



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113846292 A

(43) 申请公布日 2021. 12. 28

(21) 申请号 202110858734.3

C23C 14/58 (2006.01)

(22) 申请日 2021.07.28

C21D 1/26 (2006.01)

(71) 申请人 深圳赛陆医疗科技有限公司

C12Q 1/6874 (2018.01)

地址 518000 广东省深圳市龙华区观澜街
道新澜社区观光路1301号银星科技大
厦B1105

G01N 21/64 (2006.01)

(72) 发明人 王谷丰

(74) 专利代理机构 深圳卓正专利代理事务所

(普通合伙) 44388

代理人 万正平 吴思莹

(51) Int. Cl.

C23C 14/16 (2006.01)

C23C 14/18 (2006.01)

C23C 14/30 (2006.01)

C23C 14/26 (2006.01)

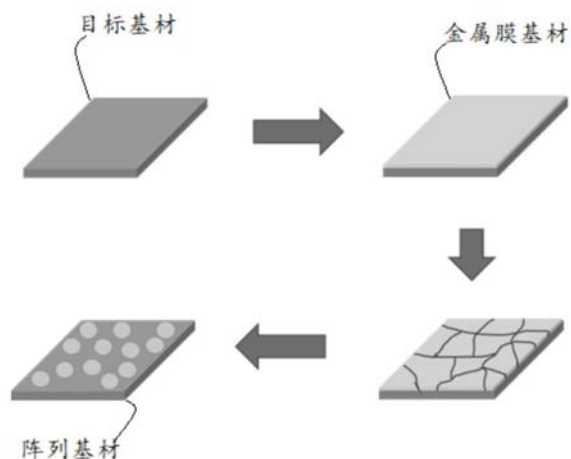
权利要求书2页 说明书7页 附图4页

(54) 发明名称

生物测序芯片及基底、纳米颗粒阵列基材和
制备方法

(57) 摘要

本发明提供了一种生物测序芯片及基底、纳米颗粒阵列基材和制备方法。其中，纳米颗粒阵列基材的制备方法，包括：在目标基材上沉积金属膜，形成金属膜基材；快速热退火处理金属膜基材，使金属膜基材上的金属膜形成金属纳米颗粒阵列，得到阵列基材。本发明至少可以解决如下问题：如何提供具有高重复性、高密度的二代生物测序芯片及其基材与基底。



1. 纳米颗粒的阵列基材制备方法,其特征在于,包括:
在目标基材上沉积金属膜,形成金属膜基材;
快速热退火处理金属膜基材,使金属膜基材上的金属膜形成金属纳米颗粒阵列,得到阵列基材,用于制备生物测序芯片基底。
2. 根据权利要求1所述的纳米颗粒的阵列基材制备方法,其特征在于,所述金属纳米颗粒阵列的纳米颗粒的形状、尺寸和间距根据所述快速热退火处理的加热速度、退火温度、退火时间以及所述金属膜的厚度中的至少一个进行调节。
3. 根据权利要求1所述的纳米颗粒的阵列基材制备方法,其特征在于,目标基材选自硅晶基材、玻璃基材、云母基材或石英基材中的一种。
4. 根据权利要求1所述的纳米颗粒阵列基材的制备方法,其特征在于,所述金属膜的厚度根据沉积的时间进行调节。
5. 根据权利要求1所述的纳米颗粒阵列基材的制备方法,其特征在于,所述快速热退火的退火方式为变温退火。
6. 根据权利要求1所述的纳米颗粒的阵列基材制备方法,其特征在于,所述金属膜的厚度在2到250nm之间。
7. 根据权利要求1所述的纳米颗粒的阵列基材制备方法,其特征在于,所述快速热退火处理的退火温度在200到1100度之间,所述快速热退火处理的退火时间在30到300秒之间。
8. 根据权利要求1所述的纳米颗粒的阵列基材制备方法,其特征在于,所述在目标基材上沉积金属膜,形成金属膜基材,包括:
清洁目标基材的表面,得到第一洁净基材;
对第一洁净基材镀金处理,形成所述金属膜基材。
9. 根据权利要求8所述的纳米颗粒的阵列基材制备方法,其特征在于,所述对第一洁净基材进行镀金处理,形成金属膜基材,包括:
用清洗液清洗第一洁净基材,得到所述第二洁净基材,其中,所述清洗液为Piranha溶液;
对所述第二洁净基材镀金处理,形成所述金属膜基材。
10. 根据权利要求8所述的纳米颗粒的阵列基材制备方法,其特征在于,所述清洁目标基材的表面包括:
用第一清洗剂和第二清洗剂交替清洗目标基材;其中,所述第一清洗剂为乙醇或异丙醇,所述第二清洗剂为水。
11. 纳米颗粒的阵列基材,其特征在于,根据权利要求1-10任一所述的纳米颗粒阵列基材的制备方法制备而成。
12. 生物测序芯片基底的制备方法,其特征在于,包括:
对权利要求11中所述的纳米颗粒的阵列基材进行引物固定处理,得到生物测序芯片基底。
13. 根据权利要求12所述的生物测序芯片基底的制备方法,其特征在于,所述引物固定处理包括:
应用硫醇化的寡核苷酸修饰所述阵列基材的纳米颗粒;或者
在所述阵列基材的纳米颗粒的表面生成活性基团后,应用修饰的寡核苷酸进行修饰处

