

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610121538.3

[51] Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 27/00 (2006.01)

G12Q 1/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007年2月21日

[11] 公开号 CN 1916630A

[22] 申请日 2006.8.18

[21] 申请号 200610121538.3

[30] 优先权

[32] 2005.8.19 [33] US [31] 11/207,000

[71] 申请人 英特尔公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 V·杜宾 F·格斯淳 J·吕克尔

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 陈斌

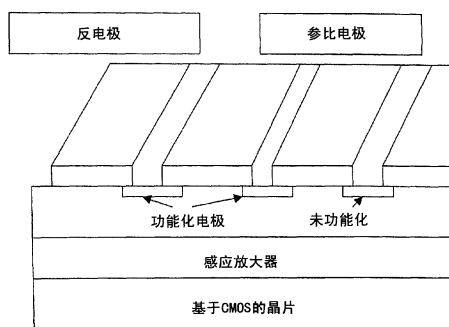
权利要求书5页 说明书27页 附图8页

## [54] 发明名称

基于功能化电极上具体结合事件的电读数来分析分子和纳米材料的方法和基于 CMOS 的装置

## [57] 摘要

本发明公开了一种包括具有探针分子的功能化电极的装置，该装置能通过功能化电极的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件。该装置也包括不具有探针分子的非功能化电极，并且该装置能通过功能化电极和非功能化电极之间的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件。



1. 一种包含具有探针分子的功能化电极的装置，其中，所述装置能通过功能化电极的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件。

2. 如权利要求 1 所述的装置，其特征在于，还包含不具有探针分子的非功能化电极，其中所述装置能通过功能化电极和非功能化电极之间的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件。

3. 如权利要求 1 所述的装置，其特征在于，还包含差分放大器以放大功能化电极的极化改变所产生的电流。

4. 如权利要求 2 所述的装置，其特征在于，还包含差分放大器，所述差分放大器放大功能化电极和非功能化电极之间极化改变所产生的电流。

5. 如权利要求 1 所述的装置，其特征在于，还包含具有晶片的衬底。

6. 如权利要求 1 所述的装置，其特征在于，还包含开关和电容器，其中所述极化改变调节场效应晶体管的栅极。

7. 如权利要求 1 所述的装置，其特征在于，所述探针分子和所述靶分子无标记。

8. 如权利要求 1 所述的装置，其特征在于，所述靶分子是单链 DNA、RNA、蛋白质或用 DNA 功能化的纳米材料。

9. 如权利要求 1 所述的装置，其特征在于，所述探针分子包含与功能化电极相结合的互补分子探针。

10. 如权利要求 1 所述的装置，其特征在于，所述装置是基于 CMOS 的电荷传感器，并且所述装置不是电流-电压氧化还原传感器。

11. 一种制造装置的方法，包括用探针分子功能化第一电极而形成功能化电极和不功能化第二电极而形成非功能化电极，其中所述装置能通过功能化电极和非功能化电极之间的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件。

12. 如权利要求 11 所述的方法，其特征在于，还包括制造差分放大器。

13. 如权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述差分放大器放大功能化电极和非功能化电极之间极化改变所产生的电流。

14. 如权利要求 11 所述的方法, 其特征在于, 还包括制造界面逻辑电路。

15. 如权利要求 11 所述的方法, 其特征在于, 所述装置能电检测分子结合事件而无需标记探针分子或靶分子。

16. 一种检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件的方法, 包括获得含有非功能化电极和具有探针分子的功能化电极的装置, 通过功能化电极和非功能化电极之间的极化改变来检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件。

17. 如权利要求 16 所述的方法, 其特征在于, 所述装置还包括差分放大器, 其中所述差分放大器放大功能化电极和非功能化电极之间极化改变所产生的电流。

18. 如权利要求 16 所述的方法, 其特征在于, 还包括通过极化改变调节场效应晶体管的栅极。

19. 如权利要求 16 所述的方法, 其特征在于, 所述靶分子是单链 DNA、RNA、蛋白质或用 DNA 功能化的纳米材料。

20. 如权利要求 16 所述的方法, 其特征在于, 所述探针分子包含与功能化电极结合的互补分子探针。

21. 一种制造电路的方法, 包括使能进行杂交事件的第一分子与纳米材料的第一末端结合并使第一分子与位于管芯第一焊点上的第二分子杂交。

22. 如权利要求 21 所述的方法, 其特征在于, 还包括使第三分子与纳米材料的第二末端结合并使第三分子与位于管芯第二焊点上的第四分子杂交。

23. 如权利要求 22 所述的方法, 其特征在于, 所述纳米材料在所述第一和第二焊点之间形成导电通路。

24. 如权利要求 23 所述的方法, 其特征在于, 所述纳米材料是碳纳米管、纳米导线、纳米颗粒。

25. 如权利要求 21 所述的方法, 其特征在于, 所述第一焊点包含电极, 所述杂交与电极上催化电流的产生相偶联。

26. 一种包含第一焊点、第二焊点和连接第一焊点和第二焊点的纳米材料的管芯, 所述纳米材料通过杂交分子与第一焊点和第二焊点相连。

27. 如权利要求 26 所述的管芯, 其特征在于, 所述纳米材料是碳纳米管、纳米导线、纳米颗粒。

28. 一种具有三维形状通孔的电极。
29. 如权利要求 28 所述的电极，其特征在于，所述通孔约 1 至 10000 微米宽，以及约 1 至 10 微米深。
30. 如权利要求 28 所述的电极，其特征在于，所述通孔具有底壁和侧壁。
31. 一种测试装置，包含(a)第一金属层和(b)第二金属层，其中所述第一金属层包含含有探针分子的功能化电极，所述第二金属层含有能被电阻加热以导致靶分子去杂交的第二电极，所述测试装置用于研究靶分子的去杂交。
32. 如权利要求 31 所述的测试装置，其特征在于，还包括含有能被电阻加热以导致靶分子去杂交的第三电极的第三金属层。
33. 如权利要求 31 所述的测试装置，其特征在于，以使探针分子可耐受高达约 100°C 的温度来选择探针分子。
34. 如权利要求 31 所述的测试装置，其特征在于，所述测试装置能通过功能化电极的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子解离事件。
35. 如权利要求 31 所述的测试装置，其特征在于，所述第一金属层还包含不具有探针分子的非功能化电极，其中所述测试装置能通过功能化电极和非功能化电极之间的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子解离事件。
36. 如权利要求 31 所述的测试装置，其特征在于，所述靶分子是单链 DNA、RNA 或用 DNA 功能化的纳米材料，所述测试装置用于研究靶分子的酶促或温度诱导的去杂交。
37. 如权利要求 1 所述的测试装置，其特征在于，所述功能化电极具有包含底壁和侧壁的三维形状的通孔。
38. 如权利要求 37 所述的测试装置，其特征在于，所述通孔约 1 至 10000 微米宽，以及约 1 至 10 微米深。
39. 如权利要求 2 所述的测试装置，其特征在于，所述功能化电极和非功能化电极包含具有底壁和侧壁的三维形状的通孔。
40. 如权利要求 39 所述的测试装置，其特征在于，所述通孔约 1 至 10000 微米宽，以及约 1 至 10 微米深。
41. 一种用于捕获靶分子的装置，所述装置包含第一电极、第二电极和第三电极，其中所述第一、第二和第三电极是可独立寻址电极，所述第二和第三

电极与所述第一电极重叠并在第一电极上含有通道从而允许将靶分子捕获进该通道。

42. 如权利要求 41 所述的装置, 其特征在于, 所述靶分子是荷电靶分子, 所述第二和第三电极具有电压差, 以在所述第二和第三电极之间产生电场, 从而确保将荷电靶分子引入所述通道。

43. 如权利要求 41 所述的装置, 其特征在于, 还包括与第一电极结合的探针分子。

44. 如权利要求 43 所述的装置, 其特征在于, 所述探针分子是 cDNA 探针或多核苷酸探针或用 DNA 功能化的纳米材料。

45. 如权利要求 41 所述的装置, 其特征在于, 还包括含有可独立寻址第一、第二和第三电极的开关模式的 CMOS 电路。

46. 如权利要求 41 所述的装置, 其特征在于, 还包括第一电极与第二电极之间的金属层, 和第二电极与第三电极之间的金属层。

47. 如权利要求 42 所述的装置, 其特征在于, 所述荷电靶分子是荷电 DNA、荷电纳米材料、RNA、蛋白质或用荷电分子修饰的纳米材料。

48. 如权利要求 41 所述的装置, 其特征在于, 与第一电极相连的通道的一端封闭, 而该通道的另一端打开, 以确保含有 DNA 的靶分子通过该通道的打开端移动。

49. 如权利要求 41 所述的装置, 其特征在于, 还包括与所述第一电极相连的聚合物刷。

50. 如权利要求 41 所述的装置, 其特征在于, 所述第二电极和第三电极是环形的。

51. 一种制造捕获靶分子的装置的方法, 包括在衬底上形成第一电极, 在第一电极上形成第二电极, 在第二电极上形成第三电极, 和在第二与第三电极上形成通道, 其中第一、第二和第三电极为可独立寻址电极, 第一电极上的通道允许将靶分子捕获进该通道。

