申請日期：92.8.11	IPC分類
申請案號：92121973	C12N15/65

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書 200403339

一、發明名稱	中文	將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用
	英文	Method for mixinig nucleic aicd with water insoluble medium and application thereof
二、發明人(共3人)	姓名(中文)	1.許俊傑 2.詹淳勝 3.梁明華
	姓名(英文)	1.Jiun-Jei Sheu 2.Chung-Shung Chen 3.Ming-Hwa Liang
	國籍(中英文)	1.中華民國 TW 2.中華民國 TW 3.中華民國 TW
	住居所(中文)	1.北縣中和市中正路959號18樓 2.北縣中和市中正路959號18樓 3.北縣中和市中正路959號18樓
	住居所(英文)	1. 2. 3.
三、申請人(共1人)	名稱或姓名(中文)	1.博微生物科技股份有限公司
	名稱或姓名(英文)	1.Biowell Technology Inc.
	國籍(中英文)	1.中華民國 TW
	住居所(營業所)(中文)	1.北縣中和市中正路959號18樓 (本地址與前向貴局申請者不同)
	住居所(營業所)(英文)	1.
	代表人(中文)	1.許俊傑
	代表人(英文)	1.Jiun-Jei Shiu

一、本案已向

國家(地區)申請專利	申請日期	案號	主張專利法第二十四條第一項優先權
日本 JP	2002/08/30	2002-294229	有

二、□主張專利法第二十五條之一第一項優先權:

申請案號:

日期:

三、主張本案係符合專利法第二十條第一項□第一款但書或□第二款但書規定之期間

日期:

四、□有關微生物已寄存於國外:

寄存國家:

寄存機構:

寄存日期:

寄存號碼:

□有關微生物已寄存於國內(本局所指定之寄存機構):

寄存機構:

寄存日期:

寄存號碼:

□熟習該項技術者易於獲得,不須寄存。

五、發明說明（1）

發明所屬之技術領域

本發明係關於一種將核酸溶於非水溶性介質的方法及其應用，特別是指一種藉由添加中間質溶液使水溶性核酸溶液與非水溶性之介質均勻混合，以獲得含有核酸之非水溶性介質。

先前技術

隨著生物科技產業的蓬勃發展，生物技術的應用愈來愈廣，不僅是在醫藥方面的運用，例如：疾病的預防、檢驗與治療；在農業上的開發，例如農作物的品系改良、家禽家畜的育種養殖；更進一步結合電子數位系統，將個別生物體的獨特性質轉換成數位訊號，例如：利用聲音操控家電用品、透過指紋或虹膜辨識之保全系統…等等。因此，可以知道結合生物科技並運用至日常生活中是未來科技發展必然的趨勢。

核酸包含去氧核糖核酸（即DNA）及核糖核酸（即RNA），是負責傳遞遺傳訊息的生物分子，組成核酸的單元體核苷酸中的含氮鹼基（嘌呤或嘧啶）具有專一性的配對方式，在去氧核糖核酸（簡稱為DNA）中，A與T配對，中間以兩個氫鍵連繫。在核糖核酸（簡稱為RNA）中A與U之間以兩個氫鍵連繫。不論是在DNA或RNA，C與G配對，中間以三個氫鍵連繫。透過不同排列組合所得到之各種不同序列之核酸分子，在生物體內稱為基因，帶有各種不同之訊息。其高度專一性的配對與不受高溫破壞特性使不同序列之核酸分子在實驗室中經常被當作標記使用，透過聚合酶連鎖

五、發明說明 (2)

反應及序列分析來檢驗特定基因序列及分佈。

現有的防偽辨識方式主要有兩種：除了產品本身特殊的設計及造型，就是以外加標記的方式來達到辨識的目的。傳統之標記多以物理性質或化學反應來設計，例如：磁性條碼、雷射標籤圖案、光變色或感熱型油墨；其易被不肖人士模仿、破壞，而喪失防偽功能；發明人想到若可以進一步利用核酸分子來作為防偽標記，其不容易被識破、也不易仿冒，將是一種十分有效之防偽標記。

但是，眾所皆知核酸為高度水溶性之分子，很容易溶於水溶性溶液中，例如：PBS或TE緩衝溶液，但尚無法溶解於非水溶性的溶劑或介質中。目前所應用的類似技術是將DNA水溶性溶液直接塗布在所欲辨識之標的物表面，乾燥後作為一種辨識標示。然而，其最大的缺點在於水溶性DNA溶液容易脫落，亦即DNA標記無法長期完整地附著在所欲辨識的標的物上，因而喪失其防偽標示功能。