理。

14. 根据权利要求13所述的生物测序芯片基底的制备方法, 其特征在于, 所述活性基团选自羟基、羧基、氨基、环氧基、醛基、N羟基琥珀酰亚胺基、活化氨基、巯基、叠氮基中的其中一种。

15. 根据权利要求14所述的生物测序芯片基底的制备方法, 其特征在于,

当所述活性基团为羟基时, 所述活性剂为羟基硫醇;

当所述活性基团为羧基时, 所述活性剂为羧基硫醇。

16. 生物测序芯片基底, 其特征在于, 根据权利要求12-15任一所述的生物测序芯片基底的制备方法制备而成。

17. 生物测序芯片, 其特征在于, 包含权利要求16所述的生物测序芯片基底。

生物测序芯片及基底、纳米颗粒阵列基材和制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物测序领域。更具体地说,本发明涉及生物测序芯片及基底、纳米颗粒阵列基材和制备方法。

背景技术

[0002] 生物分子研究的发展部分得益于表征生物分子或其反应的技术不断改进。特别的,对核酸DNA和RNA的研究得益于基因测序及序列分析技术的发展。

[0003] 专利文献US5302509描述了一种对多核苷酸模板测序的方法,该方法包括使用DNA聚合酶或DNA连接酶连续合成与模板链互补的,标记了的核苷酸或多核苷酸,而实施的多次延申反应。在这种“合成测序(sequencing by synthesis)”反应中,将测序反应使用的核苷三磷酸底物封闭,以防止过度合成;差异标记核苷酸底物,以使得其能够被确定读出。

[0004] 迄今为止,已报道了大量可在固体支持物上进行的用于多核苷酸模板双末端测序的方法,例如US 20060024681、US 20060292611、WO 06110855、WO 06135342、WO 07010252、WO 07091077和WO 00179533等专利文献。WO 98/44151和WO 00/18957都描述了核算扩增的方法,其允许扩增产物被固定在固体支持物上,以形成由簇或集群(colony)构成的阵列。前述簇或集群是由多个相同的固定化的多核苷酸链和多个相同的固定化互补链形成的。根据这些方法制备的成簇阵列上的DNA集群中所存在的己二酸分子可以为测序反应提供模板,例如WO 98/44151文中所述。

[0005] 生物测序芯片的固体支持物(固体支持物又称“基底”)的制备、修饰以及簇的形成,是基因测序系统的关键技术之一。目前基于荧光读取技术的测序芯片,主要是在玻璃芯片基材上固定引物,通过多次桥式(bridge)或模板步移(template walking)PCR扩增反应形成多个簇,从而完成测序芯片基底制作。因此,引物固定密度、抗非特异性能、生物反应活性对测序芯片的质量起着关键作用。

[0006] 然而,在小尺寸(例如微米到厘米级别)领域,玻璃芯片很难在大表面积上在做到化学功能的均一性,导致其上引物的表面修饰浓度不均一,从而使得由PCR反应次数控制的簇大小不均一。在荧光显微镜下,有效光点(簇)会大量减少,从而导致通量大幅降低。因此,开发一款可用于二代测序的,高重复性、高密度的测序芯片至关重要。

发明内容

[0007] 本发明的一个目的是解决至少上述问题,并提供至少后面将说明的优点。

[0008] 本发明的一个目的是至少解决如下问题:(1)如何调节固定到平面上的纳米颗粒的大小和分布密度,使得相邻纳米颗粒之间的间距可调、互相不接触;(2)如何提供具有高重复性、高密度的二代生物测序芯片及其基材与基底;(3)如何提供干净的生物测序芯片基底,以降低生物测序芯片测量时的噪音。

[0009] 具体地,本发明通过如下技术方案实现:

[0010] 本发明的第一方面

[0011] 第一方面提供了一种纳米颗粒的阵列基材制备方法,包括:

[0012] 在目标基材上沉积金属膜,形成金属膜基材;

[0013] 将金属膜基材进行快速热退火处理,使金属膜基材上的金属膜形成纳米颗粒阵列,得到纳米颗粒的阵列基材,该阵列基材用于制备生物测序芯片基底。

[0014] 由于沉积金属膜和快速热退火处理的过程是易于调节和控制的,所以,根据上述方法,能够提高调节纳米颗粒的形状、大小和分布密度的便利度,更有利于符合生产需求的金属纳米颗粒阵列的制备,例如高分布密度的、相邻纳米颗粒之间互相不接触的阵列基材。

[0015] 纳米颗粒被固定附着到阵列基材的平面上时,由于它们的均一的尺寸和表面化学性质,可以作为理想的簇的载体。因此,根据第一方面提供的纳米颗粒的阵列基材制备方法,便可以大规模制造均一的,具有晶片尺寸的、背景干净的阵列基材,用作簇的载体;从而可以用于制作具有高重复性、高密度的二代生物测序芯片。

[0016] 本发明的第二方面

[0017] 第二方面提供了一种纳米颗粒阵列基材,其根据第一方面所述的纳米颗粒阵列基材的制备方法制备而成。

[0018] 本发明的第三方面

[0019] 第三方面提供了一种生物测序芯片基底的制备方法,包括:

[0020] 对第二方面中所述的阵列基材进行引物固定处理,得到芯片基底。

[0021] 本发明的第四方面

[0022] 第四方面提供了一种生物测序芯片基底,根据第三方面所述的生物测序芯片基底的制备方法制备而成。

[0023] 本发明的第五方面

[0024] 第五方面提供了一种生物测序芯片,包含第四方面所述的生物测序芯片基底。

[0025] 相对于现有技术而言,本发明的实施例的技术效果至少包括:

[0026] 1. 由于沉积金属膜和快速热退火处理的过程是易于调节和控制的,所以,根据本发明实施例提供的纳米颗粒阵列基材的制备方法,能够提高调节纳米颗粒的形状、大小和分布密度的便利度,更有利于符合生产需求的金属纳米颗粒阵列的制备,例如高分布密度的、相邻纳米颗粒之间互相不接触的阵列基材。

[0027] 2. 本申请实施例提供的纳米颗粒的阵列基材具有晶圆级的尺寸,易于制造生物测序芯片。另外,阵列基材上纳米颗粒的尺寸和间距易调,可精确控制,因此可以进行均一的、易于图案化的制造。

[0028] 3. 本申请实施例提供的生物测序芯片基底上,只有金属纳米颗粒是活性的,能够与引物反应,而基底的其他地方则非常干净。因此,根据前述生物测序芯片基底制备的生物测序芯片可以降低测量时产生的噪音。

[0029] 4. 本申请实施例提供的生物测序芯片基底上引物的表面修饰浓度均一,能够使得由PCR反应次数控制的簇大小均一,可以提高荧光显微镜下有效光点(簇)的数量,从而大幅提升通量。

[0030] 5. 基于本申请实施例提供的生物测序芯片基底开发的生物测序芯片具有高重复性和高分布密度。

[0031] 本发明的其它优点、目标和特征将部分通过下面的说明体现,部分还将通过对本

发明的研究和实践而为本领域的技术人员所理解。

附图说明

[0032] 图1为本发明的纳米颗粒阵列基材的制备方法的一些实施例中目标基材沉积金属膜形成金属膜基材后,裂解为纳米颗粒阵列基材的一个示意图;

[0033] 图2为本发明的纳米颗粒阵列基材的制备方法的一些实施例中金属膜在快速热退火处理后裂解为颗粒的示意图。

[0034] 图3为本发明一些实施例中制备的生物测序芯片基底的一个示意图;

[0035] 图4为本发明的纳米颗粒阵列基材的制备方法的一些实施例中纳米颗粒的平均尺寸与金属膜的厚度之间的一个关系示意图;

[0036] 图5为本发明的纳米颗粒阵列基材的制备方法的一些实施例中纳米颗粒的分布密度与金属膜的厚度之间的一个关系示意图;

[0037] 图6为本发明的生物测序芯片基底的制备方法的一些实施例中对金属纳米颗粒进行引物固定处理的一个示意图;

[0038] 图7是纳米颗粒的阵列基材与硫醇化的寡核苷酸在引物固定处理前的一个示意图;

[0039] 图8是纳米颗粒的阵列基材与硫醇化的寡核苷酸在引物固定处理后的一个示意图。

具体实施方式

[0040] 下面结合附图对本发明做进一步的详细说明,以令本领域技术人员参照说明书文字能够据以实施。

[0041] 本申请实施例中的术语“包括”和“设置有”以及它们任何变形,意图在于覆盖不排他的包含。例如包含了一系列步骤或单元的过程、方法、系统、产品或设备没有限定于已列出的步骤或单元,而是可选地还包括没有列出的步骤或单元,或可选地还包括对于这些过程、方法、产品或设备固有的其它步骤或单元。

[0042] 除以上所述外,仍需要强调的是,在本文中提及“实施例”意味着,结合实施例描述的特定特征、结构或特性可以包含在本申请的至少一个实施例中。在说明书中的各个位置出现该短语并不一定均是指相同的实施例,也不是与其它实施例互斥的独立的或备选的实施例。本领域技术人员显式地和隐式地理解的是,本文所描述的实施例可以与其它实施例相结合。

[0043] <第一方面:纳米颗粒阵列基材的制备方法>

[0044] 退火(Annealing)是将金属缓慢加热到一定温度,保持足够时间,然后以适宜速度冷却的一种金属热处理工艺。相应地,快速热退火(Rapid Thermal Annealing,简称RTA)一般指的是,对工件依次进行加热处理、退火处理和冷却处理;具体来说,要将工件从室温快速加热到目标温度,之后根据材料和工件尺寸采用对应的退火时间和退火温度,然后进行快速冷却至室温,目的是使金属内部组织达到或接近平衡状态,获得良好的工艺性能和使用性能。

[0045] 在加热处理阶段,加热速度可根据需要调节,加热温度随加热时间呈线性增加。加

热处理也可以分阶段完成,即将加热时间划分成多个时间段,在每个时间段通过不同的温度改变斜率来实现加热处理。

[0046] 在退火处理阶段,实际的退火方式是存在多种的,可以根据需要进行设定。例如,在退火时间内,退火温度可以被设置为一直保持不变,也可以被设置为随时间变化。

[0047] 通过上述的快速热退火处理,可以将目标基材上沉积的金属膜裂解为包含多个纳米颗粒的纳米颗粒阵列。

[0048] 根据以上构思,第一方面提供了一种纳米颗粒的阵列基材制备方法,包括:

[0049] 在目标基材上沉积金属膜,形成金属膜基材;

