

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 33/00

G01N 33/53 G01N 33/543

G01N 33/68 G01N 21/76

G01N 27/26 G01N 27/72

C12Q 1/68



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03141391.9

[43] 公开日 2003 年 11 月 26 日

[11] 公开号 CN 1458525A

[22] 申请日 2003.6.8 [21] 申请号 03141391.9

[71] 申请人 郭占军

地址 252000 山东省聊城市文化路 1 号市中  
医院

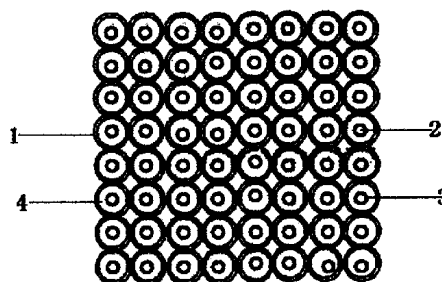
[72] 发明人 郭占军 赵 华 郭爱芹 杨焕云  
段玉民

权利要求书 3 页 说明书 8 页 附图 4 页

[54] 发明名称 集成毛细管生物芯片及其制作方法

[57] 摘要

本发明涉及一种集成毛细管生物芯片及其制作方法，用于待检样品中基因、蛋白质、药物或受体、组织或细胞和多糖或凝集素的并行检测、识别和鉴定，主要由毛细管生物芯片单元组成，其特点是设有生物探针的毛细条状载体置于毛细管腔内构成毛细管生物芯片单元阵列；沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割上述毛细管生物芯片单元阵列而构成集成毛细管生物芯片。具有结构简单、探针密度高和灵敏、准确、真正无串扰现象的优点，可进行大规模工业化生产。



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

1、一种集成毛细管生物芯片，主要由生物探针和载体单元组成，其特征在于：设有稳定化生物探针的毛细条状载体置于毛细管腔内构成毛细管生物芯片单元；相同或不同的毛细管生物芯片单元相互平行排布成毛细管生物芯片单元阵列；沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割上述毛细管生物芯片单元阵列而构成集成毛细管生物芯片；或将上述切割后的毛细管生物芯片单元阵列再相互粘合而构成集成毛细管生物芯片。

2、根据权利要求 1 所述的集成毛细管生物芯片，其特征在于：由同一毛细管生物芯片单元阵列切割而形成的集成毛细管生物芯片的断面上生物阵列是相同的；其正反两面的断面上，所对应的相应位点上的生物探针是相同的。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的集成毛细管生物芯片，其特征在于：所述毛细条状载体上的相同的生物探针分别呈连续分布，不同的生物探针呈不连续分布；所述毛细条状载体是预先活化后再固化包括涂布、浸染、生长相同或不同的生物探针的；预设有生物探针的各种毛细条状载体在毛细管腔内是连续、衔接或不连续的。所述毛细条状载体是毛细纤维、光纤、玻璃丝、金属丝、毛细条状膜中的任一种。所述毛细管是基于塑料、合成材料、石英、玻璃、金属制备的毛细管中的任一种。

4、根据权利要求 1 或 2 所述的集成毛细管生物芯片，其特征还在于：所述含有生物探针的毛细条状载体与毛细管内壁间的空隙中填充有填充物。所述填充物包括塑料、合成材料、石英、玻璃、金属材料及其粘合剂中的任一种。

5、根据权利要求 1 或 2 所述的集成毛细管生物芯片，其特征在于：所述稳定化生物探针包括 DNA 探针、cDNA 探针、肽核酸探针、mRNA、抗原、抗体包括不同位点的单克隆或多克隆抗体及抗免疫球蛋白抗体、药物或受体、多糖或凝集素、细胞或组织中的任一种或任一组合。

6、根据权利要求 4 所述的集成毛细管生物芯片，其特征在于：所述稳定化生物探针包括预设有上述生物探针的微球和微粒，首选的是聚苯乙烯微球和磁性微粒。所述预包被生物探针的聚苯乙烯微球或磁性微粒是结合在毛细条状载体上。

7、集成毛细管生物芯片的制作方法，其特征是：

1) 处理活化毛细条状载体，即清洗毛细条状载体后再用 1-乙基-3-(3-二甲氨基)碳二亚胺盐酸盐和 N-羟基琥珀酰亚胺把毛细条状载体表面变成含有活泼酯的活性基团，以利于共价或非共价结合生物探针。

