

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03826863.9

[51] Int. Cl.

C07H 21/04 (2006.01)

C12M 3/00 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

G01J 4/00 (2006.01)

G01N 21/00 (2006.01)

G01N 21/17 (2006.01)

[43] 公开日 2006年8月23日

[11] 公开号 CN 1823085A

[51] Int. Cl. (续)

G01N 33/00 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/557 (2006.01)

[22] 申请日 2003.5.28 [21] 申请号 03826863.9

[86] 国际申请 PCT/US2003/017137 2003.5.28

[87] 国际公布 WO2004/106357 英 2004.12.9

[85] 进入国家阶段日期 2006.1.28

[71] 申请人 专家技术公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 威廉姆·拉斯曼 戴维·拉林

周飞梦 韩书博

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 巫肖南 封新琴

权利要求书9页 说明书13页 附图6页

[54] 发明名称

识别分子化合物的方法和设备

[57] 摘要

本发明通过提供增强质量和/或干扰渐逝场的放大器元件来更容易地识别探针-靶的反应,该元件与探针-靶的配对物特异性地反应并结合来使质量增加。当所述探针-靶配对物是杂交的 dsDNA 时,适当的质量增强放大器是抗双链 DNA 的小鼠 IgM。在足够的序列对存在于探针-靶结合的例子中,可使用携带生物素的序列特异性结合小沟的聚酰胺,其能通过链亲合素在合适的载体中被放大。优选实施方案中,多个探针被固定在微阵列的多个位点,其中每个探针对不同的靶均是特异的。本发明描述了使用全内反射的光学来观察渐逝场干扰。

1.一种区别分子探针的结合和非结合分子靶的方法，该方法包含以下步骤：

提供基底，所述基底形成了表面和邻近该表面的渐逝光学场；

在所述表面固定分子探针；

使所述分子探针暴露于含有所述分子靶的溶液；

仅在所述分子靶已经结合到所述分子探针时选择性地干扰所述渐逝光学场；

观察所述渐逝场；

将所述渐逝场的干扰和所述分子靶和所述分子探针的结合关联起来。

2.权利要求1的方法，其中：

所述基底利用全内反射来形成所述渐逝场；

所述分子探针包含具有单链片段的核酸；

所述分子靶包含具有单链片段的核酸，所述核酸倾向于同所述分子探针的单链片段杂交，从而形成双链片段；并且

所述选择性干扰所述渐逝光学场的步骤包括使所述表面暴露于含有免疫球蛋白的溶液的步骤，所述免疫球蛋白倾向于选择性地同所述双链片段结合。

3.权利要求2的方法，其中所述选择性地干扰所述渐逝光学场的步骤进一步包括将所述表面暴露于溶液的步骤，该溶液含有倾向于选择性地同所述免疫球蛋白结合的材料。

4.权利要求1的方法，其中：

所述基底利用全内反射来形成所述渐逝场；

所述分子探针包含免疫球蛋白；并且

所述分子靶包含倾向于同所述免疫球蛋白结合从而形成复合物的抗原。

5.权利要求4的方法，其中所述选择性干扰所述渐逝光学场的步骤进一步包括将所述表面暴露于溶液的步骤，该溶液含有倾向于选择性地同所述复合物结合的材料。

6.权利要求1的方法，其中：

所述基底利用全内反射来形成所述渐逝场；

所述分子探针包含具有单链片段的核酸；

所述分子靶包含单链片段的核酸，所述核酸倾向于同所述分子探针的单链片段杂交，从而形成双链片段；并且

所述选择性干扰所述渐逝光学场的步骤包括使所述表面暴露于含有质量放大成分的混合物的步骤，所述质量放大成分包含序列特异性的聚酰胺，该聚酰胺倾向于选择性地同所述双链片段结合。

7.权利要求6的方法，其中所述序列特异性聚酰胺结合在选自如下的成分上：生物素、金属微球、金属胶体、聚苯乙烯微球、毫微球、亲和素、链亲和素或免疫球蛋白。

8.权利要求2的方法，其中所述免疫球蛋白是倾向于选择性地同双链DNA结合的小鼠IgM。

9.一种区别分子探针的结合和非结合分子靶的方法，该方法包含以下步骤：

提供基底，所述基底形成了表面；

在所述表面固定分子探针；

使所述分子探针暴露于含有所述分子靶的溶液；

仅在所述分子靶已经结合到所述分子探针时选择性地在此表面上聚集至少一种高分子量成分；

检测该表面上的高分子量成分；和

将检出所述高分子量成分同所述分子靶和所述分子探针的结合关联起来。

10.权利要求9的方法，其中：

所述包含平面载玻片；

所述分子探针包含具有单链片段的核酸；

所述分子靶包含具有单链片段的核酸，所述核酸倾向于同所述分子探针的单链片段杂交从而形成双链片段；并且

在所述表面上选择性地聚集至少一种高分子量成分，包含使所述表面暴露于含有倾向于选择性地同所述双链DNA片段结合的免疫球蛋白的溶液的步骤。

11.权利要求10的方法，其中所述选择性地在此表面上聚集至少一种高分子量成分的步骤，还包括使所述表面暴露于含有倾向于选择性地同所述

免疫球蛋白结合的材料溶液的溶液的步骤。

12. 权利要求 9 的方法，其中：

所述包含平面载玻片；

所述分子探针包含免疫球蛋白；并且

所述分子靶包含倾向于同所述免疫球蛋白结合从而形成复合物的抗原。

13. 权利要求 12 的方法，其中所述在所述表面上选择性地聚集至少一种高分子量成分的步骤，还包括使所述表面暴露于含有倾向于选择性地同所述复合物结合的材料溶液的溶液的步骤。

14. 权利要求 9 的方法，其中：

所述包含平面载玻片；

所述分子探针包含具有单链片段的核酸；

所述分子靶包含具有单链片段的核酸，所述核酸倾向于同所述分子探针的所述单链片段杂交从而形成双链片段；并且

所述在所述表面上选择性地聚集至少一种高分子量成分的步骤，包含使所述表面暴露于含有质量放大成分的混合物的步骤，所述质量放大成分包含序列特异性的聚酰胺，该聚酰胺倾向于选择性地同所述双链片段结合。

15. 权利要求 14 的方法，其中所述序列特异性聚酰胺结合到选自如下的成分：聚乙二醇、生物素、金属微球、金属胶体、聚苯乙烯微球、毫微球、亲和素、链亲和素或免疫球蛋白。

16. 权利要求 10 的方法，其中所述免疫球蛋白是倾向于选择性地同双链 DNA 结合的小鼠 IgM。

17. 鉴定样本中活性物质的方法，该方法是通过一种活性物质（靶）同它的特异性结合配体（探针）的反应，该方法包含以下步骤：

a. 将样本探针材料加到基底上；

b. 使所述探针材料暴露于靶材料；

c. 加入质量放大器材料，所述材料特异地结合所述探针和靶材料的联合体，

从而探针-靶联合所得到的产物是所述质量放大器材料的结合位点，所述质量放大器材料提供了在探针-靶结合位点的实质上更大的结构，该结构更易被检测装置识别。

18. 权利要求 17 的方法，其中所述探针材料是寡核苷酸，并且所述靶材

料是同该探针材料互补的寡核苷酸。

19.权利要求 18 的方法，其中所述质量放大器材料是抗双链 DNA 的小鼠 IgM。

20.权利要求 19 的方法，其中所述质量放大器材料是键合到微球上的。

21.权利要求 18 的方法，包括在所述加入质量放大器材料的步骤之前，加入与生物素键合的 dsDNA 序列特异性的小沟结合分子的附加步骤。

22.权利要求 17 的方法，包括将二级放大器材料加入探针-靶-放大器联合体上，以提供更大的联合体的附加步骤。

23.权利要求 19 的方法，包括加入抗小鼠 IgM 的山羊 IgG 作为二级放大器材料的附加步骤。

24.权利要求 21 的方法，包括加入链亲和素作为质量放大器材料的附加步骤。

25.权利要求 17 的方法，其中所述探针材料是非人的 IgG，所述靶材料是人的 IgG，并且所述质量放大器材料是非人的抗人 IgG 的 IgG。

26.权利要求 17 的方法，其中所述探针材料是非人的 IgG，所述靶材料是人的 IgG，并且所述质量放大器材料是非人的抗人 IgG 的 IgM。

27.鉴定生物活性物质（抗原）的生物测定方法，其包含以下步骤：

a.将所述生物活性物质（抗原）的探针（抗体）固定到基底上；

b.将所述生物活性物质（抗原）加入到该基底上所述探针（抗体）的位置上，以形成所述抗原和所述抗体的反应复合物；和

c.加入放大复合物（初级放大抗体），该放大复合物的质量和体积实质上比所述生物活性物质（抗原）或所述探针（抗体）都大，并且该放大复合物对该抗原和抗体的反应复合物有亲和力；

