

(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
2024 年 12 月 26 日 (26.12.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/259577 A1

(51) 国际专利分类号:

C40B 50/06 (2006.01)

(21) 国际申请号:

PCT/CN2023/101270

(22) 国际申请日:

2023 年 6 月 20 日 (20.06.2023)

(25) 申请语言:

中文

(26) 公布语言:

中文

(71) 申请人: 深圳华大生命科学研究院 (BGI SHENZHEN) [CN/CN]; 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。

(72) 发明人: 黄鑫 (HUANG, Xin); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。廖莎 (LIAO, Sha); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。李慧敏 (LI, Huimin); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。陈奥 (CHEN, Ao); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。章文蔚 (ZHANG, Wenwei); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。

(74) 代理人: 北京汇知杰知识产权代理有限公司 (IP MARCH); 中国北京市海淀区知春路 63 号卫星大厦 15 层 1508 室, Beijing 100190 (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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ,

LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第 21 条 (3))。

(54) Title: CHIP SUBSTRATE PREPARATION METHOD BASED ON GLASS SHEET

(54) 发明名称: 基于玻璃片的芯片基片制备方法

(57) Abstract: Disclosed in the present invention is a chip substrate preparation method based on a glass sheet. The chip substrate preparation method comprises the following steps: making the surface of a glass sheet carry an amino, and reacting a coupling reagent having an azide group with the amino on the surface of the glass sheet, so as to form an amide bond. Further disclosed in the present invention is a chip preparation method. On the basis of the chip substrate preparation method, the chip preparation method comprises the following steps: reacting a 5'-end-modified probe with the azide group of the coupling reagent, and combining the probe on the surface of the glass sheet. In the present invention, the glass sheet is used to replace a silicon wafer, thereby reducing the cost of the chip raw material, also ensuring the number and quality of the probes of the chip, and improving the use stability of the chip.

(57) 摘要: 本发明公开一种基于玻璃片的芯片基片制备方法, 包括以下步骤: 使玻璃片表面携带氨基; 使带有叠氮基团的偶联试剂与玻璃片表面的氨基反应, 形成酰胺键。本发明还公开了一种芯片制备方法, 在芯片基片制备方法的基础上, 包括步骤: 使 5' 端修饰的探针与所述偶联试剂的叠氮基团反应, 将探针结合在玻璃片表面。本发明使用玻璃片替代硅片, 降低了芯片原材料的成本, 同时保证芯片的探针数量和质量, 并且提升了芯片使用的稳定性。

WO 2024/259577 A1

基于玻璃片的芯片基片制备方法

技术领域

本发明涉及生物技术领域，尤其涉及一种基于玻璃片的芯片基片制备方法。

背景技术

细胞和其在组织样本中的相对位置之间的关系对于理解疾病病理学是至关重要的。单细胞转录组测序技术虽然解决了细胞异质性的问题，使得可以找到疾病中起关键作用的细胞，但无法还原到具体的空间位置，导致对细胞功能的探究还不是特别精确。

近年来空间转录组技术的研究逐渐受到广大研究学者的青睐，其不仅可以提供研究对象的转录组等数据信息，同时还能定位其在组织中的空间位置，这对于癌症发病机制、神经科学、发育生物学等众多领域的研究都有重要意义。空间转录组学是指从一个完整的组织样本中产生全部的转录组数据，从而能够定位和区分功能基因在特定组织区域内的活跃表达，为研究和诊断提供宝贵信息。作为一项突破性技术，空间转录组技术允许科学家检测组织样本中的所有基因活动，并绘制活动发生的位置。该技术已经带来了许多新的发现，将有助于科学家更好地理解疾病和生物学过程。

目前华大基因时空组学技术 Stereo-seq 有两种产品：STOmics 基因表达试剂套装-S1 (Stereo Chip，即时空表达芯片，后续简称 SC 芯片) 和 STOmics 荧光试剂套装-F1 (Fluorescent Chip，即时空荧光芯片，后续简称 FC 芯片)。FC 芯片的原材料为华大自主研发的硅材质的微阵列芯片，阵列分辨率可达 500 纳米，极少数光刻机可实现如此高的精度，因此硅片自身成本很高，占总物料成本的 82.4%，但 FC 芯片售价较低，因此 FC 芯片的利润空间低。在使用 SC 芯片进行组织转录本等捕获之前，需要使用 FC 芯片进行组织透化条件摸索。利用 FC 芯片进行组织透化时间测试时，一般使用 4 张 F1 芯片做时间梯度测试，出现过 FC 芯片上摸索的透化时间结果和 SC 芯片不一致的情况，其原因之一可能是 4 张 F1 芯片之间的探针差异。

