

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

G01N 27/414 (2006.01)

G01N 27/00 (2006.01)



## [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480020868.2

[45] 授权公告日 2008 年 12 月 31 日

[11] 授权公告号 CN 100447563C

[22] 申请日 2004.8.27

WO03/052097A1 2003.6.26

[21] 申请号 200480020868.2

US2003-102872A1 2003.6.5

[30] 优先权

US4238757A 1980.12.9

[32] 2003.8.29 [33] JP [31] 306906/2003

US2002/0117659A1 2002.8.29

[86] 国际申请 PCT/JP2004/012363 2004.8.27

JP2001-511245A 2001.8.7

[87] 国际公布 WO2005/022142 日 2005.3.10

审查员 黄斌

[85] 进入国家阶段日期 2006.1.19

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利  
商标事务所

[73] 专利权人 独立行政法人物质·材料研究机构

代理人 李华英

地址 日本茨城县

[72] 发明人 宫原裕二 坂田利弥 釜堀政男  
矢泽义昭

权利要求书 1 页 说明书 15 页 附图 4 页

[56] 参考文献

US4777019A 1988.10.11

CN1317761A 2001.10.17

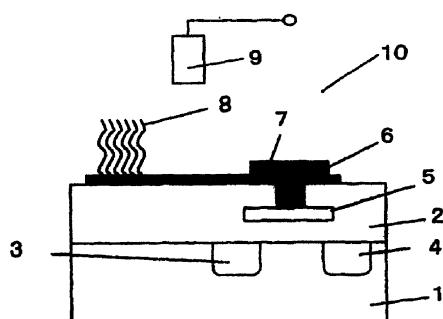
EP0882979A1 1998.12.9

[54] 发明名称

利用生物分子检测元件分析核酸的方法

[57] 摘要

能够以低的运行成本，以高精度进行测定的廉价的 DNA 芯片/DNA 微阵列系统。将 DNA 探针(8)固定在浮动电极(7)的表面上，该电极与场效应晶体管的栅电极(5)连接。与所述浮动电极表面上的靶基因进行杂交，其中利用场效应检测表面电荷密度的变化。



1. 利用生物分子检测元件分析核酸的方法，所述生物分子检测元件包括上面固定有生物分子探针的绝缘栅极场效应晶体管、发射/接收天线、接收电路和发射电路，所述方法包括以下步骤：

将多个生物分子检测元件和缓冲溶液放入反应容器，所述元件包括作为生物分子探针固定在其上的不同类型的单链核酸探针，并且利用外部接收器接收来自每一个所述生物分子检测元件的信号；

将包含至少一种核酸的样品溶液导入所述反应容器，并且用所述单链核酸探针进行杂交；

将嵌入剂溶液导入所述反应容器，并且让它与已经成为双链的核酸起反应；和

利用外部接收器接收来自每一个所述生物分子检测元件的信号。

2. 根据权利要求 1 的分析核酸的方法，其中所述生物分子检测元件包括用于存储识别信息的存储电路，并且其中来自所述生物分子检测元件的信号包括在所述生物分子检测元件中的所述绝缘的栅极场效应晶体管的输出值，和存储在所述存储电路中的识别信息。

## 利用生物分子检测元件分析核酸的方法

### 技术领域

本发明涉及生物技术学，特别是遗传检查领域的技术，如遗传学诊断，DNA 序列分析，和基因多形性分析。具体地讲，本发明涉及适合同时精确地分析多个不同核酸的生物分子检测元件，并且涉及使用所述元件分析核酸的方法。

### 背景技术

随着可以阅读的诸如人类基因组的各种活有机体的基因组序列的速度的快速加快，业已积累了大量的碱基序列数据。从现在起可以预见，将会澄清基因在活的有机体中的功能，并且将在多种领域在与基因相关的技术中取得重大进步，如多种疾病的诊断，药物开发，和农业生产品种的改良。新的领域的上述发展将取决于基因表达和功能数据，以及碱基序列数据。作为用于进行大规模基因功能和表达分析，以便能够进行基因表达的技术。例如，Affymetrix 有限公司和 Nanogen 有限公司业已开发出了 DNA 芯片或 DNA 微阵列。不过，很多现有的 DNA 芯片或 DNA 微阵列的基本原理是基于对荧光的检测，因此它们需要激光或复杂的光学系统，导致了该系统尺寸和成本的增加。

为了解决上述问题，业已报导了现有检测类型的若干 DNA 芯片，其中，组合使用了氧化还原标记。例如，Clinical Micro Sensors 有限公司业已开发了一种系统，其中，将被称为分子导线的分子的一端固定在金属电极上，并且将 DNA 探针结合在它的另一端。基于与靶基因的杂交的电子在氧化还原标记和所述金属电极之间的转移是以电流变化形式检测的，从而检测所述靶基因 (Nature Biotechnology, vol. 16, (1998), p. 27 and p. 40)。

非专利文献 1: Nature Biotechnology, vol. 16, (1998), p. 27

和 p. 40

## 发明内容

### 本发明要解决的问题

很多现有的 DNA 芯片/DNA 微阵列以基于对荧光的检测为基本原理，它们需要激光或复杂的光学系统，导致了该系统尺寸和成本的增加。另外，一般，目前所开发的 DNA 芯片/DNA 微阵列在使用一次之后就要丢弃。如果它们是可以洗涤和再利用的话，它们最多可以使用两次或三次。其结果是，在涉及很多样品或涉及很多样本的基因诊断的分析领域，高的运行成本的问题是无法忽视的。特别是在医学领域，昂贵的检查的普遍使用从降低成本的角度考虑是不理想的。另一方面，在医学诊断领域，即基因诊断领域，需要高水平的精度和定量。因此，存在可满足成本降低和高精度标准的需求。