發明內容

本發明之主要目的在於提供一種將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其係利用添加中間質的過程(Intermediate process)使核酸溶液與液化之非水溶性介質均勻混合，形成單一相含有核酸之非水溶性介質。

本發明之又一目的在於提供一種將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其係將含有已知序列核酸之非水溶性介質塗佈在欲辨識之固體標的物上或與液體標的物混合，使該標的物具有特定之核酸標記。

五、發明說明 (3)

本發明之再一目的在於提供一種含有核酸之非水溶性介質，其具有可塑性可以牢固附著在標的物上，不易脫落。

本發明之另一目的在於提供一種含有核酸之非水溶性介質，其中該介質可以保護該核酸分子使其不易被分解破壞。

為了達成上述種種目的，本發明提供一種將核酸溶解於非水溶性介質之方法及其應用，其至少包含下列步驟：首先將核酸溶解於水溶性溶液中以形成第一溶液；將非水溶性介質溶於溶劑中以形成第二溶液；之後添加中間質溶液於該第一溶液中；最後混合該含有中間質之第一溶液與該第二溶液以形成一含有核酸之第三溶液。其中該非水溶性介質係為一惰性介質且不會破壞核酸結構；該中間質溶液係為一極性介於第一溶液與第二溶液之間之溶液。

本發明附加的利益、目的及特色將藉由之後的部分來加以描述，熟知技藝者可藉由下面的具體實施例及描述而了解，並得以實施本發明。本發明的目的及其他優點得以藉由本說明書及其申請專利範圍所撰寫的內容，加上流程圖所描繪指示的步驟來達成。

實施方式

為使　貴審查員對本創作之結構、特徵及所欲達成之功效有一完整而詳盡之認識與瞭解，今等配合圖式為本創作較佳實施例做一詳細說明。

在本文中「核酸」一詞代表去氧核糖核酸（即DNA）及核糖核酸（即RNA）之總稱。

五、發明說明 (4)

請參閱第一圖，第一圖係本發明將核酸溶於非水溶性介質之方法流程圖。其至少包含下列步驟：首先，分別將核酸溶解於水溶性溶液中，形成第一溶液；將非水溶性介質溶於溶劑中，形成第二溶液；之後添加中間質溶液於該第一溶液中；最後混合該含有中間質之第一溶液與該第二溶液以形成一含有核酸之第三溶液。

上述非水溶性介質係為一惰性介質，其不會破壞核酸結構，在此可列舉之例子包含聚合物，係選自由聚丙烯(polypropylene，PP)、聚碳酸酯(polycarbonate)及聚苯乙烯(polystyrene，PS)組成之族群。在本文中較佳的非水溶性介質是聚苯乙烯。

上述溶劑包含有機溶劑，其中該有機溶劑係選自由氯仿、二氯甲烷、苯類溶劑所組成之族群。

上述核酸包含天然與合成之核酸。所謂「天然」核酸係選自由原核生物，例如：細菌，真核生物，例如：植物、動物，病毒，菌物(fungi)及其他生物、組織所萃取之核酸。「合成」核酸包含人工合成之載體、片段所組成之族群。

上述水溶性溶液，係選自由水、TE緩衝溶液及PBS緩衝溶液組成之族群。

上述中間質溶液係為極性介於第一溶液與第二溶液之間之溶液，其用以增加水溶性核酸溶液在非水溶性介質的溶解度。該中間質溶液包含有機溶劑。其中該有機溶劑係選自由酒精、丙酮及其混合物組成之族群。上述中間質溶液的

五、發明說明 (5)

添加量約為非水溶性介質的5至50％。

以含有核酸之非水溶性介質作為標記用途時，係將已知序列之核酸溶於水或水溶性緩衝溶液中，形成第一溶液；將非水溶性介質溶於溶劑中，形成第二溶液；之後添加中間質溶液於該第一溶液中；最後混合該含有中間質之第一溶液與該第二溶液以形成一含有核酸之第三溶液，亦即含有已知序列核酸之非水溶性介質。將該含有已知序列核酸之非水溶性介質塗抹在固體標的物上或與液體標的物混合，使該標的物具有核酸標記。