52. 如权利要求 51 所述的方法, 其特征在于, 所述通道终止于所述第一电极的顶部。

53. 如权利要求 51 所述的方法, 其特征在于, 还包括在第一、第二和第三

电极的任意两个电极之间沉积金属层。

54. 如权利要求 51 所述的方法, 其特征在于, 还包括沉积含硅层。

55. 如权利要求 51 所述的方法, 其特征在于, 所述第二和第三电极为环形。

56. 如权利要求 8 所述的装置, 其特征在于, 所述纳米材料是碳纳米管、纳米导线或纳米颗粒。

57. 如权利要求 9 所述的装置, 其特征在于, 所述互补分子探针是 DNA、RNA 或抗体。

58. 如权利要求 21 所述的方法, 其特征在于, 所述第一分子是多核苷酸。

59. 如权利要求 21 所述的方法, 其特征在于, 所述第二分子是多核苷酸。

60. 如权利要求 22 所述的方法, 其特征在于, 所述第三分子是多核苷酸, 所述第四分子是多核苷酸。

## 基于功能化电极上具体结合事件的电读数来分析分子和纳米材料的方法和基于 CMOS 的装置

### 技术领域

本发明的实施方案涉及基于功能化电极上特异性结合事件结合事件(event)的电读数来分析分子和纳米材料的基于 CMOS 的装置,还涉及制备这些 CMOS 装置的方法和设备。本发明涵盖诸如高分子化学、生物化学、分子生物学、医学和医疗诊断学等数个学科。

### 背景技术

分子识别(也称为结合事件)是各种细胞事件的基础:转录、翻译、信号转导、病毒和细菌感染与免疫应答均通过选择性识别事件介导。因此,对分子结合事件检测的更好理解非常重要。本发明的实施方案中,是在具有功能化和非功能化电极的微阵列芯片上检测这种结合事件。

在微阵列芯片的电极上合成具有聚合物阵列的功能化电极(的方法)是已知的。这类聚合物阵列的例子包括核酸阵列、肽阵列和碳水化合物阵列。

在微阵列芯片上制备聚合物阵列功能化电极的方法涉及利用光可切割保护基团的光蚀刻技术。简言之,该方法包括将光反应活性基团连接于衬底表面,光使该衬底的选择区域曝光而活化这些区域,将带有光可切除基团的单体连接于该活化区域,重复这些活化和连接步骤直至合成好具有所需长度和序列的大分子。

应用于制备功能化电极的其他方法和技术包括电化学合成。一个实例包括提供其中含电极的多孔衬底,将具有保护性化学基团的分子放置于所述多孔衬底附近,放入缓冲溶液使之接触电极和多孔衬底以防止电化学生成的试剂离开电极局部(使用密封电极防止试剂扩散的方法已有描述),对该电极施加电位以产生能脱去该分子的保护性化学功能基团的电化学试剂,使脱保护的化学功能基团连接于多孔衬底或该衬底的分子上,重复上述步骤直至合成好具有所需长度和序列的聚合物。

通常通过光学方法读取连接于靶分子的荧光标记来检测分子识别,所述靶分

子能与探针分子特异性结合或杂交。这些分子识别方法很难实现或小型化，因为它们依赖于光学标记的使用并需要巨大或昂贵的仪器。

### 附图说明

图 1 显示了检测极化改变以监测(分子)结合事件的本发明装置的一个实施方案的示意图。

图 2 显示了用于研究某装置的活性部分(DNA/探针修饰电极)和参比部分(无探针)之间极化改变的该装置的电路图。所有元件都是标准固体装置：差分放大器、100 fF MOS 电容器(除去泄漏的高通量滤波器)和 CMOS 开关。

图 3 显示了固定在电极表面的探针分子。当把诸如互补性 DNA 聚阴离子的靶分子引入溶液时，靶链将通过著名的沃森/克里克(Watson/Crick)碱基对相互作用原理与表面上的该 DNA 探针分子结合。这意味着有超过 DNA 的平衡表面覆盖量(equilibrium surface coverage)的更多阴离子吸附于该表面。因此，溶液侧的电荷密度将变为非零。因为电极比溶液更为极化，所以反电荷将被诱导进入该电极，这种改变可测量。应注意该电路通过反电极关闭。

图 4 显示杂交前后的浮动电极示意图。

图 5 显示研究温度诱导的去杂交事件的测试装置的一个实施方案。

图 6(a)显示通孔电极(via electrode)和表面电极，图 6(b)显示了计算得到的具有 25 个碱基对的单链 DNA 与互补链杂交所生产的电荷。产生电荷的量是  $50 \times 1.6 \times 10^{-19}$  库仑。

图 7 显示了将单链 DNA (ssDNA) 诱捕入电极通道中的装置。

图 8 显示制造诱捕 ssDNA 装置的方法。

### 发明内容

核酸(DNA 和 RNA)能通过杂交，即互补碱基配对来形成双链分子。核酸杂交的特异性使得可通过荷电的靶分子(例如，DNA、RNA、蛋白质)和化学修饰的纳米材料(例如，用 DNA 功能化的碳纳米管、纳米导线、纳米颗粒)与连接于电极(例如，Au、Pt)的互补分子探针(例如，DNA、RNA、抗体)相互作用而导致的极化改变的电读数来检测分子和/或纳米材料的结合事件。互补碱基配对的这一特异性还允许



在同一次实验中在一块 DNA 芯片(也称为 DNA 阵列)上同时进行数千种杂交。

利用酶标记的靶分子可进一步放大极化改变(例如带负电 DNA 所诱导的变化)。通过表面功能化技术可使分子探针固定在各个可寻址电极阵列的表面。电极使极化改变可进行电检测。

本发明实施方案的聚合物阵列可以是包含排列在微型支持物上的密集栅格点(通常称为元件或焊点)状 DNA 阵列(在共享基板上的 DNA 探针集合体)。每个点代表一个不同的基因。

DNA 芯片上的探针通常与复杂的靶 RNA 或 cDNA 分子杂交,所述靶分子通过制备衍生自具体细胞类型(来源)RNA 分子复杂混合物的 DNA 拷贝来产生。这种靶分子的组成反映了各 RNA 分子在所述来源内的水平。探针和靶分子之间杂交后, DNA 芯片上 DNA 诸点结合事件所产生的信号强度表示该来源的基因的相对表达水平。

DNA 芯片可用于测定各种样品(例如,健康组织与疾病组织)间不同的基因表达来寻找各种特异性基因(例如,与感染因子有关的)或可用于基因多态性和表达分析。具体地说, DNA 芯片可用于检测与各种疾病相关的各种基因的表达以找出这些疾病的原因而能精确治疗。

使用本发明聚合物阵列的一个实施方案,可发现某基因核酸的特异性片段,即找出受检基因中具有特定碱基顺序的位点。可利用短的合成方法装配的单链互补多核苷酸构成的诊断性多核苷酸进行该检测,所述诊断性多核苷酸的碱基链以镜像顺序组成,核酸的特异性区段可经 A-T 或 G-C(氢)键与之结合(杂交)。

除非另有指出,可用本领域技术人员熟知的有机化学、聚合物技术、分子生物学(包括重组体技术)、细胞生物学、生物化学以及免疫学等常规技术实施本发明的实施方案。这些常规技术包括聚合物阵列合成、杂交、连接、利用标记检测杂交。下文的实施例阐述了合适的技术。然而,当然也可采用其它等价的常规技术。

除非文中另有明确指出,本说明书和权利要求书中的单数形式“一种”和“该”包括复数形式。例如,除非文中另有明确指出,术语“一种阵列”包括多个阵列。

“阵列”是有意创建的可经合成方法或生物合成制备的分子集合体。阵列中的分子可以彼此相同或不同。阵列可采取各种形式,例如可溶性分子库、连接于树脂珠、硅芯片或其它固体支持物的化合物库。根据阵列中样品点的大小,阵列可以

是宏阵列或微阵列。宏阵列通常包含大小约 300 微米或更大的样品点阵，易于通过凝胶和印迹扫描仪显像。微阵列通常包含大小不到 300 微米的点阵。

“固体支持物”、“支持物”和“衬底”指具有刚性或半刚性表面的材料或材料组。在一些方面，固体支持物的至少一个表面是大致平坦的，虽然在某些方面可能需要它具有用于不同分子的物理分隔合成区域和，例如孔、隆起区、插脚、蚀刻槽等。在某些方面，固体支持物可采用珠、树脂、凝胶、微球或其它几何结构。

术语“探针”或“探针分子”指连接于所述阵列衬底上的分子，通常是沉积在阵列上的 cDNA 或预先合成的多核苷酸。探针分子是能结合靶分子或识别靶分子的生物分子。(在一些参考文献中，术语“靶分子”和“探针”与本文的定义相反。)多核苷酸探针只需要基因的序列信息，因而能检测生物体的基因组序列。在 cDNA 阵列中，由于同一基因家族成员之间的序列同源性可能会发生交叉杂交。可以专门设计多核苷酸阵列来区分基因家族的高度同源性成员以及同一基因的剪接形式(外显子-特异性)。也可设计本发明实施方案的多核苷酸阵列以检测突变以及单个核苷酸多态性。

术语“靶子”或“靶分子”指小分子、生物分子或纳米材料，例如但不一定限于具有生物活性的小分子、核酸及其序列、肽和多核苷酸、以及用生物分子或小分子化学修饰而能结合分子探针的纳米结构材料，例如化学修饰的碳纳米管、碳纳米束、纳米导线和纳米颗粒。靶分子可以是荧光标记的 DNA 或 RNA。

术语“管芯(die)”、“聚合物阵列芯片”、“DNA 阵列”、“阵列芯片”、“DNA 阵列芯片”、“生物芯片”或“芯片”可互换使用，指排列在共享衬底上的大量探针的集合体，所述衬底可以是硅晶片、尼龙条带或载玻片的一部分。

术语“分子”通常指本文所述的大分子或聚合物。然而，与大分子或聚合物相反，包含单个分子的阵列也属于本发明实施方案的范围内。

“预定区域”、“点”或“焊点”指固体支持物上为了用于形成所选分子的局部区域，或者在本文中可称为“选择”区域。预定区域可具有任何适宜的形状，例如圆形、矩形、椭圆形、楔形等。为简明见，“预定区域”有时也简单地称为“区域”或“点”。在一些实施方案中，预定区域以及其上合成各种不同分子的面积要小于约  $1 \text{ cm}^2$  或小于  $1 \text{ mm}^2$ ，优选小于  $0.5 \text{ mm}^2$ 。在最优选的实施方案中，这些区域的面积宜小于约  $10,000 \mu\text{m}^2$ ，更优选小于  $100 \mu\text{m}^2$ 。此外，一般可在任何预先选