从而该生物活性物质和探针的反应复合物为所述放大复合物提供了结合位点，以形成实质上质量和体积都比所述反应复合物大的聚集结构。

28.权利要求 27 的方法，还包括加入二级放大复合物（二级放大抗体）的步骤，该二级放大复合物的质量和体积实质上比所述生物活性物质（抗原）或所述放大复合物（初级放大抗体）都大；所述二级放大复合物（二级放大抗体）结合到所述反应的联合体和所述复合物（初级放大抗体）上以进一步增加在反应复合物位置的质量和体积。

29.鉴定未知靶材料的设备，包含：

- a.有第一表面的载体;
- b.多个探针,其中每个对排列在可鉴定子集内的具体靶材料具有特异性;
- c.一定量的质量增强放大器材料,以在探针-靶相互作用位点形成探针-靶-质量增强放大器的复合物,

从而在具体探针位点存在探针-靶相互作用可以指示靶材料的性质。

30. 鉴定未知靶材料的设备,其包含以下材料的组合:

- a.有平的表面的载体;
- b.固定在所述表面上的探针阵列,每个所述探针同不同的靶都显示出已知的反应;
- c.质量增强放大器材料,所述材料对所述探针和各自对应的靶的联合体有已知的独特的吸引,

从而与所述探针阵列之一反应的未知靶材料结合到所述质量增强放大器材料上,以在反应位点产生易区分的质量增加的反应产物,因而通过所述阵列内反应位点的定位来唯一地鉴定所述未知靶材料。

31. 权利要求 30 的设备,其中所述载体是玻璃载玻片。

32. 权利要求 30 的设备,还包括光学读数器,该读数器包括有第一折射指数并从其表面形成全内反射的透明工具,其中所述载体具有同所述全内反射表面并列的第二表面。

33. 权利要求 30 的设备,其中所述载体具有被选择来同所述光学读数器折射指数相同的折射指数。

34. 权利要求 30 的设备,其中所述探针选自包括如下的一类物质:寡核苷酸、单链 DNA (ssDNA)、非人的 IgG、聚合物、DNA-RNA 杂合体、锁定的核酸、多糖或蛋白质;其中所述靶选自一类对所述探针有独特亲和力的材料;其中所述质量增强质量放大器材料选自一类对探针-靶联合体有独特亲和力的材料,包括抗双链 DNA 的小鼠 IgM、与微球偶联的抗双链 DNA 的小鼠 IgM、与生物素偶联的序列搜索物聚酰胺、与聚乙二醇偶联的序列搜索物、与抗双链 DNA 小鼠 IgM 偶联的序列搜索物聚酰胺、与微球偶联的序列搜索物聚酰胺、抗 DNA-RNA 杂合体的小鼠 IgG、抗人 IgG 的非人 IgG 和非人的抗人 IgG、IgGM,在每种情况下探针和靶的联合都能够产生探针-靶配对物,所述配对物对选自所述种类的质量增强放大器材料有独特吸引。

35. 鉴定未知靶材料的方法,其包含以下步骤:

- a. 固定探针阵列，每个探针对不同的靶材料具有特异性；
- b. 将未知靶材料应用到所述阵列以形成至少一个探针-靶配对物；
- c. 加入适合同任何已形成的探针-靶配对物结合的质量增强放大器材料；

从而形成的任何探针-靶配对物通过与只附着到所述探针-靶配对物的质量增强放大器材料的联合而更易于检出。

36. 权利要求 35 的方法，还包括施加二级质量增强放大器材料的步骤，所述二级质量增加放大器材料适合键合到已形成的探针-靶配对物，所述配对物已经附着了质量增加放大器材料以提供更易于被检测装置鉴别的明显更大的探针-靶位点。

37. 鉴定生物活性物质（抗体）的生物测定方法，其包含以下步骤：

- a. 将所述生物活性物质（抗体）的探针（抗原）固定到基底上；
- b. 将所述生物活性物质（抗体）施加到基底上所述探针（抗原）所在的位置，以形成所述抗原和所述抗体的反应复合物；

c. 加入放大复合物（初级放大抗原），所述复合物的质量和体积实质上比所述生物活性物质（抗体）或所述探针（抗原）都大，所述放大复合物同所述抗原和所述抗体的所述反应复合物有亲和力；

从而所述生物活性物质和所述探针的反应复合物为所述放大复合物提供了结合位点，以提供质量和体积实质上比所述反应复合物大的聚集结构。

38. 权利要求 37 的方法，还包括加入二级放大复合物（二级放大抗原）的步骤，该复合物的质量和体积实质上比所述生物活性物质（抗体）或所述放大复合物（一级放大抗原）都大；所述二级放大复合物（二级放大抗原）结合到所述反应的联合体和所述复合物（一级放大抗原）上以进一步增加所述反应复合物位点的质量和体积。

39. 权利要求 22 的方法，包括加入对二级放大器材料特异的免疫球蛋白作为三级放大器材料的附加步骤。

40. 权利要求 39 的方法，其中所述三级放大器材料包括 IgM。

41. 权利要求 24 的方法，包括加入对链亲和素有亲和力的分子作为三级放大器材料的附加步骤。

42. 一种设备，其包含：

- a. 具有第一表面的载玻片；

- b. 固定在所述表面上的 DNA 片段（寡聚体）阵列；
- c. 与所述寡聚体偶联以在那里形成双链杂交复合物的匹配的 DNA 片段；
- d. 附着到所述杂交复合物的 IgM 分子。

43. 权利要求 42 的设备，其中所述 IgM 分子是荧光标记的分子。

44. 权利要求 42 的设备，其中所述 IgM 分子是磁标记的分子。

45. 权利要求 42 的设备，其中所述 IgM 分子是颜色标记的分子。

46. 权利要求 42 的设备，其中所述 IgM 分子标记了高电渗分子。

47. 权利要求 42 的设备，其中所述阵列包括子阵列，每个所述子阵列上固定了不同的 DNA 寡聚体，与至少一个所述子阵列的寡聚体偶联以在那里形成双链杂交复合物的不同的 DNA 匹配片段，所述设备也包括只与至少一个所述子阵列的杂交复合物附着的 IgM 分子。

48. 权利要求 43 的设备，其中所述阵列包括子阵列，每个所述子阵列上固定了不同的 DNA 寡聚体，与至少一个所述子阵列的寡聚体偶联以在那里形成双链杂交复合物的不同的 DNA 匹配片段，所述设备也包括只与至少一个所述子阵列的杂交复合物附着的 IgM 分子。

49. 权利要求 44 的设备，其中所述阵列包括子阵列，每个所述子阵列上都固定了不同的 DNA 寡聚体，与至少一个所述子阵列的寡聚体偶联以形成双链杂交复合物的不同的 DNA 匹配片段，所述设备也包括只与至少一个所述子阵列的杂交复合物附着的 IgM 分子。

50. 权利要求 45 的设备，其中所述阵列包括子阵列，每个所述子阵列上固定了不同的 DNA 寡聚体，与至少一个所述子阵列的寡聚体偶联以形成双链杂交复合物的不同的 DNA 匹配片段，所述设备也包括只与至少一个所述子阵列的杂交复合物附着的 IgM 分子。

51. 权利要求 46 的设备，其中所述阵列包括子阵列，每个所述子阵列上固定了不同的 DNA 寡聚体，与至少一个所述子阵列的寡聚体偶联以形成双链杂交复合物的不同的 DNA 匹配片段，所述设备也包括只与至少一个所述子阵列的杂交复合物附着的 IgM 分子。

52. 鉴定样本中活性物质的方法，该方法是通过所述活性物质（靶）同其特异性的结合配偶体（探针）的反应，其中所述探针是 DNA 片段（寡聚体），所述靶是能够和所述探针形成杂交（双链）复合物的匹配的 DNA 片段，所述方法包含以下步骤：

- a.将 DNA 片段（探针）固定在载体上；
- b.使所述的探针暴露于应用的靶以形成杂交复合物；和
- c.加入依其具有仅附着到杂交复合物的能力而被选择的 IgM 分子。

