

公告本

申請日期	91 年 9 月 13 日
案 號	91121030
類 別	G01N 27/403, 27/57, C12Q 1/68

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書 I223065		
一、發明 名稱	中 文	鹼基序列檢測電極，鹼基序列檢測裝置及鹼基序列檢測方法
	英 文	
二、發明 人	姓 名	(1) 岡田純 (2) 橋本幸二 (3) 高橋匡慶
	國 籍	(1) 日本國神奈川縣横浜市港北區日吉本町四-一四-一-A二〇九
	住、居所	(2) 日本國神奈川縣厚木市妻田東二-二一-三 (3) 日本國神奈川縣横浜市港北區日吉本町四-一四-一-A二一〇
三、申請人	姓 名 (名稱)	(1) 東芝股份有限公司 株式会社東芝
	國 籍	(1) 日本
	住、居所 (事務所)	(1) 日本國東京都港區芝浦一丁目一番一號
	代 表 人 姓 名	(1) 岡村正

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大類：
I P C 分類：

A6
B6

本案已向：

國（地區） 申請專利，申請日期： 案號： ，☐有 ☐無主張優先權

日本 2002 年 8 月 23 日 2002-244018 ☒有主張優先權

有關微生物已寄存於： ，寄存日期： ，寄存號碼：

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄）

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明 (1)

技術領域

本發明係關於為專一地檢測試樣中所存在之特定之遺傳子之鹼基序列檢測電極，鹼基序列檢測裝置及鹼基序列檢測方法。

技術背景

由於近年來遺傳工學的發展，使得於醫療領域上可以依據遺傳子作疾病的診斷及預防。使用遺傳工學之診斷稱為遺傳子診斷。該遺傳子診斷上，檢測造成疾病之人類遺傳子之缺陷或變化，而可於疾病之發病前或其初期階段進行診斷及治療。另外，檢測所感染之病毒或病原菌之遺傳子，而可作出正確之診斷。

傳統上所使用之一般之遺傳子檢測法如下所述。

首先，由試樣中抽出遺傳子，必要時可以適當之限制酵素切斷後，進行電泳及南方墨點法(Southern blotting)。其次是，使具有與檢測目的之標的遺傳子成互補之鹼基序列之核酸探針，與轉印(blott)遺傳子雜交。接著，以電射光勵起螢光色素。因此，檢測出雜交之核酸探針，而確認標的遺傳子之存在。

然而，使用此螢光色素之檢測方法是，至遺傳子之檢出最少需要 2 至 3 日時間。另外，核酸探針非以昂貴之螢光色素標的不可。並且，為勵起螢光色素，需要電射產生裝置，而使裝置大型化。

為解決上述之使用螢光色素檢測方法之問題，研究使

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (2)

用電化學手段之遺傳子檢測方法。該使用電化學手段之檢測方法，是由本發明者等人所研究出，說明於特許第2573443號，參考其內容，組合於本說明書中。依據該電化學手段，以檢測由固定探針之電極發出之電化學之信號，而可確認標的遺傳子之存在。

然而，使用電化學手段之遺傳子檢測方法，於檢測電流時，發生本底電流。因此，檢測電極之電流值時，包含來自探針之電流及本底電流。因此，難以由檢測結果，只測出來自探針之電流。

發明之說明

本發明之目的係提供，基於與標的鹼基序列之相互作用之電流，進行高精密度之檢測之鹼基序列檢測電極，鹼基序列檢測裝置及鹼基序列檢測方法。

依據本發明之觀點之一為提供具有，導電性之檢測極及包覆此檢測極之表面所形成之可減低該檢測極表面之插入劑之吸附之第1保護分子，以及固定於上述之檢測極，具有與檢測目的之標的鹼基序列成互補之鹼基序列之標的互補探針，以及導電性之對照極及包覆此對照極之表面所形成之可減低該檢測極表面之插入劑之吸附之第2保護分子所形成之鹼基序列檢測電極。

依據本發明之其他觀點為提供，具備有導電性之檢測極及包覆此檢測極之表面所形成之可減低該檢測極表面之插入劑之吸附之第1保護分子，以及固定於上述之檢測極

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (3)

，與檢測目的之標的鹼基序列成互補之鹼基序列之標的互補探針，以及導電性之對照極及包覆此對照極之表面所形成之可減低該對照極表面之插入劑之吸附之第 2 保護分子，以及由上述之檢測極所檢測出之電化學信號減算由上述之對照極所檢測出之電化學信號之減算器 (subtracter) 所形成之鹼基序列檢測裝置。

另外，依據本發明之其他觀點是提供，具備有導電性之檢測極及包覆此檢測極之表面所形成之可減低該檢測極表面之插入劑之吸附之第 1 保護分子，以及介由直鏈狀有機分子所形成之第 1 間隔層材料，固定於上述之檢測極，與檢測目的之標的鹼基序列成互補之鹼基序列之標的互補探針，以及導電性之對照極及包覆此對照極之表面所形成之可減低該對照極表面之插入劑之吸附之第 2 保護分子之鹼基序列檢測裝置，檢測其上述之檢測極及對照極之電化學信號，由上述之檢測極所檢測出之電化學信號減算由上述之對照極所檢測出電化學信號之鹼基序列檢測方法。

圖面之簡單說明

圖 1 係表示關於本發明中之一項實施形態之鹼基序列檢測裝置之全體構成概念之裝置圖。

圖 2A 及圖 2B 係表示關於同實施形態之檢測極及對照極之詳細構成圖。

圖 3 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (4)

圖 4 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 5 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 6 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 7 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 8 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 9 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 10 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 11 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 12 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 13 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 14 係關於同實施形態之包含檢測極及對照極之電極構造之上視圖。

圖 15 係表示關於同實施形態之鹼基序列檢測裝置之運作之流程圖。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (5)

圖 16 為表示關於同實施形態之鹼基序列檢測裝置之對照極之變化例之圖。

圖 17 為表示傳統之鹼基序列檢測裝置之電流測定結果圖。

圖 18 為表示含有對照極之鹼基序列檢測裝置之電流測定結果圖。

圖 19 為表示使用乙二醇分子於間隔層材料之鹼基序列檢測裝置之電流測定結果圖。

圖 20 為表示使用巰基辛醇為保護分子之鹼基序列檢測裝置之電流測定結果圖。

圖 21 為表示使用直鏈鏈烷烴分子於間隔層材料之鹼基序列檢測裝置之電流測定結果圖。

圖 22A 及圖 22B 為表示不使用間隔層材料之固定標的核酸探針之變化例之圖。

主要元件對照表

- 1：電化學樣品槽
- 2：檢測極
- 3：對照極
- 40：恆電位裝置
- 50：恆電位裝置
- 60：信號處理裝置
- 70：信號處理裝置
- 80：減算器

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (6)

90 : 電腦

101 : 半導體基板

91 : 通信連繫裝置

92 : CPU

93 : 表示裝置

21 : 保護分子

22 : 間隔層材料

23 : 標的互補核酸探針

31 : 保護分子

4 : 對極

5 : 參照極

31 : 檢測極側 3 電極系

20 : 檢測極群

30 : 對照極群

51 : 參照極

52 : 參照極

510 : 檢測極側電極群

520 : 對照極側電極群

400 : 圓周

401 : 領域

402 : 領域

403 : 領域

404 : 領域

300 : 對照組

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (7)

301：間隔層材料

302：假探針

201：檢測極

202：檢測極

203：檢測極

211：標的互補核酸探針

212：標的準互補核酸探針

213：標的準互補核酸探針

實施發明之最佳形態

以下，是參照圖面說明本發明之一項實施形態。

圖 1 是表示關於本發明之一項實施形態之鹼基序列檢測裝置之全體構成概念之裝置圖。如圖 1 所示，電化學試樣槽 1 中，配置有檢測極 2 及對照極 3。這些檢測極 2 及對照極 3 之電流是以恆電位裝置 40 及 50 分別檢測。所得之電化學信號是分別輸出於信號處理裝置 60 及 70。信號處理裝置 60 及 70 為進行高峰電流值之算出等之信號處理，其信號處理後之數據輸出於減算器 80。

減算器 80 係將信號處理裝置 60 所得到之數據減算信號處理裝置 70 所得到之數據，該減算結果輸出於電腦 90。

電化學試樣槽 1、檢測極 2、對照極 3、恆電位裝置 40 及 50 為檢測鹼基序列形成半導體基板 101（接頭）。另外，檢測極 2、對照極 3、恆電位裝置 40 及 50 是由該半導體

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明 (8)

接頭之積體電路所構成。減算器 80 是可以作為該半導體基板 101 所形成之積體電路實施，亦可以與半導體基板 101 分別設置之電腦或減算器中實施。減算器 80 是可以電腦或控制電腦之軟體執行，亦可以 ROM 等之記錄減算處理內容之韌體 (Firmware) 執行，亦可只以硬體執行。

關於電腦 90，只要是可進行一般之計算處理之電腦，如個人電腦等均可。電腦 90 具備有通信連繫裝置 91、CPU92 及表示裝置 93。通信連繫裝置 91 為受信來自減算器 80 之減算結果，輸出於 CPU92。CPU92 係將減算結果顯示於表示裝置 93。

圖 2A 及圖 2B 為表示關於同實施形態之檢測極及對照極之詳細構成圖。圖 2A 為表示檢測極 2，圖 2B 為表示對照極 3 之詳細構成。

如圖 2A 所示，保護分子 21 是包覆檢測極 2 之表面所形成。保護分子 21 係由比檢測極 2 之表面之每單位面積之插入劑之吸附少之分子所構成。具體上，例如由巰基己醇或巰基辛醇等所構成。即使檢測極 2 之表面未被完全包覆亦可，只要至少部份之檢測極 2 之表面被包覆即可。如此，以保護分子 21 包覆檢測極 2 之表面之構成，可減低插入劑分子於檢測極 2 之表面之吸附。

保護分子 21 並不特別局限於上述之物質，但以例如直鏈之鏈烷烴、鏈烯烴、鏈炔烴、醚類、酯類及酮類為宜，另外，這些分子介由氧、氮及硫等之原子鍵結成多數個鏈狀分子，亦沒有關係。另外，於這些分子中作為官能基例

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (9)

如烷基、羥基、羧基、磺基、硝基、苯基、氨基、硫代基及鹵素等之中，導入難與插入劑分子相互作用之官能基之分子尤佳。另外，這些保護分子 21 是以介由硫代基及氨基等，吸附於檢測極 2 之表面，製作自我組織單分子膜為宜。除此之外，亦可使之形成無機氧化物層及高分子層等。