上述之非水溶性介質係為一惰性介質，其不會破壞核酸結構，在此可列舉之例子包含聚合物，係選自由聚丙烯(polypropylene，PP)、聚碳酸酯(polycarbonate)及聚苯乙烯(polystyrene，PS)組成之族群。在本文中較佳的非水溶性介質是聚苯乙烯。

上述之溶劑包含有機溶劑，其中該有機溶劑係選自由氯仿、二氯甲烷、苯類溶劑所組成之族群。

在此所使用之核酸包含天然與合成之核酸。所謂「天然」核酸係選自由原核生物，例如：細菌，真核生物，例如：植物、動物，病毒，菌物(fungi)及其他生物、組織所萃取之核酸。「合成」核酸包含人工合成之載體、片段所組成之族群。

上述之水溶性溶液，係選自由水、TE緩衝溶液及PBS緩衝溶液組成之族群。

上述中間質溶液係為極性介於第一溶液與第二溶液之間之

五、發明說明 (6)

溶液，其用以增加水溶性核酸溶液在非水溶性介質的溶解度。該中間質溶液包含有機溶劑。其中該有機溶劑係選自由酒精、丙酮及其混合物組成之族群。上述中間質溶液的添加量約為非水溶性介質的5至50％。

上述之固體標的物在此可列舉的例子，包含：古董、雕塑品、珠寶飾品、畫作、金融卡、信用卡、其他辨識用卡片及其他收藏品。上述之液體標的物在此可列舉的例子，包含：油墨、油漆、潤滑油、汽油、顏料、化妝品、印泥及膠水。

此外，該含有核酸之非水溶性介質可以直接當作原料，製成各種含有核酸標記之產品。

較佳實施例

將去氧核糖核酸(DNA)溶於聚苯乙烯(Polystyrene)的方法。

材料：去氧核糖核酸、水、聚苯乙烯、氯仿、95％乙醇與丙酮（作為中間質溶液）

方法：

將5μg之去氧核糖核酸溶於100μl之水中，將5g之聚苯乙烯溶於50ml氯仿中，其最後濃度為10%（w/v）。之後將10μl之95％乙醇與丙酮溶液分別加入上述去氧核糖核酸溶液中，最後將溶於氯仿之聚苯乙烯與含有中間質之去氧核糖核酸溶液充分混合(vigorous vortex)。藉由添加之中間質溶液使去氧核糖核酸溶液與溶於氯仿之聚苯乙烯可以

五、發明說明（7）

完全混合，形成單一相含有去氧核糖核酸之聚苯乙烯（非水溶性介質）。

圖式簡單說明

第一圖係本發明將核酸溶於非水溶性介質之方法流程圖。

四、中文發明摘要　（發明名稱：將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用）

本發明係關於一種將核酸溶於非水溶性介質的方法及其應用，特別是指一種藉由添加中間質溶液使水溶性核酸溶液與液化之非水溶性介質能夠均勻混合，以獲得含有核酸之非水溶性介質，並可利用溶於非水溶性介質之核酸作為防偽標記，標示固體或液體目標物。

伍、（一）、本案代表圖為：第____1___圖

（二）、本案代表圖之元件代表符號簡單說明：無

陸、英文發明摘要　（發明名稱：Method for mixinig nucleic aicd with water insoluble medium and application thereof）

The present invention relates to a method for mixing nucleic acid with water insoluble medium and application thereof, specifically to a method for mixing nucleic acid solution in a water insoluble medium through the addition of an intermediate solution. The medium is an inert medium and is not deteriorative to nucleic acid, and the intermediate solution increases solubility

四、中文發明摘要　(發明名稱：將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用)

陸、英文發明摘要　(發明名稱：Method for mixinig nucleic aicd with water insoluble medium and application thereof)

between the nucleic acid solution and the water insoluble medium. The resulted water-insoluble medium containing nucleic acid is used to label solid or liquid substances or articles.

