

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510091575.X

G01N 35/00 (2006.01)  
G01N 31/00 (2006.01)  
G01N 35/08 (2006.01)  
C12Q 1/68 (2006.01)

[43] 公开日 2006年4月5日

[11] 公开号 CN 1755371A

[22] 申请日 2005.8.23

[21] 申请号 200510091575.X

[30] 优先权

[32] 2004.10.1 [33] JP [31] 2004-289505

[71] 申请人 株式会社日立高新技术

地址 日本东京都

[72] 发明人 佐佐木重幸 长冈嘉浩 石丸博敏  
牧信行 横林敏昭 斋藤充弘  
清野太作

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商  
标事务所  
代理人 陈昕

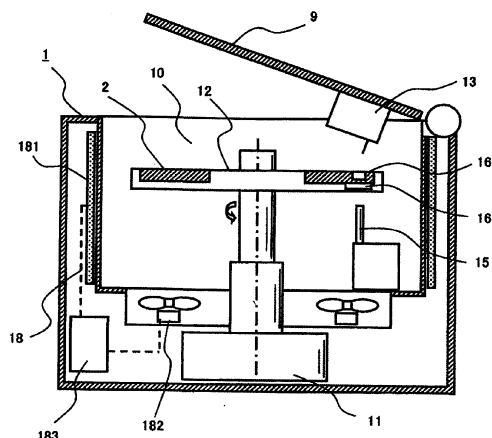
权利要求书 2 页 说明书 19 页 附图 22 页

[54] 发明名称

化学分析装置

[57] 摘要

化学分析装置中包括：把与试样反应的试剂加以保持的结构体。把与试剂反应后的试样加以检测的检测机构。在结构体中，提取试样中的生物物质后，或在提取的中途，把结构体的周围空间内流体控制到酶的合适温度。



1. 一种化学分析装置，具备试样的检测机构：该机构是收容有把含生物物质的试样导入、使与该试样反应的试剂加以保持的结构体，将与上述试剂反应后的上述试样加以检测的检测机构，其特征在于，上述试剂的至少一种是含酶的试剂，具有：从上述试样中提取生物物质的机构、向上述提取的生物物质供给上述含酶的试剂的机构、和控制上述结构体温度的温度控制机构；在提取上述生物物质的工序开始后至与上述含酶的试剂反应前之间，用上述温度控制机构控制上述含酶的试剂升温。

2. 按照权利要求 1 所述的化学分析装置，其特征在于，进行控制来把供给了上述含酶的试剂的上述生物物质，在规定温度保温规定时间，加以扩增，把保温后的上述生物物质，用上述检测装置进行检测；在上述升温工序中，把上述含酶的试剂控制到接近上述保温温度。

3. 一种化学分析装置，具备试样的检测机构：该机构是收容有把含生物物质的试样导入、使与该试样反应的试剂加以保持的结构体，将与上述试剂反应后的上述试样加以检测的检测机构，其特征在于，具有把上述结构体旋转驱动的驱动机构及从上述试样中提取出生物物质的机构；上述试剂的至少一种是含酶的试剂；具有向上述提取的生物物质供给含酶的试剂的机构和控制上述结构体温度的温度控制机构；具备上述结构体的收容部、设置上述收容部的槽、放置该槽并具备开闭机构的容器；

具有：第一温度控制机构，其设置在对应于放置上述结构体的区域，把上述结构体的上述提取生物物质的所处区域的温度加以控制；和第二温度控制机构，控制填充至上述槽内空间的流体温度。

4. 按照权利要求 3 所述的化学分析装置，其特征在于，在上述生物物质提取工序开始后至向上述生物物质供给上述含酶的试剂前之期间，使上述第二温度控制机构启动，控制上述槽内的温度上升。

5. 按照权利要求 3 所述的化学分析装置，其特征在于，在上述生物物质提取工序开始后至向上述生物物质供给上述含酶的试剂前之期

间，使上述第一温度控制机构及上述第二温度控制机构启动，控制上述槽内的温度上升。

6. 按照权利要求 3 所述的化学分析装置，其特征在于，上述第二温度控制机构具有把槽内气体加以搅拌的搅拌装置。

7. 按照权利要求 3 所述的化学分析装置，其特征在于，上述生物物质是核酸，直至上述生物物质和上述含酶的试剂混合前，将上述生物物质和上述槽内的上述流体温度控制到比上述装置外部更接近上述规定温度的温度。

8. 按照权利要求 3 所述的化学分析装置，其特征在于，上述生物物质是核酸，直至上述生物物质和上述含酶的试剂混合前，将上述生物物质和上述含酶的试剂温度控制到比上述装置外部更接近上述规定温度的温度。

9. 按照权利要求 3 所述的化学分析装置，其特征在于，上述生物物质是核酸，在上述生物物质与上述含酶的试剂混合之后，对上述生物物质与上述含酶试剂的反应液和上述槽内的上述流体温度，至少使上述第二温度控制机构启动进行保温控制。

10. 按照权利要求 3 所述的化学分析装置，其特征在于，上述生物物质是核酸。

## 化学分析装置

### 技术领域

本发明涉及从液体试样中提取出的特定化学物质加以检测的化学分析装置。

### 背景技术

作为从含多种化学物质的试样中提取出核酸等特定化学物质加以分析的化学分析装置,国际公开 W099/33559 号公报中公开了一种整体型流体操作盒。该装置在整体型操作盒内部具有:溶解液及洗涤液及洗提液等试剂,以及捕集核酸的捕集构件;在含核酸的试样注入盒内部后,使上述试样和洗提液混合并通过上述捕集构件,又使洗涤液通过捕集构件,再使洗提液通过捕集构件,使通过捕集构件后的洗提液与 PCR 试剂接触后,流入反应室。然后,公开了采用薄膜加热器作为温度控制机构的加热内容。

另外,国际公开 W000/78455 号公报公开了一种采用具有旋转盘的通过向心力定量试样,采用核酸的 PCR 扩增法装置。在旋转盘内,在 PCR 扩增法中采用用于设定改性温度、退火温度、伸长温度的温度控制机构的结构。

国际公开 W099/33559 号公报及国际公开 W000/78455 号公报公开的任何一种技术,均采用通过温度反复循环的 PCR 扩增法的核酸扩增法。在 PCR 扩增法中,温度循环,作为一例通过反复 95、55、72℃ 循环,根据其次数把核酸扩增。在现有文献中,公开的不过是基于此把反应液的温度控制在所希望的温度。对用于提高反应特性的温度控制或该温度控制系统的结构未作考虑。另外,在扩增中,对用于提高反应特性的温度控制也未作考虑。

## 发明内容

本发明的目的是解决化学分析装置的上述课题的至少一个。用于解决该课题的本发明具有下列方案。

(1) 本发明涉及的化学分析装置，其中具备试样的检测机构：该机构收容有把含生物物质的试样导入、使与上述试样反应的试剂加以保持的结构体，将与上述试剂反应后的上述试样加以检测的检测机构，上述结构体的试样中生物物质提取后，或从提取中途把上述结构体的周围流体控制到反应试剂的适当的反应温度。具体的是，本发明涉及的分析装置，其特征在于，上述试剂的至少一种是含酶的试剂，该装置具有：从上述试样中提取出生物物质的机构、向上述提取出的生物物质供给上述含酶的试剂的机构、和控制上述结构体温度的温度控制机构；在提取上述生物物质的工序开始后至上述含酶的试剂反应前之间，用上述温度控制机构，对上述含酶的试剂升温加以控制。

生物物质例如是核酸。另外，DNA、RNA 或蛋白质等生物试样也考虑在内。

(2) 上述(1)的化学分析装置，其特征在于，进行控制来把供给酶的生物物质，在所定温度保温所定时间后，控制保温后的上述生物物质，用上述检测机构进行检测；在上述升温工序中，把上述含酶的试剂控制到接近上述保温温度。

例如，所定温度是最佳温度等保温温度。一般是比室温高的温度。加热至接近上述保温温度的温度。例如，可以考虑与保温温度差在5度以内。或者，例如，用温度控制机构把上述加热温度控制到比室温更接近上述保温温度的温度。

上述温度，把合适的反应温度作为使用的定温核酸扩增法的反应温度是优选的。上述合适的反应温度，接近酶的最佳温度范围是优选的。例如， $-5^{\circ}\text{C} \sim 0^{\circ}\text{C}$ 左右。更优选的是酶的最佳温度 $-3^{\circ}\text{C} \sim 0^{\circ}\text{C}$ 左右的范围。

(3) 本发明涉及的化学分析装置，其中具备试样的检测机构：该机构收容有把含生物物质的试样导入、使与上述试样反应的试剂加以

保持的结构体,将与上述试剂反应后的上述试样加以检测的检测机构,其特征在于,具有把上述结构体旋转驱动的驱动机构及从上述试样中提取生物物质的机构;上述试剂的至少一种是含酶的试剂;具有向上述提取的生物物质供给含酶的试剂的机构和控制上述结构体温度的温度控制机构;具备上述结构体的收容部、设置上述收容部的槽、放置该槽并具备开闭机构的容器;具有:第一温度控制机构,其设置在对应于放置上述结构体的区域,把上述结构体的上述提取生物物质的所处区域的温度加以控制;和第二温度控制机构,控制填充至上述槽内空间的流体温度。

填充至上述槽内空间的流体是气体。例如,也可以是空气等。从抑制氧化等的观点看,也可以采用氮等抑制氧化的气体。

(4)上述(3)的化学分析装置,其特征在于,上述生物物质是核酸,直至上述生物物质和上述含酶的试剂混合前,把上述生物物质和上述槽内的上述流体温度控制到比上述装置外部更接近上述规定温度的温度。

(5)上述(3)的化学分析装置中,其特征在于,上述生物物质是核酸,直至上述生物物质和上述含酶的试剂混合前,把上述生物物质和上述含酶的试剂温度控制到比上述装置外部更接近上述规定温度的温度。

(6)上述(3)的化学分析装置,其特征在于,上述生物物质是核酸,在上述生物物质和上述含酶的试剂混合后,对上述生物物质与上述含酶的试剂的反应液和上述槽内的上述流体温度,至少使上述第二温度控制机构工作进行保温控制。

在试样中添加含酶的试剂时温度发生下降,温度下降对核酸的扩增产产生影响。因此,建成的系统具有:有效抑制含酶的试剂特性老化,又抑制试样和试剂混合后的反应特性下降并进行稳定的扩增工序。

另外,在进行温度控制时,即使涉及反应液的蒸发,也可以抑制上述现有技术那样进行局部加热时反应液的蒸发而减量的问题的发生。

按照本发明，可以使化学分析装置的反应特性提高。

### 附图说明

图 1 及图 2 是本发明涉及的基因检查装置一实施例的纵剖面图及上面图。图 3 是检查盒的斜视图，图 4 是试剂盒的背面斜视图。图 5 是不含试剂盒的检查盒的斜视图，图 6 及图 7 是检查盒和试剂盒的剖面图。图 8 是试剂盒的上面图。图 9 是检查盒的上面图，图 10 是试剂盒的整体型检查组件斜视图，图 11 是其上面图，图 12 是检查工序之一例的流程图。图 13 是检查盒的斜视图，图 14~图 22 是其剖面图，图 23 为大气压下水蒸气分压的说明图。图 24 是本发明涉及的检查装置的纵剖面图，图 25~29 是进行温度控制的检查装置的纵剖面图，图 30 是另一检查工序的实施例的流程图。图 31~图 33 是检查液和离心槽的温度控制说明图。

### 具体实施方式

参考附图详细说明本发明一方案的基因检查装置。还有，本发明不限于本说明书或权利要求范围公开的内容，还允许基于其他公知技术的变更。

图 1 是表示本发明一实施例的基因检查装置结构的纵剖面图。基因检查装置 1 具备：在圆形的离心槽 10 内，通过高速旋转马达 11 可加以旋转的被支撑的保持圆盘 12 和在保持圆盘 12 上配置的多个检查组件 2；控制液体流动的穿孔机 13；组件的检查液温度控制装置 16 及内藏保持圆盘的离心槽温度控制装置 18 和扩增检测装置 15。检查液温度控制装置 16 是能控制检查舟 390 内的检查液温度的装置，由电加热器构成。离心槽温度控制装置 18 由加热用的电加热器 181、循环风扇 182 及控制它们的温度控制装置（本实施例中为 PID 控制装置）183 构成。

图 2 是打开图 1 中的离心槽盖 9，从上方看离心槽 10 的图。由离心槽 10 和同心圆状放置检查组件 2 的保持圆盘 12 构成。

操作人员准备各检查项目的每个检查组件 2, 安装在保持圆盘 12 上。图 2 示出安装 6 个检查组件, 可同时检查 6 个试样的方案之一例。然后, 使基因检查装置 1 启动。

图 3 是检查组件 2 的结构图。检查组件 2 是由安装在试剂盒本体 21 上接合透明试剂盒 22 的试剂盒 20、在检查盒本体 31 上接合透明试剂盒盖 32 的检查盒 30 而构成。各种试剂预先仅把规定量分别注入各药剂容器 220、230、240、250、260、270、280、290。

图 4 示出在试剂盒 20 的背面, 设置连通各药剂容器的试剂流出口 221、231、241、251、261、271, 通过安装在检查盒 30 上, 与图 5 所示检查盒 30 的各试剂流入口 321、331、341、351、361、371 连接。在试剂盒 20 安装到检查盒 30 上时, 各试剂容器通过各试剂流出口及对应的试剂流入口, 在检查盒内连通。

