

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006.01)

G09F 3/02 (2006.01)

C07H 21/00 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03155949.2

[45] 授权公告日 2007 年 11 月 7 日

[11] 授权公告号 CN 100347315C

[22] 申请日 2003.8.27 [21] 申请号 03155949.2

[30] 优先权

[32] 2002.8.30 [33] JP [31] 2002-294229

[73] 专利权人 利菲克斯控股有限公司

地址 英属维京群岛托尔托拉岛罗德城

[72] 发明人 许俊杰 梁明华 詹淳胜

[56] 参考文献

US4994373A 1991.2.19

审查员 柯 珂

[74] 专利代理机构 北京银龙知识产权代理有限公司

代理人 钟 晶

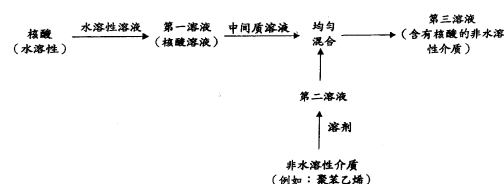
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 1 页

[54] 发明名称

将核酸溶于非水溶性介质的方法及其应用

[57] 摘要

本发明是关于一种将核酸溶于非水溶性介质的方法及其应用，特别是指一种通过添加中间质溶液使水溶性核酸溶液与液化的非水溶性介质能够均匀混合，以获得含有核酸的非水溶性介质，并可利用溶于非水溶性介质的核酸作为防伪标记，标示固体或液体目标物。



1. 一种将核酸溶于非水溶性介质的方法，其特征是至少包含下列步骤：

将核酸溶解于水溶性溶液中，形成第一溶液；

将非水溶性介质溶于溶剂中，形成第二溶液；

添加中间质溶液于该第一溶液中；以及

混合该含有中间质的第一溶液与该第二溶液以形成含有核酸的第三溶液；

其中，该非水溶性介质为一惰性介质且不会破坏核酸结构，该中间质溶液为一极性介于第一溶液与第二溶液之间的溶液；

其中，该非水溶性介质包含选自由聚丙烯、聚碳酸酯、聚苯乙烯组成的族群中的聚合物，该溶剂包含选自由氯仿、二氯甲烷、苯类溶剂组成的族群中的有机溶剂，该中间质溶液包含选自由酒精、丙酮及其混合物所组成的族群中的有机溶剂；

该中间质溶液的添加量为非水溶性介质的 5 体积%至 50 体积%。

2. 如权利要求 1 所述的将核酸溶于非水溶性介质的方法，其特征是该核酸选自由天然核酸及人工合成核酸所组成的族群。

3. 如权利要求 2 所述的将核酸溶于非水溶性介质的方法，其特征是该人工合成核酸包含人工合成的载体或人工合成的核酸片段。

4. 如权利要求 1 所述的将核酸溶于非水溶性介质的方法，其特征是该水溶性溶液包含水或 TE 缓冲溶液或 PBS 缓冲溶液。

5. 一种含有核酸的非水溶性介质溶液，其特征是由权利要求 1 所述的将核酸溶于非水溶性介质的方法制备得到。

6. 权利要求 5 所述的含有核酸的非水溶性介质溶液的应用，其特征是包括将该含有核酸的非水溶性介质溶液涂抹于固体物上以及干燥涂有该溶液的固体物的步骤。

7. 权利要求 5 所述的含有核酸的非水溶性介质溶液的应用，其特征是包括将该含有核酸的非水溶性介质溶液与液体混合物混合的步骤。

将核酸溶于非水溶性介质的方法及其应用

技术领域

本发明是关于一种将核酸溶于非水溶性介质的方法及其应用，特别是指一种通过添加中间质溶液使水溶性核酸溶液与非水溶性的介质均匀混合，以获得含有核酸的非水溶性介质。

背景技术

随着生物科技产业的蓬勃发展，生物技术的应用愈来愈广，不仅是在医药方面的运用，例如：疾病的预防、检验与治疗；在农业上的开发，例如农作物的品种改良、家禽家畜的育种养殖；更进一步结合电子数字系统，将个别生物体的独特性质转换成数字讯号，例如：利用声音操控家电用品、透过指纹或虹膜辨识的保全系统等等。因此，可以知道结合生物科技并运用至日常生活中是未来科技发展必然的趋势。

