

(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
2012 年 9 月 27 日 (27.09.2012)



(10) 国际公布号
WO 2012/126293 A1

- (51) 国际专利分类号:
C12M 1/00 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2012/070999
- (22) 国际申请日: 2012 年 2 月 10 日 (10.02.2012)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201110068676.0 2011 年 3 月 22 日 (22.03.2011) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 博奥生物有限公司 (CAPITALBIO CORPORATION) [CN/CN]; 中国北京市昌平区生命科学园路 18 号, Beijing 102206 (CN)。清华大学 (TSINGHUA UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学, Beijing 100084 (CN)。
- (72) 发明人: 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 叶嘉明 (YE, Jiaming) [CN/CN]; 中国北京市昌平区生命科学园路 18 号, Beijing 102206 (CN)。王品虹 (WANG, Pinhong) [CN/CN]; 中国北京市昌平区生命科学园路 18 号, Beijing 102206 (CN)。王国青 (WANG, Guoqing)

[CN/CN]; 中国北京市昌平区生命科学园路 18 号, Beijing 102206 (CN)。邢婉丽 (XING, Wanli) [CN/CN]; 中国北京市昌平区生命科学园路 18 号, Beijing 102206 (CN)。

(74) 代理人: 北京集佳知识产权代理有限公司 (UNITALEN ATTORNEYS AT LAW); 中国北京市朝阳区建国门外大街 22 号赛特广场 7 层, Beijing 100004 (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, 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。

(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, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ,

[见续页]

(54) Title: AUTOMATIC INJECTION DEVICE FOR MICROARRAY CHIP AND AUTOMATIC INJECTION HYBRIDIZATION MICROARRAY CHIP

(54) 发明名称: 用于微阵列芯片的自动进样装置及自动进样杂交微阵列芯片

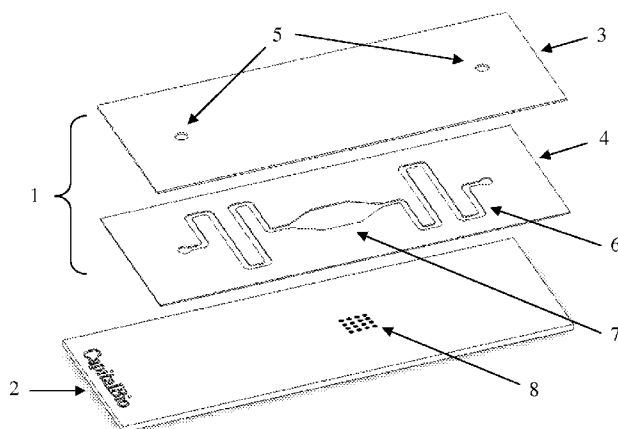


图 1 / Fig. 1

(57) Abstract: An automatic injection device comprises at least an injection unit (1). The said injection unit (1) is formed by sealing a cover plate layer (3) with hydrophilic surfaces and a microfluid layer (4). The said cover plate layer (3) is provided with at least two through holes (5). The said microfluid layer (4) is provided with a hollow-out hybridization chamber (7) and at least two hollow-out microfluid channels (6). One end of each channel (6) is connected with the hybridization chamber (7), and the other end is connected with a through hole (5) of the cover plate layer (3) respectively. Taking advantage of the hydrophilicity of the cover plate, the automatic injection device makes a solution automatically enter and fill the hybridization chamber (7) and the microfluid channels (6) by the driving force of liquid surface tension. The flow uniformity of sample solution in microarray chip is achieved by the structural design of the hybridization chamber (7) and the microfluid channels (6). The automatic injection device has advantages of simple manufacture, easy operation, high hybridization efficiency, low sample cost, and automatic quantificational injection.

[见续页]



WO 2012/126293 A1



BY, KG, KZ, MD, 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, 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))。

(57) 摘要:

一种自动进样装置, 含有至少一个进样单元(1), 所述进样单元(1)由表面具有亲水特性的盖片层(3)和微流体层(4)封固形成, 所述盖片层(3)设置有至少两个通孔(5), 所述微流体层(4)设置有一个镂空的杂交反应腔室(7)和至少两个镂空的微流体通道(6), 每个微流体通道(6)一端与杂交反应腔室(7)连通, 另一端分别与盖片层(3)的一个通孔(5)连通。该自动进样装置利用盖片的亲水特性, 以液体表面张力为驱动力实现溶液自动进入并充满杂交反应腔室(7)和微流体通道(6), 通过杂交反应腔室(7)和微流体通道(6)的结构设计来实现微阵列芯片样品溶液流动的均匀性, 具有制备简单, 操作简单, 杂交效率高, 样品消耗少, 并且能够自动定量进样等优点。

用于微阵列芯片的自动进样装置及自动进样杂交微阵列芯片

本申请要求于 2011 年 3 月 22 日提交中国专利局、申请号为 201110068676.0、发明名称为“用于微阵列芯片的自动进样装置及自动进样杂交微阵列芯片”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

