



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410000487. X

[43] 公开日 2004年8月18日

[11] 公开号 CN 1521275A

[22] 申请日 2004.2.2

[21] 申请号 200410000487. X

[30] 优先权

[32] 2003. 1. 31 [33] US [31] 10/355,705

[71] 申请人 安捷伦科技有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 埃里克·M·勒普鲁

迈克尔·P·卡伦 比尔·J·佩克

[74] 专利代理机构 北京东方亿思专利代理有限责
任公司

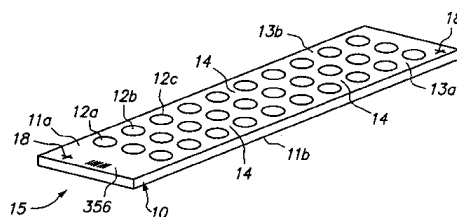
代理人 柳春雷

权利要求书3页 说明书22页 附图3页

[54] 发明名称 具有表面能突变区以维持阵列上样品分离的多个阵列

[57] 摘要

本发明公开了一种阵列单元，其包括承载着多个化学阵列的基片表面，每个阵列包括多个特征，并且每个阵列都被表面能突变区所包围，以维持被施加到阵列上的分离的液体样品之间的分离，其中基片表面在承载阵列的连续区域上是物理上不间断的。本发明还提供了阵列的制备和使用方法。



1. 一种阵列单元，包括承载着多个生物大分子阵列的基片表面，每个阵列中都包括多个特征，并且每个阵列都被表面能突变区所包围，以维持施加到所述阵列上的分离的液体样品之间的分离，并且其中所述基片表面在承载所述阵列的连续区域上是物理上不间断的。

2. 如权利要求 1 所述的阵列单元，其中，所述的表面能突变区由阵列间表面区域提供，所述阵列间表面区域位于承载阵列的区域之间，并包围着所述承载阵列的区域，而且比被包围区域边界的疏水性更强。

3. 如权利要求 2 所述的阵列单元，其中，所述被包围区域的边界是所述阵列的边界。

4. 如权利要求 2 所述的阵列单元，其中，所述的生物大分子包括多聚核苷酸或肽。

5. 如权利要求 4 所述的阵列单元，其中，所述阵列间表面区域比所述阵列特征的疏水性更强。

6. 如权利要求 5 所述的阵列单元，其中，在水侵入到所述阵列间区域之前，所述阵列可以容纳的水的体积可达 V ，其中 V 由下式给出：

$$V(r, \theta_c) = \frac{1}{3} \pi \left(\frac{r}{\cos(\frac{\pi}{2} - \theta_c)} \right)^3 (2 - 3 \sin(\frac{\pi}{2} - \theta_c) + \sin(\frac{\pi}{2} - \theta_c)^3)$$

其中， $V(r, \theta_c)$ 是静止液滴的体积； r 是圆形阵列的半径，或者当阵列不是圆形时， r 是与所述阵列面积相等的圆形的半径； θ_c 是大于 20 度的接触角。

7. 如权利要求 5 所述的阵列单元，其中，所述阵列特征的接触角小于 20 度，并且特征总面积占每一个阵列面积的至少 30%。

8. 如权利要求 4 所述的阵列单元，其中，所述的阵列是圆形的。

9. 如权利要求 4 所述的阵列单元，其中，所述相邻阵列之间的最小间隔至少为所述阵列特征之间平均距离的二倍。

10. 如权利要求 5 所述的阵列单元, 其中, 所述相邻阵列之间的最小间隔不大于所述阵列特征之间平均距离的十倍。

11. 如权利要求 4 所述的阵列单元, 其中, 所述的每一个阵列包括 50 到 1000 个特征。

5 12. 如权利要求 4 所述的阵列单元, 其中, 所述的阵列间表面区域包括与所述基片表面相连接的不同类型的分子。

13. 如权利要求 12 所述的阵列单元, 其中, 所述阵列的每一个特征也包括与所述基片表面相连接的不同类型的分子, 其中只有所述不同类型分子的一个子集可以将生物大分子共价结合到所述特征内部表面上。

10 14. 如权利要求 4 所述的阵列单元, 其中, 每个阵列包括内部区域和包围所述内部区域的外部区域, 每个区域含有多个特征, 特征所占据的所述外部区域面积的比例要比特征所占据的所述内部区域面积的比例更大。

15. 如权利要求 14 所述的阵列单元, 其中, 每个阵列的所述外部区域包括至少八个特征。

15 16. 一种使用权利要求 4 所述阵列的方法, 包括下列步骤:

向每一个阵列上施加分离的液体样品, 从而使得多个分离的样品同一时间存在于所述基片表面, 同时疏水性更强的阵列间区域维持了所施加样品间的分离。

17. 如权利要求 16 所述的方法, 其中, 阵列之间没有物理阻隔。

20 18. 如权利要求 16 所述的方法, 其中, 所述阵列特征中包含多聚核苷酸或肽, 并且每一个样品中包含多聚核苷酸或肽。

19. 一种制备权利要求 4 所述阵列的方法, 包括下列步骤:

(a) 将含有生物大分子前体的液滴沉积到所述基片表面上有待形成特征的位点处, 从而使得所述前体在所述位点处与所述表面相结合;

25 (b) 在每一个所述位点处重复进行 (a) 步骤, 使先前已结合的前体与随后被沉积的前体相结合, 直到所述阵列被制备出来;

其中, 在重复进行 (a) 步骤之后, 与所述阵列间区域相比, 所述形成阵列的区域疏水性变得更小。

20. 如权利要求 19 所述的方法, 其中, 所述基片表面包括与所述基片

表面相结合的组合物，所述组合物既覆盖所述阵列间区域，也覆盖包括所述特征位点的所述形成阵列的区域；在步骤（a）中，所述组合物中的至少一种成分将所述生物大分子前体结合到所述表面上。

21. 如权利要求 20 所述的方法，其中，所述组合物包括与所述基片表面相结合的不同类型的分子，但是只有所述不同类型分子的一个子集将生物大分子共价结合到所述特征内部的所述表面上。

22. 一种使用包含位于基片表面上的多个生物大分子阵列的阵列单元的方法，每个阵列都包含多个特征，并且所述阵列被阵列间表面区域分隔开，其中，所述基片表面在承载阵列的连续区域上是物理上不间断的，所述方法包括下列步骤：

向每一个阵列施加分离的液体样品，从而使得多个分离的样品同一时间存在于所述基片表面，同时通过所述阵列间区域保持分离。

23. 一种使用权利要求 4 所述的阵列单元的方法，所述方法包括下列步骤：阅读与所述阵列单元相关联的代码，并从所述代码或与所述代码相链接的文件中获得有关应施加到所述阵列上的液体样品体积的信息。

24. 如权利要求 23 所述的方法，其中，所述液体样品是水性样品，其中包括保湿剂以保持水分。

具有表面能突变区以维持阵列上样品分离的多个阵列

5 技术领域

本发明涉及诸如多聚核苷酸阵列（例如 DNA 阵列）的阵列，它们在诊断、筛选、基因表达分析等方面有很好的应用。

背景技术

10 在下面的讨论以及本申请的全文中，虽然引用了很多参考文献，但这些引用的文献都不能构成本申请的现有技术。

已经公知多种化学阵列，例如多聚核苷酸阵列或蛋白质阵列（例如 DNA 或 RNA 阵列），它们已经被用作诸如诊断或筛选工具。多聚核苷酸阵列包括通常包含不同序列的多聚核苷酸的区域，这些区域以预定的布置
15 （configuration）方式排列在基片上。这些区域（有时称为“特征”）位于基片上的各自位置（“地址”）处。当阵列受到样品的作用时，将表现出可观察到的结合图案（pattern）。当对阵列进行阅读时，这种结合图案可以被检测出来。例如，样品中的所有多聚核苷酸目标（例如 DNA）都可以通过适当的标记物（例如荧光化合物）进行标记，而阵列上的荧光图案
20 可以在其受到样品作用之后精确地观察到。假定不同序列的多聚核苷酸都按照预定的布置被正确地沉积，那么所观察到的结合图案将表明样品中一种或多种多聚核苷酸成分的存在和/或浓度。

生物大分子阵列可以通过将预先获得的生物大分子（例如通过合成或天然来源）沉积到基片上或者通过原位合成方法而制造出来。沉积所获得的生物大分子的方法包括：将其装入针或毛细管中，然后使所述的针或毛细管与表面接触，例如 US 5,807,522 中所述，或者通过从诸如喷墨头的脉冲喷头中喷射出来而进行沉积，例如 PCT 公开文本 WO 95/25116 和 WO 98/41531 中以及其他地方所述。可以认为此类沉积方法通过一个固定循环而形成各个特征（也就是说，每一个特征只有一个循环，在此期间，先前