图 6 示出图 3 及图 5 所示的 A-A 部中试剂盒 20 及检查盒 30 的纵剖面图的主要部分, 图 7 示出试剂盒 20 及检查盒 30 上的安装状态下对应 A-A 部的纵剖面图。在试剂盒 20 的下面粘接试剂盒保护片 23, 用于防止试剂盒 20 内预先贮藏的试剂的泄漏或蒸发, 在检查盒 30 上面粘接试剂盒保护片 33, 用于防止检查盒 30 内部的污染。

操作人员剥下试剂盒保护片 23 及检查盒保护片 33, 把试剂盒 20 安装在检查盒 30 上。构成试剂流出口的突起部 (例如, 图 6 的 269), 通过与试剂流入口嵌合而确定两盒的位置, 并且, 试剂不向检查盒外泄漏。或者, 通过在检查盒保护片的粘接检查盒罩 32 上施加粘合剂, 借此粘接检查盒接合面, 也可以防止试剂的泄漏。还有, 上述试剂盒上设置的突起部 (例如, 图 6 的 269), 也可以设置在检查盒侧。

以下通过图 3~图 5, 说明以全血作试样时的病毒核酸的提取及分析动操作。操作人员把用真空采血管等采取的全血, 从检查盒 30 的试样注入口 301 注入试样容器 310, 把图 6 示出的试剂盒保护片 23 及检查盒保护片 33 剥下后, 把试剂盒 20 安装在检查盒 30 上 (图 3)。此时的检查盒 30 的试样注入口 301, 用试剂盒 20 塞住, 所以, 以后试样不会从检查盒 30 泄漏。或者, 使试样通气孔 313 贯穿试剂盒 20 (图



2 及图 3)，安装能通过空气但不能通过试样及其烟雾的过滤器，故在试样流动时也可处于可通风的状态。

如把这样组装好的检查组件 2 的必要个数安装在图 1 的保持圆盘 12 上，使基因检查装置 1 启动，从全血中提取病毒基因，经过其后的扩增工序，最终检出基因。

下面，基因检查装置 1 内部的各工作中的液体流动状态示于图 8 及图 9。全血 501 注入试样注入口 301 后，用马达 11 使保持圆盘 12 旋转。注入试样容器 310 的全血，通过保持圆盘 12 旋转产生的离心力的作用，流至外周侧，充满血球贮藏容器 311 及血清定量容器 312，多余的全血从溢出细管流路 313 通过溢出粗管流路 314 流至全血废弃容器 315。在全血废弃容器 315 中设置全血废弃用通风流路 318，通过检查盒通气孔 302，从试剂盒通气孔 202，空气可自由出入。设置在溢出细管流路 313 至溢出粗管流路 314 的连接部，由于急剧扩大，并且，处于溢出细管流路 313 的最内周侧（半径位置 601），所以，全血在充满溢出细管流路 313 的状态下在上述连接部被切断。然而，由于从半径位置 601 至内周侧不存在液体，所以，血清定量容器 312 的液面也达到半径位置 601。另外，从血清定量容器 312 分支的血清毛细管 316 也流入全血，即使在这里，全血的最内周部也达到半径位置 601。

另外，当继续旋转时，全血 501 分离（离心分离）为血球和血清或血浆（下面称血清），血球 502 移至外周侧的血球贮藏容器 311，血清定量容器 312 内仅为血清 503。

在进行上述一连串的血清分离操作时，处于图 8 的试剂盒 20 内的各试剂容器的通气孔 222、232、242、252、262、272，用试剂盒罩 22（图 5）盖住而形成空气不能进入的状态。通过离心力的作用，各试剂从试剂容器外周侧流出，但由于空气不流入容器内，故试剂容器内的压力降低，与离心力相平衡，试剂不会流出。然而，当旋转数增加而离心力加大时，试剂容器内的压力缓慢降低，当达到试剂的饱和蒸气压以下时，产生气泡。在这里，如图 9 所示，从各试剂容器外周侧流出的试剂，通过形成一次返回至内周侧的流路结构（返回流路，例

如 223)，可抑制试剂容器内的压力降低，防止气泡的发生。因此，在进行血清分离操作时，各试剂原样保持在试剂容器内而不流动。

当旋转规定的时间使血清分离操作结束时，停止分析组件 2，血清定量容器 312 内的血清 503 一部分，通过表面张力，毛细管流动至血清毛细管 316 内部，流至作为混合部 410 和血清毛细管 316 连接部的混合部入口 411，充满血清毛细管 316。下面，穿孔机 13 把各试剂容器上流部的通气孔打成一个一个的孔，马达 11 旋转，通过离心力使各试剂流动。

下面示出血清分离终止后的操作。把用于溶解血清中病毒的膜蛋白溶解液 521 注入溶解液容器 220。穿孔机 13 对溶解液通气孔 222 穿孔后，当使马达 11 旋转时，通过离心力的作用，溶解液 521 从溶解液容器 220 经过溶解液返回流路 223，经过吸湿材料 291，流入内部对照物容器 290，溶解液与内部对照物 590 边混合边流入混合部 410。内部对照物是核酸或含核酸的合成物，希望处于冷冻干燥状态而长期保存。因此，当溶解液流入内部对照物容器 290 时，内部对照物 590 边溶解边混合流出。

吸湿材料 291 设置在溶解液容器 220 和内部对照物容器 290 之间，使内部对照物 590 不吸收溶解液 521 的湿气。作为吸湿材料，采用硅胶凝胶的结构体、或采用其他材质的多孔性或纤维填料等构成细微流路的结构体、或通过蚀刻或机械加工等制作的硅或金属等突起物即可。

另外，血清定量容器 312 内的血清最内周侧（血清分离终止时为半径位置 601），由于处于混合部入口 411（半径位置 602）的内周侧，所以，通过离心力作用产生压头差，血清定量容器 312 及血清毛细管 316 内的血清，从混合部入口 411 流入混合部 410，同时，溶解了流入内部对照物的溶解液，在混合部 410 进行混合。混合部 410 由混合血清和溶解液的构件构成。例如，树脂或玻璃、纸等多孔性填料或纤维，或通过蚀刻或机械加工等制成的硅或金属等突起物等。

血清和溶解液在混合部 410 混合后，流入反应容器 420。在反应容器 420 上设置反应容器用通气流路 423，通过检查盒通气孔 302，从试

剂盒通气孔 202, 空气可自由出入。从血清定量容器 312 至血清毛细管 316 的分支部 317 (半径位置 603), 由于处于混合部入口 411 (半径位置 602) 的内周侧, 所以, 通过虹吸效果, 血清毛细管 316 内的血清全部流至混合部 410。另一方面, 血清定量容器 312 的血清, 通过离心力流入血清毛细管 316 后, 在血清定量容器 312 内的血清液面到达分支部 317 (半径位置 603) 前, 血清继续流至混合部 410, 血清液面在到达分支部 317 时, 血清毛细管 316 内混入空气变空而终止流动。即, 在血清分离终止时, 从半径位置 601 至半径位置 603 的血清定量容器 312、溢出细管流路 313 及血清毛细管流路 316 内的血清流至混合部 410, 与溶解液混合。

因此, 从半径位置 601 至半径位置 603 的血清定量容器 312、溢出细管流路 313 及血清毛细管流路 316 如设计达到规定的容积 (必要血清量), 则血清对全血的比例即使各个全血试样不同, 也可以定量分析所用的血清。例如, 把血球贮藏容器设计为 250 微升、必要血清量设计为 200 微升时, 如注入全血 500 微升, 则向全血废弃容器 315 溢出全血 50 微升, 其余的 450 微升分离成血清和血球, 分离的血清中 200 微升流至混合部 410。即, 对 450 微升全血、血清量在 200 微升以上的全血试样, 可用本发明的装置进行分析。对血清比例小的全血, 则加大血球贮藏容器的容积, 增加全血试样即可。

在反应容器 420 中, 混合的血清与溶解液发生反应。血清与溶解液的混合液流入反应容器 420 后, 反应容器 420 中的液面处于远离反应液流路 421 的最内周部 (半径位置 604) 的外周侧, 所以, 不会越过反应液流路 421 的最内周部, 旋转中混合液保持在反应容器 420 中。

溶解液的作用是从血清中的病毒或细菌等溶解其膜而使核酸溶出, 另外, 促进核酸结合构件 301 对核酸的吸附。同样, 即使对溶解的内部对照物 590, 也可以促进在核酸结合构件 301 上的吸附。作为这种试剂, 在 DNA 的洗脱及吸附时可以采用盐酸胍, RNA 用胍硫氰酸酯, 作为核酸结合构件, 可以采用石英或玻璃的多孔材料或纤维滤料等。

把血清和溶解液保持在反应容器 420 中后，停止马达 11，用穿孔机 13 在追加液通气孔 232 上打孔，用于向追加液容器 230 供给空气，再使马达 11 旋转，通过离心力的作用，追加液 531 从追加液容器 230 经过追加液返回流路 233 流入反应容器 420，反应容器内的混合液的液面移至内周侧。当液面达到反应液流路 421 的最内周部（半径位置 604）时，混合液越过反应液流路的最内周部而流出，经过合流通路 701 流入核酸结合构件 301。作为追加液，例如使用上述溶解液也可。

还有，试样对混合液的壁面具有润湿性者优选，在停止状态，反应液流路 421 内通过毛细管现象，混合液有时也流动，此时不必用追加液 531。

因此，当溶解液和血清的混合液通过核酸结合构件时，血清中的靶核酸和内部对照物的核酸吸附在核酸结合构件 301 上，液体流入作为洗提液回收容器的检查舟 390。

在检查舟 390 上设置洗提液回收容器用通气流路 394，通过检查盒通气孔 302，从试剂盒通气孔 202，空气可自由出入。通过核酸结合构件 301 后的废液 391，与混合容器 420 时同样，由于有废液返回流路 393，故一旦保持在洗提液收容器 390 中，与废液量相比，由于洗提液收容器 390 的容积十分小，故废液越过废液返回流路 393 的最内周侧，经过废液流出流路 399，流向废液贮藏容器 402。

然后，停止马达 11，用穿孔机 13 在第一洗涤液通气孔 242 上打孔后，用于向第一洗涤液容器 240 供给空气，再使马达 11 旋转，通过离心力的作用，第一洗涤液从第一洗涤液容器 240 经过第一洗涤液返回流路 243 及合流流路 701，流入核酸结合构件 301。把核酸结合构件 301 上附着的蛋白等不要的成分洗去。作为第一洗涤液，例如使用上述溶解液或溶解液的盐浓度减少的液体也可以。

洗涤后的废液，与上述混合液同样，经过洗提液回收容器 390，流入废液贮藏容器 402。

同样的洗涤操作重复数次。例如，在继续用第一洗涤液但马达停止的状态下，用穿孔机 13 在第二洗涤液通气孔 252 上打孔，用于向第

二洗涤液容器 250 供给空气，再使马达 11 旋转，把核酸结合构件 301 上附着的盐等不要的成分洗去。作为第二洗涤液，例如使用乙醇或乙醇水溶液也可以。

同样，在第三洗涤液通气孔 262 的盖上打孔，用于向第三洗涤液容器 260 供给空气。第三洗涤液直接流入洗提液回收容器 390，把附着在洗提液回收容器 390 上的盐等成分洗去。作为第三洗涤液，例如，采用灭菌水或 pH 调至 7 至 9 的水溶液即可。

这种核酸结合构件 301 及洗提液回收容器 390 洗涤后，移至核酸洗提工序。

即，在马达停止的状态下，用穿孔机 13 在洗提液通气孔 272 的盖上打孔，用于向洗提液容器 270 供给空气，再使马达 11 旋转，使洗提液 571 流至核酸结合构件 301。洗提液是从核酸结合构件 301 洗提核酸的液体，采用水或 pH 调至 7 至 9 的水溶液即可。

这样的核酸结合构件 301 及洗提液回收容器 390 洗涤后，移至核酸的洗提工序。

即，在马达停止的状态下，用穿孔机 13 在洗提液通气孔 272 上打孔，用于向洗提液容器 270 供给空气，再使马达 11 旋转，洗提液 571 流动。洗提液是从核酸结合构件 301 洗提核酸的液体，采用水或 pH 调至 7 至 9 的水溶液即可。洗提了核酸的液体，因其液量比洗提液回收容器 390 的容积小，故不会越过废液返回流路 393 的最内周侧，保持在洗提液回收容器内。

然后，移至核酸扩增、检测工序。

图 12 示出定温核酸扩增方法之一的基于核酸系列的扩增(NASBA)法用于本基因检查装置时的检查工序。在检测、扩增工序，把扩增液和酶添加至检查舟 390 内的已加入检体试样的检查液中，在所定温度，通过保持规定的时间使核酸扩增。同时，把检测装置 15 的检测光学筒 151 移至可以观察检测舟 390 内检查液的位置，检测靶核酸及内部对照物核酸的荧光发光量，借此进行检测。内部对照物是预先定量的核酸或含核酸的合成物，采用与血清中的靶核酸的提取、扩增、检测完

全同样的试剂、盒、检查装置，进行提取、扩增、检测。因此，提取、扩增、检测工序只要有正常的功能即可，则可从内部对照物检测所定的荧光及吸光等信号。反之，当信号强度低而不能全部检测时，由于试剂、盒、检查装置等的不良状态，提取、扩增、检测的任何工序存在不同。或者，通过靶核酸的检测信号与预先定量的内部对照物的检测信号进行比较，可以定量评价靶核酸的浓度。

