

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-148080

(P2005-148080A)

(43) 公開日 平成17年6月9日(2005.6.9)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

GO 1 N 35/04

GO 1 N 33/53

GO 1 N 33/545

GO 1 N 33/552

GO 1 N 35/10

F I

GO 1 N 35/04

G

テーマコード (参考)

2 GO 58

GO 1 N 33/53

M

GO 1 N 33/545

Z

GO 1 N 33/552

GO 1 N 37/00 1 O 2

審査請求 有 請求項の数 25 O L (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2005-20420 (P2005-20420)

(22) 出願日 平成17年1月27日 (2005.1.27)

(62) 分割の表示 特願平9-526049の分割

原出願日 平成9年1月8日 (1997.1.8)

(31) 優先権主張番号 08/586, 116

(32) 優先日 平成8年1月16日 (1996.1.16)

(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 591028256

ベックマン コールター インコーポレイ  
テッドBECKMAN COULTER, INC  
ORPORATED

アメリカ合衆国 92834-3100

カリフォルニア州 フラトン ピーオー  
ボックス 3100 ハーバー プルバー  
ド 4300 エヌ4300N. Harbor Boulev  
ard Fullerton, Calif  
ornia 92834-3100 U.  
S. A.

(74) 代理人 100070024

弁理士 松永 宣行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ロボット支持のバイオアレイによる分析生化学装置

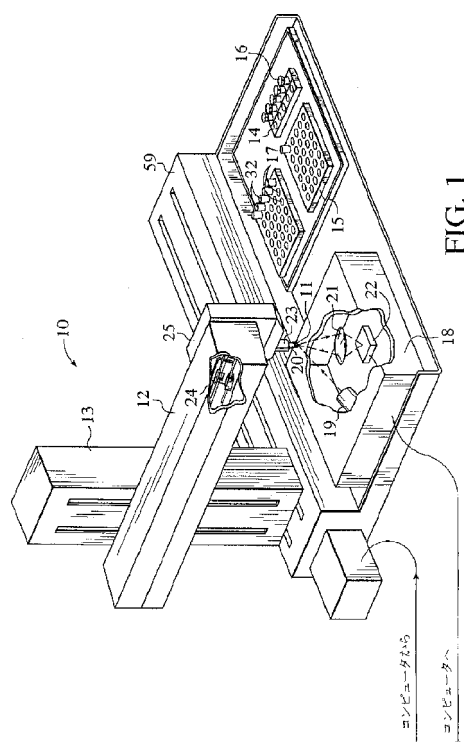
(57) 【要約】

【課題】種々の科学的及びその他の検出計画に迅速に適合する標的生体分子のために試料の迅速な評価の方法及び装置を提供すること。

【解決手段】本発明の試料中の標的生体分子の存在を検出する装置は、間隔をおいて固定される別個の反応物であって少なくとも1つの反応物が検出可能な指標を有する結合複体を形成するように標的生体分子と反応する反応物で処理され、多数の間隔をおいて配置された活性部位を有する基質を形成する支持面と、前記基質を支持するためのホルダと、前記試料の検出可能な指標のために間隔を置かれた活性部位を検査する手段を有する検査台と、前記ホルダを前記試料との接触のために運びまた該ホルダを前記検査台に運ぶマニピュレータとを備え、

前記マニピュレータは表面を有し、前記基質はこの表面を利用して前記マニピュレータに直接形成される。

【選択図】 図1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

間隔をおいて固定される別個の反応物であって少なくとも 1 つの反応物が検出可能の指標を有する結合複体を形成するように標的生体分子と反応する反応物で処理され、多数の間隔をおいて配置された活性部位を有する基質を形成する支持面と、前記基質を支持するためのホルダと、前記試料の検出可能の指標のために間隔を置かれた活性部位を検査する手段を有する検査台と、前記ホルダを前記試料との接触のために運びまた該ホルダを前記検査台に運ぶマニピュレータとを備え、

前記マニピュレータは表面を有し、前記基質はこの表面を利用して前記マニピュレータに直接形成される、試料中の標的生体分子の存在を検出する装置。

10

## 【請求項 2】

固定の近接した既知の位置に配置された多数の試料溜めを有し、前記マニピュレータが前記試料ホルダおよび前記検出台に関して可動のロボットアームを備える、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 3】

前記ホルダはピペッターを備える、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 4】

前記ロボットアームはクロスビームを支持する可動タワーを備え、前記ホルダは前記クロスビームによる片持ち支持を受ける、請求項 2 に記載の検出装置。

## 【請求項 5】

前記基質は反応物の直線状の配置を有する、請求項 1 に記載の検出装置。

20

## 【請求項 6】

前記基質は反応物の分割された直線状の配置を有する、請求項 5 に記載の検出装置。

## 【請求項 7】

前記基質は広範な反応物のセグメントを有する、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 8】

前記基質は前記マニピュレータに取り付けられる前に反応物により予め形成される、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 9】

前記基質は反応物が基質に固定される前にマニピュレータに取り付けられる、請求項 1 に記載の検出装置。

30

## 【請求項 10】

前記反応物は補助 DNA スtrandを含む、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 11】

前記反応物は免疫学的生体分子を含む、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 12】

前記基質はポリプロピレン部材を含む、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 13】

前記基質はガラス部材を含む、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 14】

前記反応物は生重合体合成により前記基質に定着される、請求項 1 に記載の検出装置。

40

## 【請求項 15】

前記反応物は、前記基質を形成するために固体支持部材の分割及び該部材の支持面への取り付けの後、生重合体合成により固体支持部材に定着される、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 16】

前記基質は該基質上の離れた既知の位置に配置された反応物を有する、請求項 1 に記載の検出装置。

## 【請求項 17】

前記反応物は可動のノズルを介して前記基質に分配される、請求項 16 に記載の検出装

50

置。

【請求項 18】

前記反応物は共有結合を介して前記基質に取り付けられる、請求項 1 に記載の検出装置。

【請求項 19】

前記反応物は物理的吸着を介して前記基質に取り付けられる、請求項 1 に記載の検出装置。

【請求項 20】

前記検査台は、前記基質に光ビームを当てる手段と、前記基質から発せられる光信号を集める光コレクターと、該光コレクターから集められた信号を検出する検出器とを備える、請求項 1 に記載の検出装置。 10

【請求項 21】

前記検出器は蛍光検出器からなる、請求項 20 に記載の検出装置。

【請求項 22】

前記検査台は吸光度を測定する検出器に向けて前記基質を通過するビームを有する、請求項 1 に記載の検出装置。

【請求項 23】

前記検査台は拡散反射率を測定する検出器により前記基質に当てられるビームを有する、請求項 1 に記載の検出装置。

【請求項 24】

前記検査台は光散乱を測定する検出器により前記基質に当てられるビームを有する、請求項 1 に記載の検出装置。 20

【請求項 25】

化学発光を測定する検出器により前記基質に当てられるビームを有する、請求項 1 に記載の検出装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、反応物アレイを支持する試料ホルダのために、ロボットの支援により試料中の標的生体分子の存在を検出する方法及び装置に関する。 30

【背景技術】

【0002】

試料中の標的生体分子、特に多数の標的生体分子の検出のための検定は、しばしば、検出可能の複体を形成するために目標と干渉する固定反応物を有するテストスライド、膜又は他の物体にある量の試料を加えることによって行われる。前記固定反応物は、通常、試料をもってくる位置である固定位置に配置される。例えば、特許文献 1 は、試料の化学分析のために、アプリケーションが液体試料を取り、固定位置のテストフィルムにその試料を加える生物化学分析装置を開示している。 40