获得的生物大分子被固定到基片上)。在原位制备方法中,通过脉冲喷头或其他装置将很多不同的试剂液滴沉积在给定的目标位点上,以便形成最终的特征(从而在阵列的基片上合成出了所述特征的探针)。原位制备方法包括:US 5,449,754 中描述的合成肽阵列的方法, US 6,180,351 和 WO 5 98/41531 及其所引用的参考文献中所描述的合成多聚核苷酸的方法,也可以使用脉冲喷头沉积试剂。制备多聚核苷酸阵列的原位法在多个不同的有待在此形成特征的地址中的每一个地址处通常采用相同的传统重复工序,所述传统重复工序被用于通过公知的化学手段由核苷试剂在载体上形成多聚核苷酸特征。在每个有待形成的特征处,该重复工序可以被看作是后面的固定循环中的多个:

10 (a) 在第一个重复中,将选定的活化的核苷(单体单元)通过亚磷酸酯键偶联至官能化支持物上,或者在随后的重复中将其偶联至结合在基片上的核苷(也就是核苷修饰的基片)上;(b) 可选地,可以将结合在基片上的核苷的未反应羟基封闭起来(有时也称为“加帽”);(c) 将步骤(a)的亚磷酸酯键氧化以形成磷酸酯键;以及(d)

15 将保护基团从在步骤(a)中所偶联的最新的结合在基片上的核苷中除去(去保护),以便为这些步骤中的下一次循环产生活性位点。可以通过将含有活化剂和亚磷酰胺(phosphoramidite)的液滴沉积到阵列上特定的预期特征位置上来进行偶联。提供最终的去保护步骤,在该步骤中,通过在公知的条件下用氢氧化铵和/或甲胺进行处理而将含氮碱基和磷酸酯基同时

20 去保护。加帽、氧化和去保护可以通过用一层合适的试剂对整块基片进行处理(“浸没”)而实现。官能化的支持物(第一个循环中)或去保护的偶联核苷(后续循环中)为结合在基片上的部分(moiety)提供了链接基团,以便与将要在步骤(a)中进行偶联的下一个核苷形成亚磷酸酯键。核苷碱基最终的去保护可以通过在另一个浸没程序中以公知的方式利用碱性条件例如氢氧化铵而实现。通常选用一个脉冲喷头或其他分配器来沉积

25 一种单体单元。

下列文献中详细地描述了上述多聚核苷酸合成的化学机制,例如, Caruthers, *Science* 230: 281-285, 1985; Itakura et al., *Ann. Rev. Biochem.* 53: 323-356; Hunkapillar et al., *Nature* 310: 105-110, 1984; 以及”Synthesis of

Oligonucleotide Derivatives in Design and Targeted Reaction of Oligonucleotide Derivatives”, CRC Press, Boca Raton, Fla., pages 100 et seq., US 4,458,066, US 4,500,707, US 5,153,319, US 5,869,643, EP 0294196 等。亚磷酸胺和亚磷酸三酯法使用得最为广泛，但是还有一些其他的方法，包括磷酸二酯法、磷酸三酯法以及 H-磷酸酯法。基片通常被官能化以便与所沉积的第一个单体相结合。例如，在 US 6,258,454 和 Southern, E. M., Maskos, U. and Elder, J.K., Genomics, 13, 1007-1017, 1992 中描述了合适的技术，用于利用此类链接部分使基片官能化。在阵列的制备中，在任何一个循环里，不同的单体和活化剂可以被沉积在基片的不同位置上，从而使得完成后的阵列的不同特征具有不同的所期望的生物大分子序列。在每个循环中可能还需要一个或多个中间步骤，例如在多聚核苷酸阵列的原位制备中的常规氧化、加帽和冲洗步骤（同样地，这些步骤可以在浸没程序中进行）。

US 6,242,266, US 6,232,072, US 6,180,351 以及 US 6,171,797 中公开了通过沉积先前获得的生物大分子或原位法而制备生物大分子阵列的进一步的细节。美国专利 6,319,674 和 6,444,268 中公开了特别有用的链接组合物及方法。这些专利中也提供了一种装置，通过该装置可以改变基片的表面能，从而在阵列制备过程中控制沉积液滴的铺展。

在阵列的制备过程中，可用的多聚核苷酸的量往往很少，而且非常昂贵。此外，可以用于测试的样品量往往也很少。在这些条件下，需要使用特征较小并且紧密分布的阵列。例如，阵列上可以具有数千个特征。但是在某些情况下，具有少得多的特征的阵列（例如只有一百个特征）就足够了。具有更少特征的多个阵列可以被容纳在同一个基片上，并和不同的样品作用。在这种情况下，为了阻止不同样品的混合，可以在不同阵列之间建立物理阻隔，例如衬垫或其他装置，以便阻止施加在一个阵列上的样品液体与施加在相邻阵列上的样品液体进行接触。这可能需要施加样品液体之前手动组装这样一个衬垫结构，从而提供了产生意外的阵列接触或者污染（例如来自使用者接触列阵的手指）的机会，导致从很昂贵的阵列中无法获得有意义的结果。虽然可以在制备阵列之前将阻隔固定到基片上，

但这可能导致对制备过程的物理干扰（例如当沉积头需要紧贴基片表面移动时）以及处理过程中可能的阻隔脱离，并且需要额外的制备步骤。

本发明意识到最好能够在基片上提供多个阵列，其可以与不同的液体样品（或相同样品的不同部分）作用，同时提供一种装置以阻止不同的样品或样品部分之间的接触，该装置不要求复杂的处理并且很容易制造。

发明内容

本发明提供了一种阵列单元，其中包括位于基片表面上的多个化学阵列（例如生物大分子或其他聚合物阵列）。每个阵列包括多个特征，并且每个阵列都被表面能突变区所包围，以维持施加到阵列上的分离的液体样品之间的分离。基片表面在承载阵列的连续区域上是物理上不中断的。

本发明还提供了制备本发明阵列单元的方法。该方法可以包括向基片表面有待形成特征的位点处沉积含有生物大分子前体的液滴，从而使得前体在所述位点处与表面相结合。在每一个所述位点处可以重复进行该操作，使先前已连接的前体与下一步沉积的前体相结合，直到阵列被制备出来。在该方法中，在重复进行前述的液滴沉积之后，与阵列间区域相比，形成阵列的区域疏水性变得更小。本发明还提供了一种装置，可以执行根据本发明的制备阵列单元的方法，本发明还提供了一种携带计算机可读代码的计算机程序产品，当其被计算机执行时，可以执行本发明的制备方法（例如在前述的装置上）。

本发明还提供了使用阵列单元的方法，所述阵列单元包括位于基片表面的多个生物大分子阵列，每个阵列都包括多个特征，并且阵列被物理上不中断的阵列间表面区域分隔开。该方法包括向每一个阵列上施加分离的液体样品，从而使得多个分离的样品同一时间存在于基片表面，同时通过阵列间区域保持分离状态。例如，该方法可以应用于本发明的阵列，从而使得疏水性更强的阵列间区域维持了所施加样品间的分离。

本发明所提供的使用本发明阵列单元的另一种方法包括阅读与阵列单元有关的代码，并从所述代码或与所述代码相链接的文件中获得有关应施加到阵列上的液体样品体积的信息。

本发明的各个方面可以提供下述或其他有用的益处中的任何一种或多种。例如，可以在基片上提供多个阵列，可以和不同的液体样品（或相同样品的不同部分）作用。同时，不同样品或样品部分之间的接触可以被抑制，但这并不要求复杂的处理，而且很容易制造

5

附图说明

图 1 示出了承载诸如可以通过本发明的方法制造的多个阵列的阵列组件；

10 图 2 是图 1 中的一部分的放大图，示出了多个理想的点或阵列的特征；

图 3 是图 2 中的一部分的放大图；

图 4 示出了位于本发明阵列单元的阵列上的不同体积静态（固定）液滴的液滴直径，其为接触角的函数；

15 图 5 示出了由表面能突变区所导致的液体体积对液体接触面积的不连续，而表面能突变区是由于本发明单元上阵列的疏水性小于阵列间区域造成的；

图 6 示出了本发明所提供的使用本发明阵列单元的装置和方法；

图 7 示出了本发明阵列单元的使用；以及

图 8 示出了本发明阵列单元的另一种阵列布局。

20 为了便于理解，在可行的时候，使用了同样的标号来标注不同附图中共有的相同要素。位于相同数字后面的不同字母指出了一个大类里的不同成员（例如阵列 12a、12b、12c 可以一般地称为“阵列 12”）。附图不一定是按比例。

