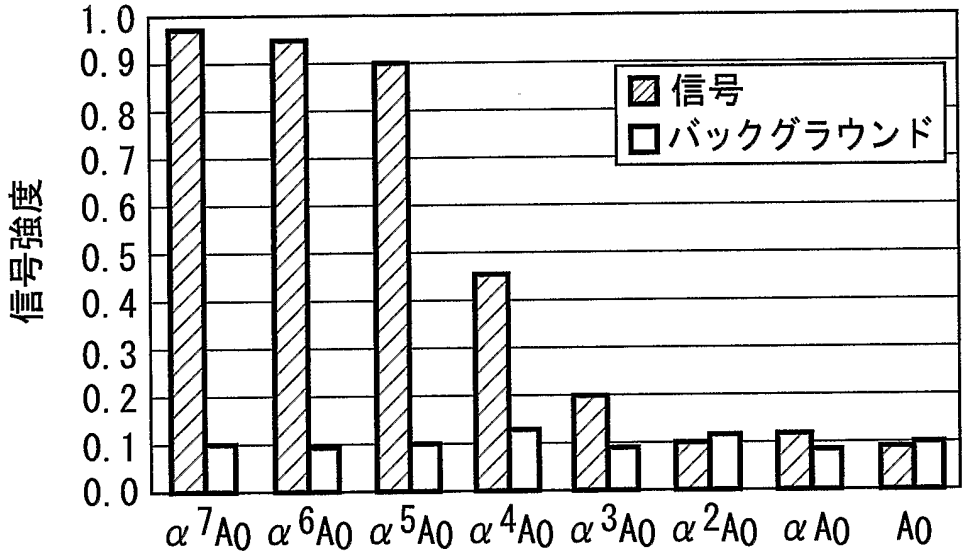


FIG. 8

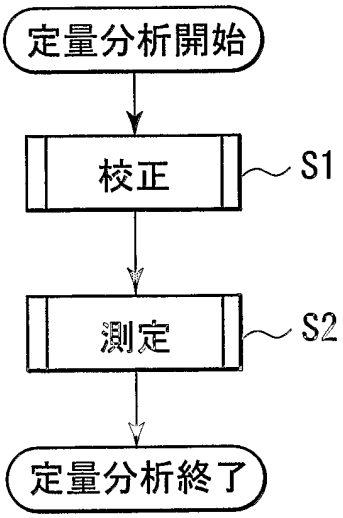


FIG. 9

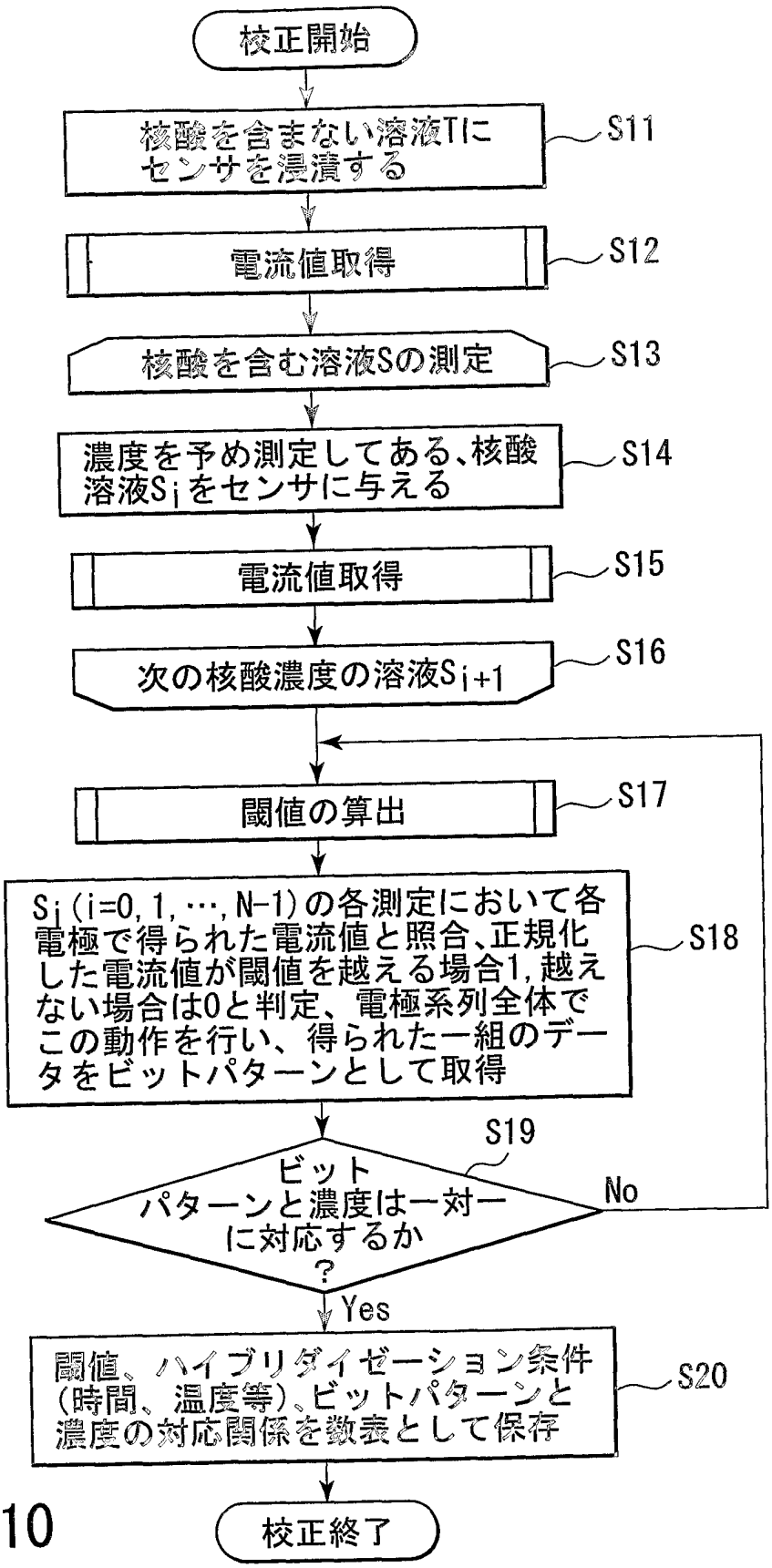

校正開始
核酸を含まない溶液Tに センサを浸漬する
S11
電流値取得
S12
核酸を含む溶液Sの測定
S13
濃度を予め測定してある、核酸 溶液Si をセンサに与える
S14
電流値取得
S15
次の核酸濃度の溶液Si+1
S16
閾値の算出
S17
Si (i=0, 1, …, N-1) の各測定において各電極で得られた電流値と照合、正規化した電流値が閾値を越える場合1, 越えない場合は0と判定、電極系列全体でこの動作を行い、得られた一組のデータをビットパターンとして取得
S18
ビット パターンと濃度は一対一に対応するか ?
S19
No
Yes
閾値、ハイブリダイゼーション条件(時間、温度等)、ビットパターンと濃度の対応関係を数表として保存
S20
校正終了

FIG. 10

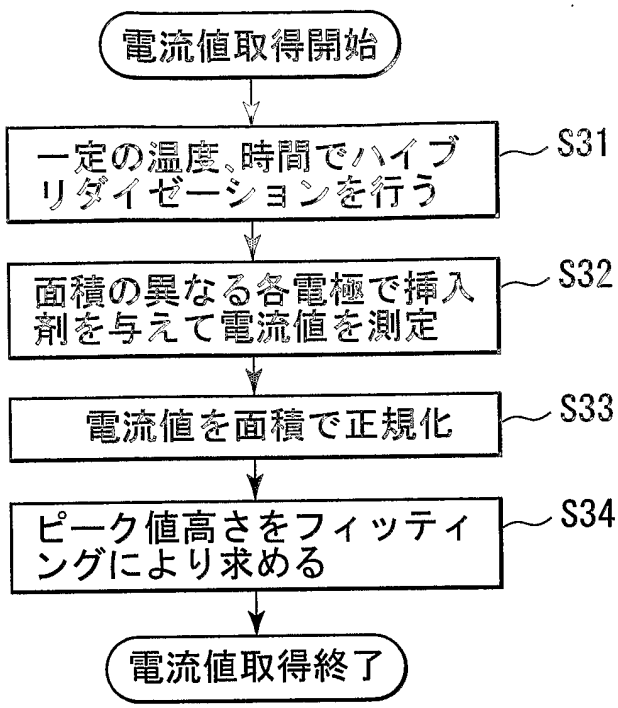

電流値取得開始
一定の温度、時間でハイブリダイゼーションを行う
S31
面積の異なる各電極で挿入剤を与えて電流値を測定
S32
電流値を面積で正規化
S33
ピーク値高さをフィッティングにより求める
S34
電流値取得終了

FIG. 11

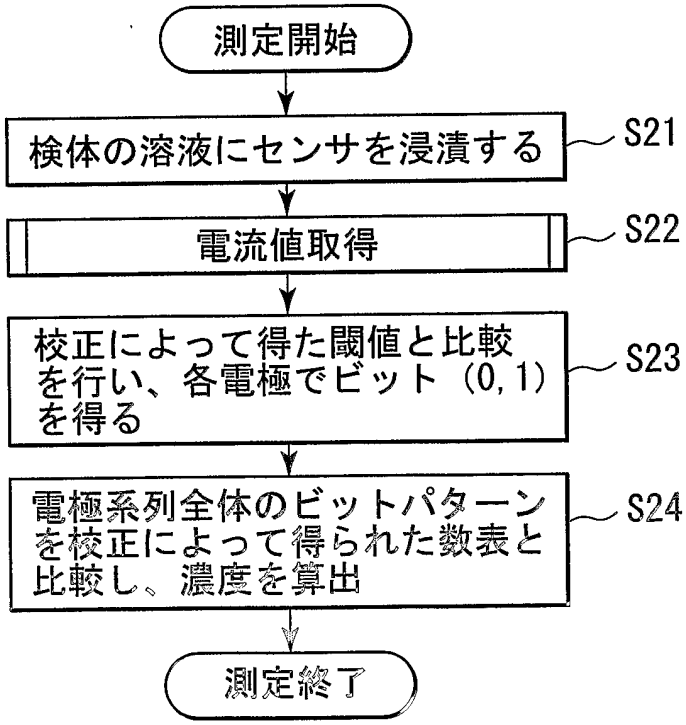

測定開始
検体の溶液にセンサを浸漬する
S21
電流値取得
S22
校正によって得た閾値と比較を行い、各電極でビット（0,1）を得る
S23
電極系列全体のビットパターンを校正によって得られた数表と比較し、濃度を算出
S24
測定終了

FIG. 12

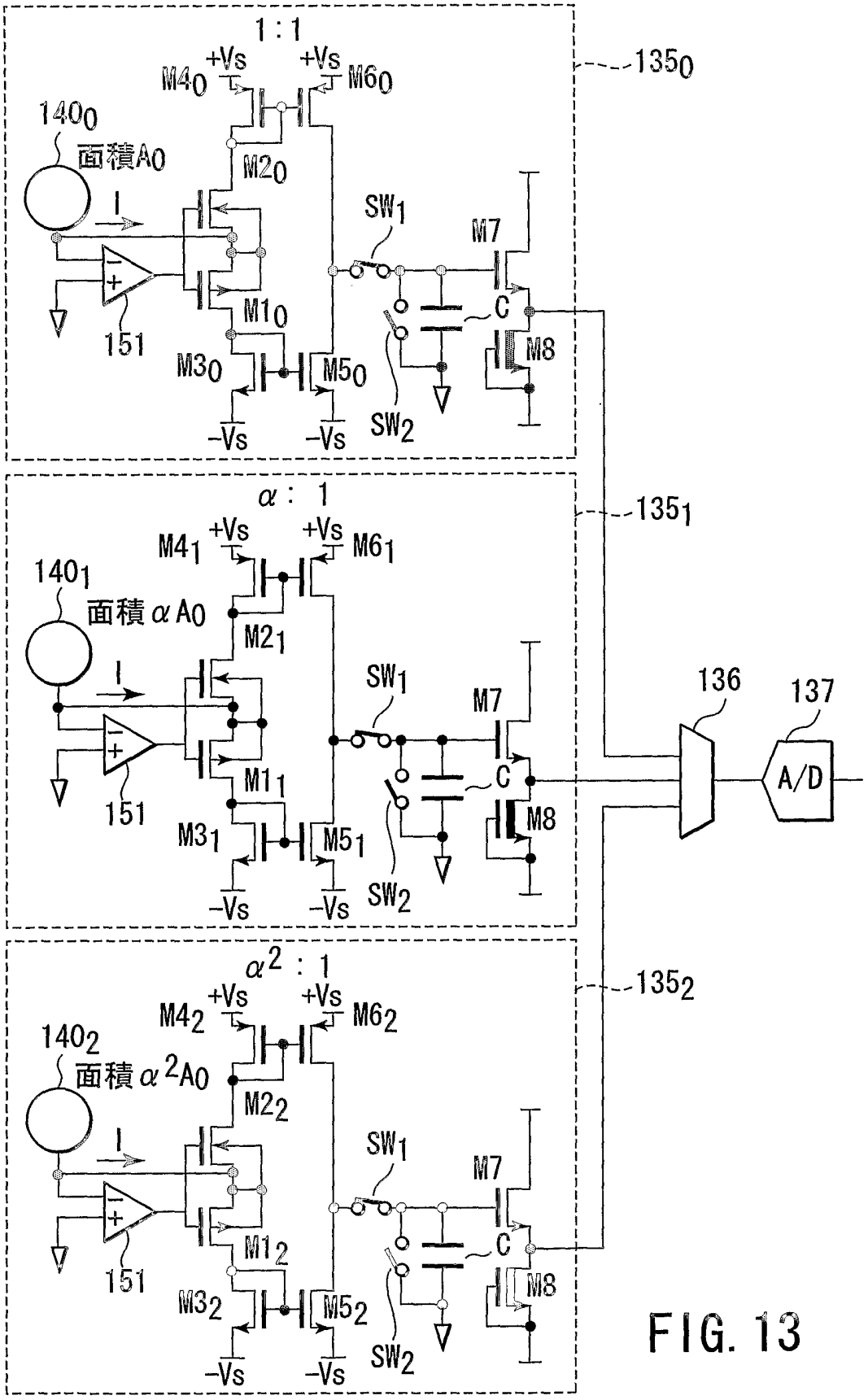

1 : 1
135_0
$M4_0$
+Vs
+Vs
$M6_0$
140_0
面積A0
$M2_0$
I
SW_1
M7
C
$M1_0$
M8
151
$M3_0$
$M5_0$
SW_2
-Vs
-Vs
α : 1
135_1
$M4_1$
+Vs
+Vs
$M6_1$
140_1
面積αA0
$M2_1$
I
SW_1
M7
136
137
C
A/D
$M1_1$
M8
151
$M3_1$
$M5_1$
SW_2
-Vs
-Vs
α^2 : 1
135_2
$M4_2$
+Vs
+Vs
$M6_2$
140_2
面積α^2A0
$M2_2$
I
SW_1
M7
C
$M1_2$
M8
151
$M3_2$
$M5_2$
SW_2
-Vs
-Vs

FIG. 13

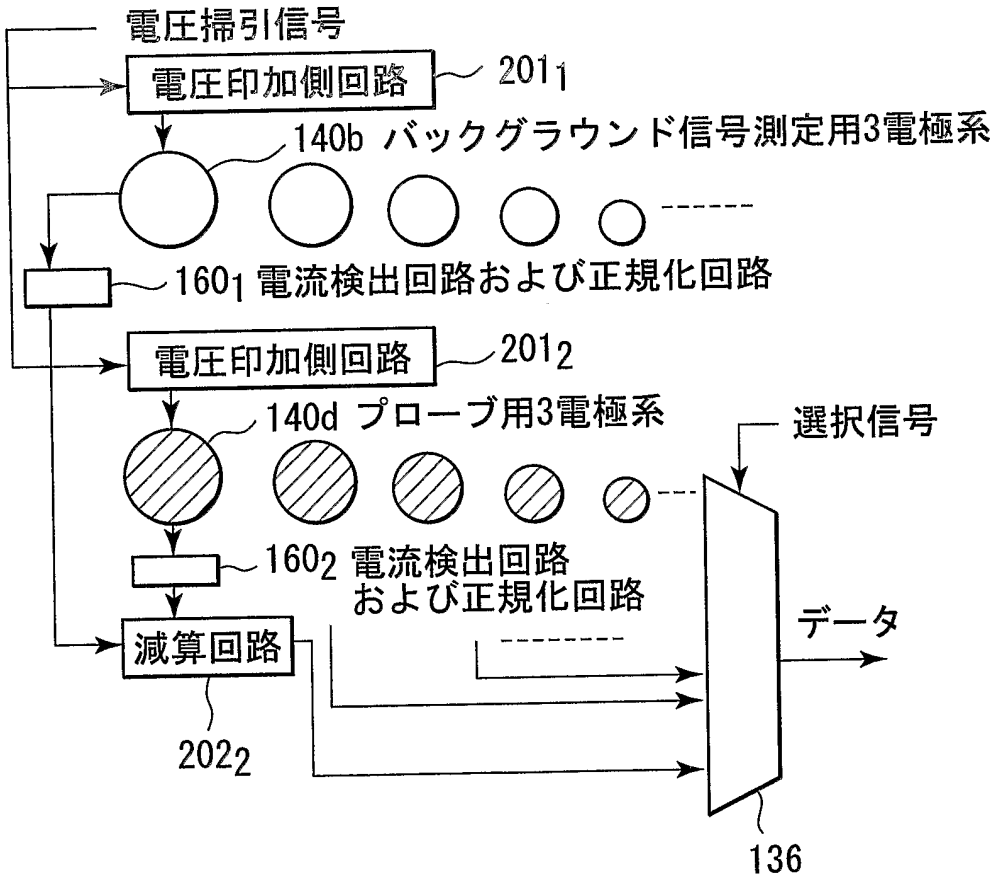

電圧掃引信号
電圧印加側回路
201_1
140b バックグラウンド信号測定用3電極系
160_1 電流検出回路および正規化回路
電圧印加側回路
201_2
140d プローブ用3電極系
選択信号
160_2 電流検出回路
および正規化回路
減算回路
データ
202_2
136

FIG. 14

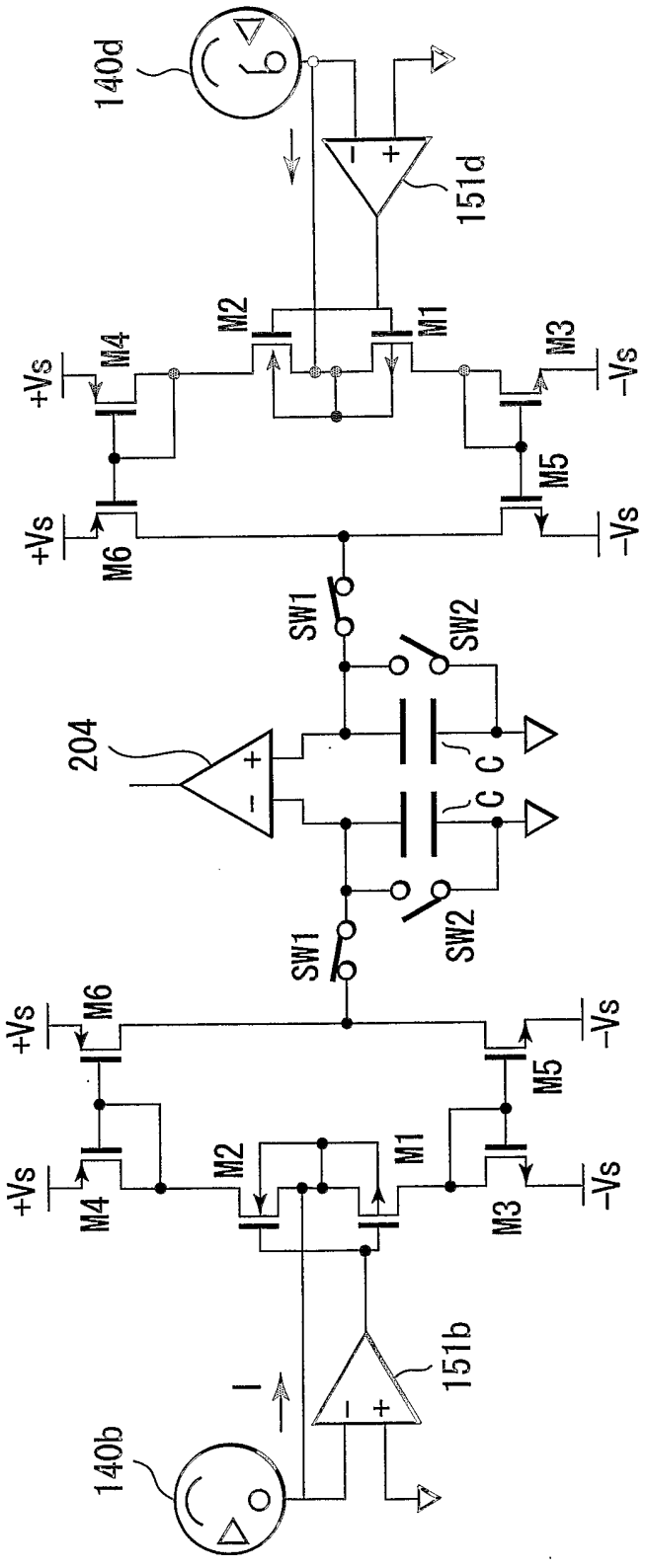

140d
151d
M2
M1
M4
M3
+Vs
-Vs
M5
M6
SW1
SW2
204
C
C
SW1
SW2
M6
M5
M4
M3
M2
M1
151b
I
140b

FIG. 15

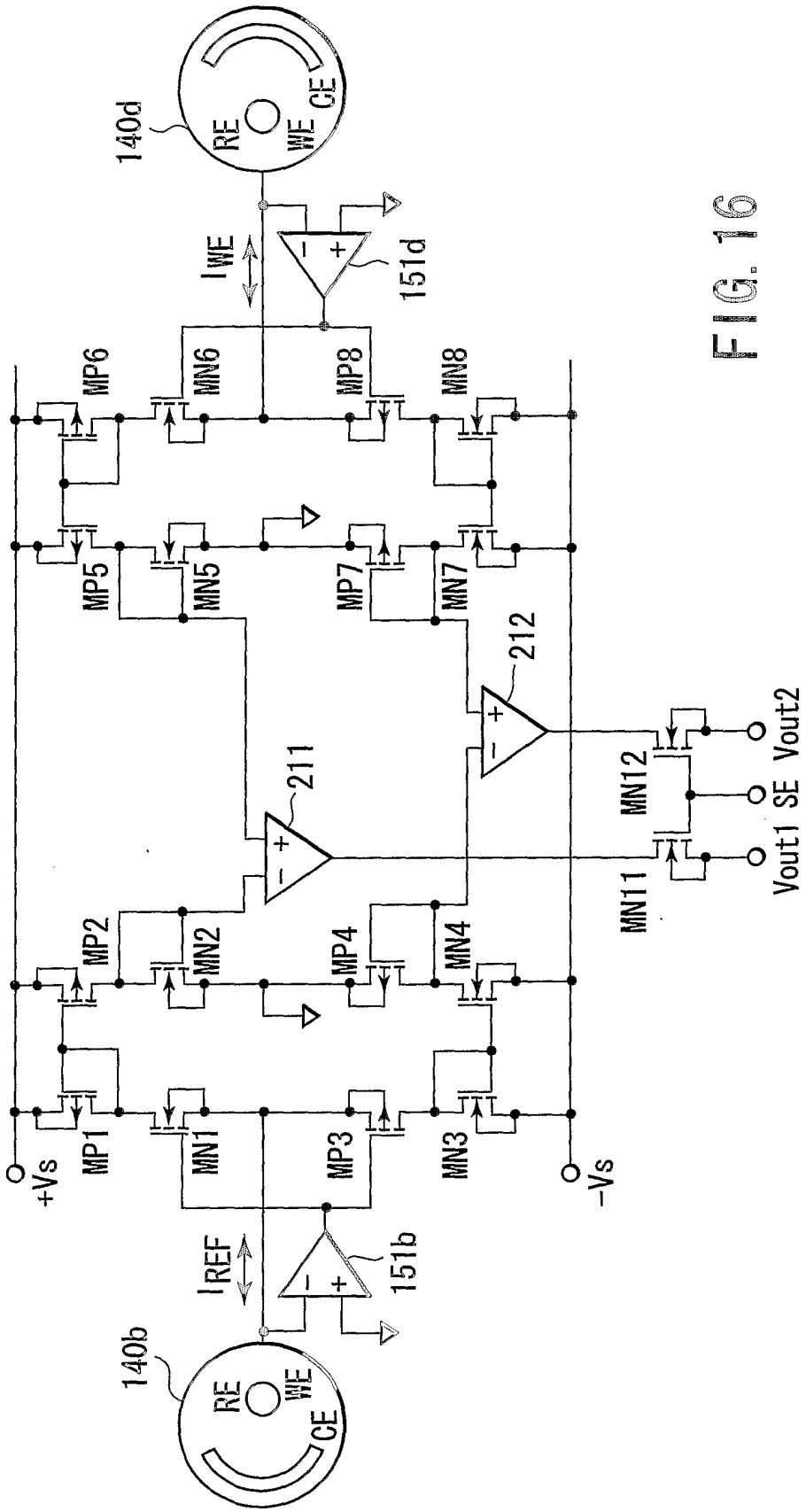

140d
RE
WE
CE
IWE
151d
MP6
MN6
MP8
MN8
MP5
MN5
MP7
MN7
212
211
MN12
Vout2
SE
Vout1
MN11
MP2
MN2
MP4
MN4
+Vs
MP1
MN1
MP3
MN3
-Vs
IREF
151b
140b
RE
WE
CE

