

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2008 年 7 月 31 日 (31.07.2008)

PCT

(10) 国际公布号
WO 2008/089666 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 33/53 (2006.01) *C12Q 1/68* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2008/000149

(22) 国际申请日: 2008 年 1 月 21 日 (21.01.2008)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
2007100564860
2007 年 1 月 19 日 (19.01.2007) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 天津医科大学 (TIANJIN MEDICAL UNIVERSITY) [CN/CN];
中国天津市和平区气象台路 22 号, Tianjin 300070 (CN)。

(72) 发明人; 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 郭刚 (GUO, Gang)

[CN/CN]; 中国天津市和平区气象台路 22 号, Tianjin 300070 (CN)。 张瑞 (ZHANG, Rui) [CN/CN]; 中国天津市和平区气象台路 22 号, Tianjin 300070 (CN)。
张镜宇 (ZHANG, Jingyu) [CN/CN]; 中国天津市和平区气象台路 22 号, Tianjin 300070 (CN)。 梁东春 (LIANG, Dongchun) [CN/CN]; 中国天津市和平区气象台路 22 号, Tianjin 300070 (CN)。 王宝利 (WANG, Baoli) [CN/CN]; 中国天津市和平区气象台路 22 号, Tianjin 300070 (CN)。 孙蓓 (SUN, Bei) [CN/CN]; 中国天津市和平区气象台路 22 号, Tianjin 300070 (CN)。

(74) 代理人: 中科专利商标代理有限责任公司 (CHINA SCIENCE PATENT & TRADEMARK AGENT LTD.); 中国北京市海淀区王庄路 1 号清华同方科技大厦 B 座 25 层, Beijing 100083 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,

[见续页]

(54) **Title:** A HIGH-THROUGHPUT DETECT TECHNIQUE FOR PROTEIN OR NUCLEIC ACID—MULTI-FORMS OF SUSPENDED MICRO-GRANULAR BIOREACTOR

(54) **发明名称:** 一种蛋白、核酸高通量监测技术-悬浮微粒多形性生物反应器 (MSMB)

(57) **Abstract:** A system belongs to bioengineering technical field, especially a multi-forms suspended micro-granular bioreactor (MSMB). Said bioreactor distinguishes different nucleic acids and proteins by the difference characters of micro-particles suspended in the solution, and realizes mono-particle detection with the flow cytometry through a channel. The detection of nucleic acid hybridization and protein interaction can be qualitatively or quantitatively tested in samples using the UV detector at 254nm and 280nm OD. Said system can detect biologic samples optionally and automatically in high-throughput, high efficiency.

(57) **摘要:**

本发明涉及一种生物工程技术领域的系统, 具体是一种悬浮微粒多形性生物反应器 (Multiforms of Suspended Microgranular Bioreactor (MSMB))。该生物反应器利用悬浮于溶液中的微粒自身性状的不同, 将附着于上的不同核酸探针及蛋白分开, 利用流式细胞仪原理通过通道实现单颗粒检测。核酸杂交及蛋白相互作用的检测仅利用紫外检测器检测颗粒 254 nm 及 280 nm 吸光度的累积值, 就可定性或定量测定样品反应情况。可以实现高通量、高效率、随意组合和自动化地检测生物样品。

WO 2008/089666 A1



KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA,
— 包括国际检索报告。

一种蛋白、核酸高通量检测技术 — 悬浮微粒多形性生物反应器 (MSMB)

5 技术领域

本发明涉及一种生物工程技术领域的系统，具体是一种悬浮微粒多形性生物反应器(Multiforms of Suspended Microgranular Bioreactor (MSMB))。

背景技术

10 目前生物芯片技术得到很大发展，产生了基因芯片，蛋白芯片，组织芯片，微流控芯片，微球芯片。其中基因芯片，蛋白芯片，微流控芯片，由于固定在固相平面上的基因探针和蛋白在与溶液中的核酸及蛋白样品发生杂交反应及蛋白质相互作用时，存在空间位阻效应，造成核酸杂交及蛋白相互作用不能充分反应，使得实验结果变异大，准确性差。因此限制了上述方法的应用。微球芯片虽然解决了空间位阻效应问题，但对于核酸和蛋白的检测不能通用，原理复杂，检测方法多样，且每类微球能标志的种类最多为一百种，失去了生物芯片高通量的特点，而且原理与原始生物芯片概念完全不同，原则上已经不再是生物芯片了。