本发明涉及生物技术领域，具体涉及一种用于微阵列芯片的自动进样装置及自动进样杂交微阵列芯片。

背景技术

核酸杂交技术是基于互补的 DNA 链的特异性结合，目前已经广泛应用于基因表达分析，基因表型分析，临床疾病诊断等领域。对于以微阵列芯片为代表传统的静态核酸杂交模式，杂交过程依靠单纯的分子扩散方式，目标分子必须从溶液扩散到基片上的探针表面，与探针相互识别和作用，由于核酸目标分子的扩散系数很小，因此往往需要数小时的杂交时间。此外，这种微阵列芯片进样大多依靠移液器等精密取样仪器来实现，这就大大限制了使用场合，并对操作者有较高要求。

目前，不少基于微流控技术的杂交芯片已经被研制，目的在于缩短杂交时间和降低样品的消耗。依据原理包括基于电场力或磁力搅拌、振动混合、连续流或者循环流的动态杂交芯片平台。但是这些技术由于芯片制作繁琐、样品消耗量大、外部辅助设备昂贵、操作流程复杂、无法实现多样本分析等各种原因，目前处于实验室研发阶段，无法将其进一步应用和推广。

发明内容

本发明的目的是提供一种自动进样装置，以液体的表面张力为驱动力使样品溶液自动进入并充满流体腔室和通道，以实现样品的自动定量进样。

本发明提供了的自动进样装置，含有至少一个进样单元，所述进样单元由

-2-

表面具有亲水特性的盖片层和微流体层封固形成,所述盖片层设置有至少两个通孔,所述微流体层设置有一个镂空的杂交反应腔室和至少两个镂空的微流体通道,每个微流体通道一端与杂交反应腔室连通,另一端分别与盖片层的一个通孔连通。

作为优选,所述微流体通道中可以选择其中一个作为流体流出通道,多个作为流体流入通道。

所述具有亲水表面特性的盖片可以由具有亲水表面特性的固体材料制成,也可以是普通固体材料通过修饰使其表面呈现亲水特性,普通固体材料具体包括玻璃、高分子聚合物、硅片或金属及其氧化物等。

作为优选,所述具有亲水表面特性的盖片,其与微流体层接触的表面对于杂交样品溶液的接触角可以是 0-90 度,为保证自动进样效果,更优选为 0-15 度;另一表面对于杂交样品溶液的接触角可以是 0-180 度,为保证自动进样效果,更优选为 90-180 度。

本发明提供的自动进样装置,所述盖片材料为玻璃、高分子聚合物、硅片、金属或金属氧化物。

本发明提供的自动进样装置,所述微流体层与盖片层之间的封固,可以通过粘合、焊接、或者加密封件的方式进行封固。微流体层材料为玻璃、高分子聚合物、硅片、金属或金属氧化物时,优选通过粘合剂进行封固;微流体层材料为金属或金属氧化物时,还可以通过焊接等方式进行封固。

作为优选,所述微流体层由基材层、上粘合剂层、下粘合剂层压制而成。基材层为玻璃、高分子聚合物、硅片、金属或金属氧化物。所述上粘合剂层、下粘合剂层的粘合剂为压延型粘合剂、热熔型粘合剂、反应型粘合剂、溶剂型粘合剂、乳液型粘合剂或无溶剂液体粘合剂。

本发明提供的一种基于往复流的自动进样装置,所述微流体层的杂交反应腔室和两个微流体通道为镂空结构,其可以通过激光烧蚀、机床加工、化学刻蚀等加工制成,杂交反应腔室的形状、面积与微阵列芯片的生物探针点阵区对应,微流体通道的深度及长度由样品溶液量决定。

本发明还提供一种自动进样杂交微阵列芯片,包含所述自动进样装置和微阵列芯片,所述自动进样装置的微流体层与微阵列芯片封固,其杂交反应腔室

与微阵列芯片的生物探针点阵区连通。

作为优选，所述微阵列芯片为 RNA 芯片、cDNA 芯片、PNA 芯片、蛋白质芯片或糖芯片。

本发明还提供所述自动进样装置的使用方法，包括以下步骤：

步骤 1、将所述自动进样装置的微流体层与微阵列芯片进行封固，使所述杂交反应腔室与微阵列芯片的生物探针点阵区连通；

步骤 2：在所述自动进样装置一个进样单元的一通孔处点样，使样品溶液进入并充满所述与之相连的微流体通道；

步骤 3、将所述通孔与提供气体压强的泵阀连接，以气体压强作为驱动力使样品溶液在所述杂交反应腔室和两个微流体通道中往复流动。

本发明提供了的自动进样装置，所述杂交反应腔室其位置和形状应保证样品溶液与下层基片上的生物探针反应的均匀性，所述的微流体通道与杂交反应腔室连通，提供样品溶液往复流动的空间；该自动进样装置利用盖片层的亲水特性，以液体的表面张力为驱动力实现样品溶液自动进入并充满杂交反应腔室和微流体通道。