【特許文献 1】米国特許第 5, 139, 743 号明細書

【0003】

標的生体分子及び反応物の複体は、試料及び反応物の適当な温置時間の直後に、または蛍光染料共役分子のような発色薬品が複体と干渉することができる多数の発色ステップの後に、視覚的に検出できる場合がある。例えば、特許文献 2 に記載された検出機構は、テストスライドに塗られた血液の色の変化を光学的に検出することに関係する。

【特許文献 2】米国特許第 5, 296, 194 号明細書

【0004】

米国特許第 4, 877, 745 号は、固定試薬を用意し、試料を固定試薬に加える方法を開示している。特に、この特許は、ジェットヘッドにより固定試薬のアレイを形成する 50

ように、正確に制御された位置の媒体に正確に制御された量の液滴を分配することを開示している。X-Yプロッターは、試薬がある範囲にわたって分配されるようにジェットヘッドを支持すべく変更することができる。

【特許文献3】米国特許第4,877,745号明細書

【0005】

ベックマン社のBiomek 1000及びBiomek 2000のような無人操作の実験室作業端末は、多数の反応物及び多数の試料に関係する検定を自動的に行うために開発された。そのような作業端末は作業端末内の既知の範囲に配置された多数の異なる試料に正確な量の反応物を無人操作で供給するように設計されている。これに代え、作業端末は無人操作で試料を試薬に移すことができる。

10

【0006】

ウエインライト等に付与された特許文献4は、活性化した免疫診断用のピペットチップを開示している。このピペットチップは、試料の標的分子に対する親和力を有する単一のリガンドで被覆された球状のエレメントを収容する。この装置では、テストエレメントは、試料をピペットチップにより吸引することによって該試料に接触させることができる。このピペットチップは、そのサンプル流量に制限があり、これは、ピペットチップは単一のリガンドのみを収容し、したがって試料内の多数の検体の検出を不可能にするからである。

【特許文献4】米国特許第5,171,537号明細書

【0007】

サポーター内の固定検定種と光学的導波管に結合された光収集装置とにより特徴づけられた光学的バイオセンサーもまた知られている。工学的バイオセンサーは、臨床診断におけるようにテスト用流体試料中の特定の種の存在を検出し、その量を測定するために使用される。例えば、特許文献5は、免疫検定及び他のある反応のための工学的バイオセンサーを開示している。他の例として、特許文献6及び7は、光ファイバーの使用を開示している。

20

【特許文献5】米国特許第4,857,273号明細書

【特許文献6】米国特許第5,143,066号明細書

【特許文献7】米国特許第5,401,469号明細書

【発明の開示】

30

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明の目的は、種々の科学的及びその他の検出計画に迅速に適合する標的生体分子のために試料の迅速な評価の方法及び装置を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、上記の目的を達成するために、標的生体分子の存在を検出する、自動分析のための分析生化学装置を提供する。この装置は、ホルダに支持され、ロボットアームのようなマニピュレータにより運ばれる固体基質を含む。離れた、場所が特定された位置で前記固体基質に固定されているのは、アレイにおける反応物で、該反応物は固定生体分子複体を形成すべく特定の結合反応において標的生体分子と結合することができる。このようなアレイはバイオアレイと称される。試料中の標的生体分子の存在は、ある種のプローブ、例えば蛍光検出器をもつバイオアレイ上に固定生体分子を検出することによって決定される。操作時、マニピュレータは、固体基質面をある量の試料に接触させるようにバイオアレイを移動する。次いで、マニピュレータは、その接触をしたバイオアレイを固定生体分子複体の存否を検出すべく検出台に移動する。これに代わる例では、バイオアレイが固定で、マニピュレータが試料をホルダに移動する。

40

【0010】

好ましい実施例において、バイオアレイは可動であり、マニピュレータにより運ばれる。検出台は、反応物と1又は2以上の試料との干渉が生じた後に固体基質をプローブで検

50

査すべく試料の近くに配置される。

【0011】

異なる標的生体分子に特有な別個の反応物は、好ましくは平らで非多孔質の基質に固定される。これらの反応物は既知の位置における前記基質に多数の活性部位を形成する。前記基質は、分離可能のスポット又はバンドを形成する直線的に配列された反応物を有する平らなストリップとするか、面積の広い反応物の配置を有しかつ二次元アレイにスポット又はドットを形成する平らなシートとするか、または、ストリップに同様に配置された基質を持つファイバー又はロッドとすることができる。

【0012】

ホールダは、バイオアレイを支持し、基質を固定試料の位置へ、次いで検出装置へ移送するマニピュレータに支持される。前記したように、基質は固定され、試料が移動される。ホールダの1つの例はピペット又はピペットチップであり、その内部にバイオアレイが取り付けられる。試料は、球部又は真空ポンプからの吸引又はプランジャーの引きにより、ピペットチップ内に引き込まれる。試料は、こうして基質と接触状態に置かれ、試料中に存在する何れの標的生体分子も基質上の適当な活性部位と干渉することができる。適当な温置又は反応時間の経過後、試料は空気圧又はプランジャーの作動によりピペットから排出される。

10

【0013】

有用なホールダの他の例は、先端を切ったような形のピペットチップに似ておりかつ基質を支持するためのブラケット又は平らな表面を有するピペットアダプターである。このピペットアダプターは、ホールダと試料とを接触させるために、マイクロタイターの溜め又はバイアル内の試料中に直接置かれる。ピペットアダプター及びこれに伴う基質は次いで試料から検出台に移動される。本発明に係る種々のホールダは、標準的なピペッティングツールを採用することができる。ホールダはまた最少量の試料を必要とするように、また、ホールダにより最小限の干渉で基質の光学的検査を可能にするように設計されている。

20

【0014】

試料中の標的生体分子の検出方法は、アレイすなわちバイオアレイを形成する一定の既知位置における基質に固定される試薬を造るために多数の別個の反応物で基質を処理することを含む。この反応物は、蛍光サインのような検出可能で同定可能の指標を有する複体を形成すべく1又は2以上の分子を結合するために選択される。バイオアレイはホールダに指示される。他方、ホールダは固定された試料との接触のために基質を移動させ、次いで非拘束の生体分子を除去すべく他の位置で基質を取り除きかつすぐマニピュレータにより取り上げることができる形状を有する。次いで、マニピュレータは、光学的に検出可能の指標を検出することにより標的生体分子の合併症を決定するために、ビームにより基質の活性部位をプローブで検査するための工学的検査位置であるプロービング台に基質を移動する。

30

【0015】

検査は、蛍光、光散乱、吸光度、拡散反射率、化学発光、放射能放出、導電度又は電離特性の検出を含む。基質の性質によっては透過光の検出も可能である。

40

【0016】

プロービングの前に、発色薬品、蛍光染料等による処理のような相補性の視覚化又は認識を高めるための中間ステップが必要とされることがある。ピペットチップ内の基質の光学的検査は、ピペットチップの光学的表面の使用によって可能である。ピペットチップでの光学的検査には妨げがない。

【0017】

ピペットチップタイプ又はピペットアダプタータイプの基質ホールダを掴むロボットアームの形を取るマニピュレータは、バイオアレイを試料に接触させて置き、その後、バイオアレイを検出装置に移す。多段の試料移送が省かれる。ロボットアームの運動、温置時間及び検出された基質からの信号の分析又は表示を制御するコンピューターの使用が好ま