择的区域内合成聚合物的多个拷贝。拷贝数可以从几千到几百万。晶片上管芯更优选例如在至少  $20 \times 20$  矩阵内包含至少 400 个点。更优选管芯例如在至少  $64 \times 32$  矩阵内包含至少 2048 个点，还要优选包含例如在至少  $640 \times 320$  矩阵内的至少 204,800 个点。一个点可含有能产生电化学试剂的电极、合成聚合物的工作电极和限制所产生的电化学试剂的限制性电极。产生电化学试剂的电极可具有任何形状，例如环形、平园盘形或半球形。

“电极”是发生电化学反应的物体或位置。术语“电化学”指电学和化学现象的相互作用或相互转换。

“功能化电极”是带有对靶分子具有特异性化学亲和力的探针分子的微芯片阵列的电极。“非功能化电极”是不具有探针分子或者具有对靶分子没有特异性化学亲和力的探针分子的微芯片阵列的电极。

本发明实施方案中所用的电极包括但不限于：金属，例如铱和/或铂，其它金属，例如钯、金、银、铜、汞、镍、锌、钛、钨、铝，以及各种金属的合金，和其它导体材料，例如碳，包括玻璃碳、网状玻璃碳、基面石墨、边刨石墨和石墨。也考虑掺杂氧化物，例如氧化铟锡以及半导体，例如二氧化硅和砷化镓。此外，电极还可含有导电性聚合物、掺杂金属的聚合物、导电陶瓷和导电粘土。这些材料中特别优选铂和钯，因为它们具有吸附氢能力相关的优异性能，即在用于本发明方法之前用氢“预载”的能力。

电极可以任何已知方式与电源相连。连接电极与电源的优选方法包括 CMOS(互补的金属氧化物半导体)开关电路、无线电和微波频率可寻址开关、光可寻址开关、电极与半导体芯片外围结合焊点(bond pad)直接连接以及它们的组合。CMOS 开关电路包括的每个电极与 CMOS 晶体管开关相连。通过向下沿公共总线向与各电极相关联的 SRAM(静态随机存取存储器)发送电子地址信号来访问这些开关。当开关位于“接通”时，电极与电源相连。无线电和微波频率可寻址开关包括受 RF 或微波信号(控制)而开关电极。这就可以利用和/或不利用开关逻辑电路来转换开关。可调谐这些开关以接收特定的频率或调制频率而无需开关逻辑电路来开与关。光可寻址开关受光(控制)而开与关。在此方法中，可用或不用开关逻辑电路来开关电极。可空间定位光信号不必通过开关逻辑电路来开关。这可通过例如激光束扫描电极阵列而实现；电极在每次激光照射时开与关。

在某些方面,可通过将区域(即,珠、树脂、凝胶等)物理分隔成孔、盘等来预先限定区域。

“保护基团”是与分子结合并设计用于封闭分子中一种反应活性位点的部分,但是当其选择性接触活化剂或脱保护试剂时可被空间除去。参考文献中有保护基团的多个例子。为某具体合成方法适当选择保护基团可通过合成技术中使用的所有方法来指导。活化剂包括,例如有电磁辐射、离子束、电场、磁场、电子束、X射线等。脱保护剂可包括,例如酸、碱或自由基。保护基团是结合于单体、接头分子或预先形成分子以保护该单体、接头分子或预先形成分子上的反应活性官能团的物质,当它选择性地接触活化剂,例如电化学产生的试剂后可被除去。可用于本发明的实施方案中的保护基团优选包含所有的酸和碱不稳定性保护基团。例如,肽的氨基优选酸不稳定的叔丁氧基羰基(BOC)或苄氧基羰基(CBZ),或用碱不稳定的 9-芴基甲氧基羰基(FMOC)保护。此外,亚磷酰胺上的羟基可用酸不稳定的二甲氧基三苯甲基(DMT)保护。核苷上,特别是亚磷酰胺上的环外氨基基优选碱不稳定的基团,如腺苷和鸟苷碱基的二甲基甲脒与胞苷碱基的异丁酰基保护。这种保护策略称为快速寡核苷酸脱保护(FOD)。

可在合成反应期间的任何时间点封盖(cap)任何未反应的脱保护的化学官能团以避免或防止这种分子的进一步结合。封盖基团通过,例如与未反应的氨基结合形成酰胺来封盖脱保护的功能基团。适用于本发明实施方案的封盖物质包括:乙酸酐、正-乙酰基咪唑(n-acetylimidazole)、甲酸异丙烯酯、荧光胺、3-硝基邻苯二甲酸酐和 3-磺基丙酸酐。这些物质中优选乙酸酐和正-乙酰基咪唑。

可用于本发明实施方案的其它保护基团包括保护氨基部分的酸不稳定性基团:叔丁氧基羰基、-叔戊氧基羰基、金刚烷基氧基羰基、1-甲基环丁氧基羰基、2-(对-二苯基)丙基(2)氧基羰基、2-(对-苯基偶氮苯基)丙基(2)氧基羰基、 $\alpha,\alpha$ -二甲基-3,5-二甲氧基苄氧基-羰基、2-苯基丙基(2)氧基羰基、4-甲氧基苄氧基羰基、苄氧基羰基、furfuryl 糠基氧基羰基、三苯基甲基(三苯甲基)、对甲苯亚磺酰基氨基羰基(p-toluenesulfonylamino-carbonyl)、二甲基硫磷基、二苯基硫磷基、2-苯甲酰基-1-甲基乙烯基、邻-硝基苯基亚磺酰基和 1-亚萘基;保护氨基部分的碱不稳定性基团:9-芴基甲氧基羰基、甲基磺酰基乙氧基羰基和 5-苯并异吡咯基亚甲基氧基羰基(5-benzisoxazolymethyleneoxycarbonyl);保护氨基部分的还原

时不稳定的基团：二硫代琥珀酰基(dithiasuccinoyl)、对-甲苯磺酰基和哌啶基-氧基羰基；保护氨基部分的氧化时不稳定的基团：(乙硫基)羰基；保护氨基部分的对各种试剂不稳定的基团，所述合适的试剂列于基团后的括号内：邻苯二甲酰基(胼)、三氟乙酰基(哌啶)和氯乙酰基(2-氨基苯硫酚)；保护羧酸的酸不稳定性基团：叔丁酯；保护羟基的酸不稳定性基团：二甲基三苯甲基；和保护磷酸三酯的碱不稳定性基团：氰基乙基。

“电化学试剂”指通过给所选择的电极施加足够的电位在所选择电极处产生的并能通过电化学反应除去化学官能团的保护基团的化学物质。所述化学基团一般连接于分子。根据本发明，当电极产生的化学试剂发挥脱保护或从分子上除去，例如酸或碱不稳定性保护基团时，除去保护基团或“脱保护”优选发生在某分子的特定部分。这种电化学脱保护反应可以直接(进行)，或可包括一步或多步中间化学反应，最终通过给所选电极施加足够的电位来驱动或控制。

可在电极处产生的电化学试剂广义上有两类：氧化剂和还原剂。电化学可产生的氧化剂包括：例如碘、碘酸盐、高碘酸、过氧化氢、次氯酸盐、偏钒酸盐、溴酸盐、重铬酸盐、铈(IV)和高锰酸盐离子。电化学可产生的还原剂包括：例如铬(II)、氰化亚铁、硫醇、硫代硫酸盐、钛(III)、砷(III)和铁(II)离子。各种试剂包括：溴、氯化物、质子和羟基离子。在上述试剂中，优选质子、羟基、碘、溴、氯和巯基离子。

产生所需化学类型的电化学试剂需要电极的电位具有产生电化学试剂的特定值，该值可通过特定的电压或电流来实现。在该电极上达到所需电位有两种方法：既可将电压设定在所需值也可确定足够电流而提供所需电压。最低和最高电位值之间的范围可通过所要产生的电化学试剂的类型确定。

“活化基团”指当与特定化学官能团或反应活性位点结合时可赋予该位点更易与第二化学活性官能团或反应活性位点形成共价键的反应活性。

“聚合物刷”一般指含有与衬底表面结合的聚合物链的聚合物膜。聚合物刷可以是在聚合物链上一处或多处预先确定区域中含有官能团，例如羟基、氨基、羧基、巯基、酰胺基、氰酸、硫氰酸、异氰酸和异硫氰酸基团，或它们的组合的功能化聚合物膜。本发明实施方案的聚合物刷能在其上结合或逐步合成大分子。

“接头”分子指任何上述分子，优选约4-40个原子长以提供充分的接触。接

头分子可以是，例如芳基乙炔、含有 2-10 个单体单元的乙二醇寡聚物、二胺、二酸、氨基酸等、和它们的组合。或者，接头可以与要合成的分子(即，初生聚合物)，例如多核苷酸、寡肽或寡糖的分子类型相同。

本文使用的接头分子或衬底本身和单体提供了结合有保护基团的官能团。保护基团一般在分子的远端或末端。保护基团优选在接头分子相对于衬底的远端或末端。保护基团可以是负保护基团(即，保护基团使得接头分子与单体接触时的反应活性降低)或正保护基团(即，保护基团使得接头分子与单体接触时更具反应活性)。就负保护基团而言，可以有额外的再活化步骤。在一些实施方案中，该步骤可通过加热进行。

