

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4483279号
(P4483279)

(45) 発行日 平成22年6月16日(2010.6.16)

(24) 登録日 平成22年4月2日(2010.4.2)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 33/58	(2006.01)	GO 1 N 33/58	A
C 1 2 M 1/00	(2006.01)	C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 Q 1/68	(2006.01)	C 1 2 Q 1/68	A
GO 1 N 21/78	(2006.01)	GO 1 N 21/78	C
GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N 33/53	M

請求項の数 8 (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-408088 (P2003-408088)
 (22) 出願日 平成15年12月5日(2003.12.5)
 (65) 公開番号 特開2005-172429 (P2005-172429A)
 (43) 公開日 平成17年6月30日(2005.6.30)
 審査請求日 平成18年12月5日(2006.12.5)

(73) 特許権者 000002185
 ソニー株式会社
 東京都港区港南1丁目7番1号
 (74) 代理人 100067736
 弁理士 小池 晃
 (74) 代理人 100086335
 弁理士 田村 榮一
 (74) 代理人 100096677
 弁理士 伊賀 誠司
 (72) 発明者 中尾 勇
 東京都品川区北品川6丁目7番35号 ソ
 ニー株式会社内

審査官 山村 祥子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体物質蛍光標識剤及び生体物質蛍光標識方法、並びにバイオアッセイ方法及び装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

シリコンウエハー上に成膜した SiO_x を不活性化ガス雰囲気中でアニールした後、該シリコンウエハーをフッ酸水溶液で処理することにより生成された、励起子ボーア半径の4倍以下の結晶径のシリコン結晶からなるコアと、該コアを被覆する酸化シリコンからなるシェル層とで構成され、該シェル層を構成する酸化シリコンはシラン化されてメルカプト基が導入されている量子ドットの粒子表面に、生体物質に結合する有機分子が結合している生体物質蛍光標識剤。

【請求項2】

上記生体物質は、生体から採取されたヌクレオチド鎖又はタンパク質である請求項1記載の生体物質蛍光標識剤。

【請求項3】

シリコンウエハー上に成膜した SiO_x を不活性化ガス雰囲気中でアニールした後、該シリコンウエハーをフッ酸水溶液で処理することにより生成された、励起子ボーア半径の4倍以下の結晶径のシリコン結晶からなるコアと、該コアを被覆する酸化シリコンからなるシェル層とで構成され、該シェル層を構成する酸化シリコンはシラン化されてメルカプト基が導入されている量子ドットを、有機分子を介して生体物質に結合させる生体物質蛍光標識方法。

【請求項4】

上記生体物質は、生体から採取されたヌクレオチド鎖又はタンパク質である請求項3記

載の生体物質蛍光標識方法。

【請求項 5】

表面に複数の反応領域が形成され、既知の複数の検出物質が所定の各反応領域内に固定化されたバイオアッセイ基板に対して、シリコンウエハー上に成膜した SiO_x を不活性化ガス雰囲気中でアニールした後、該シリコンウエハーをフッ酸水溶液で処理することにより生成された、励起子ポア半径の 4 倍以下の結晶径のシリコン結晶からなるコアと、該コアを被覆する酸化シリコンからなるシェル層とで構成され、該シェル層を構成する酸化シリコンはシラン化されてメルカプト基が導入されている量子ドットで標識された標的物質を滴下して相互反応させる反応工程と、

上記反応工程における相互反応後に、未反応の標的物質を上記バイオアッセイ基板の各反応領域から除去する除去工程と、

上記バイオアッセイ基板に対して所定の波長の励起光を照射し、当該励起光に応じて上記量子ドットから発生される所定の波長の蛍光の有無を検出することにより、上記標的物質の生化学分析を行う分析工程と

を有するバイオアッセイ方法。

【請求項 6】

上記検出物質及び上記標的物質は、ヌクレオチド鎖であり、上記相互反応は、ハイブリダイゼーション反応である請求項 5 記載のバイオアッセイ方法。

【請求項 7】

表面に複数の反応領域が形成され、既知の複数の検出物質が所定の各反応領域内に固定化されたバイオアッセイ基板を保持する保持手段と、

上記バイオアッセイ基板に対して、シリコンウエハー上に成膜した SiO_x を不活性化ガス雰囲気中でアニールした後、該シリコンウエハーをフッ酸水溶液で処理することにより生成された、励起子ポア半径の 4 倍以下の結晶径のシリコン結晶からなるコアと、該コアを被覆する酸化シリコンからなるシェル層とで構成され、該シェル層を構成する酸化シリコンはシラン化されてメルカプト基が導入されている量子ドットで標識された標的物質を滴下する滴下手段と、

上記検出物質と上記滴下手段で滴下した標的物質とを相互反応させた後、未反応の標的物質を上記バイオアッセイ基板の各反応領域から除去する除去手段と、

上記バイオアッセイ基板に対して所定の波長の励起光を照射し、当該励起光に応じて上記量子ドットから発生される所定の波長の蛍光の有無を検出することにより、上記標的物質の生化学分析を行う分析手段と

を備えるバイオアッセイ装置。

【請求項 8】

上記検出物質及び上記標的物質は、ヌクレオチド鎖であり、上記相互反応は、ハイブリダイゼーション反応である請求項 7 記載のバイオアッセイ装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、例えば DNA チップ等のバイオインフォマティクス（生命情報科学）分野において有用な生体物質蛍光標識剤及び生体物質蛍光標識方法、並びにその生体物質蛍光標識剤を用いたバイオアッセイ方法及びその装置に関する。

【背景技術】

【0002】

現在、マイクロアレイ技術によって所定の DNA が微細配列された、いわゆる DNA チップ又は DNA マイクロアレイ（以下、DNA チップと総称する。）と呼ばれるバイオアッセイ用の集積基板が、遺伝子の突然変異、SNPs（一塩基多型）分析、遺伝子発現頻度解析等に利用されており、創薬、臨床診断、薬理ジェノミクス、法医学その他の分野において広範に活用され始めている。

【0003】

10

20

30

40

50

このDNAチップは、ガラス基板やシリコン基板上に多種多数のDNAオリゴヌクレオチド鎖や、cDNA (complementary DNA) 等が集積されていることから、ハイブリダイゼーション等の分子間相互反応の網羅的解析が可能となる。

【0004】

DNAチップを用いたDNA解析手法は、例えばDNAチップ上に固相化(固定化)されたプローブDNAに対して、細胞、組織等から抽出したmRNA (messenger RNA) を逆転写PCR (Polymerase Chain Reaction) 反応等によって蛍光プローブdNTPを組み込みながらPCR増幅して生成したサンプルDNAを滴下し、DNAチップ上でハイブリダイゼーション反応を行わせ、所定の光検出器で蛍光検出を行うものである。

【0005】

また、近年では、DNAチップの形状を従来のような矩形状ではなく円板状として、光ディスクの分野で培われた基板技術をDNA解析に応用することが提案されている(特許文献1参照)。

【0006】

この光ディスクの技術が応用されたDNA解析を行う場合、例えば円板状にしたDNAチップを回転させながら、ハイブリダイゼーション反応後の2本鎖DNAから発生する蛍光を光検出器で検出し、その蛍光の発光位置をアドレッシング技術で特定するといったサーボ技術を適用することが可能となり、被処理サンプル物質数の増大、並びに検出精度及び検出速度の向上を図ることができる。