另外，於未形成此保護分子 21 之檢測極 2 之表面，固定間隔層材料 22 之末端。此間隔層材料 22 係由比檢測極 2 之表面之每單位面積之插入劑之吸附少之材料所形成。具體上，間隔層材料 22 係由直鏈狀有機分子所形成，例如乙二醇。間隔層材料 22 之材料並不特別局限於上述之物質，但以例如直鏈之鏈烷烴、鏈烯烴、鏈炔烴、醚類、酯類及酮類為宜，另外，這些分子介由氧、氮及硫等之原子鍵結成多數個鏈狀分子，亦沒有關係。

另外，於間隔層材料 22 之其他之末端，固定標的互補核酸探針 23。標的互補核酸探針 23 是具有與檢測目的之標的核酸序列成互補之鹼基序列之核酸所形成之探針。如此介由間隔層材料 22，將標的互補核酸探針 23 固定於檢測極 2，所得到之構成，可提升試樣與標的互補核酸探針 23 之結合效率。

傳統上，於間隔層材料中，插入劑分子相互作用，是形成增加本底電流之原因，但是如本實施形態之間隔層材料 22 之構成，插入劑分子是選擇難以相互作用之分子，而可減少本底電流。所謂本底電流係指，配置於檢測極 2 之標的互補核酸探針 23 及插入劑之相互作用所引起之電流以

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (10)

外之噪聲等之原因所形成電流。此本底電流為包含例如檢測極 2 表面與插入劑之相互作用，或保護分子 21 與插入劑之相互作用所引起之電流。標的互補核酸探針 23 及插入劑之相互作用所引起之電流，稱之為探針電流。

使用如上述之直鏈狀有機分子所構成之標的互補核酸探針 23 時，本底電流幾乎只有於檢測極 2 表面與插入劑之相互作用所引起之電流。因此，如後所述之對照極 3 之構成是只以保護分子層而成，是非常適宜的。具有如此效果之間隔層分子，例如一個或多數個互相鍵結乙二醇之直鏈狀分子。其他，只要是不與插入劑分子相互作用之分子，並不限制其材料。

如圖 2B 所示，於對照極 3，保護分子 31 是包覆對照極 3 之表面所形成。此保護分子 31 係以與包覆檢測極 2 之表面之保護分子 21 相同材料所構成的為宜，但只要是顯示類似之性質之分子，並無特別的限制。即使對照極 3 之表面未被完全包覆亦可，只要至少部份之對照極 3 之表面被包覆即可。如此以與保護分子 21 相同材料之保護分子 31 包覆對照極 3 之表面之構成，與可減低插入劑分子於檢測極 2 之表面之吸附，可同樣地具有減低檢測極 2 及對照極 3 雙方對於本底電流之影響之效果。

圖 3 至圖 14 為包含此檢測極及對照極之電極構造之上視模型圖。如圖 3 至圖 14 所示，電極之種類除了檢測極 2 及對照極 3 之外，有對極 4 及參照極 5。這些檢測極 2、對照極 3、對極 4 及參照極 5 是由導電性材料所構成，均配

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (11)

置於電化學試樣槽 1 內。於配置有這些檢測極 2、對照極 3、對極 4 及參照極 5 之電化學試樣槽 1 內，充填具有與固定於檢測極 2 或對照極 3 之探針之間進行雜交之檢體鹼基序列之試樣，或是插入劑、緩衝溶液等，以進行電化學反應。

檢測極 2 及對照極 3 為檢測試樣槽 1 內之反應電流之電極。

於檢測極 2 為固定具有與標的鹼基序列成互補之標的互補鹼基序列之 DNA 探針，檢測標的互補核酸探針與插入劑之相互作用所引起之電流。

對照極 3 是檢測噪聲等之本底電流，之後，由檢測極 2 所檢測之電流減算其本底電流，為減低因噪聲等之影響之電極。對照極 3 可不固定探針使用，或亦可如後述之圖 16 所示之固定假探針使用。

對極 4 為外加一定之電壓於檢測極 2 或對照極 3 之間，供給電流於試樣槽 1 內之電極。

參照極 5 為控制參照極 5 與檢測極 2 或參照極 5 與對照極 3 之間之電壓於所定之電壓特性，將其電極電壓回饋 (Negative Feed Back) 於對極 4 之電極。依據參照極 5 及對極 4，可控制電壓，不影響試樣槽 1 內之各種檢測條件，而可進行高精密度之氧化電流之檢測。

圖 3 為由檢測極 2、對極 4 及參照極 5 所形成之檢測極側 3 電極系 31 及由對照極 3、對極 4 及參照極 5 所形成之對照極側 3 電極系 32。相對於圓形之檢測極 2，以一定

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (12)

之間隔，一定之方向，配置具有長邊方向之長方形之對極 4。另外，相對於檢測極 2，以一定之間隔，配置與對極 4 之長邊方向大致上成垂直方向之具有長邊方向之長方形之參照極 5。此例顯示檢測極 2 與對極 4 之距離，與檢測極 2 與參照極 5 之距離約為相等地配置，但並不以此為限，亦可以不同距離配置。

對照極側 3 電極系 32 是取代檢測極側 3 電極系 31 之檢測極 2 為對照極 3 之構成。這些 3 電極系 31 或 32 為 1 組之電極系，接續於恆電位裝置 40 及 50。

圖 4 為依據圖 3 之電極構造所構成之具體之電極構造例。如圖 4 所示，與圖 3 中所示之同樣的 3 電極系 31 及 32，交互地成矩陣配置。圖 4 係表示於列方向為排列相同的 3 電極系，於行方向交互地配置相異的 3 電極系之例，但是亦可於行方向配置相同的 3 電極系，於列方向交互地配置相異的 3 電極系。另外，亦可配置於行方向及列方向兩方向，使相異的 3 電極系交互地配置。此時，於矩陣之斜向，配置排列相同之 3 電極系。

圖 5 為表示與圖 3 同一形狀之電極之其他之配置例。相對於長方形之對極 4，長邊方向相同之參照極 5 隔著對極 4，以相同的間隔配置。對極 4 及一邊之參照極 5 之間，配置著對照極 3，另外，於該參照極 5 之設有對照極 3 之相反側，配置檢測極 2。另外，對極 4 及一方之參照極 5 之間，配置檢測極 2，進而，該參照極 5 之設有對照極 3 之側之相反側，配置對照極 3。對極 4 或參照極 5 與檢測極 2

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (13)

或對照極 3 之距離為相等間隔。另外，檢測極 2 與對照極 3 係隔著參照極 5 配置成對稱位置。另外，檢測極 2 及對照極 3 係隔著對極 4 配置成對稱位置。

圖 6 為依據圖 5 之電極構造所構成之具體之電極構造例。如圖 6 所示，具有與圖 5 所示之同樣的電極構造，但是檢測極 2 及對照極 3 是沿著對極 4 或參照極 5 之長邊方向，以等間隔多數配置，分別形成檢測極群 20 及對照極群 30。另外，檢測極 2 或對照極 3 係隔著參照極 5 或對極 4 配置成對稱位置。配置成對稱位置之檢測極 2 及對照極 3 間成減算之對象之電極。亦即是對於參照極 5 配置成對稱位置之檢測極 2 或對照極 3，及該參照極 5，並且設於接近檢測極 2 或對照極 3 之對極 4，成為 3 電極系。各檢測極 2 至對極 4 及參照極 5 之距離相等。各對照極 3 至對極 4 及參照極 5 之距離相等。於該 3 電極系，接續恆電位裝置 40 及 50。1 個檢測極群 20、1 個對照極群 30、1 個對極 4 及 1 個參照極 5 所形成之電極組，是多數配置於與那些電極或是電極群之長邊方向成不同方向（希望是大致成垂直方向）

圖 7 為表示與圖 3 或圖 5 同一形狀的電極之其他之配置例。對極 4 之中心附近，以一定之間隔，配置與對極 4 之長邊方向大致成垂直之參照極 5。由參照極 5，以一定之間隔，配置檢測極 2，另外，於此檢測極 2 及參照極 5 之對稱位置，配置對照極 3。

圖 8 為依據圖 7 之電極構造所構成之具體之電極構造

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明 (14)

例。如圖 8 所示，具有與圖 7 所示之同樣的電極構造，而且檢測極 2 及對照極 3 係隔著參照極 5 成對稱的位置，沿著參照極 5 之長邊方向，以等間隔多數配置，分別形成檢測極群 20 及對照極群 30。對於參照極 5 配置成對稱位置之檢測極 2 及對照極 3 間成減算之對象之電極。亦即是對於參照極 5 配置成對稱位置之檢測極 2 或對照極 3，及該參照極 5，並且設垂直於參照極 5 之對極 4，成為 3 電極系。於該 3 電極系，接續恆電位裝置 40 及 50。各檢測極 2 至對極 4 及參照極 5 之距離相等。各對照極 3 至對極 4 及參照極 5 之距離相等。

圖 9 為表示與圖 3、圖 5 或圖 7 同一形狀的電極之其他之配置例。配置與對極 4 以一定之間隔，而且與對極 4 之長邊方向大致上成平行之具有長邊方向之參照極 51 及 52。其一側之參照極 51 與對極 4 之間，配置檢測極 2，另一側之參照極 52 與對極 4 之間，配置對照極 3。參照極 51 對於檢測極 2 以及參照極 51 對於對極 4 之位置關係，與參照極 52 對於對照極 3 以及參照極 52 對於對極 4 之位置關係是相等的。檢測極 2 與對應此檢測極 2 所設之參照極 51 之組合稱為檢測極側電極群 510，對照極 3 與對應此對照極 3 所設之參照極 52 之組合稱為對照極側電極群 520。1 個檢測極側電極群 510 與對極 4 成為 3 電極系。於該系，接續恆電位裝置 40。1 個對照極側電極群 520 與對極 4 成為 3 電極系。於該系，接續恆電位裝置 50。

圖 10 係依據圖 9 之電極構造所構成之具體之電極構造

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (15)

例。如圖 10 所示，與圖 9 中所示之具有同樣的電極構造，檢測極側電極群 510 於列方向以多數等間隔配置，對照極側電極群 520 於列方向以多數等間隔配置，這些電極群彼此間以行方向交互地配置成矩陣構造。各電極群 510、520 與對極 4 成爲 3 電極系，於該系，接續恆電位裝置 40 或 50。另外，本例爲表示於列方向配置同一種電極群，但是亦可於列方向交互地配置檢測極側電極群 510 及對照極側電極群 520。另外，雖表示行方向及列方向大致上成垂直，但不限於此，列方向對於行方向爲不是垂直之角度亦可。