- 2) 制备稳定化生物探针溶液, 即向生物探针溶液中加入蔗糖、海藻糖、多糖、防腐剂、表面活性剂、氨基酸及其衍生物中的任一种或其组合物, 其与生物探针的重量比为 10-30:1。其中基因探针采用 DNA 合成仪合成获得, 抗原或抗体探针通过充足、纯化及单克隆或多克隆抗体制备获得。
- 3) 在每一种生物探针溶液中放入已活化的毛细条状载体, 使其全部浸没在生物探针溶液中, 待固化包括涂布、浸染、生长生物探针完成后, 取出经清洗、干燥后进行封闭, 再经过清洗、干燥后备用于下一步的组装。
- 4) 取每一根已预设生物探针的载体, 将其置于合适的毛细管腔内, 如此反复, 制备相同或不同的毛细管生物芯片单元。
- 5) 取步骤 4) 获得的毛细管生物芯片单元, 用填充物填充入毛细条状载体与毛细管内壁间的空隙中。
- 6) 将步骤 5) 获得的相同或不同的毛细管生物芯片单元相互平行排布成阵列;
- 7) 沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割步骤 6) 获得的阵列而制备成集成毛细管生物芯片; 或将上述切割后的毛细管生物芯片阵列再相互粘合而制备成集成毛细管生物芯片。
- 8、根据权利要求 6 所述的集成毛细管生物芯片的制作方法, 其特征是:
  - 1) 处理活化所有相同的毛细条状载体可在同一容器中一次性完成;
  - 2) 固化包括结合、涂布、生长所有相同的生物探针可在同一容器中一次性完成;
  - 3) 固化包括结合、涂布、生长各自不相同的生物探针可将相同的毛细条状载体分别浸没在不同容器中的相应生物探针溶液中;
  - 4) 毛细条状载体上的相同的生物探针分别呈连续分布, 不同的生物探针呈不连续分布。
  - 5) 毛细条状载体上的生物探针可以是预包被生物探针的聚苯乙烯微球和磁性微粒;
  - 6) 预包被生物探针的聚苯乙烯微球和磁性微粒是结合在毛细条状载体上;
  - 7) 各种预设生物探针的载体均置于毛细管腔内构成多种规格和多种类型的毛细管生物芯片单元;
  - 8) 各种预设生物探针的载体在毛细管腔内是连续、衔接或不连续的;
  - 9) 各种预设生物探针的载体与毛细管腔内壁间留有一定的空隙;
  - 10) 根据实际需要可将各种毛细管生物芯片单元排布成多种规格和多种类型的阵列;
  - 11) 根据实际需要可将上述阵列切割或切割后再相互粘合成多种规格和多种类型的集成毛细管生物芯片;

- 12) 在切割的同一阵列的断面上生物阵列是相同的,可一次性制备多个相同的阵列;
- 13) 在切割的同一阵列的正反两面的断面上,所对应的相应位点上的生物探针是相同的;
- 14) 各种阵列中各种生物探针间真正实现零串扰、零污染。

9、根据权利要求1或7所述的集成毛细管生物芯片的检测方法,其特征是:基于化学反应的光检查、化学沉积、电子探查、机械感应、磁感应和电化学检测;可进行同一集成毛细管生物芯片的正反双面检测,且正反双面检测结果是相同的;其基于光检查的图像为圆环状或点状。

10、根据权利要求1或7所述的集成毛细管生物芯片的用途,其特征是:该集成毛细管生物芯片适用于基因测序、疾病诊断、法医鉴定、药物筛选、基因表达谱和蛋白质组学研究及其他生命科学研究。

## 集成毛细管生物芯片及其制作方法

### 技术领域

本发明属于生命科学技术领域，更准确地说，是涉及一种对基因、蛋白质（抗原或抗体）、药物或受体、组织或细胞、多糖或凝集素进行并行检测、识别、鉴定的集成毛细管生物芯片。本发明还涉及该集成毛细管生物芯片的制作检测方法和用途。

### 背景技术

现有的生物芯片是指包被在固相载体上的高、中、低密度核酸（cDNA、mRNA、肽核酸）探针、蛋白质（多肽、酶分子、抗原、抗体）、药物或受体、细胞或组织的微点阵（Microarray）；是利用生物大分子间具有特异相互识别的能力而将他们有序的排列在固相载体基片（膜、玻璃片、硅片、瓷片等）上，与待检样品和相应的标记生物分子同时进行特异性反应或杂交，通过自动阅读设备可获得大量有用的生命科学信息。

基因芯片，又称 DNA 芯片，是一种高、中密度的核苷酸（cDNA、mRNA、肽核酸）探针微阵列。其制备方法主要有：其一是采用光蚀刻和原位组合合成化学技术，将大量特定序列的核酸探针有序地固化在载体基片上；其二是将已纯化好的核酸探针利用自动点样设备点样（喷印）于载体基片上；其三是利用光诱导技术使基因探针在光导纤维的一端生长；其四是采用分子印章方法多次压印原位定点 DNA 合成于载体基片上；从而构成储存有大量生命信息点阵的基因芯片。