【0007】

【特許文献1】特開2001-238674号公報

【特許文献2】特表2002-525394号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

ところで、これまでのDNA解析には、一般に、蛍光標識剤として有機蛍光色素が用いられていた。

【0009】

しかしながら、蛍光検出のために有機蛍光色素を用いる場合、一定以上の光強度で電子のLUMOからHOMOへの遷移が過飽和状態となってしまう、一定強度以上の蛍光を得ることができなかった。また、有機蛍光色素は、光励起により活性状態となると、周囲の水等と反応して分解してしまうため退色の効果が大きい。そのため、蛍光検出のために有機蛍光色素を用いる場合には、大きな強度の励起光で励起したり、繰り返して蛍光検出をすることができなかった。さらに、有機蛍光色素は、励起できる波長範囲が狭いため、励起光の波長が限定されてしまうという問題があった。

【0010】

一方、蛍光標識剤として、蛍光強度の大きい量子ドット(半導体ナノ結晶或いは半導体超微粒子ともいう)を利用することも提案されている(特許文献2参照)。

【0011】

しかしながら、一般にこのような量子ドットは、III-V族化合物半導体やII-VI族化合物半導体といった化合物半導体を用いており、環境に対する悪影響が大きい。また、量子ドットの結晶成長の際にも有機金属溶液等を用いるため、その取り扱いが難しく、製造が容易でないという問題があった。

【0012】

本発明は、このような従来の実情に鑑みて提案されたものであり、環境に対する影響が小さく、且つ製造が容易な生体物質蛍光標識剤及び生体物質蛍光標識方法、並びにその生体物質蛍光標識剤を用いたバイオアッセイ方法及びその装置を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0013】

10

20

30

40

50

上述した目的を達成するために提案された本発明に係る生体物質蛍光標識剤は、シリコンウエハー上に成膜したSiO_xを不活性化ガス雰囲気中でアニールした後、該シリコンウエハーをフッ酸水溶液で処理することにより生成された、励起子ボア半径の4倍以下の結晶径のシリコン結晶からなるコアと、該コアを被覆する酸化シリコンからなるシェル層とで構成され、該シェル層を構成する酸化シリコンはシラン化されてメルカプト基が導入されている量子ドットの粒子表面に、生体物質に結合する有機分子が結合したものである。

【0014】

また、上述した目的を達成するために提案された本発明に係る生体物質蛍光標識方法は、シリコンウエハー上に成膜したSiO_xを不活性化ガス雰囲気中でアニールした後、該シリコンウエハーをフッ酸水溶液で処理することにより生成された、励起子ボア半径の4倍以下の結晶径のシリコン結晶からなるコアと、該コアを被覆する酸化シリコンからなるシェル層とで構成され、該シェル層を構成する酸化シリコンはシラン化されてメルカプト基が導入されている量子ドットを、有機分子を介して生体物質に結合させるものである。

10

【0015】

ここで、上記生体物質としては、生体から採取されたヌクレオチド鎖又はタンパク質が挙げられる。

【0016】

また、上述した目的を達成するために提案された本発明に係るバイオアッセイ方法は、表面に複数の反応領域が形成され、既知の複数の検出物質が所定の各反応領域内に固定化されたバイオアッセイ基板に対して、シリコンウエハー上に成膜したSiO_xを不活性化ガス雰囲気中でアニールした後、該シリコンウエハーをフッ酸水溶液で処理することにより生成された、励起子ボア半径の4倍以下の結晶径のシリコン結晶からなるコアと、該コアを被覆する酸化シリコンからなるシェル層とで構成され、該シェル層を構成する酸化シリコンはシラン化されてメルカプト基が導入されている量子ドットで標識された標的物質を滴下して相互反応させる反応工程と、上記反応工程における相互反応後に、未反応の標的物質を上記バイオアッセイ基板の各反応領域から除去する除去工程と、上記バイオアッセイ基板に対して所定の波長の励起光を照射し、当該励起光に応じて上記量子ドットから発生される所定の波長の蛍光の有無を検出することにより、上記標的物質の生化学分析を行う分析工程とを有する。

20

30

【0017】

また、上述した目的を達成するために提案された本発明に係るバイオアッセイ装置は、表面に複数の反応領域が形成され、既知の複数の検出物質が所定の各反応領域内に固定化されたバイオアッセイ基板を保持する保持手段と、上記バイオアッセイ基板に対して、シリコンウエハー上に成膜したSiO_xを不活性化ガス雰囲気中でアニールした後、該シリコンウエハーをフッ酸水溶液で処理することにより生成された、励起子ボア半径の4倍以下の結晶径のシリコン結晶からなるコアと、該コアを被覆する酸化シリコンからなるシェル層とで構成され、該シェル層を構成する酸化シリコンはシラン化されてメルカプト基が導入されている量子ドットで標識された標的物質を滴下する滴下手段と、上記検出物質と上記滴下手段で滴下した標的物質とを相互反応させた後、未反応の標的物質を上記バイオアッセイ基板の各反応領域から除去する除去手段と、上記バイオアッセイ基板に対して所定の波長の励起光を照射し、当該励起光に応じて上記量子ドットから発生される所定の波長の蛍光の有無を検出することにより、上記標的物質の生化学分析を行う分析手段とを備える。

40

【0018】

ここで、このバイオアッセイ方法及びその装置は、上記標的物質を上記バイオアッセイ基板に滴下して上記検出物質と相互反応させた後に、未反応の標的物質を上記バイオアッセイ基板の各反応領域から除去する除去工程（手段）を有する。

【0019】

50

上記検出物質及び上記標的物質としてはヌクレオチド鎖を用いることができ、この場合、上記相互反応はハイブリダイゼーション反応である。

【発明の効果】

【0020】

本発明に係る生体物質蛍光標識剤を構成する量子ドットは、シリコンと酸化シリコンとから構成されるため、環境への影響が少なく扱いが容易であり、特にシリコン結晶からなるコアの周囲に酸化シリコンからなるシェル層が形成されたコアシェル構造となされているため、コアをなすシリコン結晶の量子効果が安定化する。また、本発明に係る生体物質蛍光標識方法では、有機分子を介してこの量子ドットを生体物質に結合させるものであるため、生体物質の蛍光標識が容易であり、且つ励起光を照射した際の蛍光強度が大きくなる。

10

【0021】

また、バイオアッセイ方法及びその装置は、上述の量子ドットを用いて標的物質を標識しているため蛍光強度が大きく、さらに有機色素を用いた場合と比較して光損傷が小さく退色が少ないため、分析の精度を向上させることができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

以下、本発明を適用した具体的な実施の形態について、図面を参照しながら詳細に説明する。この実施の形態は、本発明を、生体物質であるDNAの蛍光標識に用いる生体物質蛍光標識剤を構成するSi（シリコン）量子ドット及びそのSi量子ドットを用いたDNAの標識方法に適用したものである。本実施の形態において、Si量子ドットは、DNA解析用のバイオアッセイ基板に固相化された多種多数のプローブDNA（検出物質）と滴下したサンプルDNA（標的物質）とのハイブリダイゼーション反応の有無を蛍光により検出してサンプルDNAを解析する際に用いられる。

20

【0023】

ここで、本実施の形態における「DNAの蛍光標識」とは、Si量子ドットをサンプルDNAに直接結合させて蛍光標識する場合のみならず、Si量子ドットをインターカレータに結合させ、このインターカレータがハイブリダイゼーション反応を行った2本鎖DNAに挿入結合することで、間接的にDNAを蛍光標識する場合をも含む。