聚合物刷或接头分子可在其中间位置具有可用电化学方法产生的试剂切割的可切割基团。切割该基团的试剂优选与用于除去保护基团的试剂不同。这使得可以在合成完成后可以切下各种合成的聚合物或核酸序列。所述可切割基团可以是乙酸酐、正-乙酰基咪唑、甲酸异丙烯酯、荧光胺、3-硝基邻苯二甲酸酐和 3-磺基丙酸酐。这些物质中优选乙酸酐和正-乙酰基咪唑。

聚合物刷或接头分子应足够长以使完成的衬底上的聚合物能与接触该衬底的结合实体(例如单体)自由地相互作用。当采用聚合物刷或接头分子时，优选其应足够长以使官能团与结合实体能充分接触。接头分子可包括：例如芳基乙炔、含有 2-20 个单体单元的乙二醇寡聚物、二胺、二酸、氨基酸等、和它们的组合。本发明的不同实施方案可采用其它接头分子，并且本领域技术人员根据本文公开的内容可以知道这些分子。在一个实施方案中，酸不稳定的 4,4'-二甲氧基三苯甲基分子与环外活性酯的衍生物可用于本发明实施方案中。更优选使用 N-琥珀酰亚胺基-4[双-(4-甲氧基苯基)-氯甲基]-苯甲酸酯作为 DNA 合成期间的可切割接头分子。或者，整个阵列中可同时使用其它切割方式，例如化学试剂、光或热。

“自由基引发剂”或“引发剂”是能在某些条件下，例如热、光或其它电磁辐射时提供自由基的化合物，自由基可从一个单体转移至另一个单体进而延伸反应链形成聚合物。本领域已知几种自由基引发剂，例如有偶氮、硝基氮和过氧化物类，或含有多组分系统的引发剂。

“活自由基聚合”(living free radical polymerization)定义为活自由基方法，其中发生链引发和链延伸但无明显的链终止反应。每个引发剂分子产生生长的单体

链, 该单体链持续延伸直至所有可利用的单体都发生反应。活自由基聚合反应与常规自由基聚合反应的不同之处在于链引发、链延伸和链终止反应同时发生, 并且聚合反应一直持续到引发剂耗尽。活自由基聚合反应有助于控制分子量和分子量分布。活自由基聚合技术, 涉及例如聚合反应期间生长链的可逆末端封盖。一个例子是自由基原子转运聚合(ATRP)。

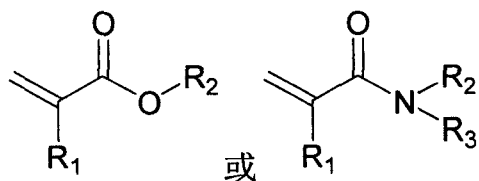
“自由基产生位点”是引发剂上的位点, 其中在对热或电磁辐射的反应中产生了自由基。

“聚合反应终止剂”是能阻止聚合物链进一步聚合的化合物。这些化合物也称为“终止剂”或“封盖剂”或“抑制剂”。本领域已知各种聚合终止剂。一方面, 不具有游离羟基的单体可作为聚合反应终止剂起作用。

术语“能支持聚合物阵列合成”指可在其上进行聚合物阵列合成的任何物体, 例如用官能团, 如羟基、氨基、羧基等功能化的聚合物刷。可通过将这些官能团用作“结合点”来合成大分子。

某给定聚合物或大分子中的单体可彼此相同或不同。单体可以是小分子或大分子, 不论分子量如何。此外, 每个单体可以是合成后经修饰的受保护单体。

本文使用的“单体”指用于形成聚合物的那些单体。然而, 单体的含义将从它所用的上下文中得以明了。可形成本发明实施方案的聚合物的单体, 例如聚合物刷或接头分子的单体具有例如以下通式的结构:



其中 R1 是氢或低级烷基; R2 和 R3 独立为氢或-Y-Z, 其中 Y 是低级烷基, Z 是羟基、氨基或 C(O)-R, 其中 R 是氢、低级烷氧基或芳氧基。

术语“烷基”指线形、支链或环状的甲基、乙基、丙基、丁基等基团。

术语“烷氧基”指线形、支链或环状的诸甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基等基团。

文中关于低级烷基或低级烷氧基所用的术语“低级”指具有 1-6 个原子的基团。

术语“芳基”指与烷基相连的芳族烃环。术语“芳氧基”指与烷氧基相连的芳族烃环。本领域的普通技术人员不难理解这些术语。

可用于制备本发明实施方案大分子的其它单体为本领域所熟知。例如，当所述大分子是多肽时，该单体包括但不限于：例如氨基酸，如 L-氨基酸、D-氨基酸、合成和/或天然氨基酸。当所述大分子是核酸或多核苷酸时，该单体包括任何核苷酸。当所述大分子是多糖时，该单体可以是戊糖、己糖、庚糖或它们的衍生物。

“单体加入循环”是包括使单体与初生聚合物或接头共价连接所需化学反应的循环，例如延伸具有所需化学键(例如 5'-3'磷酸二酯键、肽键等)的聚合物。例如(不限制本发明)，以下步骤一般包括以亚磷酰胺为基础的多核苷酸合成中的单体加入循环：(1)脱保护，包括除去 5'-受保护核苷(可以是初生多核苷酸的一部分)的 DMT 基团，该核苷共价连接 DMT 封闭了 5'-羟基，这种脱保护通常采用合适的脱保护剂(例如，质子酸：三氯乙酸或二氯乙酸)进行，并且可包括物理除去(例如，洗涤、如用乙腈洗涤)来除去保护基团(例如，切断的二甲基三苯甲基)，(2)偶联，包括使亚磷酰胺核苷(通常用四唑活化)与脱保护的核苷反应，(3)任选包括给要参与随后的单体加入循环的截短的未反应核苷封盖，例如通过与乙酸酐和 N-甲基咪唑反应来乙酰化游离的 5'-羟基，和(4)氧化，例如通过四氢呋喃/水/吡啶配制的碘将三价亚磷酸三酯键转变为五价亚磷酸三酯，进而通过氢氧化铵反应转变为磷酸二酯。因此，就多核苷酸的亚磷酰胺合成而言，以下试剂通常是完成单体加入循环所需：三氯乙酸或二氯乙酸、亚磷酰胺核苷酸、氧化剂，例如碘(如，碘/水/THF/吡啶)，和任选用于封盖的 N-甲基咪唑。

“大分子”或“聚合物”含有共价相连的两个或多个单体。单体可一次连接在一起或形成多个单体的串，通常称为“寡聚物”。因此，例如一个单体可与 5 个单体组成的串相连形成 6 个单体组成的大分子或聚合物。类似地，50 个单体组成的串可与 100 个单体组成的串相连形成 150 个单体组成的大分子或聚合物。本文使用的术语“聚合物”包括，例如：核酸、多核苷酸、多核苷酸、多糖、寡糖、蛋白质、多肽、肽、磷脂和肽核酸(PNA)的线形和环状聚合物。所述的肽包括具有  $\alpha$ -、 $\beta$ -或  $\omega$ -氨基酸的肽。此外，聚合物包括其中已知药物共价连接于任何上述聚合物的杂聚合物、聚氨酯、聚酯、聚碳酸酯、聚脲、聚酰胺、聚乙烯亚胺、聚芳撑硫化物(polyarylene sulfides)、聚硅氧烷、聚酰亚胺、聚乙酸酯(polyacetates)或其它从本文内容可以明白的聚合物。本文使用的“纳米材料”指具有原子、分子或大分子水平的尺寸，长度范围约 1-100 纳米的结构、装置或系统。纳米



材料优选具有因所述大小所致的性能和功能并可在原子水平进行操作和控制。

“碳纳米管”指具有圆柱或螺旋形状的富勒烯(球壳状碳)分子(fullerene molecule)。“富勒烯”指由 60 或更多个碳原子组成的空腔大分子的碳形式。

术语“核苷酸”包括脱氧核苷酸及其类似物。这些类似物分子的一些结构特点与天然存在的核苷酸相同,从而使得当将它们掺入多核苷酸序列时,可与溶液中的互补多核苷酸杂交。这些类似物一般可通过取代和/或修饰碱基、核糖或磷酸二酯部分从天然存在的核苷酸中衍生得到。这些改变可以是有意为之以使形成的杂交稳定或不稳定,或如所需提高与互补多核苷酸序列的杂交特异性,或提高多核苷酸的稳定性。

本文使用的术语“多核苷酸”或“核酸”指任何长度聚合形式的核苷酸,可以是核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸,可含有嘌呤和嘧啶碱基,或其它天然的化学或生物化学修饰的非天然或衍生的核苷酸碱基。本发明实施方案的多核苷酸包括可从天然来源分离的、重组产生的或人工合成的脱氧核糖多核苷酸(DNA)、核糖多核苷酸(RNA)或核糖多核苷酸(cDNA)的 DNA 拷贝。本发明实施方案的多核苷酸的其它例子可以是聚酰胺多核苷酸(PNA)。多核苷酸与核酸可以是单链或双链形式。多核苷酸的骨架可含有通常见于 DNA 或 RNA 中的糖和磷酸基团,或修饰或取代的糖或磷酸基团。多核苷酸可含有修饰的核苷酸,例如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。非核苷酸组分可间插在核苷酸序列中。由核苷酸构成的聚合物,例如核酸、多核苷酸和多核苷酸在本文也称为“核苷酸聚合物”。

“寡核苷酸”是具有 2-20 个核苷酸的多核苷酸。受此方式保护的亚磷酰胺称为 FOD 亚磷酰胺。

类似物也包括常规用于多核苷酸合成的受保护和/或修饰的单体。本领域技术人员熟知多核苷酸合成所用的各种碱基保护的多核苷酸衍生物,其中嘌呤或嘧啶部分的一个或多个氮原子可用例如二甲氧基三苯甲基、苄基、叔丁基、异丁基等基团保护。