50

しい。自動化された装置は、検出装置を含み、該検出装置は1つの実施例において基質の活性部位、基質から発せられた信号を集める光コレクター及び光電子増倍管又はCCDアレイのような検出器に当たる励起ビームを発するレーザー源を含む。これに代え、試料及び基質化学の必要条件次第で多数の検出装置を備えてもよい。励起ビーム及びバイオアレイの相対運動は、基質を支持するロボットアームにより又は検出装置の励起ビーム路内のガルボミラーのような光学素子を走査することにより生じる。

#### 【0018】

本発明において使用される基質は、オリゴヌクレオチドアレイ、ペプチドアレイ又は免疫化学的アレイであり、また、小スライドのような別個の部材上に造られ、ホールダに取り付けられ又はホールダ上に直接造られる。バイオアレイを造ることは、固相部材上での生重合体合成か、例えばインクジェット印刷に使用されるタイプのような可動ノズル又は他の手段による反応物の沈積を経る。反応物は、特定の又は不特定の共有結合、物理的吸着又は他の形の接着により部材に取り付けられる。標的生体分子及び固定反応物の干渉又は錯化は、親和力結合、イオン結合、吸着又は他の合理的取付方法によることができる。

#### 【0019】

本発明は、生体分子の存在について試料を迅速かつ容易に評価するための、簡単で高度に適応可能の方法及び装置を提供する。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0020】

図1を参照するに、可動のバイオアレイを使用する装置10が示されている。特に、ロボットアーム12はホールダ20を支持し、該ホールダはバイオアレイ11に適合しかつ該バイオアレイをマイクロタイタープレート15の溜め17又はラック14のバイアル16中の試料へ運ぶ。ロボットアームは使用できるマニピュレータの1つであるが、機械的可動部のような他の簡単なマニピュレータを使用することもできる。マニピュレータの好ましいタイプはベックマン社のBiomek(商標名)である。後に説明するように、バイオアレイ11の基質の部分は、非常に小さい支持域を有するホールダに取り付けられている。バイオアレイ及び試料が基質上の反応物と試料中に存在する標的生体分子との干渉のための十分な温置又は反応時間を経た後、ロボットアーム12は基質11を装置10の検出装置18に移す。

#### 【0021】

図1において、検出装置である光学検査台18は、レーザー19、光コレクタ21及び検出器22を示す破断部内に示されている。検出台18及びロボットアーム12の双方はコンピュータ(図示せず)に取り付けられており、該コンピュータは、ロボットアームの運動のための命令を発し、特定の標的生体分子が存在するかどうかを決定するために分析されかつ表示される検出台からの信号を受ける。基質自体はホールダ20内に支持され、該ホールダはピックアップ軸23又は他の結合手段により片持ちのロボットアーム12に結合されている。タワー13、アーム12及び装置10のベース59におけるトラックは、ロボットアーム12内の制御装置24と同様に、X、Y、Zの動きすなわち3方への自由度をもって試料及び検出台18に関してピックアップユニット25を位置決める。広範な動きが、ベース上でデスクトップのサイズで得られる。多くの試料溜めが、反応物が基質に吹きかけられ、さもなければ加えられる近くの位置への運動によって処理される、処理済み又は未処理の基質を有する多数の基質ホールダと同様に到達される。

#### 【0022】

図2は、バイオアレイ11の支持部分として直線状に配置された基質を示し、活性部位30はストリップ状を呈する基質28に沿うバンドを形成している。図3において、面積の広い処理された基質は、平らなシート基質に活性部位を二次元的に配置することによって造られる。活性部位30は前記の例のように基質28上に間隔をおいて配置される。活性部位30は図2に示すようにバンド状とすることができ、図3に示すようにスポット状とすることができ、さらに他の形状とすることもできる。スポットは既知の位置にあり、標的生体分子に対して特定している。図2に示す多数の直線状の基質は、二次元バイオア

10

20

30

40

50

レイを造るために平行に配置されてもよい。基質のサイズは、代表的には一辺が数センチメートルで、これより小さくすることも、大きくすることもできる。

【0023】

例として、活性部位を形成する反応物は、DNAハイブリッド形成による検出のための補足的なDNAストランドからなり、あるいは抗原抗体複体の形成のような免疫学的複合による検出のための免疫学的生体分子からなる。

【0024】

図4は、バイオアレイを試料に供するために使用される基質ホルダの1つを例示している。ピペットチップ27が、内壁に沿って長手方向に支持された基質11と共に示されている。基質は、ピペットチップの内壁に沿って配置されることが好ましく、ピペットチップは基質の光学的検査を可能とする光学ガラス又はプラスチックからなり、また、基質はピペットチップの内側に配置される。試料は、吸引によりピペットチップ内に引き込まれ、基質11と干渉することができる。ピペットチップ27は、正確な光学的検査のために、好ましくは少なくとも1つの平らな表面、すなわち基質と対向する表面を有する。この特徴と細い穴は、必要な試料の量を最少限にし、試料と基質とを近接させるのに役立つ。ピペットチップ27はゴム球、真空ポンプ、図1のロボットピペッター又は他の装置と関連して使用される。この明細書における用語「ピペットチップ」は、簡単な吸引装置と関連して操作するように設計された長い筒状のガラス又はプラスチックのピペットを含むことを意味する。

10

【0025】

図5は、基質11が図4の実施例におけると同様にプランジャータイプのピペットチップ内に収容されている基質ホルダの第2の実施例を示す。ピペットチップ29もまた細い穴と平らな表面とを有する。試料は、プランジャー31の引きを介してプランジャータイプのピペットチップ29中に引き込まれる。試料の積極的な置換がプランジャー31の押し又は他の流体の操作によりピペットから試料を排出するために使用される。図5の実施例は、図示のピペットチップがピペットツールから切り離されるときに試料がピペットチップから出ない点で図4の実施例より有利である。

20

【0026】

図6ないし図9の基質ホルダは、一端のブラケット33を特徴とするピペットアダプター32の形態を取る。ブラケット33は、バイオアレイの一部である基質の端部を支持する、第8図から明らかな対向する突出部36a, 36bを有する。ブラケットを有するピペットアダプターは、その他端にロボットの又は標準的なピペットツールと結合するためのカップラー37を有する。

30

【0027】

図8において、カップラー37は、摩擦結合のような適当な固定機構によりロボットの又は標準的なピペットツールの円錐軸と結合する中空円錐体として示されている。しかし、多くの異なるタイプのカップラーを使用することができる。もちろん、ピペットアダプター32はカップラーなしでもよいが、その場合、ピペットアダプターを操作するためにグリッパー又は他の手段を備えることが好ましく、これにより、例えば、ピペットアダプターは試料溜めの内外に容易に出入りすることができる。

40

【0028】

バイオアレイは活性部位が下方に面するように向けられることが好ましい。こうして、ピペットアダプターが図10に示すように試料溜め内に置かれるとき、基質の活性部位と試料との接触は容易になる。ピペットアダプター32は図6ないし図9に示すように、ブラケット33の各突出部にノブ35を設けることが好ましい。ノブは試料溜めのわずかな上方に基質を配置し、処理された基質を物理的摩擦や汚染から保護する。このノブなしに溜めにピペットアダプターを置くことは、溜の底部近くに基質を押し、基質の面から試料を排除し、試料と基質の適当な接触及び干渉を妨げる。ブラケットを備えるピペットアダプター32は、該ピペットアダプターの間部分またはブラケットのベースに配置されるリング状又はディスク状の気化バリアー34を含むことが好ましい。ある種の試料は容易に

