

(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
2018 年 4 月 19 日 (19.04.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/068237 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 21/21 (2006.01) **G01N 21/41** (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2016/101933

(22) 国际申请日: 2016 年 10 月 12 日 (12.10.2016)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 清华大学 (TSINGHUA UNIVERSITY)
[CN/CN]; 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。

(72) 发明人: 杨忠强 (YANG, Zhongqiang); 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。刘冬生 (LIU, Dongsheng); 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。梁晓 (LIANG, Xiao); 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。田艺 (TIAN, Yi); 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。董原辰 (DONG, Yuanchen); 中国北京市海淀区清华园, Beijing

100084 (CN)。张懿暘 (ZHANG, Yiyang); 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。周京生 (ZHOU, Jingsheng); 中国北京市海淀区清华园, Beijing 100084 (CN)。

(74) 代理人: 北京清亦华知识产权代理事务所 (普通合伙) (TSINGYIHUA INTELLECTUAL PROPERTY LLC); 中国北京市海淀区清华园清华大学照澜院商业楼301室, Beijing 100084 (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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(54) Title: LIQUID CRYSTAL DROPLET AND PREPARATION METHOD, BIOSENSOR AND METHOD FOR DETECTING BIOLOGICAL SAMPLE

(54) 发明名称: 液晶液滴及制备方法、生物传感器和检测生物样品的方法

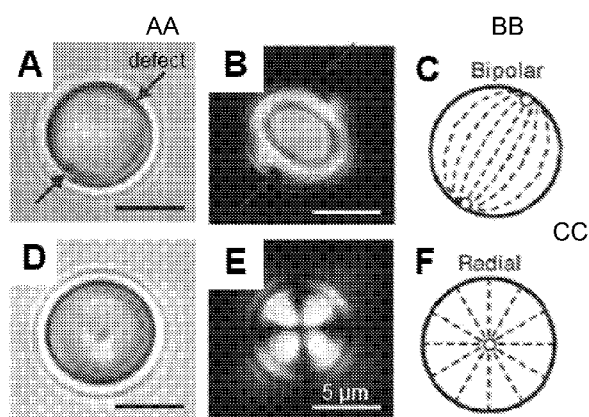


图 1

AA defect
BB Bipolar
CC Radial

(57) Abstract: Provided are a liquid crystal droplet and a preparation method, a biosensor and a method for detecting a biological sample. The method comprises: mixing liquid crystal molecules and amphipathic molecules to form a mixture; and placing an ultrasonic emission source in the mixture, and ultrasonic emulsification of the mixture to obtain the liquid crystal droplet.

(57) 摘要: 提出了液晶液滴及制备方法、生物传感器和检测生物样品的方法。该方法包括: 将液晶分子以及双亲分子混合以便形成混合物; 以及将超声波发射源置于所述混合物中, 超声乳化处理所述混合物, 以便获得所述液晶液滴。

(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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, 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))。

液晶液滴及制备方法、生物传感器和检测生物样品的方法

技术领域

本发明涉及材料领域，具体地，本发明涉及液晶液滴及制备方法、生物传感器和检测样品的方法。

5

背景技术

液晶态是一种处于固态晶体和无序液体之间的“软物质态”。液晶分子具有长程有序性和光学各向异性，已被广泛应用于平面显示领域。1998 年美国威斯康星大学 Abbott 研究组首次利用液晶分子构建生物传感器，开辟了液晶应用新领域。液晶生物传感器易于实现微型化和阵列化，具备结构简单、检测简便快速等优点，在生命科学、临床医学和食品安全领域具有广阔的应用前景。液晶传感器的基本原理是：液晶分子与待测物结合后取向发生变化，从而改变液晶分子对光线的折射能力，应用偏光显微镜检测液晶分子的折射变化，即可实现对待测物的检测。

10

然而，目前制备液晶液滴的方法以及液晶生物传感器仍有待改进。

15

发明内容

本申请是基于发明人对以下事实和问题的发现和认识作出的：

20

25

目前利用传统方法制备的带有传感功能的液晶液滴，常常存在以下问题：获得的液晶液滴大小不均匀、数量不充足，导致无法在偏光镜的视野中观察到足够的液晶液滴，进而影响传感检测效果；在环境中存在待测物时，液晶液滴的取向变化不明显，即无法在偏光显微镜下观察到液晶液滴的明显变化，从而影响检测。发明人经过大量实验以及深入研究发现，这是由于目前的液晶液滴制备方法无法获得大小均一、数量充足的液晶液滴。并且，在需要利用液晶液滴进行生物传感时，常常利用制备好的液晶液滴与具有传感功能的双亲分子混合，使上述双亲分子与液晶液滴中的液晶分子自组装，形成具有双亲分子的液晶液滴。然而目前的液晶液滴中液晶分子与双亲分子之间不能够形成有效的组装，或是能够形成有效组装的液晶液滴数目不足，进而导致了液晶液滴不能够对其环境中的待测物进行灵敏、快速、有效的检测。