本发明提供的自动进样装置的使用方法，通过注射泵或柱塞泵产生的气体压强作为驱动力促使溶液液流在微流体通道和杂交反应腔室中地往复流动；往复流动的往复频率优选为 0-100Hz，提供往复流驱动的气体压强优选为 0-1MPa。

本发明提供的自动进样装置的使用方法，在杂交反应完成后，还包括以气体压强作为驱动力使样品溶液通过另一通孔排出的步骤。

所述微阵列芯片表为 RNA 芯片、cDNA 芯片、PNA 芯片、蛋白质芯片或糖芯片，生物探针点阵区所固定的生物探针选自 RNA、cDNA、PNA、肽、蛋白质等生物分子中的一种

本发明的优点在于：可实现样品的定量自动进样，提高杂交效率，缩短杂交时间至 15 分钟内，且制备简单，操作简便，样品消耗少，能够自动定量进样，具有推广意义。

附图说明

图 1 为实施例 1 所述自动进样装置的立体结构示意图,其中 1 为自动进样装置;2 为微阵列芯片;3 为盖片;4 为微流体层;5 为通孔;6 为微流体通道;7 为杂交反应腔室;8 为生物探针点阵。

图 2 为实施例 2 所述自动进样装置的立体结构示意图,其中 1 为自动进样装置;2 为微阵列芯片;3 为盖片;4 为微流体层;5 为通孔;6 为微流体通道;7 为杂交反应腔室;8 为生物探针点阵。

图 3 为本发明所述自动进样装置示意图;(a) 含一个进样单元的自动进样装置;(b) 含四个进样单元的微阵列杂交平台的自动进样装置。

图 4 为本发明所述自动进样装置的进样过程示意图,其中:(a) $t=0$ 秒时,样品溶液抵达进样口;(b) $t=3$ 秒时,样品溶液自动进入微流体通道;(c) $t=6$ 秒时,样品溶液自动进入杂交反应腔室;(d) $t=9$ 秒时,样品溶液全部充满通道和腔室,加样结束。

图 5 为基于自动进样装置的使用流程示意图,其中:(a) 为初始;(b) 为流体在正压强作用下从左往右运动;(c) 为流体在负压强作用下从右往左运动,回到初始位置,完成一次往复流的循环(d) 为杂交后清洗。

图 6 为本发明所述自动进样装置用于微阵列芯片的杂交实验荧光显微照片,(a) 为杂交前的荧光显微照片;(b) 为杂交后的荧光显微照片。

具体实施方式

本发明公开了一种用于微阵列芯片的自动进样装置及其使用方法,本领域技术人员可以借鉴本文内容,适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是,所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的,它们都被视为包括在本发明。本发明的产品、方法及应用已经通过较佳实施例进行了描述,相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和应用进行改动或适当变更与组合,来实现和应用本发明技术。

为了使本领域的技术人员更好地理解本发明的技术方案,下面结合具体实施例对本发明作进一步的详细说明。

实施例 1: 含有一个进样单元的自动进样装置及自动进样杂交微阵列芯片

含有一个进样单元的自动进样装置立体结构图见图 1，其中 1 为自动进样装置；2 为微阵列芯片，可为玻璃基的 DNA 芯片或蛋白质芯片，其规格为 25 × 75mm；3 为具有亲水特性的玻璃盖片，其下表面即与微流体层 4 的接触面经化学修饰后对水的静态接触角为 12 度，上表面经疏水化处理后对水的静态接触角为 40 度，盖片 3 设置通孔 5，用于溶液的进出；微流体层 4 厚度约为 0.2mm，其基材为聚对苯二甲酸乙二醇酯 PET，上下两个表面均涂布丙烯酸胶，微流体层 4 设置镂空的微流体通道 6 和杂交反应腔室 7；微流体通道 6 单侧长度为 50mm，其一端与杂交反应腔室 7 连通，另一端与盖片层 3 的通孔 5 连通。微流体层 4 的上表面通过丙烯酸胶与盖片 3 的下表面封接形成一个自动进样装置，该自动进样装置通过微流体层 4 的下表面的丙烯酸胶与微阵列芯片 2 封接形成一个自动进样杂交微阵列芯片，杂交反应腔室 7 与所述微阵列芯片的生物探针点阵区 8 连通，其形状与面积与所述微阵列芯片的生物探针点阵区相对应。图 3 (a) 为一个进样单元的自动进样装置的示意图。