25 具体实施方式

在本发明中，除非出现了相反的目的，下面的术语均指所指明的特征。“生物大分子”是由一种或多种类型的重复单元所构成的聚合物。生物大分子通常可在生物系统中发现，具体包括多糖（例如碳水化合物）、肽（使用该术语时，包括与/不与多糖相连接的蛋白质以及多肽）和多聚核

核苷酸，以及它们的类似物，诸如由下列物质构成或含有下列物质的化合物：氨基酸类似物或非氨基酸基团，或者核苷酸类似物或非核苷酸基团。这包括其常规骨架已被替换为非天然或合成骨架的多聚核苷酸，以及其中的一个或多个常规碱基已被替换为能够参与 Watson-Crick 型氢键作用的基团（天然或合成的）的核酸（或合成或天然类似物）。多聚核苷酸包括单链或多链构象，其中这些链中的一条或多条可以与其他链完全配对或不能完全配对。“核苷酸”是指核酸的亚单元，具有磷酸酯基、五碳糖和含氮碱基，以及此类亚单元的功能类似物（合成或天然），其中聚合物形式（例如多聚核苷酸）的所述类似物可以与天然的多聚核苷酸以序列特异的方式相杂交，其杂交方式与两种天然多聚核苷酸的杂交方式相类似。例如，“生物大分子”包括 DNA（包括 cDNA）、RNA、寡聚核苷酸和 PNA，以及 US 5,948,902 及其引用文献（在此以引用的方式将其全部内容包括在本文中）中所述的其他多聚核苷酸，不管其来源如何。“寡聚核苷酸”一般是指长度约为 10 到 100 个核苷酸的核苷酸多聚物，而“多聚核苷酸”包括含有任何数目核苷酸的核苷酸多聚物。“生物单体”是指单个的单元，可以与相同或其他的生物单体相链接以形成生物大分子（例如具有两个链接基团的单个氨基酸或核苷酸，其中所述连接基团中的一个或两个可以具有可除去的保护基团）。“生物大分子前体”是生物大分子的更小单元，可以通过化学键尾对尾连接以形成生物大分子。生物单体是一种类型的生物大分子前体，但生物大分子前体可以包括相链接的两个或更多的单体单元。流体是指液体（例如，生物大分子或生物大分子前体的溶液）。

“阵列”，除非出现了相反的目的，包括带有特定化学部分的可寻址区域的任何一维、二维或三维布置，其中，所述化学部分（例如位于不同区域的具有不同序列的生物大分子，如多聚核苷酸）与该区域相关联。当基片为多孔结构时，每个区域可以向第三维延伸；而当基片为非多孔结构时，则不具有任何实质的第三维的量度（厚度）。阵列是“可寻址的”，因为它包括多个含有不同部分（例如不同的多聚核苷酸序列）的区域，从而使得位于阵列上特定的预定位点处（“地址”）的区域（阵列的“特

征”或“点”)将检测到具体的目标或一类目标(虽然特征也有可能意外地检测到不对应于该特征的目标)。阵列特征一般是均一的,并且特征通常被间隔区所分隔,但不一定非要这样。对于阵列而言,“目标”是指移动相(通常是流体)里的部分,它有待于被位于各个区域的与基片相结合的探针(“目标探针”)所检测。但是,“目标”或“目标探针”可能是将被另一个评价的那一个(因此,任何一个都可以是含有多聚核苷酸的未知混合物,有待于通过与另一个的结合而被评估)。“阵列布局”或“阵列特性”可以互换使用,用于指代阵列的一种或多种物理、化学或生物的特性,例如阵列内部特征的布置以及阵列在基片上的布置,一种或多种特征尺寸,或者在给定的特征位点处某部分的本性或功能(例如化学的或生物的)的某些指示,或者阵列应该如何操作(例如,阵列和样品作用的条件,或者阵列阅读说明书,或者在样品作用后来自阵列控制特征的预期信号或信号范围)。对于多聚核苷酸,“杂交”和“结合”可以互换使用。阵列上的“控制特征”是指在使用阵列期间检查阵列或样品表现的那些特征。例如,控制特征可以是负控制(在样品作用后,预期信号很少或没有)或正控制(在样品作用后,预期信号较高)。

“塑料”是指任何高分子量(例如至少 1,000 克/摩尔,甚至至少 10,000 或 100,000 克/摩尔)的合成有机聚合物。

当“柔性”用于描述基片或基片薄片(web)时,是指基片可以绕着半径小于 1.25 cm 的辊子弯折 180 度。基片可以在任一方向上这样重复弯折和伸直至少 100 次而不会产生失效(例如开裂)或塑性变形。这种弯折必须在材料的弹性限度之内。前述的柔性测试是在 20℃下进行的。

“薄片”是指长大于宽的较长的连续基片材料。例如,薄片的长宽比可以是至少 5/1, 10/1, 50/1, 100/1, 200/1 或 500/1, 甚至至少 1000/1。

当一个项目相对于另一个项目被称为“远程”时,是指这两个项目至少位于不同的建筑物中,可以至少相隔 1 英里、10 英里或至少 100 英里。

“交流”信息是指将代表该信息的数据以电信号的形式通过适当的通讯信道(例如私人或公共网络)进行传送。“转发”一个项目是指将该项目从一个地点转至另一个地点,可以通过物理手段或其他手段(可能的情况

下) 转移该项目, 包括: 至少对于数据, 通过物理手段将携带数据的介质进行转移或交流数据。阵列“组件”可以仅仅是阵列加基片, 其中阵列沉积于该基片上, 虽然组件也可以是其中包括其他特征的封装物的形式(例如带有腔室的外罩)。“腔室”是指封闭的体积(虽然可以通过一个或多个端口访问腔室)。还应当意识到, 在本申请的全文中, 使用术语“前”、“后”、“顶”、“上”和“下”时, 仅仅采用了其相对的意思。提到单数的项目时, 也包括存在多个同样项目的可能性。“可以”是指可选择的。所详述的任何方法都可以按照详述时所给出的顺序加以实施, 或者也可以按照其他逻辑上可行的顺序进行。

10 “脉冲喷头”是指任何可在阵列的形成过程中分配液滴的器件。脉冲喷头工作时, 对临近出口或喷嘴的液体给予一个压力脉冲(例如通过压电或热电元件), 从而使得液滴可以从所述出口或通孔处分配出来。

例如, 与表面相连接的“链接层”的厚度可以小于 200 埃, 甚至小于 10 埃(或厚度小于 8、6 或 4 埃)。这样的层的多聚核苷酸、蛋白质、核苷或氨基酸最小结合亲和力可以是 10^4 到 10^6 单位/ μ^2 。如果需要, 可以利用 UV 或 X 射线椭圆偏光仪评估层的厚度。

当“物理上不连续的”用于描述基片表面时, 是指没有物理阻隔, 所述物理阻隔可以容纳液体以阻止其扩散出该阵列。物理阻隔的尺寸足够大以阻止阵列间的液体流动, 并且与可容纳液体的阻隔不同, 所述可容纳液体的阻隔是由于化学组成造成的表面能的不连续所产生的(例如, 在疏水区域和疏水性更小的相临区域的界面处)。例如, 物理上不连续的表面可以是没有例如包围阵列的壁之类的延伸至基片表面以上超过 10 微米(或超过 5、2 或 1 微米)的物理阻隔的表面。表面上的“区域”是被连接起来的邻接的表面部分。区域内部可以有不连续(例如, 阵列间区域是相互连接在一起的, 但是在其内部却有承载特征的区域, 而这些承载特征的区域并不是阵列间区域的一部分)。“连续”区域是不连续的(也就是说, 在其外部尺寸之间完全延伸)。因此, 承载特征的连续区域是承载特征以及特征之间的任何对象的基片的连续部分(所以也包括特征间区域)。当承载特征的连续区域被称为物理上不连续的时候, 则这是指在有阵列位于

其内的表面部分的外部边界之间没有物理阻隔。

与化学结构式相关的“基团”包括取代和未取代形式的基团。取代物可以包括低级烷基、卤素或其他基本不会对预期结果产生干扰的取代物。

“低级烷基”是含有 1 到 6 个 C 原子的烷基，可以只具有 1、2、3 或
5 4 个 C 原子中的任何一种。

在 US 6,444,268 中给出了“表面能”的定义。

液体与表面的“接触角”是指在表面上的液滴边界与该表面之间所测量到的锐角。接触角的测量是公知的，可以通过多种仪器实现，例如可从
10 First Ten Angstroms, Portsmouth, VA, U.S.A.获得的 FTA200。水或水性液体在疏水性更强的表面（表面能更高）上的接触角比在疏水性更小的表面上的接触角要大（例如，疏水表面上水滴的接触角大于 50 度，甚至大于 90 度）。阵列的接触角（有时称为“平均接触角”或“有效接触角”）是指该阵列的特征和特征间区域的平均接触角。除非特别说明，否则接触角都是用水测定的。