FIG. 16

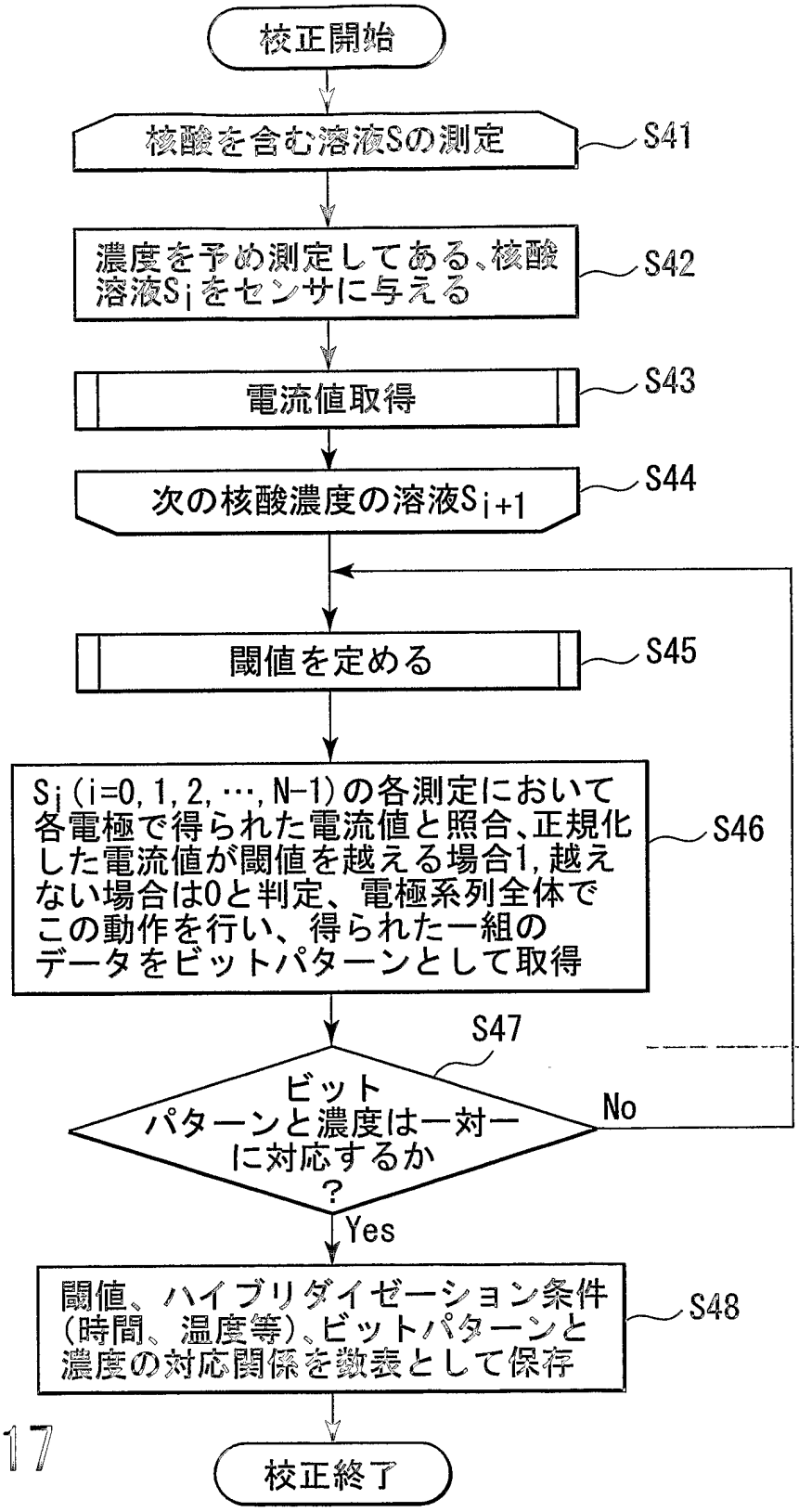

校正開始
核酸を含む溶液Sの測定
S41
濃度を予め測定してある、核酸溶液S_iをセンサに与える
S42
電流値取得
S43
次の核酸濃度の溶液S_{i+1}
S44
閾値を定める
S45
S_j (i=0, 1, 2, …, N-1)の各測定において各電極で得られた電流値と照合、正規化した電流値が閾値を越える場合1, 越えない場合は0と判定、電極系列全体でこの動作を行い、得られた一組のデータをビットパターンとして取得
S46
S47
ビットパターンと濃度は一対一に対応するか？
No
Yes
閾値、ハイブリダイゼーション条件(時間、温度等)、ビットパターンと濃度の対応関係を数表として保存
S48
校正終了

FIG. 17

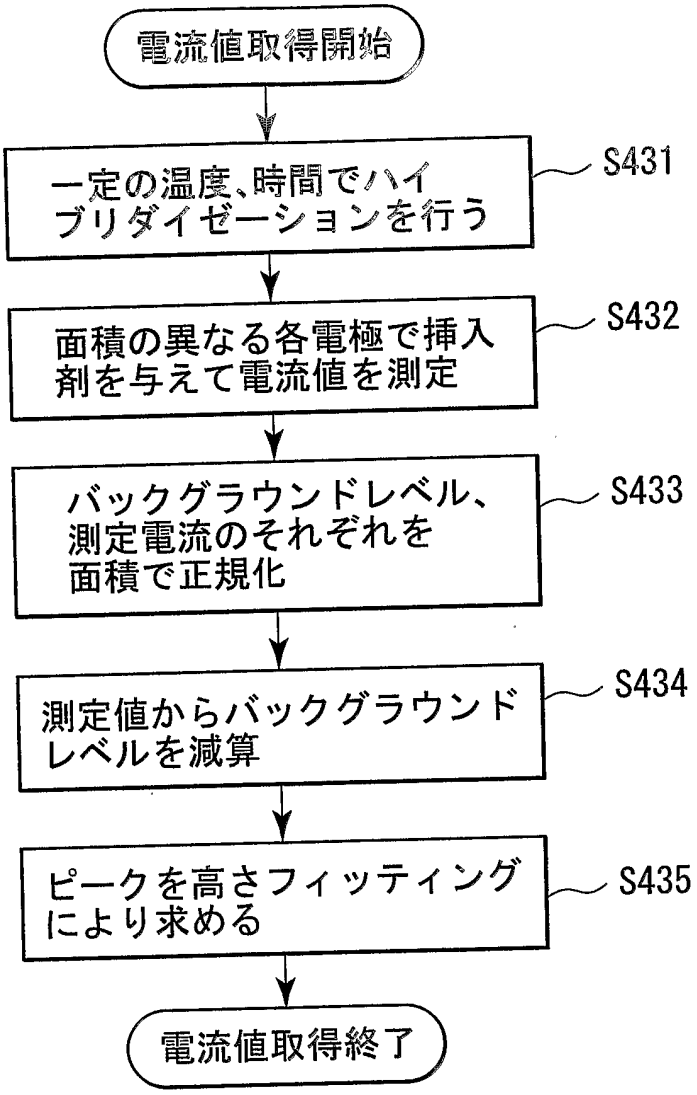

電流値取得開始
一定の温度、時間でハイブリダイゼーションを行う
S431
面積の異なる各電極で挿入剤を与えて電流値を測定
S432
バックグラウンドレベル、測定電流のそれぞれを面積で正規化
S433
測定値からバックグラウンドレベルを減算
S434
ピークを高さフィッティングにより求める
S435
電流値取得終了

FIG. 18

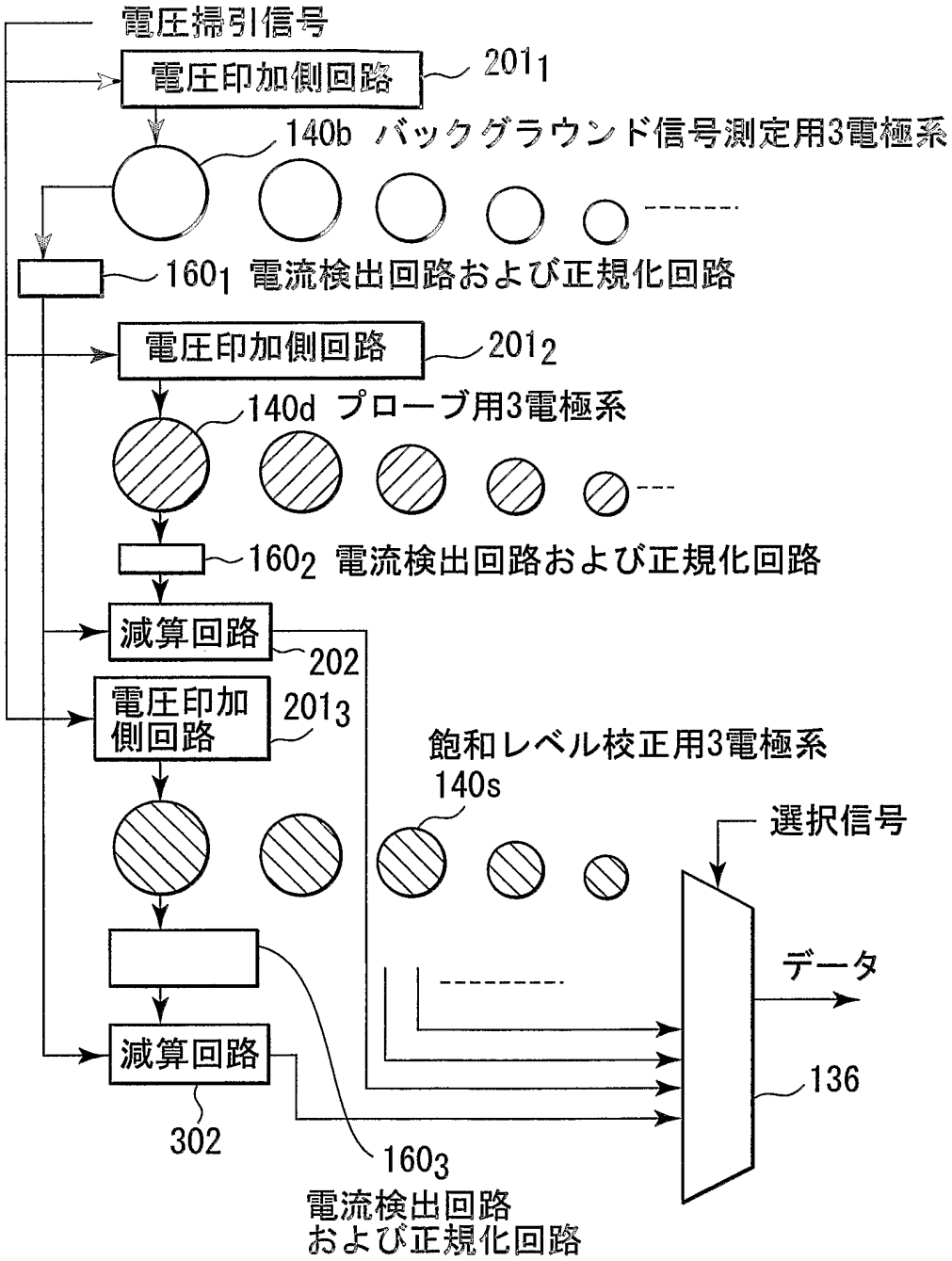

電圧掃引信号
電圧印加側回路
201_1
140b バックグラウンド信号測定用3電極系
160_1 電流検出回路および正規化回路
電圧印加側回路
201_2
140d プローブ用3電極系
160_2 電流検出回路および正規化回路
減算回路
202
電圧印加側回路
201_3
飽和レベル校正用3電極系
140s
選択信号
データ
136
減算回路
302
160_3
電流検出回路
および正規化回路

FIG. 19

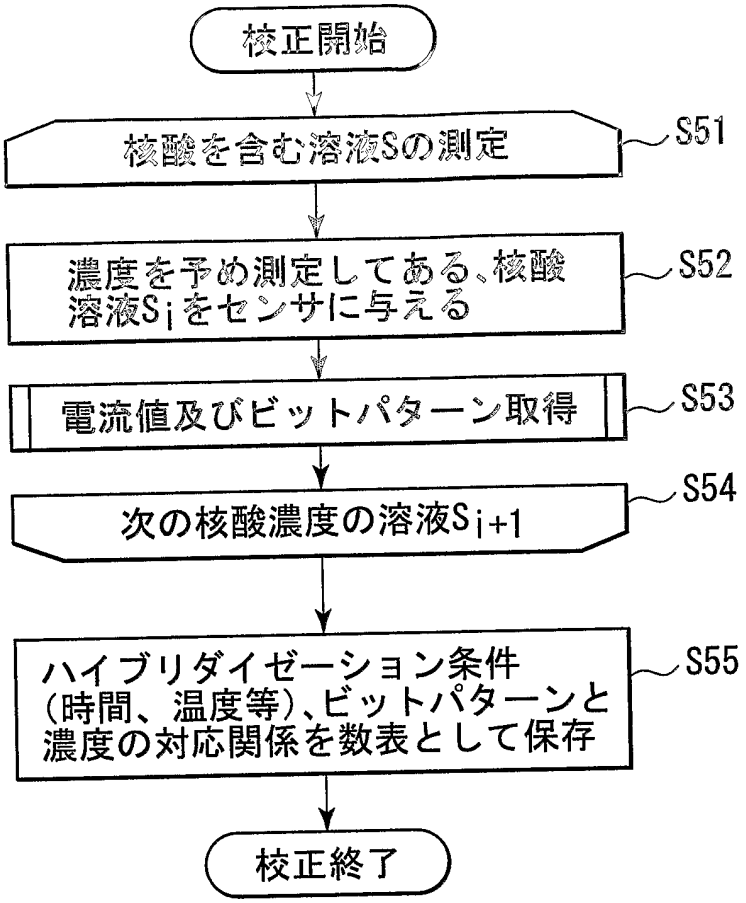

校正開始
核酸を含む溶液Sの測定
S51
濃度を予め測定してある、核酸溶液S_iをセンサに与える
S52
電流値及びビットパターン取得
S53
次の核酸濃度の溶液S_{i+1}
S54
ハイブリダイゼーション条件(時間、温度等)、ビットパターンと濃度の対応関係を数表として保存
S55
校正終了

FIG. 20

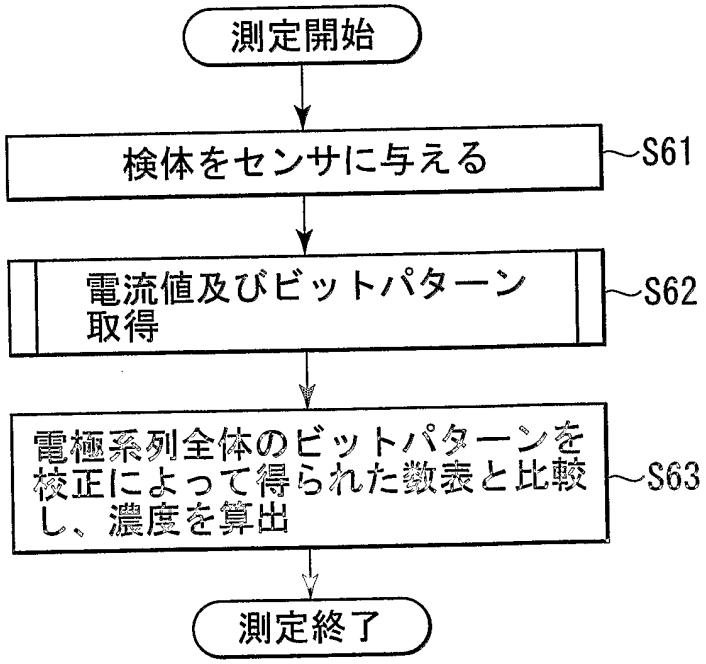

測定開始
検体をセンサに与える
S61
電流値及びビットパターン取得
S62
電極系列全体のビットパターンを校正によって得られた数表と比較し、濃度を算出
S63
測定終了

FIG. 22

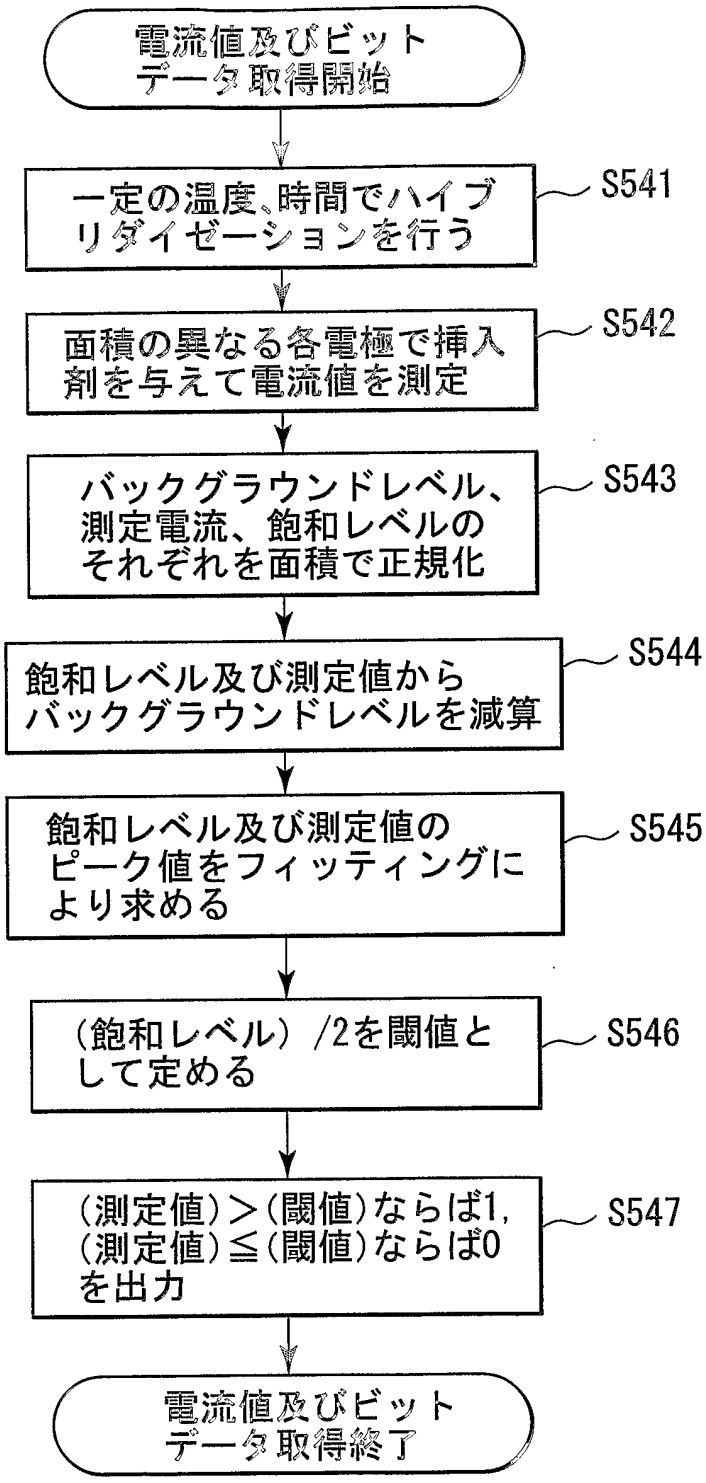

電流値及びビット
データ取得開始
一定の温度、時間でハイブ
リダイゼーションを行う
S541
面積の異なる各電極で挿入
剤を与えて電流値を測定
S542
バックグラウンドレベル、
測定電流、飽和レベルの
それぞれを面積で正規化
S543
飽和レベル及び測定値から
バックグラウンドレベルを減算
S544
飽和レベル及び測定値の
ピーク値をフィッティングに
より求める
S545
(飽和レベル) /2を閾値と
して定める
S546
(測定値)＞(閾値)ならば1,
(測定値)≦(閾値)ならば0
を出力
S547
電流値及びビット
データ取得終了