20 发明内容

悬浮微粒多形性生物反应器是利用悬浮于溶液中的微粒自身性状的不同，将附着于上的不同核酸探针及蛋白分开，利用流式细胞仪原理通过通道实现单颗粒检测。核酸杂交及蛋白相互作用的检测仅利用紫外检测器检测颗粒 254 nm 及 280 nm 吸光度的累积值，就可定性或定量测定样品反应情况。可以实现高通量、高效率、随意组合和自动化地检测生物样品。

一、以高分子为基质制成微粒，将生物大分子 (cDNA 探针、寡核苷酸探针、蛋白质、多肽) 连接到微粒上，悬浮的微粒上的探针或蛋白与样品溶液中的核酸杂交或与样品中蛋白质发生作用，通过流式细胞仪单细胞通道技术检测 (有关参考文献有：1, Taylor JD, Briley D. et al. Flow cytometric platform for high-throughput singlenucleotide polymorphism analysis. Bio

Techniques.2001,30:611~669; 2, Spain M,Mcdade R.A workstation approach to bioassays.IVD Technol.2000,6:35~42; 3, 王建中.临床流式细胞分析[M].上海:上海科技出版社,2005.; 4, 流式细胞仪单平台技术调查成年人外周血 T 淋巴细胞亚群绝对计数参考范围 [J]. 中华检验医学杂志,2003,26:123-126)。

二、利用悬浮于溶液中的微粒自身性状的不同，将附着于上的不同核酸探针及蛋白分开。

1. 利用微粒的形状不同进行分离，分 3 种形状：球体，四面体，立方体。通过检测器识别将不同形状的微粒分开。有关参考文献有：[1]Cheng J,Fortina P,Sorrey S, et al. Microchip- based device fir molecular of genetic disease [J].Molecular Diagnosis,1996:(1), 183- 190; [2]Burt J.P..H., Chan K.L., Dawson, D., Parton A., Pethig R. Assays for microbial contamination and DNA analysis based on electrorotation[J]. Ann. Biol. Clin, 1996, (54): 253- 257; [3]Pohl H A.Dielectrophoresis[M].Cambridge: Cam- bridge University Press, 1978; [4]Jones T B.Electromechamics of particles[M].Cambridge: Cambridge University Press, 1995, 5- 33; [5]Markx GH, Talary MS, Pethig R. Separation of viable and non- viable yeast using dielectroph- oresis [J]. J Biotechnology, 1994, 32(1):29- 34; [6]Pethig R. Dielectrophoresis: using inhomogeneo- us AC electrical fields to separate and manipulate cells[J].Crit. Rev.Biotechnology, 1996,(16):331- 348; [7]Sanders G H W,Manz A. Chip- based Microsystems for genomic and proteomic analysis[J].Treds Anal Chem,2000,19 (6):364- 378; [8]Pethig R, Markx G.H. Applications of dielectrophoresis in biotechnology[J]. Trends in Biotechnology,1997,(15):426- 432; [9]马立人 蒋中华.生物芯片 [M].北京:化学工业出版社,2000.; [10]Pethig R. Dielectric and electronic properties of biological materials[M]. J.Wiley & Sons,1979,186- 206。

2. 利用微粒的大小不同分离，分若干级，通过控制流式细胞仪通道孔径及通过检测器识别将不同大小的微粒分开。有关参考文献有：[1]Cheng J,Fortina P,Sorrey S, et al. Microchip- based device fir molecular of genetic disease [J].Molecular Diagnosis,1996:(1), 183- 190; [2]Burt J.P..H., Chan K.L.,

Dawson, D., Parton A., Pethig R. Assays for microbial contamination and DNA analysis based on electrorotation[J]. Ann. Biol. Clin, 1996, (54): 253- 257; [3]Pohl H A.Dielectrophoresis[M].Cambridge: Cam- bridge University Press, 1978; [4]Jones T B.Electromechanics of particles[M].Cambridge: Cambridge University Press, 1995, 5- 33.; [5]Markx GH, Talary MS, Pethig R. Separation of viable and non- viable yeast using dielectroph- oresis [J]. J Biotechnology, 1994, 32(1):29- 34.; [6]Pethig R. Dielectrophoresis: using inhomogeneo- us AC electrical fields to separate and manipulate cells[J].Crit. Rev.Biotechnology, 1996,(16):331- 348.; [7]Sanders G H W,Manz A. Chip- based Microsystems for genomic and proteomic analysis[J].Treds Anal Chem,2000,19 (6):364- 378.; [8]Pethig R, Markx G.H. Applications of dielectrophoresis in biotech- nology[J]. Trends in Biotechnology,1997,(15):426- 432.; [9]马立人 蒋中华.生物芯片 [M].北京:化学工业出版社,2000..; [10]Pethig R. Dielectric and electronic properties of biological materials[M]. J.Wiley & Sons,1979,186- 206.