从核酸提取终止时，开始离心槽 10 的温度控制，离心槽 10 内的空气达到第二反应温度的酶最佳温度，例如达到 41℃ 开始控制，但全部温度不达到最佳温度也无妨。

然后，因把提取出来的核酸放入检测舟 390 内，故预先封入检查盒 30 内的扩增液 580，通过在扩增液容器 395 上穿孔使马达旋转，扩增液 580 进入检测舟 390 内。扩增液是用于扩增核酸加以检测的试剂，除脱氧核苷三磷酸外，含荧光试剂等是优选的。

然后，使检查液温度控制装置 16 启动，开始控制反应液，使作为第一反应的改性温度，例如达到 65℃。在 65℃ 保持约 5 分钟后，把第二反应温度的酶的最佳温度控制在 41℃。即使在该温度保持 5 分钟后，在酶容器 396 上穿孔，使保持圆盘 12 旋转，酶 595 进入检测舟 390。由于添加酶后的液温马上下降，影响下面的核酸扩增，所以，必须极力防止温度下降。然后，如上所述，通过离心槽 10 内的温度控制装置，预先提高添加酶时盒周围的温度，检查液和试剂保持在接近第一反应液温度 41℃ 的状态下进行混合，则温度不会降低。

然而，由于在 41℃ 的 90 分钟恒定状态下进行核酸扩增，故可通过同时检测荧光量，检测核酸的扩增量。通过采用波长不同的 2 种荧光试剂，通过检体的核酸和内部对照物的荧光发光量比较，可以实时 (real time) 进行定量化。

另外，通过检查舟的温度控制装置控制达到 65℃，故可通过个别的加热装置，短时间且精度高地进行温度控制。在检查盒安装前，可通过手动操作使其后的核酸提取至扩增的工序全自动化。因此，在图 1 的方案中具有检查舟的温度控制装置 16 和离心槽温度控制装置 18。

图 13~图 22 对检查舟内的液温控制装置加以说明,图 13 示出图 14~图 22 的实施方案中保持圆盘 12 和检查盒 2 的 A-A 断面的箭头部位。图 14 的实施方案,在检查液 550 的温度控制中采用含有加热用加热器 162 的检查盒 2,通过未图示的给电线通电使发热。通过使盒具有加热装置,通过加热部和检查舟 390 的外壁的接触热阻抗,可以防止偏差,进行稳定的温度控制。在这种情况下,由于用检测光学筒 151 测定检查舟 390 内的荧光发光量,所以,在加热器 162 和保持圆盘上必需设置孔 162b、12b,分别光学观察检查舟 390 内部。

另外,图 15 表示本实施方案的又一实施方案例。在该实施方案中,在旋转保持圆盘 2 一侧内藏作为加热装置的加热器 162。采用该结构,由于加热部与盒侧分离,在一次性的检查盒 2 中可以廉价的构成。

图 16 的实施方案表示另一实施例。在该实施方案中,采用佩尔蒂(ペルチエ)元件 164 进行检查液 550 的温度控制。放入了检查液 550 的检查舟 390 外壁和加热器块 163 进行热连接。通过改变向佩尔蒂元件 164 的外加电流大小,进行加热量的控制,通过正反变换,不仅可使温度上升而且可使下降均成为可能。因此,在从 65℃降低至 41℃时,可短时间进行温度控制。还有,164b 变成佩尔蒂元件的吸热部。

图 17 的实施方案表示又一实施例,表示温度监测元件 165 放入检查液 550 中的状态。把不阻碍基因扩增的物质涂布在热敏部表面的热电偶、热敏电阻、铂电阻体上,直接放入检查液 550 进行测定,则精度高的检查液温度测定和控制成为可能。另外,检查装置本体具有温度传感器元件 165 的洗涤装置,每次检查即使测定和洗涤重复使用,也可以达到本实施方案的目的。

图 18 的实施方案表示又一实施例,表示在含有检查液容器的加热块 163 中内藏上述温度传感器 165 的结构。采用这样的结构,在不更换温度传感器 165 的情况下,也可以实现能进行温度测定的廉价结构。图 19 的实施方案表示又一实施例,采用红外线放射温度计 166,测定盒 2 的表面温度。采用这种结构,可在不接触旋转保持圆盘 12 的状态下测定液体。此时,必须事前测定、把握检查液温度和盒表面温度之

差。

图 20 的实施方案表示又一实施例，与图 19 同样，用红外线放射温度计 166 监测含检查舟 390 的加热块 163 的温度。采用这种结构，可事前把放射率高的黑色涂料等涂布在加热块 163 上，用于规定放射率，所以，红外线温度测定中有可能达到比较高的精度。另外，图 19 及图 20 的实施方案中示出红外线放射温度计的例子，但在盒上涂布热敏液晶，用 CCD 摄像机等处理摄影所得图像，即使该温度测定法也可进行温度测定。

图 21 的实施方案表示又一实施例。采用红外线灯 167 作为加热方法。此时，可不与保持圆盘 12 接触进行加热。还有，红外线灯照射中，用光学检测筒 151 进行荧光检测时，中止灯的加热而对荧光检测不产生影响。

图 22 的实施方案表示又一实施例。作为加热方法采用磁导。在检查舟 390 周围配置具有规定电阻的金属制成的加热块 163。对交流发生源 168 上连接的线圈 169 通电，通过电磁感应，涡电流流至加热块 163 内，通过焦耳发热进行加热。通过交流电流的强度以及线圈 169 和加热块 163 间的距离改变加热量，则保持圆盘 12 非接触地进行加热控制成为可能。此时，保持圆盘 12 优选由绝缘材料构成。另外，图 22 的实施方案中，用微波振荡装置（磁控管）代替线圈 169，诱发检查液 550 的水分子振动，进行直接加热的方法也可以达到本实施方案的效果。

其次，图 23 示出一般大气压下的湿空气的水蒸气分压的温度变化。由于检查舟 390 内，在核酸的扩增工序中通过控制，在酶最佳温度 41℃ 产生蒸发现象，故认为相对湿度达到 100%。因此，打开检查盒 2，从空气的通气孔，水蒸气以对周围空气的分压差作为驱动源的扩散现象的蒸发容易发生。当发生蒸发时，因检查液不足，故荧光发光量的检测困难，或者，因检查液的气液界面的温度平衡而容易在检查液内产生温度分布。另外，蒸发的检查液蒸气在检查盒盖 32 的内面冷凝，从而检查液的浓度产生变化等。



在这里，图 23 所示的最佳温度控制中，当检查盒 2 周围的空气温度比室温增加愈多，则水蒸气分压差愈小，故可防止检查液 550 的蒸发。如图 1 所示，离心槽 10 内具有加热控制装置。通过把离心槽内控制接近第二反应液温的温度，如上所述，可以防止酶的失活和从检查组件的防止检查液的蒸发。另外，通过从周围控制检查液的温度，温度分布变小，浓度分布也变小。另外，起因于检查液温位置偏差的测定误差也变小。

其次，对离心槽 10 内空气的温度控制加以说明。在图 1 的实施方案中，示出用膜状橡胶加热器 181 作为离心槽 10 的加热装置。通过加大离心槽金属部分的传热面积，可提高热交换效率。还有，采用线圈状卷绕在离心槽外周或内周作为加热器也可。

在图 24 的实施方案中，除图 1 的实施例外，内藏固定的定温圆盘 197。保持圆盘 12 设置在规定的间隙中。采用未图示的加热器等方法，把定温圆盘 197 加热至规定温度，当使可旋转的保持圆盘 12 旋转时，离心槽 10 内空气产生对流可促进热传导，从定温圆盘向保持圆盘 12 传热。采用这种构成，通过圆盘的旋转动作，可迅速进行温度控制。另外，两盘的温度高低，可通过在定温圆盘内反过来循环冷水等设定在低温即可，故可在短时间内使保持圆盘的温度下降。

在图 25 的实施方案中，作为离心槽 10 内的温度控制装置，在离心槽 10 的外部设置送风路 184，使离心槽 10 内的空气流动，通过加热器 185 加热反复加以循环的结构。采用这种结构，因可加大加热器附近的空气风速，提高强制对流热传导的热交换效率，故可减小加热器的容量。图 26 的实施方案示出另一实施例，除图 25 的结构外，增加了用加湿器 186 的加湿功能。采用这种结构，通过提高离心槽内的湿度，如图 23 的水蒸气分压特性所示，可进一步防止检查液的蒸发。

图 27 的实施方案示出另一实施例。采用热水循环方式作为离心槽 10 的加热手段。在离心槽 10 的外侧卷绕内部热水可流动的热水盘管 191。在热水盘管 191 内把通过恒温水槽 188 保持在一定温度的热水，用泵 189 传送、循环，使离心槽 10 内精度良好地稳定在一定温度。

图 28 示出采用冷冻循环、加热离心槽 10 的情况。作为结构部件，包括：安装在离心槽 10 内冷凝器阀门 192a 和蒸发器盘管 192b，及由压缩机、四通阀、膨胀阀构成的冷冻循环。在内部封入氟隆的状态下，使压缩机旋转，通过把膨胀阀打开适当的开度（散度），通过压缩机喷出的高温过热气体及冷凝液加热离心槽 10。还有，通过切换四通阀，切换冷介质的流动方向，192a 也可作为低温蒸发盘管、192b 也可作为高温冷凝盘管。此时，通过压缩机旋转数和膨胀阀的开度的组合，可自由地使温度改变。

在图 29 的实施例 中，其结构是除图 1 的实施例外，还包括离心槽盖 9 的上部送风机 196 的结构。采用这种结构，可促进空气在内部循环，离心槽 10 内的空气温度分布变小。还有，在图 29 中，示出送风机 196 露出在离心槽 10 内的结构，但通过加盖，通过保持圆盘 12 的高速旋转产生的空气对流，可以防止风扰动。还有，使加热器 181 的热发生有效滞留者是优选的。

图 30 示出本实施方案的又一实施例。在检查工序的核酸检测工序中，包括在添加酶之前，使保持圆盘 12 高速旋转的动作。通过该动作，离心槽 10 内的空气和保持圆盘 12 间产生摩擦热，在短时间内可提高离心槽 10 内的空气温度。另外，通过保持圆盘的旋转动作，使离心槽 10 内的空气混合，具有进一步使温度均匀化的作用。

图 31 是检查舟 390 的温度控制及离心槽 10 内的温度控制的开和关的时间变化图。(a) 表示检查舟的温度控制。在提取工序终止的同时，作为第一最佳温度之一例，开始控制在  $65^{\circ}\text{C}$ ，约 5 分至约 10 分后，作为第二最佳温度之一例，控制在  $41^{\circ}\text{C}$ 。在 (a) 的条件下，从 (b) 到 (e) 示出离心槽 10 的温度控制开·关状态。首先，(b) 在提取工序终止的同时，离心槽 10 的温度控制开始。(c) 提取工序中途开始控制。(d) 在提取工序完全终止后，在检测工序中途进行。(e) 在检测工序中途终止。在该控制中，用另外的检查组件，可以防止提取工序中因温度升高所造成的影响。

其次，图 32 示出图 31 的温度控制结果引起的检查液温度的时间

变化。图 32 (a) 相当于图 31 中的 (c)，从提取工序中途开始控制，在提取工序结束时到达第二反应温度 41℃。在该温度控制中，对减少第一反应温度 65℃ 控制时的反应液蒸发量是有效的。在图 32 (b) 中，在第一反应温度控制的中途到达第二反应温度。在 (c) 中，与第二反应温度达到一致。该温度控制，通过添加的酶的温度，可使失活的影响效果最小。

在图 33 中，示出检查液升温的时间倾向。在图 33 中，从提取开始，同时开始离心槽的温度控制，但在 (a)、(b)、(c) 中，示出温度达到一定前的时间比较。在 (a) 中，在提取和检测工序之间到达第二反应温度。此时，在第一反应温度控制时，由于水蒸气分压差小，故检查液的蒸发量最小。在 (b) 中，在第一反应温度控制的中途达到。另外，在 (c) 中，到达与第二反应液温度的检测开始时间一致的温度。在 (c) 的情况下，在较高的温度，时间短，酶的失活影响最小。还有，在本实施方案中，示出酶的最佳温度，但只要在酶反应的温度范围即可而无问题，例如，下限从最佳温度 - 5℃ 至最佳温度等的范围，可以达到本实施方案的效果。另外，检查对象及使用的各种试剂，考虑酶的最佳温度的控制宽度，事先输入检查装置即可。此时，可以缩短检查时间。

在此前说明的本实施方案中，具有下列形态：

(1) 本发明涉及的化学分析装置，具有试样的检测机构，该机构收容有把含生物物质的试样导入，使与该试样反应的试剂加以保持的结构体，将与上述试剂反应后的上述试样加以检测的检测机构，在上述结构体的试样中的生物物质提取后，或从提取中途把上述结构体的周围流体控制到反应试剂的适当的反应温度。具体的是，其特征在于，上述试剂的至少一种是含酶的试剂，该装置具有：从上述试样中提取生物物质的机构、向上述提取的生物物质供给含酶的试剂的机构、和控制上述结构体温度的温度控制机构；在提取上述生物物质的工序开始后与上述含酶的试剂反应前之间，用上述温度控制机构加以控制，使上述含酶的试剂升温。上述结构体可用检查组件 2 (图 2 及图 3)。

