

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12Q 1/68

G01N 33/53 G01N 33/68



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03103416.0

[43] 公开日 2003 年 8 月 13 日

[11] 公开号 CN 1435490A

[22] 申请日 2003.1.28 [21] 申请号 03103416.0

[30] 优先权

[32] 2002. 1. 31 [33] JP [31] 2002 - 024233

[71] 申请人 富士胶片株式会社

地址 日本神奈川县

[72] 发明人 嘉藤彰史 中嶋贤二

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公
司

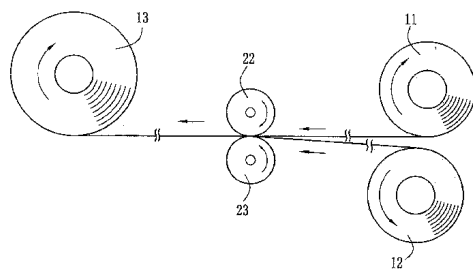
代理人 朱 丹

权利要求书 1 页 说明书 18 页 附图 8 页

[54] 发明名称 生化学分析用单元的制造方法

[57] 摘要

一种生化学分析用单元的制造方法，首先制造长条带状的降低透光率的基板，并在该基板上以高密度形成孔。把基板做成辊(11)状。把脂肪族聚酰胺溶解于溶液，制造长条带状的多孔膜。把该多孔膜做成辊(12)状。一边输送辊(11)和辊(12)一边由辊(22、23)连续压制。可以把多孔膜加压填充到基板的孔中。把该基板卷成填充辊(13)。通过采用长条带状的基板可以连续制造在多孔中一次性地填充多孔膜的生化学分析用单元。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种生化学分析用单元的制造方法，该生化学分析用单元是由不
5 透过或者衰减放射线或/和光的材料所形成的基板，在所述基板上设置多
孔且在所述多孔中填充吸附性材料而构成，其特征在于：一边连续输送
带状开孔基板和带状吸附性材料，一边叠合加压所述基板与所述吸附性
材料，将所述吸附性材料连续地填充于所述基板的孔内。

2. 一种生化学分析用单元的制造方法，该生化学分析用单元是由不
10 透过或者衰减放射线或/和光的材料所形成的基板，在所述基板上设置多
孔且在所述多孔中填充吸附性材料而构成，其特征在于：间歇地输送开
孔基板与所述吸附性材料，并在停止该间歇输送期间叠合加压所述基板
与所述吸附性材料，将所述吸附性材料填充于所述基板的孔内。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的生化学分析用单元的制造方法，其特征
15 在于：在所述开孔基板的一面涂布由苯乙烯-丁二烯橡胶、丙烯腈-丁二烯
橡胶中的任一种所构成的橡胶状粘合剂。

4. 如权利要求 3 所述的生化学分析用单元的制造方法，其特征在于：
由加压部件进行所述加压，且该加压部件中与所述基板接触的部分的温
度高于所述粘合剂的玻璃化转变温度以上且低于所述粘合剂、所述基板、
20 所述吸附性材料的任一个的熔点。

生化学分析用单元的制造方法

5

技术领域

本发明涉及生化学分析用单元(unit)的制造方法以及生化学分析用单元。更详细说,本发明涉及:在单元表面上以高密度形成可以与来自于生物体的物质进行特殊结合且其碱基排列或碱基的长度、组成等已知的特殊结合物质的斑点,将由放射性标记物质所标记的、来自于生物体的物质杂交于斑点状特殊结合物质,并将进行选择性标记所得到的生化学分析用单元粘合于辉尽性荧光体层,由放射性标记物质曝光辉尽性荧光体层,再用激发光照射辉尽性荧光体层,光电检出从辉尽性荧光体层所发出的辉尽光,形成放射线图像,来分析来自于生物体的物质时,也可以防止由从放射性标记物质所发出的电子束的散射引起的杂波形成在放射线图像上;以及在单元表面上高密度形成可以与来自于生物体的物质特殊结合且其碱基排列或碱基的长度、组成等已知的特殊结合物质的斑点,将由加入于放射性标记物质、或替代放射性标记物质而通过与化学发光基质接触来产生化学发光的标记物质或/和荧光物质所标记的来自于生物体的物质杂交于斑点状特殊结合物质,并进行选择性标记而得到生化学分析用单元,光电检出由生化学分析用单元所发出的化学发光或/和荧光,生成化学发光图像或/和荧光图像,来分析来自于生物体的物质时,可以防止由与化学发光物质接触产生化学发光的标记物质或/和荧光物质所发出的化学发光或/和荧光的散射所引起的杂波形成在化学发光图像或/和荧光图像上的生化学分析用单元的制造方法及生化学分析用单元。

背景技术

作为公知的自动射线照相术图像检出系统其构成如下:以具有在照射放射线时吸收、积累、记录放射线的能量,之后在特定波长区域的电磁波激发下,发出光量与所照射的放射线的能量相应的辉尽光的特性的辉

尽性荧光体作为放射线检出材料，将赋予了放射性标记的物质投入生物体中之后，取该生物体或其生物体组织的一部分作为试样，通过将该试样与设置有辉尽性荧光体层的积累性荧光体薄片叠合一定时间，把放射线能量积累、记录在辉尽性荧光体中，然后，用电磁波扫描辉尽性荧光体层，以激发辉尽性荧光体，光电检出从辉尽性荧光体发出的辉尽光，并形成数字图像信号，经图像处理，在 CPT 等显示手段或照相胶片等记录材料上再生图像。(例如，特公平 1-60784 号公报、特公平 1-60782 号公报、特公平 4-3952 号公报等)。

把积累性荧光体薄片作为图像检出材料使用的自动射线照相术图像检出系统不同于采用照相胶片的情形，它具有如下优点：不仅不需要被称为显影处理化学处理，而且通过对所得到的图像数据进行图像处理，就可以像所希望那样再现图像，或者可以用计算机来进行定量分析等。

另一方面，目前公开的还有荧光图像检出系统，其中使用荧光色素作为标记物质来代替自动射线照相术图像检出系统中的放射性标记物质。根据该荧光图像检出系统，通过读取荧光图像，可以进行对基因排列、基因的表达水平、实验用鼠中的投入物质的代谢、吸收、排泄的通道、状态、蛋白质的分离、鉴定或分子量、特性的评价等，例如，使含可以电泳的多种蛋白质分子的溶液在凝胶支持体上电泳后，把凝胶支持体浸在含荧光色素的溶液中，对经电泳的蛋白质进行染色，由激发光激发荧光色素后，通过检出所产生的荧光，生成图像，从而可以检出凝胶支持体上的蛋白质分子的位置和量的分布。或者，在硝基纤维素等转录支持体上，用 western • blotting 法转录至少一部分经电泳的蛋白质分子，使以荧光色素标记与目标蛋白质进行特殊反应的抗体所调制的探针与蛋白质分子会合，选择性地标记只与特殊反应抗体结合的蛋白质分子，用激发光激发荧光色素，并通过检出所产生的荧光，形成图像，由此可以检出在转录支持体上的蛋白质分子的位置和量的分布。另外，在含有可电泳的多个 DNA 片段的溶液中，加入荧光色素后，使多个 DNA 片段在凝胶支持体上进行电泳，或在含荧光色素的凝胶支持体上使多个 DNA 片段进行电泳，或使多个 DNA 片段在含荧光色素的凝胶支持体上电泳之后，再把该凝胶支持体浸在含荧光色素的溶液中等，标记经电泳的 DNA 片段，

用激发光激发荧光色素后，通过检出所产生的荧光形成图像，可以检出在凝胶支持体上的 DNA 的分布；或者，使多个 DNA 片段在凝胶支持体上电泳之后，对 DNA 进行改性(de-naturation)，接着，用 southern • blotting 法在硝基纤维素等转录支持体上转录至少部分改性 DNA 片段，将以荧光色素标记与目标 DNA 互补的 DNA 或 RNA 所调制的探针与改性 DNA 片段杂交，只选择性地标记与探针 DNA 或探针 RNA 互补的 DNA 片段，用激发光激发荧光色素后，通过检出所产生的荧光形成图像，可以检出转录支持体上的目标 DNA 的分布。进而，调制与含由标记物质标记的目标基因的 DNA 互补的 DNA 探针，与转录支持体上的 DNA 进行杂交，把酶与用标记物质标记的互补 DNA 结合之后，接触于荧光基质，使荧光基质变成发荧光的荧光物质，并用激发光激发生成的荧光物质，通过检出所产生的荧光，形成图像，就可以检出在转录支持体上的目标 DNA 的分布。该荧光图像检出系统，无须使用放射性物质，可以简便地检出基因排列等。

另外，在已知的化学发光检出系统中，同样，把蛋白质或核酸等来自于生物体的物质固定在支持体上，用通过与化学发光基质接触而产生化学发光的标记物质做选择性标记，把由标记物质选择性标记的来自与生物体的物质与化学发光基质接触，并光电检出由化学发光基质与标记物质的接触产生的可见光波长区域的化学发光，生成数字图像信号，经图像处理，在 CRT 等显示手段或照相胶片等记录材料上再现化学发光图像，得到基因信息等与来自于生物体的物质有关的信息。

进而，近年来，已经开发出了分析来自于生物体的物质的微阵列(micro array)图像检出系统，它是在载玻片或多孔膜等单元表面的不同位置上，用加样器滴下荷尔蒙类、肿瘤标记、酶、抗体、抗原、abzyme、其它蛋白质、核酸、cDNA(以 mRNA 为模板合成的互补 DNA)、DNA、RNA 等可与来自于生物体的物质特殊结合且碱基排列和碱基的长度、组成等已知的特异结合物质，形成多个独立的斑点，接着，对杂交荷尔蒙类、肿瘤标记、酶、抗体、抗原、abzyme、其它蛋白质、核酸、cDNA、DNA、mRNA 等通过萃取、离析等从生物体中取出或进一步实施化学处理、化学修饰等处理的来自于生物体且用荧光物质、色素等标记物质标记的物