3. 利用微粒的颜色不同及深浅不同分离。以 RGB 颜色系统为依据，以红绿蓝三色为基色，通过组合方式及颜色深浅的不同组成多种颜色，并按颜色深浅分为若干级。有关参考文献：[1]Nagy GR,Ban Z,Sipos F,et al.First attempts of detecting fetal cells in the maternal circulation.Orv Hetil,2004,145:2 231-2 236 ; [2]Taubert H,Blumke K,Bilkenroth U,et al.Detection of disseminated tumor cells in peripheral blood of patients with breast cancer:correlation to nodal status and occurrence of metastases.Gynecol Oncol,2004,92:256 -261.; [3]Sakamoto A,Abe M,Masaki T.Delineation of genomic deletion in cardiomyopathic hamster.FEBS Lett,1999,447:124-128.; [4]Nam JM,Thaxton CS,Mirkin CA.Nanoparticle-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins.Science,2003,301:1 884-1 886.; [5]van Helden J,Denoyel G,Freeman J,et al.Performance of a new HIV 1/O/2 assay on the Bayer ADVIA Centaur immunoassay system.Clin Lab,2004,50:83-90.; [6]Tanaka T,Matsunaga T.Fully automated chemiluminescence immunoassay 30 of insulin using antibody-protein A-bacterial magnetic particle complexes.Anal

Chem,2000,72:3 518-3 522. ; [7]Jaiswal JK,Matoussi H,Mauro JM,et al.Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates.Nat Biotechnol,2003,21:47-51. ; [8]Goldman ER,Clapp AR,Anderson GP,et al.Multiplexed toxin analysis using four colors of quantum dot fluororeagents.Anal Chem,2004,76:684-688.; [9]Wang J,Polsky R,Xu D,et al.Silver-enhanced colloidal gold electrochemical stripping detection of DNA hybridization.Langmuir,2001,17:5 739-5 741.; [10]Csaki A,Moller R,Straube W,et al.DNA monolayer on gold substrates characterized by nanoparticles labeling and scanning force microscopy.Nucleic Acids Res,2001,29:E81.

10 4. 利用微粒的荧光颜色不同及深浅不同分离。将不同光谱的荧光素（比如红色荧光素）每两种以精确的比例掺入高分子为基质的微粒内，根据微粒基质中这两种荧光素的比例不同，可以把微球分为若干种，通过光谱分析能加以区别，并可根据荧光颜色深浅分为若干级。有关参考文献有：
15 [1]Nagy GR,Ban Z,Sipos F,et al.First attempts of detecting fetal cells in the maternal circulation.Orv Hetil,2004,145:2 231-2 236; [2]Taubert H,Blumke K,Bilkenroth U,et al.Detection of disseminated tumor cells in peripheral blood of patients with breast cancer:correlation to nodal status and occurrence of metastases.Gynecol Oncol,2004,92:256 -261.; [3]Sakamoto A,Abe M,Masaki T.Delineation of genomic deletion in cardiomyopathic hamster.FEBS Lett,1999,447:124-128. ; [4]Nam JM,Thaxton CS,Mirkin CA.Nanoparticle-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins.Science,2003,301:1 884-1 886.; [5]van Helden J,Denoyel G,Freeman J,et al.Performance of a new HIV 1/O/2 assay on the Bayer ADVIA Centaur immunoassay system.Clin Lab,2004,50:83-90.; [6]Tanaka T,Matsunaga T.Fully
20 automated chemiluminescence immunoassay of insulin using antibody-protein A-bacterial magnetic particle complexes.Anal Chem,2000,72:3 518-3 522.; [7]Jaiswal JK,Matoussi H,Mauro JM,et al.Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates.Nat Biotechnol,2003,21:47-51.; [8]Goldman ER,Clapp AR,Anderson GP,et al.Multiplexed toxin analysis using
25 four colors of quantum dot fluororeagents.Anal Chem,2004,76:684-688.;

[9] Wang J, Polsky R, Xu D, et al. Silver-enhanced colloidal gold electrochemical stripping detection of DNA hybridization. *Langmuir*, 2001, 17:5 739-5 741.;

[10] Csaki A, Moller R, Straube W, et al. DNA monolayer on gold substrates characterized by nanoparticles labeling and scanning force microscopy. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29:E81.

