



(21) 申請案號：108120317

(22) 申請日：中華民國 108 (2019) 年 06 月 12 日

(51) Int. Cl. : G01N27/26 (2006.01)

(30) 優先權：2018/06/29 美國 62/692,468

2018/07/23 荷蘭 2021376

(71) 申請人：美商伊路米納有限公司 (美國) ILLUMINA, INC. (US)

美國

(72) 發明人：慕恩 約翰 MOON, JOHN (US)

(74) 代理人：閻啟泰；林景郁

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：28 項 圖式數：6 共 44 頁

(54) 名稱

感應器與感應系統

(57) 摘要

感應器包括兩個電極和附接至該兩個電極的可調整導電通道。可調整導電通道包括電連接至所述兩個電極並且橋接所述兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物。該經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈、其中核苷酸鹼基缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口、和在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

A sensor includes two electrodes and a modulatable electrically conductive channel attached to the two electrodes. The modulatable electrically conductive channel includes a modified, partially double stranded nucleic acid polymer electrically connected to the two electrodes and bridging the space between the two electrodes. The modified, partially double stranded nucleic acid polymer includes two polynucleotide chains partially bonded together, a gap in a first of the polynucleotide chains wherein nucleotide bases are missing, and a plurality of nucleotide bases of a second of the polynucleotide chains exposed at the gap in the first of the polynucleotide chains.

指定代表圖：

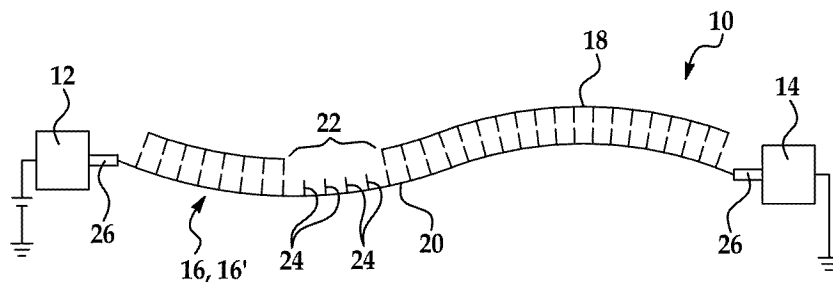


圖1A

符號簡單說明：

10 . . . 感應器

12 . . . 電極

14 . . . 電極

16 . . . 通道

16' . . . 經修飾的
dsNA

18 . . . 多核苷酸鏈

20 . . . 多核苷酸鏈

22 . . . 缺口

24 . . . 核苷酸鹼基

【發明說明書】

【中文發明名稱】 感應器與感應系統

【英文發明名稱】 Sensor And Sensing System

相關申請的交叉引用

【0001】 本申請要求2018年6月29日提交的美國臨時申請序號62/692,468和2018年7月23日提交的荷蘭申請序號N2021376的權益；所述申請的每一項的內容通過引用以其整體併入本文。

對序列表的引用

【0002】 隨附提交的序列表在此通過引用以其整體併入。文件名稱為IP-1687_sequence_listing_ST25.txt，文件大小為366字節，並且文件的創建日期為2019年6月7日。

【技術領域】

【先前技術】

【0003】 生物或化學研究中的各種方案涉及在局部支撐體表面上或在預先限定的反應室內進行大量受控的反應。然後可以觀察或偵測指定的反應，並且隨後的分析可以幫助鑑定或揭示反應所涉及之化學品的性質。例如，在一些多重測定中，具有可鑑定標記物(例如，熒光標記物)的未知分析物可以在受控的條件下暴露於數以千計的已知的探針。各個已知的探針可以被置於微孔盤的相應孔中。觀察孔內已知的探針和未知的分析物之間發生的任何化學反應可以幫助鑑定或揭示分析物的性質。這樣的方案的其他實例包括已知的DNA定序方

法，諸如合成定序(sequencing-by-synthesis；SBS)或循環陣列定序(cyclic-array sequencing)。利用多核苷酸定序技術，分析可以幫助鑑定或揭示反應所涉及之多核苷酸的性質。

【發明內容】

【0004】 本文公開的第一方面是一種感應器。在實例中，感應器包括兩個電極，所述兩個電極之間具有空間；和附接至所述兩個電極的可調整導電通道(modulatable electrically conductive channel)，該可調整導電通道包括電連接至(electrically connected to)兩個電極並且橋接兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物(modified, partially double stranded nucleic acid polymer)，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；和在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【0005】 在感應器的實例中，缺口具有範圍從約10 nm至約50 nm的長度。

【0006】 感應器的實例進一步包括附接至經修飾的部分雙股的核酸聚合物的聚合酶。

【0007】 在感應器的實例中，i)連接子分別將第一多核苷酸鏈的各末端附接至兩個電極中各自的一個；或ii)連接子分別將第二多核苷酸鏈的各末端附接至兩個電極中各自的一個；或iii) i和ii兩者。

【0008】 在感應器的實例中，在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一個是鳥嘌呤鹼基。

【0009】 在感應器的實例中，在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的每一個是鳥嘌呤鹼基。

【0010】 感應器的實例進一步包括偵測器，所述偵測器當開關股(switch

strand)與缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些核苷酸鹼基締合(associate)時偵測來自經修飾的部分雙股的核酸聚合物的反應，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些核苷酸鹼基互補的鹼基。

【0011】 感應器的實例進一步包括支撐兩個電極的基板；以及附接至基板的聚合酶。

【0012】 感應器的實例進一步包括將試劑引入至經修飾的部分雙股的核酸聚合物的流體系統。在實例中，試劑包括經標記的核苷酸，經標記的核苷酸中的至少一個包括：核苷酸；附接至核苷酸的磷酸基團(phosphate group)的連接分子；以及附接至連接分子的開關股，該開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【0013】 感應器的實例進一步包括附接至兩個電極的複數個其他可調整導電通道，其他可調整導電通道中的各者包括各自的電連接至兩個電極並且橋接兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物。

【0014】 在感應器的實例中，可調整導電通道：當複數個核苷酸鹼基在缺口處暴露時表現出第一電導(conductance)；並且當缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些與互補核苷酸鹼基締合時表現出不同於第一電導的第二電導。

【0015】 應理解，本文公開的感應器的任何特徵可以以任何期望的方式和/或配置、和/或與本文公開的任何其他實例組合在一起。

【0016】 本文公開的第二方面是一種經標記的核苷酸，其包括核苷酸；附接至核苷酸的磷酸基團的連接分子(linking molecule)；以及附接至連接分子的開關股，該開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在第一方面的感應器的缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【0017】 本文公開的第三方面是一種套組，其包括：電子構件(electronic

component), 該電子構件包括: 支撐體; 以及可操作地設置在支撐體上並且由空間隔開的兩個電極; 以及聚合物溶液, 該聚合物溶液包括: 液體載體(liquid carrier); 以及液體載體中的經修飾的部分雙股的核酸聚合物, 該經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括: 部分鍵合在一起並且具有相對的末端(opposed ends)的兩條多核苷酸鏈; 附接至相對的末端中的各者的連接子, 各個連接子附接至兩個電極中各自的一個; 其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口; 以及在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基; 當各個連接子附接至兩個電極中各自的一個時, 該經修飾的部分雙股的核酸聚合物在兩個電極之間的空間中形成可調整導電通道。

【0018】 在實例中, 套組進一步包括試劑溶液(reagent solution), 該試劑溶液包括經標記的核苷酸, 所述經標記的核苷酸中的至少一個包括: 核苷酸; 附接至核苷酸的磷酸基團的連接分子; 和附接至連接分子的開關股, 該開關股包括核苷酸股, 所述核苷酸股包含與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。在套組的實例中, 開關股中的鹼基與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基完全互補。在套組的另一個實例中, 開關股進一步包括具有錯配的鹼基的至少一個核苷酸, 該錯配的鹼基與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的相應的鹼基不互補。在套組的仍然另一個實例中, 開關股中的核苷酸股比在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基少至少一個核苷酸。在套組的又另外的實例中, 開關股中的核苷酸股具有比在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基高的數量的核苷酸, 並且其中當在缺口處締合時, 開關股的一部分形成莖環(stem loop)。在套組的實例中, 開關股中的核苷酸股具有比在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基高的數量的核苷酸; 當在缺口處締合時, 開關股的一部分形成莖環; 並且開關股的另外一部分與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基完全互補, 或包括具有錯配的鹼基的至少一個核苷酸, 該錯配的鹼基與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼

基中的相應的鹼基不互補。

【0019】 應理解，套組的任何特徵可以以任何期望的方式組合在一起。此外，應理解，套組和/或感應器和/或經標記的核苷酸的特徵的任何組合可以一起被使用和/或與本文公開的任何實例組合。

【0020】 在第四方面，一種感應系統包括：流體槽(flow cell)；以及整合至流體槽中的電子感應器，該電子感應器包括：兩個電極，所述兩個電極之間具有空間；附接至兩個電極的可調整導電通道，該可調整導電通道包括電連接至兩個電極並且橋接兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【0021】 在實例中，感應系統進一步包括將試劑選擇性地引入至流體槽的輸入端(input)的試劑遞送系統。在實例中，試劑在樣品容器中，試劑包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：核苷酸；附接至核苷酸的磷酸基團的连接分子；以及附接至连接分子的開關股，該開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【0022】 感應系統的實例進一步包括偵測來自電子感應器的反應的偵測器。

【0023】 感應系統的實例進一步包括錨定至經修飾的部分雙股的核酸聚合物或電子感應器的支撐體的聚合酶；以及待被引入至電子感應器的模板多核苷酸鏈。

【0024】 應理解，感應系統的任何特徵可以以任何期望的方式組合在一起。此外，應理解，感應系統和/或感應器和/或套組和/或經標記的核苷酸的特徵

的任何組合可以一起被使用和/或與本文公開的任何實例組合。

【0025】 本文公開的第五方面是一種方法。在實例中，所述方法包括將模板多核苷酸鏈引入至電子感應器，所述電子感應器具有聚合酶，所述聚合酶被拴繫至i)橋接兩個電極之間的空間並且電連接至兩個電極的可調整導電通道，或ii)支撐兩個電極的基板，該可調整導電通道包括經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；和在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基；將包括經標記的核苷酸的試劑引入至電子感應器，由此經標記的核苷酸中的一個的核苷酸與聚合酶締合，並且所述經標記的核苷酸中的一個的核苷酸特異性開關股與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些締合；以及對於在缺口處的締合，偵測電子感應器的反應。

【0026】 所述方法的實例進一步包括對電子感應器的反應與締合的核苷酸特異性開關股建立關聯；並且基於締合的核苷酸特異性開關股，鑑定經標記的核苷酸中的一個的核苷酸。

【0027】 所述方法的實例進一步包括進行加熱以將核苷酸特異性開關股與缺口解離。

【0028】 應理解，方法的任何特徵可以以任何期望的方式組合在一起。此外，應理解，方法和/或感應系統和/或感應器和/或任何套組和/或經標記的核苷酸的特徵的任何組合可以一起被使用和/或與本文公開的任何實例組合。

【圖式簡單說明】

【0029】 本公開內容的實例的特徵將通過參考以下詳細描述和附圖而變得明顯，在附圖中，相似的參照編號(reference numeral)對應於相似的(儘管可能

不相同的)構件。為了簡潔起見，具有先前描述的功能的參照編號或特徵可以結合或可以不結合其中它們出現的其他附圖來描述。

【0030】 圖1A是本文公開的感應器的實例的示意圖；

【0031】 圖1B是感應器的實例和將試劑引入至感應器的經修飾的部分雙股的核酸聚合物的流體系統的實例的示意圖；

【0032】 圖2是本文公開的經標記的核苷酸的實例的示意圖；

【0033】 圖3A至3D是不同實例的經標記的核苷酸的截面示意圖，所述不同實例的經標記的核苷酸包括與在經修飾的部分雙股的核酸聚合物的缺口處暴露的核苷酸鹼基締合的不同開關股；

【0034】 圖4是本文公開的包括流體槽的感應系統的實例和感應器的實例的示意性透視圖；

【0035】 圖5是感應系統的實例的示意圖；以及

【0036】 圖6是本文公開的方法的實例的流程圖。

【實施方式】

【0037】 本文公開了電子/電感應器(electronic/electrical sensor)，其可以用於核酸定序程序中的單分子偵測。所述感應器包括電附接至兩個電極的可調整導電通道。可調整導電通道包括經修飾的部分雙股的核酸聚合物(在本文中被稱為經修飾的「dsNA」)，並且因此可以被稱為導電分子奈米線(conductive molecular nanowire)。經修飾的dsNA的一條多核苷酸鏈(chain)或股(strand)具有其中核苷酸鹼基被暴露的缺口。多核苷酸鏈或股中的另一條從一個電極延伸至另一個電極，並且因此，即使當缺口處的核苷酸鹼基被暴露(並且不進行單分子偵測)時，可調整導電通道也提供兩個電極之間的導電路徑(conduction path)。缺口處的核苷酸鹼基能夠與開關股締合，該開關股具有與缺口處的核苷酸鹼基互補的至少

一些核苷酸鹼基。當開關股在缺口處締合時，導電路徑增加，並且導電通道的電導被調整。如此，當複數個核苷酸鹼基在缺口處暴露時，可調整導電通道表現出第一電導；並且當缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些與互補核苷酸鹼基締合時，可調整導電通道表現出不同於第一電導的第二電導。在實例中，當缺口處的核苷酸鹼基被暴露時，可調整導電通道的電導率(conductivity)是相對低的。相比之下，當開關股在缺口處締合時，可調整導電通道的電導率 改變(例如，提高或降低)，在一些實例中，改變依數量級計(by orders of magnitude)。

【0038】 開關股可以是經標記的核苷酸的一部分，該經標記的核苷酸包括連接至開關股的特定核苷酸。當特定核苷酸在核酸定序程序期間被併入新生股中時，開關在缺口處締合，這導致可調整導電通道的電導率變化。由於核苷酸和開關股是彼此特異性的，與開關相關的電導率變化同樣與核苷酸相關。如此，電導率的變化可以用於鑑定正被併入新生股中的核苷酸鹼基。

【0039】 現在參考圖1A，描繪感應器10的實例。實例感應器10是電/電子感應器。感應器10包括其間具有空間的兩個電極12、14，以及附接至兩個電極12、14的可調整導電通道16。可調整導電通道包括電連接至兩個電極12、14並且橋接兩個電極12、14之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物(即，經修飾的dsNA) 16'，該經修飾的dsNA 16'包括部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈18中的缺口22；以及在第一多核苷酸鏈18中的缺口22處暴露的第二多核苷酸鏈20的複數個核苷酸鹼基24。

【0040】 電極12、14與經修飾的dsNA 16'/可調整導電通道16電連通(electrical communication)，並且因此當感應器10運行時，在電極12、14之間存在恒定的導電路徑。如提及的，該導電路徑是可通過在缺口22處的開關股的締合來調整的。

【0041】 可以使用可以化學和電附接至經修飾的dsNA 16'的任何合適的

電極材料。合適的電極材料的實例包括金、鉑、碳、銻錫氧化物等。

【0042】 經修飾的dsNA 16'是核酸聚合物，其包括部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20。「部分鍵合在一起」意指兩條鏈18、20的核苷酸鹼基中的一些彼此氫鍵鍵合(hydrogen bonded)以形成雙螺旋，但鏈中的一條鏈18具有缺口22，缺口22沒有任何核苷酸。在一條鏈18中的缺口22處，另一條鏈20的核苷酸鹼基被暴露。「暴露」意指這些核苷酸的鹼基不與另一個核苷酸鍵合，並且因此可用於與互補核苷酸結合、雜合或以其他方式締合。

【0043】 兩條多核苷酸鏈18、20的核苷酸可以是天然核苷酸。天然核苷酸包括含氮雜環鹼基、糖和一個或更多個磷酸基團。兩條多核苷酸鏈18、20的天然核苷酸的實例包括核糖核苷酸或去氧核糖核苷酸。在核糖核苷酸中，糖是核糖，並且在去氧核糖核苷酸中，糖是去氧核糖，即，缺少存在於核糖中的2'位置處的羥基基團的糖。在實例中，核苷酸呈多磷酸酯(polyphosphate)形式，因為它包括若干個磷酸基團(例如，三磷酸酯(tri-phosphate)(即， γ 磷酸酯(gamma phosphate))、四磷酸酯(tetra-phosphate)、五磷酸酯(penta-phosphate)、六磷酸酯(hexa-phosphate)(如圖5所示)等)。雜環鹼基(即，核鹼基)可以是嘌呤鹼基或嘧啶鹼基或任何其他核鹼基類似物。嘌呤鹼基包括腺嘌呤(A)和鳥嘌呤(G)及其經修飾的衍生物或類似物。嘧啶鹼基包括胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)及其經修飾的衍生物或類似物。去氧核糖的C-1原子鍵合至嘧啶的N-1或嘌呤的N-9。多核苷酸鏈18、20也可以包括任何核酸類似物。核酸類似物可以具有改變的磷酸骨架、糖或核鹼基中的任一種。核酸類似物的實例包括，例如，通用鹼基(universal base)或磷酸-糖(phosphate-sugar)骨架類似物，諸如肽核酸(PNA)。

【0044】 如本文提及的，第一多核苷酸鏈18具有沒有核苷酸的缺口22。缺口22可以位於沿著鏈18的任何位置，例如，在鏈18的中心處或在鏈18的中心附近、在鏈18的任一個末端、在鏈18的中心和一個末端之間等。如此，在一些實

例中，第一多核苷酸鏈18包括被缺口22隔開的兩條較短的鏈。在其他實例中(例如，當缺口22在鏈18的任一個末端時)，第一多核苷酸鏈18是單個連續的鏈。在仍其他實例中，第一多核苷酸鏈18可以具有沿著聚合物骨架的多個缺口18。缺口22可以具有比dsNA 16'的總長度短的任何長度。在實例中，各個缺口22的長度在從約5 nm至約60 nm的範圍內。在另一個實例中，各個缺口22的長度在從約10 nm至約50 nm的範圍內。在仍另一個實例中，各個缺口22的長度在從約20 nm至約40 nm的範圍內。雖然缺口22的長度作為公制單位(metric unit)列出，但應理解，缺口長度也可以根據能夠配合至缺口22中的核苷酸的數量或在缺口22處暴露的第二聚合物鏈20的核苷酸鹼基的數量來定義。第一多核苷酸鏈18中的缺口22降低了經修飾的dsNA 16'的電導率。

【0045】 在第一多核苷酸鏈18中的缺口22處，第二聚合物鏈20的複數個核苷酸被暴露。特別地，這些核苷酸的鹼基24被暴露。被暴露的鹼基24可以都是相同的鹼基，或可以是不同的鹼基的組合。在實例中，被暴露的鹼基24中的至少一個是鳥嘌呤(G)。在該實例中，其他被暴露的鹼基24可以是腺嘌呤(A)、胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和/或尿嘧啶(U)中的任一種或它們的任何組合。在另一個實例中，被暴露的鹼基24中的各者是鳥嘌呤(G)。可以期望的是，在缺口22處包括暴露的連續若干個鳥嘌呤(G)鹼基，因為鳥嘌呤(G)鹼基比其他鹼基更好地導電。

