

發明專利說明書 200401893

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：92113369

※申請日期：92年05月16日

※IPC分類：G01N33/50

壹、發明名稱：

(中) 生物學上之鑑定方法、生物學上鑑定裝置及生物學上鑑定基板

(外) バイオアッセイ方法、バイオアッセイ装置及びバイオアッセイ基板

貳、申請人：(共 1 人)

1. 姓名：(中) 新力股份有限公司
(外) ソニー株式会社
代表人：(中) 1.安藤國威
(外) _____
地 址：(中) 日本國東京都品川区北品川六丁目七番三五號
(外) _____
國籍：(中英) 日本 JAPAN

參、發明人：(共 2 人)

1. 姓名：(中) 真峯隆義
(外) 真峯隆義
地 址：(中) 日本國東京都品川区北品川六丁目七番三五號新力股份有限公司內
(外) 日本国東京都品川区北品川6丁目7番35号ソニー株式会社內

2. 姓名：(中) 山本拓郎
(外) 山本拓郎
地 址：(中) 日本國東京都品川区北品川六丁目七番三五號新力股份有限公司內
(外) 日本国東京都品川区北品川6丁目7番35号ソニー株式会社內

肆、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家(地區)申請專利 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家(地區)；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 日本 ; 2002/05/21 ; 2002-146904 有主張優先權

2. 日本 ; 2002/05/22 ; 2002-147301 有主張優先權

發明專利說明書 200401893

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：92113369

※申請日期：92年05月16日

※IPC分類：G01N33/50

壹、發明名稱：

(中) 生物學上之鑑定方法、生物學上鑑定裝置及生物學上鑑定基板

(外) バイオアッセイ方法、バイオアッセイ装置及びバイオアッセイ基板

貳、申請人：(共 1 人)

1. 姓名：(中) 新力股份有限公司
(外) ソニー株式会社
代表人：(中) 1.安藤國威
(外) _____
地 址：(中) 日本國東京都品川区北品川六丁目七番三五號
(外) _____
國籍：(中英) 日本 JAPAN

參、發明人：(共 2 人)

1. 姓名：(中) 真峯隆義
(外) 真峯隆義
地 址：(中) 日本國東京都品川区北品川六丁目七番三五號新力股份有限公司內
(外) 日本国東京都品川区北品川6丁目7番35号ソニー株式会社內

2. 姓名：(中) 山本拓郎
(外) 山本拓郎
地 址：(中) 日本國東京都品川区北品川六丁目七番三五號新力股份有限公司內
(外) 日本国東京都品川区北品川6丁目7番35号ソニー株式会社內

肆、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家(地區)申請專利 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家(地區)；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 日本 ; 2002/05/21 ; 2002-146904 有主張優先權

2. 日本 ; 2002/05/22 ; 2002-147301 有主張優先權

(1)

玖、發明說明

【發明所屬技術領域】

本發明係關於於生物訊息科學領域中特別有用的生物學上之鑑定方法、生物學上之鑑定裝置以及生物學上之鑑定用基板。

【先前技術】

本發明的主要先前技術如下說明。

現今經由微陣列技術所定的 DNA 被微細序列，所謂的 DNA 晶片或 DNA 微陣列（以下，總稱「DNA 晶片」）之生物學上之鑑定用的集成基板，可利用於基因變異解析、SNPs（單核酸多變型）分析、基因表現頻率解析等，開始廣泛活用於基因組藥劑、臨床診斷、藥理基因體學、法醫學等其他領域中。

該 DNA 晶片因玻璃基板或矽基板上集成多種且多數的 DNA 寡聚鏈或 cDNA（complementary DNA）等，故雜交等分子間相互反應之網羅性解析成為可能即其特徵。

若要簡潔說明 DNA 晶片之解析方法的一例，對於固體化於玻璃基板或矽基板上之 DNA 探針而言，由細胞、組織等萃取之 mRNA 藉由逆轉錄 PCR 反應等插入探針 dNTP 而進行 PCR 增幅，前述基板上進行雜交，以所定的檢測器進行螢光測定之方法。

其中，DNA 晶片可分為 2 種類型。第 1 類型為應用半導體曝光技術之光石刻技術，所定基板上直接合成寡核

(2)

昔酸者，有美國 Affymetrix 公司作為代表（例如參照美國專利第 5445934 號公報）。此種晶片的集成度高，但基板上的 DNA 合成卻有極限，僅為數十個鹼基程度之長度。

第 2 類型又稱為「史丹福方式」，使用前端分割之針，將預先準備的 DNA 分注且固定化於基板上而製造者（例如參照美國專利第 5807522 號公報）。此種晶片雖集成度比前者低，但可固定 1kb 程度的 DNA 片段為其優點。

又，現今稱為含有蛋白質晶片之生物學上之鑑定晶片，設於薄平板上的微小檢測表面部位上固定化所定的檢測用物質，對於該檢測用物質，含有標的物質的溶液通入微量水，兩物質的相互反應使用表面薄膜共振原理或水晶振盪子等原理進行觀察及分析的技術正進展，成為抗體抗原反應或賀爾蒙反應等物質間相互反應分析之有用技術。

然而，上述過去的 DNA 晶片技術或生物學上之鑑定技術，因二次元基板之狹小檢測部上固定化 DNA 探針等檢測用核苷酸鏈或蛋白質等，而使雜交反應或抗原抗體反應等物質間相互反應作用之技術，反應生成物的空間性自由度受到限定，又反應時可能產生立體障礙之不適當反應條件下，進行專以反應生成物的布朗運動為基礎之相互反應作用的結構者。因此，過去的 DNA 晶片技術或生物學上之鑑定技術的相互反應作用效率較差，反應時間過長成為技術上的問題。

又，既有的 DNA 晶片等，該試料溶液僅滴入基板上

(3)

所定之點

位置（檢測部），而完全未討論到含於該試料溶液的標的物質，與固定於前述點位置狀態之檢測物質的相對位置的決定方法。

其中，本發明為提供一種控制雜交等物質間相互反應作用所進行的反應區域之電場形成，藉由進行檢測用物質與標的物質間的相對位置決定或物質結構之調整，可提高相互反應作用之效率的生物學上之鑑定方法、生物學上之鑑定裝置及適用於這些生物學上之鑑定方法、生物學上之鑑定裝置的生物學上之鑑定基板為目的。

【發明內容】

欲解決上述課題，首先本案提供下述的「生物學上之鑑定方法」。且，本案的「生物學上之鑑定」之廣義表示以雜交等其他物質間的相互反應為準之生化學分析。

有關本發明的「生物學上之鑑定方法」為至少具備，提供施予表面處理使其可固定檢測用物質之檢測表面、與固定於前述檢測表面之狀態的檢測用物質、與標的物質的相互作用之場所的反應區域、與前述反應區域內產生電位差，於該反應區域內形成電場之電場形成方法的檢測部中，檢測物質間相互反應作用之方法作為前提的方法，其至少含有藉由前述電場形成方法的電場形成於所定時間可開／關之步驟的方法。

於前述反應區域所形成的電場其主要為可發揮，經由

(4)

(1) 核苷酸鏈等檢測用物質、伸長標的物質的作用、(2) 與檢測物質分離存在之標的物質沿著電力線前後方向移動之作用、(3) 讀取檢測用物質與標的物質之相互反應所得的反應生成物(檢測用物質與標的物質之結合體)之高次結構，與經螢光標識的標的物質或前述反應生成物進行特異結合之螢光 inter calator 所發出螢光後，可高精度地調整結構的作用等。

即，對於檢測部的反應區域，較適的所定時間點下，藉由形成所望的電場(開)、或無形成電場(關)，可發揮上述(1)~(3)的作用。

較具體為，藉由高頻率高電壓的外加可得到上述(1)的作用，檢測用物質與標的物質較易反應之結構、例如可調整成核苷酸鏈的鹼基序列成無重疊的直鏈狀結構(伸長結構)。

繼續，藉由外加矩形波電壓(脈衝狀直流電壓)，較詳細而言，藉由交互外加矩形波電壓(即，+ / -)，可得到上述(2)的作用，反應區域中游離存在的標的物質，與固定於檢測表面狀態之檢測用物質接近，經由此因可提高反應效率(反應機會)，故可縮短反應時間。

因此，檢測用階段中，亦藉由外加高頻率高電壓於反應區域中可得到(3)的作用，由存在於反應區域的反應生成物的螢光等經光學方法等之檢測方法可正確地檢測出。

其中，欲使檢測用物質與標的物質的雜交等之相互作

(5)

用可確實進行，推測於可進行物質布朗運動之反應區域中形成為佳。其中本發明的一連串電場形成步驟中，積極設置前述反應區域中未形成電場之時間點。即，藉由接續前述矩形波電壓關後設置矩形波電壓關時間點，可促進物質間的相互作用。