实施例 2：含有一个进样单元的自动进样装置及自动进样杂交微阵列芯片

如图 2 所示，含有一个进样单元的自动进样装置 1 由具有亲水特性的盖片层 3 和微流体层 4 封固形成，玻璃盖片 3 下表面即与微流体层 4 的接触面经化学修饰后对水的静态接触角为 15 度，上表面经疏水化处理后对水的静态接触角为 100 度，盖片层 3 设置通孔 5，用于溶液的进出；微流体层 4 厚度约为 0.2mm，其基材为聚对苯二甲酸乙二醇酯 PET，上下两个表面均涂布丙烯酸胶；微流体层 4 设置镂空的微流体通道 6 和杂交反应腔室 7，微流体通道 6 一端与杂交反应腔室 7 连通，另一端与盖片层 3 的通孔 5 连通；微流体层 4 的上表面通过丙烯酸胶与盖片 3 的下表面封接形成一个自动进样装置，该自动进样装置通过微流体层 4 的下表面的丙烯酸胶与微阵列芯片 2 封接形成一个自动进样杂交微阵列芯片，微阵列芯片 2 可为玻璃基的 DNA 芯片或蛋白质芯片；杂交反应腔室 7 与微阵列芯片 2 的生物探针点阵区 8 连通，其形状与面积与所述微阵列芯片的生物探针点阵区相对应。

实施例 3：含有多个进样单元的自动进样装置

含有 4 个进样单元的自动进样装置示意图见图 3 (b)。盖片材质为聚甲基丙烯酸甲酯 PMMA，其下表面经聚乙烯醇 PVA 修饰后对水的静态接触角为 6 度，而未经任何处理的上表面对水的静态接触角为 78 度，微流体层材质为硅片。

与实施例 1 和 2 不同的是，盖片层、微流体层规格较大，并排设置 4 个进样单元，自动进样装置的微流体层通过粘合剂与 4 个微阵列芯片封固，形成内部具有微流体通道的板状结构，各个进样单元间的微流体通道互不连通，一个杂交反应腔室与与其对应的微阵列芯片的生物探针点阵区连通，可同时对 4 个微阵列芯片加样。

实施例 4：本发明所述自动进样杂交微阵列芯片的使用方法

首先用移液管或移液枪等装置将约 60 μ L 的 DNA 样品加入通孔，由于盖片表面的超亲水特性，样品溶液自发流入流体通道直至完全充满流体通道与杂交反应腔室。如图 4 所示， $t=0$ 秒时，样品溶液抵达进样口； $t=3$ 秒时，样品溶液自动进入微流体通道； $t=6$ 秒时，样品溶液自动进入杂交反应腔室； $t=9$ 秒时，样品溶液全部充满通道和腔室，加样结束。

杂交开始时，将提供气体压强的泵阀与样品入口连接，并先以正压方式推动样品溶液，直至 DNA 样品抵达杂交腔室时停止，此后，改用负压方式驱动样品溶液回流，直至 DNA 样品在负压作用下返回样品口，如图 5 所示。重复的施加正压和负压，实现往复流杂交反应，整个杂交过程耗时小于 10min。杂交反应结束后，通过以正压方式推动样品溶液经微流体通道从另一通孔排出。

再利用泵阀将清洗液注入溶液入口，对杂交腔室进行清洗，干燥后将芯片置于扫描仪上进行检测。结果如图 6 所示，60 μ L 杂交样品，10min 杂交时间内，可以获得高强度的杂交信号，信噪比高于 100。

以上所述仅是本发明的优选实施方式，应当指出，对于本技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明原理的前提下，还可以做出若干改进和润饰，这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

本发明提出的一种用于微阵列芯片的自动进样装置及其使用方法已通过实施例进行了描述，相关技术人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述用于微阵列芯片的自动进样装置及其使用方法进行改动或适当变更与组合，来实现本发明技术。特别需要指出的是，所有相类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的，它们都被视为包括在本发明的精神、范围和内容中。

权 利 要 求

- 1、一种用于微阵列芯片的自动进样装置，其特征在于，含有至少一个进样单元，所述进样单元由表面具有亲水特性的盖片层和微流体层封固形成，所述盖片层设置有至少两个通孔，所述微流体层设置有一个镂空的杂交反应腔室和至少两个镂空的微流体通道，每个微流体通道一端与杂交反应腔室连通，另一端分别与盖片层的一个通孔连通。
- 2、根据权利要求1所述的自动进样装置，其特征在于：所述盖片层的与微流体层接触的表面对于样品溶液的接触角小于90度。
- 3、根据权利要求2所述的自动进样装置，其特征在于，所述盖片层的另一表面对于样品溶液的接触角为90-180度。
- 4、根据权利要求1所述的自动进样装置，其特征在于：所述盖片层材料为玻璃、高分子聚合物、硅片、金属或金属氧化物。
- 5、根据权利要求1所述的自动进样装置，其特征在于：所述微流体层材料为玻璃、高分子聚合物、硅片、金属或金属氧化物。
- 6、根据权利要求1所述的自动进样装置，其特征在于：所述微流体层包括基材层、上粘合剂层、下粘合剂层。
- 7、根据权利要求6所述的自动进样装置，其特征在于：所述基材层材料为玻璃、高分子聚合物、硅片、金属或金属氧化物，所述上粘合剂层、下粘合剂层的粘合剂为压延型粘合剂、热熔型粘合剂、反应型粘合剂、溶剂型粘合剂、乳液型粘合剂或无溶剂液体粘合剂。
- 8、根据权利要求1所述的自动进样装置，其特征在于：所述微流体层镂空的杂交反应腔室和两个微流体通道通过激光烧蚀、机床加工或化学刻蚀加工而成。
- 9、根据权利要求1所述的自动进样装置，其特征在于：所述杂交反应腔室的形状、面积与微阵列芯片的生物探针点阵区对应。
- 10、一种自动进样杂交微阵列芯片，其特征在于，包含权利要求1-9任一项所述自动进样装置和微阵列芯片，所述自动进样装置的微流体层与微阵列芯片封固，其杂交反应腔室与微阵列芯片的生物探针点阵区连通。