在上述结构体的试样中的生物物质提取后，或从提取中途把上述结构体的周围流体控制到反应试剂的适当的反应温度，这是其特征。

还有，生物物质例如是实施例中说明的核酸。或者是DNA、RNA或蛋白质等。

(2) 在上述(1)的化学分析装置中，其特征在于，进行控制来把供给上述酶的生物物质在规定温度保温规定时间，用上述检测机构检测保温后的上述生物物质，在上述升温工序中，使上述含酶的试剂控制到接近上述保温温度。

例如，如实施例所示，规定温度是最佳温度等的保温温度。一般是比室温高的温度。加热至接近上述保温温度的温度。例如，可以考虑与保温温度差在5度以内。或者，例如，用温度控制机构把上述加热温度控制到比室温更接近上述保温温度的温度。这里的所谓室温设定为10~30℃左右。

还有，上述温度，合适的反应温度作为使用的定温核酸扩增法的反应温度是优选的。上述合适的反应温度接近酶的最佳温度的范围是优选的。例如，-5℃~0℃左右是优选的。更优选的是酶的最佳温度的范围-3℃~0℃左右的范围。

(3) 本发明涉及的化学分析装置，其特征在于，具有：把上述结构体旋转驱动的驱动机构、及从上述试样中提取出生物物质的机构；上述试剂的至少一种是含酶的试剂；具有：向上述提取的生物物质供给含酶的试剂的机构和控制上述结构体温度的温度控制机构；具备上述结构体的收容部、设置上述收容部的槽、放置该槽并具备开闭机构的容器；还具有：第一温度控制机构，其在对应于放置上述结构体的区域设置，把上述结构体的上述提取生物物质的所处区域的温度加以控制；和第二温度控制机构，控制填充至上述槽内空间的流体温度。

还有，上述第一温度控制机构，设置在作为结构体收容部的旋转圆盘部。因此，可进行结构体流路中特定区域的温度控制。或者，也可对着收容部的检查组件2，通过与上述圆盘的间隔进行配置。填充至上述槽内空间的流体是气体。例如，也可以是空气等。从抑制氧化

等的观点看，还可以采用氮等抑制氧化的气体。

(4) 在上述(3)的化学分析装置中，其特征在于，包括：上述生物物质的提取工序开始后，至向上述生物物质供给上述含酶的试剂之前，在此期间使上述第二温度控制机构启动，对上述槽内温度升温加以控制。还有，例如，上述提取工序包括的范围：从生物试样中进行离心分离的工序开始，至提取出靶核酸的工序。

(5) 在上述(3)的化学分析装置中，其特征在于，包括：在上述生物物质提取工序开始后，至向上述生物物质供给上述酶的试剂前，在此期间，上述第一温度控制机构及上述第二温度控制机构启动，控制上述槽内温度上升。

(6) 在上述(3)的化学分析装置中，其特征在于，上述第二温度控制机构具有把槽内气体加以搅拌的搅拌装置。

(7) 在上述(3)的化学分析装置中，其特征在于，上述生物物质是核酸，直至生物物质与上述含酶的试剂混合前，A：把上述生物物质和上述槽内的上述流体的温度控制比上述装置外部更接近上述规定温度的温度，或者，B：把上述生物物质和上述含酶的试剂温度控制比上述装置外部更接近上述规定温度的温度。

因此，可以防止含酶和试样核酸的检查液混合时的温度下降，可得到防止酶失活的效果。

或者，C：在上述生物物质和上述含酶的试剂混合后，上述生物物质与上述含酶的试剂的反应液和上述槽内的上述流体的温度，至少使上述第二温度控制机构启动进行保温控制。因此，由于检查舟内和离心槽内的水蒸气分压差小，故可抑制检查液的蒸发。另外，因有助于检查液的温度均匀化的扩增·检测中的检查液蒸发及冷凝而使浓度分布均匀化。另外，由于检查液的温度分布减小，故在温度控制位置谋求温度测定精度的提高。还有，为把上述流体控制到反应温度，可采用电加热器、热水循环、冷冻循环的冷凝器的至少任何一种。