例如,可任选给核苷的核糖或碱基加入结构基团,例如在核糖 2'-O 位置上加入甲基、丙基或烯丙基,或用氟基团取代核糖核苷酸碱基的 2'-O 基团或溴基团来掺入多核苷酸中。2'-O-甲基寡核糖核苷酸 (2'-O-MeORNs)对互补多核苷酸

(特别是 RNA)的亲合力比其未修饰对应物的高。或者,也可采用其中嘌呤或嘧啶杂环上一个或多个 N 原子被 C 原子取代的脱氮嘌呤和脱氮嘧啶。

多核苷酸的磷酸二酯键或“糖-磷酸骨架”也可用例如磷酸甲酯、O-甲基磷酸酯或硫代磷酸酯取代或修饰。出于公开目的,含有这类修饰键的多核苷酸的另一例子包括“肽多核苷酸”,其中聚酰胺骨架与多核苷酸碱基或修饰的多核苷酸碱基相连。含有见于天然存在核苷酸中的聚酰胺骨架和碱基的肽多核苷酸可购得。

含修饰碱基的核苷酸也可用于本发明的实施方案中。碱基修饰的一些例子包括:2-氨基腺嘌呤、5-甲基胞嘧啶、5-(丙炔-1-基)胞嘧啶、5-(丙炔-1-基)尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-溴胞嘧啶、羟甲基胞嘧啶、甲基尿嘧啶、羟甲基尿嘧啶和二羟基戊基尿嘧啶,可在多核苷酸中掺入这些碱基修饰以改变其对互补多核苷酸的结合亲和力。

也可将这些基团连接到核苷糖环上或嘌呤或嘧啶环上的各种位置,通过与带负电的磷酸骨架的静电相互作用或通过大槽和小槽中的相互作用而稳定双螺旋。例如,腺苷和鸟苷核苷酸的 N<sup>2</sup> 位置可用咪唑基丙基取代以增加双螺旋稳定性。也包括通用碱基类似物,例如 3-硝基吡咯和 5-硝基吡咯。各种适用于本发明实施方案的修饰的多核苷酸可见参考文献中的描述。

当感兴趣的大分子是肽时,氨基酸可以是任何氨基酸,包括  $\alpha$ 、 $\beta$  或  $\omega$ -氨基酸。当所述氨基酸时  $\alpha$ -氨基酸时,可采用 L-光学异构体或 D-光学异构体。此外,本发明的实施方案也考虑非天然氨基酸,例如  $\beta$ -丙氨酸、苯基甘氨酸和高精氨酸。这些氨基酸是本领域熟知的。

“肽”是其中的单体是氨基酸并通过酰胺键连接在一起的聚合物,或者称为多肽。在本说明书中应该理解氨基酸可以是 L-光学异构体或 D-光学异构体。肽长度为两个或多个氨基酸单体,常超过 20 个氨基酸单体长度。

“蛋白质”是经肽键连接的氨基酸长聚合物,可由两条或多条多肽链组成。更具体地说,术语“蛋白质”指由一条或多条氨基酸链,以特定顺序构成的分子;该顺序由编码该蛋白质基因中的核苷酸碱基顺序确定。蛋白质是机体细胞、组织和器官的结构、功能和调节所必需的,各蛋白质具有独特的功能。蛋白质的例子有激素、酶和抗体。

术语“序列”指大分子中单体的特定顺序，在本文中可称为大分子的序列。

术语“杂交”指两条单链多核苷酸非共价结合形成稳定的双链多核苷酸的过程；三链杂交在理论上也是可能的。得到的(通常)双链多核苷酸是“杂交体”。形成稳定杂交体的多核苷酸群的比例在本文称为“杂交程度”。例如，杂交指在探针多核苷酸(例如，本发明的多核苷酸可包含取代、缺失和/或添加)和特异性靶多核苷酸(例如，分析对象多核苷酸)之间形成杂交体，其中所述探针优先与特异性靶多核苷酸杂交而基本不与含有基本上与靶多核苷酸不互补的序列的多核苷酸杂交。然而，技术人员知道与靶多核苷酸特异性杂交所需多核苷酸的最小长度取决于几种因素：G/C 含量、错配碱基的位置(如果有)、与靶多核苷酸群相比序列唯一性的程度和多核苷酸的化学性质(例如，甲基磷酸骨架、硫代磷酸酯骨架等等)。

本领域已良好建立了进行多核苷酸杂交试验的方法。杂交试验方法和条件视应用而不同，可根据本领域已知的通用结合方法选择。

应知道两条单链多核苷酸杂交的能力取决于它们的互补性程度以及杂交反应条件的严谨性等因素。

本文使用的“严谨性”指影响多核苷酸杂交程度的杂交反应条件。选择严谨性条件使得可根据多核苷酸双螺旋的错配程度区分它们。高度严谨性与形成含错配碱基双螺旋的可能性较低相关。因此，严谨性越高，能形成错配双螺旋的两条单链多核苷酸维持单链的可能性越高。相反，严谨性较低，形成错配双螺旋的可能性增加。

与含一个或多个错配的双螺旋相比，可选出完美匹配的双螺旋(或与错配程度较高的双螺旋相比，可选出特定错配的双螺旋)的适当严谨性通常凭经验确定。调节杂交反应严谨性的方法为本领域技术人员所熟知。

“配体”是特定受体所识别的分子。本发明所研究的配体的例子包括但不限于：细胞膜受体的激动剂和拮抗剂、毒素和毒液、病毒表位、激素、激素受体、肽、酶、酶的底物、辅因子、药物(例如，阿片、类固醇等)、凝集素、糖、多核苷酸、核酸、寡糖、蛋白质和单克隆抗体。

“受体”是对某给定的配体具有亲和力的分子。受体可以是天然存在或人造的分子。受体也可以其未改变的状态或作为与其它物质的聚集体使用。受体

可与其结合成员直接或经特异性结合物质共价或非共价连接。本发明可用的受体的例子包括但不限于：抗体、细胞膜受体、能与特异性抗原决定簇(例如病毒、细胞或其它物质)反应的单克隆抗体和抗血清、药物、多核苷酸、核酸、肽、辅因子、凝集素、糖、多糖、细胞、细胞膜和细胞器。本领域有时将受体称为抗-配体。本文使用的术语“受体”，其意义无区别。当两个大分子通过分子识别形成复合物时，“配体受体对”即形成。本发明研究的受体的其它例子包括但不限于：

a)微生物受体：确定了能结合这类受体的配体可用于开发新的一类抗体，例如微生物存活所必需的特异性转运蛋白质或酶。特别有价值的是能抗机会性真菌、原生动物的对现有抗生素耐药的细菌(感染)的抗生素。

b)酶：例如，一类受体是酶的结合位点，如负责切割神经递质的酶；确定了能结合这类特定受体以调节切割不同神经递质的酶的作用的配体后，可用于开发治疗神经传递疾病的药物。

c)抗体：例如，本发明可用于研究能与感兴趣抗原的表位结合的抗体分子上的配体结合位点；确定了能模拟抗原表位的序列后可用于开发免疫原是基于一种或多种这类序列的疫苗，或可用于开发治疗性处理(例如，通过阻断“自身”抗体的结合)自身免疫疾病的相关诊断试剂或化合物。

d)核酸：可合成核酸序列以建立 DNA 或 RNA 结合序列。

e)催化性多肽：能促进化学反应，包括将一种或多种反应物转变为一种或多种产物的的聚合物，优选多肽。这类多肽一般包含对至少一种反应物或反应中间体的特异性结合位点和邻近该结合位点的活性官能团，所述官能团能化学修饰所结合的反应物。

f)激素受体：激素受体的例子包括，例如胰岛素和生长激素的受体。确定了能以高亲和力结合某受体的配体后可用于开发，例如糖尿病患者用于缓解糖尿病症状的每日注射剂的口服替代品。其它例子是血管收缩激素受体；确定了能结合受体的配体后可用于开发控制血压的药物。

g)阿片受体：确定了能结合大脑中阿片受体的配体后可用于开发吗啡的低成瘾性替代品和相关药物。

术语“互补”指配体分子及其受体相互作用表面的拓扑学相容性或相匹配

结合。因此，可将受体及其配体描述成互补的，此外，接触表面的特性也是彼此互补。

“位置线”一般是为分离管芯所提供的区域(通常用锯子)在活性管芯之间的“无活性”区域。该区域经常具有计量学和排列对比特点。

“通孔”指在电介质的夹层中蚀刻成的孔，然后用导电材料填充该孔以在能导电的堆叠互连金属线之间提供垂直的电连接。

管芯内的“金属线”是互连线。金属互连线电连接两个管芯(或在本发明的一些实施方案中是多个管芯)与一个或多个晶片焊点，一般不穿过位置线边界。

术语“氧化”指失去电子而氧化。术语“还原”指获得电子而还原。术语“氧化还原反应”指任何涉及氧化和还原的化学反应。

术语“晶片”指半导体衬底。晶片可制成各种大小和形状。它可用作微芯片的衬底。所述衬底可通过互连或位置线覆盖或嵌入电路，例如(晶片)焊点。晶片的电路也可用于几种目的，例如作为微处理器、存储装置和/或通信能力。所述电路可由晶片自身的微处理器或晶片外的装置控制。

术语“分子结合事件”指探针分子和靶分子之间发生接触。本发明实施方案检测分子结合事件的装置可用于分子识别试验来分析怀疑含有一种或多种靶分子或靶部分(例如特定的核酸序列)的样品。为结合并检测特定的靶分子，例如核酸序列，该阵列中提供了探针分子。探针和靶核酸序列之间可通过标准的沃森/克里克氢键相互作用或其它本领域已知的特异性结合相互作用而杂交。

术语“极化改变”指靶分子沉积所产生的电极上电荷量的改变。

术语“差分放大器”指能放大两种输入信号(-)和(+)之间差异的装置。该放大器也称为差分输入单端输出放大器。这是一种精度电压差放大器，并能形成更复杂的测量放大器(instrumentation amplifier)电路的中心基准。