5. 利用微粒的磁性不同分离。将磁性物质按不同比例掺入高分子为基质的微粒内，在不同磁场强度下吸附分离磁性粒子，内含磁性氧化物粒子的高分子微球，具有超顺磁特性，即在外部磁场作用下，磁性微球可迅速从分散介质中分离出来，撤去外部磁场，磁性微球又可重新悬浮于分散介质中，无残余磁性。

6. 利用微粒的比重不同分离。将不同比重的重金属元素按不同比例掺入高分子为基质的微粒内，制成不同比重的若干级微粒。通过不同比重的杂交缓冲液体将各比重微粒悬浮分开。

7. 利用微粒化学发光强度不同分离。将化学发光物质按不同比例掺入高分子为基质的微粒内，制成功能不同的若干级微粒。利用激光激发微粒发光，利用发光强度不同分离微粒。

8. 利用微粒放射性射线不同及强度不同分离。将放射性核素按不同比例掺入高分子为基质的微粒内，制成放射性强度不同的若干级微粒。利用微粒发出的射线波长不同及强度不同分离微粒。

20 9. 利用其他方法标记微粒进行分离。如用生物素标记标记微粒，将生物素按不同比例掺入高分子为基质的微粒内，制成强度不同的若干级微粒。利用激光激发微粒发光，利用强度不同分离微粒。

以上九类方法可以同时应用于高分子基质的微粒制备中，可根据不同需要进行组合，使每个微粒同时带有以上一种或若干种直至全部信息。如若将第三和第四类方法根据颜色分 20 级，深浅分 10 级；第一类方法分三级；其余方法分 10 级；则最终可制备的微粒为 1.2×10^{11} 种 ($3 \times 10 \times 20 \times 10 \times 20 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10$)，完全满足高通量分析要求。

微粒的分离可分为前处理和流式颗粒单通道分析两个过程。在前处理中，通过比重，磁性的区别将微粒分开进入后处理。在流式颗粒单通道分析中，由不同检测器通过大小、形状、颜色，荧光，化学发光，放射性标

记将微粒分开。

三、附着在微粒上的生物样品定量及定性分析：利用紫外检测器，对通过流式颗粒单通道的携带生物大分子的悬浮微粒进行紫外检测，测定微粒的 254 nm, 280 nm 吸光度值，并进行归类统计。对于痕量样品测定，
5 其定量及定性分析采用放射测定或荧光测定或化学发光测定。

定量分析：

第一步，通过紫外测定未反应的带有各种探针或蛋白质及多肽的微粒的 254nm 或 280nm 吸光度值，作为基础值。

第二步，通过紫外测定该上述的微粒与标准浓度核酸杂交后或与蛋白
10 质反应后的吸光度值，减去基础值建立标准曲线。

第三步，通过紫外测定该组微粒与样品核酸杂交后或与样品蛋白反应后的吸光度值，减去基础值，根据标准曲线计算与该组微粒杂交的样品核酸浓度或与改组微粒反应的样品蛋白的浓度。反应中加入阳性对照及阴性对照作为质控。
15

定性分析：

第一步，通过紫外测定未反应的带有各种探针或蛋白质及多肽的微粒的 254nm 或 280nm 吸光度值，作为基础值。

第二步，通过紫外测定该组微粒与样品核酸杂交后或与样品蛋白反应后的吸光度值，减去基础值，根据差值判断反应的阳性和阴性。反应中加
20 入阳性对照及阴性对照作为质控。

对于痕量样品分析，其定量及定性分析采用放射测定或荧光测定或化
学发光测定。其特征为：

采用放射测定，选择一种放射性同位素标记核酸样品或蛋白样品，并
同时标记标准样品或阳性标本和阴性标本，与微粒上核酸探针杂交或蛋白
25 质相互作用，利用单通道测定其上放射性同位素所发出射线的强度定性定量分析样品浓度或阳性。

采用荧光测定，选择一种荧光素标记核酸样品或蛋白样品，并同时标
记标准样品或阳性标本和阴性标本，与微粒上核酸探针杂交或蛋白质相互
作用，利用单通道测定其上荧光素所发出荧光的强度定性定量分析样品浓
30 度或阳性。

采用化学发光测定，选择一种发光物质标记核酸样品或蛋白样品，并同时标记标准样品或阳性标本和阴性标本，与微粒上核酸探针杂交或蛋白质相互作用，利用单通道测定其上发光物质所发出光的强度定性定量分析样品浓度或阳性。