【0024】

以下では、まず、このSi量子ドット及びその製造方法、並びにそのSi量子ドットを用いたDNAの標識方法について説明し、次いで、サンプルDNA溶液が滴下されるDNA解析用のバイオアッセイ基板、及びこのバイオアッセイ基板を用いてDNA解析を行うバイオアッセイ装置について説明する。なお、本明細書において「バイオアッセイ」とは、ハイブリダイゼーションその他の物質間の相互作用に基づく生化学分析を意味する。

30

【0025】

（Si量子ドット）

まず、生体物質であるDNAの蛍光標識に用いるSi量子ドット及びその製造方法について説明する。

【0026】

量子ドットとは、半導体原子が数百個から数千個集まった十数nm程度の小さな塊である。量子ドットは、バルクサイズの連続的なバンド構造ではなく、離散的、不連続なエネルギー準位を取るため、電子のエネルギーが3次元量子井戸に強く閉じこめられる。そのため、電子を閉じこめている障壁となっている量子ドットのサイズが小さくなればなるほど、伝導体（LUMO）のエネルギーが上がり、価電子帯（HOMO）のエネルギーが下がり、価電子帯と伝導体との間のバンドギャップエネルギーが増大する。つまり、価電子体から伝導体へ電子を励起するエネルギーが増大する。量子ドットには、このようなサイズに応じてバンドギャップエネルギーが変化するという効果（量子サイズ効果）がある。

40

【0027】

さらに、蛍光体は、光等を吸収するとバンド内に電子-ホール対（励起子）を発生する

50

が、蛍光体のサイズがバルクサイズである場合、そのバンド構造が連続的となり、生成された電子とホールとが別々に運動をするため、励起子の発生は不安定である。一方、蛍光体のサイズが量子ドットサイズの場合、非常に狭い空間に電子とホールとが発生するため、電子とホールとの波動関数の重なりが大きくなり、励起子の発生が安定化している。したがって、量子ドットの場合、電子-ホール対の遷移確率すなわち振動子強度がバルクサイズの直接バンド間遷移型半導体よりも非常に大きくなる。つまり、量子ドットの場合には、励起光強度に対する蛍光強度が非常に大きくなる。量子ドットには、このような電子-ホール対の遷移確率が高くなり、蛍光強度が大きくなるという効果（閉じこめ効果）がある。このような閉じこめ効果が現れるのは、励起子ボーア半径の4倍以下の結晶径であるといわれている。

10

【0028】

量子ドットには、以上のような閉じこめ効果があるため、量子ドットを蛍光標識剤として用いると、励起光の強度を大きくしても蛍光強度が飽和せず、高い蛍光強度を得ることができる。したがって、蛍光標識剤として量子ドットを用いた場合、照射する励起光を対物レンズにより集光して照射することが可能となる。このため、より強度の小さい励起光を用いて強い蛍光を検出することができる。

【0029】

本実施の形態では、III-V族化合物半導体やII-VI族化合物半導体といった化合物半導体と比較して環境への影響が少なく、扱いが容易なSiを量子ドットに用いている。このSiは、間接バンド間遷移型半導体であるが、励起子ボーア半径程度のSi結晶を製造すると、量子サイズ効果によるバンドギャップエネルギーの増大と、フォノンのモードの変化とにより、可視域で発光を示すようになる。このSiからなるSi量子ドットは、p型シリコンウエハーの陽極化成、 SiH_4 のプラズマ中分解、或いは熱処理 SiO_x ($x \sim 1.99$)のフッ酸中溶解等の公知の技術を用いて製造することができる。

20

【0030】

ここで、量子ドットを内核（コア）と外殻（シェル）とからなるいわゆるコアシェル構造とし、シェル層の物質としてコアの物質よりもバンドギャップエネルギーの大きいものを選択することで、コアをなす半導体結晶の量子効果が安定化することが知られている。

【0031】

そこで、本実施の形態におけるSi量子ドットは、Si結晶からなるコアの周囲に SiO_2 からなるシェル層が形成されたコアシェル構造となされている。特に、本実施の形態では、酸化され易い性質を有するSiをコアの物質として用いているため、 SiO_2 からなるシェル層の形成が容易である。

30

【0032】

このSi量子ドットは、例えば次のように製造することができる。

【0033】

熱処理 SiO_x ($x \sim 1.999$)のフッ酸中溶解によりSi量子ドットを製造する場合、まず、プラズマCVDによりシリコンウエハー上に成膜した SiO_x ($x \sim 1.999$)を不活性ガス雰囲気中で1100、1時間程度アニールを行う。これにより、 SiO_2 膜中にSi結晶が析出する。次に、このシリコンウエハーを室温で1%程度のフッ酸水溶液で処理することにより SiO_2 膜を除去し、液面に凝集した数nmサイズのSi結晶を回収する。なお、このフッ酸処理により、結晶表面のSi原子のダングリングボンド（未結合手）が水素終端され、Si結晶が安定化する。その後、回収したSi結晶の表面を酸素雰囲気中で自然酸化し、又は加熱して熱酸化し、Si結晶からなるコアの周囲に SiO_2 からなるシェル層を形成する。

40

【0034】

また、p型シリコンウエハーの陽極化成によりSi量子ドットを製造する場合、まず、フッ酸（46%）、メタノール（100%）及び過酸化水素水（30%）を1：2：2の割合で混合した溶液中で、p型シリコンウエハー及び白金を対向電極として320mA/cm²で約1時間通電し、Si結晶を析出させる。このようにして得られたSi結晶のフ

50

オトルミネッセンススペクトルを図1に示す。その後、回収したSi結晶の表面を酸素雰囲気中で自然酸化し、又は加熱して熱酸化し、Si結晶からなるコアの周囲にSiO₂からなるシェル層を形成する。

【0035】

以上のように製造されたSi量子ドットによってDNAを標識する場合、Si量子ドットとDNAとの双方に、互いに結合する官能基等を導入する。

【0036】

例えば、メルカプト基(SH基)同士の結合を利用してSi量子ドットとDNAとを結合させる場合、先ず、上述のSi量子ドットを30% H₂O₂中に10分間分散させ、結晶表面を水酸化させる。次に、溶剤をトルエンに置換し、メルカプトプロピルトリエトキシシランをトルエンの2%加えて、2時間程度かけてSi量子ドットの最表面のSiO₂をシラン化すると共にメルカプト基を導入する。続いて、溶剤を純水に置換してバッファ塩を添加し、さらに一端にメルカプト基の導入されたDNAを100nMとなるように加えて1時間放置することで、Si量子ドットとDNAとを結合させる。このSi量子ドットと1本鎖DNA(ssDNA)とが結合している状態を図2に模式的に示す。

【0037】

なお、この例では、メルカプト基が導入されたシランカップリング剤を用いたが、アミノ基やアルデヒド基が導入されたシランカップリング剤を用いることも可能である。この場合には、それぞれ一端にアルデヒド基、アミノ基が導入されたDNAと結合させることができる。