发明内容

本发明的目的是提供一种基于玻璃片的时空荧光芯片制备方法，以降低芯片原材料的成本，同时保证芯片的探针数量和质量，并且提升芯片使用的稳定性。

在第一方面，本发明提供了一种基于玻璃片的芯片基片制备方法，所述方法包括以下步骤：

1) 使玻璃片表面携带氨基；

2) 使带有叠氮基团的偶联试剂与玻璃片表面的氨基反应, 形成酰胺键。

在第二方面, 本发明提供了利用第一方面所述的方法制备的芯片基片, 所述芯片基片包括玻璃片, 所述玻璃片表面携带氨基, 带有叠氮基团的偶联试剂与所述氨基形成酰胺键。

在第三方面, 本发明提供了一种芯片制备方法, 所述方法在第一方面所述的方法步骤的基础上还包括:

3) 使 5'端修饰的探针与所述偶联试剂的叠氮基团反应, 将探针结合在玻璃片表面。

在第四方面, 本发明提供了利用第三方面所述的方法制备的芯片, 所述芯片包括玻璃片, 所述玻璃片表面携带氨基, 带有叠氮基团的偶联试剂与所述氨基形成酰胺键, 5'端修饰的探针与所述叠氮基团反应, 将探针结合在玻璃片表面。

采用上述方案, 本发明的有益效果是:

1) 降低芯片原材料成本: 本发明使用常见廉价易得的玻璃片替代硅片以降低芯片原材料成本, 市面上常见的 7.5cm × 2.5cm 的载玻片 50 pcs 价格为 30 元, 芯片原材料成本降低至现有硅片的 1/1000;

2) 降低试剂成本: 本发明以浸泡式反应替代流道式反应, 可实现反应试剂的重复利用, 因此可进一步降低试剂成本;

3) 提高结果稳定性: 载玻片 FC 芯片可实现在同一载玻片上完成同一组织的不同透化时间梯度, 稳定性更好;

4) 灵活度更高: 本发明可以实现在载玻片上测试多种组织, 同时贴片位置可自由设计, 因此组织大小及数量灵活多变。

附图说明

为了更清楚地说明本发明具体实施方式中的技术方案, 下面将对具体实施方式中的附图作简单地介绍。

图 1 为本发明中玻璃片表面偶联的探针 3'端的 poly T 结构。

图 2 为本发明实施例 1 中使用载玻片制备芯片的流程示意图。

图 3 为本发明实施例 1 中探针检测 (poly T 与 polyA-cy5 结合) 示意图。

图 4 为本发明实施例 2 中荧光显微镜拍照结果。

图 5 为本发明实施例 3 中透化过程示意图。

图 6 为本发明实施例 3 中荧光显微镜拍照结果。

具体实施方式

为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚，下面将结合本发明中的附图，对本发明中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例是本发明一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明保护的范围。

除非另外定义，否则本文所使用的所有技术和科学术语具有与本发明所述主题所属领域的普通技术人员通常理解的相同含义。在对本发明进行详细描述之前，提供以下定义以更好地理解本发明。

在本文中，术语“玻璃片”是指具有长度、宽度和厚度的刚性或柔性玻璃材料。

在本文中，术语“探针”是指一段带有检测标记、且顺序已知的、与目的基因互补的核酸序列（DNA 或 RNA）。在基因芯片的表面固定序列已知的靶核苷酸的探针，通过与核酸探针杂交进行核酸序列测定。