术语“场效应晶体管”(FET)是依赖电场控制半导体材料中“通道”导电性的晶体管家族。与所有的晶体管相似，可认为FET是受电压控制的电阻器。可以单晶半导体晶片作为活性区域或采用常规散装半导体处理技术来制备大多数FET。

术语“CMOS”指互补的金属氧化物半导体。

### 具体实施方式

本发明的一个实施方案涉及包含具有探针分子的功能化电极的装置，其中所述装置能通过功能化电极的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件。该装置还包含不具有探针分子的非未功能化电极，其中该装置能通过功能化电极和非功能化电极之间的极化改变来电检测探针分子和靶分子之间的分子结合事件。探针分子和靶分子优选不带标记。所述靶分子优选是单链 DNA、用 DNA 功能化的碳纳米管或纳米材料，所述探针分子优选是单链 DNA 或纳米材料。

该装置更优选是基于 CMOS 的电荷传感器并且不是电流-电压氧化还原传感器。该装置可以 CMOS 结构和用各种分子探针分别功能化的电极阵列为基础，所述分子探针对各种单独匹配/相互作用的靶分子和化学修饰的纳米材料具有特异性化学亲和力。该装置能电检测电极阵列上的分子结合事件、感应并放大界面处极化改变期间产生的电流。电极阵列可与逻辑装置结合并用作电荷泵。

该装置还可包含差分放大器来放大功能化电极极化改变所产生的电流。该装置还可包含差分放大器，其中所述差分放大器可放大功能化电极和非功能化电极之间极化改变所产生的电流。

在一个变化形式中，该装置还包括含有晶片的衬底。该装置还包括开关和电容器，其中所述极化改变可调节场效应晶体管的栅极。

如图 1 所示，本发明的一个实施方案包括在 CMOS 晶片上构建的装置的结构，所述结构用于电检测以探针分子功能化的电极阵列上的分子结合事件，所述探针分子对靶分子具有特异性化学亲和力；放大界面上极化改变期间产生的电流的差分放大器；CMOS 开关；MOS 电容器。由于荷电靶分子(例如但不限于单链 DNA、用 DNA 功能化的碳纳米管)与特异性吸附的探针分子(例如，固定于电极表面的互补单链 DNA)结合导致电极/溶液界面处(例如，电极材料可以是 Au、Pt)的极化改变。

另一实施方案包括通过电极检测调节场效应晶体管栅极极化改变的装置。本发明的另一实施方案包括监测去杂交(可逆性识别)期间极化改变的装置。在本发明的另一实施方案中，可将荷电生物分子捕获到分析电极的通道中从而改

进 DNA 杂交检测的得率。

另一实施方案包括当发生探针/靶识别事件时,通过与产生电信号或放大现有信号的酶催化反应偶联从而在电极上产生催化电流。例如, DNA 探针可与电极阵列装置结合。然后可用生物素化的能特异性结合该探针的靶 DNA 覆盖这些探针。再用通过链霉抗生物素蛋白/生物素结合而能特异性结合靶/探针识别复合物的链霉抗生物素蛋白偶联的辣根过氧化物酶(HRP)覆盖这些复合物。本领域熟知得到的复合物能催化  $H_2O_2$  还原从而产生催化电流。本领域已知这种方法,例如将偶联的/标记的探针/靶分子结合放大例如几个数量级,或将 HRP 修饰的电极的电位调整到比非修饰电极的电位约高 0.7V(更具阳极性)的方法。

本发明的另一实施方案涉及电检测分子结合事件的装置的制造方法。该方法包括用探针分子功能化第一电极以形成功能化的电极,不功能化第二电极以形成非功能化电极,制造差分放大器,其中所述装置能通过功能化电极和非功能化电极之间的极化改变来电检测探针分子与靶分子之间的分子结合事件。差分放大器优选能放大功能化电极和非功能化电极之间极化改变所产生的电流。该方法还包括制造界面逻辑电路。最好通过本发明的方法使该装置能电检测分子结合事件,而无需标记探针分子或靶分子,即,当探针和靶分子不含标记时。

在本发明的一个实施方案中,制造电检测分子结合事件的装置的方法包括:a)采用例如平版印刷、蚀刻、离子注入、薄膜和包装等标准制造技术在晶片上制造含有放大器、界面逻辑电路、电荷泵和电极阵列的 CMOS 结构;和 b)用对靶分子具有特异性化学亲和力的化学或生物化学探针功能化这些电极。

本发明的另一实施方案涉及检测探针分子和靶分子之间分子结合事件的方法,包括获得包含具有探针分子的功能化电极和不具有探针分子的非功能化电极的装置,和通过功能化电极和非功能化电极之间极化改变来检测探针分子与靶分子之间的分子结合事件。在检测分子结合事件的方法中,该装置还包括差分放大器,其中所述差分放大器能放大功能化电极和非功能化电极之间极化改变所产生的电流。检测分子结合事件的方法优选还包括通过极化改变来调节场效应晶体管的栅极。

在本发明的一个实施方案中,电检测分子结合事件的方法是:a)使电极阵列与靶分子和/或化学修饰的纳米材料接触从而导致靶分子(化学修饰的纳米

管,例如 DNA 修饰的 CNT)与分子探针发生特异性结合事件,伴随电极界面处的极化改变;和 b)测定与放大极化改变所产生的电流(可利用桥结构来放大经历特异性结合事件的电极与维持无活性的电极之间的电信号 $\delta$ ;可用感应放大器进行放大)。可用图 2 所示的装置进行放大。另一实施方案包括通过电极检测调节场效应晶体管的栅极极化改变的装置。

尽管不受具体理论的束缚,认为本发明实施方案的技术基础如下。如图 3 所示,在溶液中,DNA 探针分子解离成 DNA 聚阴离子和与之平衡的阳离子。这些聚阴离子可利用任何已知的表面修饰化学(物质)选择性吸附到电极表面,例如但不限于硫醇盐、胺类和聚(巯基丙基)甲基硅氧烷。因此,将探针分子固定于电极表面。当将靶分子,例如互补的 DNA 聚阴离子引入该溶液中时,靶分子链通过熟知的沃森/克里克碱基对相互作用与表面上的 DNA 探针分子结合。这意味着有超过 DNA 的平衡表面覆盖量的更多阴离子吸附于该表面。溶液侧的电荷密度将变为非零。因为电极比溶液更易极化,所以反电荷将被诱入该电极,这种改变可测量(通过反电极闭合该电路)。在实验中观察到,如果电极维持有恒定的表面电荷,则 DNA 阴离子的吸附伴随有负电位改变。单一 DNA 分子杂交时界面( $dQ/dt$ )处极化改变所产生的电流约为 10 fA。如图 4 所示,当荷电靶分子结合探针分子时,检测极化改变依赖于溶液/电极界面处电双层电容的改变。

本发明实施方案中优选的是(具体参见图 4):单个电极区域约  $1\mu\text{m}^2$ ;这些电极各自为可寻址电极;电极和溶液之间的界面电容约为  $10\mu\text{F}/\text{cm}^2$ ;金属电极的双电子层与支持电解质溶液中的电荷种类层之间的电压改变约为 0.5 V;电极上的总电荷约为  $5 \times 10^{-14}\text{C}$  (50 fC);DNA 结合所致电极界面上的电荷改变约为  $10^{-15}\text{C}$  (1 fC),即,DNA 结合所致的电荷改变约为  $0.02 \times$  电子双层中储存的电荷;结合与解离(debinding)事件的时间为毫秒级;可用探针分子覆盖来制备参比电极,所述探针分子对结合靶分子无活性;和可引发解离(酶、温度优点的去杂交)。本发明实施方案可通过检测界面上的极化改变( $dQ/dt$ )所产生的电流来检测分子结合事件,所述电流的数量级约为  $10^{-12}\text{A}$  (约 1 pA)。电极的大小每改变一个数量级,检测到的电流按系数 0.01 减小。

本发明的另一实施方案涉及一种测试装置,其包括(a)包含具有探针多核苷酸的功能化电极的第一金属层和(b)包含第二电极的第二金属层,可通过电阻加



热(resistively heating)所述第二电极以使靶多核苷酸去杂交,其中所述测试装置用于研究靶多核苷酸的去杂交。该测试装置还可包括含有第三电极的第三金属层,可通过电阻加热所述第三电极以使靶多核苷酸去杂交。宜选择能耐受高达约 80°C 的探针多核苷酸。该测试装置优选能通过功能化电极的极化改变来电检测探针多核苷酸与靶多核苷酸之间的分子解离。第一金属层优选还包含不含有探针多核苷酸的非功能化电极,所述测试装置能通过功能化电极和非功能化电极之间极化改变来电检测探针多核苷酸与靶多核苷酸之间的分子解离事件。该测试装置更宜用于研究靶多核苷酸的酶促或温度诱导的去杂交。

由于只有杂交的 DNA 可发生去杂交反应,检测成功杂交事件的另一方法是监测去杂交期间(可逆的探针/靶相互作用)双链 DNA 的极化改变。该装置的结构基本上维持一致。最常用的诱导双链 DNA 去杂交的方法称为温度跳跃实验(temperature jump experiment)。突然升高温度 20-40°C 而诱导去杂交。已通过各种技术,例如频率-共振能量光谱法(FRET)、时间分辨荧光光谱法监测经过这种温度跳跃后双链 DNA 的去杂交动力学。与杂交不同,温度诱导去杂交所产生极化改变的电读数优点在于去杂交不是一种缓慢和扩散受控制的过程而是瞬时过程。因此电荷无需积分较长时间,从而受背景噪声(的干扰)。可通过各种技术,例如恒温水浴、电阻加热含有电解质的小体积(液体)(小体积液体保证了快速加热)、激光跳跃技术或通过辐射-频率加热与双链 DNA 共价连接的金纳米晶体来诱导温度改变。诱导电极表面 DNA 解离的一个实施方案采用了负电压(100mV+)。解离后可立即完成电荷改变的积分,从而增加了信噪比。