53.权利要求 52 的方法，其中所述 IgM 是荧光标记的。

54.权利要求 52 的方法，其中所述 IgM 是磁标记的分子。

55.权利要求 52 的方法，其中所述 IgM 是颜色标记的分子。

56.权利要求 52 的方法，其中所述 IgM 标记了高电渗分子。

57.权利要求 1 的方法，其中所述探针包含锁定的核酸。

58.权利要求 1 的方法，其中：

所述基底利用全内反射来形成所述渐逝场；

所述分子探针包含具有单链片段的核酸；

所述分子靶包含具有单链片段的核酸，所述核酸倾向于同所述分子探针的单链片段杂交从而形成双链片段；并且

所述选择性干扰该渐逝光学场的步骤包括使所述表面暴露于含有倾向于选择性地同所述双链片段结合的分子的溶液的步骤。

59.权利要求 58 的方法，其中所述倾向于选择性地同所述双链片段结合分子包含选自下列的分子：

dsDNA 特异的 IgG，

dsDNA 特异的 Fab 片段，

dsDNA 特异的 F(ab')₂ 片段，

DNA-RNA 杂合体特异的 IgG，

DNA-RNA 杂合体特异的 Fab 片段，

DNA-RNA 杂合体特异的 F(ab')₂ 片段，

DNA-LNA 杂合体特异的 IgG，

DNA-LNA 杂合体特异的 Fab 片段，

DNA-LNA 杂合体特异的 F(ab')₂ 片段，

ds DNA 特异的 IgM 四聚物，

dsDNA 特异的 IgM 单体，

dsDNA 特异的 IgM Fab 片段，或
dsDNA 特异的 IgM F(ab')₂ 片段。

60. 权利要求 1 的方法，其中：

所述基底利用全内反射来形成所述渐逝场；

所述分子探针包含多糖；和

所述分子靶包含倾向于同该分子探针结合从而形成复合物的免疫球蛋白。

61. 权利要求 60 的方法，其中所述选择性地干扰所述渐逝光学场的步骤还包括使所述表面暴露于含有倾向于选择性地同所述复合物结合的材料溶液的溶液的步骤。

识别分子化合物的方法和设备

技术领域

本发明涉及定性及定量检出分子间相互作用的方法和设备。

相关技术的说明

为了帮助描述现有的技术及本发明，提供在这里使用的术语表是有益的。“探针”倾向于指或者固定的或者自由移动的已知实体。“靶”或“配体”是“未知”实体，该实体同特异性探针有已知的、特异的互补或反应关系。探针-靶的联合体可以被称作“复合物”或“配对物”。

“一级放大器”(primary amplifier)或“质量加强单位”(mass enhancing unit)是“大体积的”(bulky)实体，它同配对物或者与所述配对物键合的连接元件之间有相互作用或键合。“二级放大器”(secondary amplifier)同一级放大器或者一级放大器-探针-靶配对复合物的联合体相互作用以形成新的联合体。“三级放大器”是任何连续的质量加强器，它可以同一级放大器-探针-靶配对复合物或者放大器相互作用。

“体积因子(bulk factor)”是放大器和探针-靶配对物的分子量比值。然而，在加强探针-靶配对物的识别时体积或质量并不总是主要参数。其他参数，如光学或电学性质，对于检测装置来说是重要的。

用探针-靶反应来鉴定“未知的”分析物的研究者，通常依赖于给“靶”化合物加上标记或者标签(tag)来检测或用信号表示探针和靶分子之间的反应。传统的技术包括使用可以结合或附着荧光的、放射性的或者“有色的”标签或标记的连接化合物。已经开发了检测和用信号显示这些标记的技术。结果，这些试验总是需要额外的包括进行标签或标记的步骤。

在共同受让人的在先共同待审申请中，已经描述了发生在一个全内反射(total internal reflecting)(TIR)表面的渐逝场(evanescent-field)中的分子反应可以用偏振光束和附加的光学元件检出，所述元件可以响应渐逝场的变化来提供鉴别性的显示，光学检测器如CCD照相机芯片可以识别这种显示。其他检测装置包括分光计、重量分析装置、尺寸排阻装置和荷质比分离装置。

在先申请包括 2000 年 7 月 7 日提交的美国申请号 09/614,503, 2001 年 4 月 19 日提交的申请号为 09/838,700, 2002 年 12 月 12 日提交的申请号为 10/046,620 的申请, 其中的描述在此引入作为参考。

在这些申请中, 反应发生在全内反射 (TIR) 表面的渐逝场中的表面上。一束偏振光束射向该表面并从那里被完全反射。渐逝场里物质的存在改变了反射光束的偏振性质。

在反应前、反应中和反应后, 将得到的光束对准检测器, 例如 CCD 芯片/照相机, 该检测器可以把整个感兴趣的表面显现出来。然后反应的区域就会提供同非反应区域不同的特征。该特征的特异位置鉴定出产生这种特征的反应。

如果试剂、反应区域和非反应区域足够小以致于需要极度灵敏的检测系统则检出独特的特征就构成挑战。通常, 现有的技术依赖于进行标签或标记来鉴定反应。在共同转让给本发明受让人的申请中, 进行标记或标签的步骤是不必要的。但是, 需要高灵敏度的技术来检测反应和鉴定反应物。

发明概述

本发明用可以是任何反应的结果的复合产物 (如生物活性材料情况下是一种抗体) 来显示 (develop)、加强或“放大”探针-靶反应, 因此得到的化合物可以用较不灵敏的设备检出, 或者使灵敏仪器的检出极限有效降低, 来检出更少量的靶。

例如, 已知“探针”分子对“靶”分子有排他的或特异的亲和力因而形成探针-靶配对物。进一步地, 存在有“放大器”分子或化合物, 其对一类探针-靶配对物或一类探针-靶配对物的一个特定子集有特异的吸引力或亲和力。

核酸探针可以同互补的 RNA 或 DNA 序列反应以杂交, 形成双链序列。一旦杂交发生, 加入对双链核酸材料的长度特异的抗体并温育。通常, 该抗体的分子量和体积是探针和靶的许多倍, 得到扩大并增强的探针-靶联合体, 这种联合体即使用较不灵敏的光学或其他系统也更易被检出。

Carter 等的专利号为 4,508,832 的专利描述了椭圆偏振测量术 (ellipsometry) 结合生物测定方法的使用。正如 Carter 等描述的, 生物测定或免疫测定是基于生物活性物质 (或“抗原”) 和与该生物活性物质偶联的特异

复合物（或“抗体”）的反应。相信本发明对于进行生物测定或免疫测定会非常有用。而且，授予 Ipraim 等的美国专利号 6,228,578 的专利，在此引入全部内容作为参考，描述了使用对 DNA 探针/RNA 靶的杂合体有特异的亲和力的免疫球蛋白来识别杂合体。只有通过进一步的加工引起化学发光，或者使用同杂合体特异性的免疫球蛋白特异结合的二级荧光免疫球蛋白才能检出探针-靶-放大器。

在本发明中，通过质量放大提供逐渐增加的灵敏度，在杂交中或杂交后的任何一点可以进行检测。在用于说明本发明方法的具体实验实施方案中，单链 DNA（“ssDNA”）是探针。可以制备附着了探针矩阵（matrix）的表面，每个具有不同的序列。矩阵中每个探针元件的 x-y 位置是已知的。将未知的靶化合物制备为 ssDNA，并与探针材料发生反应。如果探针和靶有互补序列，在该位置将会发生反应，两条单链的 DNA 样本将会杂交成一条双链的 DNA（“dsDNA”）链。发生在任何具体 x-y 位置的反应唯一地鉴定试验中的未知物或“靶”。

现在将抗原是 dsDNA 的一级放大抗体（primary amplifying antibody）加到矩阵表面。放大抗体是根据它们对 dsDNA 的特异性选择的，这种特异性由抗体可变区的结构决定。放大抗体的大小的数量级通常要比杂交配对高。具体种类的所有抗体，即 IgA, IgM, IgG 等，都有不同的分子结构和质量，而且体积都比较大。在发生杂交的位点，放大抗体将会同 dsDNA 结合。在某些条件下，放大抗体会以结合到探针-靶配对物的抗体为核而聚集或团聚，从而得到尺寸和体积巨大的结构。或者，通过用木瓜蛋白酶或胰蛋白酶切割可以从免疫球蛋白中分别分离有活性的 Fab 片段或 F(ab')₂ 片段，提供更小的、空间和动力学上有利的识别单位。在这种情况下，对抗体片段的生物素化可以为亲和素或含有亲和素的大体积化合物提供键合。

或者，可以加入对于一级放大抗体特异的二级放大抗体（secondary amplifying antibody），它将同一级抗体结合，在具体的 x-y 位置产生更大的对象，这个对象可以用较不灵敏的设备（如相对不灵敏的光学设备）检出，并用能显现整个矩阵的照相机轻易识别。这样的聚集或团聚除其它表面技术之外可以通过原子力（atomic force）显微镜检出，这种技术可以测定高度外形的改变。