其中，有關本發明的「生物學上之鑑定方法」中，檢測用物質及標的物質的種類並無特別限定。又，「標的物質」為含有賦予及不賦予螢光標識以外的標識者雙方者。「檢測用物質」為廣泛地包含直接於檢測表面上或介由介質物間接固定化，可發揮與經螢光物質等標識之標的物質進行特異性相互反應作用之低分子、高分子及活體物質等，並非狹隘定義。

所謂「檢測表面」為表示可固定化核苷酸鏈等末端之施予較適表面處理的表面部位。例如，藉由抗生蛋白鏈菌素進行表面處理時，成為適合經生物素化的核苷酸鏈之固定化的檢測表面。

本方法若符合本發明的目的、效果之範圍則適用於所有蛋白質-蛋白質間、核苷酸鏈-核苷酸鏈間（含有 DNA-DNA、DNA-RNA 的雙方）、蛋白質-核苷酸鏈（含雙鏈）間及其他高分子間的相互反應、高分子與低分子的相互反應、低分子間的相互反應。

作為一例子，前述檢測用物質及前述標的物質為核苷酸鏈，前述相互反應作用為雜交作用時，既使於狹小的反應區域（點區域）亦可提供一種可確實地提高雜交效率，

(6)

而可縮短時間、且可高精確地讀取 DNA 晶片或微陣列之新方法。

其中，上述反應區域的物質間相互反應作用作為雜交時的較佳生物學上之鑑定方法時，其含有 (a) 使末端部固定於前述檢測表面的狀態之檢測用核苷酸鏈伸長之電場形成、與 (b) 前述步驟後於前述反應區域添加標的核苷酸鏈之步驟、與 (c) 前述步驟後於前述反應區域產生電位差，反應區域中的檢測用核苷酸鏈與標的核苷酸鏈成相對性移動之步驟、與 (d) 前述步驟後外加呈關的狀態下進行雜交的步驟之方法。以下對 (a) ~ (d) 的各步驟做具體說明。

其中所謂本案的「核苷酸鏈」為嘌呤或嘧啶鹼基與糖成苷鍵結之核苷酸的磷酸酯的聚合物，其廣泛包含含有 DNA 探針的寡核苷酸、聚核苷酸、嘌呤核苷酸與嘧啶核苷酸聚合的 DNA (全長或其片段)、經逆轉錄所得之 cDNA (cDNA 探針)、RNA 等。

檢測表面上末端部被固定之檢測用核苷酸鏈 (單股) 並無限定為直鏈狀的情況，故經由上述 (a) 的步驟，檢測用核苷酸鏈沿著電力線，伸長成直鏈狀。藉此會顯示對反應區域的檢測用核苷酸鏈之鹼基序列，形成與互補鹼基序列的氫鍵反應較易進行之狀況。

更詳細而言，具備磷酸離子等核苷酸鏈之負電荷與離子化的氫原子之正電荷所構成的多數極化矢量所成之核苷酸鏈經電場的外加而伸長，因此鹼基彼此間不會產生重疊

(7)

，結果無立體障礙，與附近的標的核苷酸之雜交反應可順利進行。

若詳述核苷酸鏈會伸長或移動之原理，可推測此為藉由核苷酸鏈的骨架之磷酸離子（負電荷）與該周邊之水成離子化的氫原子（正電荷）而形成離子雲團，這些負電荷及正電荷所產生的極化矢量（偶極子），因高頻率高電壓的外加而使全體向著同一方向，其結果可伸長核苷酸鏈。另外，若外加會集中於電力線一部份的不均勻電場時，核苷酸鏈會向著電力線集中的部位移動（請參照 Seiichi Suzuki, Takeshi Yamanashi, Shin-ichi Tazawa, Osamu Kurosawa and Washizu: “Quantitative analysis on electrostatic orientation of DNA in stationary AC electric field using fluorescence anisotropy”, IEEE Transaction on Industrial Applications, Vol. 34, No.1, P75-83(1998)）。

繼續，前述（a）步驟後，電壓外加維持開（on）的狀態或電壓外加成關（off）的狀態下，施行反應區域的液相中添加含有標的核苷酸鏈的試料溶液之（b）步驟。

繼該（b）步驟後，反應區域形成電場，施行使反應區域中的檢測用核苷酸鏈與標的核苷酸鏈進行相對性移動之上述（c）步驟，形成較易進行雜交的反應環境。所謂（c）步驟為藉由反應區域上形成電場，可大大提高過去僅以布朗運動為準的兩核苷酸鏈間之反應機率，故可提高反應效率，提升檢測精度。

其次，於（d）步驟中，前述（c）步驟終了後，形成

(8)

關閉 (off) 外加的狀態，使其可進行以布朗運動為準的雜交。使該 (d) 步驟中形成關閉 (off) 外加的狀態之理由為，因雜交為互補鹼基對間僅為氫鍵之反應。

其次，本發明中作為適合實施上述雜交方法之設備，提供具備以下結構的「生物學上之鑑定裝置」。

即，有關本發明的生物學上之鑑定裝置為使用至少具備，提供施予表面處理使其可固定檢測用物質之檢測表面、與固定於前述檢測表面之狀態的檢測用物質、與標的物質的相互作用之場所的反應區域、與前述反應區域內產生電位差，於該反應區域內可形成電場之同時，前述電場形成於所定時間可開／關之電場形成方法之檢測部。

前述「檢測部」為必須由至少 3 個檢測表面、反應區域與電場形成方法所構成，此以外的構成、結構而言並無特別限定。例如，由周邊劃分的微小溝 (cell) 結構或洞穴結構等形成於基板上，這些結構部分設有前述必須構成，亦可作為檢測部。基板上的檢測部數目可由目的、用途而決定，基板的型態可適宜選擇決定矩形狀、圓盤狀或其他平板狀的型態。

且，本發明中作為適合實施上述雜交方法之裝置，提供具備如下結構之「生物學上之鑑定基板」。

有關本發明的「生物學上之鑑定用基板」為設有可讀取光學記錄訊息之圓盤基板上，至少具備 (1) 施予可固定檢測用核苷酸鏈末端部位之表面處理的檢測表面、 (2) 形成可伸長固定於前述檢測表面狀態之檢測用核苷酸鏈

(9)

的電場之正負極、(3)成爲前述檢測用核苷酸鏈與標的核苷酸鏈之間的雜交反應之場所的反應區域，之「檢測部」。

具有該「檢測部」的生物學上之鑑定基板上，固定於檢測表面的檢測用核苷酸賦予電場，可使該核苷酸鏈成直鏈伸長的同時，將含有標的核苷酸鏈的樣品溶液正確滴入檢測部的前述反應區域中，可進行檢測用核苷酸鏈與標的核苷酸鏈間的雜交反應。其結果，可得到雜交反應可於短時間內有效率地進行之有利效果。

前述效果如上所述，具備磷酸離子等核苷酸鏈之負電荷與離子化的氫原子之正電荷所構成的多數極化矢量所成之核苷酸鏈經電場的外加而伸長，因此鹼基彼此間不會產生重疊，結果反應時無立體障礙，與附近的標的核苷酸之雜交反應可順利進行而達成。

其中核苷酸鏈會伸長或移動之原理若再度說明爲，可推測此爲藉由核苷酸鏈的骨架之磷酸離子（負電荷）與該周邊之水成離子化的氫原子（正電荷）而形成離子雲團，這些負電荷及正電荷所產生的極化矢量（偶極子），因高頻率高電壓的外加而使全體向著同一方向，其結果可伸長核苷酸鏈。另外，若外加會集中於電力線一部份的不均勻電場時，核苷酸鏈會向著電力線集中的部位移動。

其中，若使前述檢測表面上集中電力線而外加電場時，其結果經電場而伸長處理（前述）的核苷酸鏈會向著該檢測表面移動，該末端部位會於檢測表面上起作用而可將

(10)

檢測用核苷酸鏈確實固定於檢測表面。

「反應區域」為，可提供液相中的雜交反應場所之經劃分區域或空間，且因上述正負電極間因產生電位差，而於液相中形成電場的區域。

且，該反應區域中，除單股核苷酸鏈間的相互反應，即雜交外，由檢測用核苷酸鏈形成所望的雙股核苷酸，進行該雙股核苷酸與（或蛋白質）之相互反應、酵素應答反應之外，亦可進行其他分子間的相互反應。例如使用前述雙股核苷酸時，可分析轉錄因子的賀爾蒙受體等受體分子與應答序列 DNA 部分的鍵結等。

其次，有關本發明的生物學上之鑑定用基板上，將上述「檢測部」作為具備一壁面形成檢測表面之溝（cell）結構的溝檢測部，可採用複數個該溝檢測部裝設於圓盤狀基板式的型態。且，所謂「溝檢測部」為具備與周邊基板區域區分之小室狀反應區域的部位者。

該「溝檢測部」雖可裝置於基板上的適當位置，但若排列裝設成俯視放射狀時，可有效地利用基板上的空間，故可提高訊息集成密度。即，可提供記錄訊息集成量多之（圓盤狀）DNA 晶片。