由于上述电化学检测方法不需要昂贵的激光或复杂的光学系统，与基于荧光检测方法的系统相比，该系统能够缩小尺寸并且降低成本。不过，作为基本检测原理，该方法是基于在金属电极上进行的氧化还原反应实现的，如果在样品中存在氧化物质或还原物质(如抗坏血酸)，基于氧化或还原流的电流会妨碍基因检测，并且会降低检测精度。另外，电流的测定与在金属电极上进行的电极反应的进展相关。因为所述电极反应是不可逆转的，并且构成了不平衡的反应，发生了对所述电极的腐蚀，并且产生了气体，例如。其结果是，电流测定的稳定性受到了负面影响，并且特别是在重复测定时降低了检测精度。

因此，本发明的目的是提供能够以低运行成本进行高精度测定的廉价的 DNA 芯片/DNA 微阵列系统。

## 解决问题的方式

根据本发明，将包括活体相关的物质，如核酸的探针固定在金属表面上，该金属是与场效应晶体管的栅极电连接的，然后在所述金属表面上形成了与目标物质形成的络合物，此时利用场效应检测表面电

荷密度的变化。除了由所述活体相关的物质所携带的电荷之外，导入嵌入剂或将所述络合物与带电荷的颗粒如离子结合，以便表面电荷密度的改变量可以加大，并且可以用大的 S/N 比例检测表面电荷电位的改变。

同时，近年来，无线通信技术业已取得了显著进步，并且业已开发出了无线通信芯片，其中，整合了等同于条形码的标记。在该技术中，可以识别独立的无线通信芯片，并且正考虑将它们用作流通管理芯片。在将这种标记过的无线通信芯片用作 DNA 芯片时，它必须具有低的功耗，因为电力是以无线形式输送的。比电流测量系统消耗更少能量的电压测量系统因此适合基于无线通信的 DNA 芯片。

本发明提供了生物分子检测元件，包括：

具有包埋在绝缘薄膜中的栅电极的绝缘的栅极场效应晶体管；

在所述绝缘薄膜的表面上形成的，并且具有固定在它上面的生物分子探针的固定探针的电极；和

用于将所述栅电极和所述固定探针的电极电连接在一起的连接线，

其中，所述固定探针的电极上的固定所述生物分子探针的部位位于远离紧靠所述栅电极的上方的地方。

在优选实施方案中，所述固定探针的电极从紧靠所述栅电极的上方沿所述绝缘薄膜的膜表面延伸到固定所述生物分子探针的部位，其中，连接线与紧靠所述栅电极上方的所述固定探针的电极连接。在另一种实施方案中，所述固定探针的电极安装在远离紧靠所述栅电极的上方的地方，并且，所述连接线沿所述薄膜表面安装在所述绝缘薄膜内。

所述生物分子探针可以包括核酸，多核苷酸，或合成的寡核苷酸。所述生物分子探针的一端固定在所述固定探针的电极的表面上，并且能与样品中的活体相关的物质专一性地结合和/或反应。所述生物分子探针可以包括单链探针，并且相对探针和互补链之间的专一性结合的检测灵敏度可以通过在经由所述专一性结合形成的双链部分放入嵌入

剂而增强。所述固定探针的电极可以包括金，铂，钯，钛，铬，铝，多晶硅，钽或钼中的一种或这些材料的组合。可以在所述绝缘薄膜上形成发射/接收天线。

本发明还提供了生物分子检测元件，包括：

多个绝缘的栅极场效应晶体管，各自具有包埋在公用绝缘薄膜中的栅电极；

在所述绝缘薄膜的表面上形成的，并且具有固定在它上面的生物分子探针的多个固定探针的电极；和

用于将所述多个绝缘的栅极场效应晶体管所述栅电极的每一个和所述多个固定探针的电极电连接在一起的多个连接线，

其中，所述固定探针的电极上固定所述生物分子探针的部位位于远离紧靠所述栅电极的上方的地方。可以在公用绝缘薄膜中形成发射/接收天线。优选的是，还提供了计算电路、存储电路、接收电路、发射电路和电源电路。在这种情况下，所述电源电路优选将通过所述天线接收的电磁波转化成电能，并且将电能提供给每一个部分。上述电路可以通过现有技术生产。

本发明还提供了使用本发明的生物分子检测元件分析核酸的方法，包括以下步骤：

将单链核酸探针作为生物分子探针固定在所述固定探针的电极上；

将包含至少一种核酸的样品溶液导至所述生物分子检测元件，并且与所述单链核酸探针进行杂交；

将洗涤液导至所述生物分子检测元件，并且除掉所述生物分子检测元件上的未反应的核酸；

将嵌入剂溶液导至所述生物分子检测元件，并且让它与业已成为双链的核酸起反应；

将洗涤液导至所述生物分子检测元件，并且除掉所述生物分子检测元件上的未反应的嵌入剂；和

将缓冲溶液导至所述生物分子检测元件，并且测定所述绝缘的栅

极场效应晶体管的输出值。

本发明还提供了使用本发明的本发明的生物分子检测元件分析核酸的方法，包括以下步骤：

将多个生物分子检测元件和缓冲溶液放入反应容器，所述元件包括上面固定了多种不同类型的单链核酸探针作为生物分子探针的所述固定探针的电极；并且使用外部接收器接收来自每一个所述生物分子检测元件的信号；