在一个可选的申请中，非人 IgG 和人免疫球蛋白是探针-靶配对物，以

此为工具可检出人血清中的抗体从而测定一个人是否曾接触了具体的抗原。如果使用 IgM 作为一级放大抗体，所述 IgM 对于非人的抗人免疫球蛋白的复合物是特异的，或甚至只对人免疫球蛋白是特异的，那么配对物的体积就能增加 2.5 倍。其他的探针-靶配对物也可以用能够同那些配对物一起使用的放大抗体来鉴定。

在附加的可选实施方案中，也可以使用其他的带有或不带有标记的二级放大抗体，它们同杂交对或一级放大抗体反应，通过使用基于质量区分的分离方法的技术来提高发生反应的配对物的可检测性。

本发明可以用于其他感兴趣的分析物。在这样其他的实施方案中，可以用电镜或传统显微镜、比色法、重量分析、色谱法和分光术观察结果。如果想使用标签或标记，也可以在低得多的灵敏度的水平使用现有的其他技术。

因此，本发明的目的是提供更易鉴定的探针-靶联合体(combination)，这种联合体可以用较不灵敏的技术来分析结果。

本发明的另一目的是提供更易鉴定的靶-探针联合体，这种联合体对于灵敏的检测设备显示出较低的检出水平。本发明的再一个目的是放大探针-靶相互作用的结果，允许使用较不灵敏的检测方案。

本发明的再一个目的是放大探针-靶相互作用的结果从而降低检出的极限。

本发明的再一个目的是使用对于分子探针-靶复合物特异的化合物来“放大”对探针-靶反应的信号响应。

本发明的再一个目的是使用二级放大化合物，其能够结合同特异的探针-靶反应结合的一级放大化合物，或者，理想的是探针-靶-一级放大器复合物。

通过以下描述结合附图，其中举例说明了本发明的优选实施方案，将可以理解本发明特有的新特征，包括结构和操作方法，连同更多的目的和优点。但是要理解清楚的是，附图只是用于说明和描述的目的，并不用来限定本发明的范围。

附图简述

参考以下详细描述结合附图，会进一步理解本发明的目的和优点，附图中：

图 1 为基于放射性或荧光标记的现有技术检测方案的图示。

图 2 为根据本发明的示例检测技术的图示。

图 3 为将尺寸和不同的阶段关联起来的表，参考根据本发明方法和设备的示例实施方案可知。

图 4 和图 5 描述了通过全内反射的光学观察结果，其为根据本发明方法和设备的示例实施方案的一个方面。

图 6 为将层的厚度与不同的探针-靶配对物联系起来的表，其为根据本发明方法和设备的示例实施方案的一个方面。

图 7 为将层的厚度与不同的探针-靶配对物联系起来的图，其为根据本发明方法和设备的示例实施方案的一个方面。

图 8 为使用根据本发明方法和设备的示例方法的总结表。

优选实施方案

图 1 显示了主要的现有技术的顺序，其中靶 11 同结合在基底 (substrate) 15 上的探针 13 杂交，形成探针-靶配对物 17，所述特性将被确定的配对物是可检出的。在现有的技术中通常的做法是加入特异性的接头 19，它可以与有标签或标记 23 的放大器 21 结合。标签或标记 23 的存在通常是单独的加工步骤的结果，该步骤可能包括将连接配体加到靶上。然而，是标签或标记的存在使得探针-靶配对物 17 可以检出。对标签或标记 23 灵敏的设备可以唯一地鉴定靶。

图 2 显示对于根据本发明方法和设备的示例实施方案，其中可以是 ssDNA 片段的探针元件 12 结合在基底 10 上。在优选实施方案中，基底 10 可以是玻璃载玻片。

继续参照图 2 显示，在一系列的步骤中，探针 ssDNA 12 同靶 ssDNA 14 的联合体杂交形成 dsDNA 对 16。对于这样杂交的 dsDNA 对 16，存在抗体或一级放大体 30。这些一级放大体 30 只能同杂交的 dsDNA 对 16 结合而不是同 ssDNA 探针 12 或靶元件 14 结合。

这样在探针-靶配对物的位点可能聚集或团聚相当大的结构，使得在矩阵中存在单个的、独特的、大的结构。该结构通过使用较不灵敏的检测器，包括但不局限于光学的、电学的、拓扑的、重量分析的或其他的质量区分技术和其他的技术，能够更容易地检出。

图3表明了从带有固定的探针12的基底10开始,所得的不同联合体的相对尺寸的渐进过程。如图所示,探针-靶配对物16可以以基底10表面上的膜层厚度的纳米的分数(fraction)来测量。加上一级放大体30后,刻度(scale)增加到30纳米的范围,该刻度可以用灵敏的系统如原子力显微镜,或用共同受让人共同待审的申请中的技术检出。其他“精细的”检测系统,如分光计或重量分析装置通过这些值也能表明探针-靶反应的证据。

本发明的技术对于可鉴定特异性放大器化合物的任何探针-靶配对物都是有用的。据信在任何涉及分子级未知材料或靶的情况下都可以使用本发明的技术,该材料或靶可以同具有相当尺寸的探针反应。可以鉴定能够同探针-靶联合体结合的放大材料。

例1:寡核苷酸探针和靶; IgM 一级放大体

本发明有用的一个领域是在醛衍生的玻璃基底上干燥状态表面扫描(dry state surface scanning)检测寡核苷酸探针-靶配对物。这个过程包括以下步骤:

用氮气流清洁超醛(Superaldehyde)载玻片(Telechem International);

用Tris-EDTA-NaCl缓冲液(“TE-NaCl缓冲液”)在载玻片表面点上(spot)3'端C6氨基修饰的30聚体(30mer)寡核苷酸作为探针。

将探针在室温(25°C),相对湿度<30%干燥12个小时。

将基底在0.2%SDS(十二烷基硫酸钠)中剧烈搅动两分钟以漂洗两次,以去除未结合的寡核苷酸(DNA)。

将基底在双蒸水(ddH₂O)中剧烈搅动两分钟以漂洗一次。

用氮气流干燥所述基底。

将1.5gNaBH₄溶解在450ml磷酸盐缓冲液(PBS)制备新鲜的硼氢化钠溶液中。加入133ml10%的乙醇。

将基底用此溶液室温处理5分钟以减少游离醛。

在室温将基底在0.2%SDS中漂洗两次,每次一分钟。

在室温将基底在ddH₂O中漂洗一次,时间一分钟。

用氮气流干燥所述制备的基底。

在室温将基底浸泡在含有互补寡核苷酸靶的TE-NaCl(Tris-EDTA,1M NaCl)缓冲液中12个小时。

用氮气流干燥所述制备的基底。

在室温将基底浸泡在含有抗 dsDNA 放大抗体溶液的 PBS 缓冲液溶液中一个小时。

用氮气流干燥所述制备的基底。

然后可以用原子力显微镜“读出”所述制备的基底，它将检出杂交对和与其相关的放大器。

尺寸从 25nm 到 1000nm 的衍生形式的聚苯乙烯微球可以从 Bangs 实验室公司(9025 Technology Drive, Fishers, IN46038-2886 ; www.bangslabs.com) 获取, IgG 由客户提供。IgG 通过 Fc 部分附着, 其可变区暴露并可以与抗原偶联。100nm 的球体是优选的首选。如果想使用光学的探测方法, 可以将微球染色以吸收已知波长的光。可以将微球与作为一级放大抗体的二级放大器的羊抗小鼠 IgM 偶联。优选方法如下:

如实施例 1 阐明, 制备杂交表面并加入 IgM。

用 PBS 稀释 10×贮存液制备稀释的微球溶液。

将表面用 10 微升稀释液温育 30 分钟

用 PBS 漂洗

用 dH₂O 漂洗 (可选的, 如果用干燥读取的方法)

观察结果: 至少 10× 信号增强。

如果使用 SEQUENCE SEEKER™ 商业化的序列特异性的聚酰胺产品来结合双链的探针-靶配对物, 那么优选链亲和素包被的聚苯乙烯微球 (视需要为染色的或非染色的) (SEQUENCE SEEKER™, Prolinx, Inc., Bothell, WA; www.prolinx.com)。