11、根据权利要求 10 所述的自动进样杂交微阵列芯片，其特征在于，所述微阵列芯片为 RNA 芯片、cDNA 芯片、PNA 芯片、蛋白质芯片或糖芯片。

12、权利要求 1-9 任一项所述的自动进样装置的使用方法，其特征在于，包括以下步骤：

5 步骤 1、将所述自动进样装置的微流体层与微阵列芯片进行封固，使所述微流体层的杂交反应腔室与微阵列芯片的生物探针点阵区连通；

 步骤 2：在所述自动进样装置一个进样单元的一通孔处点样，使样品溶液进入并充满所述与之相连的微流体通道；

10 步骤 3、将所述通孔与提供气体压强的泵阀连接，以气体压强作为驱动力使样品溶液在所述杂交反应腔室和两个微流体通道中往复流动。

13、根据权利要求 12 所述的使用方法，其特征在于：所述往复流动的往复频率为 0-100Hz。

14、根据权利要求 12 所述的使用方法，其特征在于：所述气体压强为 0-1MPa。

15 15、根据权利要求 12 所述的使用方法，其特征在于：还包括以气体压强作为驱动力使样品溶液通过该进样单元的另一通孔排出的步骤。

16、根据权利要求 12 所述的使用方法，其特征在于，所述微阵列芯片为 RNA 芯片、cDNA 芯片、PNA 芯片、蛋白质芯片或糖芯片。

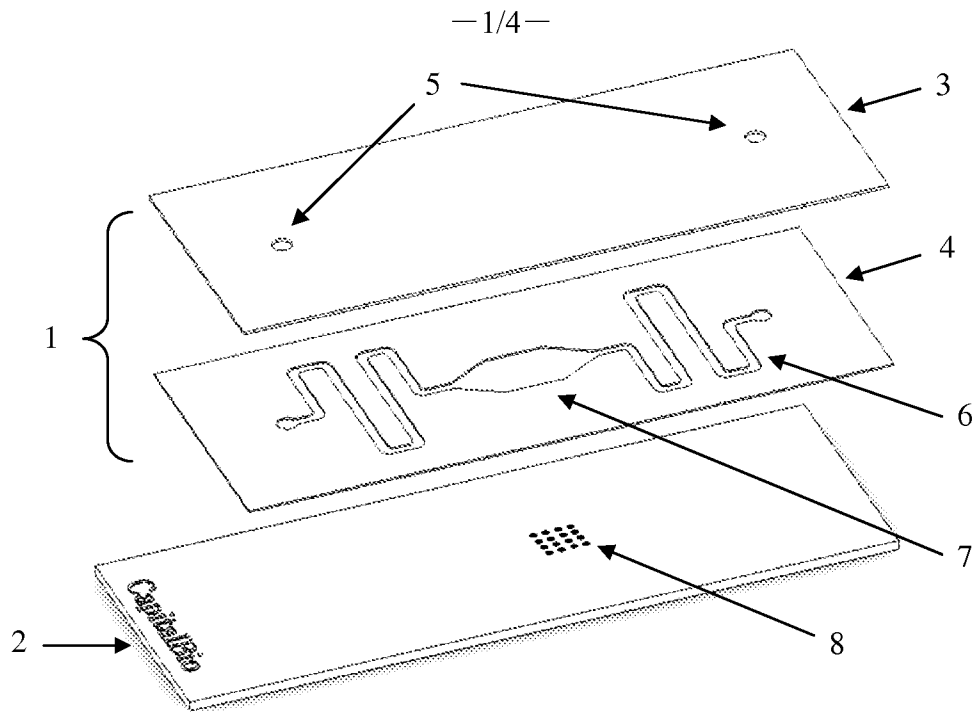


图 1

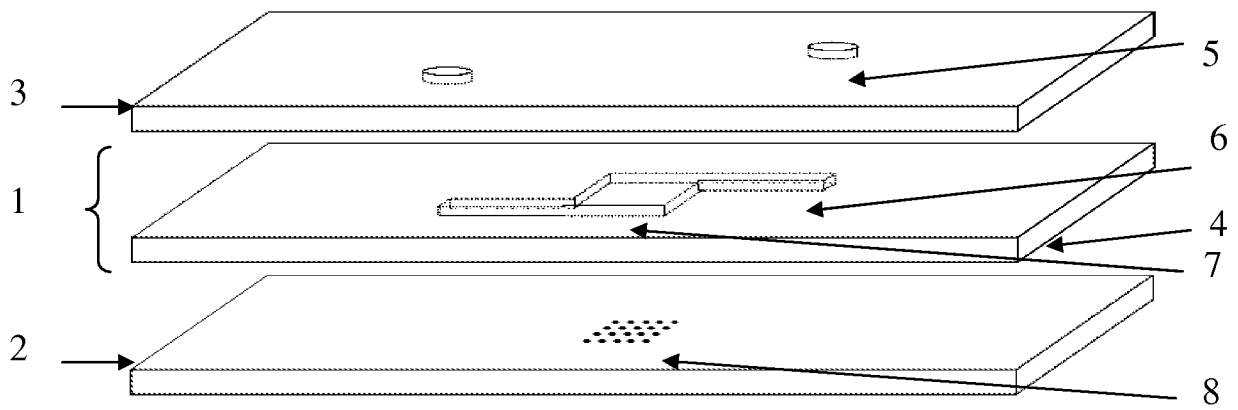
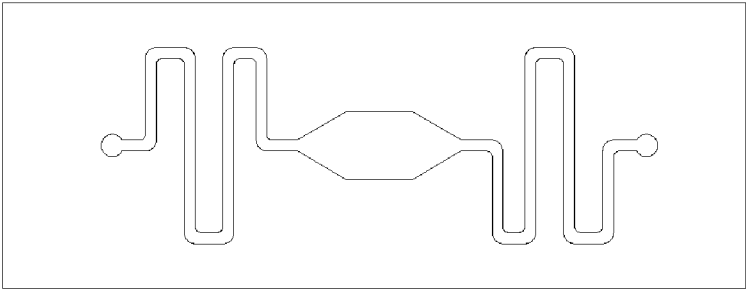


图 2

(a)



(b)