在第一方面，本发明提供了一种基于玻璃片的芯片基片制备方法，所述方法包括以下步骤：

- 1) 使玻璃片表面携带氨基；
- 2) 使带有叠氮基团的偶联试剂与玻璃片表面的氨基反应，形成酰胺键。

在一个实施方案中，在步骤 1) 中，将玻璃片直接浸泡在带有氨基的试剂中。

其中，所述带有氨基的试剂选自：异丙胺、乙二胺、苯胺、赖氨酸、多聚赖氨酸、精氨酸、亮氨酸和色氨酸；所述偶联试剂选自：N-羟基琥珀酰亚胺活性酯、酰亚胺酯、氟苯基酯、STP ester、马来酰亚胺和 SMCC。

在第二方面，本发明提供了利用第一方面所述的方法制备的芯片基片，所述芯片基片包括玻璃片，所述玻璃片表面携带氨基，带有叠氮基团的偶联试剂与所述氨基形成酰胺键。

在第三方面，本发明提供了一种芯片制备方法，所述方法在第一方面所述的方法步骤的基础上还包括：

- 3) 使 5'端修饰的探针与所述偶联试剂的叠氮基团反应，将探针结合在玻璃片表面。

其中，所述探针的 5'端修饰选自：DBCO 二苯并环辛炔和巯基。

在一个实施方案中，将玻璃片浸泡在探针溶液中，所述探针溶液含有 5'端修饰的寡核苷酸链。

在一个实施方案中，所述探针的 3'端为多聚 T 结构。

在第四方面，本发明提供了利用第三方面所述的方法制备的芯片，所述芯片包括玻璃

片，所述玻璃片表面携带氨基，带有叠氮基团的偶联试剂与所述氨基形成酰胺键，5'端修饰的探针与所述叠氮基团反应，将探针结合在玻璃片表面。

所述玻璃片是指具有长度、宽度和厚度的刚性或柔性玻璃材料，可以是日常生活中常见的玻璃片。在一个实施方案中，所述玻璃片是载玻片。

在本发明中，带有氨基的试剂，如多聚赖氨酸，可以通过其多聚阳离子与玻璃上的阴离子相互作用而产生较强的黏合力，多聚赖氨酸常见的分子量有 70,000-150,000、150,000-300,000 和 >300,000，分子量越大，黏附力越强，多聚赖氨酸粘附在玻璃片上的同时，表面的氨基也成功结合在玻璃片上。

在本发明中，偶联试剂是重要的“桥梁”，用于将步骤 3) 中的探针和步骤 1) 中的氨基紧密结合。偶联试剂中酯活化的交联剂和标记化合物在生理至弱碱性条件下（即 pH 值为 7.2-9）与玻璃片表面的氨基反应，形成稳定的酰胺键。因此偶联试剂也成功结合在玻璃片上，同时也暴露出偶联试剂上的叠氮基团。

在本发明中，探针溶液含有 5'端带有修饰的寡核苷酸链，5'端的化学基团与偶联试剂的叠氮基团通过点击化学反应紧密结合，最终使带有 poly T 尾的探针成功结合在玻璃片表面。

实施例

实施例 1：基于玻璃片为载体的荧光芯片工艺流程开发

本实施例主要是展示工艺流程的开发及原理性验证，并进行探针质量检测。步骤如下：

1) 使用工装卡槽，对一片载玻片进行分区，分区编号如图 2 所示，主要目的是设置非探针区域（非反应区域），以证明反应区探针连接成功；

2) 向 B1、B2、C1、C2、D1、D2 六个区域滴加带有氨基的试剂，B1 和 B2 滴加色氨酸，C1 和 C2 滴加精氨酸，D1 和 D2 滴加多聚赖氨酸，室温反应 10 min。A1 和 A2 滴加分子级水，作为空白对照；

3) 使用枪头吸出步骤 2) 的试剂，在六个区域（B1、B2、C1、C2、D1、D2）中滴加偶联试剂，B1、C1、D1 中滴加 SMCC，B2、C2、D2 中滴加 N-羟基琥珀酰亚胺（NHS）活性酯，反应 30 min。A1 和 A2 不加试剂；

4) 使用枪头吸出步骤 3) 的试剂，在六个区域（B1、B2、C1、C2、D1、D2）中滴加探针溶液，B1、C1、D1 中滴加 5'端 DBCO 二苯并环辛炔修饰的探针溶液，B2、C2、