FIG. 21

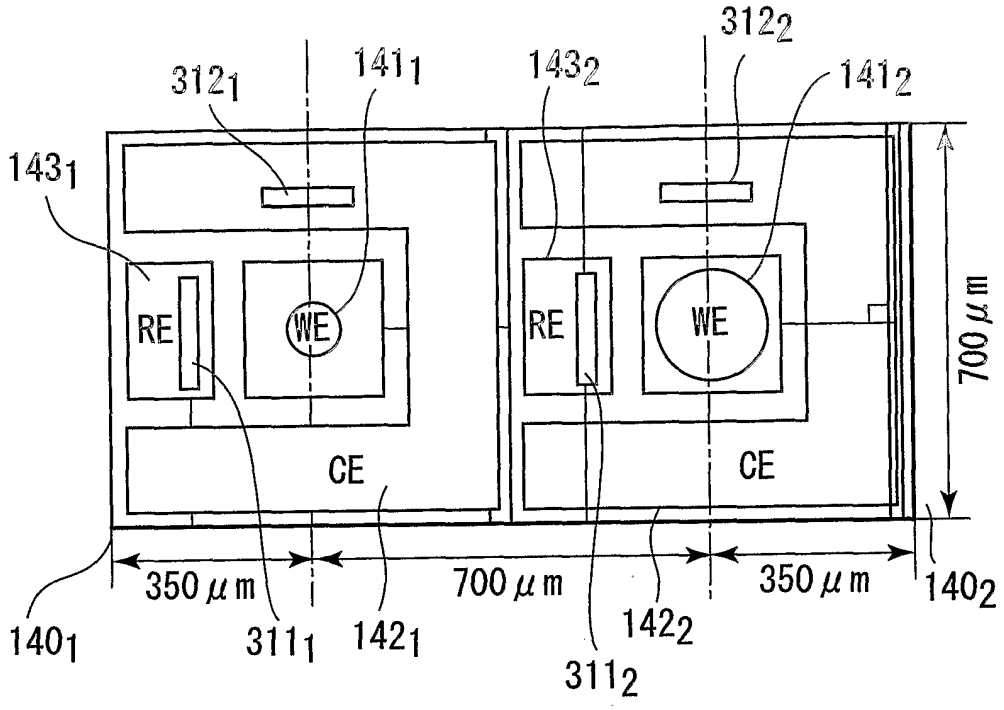

312_2
312_1
141_1
143_2
141_2
143_1
RE
WE
RE
WE
700 μm
CE
CE
350 μm
700 μm
350 μm
140_2
140_1
311_1
142_1
142_2
311_2

FIG. 23

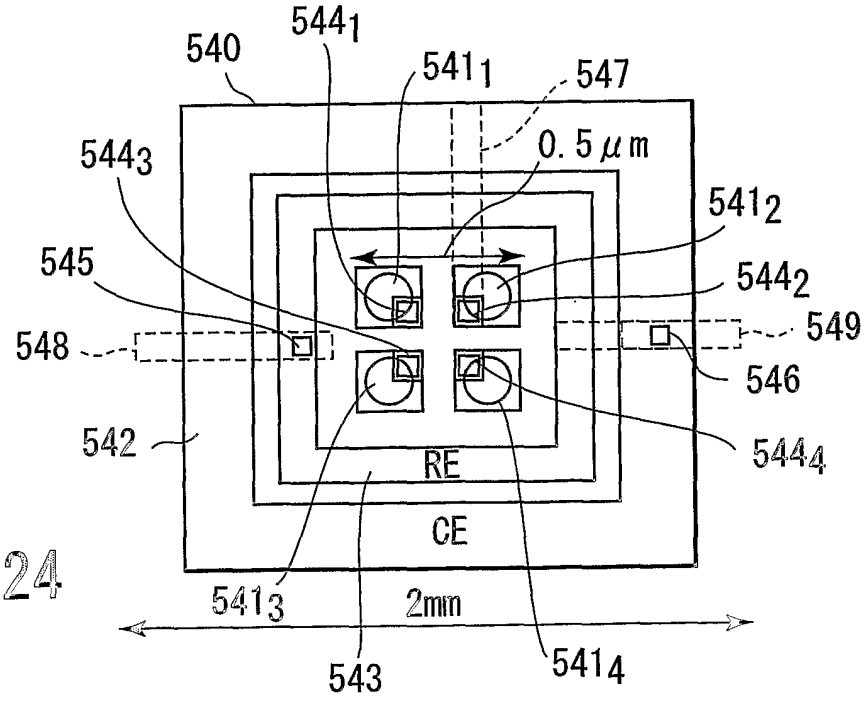

544_1
540
541_1
547
0.5 μm
544_3
541_2
545
544_2
548
549
546
542
544_4
RE
CE
541_3
2mm
543
541_4

FIG. 24

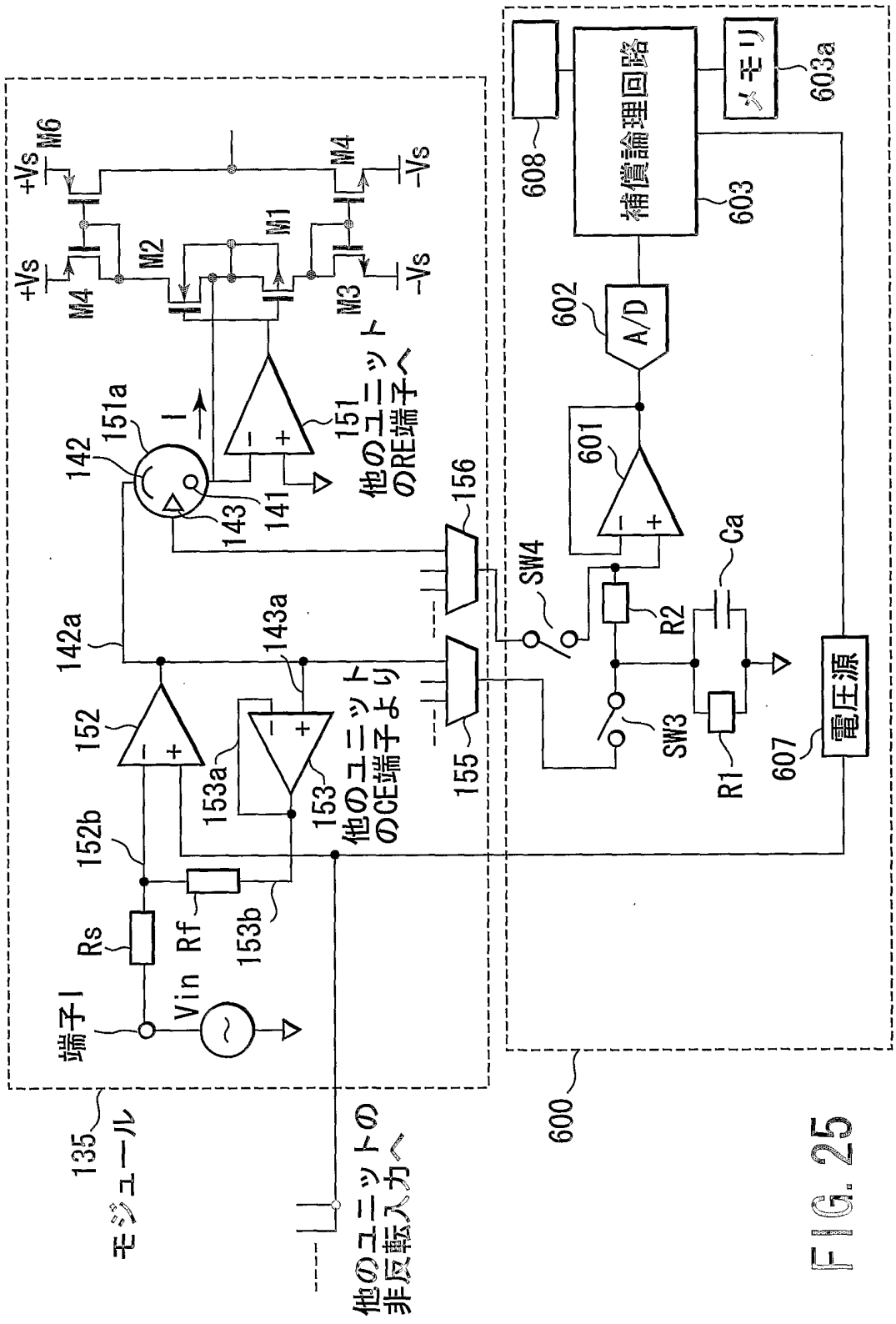

モジュール
135
端子I
Vin
Rs
Rf
152b
153b
152
153a
153
他のユニットの
CE端子より
142a
143a
155
156
他のユニットの
非反転入力へ
142
151a
143
141
151
他のユニットの
RE端子へ
+Vs
-Vs
M6
M4
M2
M1
M3
SW4
SW3
R2
R1
Ca
601
602
A/D
608
補償論理回路
603
メモリ
603a
607
電圧源
600

FIG. 25

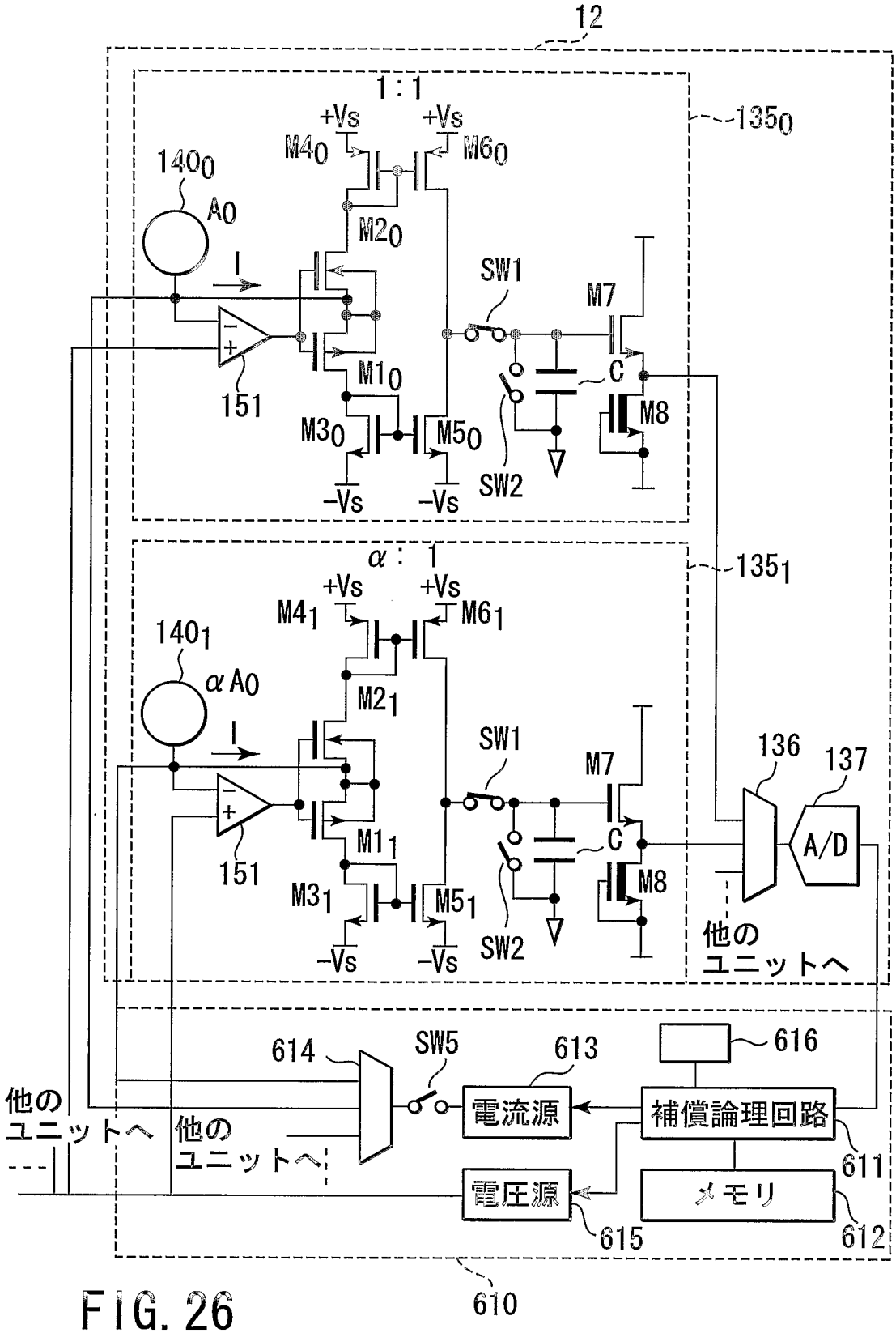

12
1 : 1
+Vs
+Vs
M4₀
M6₀
140₀
A0
M2₀
I
SW1
M7
151
M1₀
C
M8
M3₀
M5₀
SW2
-Vs
-Vs
135₀
α : 1
+Vs
+Vs
M4₁
M6₁
140₁
αA0
M2₁
I
SW1
M7
136
137
151
M1₁
C
A/D
M8
M3₁
M5₁
SW2
-Vs
-Vs
他の
ユニットへ
135₁
614
SW5
613
616
他の
ユニットへ
他の
ユニットへ
電流源
補償論理回路
611
電圧源
メモリ
615
612
610

FIG. 26

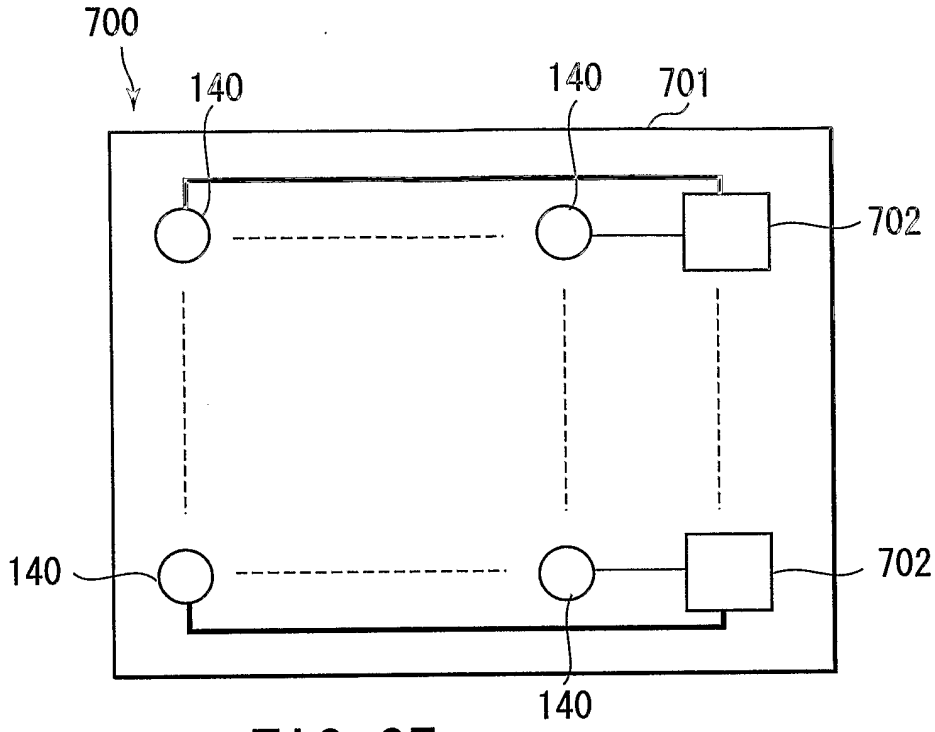

700
140
140
701
702
140
702
140

FIG. 27

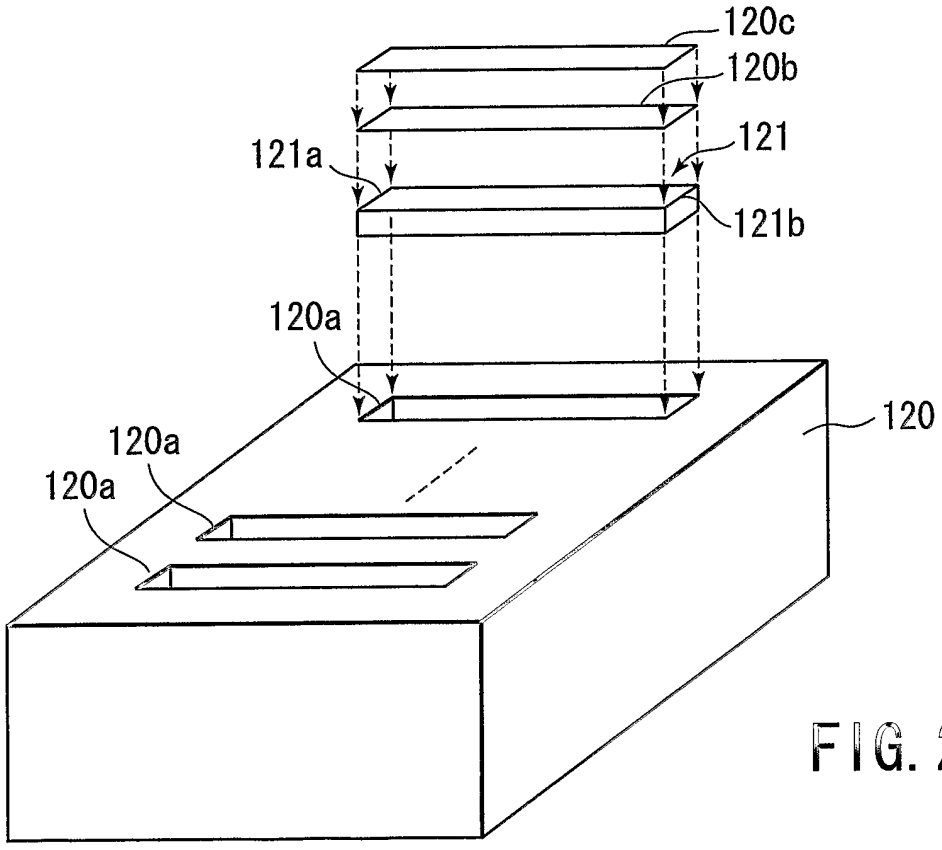

120c
120b
121
121a
121b
120a
120
120a
120a

FIG. 28

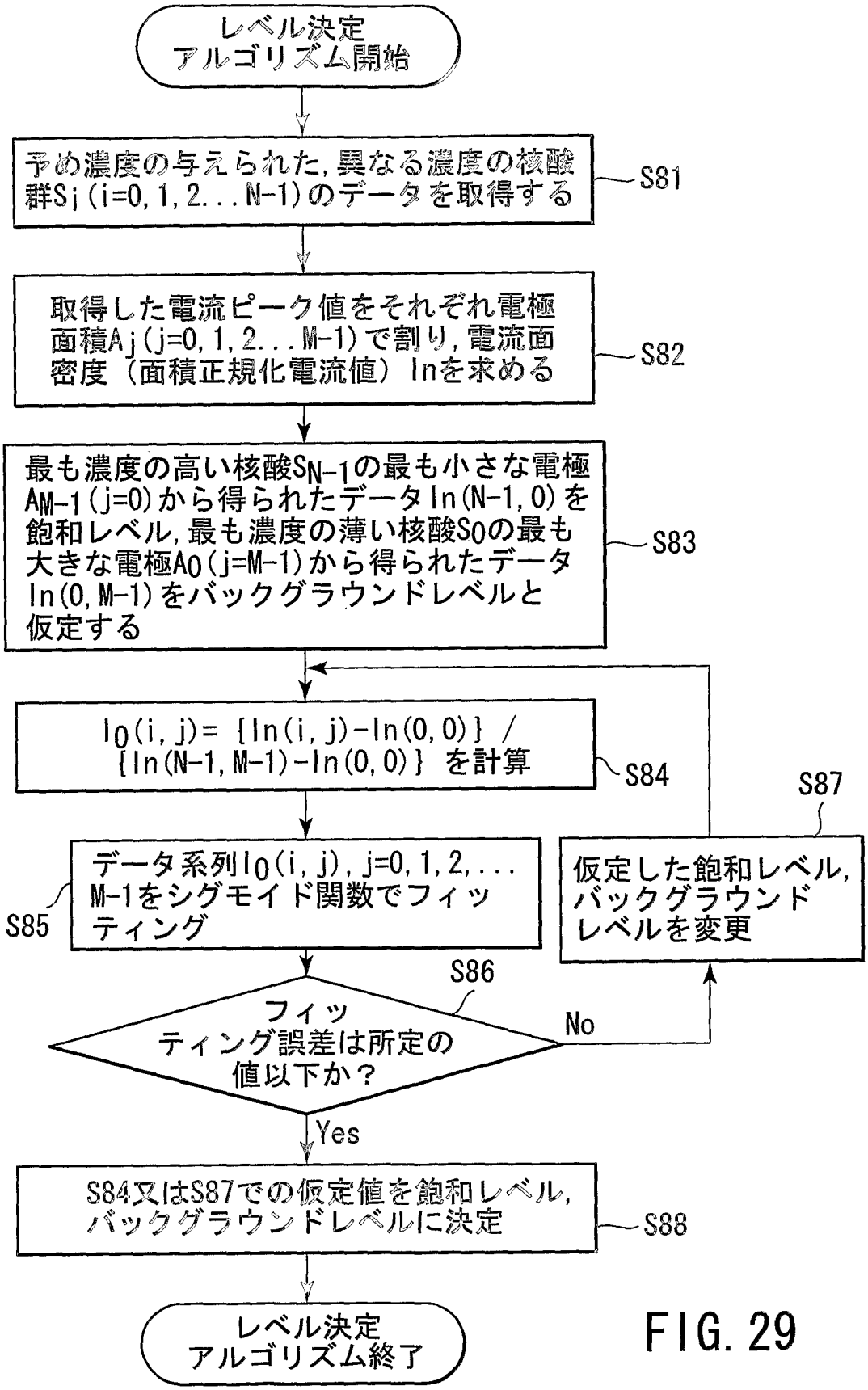

レベル決定
アルゴリズム開始
予め濃度の与えられた,異なる濃度の核酸群Sj(i=0,1,2...N-1)のデータを取得する
S81
取得した電流ピーク値をそれぞれ電極面積Aj(j=0,1,2...M-1)で割り,電流面密度(面積正規化電流値)Inを求める
S82
最も濃度の高い核酸SN-1の最も小さな電極AM-1(j=0)から得られたデータIn(N-1,0)を飽和レベル,最も濃度の薄い核酸S0の最も大きな電極A0(j=M-1)から得られたデータIn(0,M-1)をバックグラウンドレベルと仮定する
S83
I0(i,j)={In(i,j)-In(0,0)}/{In(N-1,M-1)-In(0,0)}を計算
S84
S87
データ系列I0(i,j),j=0,1,2,...M-1をシグモイド関数でフィッティング
S85
仮定した飽和レベル,バックグラウンドレベルを変更
S86
フィッティング誤差は所定の値以下か?
No
Yes
S84又はS87での仮定値を飽和レベル,バックグラウンドレベルに決定
S88
レベル決定
アルゴリズム終了

