

(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
2006 年 5 月 11 日 (11.05.2006)

(10) 国际公布号
WO 2006/047928 A1

- (51) 国际专利分类号:
G01N 33/574 (2006.01) G01N 33/543 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2005/001693
- (22) 国际申请日: 2005 年 10 月 17 日 (17.10.2005)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
200410065235.5
2004 年 11 月 3 日 (03.11.2004) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 东南大学 (SOUTHEAST UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市四牌楼 2 号, Jiangsu 210096 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 唐祖明 (TANG, Zum-ing) [CN/CN]; 中国江苏省南京市四牌楼 2 号, Jiangsu 210096 (CN)。
- (74) 代理人: 南京经纬专利商标代理有限公司 (NANJING JINGWEI PATENT & TRADEMARK AGENCY CO., LTD.); 中国江苏省南京市长江后街 6 号, Jiangsu 210018 (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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ,

[见续页]

(54) Title: PREPARATION AND APPLICATION OF THE TYPE OF CELL DETECTING IMMUNOASSAYING CHIPS FOR CANCER AND THEIR USE

(54) 发明名称: 肿瘤免疫细胞检测芯片的制备和检测方法

(57) Abstract: A preparation of the type of cell detecting immunoassaying chip for cancer, comprising: modifies the carrier with aldehyde groups, amino groups; fixes the corresponding antibody on the modified carrier; then leaves the modified carrier in moist condition for a period of time; washes it with buffer after taking out. The detecting steps employing such chip comprising: blood from which red cells is removed is prepared into suspending liquid; then drops them onto such chip; and observes them with microscope or CCD or stains the cells and observes the binding situation of each site.

(57) 摘要:

肿瘤免疫细胞检测芯片的制备和检测方法涉及一种对人体肿瘤患者外周血有核细胞进行检测的芯片和检测方法,其芯片的制备为:在载体上进行化学修饰,即修饰上氨基,醛基;然后在以上修饰有化学基因的载玻片上点上相应的抗体,如:肺癌、肝癌、胃癌等肿瘤以及骨骼系肿瘤白血病等基因突变表达的新蛋白抗体等,置于潮湿环境中存放后取出载玻片,用缓冲液清洗。检测方法为:对所取已含有抗凝剂的外周血,加白细胞或者淋巴细胞分离液,除去红细胞得到血液中的有核细胞,将有核细胞悬浮在 PBS 或其他与人体等渗溶液中,然后将溶液中的悬浮细胞滴加到肿瘤免疫细胞检测芯片上,然后在显微镜或 CCD 上观察或将细胞染色观察各点结合细胞情况。

WO 2006/047928 A1



LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, 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, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, 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, HU, IE, IS,

IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

— 发明人资格 (细则4.17(iv))

本国际公布:

— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码及其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

肿瘤免疫细胞检测芯片的制备和检测方法

技术领域

本发明涉及一种人体肿瘤患者的外周血中有核细胞免疫芯片的制备和检测方法，属生物芯片的制造和检测的技术领域。

背景技术

癌症是危害人类健康的常见疾病之一，由于发病机制尚未有彻底探讨清楚，到目前亦无特效的治疗方法，尤其是中晚期病人。癌症患者的预后往往与癌症的发现的早晚有一定关系。早期发现应用免疫治疗或手术可以根治。如果到了中晚期对于癌症患者预后非常不利。这样就显示出对于癌症患者早期诊断的重要意义。癌症如能早期发现，早期诊断，大多数病人获得根治。但临床所见到的大多数病人不是早期癌症。因为癌症早期常无特殊症状。故病人一般不会主动到医院就诊检查，而一旦感觉明显病情常常已到中晚期。所以很多癌症病人一旦发现就是中晚期或晚期，为病人的治疗带来了很大的困难。如能有一种能在癌症行成的早期即可诊断的方法，那就为患者治疗带来了希望。这样根治癌症患者亦不是幻想了。