如上所述，采用PCR扩增法，可在规定的温度间反复进行温度控制，但在循环途中不必注入试剂。另一方面，采用定温核酸扩增法的

**基于核酸系列的扩增（NASBA）法，必须在一定的温度条件下添加酶。**

图1

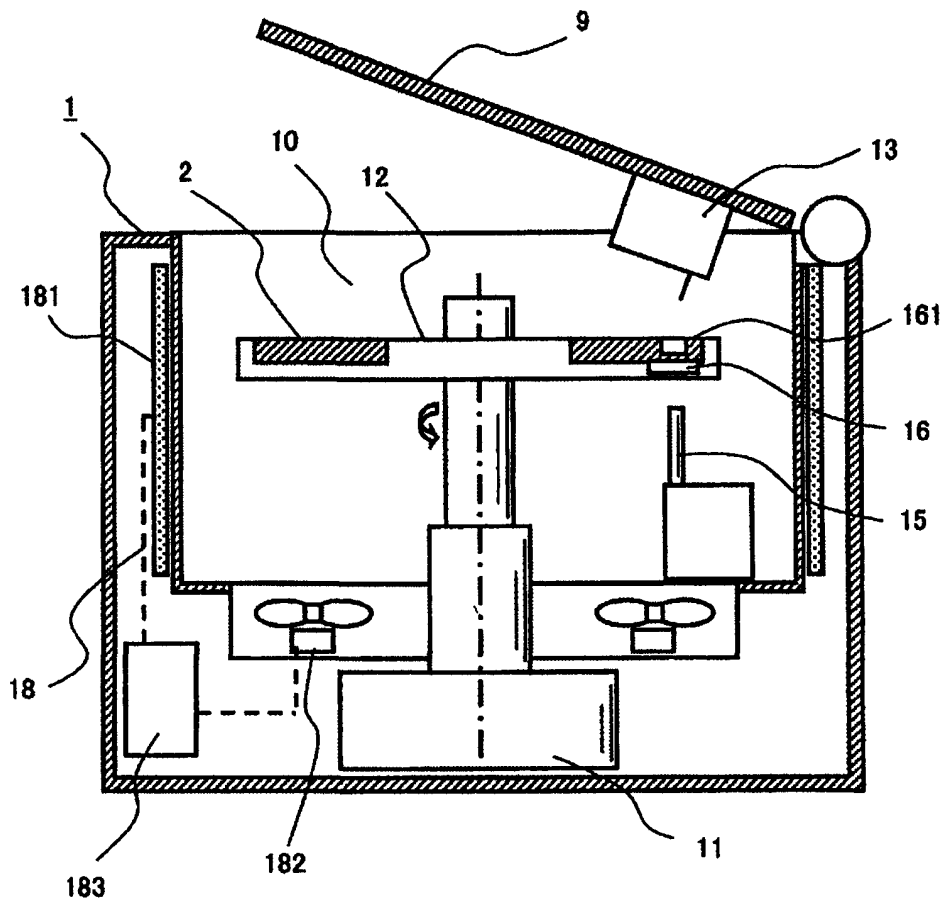


图2

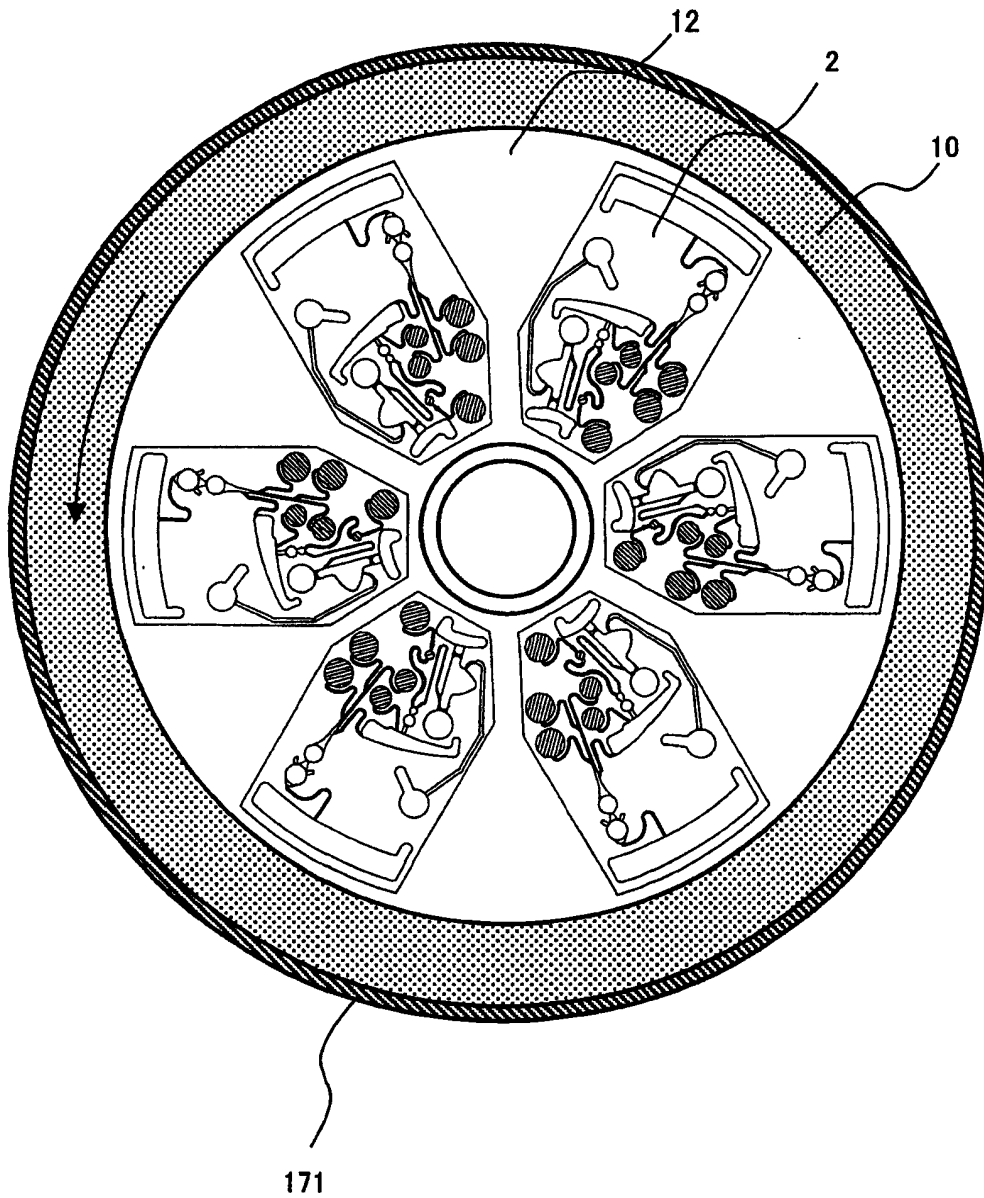




图 3

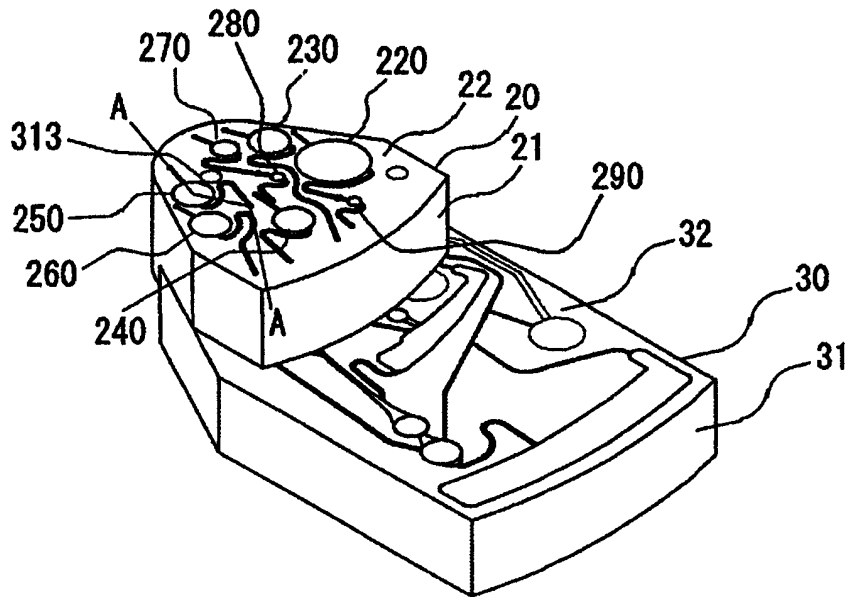


图 4

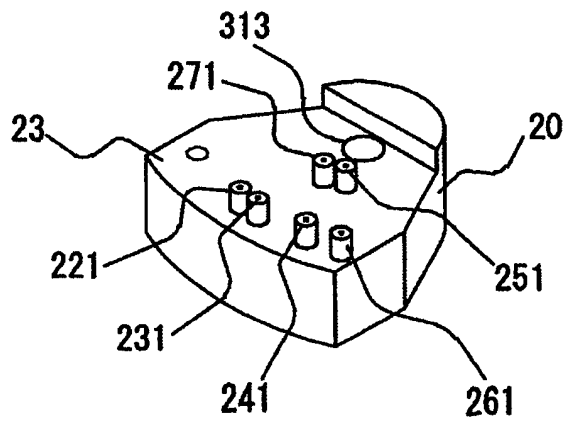


图5

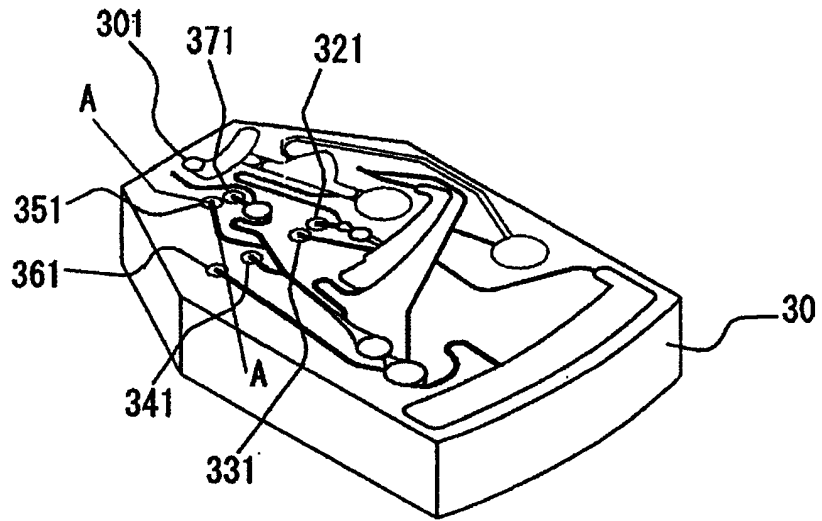


图6

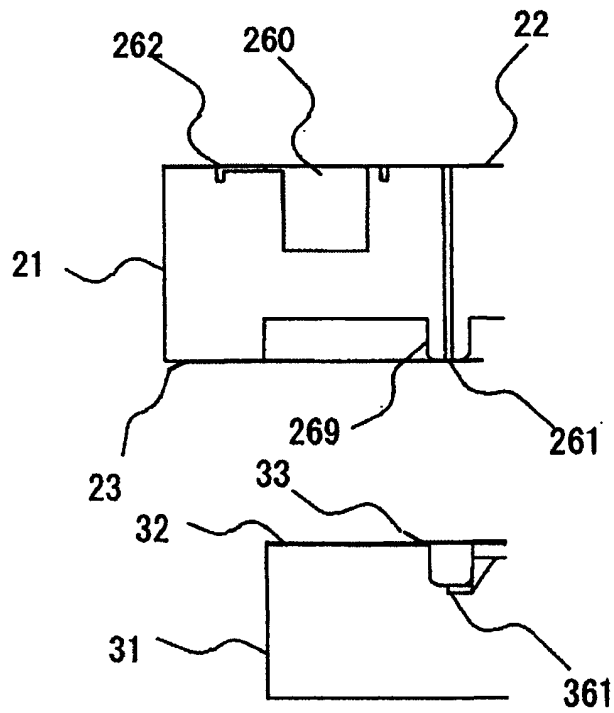


图7

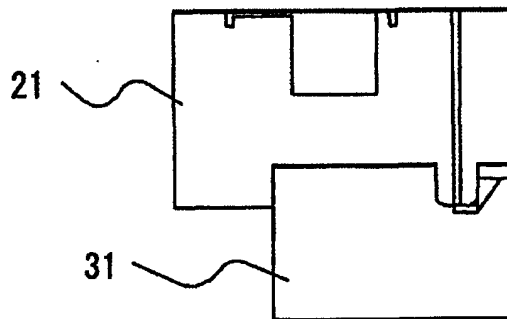