【0046】 兩條部分鍵合的多核苷酸鏈具有相對的末端，並且連接子可以附接至相對的末端中的各者。在本文公開的實例中，i)連接子分別將第一多核苷酸鏈18的各末端附接至兩個電極12、14中各自的一個；或ii)連接子分別將第二多核苷酸鏈的各末端附接至兩個電極中各自的一個；或iii) i)和ii)兩者。雖然圖1示出了第二多核苷酸鏈20通過連接子26鍵合至電極12、14，但應理解，第一多核苷酸鏈18或兩條鏈18、20可以通過各自的連接子26鍵合至電極12、14。如此，第一和/或第二多核苷酸鏈18、20的各自的5'和3'末端可以具有附接至其的連接子

26。連接子26將經修飾的dsNA 16'電連接至電極12、14。連接子26也可以能夠化學鍵合至各自的電極12、14，從而將經修飾的dsNA 16'橋接在電極12、14之間。因此，連接子26可以取決於電極材料。作為實例，硫醇鹽(thiolate)或胺連接子可以附接至金電極，硫醇連接子可以附接至鉑電極，並且矽烷連接子(例如，疊氮基矽烷)可以附接至ITO電極。取決於連接子和電極材料，各別的連接子26與電極12、14中的一個的附接可以通過共價鍵合、配位鍵合或另一種化學或物理鍵進行。連接子26也是導電的，使得當經修飾的dsNA 16'附接至電極12、14中的每一個時，在電極12、14之間建立導電路徑。

【0047】 本文公開的感應器10的任何實例可以包括附接至兩個電極12、14的複數個其他可調整導電通道16，所述其他可調整導電通道16中的各者包括各自的電連接至兩個電極12、14並且橋接兩個電極12、14之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物16'。換言之，感應器10可以包括兩個或更多個部分雙股的核酸聚合物16'，其中各個經修飾的dsNA 16'電連接至兩個電極12、14。多個通道16相對容易製造(通過允許多個經修飾的dsNA 16'鏈附接)，並且提供了開關股可以與其締合的若干個缺口22。利用多個通道16，基礎信號(例如，當沒有開關股與缺口33締合時更高，並且當相應的開關股與多個可調整導電通道16締合時，偵測到的信號可以被增強。

【0048】 雖然在圖1A中未示出，但感應器10還可以包括電極12、14被放置在其上的基板或支撐體。支撐體/基板13的實例在圖1C中示出。支撐體/基板13可以是電極12、14可以位於其上的任何固體表面。可以使用任何不導電的(non-conductive)或半導電的(semi-conductive)固體表面。固體表面也可以是單分子定序操作中使用的液體、試劑等不可滲透的和對單分子定序操作中使用的液體、試劑等是惰性的。合適的支撐體/基板13的一些實例包括環氧矽氧烷(epoxy siloxane)、玻璃和改性的或功能化的玻璃、塑料(包括丙烯酸樹脂(acrylics)、聚苯

乙烯以及苯乙烯和其他材料的共聚物、聚丙烯、聚乙烯、聚丁烯、聚氨酯、聚四氟乙烯(諸如來自 Chemours 的 TEFLON®)、環烯烴/環烯烴聚合物(cyclic olefins/cyclo-olefin polymers)(COP) (諸如來自 Zeon 的 ZEONOR®)、聚醯亞胺等)、尼龍、陶瓷/陶瓷氧化物、二氧化矽(silica)、熔融二氧化矽(fused silica)或基於二氧化矽的材料(silica-based materials)、矽酸鋁、矽和改性的矽(例如，硼摻雜的p+矽)、氮化矽(Si₃N₄)、氧化矽(silicon oxide)(SiO₂)、五氧化鉬(TaO₅)或其他鉬氧化物(TaO_x)、氧化鈣(HaO₂)、無機玻璃或類似物。支撐體或基板13也可以是在表面處具有二氧化矽(silicon dioxide)或鉬氧化物或另一種陶瓷氧化物的塗層的玻璃或矽。

【0049】 同樣，雖然在圖1A中未示出，但感應器10還可以包括可以偵測感應器10的電反應的偵測器。偵測器15的實例在圖1B、圖4和圖5中示出。在實例中，偵測器15是電流計。如將參考圖5更詳細描述的，當開關股28 (在圖2中示出)與缺口22處的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些核苷酸鹼基締合時，經修飾的dsNA 16' (因而連同可調整導電通道16)的電導率可以提高，所述開關股28包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些核苷酸鹼基互補的鹼基。

【0050】 如圖1B所示，感應器10還可以包括將試劑引入至可調整導電通道16的流體系統17。該流體系統17可以是將試劑遞送至dsNA 16'或能夠使試劑容納在鄰近dsNA 16'處的任何流體裝置。如圖1B所示，流體系統17可以是流體槽蓋(flow cell lid)，該流體槽蓋可以附接至支撐體/基板13並且可以從支撐體/基板13上移除。該流體系統17的實例包括入口19，試劑可以通過該入口19被引入。該流體系統的壁將試劑維持在鄰近dsNA 16'處。作為另一個實例(未示出)，流體系統17可以是可以用於將試劑遞送至可調整導電通道16/dsNA 16'的移液管(或其他遞送裝置)。在該實例中，支撐體/基板13可以具有與可調整導電通道

16/dsNA 16'相鄰的溝槽，該溝槽可以接收試劑並且能夠使試劑接觸可調整導電通道16/dsNA 16'。雖然已經提供了一些實例流體系統，但應理解，感應器10可以包括可以將試劑遞送至可調整導電通道16/dsNA 16'，和/或能夠使試劑被容納在鄰近可調整導電通道16/dsNA 16'處的任何流體系統17。

【0051】 本文公開的感應器10可以能夠實現單分子靈敏度。此外，當以陣列佈置時(即，放置在基板/支撐體13上的若干個感應器10)，可以使用非常小的感應器間距離，使得密度(即，感應器/面積)可以非常高。

【0052】 為了形成感應器10，可以使用任何合適的方法。在實例中，可以合成經修飾的dsNA 16'，並且然後可以將經修飾的dsNA 16'附接至電極12、14，以在兩個電極12、14之間的空間中形成可調整導電通道16。

【0053】 經修飾的dsNA 16'可以通過以下來製備：合成第二多核苷酸鏈20，並且然後將第二多核苷酸鏈20與將在適當的位置附接至第二多核苷酸鏈20的互補鏈混合。然後可以使混合物退火以引發附接。在實例中，兩條互補鏈可以被附接至第二多核苷酸鏈20的各自的部分，使得缺口22在所得的經修飾的dsNA 16'的兩個末端之間的某處形成。在另一個實例中，比第二多核苷酸鏈20短的一條互補鏈可以被附接至第二多核苷酸鏈20的一部分，使得缺口22在所得的經修飾的dsNA 16'的一個末端處形成。應理解，可以選擇第二多核苷酸鏈20和附接以形成第一多核苷酸鏈18的互補鏈，以控制缺口22的長度和在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24。

【0054】 然後經修飾的dsNA 16'可以被附接至電極12、14。連接子26可以使用任何合適的技術被附接至經修飾的dsNA 16'，並且然後連接子26可以被附接至電極12、14。在實例中，經硫醇修飾的DNA鹼基可以在鏈18、20的3'和5'末端處被共軛。在實例中，通過將電極12、14暴露在經修飾的dsNA 16'的溶液中持續合適的時間，隨後用合適的緩衝液沖洗以除去未結合的經修飾的dsNA 16'，經修

飾的dsNA 16'可以被固定在電極12、14上。

【0055】 在製造感應器10的方法中，電極12、14也可以被電連接至偵測器15。

【0056】 在一些實例中，感應器10可以被預先組裝。

【0057】 在其他實例中，感應器構件可以是套組的一部分，並且套組構件可以被用於組裝感應器10。套組的實例包括電子構件和聚合物溶液。電子構件包括支撐體13和可操作地設置在支撐體上並且由空間隔開的兩個電極12、14。「可操作地設置」意指電極12、14可以被連接至使它們的操作能夠進行(例如，一旦被連接到偵測器15和電源)的電子電路。電子電路可以是電可連接至偵測器15和電源的。聚合物溶液包括液體載體和液體載體中的經修飾的dsNA 16'，其中經修飾的dsNA 16'是本文描述的任何實例。如本文描述的，經修飾的dsNA 16'包括部分鍵合在一起並且具有相對的末端的兩條多核苷酸鏈18、20。經修飾的dsNA 16'可以具有在相對的末端中的各者處附接至一股或兩股18和/或20的連接子26。在實例中，經修飾的dsNA 16'以毫莫耳至莫耳濃度在離子鹽緩衝液溶液諸如鹽水檸檬酸鹽中。

【0058】 當使用套組時，使用者可以將聚合物溶液置於電子構件上，允許聚合物溶液維持在電子構件上持續合適的時間，以便連接子26附接至各自的電極12、14，並且然後電子構件可以用合適的緩衝液沖洗以除去未結合的經修飾的dsNA 16'。

【0059】 除了包含形成感應器10的構件之外，套組的一些實例還可以包括待與感應器10一起被使用的試劑溶液。試劑溶液包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸參考圖2進行描述。

【0060】 現在參考圖2，描繪了經標記的核苷酸30的實例，所述經標記的核苷酸30包括上文提及的開關股28。經標記的核苷酸30包括核苷酸32，附接至

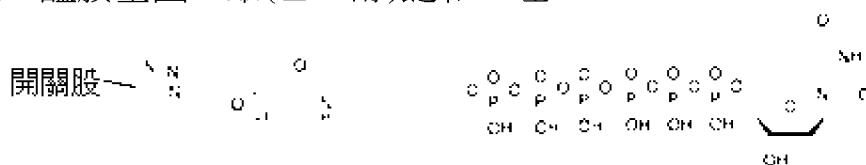
核苷酸22的磷酸基團的連接分子34，和附接至連接分子34的開關股28，該開關股28包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在感應器10的缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些互補的鹼基36。經標記的核苷酸30可以被認為是非天然的或合成的核苷酸，因為它在結構上或化學上不同於天然核苷酸。

【0061】 經標記的核苷酸30的核苷酸32可以是天然核苷酸。天然核苷酸包括含氮雜環鹼基、糖和三個或更多個磷酸基團。天然核苷酸的實例包括，例如核糖核苷酸或去氧核糖核苷酸。如上文提及的，在核糖核苷酸中，糖是核糖，並且在去氧核糖核苷酸中，糖是去氧核糖。在實例中，核苷酸32呈多磷酸酯形式，因為它包括若干個磷酸基團(例如，三磷酸酯、四磷酸酯、五磷酸酯、六磷酸酯等)。雜環鹼基(即，核鹼基)可以是嘌呤鹼基(例如，腺嘌呤(A)或鳥嘌呤(G))或嘧啶鹼基(例如，胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U))。

【0062】 經標記的核苷酸30進一步包括連接分子34。連接分子34可以是任何長鏈分子，該長鏈分子可以在一個末端化學鍵合至核苷酸32的磷酸基團，並且可以在另一個末端化學鍵合至開關股28。也可以選擇連接分子34，使得它將不與本文公開的系統40、40' (參見圖4和5)中使用的聚合酶38相互作用。選擇連接分子34使得它足夠長，以允許開關股28與在電感應器10的缺口22處暴露的核苷酸鹼基24締合，同時，例如，核苷酸32由聚合酶38撐住。

【0063】 作為實例，連接分子34可以包括烷基鏈、聚(乙二醇)鏈、醯胺基(amido)基團、磷酸基團、雜環諸如三唑、核苷酸或其組合。烷基鏈的實例可以包括至少6個碳原子，並且聚(乙二醇)鏈的實例可以包括至少3個乙二醇單元。

【0064】 以下實例說明了經標記的核苷酸30的實例，其中連接分子34包括烷基鏈、醯胺基團、聚(乙二醇)鏈和三唑：



核苷酸鹼基24完全互補。作為實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-G-G-G-G-G，並且開關股28A可以是C-C-C-C-C-C。作為另一個實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-A-G-T-G-C-G-G，並且開關股28A可以是C-T-C-A-C-G-C-C。在圖3A中示出的實例中，任何合適的序列可以被用於開關股28A，只要該序列具有與在缺口22處暴露的鹼基24相同的鹼基數量並且與在缺口22處暴露的鹼基24完全互補。包括完全互補的開關股28A的經標記的核苷酸30A的實例在圖3A中示出。如描繪的，經標記的核苷酸30A的開關股28A本身與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24締合。更具體地，在該實例中，開關股28A中的核苷酸鹼基36中的各者暫時地並且至少部分地與其在多核苷酸鏈18中的缺口22處暴露的(多核苷酸鏈20的)互補鹼基24雜合。在一些實例中，雜合是不完全的，並且在其他實例中，雜合是完全的。為了實現部分或完全雜合，互補鹼基之間的相互作用的解鏈溫度可以被調節。不同的開關股28A和核苷酸鹼基24之間的不同程度的雜合使得能夠用不同的開關股28A得到不同的時間特徵(time signature)。當被併入時，開關股28A使經修飾的dsNA 16'的開關閉合，這顯著改變(例如，提高)dsNA 16'的電導率，調整通道16，並且導致可偵測的變化。

【0068】 在另一個實例中，開關股28中的鹼基36與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24不完全互補；而是，開關股28B包括具有錯配的鹼基42的至少一個核苷酸，該錯配的鹼基42與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的相應的鹼基(顯示為24')不互補，如圖3B所示。換言之，錯配的鹼基42與在缺口22處暴露的相應的核苷酸鹼基24'不互補。作為實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-G-G-G-G-G，並且開關股28B可以是C-C-C-A-C-C-C。在該實例中，開關股28B的腺嘌呤是錯配的鹼基42，因為它與在多核苷酸鏈20的缺口22處暴露的相應的鳥嘌呤不互補。作為另一個實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-A-G-T-G-C-G-G，並且開關股28B可以是C-C-C-A-C-G-C-C。在該實

例中，開關股28B的第二胞嘧啶是錯配的鹼基42，因為它與在多核苷酸鏈20的缺口22處暴露的相應的腺嘌呤不互補。在圖3B中示出的實例中，任何合適的序列可以被用於開關股28B，只要該序列具有與在缺口22處暴露的鹼基24相同的鹼基數量，與在缺口22處暴露的鹼基24部分互補，並且包括與在缺口22處暴露的鹼基24錯配的至少一個鹼基。如描繪的，經標記的核苷酸30B的開關股28B本身與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24締合。更具體地，在該實例中，雖然開關股28B中的核苷酸鹼基36中的一些暫時與相應的互補鹼基24雜合，但錯配的鹼基42和多核苷酸鏈20中的相應的核苷酸鹼基24'保持未結合。當被併入時，開關股28B使經修飾的dsNA 16'的開關實質上閉合(但由於錯配的鹼基42未使開關完全閉合)，這顯著改變(例如，提高) dsNA 16'的電導率，調整通道16，並且導致可偵測的變化。應理解，在一些實例中，由於錯配的鹼基42，用開關股28B的電導率提高可能不如用開關股28A觀察到的提高程度大。

【0069】 在又另一個實例中，開關股28中的核苷酸股比在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24少至少一個核苷酸。該開關股28C的實例在圖3C中示出。開關股28C中的核苷酸與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24中的一些互補；然而，在開關股28C在缺口22處締合之後，因為較短的開關股長度(由於缺失的鹼基)，核苷酸鹼基24'中的至少一個保持未結合。作為實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-G-G-G-G-G-G，並且開關股28C可以是C-C-C-C-C。在該實例中，開關股28C缺失兩個鹼基，或比在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24 (包括24'')的總數短兩個核苷酸。作為另一個實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-A-G-T-G-C-G-G，並且開關股28C可以是T-C-A-C-G-C-C。在該實例中，開關股28C缺失一個鹼基，或比在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24 (包括24'')的總數短一個核苷酸。在圖3C中示出的實例中，任何合適的序列可以被用於開關股28C，只要該序列具有少於在缺口22處暴露的鹼基24的總數並且與在缺口22處暴露的

鹼基24中的一些互補。如圖3C中描繪的，當經標記的核苷酸30C的開關股28C本身在缺口22處締合時，i)開關股28C中的核苷酸鹼基36暫時地並且至少部分地與各自的互補鹼基24雜合，並且ii)因為開關股28C缺失鹼基，多核苷酸鏈20中的核苷酸鹼基24”中的一些保持未結合。當被併入時，開關股28C使經修飾的dsNA 16’的開關實質上閉合(但由於缺失鹼基未使開關完全閉合)，這顯著改變(例如，提高)經修飾的dsNA 16’(以及通道16)的電導率，並且導致可偵測的變化。應理解，在一些實例中，由於缺失的鹼基，用開關股28C的電導率提高可能不如用開關股28A觀察到的提高程度大。

【0070】 在仍然另一個實例中，開關股28中的核苷酸股具有比在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24高的數量的核苷酸，並且當在缺口22處締合時，開關股28的一部分形成莖環。該開關股28D的實例在圖3D中示出。開關股28D中的核苷酸中的一些與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24互補；然而，在開關股28D在缺口22處締合之後，開關股28C的非互補核苷酸36’保持未結合並且形成莖環44。作為實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-G-G-G-G-G-G-G-G，並且開關股28C可以是C-C-C-C。在該實例中，開關股28D包括形成莖環44的九個另外的鹼基36’。作為另一個實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是A-G-T-T-T-T-T-G，並且開關股28C可以是T-C-C。在該實例中，開關股28C包括形成莖環44的六個另外的鹼基36’。在圖3D中示出的實例中，任何合適的序列可以被用於開關股28C，只要該序列具有多於在缺口22處暴露的鹼基24的總數並且包括與在缺口22處暴露的鹼基24互補的至少一些核苷酸鹼基。莖環44的任一個末端處的核苷酸鹼基可以與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24完全互補，可以包括一個或更多個非互補鹼基，可以具有缺失的鹼基，或可以包括互補鹼基、非互補鹼基和缺失的鹼基的組合。如圖3D中描繪的，當經標記的核苷酸30D的開關股28D本身在缺口22處締合時，i)開關股28D中的核苷酸鹼基36中的一些暫時

地並且至少部分地與各自的互補鹼基24雜合，並且ii)開關股28D中的非互補核苷酸鹼基36”中的一些保持未結合並且形成莖環44。當被併入時，開關股28D使經修飾的dsNA 16’的開關閉合，這顯著改變(例如，提高)經修飾的dsNA 16’的電導率，調整通道16，並且導致可偵測的變化。電子流中的一些將在任一條鏈18、20上傳輸(例如，當兩條鏈18、20都與電極12、14結合時)，因此增加莖環44與增加更大的並聯電阻器相當。

【0071】 本文公開的經標記的核苷酸30的任何實例(例如，30A、30B、30C、30D)可以在套組的實例的試劑溶液中使用，和/或在感應系統40、40’中使用，感應系統40、40’的實例在圖4和圖5中示出。系統40、40’中的各者還包括本文公開的感應器10的實例。

【0072】 圖4中示出的感應系統40的實例包括流體槽41和整合至流體槽41中的電子感應器10。電子感應器10包括兩個電極12、14；橋接兩個電極12、14的經修飾的部分雙股的核酸聚合物16，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物16包括(經由氫鍵鍵合)部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20，其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈18中的缺口22；和在缺口22處暴露的第二多核苷酸鏈20的複數個核苷酸鹼基24。流體槽41是包含感應器10的容器(vessel)。應理解，其他容器，諸如孔、管、通道、比色管(cuvette)、培養皿(Petri plate)、瓶或類似物可以可選擇地包含感應器10。循環過程，諸如核酸定序反應，特別適合流體槽41。