又，溝檢測部因區分成不會互相污染，故於溝檢測部單位或經組合的複數溝檢測部單位上固定相異檢測用核苷酸鏈，對每個檢測用核苷酸鏈設定出個別獨立條件下進行雜交反應。

例如，將發病標識基因經組合固定於基板上。藉此使

(11)

用 1 個基板可同時確認多數疾病之表現情況。

又，依據 T_m 或 GC 含有率之相異，可組合將固定化的檢測用核苷酸鏈。藉由此可對應檢測用核苷酸鏈之性質而詳細選擇出可得到高活性雜交反應之緩衝液組成、濃度等反應條件、洗淨條件、滴入樣品溶液濃度等，故可大大減少解析作業中顯示假陽性或假陰性之危險性。

其次，有關本發明的生物學上之鑑定用基板，可採用形成或裝置前述檢測部的反應區域，於圓盤狀基板上經延設成放射狀之條溝內，該條溝的內壁面上設置前述檢測表面之構成。

且，所謂形成於基板上的「條溝」，意味著延設成筋狀之細長微洞穴結構，而具備該條溝的生物學上之鑑定用基板所屬領域之一為圓盤狀微洞穴。以下將反應區域設置於條溝內所構成之檢測部，與上述「溝檢測部」簡稱為「條溝檢測部」。

採用該「條溝檢測部」時，可利用毛管現象之輸送液體、或藉由圓盤狀基板以所定方向轉動產生的離心力之輸送液方法。例如樣品液體或反應後除去未與活性部位結合之多餘標的物質之洗淨液等，由基板中心區域於條溝內（即反應區域），可順利且確實地輸送液體。

且，條溝檢測部的情況亦於前述條溝單位或經組合的複數條溝單位上可固定相異檢測用核苷酸鏈。

有關上述說明的生物學上之鑑定用基板，具備提供前述檢測表面部位的位置訊息與轉動同期訊息之手段時，依

(12)

據前述位置訊息與轉動同期訊息，可將含有檢測用核苷酸之溶液及含有標的核苷酸溶液，於所定反應區域正確追蹤而滴入。

前述手段可藉由設於前述基板上的搖擺 (wobbling) 或位址凹坑者完成。且，所謂「搖擺 (wobbling)」為，將磁碟片上的物理性地址 (位址) 之訊息預先記錄於磁碟片上時，記錄依使用者數據之溝 (導向溝) 對軌道 (track) 而言僅呈左右蛇行。一般對於比跟蹤伺服區高的頻率，進行僅具有頻率偏向 (Deviation) 的 FM 轉調，正弦波轉調信號振幅以溝半徑方向變位而刻於基板上。

如上述說明的設於生物學上之鑑定用基板上的上述反應區域而言，室溫與反應最適溫度之間，可填充可引起凝膠、溶膠的可逆相變化物質 (稱為「相變化物質」)。作為相變化物質的一例子可舉出瓊膠脂。

該手段中，高溫下將前述相變化物質成溶膠化，該狀態下外加電壓，排列 DNA 等核苷酸鏈後，使溫度下降成凝膠化，再繼續進行雜交時，可實行反應至最適溫度條件下溶膠化的步驟，雜交時僅將前述相變化物質保持於凝膠狀態，可使 DNA 等核苷酸鏈於伸長狀態下進行雜交而佳。且，前述相變化物質呈凝膠化狀態時，含有標的核苷酸鏈的試料溶液滴入檢測部時，因恐有雜交無法順利進行的顧慮，故與電泳時相同，亦可先預先形成縱方向的溝，在於該溝中滴入試料溶液。

本發明中，標的核苷酸鏈可採用以螢光色素標識的手

(13)

段，或使用 intercalator 的手段中任一。「intercalator」為，使檢測用核苷酸鏈與標的核苷酸鏈的鹼基間氫鍵中可插入的狀況下，插入經雜交的雙股核苷酸鏈。藉此，長波長側的螢光波長經位移，且螢光強度與雙股核苷酸鏈所插入的 intercalator 量之間有著相關關係。該相關關係為準，可進行定量檢測。如上述本發明為提供有關 DNA 晶片或生物學上之鑑定晶片的新技術而具有技術上意義。

又，本發明為可利用於基因變異解析、SNPs（單核苷酸多變型）分析、基因表現頻率解析等新穎生物學上之鑑定用基板，可提供於基因組藥劑、臨床診斷、藥理基因體學、法醫學等其他關連產業界上而具有技術意義。

【實施方式】

以下依據附件的圖，對本發明的較適實施型態作說明。

第 1 圖（A）～（F）為說明有關本發明生物學上之鑑定方法的較適步驟、及有關本發明生物學上之鑑定裝置的較適實施型態的流程圖、第 2 圖為說明前述方法或前述裝置中所實施的電壓外加開／關步驟之一實施例的波形圖。

且，以下對於本發明而言，檢測用物質與標的物質雙方為單股的核苷酸鏈，相互反應作用以雜交的情況作代表例說明。且，以說明作為根據，檢測用物質與標的物質並未受到核苷酸鏈的限定，又，本發明的相互反應作用亦未

(14)

僅限定於雜交。

首先，有關本發明的生物學上之鑑定方法或裝置，第 1 圖中，反應區域 R 為提供，欲使符號 D 所表示的檢測用物質可固定而施予表面處理的檢測表面 S、與固定於該檢測表面 S 狀態之檢測用物質 D、與經添加的標的物質 T 之間的相互反應作用場所。該反應區域 R 內產生電位差，使該反應區域 R 內產生電位差的電場形成手段 E。該 E 為利用至少具備產生功能的正電極 E1、負電極 E2 之檢測部 1。且符號 2 表示具備前述檢測部 1 的基板之一部分，符號 V 表示通電正電極 E1、負電極 E2 之電源。

第 1 圖 (A) 簡潔表示，對於前述檢測表面 S，單股的檢測用核苷酸鏈 (例如 DNA 探針) D1 之末端部位經固定的狀態。該狀態中，檢測用核苷酸鏈 D1 的高次結構並非直鏈狀，例如第 1 圖 (A) 中鏈會如纏繞而成重疊狀態為多。因此，所有鹼基序列不一定皆出現於反應區域 R 中，故此為難得到與後來添加於反應區域 R 的標的核苷酸鏈 T 的高效率雜交之狀態。

其中，本發明中正電極 E1 與負電極 E2 之間的反應區域 R 之液相 (鹼溶液等) 中，外加高頻率高電壓，使反應區域 R 中產生電位差，形成電場。該電場為可發揮檢測用核苷酸鏈 E1 沿著電場伸長成直鏈狀 (直線狀) 之作用。其結果，檢測用核苷酸鏈 D1 成伸長狀態 (以符號 D2 表示)，檢測用核苷酸鏈 D1 的鹼基序列露出於液相中 (參照第 1 圖 (B))。

(15)

其次，一旦高頻率高電壓的外加成關的狀態、或成開的狀態時，由特定結構的噴嘴 3 可正確地將含有標的物質 T（標的核苷酸鏈 T1）之試料溶液添加於反應區域 R 中。標的核苷酸鏈 T1 為如添加時第 1 圖（C）所示，雖不一定為直鏈狀，但經高頻率電壓外加的液相中，如第 1 圖（D）所示可伸長成直鏈狀的狀態（符號 T2 所表示），與同樣成為直鏈狀之檢測用核苷酸鏈 D2 較易形成互補鏈之狀態。

其次，藉由數次重複進行矩形波電壓之外加開／關，使兩核苷酸鏈 D2、T2 成階段式地接近，或前後移動標的核苷酸鏈，更調整反應的時機。

關矩形波電壓之外加的理由為，直鏈狀的標的核苷酸鏈 T2 與直鏈狀檢測用核苷酸鏈 D2 之間的互補鏈形成反應，即雜交僅由布朗運動來進行。且，第 1 圖（E）為簡單表示，兩鏈 D2、T2 的互補性鹼基序列部分成氫鍵結，成為雙股狀態的反應生成物（D2 + T2）。

且，本發明中，以檢測用核苷酸鏈 D1（D2）與具有互補性鹼基序列的標的核苷酸鏈 T1（T2）之檢測為目的外，利用上述步驟可製作出作為目的的雙股核苷酸鏈（DNA），轉錄因子等特定蛋白質與前述雙股核苷酸鏈（DNA）中的特定應答序列部分之相互反應作用的檢測方法，且利用該方法可展開內分泌攪亂物質之探索、檢定等。

第 1 圖（F）為以光學性手段 4 為準，表示檢測、讀取經標識（例如螢光標識）的標的核苷酸鏈 T2 之步驟，

(16)