50

気化するので、気化バリアー 34 を設けて基質と試料の温置時間中試料を保護することが好ましい。図 10 において、気化バリアーである気化リング 34 は、ピペットアダプター 32 が溜め 17 中に挿入されたときの試料 38 の露出を制限する。ピペットアダプター 32、特にそのブラケット 33 の直径は、図 10 にも示されているように、マイクロタイタープレートの溜め内に容易に嵌まるよう十分に小さい。

#### 【0029】

図 9 は、ブラケットを備えるピペットアダプター 32 の端面図である。この図は、図 6 の線 9-9 に沿って矢印の方向へ見た図である。この端面図から、基質 11 が下方に面する向きにあることを明確に見ることができる。図 9 の基質は直線的に配置されているが、分割されている。ストリップ 11a、11b、11c は、全体に平行に配置され、ブラケット 33 の突出部 36a、36b に取り付けられている。基質の性質及び形状は、試料、アプリケーション及びスペース設計に容易に適応する。図 3 の二次元基質は、ブラケットを持つピペットアダプター 32 に容易に適合する。基質は、接着、溶接、クランプ又は他の試料の試験に干渉しないグリップ手段により突出部 36a、36b に支持される。図 9 の端面図において、気化ディスク 34 は突出部及び基質を越えて見ることができる。

10

#### 【0030】

図 11 ないし図 13 において、平底ピペットアダプター 39 がバイオアレイを支持し移送するために使用されている。平底ピペットアダプター 39 は、図 12 から明らかなように平底面 40 を有し、また、この平底面と反対の端部にピペットアダプターをピペットツール又はロボットアームに結合するためのカップラー 37 を有する。同様に、平底ピペットアダプター 39 は、該ピペットアダプターを手で把持し、基質 11 を試料に移すための簡単な手段を有する。また、平底ピペットアダプターは、ノブ 35 及び気化リング 34 を備えることが好ましい。図 13 において、基質 11 は、図 3 に示されると同様にスポット又はドットの二次元アレイである。図 11 の線 13-13 に沿って見た気化リング 34 は、図 13 に示されており、平底面 40 から離れて配置されている。

20

#### 【0031】

図 14 において、生体分子プローブ台の内部エレメントの詳細が示されている。種々のプローブ方法を使用できるが、光学検出台 18 はその 1 例である。この光学検出台は、図 1 に示されているようなロボットアームを有する分析機械の一部である。ロボットアーム、ピペットツール又は他の基質ホルダは、基質がレーザービームの経路において試料と干渉した後、該基質を位置決める。レーザー 41 は、ピペットアダプター 32 内に支持されている基質 11 の活性部位に衝突するビームを発生する。ビームの波長は、基質に結合された標的生体分子からの放射サインの戻りを生じさせるように選択される。そのようなサインは、蛍光波長の指標バンドのようなビームの放射により励起されるとき、結合された標的生体分子の光学的に検出する指標放射パターンによる。時間ゲート蛍光又は他の光学信号増幅技術が適宜使用される。レーザーからの入射ビームは基質とビームとの相対的な運動により処理された基質の活性部位を横切って走査される。活性部位から発せられた光は、光コレクター 42 により集められ、検出器 43 に向けられ、該検出器は、光電子増倍管、CCD アレイ又は他の検出装置であり、また、基質から受けた信号の分析又は表示のためにコンピュータと関連させることが好ましい。波長選択フィルタのような付加的な光学エレメントが、指標放射サインにより求められる入射ビーム又は反射光のいずれかに配置される。走査は、ガルボミラー、多角形ミラーのような走査反射鏡を使用してレーザービームに対して基質を相対的に移動することによって行われる。これに代え、レーザービームの面積はアレイの全面積が同時に照射されるように拡大され、走査を必要としないようにすることもできる。

30

40

#### 【0032】

バイオアレイは、試料中の標的生体分子により基質の活性部位における反応物の複合程度を決定するためにビームにより光学的に検査される。光学的検査は、蛍光信号、拡散反射率、吸光度、光散乱及び化学発光についてである。光学装置の詳細は検出する信号の性質によって変える。図 14 は、ブラケット付きのピペットアダプター 32 内にあってレー

50



レーザービームに当るように下方に面する基質 11 を示す。検出台のエレメントの配置は、図 1 の検出台 18 の配置例と同様である。いずれの場合にも、ロボットアームは、試料の適当な温置時間後に基質及び関係するブラケット付きピペットアダプターを検出台に移す。ロボットアームは、基質をこれがレーザービームに対して垂直に又は他の方向へ向けられるように移すことができる。また、経路励起のためのレーザー源は、基質と衝突するために示されたとは別様に配置される。光ファイバーがビーム又は信号を指向するために使用される。

#### 【0033】

図 15 は、ピペットチップ内の基質を検査するための検出装置を示している。ピペットチップ 27 は光学検査を妨げないように光学的表面を有する。レーザー 41 からのビームは基質 11 に衝突し、基質から発した信号は、光コレクター 42 により集められ、検出器 43 に送られ、該検出器はその後の分析のために信号をコンピューターに送る。レーザーからの励起ビームは、ピペットチップの壁を介して基質に当たる。

10

#### 【0034】

図 15 の矢印 A は、基質の走査方法の一例、すなわちロボットアーム又は他の機構を介してピペットチップに垂直方向の動きを与えることによる走査方法を示している。図 16 において、ピペットチップ 27 内の基質 11 は、該基質を走査するように B 方向へ回転できる走査反射器 44 を介して入射レーザービームにより走査される。図 1 の装置 10 のような自動装置は、基質のために使用されるマニピュレータのタイプ、基質から読み取られる信号のタイプ、基質及び該基質上の標的生体分子の性質により、ロボットアームが基質を読み取るために移す多数の検出台を有する。

20

#### 【0035】

基質は、固体サポート上での生重合体合成を可とする、図 17 ないし図 20 に示された装置により形成される。基質が直接使用されるか、前記装置により造られた生重合体が基質から隔離され、かつ何らかの所望の方式で他の基質に取り付けられる。図 17 ないし図 20 に示された方法及び装置は、米国特許第 5,429,807 号の主題である。図 17 の装置は、内部に多数の溝又はチャンネル 50 が設けられたプレート面 46 を有する厚いブロックである合成装置 45 である。チャンネル 50 は、該チャンネルを介して試薬を流すための、ブロック 45 の下側の配管 47 に接続されている。図 17 の線 18 - 18 に沿って得た図 18 の横断面図はブロック 45 を経る試薬の流れを一層明瞭に示しており、配管 47 a はチャンネル 50 と連通する入口配管コネクタ 49 に接続されている。配管 47 b は出口配管コネクタ 52 と連通し、該コネクタはチャンネル 50 と連通している。こうして、試薬はいずれのチャンネルを介しても流れることができる。