本发明旨在至少在一定程度上解决相关技术中的技术问题之一。

30

在本发明的第一方面，本发明提出了一种制备液晶液滴的方法。根据本发明的实施例，该方法包括：将液晶分子以及双亲分子混合以便形成混合物；以及将超声波发射源置于所述混合物中，超声乳化处理所述混合物，以便获得所述液晶液滴。由此，可以使液晶分子以及双亲分子发生有效的组装，获得的液晶液滴数量多、均一性好，能够对该液晶液滴所在环境中的待测物质进行快速、灵敏、有效的检测，其中，待测物之能够与双亲分子发生

结合。

根据本发明的实施例，所述液晶分子在室温下具有液晶相。由此，该液晶液滴可以在不加热或者冷却处理的环境中，完成对待测物的检测，从而便于该液晶液滴的应用。

5 根据本发明的实施例，所述液晶分子包括 5CB。上述液晶分子可以在常温下较好地通过直接超声乳化处理，与双亲分子进行组装，从而可以进一步提高该方法之比液晶液滴的效率以及效果。

根据本发明的实施例，所述双亲分子包括选自生物传感双亲分子、SDS、CTAB 以及 DTAB 的至少之一。上述双亲分子可以有效地与液晶分子发生组装，在环境中存在能够与上述双亲分子发生结合的待测物质时，可以使该液晶液滴对光线的折射能力发生显著变化，
10 从而有利于利用该方法获得的液晶液滴应用于传感检测领域。

根据本发明的实施例，所述生物传感双亲分子包括选自 DNA 单链双亲分子以及磷脂的至少之一。由此，可以利用该液晶液滴进行生物样品的传感检测。

根据本发明的实施例，所述 DNA 单链双亲分子包括 DNA-C18、DNA-G2CL、DNA-PS 以及 DNA-PPO 的至少之一。上述亲油基团（C18、G2CL、PS 等）修饰的 DNA 单链双亲
15 分子可以在常温下较好地通过直接超声乳化处理，与液晶分子进行组装，从而可以进一步提高该方法之比液晶液滴的效率以及效果。

根据本发明的实施例，所述混合物中，所述液晶分子与所述双亲分子的体积比为（1:3）~（1:8）。由此，可以进一步提高形成的液晶液滴的均一性以及质量。

根据本发明的实施例，所述混合物中，所述液晶分子与所述双亲分子的体积比为 1:5。
20 由此，可以进一步提高形成的液晶液滴的均一性以及质量。

根据本发明的实施例，所述超声乳化处理的频率为 2 KH~20 KH。由此，可以进一步提高液晶分子以及双亲分子进行组装的效率以及效果。

根据本发明的实施例，所述超声乳化处理的频率为 3 KH~10 KH。由此，可以进一步提高液晶分子以及双亲分子进行组装的效率以及效果。

25 根据本发明的实施例，所述超声乳化处理的时间为 15~45s。由此，可以使液晶分子以及 DNA 单链双亲分子发生有效的组装，从而可以进一步提高获得的液晶液滴的质量。

根据本发明的实施例，所述超声乳化处理是采用超声波细胞破碎仪实现的。由此，可以简便地使液晶分子以及双亲分子发生有效的组装，获得的液晶液滴数量多、均一性好。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种液晶液滴。该液晶液滴是利用前面所述的方法
30 制备的。由此，该液晶液滴中具有有效组装了的液晶分子以及双亲分子，该液晶液滴的均一性好，可以对能够与双亲分子结合的待测物进行快速、灵敏、有效的检测。

在本发明的又一方面，本发明提出了一种生物传感器。该生物传感器包括液晶液滴，该

液晶液滴是由前面所述的方法制备的。由此，可以对能够与待测物进行快速、灵敏、有效的检测。

在本发明的又一方面，本发明提出了一种检测样品的方法。根据本发明的实施例，该方法包括：（1）提供液晶液滴，所述液晶液滴是利用前面所述的方法制备的；（2）在偏光显微镜下观察所述液晶液滴的光学信号；（3）将所述样品与所述液晶液滴混合；以及（4）在偏光显微镜下观察经过所述混合的所述液晶液滴的光学信号，并与未经过所述混合的液晶液滴的像进行比较，以便检测所述样品。由于该方法利用前面描述的方法制备的液晶液滴完成检测，因此可以简便地通过在偏光镜下进行观察，快速、灵敏、有效的完成对待测样品的检测。

附图说明

图 1 显示了本发明中的液晶液滴对光线折射情况的变化原理示意图；

图 2 显示了根据本发明实施例 1 的液晶液滴的显微镜照片；

图 3 显示了根据本发明实施例 1 的液晶液滴与 DNA 单链链结合前后的显微镜照片；

图 4 显示了根据本发明对比例 1 的液晶液滴的显微镜照片；

图 5 显示了根据本发明对比例 2 的液晶液滴的显微镜照片；以及

图 6 显示了本发明实施例 1 的液晶液滴与 DNA 单链链结合的原理示意图。

具体实施方式

下面详细描述本发明的实施例，所述实施例的示例在附图中示出。下面通过参考附图描述的实施例是示例性的，旨在用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