FIG. 29

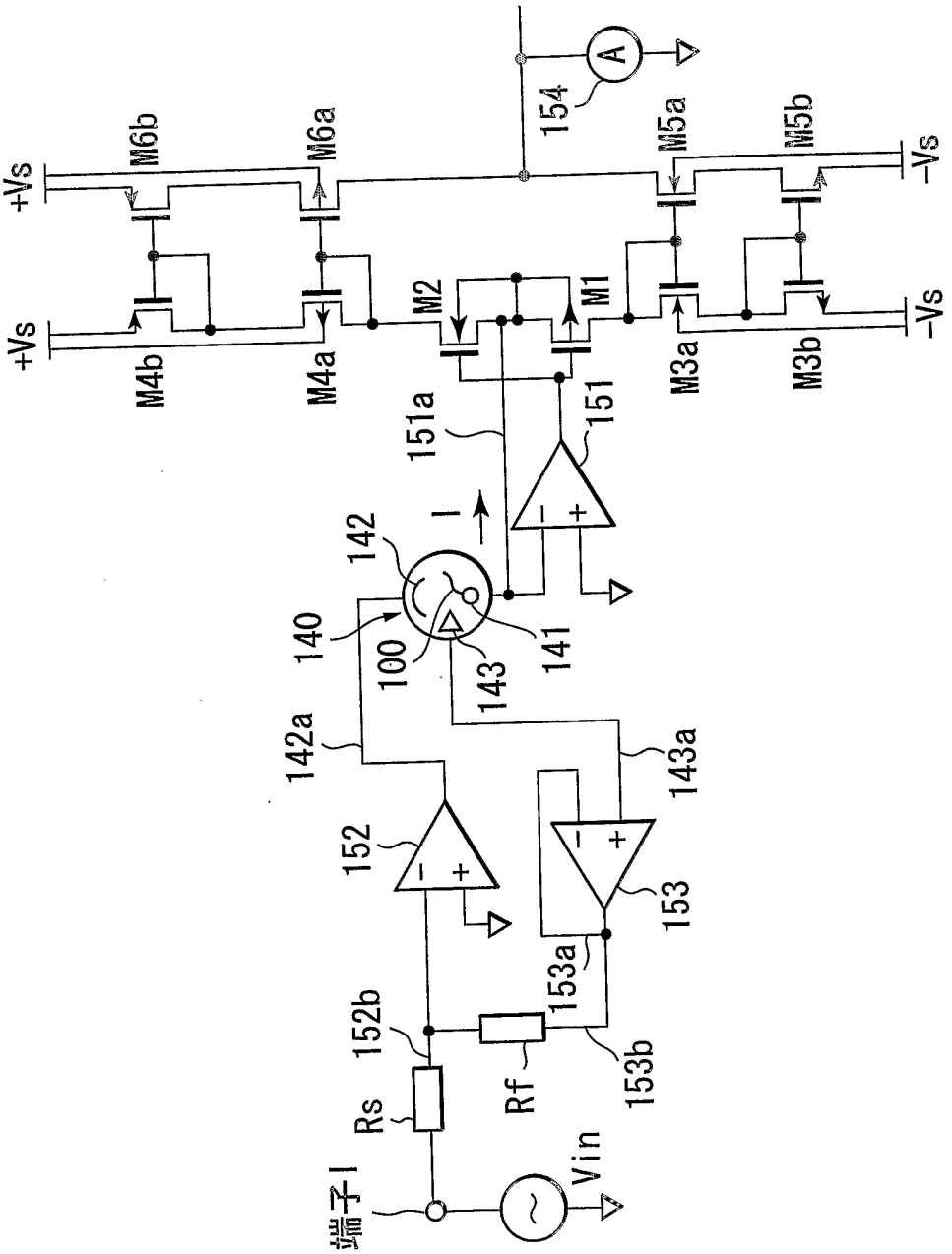

+Vs
M6b
M6a
154
A
M5a
M5b
-Vs
+Vs
M4b
M4a
M2
M1
M3a
M3b
-Vs
151a
151
142
I
140
100
143
141
142a
143a
152
153
153a
152b
153b
Rs
Rf
端子I
Vin

FIG. 30

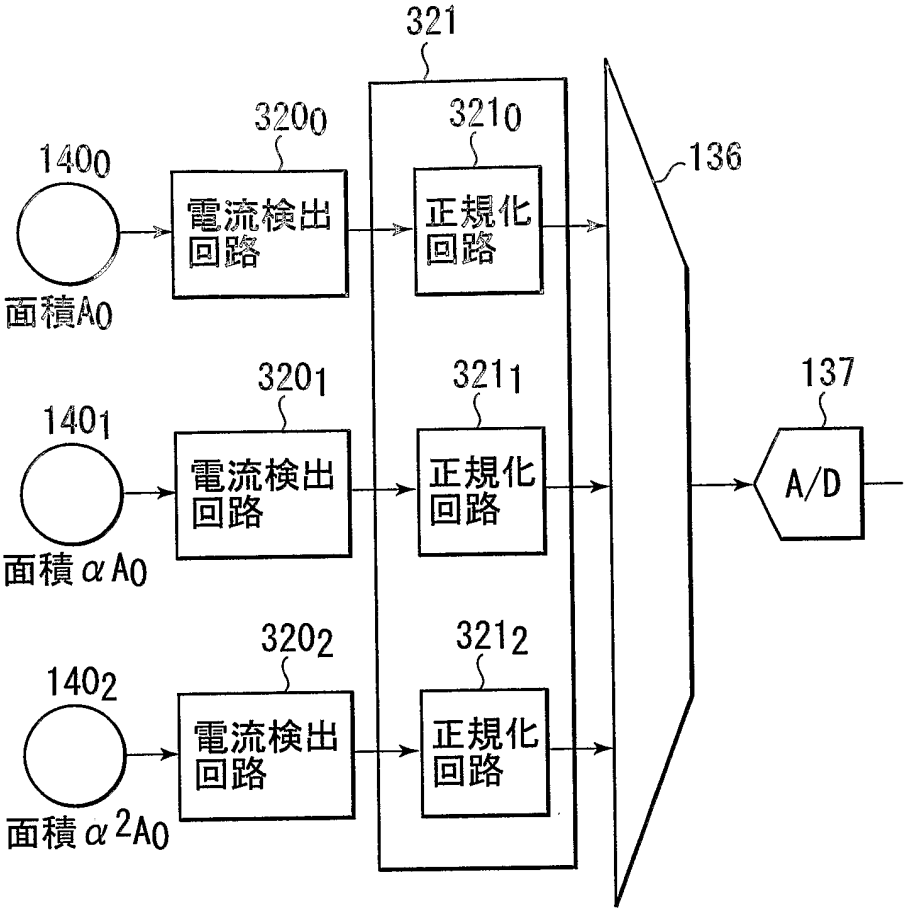

321
320_0
321_0
140_0
136
電流検出回路
正規化回路
面積A_0
320_1
321_1
137
140_1
電流検出回路
正規化回路
A/D
面積αA_0
320_2
321_2
140_2
電流検出回路
正規化回路
面積$\alpha^2 A_0$

FIG. 31

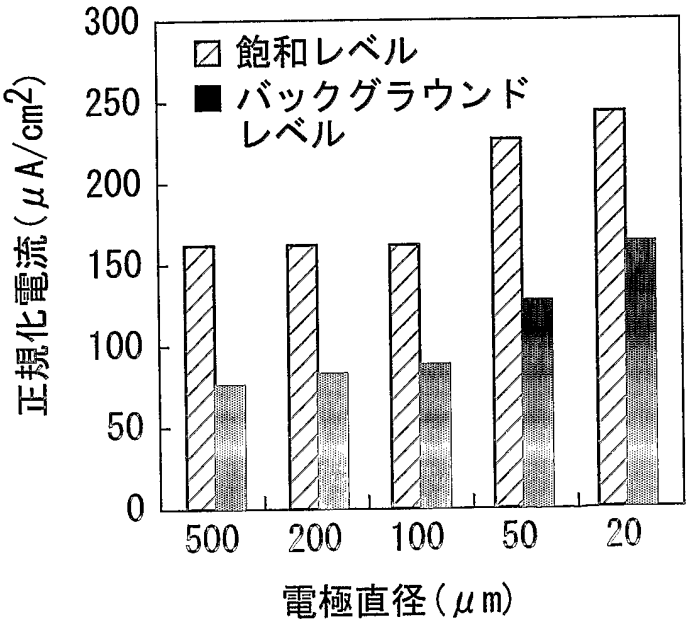

300
250
200
150
100
50
0
飽和レベル
バックグラウンドレベル
正規化電流（$\mu A/cm^2$）
500
200
100
50
20
電極直径（μm）

FIG. 32

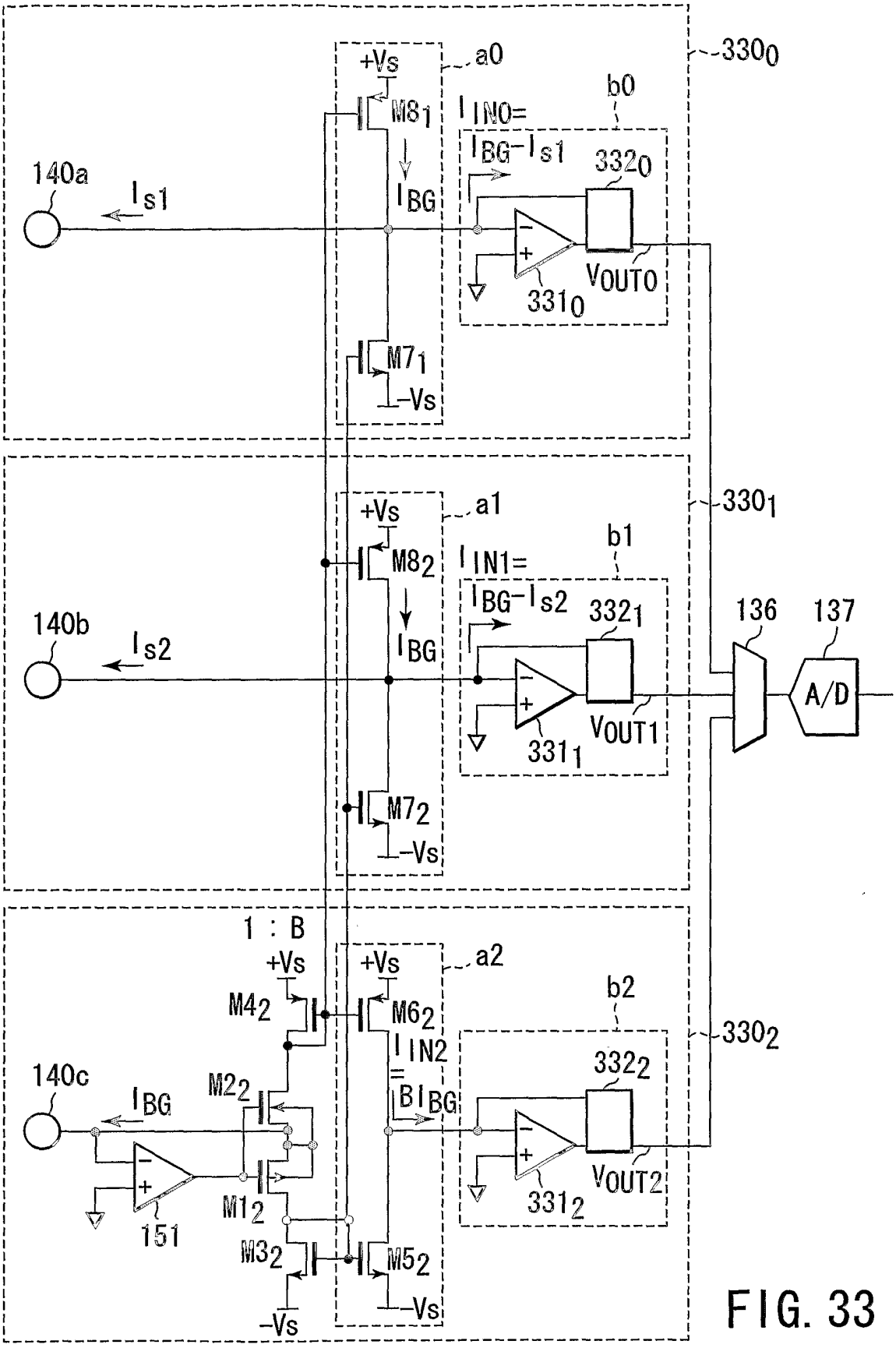

330₀
+Vs
a0
M8₁
I_IN0=
I_BG−I_s1
b0
140a
I_s1
I_BG
332₀
V_OUT0
331₀
M7₁
−Vs
330₁
+Vs
a1
M8₂
I_IN1=
I_BG−I_s2
b1
140b
I_s2
I_BG
332₁
V_OUT1
331₁
136
137
A/D
M7₂
−Vs
1 : B
+Vs
+Vs
a2
M4₂
M6₂
b2
330₂
I_IN2
= BI_BG
140c
I_BG
M2₂
332₂
M1₂
151
M3₂
M5₂
V_OUT2
331₂
−Vs
−Vs

FIG. 33

FIG. 34

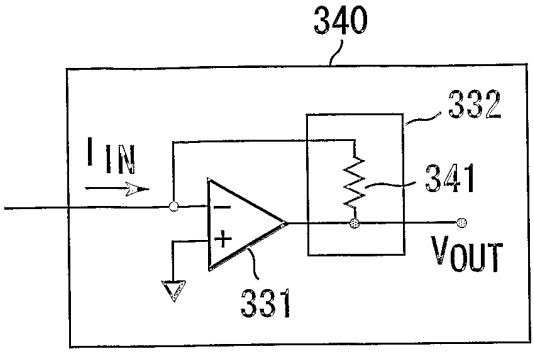
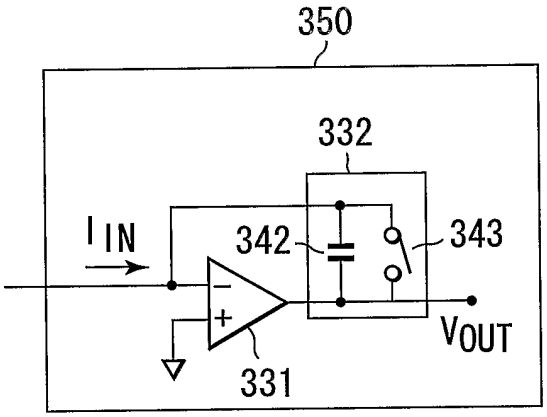


FIG. 35



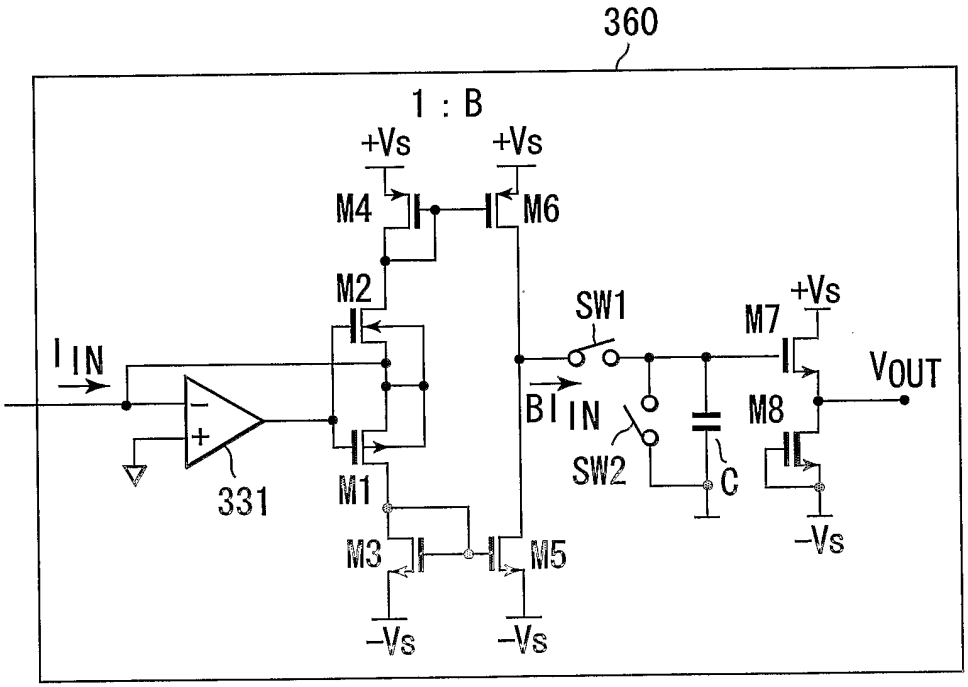


FIG. 36

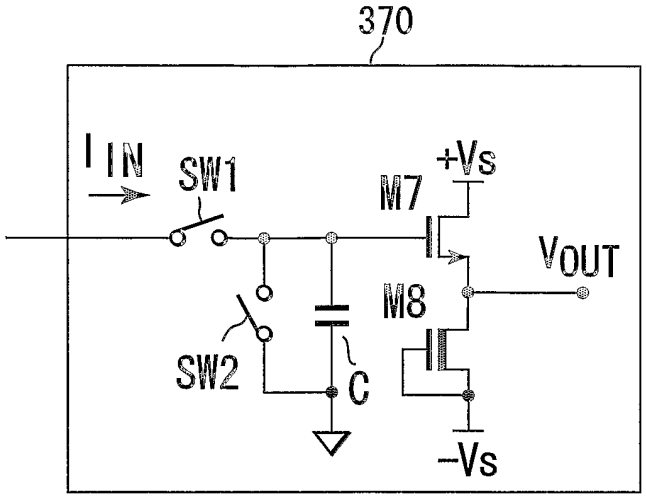

370
IIN
SW1
+Vs
M7
VOUT
M8
SW2
C
-Vs

FIG. 37

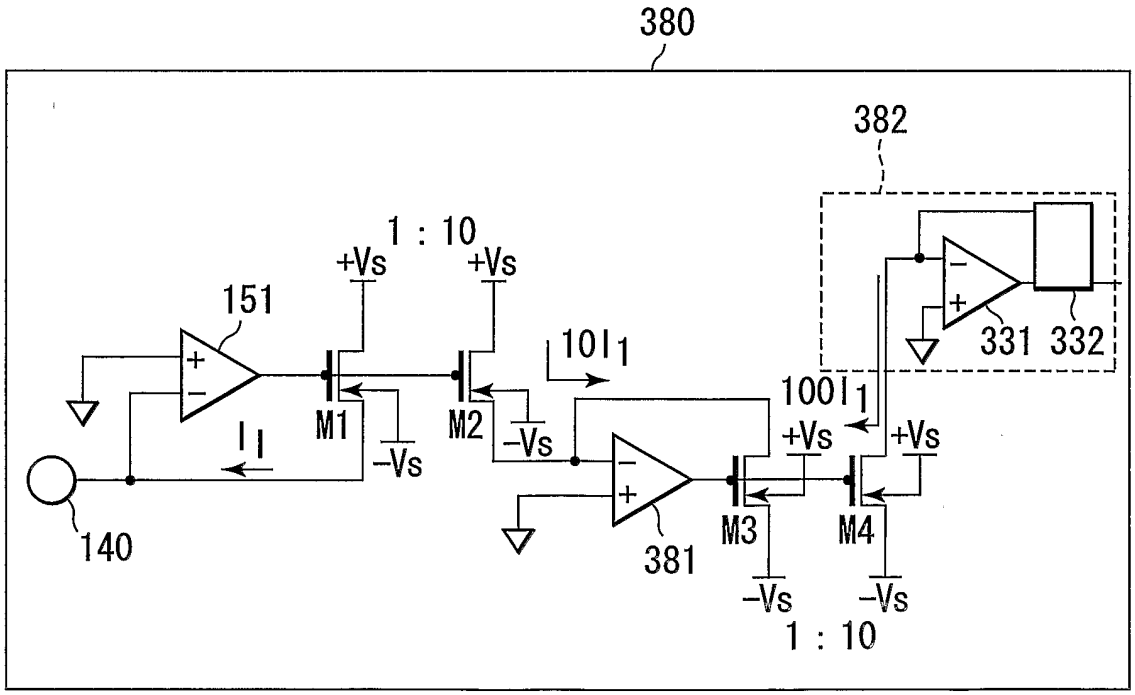

380
382
1 : 10
+Vs
+Vs
151
101I1
1001I1
331
332
M1
M2
-Vs
+Vs
+Vs
I1
-Vs
140
381
M3
M4
-Vs
-Vs
1 : 10

FIG. 38

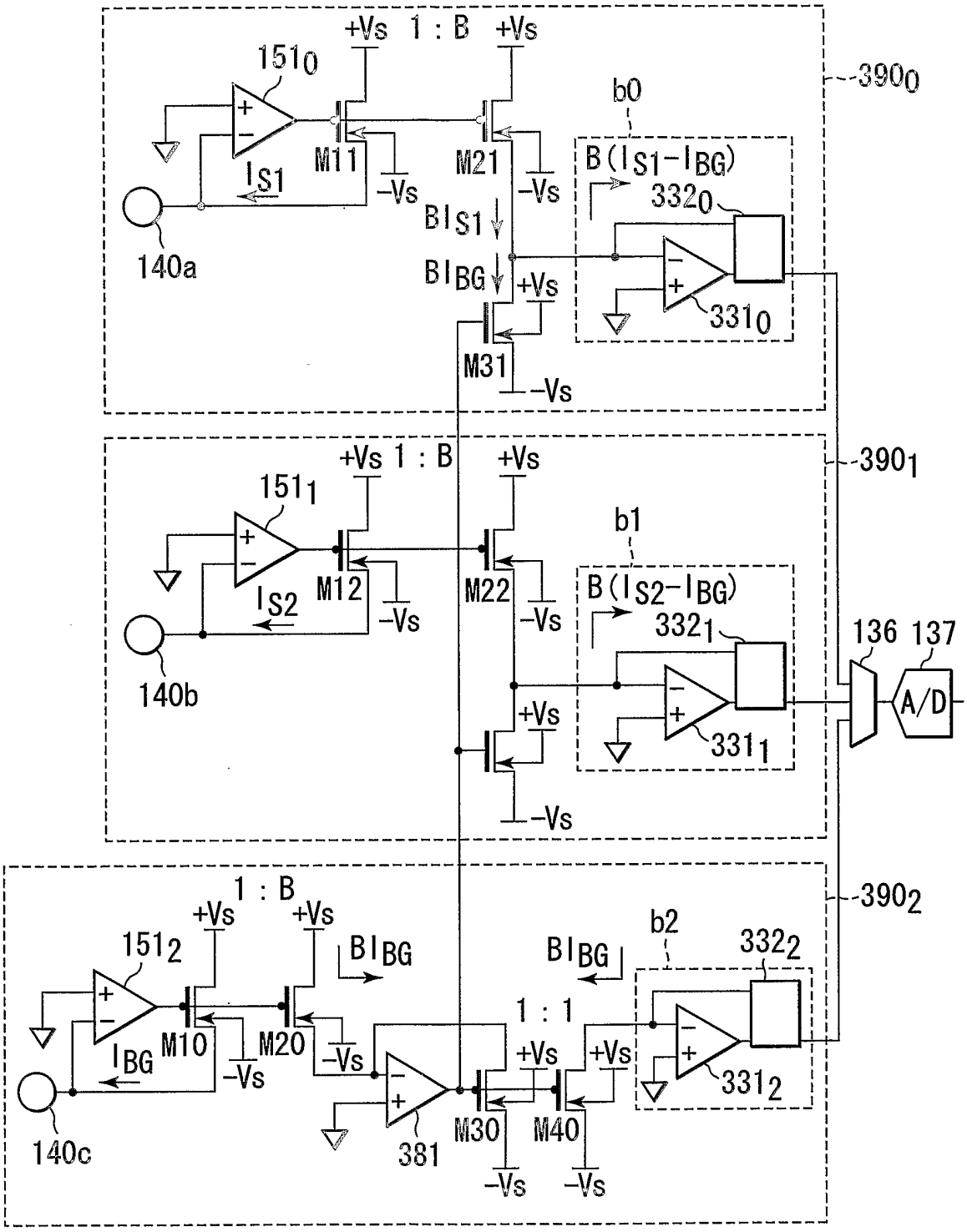

+Vs 1 : B +Vs
151_0
390_0
b0
M11
M21
I_{S1}
-Vs
BI_{S1}
$B(I_{S1}-I_{BG})$
332_0
140a
BI_{BG}
+Vs
331_0
M31
-Vs
+Vs 1 : B +Vs
151_1
390_1
b1
M12
M22
I_{S2}
$B(I_{S2}-I_{BG})$
332_1
136 137
140b
A/D
331_1
1 : B
+Vs +Vs
151_2
390_2
b2
BI_{BG}
BI_{BG}
332_2
1 : 1
I_{BG}
M10
M20
M30
M40
331_2
140c
381