30

#### 【0036】

合成を行うために、ポリプロピレン活性シートのような固体サポート材料がブロックのチャンネルの頂部に置かれる。支持板がポリプロピレン基質を挟んで使用され、これが可撓性のポリプロピレンにブロック 45 のチャンネル 50 を密閉する。図 19, 20 の支持板 52 は、ブロック 45 の穴 48 と整列された穴 53 を有する。支持板及びブロックは相互に固定される。合成すなわち生重合体合成は、必要であれば基質表面を活性化することにより、また基質に定着される生重合体のストランド形成のためにチャンネルを経て試薬を流すことにより行われる。これは、図 19 に示す生重合体 54 の一次元アレイに帰する。所望であれば、ブロックは基質 55 及び繰り返される方法に関して再配置される。図 20 に示すように、一次元アレイ 54 a, 54 b は、方向を 90° 異にする。重合域 56 は、一次元アレイ 54 a, 54 b のエレメントを有する新たな生重合体をもたらす。図 19, 20 に示された割り出しピン 58 は、アプリケーションに関して基質 55 を位置決めるために使用される。割り出しピン 58 はブロック 45 に穴 57 を有する。得られるアレイはポリプロピレン基質 55 から隔離され、何か他のサポートに取り付けられて使用される。さらに、アレイを有する基質 55 は、図 8, 9 に示すように、分割され、基質 28 に取り付けられる。チャンネル 50 が図示されているが、他の形状を有する試薬の流れのためキャビティを使用することができる。ポリプロピレンを例示したが、ガラス、パイレックス

40

50

(登録商標)、シリコン、ポリスチレンなどの他の基質をPCT出願WO93/09668に示唆されているように合成用のサポートとして使用することができる。

【0037】

図21を参照するに、可動ノズルを使用する、基質を作る他の方法が示されている。サポート28が吹付台内の支持フレーム65に配置されている。吹付台において、ノズル61を有するインクジェットタイプのヘッド60が多数の活性部位を造るべく、サポート28上に反応物を選択的に配置するために使用されている。このようなヘッドは、インクジェット印刷の分野においてよく知られている。本発明においては、このヘッドを基質の所望の位置に反応物を分配するために使用する。必要であれば、基質は反応物を受け、固定するために活性化されてもよい。

10

【0038】

図21において、それぞれがノズル61を有する多数のジェットヘッド60は、矢印Cの方向へ各レール62上を移動することができる。各ジェットヘッド60は異なる反応物を分配する。レール62に沿うジェットヘッド60の運動制御は、コンピューターによって行われる。アレイはアクチュアター63により動かされ、該アクチュアターはアーム64によってサポート28を支持する支持フレーム65を運動させる。アクチュアター63は、ディスクドライブにおいて磁気ヘッドを運動させるために使用されるリニアモーターと同様のリニアモーターである。処理される基質がストリップである場合、位置固定のジェットヘッドが望ましい。

【0039】

図22は、本発明に適用される代表的なインクジェットタイプの分配ヘッドを示す。溜め67中に含まれる反応物は、供給管69を経て圧電ポンプ室66に送られ、該ポンプ室を経てノズル69に送られる。圧電ポンプ室66に供給される電気パルスは該ポンプ室の体積を膨張、収縮させる。パルスを及ぼしたこれを取り除く度に、その膨張及び収縮はノズルから反応物の小滴70を排出する。この反応物分配装置の構成及び作動の詳細は、前記米国特許第4,877,745号に示されている。反応物の分配に加えて、分配ヘッドは、バイオアレイの同定の機械読み取りのためのバーコードパターンを形成するように基質へのインク又は染料の分配のために使用することもできる。

20

【0040】

バイオアレイを用意する他の方法は、印刷方法と類似の方法による。この技術において、検体は、所望の位置における検体スポットのアレイにより非常に薄い層をスタンピングし又はエンボシングすることにより基質上に配置される。例えば、圧力接触により検体に定着される分子に付着する抗原は、特定の標的生体分子と関係する適当な抗体と結びつく。抗体は光学的検出のために蛍光である。

30

【0041】

基質を用意する他の方法は、特に、光リソグラフィック技術である。1991年2月15日発行のサイエンス誌第767頁に掲載のエス・フォダー等の「光指示の、空間的にアドレス可能の平行化学合成」と題する論文において、著者は半導体工業において使用されるタイプのフォトマスクによって決められた空間的に分離した位置において複体化合物を合成する方法を開示している。分子構成単位は下にある構成分子を露出することによって、すなわち上にある構成分子との反応のために下にある構成分子の保護を解くことによって所望の位置に配置される。引き続き構成分子が所望の化合物が形成されるまで加えられる。各化合物の位置はマスクセットから正確に知られ、その場所は、非常に近接しており、光の回折によってのみ制限される。

40

【0042】

顕微鏡的特徴を有する基質のイメージングすなわちプロービングの方法は、1993年4月30日発行のサイエンス誌第647頁に記載されている方法による。

【0043】

バイオアレイを形成するさらに他の技術が1995年8月25日発行のサイエンス誌第1078頁に記載されている。

50

## 【 0 0 4 4 】

さらに他のバイオアレイを形成する技術は、サウサンブロッティング法であり、交雑が多数のDNAセグメントに同時的に使用される。

## 【 0 0 4 5 】

他のバイオアレイ形成技術でポリ不飽和重合脂質がサポートに塗られる。

## 【 0 0 4 6 】

図 2 3 に、図 1 0 ないし図 1 2 に示された平底ピペットアダプター 3 9 の平底面 4 0 へのバイオアレイ 1 1 の取付けの一例が示されている。特に、図 2 3 において、二次元アレイ 1 1 は、予め形成され、次いでピペットアダプター 3 9 の平底面 4 0 に取り付けられる。図 2 4 は、反応物がバイオアレイ 1 1 を形成するように基質 2 8 に固定される前に、該基質がピペットアダプターの平底面 4 0 に取り付けられる例を示している。この例は、図 2 1 , 2 2 に関して説明した印刷タイプの基質形成に好適である。図 2 5 において、ペー  
10  
基質 2 8 は、例えば射出成形により製造されたピペットアダプターの一体部分である。基質 2 8 は、図 2 5 に陰線で示されるように活性化され、次いで反応物が基質 2 8 に配置されるか、これに取り付けられる。

## 【 0 0 4 7 】

本発明の方法は、試料中の標的生体分子の検出のために構成されているが、基質にさらされる試料の量を記録し、試料の活性部位における相補性の度合いを測り、これら 2 つの値から存在する標的生体分子の量を計算することにより標的生体分子の定量化が可能である。相補性の度合いを測ることは、例えば、蛍光ラベルが貼られるかまたは相補性を示す  
20  
他の光学的信号を与える活性部位のパーセントを測定することにより行うことができる。さらに、試料中の怪しい標的生体分子の量と比較して反応物の余分の量を基質に付着することが好ましく、これがより正確な測定をさせる。

## 【 0 0 4 8 】

図 2 6 には、ジェットヘッドタイプの試薬分配装置と共同する、図 1 の装置 1 0 に代わる実施例が示されている。前記したように、この装置は、検出台 1 8 を含み、試料の置き場所を備える。この場合、試料はマイクロタイタープレート 1 5 の溜め 1 7 中にある。さらに、図 2 6 は、基質のためのホルダ 2 0 の位置を示している。ピペットアダプター 2 3 は、図 6 ないし図 9 に示したようにブラケットの対向する突出部内に支持されたバイオ  
30  
アレイを有する。図示のように、ピペットアダプターラック 8 1 は、多数のピペットアダプター 3 2 a を有する。前記装置はまたジェットヘッド分配装置 8 0 を含む。

## 【 0 0 4 9 】

この分配装置は図 2 1 及び図 2 2 に関して説明したタイプのものである。図 1 の装置と比較して、この例の装置はタワー 1 3 に取り付けられたロボットアーム 1 2 を備え、該タワーはベース 5 9 に取り付けられている。前記したように、タワー 1 3 及びベース 5 9 は、ロボットアーム 1 2 の垂直運動及び水平運動のためのトラックを有する。さらに、図 2 6 には、検出台 1 8 及び分配装置 8 0 が穴を有するブロックとして示されている。これらのブロックは前記装置が種々の台を有することを示している。前記穴はロボットアームに取り付けられるホルダへの接近を可能にする。