在本发明的第一方面，本发明提出了一种制备液晶液滴的方法。该方法制备的液晶液滴具有尺寸均一、获得的液晶液滴数量多，产量大、能够有效使双亲分子与液晶分子进行组装，可以用于传感检测等优点的至少之一。具体地，根据本发明的实施例，该方法包括：将液晶分子以及双亲分子混合，将超声波发射源置于上述混合物中，对该混合物进行超声乳化处理，以便获得液晶液滴。由此，可以使液晶分子以及双亲分子发生有效的组装，获得的液晶液滴数量多、均一性好，能够对待测物进行快速、灵敏、有效的检测，其中，待测物为可以与液晶液滴中的双亲分子发生结合的物质。

需要说明的是，在该方法中，选用的液晶分子以及双亲分子的具体类型不受特别限制，只要二者能够在上述条件下有效自组装，并形成液晶液滴即可。例如，根据本发明的实施例，液晶分子可以为在室温下具有液晶相的液晶分子。由此，含有上述液晶分子的液晶液滴的取向在常温下即可随环境中表面活性剂（双亲分子以及能够与双亲分子特异性结合的待测物质）含量的改变而改变，从而改变液晶液滴对光线的折射情况，由此，该液晶液滴

可以在不加热或者冷却处理的环境中完成对待测物的检测，便于该液晶液滴的应用。需要说明的是，在本发明中，术语“室温”、“常温”特指不需要额外进行加热或者冷却处理的环境温度，而其具体温度范围不受特别限制。例如，“室温”、“常温”指通常情况下进行制备以及待测物检测等操作时的环境温度，具体地，可以为 10~30 摄氏度。

5 为了方便理解，下面首先对液晶液滴在环境中存在足量的表面活性剂（双亲分子及能够与双亲分子进行结合的物质）时，发生的对光线的折射能力的变化情况进行说明。具体地，参考图 1，当液晶液滴所在的环境中不存在足量的表面活性剂时，在显微镜的白光视野（参考图 1A）以及偏光视野（参考图 1B）中，液晶液滴中的液晶分子排列为双极状态（参考图 1C），具有双极状态特有的特征缺陷（图 1A 以及图 1B 中箭头所指处，defect）。而当环境中存在足量的表面活性剂时，液晶液滴中液晶分子的排列取向发生变化，从而导致液晶液滴对光线的折射能力发生变化，此时在显微镜的白光视野（参考图 1D）以及偏光视野（参考图 1E）中，液晶液滴中的液晶分子排列为辐射状态（参考图 1F）。本发明采用的方法制备的液晶液滴，通过一步法将适量的双亲分子与液晶分子进行组装，形成液晶液滴，而当环境中具有能够与上述双亲分子进行特异性结合的物质时，该物质通过与双亲分子结合而结合到该液晶液滴中，相当于增加了液晶液滴环境中的表面活性剂的含量，进而导致该液晶液滴中液晶分子的排列方式发生改变，对光线的折射能力改变，而这一改变可以方便地通过偏光显微镜观察出来，进而实现对待测物的检测。需要说明的是，在该方法中，术语“制备”应做广义理解，利用该方法制备而得到的物质中只要含有液晶液滴即可。也即是说，本发明提出了一种获得液晶材料的方法，利用本发明所提出的方法能够获得可以与表面活性剂（双亲分子及可以与双亲分子结合的物质）进行结合，并且结合前后对光线的折射率发生改变的液晶液滴。该液晶液滴可以分散在溶液中，在实际使用过程中，无需对该溶液中的液晶液滴以及溶液中的溶剂进行分离，即可实现该液晶液滴的上述使用功能。在本发明中，利用上述方法制备的“液晶液滴”特指液晶分子以及双亲分子发生组装之后获得的物质，该物质可以含有多个液晶分子以及与其组装在一起的双亲分子，且该液晶液滴在环境中双亲分子或能够与双亲分子特异性结合的物质时，对光线的折射能力能够发生改变。而液晶液滴中所含有的液晶分子、双亲分子的量不受特别限制。

10
15
20
25

根据本发明的实施例，双亲分子可以包括选自生物传感双亲分子、SDS（十二烷基磺酸钠）、CTAB（十六烷基三甲基溴化铵）以及 DTAB（十二烷基三甲基溴化铵）的至少之一。上述双亲分子可以有效地与液晶分子发生组装，且组装形成的液晶液滴在环境中存在能够与上述双亲分子发生结合的待测物质时，可以特异性地与待测物质结合，从而使该液晶液滴对光线的折射能力发生显著变化，有利于利用该方法获得的液晶液滴应用于传感检测领域。

30

根据本发明的实施例，生物传感双亲分子包括选自 DNA 单链双亲分子以及磷脂的至少之一。由此，可以利用该液晶液滴进行生物样品的传感检测。例如，可以利用具有 DNA 单链双亲分子进行能够与之配对的 DNA 的检测。

根据本发明的实施例，在上述液晶分子以及双亲分子的混合物中，液晶分子与双亲分子的体积比为 1: (3~8)。例如，根据本发明的具体实施例，液晶分子与双亲分子的体积比可以为 1: 5。由此，可以使适量的双亲分子与液晶分子进行组装形成液晶液滴，从而可以进一步提高形成的液晶液滴的质量。