肿瘤的确诊方法有多种，如生化、免疫及影像方法这几种诊断方法在近几年有很大进展，但目前仍以病理学方法诊断最为可靠，当然病理诊断也存在一些问题。首先病理诊断需要肿瘤组织，所以一般能取到肿瘤亦非早期患者。另因其是活检标本、具体取材和切片部位均属抽样检查，在光镜下见到的仅是病变的一小部分，有时不能完全代表整个病变。另外病理诊断是否可靠也与病理标本的选取有关。有时也有假阴性的结果。应用肿瘤特异抗原和肿瘤相关抗体诊断亦是对肿瘤诊断的一种较为有效的早期诊断方法。但有些肿瘤因其表达量有限亦不能在早期得到诊断。应用肿瘤标志物肿瘤特异抗原和肿瘤相关抗原对肿瘤诊断的一种较为有效的早期诊断方法。对肿瘤类型有特异性(直接针对肿瘤)；灵敏度高，在低肿瘤负荷时即能检测出来；并且在血液或其他体液中的标志浓度和肿瘤细胞负荷高低直接相关，肿瘤标志出现于该型肿瘤的所有患者。大部分肿瘤能释放具有抗原性的大分子物质进入血循环，并可用免疫方法检测。

但目前用于肿瘤早期诊断或大量肿瘤筛选检查则仍缺乏特异性或敏感性的

肿瘤标志物。

癌症无论是遗传，病毒感染还是一些其他物理化学因素的刺激所引起，首先都会致正常细胞发生基因突变或正常静止基因的激活而表达新的蛋白质分子，这些蛋白质可作用于细胞膜，机体有核细胞膜亦会发生相应改变，尤其是血液中有核细胞生命周期短，细胞膜受影响明显，易被机体某些免疫细胞识别，另外新的蛋白质被释放到体液当中后，这些蛋白质可能被机体一些免疫细胞识别，特别抗原呈递细胞识别而递呈给淋巴细胞产生抗体。可见癌症发生早期血液中的有核细胞膜最早发生改变，如何发现并及时抓住这一变化是对肿瘤能否进行早期诊断的一个技术关键。我们应用目前已明确与肿瘤基因及所表达蛋白相关的抗体来检测患者与正常机体之间差异。经临床试用，发现能较早地发现肿瘤，在机体实体瘤形成之前即可确诊。为肿瘤患者能及早发现并及时得到治疗提供了一种可靠的诊断方法。目前还没有通过外周血中有核细胞的检测来判断和较早地发现肿瘤方法。

发 明 内 容

技术问题

本发明的目的是提供一种肿瘤免疫细胞芯片的制备技术以及用该免疫细胞芯片进行肿瘤检测的方法。该方法具有准确率高、使用方便的效果，对于肿瘤早期诊断以及使肿瘤患者可以及时治疗都有非常大的意义。

技术方案

本发明的肿瘤免疫细胞检测芯片的制备方法是：

首先在载体上进行化学修饰，即修饰上氨基，醛基，以保证载体上的化学基团可与抗体发生反应而结合在载体上，并能保持结合在载体上抗体的免疫学活性；然后在以上修饰有化学基团的载玻片上点上相应的抗体，如：肺癌、肝癌、胃癌等肿瘤以及骨骼系肿瘤白血病等基因突变表达的新蛋白抗体等，置于 0℃—55℃ 潮湿环境中存放 0.1—72 小时后取出载玻片，用 pH4.0—10，离子浓度 0.00—0.75m/L 的缓冲液清洗。

在载体上进行化学修饰，即修饰上氨基，醛基的方法为：

a、载玻片清洗：取载玻片用水清洗干净，放入由过氧化氢和浓硫酸组成的溶液中浸泡，然后用去离子水或蒸馏水冲洗、煮沸，在氮气流下干燥，保存备用；

b、载玻片表面的氨基硅烷化：将清洗好的载玻片浸入含有 0.1—10.0%氨基丙基三甲氧基硅烷“3-aminopropyltriethoxysilane”的 95%丙酮/水的溶液 3—30 分钟，取出后，玻片用丙酮、去离子蒸馏水依次冲洗，最后烘干，保存；

c、玻片表面的醛基修饰：将硅烷化后的玻片放入含 1%—10%戊二醛的 PB 溶液（磷酸盐缓冲液）中，在室温下浸泡，取出后先用 PB 溶液清洗，然后用去离子蒸馏水冲洗，用氮气吹干，保存备用；