D2 中滴加 5'端巯基修饰的探针溶液，反应 3 h。A1 和 A2 不加试剂；

5) 至此，B1、B2、C1、C2、D1、D2 六个区域已经偶联上 3'端带有 poly T 结构的寡核苷酸链探针；

6) A1、A2、B1、B2、C1、C2、D1、D2 八个区域均滴加 polyA-cy5 溶液（1 μ M 的 polyA-cy5 引物溶解于 5xSSC 溶液中），反应 20 min，如果成功种上探针，polyA-cy5 会和探针上的 poly T 结合而发荧光，原理示意图如图 3 所示；

7) 将载玻片在荧光显微镜下拍照，结果显示阴性对照 A1 和 A2 明显暗于其他区域，B1、B2、C1、C2、D1、D2 六个活性区域明显具有较强发光，信号值均在 2.5w-3.5w 之间，且每个活性区域与非活性区域的边缘界限清晰，说明探针偶联成功，且效果较好。

实施例 2：基于玻璃片为载体的荧光芯片应用于鼠脑组织

本实施例主要是将实施例 1 中的荧光芯片应用于鼠脑组织。本实施例中的实验所用的试剂均为“STOmics 荧光试剂套装-F1”试剂盒（市购）。

实验流程如下：

1) 取出组织。OCT 包埋的新鲜鼠脑组织从-80℃冰箱取出放在冷冻切片机内平衡；

2) 切片机调整。冷冻切片机箱体预冷（-20℃）和样本头预冷（-10℃至-15℃，根据实际操作过程调整）；

3) 切片及贴片。对组织块进行修理，切去组织块周围多余的 OCT 包埋剂；使用 OCT 将组织块固定到样品托上；使用切片机将组织切为 10 μ m 厚度后，贴到玻璃片 FC 芯片上，分别贴在 B1、C1、D1 区域；

4) 烤片。贴片结束后，快速于 37℃烤片 3 min；

5) 固定。上一步烤干的芯片放于-20℃预冷的甲醇溶液中固定 40 min；

6) 透化。将固定好的组织芯片从甲醇中取出，无尘纸吸干芯片背面和周围的甲醇，加入透化试剂，置于 37℃ 10 min；

7) RT。吸掉芯片表面的透化试剂，滴加 RT MIX，42℃温箱内反应 3 h；

8) 组织移除。吸掉芯片表面的 RT MIX，组织移除试剂，37℃温箱内反应 1 h；

9) 荧光显微镜拍照。加 SRE 后荧光拍照，显微镜选择 10 倍镜或根据组织大小自行选择，CY3 或 TRITC 通道，曝光时间约 1 s 左右。

结果如图 4 所示，3 个区域的鼠脑组织荧光明显、形态清晰，说明探针捕获效果较好。

实施例 3：基于玻璃片为载体的荧光芯片应用于鼠脾脏和心脏

本实施例主要是将玻璃片为载体的 FC 芯片应用于小鼠的脾脏和心脏。本实施例中的实验所用的试剂均为“STOmics 荧光试剂套装-F1”试剂盒（市购）。实验流程如下：

- 1) 芯片制备。将整张载玻片先浸泡在异丙胺试剂中 10 min，再浸泡在酰亚胺酯试剂中 30 min，再浸泡在探针溶液中 3 h；
- 2) 取出组织。OCT 包埋的新鲜鼠脾脏和心脏组织从-80℃冰箱取出放在冷冻切片机内平衡；
- 3) 切片机调整。冷冻切片机箱体预冷（-20℃）和样本头预冷（-10℃至-15℃，根据实际操作过程调整）；
- 4) 切片及贴片。对组织块进行修理，切去组织块周围多余的 OCT 包埋剂；使用 OCT 将组织块固定到样品托上；使用切片机将组织切为 10 μm 厚度后，贴到玻璃片 FC 芯片上；
- 5) 烤片。贴片结束后，快速于 37℃烤片 3 min；
- 6) 固定。上一步烤干的芯片放于-20℃预冷的甲醇溶液中固定 40 min；
- 7) 透化。将固定好的组织芯片从甲醇中取出，无尘纸吸干芯片背面和周围的甲醇，加入透化试剂，脾脏透化时间分别为 3 min、6 min、12 min、16 min；心脏透化时间分别为 3 min、6 min、12 min、16 min（图 5）；
- 8) RT。吸掉芯片表面的透化试剂，滴加 RT MIX，42℃温箱内反应 3 h；
- 9) 组织移除。吸掉芯片表面的 RT MIX，组织移除试剂，37℃温箱内反应 1 h；
- 10) 荧光显微镜拍照。加 SRE 后荧光拍照，显微镜选择 10 倍镜或根据组织大小自行选择，CY3 或 TRITC 通道，曝光时间约 1 s 左右。