质的微阵列，照射激发光，并光电检出从荧光物质、色素等标记物质发出的荧光等光，以分析来自与生物体的物质。根据该微阵列图像检出系统，通过在载波片和多孔质膜等单元表面的不同位置上以高密度形成众多特异结合物质的斑点，并杂交由标记物质标记的来自于生物体的物质，
5 就可以在短时间内分析来自于生物体的物质。

另外，也开发出了使用放射性标记物质的微阵列图像检出系统，其中，在多孔膜等单元表面的不同位置上，用加样器滴下荷尔蒙类、肿瘤标记、酶、抗体、抗原、abzyme、其它蛋白质、核酸、cDNA(以 mRNA 为模板合成的互补 DNA)、DNA、RNA 等可以与来自于生物体的物质特异结合
10 且碱基排列和碱基的长度、组成等已知的特异结合物质，形成多个独立的斑点，接着，对杂交荷尔蒙类、肿瘤标记、酶、抗体、抗原、abzyme、其它蛋白质、核酸、cDNA、DNA、mRNA 等由萃取、离析等从生物体中取出或进一步实施化学处理、化学修饰等处理的来自于生物体且用放射性标记物质标记的物质的微阵列上，粘合形成有含辉尽性荧光体的辉
15 尽性荧光体层的积累性荧光体薄片，使辉尽性荧光体层曝光，然后，用激发光照射辉尽性荧光体层，光电检出从辉尽性荧光体层发出的辉光，从而分析来自于生物体的物质。

不过，在使用放射性标记物质的微阵列图像检出系统中，曝光辉尽性荧光体层时，由于在多孔膜等单元表面上形成的斑点中所含的放射性标记物质的放射线能量非常高，从放射性标记物质发出的电子束会在多孔膜等的单元内部发生散射，并入射到通过邻近的斑点所含的放射性标记物质曝光的辉尽性荧光体层区域中，或者，从放射性标记物质发出的电子束发生散射，与从邻近斑点中所含放射性标记物质所发出的电子束混合，入射到辉尽性荧光体层区域中，其结果，在由光电检出的辉尽光生
25 成的放射线图像中产生杂波，在对各斑点进行放射线量定量来分析来自于生物体的物质时，存在定量性恶化的问题，在高密度形成邻近的斑点时，该定量性恶化就特别明显。

若要防止由含于邻近斑点的放射性标记物质发出的电子束的散射所引起的杂波，以解决所述的问题，则需要把邻近的斑点之间的距离变大，
30 这样就会出现斑点密度降低、检出效率下降的问题。

进而，在生化学分析领域中，也要求用下述方式分析来自于生物体的物质：即多孔膜等单元表面上的不同位置形成斑点状的荷尔蒙类、肿瘤标记、酶、抗体、抗原、abzyme、其它蛋白质、核酸、cDNA(以 mRNA 为模板合成的互补 DNA)、DNA、RNA 等可以与来自于生物体的物质特异结合且碱基排列和碱基的长度、组成等已知的特异结合物质上，杂交代替放射性标记物质而采用通过与化学发光基质接触产生化学发光的标记物质或/和荧光物质标记的来自于生物体的物质，并进行选择性标记，通过放射性标记物质使辉尽性荧光体层曝光之后，或先用放射性标记物质使辉尽性荧光体层曝光后再与化学发光基质接触，用光电检出由化学发光基质与标记物质的接触所产生的可见光区的化学发光，或/和，照射激发光，并光电检出从荧光物质发出的荧光，以分析来自于生物体的物质。在这种情况下，从斑点发出的化学发光和荧光在多孔膜等单元内部发生散射，或从斑点发出的化学发光和荧光发生散射，与由邻近斑点发出的化学发光和荧光混合，其结果在通过光电检出化学发光而生成的化学发光图像或/和光电检出荧光所生成的荧光图像中会形成杂波。

发明内容

本发明的目的在于解决上述问题，提供可抑制杂波的发生并可进行高精度生化学分析的生化分析用单元的制作方法。

为了达到上述目的，本发明技术方案 1 中，该生化分析用单元是由不透过或者衰减放射线或/和光的材料所形成的基板，在所述基板上设置多孔且在所述多孔中填充吸附性材料而构成，其中，一边连续输送带状开孔基板与带状吸附性材料，一边加压叠合所述基板和所述吸附性材料，使所述吸附性材料连续填充于所述基板的孔内。

还有，本发明技术方案 2 中，该生化分析用单元是由不透过或者衰减放射线或/和光的材料所形成的基板，在所述基板上设置多孔且在所述多孔中填充吸附性材料而构成，其中，间歇输送开孔基板与所述吸附性材料，在停止输送期间，加压叠合所述基板和所述吸附性材料，使所述吸附性材料填充于所述基板的孔内。

还有，最好在所述开孔基板的一面上涂布由苯乙烯-丁二烯橡胶、丙

烯腈-丁二烯橡胶中的任一种构成的橡胶状粘合剂。还有，用加压部件进行所述加压，最好将该加压部件中与所述基板接触的部分的温度控制在所述粘合剂的玻璃化转变温度以上且在所有所述粘合剂、所述基板、所述吸附性材料的熔点以下。

5 另外，当对吸附性材料施压时，吸附性材料会附着在加压部件上而受损，无法进行连续的压入，为了防止这一点，作为加压部件最好具有下述（1）～（4）中的任一种构成。

（1）将与吸附性材料接触一侧的加压部件表面粗糙度 Ra（算术平均粗糙度）设为 $0.3\ \mu\text{m}$ 以上。

10 （2）在与吸附性材料接触一侧的加压部件表面涂布疏水性树脂。

（3）在与吸附性材料接触一侧的加压部件表面实施浸渍疏水性树脂的铬电镀处理。

（4）在与吸附性材料接触一侧的加压部件表面实施浸渍疏水性树脂的镍电镀处理。

15

附图说明

图 1 是表示通过本发明的生化学分析用单元的制造方法制造的生化学分析用单元的立体示意图。

图 2 是表示由采用多个钉的铰子制作开孔基板的方法的立体图。

20 图 3 是表示用光刻和蚀刻来制作开口基板的方法的立体图。

图 4 是说明本发明的生化学分析用单元的制造方法的一实施例的示意图。

图 5 是图 4 中用流水线表示的主要部分的立体图。

图 6 是图 4 中用流水线表示的主要部分的截面图。

25 图 7 是用于说明本发明生化学分析用单元的制造方法的另一个实施例的示意图。

图 8 是在基板上贴合粘合剂层的示意图。

图 9 是表示放射线的积累性薄片构成的立体示意图。

30 图 10 是表示读取记录在辉尽性荧光体层上的放射性标记物质的信号，生成图像数据的图像读取装置的一个例子的示意图。

图中，

- 1 生化学分析用单元
- 2 基板
- 3 孔
- 5 4 多孔材料(吸附性区域)
- 5 特异结合物质
- 11 基板辊
- 12 多孔辊
- 13 填充辊
- 10 21 多孔膜
- 22 压辊
- 23 支撑辊
- 24、25 压板
- 26、27 加热器
- 15 30 粘合剂层

具体实施方式

下面说明本发明的实施例，不过，本发明并不限于此。还有，在下面的说明中使用的术语等用于表示本发明的理想例，但并不表示本发明用语的意义或技术范围。

图 1 是表示本发明的生化学分析用单元的立体示意图。图 1 中所示的生化学分析用单元 1 由设置有多个孔 3 的基板 2、和填充在孔 3 内部并与基板 2 粘合的多孔材料 4 所构成。在该作为吸附性区域的多孔材料 4 中，滴入结构或特性已知的特异结合物质 5，并通过其后的处理进行固定。

25 为了防止在生化学分析用单元内部的散射，作为所述基板 2 的材质优选使用不透过放射线或光或者使其衰减的材料，以金属、陶瓷为优选。另外，将容易进行开孔加工的塑料作为所述基板使用时，为了使放射线或光更进一步衰减，最好在塑料中分散粒子。

30 作为所述金属，列举有：铜、银、金、锌、铅、铝、钛、锡、铬、铁、镍、钴、钨或不锈钢和黄铜等合金，不过并非限于这些。

作为所述塑料，列举有，聚乙烯或聚丙烯等聚烯烃、聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸甲酯等丙烯酸树脂、聚氯乙烯、聚偏氯乙烯、聚偏氟乙烯、聚四氟乙烯、聚氯三氟乙烯、聚碳酸酯、聚乙烯萘二甲酸酯或聚对苯二甲酸乙二醇酯等聚酯、尼龙-6 或尼龙-66 等脂肪族聚酰胺、聚酰亚胺、聚砜、
5 聚苯硫醚、聚二苯基硅氧烷等硅树脂、酚醛清漆等酚醛树脂、环氧树脂、聚氨酯、醋酸纤维素或硝基纤维素等纤维素类、丁二烯-苯乙烯共聚物等共聚物，也可以是所述塑料的混合物，不过并非限于这些。

为了衰减放射线或光，最好在所述塑料中填充金属氧化物粒子或玻璃纤维等。作为金属氧化物粒子，列举有二氧化硅、氧化铝、二氧化钛、
10 氧化铁、氧化铜等，不过并非限于这些。