[0050] 快速热退火处理金属膜基材,使金属膜形成纳米颗粒阵列,得到阵列基材,该阵列基材用于制备生物测序芯片基底。

[0051] 需要说明的是,基材指的是用于制作芯片的基板材料。目标基材可以选自由硅晶、云母、玻璃或石英等材料制备的基材,即目标基材可以选自硅晶基材、玻璃基材、云母基材或石英基材中的一种。进一步地,所述硅晶基材为单晶硅圆基材。

[0052] 所述金属膜中的金属可以是金、铂、银、铜等,本领域技术人员可以根据需要进行选取。

[0053] 在上述基础上,通过调节金属膜的厚度,快速热退火的加热速度、退火温度以及退火时间,可以调节或控制纳米颗粒的形状、尺寸大小、分布密度和间距,从而形成合适的纳米颗粒阵列。需要说明的是,这里的分布密度,亦称“概率的分布密度”,能够反映纳米颗粒阵列中相邻的纳米颗粒之间的间距。根据纳米颗粒的尺寸(纳米颗粒的尺寸可以通过粒径来表征)和分布密度就可以确定相邻纳米颗粒之间的间距。

[0054] 由于沉积金属膜和快速热退火处理的过程是易于调节和控制的,所以,根据上述方法,能够提高调节纳米颗粒的形状、大小和分布密度的便利度,更有利于符合生产需求的金属纳米颗粒阵列的制备,例如高分布密度的、相邻纳米颗粒之间互相不接触的阵列基材。

[0055] 尽管,金属膜的厚度、加热速度、退火温度和退火时间,与纳米颗粒的形状、大小、分布密度和间距之间呈比较复杂的关系。但是仍然具备以下所述的明显特征。这些特征能够帮助本领域技术人员获取到理想的纳米颗粒阵列基材。

[0056] 一般在快速热退火处理中,改变加热速度,可以控制纳米颗粒的大小。例如,迅速升至高温,可把金属膜分裂成多个小块,得到以小尺寸为主的纳米颗粒群;而降低升温速度,则有利于大尺寸纳米颗粒的形成。

[0057] 得益于较大球体的较低表面能,较长的退火时间可使较大的纳米颗粒变大且成球形、而较小的纳米颗粒则变小以至于消失。而在另一方面,较短的退火时间则不能将纳米颗粒转变为理想的纳米球形,并且呈现为不规则的形状和大小。所以,在一定条件下,退火时间越长,纳米颗粒的尺寸越大。

[0058] 与退火时间类似,在一定条件下,退火温度越高,纳米颗粒的尺寸越大。

[0059] 而金属膜的厚度则可以用来控制金属膜中金属的总量,从而影响纳米颗粒的大小和间距。如果金属的总量一定,纳米颗粒的间距与尺寸则成反相关关系。当金的总量增加时,保持纳米颗粒的尺寸,纳米颗粒的间距会下降。

[0060] 进一步地,将金膜的厚度、加热速度、退火时间和退火温度四个因素结合在一起后,就可以实现对纳米颗粒形状、大小和间距的更为准确地、进一步地综合控制。具体来说,

金膜的厚度薄,加热速度快,退火时间越短,退火温度越低,可以得到间距小、分布密度大的小颗粒;金膜的厚度薄,加热速度快,退火时间越长,退火温度越高,可以得到间距大、低分布密度的大颗粒;金膜的厚度厚,加热速度快,退火温度高,退火时间越短,可以得到间距小、分布密度大的大颗粒;金膜的厚度越厚,加热速度快,退火温度高,退火时间越长,可以得到间距大、低分布密度的超大颗粒。

[0061] 此外,当所述快速退火处理的退火方式为变温退火时,即让退火温度缓缓降低或升高,也可以实现对纳米颗粒形状的控制,得到想要的颗粒大小和表面浓度。例如,在快速热退火时,采用高速升温,可把金属膜分裂成多个小块,得到以小颗粒为主的颗粒群;而在变温退火时,使用逐渐降低的退火温度,则能防止大颗粒的形成,同时颗粒外形更圆润。

[0062] 在一些实施方式中,可以根据沉积的时间调节所述金属膜的厚度。一般来说,沉积时间和金属膜的厚度呈正比关系。示例性地,可以通过热蒸发或电子束蒸发将厚度可调的金属膜沉积在目标基材干净的平坦表面上;在具体的生产实践中,一般会通过蒸镀仪进行沉积处理,而蒸镀仪上一般就会有厚度读数。

[0063] 在一些实施方式中,所述金属膜的厚度在2到250nm之间。进一步地,所述金属膜的厚度在2到8nm之间。

[0064] 在一些实施方式中,所述快速热退火处理的退火温度在200到1100度之间,所述快速热退火处理的退火时间在30到300秒之间。

[0065] 示例性地,所述金属膜的厚度为4nm,所述快速热退火处理的退火温度为450度,退火时间为180秒。在这种条件下,4nm厚的金属膜在经过经热退火处理后,能够形成平均尺寸为30nm的均匀的、球形的纳米颗粒阵列。换言之,纳米颗粒的平均粒径为30nm,分布密度为 10^3 个/ μm^2 (或 10×10^{10} 个/ cm^2)。

[0066] 进一步地,所述在目标基材上沉积金属膜,形成金属膜基材的步骤,包括:

[0067] 清洁目标基材的表面;得到第一洁净基材;

[0068] 对第一洁净基材镀金处理,形成金属膜基材。

[0069] 进一步地,所述清洁目标基材的表面的步骤包括:

[0070] 用第一清洗剂和第二清洗剂交替清洗目标基材;其中,第一清洗剂为乙醇或异丙醇,第二清洗剂为水。

[0071] 进一步地,所述对第一洁净基材镀金处理,形成金属膜基材的步骤,包括:

[0072] 用清洗液清洗第一洁净基材,得到所述第二洁净基材,其中,所述清洗液为食人鱼溶液(Piranha溶液);

[0073] 对所述第二洁净基材镀金处理,形成所述金属膜基材。

[0074] 在本发明实施例中,用乙醇或异丙醇、水交替清洗直径为预定尺寸(例如4-8英寸)的目标基材表面,得到第一洁净基材后,再使用Piranha溶液清洗第一洁净基材,能使获取的第二洁净基材更好地附着金属膜。

[0075] 进一步地,对所述第二洁净基材镀金处理包括:

[0076] 在电阻式蒸发器炉或者电子束蒸发器中对第二洁净基材进行镀金处理。

[0077] <第二方面:纳米颗粒的阵列基材>

[0078] 第二方面提供了一种纳米颗粒的阵列基材,根据第一方面所述纳米颗粒的阵列基材制备方法制备而成。

[0079] <第三方面:生物测序芯片基底的制备方法>

[0080] 第三方面提供了一种生物测序芯片基底的制备方法

[0081] 对第一方面或第二方面中的阵列基材进行引物固定处理,得到芯片基底。

[0082] 第三方面提供的生物测序芯片基底中只有金属纳米颗粒是活性的,能够与引物反应;芯片基底的其他地方会很干净,因此可以降低测量时产生的噪音。

[0083] 在一些实施方式中,所述引物固定处理包括:

[0084] 应用硫醇化的寡核苷酸修饰所述阵列基材的纳米颗粒;或者

[0085] 在所述阵列基材的纳米颗粒的表面生成活性基团后,应用修饰的寡核苷酸进行修饰处理。

[0086] 关于修饰的寡核苷酸的具体选择,可以根据纳米颗粒的表面性质进行确定。例如当纳米颗粒的表面带有醛基的连接物时,修饰的寡核苷酸可以带有氨基,从而和醛基反应生成共价连接;又比如当纳米颗粒的表面接的是带有抗生物素蛋白的连接物时,寡核苷酸可以带有链霉亲和素,从而可以和抗生物素蛋白形成稳定的连接。

[0087] 在一些实施方式中,所述活性基团选自羟基、羧基、氨基、环氧基、醛基、N-羟基琥珀酰亚胺基、活化氨基、巯基、叠氮基。

[0088] 在一些实施方式中,当所述活性基团为羟基时,所述活性剂为羟基硫醇;当所述活性基团为羧基时,所述活性剂为羧基硫醇。

[0089] <第四方面:生物测序芯片基底>

[0090] 第四方面提供了一种生物测序芯片基底,根据第三方面所述生物测序芯片基底制备方法制备而成。

[0091] <第五方面:生物测序芯片>

[0092] 第四方面提供了一种生物测序芯片,包含第四方面所述的生物测序芯片基底。

[0093] 本申请实施例提供的生物测序芯片基底上引物的表面修饰浓度均一,能够使得由PCR反应次数控制的簇大小均一,可以提高荧光显微镜下有效光点(簇)的数量,从而大幅提升通量。基于本申请实施例提供的生物测序芯片基底开发的生物测序芯片具有高重复性和高分布密度。

[0094] 生物测序芯片基底制备实验:

[0095] (1) 选取单晶硅圆基材作为目标基材。

[0096] (2) 用乙醇或异丙醇作为第一清洗剂、水作为第二清洗剂,交替清洗直径为4英寸的目标基材表面,得到第一洁净基材;然后使用Piranha溶液清洁第一洁净基材,得到第二洁净基材。

[0097] (3) 将第二洁净基材置于Edward 306A resistive evaporator炉中,镀上2-8纳米厚的金层,形成金属膜,得到金属膜基材。

[0098] (4) 将金属膜基材加热至450基材的温度下退火3min,得到纳米颗粒的阵列基材。

[0099] (5) 将阵列基材切割后,清洗吹干,置于浓度为1.0mol/L的巯基修饰的PolyT核酸引物的 K_2HPO_4 溶液中(K_2HPO_4 溶液的浓度为150mmol/L),反应1小时,以进行引物固定处理;然后依次用3XSSC溶液(含质量分数为0.1%的Triton)、0.2mol/L K_2HPO_4 溶液、150mmol/L HEPES与150mmol/L NaCl的混合溶液及超纯水清洗后,含有PolyT引物的生物测序芯片基底制作完成。

[0100] 实验结果:

[0101] 图1展示了目标基材沉积金属膜形成金属膜基材后,裂解为纳米颗粒阵列基材的示意图。

[0102] 图2进一步展示了4纳米厚度的金属膜在快速热退火处理后的示意图。

[0103] 结合图1-2所示,可以看出,4nm厚的金属膜在经过快速热退火处理后转变为均匀的、球形的且相邻颗粒之间不接触的金属纳米颗粒阵列。其中,金属纳米颗粒平均粒径为30nm,分布密度为 $10^3/\mu\text{m}^2$ 。