## 【 0 0 5 0 】

40  
作動時、図 2 6 の装置は、ラック 8 1 から基質サポートを有するピペットアダプターを取り上げかつこれを分配装置 8 0 に移すロボットアームを介してバイオアレイを運動させる。必要であれば、分配装置 8 0 内においてサポートが活性化され、基質を形成するためにサポートへの反応物の分配又は印刷を行う。次いで、ロボットアーム 1 2 が、マイクロタイタープレート 1 5 の試料溜め 1 7 内にピペットアダプター 3 2 を置くことにより、分配装置 8 0 からピペットアダプターを動かし試料に接触させる。マイクロタイタープレートに示されているピペットアダプター 3 2 b は基質と試料との干渉のためにロボットアーム 1 2 により溜めに配置される。適当な温置時間の後、ロボットアーム 1 2 は、各ピペットアダプターを取り上げ、これを検出のために検出台 1 8 に移す。

## 【 0 0 5 1 】

10

20

30

40

50

前記において、ロボットアームはホルダ及びバイオアレイと共にマイクロタイタープレートのような試料位置に対してピペットアダプターを移動する。しかし、ロボットアームは、ピペッター中の試料を取り上げ、これをピペッターが試料をホルダに分配する固定ホルダに運ぶ。次いで、同じロボットアーム又は適当なグリッパーを有する他のアームがホルダを検出台に移す。

【0052】

検出台は前記した光学タイプの何れでもよいが、標的生体分子のための固定反応物が放射性である場合放射性タグ検出器でもよい。また、タグがレーザー脱着質量分析法(LD-MS)による検出に適した成分である場合、LD-MS検出装置を使用することができる。他のタグ及び検出装置は当業者にとって明らかである。

10

【図面の簡単な説明】

【0053】

【図1】本発明に従って標的生体分子の検出を行う自動装置の斜視図。

【図2】図1の装置に使用する直線的に配置された反応物の平面図。

【図3】図1の装置に使用する二次元基質の平面図。

【図4】図1の装置に使用する基質を有するピペットチップの平面図。

【図5】図1の装置に使用する基質を有するプランジャータイプのピペットチップを示す平面図。

【図6】図1の装置に使用する、ブラケットを備えたピペットアダプターの正面図。

【図7】図6のピペットアダプターの側面図。

20

【図8】図1の装置に使用する基質を支持する、ピペットアダプターの斜視図。

【図9】支持された基質の詳細を示す、図8のピペットアダプターの端面図。

【図10】マイクロタイタープレートの試料溜め内に配置されたピペットアダプターの平面図。

【図11】図1の装置に使用される平底ピペットアダプターの正面図。

【図12】ピペットアダプターの基部における基質を示す、図11の平底ピペットアダプターの斜視図。

【図13】基質の詳細を示す、図11の平底ピペットアダプターの端面図。

【図14】図1の装置に使用する光学的検出装置の要素を示す斜視図。

【図15】図1の装置に使用する検出装置の他の例を示す平面図。

30

【図16】図1の装置に使用する検出装置のさらに他の例を示す図。

【図17】本発明に従って基質を造るための、基質上での生重合体合成に用いる装置の斜視図。

【図18】図17の装置の横断面図。

【図19】本発明に従った基質のための一次元生重合体を示す、生重合体合成のための基質及び支持板の平面図。

【図20】本発明に従った基質のための二次元生重合体合成を示す、基質及び支持板の平面図。

【図21】本発明に従った基質を造るためのジェットヘッドタイプの試薬沈積装置の斜視図。

40

【図22】図21のジェットヘッドの内部要素の平面図。

【図23】本発明のマニピュレータに基質を付着する方法を示す図。

【図24】本発明のマニピュレータに基質を付着する第1の代替方法を示す図。

【図25】本発明のマニピュレータに基質を付着する第2の代替方法を示す図。

【図26】ジェットヘッドタイプの基質処理装置を含むように変更した、図1の変形例を示す平面図。

【符号の説明】

【0054】

10 可動のバイオアレイを使用する装置

11 バイオアレイ又は基質

50

1 2	ロボットアーム	
1 3	タワー	
1 4	ラック	
1 6	バイアル	
1 7	マイクロタイタープレート 1 5 の溜め	
1 8	検出装置又は光学検査台	
1 9	レーザー	
2 0	ホルダ	
2 1	光コレクタ	
2 2	検出器	10
2 3	マイクロタイタープレート	
2 4	ロボットアーム 1 2 内の制御装置	
2 5	ピックアップユニット	
2 7	ピペットチップ	
2 8	基質	
3 0	活性部位	
3 1	ブランジャー	
3 2	ピペットアダプター	
3 3	ブラケット	
3 4	気化バリアー又は気化リング	20
3 5	ノブ	
3 7	カップラー	
3 8	試料	
3 9	平底ピペットアダプター	
4 0	平底面	
4 1	レーザー	
4 2	光コレクター	
4 3	検出器	
4 4	走査反射器	
4 5	合成装置	30
4 6	プレート面	
4 7	配管	
4 8	ブロック 4 5 の穴	
4 9	入口配管コネクター	
5 0	チャンネル	
5 2	出口配管コネクター	
5 5	基質	
5 6	重合域	
5 7	穴	
5 8	割り出しピン	40
5 9	装置 1 0 のベース	
6 0	ジェットヘッド	
6 1	ノズル	
6 2	レール	
6 3	アクチュアーター	
6 4	アーム	
6 5	支持フレーム	
6 6	圧電ポンプ室	
6 7	溜め	
6 9	供給管	50