所述的陶瓷列举有，氧化铝、氧化锆、氧化镁、石英等，不过并非限于这些。

衰减放射线或光的含义是，由与填充在所述基板 2 的孔 3 中的多孔材料表面或其内部的特异结合物质结合的标记物质发出的放射线或光从所述孔透过基板壁而到达邻近孔的强度最好变为 1/5 以下，1/10 以下为更
15 优选。

为了有效屏蔽来自于经放射性标记的试样的电子束等射线，基板 2 的平均密度一般在 0.6g/cm^3 以上， $1\sim 20\text{g/cm}^3$ 范围为优选， $2\sim 10\text{g/cm}^3$ 范围为特别优选。由于电子束的透过距离是与密度成反比的，因此如果放射性物质是 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{14}C 等一般放射性同位素(RI)，则通过把基板 2
20 的平均密度控制在该范围，使得来自于被固定在各个孔 3 内的试样的 RI 的电子束被基板 2 的隔膜所屏蔽，从而可以防止由电子束的透过、散射导致的射线图像分辨能力的下降。

所述基板 2 的厚度一般在 $50\sim 1000\mu\text{m}$ 的范围，最好在 $100\sim 500\mu\text{m}$ 的
25 范围内。

为了提高孔 3 的密度，设在所述基板 2 上的孔 3 的开口部分的面积(尺寸)一般不到 5mm^2 ，以不到 1mm^2 为优选，不到 0.3mm^2 为更优选，不到 0.01mm^2 为进一步优选，而且最好在 0.001mm^2 以上。

孔 3 的节距(邻近 2 个孔的中心之间的距离)P1 一般在 $0.05\sim 3\text{mm}$ 的范围内，孔 11 的间隔(从邻近 2 个孔的端部到端部的最短距离)L1 一般在
30

0.01~1.5mm 范围内。孔 3 的数(密度)一般为 10 个/cm² 以上, 100 个/cm² 以上为优选, 500 个/cm² 以上更优选, 1000 个/cm² 以上进一步优选, 而且最好在 100000 个/cm² 以下, 10000 个/cm² 以下为特别优选。再有, 它们并非要求如图 1 那样等间隔设置, 分为若干块(单位)而每块上设置
5 多个孔 3 也可。

作为在所述基板 2 上开多个孔 3 的方法, 可列举用钉穿透的冲孔方法。为了提高效率, 如图 2 所示, 最好采用以数倍于孔间间隔的距离配置多个钉 9, 以一次冲孔开多个孔 3 的方法。

作为在所述基板 2 上开多孔 3 的方法, 可列举放电加工, 即在油或空气等电绝缘流体中, 将其电极的配置图案与孔的图案相同的放电电极接
10 近于接地的基板, 并通过在所述放电电极上加上脉冲高电压, 利用随放电产生的热来挥发基板。

所述基板 2 上的多个孔 3 也可以由光刻和蚀刻来设置。如图 3(a)所示, 首先, 在支持体 10 上涂布上感光性材料, 制成涂膜 8 之后, 通过由形成
15 有所需图案的光刻用掩模 7 在该涂膜 8 上利用光进行转录的光刻处理, 使孔周围的涂膜 8 固化。其后, 通过把涂膜 8 浸渍于有机溶剂中溶解除去未光照部分的蚀刻处理, 在涂膜 8 上设置多个孔, 之后从支持体 10 剥离出基板 2, 得到了图 3(b)所示的形成有多孔 3 的基板 2。作为支持体, 可列举聚乙烯、聚丙烯、聚乙烯对苯二甲酸酯、聚四氟乙烯等, 但本发明并不仅限于这些。
20

作为所述感光性材料, 优选紫外线固化性组合物。该紫外线固化性组合物是由光聚合引发剂和紫外线固化性树脂原料所构成。光引发剂可以是含引发光聚合源的任何物质。例如, 可以用脱氢型引发剂(例如二苯甲
25 酮类引发剂)或自由基裂解型引发剂(例如, 苯乙酮类引发剂、三嗪类引发剂)。还有, 作为本发明所用的紫外线固化性树脂原料例, 可列举丙烯酸酯类(例如, 丙烯酸乙酯、丙烯酸丁酯、丙烯酸-2-乙基己酯)、甲基丙烯酸酯类(例如, 甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸丁酯、乙
30 二醇二甲基丙烯酸酯)、(甲基)丙烯酸的多元醇酯(例如, 乙二醇二(甲基)丙烯酸酯、二丙烯酸-1,4-环己酯、季戊四醇四(甲基)丙烯酸酯、季戊四醇三(甲基)丙烯酸酯、三羟甲基丙烷三(甲基)丙烯酸酯、三羟甲基乙烷三(甲

基)丙烯酸酯、二季戊四醇四(甲基)丙烯酸酯、二季戊四醇五(甲基)丙烯酸酯、二季戊四醇六(甲基)丙烯酸酯、四甲基丙烯酸-1,2,3-环己酯、聚氨酯聚丙烯酸酯、聚酯聚丙烯酸酯), 不过并非限于这些。它们可以单独使用, 也可以多种组合使用。

- 5 作为所述蚀刻用的有机溶剂, 可采用溶解所述紫外线固化性组合物的任意有机溶剂, 例如, 丙酮或丁酮等酮类, 不过并不仅限于这些。

为了使除去未光照部分的蚀刻容易进行, 在进行蚀刻时最好在蚀刻液中用超声波照射所述基板。

- 10 将金属用于基板 2 上时, 可以用电解蚀刻来设置多个孔。首先, 对涂布在金属板上抗蚀剂, 用形成有所要制作的孔图案的光掩模进行曝光, 并显影。例如通过在硫酸、氢氟酸、磷酸等强酸溶液中以所述金属板为阳极且以铂为阴极进行电解的电解蚀刻, 在金属板上开孔, 然后剥离残留在金属板表面的抗蚀剂。

- 15 作为在所述基板上开多个孔的其它的方法, 可举出用激光、YAG 激光等高功率激光束照射所述基板, 以加热挥发照射部分基板的方法。通过用激光束沿着所述基板的面扫描, 形成了孔的排列。还有, 孔 3 除了贯通基板 2 的孔之外, 也可以是凹状孔(穴)。

- 20 在本发明中, 作为形成吸附性区域的吸附性材料, 优选使用的是多孔材料或纤维材料。还有, 可以并用多孔材料和纤维材料来形成吸附性区域。本发明中, 用于形成吸附性区域的多孔材料可以是有机材料也可以是无机材料, 有机/无机复合材料也可。

- 25 在本发明中, 对用于形成吸附性区域的有机多孔材料, 并没有特别的限制, 优选使用的是活性炭等碳素多孔材料或可以形成膜滤器的多孔材料。优选使用的可以形成膜滤器的多孔材料是可以溶解在溶剂中的聚合物。这种聚合物可以举出, 纤维素衍生物(例如, 硝基纤维素、再生纤维素、乙酸纤维素、丁酸乙酸纤维素等)、脂肪族聚酰胺类(例如, 尼龙-6、尼龙-66、尼龙-4,10 等)、聚烯烃类(例如, 聚乙烯、聚丙烯等)、含氯聚合物类(例如, 聚氯乙烯、聚偏氯乙烯等)、氟树脂类(例如, 聚偏氟乙烯、聚四氟化物等)、聚碳酸酯、聚砒、藻酸及其衍生物(例如, 藻酸、藻酸钙、藻酸/聚赖氨酸多离子复合物等)、胶原等, 也可以使用这些聚合物的共聚
- 30

物和复合物(混合物)。

还有, 对用于形成吸附性区域的纤维材料也没有特别的限制, 优选的列举有, 所述的纤维素衍生物类、脂肪族聚酰胺类等。

本发明中, 对用于形成吸附性区域的无机多孔材料没有特别的限制, 5 优选的是金属(例如, 铂、金、铁、银、镍、铝等)、金属等的氧化物(例如, 氧化铝、二氧化硅、氧化钛、沸石等)、金属盐(例如, 羟基磷灰石、硫酸钙等)以及它们的复合体等。

还有, 为了提高作为所述吸附性区域的多孔材料 4 的强度, 在所述多孔材料 4 中, 可以混合不溶于多孔材料 4 的溶剂的纤维状材料。作为所述纤维状材料, 只要是不溶于多孔材料 4 的溶剂中的材料皆可。例如, 10 可以使用纤维素、玻璃纤维、金属纤维。这些可以单独或混合多种使用。

图 4 是用于说明本发明生化学分析用单元的制造方法的示意图, 图 5 是其 15 其主要部分的放大图, 图 6 是其 15 其主要部分的截面图。多孔膜是把胶浆(含所述多孔材料的溶液)在支持体上流延或涂布后, 在多孔膜聚合物的不良溶剂或良溶剂与不良溶剂的混合液中浸渍, 之后经水洗、干燥而制得; 或者把胶浆在支持体上流延或涂布后, 慢慢干燥来制得。再有, 主要构成多孔膜的化合物以尼龙-6 或尼龙-66 等聚酰胺树脂为优选, 不过并不限于此。

如图 4 所示, 在本发明的生化学分析用单元的制造方法中, 使用的是 20 把所述基板 2 制成长条带状、再把它卷成辊状的基板辊 11。还有, 所述多孔膜 21 用的也同样是制成长条带状再卷成辊状的多孔膜辊 12。