发明人经过深入研究，目前制备液晶液滴的方法无法获得大小均一、数量充足的液晶液滴，主要是由于目前的方法通常是通过超声波发射源作用于中间介质，例如，水，然后再利用水等中间介质作用于含有液晶分子以获得液晶液滴。而上述过程常常不能够获得大小均匀的液晶液滴，且获得的溶液中液晶液滴的数量也十分有限。发明人经过深入研究以及大量实验发现，当采用超声波发射源直接作用于含有液晶分子以及双亲分子的混合物（例如在本发明中，直接将超声波发射源置于混合物中）时，液晶分子以及双亲分子能够发生有效的自组装，获得的液晶液滴数量较多，尺寸较为均一。发明人经过大量实验发现，利用传统的制备液晶液滴的方法（中间介质作用于混合物），即便是将超声波发射源的频率调节至远大于本发明所采用的超声波发射源，也无法获得本发明所提出的方法获得的效果。根据本发明的实施例，在超声乳化处理过程中，超声波发射源的频率可以为 2 KH~20 KH。根据本发明的另一些实施例，还可以采用频率为 3 KH~10 KH 的超声波发射源。例如，可以采用 4KH 的频率进行超声乳化处理。发明人经过大量实验发现，当处理功率不足时，无法形成数目足够、尺寸均一的液晶液滴，且形成的液晶液滴中，双亲分子与液晶分子也无法有效地组装在一起，从而在后续的待测物检测过程中，严重影响检测的可靠性。而当处理功率过大时，双亲分子与液晶分子也无法有效地组装在一起形成液晶液滴。本领域技术人员能够理解的是，上述超声乳化处理的时间与超声波发射源的频率有关。具体地，根据本发明的实施例，在上述超声乳化处理的时间可以为 15~45s。为了方便操作，可以采用超声波细胞破碎仪处理上述混合物。由此，可以简便地获得质量较好的液晶液滴。具体地，可以将超声细胞破碎仪的探头直接伸入到混合物中进行超声乳化处理。由此，可以使液晶分子以及 DNA 单链双亲分子发生有效的组装，从而可以进一步提高获得的液晶液滴的质量。

需要说明的是，在本发明中，DNA 单链双亲分子的具体种类不受特别限制。本领域技术人员可以根据液晶分子的具体种类，以及需要检测的待测物的情况选择适当的 DNA 单链双亲分子。例如，根据本发明的具体实施例，可以选择线性液晶分子 5CB 作为液晶分子，选择 DNA-C18、DNA-G2CL、DNA-PS 或者 DNA-PPO 作为 DNA 单链双亲分子。所选择的 DNA 序列可以为 (TGG TGA AGT AGA TGT GTA)。

在本发明的另一方面，本发明提出了一种液晶液滴。该液晶液滴是利用前面所述的方法制备的。由此，该液晶液滴具有利用前面描述的方法制备的液晶液滴的全部特征以及优点，在此不再赘述。总的来说，该液晶液滴中，含有有效组装了的液晶分子以及双亲分子，该液晶液滴的均一性好，可以对能够与双亲分子结合的待测物进行快速、灵敏、有效的检测。

5 在本发明的又一方面，本发明提出了一种生物传感器。该生物传感器包括液晶液滴，该液晶液滴是由前面所述的方法制备的。由此，该生物传感器具有利用前面描述的方法制备的液晶液滴的全部特征以及优点，在此不再赘述。总的来说，可以对能够与液晶液滴中含有的双亲分子结合的待测物进行快速、灵敏、有效的检测。本领域技术人员能够理解的是，上述生物传感器中还可以含有能够实现传感功能的其余成分或部件，本领域技术人员可以根据需要检测的具体物质，对上述必须成分或部件进行选择。

10 在本发明的又一方面，本发明提出了一种检测样品的方法。根据本发明的实施例，该方法包括：

（1）提供液晶液滴

根据本发明的实施例，该液晶液滴是利用前面描述的方法制备的。具体地，该液晶液滴15 中含有双亲分子，由此，可以实现对能够与该双亲分子进行特异性结合的样品的检测。关于该液晶液滴的具体特征以及优点，前面已经进行了详细的描述，在此不再赘述。

（2）观察液晶液滴

根据本发明的实施例，在该步骤中，利用偏光显微镜，观察未与待测物结合时的液晶液滴的像并记录，以便后续对比使用。

20 （3）混合；

根据本发明的实施例，在该步骤中，将样品与液晶液滴混合。使样品与液晶液滴中的双亲分子特异性结合，改变液晶液滴中液晶分子的排布方向，从而改变液晶液滴在显微镜中的像。

（4）观察经过混合的液晶液滴

25 根据本发明的实施例，在该步骤中，观察上述液晶液滴的光学信号，并与未接触待测样品的液晶液滴的像进行比较，以便完成样品的检测。当样品中存在目标待测物时，液晶液滴的像将会发生变化。

总的来说，由于该方法利用前面描述的方法制备的液晶液滴完成检测，因此可以简便地通过在偏光镜下进行观察，快速、灵敏、有效的完成对待测样品的检测。

30 下面通过具体实施例对本发明进行说明，需要说明的是，下面的具体实施例仅仅是用于说明的目的，而不以任何方式限制本发明的范围，另外，如无特殊说明，则未具体记载条件或者步骤的方法均为常规方法，所采用的试剂和材料均可从商业途径获得。其中，细胞