【0073】 實例流體槽41包括基板/支撐體13和直接或間接結合至其或與其一體形成的蓋。流體槽41可以包括流體入口45和流體出口47，所述流體入口45和流體出口47能夠將大批試劑(bulk reagents)遞送至容納在流體槽41內的一個感應器10或感應器10的陣列。

【0074】 感應系統40還可以包括試劑遞送系統49，所述試劑遞送系統49選擇性地將試劑引入至流體槽41的輸入端(input)(例如，流體入口45)，經過感應

器10，並且然後引出流體出口47。試劑遞送系統49可以包括可以永久地或可移除地附接至流體入口45的管或其他流體件(fluidics)。試劑遞送系統49可以包括樣品容器51。試劑(包括待被引入至電子感應器10的經標記的核苷酸30)可以被存儲在樣品容器中，或在即將使用之前進行製備並且引入至樣品容器。試劑遞送系統49還可以包括泵或其他合適的設備，以從樣品容器51中取回試劑並將其遞送至流體入口45。在其他實例中，樣品容器51被放置使得試劑可以通過重力流至流體入口45，經過感應器10，並且流出流體出口47。

【0075】 當使用感應系統40時，流體槽41中的感應器10也可以被可操作地連接至偵測器15以偵測感應器10的電導率變化。

【0076】 系統40'的另一個實例在圖5中示出，並且包括電子感應器10，該電子感應器10包括兩個電極12、14；橋接兩個電極12、14的經修飾的部分雙股的核酸聚合物16，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物16包括(經由氫鍵鍵合)部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20，其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈18中的缺口22；和在缺口22處暴露的第二多核苷酸鏈20的複數個核苷酸鹼基24；以及待被引入至電子感應器10的分開的試劑，所述試劑包括經標記的核苷酸30，經標記的核苷酸30中的至少一個包括核苷酸32，附接至核苷酸的磷酸基團的連接分子34，附接至連接分子34的開關股28，開關股28包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些互補的鹼基36。在圖5中示出的實例中，多核苷酸鏈18是ACCGGGGTA-缺口-ATCCG，並且多核苷酸鏈20是TGGGCCCCATCCCCCCTAGGC (SEQ. ID No. 1)。在多核苷酸鏈20中，核苷酸鹼基「CCCCC」在缺口22處被暴露(至少直到開關股28與其締合)。

【0077】 雖然未示出，但應理解，感應器10可以被放置在容器內或為容器的一部分，該容器諸如流體槽41 (圖4)、管、通道、比色管、培養皿、瓶或類似物。合適的容器的另一個實例是流體槽。

【0078】 雖然圖5中示出了一個感應器10，但應理解，感應系統40'可以包括放置在基板上的感應器10的陣列。此外，感應系統40'的感應器10可以各自被電連接至各自的偵測器15，所述偵測器15當開關股28在缺口22處締合時偵測來自電感應器10的反應。

【0079】 感應系統40'的一些實例進一步包括錨定至經修飾的dsNA 16'的聚合酶38和待被引入至感應器10的模板多核苷酸鏈48。

【0080】 如圖5所示，感應器10包括聚合酶38。可以使用可以催化向新生股一次添加一個核苷酸的任何DNA聚合酶。DNA聚合酶可以來自以下家族的任一個：A、B、C、D、X、Y和RT。來自家族A的具體實例包括T7 DNA聚合酶、Pol I、Pol γ 、Pol Θ 或Pol ν ；或來自家族B的具體實例包括Pol II、Pol B、Pol ζ 、Pol α 、Pol δ 和Pol ϵ ；或來自家族C的具體實例包括Pol III；或來自家族D的具體實例包括Pol D (DP1/DP2異二聚體)；或來自家族X的具體實例包括Pol β 、Pol σ 、Pol λ 、Pol μ 和末端去氧核苷酸轉移酶(Terminal deoxynucleotidyl transferase)；或來自家族Y的具體實例包括Pol ι 、Pol κ 、Pol η 、Pol IV和Pol V；或來自家族RT的具體實例包括端粒酶。

【0081】 如圖5所示，聚合酶38用繫鏈46被固定至經修飾的dsNA 16'。在另一個實例中，聚合酶38用繫鏈46被固定至基板。繫鏈46被用作聚合酶38的錨，並且可以期望的是，繫鏈46是不導電的。當聚合酶38被附接至經修飾的dsNA 16'時，不導電的繫鏈可以是特別期望的。合適的繫鏈46的實例包括聚乙二醇(PEG)，所述聚乙二醇(PEG)具有在沿著PEG鏈的某個點處的可裂解的連接(cleavable link)；或可以包括鎳NTA/His標籤化學(Nickel NTA/His tag chemistry)、鏈黴親和素/生物素化學(streptavidin/biotin chemistry)(例如，附接至經修飾的dsNA 16'的鏈黴親和素和附接至聚合酶38的生物素)、DNA-DNA雜合、DNA-PNA雜合、羧基矽烷1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺(EDC)，或可以將聚合酶

附接至經修飾的dsNA 16'或附接至基板表面的任何其他合適的連接子。在一些實例中，繫鏈46將聚合酶38保持在離經修飾的dsNA 16'至少10 nm遠處。這可以是期望的，例如，使得聚合酶38的保形變化(conformal change)、聚合酶38的電荷和/或由聚合酶38保持的靶/模板多核苷酸鏈48的電荷不干擾經修飾的dsNA 16'的感應操作。

【0082】 在實例中，經修飾的dsNA 16'可以通過繫鏈46被初始附接至聚合酶38，所述繫鏈46包括可裂解的連接。這種組合可以被引入至電極12、14，以將經修飾的dsNA 16'的相對的末端附接至電極12、14，並且經由例如鎳NTA/His標籤化學將聚合酶38附接至基板表面。在該實例中，可裂解的連接可以被裂解，以使聚合酶38從經修飾的dsNA 16'脫離。在該實例中，聚合酶38鄰近經修飾的dsNA 16'，但實際上不接觸經修飾的dsNA 16'。應理解，當提供化學過程以將聚合酶38保持例如在基板表面上和鄰近感應器10處(within proximity to the sensor 10)時，繫鏈46可以被裂解。

【0083】 如本文提及的，系統40、40'的實例還可以包括待被引入至感應器10的模板多核苷酸鏈48。

【0084】 模板多核苷酸鏈48可以是待被定序的任何樣品，並且可以由DNA、RNA或其類似物(例如，肽核酸)構成。模板(或靶)多核苷酸鏈48的來源可以是基因體DNA、信使RNA或來自天然來源的其他核酸。在一些情況中，源自這樣的來源的模板多核苷酸鏈48可以在本文的方法或系統40、40'中使用之前被擴增。可以使用多種已知的擴增技術中的任一種，包括但不限於聚合酶鏈鎖反應(PCR)、滾環擴增(RCA)、多重置換擴增(MDA)或隨機引子擴增(RPA)。應理解，在本文列出的方法或系統40、40'中使用之前的模板多核苷酸鏈48的擴增是視需要選用的。因此，在一些實例中，使用之前，模板多核苷酸鏈48將不被擴增。模板/靶多核苷酸鏈48可以任選地源自合成的文庫(library)。合成的核酸可以具有

天然的DNA或RNA組成或可以是其類似物。

【0085】 模板多核苷酸鏈48可以源自其的生物樣品包括例如來自以下的那些生物樣品：哺乳動物諸如齧齒類動物、小鼠、大鼠、兔、天竺鼠、有蹄類動物(ungulate)、馬、綿羊、豬、山羊、牛、貓、狗、靈長類動物、人類或非人類靈長類動物；植物諸如擬南芥(*Arabidopsis thaliana*)、玉米、高粱、燕麥、小麥、稻、油菜或大豆；藻類諸如萊茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)；線蟲諸如秀麗隱杆線蟲(*Caenorhabditis elegans*)；昆蟲諸如黑腹果蠅(*Drosophila melanogaster*)、蚊子、果蠅、蜜蜂或蜘蛛；魚諸如斑馬魚；爬蟲類動物；兩棲類動物諸如蛙類動物或非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)；盤基網柄菌(*dictyostelium discoideum*)；真菌諸如卡氏肺孢子蟲(*pneumocystis carinii*)、紅鰭東方鮎(*Takifugu rubripes*)、酵母、釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)或粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)；或惡性瘧原蟲(*plasmodium falciparum*)。模板多核苷酸鏈48還可以源自原核生物諸如細菌、大腸桿菌(*Escherichia coli*)、葡萄球菌(*staphylococci*)或肺炎黴漿菌(*mycoplasma pneumoniae*)；古細菌；病毒諸如C型肝炎病毒、伊波拉病毒或人類免疫缺陷病毒；或類病毒。模板多核苷酸鏈48可以源自以上生物體的均質培養物或族群，或可選地源自若干不同生物體(例如群落(*community*)或生態系統(*ecosystem*)中的若干不同生物體)的集合體。

【0086】 此外，模板多核苷酸鏈48可以不源自天然來源，而是可以使用已知的技術進行合成。例如，基因表現探針或基因分型探針可以被合成並且在本文列出的實例中被使用。

【0087】 在一些實例中，模板多核苷酸鏈48可以作為一個或更多個較大核酸的片段被獲得。片段化可以使用本領域中已知的多種技術中的任一種進行，所述技術包括例如霧化(*nebulization*)、音波處理、化學裂解、酶促裂解或物理剪切。片段化還可以由於使用特定擴增技術而產生，所述特定擴增技術通過僅拷

貝較大核酸鏈的一部分產生擴增子。例如，PCR擴增產生這樣的片段，所述片段具有由原始模板上的在擴增期間側翼引子雜合的位點之間的核苷酸序列的長度定義的尺寸。模板多核苷酸鏈48的長度可以根據核苷酸數量計或根據公制長度(例如，奈米)計。

【0088】 模板/靶多核苷酸鏈48的群體或其擴增子可以具有對於本文列出的方法或系統40、40'的特定應用是期望的或適合的平均股長度。例如，平均股長度可以小於約100,000個核苷酸、約50,000個核苷酸、約10,000個核苷酸、約5,000個核苷酸、約1,000個核苷酸、約500個核苷酸、約100個核苷酸或約50個核苷酸。可選擇地或另外地，平均鏈長度可以大於約10個核苷酸、約50個核苷酸、約100個核苷酸、約500個核苷酸、約1,000個核苷酸、約5,000個核苷酸、約10,000個核苷酸、約50,000個核苷酸或約100,000個核苷酸。靶多核苷酸鏈48的群體或其擴增子的平均鏈長度可以在上文列出的最大值和最小值之間的範圍內。

【0089】 在一些情況中，模板/靶多核苷酸鏈48的群體可以在使得其成員具有最大長度的條件下被產生或可以以其他方式被配置以使得其成員具有最大長度。例如，成員的最大長度可以小於約100,000個核苷酸、約50,000個核苷酸、約10,000個核苷酸、約5,000個核苷酸、約1,000個核苷酸、約500個核苷酸、約100個核苷酸或約50個核苷酸。可選擇地或另外地，模板多核苷酸鏈48的群體或其擴增子可以在使得其成員具有最小長度的條件下產生或可以以其他方式被配置以使得其成員具有最小長度。例如，成員的最小長度可以大於約10個核苷酸、約50個核苷酸、約100個核苷酸、約500個核苷酸、約1,000個核苷酸、約5,000個核苷酸、約10,000個核苷酸、約50,000個核苷酸或約100,000個核苷酸。群體中的模板多核苷酸鏈48的最大鏈長度和最小鏈長度可以在上文列出的最大值和最小值之間的範圍內。

【0090】 如圖5所示，待被定序的模板多核苷酸鏈48(例如，單鏈的DNA

鏈)在已經連同試劑諸如經標記的核苷酸30一起被引入溶液中之後，結合至聚合酶38。

【0091】 在一些實例中，若干不同的經標記的核苷酸30 (例如，分別用dA、dC、dG和dT標記，作為核苷酸32)可以一起在包括感應器10的陣列的系統40、40'中被使用。在一個實例中，使用了四種不同的經標記的核苷酸30，每一種包括不同的核苷酸32和不同的核苷酸特異性開關股28。作為實例，經標記的核苷酸30包括：第一經標記的核苷酸以及第一核苷酸特異性開關股，所述第一經標記的核苷酸包括去氧腺苷多磷酸酯(deoxyadenosine polyphosphate)作為核苷酸；第二經標記的核苷酸以及第二核苷酸特異性開關股，所述第二經標記的核苷酸包括去氧鳥苷多磷酸酯(deoxyguanosine polyphosphate)作為核苷酸，所述第二核苷酸特異性開關股具有不同於第一開關股的序列；第三經標記的核苷酸以及第三核苷酸特異性開關股，所述第三經標記的核苷酸包括去氧胞苷多磷酸酯(deoxycytidine polyphosphate)作為核苷酸，所述第三核苷酸特異性開關股具有不同於第一開關股和第二開關股中的各條的序列；和第四經標記的核苷酸以及第四核苷酸特異性開關股，所述第四經標記的核苷酸包括去氧胸苷多磷酸酯(deoxythymidine polyphosphate)作為核苷酸，所述第四核苷酸特異性開關股具有不同於第一開關股、第二開關股和第三開關股中的各條的序列。如此，在該實例中，第一核苷酸特異性開關股、第二核苷酸特異性開關股、第三核苷酸特異性開關股和第四核苷酸特異性開關股彼此不同。不同的開關股將產生不同的電導率變化(當在互補缺口22處締合時)，這可以被用於鑑定與不同的開關股附接的特定核苷酸。

【0092】 現在參考圖6，描繪了方法的實例。方法100包括將模板多核苷酸鏈48引入至電子感應器10，所述電子感應器10具有聚合酶38，所述聚合酶38被拴繫至i)橋接兩個電極12、14之間的空間並且電連接至兩個電極12、14的可調整

導電通道16，或ii)支撐兩個電極12、14的基板13，該可調整導電通道16包括經修飾的部分雙股的核酸聚合物16'，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物16'包括：部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈18中的缺口22；和在第一多核苷酸鏈18中的缺口22處暴露的第二多核苷酸鏈20的複數個核苷酸鹼基24 (參照編號102)；將包括經標記的核苷酸30的試劑引入至電子感應器10，由此經標記的核苷酸中的一個的核苷酸32與聚合酶38締合，並且經標記的核苷酸30中的一個的核苷酸特異性開關股28與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些締合(參照編號104)；以及對於在缺口22處的締合，偵測電子感應器10的反應。在方法100的整個討論中還將參考圖5。

【0093】 如圖5所示，被引入至感應器10的模板多核苷酸鏈48可以由聚合酶38保持在適當位置，所述聚合酶38被拴繫至感應器10或被拴繫至支撐感應器10的基板表面。圖5中示出的模板多核苷酸鏈48是DNA的模板鏈。模板多核苷酸鏈48可以連同試劑(諸如經標記的核苷酸30)一起被引入生物上穩定的溶液中。生物上穩定的溶液可以是適用於基於聚合酶的併入反應的任何緩衝液，所述基於聚合酶的併入反應諸如聚合酶鏈鎖反應(PCR)或線性擴增。作為實例，生物上穩定的溶液可以包括具有接近7的pH、高於幾毫莫耳的鹽濃度和毫莫耳濃度的 Mg^{2+} 離子的緩衝液。

【0094】 同樣如圖5所示，經標記的核苷酸30可以包括與模板多核苷酸鏈48的靶核酸互補的鹼基。經標記的核苷酸30將部分地由聚合酶38保持在適當位置，該聚合酶38也與模板多核苷酸鏈48結合。

【0095】 經標記的核苷酸30和聚合酶38之間的相互作用以及連接分子34的長度使得開關股28能夠與感應器10的缺口22締合。在實例中，開關股28與缺口22的締合涉及開關股28的至少一部分與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24的雜合。發生的雜合將部分地取決於所使用的開關股28 (例如，28A、28B、28C、28D)。

可以調節溶液的溫度和/或離子濃度，以便引發或促進開關股28與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24中的至少一些完全或部分雜合或退火。作為一個實例，開關股28可以被設計成在室溫(例如，從約18°C至約22°C)並且在具有50 mM鹽濃度的溶液中在缺口22處部分地或完全地雜合。

【0096】 聚合酶38將開關股28保持在鄰近缺口22處，從而允許若干次雜合和去雜合事件發生。相比之下，漂移的隨機股可能將雜合一次，並且然後漂移開。開關股28可以被保持在鄰近缺口22處，直到例如使用熔解(melting)或另一種合適的技術將其解離。在一些實例中，缺口22中的開關股的締合可以長達幾十毫秒或更長。這種相對長的相互作用切換開關為「開啟(ON)」(例如，通過將電導從較低狀態提高來調整通道16)，並且可以偵測電導率的變化。這種相對長的相互作用不同於溶液中存在的其他經標記的核苷酸30(即，隨機的漂移股)，這些其他經標記的核苷酸30可以擴散並且短暫接觸，但在感應器10處不經歷若干次至少部分雜合和去雜合事件。這些其他經標記的核苷酸30的短暫相互作用可以引起短暫的和/或零星的電導率變化，並且因此與由被保持在鄰近缺口22處的開關股28導致的電導率變化可區分。

【0097】 當開關股28與暴露的核苷酸鹼基24至少部分地雜合和去雜合若干次時，感應器10的反應可以指示經標記的核苷酸30的鹼基，因為開關股28是核苷酸特異性的(即，針對特定鹼基選擇特定開關股28)。如此，方法100還可以包括對感應器10的反應與締合的核苷酸特異性開關股28(即，已經與聚合酶38和缺口22締合的經標記的核苷酸30)建立關聯，並且基於核苷酸特異性開關股28，鑑定締合的經標記的核苷酸30(即，已經與聚合酶38和缺口22締合的經標記的核苷酸30)的核苷酸(例如，鹼基)。

【0098】 締合的經標記的核苷酸30的鹼基將被併入與模板多核苷酸鏈48雜合的新生股50中。這將繼而破壞經標記的核苷酸30的磷酸基團和新併入的核

核苷酸鹼基之間的鍵。這使經標記的核苷酸30的剩餘部分與新併入的核苷酸鹼基裂解。

【0099】 由於開關股28可以優選至少部分地雜合並且保持連接在經修飾的dsNA 16'的雙螺旋構型中，方法100還可以包括進行加熱以使核苷酸特異性開關股28與缺口22解離。當合成經標記的核苷酸30時，可以調節開關股28的解鏈溫度，以使「開啟」時間更短或更長，「開啟」時間部分地取決於聚合酶38保持經標記的核苷酸30的核苷酸32的時間有多長。在實例中，解鏈溫度可以被調節以與當經標記的核苷酸30的磷酸基團和新併入的核苷酸鹼基之間的鍵時感應系統40、40'被操作的溫度符合。這將引起在經標記的核苷酸30被裂解的相同的時間範圍內，開關股28的解離。在另一個實例中，可以期望的是，開關股28的「關閉(OFF)」時間比在併入新生股50期間經標記的核苷酸30由聚合酶28保持的時間短得多。這可以使來自不與聚合酶28締合的開關股28的背景事件最少化。

【0100】 作為裂解和解離的結果，經標記的核苷酸30的剩餘部分自由地從核苷酸鹼基解離並且從感應器10擴散。裂解和解離通過使感應器10的電導率回到經標記的核苷酸30與聚合酶38和缺口22締合之前所處的初始(例如，較低)電導率狀態來再次調整通道16。在感應器10的電導率改變(例如，提高和回到較低狀態)時信號的出現和消失可以分別與核苷酸鹼基向模板核苷酸鏈48的新生股50中的併入以及經標記的核苷酸30的隨後解離相關。