【0038】

また、ピオチンとアビジンとの結合を利用してSi量子ドットとDNAとを結合させる場合、先ず、上述のSi量子ドットを濃硫酸と過酸化水素水との3:1混合液中で10分間反応させ、結晶表面を水酸化させる。水洗後、水とエタノールの1:1混合溶液中でアミノプロピルトリエトキシシランをSi量子ドットの最表面の水酸基と反応させ、Si量子ドットにアミノ基を導入する。反応後水洗し、溶媒をアセトンに置換して1mol/lの濃度になるようにマレイン酸を加え、30~45分程度、沸点近くまで加熱・還流することで、アミノプロピルトリエトキシシランのアミノ基とマレイン酸のカルボキシル基とを結合させる。反応後水洗し、869mMのN-ヒドロキシスクシンイミド水溶液と、522mMのN-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド-ヒドロクロライド水溶液の1:1混合液に分散させ、10分程度反応させる。反応後水洗し、室温・水溶液中で2.21μMのアビジンと2時間程度反応させた後、1mMのエタノールアミンを加え、室温で10分間攪拌する。これにより、Si量子ドットにアビジンが結合される。水洗後、溶媒を純水に置換してバッファ塩を10mMとなるように添加し、さらに一端にピオチンが導入されたDNAを1μMとなるように加えて放置することで、Si量子ドットとDNAとを結合させる。このSi量子ドットと1本鎖DNA(ssDNA)とが結合している状態を図3に模式的に示す。

【0039】

なお、Si量子ドットを直接DNAに結合させて標識する例に限定されず、例えばSi量子ドットをインターカレータに結合させ、ハイブリダイゼーション反応によって形成された2本鎖DNAに挿入結合させるようにしても構わない。

【0040】

例えば、メルカプト基(SH基)同士の結合を利用してSi量子ドットとインターカレータとを結合させる場合、上述と同様にしてSi量子ドットの表面を水酸化し、最表面のSiO₂をシラン化すると共にメルカプト基を導入することで、例えば図4に示すようなメルカプト基が導入されたインターカレータと結合させることができる。この場合にも、アミノ基やアルデヒド基が導入されたシランカップリング剤を用いることで、それぞれアルデヒド基、アミノ基が導入されたインターカレータと結合させることができる。

【0041】

(バイオアッセイ基板)

10

20

30

40

50

次に、サンプルDNAを含む溶液が滴下されるバイオアッセイ基板1について説明する。図5は、バイオアッセイ基板1の上面を模式的に示したものである。

【0042】

バイオアッセイ基板1の中心には、中心孔2が形成されている。中心孔2には、当該バイオアッセイ基板1が後述するバイオアッセイ装置に装着されたときに、当該バイオアッセイ基板1を保持及び回転させるためのチャッキング機構が挿入される。

【0043】

バイオアッセイ基板1は、図6に示すように、下層側から、基板層3と、透明電極層4と、固相化層5と、ウェル形成層6とから形成された層構造となっている。なお、バイオアッセイ基板1のウェル形成層6側の表面を上面1a、基板層3側の表面を下面1bというものとする。

10

【0044】

基板層3は、詳細を後述する励起光及び制御光並びに蛍光の波長の光を透過する材料である。例えば、基板層3は、石英ガラス、シリコン、ポリカーボネート、ポリスチレンその他の円盤状に成型可能な合成樹脂、好ましくは射出成型可能な合成樹脂で形成されている。なお、安価な合成樹脂基板を用いることで、従来のガラス基板に比して低ランニングコストを実現できる。

【0045】

透明電極層4は、基板層3上に形成された層である。透明電極層4は、例えばITO(インジウム-スズ-オキサイド)やアルミニウム等の光透過性があり且つ導電性を有する材料から形成されている。透明電極層4は、基板層3上に例えばスパッタリングや電子ビーム蒸着等により250nm程度の厚さに成膜されて形成される。

20

【0046】

固相化層5は、透明電極層4上に形成された層である。固相化層5は、プローブDNAの一端を固相化させるための材料から形成されている。本例では、固相化層24は、シランにより表面修飾可能なSiO₂が、例えばスパッタリングや電子ビーム蒸着により50nm程度の厚さに成膜された層となっている。

【0047】

ウェル形成層6は、固相化層5上に形成された層である。ウェル形成層6は、プローブDNAとサンプルDNAとの間のハイブリダイゼーション反応を起こさせる複数のウェル7が形成された層である。ウェル7は、バイオアッセイ基板1の上面1aが開口したくぼみ状となっており、サンプルDNAが含まれた溶液等が滴下されたときにその溶液を保留することができる程度の深さ及び大きさとなっている。例えば、ウェル7は、開口部が100μm四方の大きさに形成され、深さが5μm程度とされて、底面9に固相化層5が露出している。このようなウェル形成層6は、例えば、固相化層5上に感光性ポリミドをスピコート等で5μm程度の厚さに塗布し、塗布した感光性ポリミドを所定のパターンでフォトリソを用いて露光及び現像することで形成される。

30

【0048】

さらに、ウェル7は、一端が官能基により修飾されたプローブDNAが底面9(固相化層5が露出した部分)に結合するように、当該底面9が官能基により表面修飾されている。例えば、ウェル7は、図7に示すように、メルカプト基(SH基)10を有するシラン分子11により、底面9(SiO₂から形成されている固相化層5)が表面修飾されている。このため、ウェル7の底面9には、例えばメルカプト基で一端が修飾されたプローブDNAを結合させることができる。このようにバイオアッセイ基板1では、ウェル7の底面9に、プローブDNAの一端を結合させることができるので、図8に示すように、底面9から垂直方向に鎖が伸びるように、プローブDNA(P)を結合させることができる。

40

【0049】

また、バイオアッセイ基板1では、図5に示すように、複数のウェル7が、主面の中心から外周方向に放射状に向かう複数の列上に、例えば400μm程度の間隔で等間隔に並んで配置されている。

50

【 0 0 5 0 】

また、バイオアッセイ基板 1 には、バイオアッセイ基板 1 の下面 1 b 側からレーザー光を照射することにより読み取り可能なアドレスピット 8 が形成されている。アドレスピット 8 は、バイオアッセイ基板 1 の平面上における各ウェル 7 の位置を特定するための情報である。アドレスピット 8 から情報を光学的に読み取ることによって、複数存在するウェル 7 のうち、現在レーザー光を照射している位置の 1 つのウェル 7 がどれであるかを特定することが可能となる。このようなアドレスピット 8 が設けてあることによって、後述する滴下装置による溶液の滴下位置の制御や、対物レンズによる蛍光検出位置の特定を行うことができる。

【 0 0 5 1 】

以上のようなバイオアッセイ基板 1 では、円板状に形成されているため、光ディスクシステムと同様の再生システムを利用することにより、レーザー光のフォーカシング位置を制御するためのフォーカシングサーボ制御、半径方向に対するレーザー光の照射位置や滴下装置による滴下位置の制御のための位置決めサーボ制御、並びに、アドレスピット 8 の情報検出処理をすることができる。つまり、アドレスピット 8 に記録してある情報内容と、そのアドレスピット 8 の近傍にあるウェル 7 とを対応させておくことにより、アドレスピット 8 の情報を読み出すことで、特定の 1 つのウェル 7 に対してのみレーザー光を照射して蛍光が発光しているウェル 7 の位置を特定したり、特定の 1 つのウェル 7 の位置と滴下装置との相対位置を制御して、その特定の 1 つのウェル 7 に対して溶液を滴下したりすることができる。

【 0 0 5 2 】

(バイオアッセイ装置)