本發明的標識方法並未被限定呈狹隘範圍內。例如，可使用螢光 intercalator。螢光 intercalator 為，使檢測用核苷酸鏈 D 與標的核苷酸鏈 T 的鹼基間氫鍵中可插入的狀況下，插入經雜交的雙股核苷酸鏈。藉此，長波長側的螢光波長經位移，且螢光強度與雙股核苷酸鏈所插入的螢光 intercalator 量之間有著相關關係。該相關關係為準，可進行定量檢測。作為使用於螢光 intercalator 的螢光色素，可考慮 POPO-1 或 TOTO-3 等。

檢測階段中，藉由外加高頻率高電壓，經調整反應區域 R 中所形成的反應生成物（雙股核苷酸鏈）之高次結構不會產生重疊之結構，可正確地以光學手段 4 檢測出。

繼續以第 2 圖為準，對外加開／關步驟的一實施例做說明。且該實施例為對應第 1 圖（C）以下的步驟。

〈 a 階段 〉

經由高頻率高電壓的外加所形成的電場下放置核苷酸鏈，使其進行該核苷酸鏈的極化誘導，而伸長核苷酸鏈。其中，該 a 階段中，經由外加高頻率高電壓，可伸長標的核苷酸鏈 T1，同樣地亦伸長檢測用核苷酸鏈 D1（參考第 1 圖（C）、第 1 圖（D）所示狀態）。

且，前述高頻率高電壓為 $1 \times 10^6 \text{ V/m}$ ，約 1MHz 左右為最適條件（參照 Masao Washizu and Osamu Kurosawa; “Electrostatic Manipulation of DNA in Microfabricated Structures”, IEEE Transaction on Industrial Application

(17)

Vol. 26, No.26, p.1165-1172(1990)。

〈 b 階段 〉

兩核苷酸鏈 D2、T2 成相對性地移動，推測接近的時間點，將電壓的外加關 (off) 上，進行僅以布朗運動為準的雜交 (參照第 1 圖 (E) 所示狀態) 。

〈 c 階段 〉

對 + 方向之矩形波電壓的外加打開 (on) ，將原先為未接近狀態的標的核苷酸鏈 T2 ，以庫侖力使其移動，而使其與檢測用核苷酸鏈 D2 的雜交於適當位置 (參照由第 1 圖 (D) 所示狀態移動至第 1 圖 (E) 的狀態) 。

〈 d 階段 〉

再次關掉電壓外加，僅以布朗運動為準進行雜交 (參照第 1 圖 (E) 的狀態) 。

〈 e 階段 〉

其次，打開對 - 方向的矩形波電壓的外加，進行原先為未接近狀態的標的核苷酸鏈 T2 之移動 (參照由第 1 圖 (D) 所示狀態移動至第 1 圖 (E) 的狀態之過程) 。

〈 f 階段 〉

再次關掉電壓外加，僅以布朗運動為準進行雜交 (參

(18)

照第 1 圖 (E) 的狀態) 。

〈 g 階段 〉

其次，打開對 + 方向的高矩形波電壓的外加，進行原先為未接近狀態的標的核苷酸鏈 T2 之移動 (參照由第 1 圖 (D) 所示狀態移動至第 1 圖 (E) 的狀態之過程) 。

〈 h 階段 〉

再次關掉電壓外加，僅以布朗運動為準進行雜交 (參照第 1 圖 (E) 的狀態) 。

〈 i 階段 〉

其次，打開對 - 方向的高矩形波電壓的外加，進行原先為未接近狀態的標的核苷酸鏈 T2 之移動 (參照由第 1 圖 (D) 所示狀態移動至第 1 圖 (E) 的狀態之過程) 。

〈 j 階段 〉

再次關掉電壓外加，僅以布朗運動為準進行雜交 (參照第 1 圖 (E) 的狀態) 。

〈 k 階段 〉

將經雜交的反應生成物之雙股核苷酸鏈 (D2 + T2) ，於高頻率高電壓下伸長，讀取螢光量 (參照第 1 圖 (F)) 。

(19)

且，以上說明的矩形波電壓等外加的開／關（on/off）之步驟，可依所處理的反應生成物的種類來決定、選擇較適步驟、時間點，上述步驟並未受到時間點的限定。又依目的可適當選擇頻率、電壓的大小。

繼續，對本發明所採用的生物學上之鑑定用基板，及與該基板相關的生物學上之鑑定裝置做說明。

第 3 圖為配置多數特定結構的檢測部的生物學上之鑑定用基板的外觀斜視圖、第 4 圖為設於同基板的「檢測部」之較適實施型態放大外觀圖。且，本發明所採用的基板，並未受到圖示型態之限定。

首先，第 3 圖所示的生物學上之鑑定用基板 2（以下簡稱為「基板 2」，係由採用 CD、DVD、MD 等光訊息記錄媒體所使用的圓盤基板（Disc）之基材所形成。即，基板 2 可讀取光學性的記錄訊息。

前述基材可由石英玻璃、聚碳酸酯、聚苯乙基及其他可成形為圓盤狀之合成樹脂，較佳為可射出成形之合成樹脂所形成的圓盤狀。且，可使用便宜的合成樹脂基板，故比過去使用的玻璃晶片相比較，可實現低流動成本。基板 2 的中心有時可形成轉動基板時試用之軸固定孔（未有圖顯示）。

該基板 2 的一邊表面上形成反射膜之厚度 40nm 的鋁蒸鍍層，該層作為反射膜使用。該反射膜為由屈折率 1.5 以上的基盤單體時的表面反射為 4% 以上。該反射膜的上層形成由透明的玻璃或透明樹脂所成的光透過層之膜。

(20)

且，基材為高反射率材料時，基材表面本身即具有作為反射面的功能，故即使無形成前述的反射膜亦無關緊要。僅形成金屬膜等高反射率膜，可感度良好地測出經螢光標識的標的物質之螢光強度。以上說明的基板 2 之材質或層結構，與後述基板 20（參照第 6 圖）相同。

前述光透過層為，由基板 2 的中心周邊區域延伸至俯視放射狀，而設有多數的檢測部 1。第 4 圖為表示放大一溝（cell）檢測部 1 之一的外觀斜視圖。且，有關以下的檢測部 1 的說明，以檢測用物質與標的物質同時為單股的核苷酸鏈時作為代表例，但檢測部 1 的對象反應物質並無限定於此。

其中，檢測部 1 為具備，欲使符號 D 所示檢測用核苷酸鏈之末端部位可固定而施予表面處理的檢測表面 S，與欲形成可伸長預先固定於該檢測表面 S 前述檢測用核苷酸鏈 D 之電場的正電極 E1 及負電極 E2、與可成前述檢測用核苷酸鏈 D 與標的核苷酸鏈 T 之間的雜交反應場所之反應區域 R。其中，反應區域 R 為上述有開口之俯視矩形狀的溝（cell），例如可形成深 $1\ \mu\text{m}$ 、長度 $100\ \mu\text{m}$ 、幅度 $50\ \mu$ 的溝，但不受圖示形狀、尺寸之限定。

檢測表面 S 為形成於負電極 E2 側之反應區域 R 側對面之內壁面部位。該檢測表面 S 為，欲經檢測用核苷酸鏈 D 的末端經偶合反等的化學鍵結而使其固定而施予表面處理。

即，施予檢測表面 S 的表面處理，其適用於可固定

(21)

DNA 探針等檢測用核苷酸鏈 D 之經預先加工的末端部位即可，並無需狹隘限定。例如，經由抗生蛋白鏈菌素施予表面處理之檢測表面 S 時，適用於生物素化的核苷酸鏈末端之固定化。

其中，固定對檢測表面的檢測用核苷酸鏈時之適用方法做說明，反應區域 R 上外加不均勻電場時，由該電場作用所得（反應區域 R 中為游離狀態）檢測用核苷酸鏈，往前述電力線集中的檢測表面 S 部分移動，使該末端部位於檢測表面 S 相衝。負電極 E2 成如第 4 圖所示梳子而適用於該方法的實行。且，第 4 圖的符號 V 為通電正電極 E1，負電極 E2 之電源。

其中，第 4 圖中的符號 4 表示試料溶液 5 滴入時的噴嘴先端部位。噴嘴 4 的結構為，以由基板 2 所提供的位置訊息與轉動同期訊息為準，將含有檢測用核苷酸鏈 D 的試料溶液 5、及含有標的核苷酸鏈 T 之試料溶液 5'，可正確追蹤滴入反應區域 R。

作為滴入手段，可使用適當的噴射塗佈法。其理由為可正確追蹤所定反應區域 R 部位並將微小滴正確地滴入（後述基板 20 亦相同）。

「噴射塗佈法」為可應用噴射塗佈所使用的噴嘴之方法，使用如電力噴射塗佈器由塗佈噴頭於基板噴射出檢測用物質，進而固定的方法。該方法中可為壓電式噴射法、泡沫射出（註冊商標）法，超音波射出法。

壓電式噴射法係為，將脈衝外加於壓電體所產生的變

(22)