d、玻片表面的聚赖氨酸修饰：将清洗干净的玻片放入含 2%~5%聚赖氨酸的 PBS 溶液（磷酸盐氯化钠缓冲液）中反应，取出后先用 PB 洗，然后用去离子蒸馏水冲洗，吹干，保存；

e、玻片表面琼脂糖膜的制备：按 0.5—3.0g 的琼脂糖加至 100ml 的双蒸水的比例配成琼脂糖溶液，完全混合后煮沸；将琼脂糖溶液覆盖在预热的氨基硅烷修饰的载玻片上；琼脂糖凝固后，载玻片干燥、保存；

f、载玻片表面的小牛血清白蛋白-N-羟基丁二酰亚胺（BSA-NHS）修饰：
按 1.76g N-N'-disuccinimidyl 碳酸盐，与 1—5ml 的 N-N'-二异丙基乙胺的比例，将上述两材料溶解于 65—69ml 的无水二甲基甲酰胺“DMF”，取玻片放入此溶液；用乙醇冲洗；将载玻片浸入含 0.2—5% 小牛血清白蛋白的 PBS 溶液中室温反应；用去离子水冲洗，然后再用乙醇冲洗；除去残留溶剂，再浸入无水二甲基甲酰胺“DMF”溶液中，室温放置，吹干保存；

g、选用相关癌基因及其表达蛋白质制备抗体，将这些抗体固定在载体上。

检测方法为：对所取已含有抗凝剂的外周血，加白细胞或者淋巴细胞分离液，除去红细胞得到血液中的有核细胞，将有核细胞悬浮在 PBS 或其他与人体等渗溶液中，然后将溶液中的悬浮细胞滴加到肿瘤免疫细胞检测芯片上，置于 2℃—55℃环境中 0.1—72h；取出载体，用 pH4.0—12，离子浓度 0.001-1.100M 溶液将没有被载体上抗体结合的游离有核细胞洗去；然后在显微镜或 CCD 上观察或将细胞染色观察各点结合细胞情况，即进行检测。

本发明所述免疫细胞芯片是在一载体上修饰有化学基团，并将肿瘤相关标志物抗体修饰在载体上，患有癌症的血液中有核细胞膜表面的特种蛋白质与芯片上抗体结合，根据各点细胞有无及分布可判断有无肿瘤以及患何肿瘤。

本发明所述载体可以是高分子聚合物，亦可以是载玻片等，在载体上可以修

饰氨基、醛基。

有益效果：由于本发明的方法属体外检测，因此除采集用外周血外，不接触人体，对人体不会有任何危害，而且可以在实体瘤未形成之前即可检出，且准确率高、使用方便，对于肿瘤早期诊断以及使肿瘤患者可以及时治疗都有非常大的意义。

具体实施方式

本发明的肿瘤免疫细胞检测芯片的制备方法是：首先在载体上进行化学修饰，即修饰上氨基，醛基，以保证载体上的化学基因可与抗体发生反应而结合在载体上，并能保持结合在载体上抗体的免疫学活性；然后在以上修饰有化学基因的载玻片上点上相应的抗体，如：肺癌、肝癌、胃癌等肿瘤以及骨骼系肿瘤白血病等基因突变表达的新蛋白抗体等，置于 0℃—55℃ 潮湿环境中存放 0.1—72 小时后取出载玻片，用 pH4.0—10，离子浓度 0.00—0.75m/L 的缓冲液清洗，具体步骤为：

1.芯片制作：

1) 载玻片清洗

取载玻片用水清洗干净，放入由 1/3 过氧化氢和 2/3 浓硫酸组成的溶液中，浸泡 0.5—3.0 小时。然后用去离子水或蒸馏水冲洗 2—6 遍，再用去离子水或蒸馏水煮沸 2—30 分钟；在氮气流下干燥，于干燥处保存备用。

(1) 载玻片表面的氨基硅烷化

清洗好的载玻片浸入含有 0.1—10.0% 氨基丙基三甲氧基硅烷 (3-aminopropyltriethoxysilane) 的 95% 丙酮/水的溶液 3—30 分钟，取出后，玻片用丙酮洗 2—6 遍，每次 1—5 分钟，再用去离子蒸馏水冲洗 1—5 遍，每次 1—5 分钟，最后在 60—180℃ 下烘干，置于干燥处保存。