【0101】 在實例方法100中，經標記的核苷酸30中的一個的締合(與聚合酶32和缺口22締合)、反應的偵測、建立關聯和鑑定可以一起被用於聚合酶併入事件的單分子偵測(即，哪個核苷酸已經併入新生股50)。

【0102】 應認識到，前述概念和以下更詳細討論的另外的概念(只要這些概念不會相互不一致)的所有組合被預期作為本文公開的進步性標的之一部分。特別地，出現在本公開內容的結尾處的所要求保護的標的的所有組合被預期作

為本文公開的進步性標的之一部分。還應認識到，本文中明確採用的術語(其也可以出現在通過引用併入的任何公開內容中)應符合與在本文中公開的特定概念最為一致的含義。

【0103】 在整個說明書中對於「一個實例」、「另一個實例」、「實例」等的提及意指結合該實例描述的特定要件(例如，特徵、結構和/或特性)被包括在本文描述的至少一個實例中，並且可以存在於或不存在於其他實例中。此外，應理解，除非上下文另外明確指示，否則針對任何實例的描述的要件可以在各種實例中以任何合適的方式組合。

【0104】 在整個本公開內容(包括申請專利範圍)中使用的術語「實質上」和「約」用於描述和說明諸如由於在處理中的變化(variations)而導致的小波動(fluctuations)。例如，它們可以是指小於或等於 $\pm 5\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 2\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 1\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 0.5\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 0.2\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 0.1\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 0.05\%$ 。

【0105】 此外，應理解，本文提供的範圍包括陳述的範圍和在陳述的範圍內的任何值或子範圍，如同它們被明確列舉。例如，由從約10 nm至約50 nm表示的範圍應被解釋為不僅包括從約10 nm至約50 nm的明確列舉的限值，進一步包括單獨的值，諸如約15 nm、22.5 nm、45 nm等，以及子範圍，諸如從約20 nm至約48 nm等。

【0106】 雖然已經詳細描述了若干個實例，但應理解，可以修改公開的實例。因此，前述描述將被認為是非限制性的。

【符號說明】

【0107】

【序列表】

<110> 美商伊路米納有限公司

<120> 感應器與感應系統

<130> IP-1687-PRV

<160> 1

<170> PatentIn 第3.5版

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 電導率感應器

<400> 1

tgggcccat cccccctagg c

21



202001237

【發明摘要】**【中文發明名稱】** 感應器與感應系統**【英文發明名稱】** Sensor And Sensing System**【中文】**

感應器包括兩個電極和附接至該兩個電極的可調整導電通道。可調整導電通道包括電連接至所述兩個電極並且橋接所述兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物。該經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈、其中核苷酸鹼基缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口、和在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【英文】

A sensor includes two electrodes and a modulatable electrically conductive channel attached to the two electrodes. The modulatable electrically conductive channel includes a modified, partially double stranded nucleic acid polymer electrically connected to the two electrodes and bridging the space between the two electrodes. The modified, partially double stranded nucleic acid polymer includes two polynucleotide chains partially bonded together, a gap in a first of the polynucleotide chains wherein nucleotide bases are missing, and a plurality of nucleotide bases of a second of the polynucleotide chains exposed at the gap in the first of the polynucleotide chains.

【指定代表圖】 圖1A**【代表圖之符號簡單說明】**

- 10. 感應器
- 12. 電極
- 14. 電極
- 16. 通道
- 16'. 經修飾的dsNA
- 18. 多核苷酸鏈
- 20. 多核苷酸鏈
- 22. 缺口
- 24. 核苷酸鹼基
- 26. 連接子

【特徵化學式】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種感應器，其包括：

兩個電極，所述兩個電極之間具有空間；以及

附接至所述兩個電極的可調整導電通道，所述可調整導電通道包括電連接至所述兩個電極並且橋接所述兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：

部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；

其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及

在所述第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【第2項】如請求項1所述的感應器，其中所述缺口具有範圍從約10 nm至約50 nm的長度。

【第3項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其進一步包括附接至所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物的聚合酶。

【第4項】如請求項1至3中任一項所述的感應器，其中：

i) 連接子分別將所述第一多核苷酸鏈的各末端附接至所述兩個電極中各自的一個；或

ii) 連接子分別將所述第二多核苷酸鏈的各末端附接至所述兩個電極中各自的一個；或

iii) i和ii兩者。

【第5項】如請求項1至4中任一項所述的感應器，其中在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一個是鳥嘌呤鹼基。

【第6項】如請求項1至4中任一項所述的感應器，其中在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的每一個是鳥嘌呤鹼基。

【第7項】如請求項1至6中任一項所述的感應器，其進一步包括偵測器，所述偵測器當開關股與所述缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些核苷酸鹼基締合時偵測來自所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物的反應，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些核苷酸鹼基互補的鹼基。

【第8項】如請求項1至7中任一項所述的感應器，其進一步包括：
支撐所述兩個電極的基板；以及
附接至所述基板的聚合酶。

【第9項】如請求項1至8中任一項所述的感應器，其進一步包括將試劑引入至所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物的流體系統。

【第10項】如請求項9所述的感應器，其中所述試劑包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：

核苷酸；

附接至所述核苷酸的磷酸基團的連接分子；以及

附接至所述連接分子的開關股，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【第11項】如請求項1至10中任一項所述的感應器，其進一步包括附接至所述兩個電極的複數個其他可調整導電通道，所述其他可調整導電通道中的各者包括各自的電連接至所述兩個電極並且橋接所述兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物。

【第12項】如請求項1至10中任一項所述的感應器，其中，所述可調整導電通道：

當所述複數個核苷酸鹼基在所述缺口處暴露時表現出第一電導；並且

當所述缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些與互補核苷酸鹼基締合時

表現出不同於所述第一電導的第二電導。

【第13項】一種經標記的核苷酸，其包括：

核苷酸；

附接至所述核苷酸的磷酸基團的连接分子；以及

附接至所述连接分子的開關股，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在根據請求項1至12中任一項所述的感應器的缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【第14項】一種套組，其包括：

電子構件（component），所述電子構件包括：

支撐體；以及

可操作地設置在所述支撐體上並且由空間隔開的兩個電極；以及

聚合物溶液，所述聚合物溶液包括：

液體載體；以及

所述液體載體中的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：

部分鍵合在一起並且具有相對的末端（opposed ends）的兩條多核苷酸鏈；

附接至所述相對的末端中的各者的连接子，各個连接子附接至所述兩個電極中各自的一個；

其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及

在所述第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基；

當各個连接子附接至所述兩個電極中各自的一個時，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物在所述兩個電極之間的空間中形成可調整導電通道。

【第15項】如請求項14所述的套組，其進一步包括試劑溶液，所述試劑溶液包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：

核苷酸；

附接至所述核苷酸的磷酸基團的连接分子；以及

附接至所述连接分子的開關股，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【第16項】如請求項15所述的套組，其中所述開關股中的鹼基與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基完全互補。

【第17項】如請求項15所述的套組，其中所述開關股進一步包括具有錯配的鹼基的至少一個核苷酸，所述錯配的鹼基與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的相應的鹼基不互補。

【第18項】如請求項15所述的套組，其中所述開關股中的核苷酸股比在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基少至少一個核苷酸。

【第19項】如請求項15所述的套組，其中所述開關股中的核苷酸股具有比在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基高的數量的核苷酸，並且其中當在所述缺口處締合時，所述開關股的一部分形成莖環。

【第20項】如請求項15所述的套組，其中：

所述開關股中的核苷酸股具有比在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基高的數量的核苷酸；

當在所述缺口處締合時，所述開關股的一部分形成莖環；並且

所述開關股的另外一部分與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基完全互補，或包括具有錯配的鹼基的至少一個核苷酸，所述錯配的鹼基與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的相應的鹼基不互補。

【第21項】一種感應系統，其包括：

流體槽；以及

整合至所述流體槽中的電子感應器，所述電子感應器包括：

兩個電極，所述兩個電極之間具有空間；

附接至所述兩個電極的可調整導電通道，所述可調整導電通道包括電連接至所述兩個電極並且橋接所述兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：

部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；

其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及

在所述第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【第22項】如請求項21所述的感應系統，其進一步包括將試劑選擇性地引入至所述流體槽的輸入端的試劑遞送系統。

【第23項】如請求項22所述的感應系統，其中所述試劑在樣品容器中，並且所述試劑包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：

核苷酸；

附接至所述核苷酸的磷酸基團的连接分子；以及

附接至所述连接分子的開關股，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【第24項】如請求項21至23中任一項所述的感應系統，其進一步包括偵測來自所述電子感應器的反應的偵測器。

【第25項】如請求項21至24中任一項所述的感應系統，其進一步包括錨定至所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物或所述電子感應器的支撐體的聚合酶。

【第26項】一種方法，其包括：

將模板多核苷酸鏈引入至電子感應器，所述電子感應器具有聚合酶，所述

聚合酶被拴繫至i)橋接兩個電極之間的空間並且電連接至所述兩個電極的可調整導電通道，或ii)支撐所述兩個電極的基板，所述可調整導電通道包括經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：

部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；

其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及

在所述第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基；

將包括經標記的核苷酸的試劑引入至所述電子感應器，由此所述經標記的核苷酸中的一個的核苷酸與所述聚合酶締合，並且所述經標記的核苷酸中的一個的核苷酸特異性開關股與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些締合；以及