位壓力，使液滴飛出的方法。泡沫射出（註冊商標）法為加熱方式，藉由噴嘴中的加熱器加熱產生的氣泡壓力使液滴飛出的方法。噴嘴內設有可加熱的矽基板，控制至約 $300^{\circ}\text{C} / \text{s}$ 生成氣泡並壓出液滴。然而，高溫下暴露液體，故使用於活體物質試料時必須注意。超音波射出法為，將超音波玻璃珠放在液體的自由面上，施予局部高壓力而由該位置釋出小水滴之方法。無須噴嘴且可高速下形成直徑約 $1\ \mu\text{m}$ 的小水滴。

本發明中，作為「噴射塗佈法」，採用「壓電式噴設法」為佳。藉由改變外加的脈衝形狀，可控制液滴（微小水滴）的尺寸，故可提高解析精確度。液滴表面的曲率半徑小時使用較小水滴，液滴的曲率半徑較大時，可增大液滴。又，藉由脈衝急速地往負方向變化，將液滴表面往內側拉伸，使曲率半徑變小。

其中，前述反應領域 R 中所滴下的檢測用核苷酸鏈 D，因大部分以鹼基重疊的狀態下固定於檢測表面 S（參照第 1 圖（A）），與後來滴下的標的核苷酸鏈 T 進行雜交時，產生立體障礙之問題等，使反應效率不佳。

其中，以有關本發明的生物學上之鑑定方法為準，通電設置於檢測部 1 的上述正負電極 E1、E2，藉由反應區域 R 所產生的電位差，反應區域 R 中滯留的液相（鹽溶液）形成電場，得到沿著該電場的電場方向，檢測用核苷酸鏈 D 及標的核苷酸鏈成直鏈狀（直線狀）伸長之作用。

(23)

成直鏈狀的檢測用核苷酸鏈 D 與例如經螢光色素等標識的標的核苷酸鏈 T 之鹼基間氫鍵（互補性鍵結）會使立體障礙等減少，故互補性的鹼基序列彼此間較易接近，可有效率地進行。

即，得到檢測用核苷酸鏈 D 與前述標的核苷酸鏈 T 之雜交反應可有效率地進行之結果。該結果為得到雜交的反應時間縮短，同時讀取時顯示假陽性或假陰性的機率減少之較佳結果。

其中，第 5 圖為放大檢測部 1 的反應區域 R 之檢測表面 S 附近的模型圖。該第 5 圖為表示，檢測表面 S 上備有固定於該末端部位的檢測用核苷酸鏈 D、及與該檢測用核苷酸鏈 D 之鹼基序列有互補性之鹼基序列之標的核苷酸鏈 T 經雜交後，形成雙股狀態之模式。

對反應領域 R（對於後述的反應區域 R' 亦相同），室溫與反應最適溫度之間，可填充會引起凝膠、溶膠的可逆相變化之瓊脂膠等之相變化物質（圖未表示）。該實施型態的優點為，前述相變化物質於高溫下溶膠化前述相變化物質，該狀態下外加電壓排列 DNA 等核苷酸鏈後，降低溫度使其凝膠化，再繼續進行雜交時，可於反應最適溫度條件下進行溶膠化之步驟。又，進行雜交時的前述相變化物質僅保持於凝膠狀態，DNA 等核苷酸鏈可於伸長狀態下進行雜交故較佳。

且，前述相變化物質為凝膠化狀態時，含有標的核苷酸鏈 T 的試料溶液 5' 滴入檢測部 1 時，恐怕有雜交無法

(24)

順利進行的情況，故與電泳的情況相同，於滴下點上預先形成縱方向的溝，將試料溶液滴入該溝即可。

其中，標的核苷酸鏈 T 可以螢光色素標識，或使用 inter calator。inter calator 為檢測用核苷酸鏈 D 與標的核苷酸鏈 T 之鹼基間氫鍵中將雜交後的雙股核苷酸鏈插入。藉由此，長波長側上螢光波長經位移，且螢光強度與插入雙股 DNA 的 inter calator 量間之相關關係為準，可定量檢測。作為 inter calator 所使用的螢光色素，可考慮 POPO-1 或 TOTO-3 等。

藉由此可判定例如，由所定細胞等萃取之試料溶液 5' 中，存在含有已知引起特定疾病時會表現之標識基因的檢測用核苷酸鏈 D，與具有互補性的標的核苷酸鏈之事實，其結果，可預測前述細胞會產生前述疾病。

且，讀取基板訊息，基板 2 上照射激光（例如青色激光）激起各反應區域 R，螢光強度的大小可由檢測器（圖未顯示）檢測出，可判斷檢測用核苷酸鏈 D 與經標識標的核苷酸鏈之間的鍵結反應狀況。最後，對各反應區域 R 的螢光強度於電腦 C 的畫面上分佈表示 A/D 變換後之鍵結反應比率，而成可視化（後述基板 20 亦相同）。

其次，參照第 6 圖對可使用於本發明的基板的第 2 實施例做說明。第 6 圖（A）表示第 2 實施例之基板 20 的俯視圖面，第 6 圖（B）表示第 6 圖（A）中的 X 部放大平面圖。

第 6 圖中符號 20 所顯示的基板為具備各溝檢測部 10

(25)

。該檢測部 10 為，反應區域 R' 為圓盤狀基板上延伸成放射狀而形成條溝狀，形成該條溝的縱方向片側之內壁面 Y 上，以所定間隔裝置具備與上述檢測部 1 的檢測表面 S 相同構成之檢測表面 S'。又，形成檢測用表面 S' 的各部位上，夾著反應區域 R' 而相對設置正負電極 E3、E4（參照第 5 圖（B））。且，條溝檢測部 10 即為凝膠狀的上述檢測部 1 排列於條溝內之結構。

正電極 E3、E3... 可共通電極化，同樣地對於電極 E4、E4... 亦可共通電極化。即，共通電極之正電極 E3 與負電極 E4 中間夾著反應區域 R' 並列對向設置。該構成爲針狀的探針可由正電極 E3 與負電極 E4 的上方壓下而通電。

反應區域 R' 中，各條溝內可形成可形成序列的溝（圖未表示）。該溝內的反應區域中因滴入微小水滴，故幾乎可實現相同水滴容量相同的效果，且可實現重複性良好的螢光強度檢測結果。

又，採用上述構成的條溝檢測部 10 時，利用毛細管現象進行輸送液體，或可利用生成圓盤狀的基板以所定的方法進行轉動而產生的離心力之輸送液體方法。

具體而言，基板 20 的中央部設有液體溜出部 21，該液體溜出部 21 中，注入爲除去試料溶液 5（5'）（參照第 4 圖）或反應後未活性部位鍵結的多餘標的物質之洗淨液體等，藉由轉動基板 20 可由基板中心至條溝內（即，反應區域 R'），順利且確實地輸送液體。

(26)

上述基板 2 的檢測部 1 或設於基板 20 的各溝檢測部 10 之任一情況下，檢測部單位或經組合的複數檢測部單位上可固定相異檢測用物質 D。

其中，若簡潔說明基板 2 (20) 的位置訊息及轉動，基板 2 (20) 的轉動方向形成多數預先經光碟主控步驟所形成的位址凹坑。基板 2 (20) 作為光碟時，滴下檢測位置的反應區域 R (R') 即為使用者資料區域，其他區域則經樣品伺服方式等排列同期凹坑 (pit)，且作為尋軌伺服利用，且其後馬上插入位址部 (磁碟上的地理位置) 而賦予位置訊息。

位址部係由開頭圖案的區段標記開始，放有賦予實際轉動的磁碟之轉動相位之 VFO (variable Frequency Oscillator)、與賦予位址數據之起始位置的位址標記與軌道與區段之號碼的 ID (Identifier) 等。

使用上述構成的基板 2 (20) 進行生物學上之鑑定方法時，使用至少具備以下手段及機構的裝置為佳。即，至少具備保持轉動前述基板 2 (20) 的基板轉動手段、與藉由該基板轉動手段，邊轉動前述基板 2 (20) 邊將含有檢測用核苷酸鏈的溶液 5、與含有標的核苷酸鏈的溶液 5' 對反應區域 R (R')，所定順序，時間點滴下之滴下手段、與欲使該滴下手段 (的噴嘴) 與基板 2 (20) 之間的距離保持一定的聚焦機構、與由基板 2 (20) 提供位置訊息與轉動同期訊息為準，將前述溶液 5，5' 的滴下於基板 2 (20) 的反應區域 R (R') 進行追蹤的追蹤伺服機構之裝置

(27)

(圖未表示)。

且，代替使用上述位址凹坑於軌道上形成搖擺，為使其對應位置具有定時訊息而調節搖擺的蛇行，取得磁碟上的位置訊息進行尋址亦可。同時，因為利用搖擺頻率數成份故可進行尋軌伺服。且，因並用位址凹坑與搖擺而形成，可達成較高尋址及尋軌伺服。