(2) 玻片表面的醛基修饰

将硅烷化后的玻片放入含 1%—10% 戊二醛的 PB 溶液 (0.001—0.150M pH4.5—11.0) 中，在室温下浸泡 0.1—10 小时，取出后先用 PB (0.001—0.150M pH4.5—11.0) 洗 2—6 次，然后用去离子蒸馏水冲洗 3 遍，用氮气吹干，置于 4℃ 保存备用。

(3) 玻片表面的聚赖氨酸修饰

将清洗干净的玻片放入含 3% 聚赖氨酸的 PBS 溶液 (0.01–0.14M pH4.05–11.0) 中反应 0.1–10 小时, 取出后先用 PB 洗 2–6 次, 然后用去离子蒸馏水冲洗 2–6 遍, 吹干, 于 4°C 保存。

2) 玻片表面琼脂糖膜的制备

(1) 0.5–3.0g 的琼脂糖加至 100ml 的双蒸水配成琼脂糖溶液, 完全混合微波炉煮沸 2–10 分钟;

(2) 将 1–5 ml 琼脂糖溶液覆盖在 60°C 左右预热的氨基硅烷修饰的载玻片上;

(3) 琼脂糖凝固后, 玻片在 10–120°C 下过夜干燥。可室温干燥条件下保存;

(4) 在使用之前, 琼脂糖膜要浸入 0.1–100mM 的 NaIO₄ 溶液, 室温下放置 0.05–6.00 小时, 再用双蒸水彻底冲洗干净, 并用氮气流干燥, 于室温或低温干燥保存。

3). 玻片表面的小牛血清白蛋白–N–羟基丁二酰亚胺 (BSA-NHS) 修饰

(1) 1.76g N–N'-disuccinimidyl 碳酸盐, 与 1–5ml 的 N–N'-二异丙基乙胺, 溶解于 65–69ml 的无水二甲基甲酰胺 (DMF)。取玻片放入此溶液, 室温 1–6 小时。

(2) 用 95% 乙醇冲洗数遍。

(3) 将玻片浸入含 0.2–5% BSA 的 PBS (0.01M pH7.4) 溶液, 室温反应 0.5–24 小时。

(4) 用去离子水冲洗数遍, 然后再用 95% 乙醇冲洗两遍。

(5) 除去残留溶剂, 再浸入 DMF 溶液, 室温放置 0.5–6 小时。除去溶剂, 气吹干于 4°C 保存。

在以上修饰有化学基因的载体上用手工或用点样仪点上相应的抗体 (肺癌、肝癌、胃癌等肿瘤以及骨骼系肿瘤白血病等基因突变表达的新蛋白抗体等)。置于 0°C–55°C 潮湿环境中 (将载体放在潮湿盒子内) 内存放 0.1–72 小时后取出载体, 用 pH4.0–10, 离子浓度 0.00–0.75m/L 的缓冲液清洗 1–5 遍。以除去载体上未结合的抗体。制好的芯片吹干, 避光保存备用。

2、检测方法:

按体积 1 比 1 的比例取含有抗凝剂的人体外周血与白细胞分离液或淋巴细胞

分离液，离心 500—3000 转除去血液中的红细胞，然后将有核细胞的悬浮在缓冲液中，再 500—4000 转离心沉淀细胞，以除去上清中白细胞分离液或淋巴细胞分离液，再将沉淀的有核细胞混悬在缓冲液中，制备成有核细胞混悬液。

取出 1 置备好的芯片，加上适量上述已分离好的有核细胞混悬液，在 2℃—60℃放置 0.1—72 小时，细胞悬液不能干，要始终使细胞在液体内，取出后用缓冲液冲洗，除去未结合的游离细胞。然后在显微镜或 CCD 上观察或将细胞染色观察各点结合细胞情况以确定该患者是否患肿瘤以及是何种肿瘤。