蛋白质芯片又称肽芯片，是将蛋白质包括多肽、酶分子、抗原或抗体固定到固相载体基片上，利用蛋白质分子能特异性与配体分子包括抗原或抗体、受体相结合的原理，然后通过相应的标记分子，用来大规模检测抗原、抗体、受体或酶分子、多肽片段。其制作方法是已纯化好的蛋白质分子通过不同的方式点样（喷印）于固相载体上；其二是采用光导向多肽合成技术，将具有特定氨基酸序列的多肽链有序地固化在载体基片上。

生物芯片常用的固相载体基片有：有机和无机聚合物薄膜、玻璃片、硅片、瓷片等，该类载体基片通常经过修饰处理，即用各种不同的活化试剂通过化学反应在载体基片表面键合上各种各样的活性基团，以便与点样物中的生物分子共价结合，形成具有不同生物特异性的亲和型载体基片，即生物芯片，用来固定和检测各种不同的活性生物分子，如蛋白质、多肽、酶、核酸、抗原、抗体、药物或受体、组织或细胞等，甚至在载体基片上构建各种各样的微结构包括微坑、微沟、微槽、微管、微泵等微型结构或装置，以利于样品的处理和试剂的分配。

另有用光导纤维作为固相载体材料者，在光导纤维的顶端采用不同的方法制作各种生物分子的微点阵。毛细纤维或光纤作为生物芯片的载体具有结构细微（其外径仅为 5-20  $\mu\text{m}$ ）、易于大批量处理和加工的优点，可以在毛细纤维或光纤的三维立体结构上固定大量的生物探针包括核苷酸探针、酶分子或多肽、抗原或抗体、药物或受体、多糖或凝集素、细胞或组织等，其探针密度可达每平方厘米 10-400 万个点阵。

也有用毛细管作为固相载体材料者，即在毛细管的管腔内壁制作生物分子的微点阵，但此方案具有较大的制作难度。

授权中国专利 9812010.4 公开了一种“光纤阵列型基因芯片及其制作方法”，其制作方法是预先在单根光纤单元的端面生长基因探针并固化后，再将一组带不同基因探针的光纤单元排布成阵列。如此将携带有基因探针的光纤单元直接相邻排布成阵列，该技术方案不能真正避免相邻基因探针间的串扰现象。

授权中国实用新型专利 01227862.9 公开了一种“毛细管生物芯片装置”，是由内设毛细纤维丝(条)的透明毛细管组成，在毛细纤维丝(条)上点有稳定化的点样物点样线(点)、相应标记物、阳性和阴性对照线(点)。该技术方案仅为一个低通量毛细管生物芯片单元，而不是高通量集成毛细管生物芯片阵列，且生物探针呈线(点)状，而非涂布、浸染、生长的连续分布。

鉴于原位合成对基质材料要求条件较高；直接点样时由于采用复杂工艺，常会造成点样液中活性物质如 DNA 或 RNA、抗原或抗体、药物或受体、组织或细胞等发生不可逆的变性或活性的损失，影响了生物芯片的检测灵敏度和特异性，甚至影响了生物芯片的稳定性和保存期。再者，随着高密度生物芯片探针密度的增高，相邻生物探针间的互染率增加，使相邻探针间的串扰现象明显增强，造成生物芯片的稳定性和准确性明显下降。另外，由于制造工艺复杂，相应检测手段要求条件也很高，导致制造和应用成本较高，限制了该高新技术的广泛应用。

### **发明目的**

本发明的目的就是针对现有技术中存在的缺陷或不足，尤其是针对高密度生物芯片制备工艺复杂和因串扰现象而导致稳定性差的难题，提供一种探针密度高和灵敏、准确、真正无串扰现象且制备工艺简便，可进行大规模工业化生产的集成毛细管生物芯片。

本发明的另一目的就是提供该集成毛细管生物芯片的制作方法。

本发明的另一目的就是提供该集成毛细管生物芯片的检测方法。

本发明的另一目的就是提供该集成毛细管生物芯片的用途。

### **技术方案**

本发明的目的是这样实现的：

一种集成毛细管生物芯片，用于检测待测样品中的蛋白质、互补 DNA 或 RNA、抗原或抗体、药物或受体、多糖或凝集素、组织或细胞的存在与否及其量的多少，主要由生物探针和载体单元组成，其特征在于：设有稳定化生物探针的毛细条状载体置于毛细管腔内构成毛细管生物芯片单元；相同或不同的毛细管生物芯片单元相互平行排布粘合成阵列；沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割上述毛细管生物芯片单元阵列而构成集成毛细管生物芯片；或将上述切割后的毛细管生物芯片单元阵列再相互粘合而构成集成毛细管生物芯片。