對於在所述缺口處的締合，偵測所述電子感應器的反應。

【第27項】如請求項26所述的方法，其進一步包括：

對所述電子感應器的反應與所締合的核苷酸特異性開關股建立關聯；以及

基於所締合的核苷酸特異性開關股，鑑定所述經標記的核苷酸中的一個的核苷酸。

【第28項】如請求項26或27中任一項所述的方法，其進一步包括進行加熱以使所述核苷酸特異性開關股與所述缺口解離。

【發明圖式】

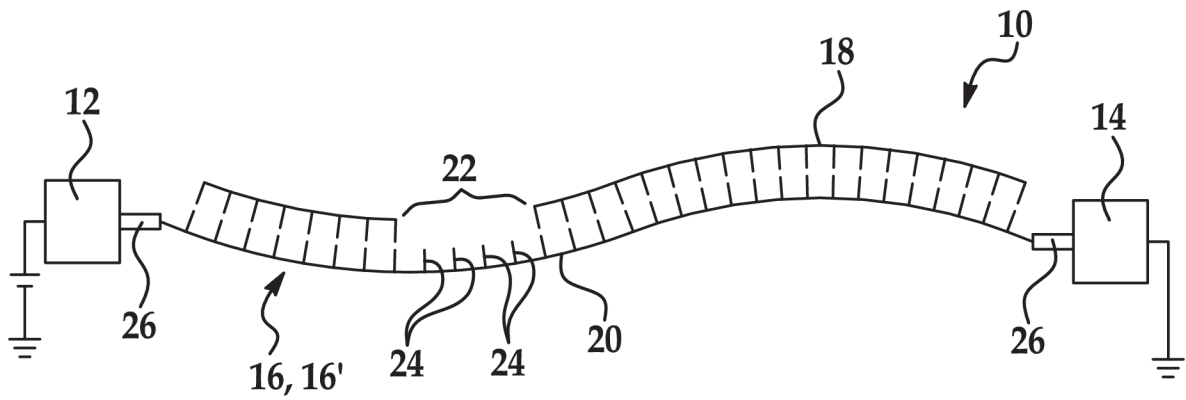


圖1A

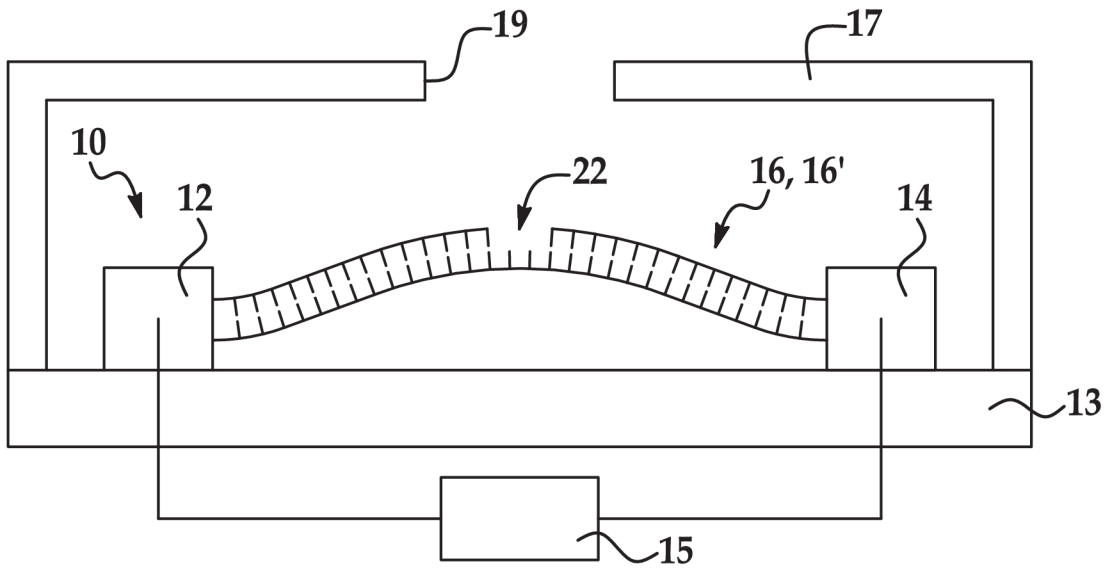


圖1B

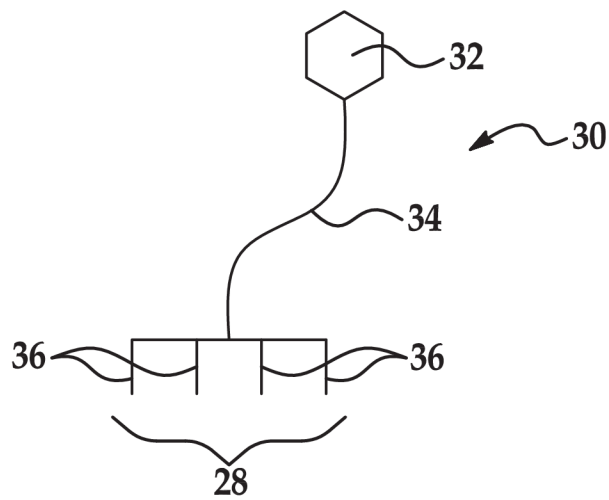


圖2

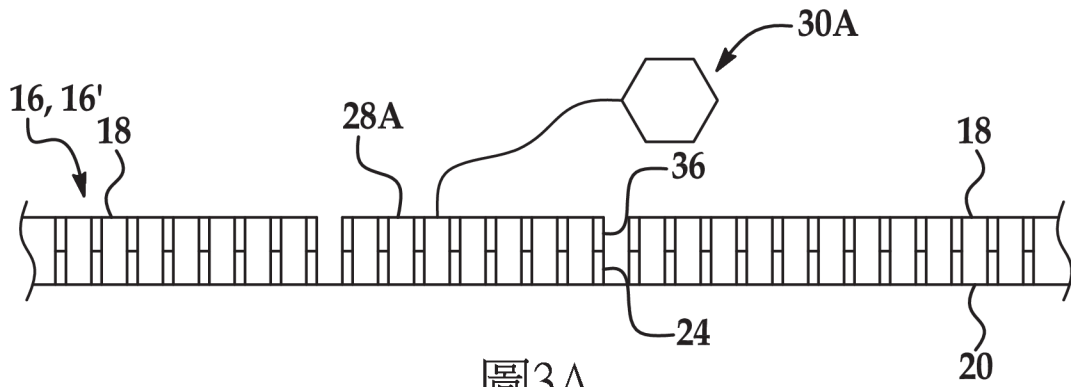


圖3A

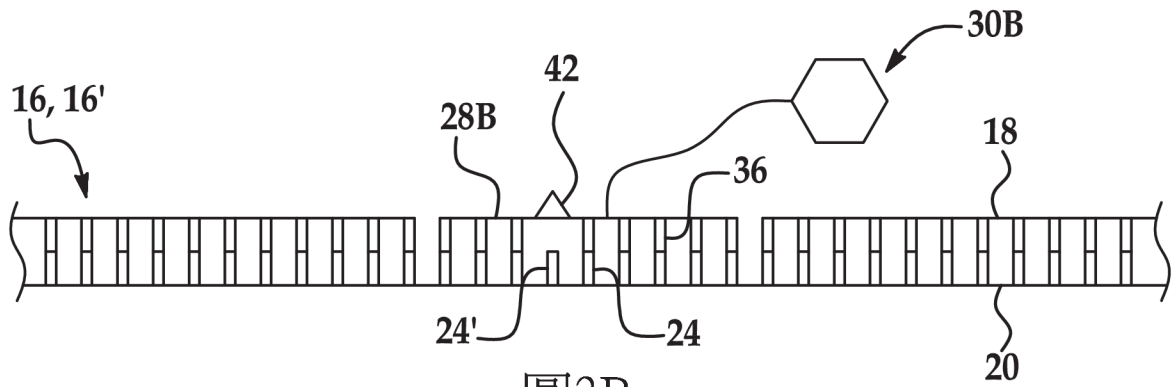


圖3B

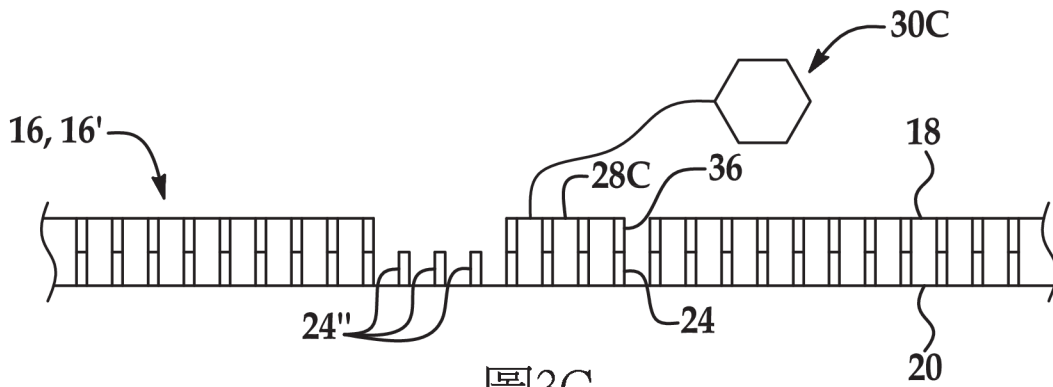


圖3C

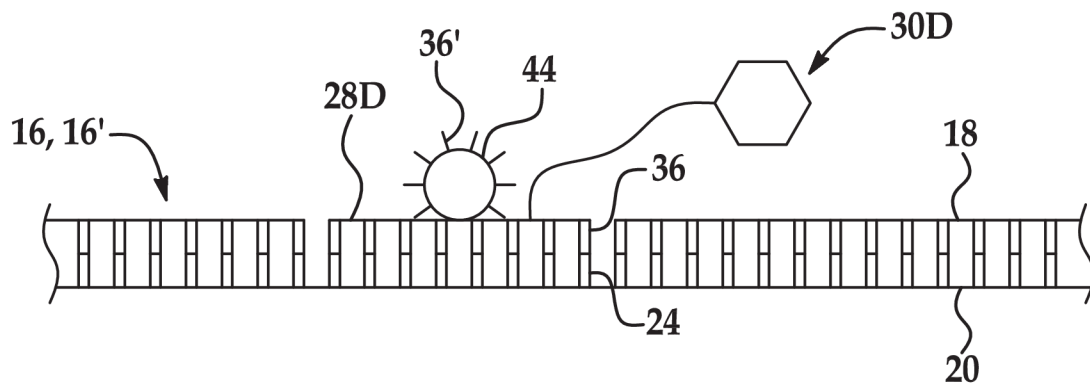


圖3D

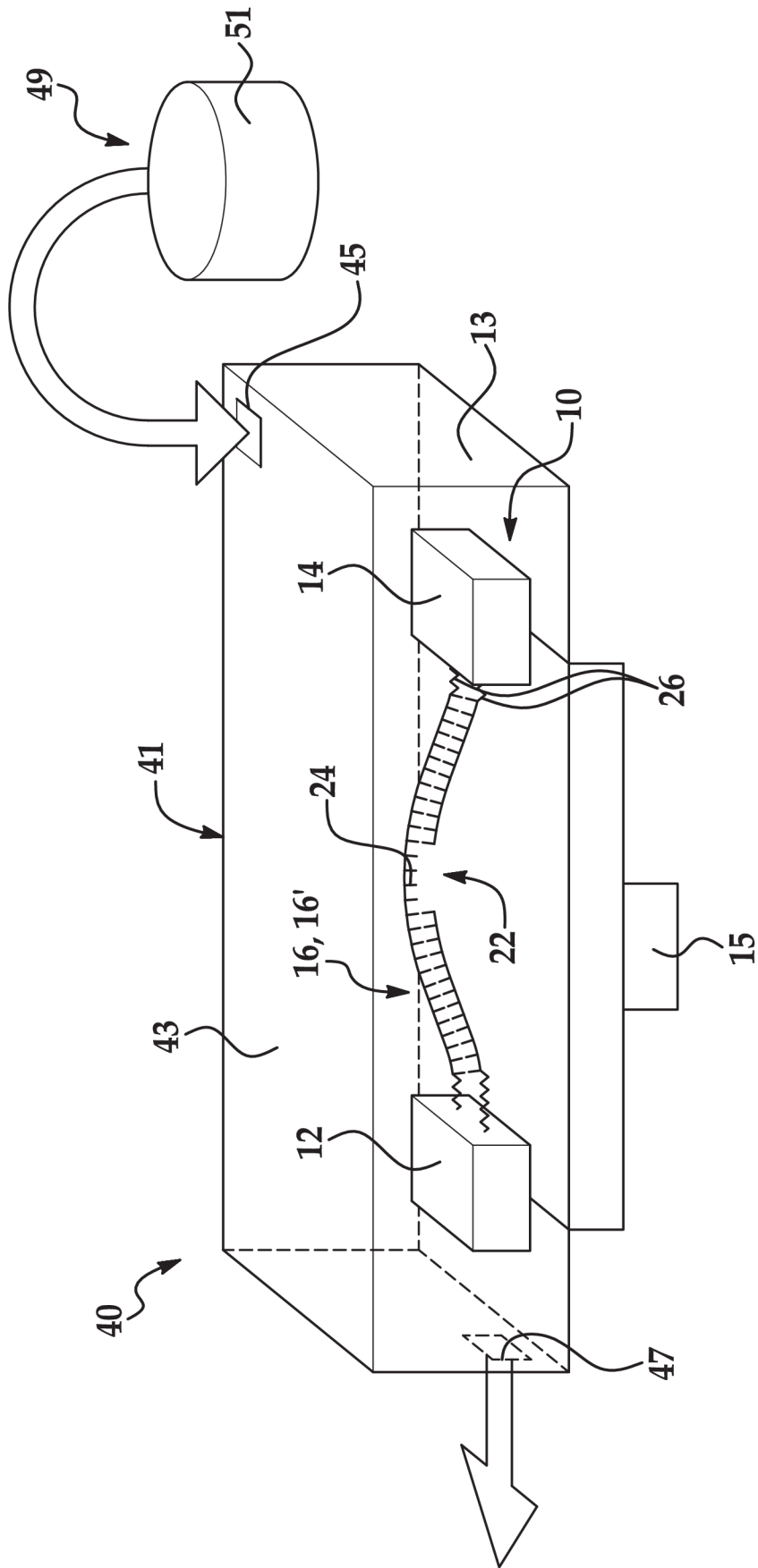


圖4

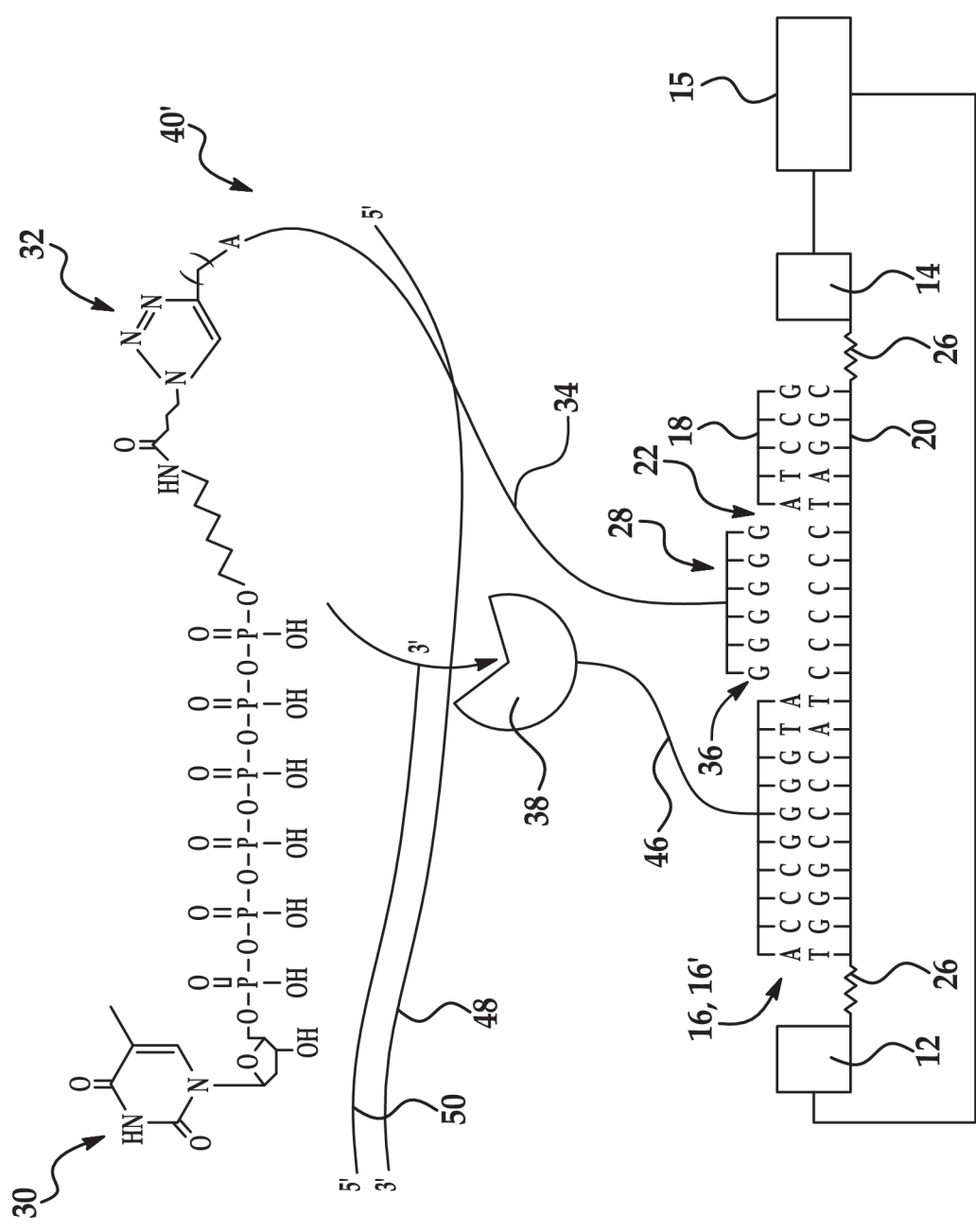


圖5

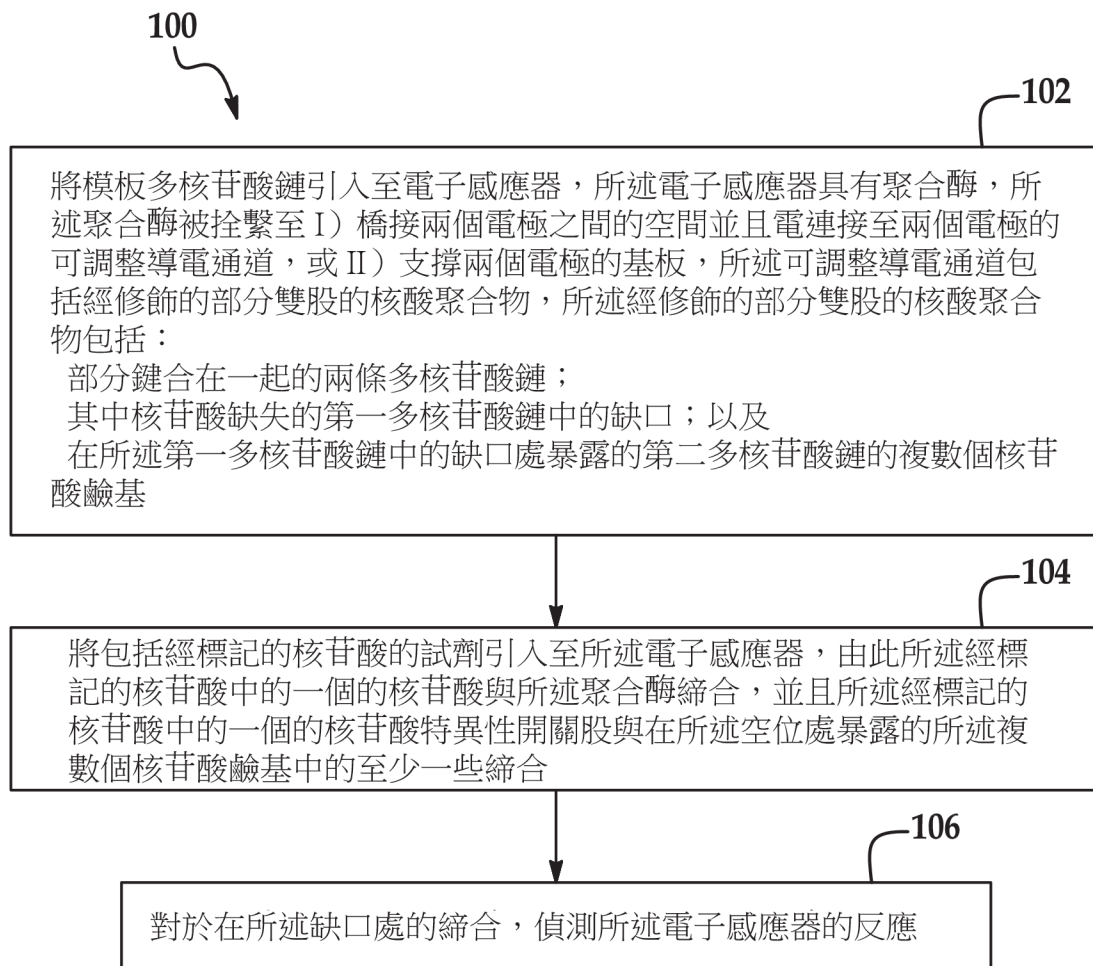


圖6

【發明說明書】

【中文發明名稱】 感應器與感應系統

【英文發明名稱】 Sensor And Sensing System

相關申請的交叉引用

【0001】 本申請要求2018年6月29日提交的美國臨時申請序號62/692,468和2018年7月23日提交的荷蘭申請序號N2021376的權益；所述申請的每一項的內容通過引用以其整體併入本文。

對序列表的引用

【0002】 隨附提交的序列表在此通過引用以其整體併入。文件名稱為IP-1687_sequence_listing_ST25.txt，文件大小為366字節，並且文件的創建日期為2019年6月7日。

【技術領域】

【先前技術】

【0003】 生物或化學研究中的各種方案涉及在局部支撐體表面上或在預先限定的反應室內進行大量受控的反應。然後可以觀察或偵測指定的反應，並且隨後的分析可以幫助鑑定或揭示反應所涉及之化學品的性質。例如，在一些多重測定中，具有可鑑定標記物(例如，熒光標記物)的未知分析物可以在受控的條件下暴露於數以千計的已知的探針。各個已知的探針可以被置於微孔盤的相應孔中。觀察孔內已知的探針和未知的分析物之間發生的任何化學反應可以幫助鑑定或揭示分析物的性質。這樣的方案的其他實例包括已知的DNA定序方

法，諸如合成定序(sequencing-by-synthesis；SBS)或循環陣列定序(cyclic-array sequencing)。利用多核苷酸定序技術，分析可以幫助鑑定或揭示反應所涉及之多核苷酸的性質。

【發明內容】

【0004】 本文公開的第一方面是一種感應器。在實例中，感應器包括兩個電極，所述兩個電極之間具有空間；和附接至所述兩個電極的可調整導電通道(modulatable electrically conductive channel)，該可調整導電通道包括電連接至(electrically connected to)兩個電極並且橋接兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物(modified, partially double stranded nucleic acid polymer)，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；和在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【0005】 在感應器的實例中，缺口具有範圍從約10 nm至約50 nm的長度。

【0006】 感應器的實例進一步包括附接至經修飾的部分雙股的核酸聚合物的聚合酶。

【0007】 在感應器的實例中，i)連接子分別將第一多核苷酸鏈的各末端附接至兩個電極中各自的一個；或ii)連接子分別將第二多核苷酸鏈的各末端附接至兩個電極中各自的一個；或iii) i和ii兩者。

【0008】 在感應器的實例中，在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一個是鳥嘌呤鹼基。

【0009】 在感應器的實例中，在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的每一個是鳥嘌呤鹼基。

【0010】 感應器的實例進一步包括偵測器，所述偵測器當開關股(switch

strand)與缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些核苷酸鹼基締合(associate)時偵測來自經修飾的部分雙股的核酸聚合物的反應，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些核苷酸鹼基互補的鹼基。

【0011】 感應器的實例進一步包括支撐兩個電極的基板；以及附接至基板的聚合酶。

【0012】 感應器的實例進一步包括將試劑引入至經修飾的部分雙股的核酸聚合物的流體系統。在實例中，試劑包括經標記的核苷酸，經標記的核苷酸中的至少一個包括：核苷酸；附接至核苷酸的磷酸基團(phosphate group)的連接分子；以及附接至連接分子的開關股，該開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【0013】 感應器的實例進一步包括附接至兩個電極的複數個其他可調整導電通道，其他可調整導電通道中的各者包括各自的電連接至兩個電極並且橋接兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物。

【0014】 在感應器的實例中，可調整導電通道：當複數個核苷酸鹼基在缺口處暴露時表現出第一電導(conductance)；並且當缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些與互補核苷酸鹼基締合時表現出不同於第一電導的第二電導。

【0015】 應理解，本文公開的感應器的任何特徵可以以任何期望的方式和/或配置、和/或與本文公開的任何其他實例組合在一起。

【0016】 本文公開的第二方面是一種經標記的核苷酸，其包括核苷酸；附接至核苷酸的磷酸基團的連接分子(linking molecule)；以及附接至連接分子的開關股，該開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在第一方面的感應器的缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【0017】 本文公開的第三方面是一種套組，其包括：電子構件(electronic

component)，該電子構件包括：支撐體；以及可操作地設置在支撐體上並且由空間隔開的兩個電極；以及聚合物溶液，該聚合物溶液包括：液體載體(liquid carrier)；以及液體載體中的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：部分鍵合在一起並且具有相對的末端(opposed ends)的兩條多核苷酸鏈；附接至相對的末端中的各者的連接子，各個連接子附接至兩個電極中各自的一個；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基；當各個連接子附接至兩個電極中各自的一個時，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物在兩個電極之間的空間中形成可調整導電通道。

【0018】 在實例中，套組進一步包括試劑溶液(reagent solution)，該試劑溶液包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：核苷酸；附接至核苷酸的磷酸基團的連接分子；和附接至連接分子的開關股，該開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。在套組的實例中，開關股中的鹼基與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基完全互補。在套組的另一個實例中，開關股進一步包括具有錯配的鹼基的至少一個核苷酸，該錯配的鹼基與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的相應的鹼基不互補。在套組的仍然另一個實例中，開關股中的核苷酸股比在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基少至少一個核苷酸。在套組的又另外的實例中，開關股中的核苷酸股具有比在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基高的數量的核苷酸，並且其中當在缺口處締合時，開關股的一部分形成莖環(stem loop)。在套組的實例中，開關股中的核苷酸股具有比在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基高的數量的核苷酸；當在缺口處締合時，開關股的一部分形成莖環；並且開關股的另外一部分與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基完全互補，或包括具有錯配的鹼基的至少一個核苷酸，該錯配的鹼基與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼

基中的相應的鹼基不互補。

【0019】 應理解，套組的任何特徵可以以任何期望的方式組合在一起。此外，應理解，套組和/或感應器和/或經標記的核苷酸的特徵的任何組合可以一起被使用和/或與本文公開的任何實例組合。

【0020】 在第四方面，一種感應系統包括：流體槽(flow cell)；以及整合至流體槽中的電子感應器，該電子感應器包括：兩個電極，所述兩個電極之間具有空間；附接至兩個電極的可調整導電通道，該可調整導電通道包括電連接至兩個電極並且橋接兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【0021】 在實例中，感應系統進一步包括將試劑選擇性地引入至流體槽的輸入端(input)的試劑遞送系統。在實例中，試劑在樣品容器中，試劑包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：核苷酸；附接至核苷酸的磷酸基團的连接分子；以及附接至连接分子的開關股，該開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【0022】 感應系統的實例進一步包括偵測來自電子感應器的反應的偵測器。

【0023】 感應系統的實例進一步包括錨定至經修飾的部分雙股的核酸聚合物或電子感應器的支撐體的聚合酶；以及待被引入至電子感應器的模板多核苷酸鏈。

【0024】 應理解，感應系統的任何特徵可以以任何期望的方式組合在一起。此外，應理解，感應系統和/或感應器和/或套組和/或經標記的核苷酸的特徵

的任何組合可以一起被使用和/或與本文公開的任何實例組合。

【0025】 本文公開的第五方面是一種方法。在實例中，所述方法包括將模板多核苷酸鏈引入至電子感應器，所述電子感應器具有聚合酶，所述聚合酶被拴繫至i)橋接兩個電極之間的空間並且電連接至兩個電極的可調整導電通道，或ii)支撐兩個電極的基板，該可調整導電通道包括經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；和在第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基；將包括經標記的核苷酸的試劑引入至電子感應器，由此經標記的核苷酸中的一個的核苷酸與聚合酶締合，並且所述經標記的核苷酸中的一個的核苷酸特異性開關股與在缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些締合；以及對於在缺口處的締合，偵測電子感應器的反應。