[0104] 图3展示了制备的晶圆级尺寸的生物测序芯片基底。

[0105] 图4-5显示了450℃的退火温度条件下,退火处理3分钟,纳米颗粒的平均大小(平均大小即平均尺寸)和分布密度对金属膜厚度的依赖性。结果表明,将金属膜的膜厚度从2nm增加到8nm可以降低球形的金属纳米颗粒的分布密度,但会增加球形的金属纳米颗粒的平均尺寸。因此,形成均匀的金纳米颗粒阵列,不仅需要合适的金属膜厚度,还需要相应的退火工艺。

[0106] 在金属纳米颗粒形成之后,可以使用硫醇化学方法,通过硫醇化的寡核苷酸直接地对金属纳米颗粒进行引物固定处理,完成引物修饰,以用于形成生物测序芯片基底,具体如图6-8所示;其中,图6完整的反映了引物固定处理的过程,图7反映的是引物固定处理前的纳米颗粒的阵列基材与硫醇化的寡核苷酸,图8反映的是在图7的基础上对纳米颗粒的阵列基材进行引物固定处理后的结果。结合图6-8可以发现,经过引物固定处理后,硫醇化的寡核苷酸20与纳米颗粒的阵列基材10上的金属纳米颗粒11结合在了一起。

[0107] 除了以上方法外,还可以通过与修饰的寡核苷酸具有反应性的其他表面官能团间接地对金属纳米颗粒进行引物修饰,以形成生物测序芯片基底。

[0108] 用引物修饰金属纳米颗粒后,底物即可用于桥连(bridge)或模板步移(template walking)扩增。由于引物区域是不连续的,并且受到金属纳米颗粒边界的限制,因此簇的大小在过度扩增时只受到金属纳米颗粒大小的限制,而不会过度生长成大的簇。这样得到的簇大小均一,不会受到表面反应活性不均一性的影响。

[0109] 尽管本发明的实施方案已公开如上,但其并不仅仅限于说明书和实施方式中所列运用,它完全可以被适用于各种适合本发明的领域,对于熟悉本领域的人员而言,可容易地实现另外的修改,因此在不背离权利要求及等同范围所限定的一般概念下,本发明并不限于特定的细节和这里示出与描述的图例。