破碎仪采用 QSonica Sonicators, NO:63736T-07-11。

实施例 1: 液晶液滴的制备

将 10 μ L 5CB 加入到 50 μ L 20 μ M DNA 单链双亲分子 DNA-C18 中, 用细胞破碎仪 20% 功率乳化 30 s 以制备液晶液滴。参考图 2, 制备得到的液晶液滴数目众多, 尺寸相对均一。

5 为了验证双亲分子 DNA-C18 成功地与液晶分子 5CB 发生了组装, 在上述液晶液滴的环境中加入能够与 DNA-C18 配对的 DNA 链。如 DNA-C18 成功地与液晶分子 5CB 发生了组装, 则在环境中存在能够与 DNA-C18 配对的 DNA 链时, 上述 DNA 链能够通过 DNA-C18 使多个液晶分子之间发生团聚结合。基本原理如图 6 所示: 实施例 1 中制备的液晶液滴含有液晶分子 (LC) 以及 DNA-C18 (具有 3' 端以及 5' 端, 其中 5' 端与 LC 相连)。采用的 DNA
10 链结构为具有 R1+R2 结构的双链 DNA, 其中 R1 端以及 R2 端分别可以与一个 DNA-C18 互补配对。由此, 如实施例 1 中制备的液晶液滴中, 液晶分子与 DNA-C18 发生了有效的组装, 则在具有 R1+R2 结构的双链 DNA 存在的调节下, 上述液晶液滴将发生团聚。

具体操作如下:

1、取 10 μ L 实施例 1 中制备的液晶液滴置于低吸 PC 管中, 再加入 10 μ L 20 μ M 的 DNA
15 (R1+R2) 溶液, 静置 5min 左右让其自主装。

2、分别取实施例 1 制备的液晶液滴以及上述含有 DNA (R1+R2) 溶液的溶液, 格稀释 50 倍, 通过偏光显微镜观察实验现象, 实验结果如图 3 所示。其中, 图 3a 以及图 3b 为实施例 1 中制备的液晶液滴的白光显微镜像以及偏光显微镜像; 图 3c 以及图 3d 为加入 DNA
20 (R1+R2) 的液晶液滴的白光显微镜像以及偏光显微镜像。不难看出, 液晶液滴出现了明显的团聚现象。说明单链 DNA-双亲分子组装在了液晶液滴上, 使液晶液滴上的单链 DNA-双亲分子之间互补配对, 故此使液晶液滴出现了大量团聚现象, 从而证明了单链 DNA-双亲分子自组装在了液晶液滴上。

对比例 1

将 10 μ L 5CB 加入到 1 mL PBS 缓冲液中, 30 秒超声, 30 秒涡流震荡仪作为一个周期,
25 经过 10—12 个周期, 以制备液晶液滴。在制备好的液晶液滴中加入单链 DNA 双亲分子 DNA-C18, 使其与液晶液滴进行组装。获得的液晶液滴的显微镜图像如图 4 所示 (图 4a 为白光视场下的像, 图 4b 为偏光视场下的像)。其中, 液晶液滴的数目明显较少, 且液晶液滴的尺寸也十分不均一。

对比例 2

30 先将 10 μ L 5CB 与 50 μ L 20 μ M 单链 DNA 双亲分子 DNA-C18 混和, 然后 30 秒超声, 30 秒涡流震荡仪作为一个周期, 经过 10—12 个周期, 以制备液晶液滴。获得的液晶液滴的显微镜图像如图 5 所示 (图 5a 为白光视场下的像, 图 5b 为偏光视场下的像)。其中, 液晶

液滴的数目较对比例 1 多，但明显少于实施例 1，且液晶液滴的尺寸也十分不均一。

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不必须针对的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。

权利要求书

- 1、一种制备液晶液滴的方法，其特征在于，包括：
将液晶分子以及双亲分子混合以便形成混合物；以及
5 将超声波发射源置于所述混合物中，超声乳化处理所述混合物，以便获得所述液晶液滴。
- 2、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述液晶分子在室温下具有液晶相。
- 3、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述液晶分子包括5CB。
- 4、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述双亲分子包括生物传感双亲分子、
SDS、CTAB以及DTAB的至少之一。
- 10 5、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述生物传感双亲分子包括选自DNA单链双亲分子以及磷脂的至少之一。
- 6、根据权利要求4所述的方法，其特征在于，所述DNA单链双亲分子包括DNA-C18、DNA-G2CL、DNA-PS以及DNA-PPO的至少之一。
- 7、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述混合物中，所述液晶分子与所述双
15 亲分子的体积比为(1:3)~(1:8)。
- 8、根据权利要求7所述的方法，其特征在于，所述混合物中，所述液晶分子与所述双亲分子的体积比为1:5。
- 9、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述超声乳化处理的频率为2KH~20KH。
- 10、根据权利要求9所述的方法，其特征在于，所述超声乳化处理的频率为3KH~10KH。
- 20 11、根据权利要求9所述的方法，其特征在于，所述超声乳化处理的时间为15~45s。
- 12、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述超声乳化处理是采用超声波细胞破碎仪实现的。
- 13、一种液晶液滴，所述液晶液滴是利用权利要求1~12任一项所述的方法制备的。
- 14、一种生物传感器，其特征在于，包括液晶液滴，所述液晶液滴是由权利要求1~12
25 任一项所述的方法制备的。
- 15、一种检测样品的方法，其特征在于，包括：
 - (1) 提供液晶液滴，所述液晶液滴是利用权利要求1~12任一项所述的方法制备的；
 - (2) 在偏光显微镜下观察所述液晶液滴的光学信号；
 - (3) 将所述样品与所述液晶液滴混合；以及
 - 30 (4) 在偏光显微镜下观察经过所述混合的所述液晶液滴的光学信号，并与未经过所述混合的液晶液滴的像进行比较，以便检测所述样品。