圖 11 爲表示與圖 3、圖 5、圖 7 或圖 9 同一形狀的檢測極 2 及對照極 3，圓形之對極 4 及圓環形狀之參照極 5 之電極構造之一例之圖。如圖 11 所示，以圓形之對極 4 爲中心，配置成同心圓之圓環形狀之參照極 5，以包圍著對極 4。並且，相對於對極 4 成對稱位置，於參照極 5 之外圍，以一定之間隔，配置檢測極 2 及對照極 3。

圖 12 係依據圖 11 之電極構造所構成之具體之電極構造例。如圖 12 所示，具有與圖 11 所示之同樣的電極構造，而且檢測極 2 及對照極 3 是相對於對極 4 成對稱位置之多數配置。另外，因爲各多數之檢測極 2 及多數之對照極 3，對於對極 4 是以相同位置配置，所以構成以對極 4 爲中心之圓周 400 上，交互地配置檢測極 2 及對照極 3。可以對極 4 成對稱位置之檢測極 2 及對照極 3 間成減算之對象，亦可以相鄰之檢測極 2 及對照極 3 間成減算之對象。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (16)

圖 13 為表示與圖 3、圖 5、圖 7 或圖 9 同一形狀的檢測極 2 及對照極 3，以及正方形之對極 4 及十字形狀之參照極 5 之電極構造之一例之圖。如圖 13 所示，配置長邊方向為大致成垂直交叉之 2 個長方形之電極相重疊而構成十字形狀之參照極 5。由此參照極 5 之十字所分隔之 4 個領域，分別為與參照極 5 成一定之間隔，各配置 1 個對極 4。另外，這些各個領域中，2 個領域各配置 1 個檢測極 2，其他 2 個領域則各配置 1 個對照極 3。這些檢測極 2 及對照極 3 係配置於比對極 4 更遠離參照極 5 之位置。參照極 5 至各對極 4 之距離相等，另外參照極 5 至各檢測極 2 及對照極 3 之距離相等。

圖 14 是依據圖 13 之電極構造所構成之具體之電極構造例。如圖 14 所示，對極 4 及參照極 5 之構成與圖 13 相同。於圖 14 時，以參照極 5 所分隔之 4 個領域 401 至 404，分別配置多數個檢測極 2 或配置多數個對照極 3。更具體而言，相鄰之 401 及 404 係配置多數個檢測極 2，而相鄰之 402 及 403 係配置多數個對照極 3。與參照極 5 之間之距離相等之檢測極 2 及對照極 3 之間成減算之對象。另外，於 4 個領域 401 至 404 中之至少 1 個領域配置檢測極 2，並且至少 1 個領域配置對照極 3 為宜。因此，可於 3 個領域，亦可於 1 個領域配置檢測極 2。另外，顯示配置對極 4 於各領域各 1 個，合計 4 個，但是於各領域，配置 2 個以上之對極 4 亦可。另外，1 個領域中混合配置檢測極 2 及對照極 3 亦可。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (17)

以上所表示之圖 3 至圖 14 之電極配置只是個例，對於各電極之形狀、大小及位置關係等可以作各種變更。如圖 3 至圖 14 所示之電極構造為可以配置 1 個半導體或玻璃等之基板。因此，檢測極 2 及對照極 3 可配置於同一基板。檢測極 2 是可為 1 個，亦可為多數。對照極 3 可為 1 個，亦可為多數。另外，對於檢測極 2 之減算對象之對照極 3 是可為 1 個，亦可為多數。另外，對於對照極 3 之減算對象之檢測極 2 可為 1 個，亦可為多數。當然，將各電極配置於其他之基板亦可。

其次，將如上述之鹼基序列檢測裝置之運作，依照圖 15 之流程圖作說明。

首先，於電化學樣品槽 1 內，配置檢測極 2 及對照極 3，於樣品槽 1 內充填包含為檢查對象之核酸之試樣（檢體溶液）。接著，將樣品槽 1 保持一定之溫度，促進試樣與固定於檢測極 2 之標的互補核酸探針之雜交反應。雜交反應終了後，由樣品槽 1 送出試樣，以緩衝溶液充填後，再以插入劑充填樣品槽 1。充填著該插入劑之樣品槽 1 內，檢測極 2 及對照極 3 與對極 4 之間，於參照極 5 之電壓之回饋下，外加一定之電壓，於檢測極 2 及對照極 3 分別同時進行接續恆電位裝置 40 及 50 之電化學測定（s1）。

其次，由電化學測定所得到之檢測極 2 及對照極 3 之電流值，檢測其高峰電流值（s2）。此高峰電流值之檢測係以檢測極 2 及對照極 3 之雙方同時進行。高峰電流值之檢測是以信號處理裝置 60 及 70 執行。信號處理裝置 60 及

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明 (18)

70 係由接續恆電位裝置 40 及 50 所得到之電流波形或將電流波形經電流電壓轉換成電壓波形，抽出其高峰值。另外，所得到之高峰電流值是可 A/D 轉換，並且，進行算出多數個檢測極 2 或多數個對照極 3 之平均值等之統計處理後而求得亦可。所得到之高峰電流值是輸出於減算器 80。

減算器 80 係由檢測極 2 之高峰電流值，減算對照極 3 之高峰電流值 (s3)。檢測極 2 之高峰電流值係基於標的互補核酸探針中插入劑分子相互作用所引起之探針電流，以及加算不需要之噪聲所檢測之本底電流而得到之電流。本底電流為包含檢測極 2 之表面及插入劑分子相互作用所引起之電流值，以及核酸探針部份與基板表面相連接之間隔層材料 22 中，插入劑分子相互作用所引起之電流值。

對照極 3 之高峰電流值係基於不需要之噪聲所檢測之本底電流而得到。因此，依據減算，可減去本底電流之電流值，而可檢測來自探針之電流。

減算器 80 將減算結果輸出於電腦。電腦 90 將減算結果表示於表示裝置 93。操作者可依據所表示之減算結果，特定試樣中所含之鹼基序列。當然，亦可設定依據減算結果進行試樣中是否含有鹼基序列之判定等之判斷回路，將其判斷結果表示於表示裝置 93。

依據本實施形態，關於本發明中，作為檢測極 2 之以往之遺傳子檢測電極之外，並具備有可檢出只有本底電流之對照極 3。由兩電極 2 及 3 檢測出電流值後，於基板上的積體電路上進行計算，由檢測極 2 之電流值減去對照極 3

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (19)

之電流值，可檢測除去本底電流，僅有來自標的遺傳子之電流值。因為保護分子包覆於檢測極 2 及對照極 3 之表面所形成，所以可減低因電極表面與插入劑之相互作用所引起之本底電流的影響。另外，使用直鏈狀有機分子為間隔層材料時，可大幅減低起因於間隔層之本底電流。因此，對照極 3 即使不設探針，間隔層之有無所造成之本底電流之差異幾乎沒有。因此，可節省固定間隔層及探針之手續。

於以往之電流檢測型之遺傳子檢測法，只抽出來自標的遺傳子之電流值，進行解析是困難的。特別是判別單一核酸多型時，非專一之雜交遺傳子增加電流值，使之與本底電流之判別變得困難，但若依據本實施形態，是可以解決如此之課題。

本發明並不局限於上述之實施形態。

固定於檢測極之探針為使用具有與標的鹼基序列成互補之鹼基序列之標的互補鹼基序列之探針，但並不以此為限。例如可使用具有與標的互補鹼基序列之 1 鹼基，或是數個鹼基相異之鹼基序列，比標的互補鹼基序列，與標的鹼基序列之互補性低之探針（以下，稱為標的準互補核酸探針）。另外，亦可固定標的互補核酸探針及標的準互補核酸探針雙方於檢測極使用。

另外，於上述之實施形態所示之於對照極 3 之表面包覆保護分子 31，未設有間隔層及探針之例，但並不以此為限。圖 16 是表示圖 2B 中所示之對照極 3 之變化例之圖。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明 (20)

於此變化例中對照極 300 係介由保護分子 31 固定於直鏈狀有機分子所形成之間隔層材料 301 之末端。此間隔層材料 301 與設於檢測極 2 之間隔層材料 22 為同一種材料所構成。

於間隔層材料 301 之其他末端，固定假探針 302。假探針 302 為不具有與標的鹼基序列成互補之鹼基序列，具有非互補之鹼基序列之核酸所形成之探針。

如此，對照極 3 方面亦可介由間隔層固定探針。因此，可將檢測極 2 之間隔層材料 22 所引起之本底電流，以對照極 3 方面電流扣除。

另外，表示於檢測極 2 方面，介由間隔層材料 22，固定標的核酸探針 23 於檢測極 2 之例，但並不以此為限。亦可如圖 22A 及圖 22B 所示，將標的核酸探針 23 不介由間隔層材料 22，固定於檢測極 2。

另外，雖未特別表示於圖 1，但是電腦 90 亦可自動控制半導體基板 101 所形成之各回路。此時，電腦 90 係介由通信連繫裝置 91，輸出控制恆電位裝置 40 及 50、信號處理裝置 60 及 70，以及減算器 80 之運作之控制指令。這些各回路是基於所受信之控制指令運作，將運作結果或計算結果，再送信於電腦 90。因此，可使鹼基序列之檢測成自動化。另外，於圖 1，雖表示於半導體基板 101 設有信號處理裝置 60 及 70，以及減算器 80，但是亦可將這些相同的機能，於電腦 90 執行。此時，恆電位裝置 40 及 50 之輸出信號送信於電腦 90，於電腦 90 方面，執行信號處理及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (21)

減算處理。

如上述說明之本發明係基於與標的鹼基序列之相互作用，可進行高精密度之電流檢測。

(實施例)

以下為說明依據本發明之鹼基序列檢測裝置之具體之實施例。

於此實施例中，說明上述之本實施形態之實施例，以及與該實施例相比較之先行例。

(先行例)

此先行例中，不使用對照極 3，進行核酸之檢測。檢測極 2 為使用檢測極 201、202 及 203 之 3 個 Au 電極。於試樣核酸中使用具有序列號碼 1 之 MxA 蛋白質之啟動子領域 (promotor)。