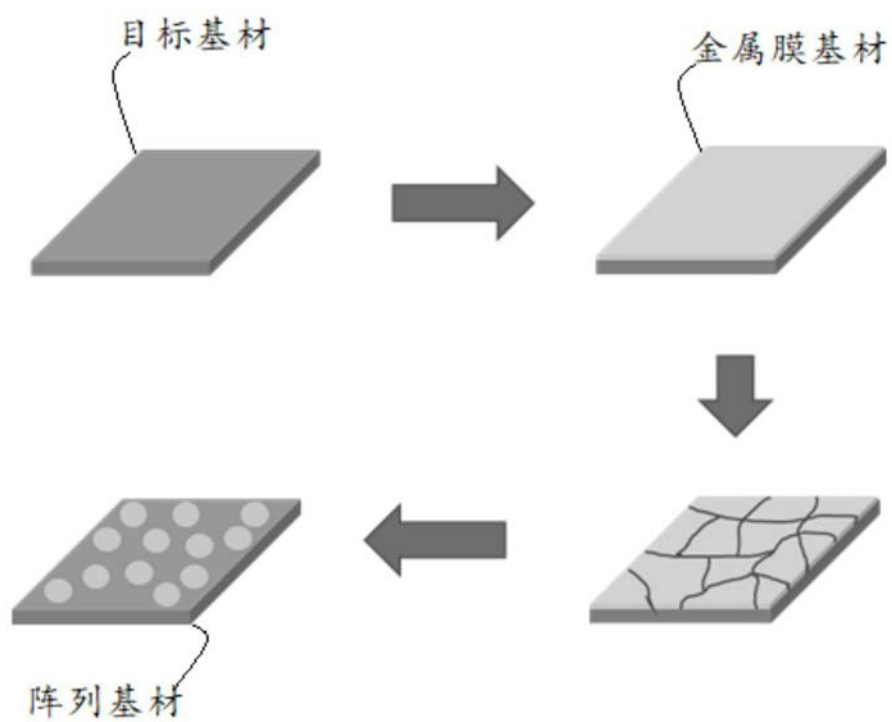


图1

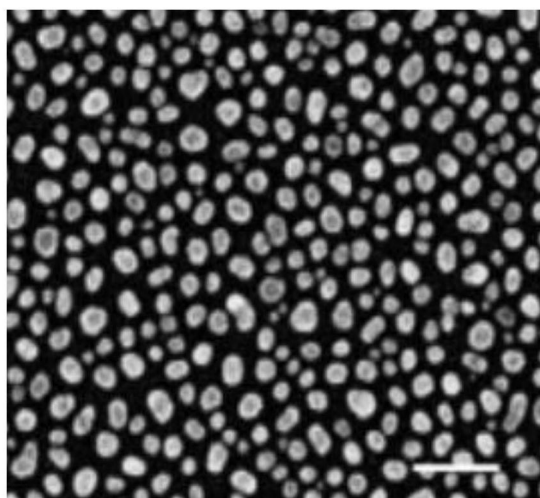


图2

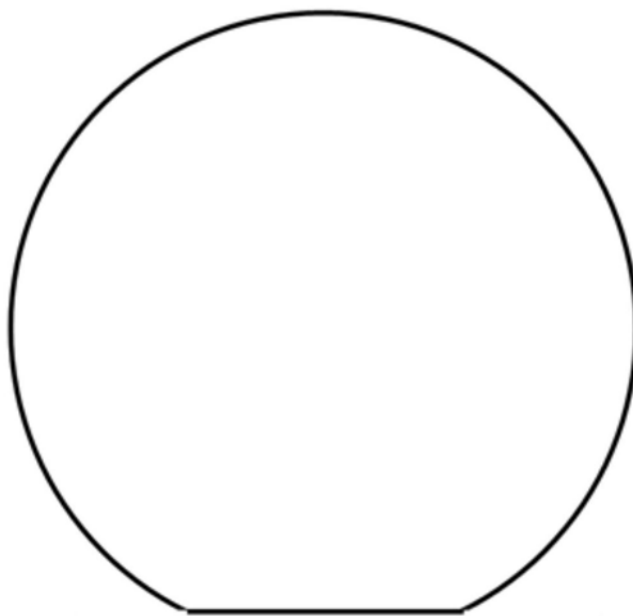


图3

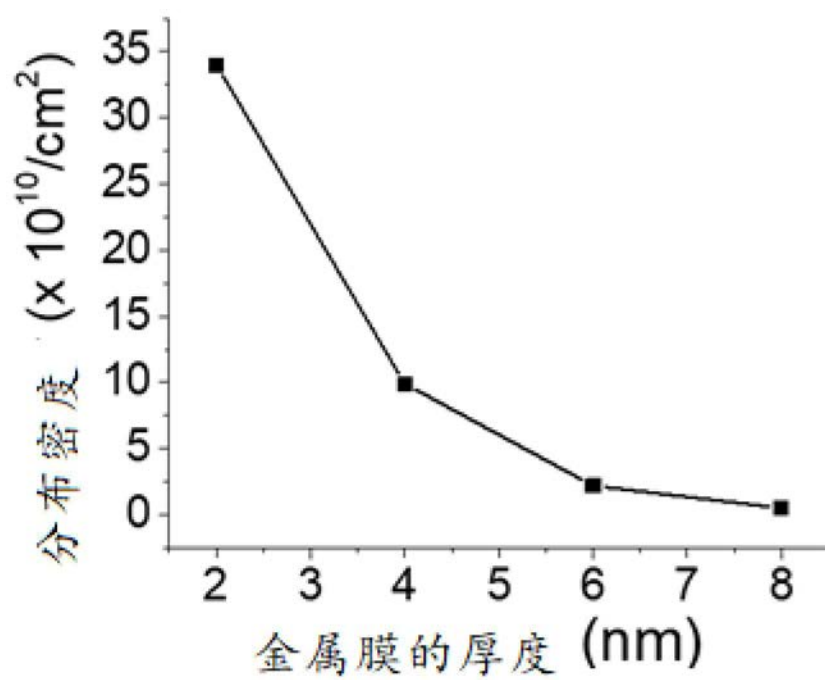


图4