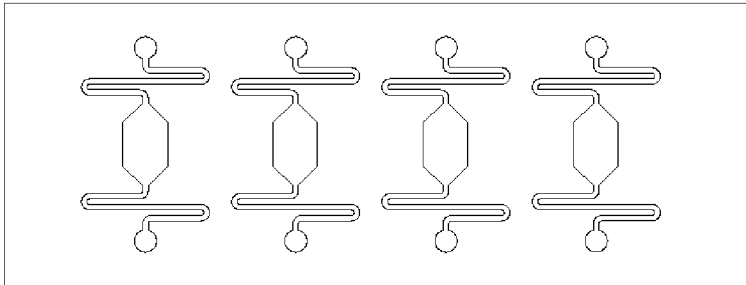


图 3

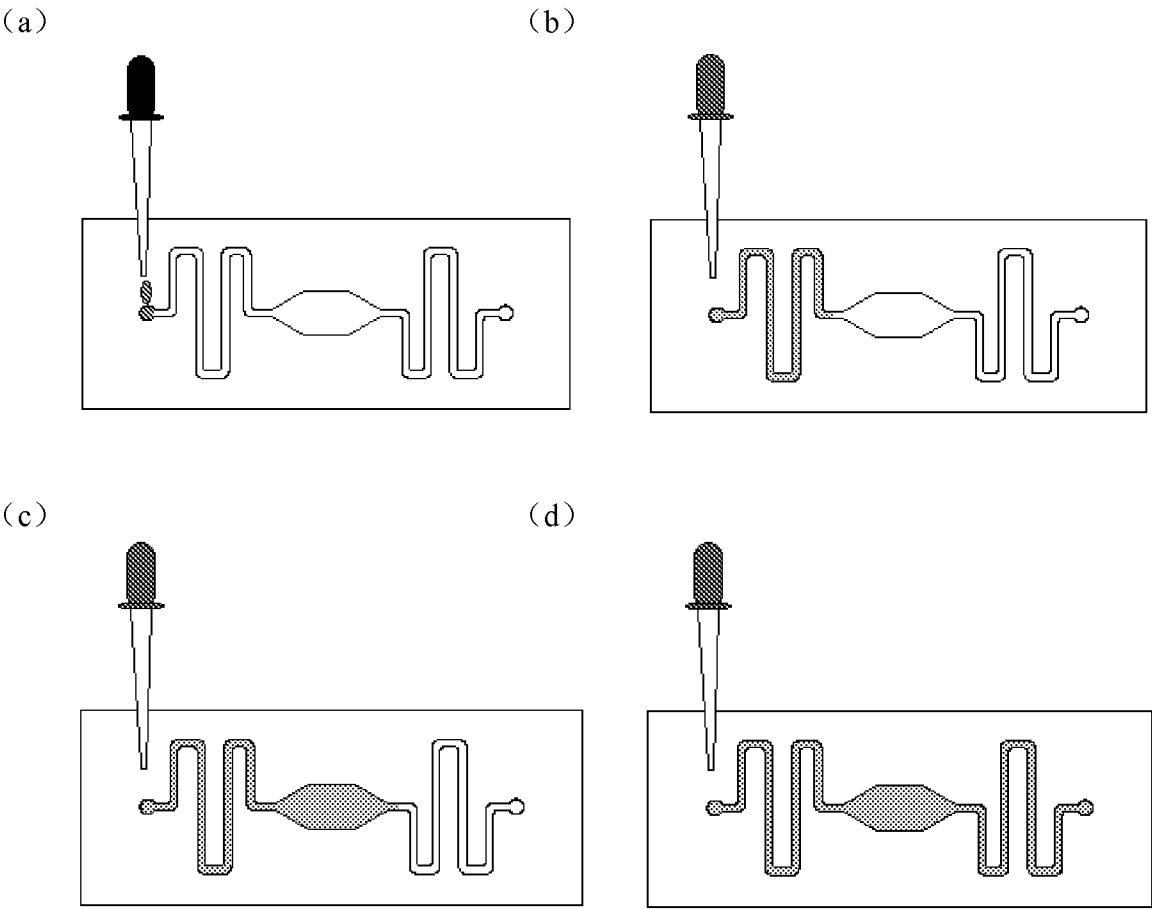


图 4

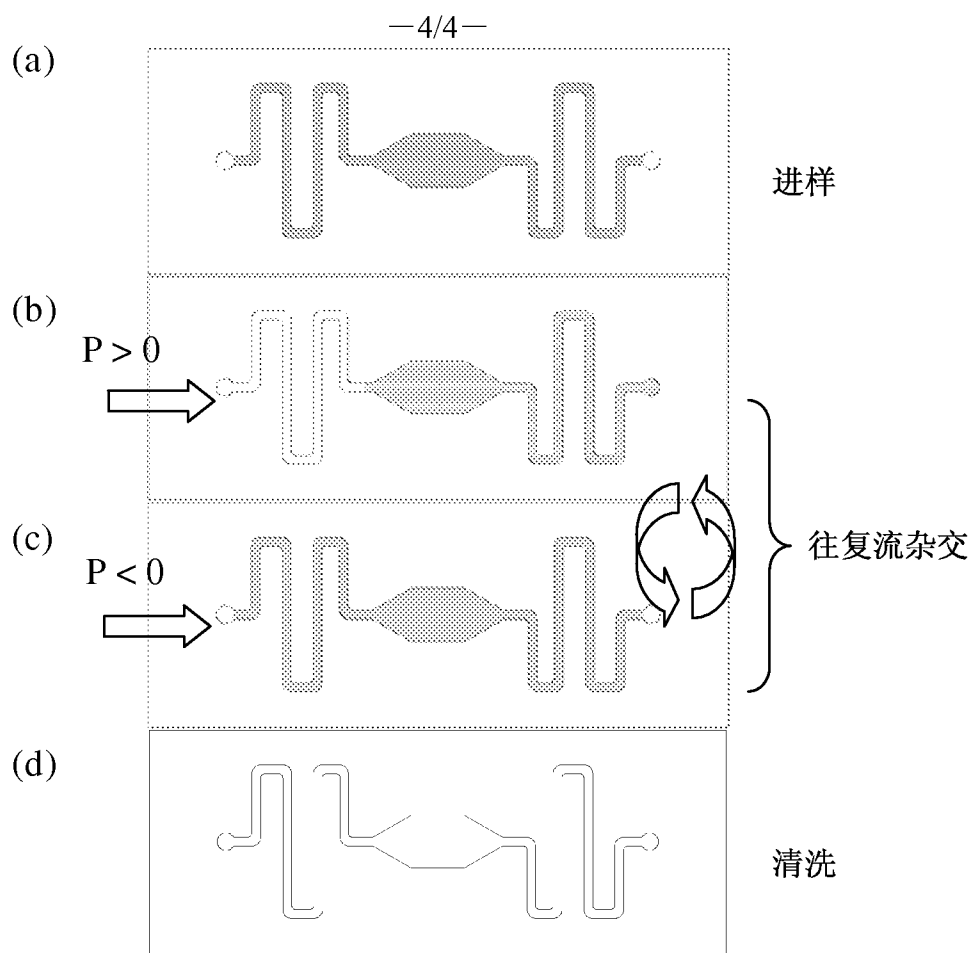


图 5

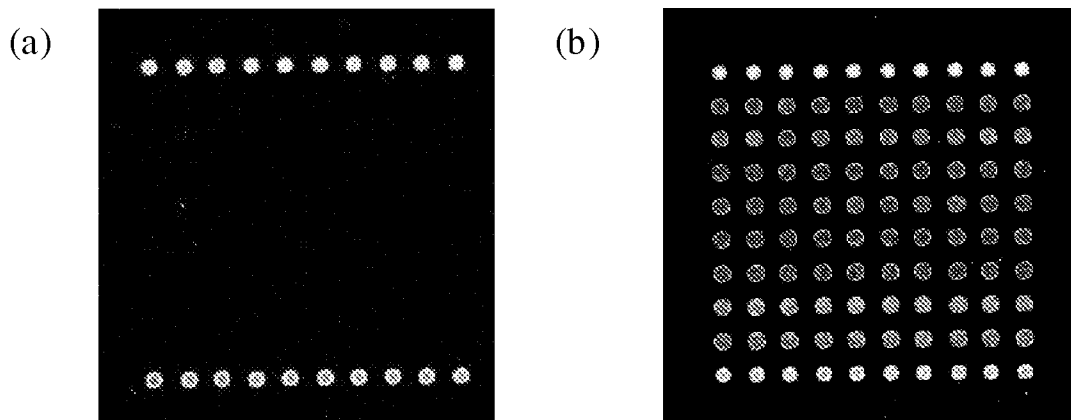


图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2012/070999

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the 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)

IPC:C12M,C12Q,G01N

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)

EPODOC,WPI,CNPAT,CNKI:inject+,chip,biochip,microarray,hole,chamber,hydrophilic,press+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	CN102206573A (CAPITALBIO CORPORATION et al.)05 Oct.2011(05.10.2011) Claims 1-16	1-16
P,X	CN102199529A (CAPITALBIO CORPORATION et al.)28 Sep.2011(28.09.2011) Description, paragraphs 0008-0034,figure 5	1-16
P,X	CN102250751A (CAPITALBIO CORPORATION et al.)23 Nov.2011(23.11.2011) Description, paragraphs 0015-0019,figure 4d	1-16
Y	CN201331523Y (UNIVERSITY SOUTHEAST)21 Oct.2009(21.10.2009) Description, page 6 lines 1-27,figures 1-2	1-11
Y	WO2009136892A1 (AKONNI BIOSYSTEMS)12 Nov.2009(12.11.2009)	1-11

☒ 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 15 Apr.2012(15.04.2012)	Date of mailing of the international search report 17 May 2012(17.05.2012)