根据本发明，其特征还在于：由同一种毛细管生物芯片单元阵列切割而形成的集成毛细管生物芯片的断面上生物阵列是相同的；其正反两面的断面上，所对应的相应位点上的生物探针是相同的。

根据本发明，其特征还在于：所述毛细条状载体上的相同的生物探针分别呈连续分布，不同的生物探针呈不连续分布；所述毛细条状载体是预先活化后再固化包括涂布、浸染、生长相同或不同的生物探针的；预设有生物探针的各种毛细条状载体在毛细管腔内是连续、衔接或不连续的。所述毛细条状载体是毛细纤维、光纤、玻璃丝、金属丝、毛细条状膜中的任一种。所述毛细管是基于塑料、合成材料、石英、玻璃、金属制备的毛细管中的任一种。

根据本发明，其特征还在于：所述含有生物探针的毛细条状载体与毛细管内壁间的空隙中填充有填充物。所述填充物包括塑料、合成材料、石英、玻璃、金属材料及其粘合剂中的任一种。

根据本发明，其特征还在于：所述稳定化生物探针包括 DNA 探针、cDNA 探针、肽核酸探针、mRNA、抗原、抗体包括不同位点的单克隆或多克隆抗体及抗免疫球蛋白抗体、药物或受体、多糖或凝集素、细胞或组织等多种生物分子中的任一种或任一组合。

根据本发明，其特征还在于：所述稳定化生物探针包括预设有上述生物探针的微球和微粒，首选的是聚苯乙烯微球和磁性微粒。所述预包被生物探针的聚苯乙烯微球或磁性微粒是结合在毛细条状载体上。

根据本发明，其特征还在于：所述稳定化生物探针是含有蔗糖、海藻糖、多糖、防腐剂、表面活性剂、氨基酸及其衍生物中的任一种或其组合物。

根据本发明，一种集成毛细管生物芯片的制作方法，其特征是：

- 1) 处理活化毛细条状载体，即清洗毛细条状载体后再用 1-乙基-3-(3-二甲氨基)碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 和 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 等活化剂把毛细条状载体表面变成含有活泼酯的活性基团或其他活性基团，以利于共价或非共价结合生物探针。
- 2) 制备稳定化生物探针溶液，即向生物探针溶液中加入蔗糖、海藻糖、多糖、防腐剂、表面活性剂、氨基酸及其衍生物中的任一种或其组合物，其与生物探针的重量比为

10-30 : 1。其中基因探针采用 DNA 合成仪合成获得；肽核酸探针采用多肽合成仪合成获得；抗原或抗体探针通过重组、纯化及单克隆或多克隆抗体制备获得。

- 3) 在每一种生物探针溶液中放入已活化的毛细条状载体，使其全部浸没在生物探针溶液中，待固化包括涂布、浸染、生长生物探针完成后，取出经清洗、干燥后进行封闭，再经过清洗、干燥后备用于下一步的组装。
- 4) 取每一根已预设生物探针的载体，将其置于合适的毛细管腔内，如此反复，制备相同或不同的毛细管生物芯片单元。
- 5) 取步骤 4) 获得的毛细管生物芯片单元，用填充物填充入毛细条状载体与毛细管内壁间的空隙中。
- 6) 将步骤 5) 获得的相同或不同的毛细管生物芯片单元相互平行排布成阵列；
- 7) 沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割步骤 6) 获得的阵列而制备成集成毛细管生物芯片；或将上述切割后的毛细管生物芯片阵列再相互粘合而制备成集成毛细管生物芯片。