将包含至少一种核酸的样品溶液导入所述反应容器，并且与所述单链核酸探针进行杂交；

将嵌入剂溶液导入所述反应容器，并且让它与业已成为双链的核酸起反应；和

使用外部接收器接收来自每一个所述生物分子检测元件的信号。

### 本发明的效果

本发明的生物分子检测元件不需要昂贵的激光器或复杂的光学检测系统。由于本发明的生物分子检测元件是基于对稳态表面电位的检测，与基于电流检测（测量电流的）的系统不同，不存在因为基片腐蚀或气体产生，或由于氧化和/或还原物质的干扰导致的信号值不稳定性的问题。因此，可以高度精确和稳定地进行生物学材料的检测。

### 附图的简要说明

图 1 表示采用本发明的场效应晶体管和浮动栅电极的生物分子检测晶体管。

图 2 表示采用本发明的生物分子检测晶体管的基因检测电路。

图 3 表示组合了本发明的生物分子检测晶体管和嵌入剂的系统。

图 4 表示如何整合本发明的生物分子检测晶体管和天线。

图 5 表示本发明的生物分子检测晶体管和天线的平面布置。

图 6 表示整合了本发明的生物分子检测晶体管和无线通信芯片的系统。

图 7 表示采用了本发明的生物分子检测晶体管的基因分析系统。

### 实施本发明的最佳方式

下面将结合附图对本发明的实施方案进行说明。下面，将 DNA 用作生物分子的例子。

### 实施方案 1

图 1 示意性地表示本发明的生物分子检测元件（生物分子检测晶体管）的剖视图。

绝缘的栅极场效应晶体管是通过在硅基片 1 的表面上形成栅绝缘薄膜 2，源极 3，和漏极 4，并且在所述源极和漏极之间的栅绝缘薄膜上配置栅电极 5 而产生的。在栅电极 5 的表面上还形成了绝缘薄膜，以便栅电极 5 包埋在绝缘薄膜 2 内。在绝缘薄膜 2 上形成通孔，用导电材料形成引出电极 6，并且使其以与栅电极 5 电接触的方式放置。还在所述栅绝缘薄膜上形成了浮动电极 7，并且使其以与引出电极 6 电接触的方式放置。将 DNA 探针 8 固定在浮动电极 7 的表面上。由此生产的基因晶体管在使用时与参考电极 9 一起浸泡在样品溶液 10 中。

栅绝缘薄膜是由二氧化硅 ( $\text{SiO}_2$ )，氮化硅 ( $\text{SiN}$ )，氧化铝 ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )，或氧化钽 ( $\text{Ta}_2\text{O}_5$ )，单独或组合构成的。通常，为了确保令人满意的晶体管工作，让氮化硅 ( $\text{SiN}$ )，氧化铝 ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )，或氧化钽 ( $\text{Ta}_2\text{O}_5$ ) 在二氧化硅 ( $\text{SiO}_2$ ) 上成层，以便产生双层结构。栅电极 5 的材料优选是多晶硅，因为它提供了与所谓自调整工艺的良好的兼容性，其中，所述源极和漏极是通过多晶硅栅极离子注射形成的。例如，将引出电极 6 用作导线的一部分，并因此优选用具有低电阻和良好的蚀刻加工能力的材料制成。其例子包括多晶硅、铝和钼。与样品溶液直接接触的浮动电极 7 优选是用化学上高度稳定的并且表现出稳定电位的材料制成，并且，它对固定所述浮动电极的生物学材料具有高亲和力。例子包括贵金属，如金，铂，银，和钯。所述引出电极和浮动电极可以用相同的材料，如金，通过使用用于成型浮动电极的图案形成方法，

如搬走 (lift off) 方法制成。

根据本实施方案的所述生物分子检测晶体管，消除了将 DNA 探针 8 固定在晶体管的源极和漏极之间的通道上的必要性，因此，DNA 探针 8 可以通过延长浮动电极 7 或引出电极 6 在芯片上的任何位置形成，参见图 1。结果，例如，与所述样品溶液接触的 DNA 探针 8 的形成部位和形成电路的所述晶体管的部位可独立地分布在所述芯片上，这使得可以进行高度可靠地测定。通常，在用于生物学分子检测目的的芯片中，必须分别固定不同的生物分子。为此，所述生物分子检测芯片的尺寸比常规半导体芯片的尺寸大，并且生物分子检测芯片甚至还做得像载玻片那么大 (26 mm × 76 mm)。尽管出于降低价格的考虑，优选将本发明的生物分子检测晶体管设计成具有大约 5 mm 见方的小的尺寸，但本发明的构思可应用于其尺寸大约为载玻片的尺寸的芯片。