权利要求书

1、一种肿瘤免疫细胞检测芯片的制备方法，其特征在于首先在载体上进行化学修饰，即修饰上氨基，醛基，以保证载体上的化学基团可与抗体发生反应而结合在载体上，并能保持结合在载体上抗体的免疫学活性；然后在以上修饰有化学基团的载玻片上点上相应的抗体，如：肺癌、肝癌、胃癌等肿瘤以及骨骼系肿瘤白血病等基因突变表达的新蛋白抗体等，置于 0℃—55℃ 潮湿环境中存放 0.1—72 小时后取出载玻片，用 pH4.0—10，离子浓度 0.00—0.75m/L 的缓冲液清洗。

2、按照权利要求 1 所述的一种肿瘤免疫细胞检测芯片的制备方法，其特征在于在载体上进行化学修饰，即修饰上氨基，醛基的方法为：

a、载玻片清洗：取载玻片用水清洗干净，放入由过氧化氢和浓硫酸组成的溶液中浸泡，然后用去离子水或蒸馏水冲洗、煮沸，在氮气流下干燥，保存备用；

b、载玻片表面的氨基硅烷化：将清洗好的载玻片浸入含有 0.1—10.0% 氨基丙基三甲氧基硅烷 “3-aminopropyltriethoxysilane” 的 95% 丙酮/水的溶液 3—30 分钟，取出后，玻片用丙酮、去离子蒸馏水依次冲洗，最后烘干，保存；

c、玻片表面的醛基修饰：将硅烷化后的玻片放入含 1%—10% 戊二醛的磷酸盐缓冲液中，在室温下浸泡，取出后先用 PB 溶液清洗，然后用去离子蒸馏水冲洗，用氮气吹干，保存备用；

d、玻片表面的聚赖氨酸修饰：将清洗干净的玻片放入含 2%~5% 聚赖氨酸的磷酸盐氯化钠缓冲液中反应，取出后先用 PB 洗，然后用去离子蒸馏水冲洗，吹干，保存；

e、玻片表面琼脂糖膜的制备：按 0.5—3.0g 的琼脂糖加至 100ml 的双蒸水的比例配成琼脂糖溶液，完全混合后煮沸；将琼脂糖溶液覆盖在预热的氨基硅烷修饰的载玻片上；琼脂糖凝固后，载玻片干燥、保存；

f、载玻片表面的小牛血清白蛋白—N—羟基丁二酰亚胺（BSA-NHS）修饰：
按 1.76g N-N'-disuccinimidyl 碳酸盐，与 1—5ml 的 N-N'-二异丙基乙胺的比例，将上述两材料溶解于 65—69ml 的无水二甲基甲酰胺 “DMF”，取玻片放入此溶液；用乙醇冲洗；将载玻片浸入含 0.2—5% 小牛血清白蛋白的 PBS 溶液中室温反应；用去离子水冲洗，然后再用乙醇冲洗；除去残留溶剂，再浸入无水二

甲基甲酰胺“DMF”溶液中，室温放置，吹干保存；

g、选用相关癌基因及其表达蛋白质制备抗体，将这些抗体固定在载体上。

3、一种如权利要求 1 所述的肿瘤免疫细胞检测芯片的制备方法制备的芯片的检测方法，其特征在于，对所取已含有抗凝剂的外周血，加白细胞或者淋巴细胞分离液，除去红细胞得到血液中的有核细胞，将有核细胞悬浮在 PBS 或其他与人体等渗溶液中，然后将溶液中的悬浮细胞滴加到肿瘤免疫细胞检测芯片上，置于 2℃—55℃环境中 0.1—72h；取出载体，用 pH4.0—12，离子浓度 0.001-1.100M 溶液将没有被载体上抗体结合的游离有核细胞洗去；然后在显微镜或 CCD 上观察或将细胞染色观察各点结合细胞情况，即进行检测。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
extra sheet

International application No.