根据本发明，一种集成毛细管生物芯片的制作方法，其特征还在于：

- 1) 处理活化所有相同的毛细条状载体可在同一容器中一次性完成；
- 2) 固化包括结合、涂布、生长所有相同的生物探针可在同一容器中一次性完成；
- 3) 固化包括结合、涂布、生长各自不相同的生物探针可将相同的毛细条状载体分别浸没在不同容器中的相应生物探针溶液中；
- 4) 毛细条状载体上的相同的生物探针分别呈连续分布，不同的生物探针呈不连续分布；
- 5) 毛细条状载体上的生物探针可以是预包被生物探针的聚苯乙烯微球和磁性微粒；
- 6) 预包被生物探针的聚苯乙烯微球和磁性微粒是结合在毛细条状载体上；
- 7) 各种预设生物探针的载体均置于毛细管腔内构成多种规格和多种类型的毛细管生物芯片单元；
- 8) 各种预设生物探针的载体在毛细管腔内是连续、衔接或不连续的；
- 9) 各种预设生物探针的载体与毛细管腔内壁间留有一定的空隙；
- 10) 预设生物探针的载体与毛细管腔内壁间的空隙内填充有填充物；
- 11) 根据实际需要可将各种毛细管生物芯片单元排布成多种规格和多种类型的阵列；
- 12) 根据实际需要可将上述阵列切割或切割后再相互粘合成多种规格和多种类型的集成毛细管生物芯片；
- 13) 在切割的同一阵列的断面上生物阵列是相同的，可一次性制备多个相同的阵列；

14) 在切割的同一阵列的正反两面的断面上, 所对应的相应位点上的生物探针是相同的;

15) 各种阵列中各种生物探针间真正实现零串扰、零污染。

根据本发明, 一种集成毛细管生物芯片的检测方法, 其特征是: 基于化学反应的光检查、化学沉积、电子探查、机械感应、磁感应和电化学检测; 可进行同一集成毛细管生物芯片的正反双面检测; 且正反双面检测结果是相同的; 其基于光检查的图像为圆环状或点状。

根据本发明, 一种集成毛细管生物芯片的用途, 适用于基因测序、疾病诊断、法医鉴定、药物筛选、基因表达谱和蛋白质组学研究及其他生命科学研究。

### 有益效果

本发明的巧妙构思在于预设有稳定化生物探针的毛细条状载体置于毛细管腔内构成毛细管生物芯片单元; 相同或不同的毛细管生物芯片单元相互平行排布粘合成阵列; 沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割上述毛细管生物芯片单元阵列而构成集成毛细管生物芯片; 或将上述切割后的毛细管生物芯片单元阵列再相互粘合而构成集成毛细管生物芯片。由此而带来了比现有生物芯片技术突出的优点和显著的效果。其优点和效果在于:

- 1) 由于将预设有生物探针的毛细条状载体设置于毛细管腔内, 相邻毛细管腔内毛细条状载体上的生物探针完全被相邻毛细管所隔离, 使各种生物探针间真正实现零串扰、零污染。
- 2) 于各种生物探针稳定化设于毛细条状载体上, 并置于毛细管腔内, 再加上能够真正实现零串扰、零污染, 故本发明具有更高的稳定性和准确性。
- 3) 由于正反两面的断面上, 所对应的相应位点上的生物探针是相同的, 因此可进行同一集成毛细管生物芯片的正反双面检测, 且正反双面检测结果是相同的。使检测结果具有可比性, 能明显提高准确率和结果的可靠性。
- 4) 由于将相同或不同的毛细管生物芯片单元相互平行排布粘合成阵列, 不仅可进行大批量制作, 而且各制作成各种规格和各种类型的毛细管生物芯片单元阵列。
- 5) 由于本发明是沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割上述毛细管生物芯片单元阵列而成或将上述切割后的毛细管生物芯片单元阵列再相互粘合而成, 故具有高通量、多规格和多类型的特点。
- 6) 由于在切割的同一阵列的断面上生物阵列是相同的, 因此可一次性大规模制备大量相同的阵列, 且所制备的阵列具有很好的可比性和实用性, 同理所制备的本发明亦具有很好的可比性和实用性。
- 7) 由于处理活化所有相同的毛细条状载体可在同一容器中一次性完成以及固化包括结合、涂布、生长所有相同的生物探针可在同一容器中一次性完成, 故更适于大规模批量制作,

且具有较小的批间差，因此具有很好的可比性和实用性。

- 8) 本发明制备工艺简便，易于大规模批量生产，具有效率高、成本低和实用性强等优点。
- 9) 本发明的检测方法适用性强，可以是基于化学反应的光检查、化学沉积、电子探查、机械感应、磁感应和电化学检测，并且可进行同一集成毛细管生物芯片的正反双面检测，所得到的正反双面检测结果是相同的。
- 10) 本发明提供了一种真正无串扰现象的对基因、蛋白质包括抗原抗体、药物或受体、组织或细胞和多糖或凝集素进行并行检测、识别、鉴定的优良器件，可广泛应用于基因测序、疾病诊断、法医鉴定、药物筛选、基因表达谱和蛋白质组学研究及其他生命科学研究领域。