如图 5 和图 6(a)所示, 用图中没有示出的输送装置, 将从各辊 11、12, 连续输送的所述基板 2 与所述多孔膜 21 叠合在一起, 送入压辊 22 和支撑辊 23 之间, 如图 6(b)所示, 通过加压把多孔膜 21 压入所述基板 2 的 25 孔 3 中。之后, 由图中没有示出的输送装置输送基板 2, 卷成填充辊 13。此时通过采用加热压辊 22 与支撑辊 23 的方法软化多孔膜 21 之后, 可以较容易地压入于基板 2 的孔 3 中。另外, 没有填充进基板 2 的孔 3 的多孔膜 21 可以用公知的方法除去。

图 7 示出了本发明的生化学分析用单元的制造方法的另一实施例的示意图。如图 4 所示, 所述基板 2 与所述多孔膜 21 由图中没有示出的输送 30

装置间歇地从辊 11、12 送出。然后，通过对夹着基板 2 与多孔膜 21 相对配置的压板 24、25 施压，把多孔膜 21 间歇压入基板 2 的孔 3 中。再有，在图 7 所示那样间歇地把多孔膜 21 填充于孔 3 时，并不限于如图 4 所示的用辊 11、12 的方法。例如，可以预先把基板 2 和多孔膜 21 按所需
5 的尺寸裁成片状，并把各个片叠合，并用如图 7 所示的压板 24、25 加压，就可以把多孔膜填充于孔 3 中。

图 7 中示出了把多孔膜 21 一次性压入 1 个孔内的情况，不过，本发明并不限于图示的状态。例如，如图 5 所示孔 3 形成为 10×10 个孔块 3a 状态时，通过对每块 3a 加压，可以较均匀地进行多孔膜 21 的压入，
10 因此更为优选。不过，本发明并不限于所述方法。

另外，为了使填充于孔 3 的多孔膜 21 不被剥离，如图 8 所示，最好在基板 2 的一面预先形成粘合剂层 30。该粘合剂层 30 最好由苯乙烯-丁二烯橡胶、丙烯腈-丁二烯橡胶等粘合剂构成，不过并不限于所述材料。在基板 2 上形成粘合剂层 30 的方法列举有，用浸渍涂布、气动刮涂、刮
15 涂等涂布方法的涂布工艺，不过并不限于这些。例如，用图 4 的制造流水线，把辊状粘合剂层夹在基板和多孔膜之间，用辊 22、23 对基板、粘合剂层、多孔膜同时施压的方法等。还有，在涂布粘合剂层之前，也可以对基板表面作氧化处理等，使得涂布更容易进行。当所述基板为金属时，首先，通过阳极氧化处理等，在表面形成金属氧化物。阳极氧化处
20 理是指在硫酸、磷酸、铬酸液中，以所述基板金属作为阳极，通上直流电，在表面形成氧化物的方法。当所述基板为塑料时，如前所述将金属氧化物粒子分散在其中，而所述基板为陶瓷时，则只要是所述金属氧化物即可。

根据图 6 和图 7 所示的方法用在基板 2 上已形成有粘合剂层 30 的结构填充多孔膜 21 时，可以抑制压入孔 3 中的多孔膜 21 的剥离，因此可以
25 优选。再有，此时，如图 6 和图 7 所示，分别由加热器 26、27 加热与基板 2 连接的辊 22、压板 24 时，可以提高粘合剂层 30 的粘合能力。这些机器的温度最好在所述粘合剂的玻璃化转变温度以上而且在所述粘合剂、基板、多孔膜的熔点以下。也就是说，当低于粘合剂的玻璃化转变
30 温度时，有时就达不到提高粘合剂的粘合能力的目的，而在高于所述粘

合剂等的熔点的温度下加热时，会使基板等部件的成分发生变化，从而导致部件形状的变形。再有，所述加热器 26、27 可以使用公知的结构。

另外，当对多孔层 21 施压时，多孔吸附性材料会附着在辊 23、压板 25 上而遭到破坏，无法进行连续的压入，为了防止这一点，最好具有下述 (1) ~ (4) 中的任一种构成。

(1) 将与多孔层 21 接触一侧的辊 23、压板 25 的表面粗糙度 Ra (算术平均粗糙度) 设为 $0.3 \mu\text{m}$ 以上。

(2) 在与多孔层 21 接触一侧的辊 23、压板 25 表面涂布疏水性树脂。

(3) 在与多孔层 21 接触一侧的辊 23、压板 25 表面实施浸渍疏水性树脂的铬电镀处理。

(4) 在与多孔层 21 接触一侧的辊 23、压板 25 表面实施浸渍疏水性树脂的镍电镀处理。

还有，所述多孔性结构体，一般其空隙率(体积比)在 10~90% 范围，构成其空隙的微细孔的平均孔径在 $0.1\sim 50\mu\text{m}$ 范围。

为了加速所述特异结合物质向所述多孔材料中的渗透，最好通过放电处理使多孔材料表面成为亲水性。当所述基板是金属等导电性材料时，可举出将基板接地后，把通上交流高电压的电极与所述基板对向设置的方法。当所述基板是塑料或陶瓷等绝缘性材料时，则在接地的导电性材料上放置基板，并把通上交流高电压的电极与所述基板对向设置的方法。

还有，为了加速所述特异结合物质向所述多孔材料中的渗透，最好把表面活性剂浸渍在所述多孔材料中。作为所述表面活性剂，可使用阴离子型、阳离子型、氟类中的任何一种表面活性剂。具体说，可以列举的有，十二烷基苯磺酸钠、皂角苷、对叔辛基苯氧基乙氧基乙基磺酸钠、壬基苯氧基多乙氧基乙醇、特开昭 62-170950 号公报、美国专利 5, 380, 644 号公报、特开昭 63-188135 公报等所记载的氟类表面活性剂、特开昭 6-301140 号公报等中所记载的聚烯基氧化物和阴离子型表面活性剂等。

通过加快所述特异结合物质向所述多孔材料渗透的方法，最好把所述多孔材料表面的水的静态接触角变成 60° 以下， 50° 以下为更优选。

作为吸附性区域的多孔材料 4 的表面与里面中的至少一面最好比基板

2 的表面或里面更向基板内部后退。由此构成，特异结合物质溶液向多孔材料 4 的点接变得容易，而且一旦点接就可以防止特异结合物质溶液向基板 2 的表面流出以及向其它多孔材料 4 的流出，同时，可以有效地防止由固定结合于多孔材料 4 的特异结合物质发出的放射线的散射。

5 本发明中，基板 2 的孔 3 的排列以及孔 3 的开口部分的形状，并不限定于图 1 所示的格子状排列与圆形开口，孔 3 的排列与形状等可以作适当的变更。例如，吸附性区域邻接的列中其位置可以相互错开配置。进而，吸附性区域的开口部分的形状也并不限定于图 1 所示。例如，吸附性区域的开口部分可以是三角形、四角形、六角形、其它多角形、椭圆
10 形或其它各种形状。此外，吸附性区域可以无规配置，进而，也可以把细长的长方形吸附性区域设置成条状，仅在一维方向上进行区域化。

作为可以固定在所述吸附性区域的特异结合物质，可以使用以往用在微阵列特异结合物质中的各种聚核苷酸和低聚核苷酸。例如，可以举出，
15 cDNA、cDNA 的一部分、EST 等由 PCR 法扩增调制的聚核苷酸(“PCR 产物”)和人工合成低聚核苷酸。还有，也可以是把 DNA 的磷酸二酯键变换成肽键的人工核酸，即肽核酸(PNA)或其衍生物。还有荷尔蒙类、肿瘤标记、酶、抗体、抗原、abzyme、其它蛋白质、核酸、cDNA、DNA、RNA 等可与来自于生物体的物质特异结合且碱基排列和碱基长度、组成等已知的特异结合物质都可以作为本发明的特异结合物质使用。

20 作为把所述特异结合物质滴到所述多孔材料中的方法，可举出美国专利 5807522 号说明书中所述的把附着在钉上的含特异结合物质的液体移向多孔材料的点样方式、或喷出含特异结合物质的液滴移向多孔材料的喷墨方式，不过不一定要限于这些方式。

作为把所述特异结合物质固定在多孔材料上的方法，可以由在多孔材
25 料的细孔表面的物理吸附完成，不过更优选的是由化学反应或加热或紫外线照射等方法进行化学结合。

固定于多孔材料的细孔表面并与所述特异结合物质结合的特异结合物质，最好由从例如 ^{33}P 等放射性标记物质、或荧光色素等荧光标记物质、或与化学发光基质接触而产生化学发光的标记物质中选出的 1 种或 2 种
30 以上的标记物质所标记。对所述特异结合物质与经标记的来自于生物体