图8

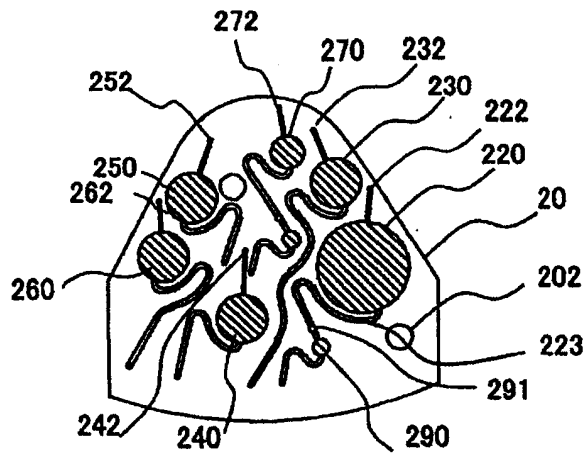


图9

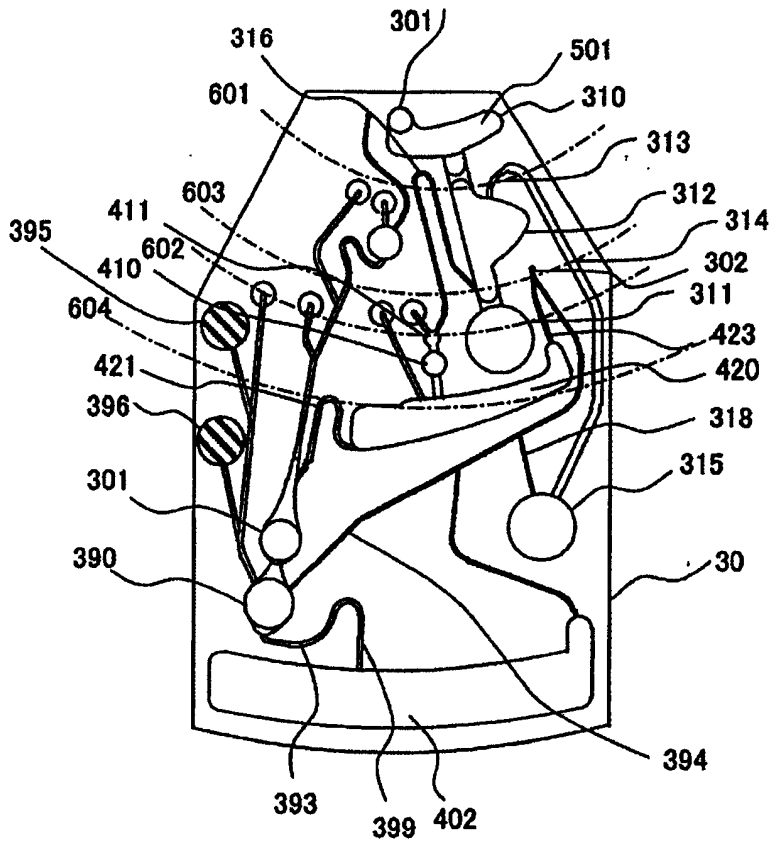


图10

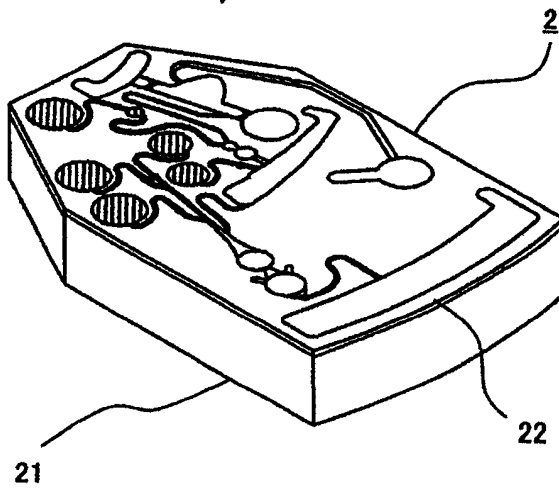


图11

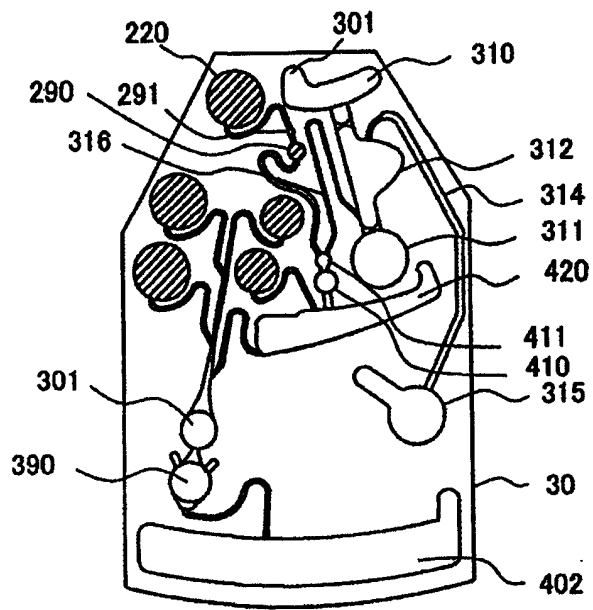


图12

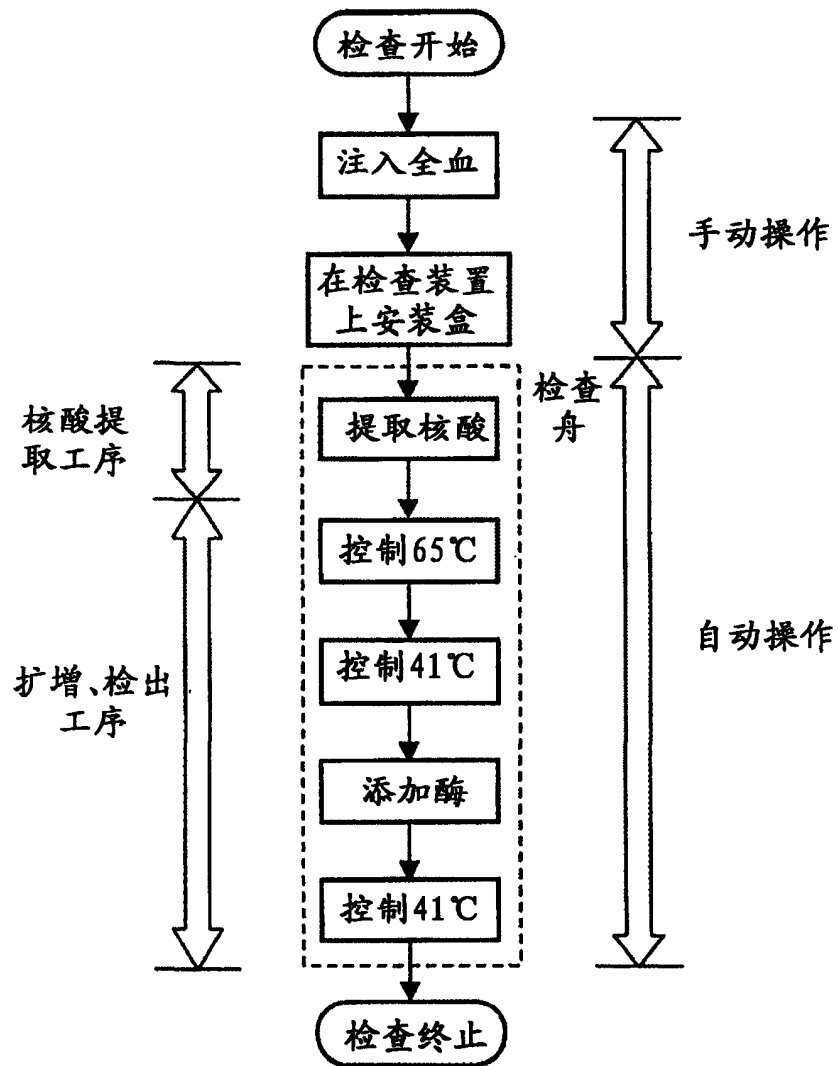


图 13

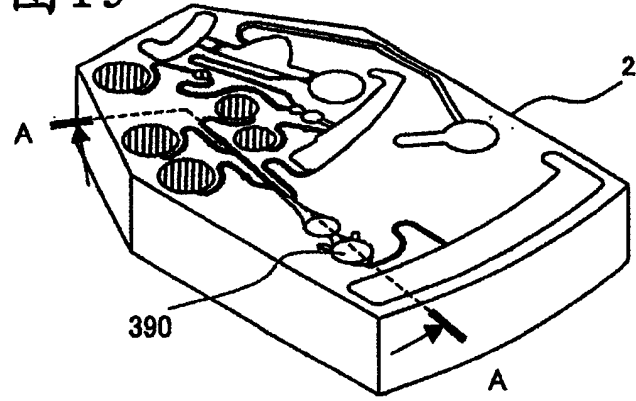


图 14

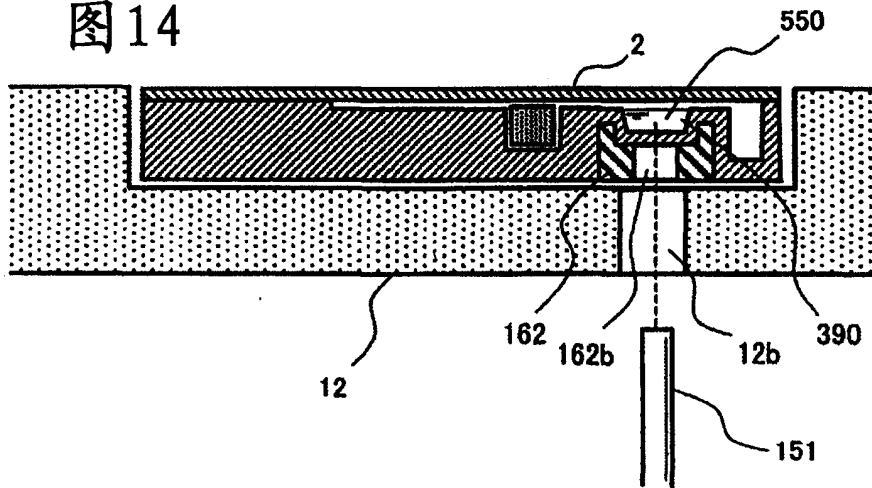


图 15

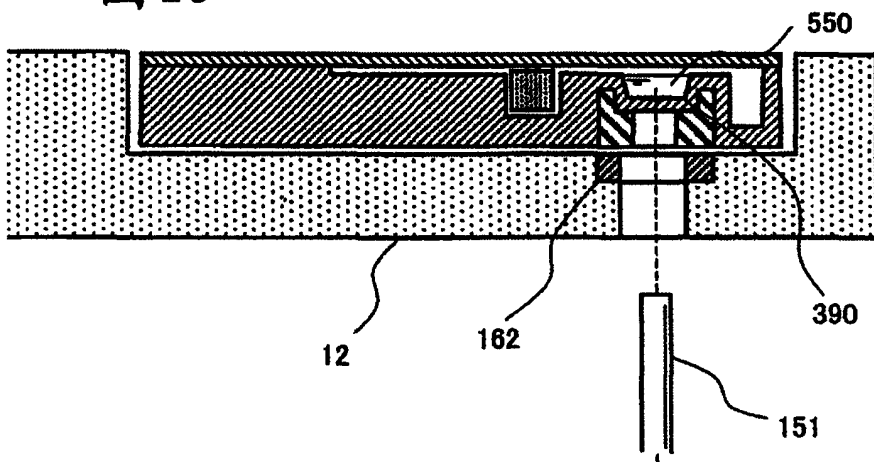


图 16