使用寡核苷酸片段或 cDNA，DNA 探针 (生物分子探针) 8 通常包括不超过 300 个碱基。在使用寡核苷酸时，所述核酸片段的长度优选不超过 80 个碱基，例如，为了将 DNA 探针 8 固定在浮动栅电极 7 的表面上，用氨基 (NH<sub>2</sub> 基团)，硫醇基 (SH 基团)，或生物素对所述 DNA 探针的一端进行化学修饰。例如，在使用用氨基修饰的 DNA 探针时，用氨基丙基乙氧基硅烷或聚赖氨酸对所述栅电极的表面进行化学修饰，以便将氨基基团导入所述栅极表面。然后将用氨基通过与戊二醛或亚苯基二异氰酸酯 (PDC) 起反应而进行化学修饰的 DNA 探针固定在所述栅极表面上。当用硫醇基进行化学修饰的 DNA 探针被固定在所述栅电极表面上时，将金用作所述栅电极，并且利用硫醇基和金之间的亲和力对所述 DNA 探针进行固定。另外，在固定用生物素进行化学修饰的所述 DNA 探针时，将抗生物素蛋白链菌素导至所述栅电极表面上，并且利用生物素和抗生物素蛋白链菌素之间的亲和力将所述 DNA 探针固定在所述栅表面上。当在实践中固定所述 DNA 探针时，将含有所述 DNA 探针的溶液滴加或单独点在所述浮动电极表面上。

为了稳定地测定在所述生物分子检测晶体管的所述栅电极表面上发生的化学反应而导致的电位改变，安装参考电极 9，由它提供电位

测量的参考。参考电极通常是通过将银/氯化银电极或光敏电极浸泡在具有预定组成和浓度的内在溶液中制备的。由于所述工作点是通过改变所述生物分子检测晶体管的电学特征进行调整的，可以在参考电极 9 上施加预定的电压。

如果在包含要测定的靶基因的所述样品中有多个基因，并且固定在所述生物分子检测晶体管的栅极上的 DNA 探针具有互补于靶基因的碱基序列的话，所述靶基因和 DNA 探针能在合适的反应条件下杂交并形成络合物。在用于反应的缓冲溶液的合适 pH 条件下，DNA 是带负电荷的。因此，通过杂交形成的络合物导致了靠近 FET 的栅极的电荷密度的变化，这种变化导致了所述栅极表面电位的改变。这种改变产生等同于在 FET 上的栅电压改变的作用，由此发生通道导电性变化。因此，所述络合物的形成，即所述靶基因的存在，可以经由通过源极 3 和漏极 4 的漏极电流的变化进行检测。

例如，基因分析是使用本实施方案所述生物分子检测晶体管按照以下方法进行的，例如，

首先，将本发明的生物分子检测晶体管和 0.5 ml 的缓冲溶液放入反应容器，并且测定晶体管信号。然后按以下步骤 (a) - (e) 进行基因分析。

(a) 将包含至少一种类型 DNA 的样品溶液导入反应容器，并且在预定温度下让所述 DNA 与导电电极上的单链 DNA 探针杂交。

(b) 将洗涤液导入反应容器，并且除掉所述基片上的未反应的 DNA。

(c) 将嵌入剂溶液导入反应容器，并且让它与业已成为双链的 DNA 起反应。

(d) 将洗涤液导入反应容器，并且除掉所述基片上的未反应的嵌入剂。

(e) 将缓冲溶液导入反应容器，并且测定所述绝缘的栅极场效应晶体管的输出值。

为了简化和加快所述测定，可以跳过步骤 (b) 和 (d)。

## 实施方案 2

图 2 示意性地表示基因检测系统，其中使用了根据第一种实施方案所述的所述生物分子检测晶体管。在该系统中，除了图 1 所示生物分子检测晶体管 11 之外，还使用了参考晶体管 12，并且使用两个晶体管进行差动式测量。

在所述生物分子检测晶体管的栅极表面上固定了其碱基序列与样品中的靶基因的碱基序列互补的 DNA 探针 8。另一方面，在所述参考晶体管的栅极表面上，固定了其碱基序列不同于所述靶基因的互补碱基序列的 DNA 探针 13。为了稳定地测定所述生物分子检测晶体管和所述参考晶体管的表面电位，提供了参考电极 9，作为电位测量的参考。所述所述生物分子检测晶体管和所述参考晶体管的表面电位是通过驱动电路 14 测定的，并且通过差动式测量电路 15 将测量信号反馈给信号处理电路 16。

通过由此进行的差动式测量，随着环境温度或光学条件的变化而变化的晶体管的不同的电学特征导致的输出值的变化可以得到补偿。另外，还可以补偿由于样品中带电荷的颗粒在所述栅上的非专一性吸收而导致的输出值的改变，从而使得由于靶基因和 DNA 探针本身之间的杂交而产生的输出的变化能够以高精确度排他性地检测到。

所述生物分子检测晶体管和所述参考晶体管理想的是具有相同的电学特征。因此，优选使用整合在相同基片上的一对晶体管。当多个生物分子检测晶体管被整合，以便同时测定多个基因时，所述参考晶体管可以是共用的。在这种场合下，将不同的生物分子检测晶体管和共同的参考晶体管用于差动式测量。

## 实施方案 3

图 3 示意性地表示采用图 1 所示生物分子检测晶体管的测量系统的另一种例子的剖视图。在该测量系统中，整合了三个 FBTs。将第一生物分子检测晶体管 17 用于检测第一靶基因。将第二晶体管 18 用于