僅採用上述說明的基板 2、20 及使用這些之生物鑑定裝置，即可實施有關上述的本發明生物學上之鑑定方法。

特別為上述生物學上鑑定基板可得到下述特有效果。

即，過去的 DNA 晶片技術，因該 DNA 晶片本身的集成數、集成密度較少，故不能一次鑑定而達成充分的解析量，使用者難以設定檢測用物質的種類與數目、且基板上的分配（分群化）。

又，過去的 DNA 晶片因預先固定於基板表面，作為檢測用使用的核苷酸鏈，並非必須保持直鏈狀、故因立體障礙等使得標的核苷酸鏈與雜交反應的精確度有偏差，反應所需時間拉長。

且， T_m （熔點，melting Temperature）或 GC 含有率無法一致的 DNA 探針可伸展成二次元的平面之基板表面上，排列檢測用物質的結構之過去 DNA 晶片而言，於同一雜交條件、洗淨條件下有著顯示假陽性或假陰性之危險性較高的問題。

與此比較，有關本發明的生物學上之鑑定基板，可得到如下之優良效果。

(28)

(1) 有關本發明的生物學上之鑑定用基板，因可形成多量、多數的檢測部，故訊息的集成量較多。

(2) 固定於檢測部的檢測表面的檢測用核苷酸鏈上加上電場，故可將該核苷酸鏈伸長成直鏈狀下，將含有標的核苷酸鏈的樣品溶液，可正確瞄準檢測部的前述反應區域而滴下，因構成可進行檢測用核苷酸鏈與標的核苷酸鏈之間的雜交反應，故雜交反應可縮短反應時間且有效率下進行。

(3) 檢測部單位或分群化之檢測部單位下，可選擇出最適反應條件等而進行鑑定，可大大減少假陽性、假陰性結果的發生率。因此，前述生物學上之鑑定用基板，可有效率地進行高精度解析，記錄訊息的成本亦便宜。

(4) 有關本發明的生物學上之鑑定用基板，作為DNA晶片或生物學上之鑑定晶片特別有用。又，提供一種具備新穎結構的圓盤狀微通道陣列。作為本基板作為DNA晶片利用時，可利用於基因的變異解析、SNPs（單核酸多變型）分析、基因表現頻率解析等，廣泛活用於基因組藥劑、臨床診斷、藥理基因體學、法醫學等其他領域中。

產業上可利用性

本發明可達到以下特有效果。

(1) 有關本發明的生物學上之鑑定方法或生物學上之鑑定裝置中，經由控制設置於檢測部的反應區域之電場

(29)

形成的時間點，可提高前述反應區域的檢測用物質與標的物質之相互作用反應效率，控制反應的時間點。

(2) 對於 DNA 晶片或生物學上之鑑定晶片為準的生物學上之鑑定方法特別有用，可利用於基因的變異解析、SNPs (單核酸多變型) 分析、基因表現頻率解析等，廣泛活用於基因組藥劑、臨床診斷、藥理基因體學、法醫學等其他領域中，且可利用於抗原抗體反應的檢查、內分泌攪亂物質的檢定等。

【圖式簡單說明】

第 1 圖表示，說明有關本發明生物學上之鑑定方法較適步驟、及有關本發明生物學上之鑑定裝置較適實施型態的流程圖。

第 2 圖表示，說明同生物學上之鑑定方法或裝置的電壓外加開 (on) / 關 (off) 步驟之實施例的波形圖。

第 3 圖表示，有關本發明的較適實施型態之生物學上之鑑定用基板經俯視時的外觀斜視圖。

第 4 圖表示，放大設於基板的其中之一溝 (cell) 檢測部的外觀斜視圖。

第 5 圖表示，放大同溝檢測部的反應區域之檢測表面附近的圖。

第 6 圖表示，有關本發明的較佳其他實施型態之生物學上之鑑定用基板表示圖，(A) 表示基板的俯視平面圖、(B) 為 (A) 圖中的 X 部放大平面圖。

(30)

主要元件對照表

E1	正電極
E2	負電極
D	檢測用物質
S	檢測表面
T	標的物質
R	反應領域
1	溝檢測部
2	基板
3	噴嘴
4	噴嘴先端部
5	試料溶液
5'	試料溶液
10	條溝檢測部
20	基板
21	液體溜出部

伍、中文發明摘要

發明之名稱：生物學上之鑑定方法、生物學上鑑定裝置及生物學上鑑定基板

本發明係關於一種藉由控制進行雜交等物質間相互反應作用的反應區域之電場形成，提高該相互反應作用的效率之生物學上鑑定方法及適用該方法的生物學上鑑定裝置。該裝置至少具備能固定檢測用物質 D 而施予表面處理的檢測表面 S (S')、與提供固定於該檢測表面 S (S') 之狀態的檢測用物質 D 與所添加的標的物質 T 之間的相互反應作用之場所的反應區域 R (R')、與於該反應區域 R (R') 上產生電位差，該反應區域 R (R') 內形成電場之電場形成手段 E 的檢測部 1 (10) 中，檢測出物質間相互反應作用之方法，至少含有藉由該電場形成手段 E 之電場形成，能於所定時間時進行開/關步驟者。

陸、英文發明摘要

發明之名稱：

(1)

拾、申請專利範圍

1.一種生物學上之鑑定方法，其為至少具備可固定檢測用物質而施予表面處理的檢測表面、

提供固定於該檢測表面狀態之檢測用物質、與標的物質的相互反應作用場所之反應區域、

與使該反應區域內產生電位差，於該反應區域內形成電場之電場形成手段

的檢測部中，檢測物質間的相互反應作用之方法，

其特徵為至少含有所定時間點（timing）可開／關（on/off）經該電場形成手段之電場形成的步驟。

2.如申請專利範圍第 1 項的生物學上之鑑定方法，其中該檢測用物質及該標的物質為核苷酸鏈，該相互反應作用為雜交。

3.如申請專利範圍第 2 項的生物學上之鑑定方法，其中含有使末端部位固定於該檢測表面的狀態之檢測用核苷酸鏈延長，而形成電場之步驟、

與該步驟後對該反應區域添加標的核苷酸鏈之步驟、

與該步驟後於該反應區域上形成電場，使反應區域中的檢測用核苷酸鏈與標的核苷酸鏈進行相對性移動之步驟、

與該步驟後關閉外加的狀態下進行雜交的步驟。

4.一種生物學上之鑑定裝置，其特徵為使用至少具備可固定檢測用物質而施予表面處理的檢測表面、

提供固定於該檢測表面狀態之檢測用物質與標的物質

(2)

的相互反應作用場所之反應區域、

與經由使該反應區域內產生電位差，於該反應區域內可形成電場之同時，該電場形成構成可於所定時間開／關經該電場形成之電場形成手段之檢測部。

5.一種生物學上之鑑定用基板，其特徵為可讀取光學上記錄訊息之圓盤狀基板上，

至少設有以下（1）～（3）之檢測部者，

（1）檢測用核苷酸鏈的末端部位可施予固定的表面處理之檢測表面、

（2）形成使固定於該檢測表面狀態之該檢測用核苷酸鏈能延伸的電場之正負電極、

（3）可成為該檢測用核苷酸鏈與標的核苷酸鏈間的雜交反應場所之反應區域。

6.如申請專利範圍第 5 項的生物學上之鑑定用基板，其中該檢測部為，該檢測表面為形成一牆壁面之溝（cell）檢測部，複數個該測試管檢測部設置於該圓盤狀基板上。

7.如申請專利範圍第 5 項的生物學上之鑑定用基板，其中該測試管檢測部為，設置於該圓盤狀基板上呈俯視下為放射狀者。

8.如申請專利範圍第 7 項的生物學上之鑑定用基板，其中該測試管檢測部單位或經分群複數個測試管檢測部單位上，固定相異檢測用核苷酸鏈者。

9.如申請專利範圍第 5 項的生物學上之鑑定用基板，

(3)