【0026】 所述方法的實例進一步包括對電子感應器的反應與締合的核苷酸特異性開關股建立關聯；並且基於締合的核苷酸特異性開關股，鑑定經標記的核苷酸中的一個的核苷酸。

【0027】 所述方法的實例進一步包括進行加熱以將核苷酸特異性開關股與缺口解離。

【0028】 應理解，方法的任何特徵可以以任何期望的方式組合在一起。此外，應理解，方法和/或感應系統和/或感應器和/或任何套組和/或經標記的核苷酸的特徵的任何組合可以一起被使用和/或與本文公開的任何實例組合。

【圖式簡單說明】

【0029】 本公開內容的實例的特徵將通過參考以下詳細描述和附圖而變得明顯，在附圖中，相似的參照編號(reference numeral)對應於相似的(儘管可能

不相同的)構件。為了簡潔起見，具有先前描述的功能的參照編號或特徵可以結合或可以不結合其中它們出現的其他附圖來描述。

【0030】 圖1A是本文公開的感應器的實例的示意圖；

【0031】 圖1B是感應器的實例和將試劑引入至感應器的經修飾的部分雙股的核酸聚合物的流體系統的實例的示意圖；

【0032】 圖2是本文公開的經標記的核苷酸的實例的示意圖；

【0033】 圖3A至3D是不同實例的經標記的核苷酸的截面示意圖，所述不同實例的經標記的核苷酸包括與在經修飾的部分雙股的核酸聚合物的缺口處暴露的核苷酸鹼基締合的不同開關股；

【0034】 圖4是本文公開的包括流體槽的感應系統的實例和感應器的實例的示意性透視圖；

【0035】 圖5是感應系統的實例的示意圖；以及

【0036】 圖6是本文公開的方法的實例的流程圖。

【實施方式】

【0037】 本文公開了電子/電感應器(electronic/electrical sensor)，其可以用於核酸定序程序中的單分子偵測。所述感應器包括電附接至兩個電極的可調整導電通道。可調整導電通道包括經修飾的部分雙股的核酸聚合物(在本文中被稱為經修飾的「dsNA」)，並且因此可以被稱為導電分子奈米線(conductive molecular nanowire)。經修飾的dsNA的一條多核苷酸鏈(chain)或股(strand)具有其中核苷酸鹼基被暴露的缺口。多核苷酸鏈或股中的另一條從一個電極延伸至另一個電極，並且因此，即使當缺口處的核苷酸鹼基被暴露(並且不進行單分子偵測)時，可調整導電通道也提供兩個電極之間的導電路徑(conduction path)。缺口處的核苷酸鹼基能夠與開關股締合，該開關股具有與缺口處的核苷酸鹼基互補的至少

一些核苷酸鹼基。當開關股在缺口處締合時，導電路徑增加，並且導電通道的電導被調整。如此，當複數個核苷酸鹼基在缺口處暴露時，可調整導電通道表現出第一電導；並且當缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些與互補核苷酸鹼基締合時，可調整導電通道表現出不同於第一電導的第二電導。在實例中，當缺口處的核苷酸鹼基被暴露時，可調整導電通道的電導率(conductivity)是相對低的。相比之下，當開關股在缺口處締合時，可調整導電通道的電導率 改變(例如，提高或降低)，在一些實例中，改變依數量級計(by orders of magnitude)。

【0038】 開關股可以是經標記的核苷酸的一部分，該經標記的核苷酸包括連接至開關股的特定核苷酸。當特定核苷酸在核酸定序程序期間被併入新生股中時，開關在缺口處締合，這導致可調整導電通道的電導率變化。由於核苷酸和開關股是彼此特異性的，與開關相關的電導率變化同樣與核苷酸相關。如此，電導率的變化可以用於鑑定正被併入新生股中的核苷酸鹼基。

【0039】 現在參考圖1A，描繪感應器10的實例。實例感應器10是電/電子感應器。感應器10包括其間具有空間的兩個電極12、14，以及附接至兩個電極12、14的可調整導電通道16。可調整導電通道包括電連接至兩個電極12、14並且橋接兩個電極12、14之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物(即，經修飾的dsNA) 16'，該經修飾的dsNA 16'包括部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈18中的缺口22；以及在第一多核苷酸鏈18中的缺口22處暴露的第二多核苷酸鏈20的複數個核苷酸鹼基24。

【0040】 電極12、14與經修飾的dsNA 16'/可調整導電通道16電連通(electrical communication)，並且因此當感應器10運行時，在電極12、14之間存在恒定的導電路徑。如提及的，該導電路徑是可通過在缺口22處的開關股的締合來調整的。

【0041】 可以使用可以化學和電附接至經修飾的dsNA 16'的任何合適的

電極材料。合適的電極材料的實例包括金、鉑、碳、銻錫氧化物等。

【0042】 經修飾的dsNA 16'是核酸聚合物，其包括部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20。「部分鍵合在一起」意指兩條鏈18、20的核苷酸鹼基中的一些彼此氫鍵鍵合(hydrogen bonded)以形成雙螺旋，但鏈中的一條鏈18具有缺口22，缺口22沒有任何核苷酸。在一條鏈18中的缺口22處，另一條鏈20的核苷酸鹼基被暴露。「暴露」意指這些核苷酸的鹼基不與另一個核苷酸鍵合，並且因此可用於與互補核苷酸結合、雜合或以其他方式締合。

【0043】 兩條多核苷酸鏈18、20的核苷酸可以是天然核苷酸。天然核苷酸包括含氮雜環鹼基、糖和一個或更多個磷酸基團。兩條多核苷酸鏈18、20的天然核苷酸的實例包括核糖核苷酸或去氧核糖核苷酸。在核糖核苷酸中，糖是核糖，並且在去氧核糖核苷酸中，糖是去氧核糖，即，缺少存在於核糖中的2'位置處的羥基基團的糖。在實例中，核苷酸呈多磷酸酯(polyphosphate)形式，因為它包括若干個磷酸基團(例如，三磷酸酯(tri-phosphate)(即， γ 磷酸酯(gamma phosphate))、四磷酸酯(tetra-phosphate)、五磷酸酯(penta-phosphate)、六磷酸酯(hexa-phosphate)(如圖5所示)等)。雜環鹼基(即，核鹼基)可以是嘌呤鹼基或嘧啶鹼基或任何其他核鹼基類似物。嘌呤鹼基包括腺嘌呤(A)和鳥嘌呤(G)及其經修飾的衍生物或類似物。嘧啶鹼基包括胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)及其經修飾的衍生物或類似物。去氧核糖的C-1原子鍵合至嘧啶的N-1或嘌呤的N-9。多核苷酸鏈18、20也可以包括任何核酸類似物。核酸類似物可以具有改變的磷酸骨架、糖或核鹼基中的任一種。核酸類似物的實例包括，例如，通用鹼基(universal base)或磷酸-糖(phosphate-sugar)骨架類似物，諸如肽核酸(PNA)。

【0044】 如本文提及的，第一多核苷酸鏈18具有沒有核苷酸的缺口22。缺口22可以位於沿著鏈18的任何位置，例如，在鏈18的中心處或在鏈18的中心附近、在鏈18的任一個末端、在鏈18的中心和一個末端之間等。如此，在一些實

例中，第一多核苷酸鏈18包括被缺口22隔開的兩條較短的鏈。在其他實例中(例如，當缺口22在鏈18的任一個末端時)，第一多核苷酸鏈18是單個連續的鏈。在仍其他實例中，第一多核苷酸鏈18可以具有沿著聚合物骨架的多個缺口22。缺口22可以具有比dsNA 16'的總長度短的任何長度。在實例中，各個缺口22的長度在從約5 nm至約60 nm的範圍內。在另一個實例中，各個缺口22的長度在從約10 nm至約50 nm的範圍內。在仍另一個實例中，各個缺口22的長度在從約20 nm至約40 nm的範圍內。雖然缺口22的長度作為公制單位(metric unit)列出，但應理解，缺口長度也可以根據能夠配合至缺口22中的核苷酸的數量或在缺口22處暴露的第二聚合物鏈20的核苷酸鹼基的數量來定義。第一多核苷酸鏈18中的缺口22降低了經修飾的dsNA 16'的電導率。

【0045】 在第一多核苷酸鏈18中的缺口22處，第二聚合物鏈20的複數個核苷酸被暴露。特別地，這些核苷酸的鹼基24被暴露。被暴露的鹼基24可以都是相同的鹼基，或可以是不同的鹼基的組合。在實例中，被暴露的鹼基24中的至少一個是鳥嘌呤(G)。在該實例中，其他被暴露的鹼基24可以是腺嘌呤(A)、胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和/或尿嘧啶(U)中的任一種或它們的任何組合。在另一個實例中，被暴露的鹼基24中的各者是鳥嘌呤(G)。可以期望的是，在缺口22處包括暴露的連續若干個鳥嘌呤(G)鹼基，因為鳥嘌呤(G)鹼基比其他鹼基更好地導電。

【0046】 兩條部分鍵合的多核苷酸鏈具有相對的末端，並且連接子可以附接至相對的末端中的各者。在本文公開的實例中，i)連接子分別將第一多核苷酸鏈18的各末端附接至兩個電極12、14中各自的一個；或ii)連接子分別將第二多核苷酸鏈的各末端附接至兩個電極中各自的一個；或iii) i)和ii)兩者。雖然圖1示出了第二多核苷酸鏈20通過連接子26鍵合至電極12、14，但應理解，第一多核苷酸鏈18或兩條鏈18、20可以通過各自的連接子26鍵合至電極12、14。如此，第一和/或第二多核苷酸鏈18、20的各自的5'和3'末端可以具有附接至其的連接子

26。連接子26將經修飾的dsNA 16'電連接至電極12、14。連接子26也可以能夠化學鍵合至各自的電極12、14，從而將經修飾的dsNA 16'橋接在電極12、14之間。因此，連接子26可以取決於電極材料。作為實例，硫醇鹽(thiolate)或胺連接子可以附接至金電極，硫醇連接子可以附接至鉑電極，並且矽烷連接子(例如，疊氮基矽烷)可以附接至ITO電極。取決於連接子和電極材料，各別的連接子26與電極12、14中的一個的附接可以通過共價鍵合、配位鍵合或另一種化學或物理鍵進行。連接子26也是導電的，使得當經修飾的dsNA 16'附接至電極12、14中的每一個時，在電極12、14之間建立導電路徑。

【0047】 本文公開的感應器10的任何實例可以包括附接至兩個電極12、14的複數個其他可調整導電通道16，所述其他可調整導電通道16中的各者包括各自的電連接至兩個電極12、14並且橋接兩個電極12、14之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物16'。換言之，感應器10可以包括兩個或更多個部分雙股的核酸聚合物16'，其中各個經修飾的dsNA 16'電連接至兩個電極12、14。多個通道16相對容易製造(通過允許多個經修飾的dsNA 16'鏈附接)，並且提供了開關股可以與其締合的若干個缺口22。利用多個通道16，基礎信號(例如，當沒有開關股與缺口22締合時)更高，並且當相應的開關股與多個可調整導電通道16締合時，偵測到的信號可以被增強。

【0048】 雖然在圖1A中未示出，但感應器10還可以包括電極12、14被放置在其上的基板或支撐體。支撐體/基板13的實例在圖1B中示出。支撐體/基板13可以是電極12、14可以位於其上的任何固體表面。可以使用任何不導電的(non-conductive)或半導電的(semi-conductive)固體表面。固體表面也可以是單分子定序操作中使用的液體、試劑等不可滲透的和對單分子定序操作中使用的液體、試劑等是惰性的。合適的支撐體/基板13的一些實例包括環氧矽氧烷(epoxy siloxane)、玻璃和改性的或功能化的玻璃、塑料(包括丙烯酸樹脂(acrylics)、聚苯

乙烯以及苯乙烯和其他材料的共聚物、聚丙烯、聚乙烯、聚丁烯、聚氨酯、聚四氟乙烯(諸如來自 Chemours 的 TEFLON®)、環烯烴/環烯烴聚合物(cyclic olefins/cyclo-olefin polymers)(COP) (諸如來自 Zeon 的 ZEONOR®)、聚醯亞胺等)、尼龍、陶瓷/陶瓷氧化物、二氧化矽(silica)、熔融二氧化矽(fused silica)或基於二氧化矽的材料(silica-based materials)、矽酸鋁、矽和改性的矽(例如，硼摻雜的p+矽)、氮化矽(Si₃N₄)、氧化矽(silicon oxide)(SiO₂)、五氧化鉬(TaO₅)或其他鉬氧化物(TaO_x)、氧化鈣(HaO₂)、無機玻璃或類似物。支撐體或基板13也可以是在表面處具有二氧化矽(silicon dioxide)或鉬氧化物或另一種陶瓷氧化物的塗層的玻璃或矽。

【0049】 同樣，雖然在圖1A中未示出，但感應器10還可以包括可以偵測感應器10的電反應的偵測器。偵測器15的實例在圖1B、圖4和圖5中示出。在實例中，偵測器15是電流計。如將參考圖5更詳細描述的，當開關股28 (在圖2中示出)與缺口22處的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些核苷酸鹼基締合時，經修飾的dsNA 16' (因而連同可調整導電通道16)的電導率可以提高，所述開關股28包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些核苷酸鹼基互補的鹼基。

【0050】 如圖1B所示，感應器10還可以包括將試劑引入至可調整導電通道16的流體系統17。該流體系統17可以是將試劑遞送至dsNA 16'或能夠使試劑容納在鄰近dsNA 16'處的任何流體裝置。如圖1B所示，流體系統17可以是流體槽蓋(flow cell lid)，該流體槽蓋可以附接至支撐體/基板13並且可以從支撐體/基板13上移除。該流體系統17的實例包括入口19，試劑可以通過該入口19被引入。該流體系統的壁將試劑維持在鄰近dsNA 16'處。作為另一個實例(未示出)，流體系統17可以是可以用於將試劑遞送至可調整導電通道16/dsNA 16'的移液管(或其他遞送裝置)。在該實例中，支撐體/基板13可以具有與可調整導電通道

16/dsNA 16'相鄰的溝槽，該溝槽可以接收試劑並且能夠使試劑接觸可調整導電通道16/dsNA 16'。雖然已經提供了一些實例流體系統，但應理解，感應器10可以包括可以將試劑遞送至可調整導電通道16/dsNA 16'，和/或能夠使試劑被容納在鄰近可調整導電通道16/dsNA 16'處的任何流體系統17。

【0051】 本文公開的感應器10可以能夠實現單分子靈敏度。此外，當以陣列佈置時(即，放置在基板/支撐體13上的若干個感應器10)，可以使用非常小的感應器間距離，使得密度(即，感應器/面積)可以非常高。

【0052】 為了形成感應器10，可以使用任何合適的方法。在實例中，可以合成經修飾的dsNA 16'，並且然後可以將經修飾的dsNA 16'附接至電極12、14，以在兩個電極12、14之間的空間中形成可調整導電通道16。

【0053】 經修飾的dsNA 16'可以通過以下來製備：合成第二多核苷酸鏈20，並且然後將第二多核苷酸鏈20與將在適當的位置附接至第二多核苷酸鏈20的互補鏈混合。然後可以使混合物退火以引發附接。在實例中，兩條互補鏈可以被附接至第二多核苷酸鏈20的各自的部分，使得缺口22在所得的經修飾的dsNA 16'的兩個末端之間的某處形成。在另一個實例中，比第二多核苷酸鏈20短的一條互補鏈可以被附接至第二多核苷酸鏈20的一部分，使得缺口22在所得的經修飾的dsNA 16'的一個末端處形成。應理解，可以選擇第二多核苷酸鏈20和附接以形成第一多核苷酸鏈18的互補鏈，以控制缺口22的長度和在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24。

【0054】 然後經修飾的dsNA 16'可以被附接至電極12、14。連接子26可以使用任何合適的技術被附接至經修飾的dsNA 16'，並且然後連接子26可以被附接至電極12、14。在實例中，經硫醇修飾的DNA鹼基可以在鏈18、20的3'和5'末端處被共軛。在實例中，通過將電極12、14暴露在經修飾的dsNA 16'的溶液中持續合適的時間，隨後用合適的緩衝液沖洗以除去未結合的經修飾的dsNA 16'，經修

飾的dsNA 16'可以被固定在電極12、14上。

【0055】 在製造感應器10的方法中，電極12、14也可以被電連接至偵測器15。

【0056】 在一些實例中，感應器10可以被預先組裝。

【0057】 在其他實例中，感應器構件可以是套組的一部分，並且套組構件可以被用於組裝感應器10。套組的實例包括電子構件和聚合物溶液。電子構件包括支撐體13和可操作地設置在支撐體上並且由空間隔開的兩個電極12、14。「可操作地設置」意指電極12、14可以被連接至使它們的操作能夠進行(例如，一旦被連接到偵測器15和電源)的電子電路。電子電路可以是電可連接至偵測器15和電源的。聚合物溶液包括液體載體和液體載體中的經修飾的dsNA 16'，其中經修飾的dsNA 16'是本文描述的任何實例。如本文描述的，經修飾的dsNA 16'包括部分鍵合在一起並且具有相對的末端的兩條多核苷酸鏈18、20。經修飾的dsNA 16'可以具有在相對的末端中的各者處附接至一股或兩股18和/或20的連接子26。在實例中，經修飾的dsNA 16'以毫莫耳至莫耳濃度在離子鹽緩衝液溶液諸如鹽水檸檬酸鹽中。

【0058】 當使用套組時，使用者可以將聚合物溶液置於電子構件上，允許聚合物溶液維持在電子構件上持續合適的時間，以便連接子26附接至各自的電極12、14，並且然後電子構件可以用合適的緩衝液沖洗以除去未結合的經修飾的dsNA 16'。

【0059】 除了包含形成感應器10的構件之外，套組的一些實例還可以包括待與感應器10一起被使用的試劑溶液。試劑溶液包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸參考圖2進行描述。

【0060】 現在參考圖2，描繪了經標記的核苷酸30的實例，所述經標記的核苷酸30包括上文提及的開關股28。經標記的核苷酸30包括核苷酸32，附接至

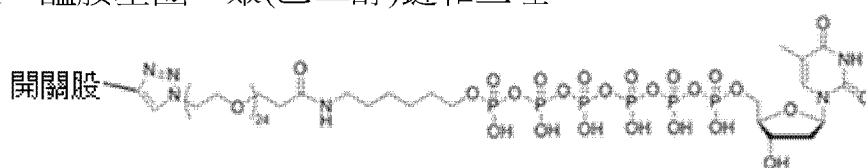
核苷酸32的磷酸基團的連接分子34，和附接至連接分子34的開關股28，該開關股28包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在感應器10的缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些互補的鹼基36。經標記的核苷酸30可以被認為是非天然的或合成的核苷酸，因為它在結構上或化學上不同於天然核苷酸。

【0061】 經標記的核苷酸30的核苷酸32可以是天然核苷酸。天然核苷酸包括含氮雜環鹼基、糖和三個或更多個磷酸基團。天然核苷酸的實例包括，例如核糖核苷酸或去氧核糖核苷酸。如上文提及的，在核糖核苷酸中，糖是核糖，並且在去氧核糖核苷酸中，糖是去氧核糖。在實例中，核苷酸32呈多磷酸酯形式，因為它包括若干個磷酸基團(例如，三磷酸酯、四磷酸酯、五磷酸酯、六磷酸酯等)。雜環鹼基(即，核鹼基)可以是嘌呤鹼基(例如，腺嘌呤(A)或鳥嘌呤(G))或嘧啶鹼基(例如，胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U))。