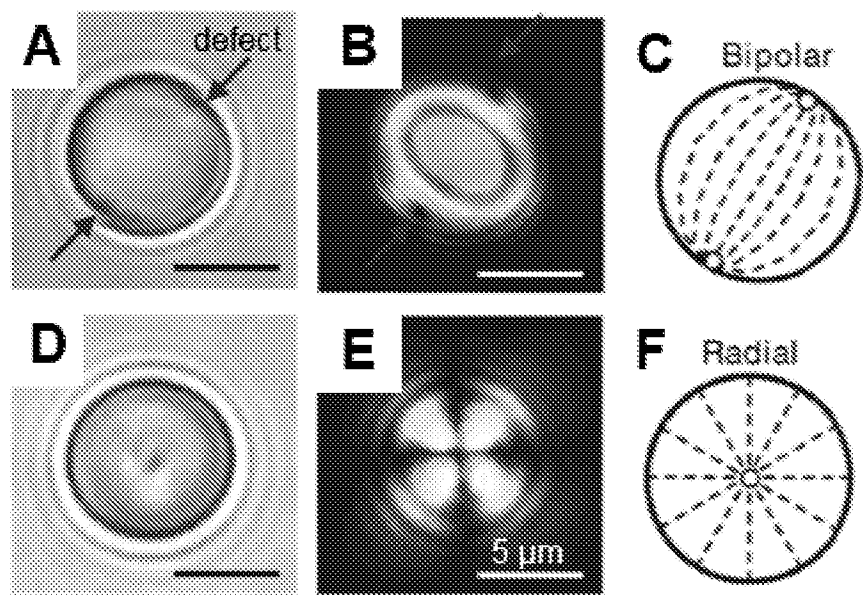


图 1

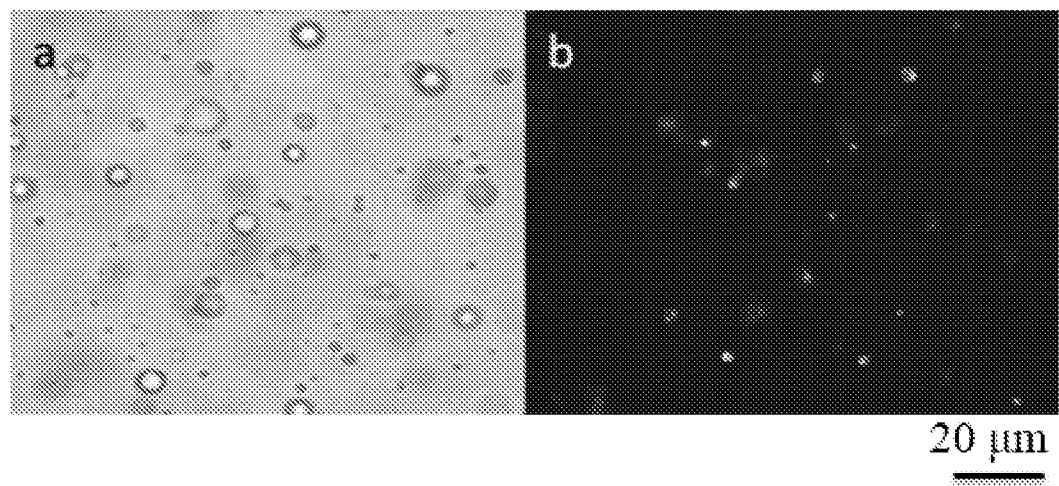


图 2

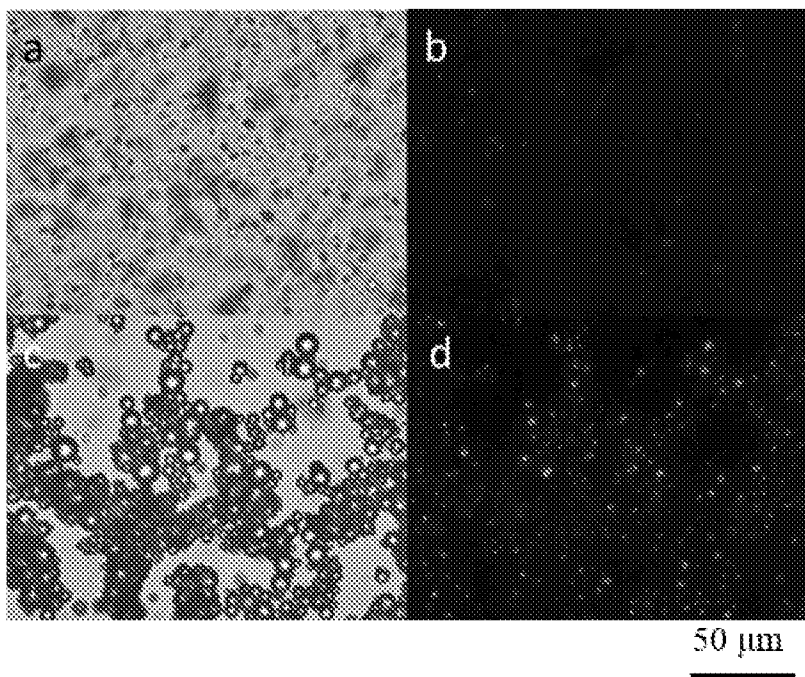