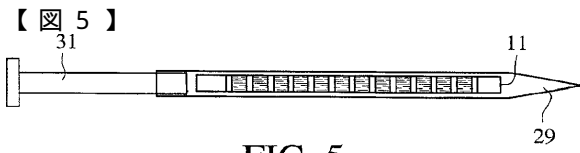


FIG. 5

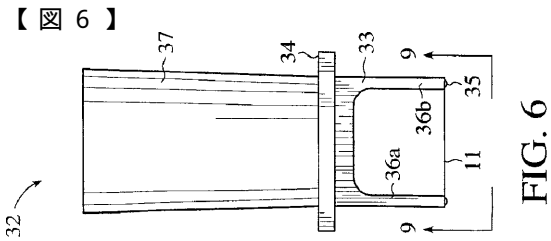


FIG. 6

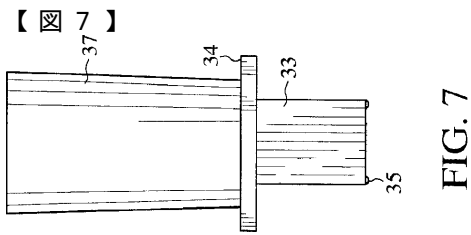


FIG. 7

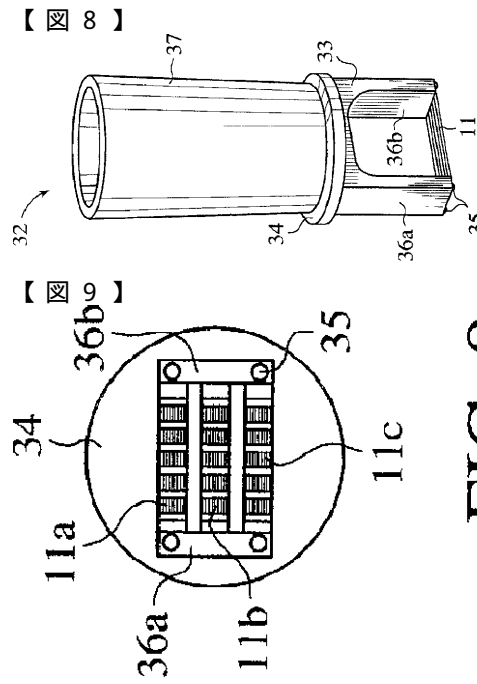


FIG. 8

FIG. 9

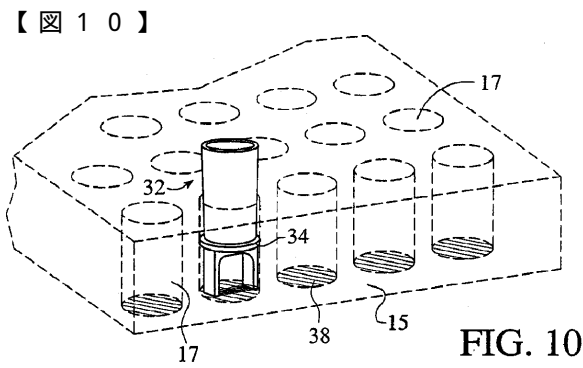


FIG. 10

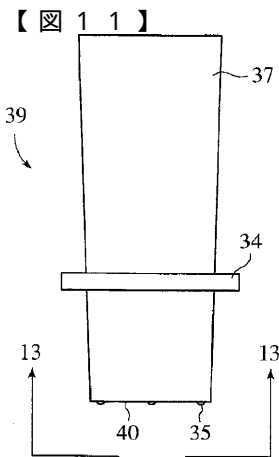


FIG. 11

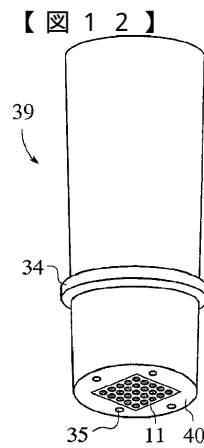


FIG. 12

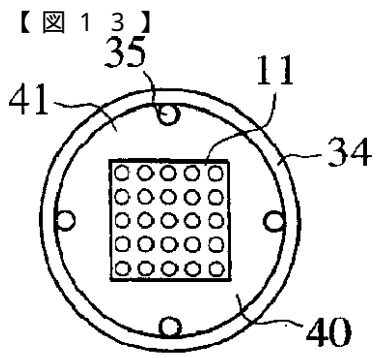


FIG. 13

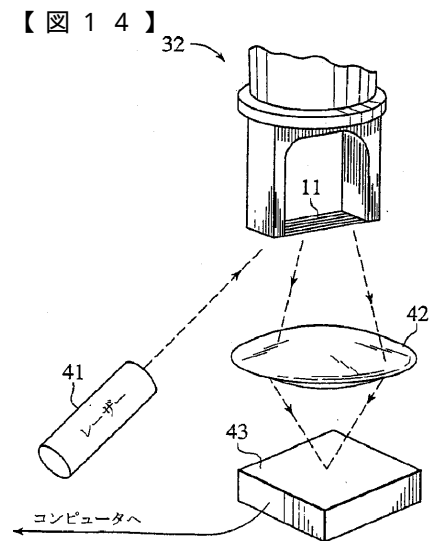


FIG. 14

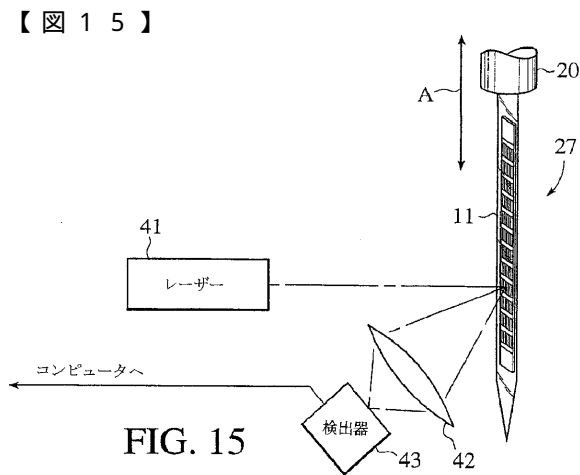


FIG. 15

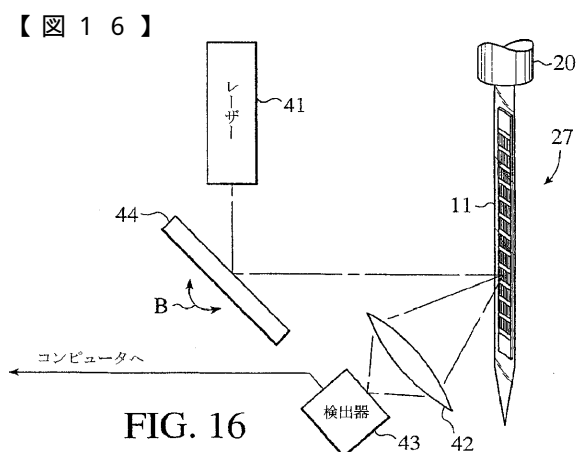


FIG. 16

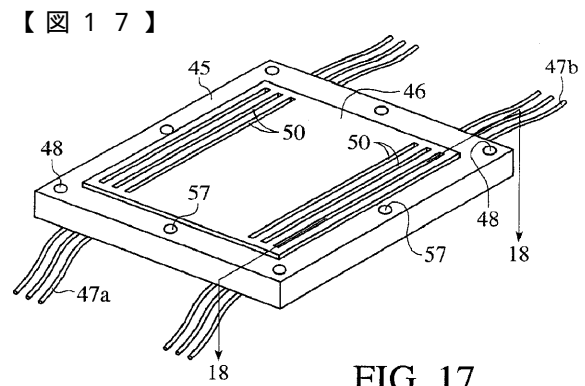


FIG. 17

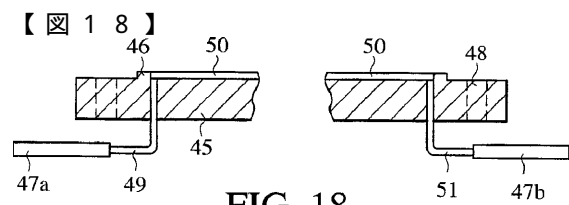


FIG. 18



【 図 2 0 】

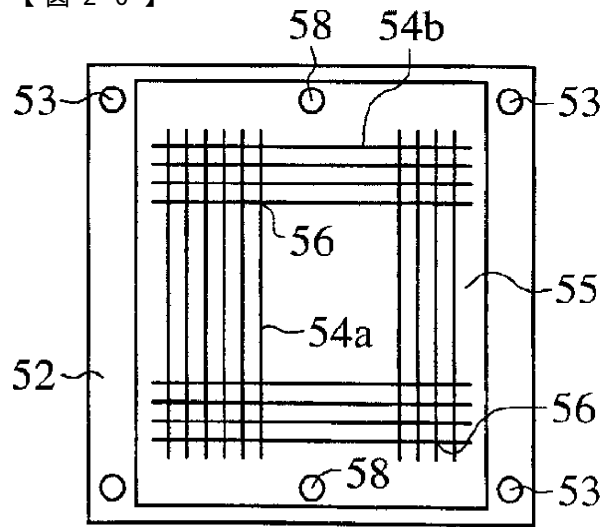


FIG. 20

【 図 2 2 】

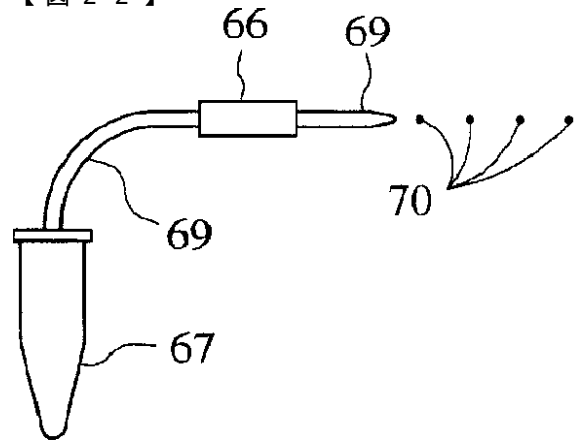


FIG. 22

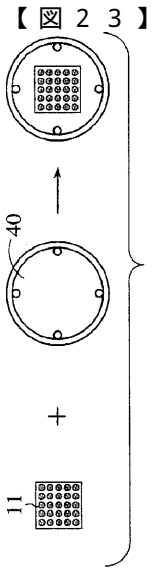


FIG. 23

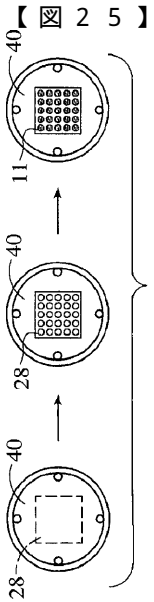


FIG. 25

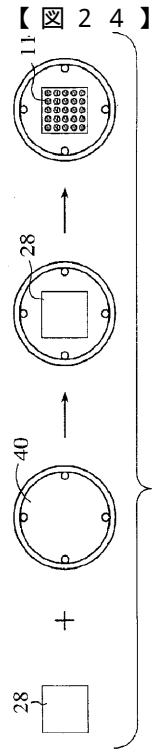


FIG. 24

【 2 6 】

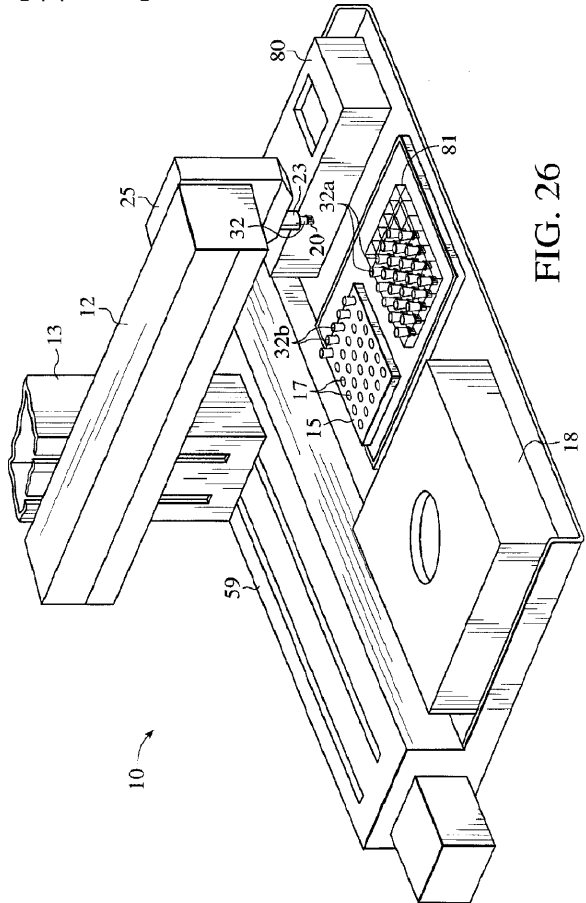


FIG. 26

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup> F I テーマコード(参考)  
G 0 1 N 37/00 G 0 1 N 35/06 A

(72)発明者 コアシン、 ピーター ジェイ  
アメリカ合衆国 9 2 0 2 3 カリフォルニア州 エンシニタス トレイバート ランチ ロード  
1 3 0 1

(72)発明者 マクニール、 ジャック ディー  
アメリカ合衆国 9 0 8 0 3 カリフォルニア州 ロングビーチ コルドヴァ ウォーク 1 7 2

(72)発明者 ヘルフレイ、 デイヴィッド ビー  
アメリカ合衆国 9 2 7 0 1 カリフォルニア州 サンタ アナ バーチ 7 1 4 サウス

F ターム(参考) 2G058 CC09 CD11 CD18 CD21 CF01 EA02 EA05 EA11 GA02 GC03  
GC05

专利名称(译)	机器人支持的生物阵列生化设备分析		
公开(公告)号	<a href="#">JP2005148080A</a>	公开(公告)日	2005-06-09
申请号	JP2005020420	申请日	2005-01-27