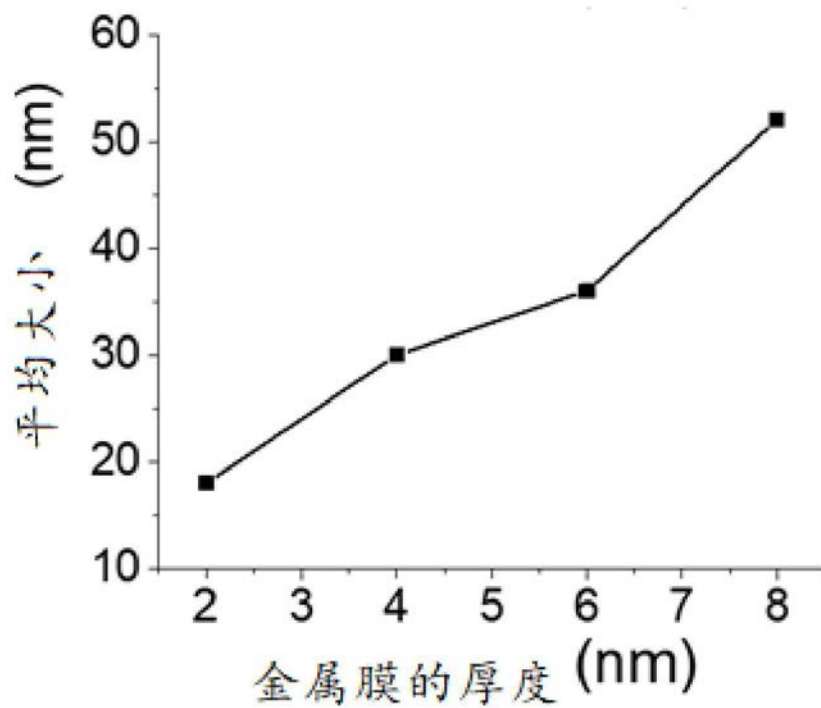


图5

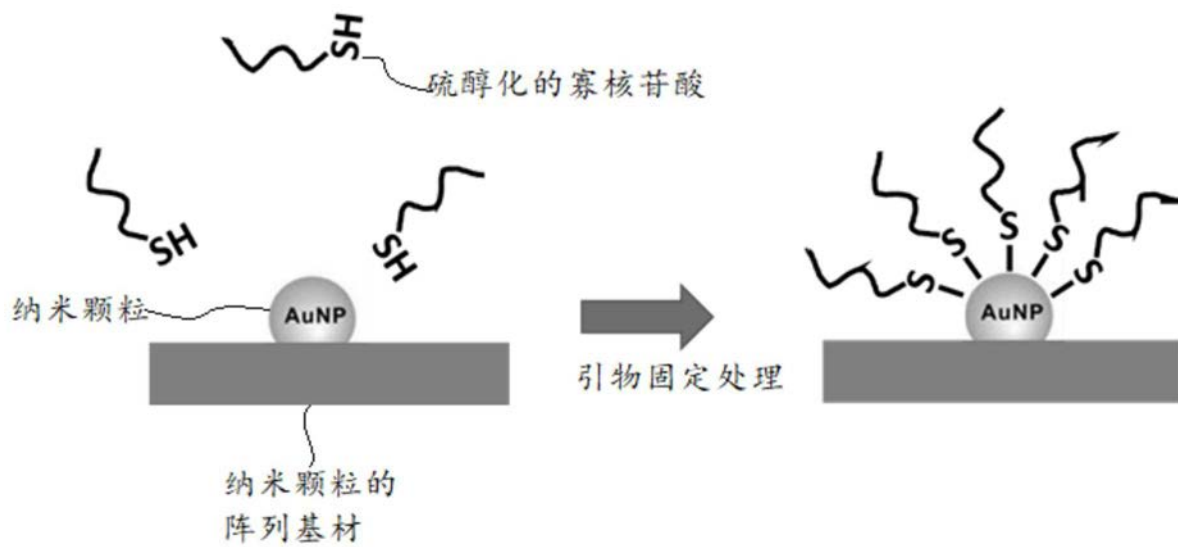


图6

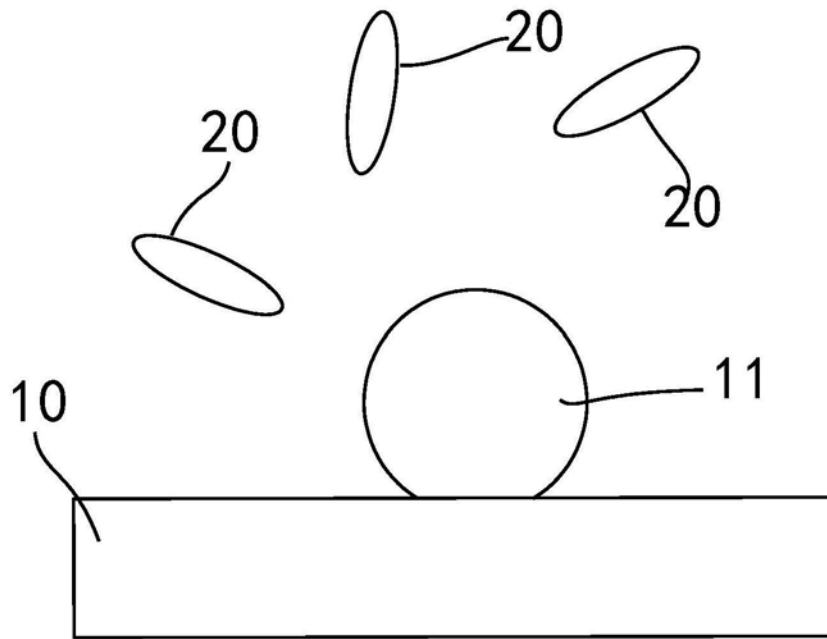


图7

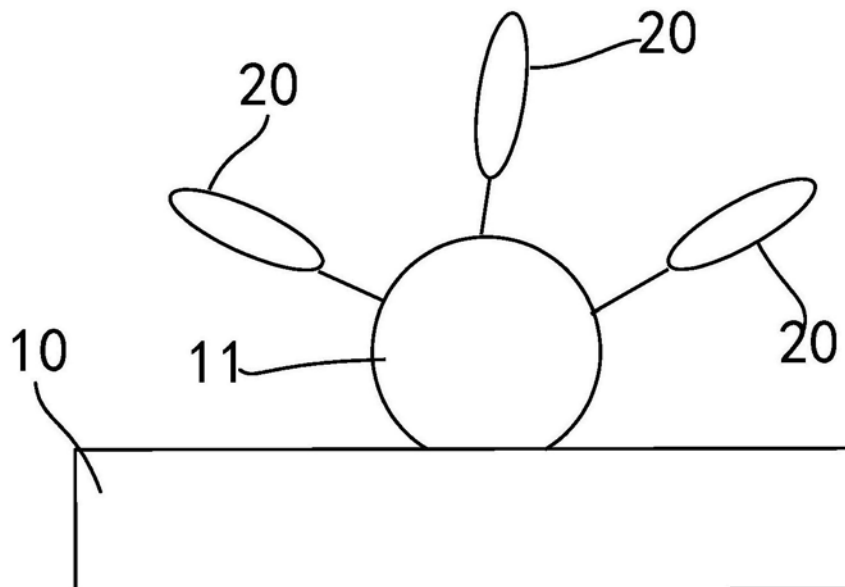


图8