PCT/CN2005/001693

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/574 (2006.01) i

G01N33/543 (2006.01) i

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2005/001693

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)

IPC⁸: G01N33 (2006.01)

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

CHINESE PATENT DOCUMENTS(1985~)

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

WPI, EPODOC, PAJ, CNPAT; chip, biochip, array, microarray, matrix, cancer, humor, humour, tumor, neoplastic, aldehyde, amino, blood, antibody

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WANG, Yan et al, Preparation and application of protein microarray for CD series antibodies, <i>ACTA ACADEMIAE MILITARIS TERTIAE</i> , Vol. 24, No.1, Jan. 2002, p.43, Volume 2, line 7 to p.44 Volume 1, line 42	1-2
X	CN, A, 1338634 (Jingtai Bio Technology CO LTD Shanghai), 06.Mar. 2002(06.03.2002), p.2, line 8 to p.4 line 13	1-2
X	WO, A, 9612192 (AMDL, INC), 25.Apr.1996(25.04.1996), p.2, line 30 to p.6, line 15	1-2
A	US, A, 5034516 (University of Ottawa), 23.Jul.1991(23.07.1991), whole documents	1-3
A	WO, A, 0165261 (Sloan-Kettering Institute for Cancer Research), 07.Sep.2001(07.09.2001), whole documents	1-3

☐ 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
17. Jan. 2006 (17.01.2006)

Date of mailing of the international search report

06 · FEB 2006 (06 · 02 · 2006)

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

LIU, Ming

Telephone No. (86-10) 62085852

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2005/001693

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN1338634A	06. Mar. 2002	W002077152A	03. Oct. 2002
		EP1373467A	02. Jan. 2004
		US2004091939A	13. May. 2004
		CN1500140A	26. May. 2004
		JP2004532404T	21. 10 月 2004
W09612192A	25. Apr. 1996	AU3728595A	06. May. 1996
US5034516A	23. Jul. 1991	US2003087318A	08. May. 2003
		US5192661A	09. Mar. 1993
		CA1338365C	28. May. 1996
W00165261A	07. Sep. 2001	CA2401580A	07. Sep. 2001
		AU4178301A	12. Sep. 2001
		US2002006629A	12. Jan. 2002

国际检索报告
附页

International application No.

PCT/CN2005/001693

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/574 (2006.01) i

G01N33/543 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2005/001693

A. 主题的分类

见附页

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)

IPC⁸: G01N33 (2006.01)

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

中国专利文献 (1985-)

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, EPODOC, PAJ, CNPAT; 芯片, 阵列, 癌症, 肿瘤, 细胞膜, 血液, 外周血, 抗体, 氨基, 醛基, chip, biochip, array, microarray, matrix, cancer, humor, humour, tumor, neoplastic, aldehyde, amino, blood, antibody

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关权利要求
X	王燕等, 细胞膜表面标志 CD 系列抗体蛋白芯片制备及应用的研究, 第三军医大学学报第 24 卷, 第 1 期, 2002 年 1 月, 第 43 页第 2 栏第 7 行到第 44 页第 1 栏第 42 行	1-2
X	CN, A, 1338634 (上海晶泰生物技术有限公司), 6.3 月.2002(06.03.2002), 第 2 页第 8 行到第 4 页第 13 行	1-2
X	WO, A, 9612192 (AMDL, INC), 25.4 月.1996(25.04.1996), 第 2 页第 30 行到第 6 页第 15 行	1-2
A	US, A, 5034516 (University of Ottawa), 23.7 月.1991(23.07.1991), 全文	1-3
A	WO, A, 0165261 (Sloan-Kettering Institute for Cancer Research), 07.9 月.2001(07.09.2001), 全文	1-3

☐ 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

“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

“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

17.1 月 2006 (17.01.2006)

国际检索报告邮寄日期

06.2 月 2006 (06.02.2006)

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

授权官员

电话号码: (86-10) 62085852



国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2005/001693

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1338634A	06. 3 月 2002	W002077152A	03. 10 月 2002
		EP1373467A	02. 1 月 2004
		US2004091939A	13. 5 月 2004
		CN1500140A	26. 5 月 2004
		JP2004532404T	21. 10 月 2004
W09612192A	25. 4 月 1996	AU3728595A	06. 5 月 1996
		US2003087318A	08. 5 月 2003
US5034516A	23. 7 月 1991	US5192661A	09. 3 月 1993
		CA1338365C	28. 5 月 1996
W00165261A	07. 9 月 2001	CA2401580A	07. 9 月 2001
		AU4178301A	12. 9 月 2001
		US2002006629A	12. 1 月 2002