的物质的特异结合，可以举出的有，例如，cDNA 彼此之间的杂交、抗原抗体反应、受体•配体等的反应，不过并不仅限于此。

本发明中，作为积累由放射性标记物质发出的放射线的辉尽性荧光体，只要是可以积累放射线的能量且在电磁波的激发下可以把所积累的放射线能量以光的形式放出的物质即可，并没有特别的限制，以可以用可见光区的光激发者为优选。具体说，可以优选使用例如，特开昭 55-12145 中所揭示的碱土金属氟化卤代物类荧光体 $(\text{Ba}_{1-x}\text{M}^{2+}_x)\text{FX} \cdot y\text{A}$ (这里， M^{2+} 为从镁、钙、锶、锌和镉中选出的至少 1 种碱土类金属元素、X 为从氯、溴、碘中选出的至少 1 种卤素，A 为从铕(Eu)、铽(Tb)、铈(Ce)、铥(Tm)、镝(Dy)、镨(Pr)、钬(Ho)、钕(Nd)、镱(Yb)和铒(Er)中选出的至少 1 种 3 价金属，x 为 $0 < x \leq 0.6$ ，y 为 $0 \leq y \leq 0.2$)；特开平 2-276997 号公报揭示的碱土类金属氟化卤代物类荧光体 $\text{SrFX} \cdot \text{Z}$ (这里，X 为从氯、溴和碘中选出的至少 1 种卤素，Z 为铕(Eu)或铈(Ce))；特开昭 59-56479 号公报揭示的铕赋活复合卤代物类荧光体 $\text{BaFX} \cdot x\text{NaX}' \cdot a\text{Eu}^{2+}$ (这里，X 和 X' 都是从氯、溴和碘中选出的至少 1 种卤素，x 为 $0 \leq x \leq 2$ ，a 为 $0 \leq a \leq 0.2$)；特开昭 58-69281 号公报揭示的铈赋活 3 价金属氧卤代物类荧光体 $\text{MOX} \cdot x\text{Ce}$ (这里，M 为镨(Pr)、钕(Nd)、钷(Pm)、钐(Sm)、铕(Eu)、铽(Tb)、镝(Dy)、钬(Ho)、铒(Er)、铥(Tm)、镱(Yb)和铋(Bi)中选出的至少 1 种 3 价金属元素，X 为溴和碘中的一个或两个，x 为 $0 < x < 0.1$)；特开昭 60-101179 号公报和同 60-90288 号公报揭示的铈赋活稀土类氧卤代物类荧光体 $\text{LnOX} \cdot x\text{Ce}$ (这里，Ln 为从钇(Y)、镧(La)、钆(Gd)和镱(Lu)中选出的至少一种稀土类元素，X 为从氯、溴和碘中选出的至少 1 种卤素，x 为 $0 < x \leq 0.1$)和特开昭 59-75200 号公报揭示的铕赋活复合卤代物类荧光体 $\text{M}^{\text{II}}\text{FX} \cdot a\text{M}^{\text{I}}\text{X}' \cdot b\text{M}^{\text{II}}\text{X}'' \cdot c\text{M}^{\text{III}}\text{X}''' \cdot x\text{A} \cdot y\text{Eu}^{2+}$ (这里， M^{II} 为从钡、锶和钙中选出的至少 1 种碱土类金属元素， M^{I} 为从锂、钠、钾、铷和铯中选出的至少 1 种碱金属元素， M^{II} 为从铍和镁中选出的至少 1 种 2 价金属元素， M^{III} 为从铝、镓、铟和铊中选出的至少 1 种 3 价金属元素，A 为至少 1 种金属氧化物，X 为从氯、溴和碘中选出的至少 1 种卤素，X'、X'' 和 X''' 为从氟、氯、溴和碘中选出的至少 1 种卤素，a 为 $0 \leq a \leq 2$ ，b 为 $0 \leq b \leq 10^{-2}$ ，c 为 $0 \leq c \leq 10^{-2}$ ，而且 $a+b+c \geq 10^{-2}$ ，x 为 $0 \leq x \leq 0.5$ ，y 为 $0 \leq y \leq 0.2$)。

图 9 是表示放射线积累性薄片的立体图，(a)中在支持体 35 的整个面上形成了由所述辉尽性荧光体构成的层 34，(b)中在支持体 35 上，与设在所述生化分析用单元的基板 2 上的孔 3 的排列图案相同地排列了由辉尽性荧光体构成的层 34。

5 特殊地结合固定在本发明的生化分析用单元的多孔材料的细孔表面上的特异结合物质和由放射线标记物质标记的特异结合物质之后，把所述积累性薄片与生化分析用单元叠合，把从放射性标记物质发出的放射线累积在积累性薄片的辉尽性荧光体层 34 中(以下称之为曝光)。

10 检出记录在积累性薄片的辉尽性荧光体层 34 中的放射性标记物质的信号(以下称图像)的方法如下，不过，并不仅限于此。

图 10 是表示读取记录在辉尽性荧光体层 34 中的放射性标记物质的图像并生成图像数据的图像读取装置的一例的立体示意图。该图像读取装置备有发出波长 640nm 的激光 44 的第 1 激光激发光源 41、发出波长 532nm 的激光的第 2 激光激发光源 42、和发出波长 473nm 的激光的第 3 激光激发光源 43。在本实施例中，第 1 激光激发光源 41 是由半导体激光光源构成，第 2 激光激发光源 42 和第 3 激光激发光源 43 是由二次高谐波产生 (Second Harmonic Generation) 元件构成的。

20 从第 1 激光激发光源 41 发出的激光 44 经视准透镜 45 变成平行光之后，由反射镜 46 反射。从第 1 激光激发光源 41 发出并经反射镜 46 反射的激光 44 的光程中，设置了透过 640nm 的激光并反射波长 532nm 的光的第 1 二色镜 47、和透过 532nm 以上波长的激光并反射 473nm 波长的光的第 2 二色镜 48，由第 1 激光激发光源 41 发出的激光 44 透过第 1 二色镜 47 和第 2 二色镜 48，经反射镜 49、52、53 改变方向后入射到光学头 55。

25 另一方面，由第 2 激光激发光源 42 发出的激光经视准透镜 50 变成平行光之后，由第 1 二色镜 47 反射，其方向改变了 90°，并透过第 2 二色镜 48，入射到光学头 55。另外，从第 3 激光激发光源 43 发出的激光，经视准透镜 51 变成平行光之后，由第 2 二色镜 48 反射，其方向改变了 90° 之后，入射到光学头 55。

30 光学头 55 备有反射镜 56、中央部分形成了孔 57 的开孔反射镜 58 和

凸透镜 59，入射到光学头 55 的激光 44 经反射镜 56 反射，通过开孔反射镜 58 上形成的孔 57 和凸透镜 59，入射到在载置于载物台 60 的玻璃板 61 上的已经担载有荧光图像的辉尽性荧光体层 34 上。在图 10 中，辉尽性荧光体层 34 是朝下载置在载物台 60 的玻璃板 61 上的。

- 5 从辉尽性荧光体层 34 发出的荧光 65 经凸透镜 59 变成平行光，由开孔反射镜 58 反射，入射到凹面镜 66 上。入射到凹面镜 66 的荧光 65 在凹面镜 67 集束。由凹面镜 67 集束的荧光 65 由凹面镜 67 反射，入射到滤光片单元 68，截取预定波长的光，入射到光电倍增管 69，进行光电检出。由光电倍增管 69 光电检出所生成的模拟图像数据经 A/D 转换器 70
- 10 转换成数字图像数据，送往图像数据处理装置 71。尽管在图 10 中没有示出，光学头 55 构成为可以移动以由扫描机构扫描辉尽性荧光体层 34 的整个平面，因此激光 44 可扫描整个辉尽性荧光体层 34。

实施例

15 (1)具有贯通孔的基板的制作

在大小为 80mm×80mm、厚度 100 μ m 的 SUS304 薄板(基板材料薄板)上，用蚀刻形成孔径 0.2mm 的开口部分为圆形的微细孔，其孔节距为 0.3mm，孔间隔为 0.1mm，每 10×10 个为一组，共计形成 6400 个。

(2)多孔性结构体的形成

20	尼龙 66(Aldrich 化学品公司制)	14 份
	甲酸	66 份
	水	20 份

把上述材料均匀溶解，调制多孔性结构体形成用材料的溶液。在该溶液的稳定溶液状态下，用浇铸涂布机在聚酯基板薄片上流延，直到干燥

25 膜厚达 160 μ m。然后，马上把该基板薄片浸渍到装满 40%甲酸水溶液的凝固槽中，在膜中形成多个微细孔。其后，水洗、干燥，把膜从聚酯基板薄片上剥离，得到多孔性结构体(多孔膜片)。多孔性聚合物的微细孔的平均孔径为 0.5 μ m。

(3)生化学分析用单元的形成

30 把由(2)得到的多孔性结构体与由(1)得到的基板叠合，送入加热至

150°C 的压辊和支撑辊之间，用 20kgf/cm² 的压力施压，将多孔结构体压入基板的孔中得到生化学分析用单元。

(4)生化学分析用单元的评价

5 在由所述实施例得到的生化学分析用单元的多孔性结构体区域，用通常的方法通过点接固定单链核酸片段(特殊结合物质)后，把该生化学分析用单元浸渍到在与该特殊结合物质显示互补性的单链核酸片段上附有放射性标记的试样(放射性标记特殊结合物质)的水溶液中，进行杂交。把生化学分析用单元从水溶液中取出，水洗，干燥。接着，与积累性荧光体薄片叠合，在室温下进行自动射线照相术操作。对该积累性荧光体，用
10 放射线图像信息读取装置读取放射线图像，生化学分析用单元的多孔性结构体区域（放射性标记特异结合物质通过杂交结合固定在特异结合物质上的区域)以高分辨且高感度得到了的放射线图像。

根据本发明的生化学分析用单元的制造方法，在由不透过放射线或/和光、或者使其衰减的材料所形成的基板上设置多个孔，进而在所述多个
15 孔中填充吸附性材料来制造生化学分析用单元中，一边连续输送带状开孔基板和带状吸附性材料，一边叠合加压所述基板和所述吸附性材料，把所述吸附性材料连续地填充到所述基板的孔内，因此可以连续、有效地制作生化学分析用单元。由此得到了通过检出特殊结合物质与来自于生物体且经标记的物质结合时所发出的放射线或光进行生化学分析时，
20 可以防止放射线或光的散射导致的杂波而且可提高分析精度的生化学分析用单元。