【0062】 經標記的核苷酸30進一步包括連接分子34。連接分子34可以是任何長鏈分子，該長鏈分子可以在一個末端化學鍵合至核苷酸32的磷酸基團，並且可以在另一個末端化學鍵合至開關股28。也可以選擇連接分子34，使得它將不與本文公開的系統40、40' (參見圖4和5)中使用的聚合酶38相互作用。選擇連接分子34使得它足夠長，以允許開關股28與在電感應器10的缺口22處暴露的核苷酸鹼基24締合，同時，例如，核苷酸32由聚合酶38撐住。

【0063】 作為實例，連接分子34可以包括烷基鏈、聚(乙二醇)鏈、醯胺基(amido)基團、磷酸基團、雜環諸如三唑、核苷酸或其組合。烷基鏈的實例可以包括至少6個碳原子，並且聚(乙二醇)鏈的實例可以包括至少3個乙二醇單元。

【0064】 以下實例說明了經標記的核苷酸30的實例，其中連接分子34包括烷基鏈、醯胺基團、聚(乙二醇)鏈和三唑：



核苷酸鹼基24完全互補。作為實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-G-G-G-G-G，並且開關股28A可以是C-C-C-C-C-C。作為另一個實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-A-G-T-G-C-G-G，並且開關股28A可以是C-T-C-A-C-G-C-C。在圖3A中示出的實例中，任何合適的序列可以被用於開關股28A，只要該序列具有與在缺口22處暴露的鹼基24相同的鹼基數量並且與在缺口22處暴露的鹼基24完全互補。包括完全互補的開關股28A的經標記的核苷酸30A的實例在圖3A中示出。如描繪的，經標記的核苷酸30A的開關股28A本身與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24締合。更具體地，在該實例中，開關股28A中的核苷酸鹼基36中的各者暫時地並且至少部分地與其在多核苷酸鏈18中的缺口22處暴露的(多核苷酸鏈20的)互補鹼基24雜合。在一些實例中，雜合是不完全的，並且在其他實例中，雜合是完全的。為了實現部分或完全雜合，互補鹼基之間的相互作用的解鏈溫度可以被調節。不同的開關股28A和核苷酸鹼基24之間的不同程度的雜合使得能夠用不同的開關股28A得到不同的時間特徵(time signature)。當被併入時，開關股28A使經修飾的dsNA 16'的開關閉合，這顯著改變(例如，提高)dsNA 16'的電導率，調整通道16，並且導致可偵測的變化。

【0068】 在另一個實例中，開關股28中的鹼基36與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24不完全互補；而是，開關股28B包括具有錯配的鹼基42的至少一個核苷酸，該錯配的鹼基42與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的相應的鹼基(顯示為24')不互補，如圖3B所示。換言之，錯配的鹼基42與在缺口22處暴露的相應的核苷酸鹼基24'不互補。作為實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-G-G-G-G-G，並且開關股28B可以是C-C-C-A-C-C-C。在該實例中，開關股28B的腺嘌呤是錯配的鹼基42，因為它與在多核苷酸鏈20的缺口22處暴露的相應的鳥嘌呤不互補。作為另一個實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-A-G-T-G-C-G-G，並且開關股28B可以是C-C-C-A-C-G-C-C。在該實

例中，開關股28B的第二胞嘧啶是錯配的鹼基42，因為它與在多核苷酸鏈20的缺口22處暴露的相應的腺嘌呤不互補。在圖3B中示出的實例中，任何合適的序列可以被用於開關股28B，只要該序列具有與在缺口22處暴露的鹼基24相同的鹼基數量，與在缺口22處暴露的鹼基24部分互補，並且包括與在缺口22處暴露的鹼基24錯配的至少一個鹼基。如描繪的，經標記的核苷酸30B的開關股28B本身與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24締合。更具體地，在該實例中，雖然開關股28B中的核苷酸鹼基36中的一些暫時與相應的互補鹼基24雜合，但錯配的鹼基42和多核苷酸鏈20中的相應的核苷酸鹼基24'保持未結合。當被併入時，開關股28B使經修飾的dsNA 16'的開關實質上閉合(但由於錯配的鹼基42未使開關完全閉合)，這顯著改變(例如，提高) dsNA 16'的電導率，調整通道16，並且導致可偵測的變化。應理解，在一些實例中，由於錯配的鹼基42，用開關股28B的電導率提高可能不如用開關股28A觀察到的提高程度大。

【0069】 在又另一個實例中，開關股28中的核苷酸股比在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24少至少一個核苷酸。該開關股28C的實例在圖3C中示出。開關股28C中的核苷酸與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24中的一些互補；然而，在開關股28C在缺口22處締合之後，因為較短的開關股長度(由於缺失的鹼基)，核苷酸鹼基24'中的至少一個保持未結合。作為實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-G-G-G-G-G-G，並且開關股28C可以是C-C-C-C-C。在該實例中，開關股28C缺失兩個鹼基，或比在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24 (包括24')的總數短兩個核苷酸。作為另一個實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-A-G-T-G-C-G-G，並且開關股28C可以是T-C-A-C-G-C-C。在該實例中，開關股28C缺失一個鹼基，或比在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24 (包括24')的總數短一個核苷酸。在圖3C中示出的實例中，任何合適的序列可以被用於開關股28C，只要該序列具有少於在缺口22處暴露的鹼基24的總數並且與在缺口22處暴露的

鹼基24中的一些互補。如圖3C中描繪的，當經標記的核苷酸30C的開關股28C本身在缺口22處締合時，i)開關股28C中的核苷酸鹼基36暫時地並且至少部分地與各自的互補鹼基24雜合，並且ii)因為開關股28C缺失鹼基，多核苷酸鏈20中的核苷酸鹼基24”中的一些保持未結合。當被併入時，開關股28C使經修飾的dsNA 16’的開關實質上閉合(但由於缺失鹼基未使開關完全閉合)，這顯著改變(例如，提高)經修飾的dsNA 16’(以及通道16)的電導率，並且導致可偵測的變化。應理解，在一些實例中，由於缺失的鹼基，用開關股28C的電導率提高可能不如用開關股28A觀察到的提高程度大。

【0070】 在仍然另一個實例中，開關股28中的核苷酸股具有比在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24高的數量的核苷酸，並且當在缺口22處締合時，開關股28的一部分形成莖環。該開關股28D的實例在圖3D中示出。開關股28D中的核苷酸中的一些與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24互補；然而，在開關股28D在缺口22處締合之後，開關股28D的非互補核苷酸36’保持未結合並且形成莖環44。作為實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是G-G-G-G-G-G-G-G-G，並且開關股28D可以是C-C-C-C。在該實例中，開關股28D包括形成莖環44的九個另外的鹼基36’。作為另一個實例，在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24可以是A-G-T-T-T-T-T-G，並且開關股28D可以是T-C-C。在該實例中，開關股28D包括形成莖環44的六個另外的鹼基36’。在圖3D中示出的實例中，任何合適的序列可以被用於開關股28D，只要該序列具有多於在缺口22處暴露的鹼基24的總數並且包括與在缺口22處暴露的鹼基24互補的至少一些核苷酸鹼基。莖環44的任一個末端處的核苷酸鹼基可以與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24完全互補，可以包括一個或更多個非互補鹼基，可以具有缺失的鹼基，或可以包括互補鹼基、非互補鹼基和缺失的鹼基的組合。如圖3D中描繪的，當經標記的核苷酸30D的開關股28D本身在缺口22處締合時，i)開關股28D中的核苷酸鹼基36中的一些暫時

地並且至少部分地與各自的互補鹼基24雜合，並且ii)開關股28D中的非互補核苷酸鹼基36'中的一些保持未結合並且形成莖環44。當被併入時，開關股28D使經修飾的dsNA 16'的開關閉合，這顯著改變(例如，提高)經修飾的dsNA 16'的電導率，調整通道16，並且導致可偵測的變化。電子流中的一些將在任一條鏈18、20上傳輸(例如，當兩條鏈18、20都與電極12、14結合時)，因此增加莖環44與增加更大的並聯電阻器相當。

【0071】 本文公開的經標記的核苷酸30的任何實例(例如，30A、30B、30C、30D)可以在套組的實例的試劑溶液中使用，和/或在感應系統40、40'中使用，感應系統40、40'的實例在圖4和圖5中示出。系統40、40'中的各者還包括本文公開的感應器10的實例。

【0072】 圖4中示出的感應系統40的實例包括流體槽41和整合至流體槽41中的電子感應器10。電子感應器10包括兩個電極12、14；橋接兩個電極12、14的經修飾的部分雙股的核酸聚合物16，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物16包括(經由氫鍵鍵合)部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20，其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈18中的缺口22；和在缺口22處暴露的第二多核苷酸鏈20的複數個核苷酸鹼基24。流體槽41是包含感應器10的容器(vessel)。應理解，其他容器，諸如孔、管、通道、比色管(cuvette)、培養皿(Petri plate)、瓶或類似物可以可選擇地包含感應器10。循環過程，諸如核酸定序反應，特別適合流體槽41。

【0073】 實例流體槽41包括基板/支撐體13和直接或間接結合至其或與其一體形成的蓋43。流體槽41可以包括流體入口45和流體出口47，所述流體入口45和流體出口47能夠將大批試劑(bulk reagents)遞送至容納在流體槽41內的一個感應器10或感應器10的陣列。

【0074】 感應系統40還可以包括試劑遞送系統49，所述試劑遞送系統49選擇性地將試劑引入至流體槽41的輸入端(input)(例如，流體入口45)，經過感應

器10，並且然後引出流體出口47。試劑遞送系統49可以包括可以永久地或可移除地附接至流體入口45的管或其他流體件(fluidics)。試劑遞送系統49可以包括樣品容器51。試劑(包括待被引入至電子感應器10的經標記的核苷酸30)可以被存儲在樣品容器中，或在即將使用之前進行製備並且引入至樣品容器。試劑遞送系統49還可以包括泵或其他合適的設備，以從樣品容器51中取回試劑並將其遞送至流體入口45。在其他實例中，樣品容器51被放置使得試劑可以通過重力流至流體入口45，經過感應器10，並且流出流體出口47。

【0075】 當使用感應系統40時，流體槽41中的感應器10也可以被可操作地連接至偵測器15以偵測感應器10的電導率變化。

【0076】 系統40'的另一個實例在圖5中示出，並且包括電子感應器10，該電子感應器10包括兩個電極12、14；橋接兩個電極12、14的經修飾的部分雙股的核酸聚合物16，該經修飾的部分雙股的核酸聚合物16包括(經由氫鍵鍵合)部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20，其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈18中的缺口22；和在缺口22處暴露的第二多核苷酸鏈20的複數個核苷酸鹼基24；以及待被引入至電子感應器10的分開的試劑，所述試劑包括經標記的核苷酸30，經標記的核苷酸30中的至少一個包括核苷酸32，附接至核苷酸的磷酸基團的連接分子34，附接至連接分子34的開關股28，開關股28包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些互補的鹼基36。在圖5中示出的實例中，多核苷酸鏈18是ACCCGGGGTA-缺口-ATCCG，並且多核苷酸鏈20是TGGGCCCCATCCCCCCTAGGC (SEQ. ID No. 1)。在多核苷酸鏈20中，核苷酸鹼基「CCCCCC」在缺口22處被暴露(至少直到開關股28與其締合)。

【0077】 雖然未示出，但應理解，感應器10可以被放置在容器內或為容器的一部分，該容器諸如流體槽41 (圖4)、管、通道、比色管、培養皿、瓶或類似

物。合適的容器的另一個實例是流體槽。

【0078】 雖然圖5中示出了一個感應器10，但應理解，感應系統40'可以包括放置在基板上的感應器10的陣列。此外，感應系統40'的感應器10可以各自被電連接至各自的偵測器15，所述偵測器15當開關股28在缺口22處締合時偵測來自電感應器10的反應。

【0079】 感應系統40'的一些實例進一步包括錨定至經修飾的dsNA 16'的聚合酶38和待被引入至感應器10的模板多核苷酸鏈48。

【0080】 如圖5所示，感應器10包括聚合酶38。可以使用可以催化向新生股一次添加一個核苷酸的任何DNA聚合酶。DNA聚合酶可以來自以下家族的任一個：A、B、C、D、X、Y和RT。來自家族A的具體實例包括T7 DNA聚合酶、Pol I、Pol γ 、Pol Θ 或Pol ν ；或來自家族B的具體實例包括Pol II、Pol B、Pol ζ 、Pol α 、Pol δ 和Pol ϵ ；或來自家族C的具體實例包括Pol III；或來自家族D的具體實例包括Pol D (DP1/DP2異二聚體)；或來自家族X的具體實例包括Pol β 、Pol σ 、Pol λ 、Pol μ 和末端去氧核苷酸轉移酶(Terminal deoxynucleotidyl transferase)；或來自家族Y的具體實例包括Pol ι 、Pol κ 、Pol η 、Pol IV和Pol V；或來自家族RT的具體實例包括端粒酶。

【0081】 如圖5所示，聚合酶38用繫鏈46被固定至經修飾的dsNA 16'。在另一個實例中，聚合酶38用繫鏈46被固定至基板。繫鏈46被用作聚合酶38的錨，並且可以期望的是，繫鏈46是不導電的。當聚合酶38被附接至經修飾的dsNA 16'時，不導電的繫鏈可以是特別期望的。合適的繫鏈46的實例包括聚乙二醇(PEG)，所述聚乙二醇(PEG)具有在沿著PEG鏈的某個點處的可裂解的連接(cleavable link)；或可以包括鎳NTA/His標籤化學(Nickel NTA/His tag chemistry)、鏈黴親和素/生物素化學(streptavidin/biotin chemistry)(例如，附接至經修飾的dsNA 16'的鏈黴親和素和附接至聚合酶38的生物素)、DNA-DNA雜合、DNA-PNA

雜合、羧基矽烷1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺(EDC)，或可以將聚合酶附接至經修飾的dsNA 16'或附接至基板表面的任何其他合適的连接子。在一些實例中，繫鏈46將聚合酶38保持在離經修飾的dsNA 16'至少10 nm遠處。這可以是期望的，例如，使得聚合酶38的保形變化(conformal change)、聚合酶38的電荷和/或由聚合酶38保持的靶/模板多核苷酸鏈48的電荷不干擾經修飾的dsNA 16'的感應操作。

【0082】 在實例中，經修飾的dsNA 16'可以通過繫鏈46被初始附接至聚合酶38，所述繫鏈46包括可裂解的连接。這種組合可以被引入至電極12、14，以將經修飾的dsNA 16'的相對的末端附接至電極12、14，並且經由例如鎳NTA/His標籤化學將聚合酶38附接至基板表面。在該實例中，可裂解的连接可以被裂解，以使聚合酶38從經修飾的dsNA 16'脫離。在該實例中，聚合酶38鄰近經修飾的dsNA 16'，但實際上不接觸經修飾的dsNA 16'。應理解，當提供化學過程以將聚合酶38保持例如在基板表面上和鄰近感應器10處(within proximity to the sensor 10)時，繫鏈46可以被裂解。

【0083】 如本文提及的，系統40、40'的實例還可以包括待被引入至感應器10的模板多核苷酸鏈48。

【0084】 模板多核苷酸鏈48可以是待被定序的任何樣品，並且可以由DNA、RNA或其類似物(例如，肽核酸)構成。模板(或靶)多核苷酸鏈48的來源可以是基因體DNA、信使RNA或來自天然來源的其他核酸。在一些情況中，源自這樣的來源的模板多核苷酸鏈48可以在本文的方法或系統40、40'中使用之前被擴增。可以使用多種已知的擴增技術中的任一種，包括但不限於聚合酶鏈鎖反應(PCR)、滾環擴增(RCA)、多重置換擴增(MDA)或隨機引子擴增(RPA)。應理解，在本文列出的方法或系統40、40'中使用之前的模板多核苷酸鏈48的擴增是視需要選用的。因此，在一些實例中，使用之前，模板多核苷酸鏈48將不被擴增。

模板/靶多核苷酸鏈48可以任選地源自合成的文庫(library)。合成的核酸可以具有天然的DNA或RNA組成或可以是其類似物。

【0085】 模板多核苷酸鏈48可以源自其的生物樣品包括例如來自以下的那些生物樣品：哺乳動物諸如齧齒類動物、小鼠、大鼠、兔、天竺鼠、有蹄類動物(ungulate)、馬、綿羊、豬、山羊、牛、貓、狗、靈長類動物、人類或非人類靈長類動物；植物諸如擬南芥(*Arabidopsis thaliana*)、玉米、高粱、燕麥、小麥、稻、油菜或大豆；藻類諸如萊茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)；線蟲諸如秀麗隱杆線蟲(*Caenorhabditis elegans*)；昆蟲諸如黑腹果蠅(*Drosophila melanogaster*)、蚊子、果蠅、蜜蜂或蜘蛛；魚諸如斑馬魚；爬蟲類動物；兩棲類動物諸如蛙類動物或非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)；盤基網柄菌(*dictyostelium discoideum*)；真菌諸如卡氏肺孢子蟲(*pneumocystis carinii*)、紅鰭東方鮪(*Takifugu rubripes*)、酵母、釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)或粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)；或惡性瘧原蟲(*plasmodium falciparum*)。模板多核苷酸鏈48還可以源自原核生物諸如細菌、大腸桿菌(*Escherichia coli*)、葡萄球菌(*staphylococci*)或肺炎黴漿菌(*mycoplasma pneumoniae*)；古細菌；病毒諸如C型肝炎病毒、伊波拉病毒或人類免疫缺陷病毒；或類病毒。模板多核苷酸鏈48可以源自以上生物體的均質培養物或族群，或可選地源自若干不同生物體(例如群落(*community*)或生態系統(*ecosystem*)中的若干不同生物體)的集合體。

【0086】 此外，模板多核苷酸鏈48可以不源自天然來源，而是可以使用已知的技術進行合成。例如，基因表現探針或基因分型探針可以被合成並且在本文列出的實例中被使用。

【0087】 在一些實例中，模板多核苷酸鏈48可以作為一個或更多個較大核酸的片段被獲得。片段化可以使用本領域中已知的多種技術中的任一種進行，所述技術包括例如霧化(*nebulization*)、音波處理、化學裂解、酶促裂解或物理剪

切。片段化還可以由於使用特定擴增技術而產生，所述特定擴增技術通過僅拷貝較大核酸鏈的一部分產生擴增子。例如，PCR擴增產生這樣的片段，所述片段具有由原始模板上的在擴增期間側翼引子雜合的位點之間的核苷酸序列的長度定義的尺寸。模板多核苷酸鏈48的長度可以根據核苷酸數量計或根據公制長度(例如，奈米)計。

【0088】 模板/靶多核苷酸鏈48的群體或其擴增子可以具有對於本文列出的方法或系統40、40'的特定應用是期望的或適合的平均股長度。例如，平均股長度可以小於約100,000個核苷酸、約50,000個核苷酸、約10,000個核苷酸、約5,000個核苷酸、約1,000個核苷酸、約500個核苷酸、約100個核苷酸或約50個核苷酸。可選擇地或另外地，平均鏈長度可以大於約10個核苷酸、約50個核苷酸、約100個核苷酸、約500個核苷酸、約1,000個核苷酸、約5,000個核苷酸、約10,000個核苷酸、約50,000個核苷酸或約100,000個核苷酸。靶多核苷酸鏈48的群體或其擴增子的平均鏈長度可以在上文列出的最大值和最小值之間的範圍內。