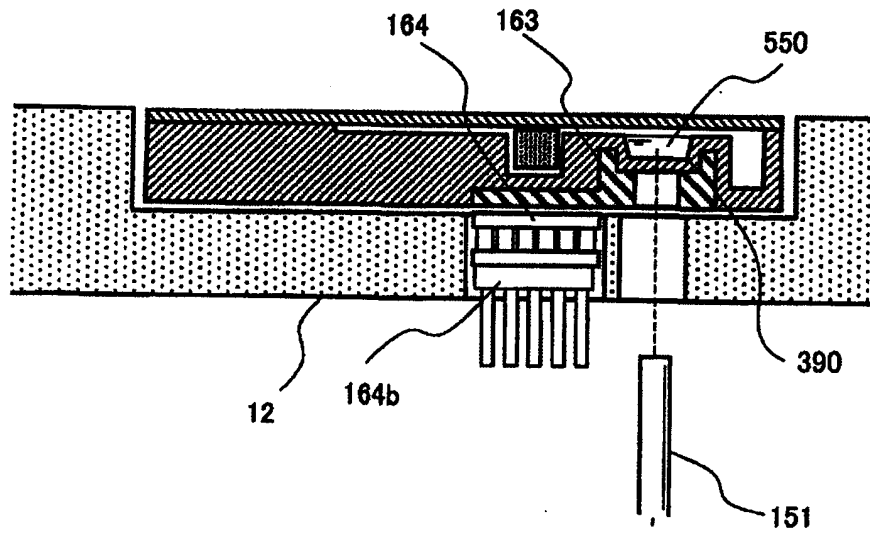


图 17

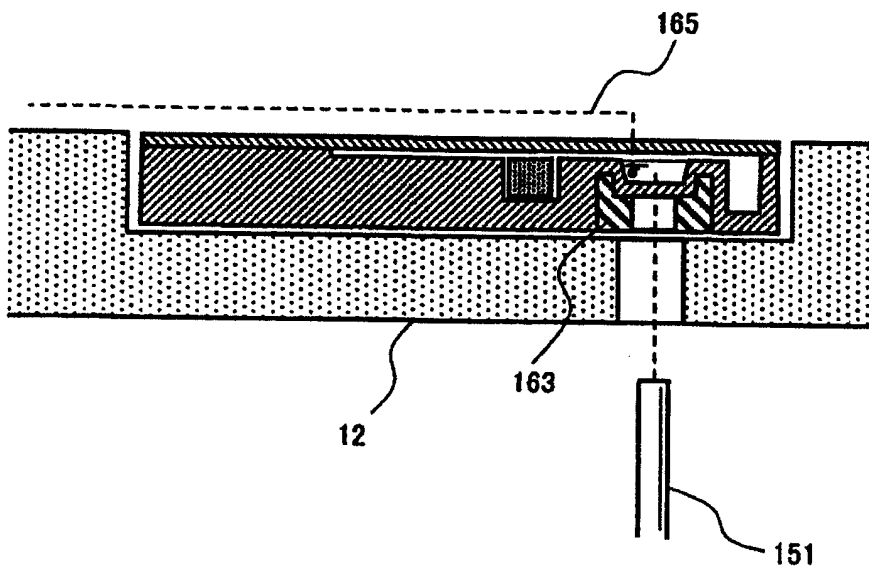




图18

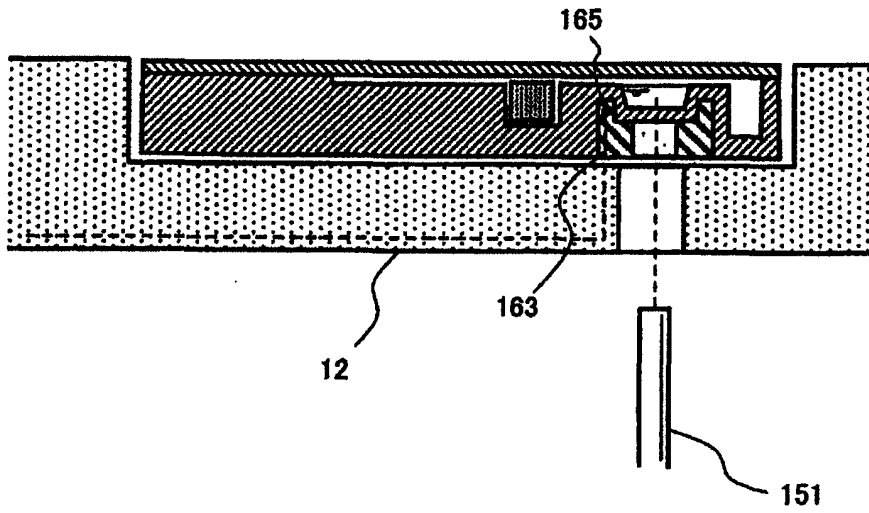


图19

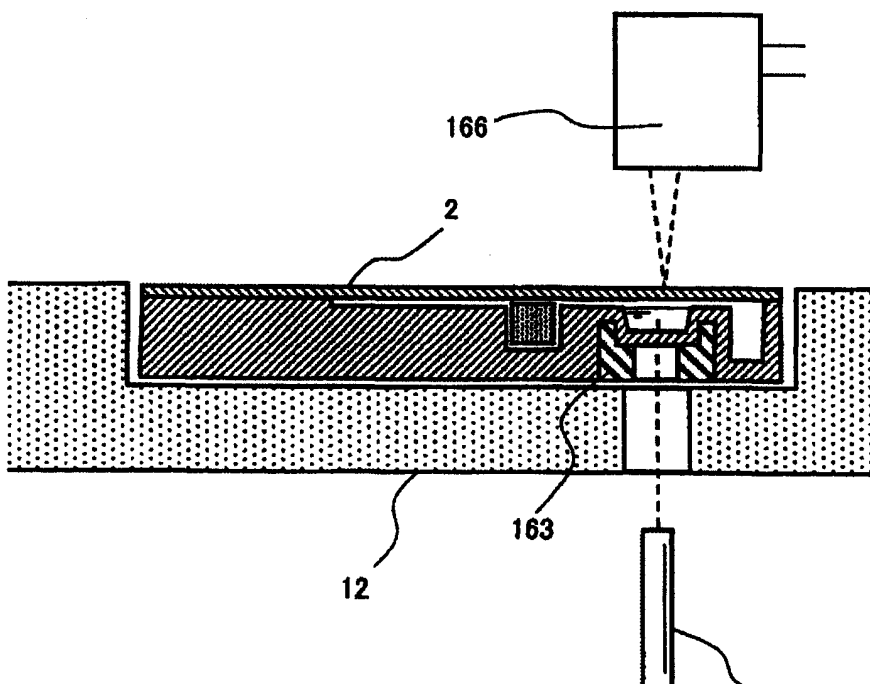


图 20

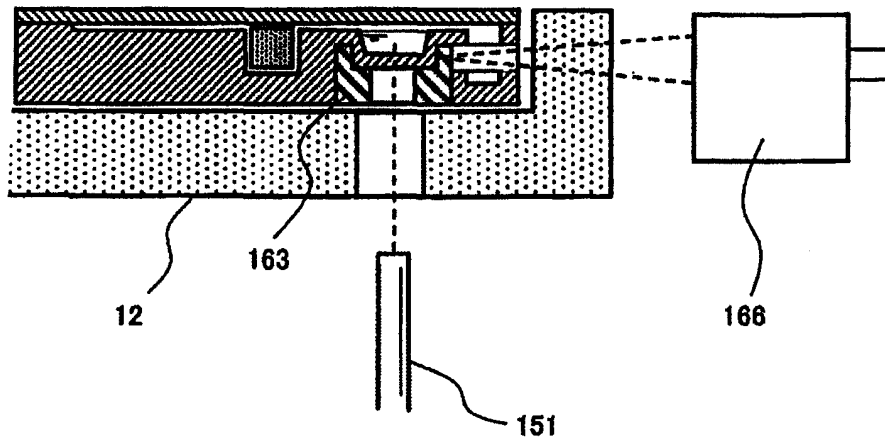


图 21

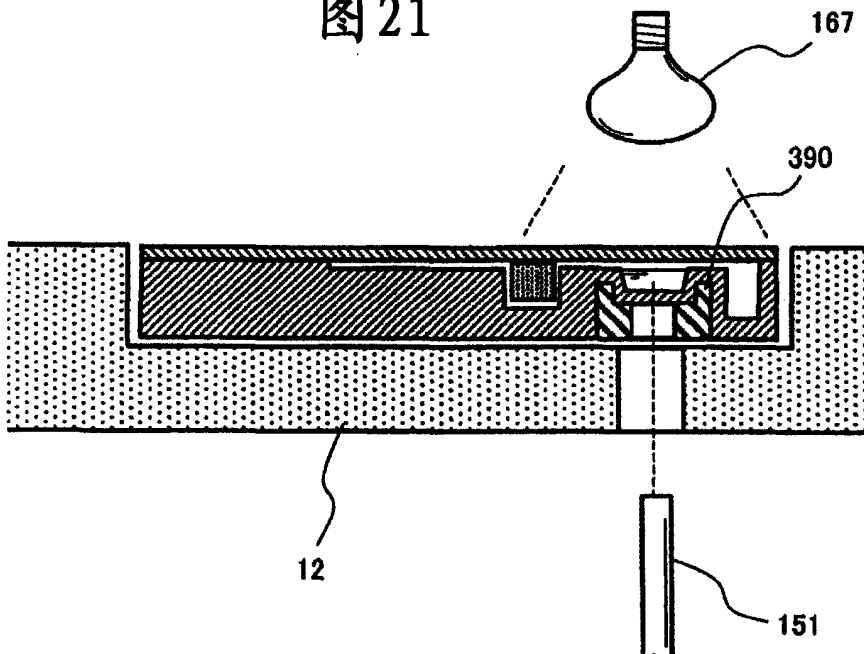


图 22

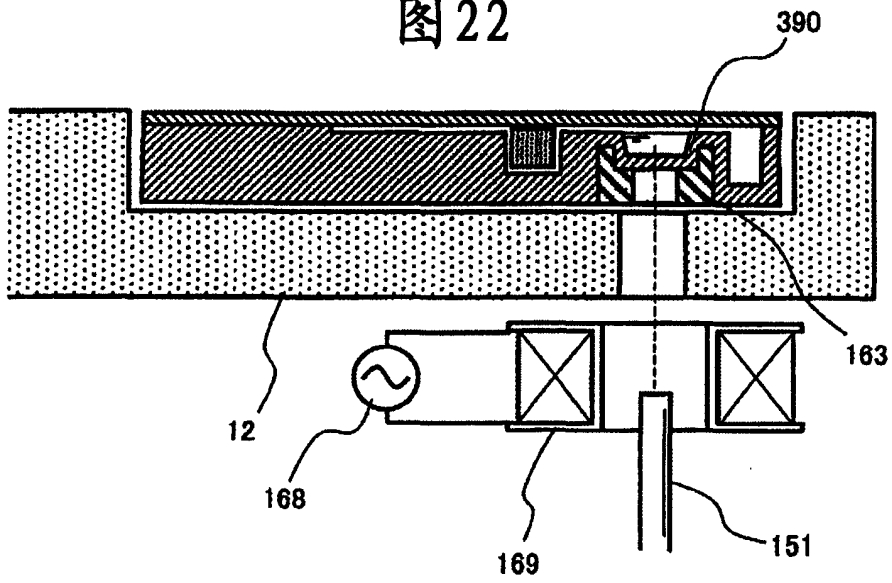


图 23

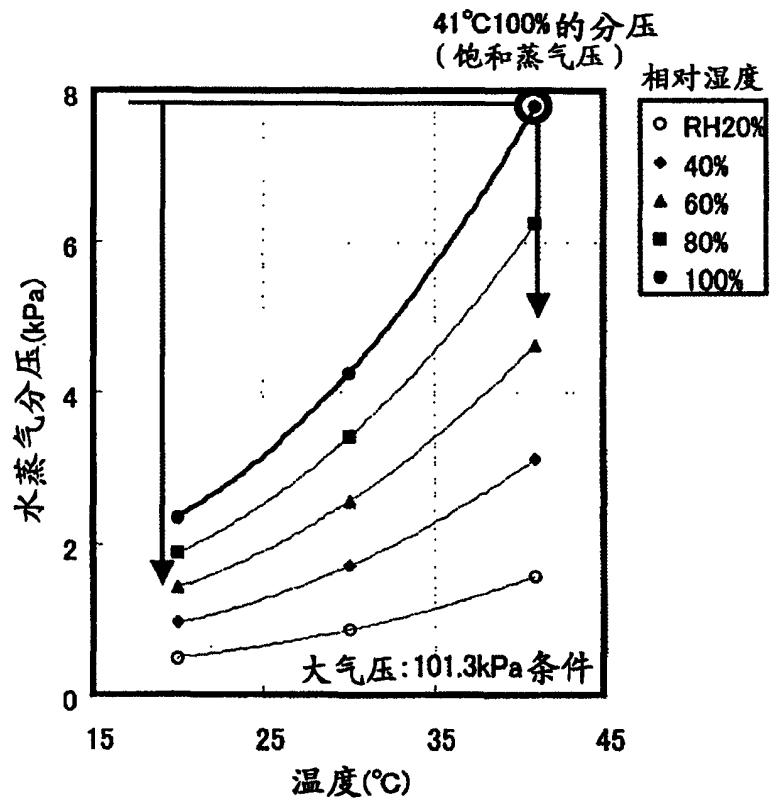


图 24

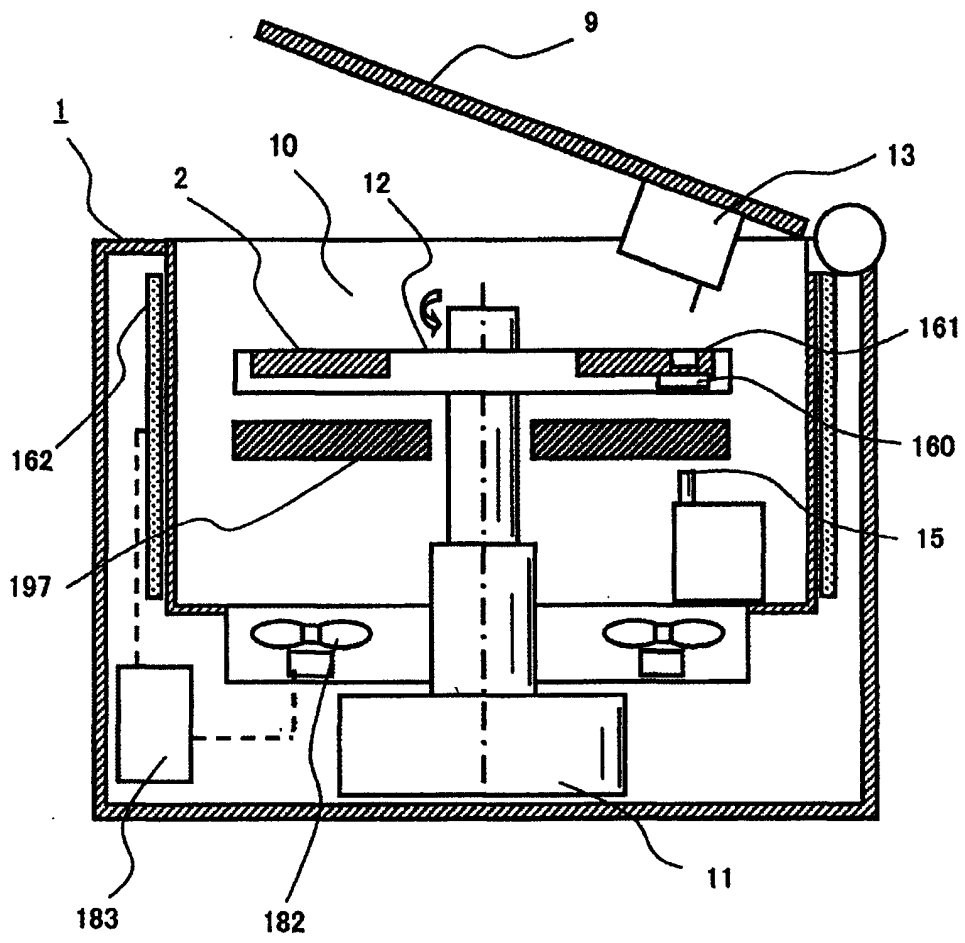