885

六、申請專利範圍

1. 一種將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其至少包含下列步驟：

將核酸溶解於水溶性溶液中，形成第一溶液；

將非水溶性介質溶於溶劑中，形成第二溶液；

添加中間質溶液於該第一溶液中；以及

混合該含有中間質之第一溶液與該第二溶液以形成一含有核酸之第三溶液；

其中該非水溶性介質係為一惰性介質且不會破壞核酸結構，該中間質溶液係為一極性介於第一溶液與第二溶液之間之溶液。

2. 如申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該非水溶性介質包含一聚合物。

3. 如申請專利範圍第2項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該聚合物係選自由聚丙烯、聚碳酸酯、聚苯乙烯組成之族群。

4. 如申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該溶劑包含有機溶劑。

5. 如申請專利範圍第4項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該有機溶劑係選自由氯仿、二氯甲烷、苯類溶劑所組成之族群。

6. 如申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該中間質溶液包含有機溶劑。

7. 如申請專利範圍第6項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該有機溶劑係選自由酒精、丙酮及

995

六、申請專利範圍

其混合物所組成之族群。

8. 如申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該中間質溶液的添加量約為非水溶性介質的5至50％。

9. 如申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該核酸係選自由天然核酸及人工合成核酸所組成之族群。

10. 如申請專利範圍第9項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該人工合成核酸係包含人工合成之載體。

11. 如申請專利範圍第9項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該人工合成核酸係包含人工合成之核酸片段。

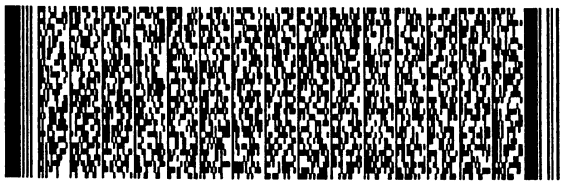
12. 如申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含水。

13. 如申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含TE緩衝溶液。

14. 如申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含PBS緩衝溶液。

15. 一種含有核酸之非水溶性介質溶液，其係由申請專利範圍第1項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法製備得之。

16. 一種以溶於非水溶性介質之核酸標示固體物之方法，其係包含下列步驟：



六、申請專利範圍

將核酸溶解於水溶性溶液中，形成第一溶液；

將非水溶性介質溶於溶劑中，形成第二溶液；

添加中間質溶液於該第一溶液中；

混合該含有中間質之第一溶液與該第二溶液以形成一含有核酸之第三溶液；

將該第三溶液塗抹於固體物上；以及

乾燥該塗有第三溶液之固體物；

其中該非水溶性介質係為一惰性介質且不會破壞核酸結構，該中間質溶液係為一極性介於第一溶液與第二溶液之間之溶液。

17. 如申請專利範圍第16項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該非水溶性介質包含一聚合物。

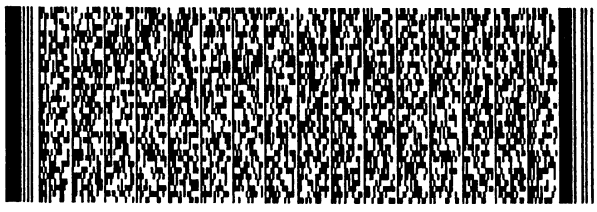
18. 如申請專利範圍第17項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該聚合物係選自由聚丙烯、聚碳酸酯、聚苯乙烯組成之族群。

19. 如申請專利範圍第16項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該溶劑包含有機溶劑。

20. 如申請專利範圍第19項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該有機溶劑係選自由氯仿、二氯甲烷、苯類溶劑所組成之族群。

21. 如申請專利範圍第16項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該中間質溶液包含有機溶劑。

22. 如申請專利範圍第21項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該有機溶劑係選自由酒精、丙酮



697

六、申請專利範圍

及其混合物所組成之族群。

23. 如申請專利範圍第16項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該中間質溶液的添加量約為非水溶性介質的5至50％。

24. 如申請專利範圍第16項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該核酸係選自由天然核酸及人工合成核酸所組成之族群。

25. 如申請專利範圍第24項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該人工合成核酸係包含人工合成之載體。

26. 如申請專利範圍第24項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該人工合成核酸係包含人工合成之核酸片段。

27. 如申請專利範圍第16項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含水。

28. 如申請專利範圍第16項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含TE緩衝溶液。

29. 如申請專利範圍第16項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含PBS緩衝溶液。

30. 一種以溶於非水溶性介質之核酸標示液體物之方法，其係包含下列步驟：

將核酸溶解於水溶性溶液中，形成第一溶液；

將非水溶性介質溶於溶劑中，形成第二溶液；

六、申請專利範圍

添加中間質溶液於該第一溶液中；

混合該含有中間質之第一溶液與該第二溶液以形成一含有核酸之第三溶液；以及

將該第三溶液與液體物混合；

其中該非水溶性介質係為一惰性介質且不會破壞核酸結構，該中間質溶液係為一極性介於第一溶液與第二溶液之間之溶液。

31. 如申請專利範圍第30項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該非水溶性介質包含一聚合物。