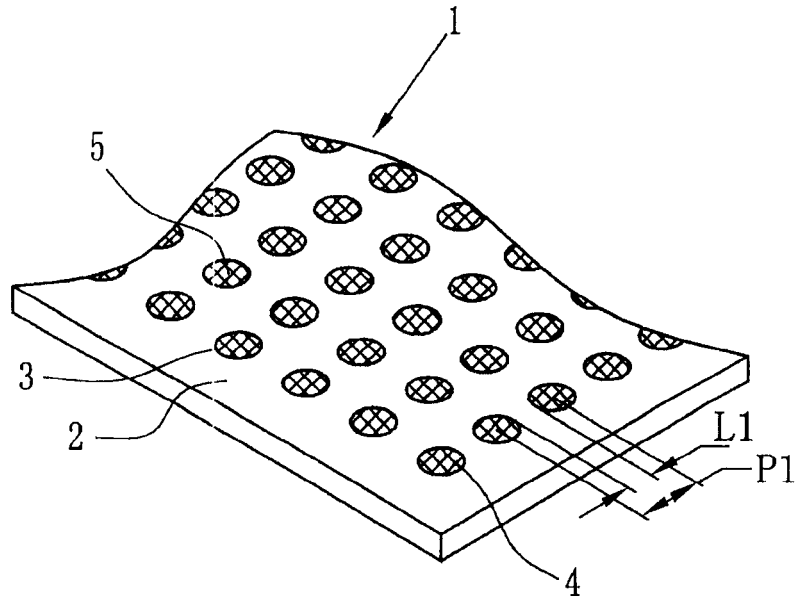


图 1

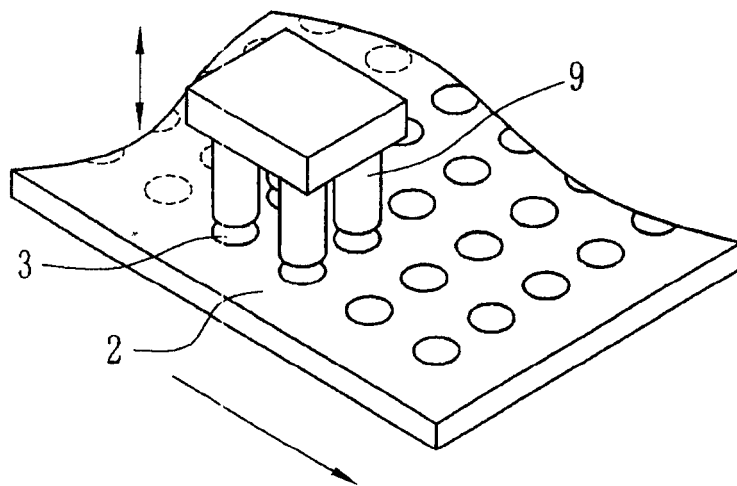


图 2

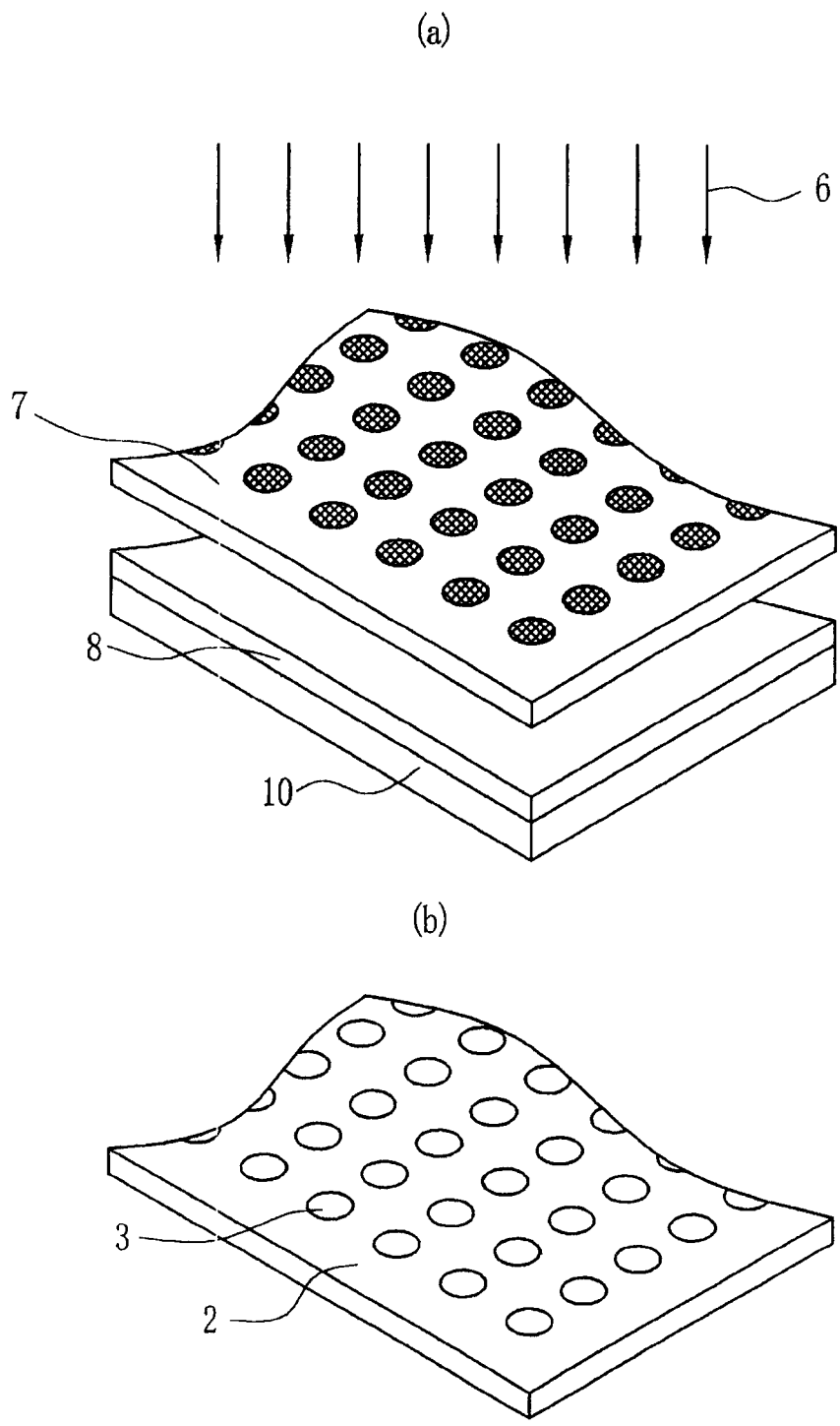


图 3

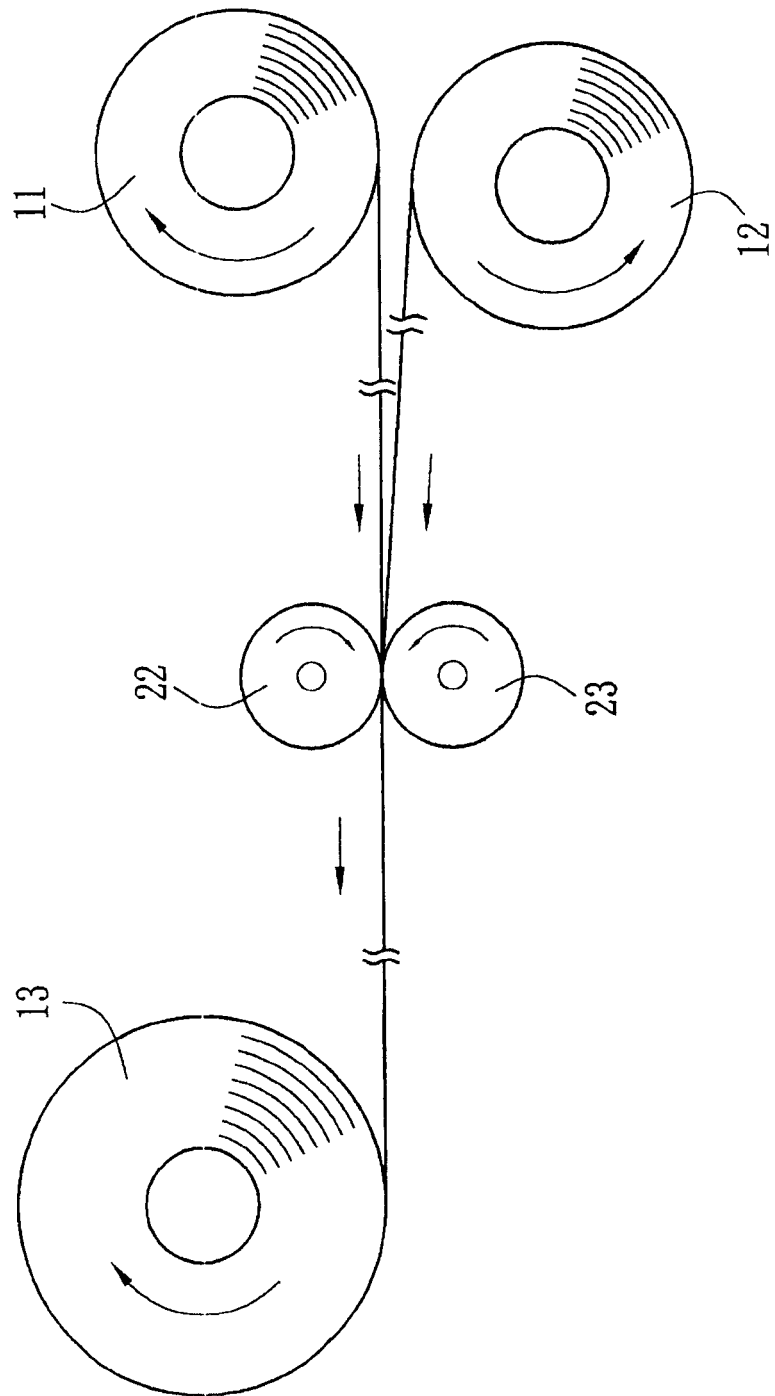