检测所述第二靶基因。将第三晶体管 19 用作所述参考晶体管。在所述第一和第二生物分子检测晶体管的所述栅电极上，分别固定了具有互补于所述第一和所述第二基因的碱基序列的 DNA 探针。在参考参考 FET 的所述栅电极的表面上固定了具有不同于所述第一或第二基因的互补碱基序列的碱基序列的 DNA 探针。

图 3 所述状态是这样的，其中，仅含有所述第一基因的样品溶液业已导入上述集成晶体管，并且与所述靶基因杂交，然后添加嵌入剂。所述第一基因只能与第一生物分子检测晶体管 17 的 DNA 探针杂交，以便形成双链。嵌入剂 20 只能与所述双链 DNA 本身反应并且与它结合，不能结合单链 DNA。由于所述嵌入剂带电荷，所述第一生物分子检测晶体管 17 本身的表面电荷密度发生了改变，导致其输出信号的改变。所述第二生物分子检测晶体管 18 和参考晶体管 19 的表面电荷密度没有改变，因此它们的输出信号没有变化。因此，通过在所述第一生物分子检测晶体管 17 和参考晶体管 19 之间，以及在所述第二生物分子检测晶体管 18 和所述参考晶体管 19 之间进行差动式测量，只有前者的输出信号会发生改变，从而可以检测所述第一靶基因。例如，作为嵌入剂可以使用溴化乙锭，Hoechst 33258，或 PicoGreen。

下面将说明测量的一种例子。已知醇脱氢酶-相关基因具有单一核苷酸多形性(SNPs)。合成了长度为 17 个碱基的第一和第二 DNA 探针，它们各自包括位于 SNP 位点前面的 8 个碱基和位于该位点后面的 8 个碱基：所述碱基序列如下：

第一 DNA 探针：5' -CATACACTAAAGTGAAA-3' (SEQ ID NO: 1)

第二 DNA 探针：5' -CATACACTGAAGTGAAA-3' (SEQ ID NO: 2)

从 5' 末端算起的第九个位点是 SNP 位点，对于所述第一 DNA 探针来说该位点是 A，而对于所述第二探针来说该位点是 G。将所述第一和第二 DNA 探针固定在浮动电极上，浮动电极分别与所述第一和第二晶体管的栅极连接。为了固定 DNA 探针，用硫醇基对 DNA 探针的 5' - 末端进行修饰。在本实施方案中，与所述 FET 的栅极连接的浮动电极包括金浮动电极，在它的表面上固定了上述 DNA 探针。在与所述参考

晶体管的栅极连接的浮动电极上，合成并且固定了其序列不同于所述第一或第二 DNA 探针的序列的 DNA 探针，即长度为 17 个碱基的仅仅由 A 组成的 DNA 探针。或者，没有在与所述参考晶体管的栅极连接的浮动电极上固定 DNA 探针。

作为样品，从血液中的白血细胞中提取人类基因组，并且扩增了包括上述 SNP 位点的长度为 100 个碱基的片段。然后，将该片段导入所述第一和第二生物分子检测晶体管以及所述参考晶体管，然后在 45°C 下进行杂交 8 个小时。在杂交之后，用缓冲液进行洗涤，以便除掉未反应的样品，然后导入嵌入剂。为了测量，将缓冲溶液导入所述第一和第二生物分子检测晶体管以及所述参考晶体管，并且测定每一个晶体管的输出电压，测量所述第一生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出，以及所述第二生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出。然后，导入所述样品，随后进行杂交和洗涤。然后将 Hoechst 33258 作为嵌入剂导入，并且测定每一个晶体管的输出电压，测量所述第一生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出，以及所述第二生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出。这样，测定了在导入所述样品和嵌入剂之前和之后的输出电压的变化。

测量结果如下：对于具有对应于所述第一 DNA 探针的碱基序列的碱基序列的样品（正常）来说，在导入所述样品溶液之后和在导入嵌入剂之后，所述第一生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出分别为 15.0 mV 和 -12.0 mV。因为所述溶液中的 DNA 是带负电荷的，n-通道 FET 的输出是向正方向偏移的。另一方面，由于在所述溶液中所述嵌入剂是带正电荷的，所述 FET 的输出是向负方向偏移的。在导入所述样品溶液之后和在导入嵌入剂之后，所述第二生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出分别为 1.5 mV 和 -0.5 mV，因此表明了显著差异。所述嵌入剂只能与双链 DNA 起反应，并且具有与所述 DNA 相反的电荷，因此，所述嵌入剂不会对非专一性吸附在所述浮动电极上的单链 DNA 作出反应。因此，可以明确区分由于所述单

链 DNA 的非专一性吸附所产生的信号和由于基于双链 DNA 的杂交所产生的信号。

对于具有对应于所述第二 DNA 探针的碱基序列的碱基序列的样品（突变体）来说，在导入所述样品溶液之后和在导入嵌入剂之后，所述第一生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出分别为 2.3 mV 和 0.7 mV。另一方面，所述第二生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出分别为 11.0 mV 和 -8.0 mV，因此同样表明了显著差异。

对于具有所述第一 DNA 探针的一半碱基序列和具有所述第二 DNA 探针的一半碱基序列的样品（异型）来说，在导入所述样品溶液之后和在导入嵌入剂之后，所述第一生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出分别为 6.5 mV 和 -4.8 mV。另一方面，所述第二生物分子检测晶体管和所述参考晶体管之间的差分输出分别为 5.5 mV 和 -4.5 mV，因此表现出了几乎为 1: 1 的比例。