15 “链接剂密度”或“加帽剂密度”是指单位面积内链接分子或加帽分子的数目。在确定链接剂密度时对链接剂进行计数，而不管它们是否与探针相连或者自身被加帽。对于加帽剂密度而言，只有直接与基片表面相连的加帽剂被计算在内。如果具有均一组成的基片表面的不同区域在相同的条件下受到相同成分的链接剂作用时，那么这些区域的链接剂密度将被认为
20 是“相同”的，其中，所述链接剂以相同的密度与表面相结合。

“探针密度”是一种简称，是指在一个特征内单位面积上链接分子或探针分子的数目。该术语可与“特征探针密度”互换使用，并具有同样的含义。因此，在确定探针密度时，任何基本上不含探针的特征间区域都不予考虑。因而，一个区域的“探针密度”与特征密度（单位面积内的特征
25 数目）是不一样的，而且相互独立。

本文中的任何方法的步骤都可以按照详述时所给出的顺序加以实施，或者也可以按照其他逻辑上可行的顺序进行。本申请中所引用的全部专利以及其他参考文献，在此均以引用的方式将其包括在本文中，但是，这些专利或者参考文献中的任何与本申请相抵触的内容（包括定义）除外（在

这种情况下以本申请为准)。

在本发明的阵列单元中，表面能突变区可以由阵列间表面区域提供，所述阵列间表面区域位于承载阵列的区域之间，并包围着所述承载阵列的区域，而且比被包围区域边界的疏水性更强。在一种排列方式中，前述被
5 包围区域的边界是阵列的边界（也就是说，阵列间区域紧邻阵列边界）。在一种结构中，在水侵入到阵列间区域之前，阵列可以容纳的水的体积可达 1 mL，通常可达 0.4 mL，更为常见的是达 0.1 mL。在另一种布局中，阵列特征可以容纳的水的体积可达 V，其中 V 由下式给出：

$$10 \quad V(r, \theta_c) = \frac{1}{3} \pi \left(\frac{r}{\cos(\frac{\pi}{2} - \theta_c)} \right)^3 (2 - 3 \sin(\frac{\pi}{2} - \theta_c) + \sin(\frac{\pi}{2} - \theta_c)^3)$$

其中， $V(r, \theta_c)$ 是静止液滴的体积；r 是圆形阵列的半径，或者当阵列不是圆形时，r 是与阵列面积相等的圆形的半径； θ_c 是接触角，大于 20 度（或
15 者大于 30、40、50 或 60 度）并且可以小于 80 度（或小于 70 或 65 度）。或者， θ_c 可以是大于中间值的接触角，所述中间值位于上述角度中的任何一个和下面列出的阵列间区域的更大角度中的任何一个之间（例如在 80 度和 90 度之间）。

阵列特征的接触角可以小于 20 度（或小于 15、10 或 5 度），特征总
20 面积可以占每一个阵列面积的至少 30%（或至少 40%、50%、60% 或至少 80%）。阵列本身的平均接触角可以大于 20 度（或者大于 30、40、50 或 60 度）并且小于 80 度（或小于 70 或 65 度），而阵列间区域的接触角可以大于 80 度（甚至大于 90、95、100、105、110、115、120 或 130 度）。阵列的形状可以是“圆的”。在该语境中，“圆的”仅仅意味着不是三角形也不是矩形，并且可以包括椭圆形的阵列。相邻阵列之间的最小
25 间隔可以是阵列的特征之间的平均距离的至少 2 倍，或至少是此平均距离的 3、4、5 或 8 倍。并且，相邻阵列之间的最小间隔可以不大于阵列特征之间平均距离的 10（或者 9 或 5）倍。

阵列间表面区域可以包括与基片表面相连接的不同类型的分子。每个

阵列特征也可以包括与基片表面相连接的不同类型的分子，而只有所述不同类型分子的一个子集可以使生物大分子共价结合到特征内部表面上。例如，所述不同类型的分子可以是 US 6,444,268 中所述的第一和第二硅烷，此处以引用的方式将该专利包括在本文中，而在这种情况下，所述子集将是第二硅烷（第一硅烷不与阵列单元上的任何生物大分子相结合）。

5 在每一个阵列内，阵列不必是均一的（也就是说，特征之间间隔相等并且具有相同的尺寸）。例如，每个阵列可以具有内部区域和包围内部区域的外部区域，每个区域含有多个特征，其中，特征所占外部区域面积的比例要比特征所占内部区域面积的比例更大一些。因而该外部区域可以提供阵列和阵列内部区域之间的亲水/疏水边界。外部区域中的阵列可以具有同样的组成。

如前所述，在本发明的使用上述阵列的方法中，分离的液体样品（可以是不同样品或同一样品的不同部分）可以被放置在单个的阵列上，并保持相互之间的分离状态。在本发明的阵列中，疏水性更强的阵列间区域（相对于疏水性更小的阵列区域）可以维持所施加的样品之间的分离状态。因而，虽然人们可以进一步在阵列之间提供物理阻隔，但是在本发明的方法中在阵列之间可以没有此类物理阻隔，从而避免了可能的处理和污染问题。在所述方法中，阵列可以与施加到该阵列上的分离的液体样品保持接触至少 1 小时、至少 5 小时或者至少 10 小时。例如，在多聚核苷酸杂交中，在升高的温度下，样品可以与阵列保持接触约 12 小时，这对于多聚核苷酸阵列杂交来说是公知的。

在本发明的制备阵列单元的方法中，基片表面可以包括与基片表面相结合的组合物，所述组合物既覆盖阵列间区域，也覆盖形成阵列的区域，包括特征位点。在沉积含有生物大分子前体的液滴时，所述组合物中的至少一种成分可以将所述前体结合在表面上。上述组合物可以包括与基片表面相连接的不同类型的分子，而只有所述不同类型分子的一个子集可以将生物大分子共价结合到特征内部表面上。例如，基片表面可以被 US 6,444,268 中所述的第一和第二硅烷的疏水混合物所完全涂覆，生物大分子特征形成在基片上的不同阵列处。在沉积含有生物大分子前体（例如生物

单体)的液滴的第一个循环中,前体仅仅通过第二硅烷被结合在特征处。在多个循环之后,特征位点的疏水性减小,从而使得形成阵列的区域的疏水性也变得比阵列间区域更小了。

5 本发明的计算机程序产品可以包括计算机可读的存储介质,其中储存着计算机程序,所述计算机程序可以控制装置来执行此处所描述的方法。例如,用于此处的任何用途的任何计算机可读存储介质可以包括:光或磁存储器(例如固定式或便携式磁盘或其他器件),或者固态存储器。

10 现在参考图 1—图 3,本发明的阵列组件 15 可以包括基片,例如该基片的形式可以是有限长度的刚性基片 10(例如透明的非多孔材料,例如玻璃或硅石),上面承载着一个或多个阵列 12(例如阵列 12a、12b、12c),这些阵列沿着基片 10 的平坦的上表面 11a 分布,并且所有阵列都被同样的阵列间表面区域 14 分隔开,而阵列间表面区域 14 包围着阵列 12 中的每一个阵列。阵列间表面区域可以被认为刚好延伸超过图 1 中阵列 12 的最外侧。承载阵列 12 的连续区域包括阵列 12 以及阵列间区域 14。基片 15 10 也可以是柔性的。每个阵列 12 都在与阵列在共同的空间延伸的表面 11a 上占据了其自身的区域(因此这些区域并未延伸至阵列间区域 14 内)。基片 10 的背面 11b 并不承载任何阵列 12。可以对基片 10 上的阵列进行设计,以用于测试任何类型的样品,可以是:测试样品;参考样品;上述样品的组合;或者多聚核苷酸、蛋白质、多糖等的已知混合物(在这种情况下,阵列中可能包含携带待评估的未知序列的特征)。虽然图 1 中示出了 20 30 个阵列 12,但是应当理解,在基片 10 以及使用基片 10 的实施方式中,可以使用所期望的任何数目的阵列 12,例如至少 5、10、30、50、100 个,或者至少 200 个。根据使用目的,阵列 12 中的任何一个或者全部可以是相同的或彼此不同,并且每一个都含有由多聚核苷酸形式的生物大分子所构成的多个点或特征 16。在图示的实施例中,阵列 12 的形状大致是 25 圆的(但也可能是其他的形状,例如大致呈椭圆形)。