(1) 於 Au 電極表面之核酸探針之固定化

以上述之試樣核酸為標的核酸。具有與此標的核酸之序列號碼 1 成互補之序列 2 之探針，將檢測極 201 浸漬於含有 $10\mu\text{M}$ 之單股核酸探針溶液 1 小時。因此，進行固定標的互補核酸探針 211 於檢測極 201。同樣地，將具有與標的核酸成互補之鹼基序列，一個鹼基相異之序列 3 及 4 之單股核酸探針 (以下，稱為標的準互補核酸探針 212 及 213)，分別固定於檢測極 202 及檢測極 203。這些單股核酸探針 211 至 213 是介由 20 個鹼基 (胞嘧啶) 所形成之間隔層，分別固定於檢測極 201 至 203。其次，於 1mM 之巰

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (22)

基己醇水溶液中，浸漬檢測極 201 至 203，保護標的互補核酸探針 211 或標的準互補核酸探針 212 及 213 之未固定化之部份。

(2) 使用核酸探針固定化表面之試樣核酸之檢測

抽出試樣核酸後，以 PCR 增幅。含有此試樣核酸之 $2 \times \text{SSC}$ 溶液中，浸漬 (1) 中所製作之檢測極 201 至 203，於 35°C 下，保溫 60 分鐘，進行緩冷配對 (annealing)。之後，以 $0.2 \times \text{SSC}$ 溶液進行洗淨。進而，將檢測極 201 至 203 及對照極 3 浸漬於含有為插入劑之 $50 \mu\text{M}$ 之 Hoechst33258 溶液之溶液中 15 分鐘後，測定 Hoechst33258 分子之氧化電流應答。電流測定之結果如圖 17 所示。與檢測極 201 比較，雖然檢測極 202 及 203 之電流值低，但是無法區分本底電流。

(實施例 1)

於本實施例 1 中，使用對照極 3，進行與先行例相同的核酸檢測。檢測極 2 為使用檢測極 201、202 及 203 之 3 個 Au 電極。於試樣核酸中使用具有序列號碼 1 之 MxA 蛋白質之啟動子領域。

(1) 於 Au 電極表面之核酸探針之固定化

以上述之試樣核酸為標的核酸。浸漬檢測極 201 於含有 $10 \mu\text{M}$ 之具有與此標的核酸成互補之序列 2 之單股核酸探針之溶液 1 小時，進行固定標的互補核酸探針 211。同樣地，將具有與序列 2 一個鹼基相異之序列 3 及 4 之單股

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (23)

標的準互補核酸探針固定於檢測極 202 及檢測極 203。進而，將具有與序列 2 成非互補之序列 5 之單股核酸探針（以下，稱為標的非互補核酸探針）固定於對照極 3。單股核酸探針係介由 20 個鹼基（胞嘧啶）所形成之間隔層，分別固定於電極。其次，於 1mM 之巰基己醇水溶液中，浸漬檢測極 201 至 203 及對照極 3，保護核酸探針之未固定化之部份。

（2）使用核酸探針固定化表面之試樣核酸之檢測

抽出試樣核酸後，以 PCR 增幅。含有此試樣核酸之 $2 \times \text{SSC}$ 溶液中，浸漬（1）中所製作之檢測極 201 至 203，於 35°C 下，保溫 60 分鐘，進行緩冷配對（annealing）。之後，以 $0.2 \times \text{SSC}$ 溶液進行洗淨。進而，將檢測極 201 至 203 及對照極 3 浸漬於含有為插入劑之 $50 \mu\text{M}$ 之 Hoechst33258 溶液之溶液中 15 分鐘後，測定 Hoechst33258 分子之氧化電流應答。電流測定後，以減算器減去本底電流。減去後之結果如圖 18 所示。檢測極 202，幾乎無來自檢測目的之遺傳子之電流值，顯示 1 個鹼基之差異即可明確地判別。另一方面，可知檢測極 203 為非專一性之目的遺傳子進行雜交。由實施例 1 可清楚得知，使用對照極 3 進行遺傳子之檢測，可以只抽出來自目的遺傳子之電流。

（實施例 2）

於先行例 1 及實施例 1 中，於核酸探針之間隔層材料

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明 (24)

，使用容易與插入劑分子相互作用之鹼基序列。因此，於對照極 3 亦固定核酸探針。於本實施例 2 中，於核酸探針之間隔層材料是使用不與插入劑分子相互作用之乙二醇分子。於試樣核酸中使用具有序列號碼 1 之 MxA 蛋白質之啟動子領域。

(1) 於 Au 電極表面之核酸探針之固定化

以上述之試樣核酸為標的核酸。浸漬檢測極 201 於含有 $10\ \mu\text{M}$ 之具有與此標的核酸成互補之序列 2 之單股標的互補核酸探針 211 之溶液 1 小時，進行固定核酸探針。同樣地，將具有與序列 2 一個鹼基相異之序列 3 及 4 之單股標的準互補核酸探針 212 及 213 固定於檢測極 202 及 203。於對照極 3 不進行固定單股核酸探針。單股核酸探針 211 至 213 是介由 30 個乙二醇分子所形成之間隔層，分別固定於各電極。其次，於 1mM 之巰基己醇水溶液中，浸漬檢測極 201 至 203 及對照極 3，保護核酸探針之未固定化之部份。

(2) 使用核酸探針固定化表面之試樣核酸之檢測

抽出試樣核酸後，以 PCR 增幅。含有此試樣核酸之 $2\times\text{SSC}$ 溶液中，浸漬 (1) 中所製作之檢測極 201、202 及對照極 3，於 35°C 下，保溫 60 分鐘，進行緩冷配對 (annealing)。之後，以 $0.2\times\text{SSC}$ 溶液進行洗淨。進而，將檢測極 201、202 及對照極 3 浸漬於含有為插入劑之 $50\ \mu\text{M}$ 之 Hoechst33258 溶液之溶液中 15 分鐘後，測定 Hoechst33258 分子之氧化電流應答。電流測定後，以減算

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (25)

器減去本底電流。減去後之結果如圖 19 所示。檢測極 202，幾乎無來自檢測目的遺傳子之電流值，顯示 1 個鹼基之差異即可明確地判別。另一方面，可知檢測極 203 是非專一性之目的遺傳子進行雜交。由實施例 2 可清楚得知，使用乙二醇分子為核酸探針之間隔層固定於檢測極 2，可不必於對照極 3 固定核酸探針，只以保護分子構成即可。

(實施例 3)

於本實施例 3 中，使用與先行例 1 及實施例 1 不同之保護分子。於核酸探針之間隔層材料是使用鍵結 5 個乙二醇分子之分子。於試樣核酸中使用具有序列號碼 1 之 MxA 蛋白質之啟動子領域。

(1) 於 Au 電極表面之核酸探針之固定化

以上述之試樣核酸為標的核酸。浸漬檢測極 201 於含有 $10\mu\text{M}$ 之具有與此試樣核酸成互補之序列 2 之單股標的互補核酸探針 211 之溶液 1 小時，進行固定核酸探針。同樣地，將具有與序列 2 一個鹼基相異之序列 3 及 4 之單股標的準互補核酸探針 212 及 213 固定於檢測極 202 及 203。於對照極 3 不進行固定單股核酸探針。單股核酸探針 211 至 213 是介由 30 個乙二醇分子所形成之間隔層，分別固定於各電極。其次，於 1mM 之巯基辛醇水溶液中，浸漬檢測極 201 至 203 及對照極 3，保護核酸探針之未固定化之部份。

(2) 使用核酸探針固定化表面之試樣核酸之檢測

五、發明說明 (26)

抽出試樣核酸後，以 PCR 增幅。含有此試樣核酸之 $2 \times \text{SSC}$ 溶液中，浸漬 (1) 中所製作之檢測極 201 至 203 及對照極 3，於 35°C 下，保溫 60 分鐘，進行緩冷配對 (annealing)。之後，以 $0.2 \times \text{SSC}$ 溶液進行洗淨。進而，將檢測極 201 及 203 及對照極 3 浸漬於含有為插入劑之 $50 \mu\text{M}$ 之 Hoechst33258 溶液之溶液中 15 分鐘後，測定 Hoechst33258 分子之氧化電流應答。電流測定後，以減算器減去本底電流。減去後之結果如圖 20 所示。檢測極 202，幾乎無來自檢測目的遺傳子之電流值，顯示 1 個鹼基之差異即可明確地判別。另一方面，可知檢測極 203 為非專一性之目的遺傳子進行雜交。

(實施例 4)

於本實施例 4 中，於核酸探針之間隔層材料是使用直鏈鏈烷烴分子。於試樣核酸中使用具有序列號碼 1 之 MxA 蛋白質之啟動子領域。

(1) 於 Au 電極表面之核酸探針之固定化

以上述之試樣核酸為標的核酸。浸漬檢測極 201 於含有 $10 \mu\text{M}$ 之具有與此試樣核酸成互補之序列 2 之單股標的互補核酸探針 211 之溶液 1 小時，進行固定核酸探針 211 於檢測極 201。同樣地，將具有與序列 2 一個鹼基相異之序列 3 及 4 之單股標的準互補核酸探針 212 及 213 固定於檢測極 202 及 203。於對照極 3 不進行固定單股核酸探針。單股標的核酸探針 211 及單股標的準互補核酸探針 212

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (27)

及 213 是介由碳原子數為 96 個直鏈鏈烷烴分子所形成之間隔層固定。其次，於 1mM 之巰基己醇水溶液中，浸漬檢測極 201 至 203 及對照極 3，保護核酸探針之未固定化之部份。

(2) 使用核酸探針固定化表面之試樣核酸之檢測

抽出試樣核酸後，以 PCR 增幅。含有此試樣核酸之 2x SSC 溶液中，浸漬 (1) 中所製作之檢測極 201 至 203 及對照極 3，於 35℃ 下，保溫 60 分鐘，進行緩冷配對 (annealing)。之後，以 0.2x SSC 溶液進行洗淨。進而，將檢測極 201 至 203 及對照極 3 浸漬於含有為插入劑之 50 μM 之 Hoechst33258 溶液之溶液中 15 分鐘後，測定 Hoechst33258 分子之氧化電流應答。電流測定後，以減算器減去本底電流。減去後之結果如圖 21 所示。檢測極 202，幾乎無來自檢測目的遺傳子之電流值，顯示 1 個鹼基之差異即可明確地判別。由實施例 4 可清楚明白，即使使用直鏈鏈烷烴分子為核酸探針之間隔層，可不必於對照極 3 固定核酸探針，只以保護分子構成即可。