FIG. 39

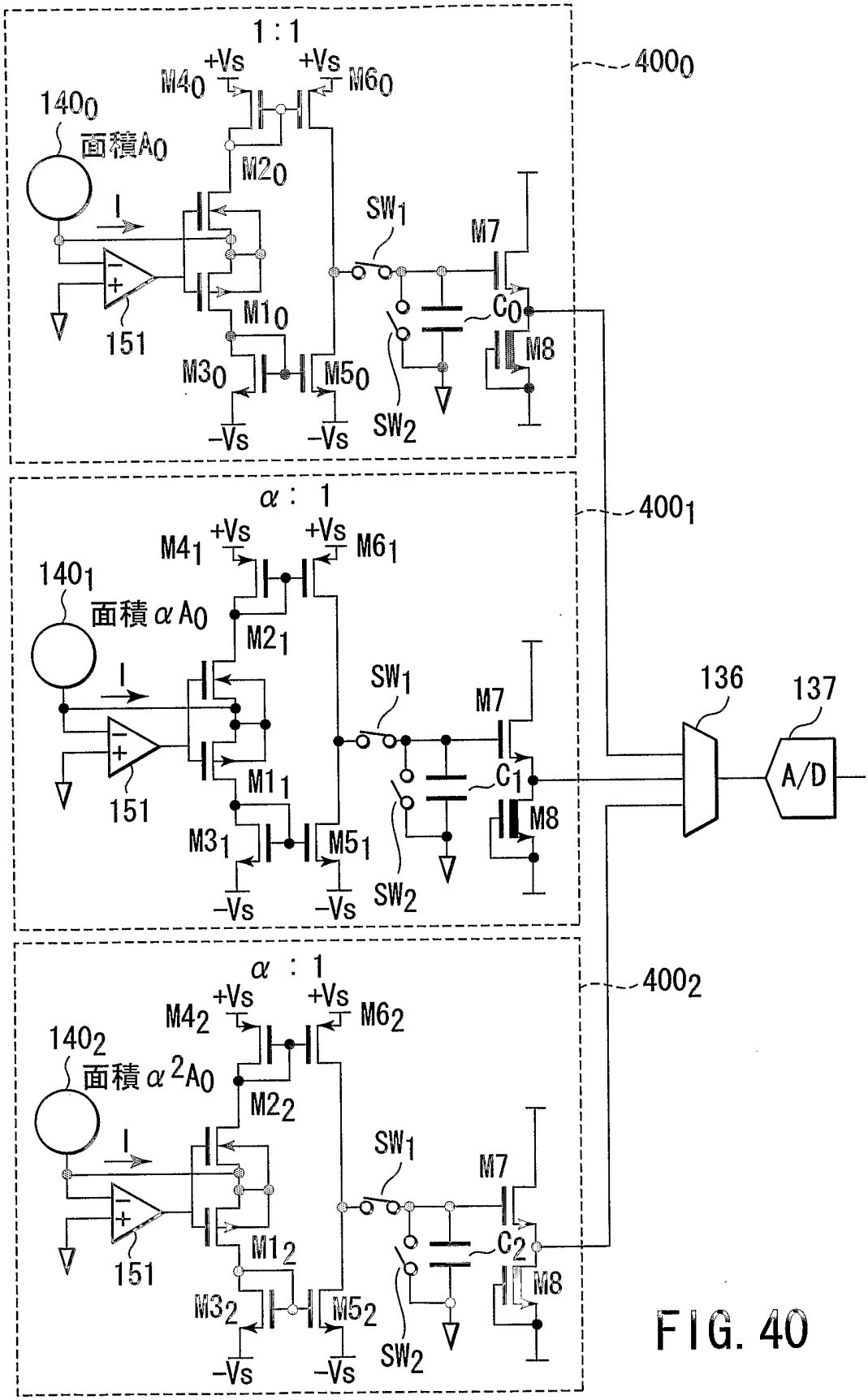

1 : 1
400_0
140_0
面積A_0
$M4_0$
$M6_0$
$M2_0$
$M1_0$
$M3_0$
$M5_0$
SW_1
SW_2
M7
C_0
M8
151
+Vs
-Vs
I
α : 1
400_1
140_1
面積αA_0
$M4_1$
$M6_1$
$M2_1$
$M1_1$
$M3_1$
$M5_1$
C_1
136
137
A/D
α : 1
400_2
140_2
面積$\alpha^2 A_0$
$M4_2$
$M6_2$
$M2_2$
$M1_2$
$M3_2$
$M5_2$
C_2

FIG. 40

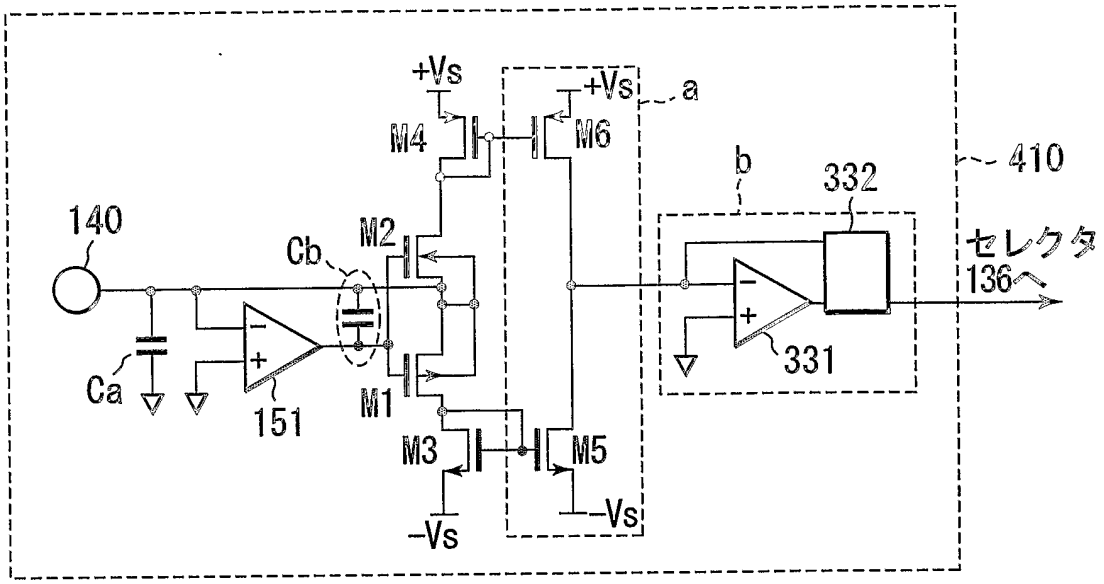


FIG. 41

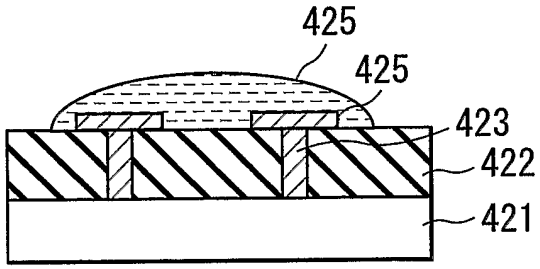


FIG. 42

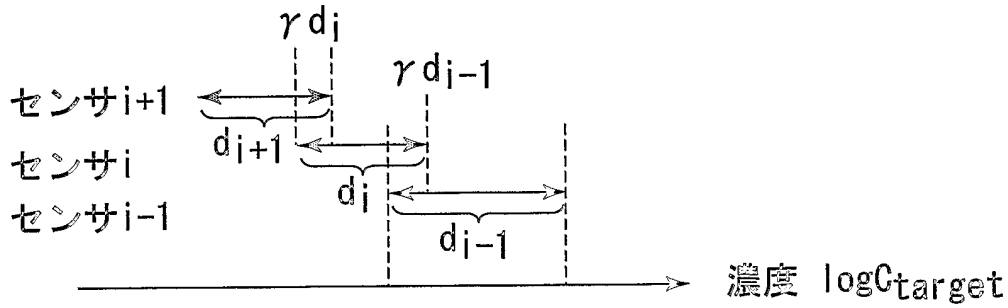


FIG. 43

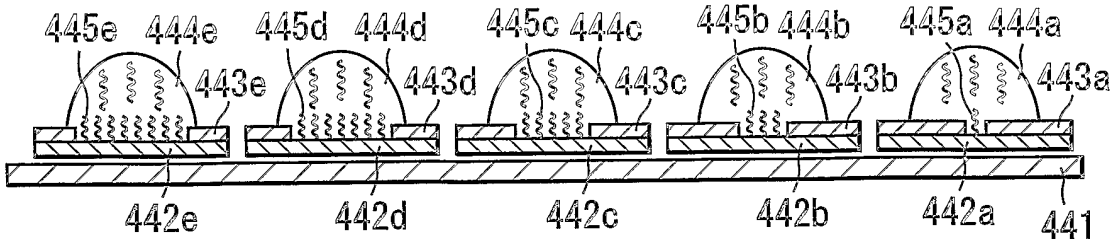

445e
444e
445d
444d
445c
444c
445b
444b
445a
444a
443e
443d
443c
443b
443a
442e
442d
442c
442b
442a
441