其中該檢測部的反應區域為，設置於圓盤狀基板上沿著放射狀的條溝內，該條溝的內壁面設有該檢測表面者。

10.如申請專利範圍第 9 項的生物學上之鑑定用基板，其中該條溝單位或經分群的複數各條溝單位上，固定相異檢測用核苷酸鏈者。

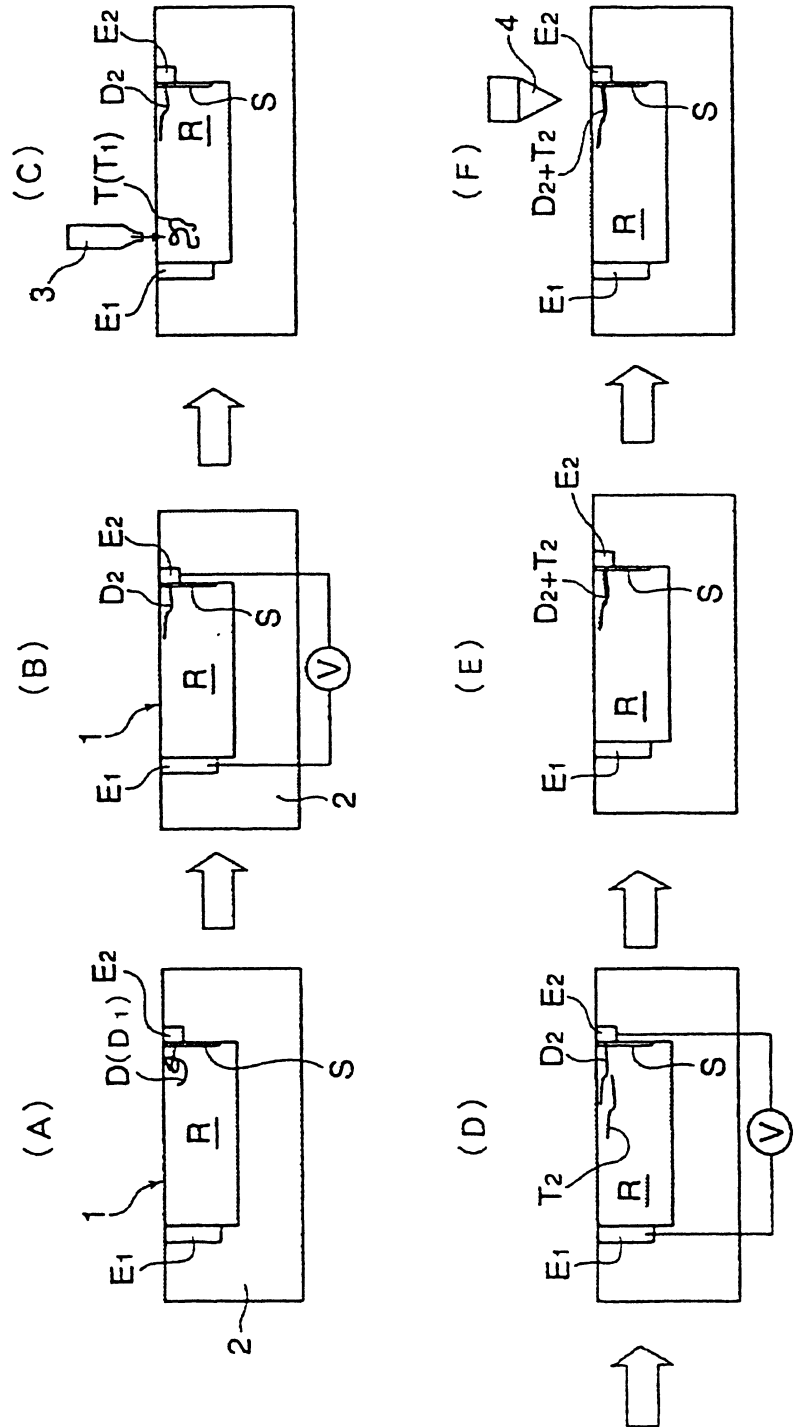
11.如申請專利範圍第 5 項之生物學上之鑑定用基板，其中具備提供該檢測表面部位之位置訊息與轉動同期訊息的手段。

12.如申請專利範圍第 11 項之生物學上之鑑定用基板，其中該手段為藉由該基板上所設置的搖擺 (wobbling) 或位址凹坑者。

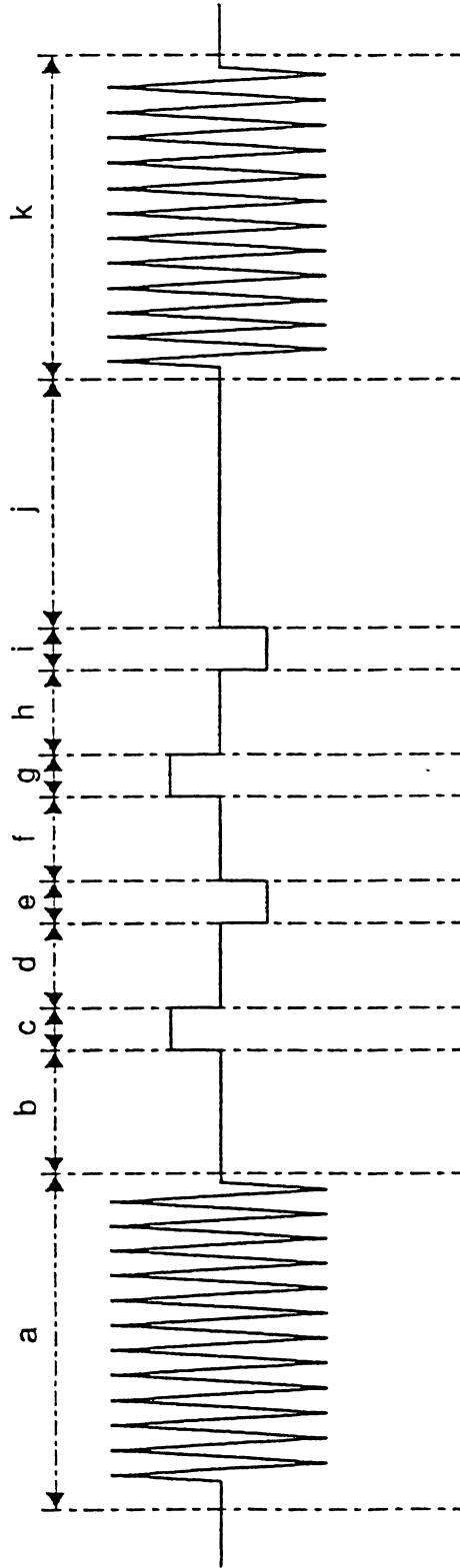
13.如申請專利範圍第 5 項之生物學上之鑑定用基板，其中對於該反應區域而言，室溫與反應至最適溫度之間，填充可引起凝膠 (gel)、溶膠 (sol) 的可逆相變化之物質。