核酸包含去氧核糖核酸（即 DNA）及核糖核酸（即 RNA），是负责传递遗传信息的生物分子，组成核酸的单元体核苷酸中的含氮碱基（嘌呤或嘧啶）具有专一性的配对方式，在去氧核糖核酸（简称为 DNA）中，A 与 T 配对，中间以两个氢键连接。在核糖核酸（简称为 RNA）中 A 与 U 的间以两个氢键连接。不论是在 DNA 或 RNA，C 与 G 配对，中间以三个氢键连接。透过不同排列组合所得到的各种不同序列的核酸分子，在生物体内称为基因，带有各种不同的信息。其高度专一性的配对与不受高温破坏特性使不同序列的核酸分子在实验室中经常被当作标记使用，透过聚合酶连锁反应及序列分析来检验特定基因序列及分布。

现有的防伪辨识方式主要有两种：除了产品本身特殊的设计及造型，就是以外加标记的方式来达到辨识的目的。传统的标记多以物理性质或化学反应来设计，例如：磁性条形码、雷射标记图案、光变色或感热型油墨；其易被人模仿、破坏，而丧失防伪功能；发明人想到若可以进一步利用核酸分子作为防伪标记，其不容易被识破、也不易仿冒，将是一种十分有效的防伪标记。

但是，众所皆知核酸为高度水溶性的分子，很容易溶于水溶性溶液中，例如：PBS 或 TE 缓冲溶液，但尚无法溶解于非水溶性的溶剂或介质中。目前所应用的类似技术是将 DNA 水溶性溶液直接涂布在所欲辨识的标的物表面，干燥后作为一种辨识标示。然而，其最大的缺点在于水溶性 DNA 溶液容易脱落，亦即 DNA 标记无法长期完整地附着在所欲辨识的标的物上，因而丧失其防伪标示功能。

发明内容

本发明的主要目的在于提供一种将核酸溶于非水溶性介质的方法，其利用添加中间质的过程(Intermediate process)使核酸溶液与液化的非水溶性介质均匀混合，形成单一相含有核酸的非水溶性介质。

本发明的另一目的在于提供一种将核酸溶于非水溶性介质所形成的溶液的应用，是将含有已知序列核酸的非水溶性介质涂布在欲辨识的固体标的物上或与液体标的物混合，使该标的物具有特定的核酸标记。

本发明的又一目的在于提供一种含有核酸的非水溶性介质，其具有可塑性可以牢固附着在标的物上，不易脱落。

本发明的再一目的在于提供一种含有核酸的非水溶性介质，其中该介质可以保护该核酸分子使其不易被分解破坏。

为了达到上述目的，本发明提供一种将核酸溶解于非水溶性介质的方法，其至少包含下列步骤：首先将核酸溶解于水溶性溶液中以形成第一溶液；将非水溶性介质溶于溶剂中以形成第二溶液；然后添加中间质溶液于该第一溶液中；最后混合该含有中间质的第一溶液与该第二溶液以形成含有核酸的第三溶液。其中该非水溶性介质为一惰性介质且不会破坏核酸结构；该中间质溶液为一极性介于第一溶液与第二溶液的间的溶液。

本发明附加的利益、目的及特色将通过下面的部分来加以描述，熟知技艺者可由下面的具体实施例及描述而了解、并实施本发明。本发明的目的及其它优点可以通过本说明书及其权利要求书所撰写的内容，加上流程图所描绘指示的步骤来实现。