结果如图 6 所示，从脾脏结果（左边 4 个）来看，12 min 透化时间最好，不同透化时间之间的效果差异明显；从心脏结果（右边 4 个）来看，6 min 透化时间最好，不同透化时间之间的效果差异明显。

本实施例中，一张载玻片 FC 芯片上贴有 2 种、8 个组织，与其他芯片相比，本发明中的芯片灵活性高，数据结果清晰直观。

最后应说明的是：以上实施例仅用以说明本发明的技术方案，而非对其限制；尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明，本领域的普通技术人员应当理解：其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改，或者对其中部分技术特征进行等同替换；而这些修改或者替换，并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的精神和范

图。

权利要求书

1. 一种基于玻璃片的芯片基片制备方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：
 - 1) 使玻璃片表面携带氨基；
 - 2) 使带有叠氮基团的偶联试剂与玻璃片表面的氨基反应，形成酰胺键。
2. 根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，在步骤 1) 中，将玻璃片直接浸泡在带有氨基的试剂中。
3. 根据权利要求 2 所述的方法，其特征在于，所述带有氨基的试剂选自：异丙胺、乙二胺、苯胺、赖氨酸、多聚赖氨酸、精氨酸、亮氨酸和色氨酸。
4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的方法，其特征在于，所述偶联试剂选自：N-羟基琥珀酰亚胺活性酯、酰亚胺酯、氟苯基酯、STP ester、马来酰亚胺和 SMCC。
5. 利用权利要求 1-4 中任一项所述的方法制备的芯片基片，其特征在于，所述芯片基片包括玻璃片，所述玻璃片表面携带氨基，带有叠氮基团的偶联试剂与所述氨基形成酰胺键。
6. 一种芯片制备方法，其特征在于，所述方法在权利要求 1-4 中任一项所述的方法步骤的基础上还包括：
 - 3) 使 5'端修饰的探针与所述偶联试剂的叠氮基团反应，将探针结合在玻璃片表面。
7. 根据权利要求 6 所述的方法，其特征在于，将玻璃片浸泡在探针溶液中，所述探针溶液含有 5'端修饰的寡核苷酸链。
8. 根据权利要求 6 或 7 所述的方法，其特征在于，所述探针的 5'端修饰选自：DBCO 二苯并环辛炔和巯基。
9. 根据权利要求 6-8 中任一项所述的方法，其特征在于，所述探针的 3'端为多聚 T 结构。
10. 利用权利要求 6-9 中任一项所述的方法制备的芯片，其特征在于，所述芯片包括玻璃片，所述玻璃片表面携带氨基，带有叠氮基团的偶联试剂与所述氨基形成酰胺键，5'端修饰的探针与所述叠氮基团反应，将探针结合在玻璃片表面。