图 4

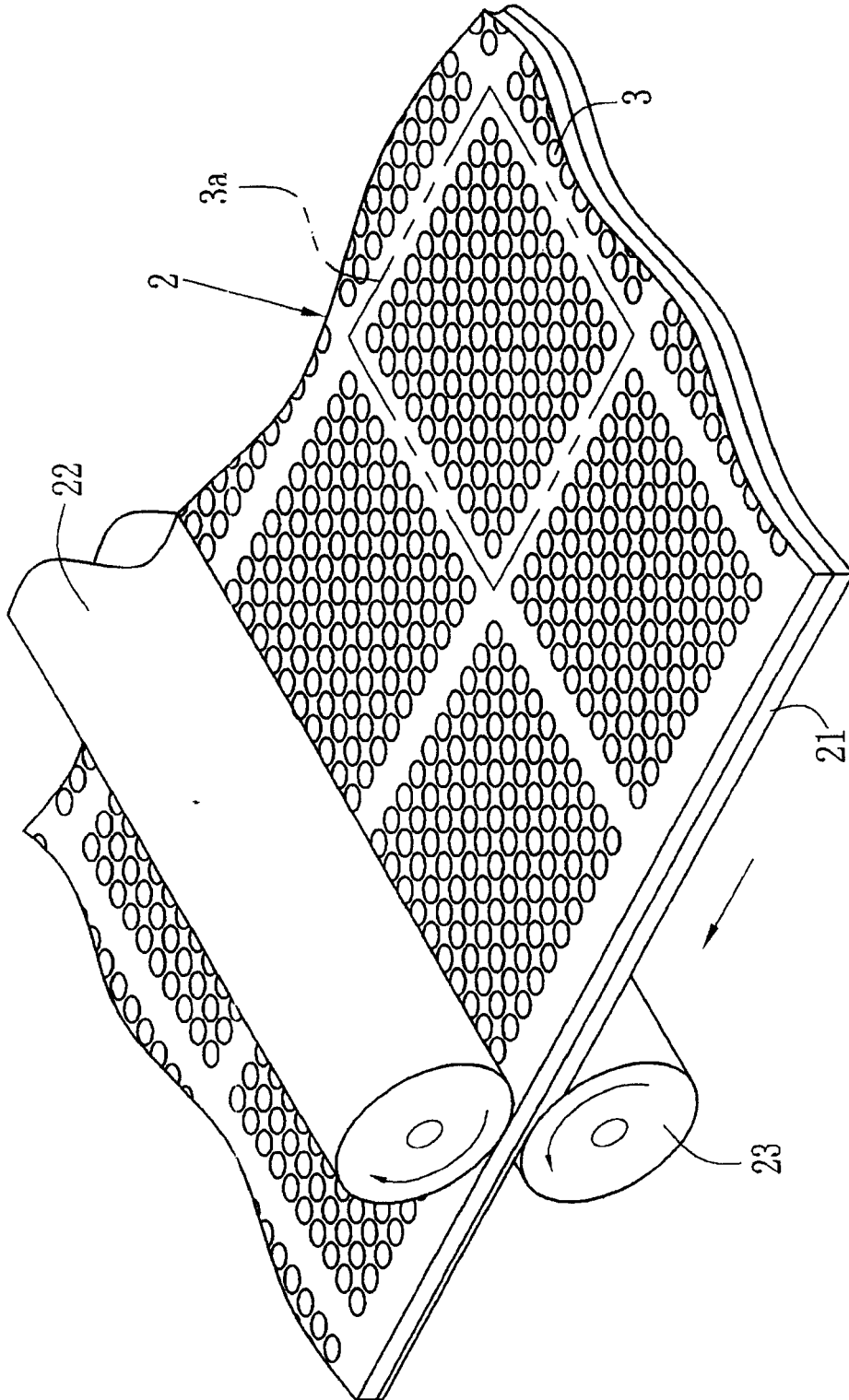


图5

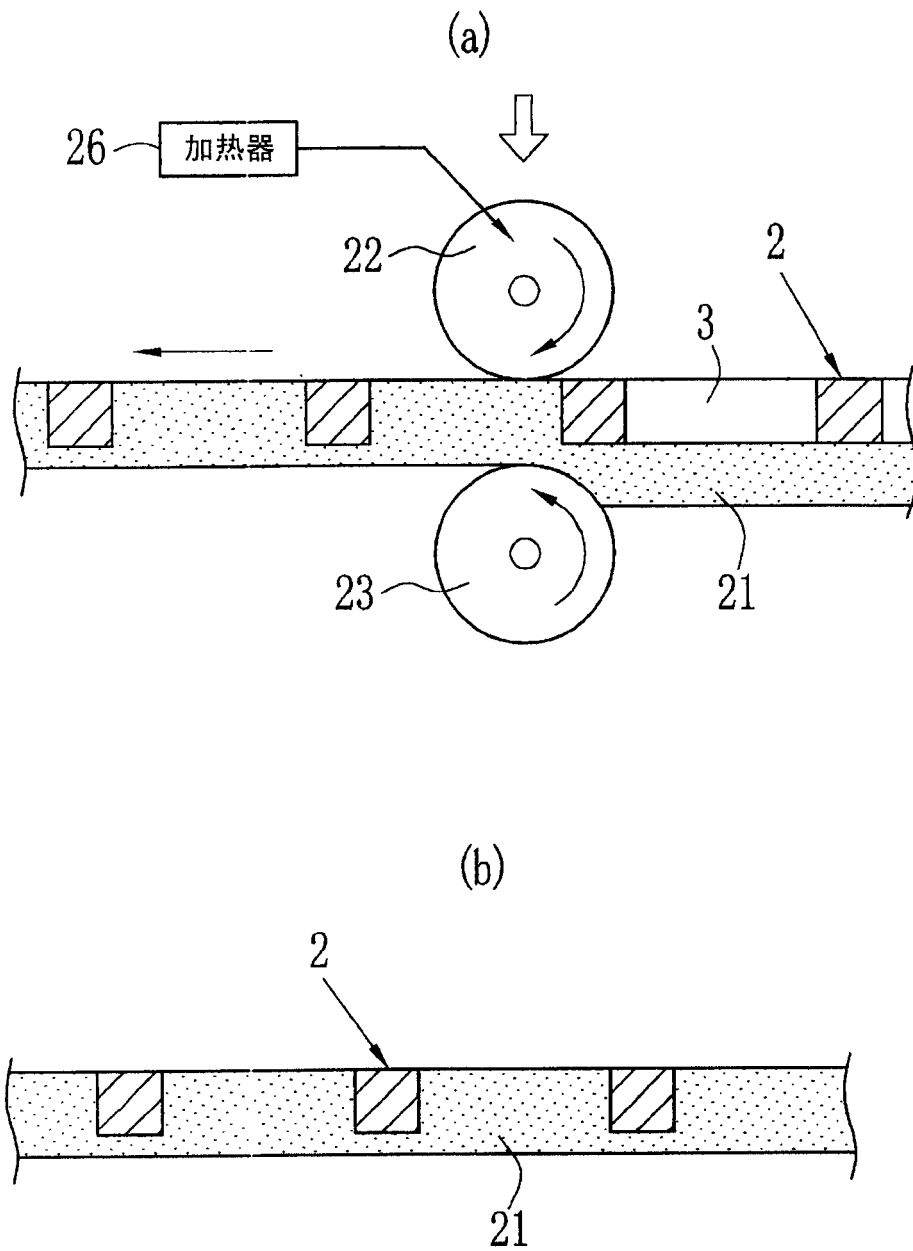
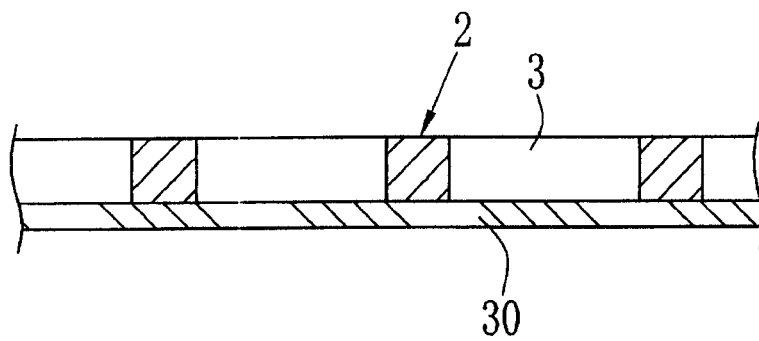
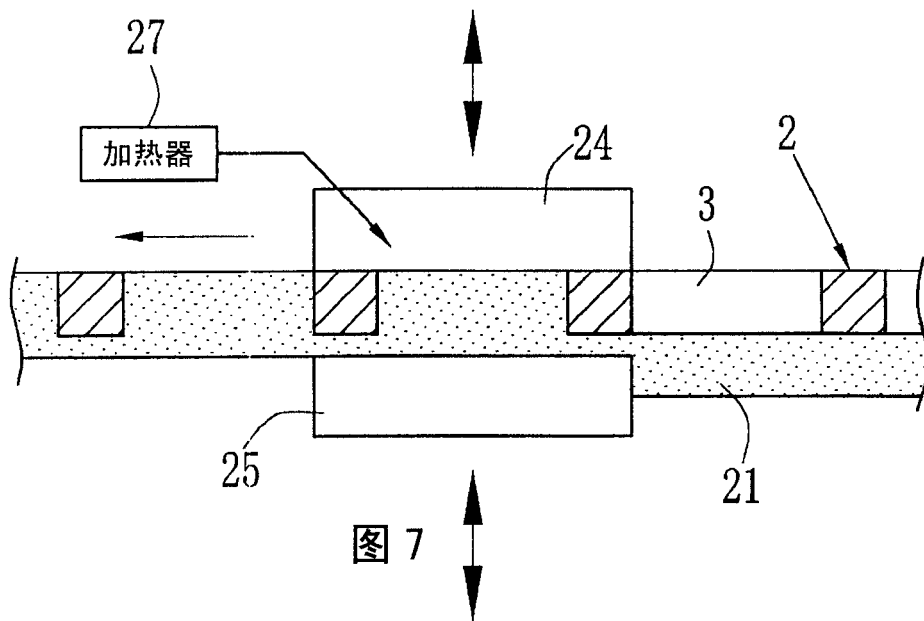