图 25

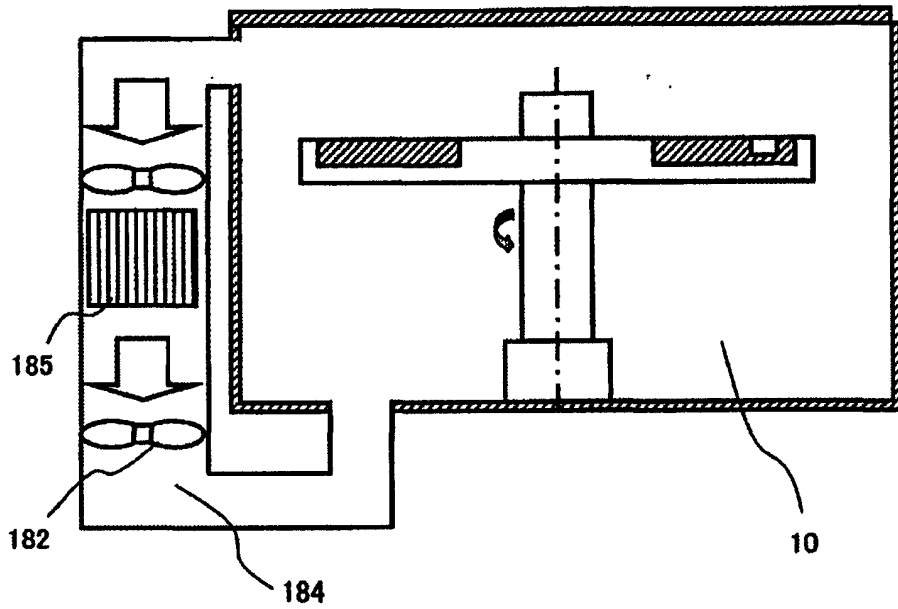


图 26

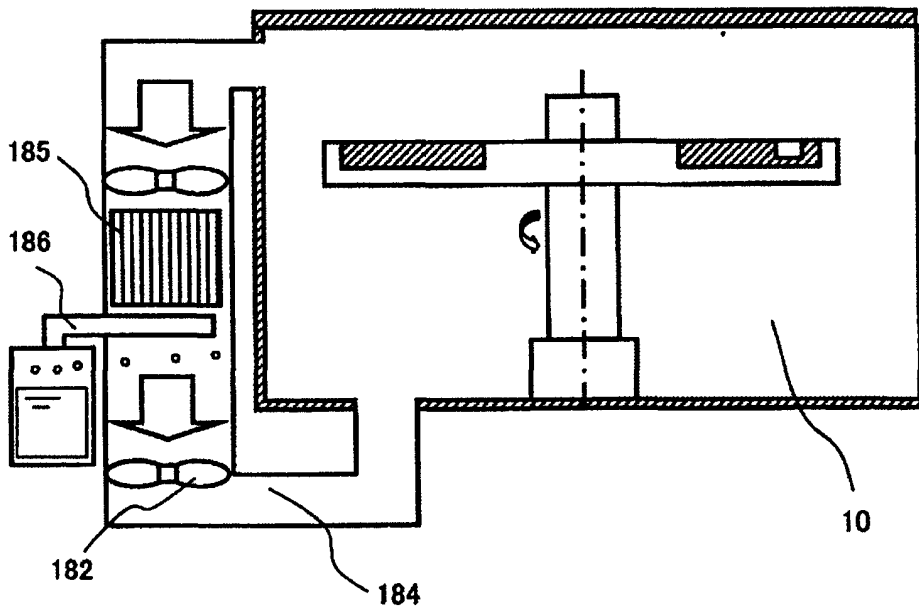


图 27

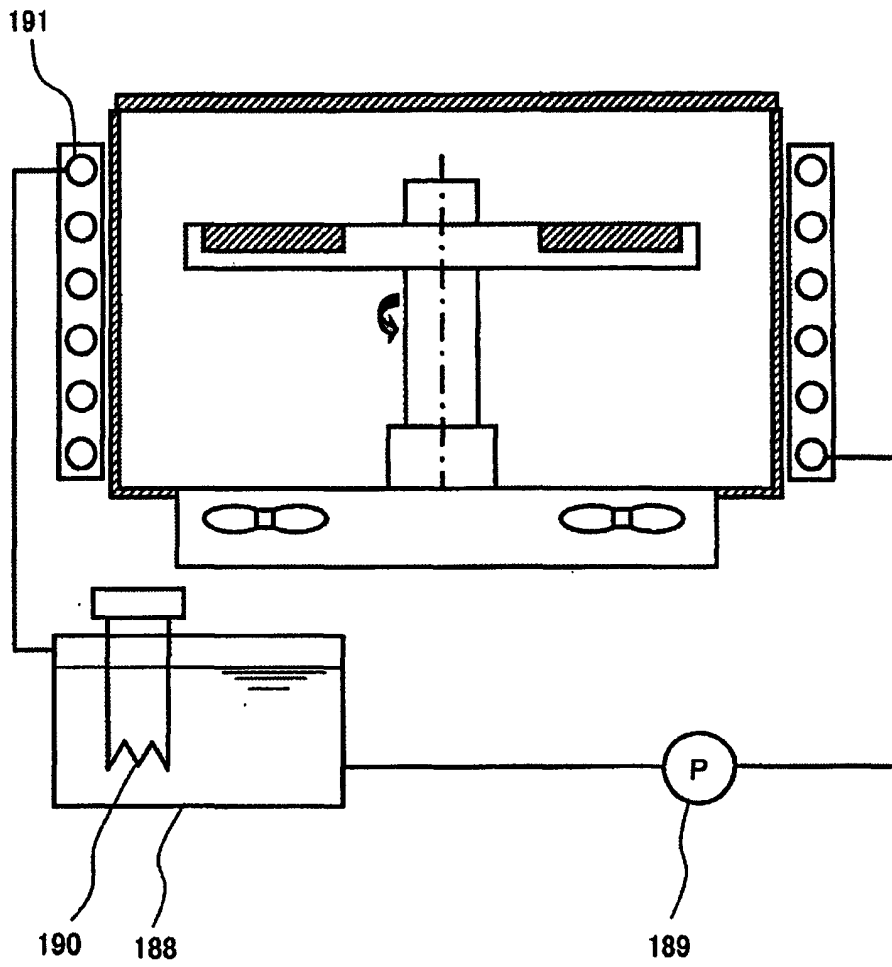


图 28

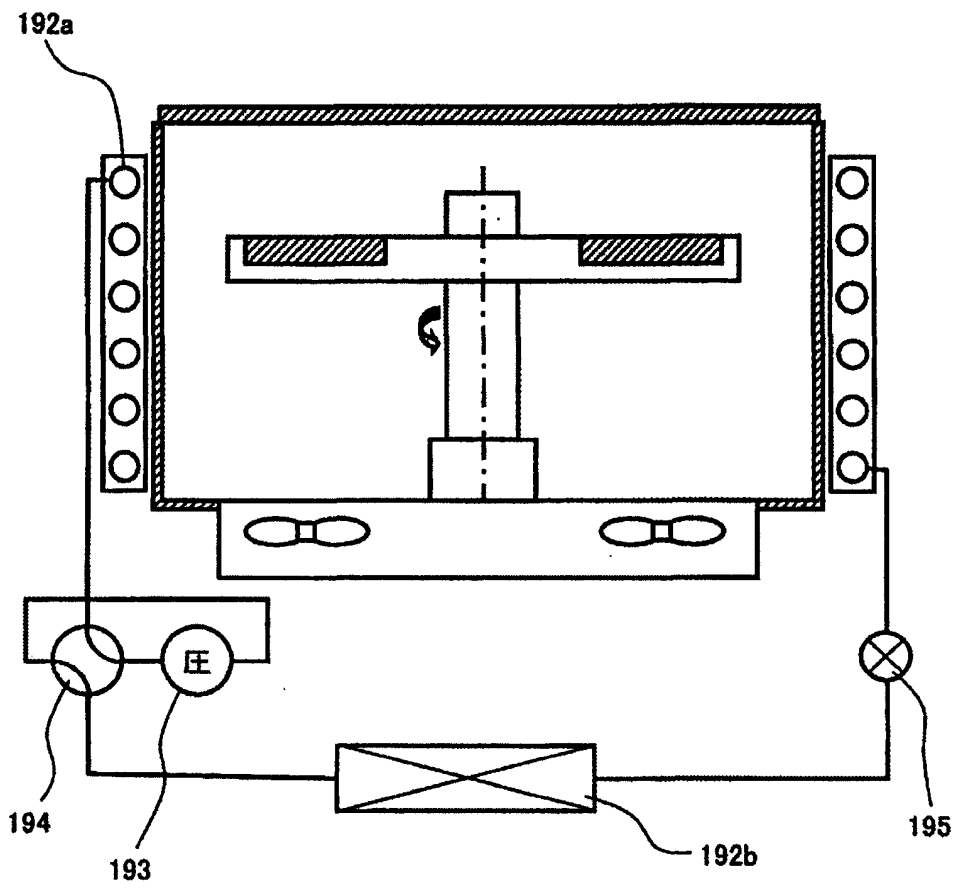


图 29

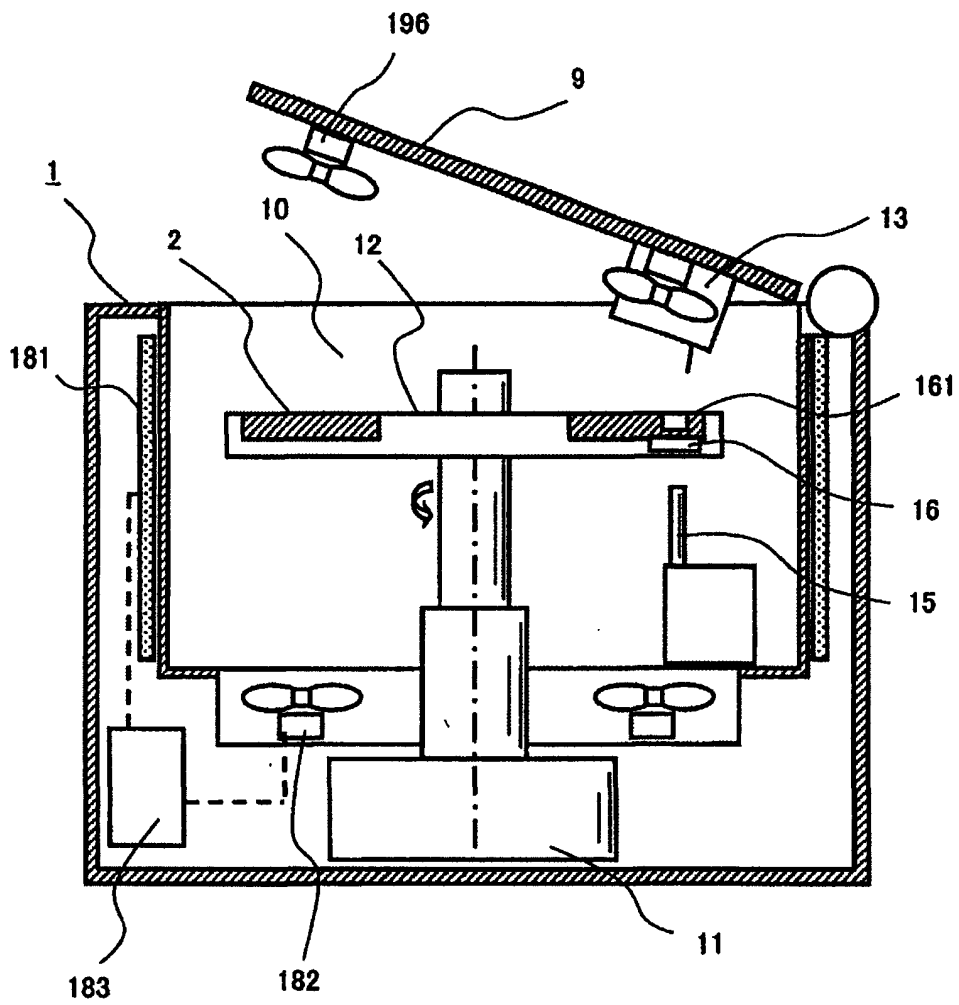




图 30

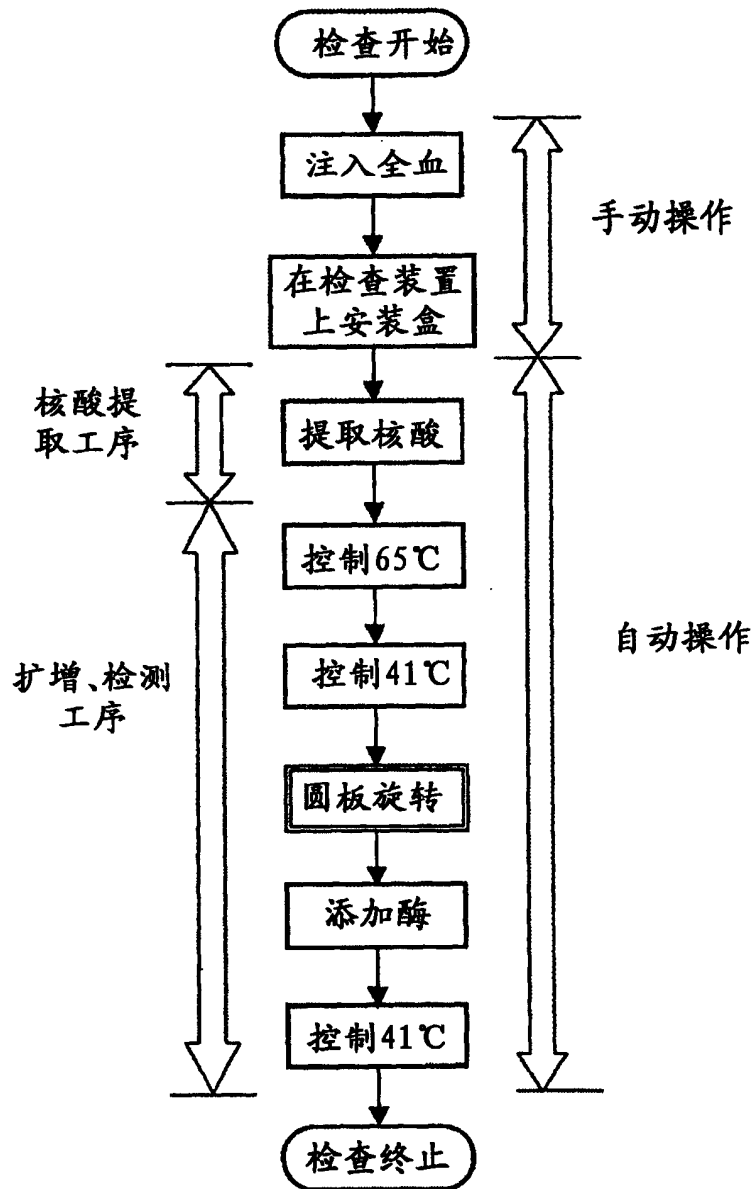


图 31

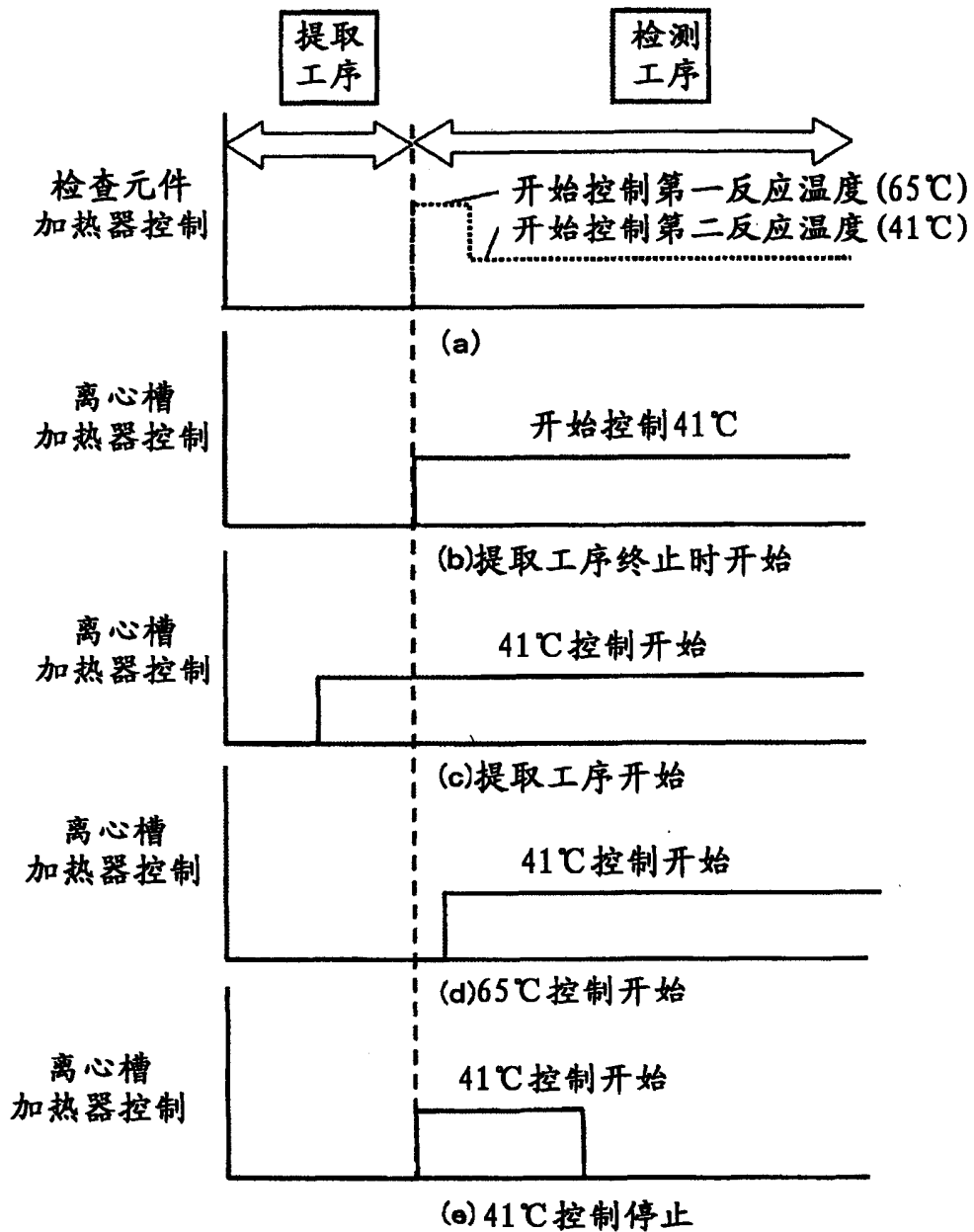


图 32

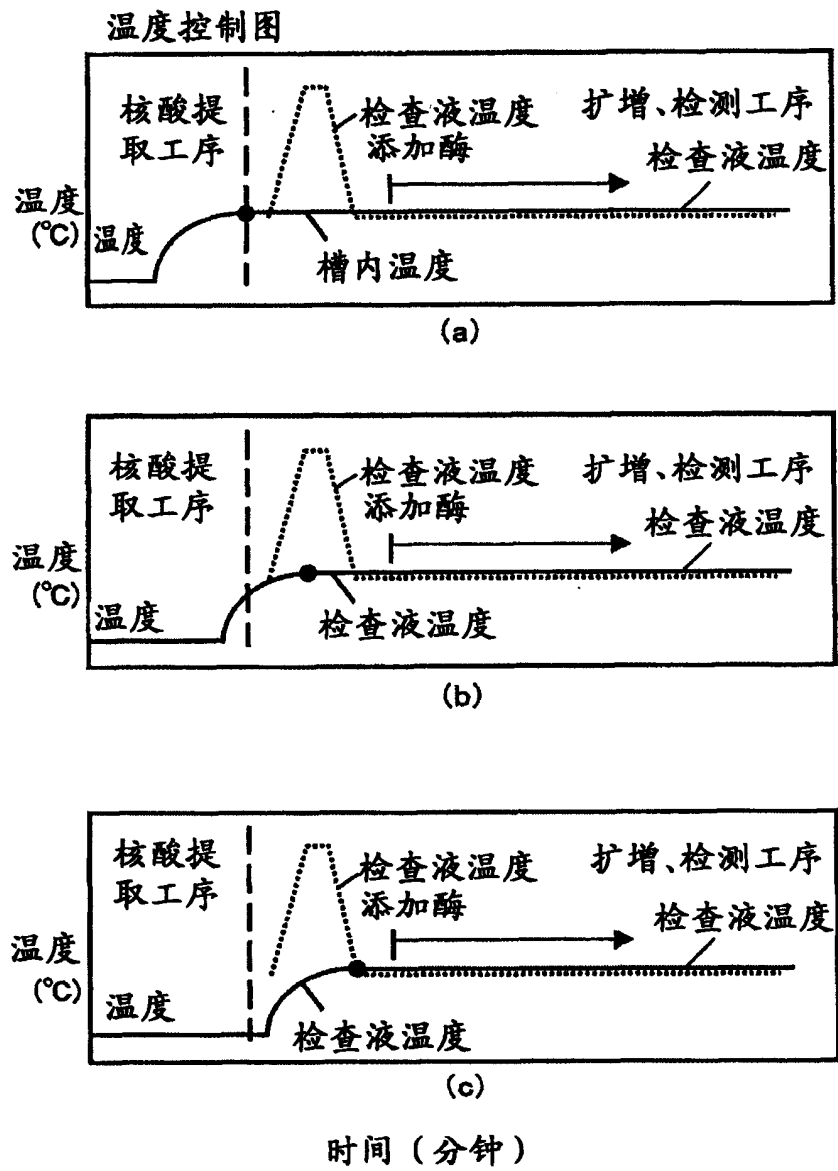


图 33