附图说明

图1是本发明将核酸溶于非水溶性介质的方法流程图。

具体实施方式

为对本发明的结构、特征及所欲达成的功效有一完整而详尽的认识与了解，现配合附图和实施例做一详细说明。

在本文中“核酸”一词代表去氧核糖核酸（即DNA）及核糖核酸（即RNA）的总称。

请参阅图1，是本发明将核酸溶于非水溶性介质的方法流程图。其至少包含下列步骤：首先，分别将核酸溶解于水溶性溶液中，形成第一溶液；将非水溶性介质溶于溶剂中，形成第二溶液；然后添加中间质溶液于该第一溶液中；最后混合该含有中间质的第一溶液与该第二溶液以形成含有核酸的第三溶液。

上述非水溶性介质为一惰性介质，其不会破坏核酸结构，在此可列举的例子包含聚合物，选自由聚丙烯(polypropylene, PP)、聚碳酸酯(polycarbonate)及聚苯乙烯(polystyrene, PS)组成的族群。在本发明中较佳的非水溶性介质是聚苯乙烯。

上述溶剂包含有机溶剂，其中该有机溶剂选自由氯仿、二氯甲烷、苯类溶剂所组成的族群。

上述核酸包含天然与合成的核酸。所谓“天然”核酸选自由原核生物，例如：细菌；真核生物，例如：植物、动物，病毒，菌物(fungi)及其它生物、组织所萃取的核酸。“合成”核酸包含人工合成的载体、片段所组成的族群。

上述水溶性溶液，选自由水、TE缓冲溶液及PBS缓冲溶液组成的族群。

上述中间质溶液为极性介于第一溶液与第二溶液的间的溶液，其用以增加水溶性核酸溶液在非水溶性介质的溶解度。该中间质溶液包含有机溶剂。其中该有机溶剂选自由酒精、丙酮及其混合物组成的族群。上述中间质溶液的添加量约为非水溶性介质的5%至50%。

以含有核酸的非水溶性介质作为标记用途时，是将已知序列的核酸

溶于水或水溶性缓冲溶液中，形成第一溶液；将非水溶性介质溶于溶剂中，形成第二溶液；然后添加中间质溶液于该第一溶液中；最后混合该含有中间质的第一溶液与该第二溶液以形成含有核酸的第三溶液，亦即含有已知序列核酸的非水溶性介质。将该含有已知序列核酸的非水溶性介质涂抹在固体标的物上或与液体标的物混合，使该标的物具有核酸标记。

上述的非水溶性介质为一惰性介质，其不会破坏核酸结构，在此可列举的例子包含聚合物，选自聚丙烯(polypropylene, PP)、聚碳酸酯(polycarbonate)及聚苯乙烯(polystyrene, PS)组成的族群。在本发明中较佳的非水溶性介质是聚苯乙烯。

上述的溶剂包含有机溶剂，其中该有机溶剂选自氯仿、二氯甲烷、苯类溶剂所组成的族群。

在此所使用的核酸包含天然与合成的核酸。所谓“天然”核酸选自原核生物，例如：细菌，真核生物，例如：植物、动物，病毒，菌物(fungi)及其它生物、组织所萃取的核酸。“合成”核酸包含人工合成的载体、片段所组成的族群。

上述的水溶性溶液，选自水、TE 缓冲溶液及 PBS 缓冲溶液组成的族群。

上述中间质溶液为极性介于第一溶液与第二溶液的间的溶液，其用以增加水溶性核酸溶液在非水溶性介质的溶解度。该中间质溶液包含有机溶剂。其中该有机溶剂选自酒精、丙酮及其混合物组成的族群。上述中间质溶液的添加量约为非水溶性介质的 5%至 50%。

上述的固体标的物在此可列举的例子，包含：古董、雕塑品、珠宝首饰品、画作、金融卡、信用卡、其它辨识用卡片及其它收藏品。上述的液体标的物在此可列举的例子，包含：油墨、油漆、润滑油、汽油、颜料、化妆品、印泥及胶水。