5

技术优势

高通量：一次可以测定 1.2×10^{11} 以上种样品。

高特异性：核酸杂交及蛋白间相互作用具有高度特异性，不满足的不发生反应。

10 高度的灵活性：九类微粒制备方法可根据需要随意组合。

高度重复性：因为微粒悬浮于溶液中，其上连接的核酸探针及蛋白或多肽可与溶液中的核酸及蛋白样品充分的结合反应，因此获得好的重复性。

15 高度自动化：本项技术检测方法源于流式细胞技术，因此具有高度自动化。

20

25

30

权 利 要 求

1. 一种悬浮微粒多形性生物反应器，其包含悬浮微粒，该悬浮微粒上附有核酸探针或蛋白。
- 5 2. 根据权利要求 1 的生物反应器，其中所述悬浮微粒是以高分子为基质。
3. 根据权利要求 1 的生物反应器，其中所述悬浮微粒在以下性状的一个或多个方面彼此不同：微粒的形状；微粒的大小；微粒的颜色及深浅；微粒的荧光颜色及深浅；微粒的磁性；微粒的比重；微粒化学发光强度；
10 微粒放射性及强度；微粒的其它标记。
4. 根据权利要求 3 的生物反应器，其中所述悬浮微粒上附有的不同核酸探针或蛋白与不同的悬浮微粒的性状分别对应。
5. 一种高通量检测蛋白或核酸的方法，该方法利用权利要求 1 至 4 中任何一项的悬浮微粒多形性生物反应器，其中所述核酸探针或蛋白是利用
15 紫外检测器检测微粒在 254 nm 及 280 nm 下的吸光度来检测的。
6. 根据权利要求 5 的方法，该方法包括分离微粒的过程，该过程包括前处理和流式颗粒单通道分析两个步骤。
7. 根据权利要求 6 的方法，其中所述前处理是通过比重、磁性的区别将微粒分开。
- 20 8. 根据权利要求 6 的方法，其中在流式颗粒单通道分析中，由不同检测器通过大小、形状、颜色、荧光、化学发光、放射性标记将微粒分开。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/000149

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC:G01N33,C12Q1

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI&EPODCO&PAJ&CNKI&CNPAT

Particles, granule, nucleic acid, protein, probe, flow cytometry

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN1854735A (Lin,Yuan) 01 Nov.2006 (01.11.2006) pages2—14	1-8
A	US6225046B1(Graham Vesey et al.)01 May 2001 (01.05.2001) the whole document	1-8
A	CN1268930C(UNIV XIBEI NORTH AMERICA GENE CO LTD SH)09 Aug.2006 (09.08.2006) the whole document	1-8

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“L” document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“&”document member of the same patent family

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

Date of the actual completion of the international search 29.Feb.2008(29.02.2008)	Date of mailing of the international search report 17 Apr. 2008 (17.04.2008)
Name and mailing address of the ISA/CN The State Intellectual Property Office, the P.R.China 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China 100088 Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer BIAN,Xin Telephone No. (86-10)62085677

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2008/000149

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN1854735A	01.11.2006	None	
US6225046B1	01.05.2001	WO9631777A1 AU5137696A EP0819251A1 NZ304235A AU719315B	10.10.1996 23.10.1996 21.01.1998 28.01.2000 04.05.2000
CN1268930C	09.08.2006	CN1580765A	16.02.2005

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/000149

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

G01N33/53 (2006.01) i

C12Q1/68 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2008/000149

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: G01N33, C12Q1

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用))

WPI&EPODCO&PAJ&CNKI&CNPAT

微粒, 粒子, 核酸, 蛋白, 探针, particles, granule, nucleic acid, protein, probe, flow cytometry

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN1854735A (林远) 1.11 月 2006 (01.11.2006) 说明书 2—22 页	1—8
A	US6225046B1(Graham Vesey 等)01.5 月 2001 (01.05.2001) 全文	1—8
A	CN1268930C(陕西西大北美基因股份有限公司)09.8 月 2006 (09.08.2006) 全文	1—8

 其余文件在 C 栏的续页中列出。 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:	"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件
"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件	
"B" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利	"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性
"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件	"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件	
"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期 29.2 月 2008(29.02.2008)	国际检索报告邮寄日期 17.4 月 2008 (17.04.2008)
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088 传真号: (86-10)62019451	受权官员 边昕 电话号码: (86-10) 62085677

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2008/000149

检索报告中引用的专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1854735A	01.11.2006	无	
US6225046B1	01.05.2001	WO9631777A1	10.10.1996
		AU5137696A	23.10.1996
		EP0819251A1	21.01.1998
		NZ304235A	28.01.2000
		AU719315B	04.05.2000
CN1268930C	09.08.2006	CN1580765A	16.02.2005

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2008/000149

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

G01N33/53 (2006.01) i

C12Q1/68 (2006.01) i