因此，通过本发明的 SNP 分析，成功地鉴定了三种类型的样品，即正常/正常同型，突变体/突变体同型，和正常/突变体异型。在使用嵌入剂时，没有必要为了标记目的将标记化合物化学结合在所述样品 DNA 上。

#### 实施方案 4

图 4 和 5 示意性地表示本发明所述生物分子检测晶体管的另一种实施例。所述生物分子检测晶体管等同于图 3 所示的生物分子检测晶体管，在它上面，业已在栅绝缘薄膜 2 上增加了发射/接收天线 21。可以是在形成栅电极 5 的同时形成的天线 21 与包埋在芯片中的发射/接收电路的元件 22 连接。在本实施方案中，参考电极 9 是由 Ti 组成的，在它上面堆积了 Pt，并且是直接在基片上形成的。

在本实施方案中，将引出电极 6 包埋在绝缘薄膜 2 中，并且在里面扩展，浮动电极 7 在它的末端形成。图 5 表示所述实施方案的平面示意图。晶体管的源极 3 和漏极 4，DNA 探针 8 和 13，以及天线 21

可以分别部署在所述芯片上。所述芯片表面上的唯一的暴露部分是浮动电极 7，而 DNA 探针 8 和 13，以及绝缘薄膜 2，并且所述晶体管部分和天线部分是通过绝缘薄膜 2 保护的。由所述生物分子检测晶体管检测的信号可以通过所述天线发送到外部接收器，用于信号加工。由于所述天线包埋在绝缘薄膜 2 中，它不会与所述样品溶液直接接触，所以所述天线不会因为溶液而受到腐蚀或者因为吸附蛋白而导致特征的改变。因此，所述生物分子检测晶体管可能适合用于高度可靠的测量。

图 6 表示一种实施例，其中，整合了本实施方案的生物分子检测晶体管和具有无线通信功能的芯片。在大小为 1 mm 见方的硅基片 1 上形成了所述生物分子检测晶体管的源极 3 和漏极 4，并且通过引出电极 6 连接的浮动电极 7 和所述栅极。将 DNA 探针 8 固定在浮动电极上。在该硅基片上，业已整合了天线 21，计算电路 23，存储电路 24，接收电路 25，发射电路 26，和电源电路 27。如果在样品中存在具有互补序列的靶 DNA 的话，它会与浮动电极 7 上的 DNA 探针杂交形成双链。通过场效应晶体管检测所述双链的形成。在存储电路 24 上保存有能够将一种芯片基片与另一种芯片基片区分开的 ID 信息，例如，DNA 探针序列信息，和编码蛋白信息。这些信息，以及有关杂交反应结果的信息通过天线和发射电路发送到外部接收装置。从所述芯片外面发送的电磁波被所述天线接收，并且通过所述接收电路和电源电路转化成足够的电能，这些电能可以被所述芯片利用。然后将所述电能输送给包括场效应晶体管，发射电路，和存储电路的独立的元件，用于它们的工作。

在本实施方案中，由于识别每一个芯片的信息可与杂交的结果同时获得，多个芯片可以在所述样品中同时起反应，参见图 7。首先，将本发明的生物分子检测晶体管 29 和 0.5 ml 的缓冲溶液放入反应容器 28，并且测量晶体管信号。将所述测量信号发送到外部接收器，然后按照以下步骤 (a) - (f) 进行基因分析：

(a) 将包含至少一种类型 DNA 的样品溶液导入反应容器，并且在

预定温度下进行与导电电极上的单链 DNA 探针的杂交。

(b) 将洗涤液导入反应容器，并且除掉所述基片上未反应的 DNA。

(c) 将嵌入剂溶液导入反应容器，并且让它与双链 DNA 起反应。

(d) 将洗涤液导入反应容器，并且除掉所述基片上未反应的嵌入剂。

(e) 将缓冲溶液导入反应容器，并且测量所述绝缘的栅极场效应晶体管的输出值。

(f) 通过天线将输出值发送到所述接收器。

通过上述两次测量获得的所述生物分子检测晶体管的输出值的差异构成了来自通过杂交形成的双链 DNA 的信号。为了测量来自所述生物分子检测晶体管的信号，例如，在所述晶体管和安装在外面的发射/接收装置 30 之间使用 13.56MHz 的电磁波。通过参考保存在存储电路中的信息，可以分析存在于样品中的 DNA 的类型，它的形状，以及它的序列。另外，由于本发明的芯片采用无线通信技术进行发射/接收，并且用于提供电力，可以将所述芯片直接放入样品进行测量，而不需要任何存在于芯片和外部电路之间的导线。因此，可以制造成简单的样品测量系统。根据实验条件，可以省略洗涤步骤 (b) 和 (d)，并且，所有测量顺序可以用浸没在所述样品溶液中的所述生物分子检测晶体管完成。