次に、上述したバイオアッセイ基板 1 を用いて DNA 解析を行うバイオアッセイ装置 2 1 について、図 9 を参照して説明する。

【 0 0 5 3 】

バイオアッセイ装置 2 1 は、図 9 に示すように、バイオアッセイ基板 1 を保持して回転させるディスク装填部 2 2 と、ハイブリダイゼーションのための各種溶液を貯留するとともにバイオアッセイ基板 1 のウェル 7 にその溶液を滴下する滴下部 2 3 と、バイオアッセイ基板 1 のウェル 7 から励起光を検出するための励起光検出部 2 4 と、上記の各部の管理及び制御を行う制御/サーボ部 2 5 とを備えている。

【 0 0 5 4 】

ディスク装填部 2 2 は、バイオアッセイ基板 1 の中心孔 2 内に挿入して当該バイオアッセイ基板 1 を保持するチャッキング機構 3 1 と、チャッキング機構 3 1 を駆動することによりバイオアッセイ基板 1 を回転させるスピンドルモータ 3 2 とを有している。ディスク装填部 2 2 は、上面 1 a 側が上方向となるようにバイオアッセイ基板 1 を水平に保持した状態で、当該バイオアッセイ基板 1 を回転駆動する。

【 0 0 5 5 】

滴下部 2 3 は、試料溶液 S を貯留する貯留部 3 3 と、貯留部 3 3 内の試料溶液 S をバイオアッセイ基板 1 に滴下する滴下ヘッド 3 4 とを有している。滴下ヘッド 3 4 は、水平に装填されたバイオアッセイ基板 1 の上面 1 a の上方に配置されている。さらに、滴下ヘッド 3 4 は、図 5 記載のバイオアッセイ基板 1 のアドレスピット 8 から読み出される位置情報及び回転同期情報に基づいてバイオアッセイ基板 1 との相対位置を半径方向に制御し、プローブ DNA と、上述の S i 量子ドットで標識されたサンプル DNA、又はサンプル DNA 及び S i 量子ドットが結合されたインターカレータとを含有する試料溶液 S を所定のウェル 7 に正確に追従して滴下する構成とされている。

【 0 0 5 6 】

励起光検出部 2 4 は、光学ヘッド 4 0 を有している。光学ヘッド 4 0 は、水平に装填されたバイオアッセイ基板 1 の下方側、すなわち、下面 1 b 側に配置されている。光学ヘッド 4 0 は、例えば、図示しないスレッド機構等により、バイオアッセイ基板 1 の半径方向に移動自在とされている。

10

20

30

40

50

【0057】

光学ヘッド40は、対物レンズ41と、対物レンズ41を移動可能に支持する2軸アクチュエータ42と、導光ミラー43とを有している。対物レンズ41は、その中心軸がバイオアッセイ基板1の表面に対して略垂直となるように2軸アクチュエータ42に支持されている。したがって、対物レンズ41は、バイオアッセイ基板1の下方側から入射された光束を当該バイオアッセイ基板1に対して集光することができる。2軸アクチュエータ42は、バイオアッセイ基板1の表面に対して垂直な方向、及び、バイオアッセイ基板1の半径方向の2方向に対物レンズ41を移動可能に支持している。2軸アクチュエータ42を駆動することにより、対物レンズ41により集光された光の焦点を、バイオアッセイ基板1の表面に対して垂直な方向及び半径方向に移動させることができる。したがって、この光学ヘッド40では、光ディスクシステムにおけるジャストフォーカス制御並びに位置決め制御と同様の制御を行うことができる。

10

【0058】

導光ミラー43は、光路X上に対して45°の角度で配置されている。光路Xは、励起光P、蛍光F、制御光V及び反射光Rが、光学ヘッド40に対して入射及び出射する光路である。導光ミラー43には、励起光P及び制御光Vが光路X上から入射される。導光ミラー43は、励起光P及び制御光Vを反射して90°屈折させて、対物レンズ41に入射する。対物レンズ41に入射された励起光P及び制御光Vは、当該対物レンズ41により集光されてバイオアッセイ基板1に照射される。また、導光ミラー43には、蛍光F及び制御光Vの反射光Rが、バイオアッセイ基板1から対物レンズ41を介して入射される。導光ミラー43は、蛍光F及び反射光Rを反射して90°屈折させて、光路X上に出射する。なお、光学ヘッド40をスレッド移動させる駆動信号及び2軸アクチュエータ42を駆動する駆動信号は、制御/サーボ部25から与えられる。

20

【0059】

また、励起光検出部24は、励起光Pを出射する励起光源44と、励起光源44から出射された励起光Pを平行光束とするコリメータレンズ45と、コリメータレンズ45により平行光束とされた励起光Pを光路X上で屈折させて導光ミラー43に照射する第1のダイクロックミラー46とを有している。

【0060】

励起光源44は、蛍光標識剤を励起可能な波長のレーザ光源を有する発光手段である。励起光源44から出射される励起光Pは、ここでは波長が405nmのレーザ光である。なお、励起光Pの波長は、蛍光標識剤を励起できる波長であればどのような波長であってもよい。コリメータレンズ45は、励起光源44から出射された励起光Pを平行光束にする。第1のダイクロックミラー46は、波長選択性を有する反射鏡であり、励起光Pの波長の光のみを反射して、蛍光F及び制御光V(その反射光R)の波長の光を透過する。第1のダイクロックミラー46は、光路X上に45°の角度を持って挿入されており、コリメータレンズ45から出射された励起光Pを反射して90°屈折させ、導光ミラー43に励起光Pを照射している。

30

【0061】

また、励起光検出部25は、蛍光Fを検出するアバランジェフォトダイオード47と、蛍光Fを集光する集光レンズ48と、光学ヘッド40から光路X上に出射された蛍光Fを屈折させてアバランジェフォトダイオード47に照射する第2のダイクロックミラー49とを有している。

40

【0062】

アバランジェフォトダイオード47は、非常に感度の高い光検出器であり、微弱な光量の蛍光Fを検出することが可能である。なお、アバランジェフォトダイオード47により検出する蛍光Fの波長は、ここでは470nm程度である。また、この蛍光Fの波長は、蛍光標識剤の種類により異なるものである。集光レンズ48は、アバランジェフォトダイオード47上に蛍光Fを集光するためのレンズである。第2のダイクロックミラー49は、光路X上に45°の角度を挿入されているとともに、導光ミラー43側から見て第1の

50

ダイクロックミラー 46 の後段に配置されている。したがって、第 2 のダイクロックミラー 49 には、蛍光 F、制御光 V 及び反射光 R が入射し、励起光 P は入射しない。第 2 のダイクロックミラー 49 は、波長選択性を有する反射鏡であり、蛍光 F の波長の光のみを反射して、制御光（反射光 R）の波長の光を透過する。第 2 のダイクロックミラー 49 は、光学ヘッド 40 の導光ミラー 43 から出射された蛍光 F を反射して 90° 屈折させ、集光レンズ 48 を介してアバランジェフォトダイオード 47 に蛍光 F を照射する。

【0063】

アバランジェフォトダイオード 47 では、このように検出した蛍光 F の光量に応じた電気信号を発生し、その電気信号を制御/サーボ部 25 に供給する。

【0064】

また、励起光検出部 24 は、制御光 V を出射する制御光源 50 と、制御光源 50 から出射された制御光 V を平行光束とするコリメータレンズ 51 と、制御光 V の反射光 R を検出するフォトディテクト回路 52 と、非点収差を生じさせてフォトディテクト回路 52 に対して反射光 R を集光するシリンドリカルレンズ 53 と、制御光 V と反射光 R とを分離する光セパレータ 54 とを有している。