典型的阵列 12 可以含有多于 5、10、20、30、100 甚至至少 150 个特征。例如,特征的宽度(对于圆形的点来说,也就是直径)可以在 10 μm 到 1.0 cm 范围内。在其他的实施例中,每个特征的宽度可以在 1.0 μm 到

1.0 mm 范围内, 较为常见的是 $5.0\ \mu\text{m}$ 到 $500\ \mu\text{m}$, 更为常见的是 $10\ \mu\text{m}$ 到 $200\ \mu\text{m}$ 。非圆形特征的面积范围可以相当于具有前述宽度(直径)范围的圆形特征的面积范围。至少一部分或全部特征具有不同的组成(例如, 当具有相同组成的每个特征的任何重复都被排除时, 剩下的特征可以占总特征数目的至少 5%, 10% 或 20%)。

每一个阵列 12 的面积可以小于 $400\ \text{mm}^2$, 甚至小于 $200\ \text{mm}^2$ 、 $100\ \text{mm}^2$, 或小于 $50\ \text{mm}^2$ 或 $20\ \text{mm}^2$ 。在很多实施例中, 特别是当基片 10 为刚性时, 它的形状可以通常为矩形固体(虽然也可能是其他形状), 长度大于 $4\ \text{mm}$ 小于 $1\ \text{m}$, 较为常见的是大于 $4\ \text{mm}$ 小于 $600\ \text{mm}$, 更为常见的是小于 $400\ \text{mm}$; 宽度大于 $4\ \text{mm}$ 小于 $1\ \text{m}$, 较为常见的是小于 $500\ \text{mm}$, 更为常见的是小于 $400\ \text{mm}$; 厚度大于 $0.01\ \text{mm}$ 小于 $5.0\ \text{mm}$, 较为常见的是大于 $0.1\ \text{mm}$ 小于 $2\ \text{mm}$, 更为常见的是大于 $0.2\ \text{mm}$ 小于 $1\ \text{mm}$ 。当基片 10 为柔性时, 它可以具有各种长度, 包括至少 $1\ \text{m}$, 至少 $2\ \text{m}$, 或至少 $5\ \text{m}$ (甚至至少 $10\ \text{m}$)。对于通过检测荧光而进行阅读的阵列而言, 基片 10 可以由当用激发光照射时可以发射轻微荧光的材料制成。此外, 在这种情况下, 如果聚焦激光束在某个区域内传播太慢的话, 那么基片可以是相对透明的, 以便减少入射照射激光的吸收以及随后的发热。例如, 基片 10 可以透射至少 20% 或 50% (甚至至少 70%、90% 或 95%) 的入射到上表面的照射光, 这可以通过此类入射光的整体积分光谱或在 $532\ \text{nm}$ 和 $633\ \text{nm}$ 处进行检测而测定出来。

当阵列 12 是通过常规的原位法形成, 或者通过沉积先前得到的部分(如前所述, 沉积先前得到的部分时, 例如通过使用诸如喷墨头的脉冲喷头, 在每一个循环中沉积一小滴试剂以形成每一个特征)而形成时, 特征间区域 17 通常会存在, 而它们并不承载任何多聚核苷酸。应当理解, 特征间区域 17 可以具有各种尺寸和形状。每一个特征都承载了预定的多聚核苷酸(也可能是多聚核苷酸的混合物)。与平常一样, A、C、G、T 代表常规核苷酸。“Link”(详见图 3)代表与上表面和第一个核苷酸共价结合的链接剂(分子), “Cap”代表不与核苷酸结合的分子, 下面将对此进行进一步的描述。

基片 10 也可以包括一个或多个条形码 356 形式的标识符。也可以使用例如其他的光或磁标识符的标识符来代替条形码 356，它将携带下面所讨论的信息。由于每个标识符与每个阵列 12 位于同一基片 10 上，并因此相对于条形码 356 具有固定的位置，通过所述相对位置可以识别每一个阵列，通过这种方式，可以使每个标识符与每个阵列 12 联系在一起。基片还可以具有一个或多个基准标识 18，以便在阵列的制备和阅读过程中进行校准。

图 2 和图 3 示出了阵列 12a、12b 的理想特征 16，其中所形成的实际特征与目标（或“目的”）特征是相同的，每个特征 16 的形状、尺寸和组成都是均一的，并且这些特征具有规则的间隔。当通过液滴沉积法进行制备时，这样的阵列将要求用于每个特征的所有试剂液滴都是形状均一的，并且被精确地沉积在目标特征位点上。在实践中，由于制造过程中的系统误差和随机误差，这样的理想结果实际上是很难获得的。为了便于说明，所示出的阵列 12a 中的特征 16 以矩形排列方式（也就是说，规则的行和列）进行分布，而阵列 12b 中的特征 16 则以紧密的六边形布置方式进行分布。在实践上，位于同一基片 10 上的所有阵列 12 将使用基本相同的布置方式（矩形或紧密六边形）。

具有相同特征的一个或多个阵列可以被重制在表面 11a 上，其中，重制阵列具有相同或不同的特征探针密度。在该实施例中，位于同一阵列内的所有特征具有相同的特征探针密度，而探针通过在图 3 中被称为“Link”的链接剂与表面 11a 相结合。在特征 12a-12c 的每一个上，也存在加帽剂（“Cap”）。合适的加帽剂可以具体是任何一种 US 6,444,268 中进行了详细描述的第一硅烷，而链接剂可以是其中的任何一种第二硅烷，溶剂也可以是该专利中所描述的（例如甲苯）。如上所述，此处已经以引用的方式将该专利包括在本文中，包括其中所使用的第一硅烷、第二硅烷和溶剂的细节。在一个实施例中，如上述专利中所述，第一硅烷具有结构式 $R^1-Si(R^L R^X R^Y)$ ，第二硅烷具有结构式（在链接到被沉积的生物单体上之前） $R^2-(L)_n-Si(R^L R^X R^Y)$ ，从而使得与表面的结合提供了位于其上的 $-Si-R^1$ 基团以及 $-Si-(L)_n-R^2$ 基团，其中 R^L 部分是离去基团，可以相同或不

同； R^x 和 R^y 独立地是低级烷基或离去基团； R^1 是在结合至基片表面后降低其表面能的化学惰性的部分； n 是 0 或 1； L 是链接基团； R^2 是使其可与分子部分共价结合的官能团，或者可以被转化为此类官能团的可修饰基团。上述的离去基团可以包括卤素和烷氧基。第一和第二硅烷都通过其上的活性亲水部分与表面相连，所述亲水部分选自由羟基、羧基、巯基、氨基及其组合所构成的组。在上述专利中，还对第一和第二硅烷的上述术语以及其他实施例进行了进一步的限定。基片 10 可以用 US 6,444,268 中详述的上述硅烷混合物进行处理，以获得羟基封端的第二硅烷基团，核苷酸亚磷酸胺可与该基团反应，以便通过第二硅烷（图 3 中的连接）与表面相连。这产生了图 1-3 中所示出的布置方式，其中，多聚核苷酸（或其他生物大分子）在特征 16 处通过链接分子与基片表面 11a 相连。可以对第一和第二硅烷的相对量进行调节，以便控制表面能（从而控制疏水程度），US 6,444,268 中也对此进行了详细描述。

从图 1 中可以看出，基片 10 上表面 11a 的连续区域在物理上是不间断的，其中上表面 11a 包括阵列间表面区域 14 和阵列 12。因此，阵列 12 和阵列间表面区域 14 本身在物理上也是不间断的。

由于在每个特征 16 上都存在多聚核苷酸（带有其亲水官能团），因此每个特征 16 的疏水性与阵列间区域 14 相比要更小些，并进而使得每一个阵列 12 的疏水性也比阵列间区域 14 更小些。因此，每一个阵列 12 都被表面能的不连续有效地包围，而表面能的不连续可以使得施加到阵列 12 上的分开的液体样品保持分离状态。与疏水性更小的区域相比，疏水性更大的区域与水性液滴的接触角更大一些，因此，施加到每一个阵列 12 上的液体样品往往会被限制在那个阵列上。这种效应可以在阵列单元 15 上观察到，如图 5 所示。图 5 大致描述了在诸如表面 11a 的表面上接触角与液滴体积的关系。随着阵列 12（其疏水性比阵列间区域 14 小）上的液滴体积的增加，只要液滴的表面接触区域保持在阵列当中，那么液滴的平均接触角就会大致维持在一个常量上，约为 20 到 40 度（在特征 16 之间可能有不连续）。但是，当液滴继续增大，接触到疏水性更强的阵列间区域 14 时，接触角开始增大（如垂直虚线的附近区域所示）；当液滴的表面接触