FIG. 44

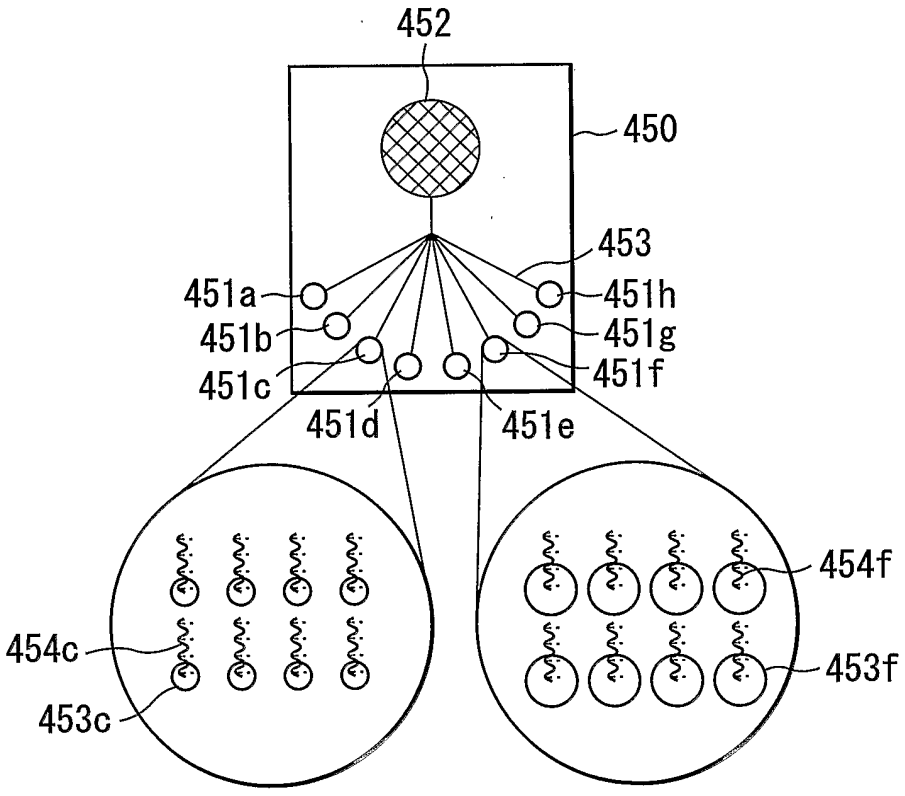

452
450
453
451a
451h
451b
451g
451c
451f
451d
451e
454f
454c
453f
453c

FIG. 45

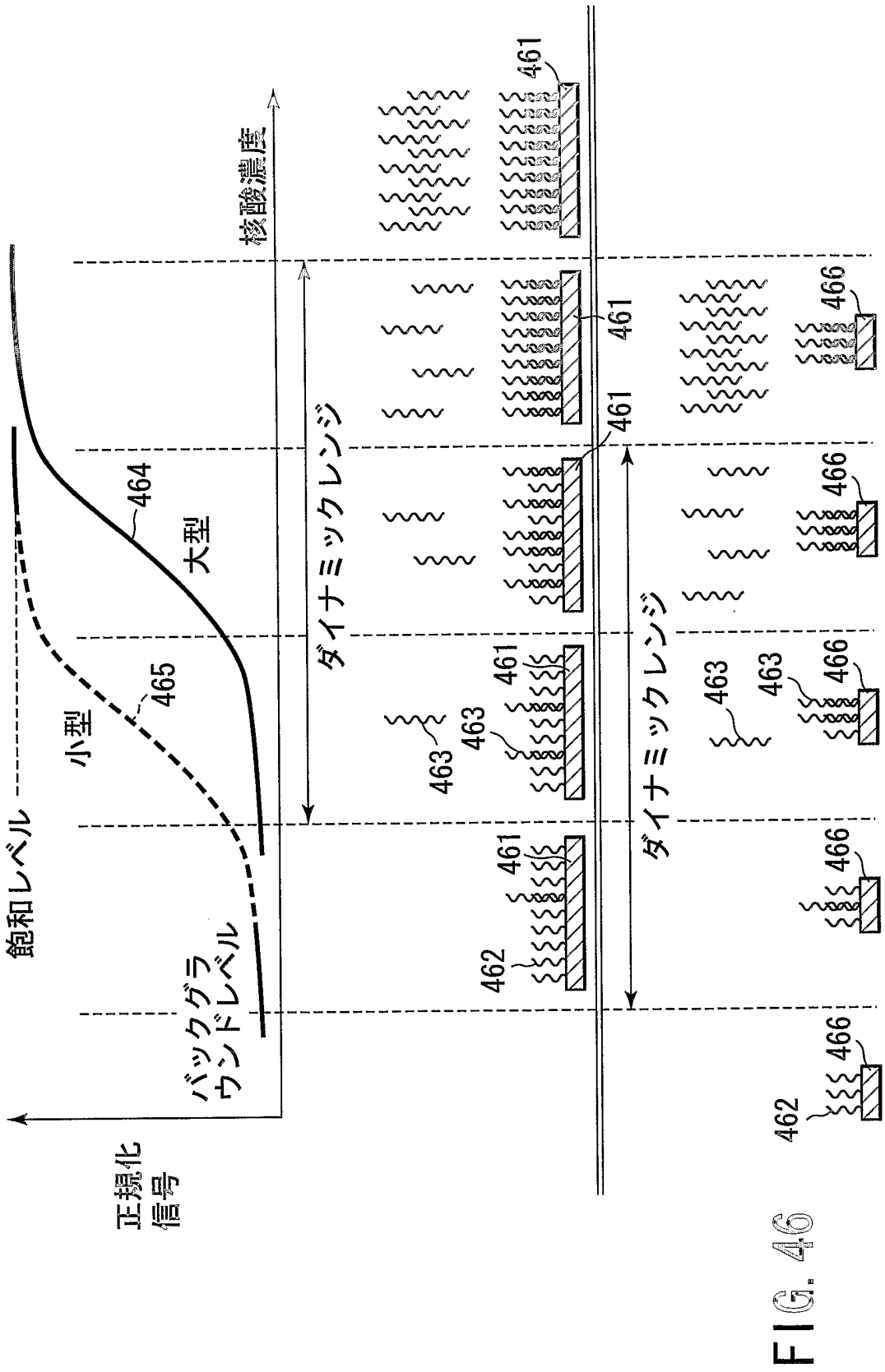

正規化
信号
飽和レベル
バックグラ
ウンドレベル
小型
大型
464
465
核酸濃度
ダイナミックレンジ
ダイナミックレンジ
461
462
463
466

FIG. 46

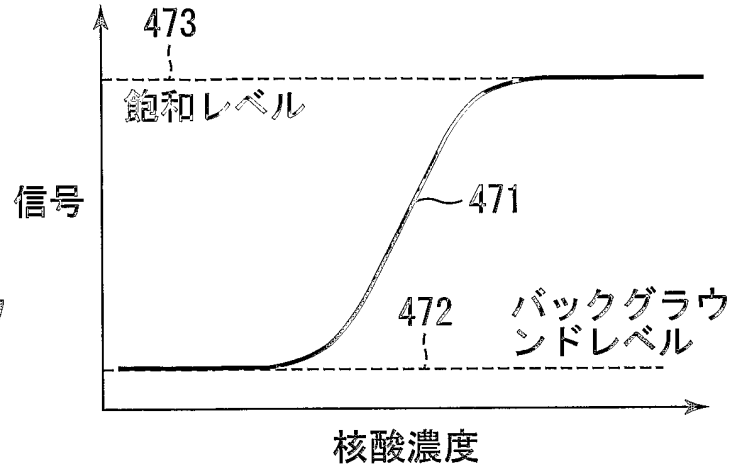


FIG. 47

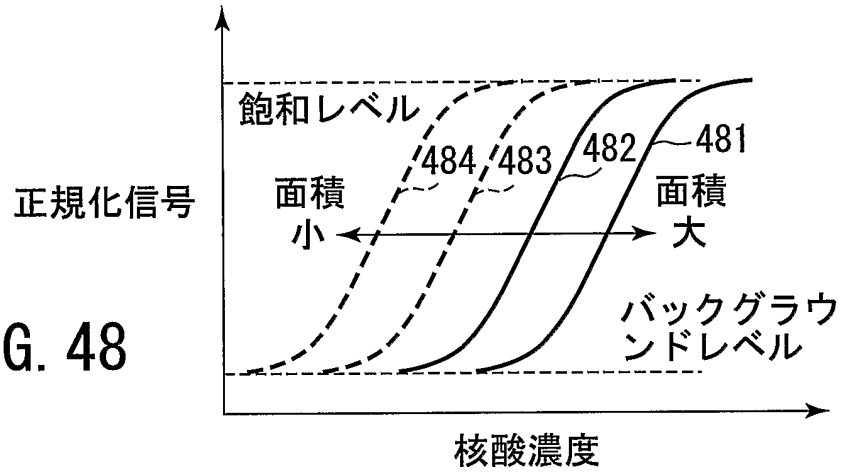


FIG. 48

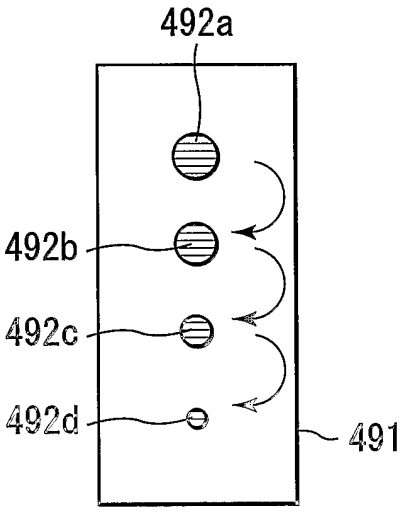


FIG. 49

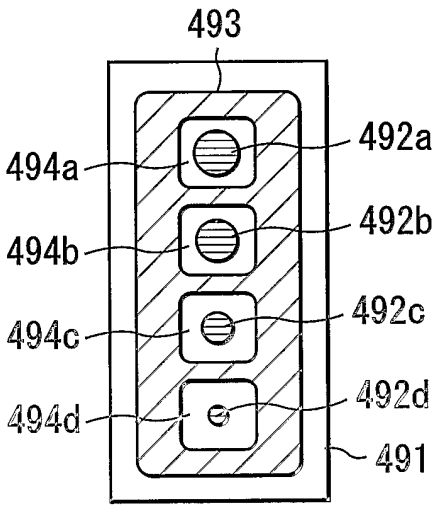


FIG. 50

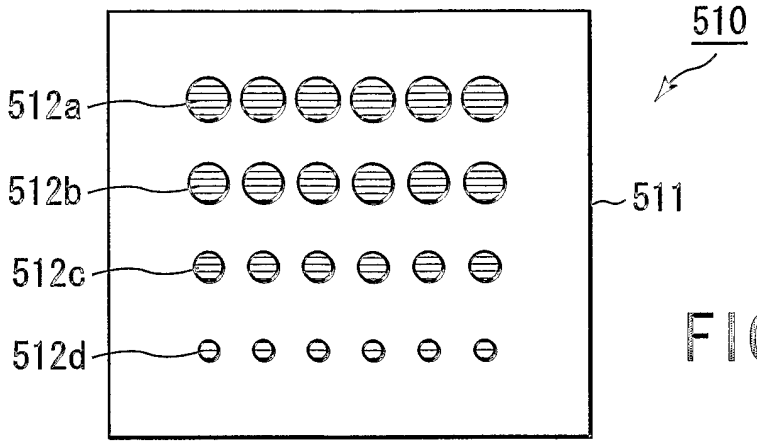


FIG. 51

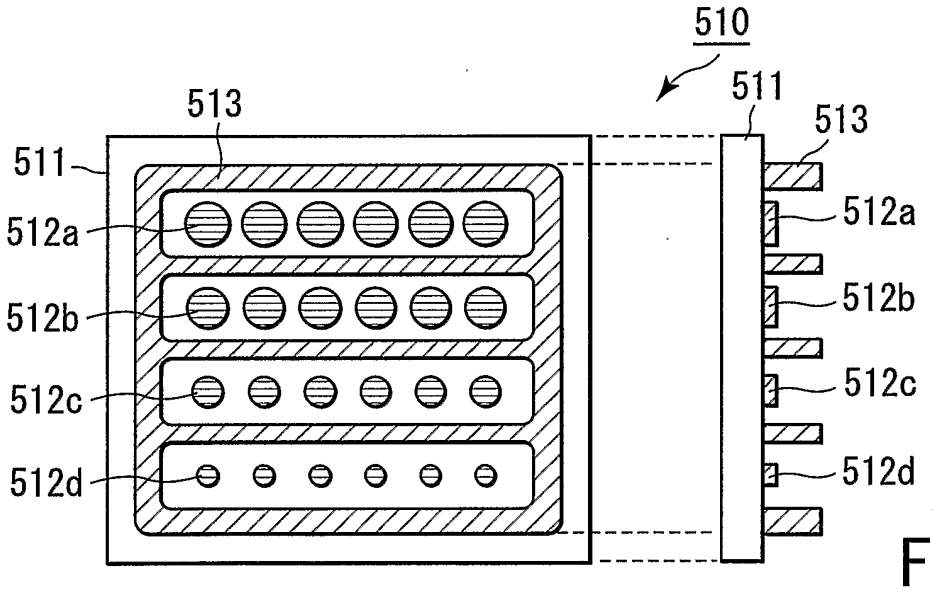


FIG. 52

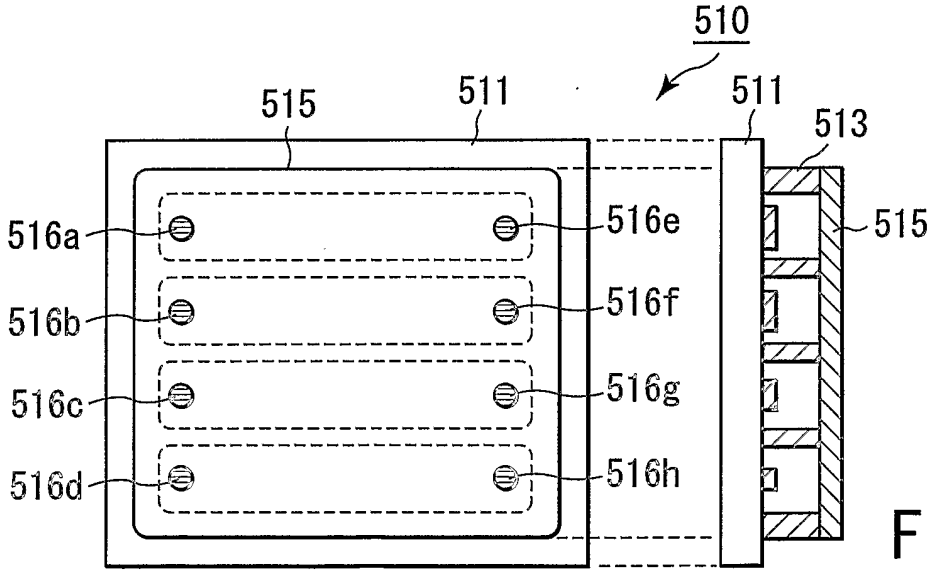


FIG. 53

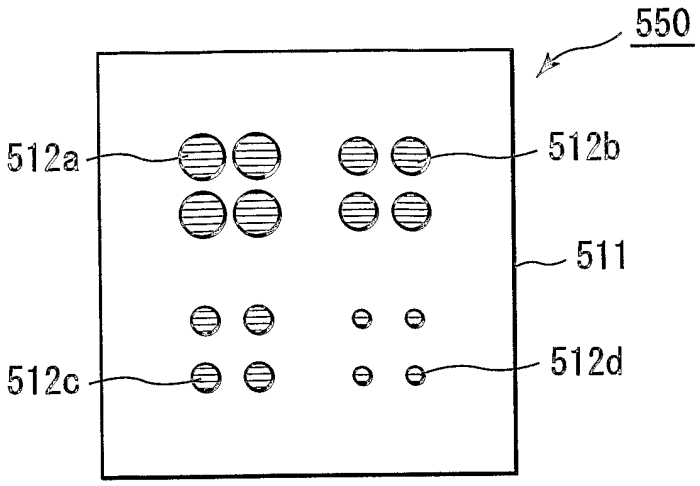


FIG. 54

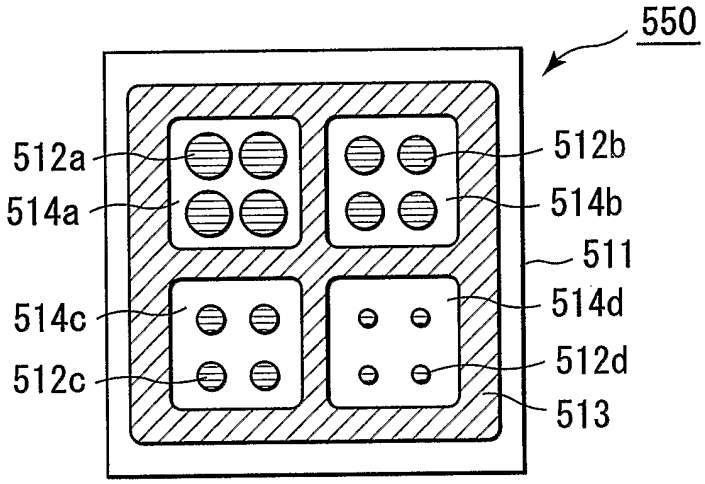


FIG. 55

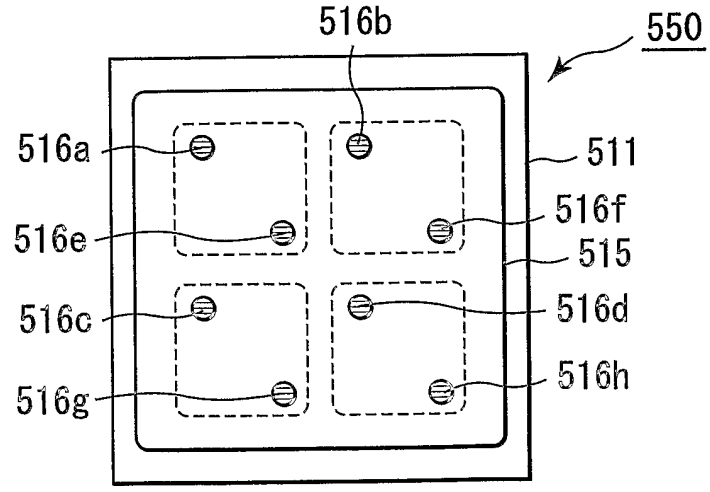


FIG. 56

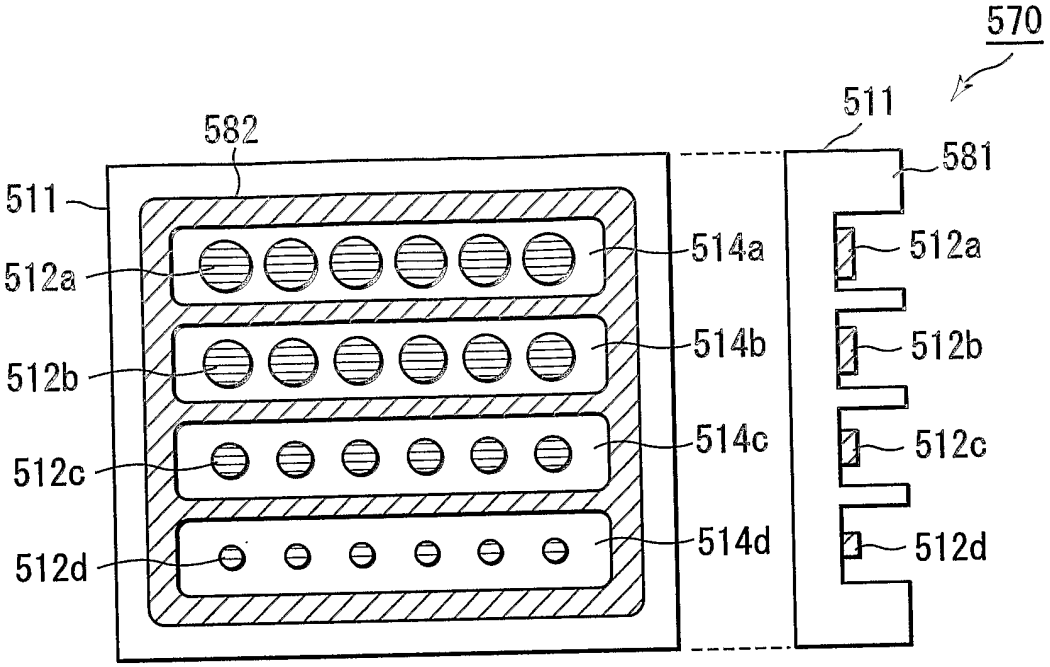


FIG. 57A FIG. 57B

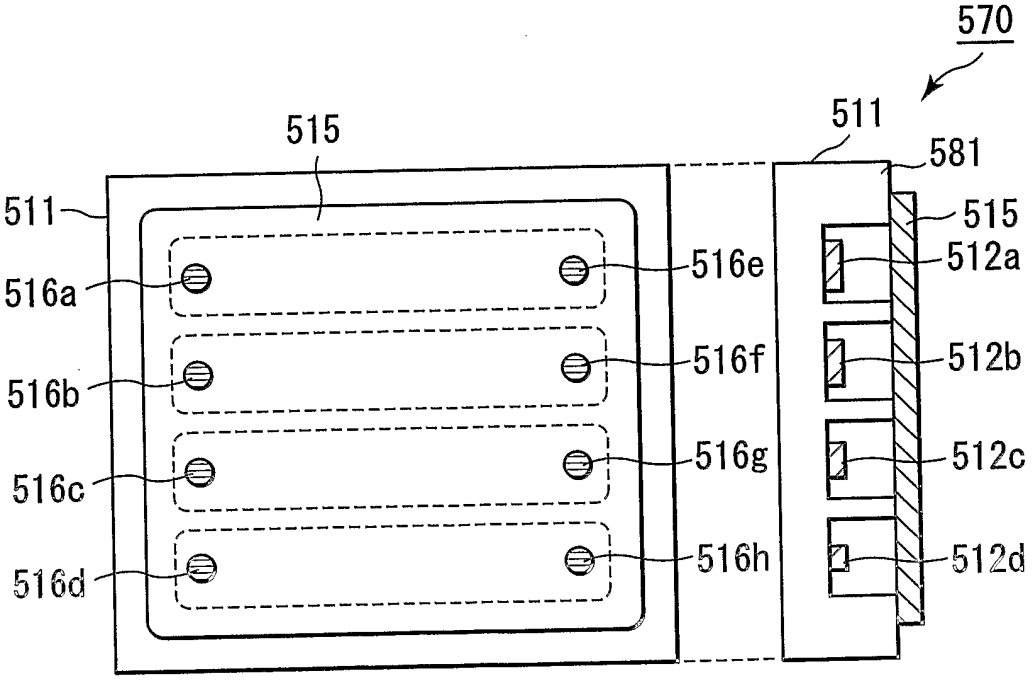


FIG. 58A FIG. 58B

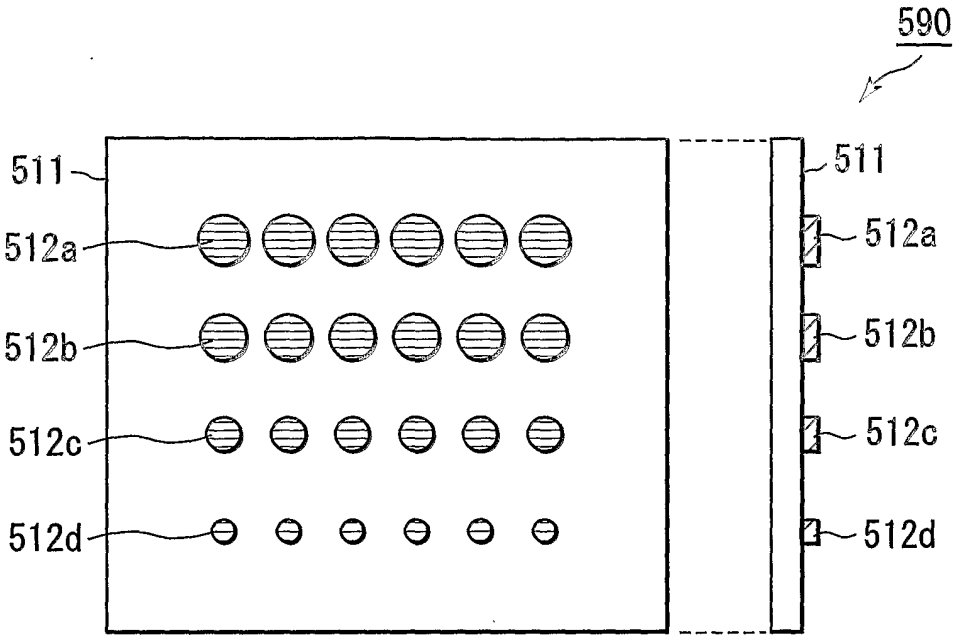


FIG. 59A FIG. 59B

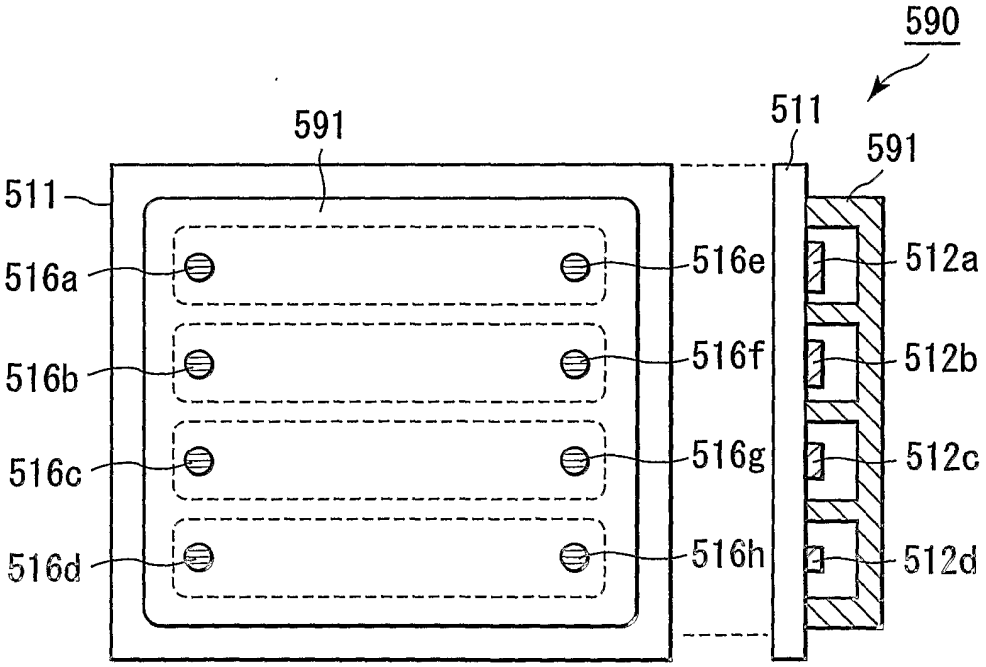


FIG. 60A FIG. 60B

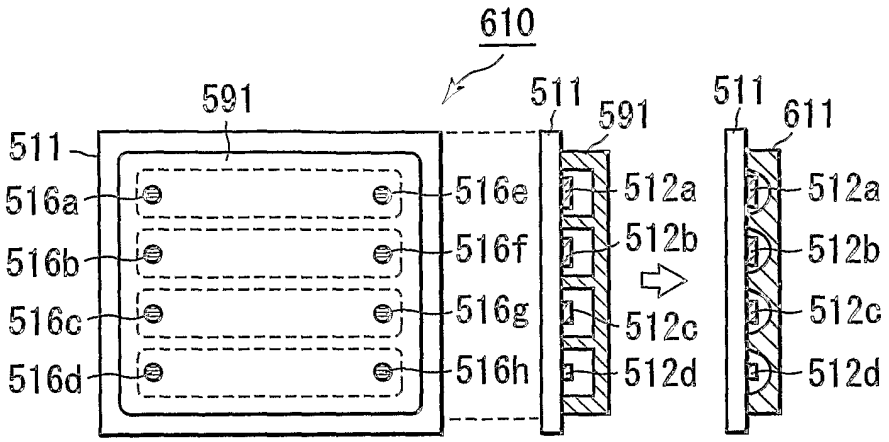


FIG. 61A FIG. 61B FIG. 61C

FIG. 62B

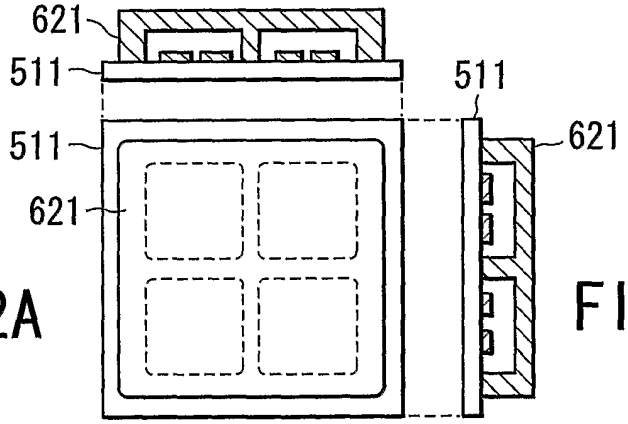


FIG. 62A FIG. 62C

FIG. 63B

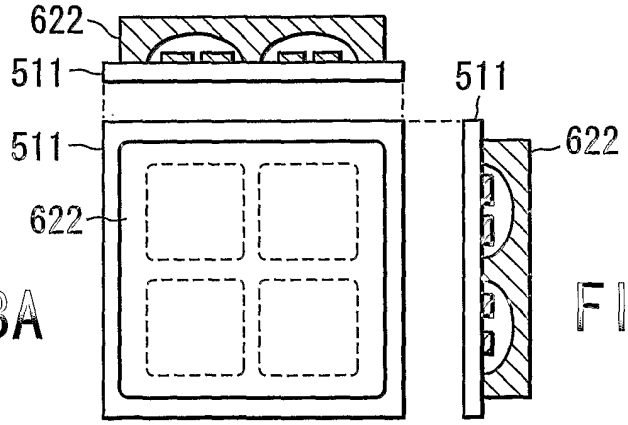


FIG. 63A FIG. 63C

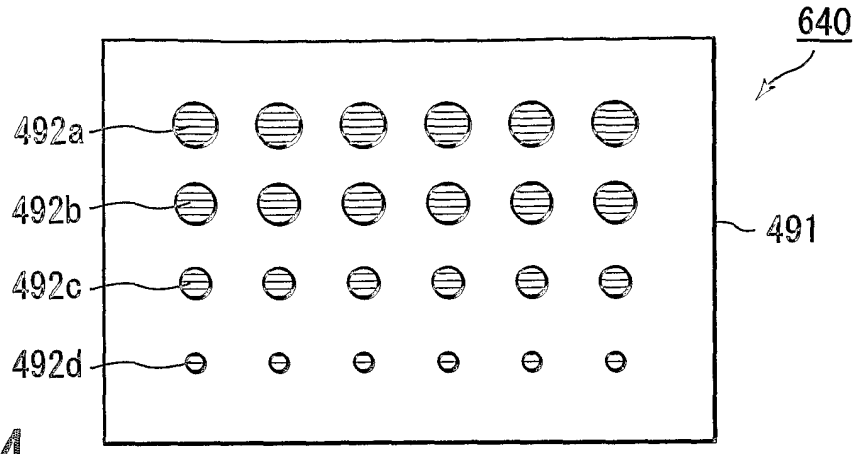


FIG. 64

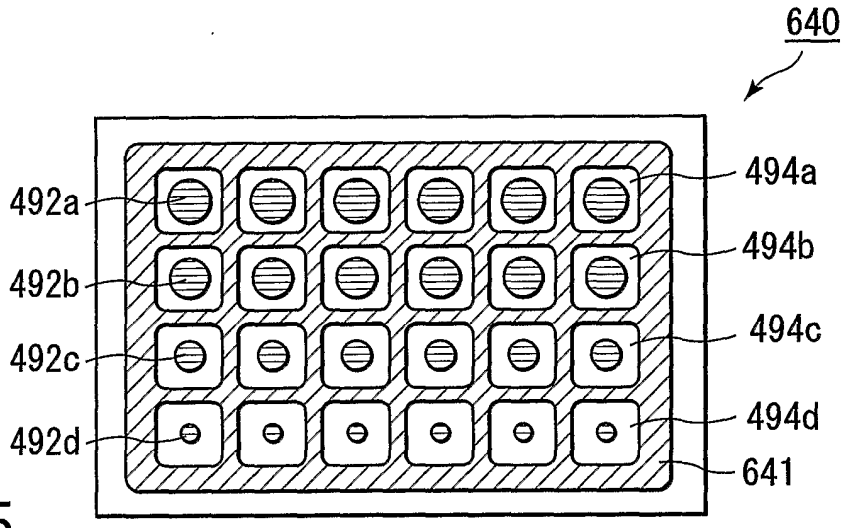


FIG. 65

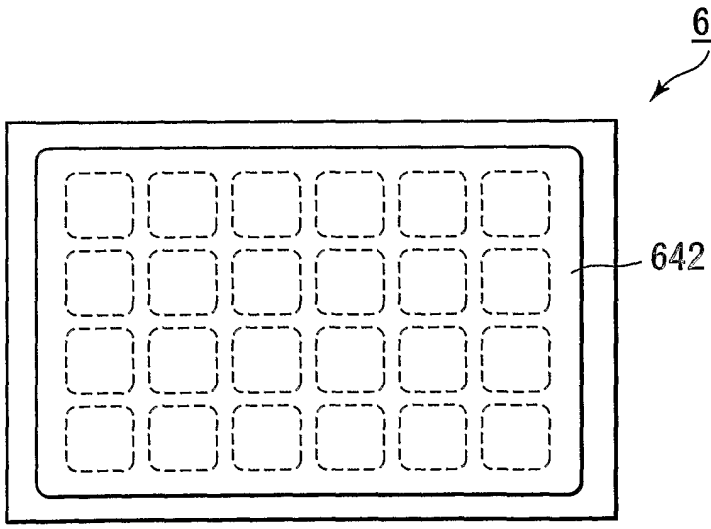


FIG. 66

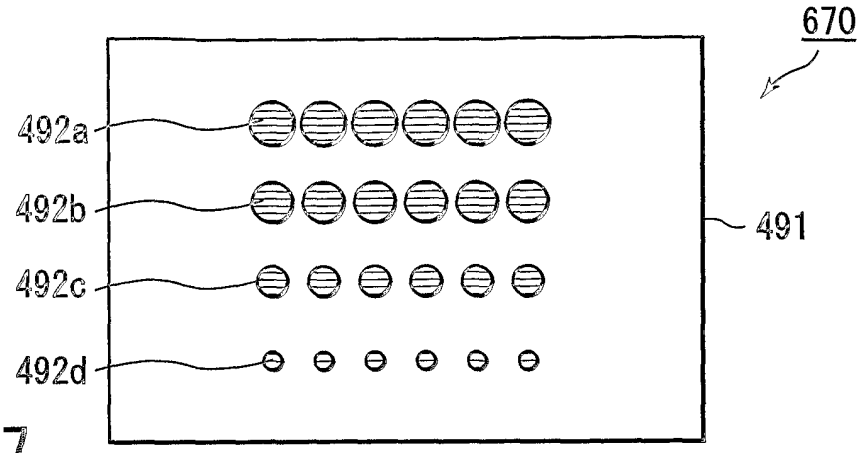


FIG. 67

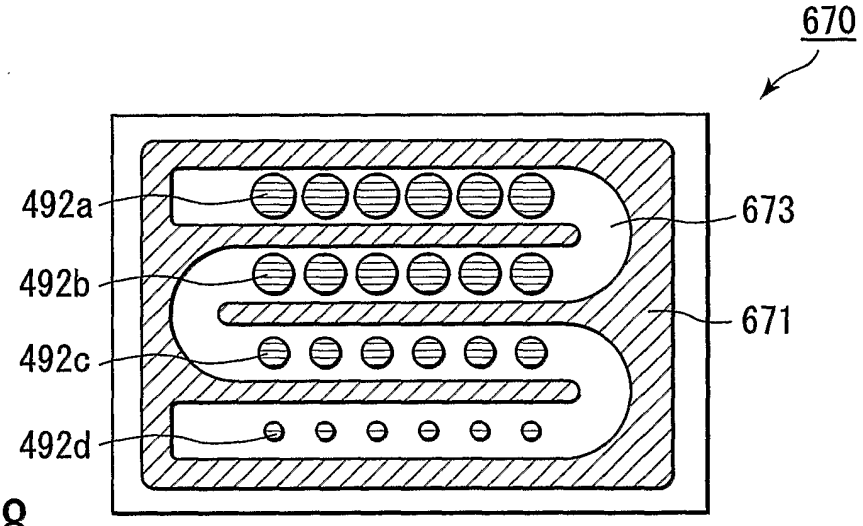


FIG. 68

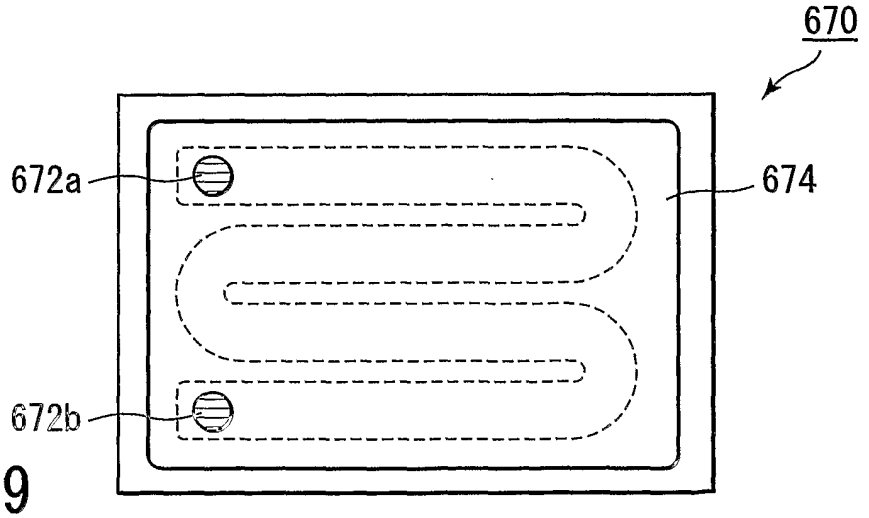


FIG. 69

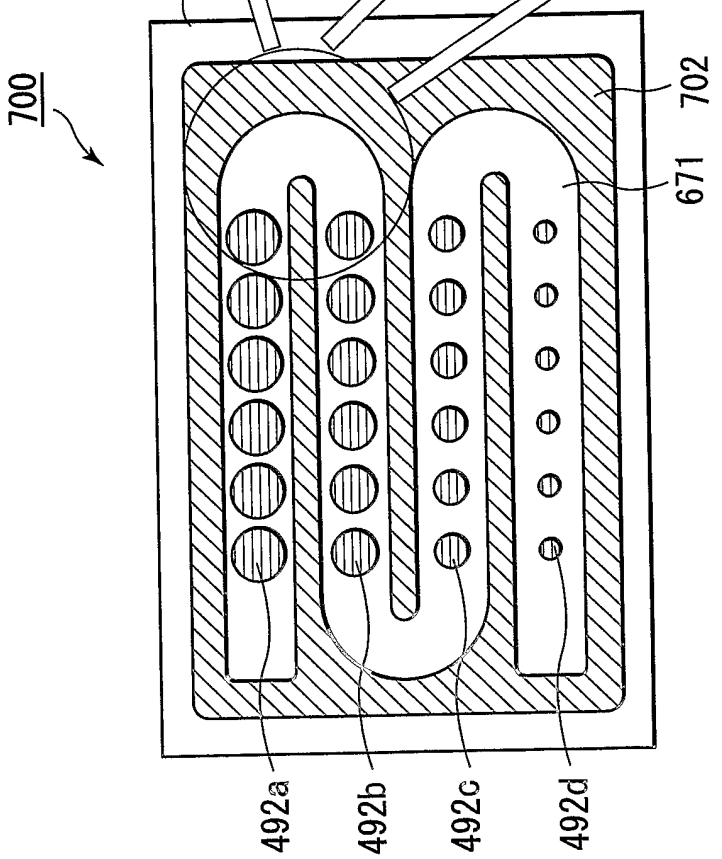


FIG. 70A

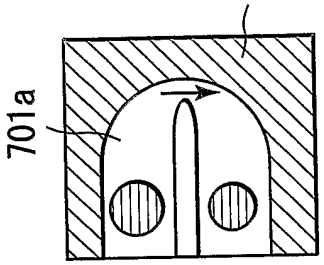


FIG. 70B

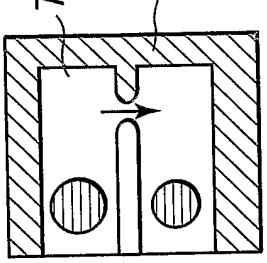


FIG. 70C

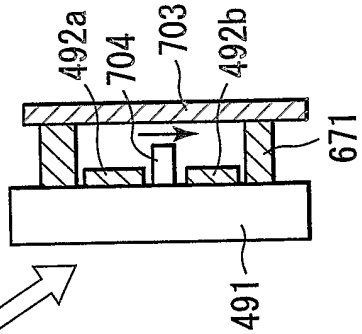


FIG. 70D

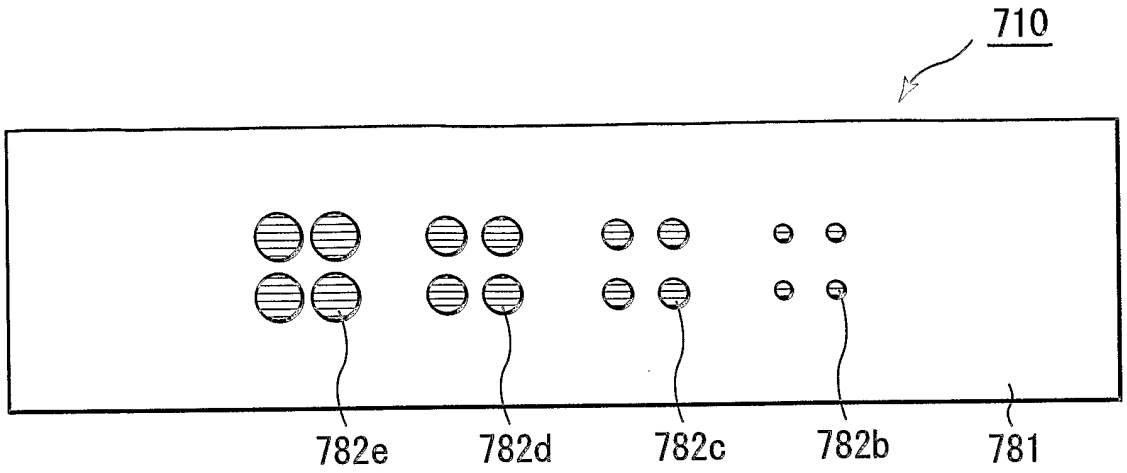


FIG. 71

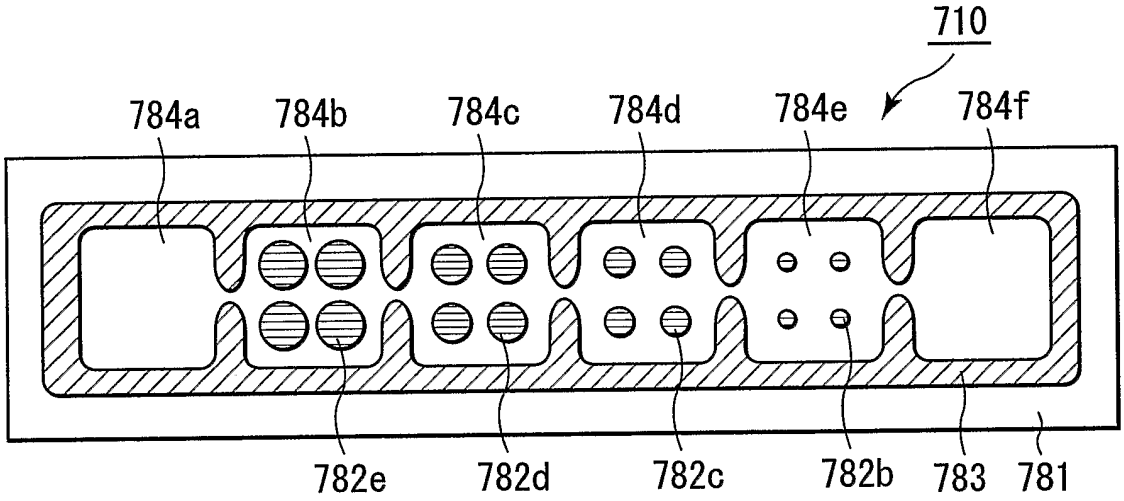


FIG. 72

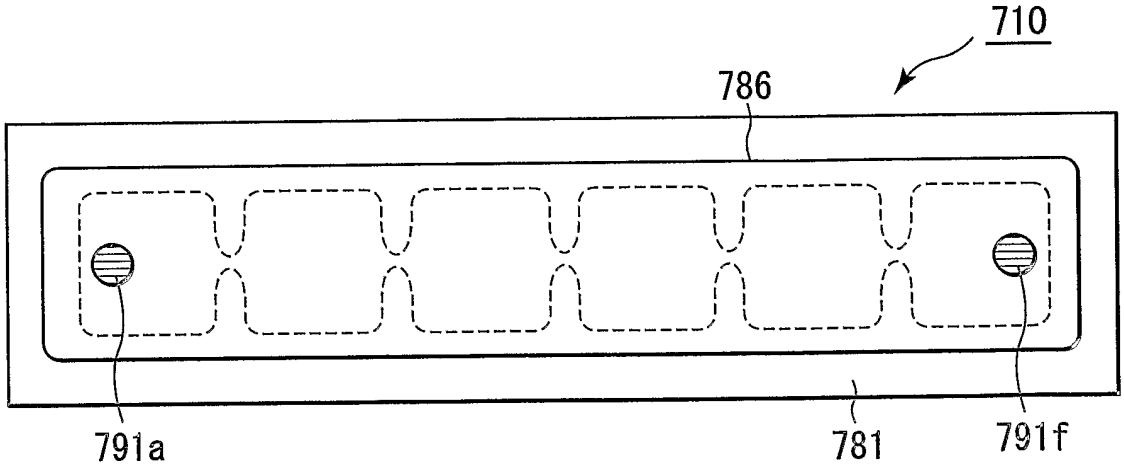


FIG. 73

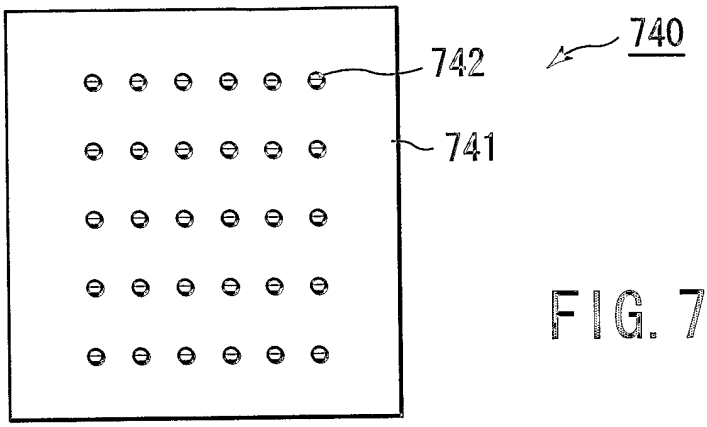


FIG. 74

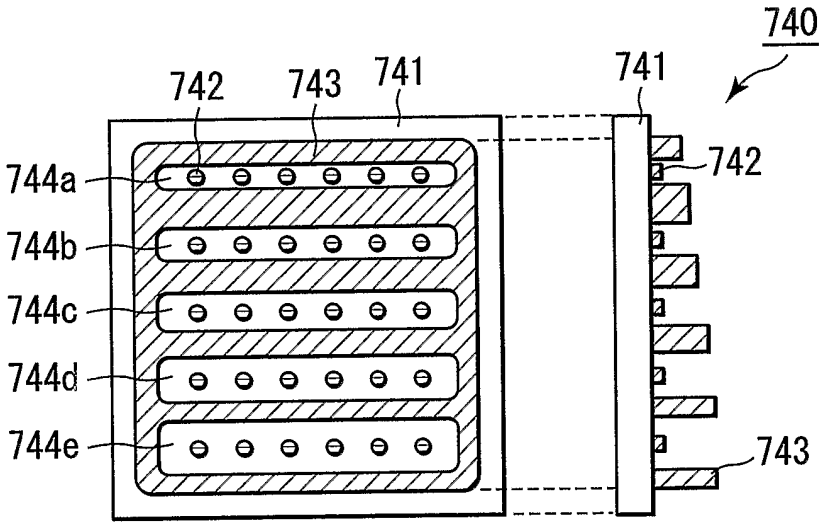


FIG. 75A FIG. 75B

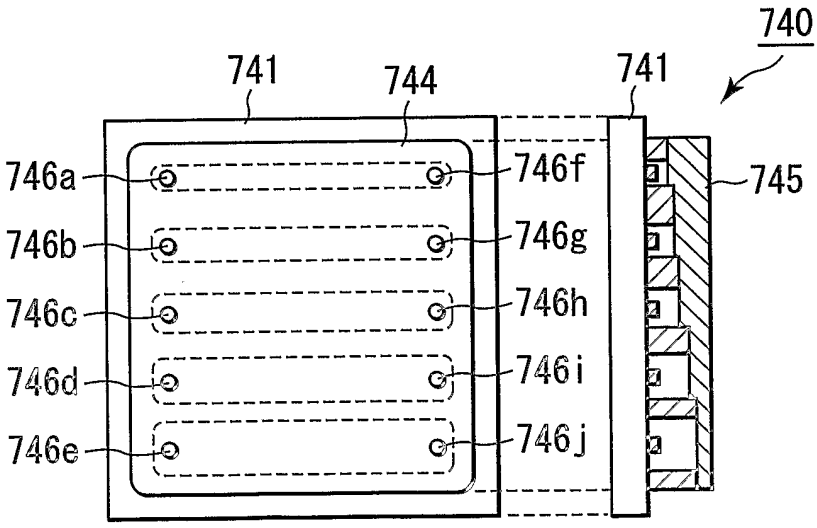


FIG. 76A FIG. 76B

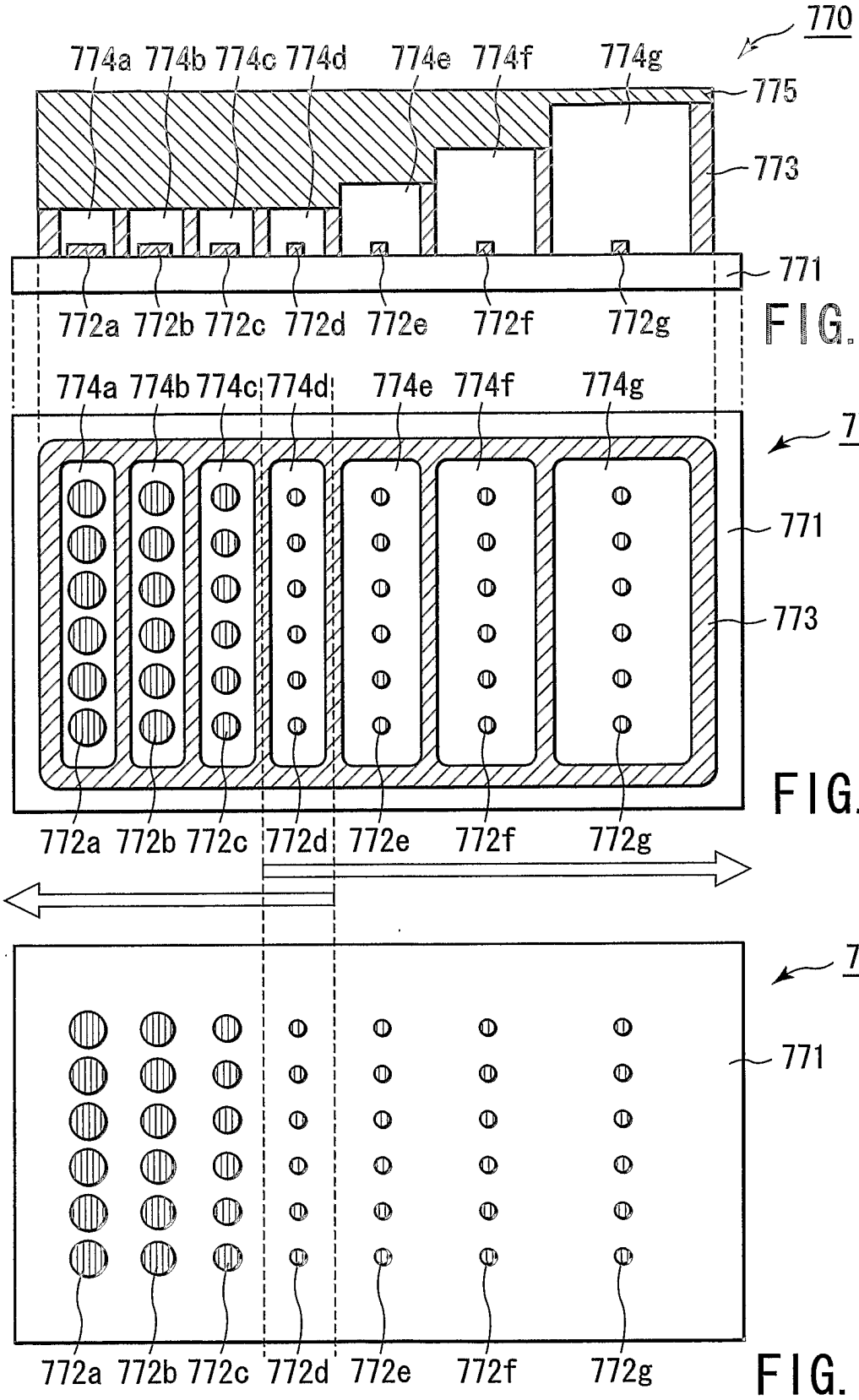