下面结合附图和具体实施方式对本发明集成毛细管生物芯片及其制作方法作进一步详细描述。

#### 附图说明

图1为本发明俯视图，其中1为毛细管、2为毛细条状载体、3为生物探针、4为毛细管腔内填充物；

图2为活化载体方法示意图，其中2为毛细条状载体、5为容器、6为活化剂；

图3活化载体结合生物探针方法示意图，其中2a为已活化的毛细条状载体、5为容器、7为生物探针溶液；

图4为制备毛细管生物芯片单元示意图，其中1为毛细管、2b为已固化有生物探针的毛细条状载体；

图5为毛细管生物芯片单元示意图，其中1为毛细管、2b为已固化有生物探针的毛细条状载体、3为生物探针、4为毛细管腔内填充物；

图6为排布毛细管生物芯片单元阵列示意图，其中8为毛细管生物芯片单元、9为毛细管生物芯片单元阵列；

图7为毛细管生物芯片单元阵列示意图，其中9为毛细管生物芯片单元阵列、10为已排布好的毛细管生物芯片单元阵列；

图8为切割毛细管生物芯片单元阵列示意图，其中10为已排布好的毛细管生物芯片单元阵列、11为已切割好的毛细管生物芯片阵列；

图9为检测本发明示意图，其中12为CCD摄像机、13为滤光器、14为集成毛细管生物芯片、15为激光光源、16为计算机、17为数据线；

图10为本发明检测图像示意图

## 具体实施方式

从图 1 至图 8 所示的本发明实施方式可以看出，一种集成毛细管生物芯片，主要由生物探针和载体单元组成，其特征在于：设有稳定化生物探针 3 的毛细条状载体 2 置于毛细管 1 腔内构成毛细管生物芯片单元 8；相同或不同的毛细管生物芯片单元 8 相互平行排布粘合成毛细管生物芯片单元阵列 10；沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割上述毛细管生物芯片单元阵列 10 而构成集成毛细管生物芯片；或将上述切割后的毛细管生物芯片单元阵列 11 再相互粘合而构成集成毛细管生物芯片。

从图 1 或图 8 所示，由同一毛细管生物芯片单元阵列 10 切割而形成的集成毛细管生物芯片的断面上生物阵列是相同的；其正反两面的断面上，所对应的相应位点上的生物探针 3 是相同的。

从图 2 至图 8 所示的本发明实施方式可以看出，制备本发明的方法如下：

- 1) 在容器 5 中处理活化毛细条状载体 2，即清洗毛细条状载体 2 后再用 1-乙基-3-(3-二甲氨基)碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 和 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 等活化剂 6 把毛细条状载体 2 表面变成含有活泼酯的活性基团或其他活性基团，成为活化的毛细条状载体 2a 以利于共价或非共价结合生物探针。
- 2) 在容器 5 中制备稳定化生物探针溶液 7，即向生物探针溶液 7 中加入蔗糖、海藻糖、多糖、防腐剂、表面活性剂、氨基酸及其衍生物中的任一种或其组合物，其与生物探针的重量比为 10-30 : 1。其中基因探针采用 DNA 合成仪合成获得；肽核酸探针采用多肽合成仪合成获得；抗原或抗体探针通过重组、纯化及单克隆或多克隆抗体制备获得。
- 3) 在每一种生物探针溶液 7 中放入已活化的毛细条状载体 2a，使其全部浸没在生物探针溶液 7 中，待固化包括涂布、浸染、生长生物探针完成后，取出经清洗、干燥后进行封闭，再经过清洗、干燥后备用于下一步的组装。
- 4) 取每一根已预设生物探针的毛细条状载体 2b，将其置于合适的毛细管 1 腔内，如此反复，制备相同或不同的毛细管生物芯片单元 8。
- 5) 取步骤 4) 获得的毛细管生物芯片单元 8，用填充物填充入毛细条状载体与毛细管 1 内壁间的空隙中。
- 6) 将步骤 5) 获得的相同或不同的毛细管生物芯片单元 8 相互平行排布成毛细管生物芯片单元阵列 10；
- 7) 沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元 8 的方向切割步骤 6) 获得的毛细管生物芯片单元阵列 10 而制备成集成毛细管生物芯片；或将上述切割后的毛细管生物芯片阵列 11 再相互粘合而制备成集成毛细管生物芯片。

从图 9 和图 10 所示的检测本发明的实施方式看出, 该集成毛细管生物芯片的检测方法是: 基于化学反应的光检查。将完成化学反应的该集成毛细管生物芯片 14 在激光光源 15 的照射下, 所产生的图像由 CCD 摄像机 12 摄取, 其中光检查的图像为圆环状或点状。然后通过计算机 16 上的生物芯片图像分析软件分析, 即可获得生物芯片的光检查结果。并可进行同一集成毛细管生物芯片 14 的正反双面检测, 且正反双面检测结果是相同的。