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 WEI,Wei Telephone No. (86-10)82245960

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2012/070999

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Description, page 3, line 7-page 6, line 10, figure 1 CN101221168A (UNIVERSITY SOUTHEAST)16 Jul.2008(16.07.2008) The whole document	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2012/070999

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN102206573A	05.10.2011	NONE	
CN102199529A	28.09.2011	NONE	
CN102250751A	23.11.2011	NONE	
CN201331523Y	21.10.2009	NONE	
WO2009136892A1	12.11.2009	CA2723707A1	12.11.2009
		JP2011523698A	18.08.2011
		CN102046806A	04.05.2011
		EP2281057A0	09.02.2011
CN101221168A	16.07.2008	NONE	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/070999

Continuation of:

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

C12M 1/00 (2006.01) i

G01N 33/68 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2012/070999

A. 主题的分类

参见附加页

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: C12M, C12Q, G01N

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))

EPODOC, WPI, CNPAT, CNKI: 进样, 生物, 芯片, 盖片, 孔, 微流体, 微阵列, 杂交, 亲水, 泵, 压,

inject+, chip, biochip, microarray, hole, chamber, hydrophilic, press+

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
P,X	CN102206573A (博奥生物有限公司等) 05.10 月 2011 (05.10.2011) 权利要求 1-16	1-16
P,X	CN102199529A (博奥生物有限公司等) 28.9 月 2011 (28.09.2011) 说明书第 0008-0034 段, 附图 5	1-16
P,X	CN102250751A (博奥生物有限公司等) 23.11 月 2011 (23.11.2011) 说明书第 0015-0019 段, 附图 4d	1-16
Y	CN201331523Y (东南大学) 21.10 月 2009 (21.10.2009) 说明书第 6 页第 1 行至第 27 行, 附图 1, 2	1-11
Y	WO2009136892A1 (AKONNI BIOSYSTEMS) 12.11 月 2009 (12.11.2009)	1-11

☒ 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
15.4 月 2012 (15.04.2012)

国际检索报告邮寄日期
17.5 月 2012 (17.05.2012)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:
中华人民共和国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088
传真号: (86-10)62019451

授权官员
魏崑
电话号码: (86-10) **82245665**

C(续). 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	说明书第 3 页第 7 行至第 6 页第 10 行, 附图 1 CN101221168A (东南大学) 16.7 月 2008 (16.07.2008) 全文	1-16

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2012/070999

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN102206573A	05.10.2011	无	
CN102199529A	28.09.2011	无	
CN102250751A	23.11.2011	无	
CN201331523Y	21.10.2009	无	
WO2009136892A1	12.11.2009	CA2723707A1	12.11.2009
		JP2011523698A	18.08.2011
		CN102046806A	04.05.2011
		EP2281057A0	09.02.2011
CN101221168A	16.07.2008	无	

续:

A. 主题的分类

C12M 1/00 (2006.01) i

G01N 33/68 (2006.01) i