FIG. 77C

FIG. 77B

FIG. 77A

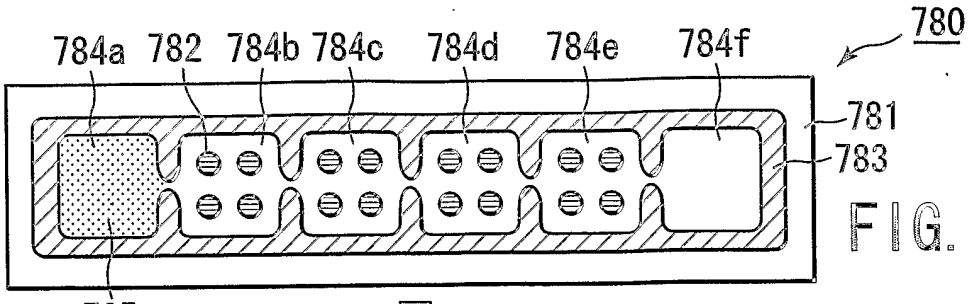


FIG. 78A

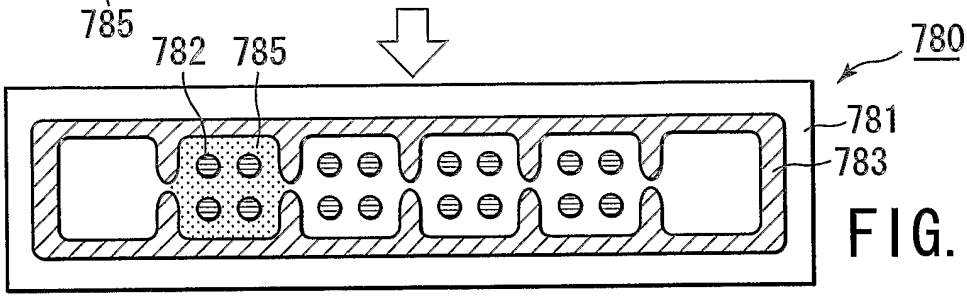


FIG. 78B

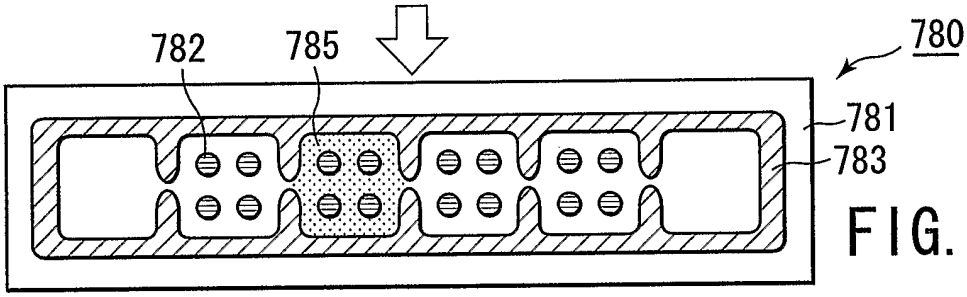


FIG. 78C

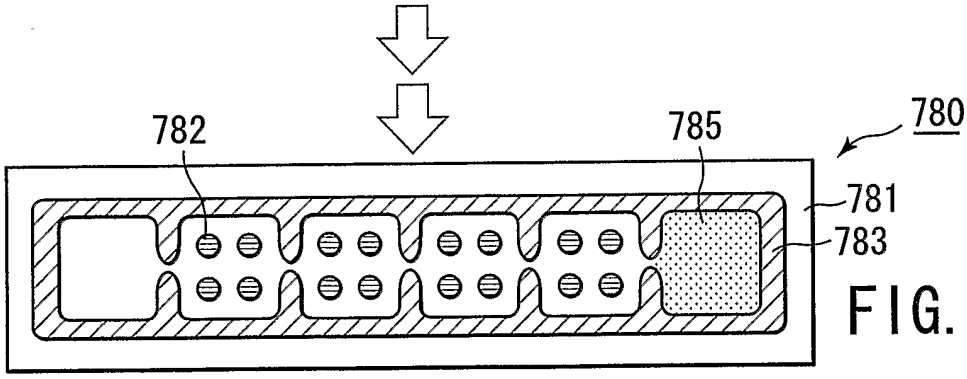


FIG. 78D

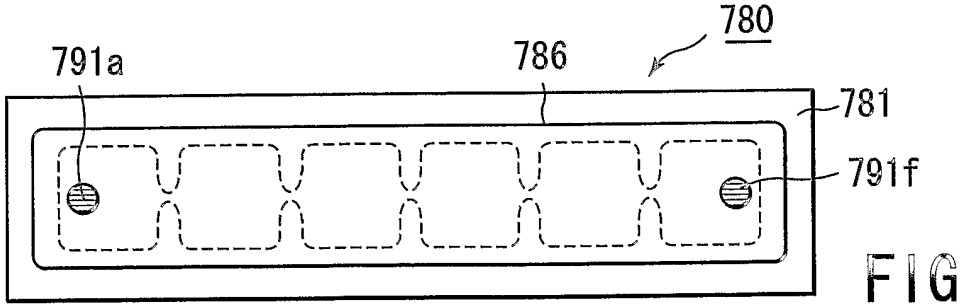


FIG. 79

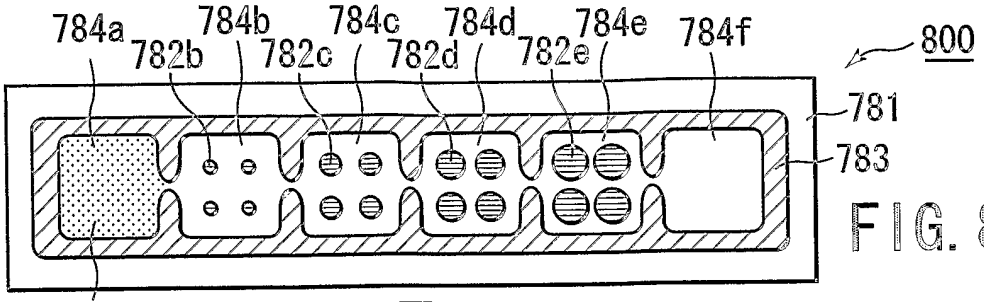


FIG. 80A

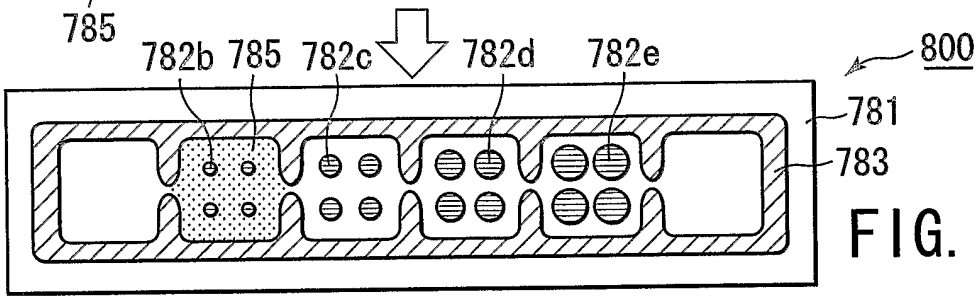


FIG. 80B

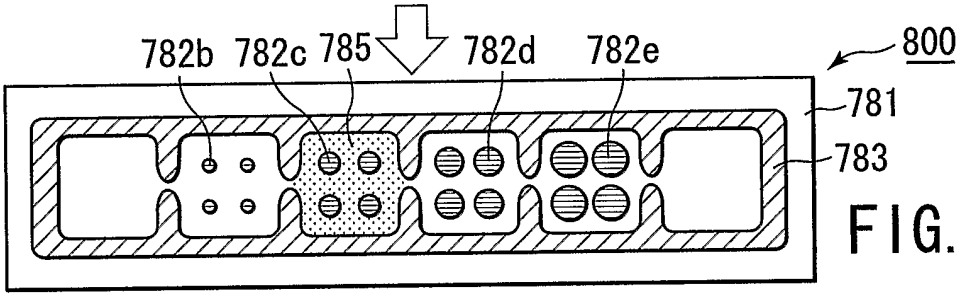


FIG. 80C

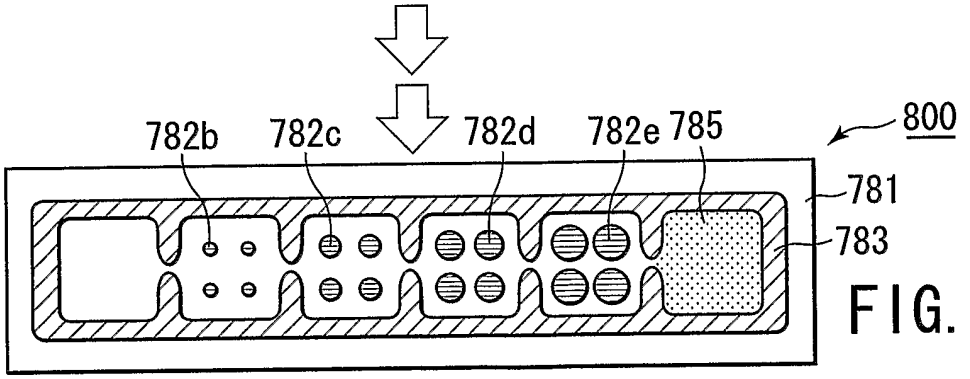


FIG. 80D

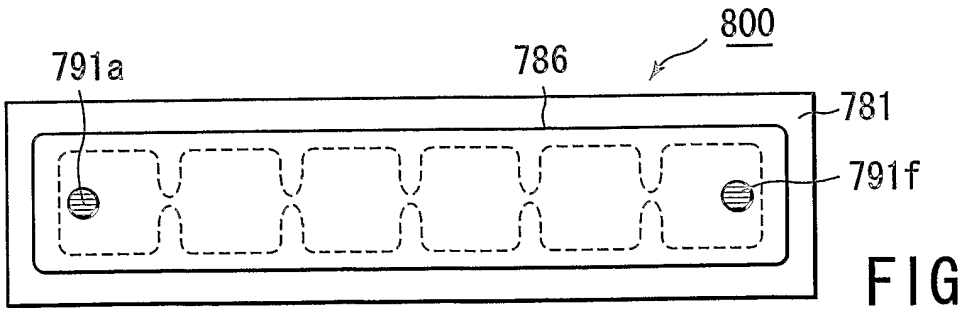


FIG. 81

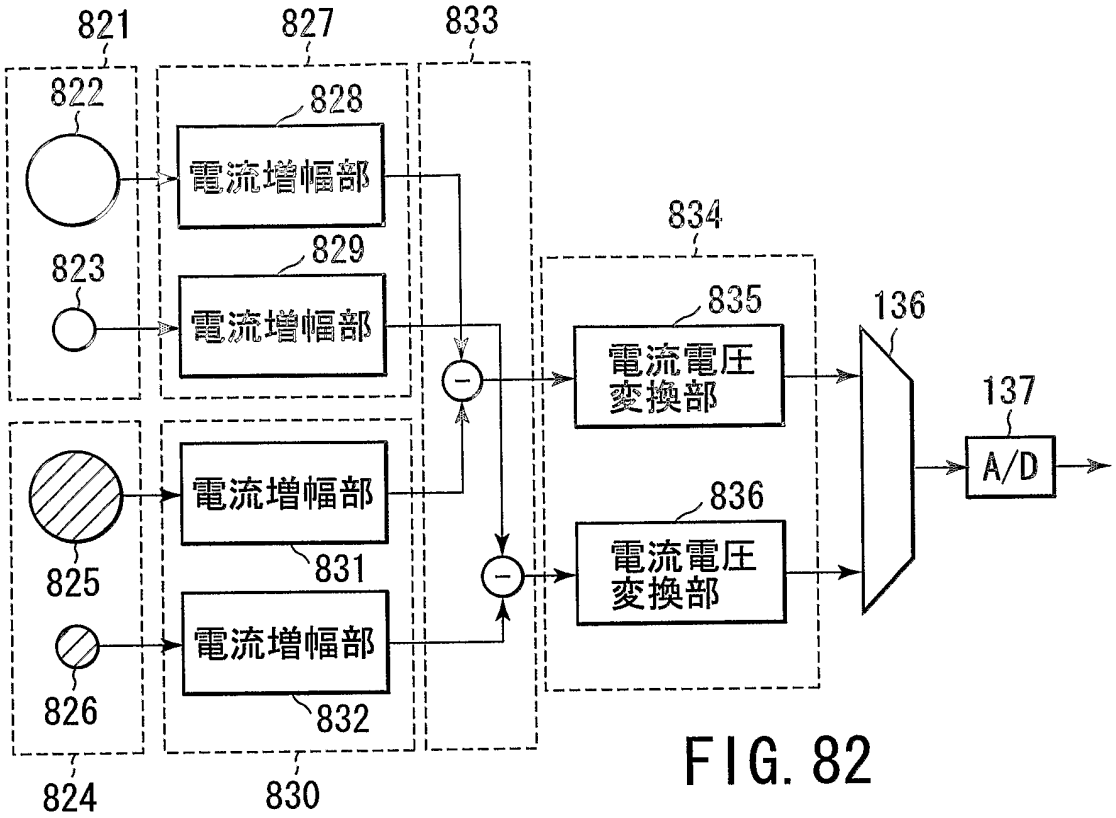

821
827
833
822
828
電流増幅部
823
829
電流増幅部
834
835
電流電圧
変換部
136
137
A/D
電流増幅部
831
825
836
電流電圧
変換部
826
電流増幅部
832
824
830

FIG. 82

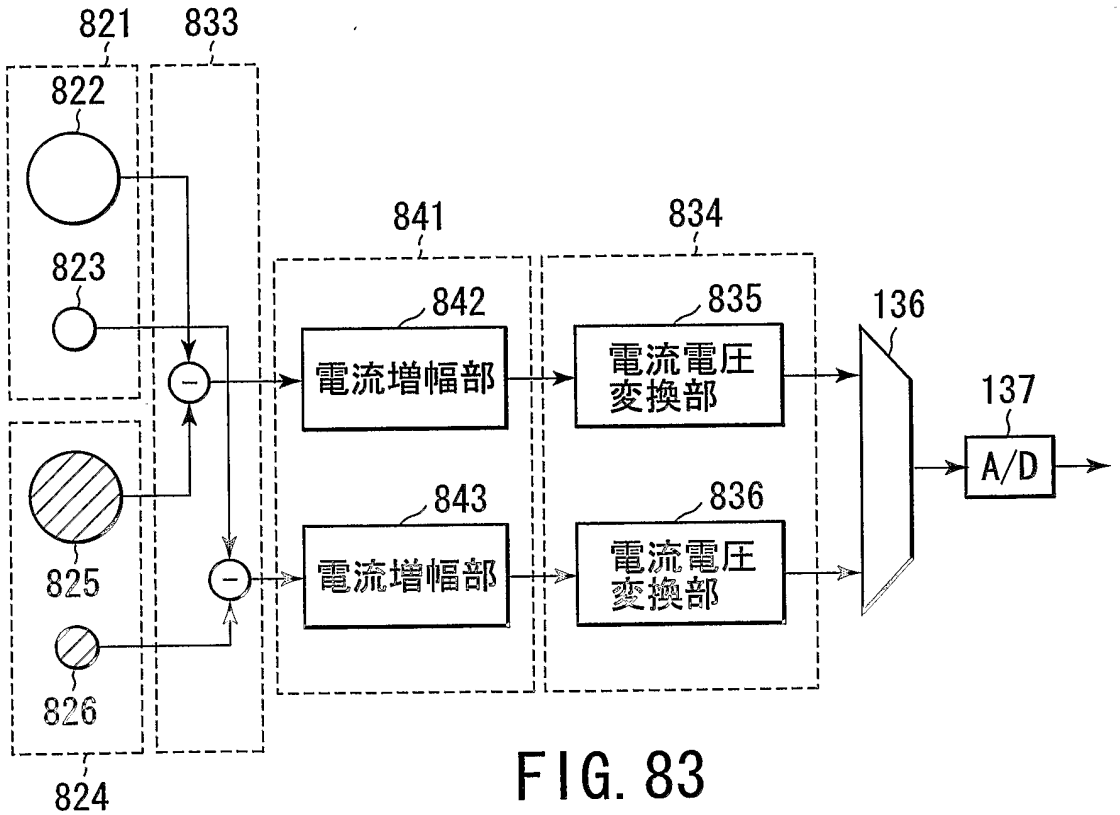

821
833
822
841
834
823
842
835
136
電流増幅部
電流電圧
変換部
137
A/D
843
836
825
電流増幅部
電流電圧
変換部
826
824

FIG. 83

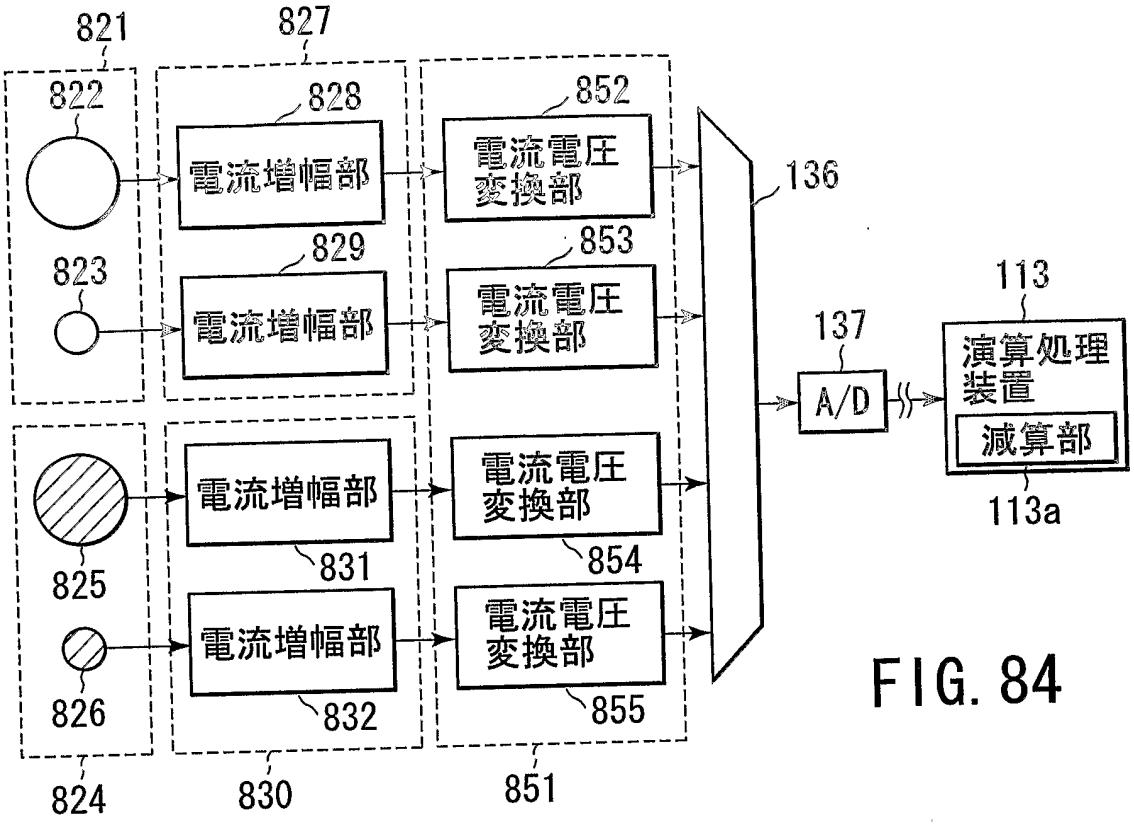

821
827
822
828
電流増幅部
852
電流電圧変換部
136
823
829
電流増幅部
853
電流電圧変換部
113
137
A/D
演算処理装置
減算部
113a
825
電流増幅部
831
854
電流電圧変換部
826
電流増幅部
832
855
電流電圧変換部
824
830
851

FIG. 84

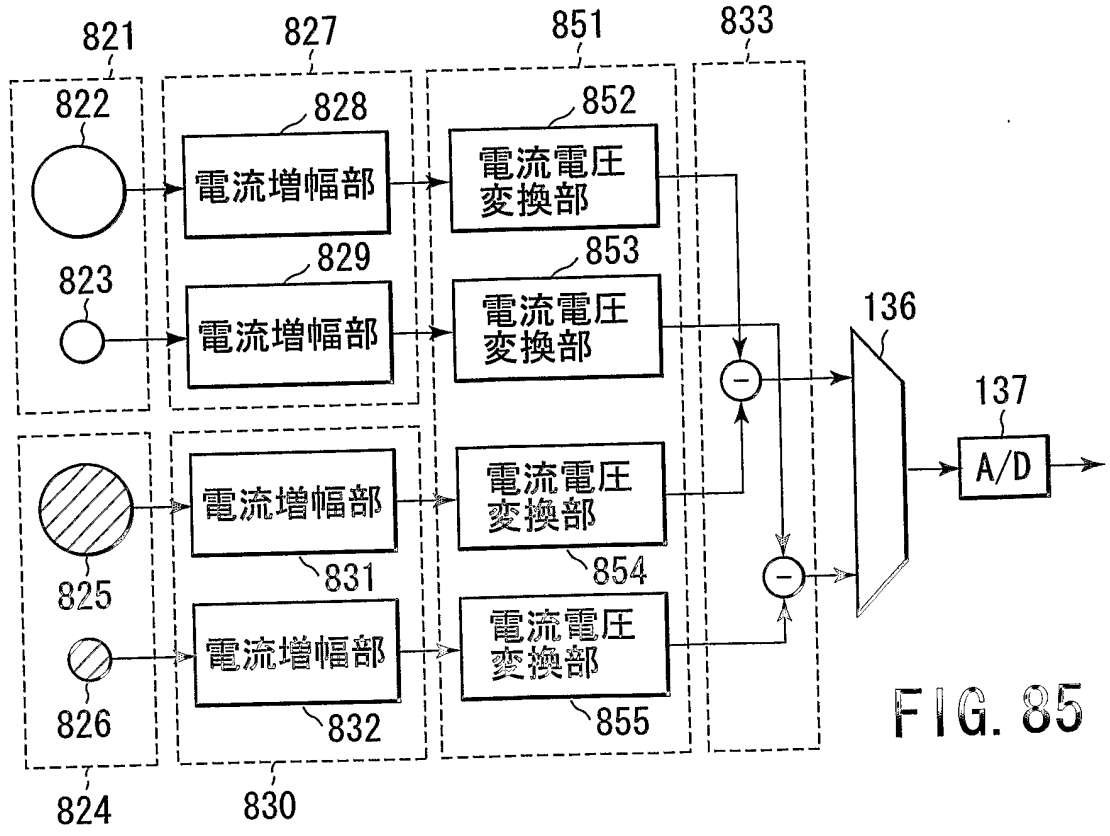

821
827
851
833
822
828
852
電流増幅部
電流電圧変換部
823
829
853
電流増幅部
電流電圧変換部
136
137
A/D
825
電流増幅部
831
854
電流電圧変換部
826
電流増幅部
832
855
電流電圧変換部
824
830

FIG. 85

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2004/002205

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl[7] G01N27/416, G01N27/327, G01N33/53, G01N37/00, C21M1/00, C12M1/34, C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl[7] G01N27/00-27/49, C12N15/00, C12M1/00-3/10, C12Q1/00-3/00, G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2004 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JICST FILE (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 10-146183 A (Toshiba Corp.), 02 June, 1998 (02.06.98), Full text; Figs. 1 to 16 (Family: none)	1-22
A	JP 2002-510791 A (California Institute of Technology), 09 April, 2002 (09.04.02), Full text; Figs. 1 to 9 & AU 9935506 A & EP 1068359 A1 & WO 99/51778 A1	1-22
A	JP 2002-195997 A (Toshiba Corp.), 10 July, 2002 (10.07.02), Full text; Figs. 1 to 21 & EP 1211507 A2 & US 2002/39743 A1	1-22