使用时, 取 1-2ml 的待检样品加入本发明的一侧断面上或将本发明侵入待检样品中。本发明由于在其正反两面的断面上同时含有生物探针 3, 加入待检样品后, 37℃ 待反应 2-60 分钟, 生物探针 3 中的生物探针与待检样品中的待检物组分发生特异性的生化或免疫或互补反应, 然后取洗涤液洗涤本发明, 共洗三遍, 洗涤掉未发生反应的物质, 然后加入标记物试剂包括金属标记、酶标记、荧光标记、化学发光标记、电化学发光标记、染料标记和放射性标记试剂, 37℃ 反应 2-60 分钟, 标记物与上述特异性复合物反应, 然后取洗涤液洗涤本发明, 共洗三遍, 洗涤掉未发生反应的标记物, 随后加入显色剂, 待反应, 最后通过显色反应判读结果, 或用洗涤液洗涤后在激光扫描仪或共聚焦激光扫描显微镜或 CCD 芯片扫描仪或其他设备上判读结果, 显色或发光为阳性, 无色或不发光为阴性。如果待检样品中有相应的待检物组分, 就能特异性结合标记物试剂而发生显色或发光反应, 结果为阳性; 如果待检样品中没有相应的待检物组分, 就不能特异性结合标记物试剂, 标记物试剂被洗涤除去, 就不能发生显色或发光反应, 结果为阴性。

本发明中的基因芯片为本发明的一种特殊形式, 其主要区别为: 标记物试剂为待测样品中 DNA 的标记物, 可以是金属标记、酶标记、荧光标记、化学发光标记、电化学发光标记、染料标记和放射性标记等标记物。加入待检样品后, 待检样品中的 DNA 标记物与本发明上的生物探针包括 DNA 探针、cDNA 探针、肽核酸探针和 mRNA 发生互补作用, 用于显示被生物探针捕获的待检样品中的互补 DNA 标记物的存在与否。其具体操作是: 加入待检样品 DNA 标记物后, 37℃ 反应 30-60 分钟, 待检样品 DNA 标记物与本发明上生物探针包括 DNA 探针、cDNA 探针、肽核酸探针和 mRNA 发生互补作用, 然后取洗涤液洗涤本发明, 共洗三遍, 洗涤掉未发生反应的物质, 或随后加入显色剂待反应, 通过 DNA 标记物的显色或发光反应判读结果, 或用洗涤液洗涤后直接在激光扫描仪或共聚焦激光扫描显微镜或 CCD 芯片扫描仪或其他设备上判读结果, 显色或发光为阳性, 无色或不发光为阴性。如果待检样品中有互补 DNA 或 RNA 的存在, 就能特异性结合在本发明上而不能被洗涤除去, 继而发生显色或发光反应, 结果为阳性; 如果待检样品中无互补 DNA 或 RNA 的存在, 就不能特异性结合在本发明上而被洗涤除去, 就不能发生显色或发光反应, 结果为阴性。