14.如申請專利範圍第 5 項之生物學上之鑑定用基板，其中使用 inter calator 檢測出該雜交反應。

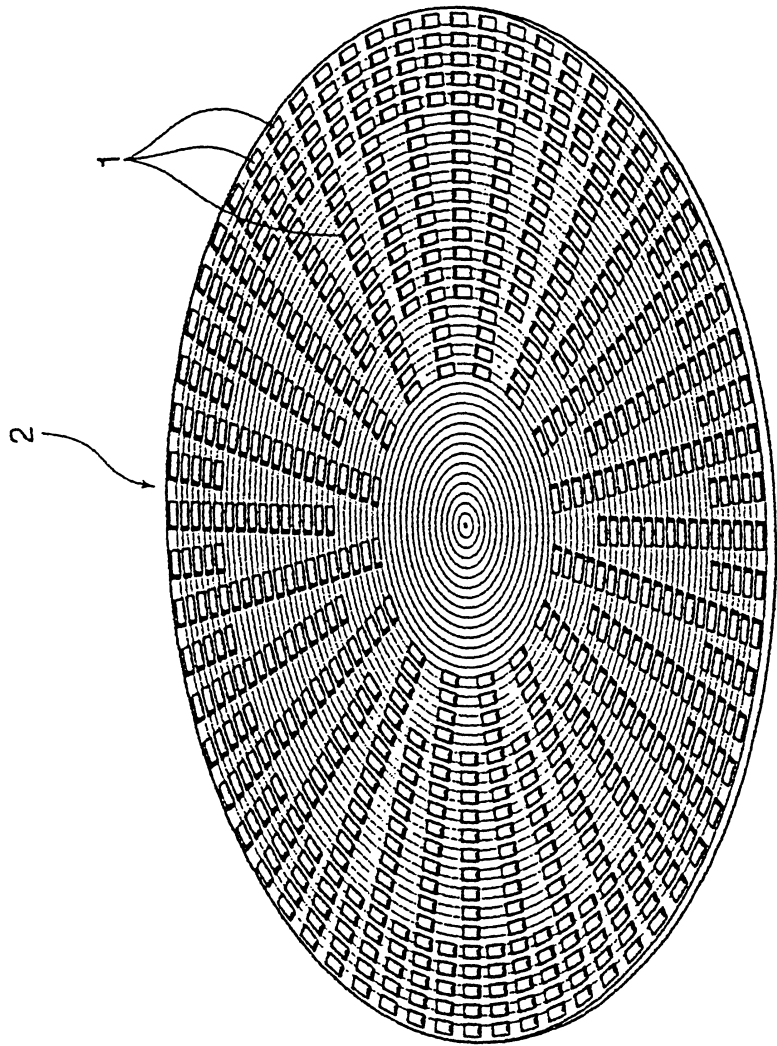
第 1 圖



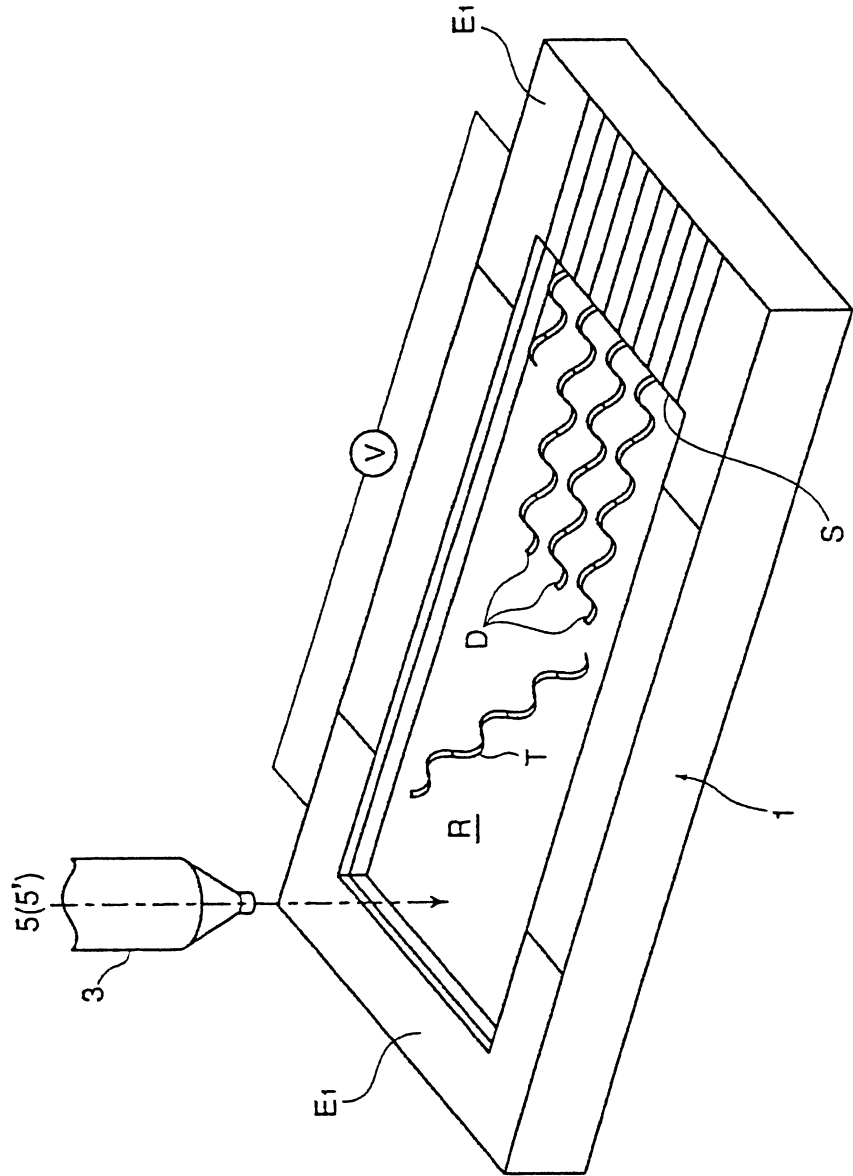
第 2 圖



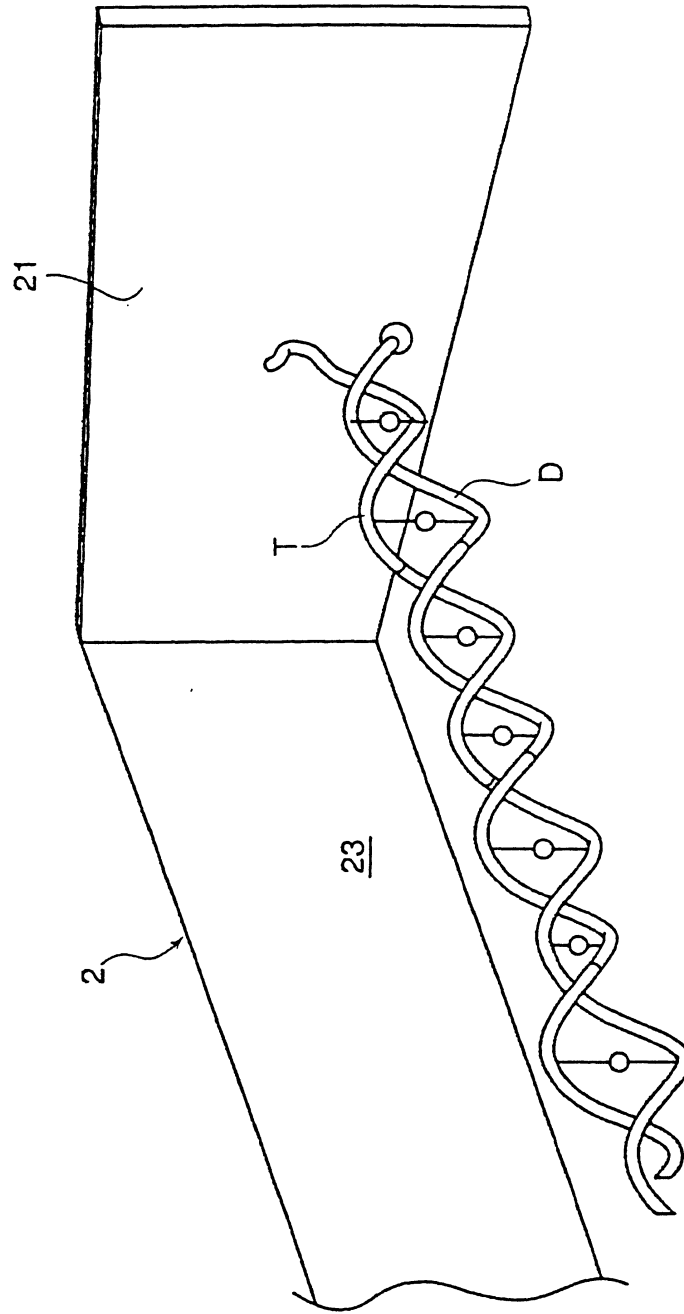
第 3 圖



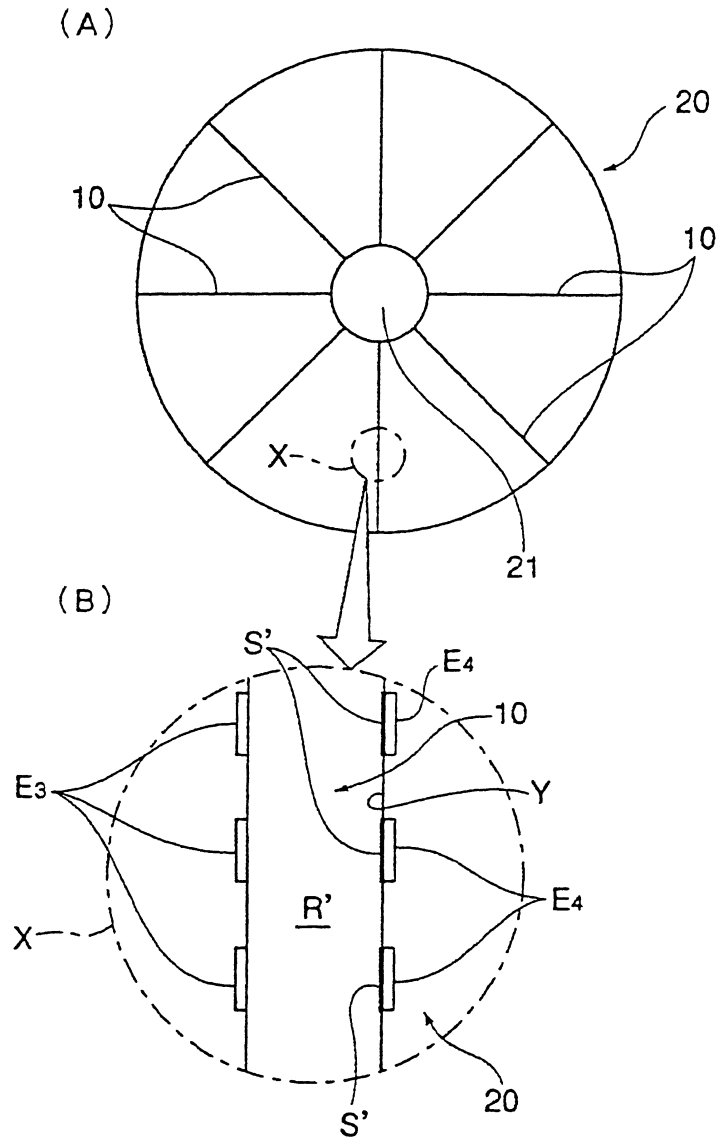
第 4 圖



第 5 圖



第 6 圖



柒、(一)、本案指定代表圖為：第 1 圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

- 1 溝檢測部
- 2 基板
- 3 噴嘴
- 4 噴嘴先端部
- E1 正電極
- E2 負電極
- S 檢測表面
- R 反應領域

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：