【0065】

制御光源 50 は、例えば 780 nm の波長のレーザ光を出射するレーザ光源を有する発光手段である。なお、制御光 V の波長は、アドレスピット 8 が検出できる波長に設定されている。さらに、制御光 V の波長は、励起光 P 及び蛍光 F の波長と異なった波長に設定されている。このような波長であれば、制御光 V の波長は、780 nm に限らずどのような波長であってもよい。コリメータレンズ 51 は、制御光源 70 から出射された制御光 V を平行光束にする。平行光束とされた制御光 V は光セパレータ 54 に入射される。

【0066】

フォトディテクト回路 52 は、反射光 R を検出するディテクタと、検出した反射光 R からフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号、及び、アドレスピット 8 の再生信号を生成する信号生成回路とを有している。反射光 R は、制御光 V がバイオアッセイ基板 1 で反射して生成された光であるので、その波長は、制御光 V と同一の 780 nm である。

【0067】

なお、フォーカスエラー信号は、対物レンズ 41 により集光された光の合焦位置とバイオアッセイ基板 1 の基板層 3 との位置ずれ量を示すエラー信号である。フォーカスエラー信号が 0 となったときに、対物レンズ 41 とバイオアッセイ基板 1 との間の距離が最適となる。位置決めエラー信号は、所定のウェル 7 の位置と焦点位置とのディスク半径方向に対する位置ずれ量を示す信号である。位置決めエラー信号が 0 となったときに、制御光 V のディスク半径方向に対する照射位置が所定のウェル 7 に一致したことになる。アドレスピット 8 の再生信号は、バイオアッセイ基板 1 に記録されているアドレスピット 8 に記述されている情報内容を示す信号である。この情報内容を読み出すことにより、現在、制御光 V を照射しているウェル 7 を特定することができる。

【0068】

フォトディテクト回路 52 は、反射光 R に基づき生成されたフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号及びアドレスピット 8 の再生信号を制御/サーボ部 25 に供給する。

【0069】

シリンドリカルレンズ 53 は、フォトディテクト回路 52 上に反射光 R を集光するとともに非点収差を生じさせるためのレンズである。このように非点収差を生じさせることによりフォトディテクト回路 52 によりフォーカスエラー信号を生成させることができる。

【0070】

光セパレータ 54 は、偏向ビームスプリッタからなる光分離面 54 a と 1/4 波長板 54 b とにより構成されている。光セパレータ 54 では、1/4 波長板 54 b の逆側から入射された光を光分離面 54 a が透過し、その透過光の反射光が 1/4 波長板 54 b 側から入射された場合には光分離面 54 a が反射する機能を有している。光セパレータ 54 は、光分離面 54 a が光路 X 上に 45° の角度を挿入されているとともに、導光ミラー 43 側

10

20

30

40

50

から見て第2のダイクロックミラー49の後段に配置されている。したがって、光セパレータ54では、コリメータレンズ51から出射された制御光Vを透過して光学ヘッド40内の導光ミラー43に対してその制御光Vを入射させているとともに、光学ヘッド40の導光ミラー43から出射された反射光Rを反射することにより90°屈折され、シリンドリカルレンズ53を介してフォトディテクト回路52に反射光Rを照射する。

【0071】

制御/サーボ部25は、励起光検出部24により検出されたフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号及びアドレスピット8の再生信号に基づき、各種のサーボ制御を行う。

【0072】

すなわち、制御/サーボ部25は、フォーカスエラー信号に基づき光学ヘッド40内の2軸アクチュエータ42を駆動して対物レンズ41とバイオアッセイ基板1との間の距離を制御し、フォーカスエラー信号が0となるようにサーボ制御を行う。また、制御/サーボ部25は、位置決めエラー信号に基づき光学ヘッド40内の2軸アクチュエータ42を駆動して対物レンズ41をバイオアッセイ基板1の半径方向に移動制御し、位置決めエラー信号が0となるようにサーボ制御を行う。また、制御/サーボ部25は、アドレスピット8の再生信号に基づき光学ヘッド40を所定の半径位置に移動し、目的のウェル位置に対物レンズ41を移動させる。

【0073】

以上のような構成のバイオアッセイ装置21では、バイオアッセイを行う場合には、次のような動作を行う。

【0074】

Si量子ドットを直接サンプルDNAに結合させて標識する場合、バイオアッセイ装置21は、バイオアッセイ基板1を回転させながら、図10に示すようにウェル7上にSi量子ドット(D)で標識されたサンプルDNA(S)が含有した溶液を滴下し、図11に示すようにプローブDNA(P)と標識サンプルDNA(S)とを相互反応(ハイブリダイゼーション)させる。

【0075】

また、Si量子ドットをインターカレータに結合させる場合、バイオアッセイ装置21は、バイオアッセイ基板1を回転させながら、図12に示すようにウェル7上にサンプルDNA(S)が含有した溶液を滴下し、プローブDNA(P)とサンプルDNA(S)とを相互反応(ハイブリダイゼーション)させる。また、ハイブリダイゼーション反応の終了したバイオアッセイ基板1上にSi量子ドットが結合されたインターカレータMを含んだバッファ溶液を滴下して、図13に示すようにプローブDNA(P)とサンプルDNA(S)との2重らせん内にSi量子ドットが結合されたインターカレータMを挿入して結合させる。

【0076】

その後、バイオアッセイ装置21は、Si量子ドットで標識されたサンプルDNA、又はサンプルDNA及びSi量子ドットが結合されたインターカレータが滴下された後のバイオアッセイ基板1を回転させ、励起光Pを当該バイオアッセイ基板1の下面1b側から入射させてウェル7内の蛍光標識剤に照射し、その励起光Pに応じてその蛍光標識剤から発生した蛍光Fをバイオアッセイ基板1の下方から検出する。

【0077】

ここで、バイオアッセイ装置21では、励起光Pと制御光Vとを同一の対物レンズ41を介してバイオアッセイ基板1に照射している。そのため、バイオアッセイ装置21では、制御光Vを用いたフォーカス制御、位置決め制御並びにアドレス制御を行うことによって、励起光Pの照射位置、すなわち、蛍光Fの発光位置を特定することが可能となり、その蛍光の発光位置からサンプルDNAと結合したプローブDNAを特定することができる。

【0078】

(DNA解析方法)

10

20

30

40

50

次に、DNA解析方法について説明する。

【0079】

最初に、バイオアッセイ基板1をバイオアッセイ装置21のディスク装填部22に水平に装填する。

【0080】

続いて、バイオアッセイ装置21により、アドレスピット8に基づく位置制御を行いながらバイオアッセイ基板1を回転させ、滴下ヘッド34から、一端がメルカプト基等で修飾されたプローブDNAが含有した溶液を所定のウェル7に対して滴下する。このとき、1つのバイオアッセイ基板1に対して、複数種類のプローブDNAが滴下する。但し、1つのウェル7内には1種類のプローブDNAが入るようにする。なお、各ウェル7に何れの種類のプローブDNAを滴下するかは、予めウェルとプローブDNAとの対応関係を示す配置マップ等を作成しておき、その配置マップに基づき滴下制御する。