此外，该含有核酸的非水溶性介质可以直接当作原料，制成各种含有核酸标记的产品。

本发明较佳实施例如下：

将去氧核糖核酸(DNA)溶于聚苯乙烯(Polystyrene)的方法。

材料：去氧核糖核酸、水、聚苯乙烯、氯仿、95%乙醇与丙酮（作为中间质溶液）

方法：将 $5\mu\text{g}$ 的去氧核糖核酸溶于 $100\mu\text{l}$ 的水中，将 5g 的聚苯乙烯溶于 50ml 氯仿中，其最后浓度为 10% (w/v)。之后将 $10\mu\text{l}$ 的 95%乙醇与丙酮溶液分别加入上述去氧核糖核酸溶液中，最后将溶于氯仿的聚苯乙烯与含有中间质的去氧核糖核酸溶液充分混合(vigorous vortex)。通过添加的中间质溶液使去氧核糖核酸溶液与溶于氯仿的聚苯乙烯可以完全混合，形成单一相含有去氧核糖核酸的聚苯乙烯（非水溶性介质）。

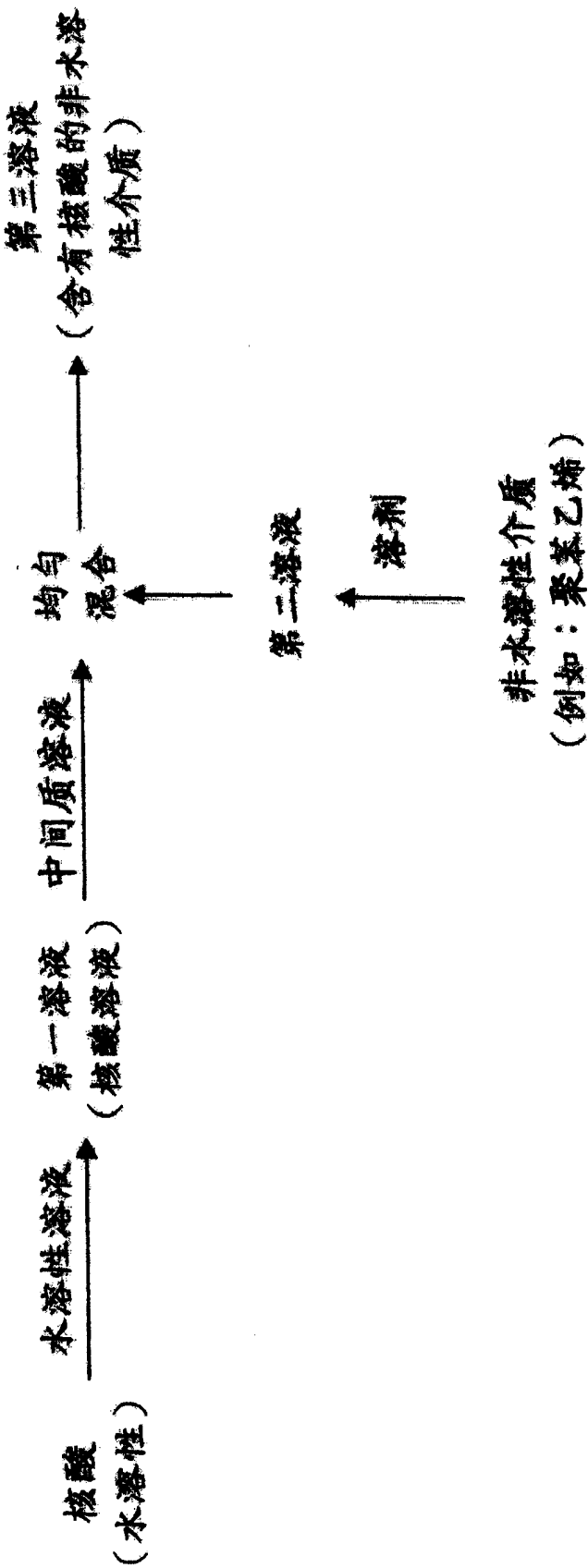


图 1