附加之優點及改變，對於擅於該技術者應該是容易地想像的。因此，對於有更大發揮空間之本發明，並不局限於在此所說明之具體之詳細構成及代表性之實施形態。因此，不逸脫所添附之請求內容以及其相等事物所定義之一般之發明概念之精神或是視野，可作各式各樣之改變。

產業上利用之可能性

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (28)

如以上說明之本發明，對於檢測鹼基序列之檢測電極之技術領域、檢測鹼基序列之檢測裝置之技術領域以及檢測鹼基序列之檢測方法之領域是有效的。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (29)

序 列

<110> KABUSHIKI KAISHA TOSHIBA

OKADA, Jun

HASHIMOTO, Koji

TAKAHASHI, Masayoshi

<120> 鹼基序列檢測電極，鹼基序列檢測裝置及鹼基
序列檢測方法

<130> 02S1026P

<150> JP 2002-244018

<160> 5

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 121

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

ggcctccgct ctcgcttcgc ctctttcacc ccgcgcccag ccccgccccg cgccgcgaag 60

aaatgaaact cacagaccct gtgctgaggg cggtccggg cgcagaaacg aaacctagct 120

c

121

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (30

<210> 2
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 2
gtttctgcgc ccgga

15

<210> 3
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 3
gtttctgcac ccgga

15

<210> 4
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 4
gtttctgctc ccgga

15

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明 (3)

<210> 5

<211> 15

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<400> 5

gacctgcttc tgact

15

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

四、中文發明摘要（發明之名稱： 鹼基序列檢測電極，鹼基序列檢測裝置及鹼基序列檢測方法

具備有導電性之檢測極（2）及包覆此檢測極（2）之表面所形成之可減低該檢測極（2）表面之插入劑之吸附之保護分子（21），以及介由直鏈狀有機分子所形成之間隔層材料（22）固定於檢測極（2），與具有檢測目的之標的鹼基序列成互補之鹼基序列之標的互補核酸探針（23），以及導電性之對照極（3）及包覆此對照極（3）之表面所形成之可減低該對照極（3）表面之插入劑之吸附之保護分子（31）。

英文發明摘要（發明之名稱：)

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄）

裝

訂

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

公告本

A8
B8
C8
D8

六、申請專利範圍 1

1、一種鹼基序列檢測電極，其特徵為，具備有導電性之檢測極及包覆此檢測極之表面所形成之可減低該檢測極表面之插入劑之吸附之第 1 保護分子，及固定於該檢測極，具有與檢測目的之標的鹼基序列成互補之鹼基序列之標的互補探針，及導電性之對照極及包覆此對照極之表面所形成之可減低該對照極表面之插入劑之吸附之第 2 保護分子。

2、如申請專利範圍第 1 項之鹼基序列檢測電極，其中該標的互補探針係介由直鏈狀有機分子所形成之第 1 間隔層材料，固定於該檢測極。

3、如申請專利範圍第 1 項之鹼基序列檢測電極，其中介由直鏈狀有機分子所形成之第 2 間隔層材料，固定於該對照極，並具備有具有與檢測目的之標的鹼基序列不成互補之鹼基序列之假探針。

4、一種鹼基序列檢測裝置，其特徵為，具備有導電性之檢測極及包覆此檢測極之表面所形成之可減低該檢測極表面之插入劑之吸附之第 1 保護分子，及固定於該檢測極，與檢測目的之標的鹼基序列成互補之鹼基序列之標的互補探針，及導電性之對照極及包覆此對照極之表面所形成之可減低該對照極表面之插入劑之吸附之第 2 保護分子，及由該檢測極所檢測出之電化學信號減算由該對照極所檢測出之電化學信號之減算器。

5、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中該標的互補探針係介由直鏈狀有機分子所形成之第 1 間隔

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍 2

層材料，固定於該對照極。

6、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中具備有與該檢測極成對向配置之第 1 之對極之間，外加一定之電壓，檢測來自檢測極之電化學信號之第 1 恆電位裝置，及處理第 1 恆電位裝置之輸出信號，輸出於該減算器之第 1 信號處理裝置，及與該對照極成對向配置之第 2 之對極之間，外加一定之電壓，檢測來自對照極之電化學信號之第 2 恆電位裝置，及處理第 2 恆電位裝置之輸出信號，輸出於該減算器之第 2 信號處理裝置。

7、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中更具備有表示該減算器之減算結果之表示裝置。

8、如申請專利範圍第 7 項之鹼基序列檢測裝置，其中該檢測極、對照極及減算器形成於相同的基板，該減算器及該表示裝置是介由電腦以信號線接續而成。

9、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中更具備有介由直鏈狀有機分子所形成之第 2 間隔層材料，固定於該對照極，並且具有與檢測目的之標的鹼基序列不成互補之鹼基序列之假探針。

10、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中具備該檢測極，及由該檢測極間隔第 1 距離所配置，與該檢測極之間，外加一定之電壓之第 1 對極，及由該檢測極間隔第 2 距離所配置，將檢測出之電壓回饋於第 1 對極之第 1 參照極所形成之檢測極側 3 電極系，及該對照極，及由該對照極間隔第 1 距離所配置，與該對照極之間，外

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍 3

加一定之電壓之第 2 對極，以及由該對照極間隔第 2 距離所配置，將檢測出之電壓回饋於第 2 對極之第 2 參照極所形成之對照極側 3 電極系，該檢測極側 3 電極系與該對照極側 3 電極系之組合為多數配置成矩陣狀。

11、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中更具備有該檢測極於第 1 方向，以等間隔多數配置所形成之檢測極群，及與該檢測極群間隔一定距離所配置於第 1 方向具有長邊方向之參照極，及與該參照極間隔一定之距離所配置，該對照極於第 1 方向以等間隔多數配置所形成之對照極群，及由對照極群間隔一定距離所配置於第 1 方向具有長邊方向，於各個該檢測極及各個該對照極之間，外加一定電壓之對極。

12、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中更具備有該檢測極是於第 1 方向，以等間隔多數配置形成檢測極群，及該對照極係於第 1 方向，以等間隔多數配置形成對照極群，及與該檢測極群及該對照極群間隔一定距離配置於第 1 方向具有長邊方向，於各個該檢測極之間，外加一定電壓之對極，及與該檢測極群、該對照極群及對極間隔一定距離配置於與第 1 方向大致成垂直之第 2 方向，具有長邊方向，將檢測出之電壓回饋於該對極之參照極。

13、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中更具備有該檢測極，及由該檢測極間隔第 1 距離配置第 1 參照極所形成之檢測極側電極群，以及該對照極，及由該

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍 4

對照極間隔第 1 距離配置第 2 參照極所形成之對照極側電極群，以及於第 1 方向具有長邊方向，於各個該檢測極及各個該對照極之間，外加一定電壓之對極，該檢測極側電極群及對照極側電極群係於第 1 方向及與第 1 方向不同之第 2 方向配置成矩陣狀。

14、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中具備有於該檢測極及該對照極，外加一定電壓之圓形對極，及包圍該對極，與對極間隔一定距離所配置圓環形狀之參照極，該檢測極及該對照極係於以該對極為中心之圓周上，交互地多數配置而成。

15、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中更具備有於第 1 方向具有長邊方向之第 1 材料，及與第 1 方向大致成垂直方向之具有長邊方向，與第 1 材料以第 1 交點交差第 2 材料所形成之參照極，以及由該參照極所分隔之各個 4 個領域，由第 1 交點間隔第 1 距離所配置之 4 個對極，該檢測極為配置於該 4 個領域中至少 1 個領域，比由第 1 交點之第 1 距離間隔更長之距離作多數配置，該對照極為配置於該 4 個領域中至少 1 個領域，比由第 1 交點之第 1 距離間隔更長之距離作多數配置而成。

16、如申請專利範圍第 4 項之鹼基序列檢測裝置，其中該對照極是配置於該 4 個領域中，未配置檢測極之領域，該檢測極為配置於該 4 個領域中，未配置對照極之領域。

17、一種鹼基序列檢測方法，其特徵為，具備有導電

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍 5

性之檢測極及包覆此檢測極之表面所形成之可減低該檢測極表面之插入劑之吸附之第 1 保護分子，及介由直鏈狀有機分子所形成之第 1 間隔層材料，固定於該檢測極，具有與檢測目的之標的鹼基序列成互補之鹼基序列之標的互補探針，及導電性之對照極及包覆此對照極之表面所形成之可減低該對照極表面之插入劑之吸附之第 2 保護分子之鹼基序列檢測裝置，檢測其檢測極及對照極之電化學信號，由該檢測極所檢測出之電化學信號減算由該對照極所檢測出電化學信號。

18、如申請專利範圍第 17 項之鹼基序列檢測方法，其中該標的互補探針係介由直鏈狀有機分子所形成之第 1 間隔層材料，固定於該檢測極。

19、如申請專利範圍第 17 項之鹼基序列檢測方法，其中更具備有介由直鏈狀有機分子所形成之第 2 間隔層材料，固定於該對照極，及具有與檢測目的之標的鹼基序列不成互補之鹼基序列之假探針。