10

【0081】

続いて、バイオアッセイ基板1の上面1a側から、電極をウェル7内の溶液に挿入して、1MV/m、1MHz程度の交流電界を各ウェル7に印加する。このように交流電界を印加すると、プローブDNAがバイオアッセイ基板1に対して垂直方向に伸張するとともに、プローブDNAをバイオアッセイ基板1に垂直方向に移動させて、予め表面修飾処理がされた底面9に対して、プローブDNAの修飾端を結合させ、ウェル7内にプローブDNAを固相化(固定化)することができる(Masao Washizu and Osamu Kurosawa: "Electrostatic Manipulation of DNA in Microfabricated Structures", IEEE Transaction on Industrial Application Vol.26, No26, P.1165-1172(1900) 参照)。

20

【0082】

続いて、バイオアッセイ装置21により滴下ヘッド34からSi量子ドットで標識されたサンプルDNAが含有した溶液をバッファ塩を含む溶液とともに、バイオアッセイ基板1上の各ウェル7に滴下する。なお、Si量子ドットをインターカレータに結合させた場合、この時点ではサンプルDNAのみが含有した溶液をバッファ塩を含む溶液とともに、バイオアッセイ基板1上の各ウェル7に滴下することができる。

【0083】

続いて、サンプルDNAの滴下後、バイオアッセイ基板1を恒温層等に移し、ウェル7内を数十度に加熱し、加熱した状態のまま1MV/m、1MHz程度の交流電界を印加する。このような処理をすると、サンプルDNAとプローブDNAとが垂直方向に伸張して立体障害の少ない状態となるとともに、サンプルDNAがバイオアッセイ基板1に対して垂直方向に移動する。この結果、互いの塩基配列が対応したサンプルDNAとプローブDNAとが同一のウェル7内にある場合には、それらがハイブリダイゼーション反応を起こす。

30

【0084】

ここで、Si量子ドットをインターカレータに結合させた場合には、続いて、バイオアッセイ装置21により、Si量子ドットが結合されたインターカレータを、バイオアッセイ基板1のウェル7内に滴下する。このようなインターカレータは、ハイブリダイゼーション反応を起こしたプローブDNAとサンプルDNAとの2重らせんの間に挿入して結合する。

40

【0085】

続いて、バイオアッセイ基板1の表面1aを純水等で洗浄し、ハイブリダイゼーション反応を起こしていないウェル7内のSi量子ドットで標識されたサンプルDNA(あるいはサンプルDNA及びSi量子ドットが結合されたインターカレータ)を除去する。この結果、ハイブリダイゼーション反応を起こしたウェル7内のみ、Si量子ドットが残存することとなる。

【0086】

続いて、バイオアッセイ装置21により、制御光Fを用いてフォーカスサーボ制御及び位置決めサーボ制御並びにアドレス制御を行いながらバイオアッセイ基板1を回転させ、

50

励起光 P を所定のウェル 7 に照射する。この励起光 P の照射とともに、アドレス情報を出しながら蛍光 F が発生しているか否かを検出する。

【 0 0 8 7 】

続いて、バイオアッセイ装置 2 1 は、バイオアッセイ基板 1 上の各ウェル 7 の位置と蛍光 F の発光の強度を示すマップを作成する。そして、その作成したマップ、並びに各ウェル 7 にどのような塩基配列のプロープ DNA が滴下されていたかを示す配置マップに基づき、サンプル DNA の塩基配列の解析を行う。

【 0 0 8 8 】

以上、本発明を実施するための最良の形態について説明したが、本発明は、上述の実施の形態に限定されるものではなく、本発明の主旨を逸脱することなく、様々な変更、置換又はその同等のものを行うことができることは当業者にとって明らかである。

10

【 0 0 8 9 】

例えば、上述の実施の形態では、バイオアッセイ基板を円盤状に形成したが、この形態に限定されるものではなく、楕円状、矩形状その他の平板状の形態を適宜選択決定することができる。

【産業上の利用可能性】

【 0 0 9 0 】

以上説明した本発明に係る生体物質蛍光標識剤を構成する量子ドットは、シリコンと酸化シリコンとから構成されるため環境への影響が少なく扱いが容易であると共に、その製造が容易である。この量子ドットは、蛍光強度が大きく、さらに有機色素を用いた場合と比較して光損傷が小さく退色が少ないという特性を有するため、種々の用途に用いることができるが、例えば生化学分析を行う標的物質を標識する蛍光標識剤として用いることで、分析の精度を向上させることができる。

20

【図面の簡単な説明】

【 0 0 9 1 】

【図 1】 p 型シリコンウエハーの陽極化成により生成した Si 結晶のフォトルミネッセンススペクトルを示す図である。

【図 2】メルカプト基同士との結合を利用して Si 量子ドットと DNA とを結合させる場合における結合状態の一例を示す図である。

【図 3】ピオチンとアビジンとの結合を利用して Si 量子ドットと DNA とを結合させる場合における結合状態の一例を示す図である。

30

【図 4】メルカプト基が導入されたインターカレータの一例を示す図である。

【図 5】本実施の形態の説明に供するバイオアッセイ基板の平面図である。

【図 6】同バイオアッセイ基板の断面図である。

【図 7】ウェルの底面に修飾される SH 基を有するシラン分子を示す図である。

【図 8】ウェルの底面に結合したプロープ DNA を示す図である。

【図 9】本実施の形態の説明に供するバイオアッセイ装置のブロック構成図である。

【図 10】ウェルに対して Si 量子ドットで標識されたサンプル DNA が含有した溶液を滴下している動作を示す図である。

【図 11】プロープ DNA と Si 量子ドットで標識されたサンプル DNA とが結合している状態を示す図である。

40

【図 12】ウェルに対してサンプル DNA 及び Si 量子ドットが結合されたインターカレータが含有した溶液を滴下している動作を示す図である。

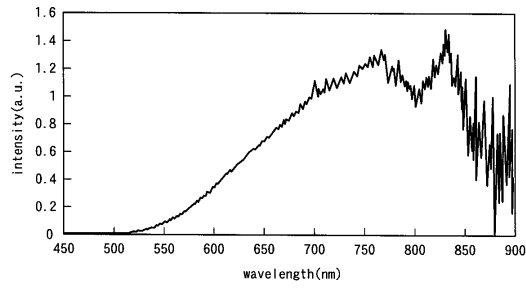
【図 13】プロープ DNA とサンプル DNA との 2 重らせん内にインターカレータが挿入結合している状態を示す図である。

【符号の説明】

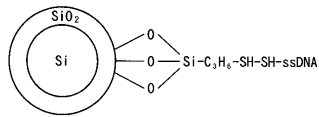
【 0 0 9 2 】

1 バイオアッセイ基板、 3 基板層、 7 ウェル、 2 1 バイオアッセイ装置、 2 2 ディスク装填部、 2 3 滴下部、 2 4 励起光検出部、 2 5 制御/サーボ部