解离 DNA 的另一方法是通过电阻加热芯片。图 5 显示了研究温度诱导去杂交事件测试装置的一个例子。该装置具有 3 个金属层。第一金属层包含分析电极(用探针 DNA 修饰并与靶 DNA 杂交),即图 5 所示的分析电极(3)。第二和第三金属层可包含 NiCr 电极,即如 5 所示加热电极(1)和(2),所述电极可通过电阻加热导致靶 DNA 分子解吸或去杂交。选择探针 DNA 分子的化学结合部分使其能耐受高于室温的温度。为清晰起见,图 5 未显示用于信号放大的装置(见图 2)。

另一实施方案包括当发生探针/靶识别事件时,通过与能产生电信号或放大现有信号的酶催化反应偶联从而在电极上产生催化电流。例如,可将 DNA 探

针与电极阵列装置相结合。然后用生物素化的能特异性杂交该探针的靶 DNA 覆盖这些探针。再用通过链霉抗生物素蛋白/生物素结合而能特异性结合靶/探针识别复合物的链霉抗生物素蛋白偶联的辣根过氧化物酶(HRP)覆盖这些复合物。本领域熟知得到的复合物能催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  还原从而产生催化电流( $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$ )。本领域已知这种方法,例如将偶联的/标记的探针/靶子的结合放大例如几个数量级,或将 HRP 修饰电极的电位调整到比非修饰电极的电位约高 0.7V(更具阳极性)的方法。

本发明的另一实施方案涉及电路的制造方法,包括使第一多核苷酸与纳米材料的第一末端结合而使所述第一多核苷酸与管芯的第一焊点上的第二多核苷酸杂交,还包括使第三多核苷酸与纳米材料的第二末端相连并使第三多核苷酸与位于管芯第二焊点上的第四多核苷酸杂交。该纳米材料优选在第一和第二焊点之间形成导电通路。该纳米材料更优选碳纳米管。在一个变化形式中,第一焊点包含电极并且杂交与该电极上产生的催化电流相偶联。

本发明另一实施方案涉及一种包含第一焊点、第二焊点和连接第一和第二焊点的纳米材料的管芯,其中所述纳米材料通过杂交的多核苷酸与第一和第二焊点相连,所述纳米材料是碳纳米管。

本发明的另一实施方案涉及一种具有三维形状通孔的电极,所述通孔具有如图 6(a)所示的底壁和侧壁。该通孔优选宽约 1-10,000 微米、深约 1-10 微米。制作了测试室底、壁和/或顶的 3D 电极以适应电检测技术也在本发明的实施方案内。这种电极结构可用于增加探针/靶识别和随后的检测可利用的表面区域,从而提高这些装置的灵敏度。图 6(b)显示了计算的含 25 个碱基对的单链 DNA 与互补链杂交所产生的电荷。所产生的电荷量是  $50 \times 1.6 \times 10^{-19}$  库仑。与电极结合的 DNA 的表面覆盖据保守估计约为  $10^{10}$  数量级的 DNA 分子/ $\text{cm}^2$ (已有报道高达  $10^{12} \text{cm}^{-2}$ )。直径 10 nm, 深 10 微米的高径比通孔具有足够的表面区域来检测 DNA 的杂交事件。表面电极应优选大于 1 微米而具有相似的读出值。直径 1 微米, 深 10 微米的通孔产生最低 10 fC 的电荷。

本发明的另一实施方案涉及包括第一、第二和第三电极,用于捕获靶分子的装置,其中第一电极连接有探针分子和聚合物刷,所述第一、第二和第三电极各自为可寻址电极,所述第二和第三电极与第一电极重叠并在第一电极上含

有通道，可将靶分子捕获到该通道内。靶分子优选荷电的靶分子，第二和第三电极优选具有电压差从而在第二和第三电极之间产生电场以确保荷电靶分子被吸引入该通道。探针分子可以是 cDNA 探针和多核苷酸探针。该装置还可具有包含用于独立寻址所述第一、第二和第三电极的开关系统的 CMOS 电路。该装置还可在第一电极和第二电极之间具有金属层，在第二和第三电极之间具有另一金属层。荷电靶分子可以是荷电的 DNA、荷电纳米材料和用荷电 DNA 修饰的纳米材料。在本发明实施方案的一个变化形式中，可关闭与第一电极相接的通道一端并打开该通道的另一端以确保含有 DNA 的靶分子通过该通道的打开端移动。在捕获靶分子装置的实施方案的一个变化形式中，所述第二和第三电极可以是环形的。

图 7 显示了将单链 DNA 捕获入通道，装配有分析电极(即，第一电极)的装置，所述电极在图 7 中显示为分析电极 3。该装置在 3 个金属层上可具有 3 个独立的可寻址电极。环形电极 2(正电极)和电极 1(负电极)之间的电场确保迫使带负电的 DNA(或纳米材料，例如用 DNA 修饰的 CNT、纳米颗粒 Au 等)进入含有探针 DNA(通过适当的表面化学(基团)固定在表面上)的通道。图 7 所示装置利用电场将单链 DNA 通过电极捕获入通道内，从而改进 DNA 杂交检测的得率。

本发明另一实施方案涉及制造捕获靶分子的装置的方法，包括在衬底上形成第一电极，在第一电极上形成第二电极，在第二电极上形成第三电极并在第二和第三电极中形成通道，所述第一、第二和第三电极各自为可寻址电极，在第一电极上的通道使得靶分子可捕获入该通道。该通道优选终止于第一电极的顶部。制造方法还包括在第一、第二和第三电极的任意两个之间沉积一层或多层金属层和沉积一层或多层含硅层。所述第二和第三电极也优选为环形。生产捕获靶分子装置的工艺流程(process flow step)如图 8 所示。在步骤 1 中，使用常规平版印刷术在层间电介质(interlayer dielectric)，例如 SiO<sub>2</sub> 中蚀刻出槽。随后用标准电镀技术给这些槽填充屏蔽材料(barrier material)、种晶(seed)和金属(Au、Pt、Pd)-金属层 1。然后进行化学机械抛光、蚀刻终止沉积并再沉积一层层间电介质(步骤 2)。在步骤 3-5 中，使所述介电层具有含通孔和槽的图案，然后采用双重金属镶嵌法给通孔和槽填充难熔金属(Au、Pt、Pd)。这使得金属层 2 形成环形电

极。步骤 6-7 重复上述步骤使金属层 3 形成环形电极。步骤 2 一起沉积了蚀刻终止层和电介质层。使蚀刻终止层形成图案并在金属和电介质层堆积物中蚀刻出通孔。这使金属层 1 和环形电极(金属层 2 和金属层 3)接触溶液。

在本发明另一实施方案中, 可给通孔和槽填充铜, 然后通过各种非电镀技术(electroless plating technique)用贵金属或难熔金属(Au、Pt、Pd)封盖。

本发明的实施方案可采用硅技术制造硅芯片的内部连线从而能在管芯上合成聚合物, 例如 DNA、肽和 DNA 功能化的互补核苷酸。本发明的实施方案可任选采用晶片加工簇集工具(加工仪器)来合成。在容积硅加工中, 生产线一般具有一串仪器(几台相同的仪器)。每台可支持一步或多步加工步骤。根据本发明的实施方案, 聚合物合成可作为另一加工步骤在装置生产线上处理。为进行晶片水平合成的有效高容积制造, 可在一台设备中配制一串仪器。

可通过任何合适的制造方法, 包括半导体制造法、缩微加工、模塑法、材料沉积法等或这类方法的合适的组合来制造本发明实施方案的装置。在某些实施方案中, 可用半导体制造方法在半导体衬底上形成一个或多个电极和/或焊点。可选择性地在衬底和/或焊点表面的多个部分沉积薄膜无机涂层。合适沉积技术的例子包括真空溅射镀膜、电子束沉积和化学蒸气沉积。无机涂层可行使各种功能。例如, 该涂层可用于增加表面的亲水性或改善高温性能。导电涂层可用于形成电极。涂层可用于在表面形成物理屏障, 例如将液体保留在表面的特定位置上。可按照微阵列和半导体装置制造领域熟知的方法制造本发明所用装置。

在一些实施方案中, 所述探针可选自生物分子, 例如多肽、多核苷酸、糖蛋白、多糖、激素、生长因子、肽聚糖等。探针可以是天然的核苷酸, 例如核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸以及它们的衍生物, 虽然非天然的核苷酸模拟物, 例如 2'-修饰的核苷酸、肽核酸和寡聚的核苷磷酸也可用。在采用寡核苷酸探针的实施方案中, 可采用本领域已知的 3'- $\beta$ -氰基乙基-亚磷酰胺或 5'- $\beta$ -氰基乙基亚磷酰胺以及相关的化学物质在焊点的表面以 3'到 5'或 5'到 3'方向原位合成探针。也可利用核苷酸偶联化学方法以 5'到 3'方向原位合成寡核苷酸, 所述化学方法利用了 3'-光可除去保护基团。或者, 可采用 3'- $\beta$ -氰基乙基-亚磷酰胺以及相关的化学物质并在寡核苷酸的 5'末端上掺入伯胺或巯基功能基团从而在标准受控多孔玻璃(CPG)上以 3'到

5'方向合成寡核苷酸探针。然后可用本领域已知的巯基或氨基依赖性偶联化学方法通过寡核苷酸的5'末端共价地将它们与焊点的表面相连接。表面上探针的密度为每平方微米约1,000-200,000探针分子。就原位合成或合成后沉积方法而言,可通过调节焊点表面的反应基团密度来控制探针密度。可采用本领域已知的其它合适的探针合成方法。