---

### 序列表

<110> National Institute for Materials Science

<120> 用于测定生物分子的元件和使用该元件进行核酸分析的方法

<130> PH-2250PCT

<140>

<141>

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成 DNA

<400> 1

catacactaa agtgaaa

17

<210> 2

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成 DNA

<400> 2

catacactga agtgaaa

17

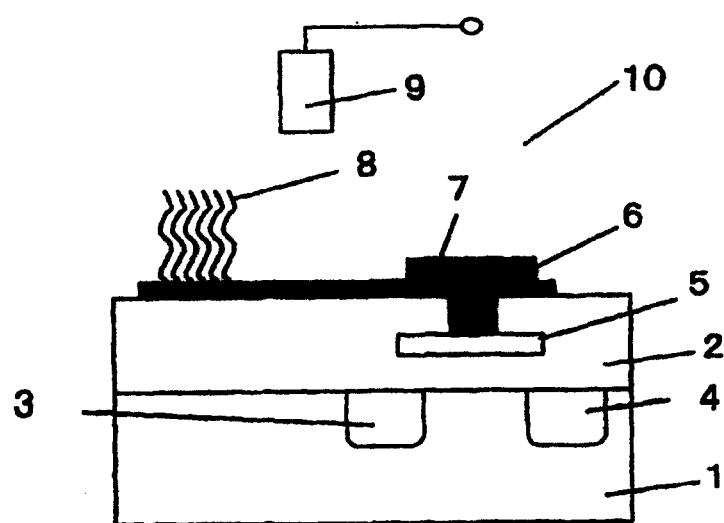


图 1

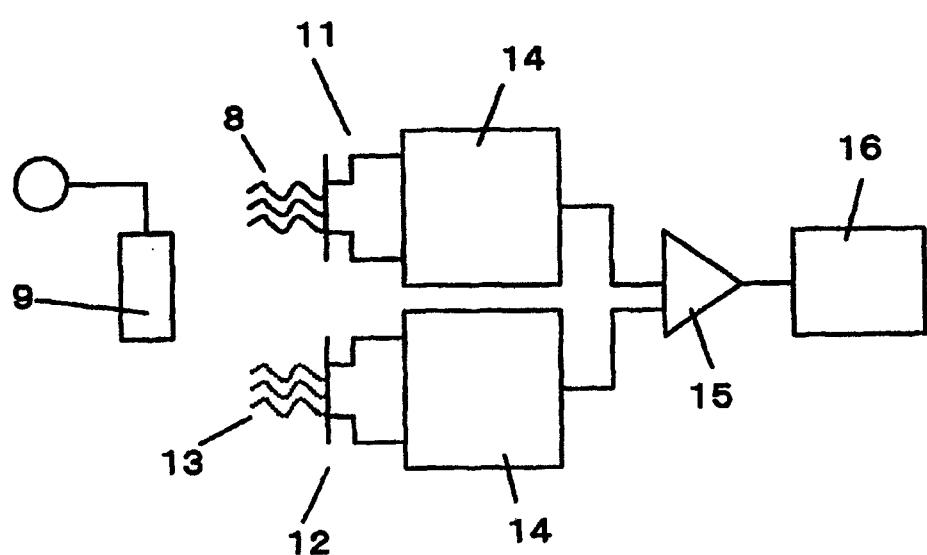


图 2

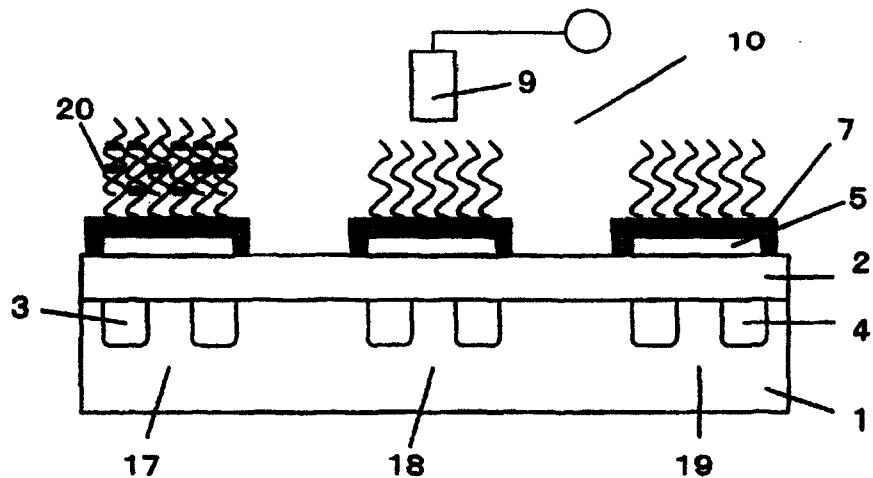


图 3

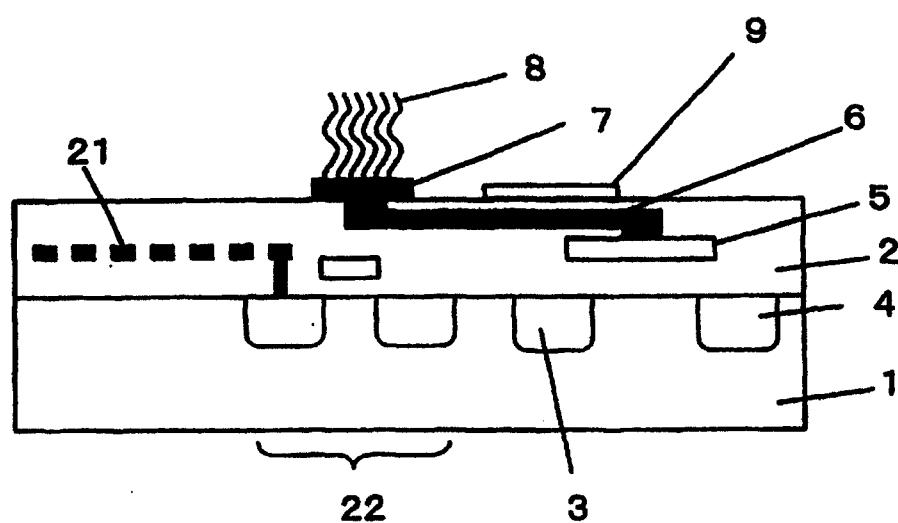


图 4

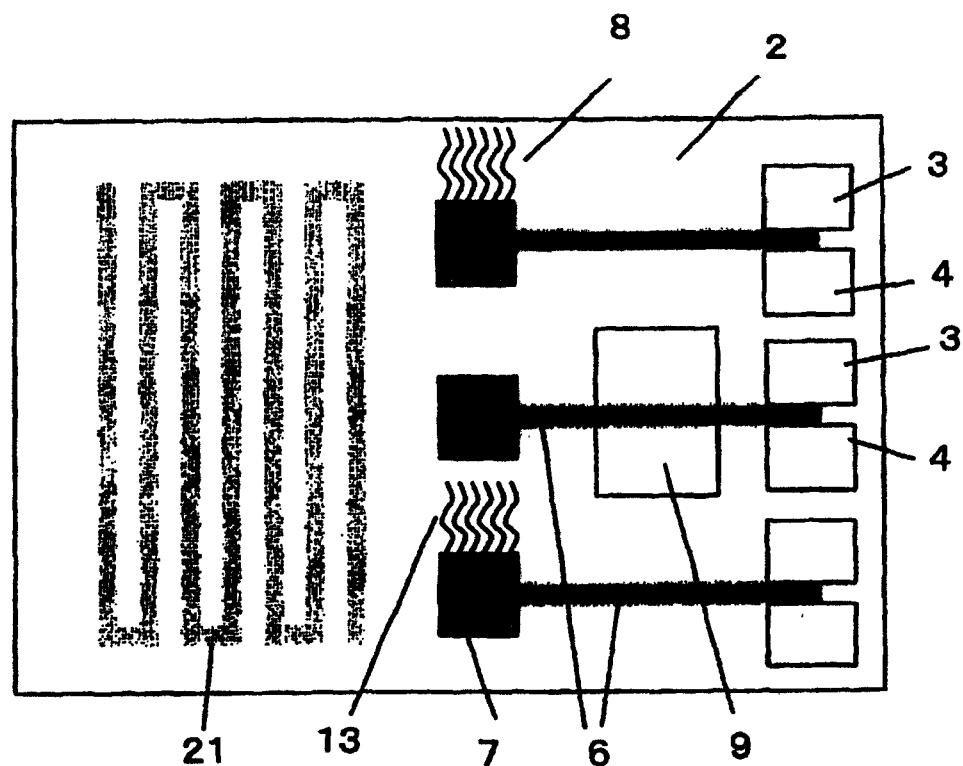


图 5

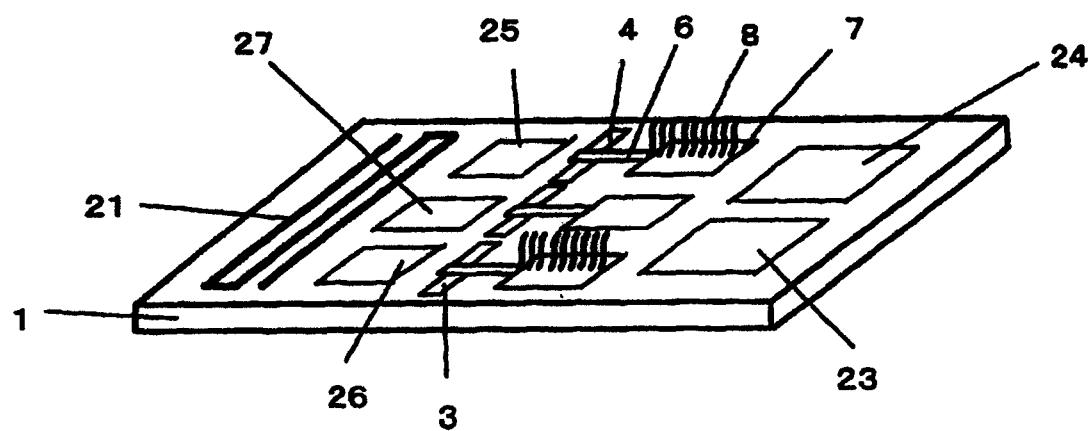


图 6

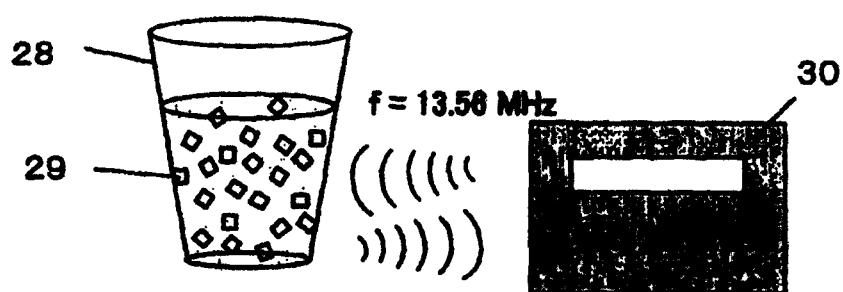


图 7