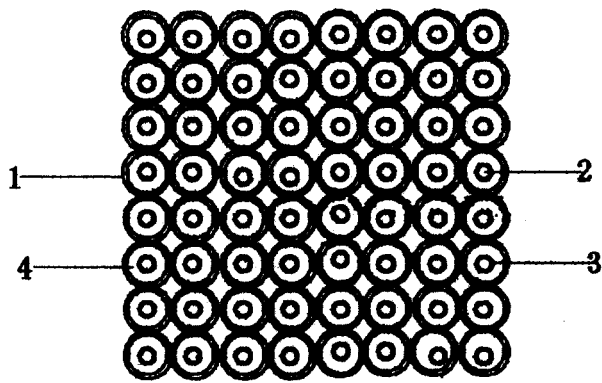


图1

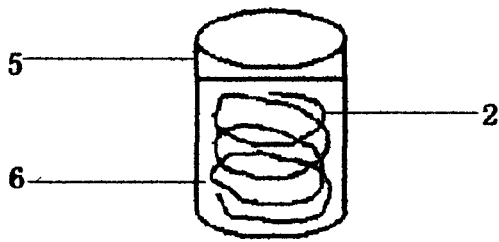


图2

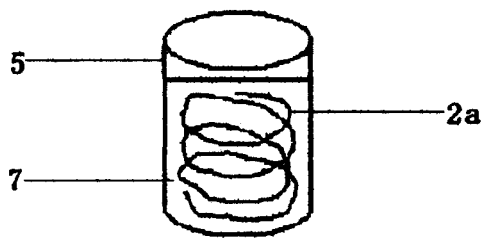


图3

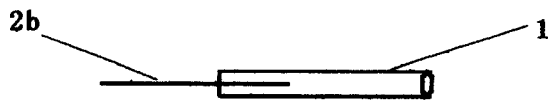


图4

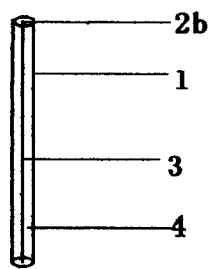


图5

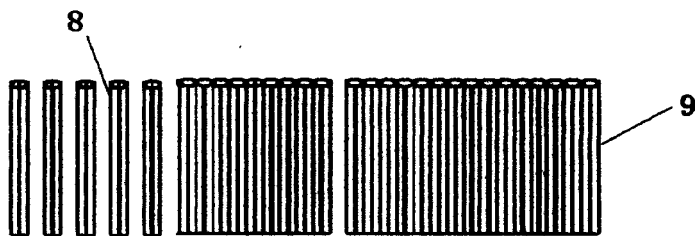


图6

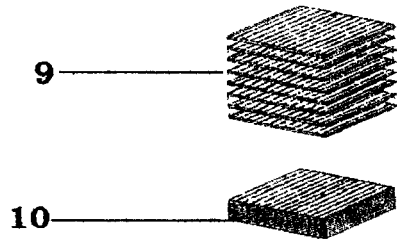


图7



图8

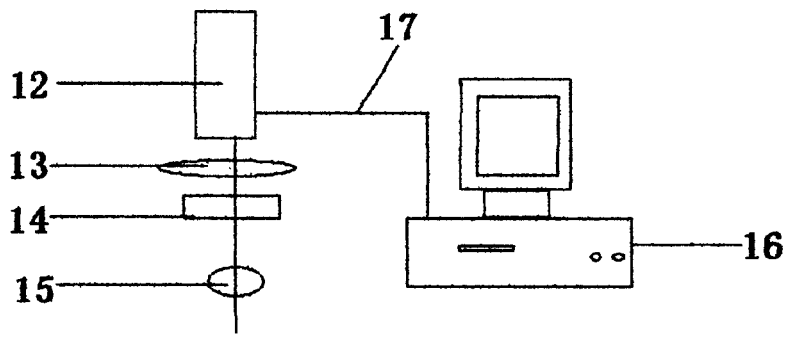


图9

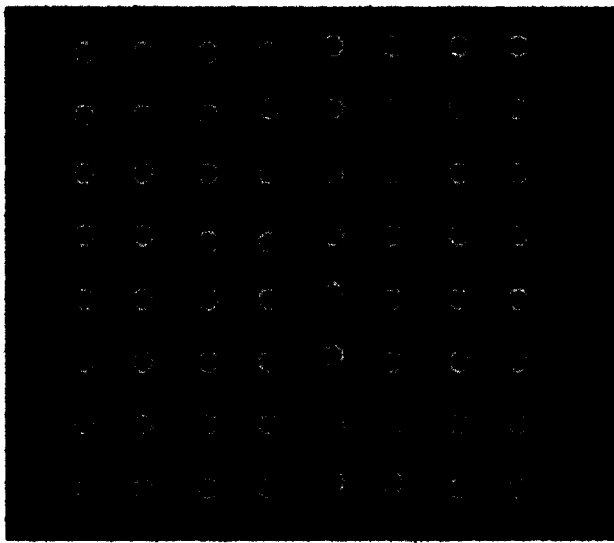


图10

专利名称(译)	集成毛细管生物芯片及其制作方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN1458525A</a>	公开(公告)日	2003-11-26
申请号	CN03141391.9	申请日	2003-06-08
[标]申请(专利权)人(译)	郭占军		
申请(专利权)人(译)	郭占军		
当前申请(专利权)人(译)	郭占军		
[标]发明人	郭占军 赵华 郭爱芹 杨焕云 段玉民		
发明人	郭占军 赵华 郭爱芹 杨焕云 段玉民		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N21/76 G01N27/26 G01N27/72 G01N33/00 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/68		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种集成毛细管生物芯片及其制作方法，用于待检样品中基因、蛋白质、药物或受体、组织或细胞和多糖或凝集素的并行检测、识别和鉴定，主要由毛细管生物芯片单元组成，其特点是设有生物探针的毛细条状载体置于毛细管腔内构成毛细管生物芯片单元阵列；沿垂直或不垂直于各毛细管生物芯片单元的方向切割上述毛细管生物芯片单元阵列而构成集成毛细管生物芯片。具有结构简单、探针密度高和灵敏、准确、真正无串扰现象的优点，可进行大规模工业化生产。