制备杂交的基底

将干燥的 SEQUENCE SEEKER™ 稀释在质量等体积的无水乙醇中。

将 SEQUENCE SEEKER™ 用 TE 缓冲液稀释到 0.1% 质量/体积。超声处理有助于溶解。

将表面用 10 微升该溶液温育 30 分钟。

用 TE 缓冲液漂洗表面以去除未结合的 SEQUENCE SEEKER™。

用 PBS 稀释 10×贮存液制备稀释的微球溶液。

将表面用 10 微升的所述稀释溶液温育 30 分钟。

用 TE 缓冲液漂洗。

观察结果: 至少 10× 的信号增强。

(可选的, 如果使用干燥的读取方法) 用 dH₂O 漂洗。

除了使用可以结合杂交的或 dsDNA 的抗体, 也可以使用商业化可得到的聚酰胺, 它在商业上被称作 SEQUENCE SEEKER™ (Prolinx, Inc., Bothell, WA; www.prolinx.com), 它可以同特异的化合物(如生物素)接合。SEQUENCE SEEKER™ 被拉到杂交的 DNA 链旁, 并且如果所述序列包括五个碱基对的合适序列, 聚酰胺就会结合到 dsDNA 的小沟中。

在这个例子中, 序列搜索物(sequence seeker)不是放大器, 而是起到“识别单位”的作用, 同负责特异性的抗体可变区中特异的肽结构相似。生物素结合到序列搜索物上作为与链亲和素或链亲和素偶联的化合物的连接化合物, 所述链亲和素或链亲和素偶联的化合物可以起到质量放大器的作用。优选方法如下:

将干燥的生物素化的 SEQUENCE SEEKER™ 稀释在质量等体积的无水乙醇中。

将 SEQUENCE SEEKER™ 用 TE 缓冲液稀释到 0.1% 质量/体积。超声处理有助于溶解。

将表面用 10 微升所述溶液温育 30 分钟。

用 TE 缓冲液漂洗表面以去除未结合的 SEQUENCE SEEKER™。

如果使用链亲和素作为放大器:

用 TE 缓冲液制备 100 微摩尔的链亲和素溶液。

将表面用 10 μl 的所述稀释液温育 10 分钟。

用 TE 缓冲液漂洗。

(可选的, 如果使用干燥的读取方法) 用 dH₂O 漂洗。

观察结果: 信号以图表说明的比例增强, 或者直到表面饱和。

如果使用链亲和素偶联的微球:

用 PBS 稀释 10× 的贮存液以制备稀释的微球(链亲和素微球, Bangs Labs) 溶液。

将表面用 10 微升的所述稀释液温育 30 分钟。

用 TE 缓冲液漂洗。

(可选的, 如果使用干燥的读取方法) 用 dH₂O 漂洗。

观察结果: 信号应增强 50 倍, 直到所述微球的表面饱和点。

一些一级放大体 30 可以结合或团聚到已经结合到探针-靶配对物上的

一级放大体上。

再次参照图 2 和图 3，也可见可以同结合到杂交的探针-靶配对物 16 的一级放大体 30 结合的二级放大体 32。于是在探针-靶对反应的位置就可以聚集或团聚相当大的结构，从而在矩阵中存在单个的、独特的、大的结构，该结构通过使用较不灵敏的检测器，包括但不局限于光学的、电学的、拓扑的、重量分析的或其他的质量区分技术和其他的技術，能够更容易地检出。

二级放大器 32 的加入使尺寸增加了大约 2.5 倍。优选方法如下：

用 PBS 稀释 10×的抗体贮存液，制备 10 微升。

将先前制备的探针-靶-IgM 基底用所述溶液温育 30 分钟。

用 PBS 漂洗

(可选的，如果使用干燥的读取方法)用 dH₂O 漂洗。

观察结果：如果四个 IgG 附着于表面上的每个 IgM，信号几乎加倍。

链亲和素是对生物素有亲和力的蛋白质 ($K_{\text{assoc}} = 10^{15}$)，一种或多个分子的链亲和素可以结合到 SEQUENCE SEEKER™ 携带的生物素上。链亲和素本身比 dsDNA 探针-靶配对物更大 (68 千道尔顿)，起到了初步质量放大的作用。

以非免疫球蛋白抗原作为靶的例子包括用于证明被加工食品没有污染的过敏原 GMOs 的蛋白质阵列，其对于农业产业有重大意义。警察机关和国家安全机构可望用本发明改进检出爆炸物如 TNT 的现有的阵列。

优选地，探针元件 12 是其他的、不同探针 (或 ssDNA 片段) 的矩阵的一部分。已知的矩阵排列能够给未知的靶探针或 ssDNA 提供匹配，其身份要通过试验鉴定。

这个示例实施方案的方法包括上面实施例 1 关于寡探针所述的步骤，除了有许多不同的探针置于多孔板 (如 384 孔板) 中。板被置于点样机器人 (robot) 内，机器以软件和实验者决定的阵列的模式将寡探针印迹在载玻片上。

如共同受让人的在先专利申请所述，基底可具有全内反射 (TIR)，将探针元件置于消逝场 (evanescent field) 中。

再次参照图 2 和 3，也可见于二级放大体 32 结合的三级放大器 34，在探针-靶反应的位置形成更大的联合体，降低了许多检测方案中的检出阈值。

能够将三级放大器 34 结合到位点上会使起始的探针-靶厚度值额外增加 20 倍大小。二级和三级放大体或放大器的加入使“大致(gross)”检出系统如显微镜方法、过滤或其他的尺寸排阻技术或任何基于质量的分离系统可用。

容易获取偶联到多种材料如聚苯乙烯、聚苯胺或甚至更大的金属微球上的链亲和素。除此之外，链亲和素有四个生物素结合位点，可以附着生物素化的抗体或生物素化的微球作为二级放大体，链亲和素本身也可以作为抗体的特异性靶，所述抗体在那种情况为二级放大体。

图 5 是用纳米 (nm) 表示的相对高度的条形图。如图所见，裸露的醛 (aldehyde) 载玻片表面高度为 2.2nm。在附着了 1 μ M 的 DNA 探针后，高度增加到 2.4nm。1 μ M DNA 探针和 1 μ M DNA 靶的探针-靶配对物的高度为 3.9nm。加入一级放大器——0.1 μ l 的抗体后，高度增加到 7.2nm。然而，如果加入过量的抗体作为一级放大器，高度将增加 10 倍到 72nm。

为了确认实验，1 μ M DNA 探针和 1 μ l 抗体的高度仅为 2.3nm，单单抗体在裸露的载玻片上时的高度仅为 2.6nm。这张图表清楚表明，杂交的探针-靶配对物在存在足够的一级放大材料时将显示出容易检出的显著高度变化。

表 1 的图表 (见图 8, 第六页) 列出了合适的探针-靶联合体和每种联合体适合的一级的、二级的以及某些情况下的三级放大器。

同样要说明的是，作为替代 SEQUENCE SEEKER™ 的另一种选择，通过已知为“锁定的核酸” (locked nucleic acid) 的一种类型的核酸类似物 (“LNA™”, Proligo LLC, www.proligo.com; subsidiary of Degussa AG, www.degussa.com), 也可以特异性地鉴定特定的双链核酸序列。

图 4 显示了本发明的示例实施方案，其中用全内反射 (TIR) 来观察放大的结果。偏振光源装置 112 包含光源 126、光束形成部分 128 (如果光源的性质使得光束形成有用或必要的话)、偏光器 (polarizer) 130 和光学挡板 (retarder) 132。全内光反射装置 114 有光学元件 134，该元件有光学表面 136。图 4 还显示在光学表面 136 上有样本载玻片 138，它们之间存在指数匹配的物质 140。因为指数匹配，全内反射表面 (TIR 表面) 被定义为样本载玻片 138 的上表面 139。样本 142 在载玻片 138 的 TIR 表面 139 上。

光学元件 134 是在与入射光束 120 和出射光束 122 的关系上沿指数匹配

的载玻片 138 设置的棱镜，这样，光束只在 TIR 表面 139 反射了一次，就射出了棱镜。如果样本直接置于光学表面 136 上，那么光学表面 136 将是 TIR 表面。但通常不这样应用，因为通常样本（如生物芯片）在样本载玻片 138 上制备更为方便，然后置于设备中。

在任何情况下，不管怎样构建，都存在有 TIR 表面的光学结构，光束在进入和离开这个光学结构之间仅在 TIR 表面上反射一次。换句话说，存在同样本有光学接触的 TIR 表面，所以同全内反射相关的渐逝场与样本相互作用，并在该 TIR 表面上仅有一次反射。