图 3

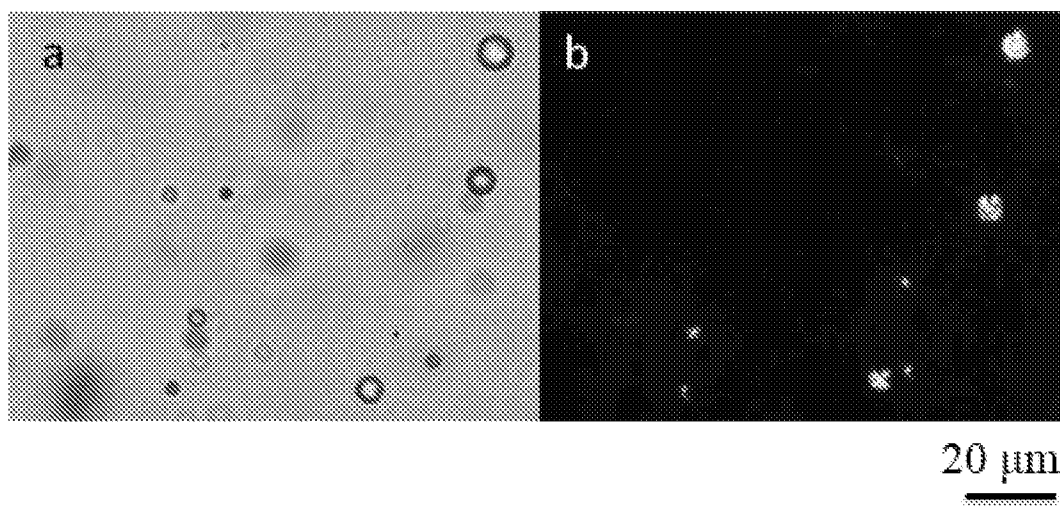


图 4

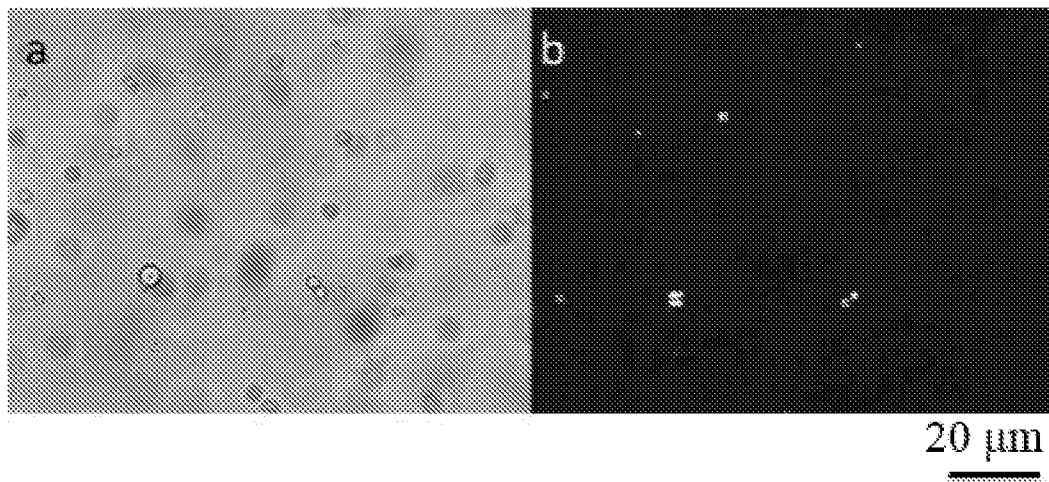
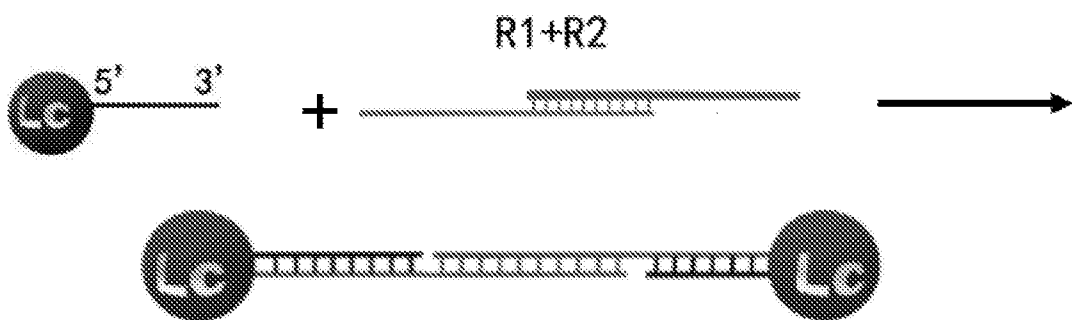