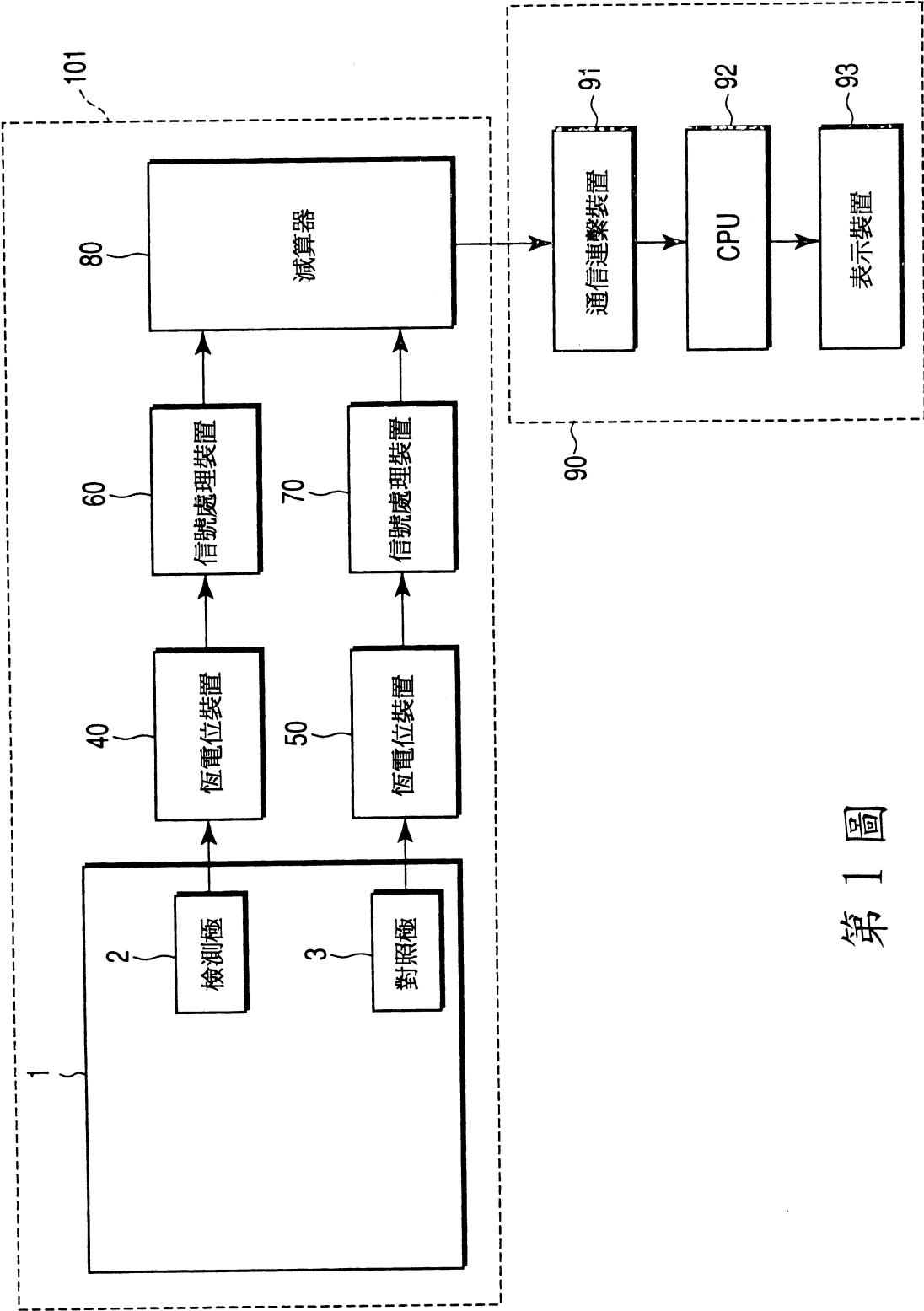
20、如申請專利範圍第 17 項之鹼基序列檢測方法，其中該減算結果係以具備有電腦之表示裝置所表示。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