反射后检测器装置 116 包含偏光器 144 和二维阵列检测器 146，优选为 CCD 型的照相机。处理器 118 是特定程序化的计算机和输出工具，用于将图像处理为在成相的区域空间地分析（resolve）出的膜层厚度变化的显示。通过检测全内反射引起的光束横截面中局部偏光状态空间分布的变化来获取图像。这为表面上每个可分析的点提供了关于基底表面上物质阵列的存在和组成的信息。不同的偏光状态变化被包括在反射光束的横截面中，指示样本上物质位于对应于检测器中位置的样本阵列的位置中。处理器 118 接收作为电信号 124 的数据，相对于二维阵列空间地表征偏光状态的变化。在处理器 118 中，一个实施方案中的分析和处理是通过比较从光处理装置 112 发出的入射光的已知偏光状态和反射光 122 的改变了的偏光状态完成的，在光束内二维地进行空间分析，为样本阵列中的点提供了空间分布点图。用处理器 118 分析偏光漂移，提供化学样本中元素的存在和性质的信息。其他已知的技术，如零处理（null processing）和阶段调制（phase modulation）可用于测定偏光状态的变化。

可选地，光源余烬 126 可以是发光的二极管（LED），超冷光二极管（superluminescent diode）（SLD），白炽光源或激光。如果使用 LED 或 SLD，图 4 显示的装配是适当的，其中光束形成部分 128 是一个准直仪管。如果使用白炽光源，也要使用光学滤镜。

在一个实施方案中，设备的光源 126 是中等带宽的准单色光源。根据本发明，优选的光源 126 是中等带宽的 LED。优选地，带宽是范围在约 10-50 纳米内的全宽（full width）半最大波长，更优选地是范围在约 30-50 纳米内的全宽半最大波长。

参照图 4 显示的光学挡板 132，在一个可选的实施方案中，相反光学挡

板还可以置于偏光器 144 前的出射光路 122 中。参照图 5 显示了可选的实施方案，当光源是激光 150，移动的扩散器 152 被改装成可以发出在由激光导致的斑点模式的 (speckle pattern) 最大值和最小值的斑点偏置波动 (speckle offsetting fluctuation)。移动的扩散器 152 附着在机械激活器(actuator)154 上，该激活器优选发动机和伺服设备，用于提供斑点偏置波动。然后光束 120 通过光束形成元件 128，偏光器 130 和光学挡板 132，射出光源装置 120。

对于用电化学的或介电常数仪器的检测，可以使用偶联到识别单位、一级放大器或二级放大器上的金属毫微球(nanospere)。在一项已开发的方法学中，链亲和素偶联的金毫微球用胶体银包被后，用于放大生物素化的生物分子。

如果使用生物素化的 DNA、RNA 或蛋白质靶，用链亲和素 - 金毫微颗粒增强，不管用不用胶体银增强，当用椭圆偏光法、反射计、渐逝技术、光显微镜、高分辨率扫描、扫描型电气化学探测显微镜和 AFM 探测时，都会放大信号。

本领域的技术人员可以根据具体探针 - 靶系统调整的一般程序如下：

将杂交的阵列与用含有 1% BSA 的 PBS 以 1: 200 到 1: 500 的比例稀释的链亲和素-Nanogold® (Nanoprobes, Inc. , Yaphank, NY; www. nanoprobes.com)在室温温育 60 分钟。

用含有 0.1% 鱼胶 (fish gelatin) 和 0.1% Tween - 20 的 PBS 洗 3 次，每次 5 分钟。

重复用蒸馏水洗总共至少 10 分钟，最后两次漂洗用超纯水(EM-grade)。

制备溶液 A 和 B:

溶液 A: 将 80 mg 醋酸银(code 85140; Fluka, Buchs, Switzerland)溶于 40 mL 玻璃双蒸水中 (通过持续搅动大约 15 分钟可以使醋酸银晶体溶解)。

溶液 B: 将 200 mg 对苯二酚溶于 40 mL 柠檬酸盐缓冲液中。

临用前混合溶液 A 和溶液 B。

将金 - 链亲和素增强的阵列同增强溶液混合 30 分钟。

用蒸馏水洗 3 遍。

用优选的检测方法探测阵列。使用密封的流式细胞仪和适配的检测系统，原位的加工和探测将使杂交和加工中的探测可行，允许动态测量，同时减少操作的人工假象。

这样，以上已经显示并描述了在相对较低灵敏度的水平上检出探针-靶联合体的方法和材料。质量放大器被加到探针-靶对上（有或没有连接元件）。在没有其他的处理步骤时，质量放大器的存在使得探针-靶对可以被检出。附加的质量放大器，如二级和三级放大器，为使用较不灵敏的检测设备和/或较低浓度的靶材料创造了机会。

本领域的专家将会认识到本发明的技术在别的领域的适用性，并将使用这些教导将所述观念应用到别的感兴趣的分析物上。因此，本发明应仅受所附带的权利要求范围的限制。

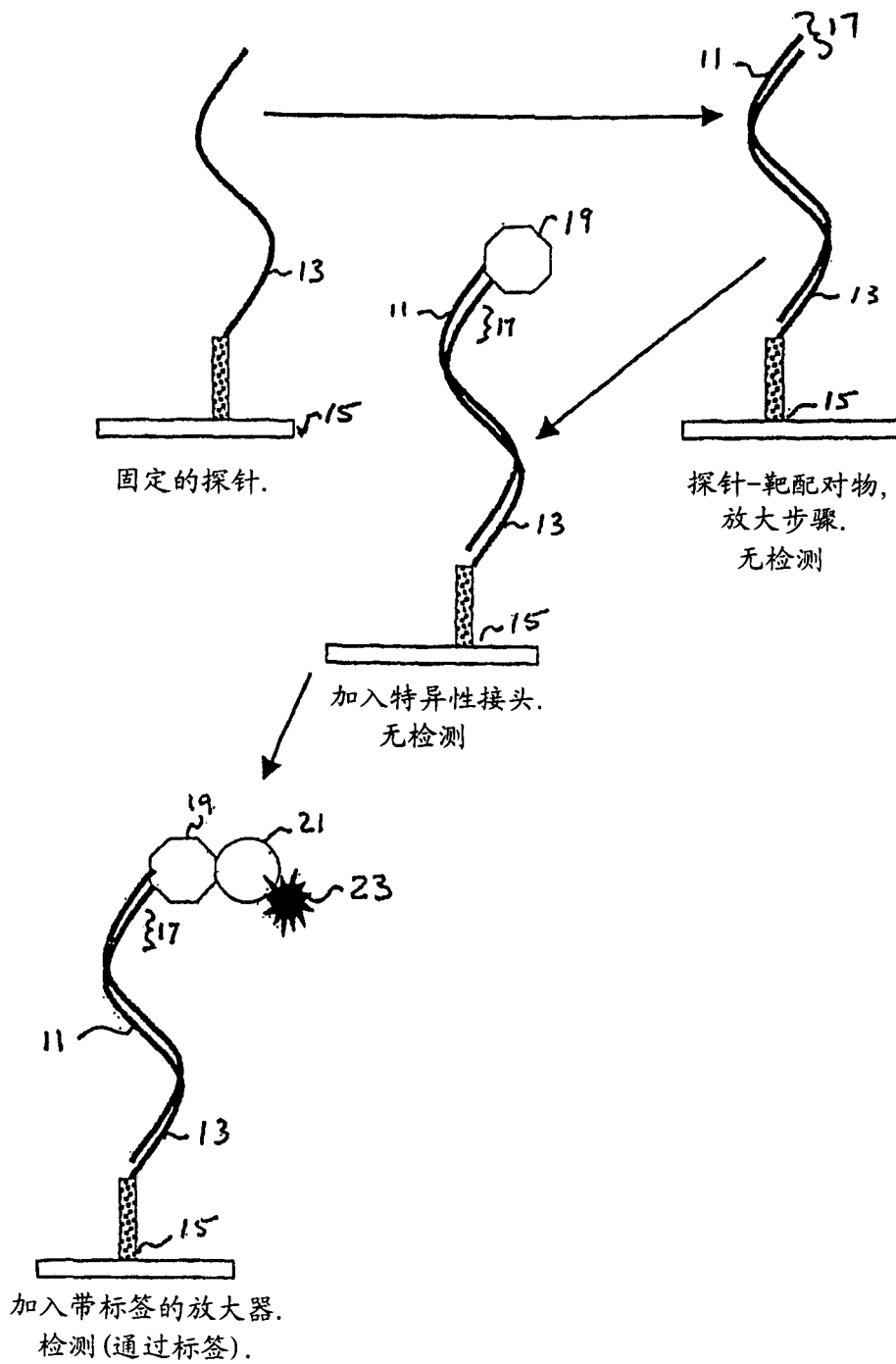


图 1(现有技术)