图 5



R1: TGT ATT CGC ATG AGA ATT CCA TTC ACC GTA AG

R2: CTT ACG GTG AAT GGA ATT GTC ATG CGA ATA GA

DNA: TGG TGA AGT AGA TGT GTA

图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2016/101933

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 21/21 (2006.01) i; G01N 21/41 (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)

G01N 21/-

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)

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, ISI Web of Knowledge: 清华大学, 杨忠强, 刘冬生, 梁晓, 田艺, 董原辰, 张懿暘, 周京生, 液晶, 双亲分子, 5CB, SDS, CTAB, DTAB, 超声, 乳化, 液滴, DNA 单链双亲分子; liquid crystal, LC, droplet, ultrasonic, emulsification, amphiphilic molecule

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BRAKE, J.M. et al., "An Experimental System for Imaging the Reversible Adsorption of Amphiphiles at Aqueous-Liquid Crystal Interfaces", Langmuir, vol. 18, 27 June 2002 (27.06.2002), pages 6101-6109	1-15
A	CN 102526745 A (XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY), 04 July 2012 (04.07.2012), claim 1	1-15
A	CN 102414554 A (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION), 11 April 2012 (11.04.2012), claims 37-38	1-15
A	CN 1346866 A (SONY INTERNATIONAL (EUROPE) GMBH et al.), 01 May 2002 (01.05.2002), page 5, lines 9-25	1-15

☐ 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 28 June 2017	Date of mailing of the international search report 11 July 2017
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer HAO, Xiaoyan Telephone No. (86-10) 010-82246664

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2016/101933

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102526745 A	04 July 2012	CN 102526745 B	27 February 2013
CN 102414554 A	11 April 2012	US 9341570 B2	17 May 2016
		US 2016223573 A1	04 August 2016
		US 9547018 B2	17 January 2017
		EP 2422186 A1	29 February 2012
		US 2011007261 A1	13 January 2011
		WO 2010126774 A1	04 November 2010
		US 2014024122 A1	23 January 2014
		US 9080973 B2	14 July 2015
		CN 102414554 B	26 November 2014
CN 1346866 A	01 May 2002	CN 1234801 C	04 January 2006
		EP 1197791 A3	04 December 2002
		US 2002084442 A1	04 July 2002
		EP 1197791 A2	17 April 2002
		JP 4394317 B2	06 January 2010
		US 6737126 B2	18 May 2004
		JP 2002194357 A	10 July 2002

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2016/101933

A. 主题的分类 G01N 21/21(2006.01)i; G01N 21/41(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) G01N21/- 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)) CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, ISI Web of Knowledge, 清华大学, 杨忠强, 刘冬生, 梁晓, 田艺, 董原辰, 张懿暘, 周京生, 液晶, 双亲分子, 5CB, SDS, CTAB, DTAB, 超声, 乳化, 液滴, DNA单链双亲分子; liquid crystal, LC, droplet, ultrasonic, emulsification, amphiphilic molecule		
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
A	BRAKE, Jeffrey M. et al. "An Experimental System for Imaging the Reversible Adsorption of Amphiphiles at Aqueous-Liquid Crystal Interfaces" Langmuir, 第18卷, 2002年 6月 27日 (2002 - 06 - 27), 第6101-6109页	1-15
A	CN 102526745 A (西安交通大学) 2012年 7月 4日 (2012 - 07 - 04) 权利要求1	1-15
A	CN 102414554 A (威斯康星校友研究基金会) 2012年 4月 11日 (2012 - 04 - 11) 权利要求37-38	1-15
A	CN 1346866 A (索尼国际欧洲股份有限公司 等) 2002年 5月 1日 (2002 - 05 - 01) 第5页第9-25行	1-15
☐ 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(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		国际检索报告邮寄日期
2017年 6月 28日		2017年 7月 11日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
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		郝小燕 电话号码 (86-10)010-82246664

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/101933

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	102526745	A	2012年 7月 4日	CN	102526745	B		2013年 2月 27日	
CN	102414554	A	2012年 4月 11日	US	9341570	B2		2016年 5月 17日	
				US	2016223573	A1		2016年 8月 4日	
				US	9547018	B2		2017年 1月 17日	
				EP	2422186	A1		2012年 2月 29日	
				US	2011007261	A1		2011年 1月 13日	
				WO	2010126774	A1		2010年 11月 4日	
				US	2014024122	A1		2014年 1月 23日	
				US	9080973	B2		2015年 7月 14日	
				CN	102414554	B		2014年 11月 26日	
CN	1346866	A	2002年 5月 1日	CN	1234801	C		2006年 1月 4日	
				EP	1197791	A3		2002年 12月 4日	
				US	2002084442	A1		2002年 7月 4日	
				EP	1197791	A2		2002年 4月 17日	
				JP	4394317	B2		2010年 1月 6日	
				US	6737126	B2		2004年 5月 18日	
				JP	2002194357	A		2002年 7月 10日	