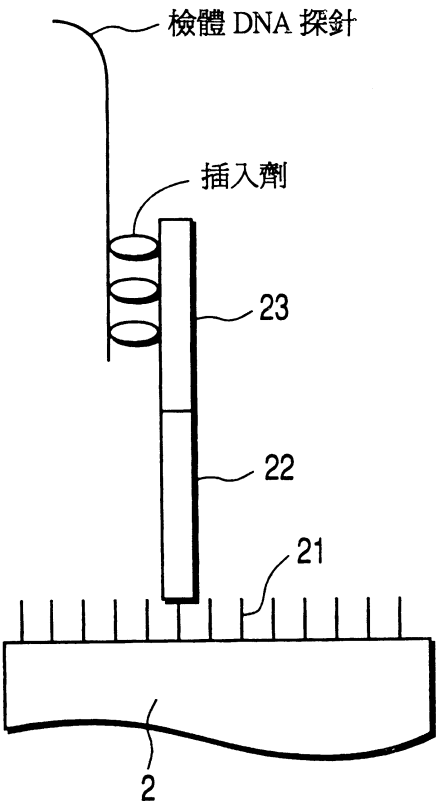
訂

線

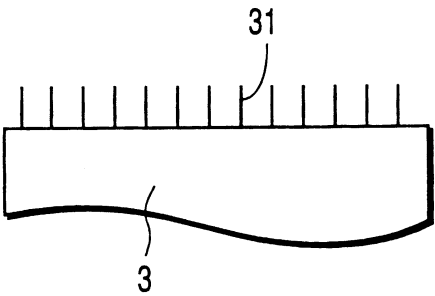


第 1 圖

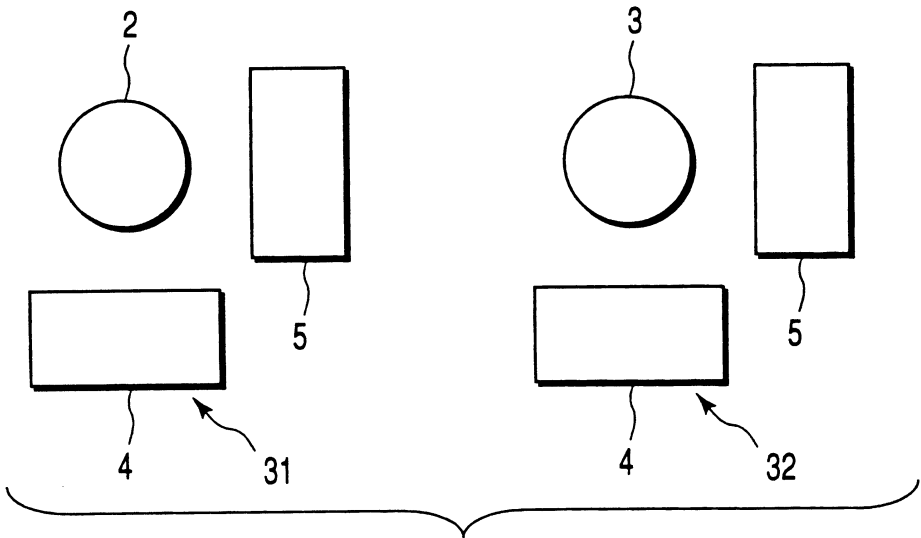
公告本



第 2A 圖

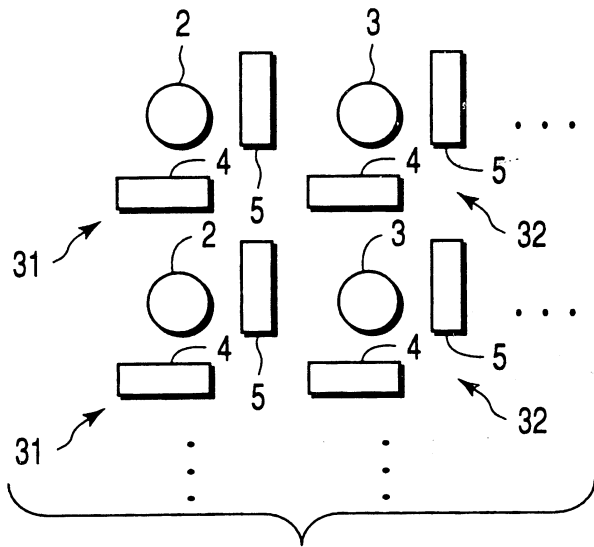


第 2B 圖

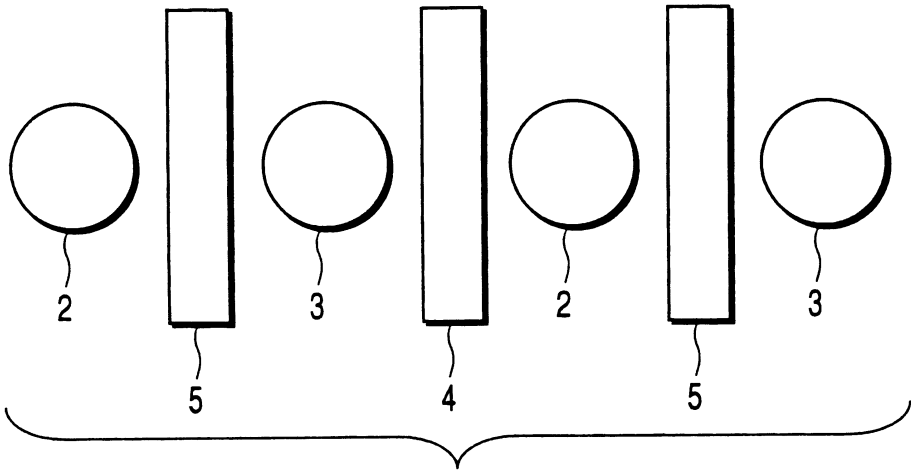


第 3 圖

公告本

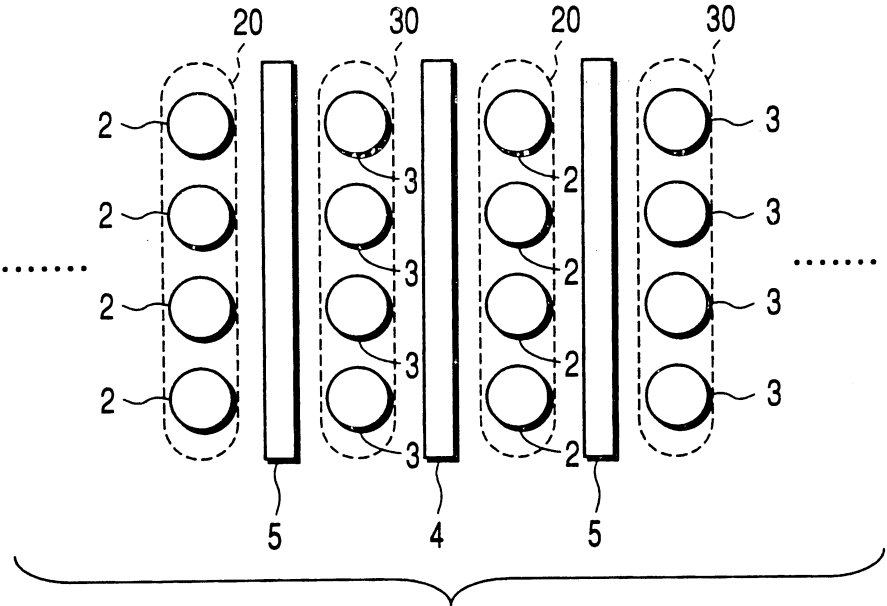


第 4 圖

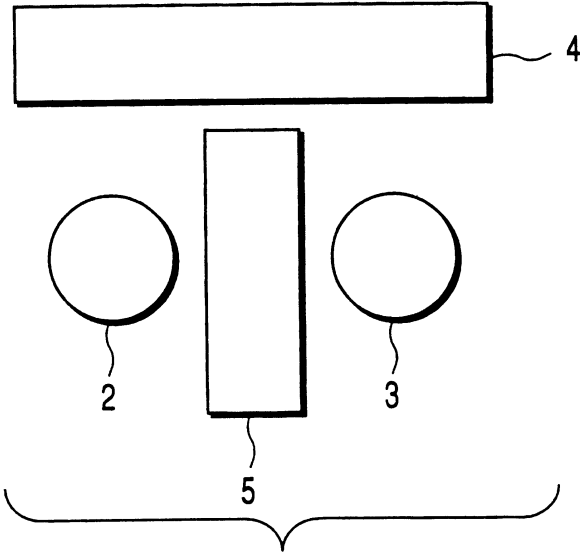


第 5 圖

公告本

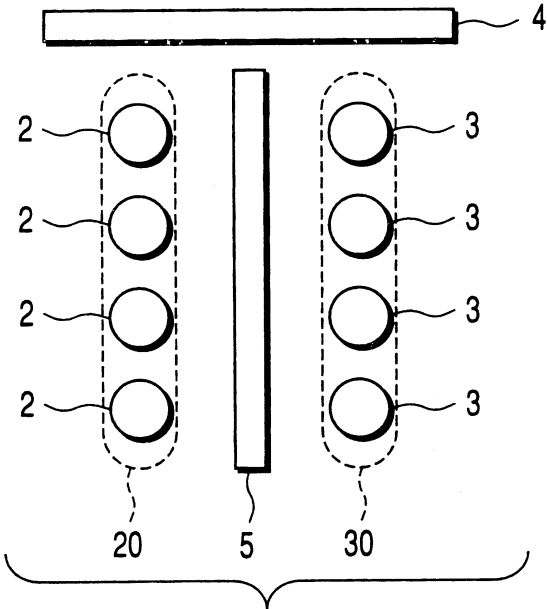


第 6 圖

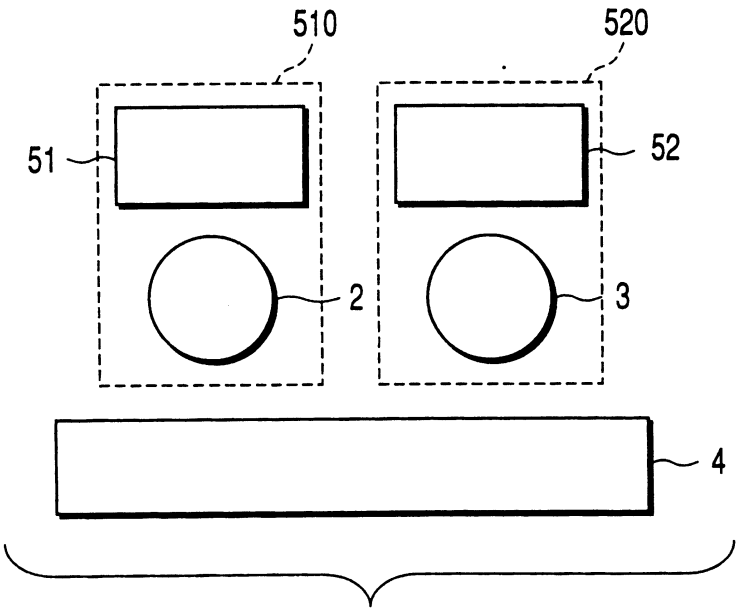


第 7 圖

公告本

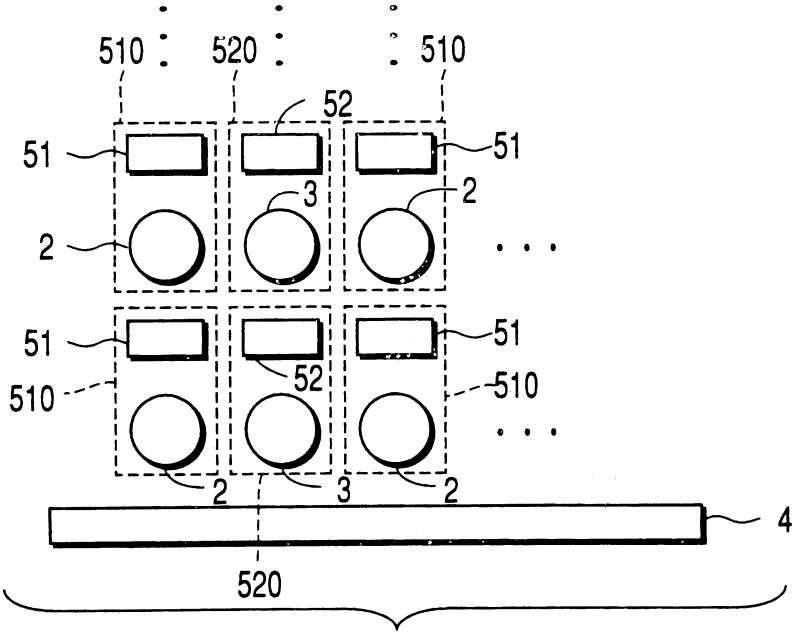


第 8 圖

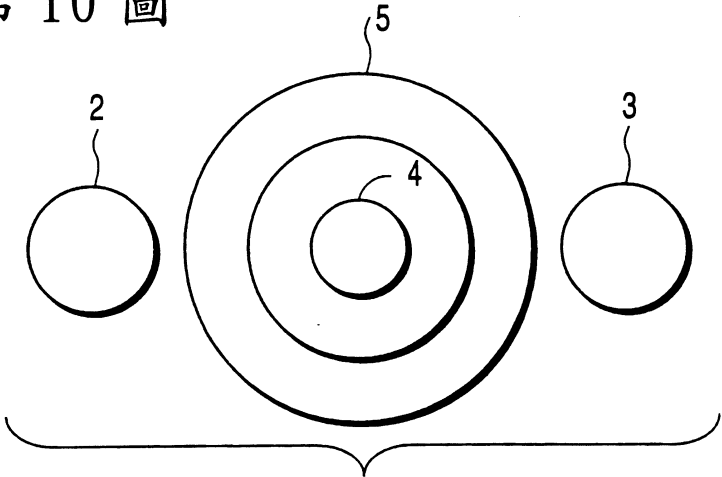


第 9 圖

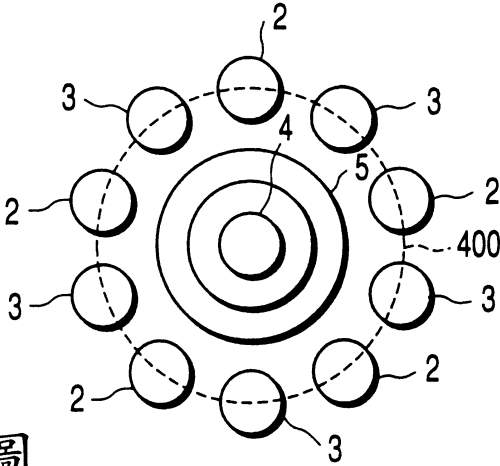
公告本