区域进入阵列间区域 14 时，接触角最终再一次稳定在某一值上。在图 1—图 3 以及图 5 所示的情况下，考虑到每个阵列 12 上的液滴的平均接触角，实际上表面能是不连续的，因此每个阵列 12 附近的平均接触角也是不连续的。

- 5 本发明的阵列单元 15 可以通过如下方式制备：首先按照 US 6,444,268 所描述的方法，利用第一和第二硅烷将所有的表面 11a 官能化。然后，通过上述的原位制备方法或沉积先前获得的生物大分子的制备方法形成特征 16，从而在表面 11a 上制备阵列 12。这可以通过下述方式进行：在有待制备的基片 10 上每一个阵列的多个特征位点上，向基片表面连续的官能化
- 10 区域沉积含有生物大分子或其他化学探针或探针前体（例如生物单体，如核苷亚磷酰胺）的液滴，从而使得探针或探针前体在特征位点处与链接剂相结合。该步骤可以在一个或多个特征处重复，特别是当采用原位法制备生物大分子时，直到完成阵列 12。下述文献中详细地公开了这些步骤：例如，US 6,242,266, US 6,232,072, US 6,180,351, US 6,171,797, US 6,323,043,
- 15 Caren 等人 1999 年 4 月 30 日提交的序列号为 09/302,898 的美国专利申请，以及其中引用的文献。

- 由于特征的形成，当多聚核苷酸在每一个特征位置延长时，与官能化的特征间区域 17 相比，每一个特征 16（从而每一个阵列 12）的疏水性变得更小。这是由于正在延长的多聚核苷酸（虽然也可以使用其他具有亲水
- 20 基团的生物大分子，例如肽）上存在亲水官能团。当特征 16 被足够紧密地填充在阵列 12 中时，虽然特征间区域 17 仍然保持着它们的未反应的第一和第二硅烷，但是与阵列间区域 14 相比，阵列 12 的整体表面特性将变得疏水性更小。一种评估获得此效果所需的特征密度的简单方法是，在与预期的最终阵列相同的官能化表面（例如前述的通过第一和第二硅烷进行
- 25 官能化的表面 11a）上，构建若干与预期的最终阵列组成相同但特征密度不同的测试阵列。然后检测位于测试阵列上的水性液滴（最好与实际的阵列以后将要接触的样品具有相同的组成）在体积增加时的表现。如果观察到了图 5 所示的行为，使得只要液滴未达液体将被挤迫到阵列间区域的最大体积，被置于测试阵列上的液滴将往往被限制住，那么该密度就是足够

的。图 5 的图线的中间区域上升地越快越陡则越好。也可以使用其他设备，以检测液滴在超出阵列 12 时移动的阻力。

本发明的阵列单元可以通过使用下述美国专利中所描述的装置中的任何一种进行制造：6,420,180；6,323,043；6,180,351。按照那些专利中所描述
5 装置的操作方法，如前面已经描述的通过使用先前已经用第一和第二硅烷对整个表面 11a 进行了官能化的基片 10 来制备阵列单元 15。具体地说，装置的处理器的原位或沉积方法按照沉积图案控制阵列的制备，以便在基片 10（可以从更大的基片上切出来）上生成阵列 12。在每一个循环中，在每一个目标特征 16 处沉积一组试剂液滴，从而使得探针或探针前
10 体通过链接剂与不同的区域相结合。在原位制备工艺中，在工艺的每一个循环里，在每一个特征处重复进行单体的沉积。在需要的时候，处理器也会将基片送到浸没站进行循环中间步骤或者最终步骤，这都按照上述的传统的原位多聚核苷酸阵列制备工艺进行。在操作所述装置过程中的任何一点处，处理器可以以 US 6,180,351 中所述的方式使每个阵列与诸如条形码
15 356 的标识符相关联。标识符可以携带有关位于基片 10 上的阵列 12 的布局信息，也可以携带其他信息（例如关于可以施加到特定的阵列单元 15 的每一个阵列 12 的样品体积的信息，包括如下的一种或多种：推荐的样品体积，最小体积以及最大体积）。可以施加到每一个阵列 12 的典型的最大体积不超过 1000 微升，或者不超过：500、200、100、50 或 10 微
20 升。或者，标识符 356 可以与携带任何一种上述信息的文件相链接，从而使得可以基于标识符而获得该文件。该文件及其与标识符的链接可以通过制造装置的处理器的处理器存储在固定的存储器中，或者可以被写入便携式存储介质中，然后将该介质放置在与相应的阵列组件 15 相同的包装中，以便运送至远程客户处。US 6,180,351 中描述了标识符的其他用途。

25 应当意识到，在前述的包围阵列 12 的表面能突变区被保证的情况下，阵列单元 15 可以通过其他方式制造，例如通过光刻技术。

当客户收到阵列单元 15 时，可能会利用手动或自动装置，在用户站将其和样品作用，所述用户站位于阵列制造站的远程处。图 6 示出了一种自动装置。处理器 414 可以从阅读器 400 处接收从阵列单元 15 读取的任何

代码（例如条形码 356）。处理器 414 也可以通过照相机 404 观察基准标识 18，来检验基片单元 15 相对于样品分配单元 406 的对准。样品分配单元 406 可以是脉冲喷头，其结构与头 410 相似，并可以是压电或热脉冲喷头，以便将样品传送到阵列 12（以诸如 US 6,221,653 所述的方式）。或者，样品分配单元 406 可以是自动移液系统。X-Y 平移平台 408 可以将头 406 移动到表面 11a 上的任何位置。处理器 414 还可以通过通讯模块 410 访问通讯信道 180。通讯信道 180 可以是任何合适的通讯信道，例如 LAN、WAN、卫星或电话网络。

在操作中，阵列单元 15 被手动放置在头 406 下方，处理器 414 利用照相机 404 和基准标识 18 确定阵列单元 15 相对于头 408 的位置。阅读器 400 读取代码（例如条形码 356），并获得阵列 12 的布局以及关于每一个阵列 12 样品体积的信息（例如下列的任意一种或多种：推荐的样品体积，最小体积或最大体积）。获取的信息可以来自所读取的代码本身，来自本地存储器，而已经以与代码相链接的文件的形式将此类信息预先存储于该本地存储器中，或者来自含有链接文件的远程存储器（例如位于阵列制造工厂或其他地方）。然后，处理器 414 利用所获得的信息控制头平移平台 408 和头 406，以便将样品沉积到每一个阵列 12 上，其中在每一个阵列上所沉积的体积是推荐体积，至少是最小体积，或者不超过最大体积，这取决于所获得的信息是前述的哪一种。

在用于使用阵列单元 15 的非自动系统中，可以省去照相机 404、头 406 和平移平台 408。作为替代，用户可以将位于阅读器 400 下方的阵列单元 15 的代码 356 进行手动传送，处理器会获得并在监视器 410 上显示前述的体积信息。然后，用户可以将前述待沉积的体积手动移取到阵列 12 上。

不管沉积样品时采用的是上述的自动技术还是手动技术，都将分离的液体样品施加到每一个阵列 12 上，其中，在每一个阵列 12 上所沉积的样品体积足以覆盖该阵列 12，同时不超过该阵列所能容纳的最大体积而不会延伸进入阵列间区域 14。因此，分离的液体样品将同时存在于基片表面 11a 上，而不会延伸出阵列 12 并进入疏水性更强的阵列间区域 14。如上所

述，疏水性更强的阵列间区域 14 维持了所施加样品之间的分离，并通过抑制样品移动至阵列间区域 14 中，来将它们限制在它们的阵列 12 的区域内。这种情况在图 7 中进行了说明，其中，由于疏水性更强的阵列间区域 14 的作用，所沉积的分离的样品 22a、22b、22c 被维持分离状态，并被阻止扩张至它们相应的阵列 12a、12b、12c 之外。注意接触角 θ_1 。可以允许样品 22 与每一个阵列 12 保持接触至少 1 小时、4 小时、6 小时或至少 10 小时。阵列的平均接触角和阵列间区域接触角的差异可以大于 10、20、30、40、60、70 或 80 度。

当特征 16 上的探针以及有待与其结合的样品都是待杂交的多聚核苷酸时，可以使用公知的阵列杂交条件。在杂交过程中，阵列单元 15 可以被保持在潮湿环境（例如体积较小的封闭腔室）中，或者可以向每种样品中加入诸如保湿剂之类的成分，它可以增强水分的保持。保湿剂包括：聚乙二醇（例如平均分子量 500, 1000 或更大的聚乙二醇），甘油三乙酸酯，山梨糖醇，聚葡萄糖，麦芽糖醇，甘油或赤藓醇，以及促进水分保持的其他聚合物（例如亲水聚合物）或分子。当然，所选出的任何此类成分在其他方面都应该与杂交溶液和阵列的化学性质相容。也可以在杂交过程中采用受控的蒸发以减小样品的体积（增大浓度）。在那种情况下，人们可能会希望在起始阶段采用过严谨的缓冲液，因为随着体积的减小，严谨性会降低。或者，通过在杂交过程中添加杂交缓冲液，也可以获得相反的效果。