图 6



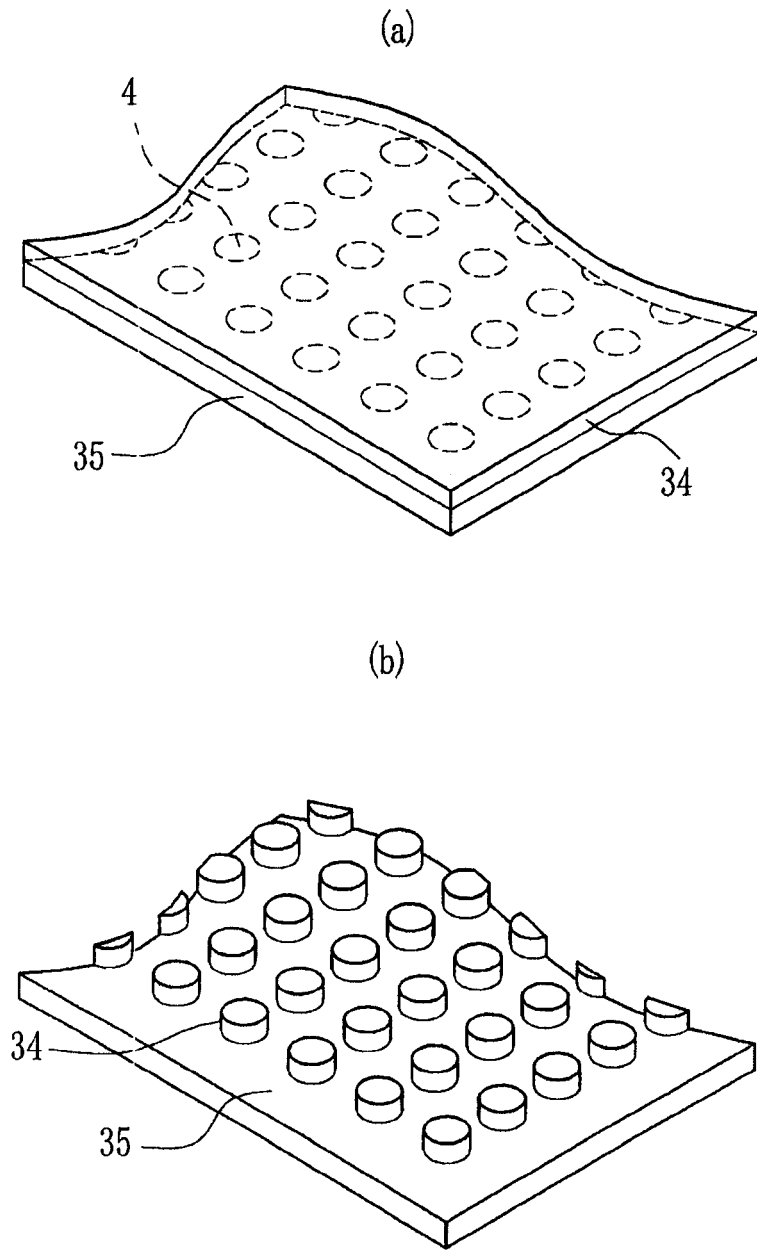


图 9

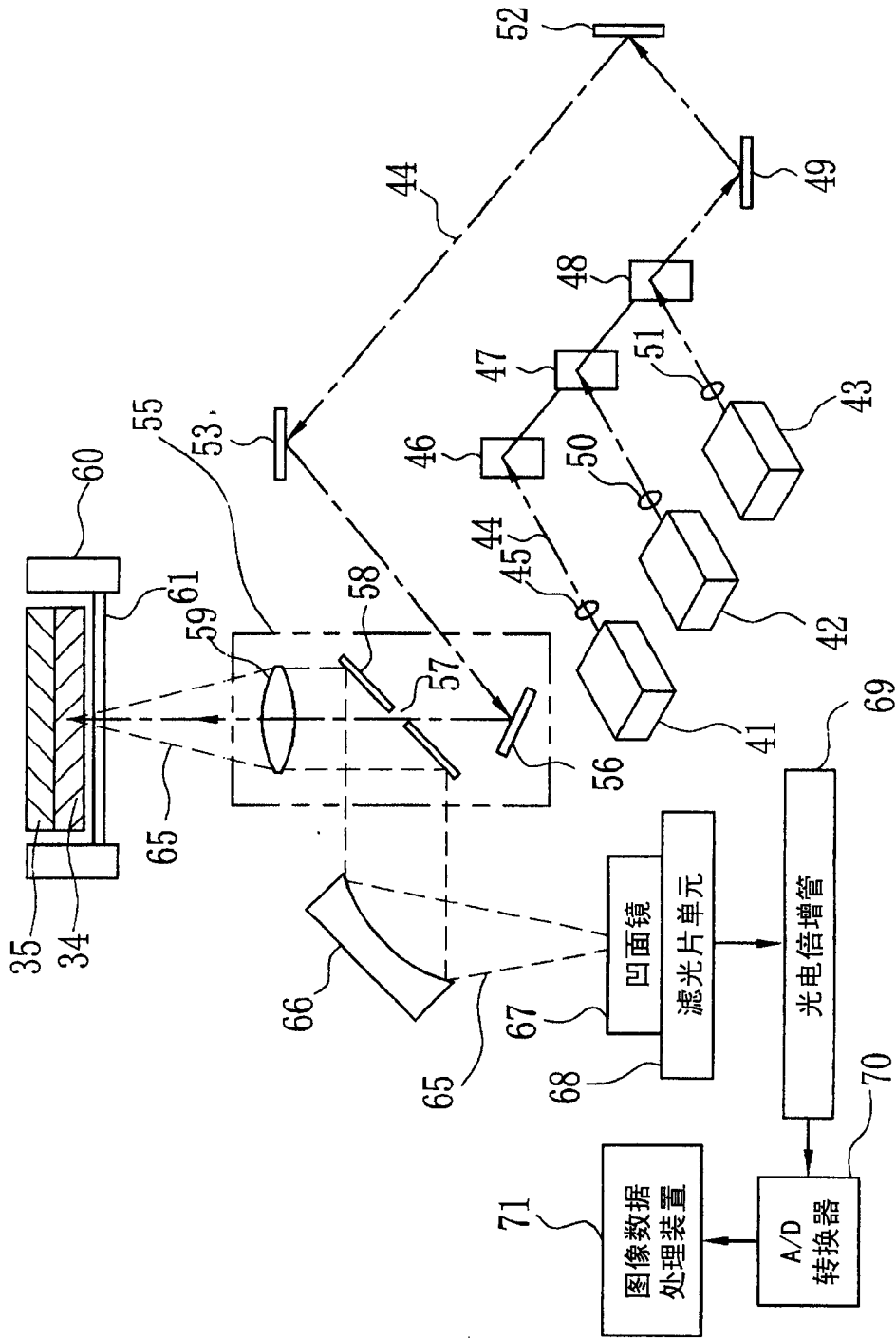


图 10

专利名称(译)	生化分析用单元的制造方法		
公开(公告)号	CN1435490A	公开(公告)日	2003-08-13
申请号	CN03103416.0	申请日	2003-01-28
[标]申请(专利权)人(译)	富士胶片株式会社		
申请(专利权)人(译)	富士胶片株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	富士胶片株式会社		
[标]发明人	嘉藤彰史 中嵩贤二		
发明人	嘉藤彰史 中嵩贤二		
IPC分类号	B01J19/00 B29C59/04 B32B3/12 G01N21/64 C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/68		
CPC分类号	B01J2219/00722 Y10T156/1084 B01J2219/00574 B01J2219/00585 B01J2219/00677 B01J2219/00578 B01J19/0046 B01J2219/00387 Y10T156/107 B01J2219/00527 G01N21/6452 B29C35/0894 B01J2219/00378 B01J2219/00596 Y10T156/1741 B01J2219/00576 B29C59/046 B32B3/12 B01J2219/00644 G01N21/6428		
代理人(译)	朱丹		
优先权	2002024233 2002-01-31 JP		
其他公开文献	CN1294275C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种生化分析用单元的制造方法，首先制造长条带状的降低透光率的基板，并在该基板上以高密度形成孔。把基板做成辊(11)状。把脂肪族聚酰胺溶解于溶液，制造长条带状的多孔膜。把该多孔膜做成辊(12)状。一边输送辊(11)和辊(12)一边由辊(22、23)连续压制。可以把多孔膜加压填充到基板的孔中。把该基板卷成填充辊(13)。通过采用长条带状的基板可以连续制造在多孔中一次性地填充多孔膜的生化分析用单元。