第 10 圖

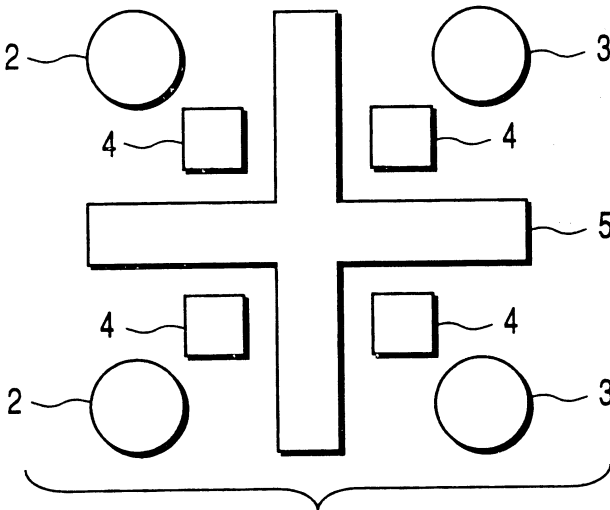


第 11 圖

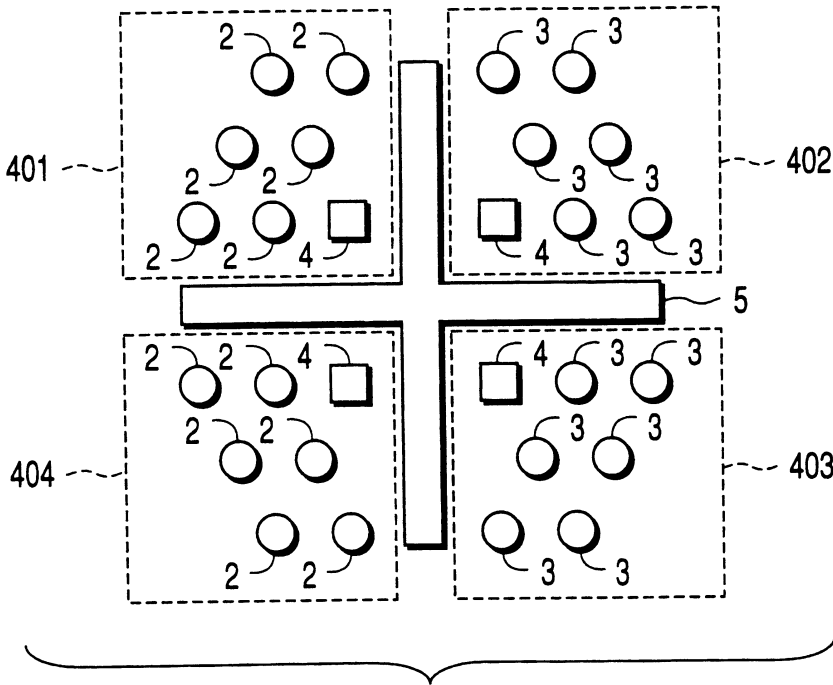


第 12 圖

公告本

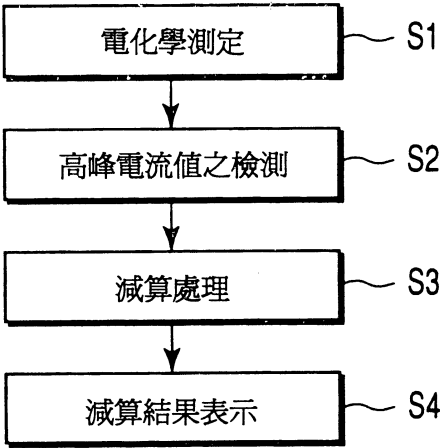


第 13 圖

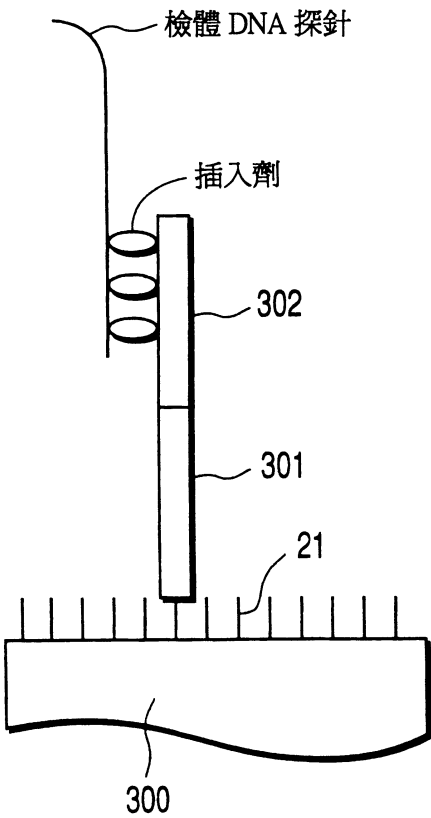


第 14 圖

公告本

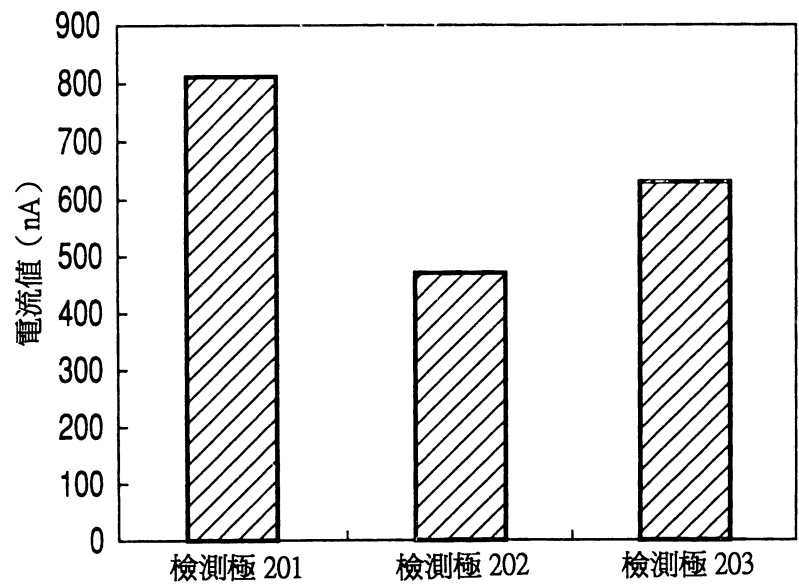


第 15 圖

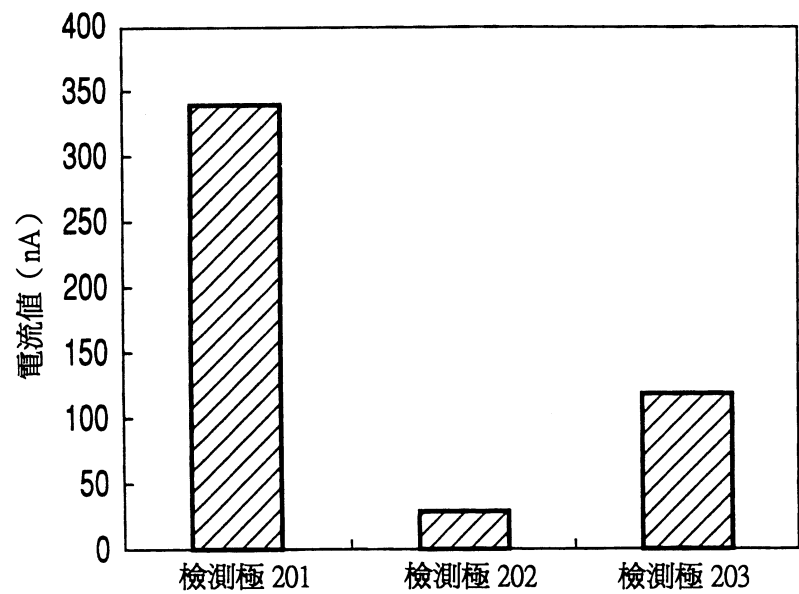


第 16 圖

公告本

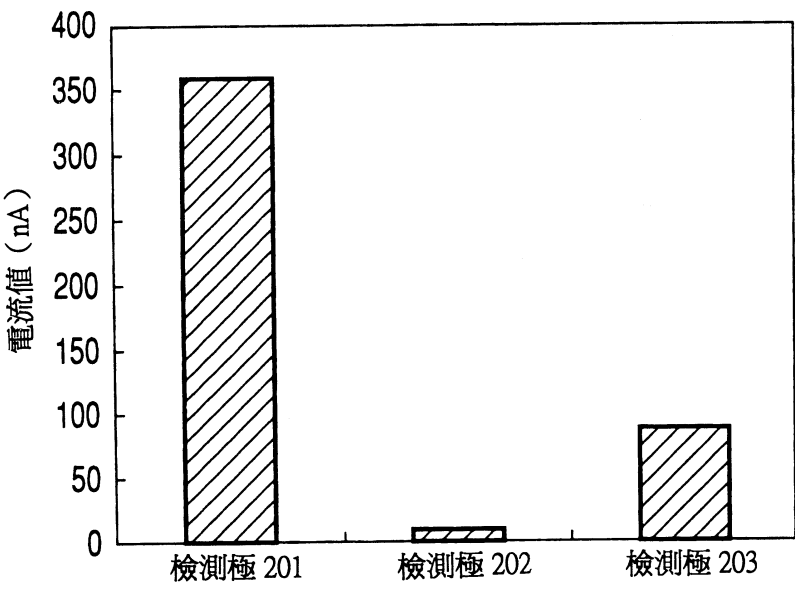


第 17 圖

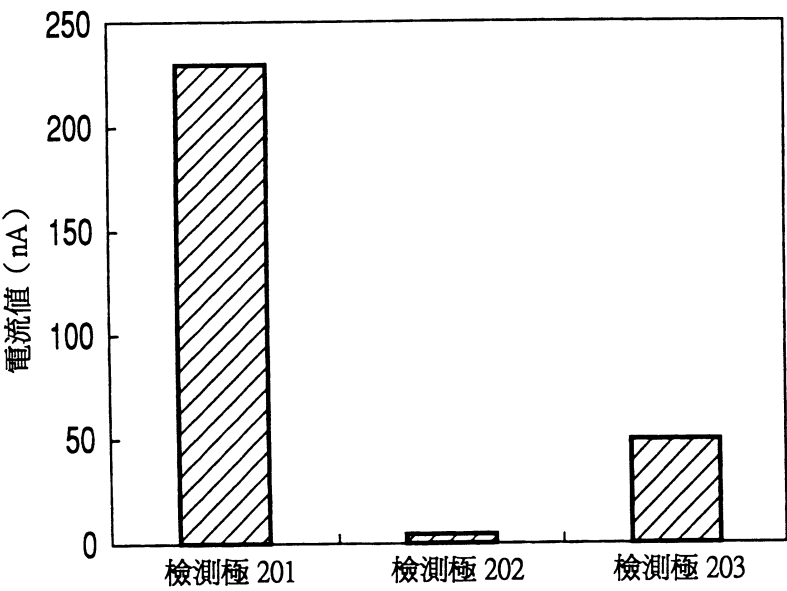


第 18 圖

公告本

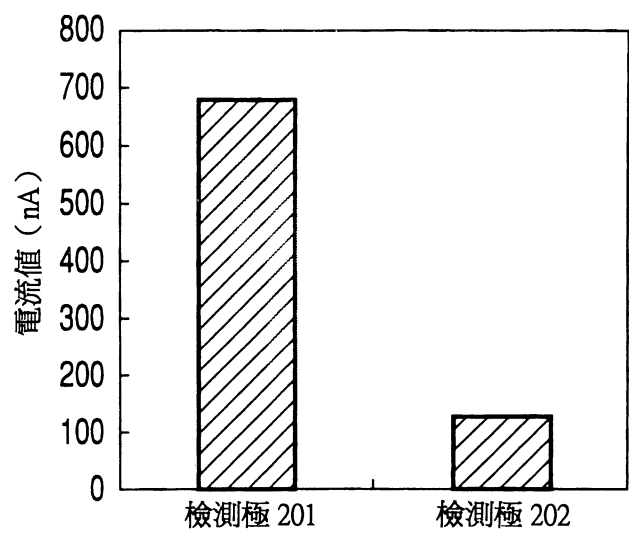


第 19 圖

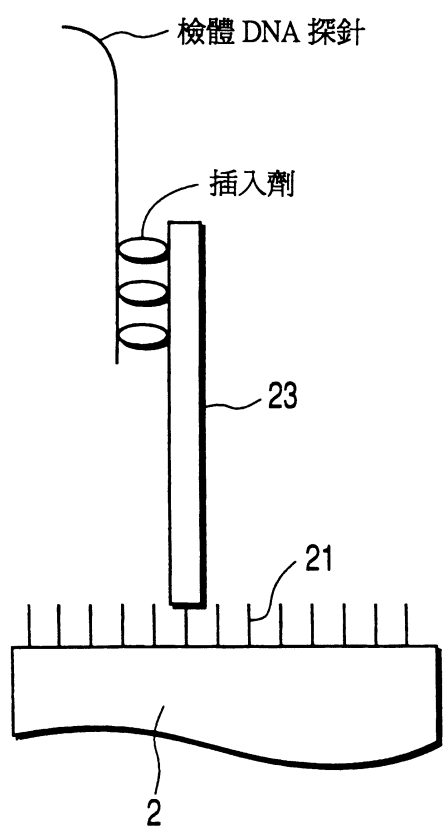


第 20 圖

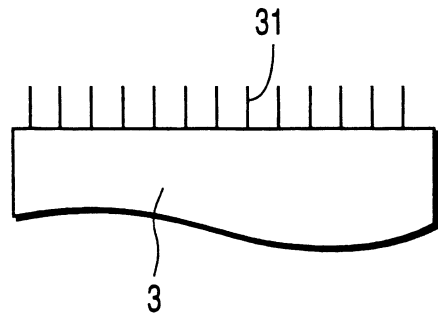
公告本



第 21 圖



第 22A 圖



第 22B 圖