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
24 May, 2004 (24.05.04)	08 June, 2004 (08.06.04)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2004/002205

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2002-257730 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 11 September, 2002 (11.09.02), Full text; Figs. 1 to 12 & EP 1347285 A & WO 2002/57756 A1	1-22
P,A	JP 2003-274945 A (Toshiba Corp.), 30 September, 2003 (30.09.03), Full text; Figs. 1 to 9 (Family: none)	1-22
P,A	JP 2003-250088 A (Toshiba Corp.), 05 September, 2003 (05.09.03), Full text; Figs. 1 to 11 (Family: none)	1-22

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００４／００２２０５

A.　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Ｉｎｔ．Ｃｌ[7] G01N27/416, G01N27/327, G01N33/53, G01N37/00, C12M1/00, C12M1/34, C12Q1/68

B.　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Ｉｎｔ．Ｃｌ[7] G01N27/00-27/49, C12N15/00, C12M1/00-3/10, C12Q1/00-3/00, G01N33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２００４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２００４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２００４年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

ＪＩＣＳＴファイル（ＪＯＩＳ）

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
A	JP 10-146183 A(株式会社東芝)　1998.06.02 全文、第1-16図 （ファミリーなし）	1-22
A	JP 2002-510791 A(カリフォルニア　インスティチュート　オブ　テクノロジー)　2002.04.09　全文、第1-9図 & AU 9935506 A & EP 1068359 A1 & WO 99/51778 A1	1-22

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。　☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 24.05.2004	国際調査報告の発送日 08.6.2004
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ） 郵便番号１００－８９１５ 東京都千代田区霞が関三丁目４番３号	特許庁審査官（権限のある職員） 黒田　浩一　　２Ｊ　９２１８ 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２５１

様式ＰＣＴ／ＩＳＡ／２１０（第２ページ）（２００４年１月）

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
Ａ	JP 2002-195997 A(株式会社東芝)　2002.07.10 全文、第1-21図 & EP 1211507 A2 & US 2002/39743 A1	1-22
Ａ	JP 2002-257730 A(オリンパス光学工業株式会社)　2002.09.11 全文、第1-12 & EP 1347285 A & WO 2002/57756 A1	1-22
Ｐ，Ａ	JP 2003-274945 A(株式会社東芝)　2003.09.30 全文、第1-9図 （ファミリーなし）	1-22
Ｐ，Ａ	JP 2003-250088 A(株式会社東芝)　2003.09.05 全文、第1-11図 （ファミリーなし）	1-22