[标]申请(专利权)人(译)	贝克曼考尔特公司		
申请(专利权)人(译)	ベックマンコールターインコーポレイテッド		
[标]发明人	コアシンピータージェイ マクニールジャックディー ヘルフレイデイヴィッドビー		
发明人	コアシン、ピーター ジェイ マクニール、ジャック ディー ヘルフレイ、デイヴィッド ビー		
IPC分类号	G01N21/64 B01J19/00 B01L3/02 C12M1/00 C12M1/34 C12Q1/68 C40B40/06 C40B60/14 G01N21/27 G01N21/47 G01N21/78 G01N33/483 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/545 G01N33/552 G01N35/00 G01N35/02 G01N35/04 G01N35/10 G01N37/00		
CPC分类号	G01N35/0099 B01J19/0046 B01J2219/00292 B01J2219/00315 B01J2219/00378 B01J2219/0043 B01J2219/00432 B01J2219/00513 B01J2219/00527 B01J2219/00585 B01J2219/0059 B01J2219/ /00596 B01J2219/00605 B01J2219/0061 B01J2219/00612 B01J2219/00626 B01J2219/0063 B01J2219/ /00657 B01J2219/00659 B01J2219/00691 B01J2219/00711 B01J2219/00722 B01L3/0275 B01L3/508 B01L3/5085 B01L2300/0636 B82Y30/00 C40B40/06 C40B60/14 G01N21/6452 G01N35/00029 G01N2035/00118 G01N2035/00158 G01N2035/1055 G01N2035/1062 Y10T436/11 Y10T436/112499 Y10T436/25		
FI分类号	G01N35/04.G G01N33/53.M G01N33/545.Z G01N33/552 G01N37/00.102 G01N35/06.A G01N35/10.A		
F-TERM分类号	2G058/CC09 2G058/CD11 2G058/CD18 2G058/CD21 2G058/CF01 2G058/EA02 2G058/EA05 2G058/ /EA11 2G058/GA02 2G058/GC03 2G058/GC05		
代理人(译)	松永信行		
优先权	08/586116 1996-01-16 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

要解决的问题：提供一种用于快速评估目标生物分子样品的方法和设备，该方法和设备可快速适应各种科学和其他检测方案。用于检测本发明样品中目标生物分子的存在的设备是结合复合物，其是固定地间隔固定的独立反应物，其中至少一种反应物具有可检测的指示剂。用与目标生物分子反应以形成具有多个间隔开的活性位点的底物的反应物处理过的底物，用于支撑底物的支架和样品 一种测试台，该测试台具有用于测试隔开的活动部位的装置以用于可检测的指示器，以及操纵器，该操纵器用于承载保持器以与样品接触并且用于将保持器承载至测试台。机械手具有表面，并且通过利用该表面将基板直接形成在机械手上。[选型图]图1