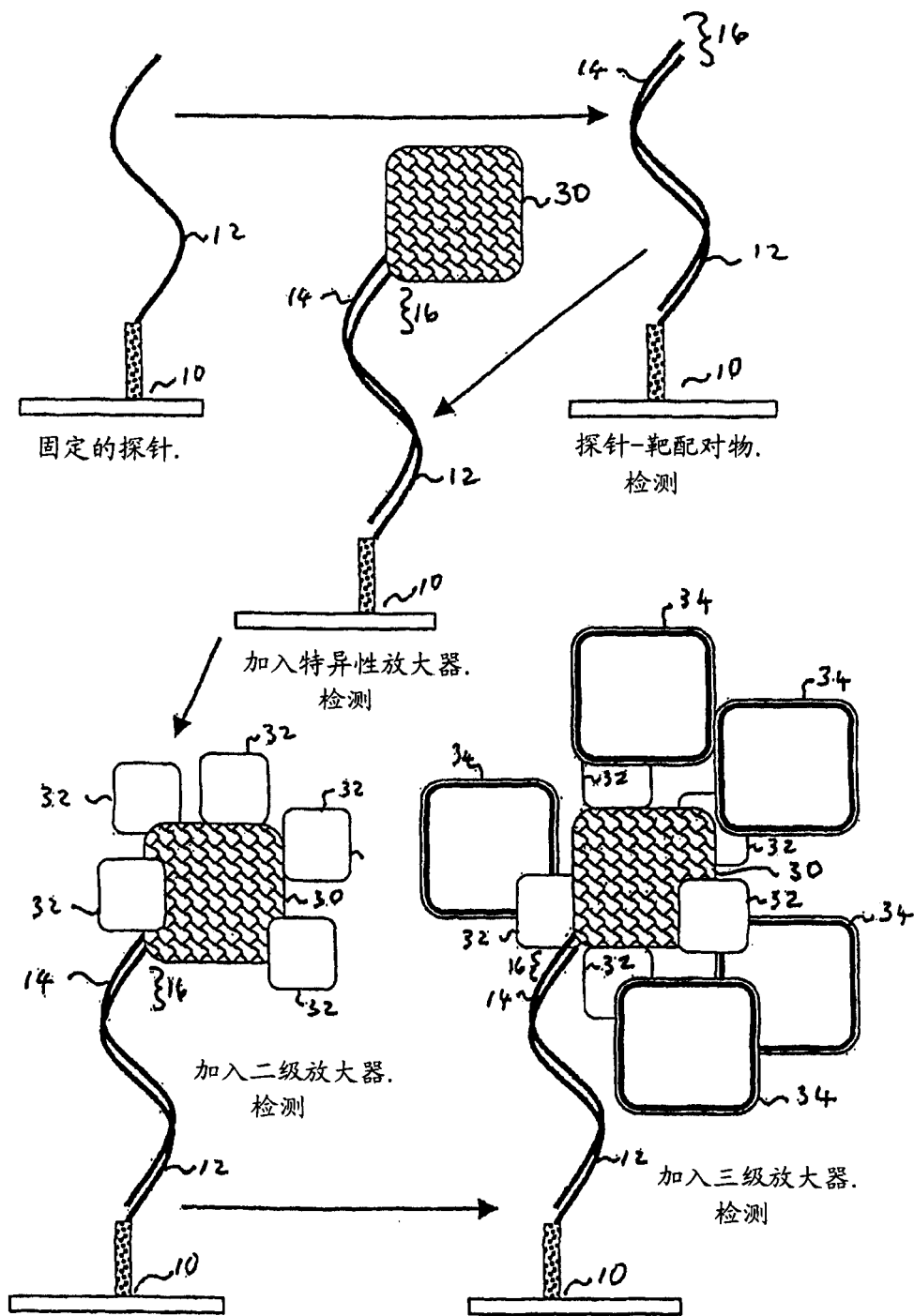


图 2

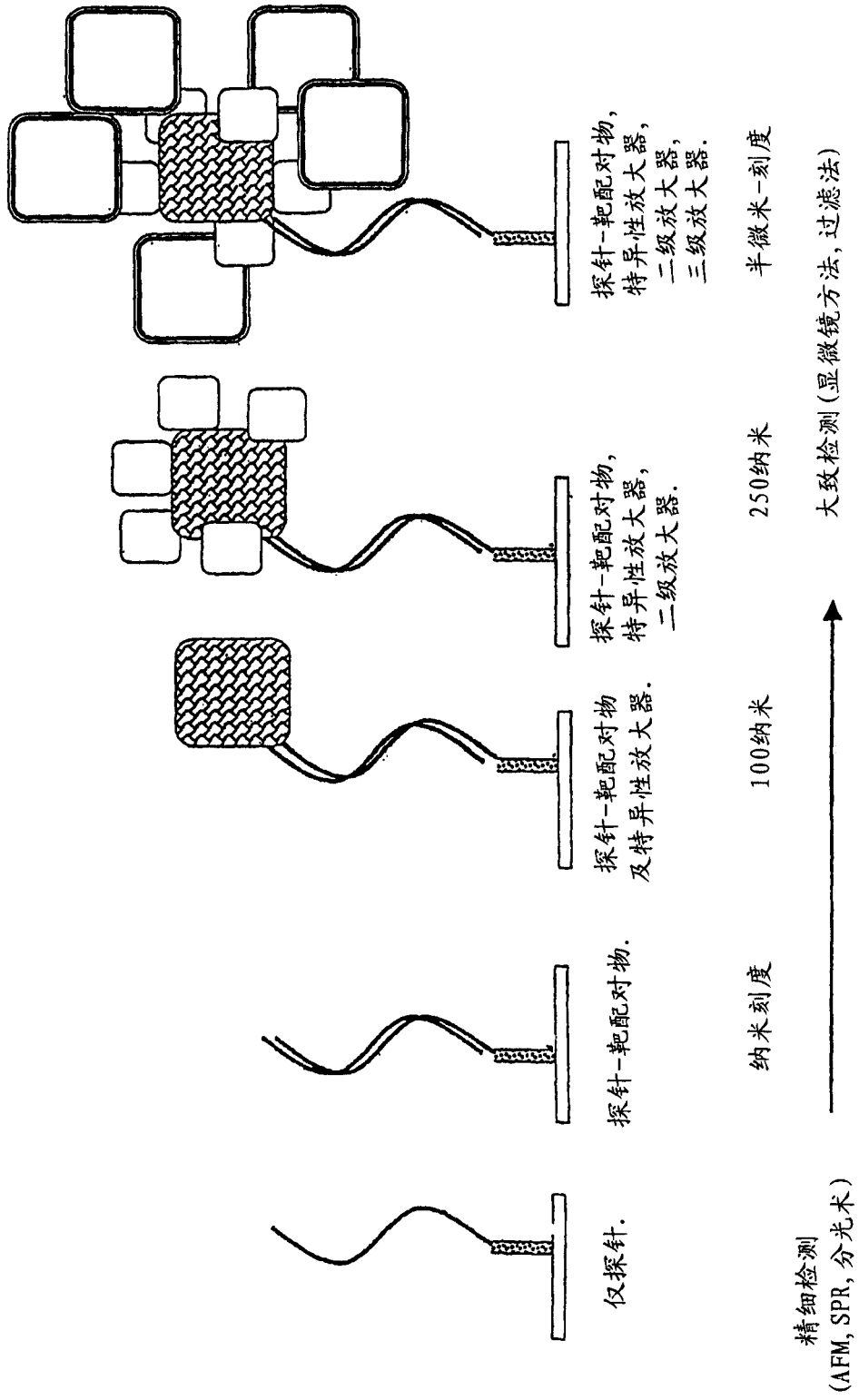


图 3

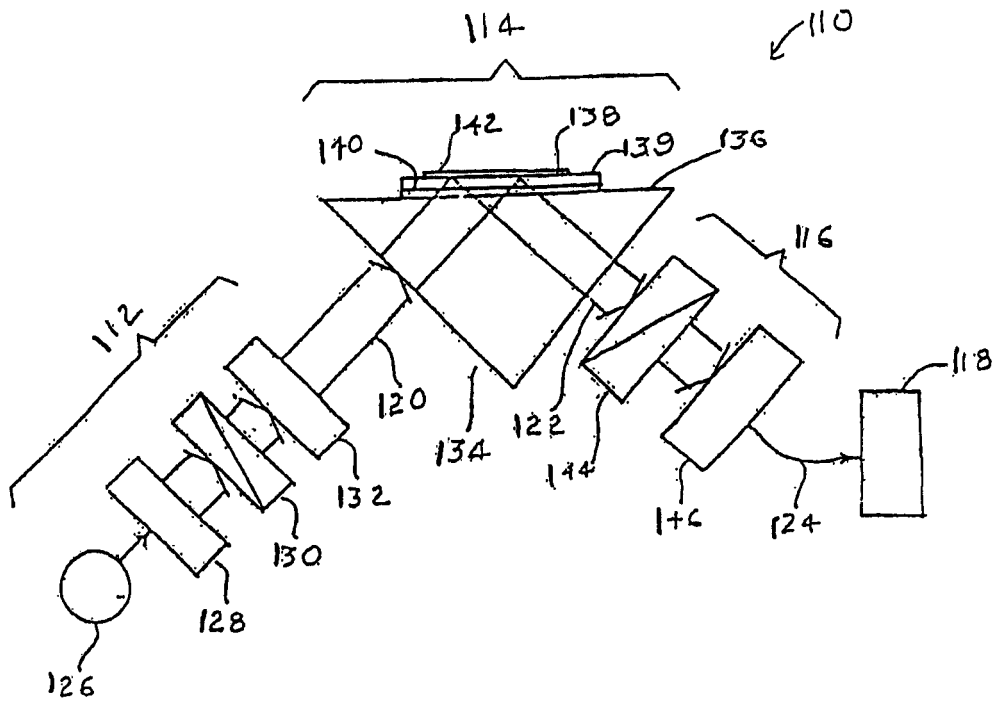


图 4

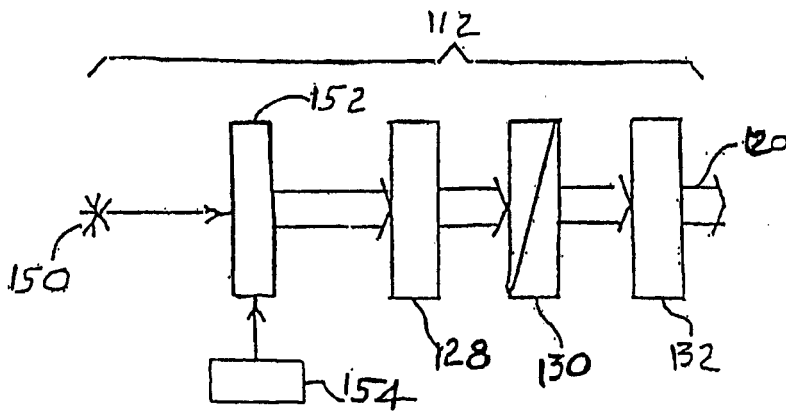


图 5

表: 厚度

项目#	样本表面	数据标签	厚度 (nm)
1	裸露的超醛载玻片	裸露的	2.2
2	仅 1 μ M DNA 探针	探针	2.4
3	1 μ M DNA 探针和 1 μ M DNA 靶	探针/靶	3.9
4	1 μ M DNA 探针, 1 μ M DNA 靶, 0.1 μ l 抗体	探针/靶/0.1 μ l 抗体	7.2
5	1 μ M DNA 探针, 1 μ M DNA 靶, 1.0 μ l (过量) 抗体	探针/靶/1.0(过量) μ l 抗体	72
6	1 μ M DNA 探针, 1.0 μ l 抗体	探针/ 抗体	2.3
7	1.0 μ l 抗体在裸露的载玻片上	Ab	2.6

图 6

条形图: 厚度
(底端的数字对应于图6的项目编号)

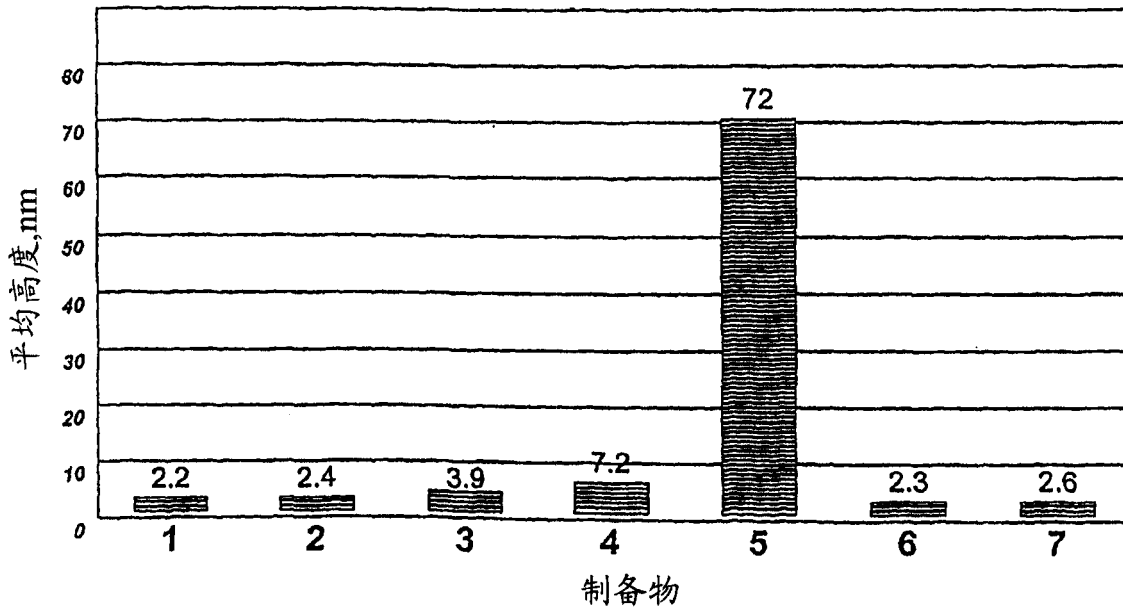


图 7

(表1)
放大方案

应用	放大的探针-靶配对物(标的)	一级 体积因素	二级 体积因素	三级 体积因素
进行样本逆转录,进行或不进行PCR的寡DNA或cDNA阵列	双链DNA(任意10+个碱基对)	AB418 抗双链DNA的小鼠 IgM(Abcam,UK) 60	抗小鼠 IgM 的山羊 IgG 8	抗山羊 IgG 的小鼠 IgM (Sigma) 60
		AB418 抗双链DNA的小鼠 IgM,它与 300nm 聚合物微球 (Bangs L) 偶联 200		抗山羊 IgG 的小鼠 IgG 8
不进行逆转录的寡DNA或cDNA阵列	双链DNA(特异性的5个碱基对)	与生物素偶联的 Sequence Seeker 聚酰胺 (Prolinx WA) 0	链亲和素 1	抗-链亲和素 IgG 8
		与 Ab 偶联的 SEQUENCE SEEKER™ 150+	链亲和素偶联的 红聚合物微球 (Bangs Laboratories IN) 10	