【0089】 在一些情況中，模板/靶多核苷酸鏈48的群體可以在使得其成員具有最大長度的條件下被產生或可以以其他方式被配置以使得其成員具有最大長度。例如，成員的最大長度可以小於約100,000個核苷酸、約50,000個核苷酸、約10,000個核苷酸、約5,000個核苷酸、約1,000個核苷酸、約500個核苷酸、約100個核苷酸或約50個核苷酸。可選擇地或另外地，模板多核苷酸鏈48的群體或其擴增子可以在使得其成員具有最小長度的條件下產生或可以以其他方式被配置以使得其成員具有最小長度。例如，成員的最小長度可以大於約10個核苷酸、約50個核苷酸、約100個核苷酸、約500個核苷酸、約1,000個核苷酸、約5,000個核苷酸、約10,000個核苷酸、約50,000個核苷酸或約100,000個核苷酸。群體中的模板多核苷酸鏈48的最大鏈長度和最小鏈長度可以在上文列出的最大值和最小值之間的範圍內。

【0090】 如圖5所示，待被定序的模板多核苷酸鏈48（例如，單鏈的DNA鏈）在已經連同試劑諸如經標記的核苷酸30一起被引入溶液中之後，結合至聚合酶38。

【0091】 在一些實例中，若干不同的經標記的核苷酸30（例如，分別用dA、dC、dG和dT標記，作為核苷酸32）可以一起在包括感應器10的陣列的系統40、40'中被使用。在一個實例中，使用了四種不同的經標記的核苷酸30，每一種包括不同的核苷酸32和不同的核苷酸特異性開關股28。作為實例，經標記的核苷酸30包括：第一經標記的核苷酸以及第一核苷酸特異性開關股，所述第一經標記的核苷酸包括去氧腺苷多磷酸酯(deoxyadenosine polyphosphate)作為核苷酸；第二經標記的核苷酸以及第二核苷酸特異性開關股，所述第二經標記的核苷酸包括去氧鳥苷多磷酸酯(deoxyguanosine polyphosphate)作為核苷酸，所述第二核苷酸特異性開關股具有不同於第一開關股的序列；第三經標記的核苷酸以及第三核苷酸特異性開關股，所述第三經標記的核苷酸包括去氧胞苷多磷酸酯(deoxycytidine polyphosphate)作為核苷酸，所述第三核苷酸特異性開關股具有不同於第一開關股和第二開關股中的各條的序列；和第四經標記的核苷酸以及第四核苷酸特異性開關股，所述第四經標記的核苷酸包括去氧胸苷多磷酸酯(deoxythymidine polyphosphate)作為核苷酸，所述第四核苷酸特異性開關股具有不同於第一開關股、第二開關股和第三開關股中的各條的序列。如此，在該實例中，第一核苷酸特異性開關股、第二核苷酸特異性開關股、第三核苷酸特異性開關股和第四核苷酸特異性開關股彼此不同。不同的開關股將產生不同的電導率變化(當在互補缺口22處締合時)，這可以被用於鑑定與不同的開關股附接的特定核苷酸。

【0092】 現在參考圖6，描繪了方法的實例。方法100包括將模板多核苷酸鏈48引入至電子感應器10，所述電子感應器10具有聚合酶38，所述聚合酶38被

拴繫至i)橋接兩個電極12、14之間的空間並且電連接至兩個電極12、14的可調整導電通道16，或ii)支撐兩個電極12、14的基板13，該可調整導電通道16包括經修飾的部分雙股的核酸聚合物16'，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物16'包括：部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈18、20；其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈18中的缺口22；和在第一多核苷酸鏈18中的缺口22處暴露的第二多核苷酸鏈20的複數個核苷酸鹼基24(參照編號102)；將包括經標記的核苷酸30的試劑引入至電子感應器10，由此經標記的核苷酸中的一個的核苷酸32與聚合酶38締合，並且經標記的核苷酸30中的一個的核苷酸特異性開關股28與在缺口22處暴露的複數個核苷酸鹼基24中的至少一些締合(參照編號104)；以及對於在缺口22處的締合，偵測電子感應器10的反應。在方法100的整個討論中還將參考圖5。

【0093】 如圖5所示，被引入至感應器10的模板多核苷酸鏈48可以由聚合酶38保持在適當位置，所述聚合酶38被拴繫至感應器10或被拴繫至支撐感應器10的基板表面。圖5中示出的模板多核苷酸鏈48是DNA的模板鏈。模板多核苷酸鏈48可以連同試劑(諸如經標記的核苷酸30)一起被引入生物上穩定的溶液中。生物上穩定的溶液可以是適用於基於聚合酶的併入反應的任何緩衝液，所述基於聚合酶的併入反應諸如聚合酶鏈鎖反應(PCR)或線性擴增。作為實例，生物上穩定的溶液可以包括具有接近7的pH、高於幾毫莫耳的鹽濃度和毫莫耳濃度的 Mg^{2+} 離子的緩衝液。

【0094】 同樣如圖5所示，經標記的核苷酸30可以包括與模板多核苷酸鏈48的靶核酸互補的鹼基。經標記的核苷酸30將部分地由聚合酶38保持在適當位置，該聚合酶38也與模板多核苷酸鏈48結合。

【0095】 經標記的核苷酸30和聚合酶38之間的相互作用以及連接分子34的長度使得開關股28能夠與感應器10的缺口22締合。在實例中，開關股28與缺口22的締合涉及開關股28的至少一部分與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24的雜

合。發生的雜合將部分地取決於所使用的開關股28 (例如, 28A、28B、28C、28D)。可以調節溶液的溫度和/或離子濃度, 以便引發或促進開關股28與在缺口22處暴露的核苷酸鹼基24中的至少一些完全或部分雜合或退火。作為一個實例, 開關股28可以被設計成在室溫(例如, 從約18°C至約22°C)並且在具有50 mM鹽濃度的溶液中在缺口22處部分地或完全地雜合。

【0096】 聚合酶38將開關股28保持在鄰近缺口22處, 從而允許若干次雜合和去雜合事件發生。相比之下, 漂移的隨機股可能將雜合一次, 並且然後漂移開。開關股28可以被保持在鄰近缺口22處, 直到例如使用熔解(melting)或另一種合適的技術將其解離。在一些實例中, 缺口22中的開關股的締合可以長達幾十毫秒或更長。這種相對長的相互作用切換開關為「開啟(ON)」(例如, 通過將電導從較低狀態提高來調整通道16), 並且可以偵測電導率的變化。這種相對長的相互作用不同於溶液中存在的其他經標記的核苷酸30 (即, 隨機的漂移股), 這些其他經標記的核苷酸30可以擴散並且短暫接觸, 但在感應器10處不經歷若干次至少部分雜合和去雜合事件。這些其他經標記的核苷酸30的短暫相互作用可以引起短暫的和/或零星的電導率變化, 並且因此與由被保持在鄰近缺口22處的開關股28導致的電導率變化可區分。

【0097】 當開關股28與暴露的核苷酸鹼基24至少部分地雜合和去雜合若干次時, 感應器10的反應可以指示經標記的核苷酸30的鹼基, 因為開關股28是核苷酸特異性的(即, 針對特定鹼基選擇特定開關股28)。如此, 方法100還可以包括對感應器10的反應與締合的核苷酸特異性開關股28 (即, 已經與聚合酶38和缺口22締合的經標記的核苷酸30)建立關聯, 並且基於核苷酸特異性開關股28, 鑑定締合的經標記的核苷酸30 (即, 已經與聚合酶38和缺口22締合的經標記的核苷酸30)的核苷酸(例如, 鹼基)。

【0098】 締合的經標記的核苷酸30的鹼基將被併入與模板多核苷酸鏈48

雜合的新生股50中。這將繼而破壞經標記的核苷酸30的磷酸基團和新併入的核苷酸鹼基之間的鍵。這使經標記的核苷酸30的剩餘部分與新併入的核苷酸鹼基裂解。

【0099】 由於開關股28可以優選至少部分地雜合並且保持連接在經修飾的dsNA 16'的雙螺旋構型中，方法100還可以包括進行加熱以使核苷酸特異性開關股28與缺口22解離。當合成經標記的核苷酸30時，可以調節開關股28的解鏈溫度，以使「開啟」時間更短或更長，「開啟」時間部分地取決於聚合酶38保持經標記的核苷酸30的核苷酸32的時間有多長。在實例中，解鏈溫度可以被調節以與當經標記的核苷酸30的磷酸基團和新併入的核苷酸鹼基之間的鍵斷裂時感應系統40、40'被操作的溫度符合。這將引起在經標記的核苷酸30被裂解的相同的時間範圍內，開關股28的解離。在另一個實例中，可以期望的是，開關股28的「關閉(OFF)」時間比在併入新生股50期間經標記的核苷酸30由聚合酶38保持的時間短得多。這可以使來自不與聚合酶38締合的開關股28的背景事件最少化。

【0100】 作為裂解和解離的結果，經標記的核苷酸30的剩餘部分自由地從核苷酸鹼基解離並且從感應器10擴散。裂解和解離通過使感應器10的電導率回到經標記的核苷酸30與聚合酶38和缺口22締合之前所處的初始(例如，較低)電導率狀態來再次調整通道16。在感應器10的電導率改變(例如，提高和回到較低狀態)時信號的出現和消失可以分別與核苷酸鹼基向模板核苷酸鏈48的新生股50中的併入以及經標記的核苷酸30的隨後解離相關。

【0101】 在實例方法100中，經標記的核苷酸30中的一個的締合(與聚合酶38和缺口22締合)、反應的偵測、建立關聯和鑑定可以一起被用於聚合酶併入事件的單分子偵測(即，哪個核苷酸已經併入新生股50)。

【0102】 應認識到，前述概念和以下更詳細討論的另外的概念(只要這些概念不會相互不一致)的所有組合被預期作為本文公開的進步性標的之一部分。

特別地，出現在本公開內容的結尾處的所要求保護的標的的所有組合被預期作為本文公開的進步性標的之一部分。還應認識到，本文中明確採用的術語(其也可以出現在通過引用併入的任何公開內容中)應符合與在本文中公開的特定概念最為一致的含義。

【0103】 在整個說明書中對於「一個實例」、「另一個實例」、「實例」等的提及意指結合該實例描述的特定要件(例如，特徵、結構和/或特性)被包括在本文描述的至少一個實例中，並且可以存在於或不存在於其他實例中。此外，應理解，除非上下文另外明確指示，否則針對任何實例的描述的要件可以在各種實例中以任何合適的方式組合。

【0104】 在整個本公開內容(包括申請專利範圍)中使用的術語「實質上」和「約」用於描述和說明諸如由於在處理中的變化(variations)而導致的小波動(fluctuations)。例如，它們可以是指小於或等於 $\pm 5\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 2\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 1\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 0.5\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 0.2\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 0.1\%$ 、諸如小於或等於 $\pm 0.05\%$ 。

【0105】 此外，應理解，本文提供的範圍包括陳述的範圍和在陳述的範圍內的任何值或子範圍，如同它們被明確列舉。例如，由從約10 nm至約50 nm表示的範圍應被解釋為不僅包括從約10 nm至約50 nm的明確列舉的限值，進一步包括單獨的值，諸如約15 nm、22.5 nm、45 nm等，以及子範圍，諸如從約20 nm至約48 nm等。

【0106】 雖然已經詳細描述了若干個實例，但應理解，可以修改公開的實例。因此，前述描述將被認為是非限制性的。

【符號說明】

【0107】

10. 感應器
12. 電極
13. 基板
14. 電極
15. 偵測器
16. 通道
- 16'. 經修飾的dsNA
17. 流體系統
18. 多核苷酸鏈
19. 入口
20. 多核苷酸鏈
22. 缺口
24. 核苷酸鹼基
- 24'. 核苷酸鹼基
- 24''. 核苷酸鹼基
26. 連接子
28. 開關股
- 28A. 開關股
- 28B. 開關股
- 28C. 開關股
- 28D. 開關股
30. 經標記的核苷酸
- 30A. 經標記的核苷酸
- 30B. 經標記的核苷酸

- 30C. 經標記的核苷酸
- 30D. 經標記的核苷酸
- 32. 核苷酸
- 34. 連接分子
- 36. 核苷酸鹼基
- 36'. 核苷酸鹼基
- 38. 聚合酶
- 40. 感應系統
- 40'. 感應系統
- 41. 流體槽
- 42. 錯配的鹼基
- 43. 蓋
- 44. 莖環
- 45. 流體入口
- 46. 繫鏈
- 47. 流體出口
- 48. 模板多核苷酸鏈
- 49. 試劑遞送系統
- 50. 新生股
- 51. 樣品容器
- 100. 方法
- 102. 參照編號
- 104. 參照編號
- 106. 參照編號

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種感應器，其包括：

兩個電極，所述兩個電極之間具有空間；以及

附接至所述兩個電極的可調整導電通道，所述可調整導電通道包括電連接至所述兩個電極並且橋接所述兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：

部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；

其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及

在所述第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【第2項】如請求項1所述的感應器，其中所述缺口具有範圍從約10 nm至約50 nm的長度。

【第3項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其進一步包括附接至所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物的聚合酶。

【第4項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其中：

i) 連接子分別將所述第一多核苷酸鏈的各末端附接至所述兩個電極中各自的一個；或

ii) 連接子分別將所述第二多核苷酸鏈的各末端附接至所述兩個電極中各自的一個；或

iii) i和ii兩者。

【第5項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其中在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一個是鳥嘌呤鹼基。

【第6項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其中在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的每一個是鳥嘌呤鹼基。

【第7項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其進一步包括偵測器，所述偵測器當開關股與所述缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些核苷酸鹼基締合時偵測來自所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物的反應，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些核苷酸鹼基互補的鹼基。

【第8項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其進一步包括：
支撐所述兩個電極的基板；以及
附接至所述基板的聚合酶。

【第9項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其進一步包括將試劑引入至所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物的流體系統。

【第10項】如請求項9所述的感應器，其中所述試劑包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：

核苷酸；

附接至所述核苷酸的磷酸基團的連接分子；以及

附接至所述連接分子的開關股，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【第11項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其進一步包括附接至所述兩個電極的複數個其他可調整導電通道，所述其他可調整導電通道中的各者包括各自的電連接至所述兩個電極並且橋接所述兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物。

【第12項】如請求項1或2中任一項所述的感應器，其中，所述可調整導電通道：

當所述複數個核苷酸鹼基在所述缺口處暴露時表現出第一電導；並且

當所述缺口處的複數個核苷酸鹼基中的至少一些與互補核苷酸鹼基締合時

表現出不同於所述第一電導的第二電導。

【第13項】一種經標記的核苷酸，其包括：

核苷酸；

附接至所述核苷酸的磷酸基團的连接分子；以及

附接至所述连接分子的開關股，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在根據請求項1至12中任一項所述的感應器的缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【第14項】一種套組，其包括：

電子構件（component），所述電子構件包括：

支撐體；以及

可操作地設置在所述支撐體上並且由空間隔開的兩個電極；以及

聚合物溶液，所述聚合物溶液包括：

液體載體；以及

所述液體載體中的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：

部分鍵合在一起並且具有相對的末端（opposed ends）的兩條多核苷酸鏈；

附接至所述相對的末端中的各者的连接子，各個连接子附接至所述兩個電極中各自的一個；

其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及

在所述第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基；

當各個连接子附接至所述兩個電極中各自的一個時，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物在所述兩個電極之間的空間中形成可調整導電通道。

【第15項】如請求項14所述的套組，其進一步包括試劑溶液，所述試劑溶液包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：

核苷酸；

附接至所述核苷酸的磷酸基團的连接分子；以及

附接至所述连接分子的開關股，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【第16項】如請求項15所述的套組，其中所述開關股中的鹼基與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基完全互補。

【第17項】如請求項15所述的套組，其中所述開關股進一步包括具有錯配的鹼基的至少一個核苷酸，所述錯配的鹼基與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的相應的鹼基不互補。

【第18項】如請求項15所述的套組，其中所述開關股中的核苷酸股比在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基少至少一個核苷酸。

【第19項】如請求項15所述的套組，其中所述開關股中的核苷酸股具有比在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基高的數量的核苷酸，並且其中當在所述缺口處締合時，所述開關股的一部分形成莖環。

【第20項】如請求項15所述的套組，其中：

所述開關股中的核苷酸股具有比在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基高的數量的核苷酸；

當在所述缺口處締合時，所述開關股的一部分形成莖環；並且

所述開關股的另外一部分與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基完全互補，或包括具有錯配的鹼基的至少一個核苷酸，所述錯配的鹼基與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的相應的鹼基不互補。

【第21項】一種感應系統，其包括：

流體槽；以及

整合至所述流體槽中的電子感應器，所述電子感應器包括：

兩個電極，所述兩個電極之間具有空間；

附接至所述兩個電極的可調整導電通道，所述可調整導電通道包括電連接至所述兩個電極並且橋接所述兩個電極之間的空間的經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：

部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；

其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及

在所述第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基。

【第22項】如請求項21所述的感應系統，其進一步包括將試劑選擇性地引入至所述流體槽的輸入端的試劑遞送系統。

【第23項】如請求項22所述的感應系統，其中所述試劑在樣品容器中，並且所述試劑包括經標記的核苷酸，所述經標記的核苷酸中的至少一個包括：

核苷酸；

附接至所述核苷酸的磷酸基團的连接分子；以及

附接至所述连接分子的開關股，所述開關股包括核苷酸股，所述核苷酸股包含與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些互補的鹼基。

【第24項】如請求項21至23中任一項所述的感應系統，其進一步包括偵測來自所述電子感應器的反應的偵測器。

【第25項】如請求項21至23中任一項所述的感應系統，其進一步包括錨定至所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物或所述電子感應器的支撐體的聚合酶。

【第26項】一種方法，其包括：

將模板多核苷酸鏈引入至電子感應器，所述電子感應器具有聚合酶，所述

聚合酶被拴繫至i)橋接兩個電極之間的空間並且電連接至所述兩個電極的可調整導電通道，或ii)支撐所述兩個電極的基板，所述可調整導電通道包括經修飾的部分雙股的核酸聚合物，所述經修飾的部分雙股的核酸聚合物包括：

部分鍵合在一起的兩條多核苷酸鏈；

其中核苷酸缺失的第一多核苷酸鏈中的缺口；以及

在所述第一多核苷酸鏈中的缺口處暴露的第二多核苷酸鏈的複數個核苷酸鹼基；

將包括經標記的核苷酸的試劑引入至所述電子感應器，由此所述經標記的核苷酸中的一個的核苷酸與所述聚合酶締合，並且所述經標記的核苷酸中的一個的核苷酸特異性開關股與在所述缺口處暴露的複數個核苷酸鹼基中的至少一些締合；以及

對於在所述缺口處的締合，偵測所述電子感應器的反應。

【第27項】如請求項26所述的方法，其進一步包括：

對所述電子感應器的反應與所締合的核苷酸特異性開關股建立關聯；以及
基於所締合的核苷酸特異性開關股，鑑定所述經標記的核苷酸中的一個的核苷酸。

【第28項】如請求項26或27中任一項所述的方法，其進一步包括進行加熱以使所述核苷酸特異性開關股與所述缺口解離。