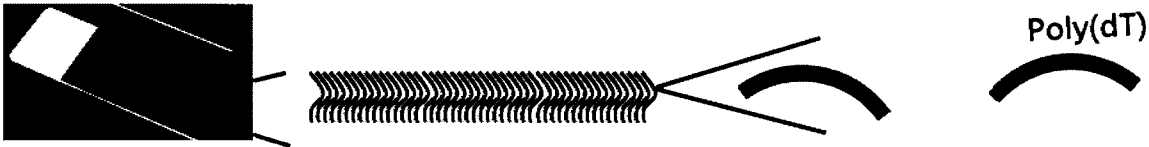


图 1

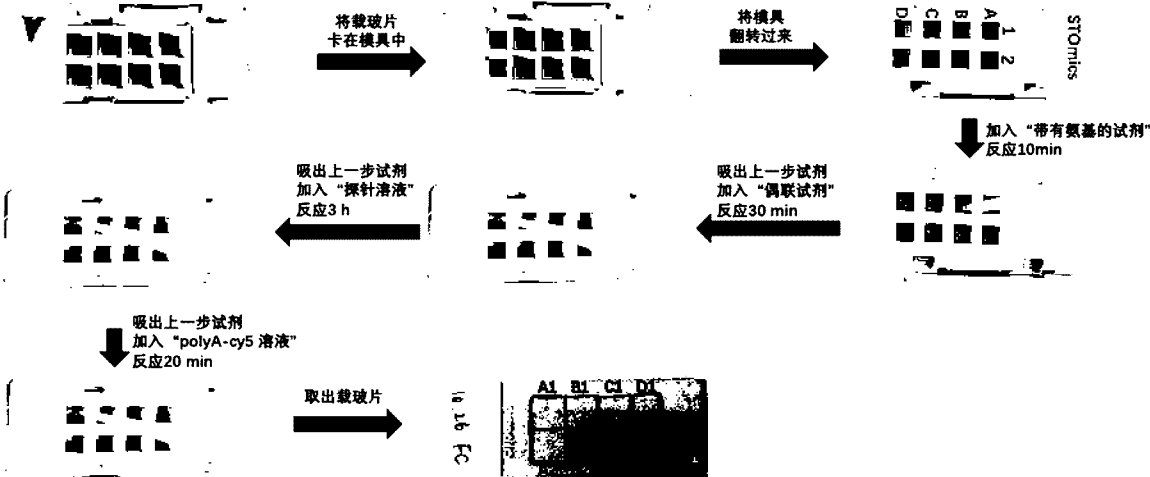


图 2



图 3



图 4

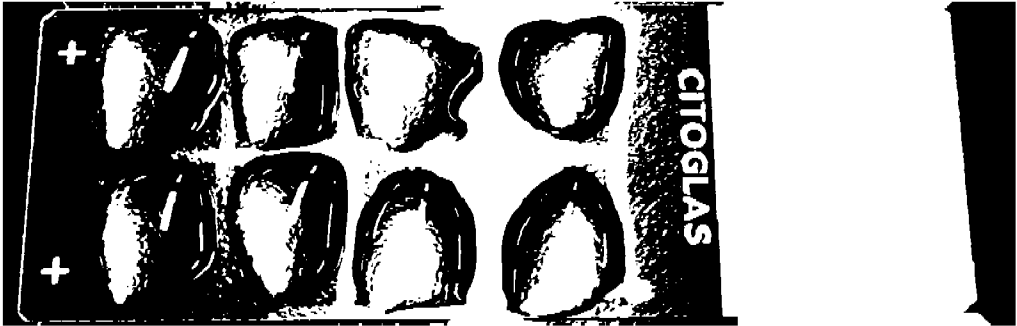


图 5

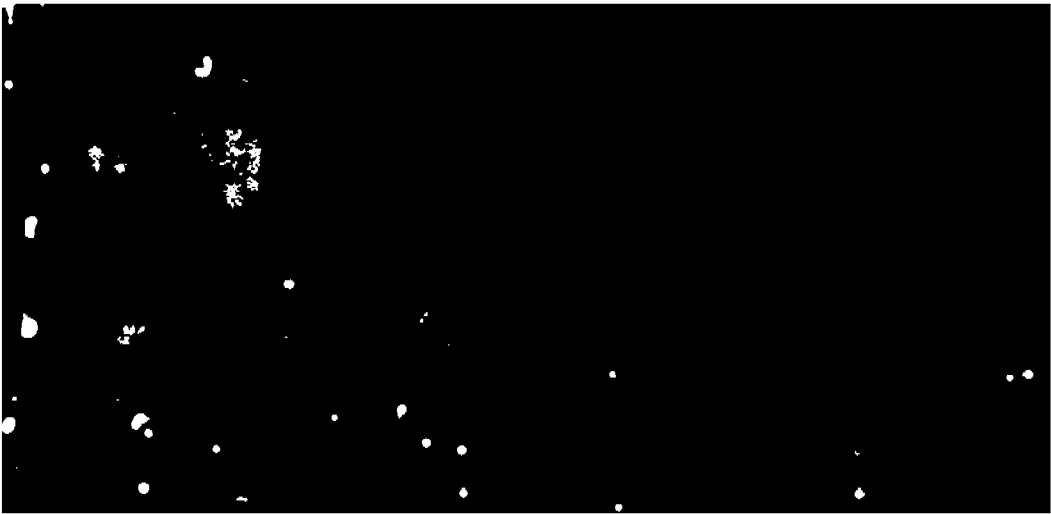


图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/101270

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C40B50/06(2006.01)i

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: C40B, C12Q

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)