		与 250nm 聚合物微球 (Prolinx WA) 偶联的 SEQUENCE SEEKER™ (Prolinx WA) 150	链亲和素偶联的 2.50nm 脂质体 8	抗山羊 IgG 的小鼠 IgM (Sigma) 60
		HC ExpressArray 抗 DNA-RNA 杂合体的小鼠 IgG(Digene) 8	抗小鼠 IgG 的山羊 IgM (Sigma) 60	抗山羊 IgG 的小鼠 IgG 8
记忆抗体阵列	非人 IgG-人 IgG	抗人 IgG 的非人 IgG 2	抗一级 IgM 5	抗山羊 IgG 的小鼠 IgM 60
		抗人 IgG 的非人 IgG 5	抗一级 IgM 5	抗山羊 IgG 的小鼠 IgM 60

图 8

专利名称(译)	识别分子化合物的方法和设备		
公开(公告)号	CN1823085A	公开(公告)日	2006-08-23
申请号	CN03826863.9	申请日	2003-05-28
[标]申请(专利权)人(译)	专家技术公司		
申请(专利权)人(译)	专家技术公司		
当前申请(专利权)人(译)	专家技术公司		
[标]发明人	威廉姆拉斯曼 戴维拉林 周飞梦 韩书博		
发明人	威廉姆·拉斯曼 戴维·拉林 周飞梦 韩书博		
IPC分类号	C07H21/04 C12M3/00 C12Q1/68 G01J4/00 G01N21/00 G01N21/17 G01N33/00 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/557 G01N21/21 G01N21/55 G01N21/75		
CPC分类号	G01N33/54373 G01N2021/757 C07H21/04 G01N21/552 G01N21/21		
优先权	10/158995 2003-05-28 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明通过提供增强质量和/或干扰渐逝场的放大器元件来更容易地识别探针 - 靶的反应，该元件与探针 - 靶的配对物特异性地反应并结合来使质量增加。当所述探针 - 靶配对物是杂交的dsDNA时，适当的质量增强放大器是抗双链DNA的小鼠IgM。在足够的序列对存在于探针 - 靶结合的例子中，可使用携带生物素的序列特异性结合小沟的聚酰胺，其能通过链亲合素在合适的载体中被放大。优选实施方案中，多个探针被固定在微阵列的多个位点，其中每个探针对不同的靶均是特异的。本发明描述了使用全内反射的光学来观察渐逝场干扰。