注意，与所有阵列的特征都均匀分布在表面 11a 上只作为一个阵列时所需的样品量相比，无论如何所需的样品体积都会减小。这是因为不承载特征的很大一部分表面 11a（阵列间区域 14）没有与样品接触。因此，所需的样品体积可以减小，或者所使用的样品浓度可以更高以促进杂交。而且，承载特征的相对亲水性较强的区域仍然有助于确保样品均匀铺展在阵列 12 上。

在将样品作用于阵列足够长的时间之后，可以对其进行冲洗和干燥以便进行阅读。注意，所有的阵列 12 都可以同时用同样的冲洗缓冲液冲洗，因此，与每一个阵列都位于不同基片上的情况相比，这减少了工艺的

差异性，提高了处理能力。

单元 15 上的所有阵列 12 都可以通过任何合适的阅读装置同时阅读。当以公知手段在目标中引入了荧光标记从而有待检测荧光时，可以使用公知的阵列阅读器。例如，此类阅读器可以以光栅的方式在每一个阵列的整个范围内扫描一种或多种照射激光束以及检测到的任何产生的荧光，如 US 6,406,849 中所述。注意，本发明的阵列单元可以避免使用任何额外的诸如蜡的疏水材料或者对衬垫等的需求，而所有这些都可能引入少量的荧光污染物。由于从每个阵列特征所读取的荧光信号很微弱，因此，即使此类污染物的浓度很小并且仅在某些位点存在，也有可能严重影响结果。

10 阵列的阅读结果可以是经过处理的结果，例如通过下述方式获得：拒绝对某一低于预定阈值的特征的阅读，和/或基于从阵列读取的图案而形成结论（例如样品中是否可能存在一种具体的目标序列，或者提供样品的生物体是否表现出了某种特定的病况或疾病）。阅读的结果（已处理或未处理）可以通过通讯信道 180 或阅读器/写入器 186 以及介质 190，被转发
15 （例如通过通讯）至远程位置进行接收，以便进行进一步的评估和/或处理或者使用。如果需要，可以通过其他手段对该数据进行传输以到达远程位置，或根据需要再输送到其他位置。

在上述实施例的一个变化中，有可能将每个阵列组件 15 都包含在适当的外罩中。此类外罩可以包括通常被隔片所封闭的封闭的腔室，可以通过一个或多个端口对其进行访问，并且所述外罩承载着基片 10。在这种情况下，位于基片 10 上的所有阵列的标识符可以通过被施加到所述外罩上而与它们相关联。也应当意识到，可以通过前面没有提及的任何其他方法或装置来阅读阵列，其中，其他的阅读方法包括其他的光学技术（例如检测化学发光或电发光标记）或电学技术（其中对每个特征提供了电极，以
25 检测该特征处的杂交，其方式如 US 6,251,685, US 6,221,583 等所公开的）。对于从特征获得信号数据（特征提取），其中在此操作中特征及其相应的信号在所读取的阵列图像中被识别，可以按照下述专利中描述的过程进行：序列号为 09/589046, 09/659415 以及 10/086839 的美国专利申请，其标题均为“Method And System For Extracting Data From Surface Array

Deposited Features”。

在图 1—3 所示出的实施例中，被阵列间区域 14 包围的承载阵列 12a 的每一个区域的边界 19（由刚好接触阵列 12a 最外侧特征 16 的最外面边界的线所定义）提供了表面能突变区，以维持施加到阵列上的分离的液体样品之间的分离。但是这并不是必需的。例如，在阵列和这样的表面能突变区之间可以有一个间隙，其中，在该间隙处提供了比阵列 12a 疏水性更小的其他组分（则表面能突变区位于该成分和疏水性更强的阵列间区域 14 之间）。在另一个替换实施例中，阵列不必是均匀布置的。例如，如图 8 所示，阵列 12a 可以包括内部区域 20（以 21 为界）以及包围着内部区域 20 的外部区域 22（也以阵列 12a 的边界 19 为界）。外部区域 22 也可以具有多个特征 24，这些特征 24 可以都具有相同或不同的组成（如果它们所含有的组合物比阵列间区域 14 的亲水性更强的话）。例如，特征 24 可以是具有相同序列的多聚核苷酸。特征 24 所占外部区域面积（限定在界线 21 和边界 19 之间）的比例要比特征 16 所占内部区域面积（以界线 21 为界）的比例更大一些。因此，实际上外部区域 22 的亲水性可能比内部区域 20 更大一些。注意，如果外部区域 22 被亲水性高于阵列间区域 14 的组分所连续填充，那么这将代表一个实施例，其中在阵列和表面能突变区之间有一个间隙，如前面所述。在这种情况下，阵列 12a 的边界在界线 21 处，19 则是表面能突变区。这样，在该实施例中，阵列间区域 14 的疏水性要比被包围区域的边界 19 更强一些。

多聚核苷酸组分或其他部分将沉积于其上的基片表面可以是多孔的或非多孔的，可以是平滑的或基本呈平面状。基片可以是一种材料或者具有多层结构。当希望阵列具有某种图案时，除了图 1 中阵列 12 的有规则行列结构以外，还可以构建出各种几何形状。例如，阵列 12 可以被布置为布满基片表面的一系列曲线的行（例如一系列同心圆状或半圆状的点）等等。相似地，位于阵列 12 内的特征 16 的图案可以与图 2 中特征的有规则的行列状不同，可以包括例如一系列曲线的行（例如一系列同心圆或半圆形）等等。类似地，在阵列 12 中的特征 16 的图案可以不同于图 2 中的特征的若干规则的行或列，特征 16 的图案可以包括例如一系列的曲线的行

- （例如，例如一系列同心圆或半圆形的点）等等。虽然可以采用各种特征布置方式，但应该向用户提供某些能够确认特征的至少某些特性（例如下列的任何一种或多种：特征的组分、位点、尺寸、以在与不同样品结合图案的变化的显著性的形式给出的表现特性等）的方式（例如通过阵列标识符）。可以根据制造、处理和使用方面的考虑对阵列的布置方式进行选择。本方法和装置可以与前述的类似的方式，用于制造和使用表面上具有其他生物大分子、聚合物或其他部分的阵列，其方式与前面所述的相同。相应地，当提到聚合物、生物大分子或多聚核苷酸等时，往往可以替换为“化学部分”。
- 5
- 10 当然可以对上述具体实施例进行各种进一步的修改。因此，本发明并不限于前面详细描述的具体实施例。