32. 如申請專利範圍第31項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該聚合物係選自由聚丙烯、聚碳酸酯、聚苯乙烯組成之族群。

33. 如申請專利範圍第30項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該溶劑包含有機溶劑。

34. 如申請專利範圍第33項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該有機溶劑係選自由氯仿、二氯甲烷、苯類溶劑所組成之族群。

35. 如申請專利範圍第30項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該中間質溶液包含有機溶劑。

36. 如申請專利範圍第35項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該有機溶劑係選自由酒精、丙酮及其混合物所組成之族群。

37. 如申請專利範圍第30項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該中間質溶液的添加量約為非水

六、申請專利範圍

溶性介質的5至50%。

38. 如申請專利範圍第30項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該核酸係選自由天然核酸及人工合成核酸所組成之族群。

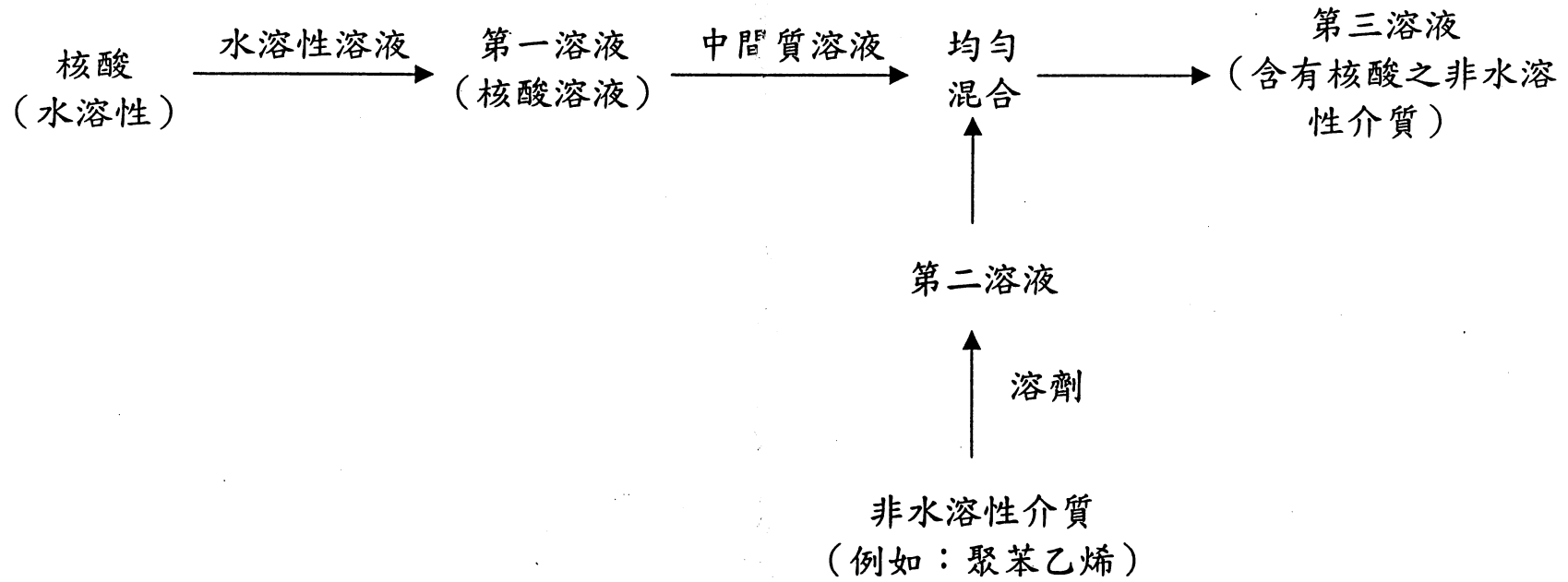
39. 如申請專利範圍第38項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該人工合成核酸係包含人工合成之載體。

40. 如申請專利範圍第38項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該人工合成核酸係包含人工合成之核酸片段。

41. 如申請專利範圍第30項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含水。

42. 如申請專利範圍第30項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含TE緩衝溶液。

43. 如申請專利範圍第30項所述之將核酸溶於非水溶性介質之方法及其應用，其中該水溶性溶液包含PBS緩衝溶液。



第一圖

200403339