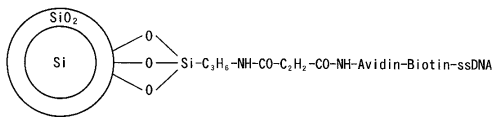
【 図 1 】



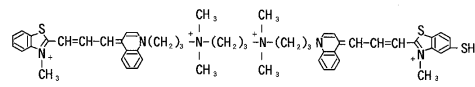
【 図 2 】



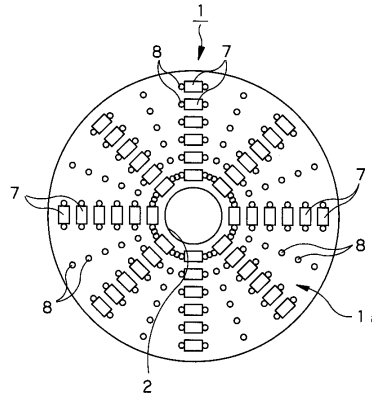
【 図 3 】



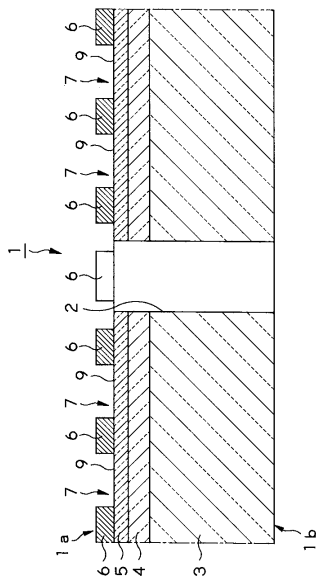
【 図 4 】



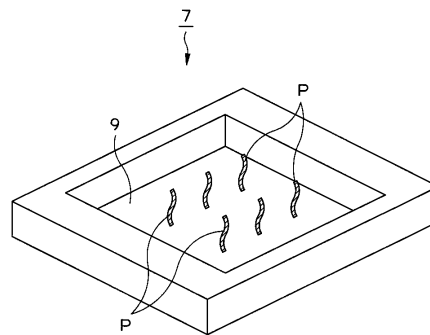
【 図 5 】



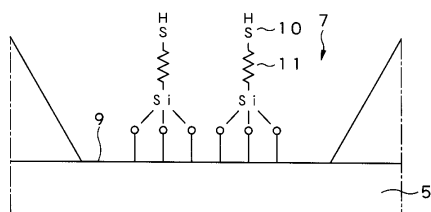
【 図 6 】



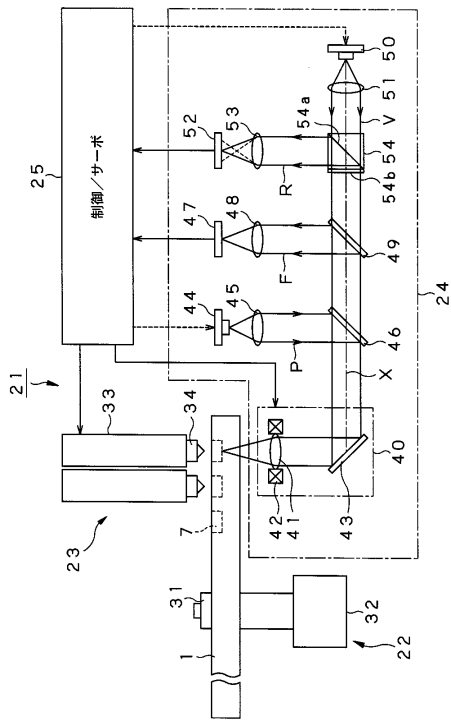
【 図 8 】



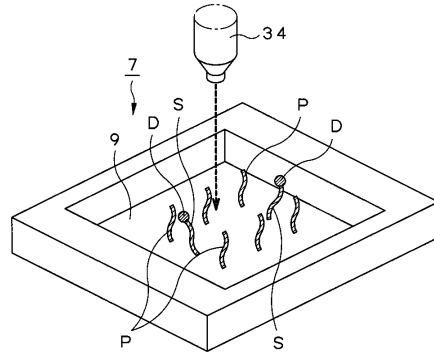
【 図 7 】



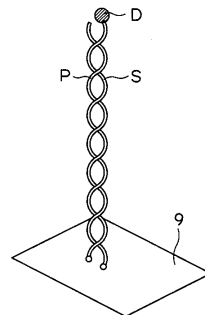
【図9】



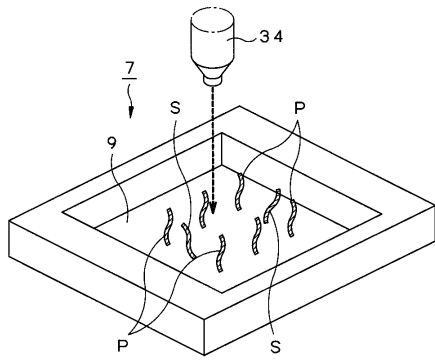
【図10】



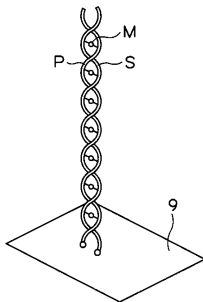
【図11】



【図12】



【図13】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
G 0 1 N 33/543	(2006.01)	G 0 1 N 33/543	5 7 5
G 0 1 N 37/00	(2006.01)	G 0 1 N 37/00	1 0 2
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	C 1 2 N 15/00	A

(56)参考文献 特開平05 - 224261 (JP, A)
 特表2002 - 539454 (JP, A)
 国際公開第03 / 003015 (WO, A1)
 特開2003 - 344398 (JP, A)
 特開2001 - 238674 (JP, A)
 特開2005 - 069778 (JP, A)
 特表2003 - 524147 (JP, A)
 特表2003 - 522962 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 1 N 33 / 48 - 98
 C 1 2 M 1 / 00
 C 1 2 Q 1 / 68
 G 0 1 N 21 / 78
 G 0 1 N 37 / 00

专利名称(译)	生物物质荧光标记剂，生物物质荧光标记方法，生物测定方法和装置		
公开(公告)号	JP4483279B2	公开(公告)日	2010-06-16
申请号	JP2003408088	申请日	2003-12-05
[标]申请(专利权)人(译)	索尼公司		
申请(专利权)人(译)	索尼公司		
当前申请(专利权)人(译)	索尼公司		
[标]发明人	中尾勇		
发明人	中尾 勇		
IPC分类号	G01N33/58 C12M1/00 C12Q1/68 G01N21/78 G01N33/53 G01N33/543 G01N37/00 C12N15/09		
FI分类号	G01N33/58.A C12M1/00.A C12Q1/68.A G01N21/78.C G01N33/53.M G01N33/543.575 G01N37/00.102 C12N15/00.A B82Y15/00 B82Y35/00 B82Y5/00		
F-TERM分类号	2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/FA12 2G045/FB02 2G045/FB07 2G045/FB12 2G045/GC15 2G045/HA10 2G054/AB04 2G054/CA22 2G054/CE02 2G054/EA03 2G054/EB01 2G054/EB12 2G054/FA17 2G054/FA20 2G054/FA21 2G054/FB01 2G054/GA04 2G054/GA05 2G054/GE01 2G054/GE07 4B024/AA11 4B024/CA09 4B024/HA13 4B024/HA14 4B029/AA07 4B029/AA23 4B029/CC03 4B029/FA15 4B063/QA01 4B063/QQ41 4B063/QR32 4B063/QR41 4B063/QR50 4B063/QR56 4B063/QR82 4B063/QS03 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX02		
代理人(译)	小池 晃		
其他公开文献	JP2005172429A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种影响环境较少且易于制造的生物物质荧光标记试剂，以及生物物质荧光标记方法，以及使用该生物物质荧光标记试剂的生物测定方法及其装置。解决方案：构成生物物质荧光标记试剂的量子点由包含晶体直径为激子玻尔半径的四倍或更小的硅晶体的核和包含用于涂覆核的氧化硅的壳层构成。将含有量子点荧光标记的样品DNA的溶液滴在预先用各种探针DNA固定的生物测定基板上，进行杂交反应。由此对样品DNA进行生物化学分析。 Z