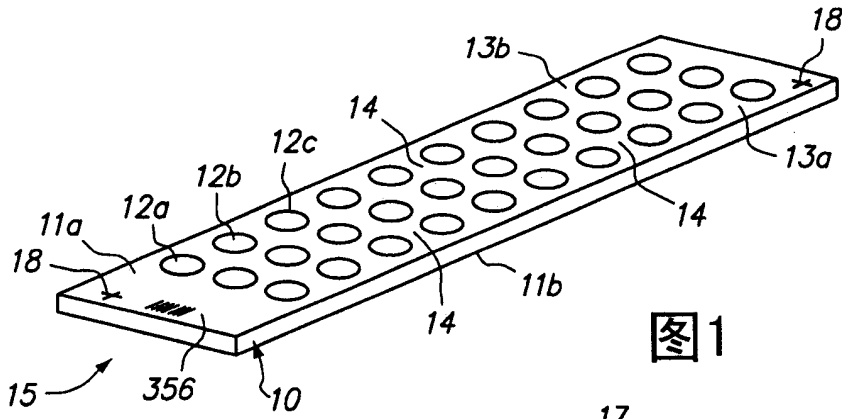


图1

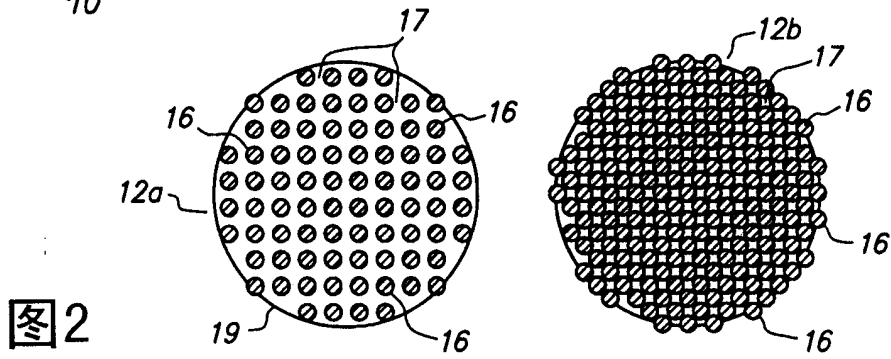


图2

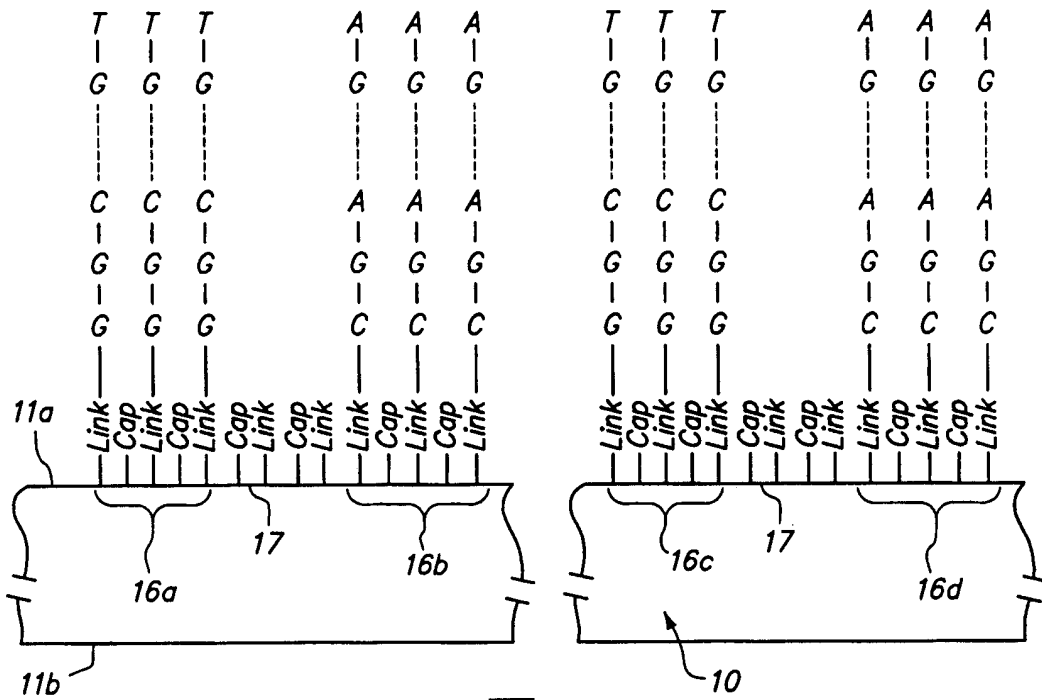


图3

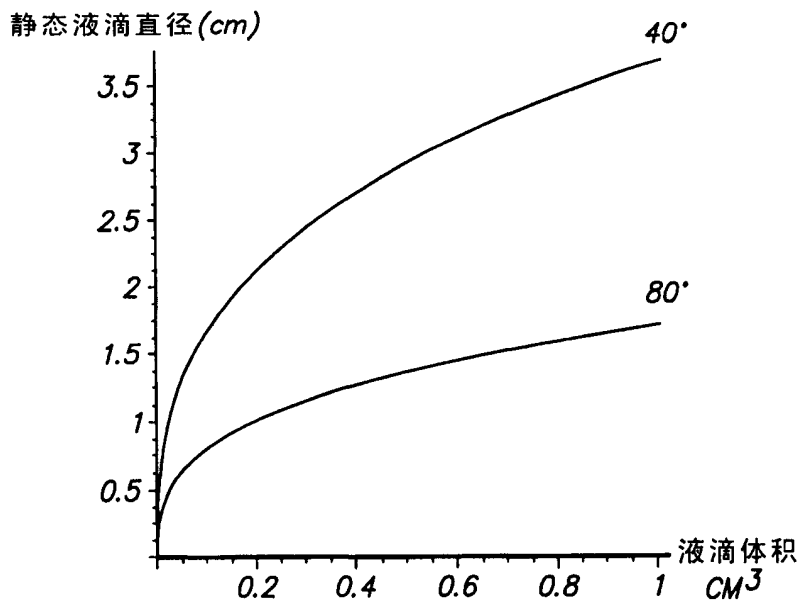


图4

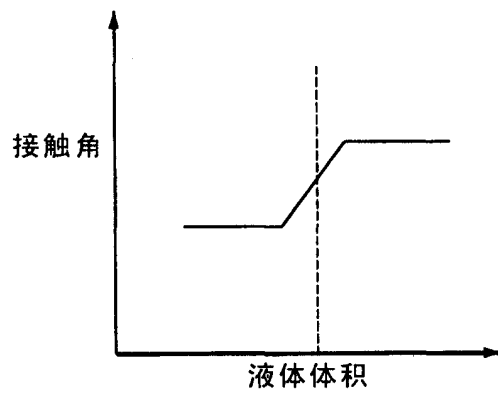


图5

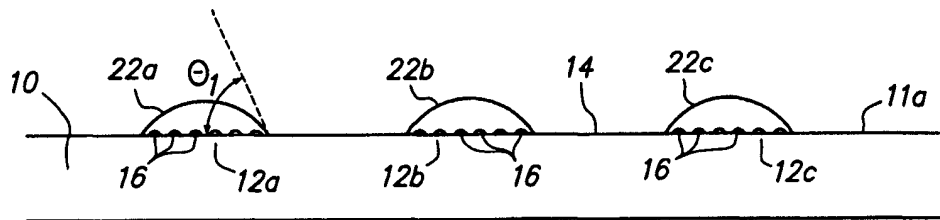


图7

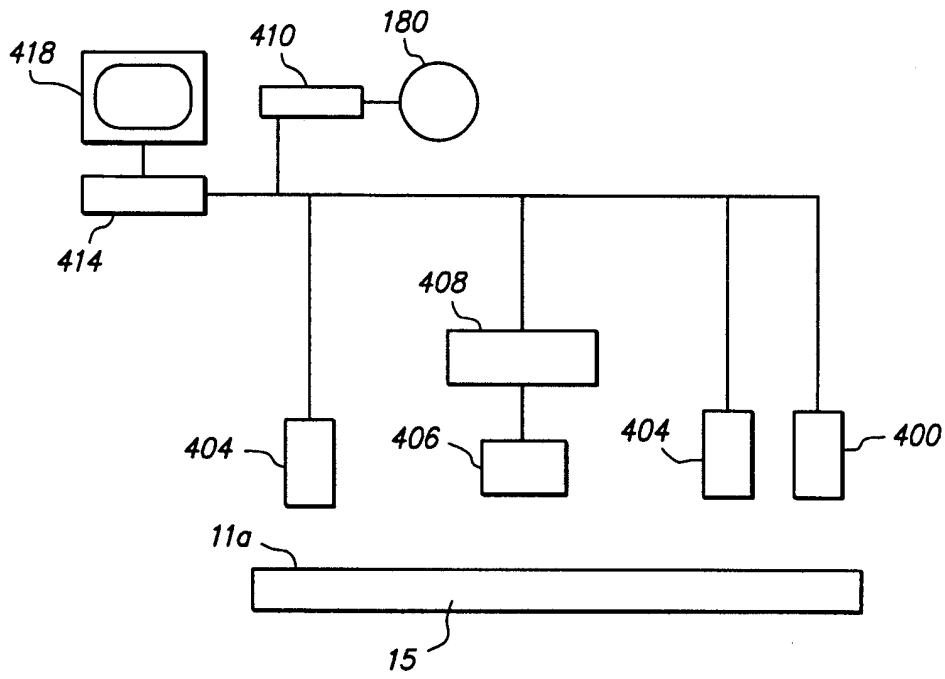


图6

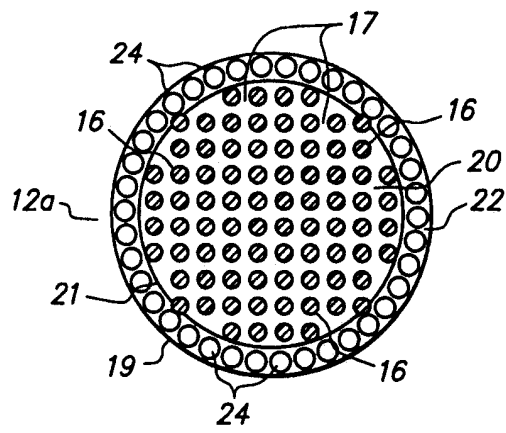


图8