CNABS, CNTXT, DWPI, VEN, WPABS, WPABSC, ENTXT, ENTXTC, CNKI, Pubmed, ISI, Web of Science: 玻璃, 玻片, 氨基, 叠氮, 偶联剂, 酰胺键, 炔基, glass, glass slide, amino group, azide, coupling agent, amide bond, alkyne group, 等

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 115094162 A (LINYI UNIVERSITY) 23 September 2022 (2022-09-23) claim 9, and description, paragraphs 35-51	1-10
Y	CN 106244578 A (CENTRILLION TECHNOLOGY HOLDINGS CORP.) 21 December 2016 (2016-12-21) description, paragraph 185, and figures 20 and 21	1-10
Y	CN 105219836 A (KUNMING HUANJI BIOLOGICAL CHIP INDUSTRY CO., LTD.) 06 January 2016 (2016-01-06) claims 1-8, and description, paragraphs 6-8	1-10
Y	CN 106345544 A (CHONGQING GAOSHENG BIOL PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 25 January 2017 (2017-01-25) claims 1-5	1-10
Y	CN 115558705 A (SOUTHERN UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY; NAMA DASI BIOTECHNOLOGY CENTER) 03 January 2023 (2023-01-03) claims 1, 4, and 5	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

“D” document cited by the applicant in the international application

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

“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)

“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

“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

“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

“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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 March 2024

Date of mailing of the international search report

17 March 2024

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/101270

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	115094162	A	23 September 2022	None			
CN	106244578	A	21 December 2016	WO	2016201111	A1	15 December 2016
				CN	106244578	B	23 November 2021
CN	105219836	A	06 January 2016	None			
CN	106345544	A	25 January 2017	None			
CN	115558705	A	03 January 2023	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/101270

A. 主题的分类 C40B50/06(2006.01)i 按照国际专利分类(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: C40B, C12Q 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)) CNABS, CNTXT, DWPI, VEN, WPABS, WPABSC, ENTXT, ENTXTC, CNKI, Pubmed, ISI_Web of Science和关键词: 玻璃, 玻片, 氨基, 叠氮, 偶联剂, 酰胺键, 炔基, glass, glass slide, amino group, azide, coupling agent, amide bond, alkyne group, 等		
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
Y	CN 115094162 A (临沂大学) 2022年9月23日 (2022 - 09 - 23) 权利要求9, 说明书第35-51段	1-10
Y	CN 106244578 A (桑特里莱恩科技控股公司) 2016年12月21日 (2016 - 12 - 21) 说明书第185段, 图20、21	1-10
Y	CN 105219836 A (昆明寰基生物芯片产业有限公司) 2016年1月6日 (2016 - 01 - 06) 权利要求1-8, 说明书第6-8段	1-10
Y	CN 106345544 A (重庆高圣生物医药有限责任公司) 2017年1月25日 (2017 - 01 - 25) 权利要求1-5	1-10
Y	CN 115558705 A (南方科技大学, 纳迈达斯生物科技中心) 2023年1月3日 (2023 - 01 - 03) 权利要求1、4、5	1-10
☐ 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: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “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(如具体说明的) “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 “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 “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 “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 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2024年3月6日		国际检索报告邮寄日期 2024年3月17日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		受权官员 杨振宇 电话号码 (+86) 010-62412204

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/101270

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	115094162	A	2022年9月23日	无			
CN	106244578	A	2016年12月21日	WO	2016201111	A1	2016年12月15日
				CN	106244578	B	2021年11月23日
CN	105219836	A	2016年1月6日	无			
CN	106345544	A	2017年1月25日	无			
CN	115558705	A	2023年1月3日	无			