寡核苷酸探针包括但不限于:四种天然的脱氧核糖核苷酸;脱氧胸苷酸、脱氧胞苷酸、脱氧腺苷酸和脱氧鸟苷酸。探针也可以是核糖核苷酸、尿苷酸、胞苷酸、腺苷酸和鸟苷酸。修饰的核苷也可掺入寡核苷酸探针。包括但不限于:2'-脱氧-5-甲基胞苷、2'-脱氧-5-氟胞苷、2'-脱氧-5-碘胞苷、2'-脱氧-5-氟尿苷、2'-脱氧-5-碘-尿苷、2'-O-甲基-5-氟尿苷、2'-脱氧-5-碘尿苷、2'-脱氧-5(1-丙炔基)尿苷、2'-O-甲基-5(1-丙炔基)尿苷、2-硫代胸苷、4-硫代胸苷、2'-脱氧-5(1-丙炔基)胞苷、2'-O-甲基-5(1-丙炔基)胞苷、2'-O-甲基腺苷、2'-脱氧-2,6-二氨基嘌呤、2'-O-甲基-2,6-二氨基嘌呤、2'-脱氧-7-脱氮杂腺苷(2'-deoxy-7-deazadenosine)、2'-脱氧-6-甲基腺苷、2'-脱氧-8-氧代腺苷、2'-O-甲基鸟苷、2'-脱氧-7-脱氮杂鸟苷(2'-deoxy-7-deazaguanosine)、2'-脱氧-8-氧代鸟苷、2'-脱氧肌苷等。

多核苷酸探针长度可以不同,约为5-100个核苷酸,例如约8-80个核苷酸、约10-60个核苷酸、约15-50个核苷酸。较长的多核苷酸探针通常应用于样品含有序列高度复杂的靶分子混合物。较短的多核苷酸探针通常应用于需要鉴别单一核苷酸的场合,例如突变检测。

靶分子可以是核酸,例如基因组DNA、基因组RNA、信使RNA、核糖体RNA或转移RNA、酶方法,例如PCR或逆转录产生的DNA或RNA的寡核苷酸或多核苷酸、任何合成的DNA、RNA或任何其它所需核酸或它们的任何组合。靶分子可以是双链或单链。为提高靶分子与探针序列之间相互作用的效率,优选单链靶分子。靶分子可以含有纳米材料,例如碳纳米管,其中的纳米材料例如是在其末端功能化的含核酸分子的碳纳米管。

对于要与之杂交的互补靶序列,阵列探针的构造可以是通用的或特定的。例如,所有可能的7-单体探针序列的阵列可用于调出具有任何序列的靶(序列)。这种阵列的优点在于其应用不是特定的,因而具有通用性。或者,探针阵列可含有与特定靶序列或一组靶序列以及它们的一个或多个突变体互补的多核苷

酸序列。这种阵列可用于诊断以存在有特定核酸序列为特征的某些疾病。例如，靶序列可以是引起疾病的特异性外源因子，例如人免疫缺陷病毒，或者靶序列可以是已知在某具体疾病中发生突变的人基因组的一部分，例如镰状细胞贫血或囊性纤维化，或是与某些表型相关的已知基因组的一部分，例如对某些药物的抗药性、对某些药物反应过度或甚至对某些药物副作用的易感性。

在本发明的一个实施方案中，晶片衬底上的多个管芯上的聚合物在电极上进行如下所述的功能化。首先给单体、核苷酸或接头分子(即，“连接”例如单体或核苷酸与衬底的分子)的末端加上用保护基团保护的反应功能基团，所述保护基团可通过电化学产生的试剂除去。在电极处产生的电化学试剂与第一选择区域的单体、核苷酸或接头分子的保护基团接触并使之除去，从而暴露反应官能团。衬底然后与单体或预先形成的分子(称为第一分子)接触，从而使表面与单体或预先形成的分子的暴露的官能团结合。第一分子也可携带至少一种受保护的化学官能团，所述官能团可由电化学产生的试剂除去。然后可以相同方式对单体或预先形成的分子脱保护以产生第二反应化学官能团。随后使也可携带至少一种保护基团的不同单体或预先形成的分子(称为第二分子)接近衬底以和第一分子暴露的第二官能团结合，所述保护基团可通过电化学产生的试剂除去。在合成过程中，可任选封盖任何位点的任何未反应的官能团。脱保护和结合步骤可在衬底的预先确定的多个区域依次重复进行直至获得具有所需序列和长度的聚合物或寡核苷酸。

在本发明的另一实施方案中，晶片衬底上多个管芯上的聚合物在电极上进行如下所述的功能化。首先，获得具有一个或多个分子的晶片的衬底，所述分子携带至少一种受保护的，与多个管芯上的电极阵列结合的化学官能团。使电极阵列与缓冲或捕获溶液接触。向电极阵列上所选择的电极施加足以产生能对受保护化学官能团脱保护的电化学试剂的电位后，电极阵列上的分子脱保护并暴露出反应官能团，从而制备用于结合分子。然后使单体溶液或预先形成的分子(称为第一分子)，例如蛋白质、核酸、多糖和卟啉与晶片的衬底表面接触，多糖或预先形成的分子同时与晶片多个管芯上的脱保护的化学官能团结合。随后给阵列的所选择电极施加充足电位以使晶片的多个管芯上的结合分子的至少一种化学官能团或携带至少一种受保护的化学官能团的分子的另一化学官

能团脱保护。然后使具有至少一种受保护的化学官能团的不同单体或预先形成的分子(称为第二分子)与位于晶片的多个管芯处的结合分子的脱保护化学官能团或其它脱保护分子结合。可依次重复进行选择脱保护和结合步骤直至获得具有所需序列和长度的聚合物或寡聚物。通过施加足以实现结合的受保护单体或结合的受保护分子的化学官能团脱保护的另一电位来重复进行选择脱保护步骤。然后使另一单体或预先形成的分子与脱保护的化学官能团结合直至在衬底上形成具有所需长度的至少两种分开的聚合物或寡核苷酸。

本发明的实施方案也可用于按本领域技术人员已知的任何方法实施电化学方法合成聚合物,例如 DNA 和肽。例如,可采用各种氧化/还原(氧化还原)反应用电化学方法控制溶液在 Si 电极上的溶液电位和 pH,从而连接并延伸聚合物。在这种方法中,电流驱动阳极处合适分子的氧化与阴极处另一分子的还原来控制 Si 电路上酸催化的有机合成的动力学和化学计量。这种方法也可用于产生高 pH(碱性)溶液并驱动本领域技术人员已知的可导致或不导致 pH 改变的任何其它电化学氧化还原反应(例如,也可用于产生反应活性自由基)。

本发明的另一实施方案是采用阵列芯片进行电化学检测。这些方法通常检测流过与硅衬底上电路相连的 DNA 单层的电流。当 DNA 单层被合适的氧化还原分子标记的测试 DNA 或未标记 DNA 结合时,电流性能成比例改变,所述标记的测试 DNA 或未标记 DNA 与能特异性结合双链 DNA 的氧化还原活性分子共同加入。为提高结合所产生的电化学信号,也可在这种试验中加入酶扩增方法。应注意本领域技术人员也可用这些方法来检测其它种类分子之间,例如两种蛋白质或一种蛋白质与一种小分子之间的结合。

此阵列芯片也可用于开发治疗性材料,即开发药物和研究生物材料以及生物医学研究、分析化学、高通量化合物筛选和生物过程监测。示范性应用领域包括将特定受体的各种已知配体置于该阵列芯片上和使配体和标记的受体之间杂交。

本发明实施方案阵列芯片的另一应用领域包括,例如通过采用杂交的测序技术对基因组 DNA 进行测序。也考虑了非生物学应用领域,包括产生用于例如半导体装置中的具有不同掺杂水平的有机材料。非生物学应用的其它例子包括防腐蚀剂、抗污剂和油漆。

特别考虑了本发明实施方案的阵列芯片和/或该阵列芯片的制造方法可用于开发用于各种目的的新材料、特别是纳米材料，包括但不限于：耐腐蚀、电池能量储存、电镀、低压磷光(low voltage phosphorescence)、骨移植相容性、海洋生物的耐污染、超导性、外延晶格匹配(epitaxial lattice matching)或化学催化。例如，可在紧邻一个或多个与硅晶片的多个管芯平行的电极处形成用于这些和其它用途的材料。或者可通过电化学产生试剂来修饰多个管芯上的一个或多个电极表面来形成这些材料。

还考虑了本发明实施方案的阵列芯片可用于开发测试材料的筛选方法。即，通过管芯上的电极经电化学产生的试剂可用于测试电极附近材料的理化性能。例如，该阵列芯片可用于测试耐腐蚀性、电镀效率、化学动力学、超导性、电化学发光和催化剂使用寿命。

本发明实施方案的一些优良性能见实施例中的描述，这些实施例只是本发明的示范例。

例如，本发明实施方案的阵列芯片优选是用硅加工技术和 SRAM 样结构构造的硅生物芯片，所述结构含有电路，包括电极阵列、解码器、串行外围接口、芯片上放大器。

本发明的实施方案具有几种实际用途。例如，本发明的一个实施方案可利用基于 CMOS 的装置以特异性结合事件(靶分子与含探针的功能化电极结合)的电读数为基础进行分子和纳米材料的检测/分析。本发明的另一实施方案具有用于电子装置(CNT 晶体管 and 互连)中的纳米材料研究(例如，原位分析功能化电极上的碳纳米管的 DNA 介导的装配)以及检测用于分子诊断的生物种类(DNA、蛋白质、病毒等)、国土安全、药物发现和生命科学研究工作的潜在用途。本发明另一实施方案可以是纳米材料，例如碳纳米管作为互连材料的潜在用途。碳纳米管具有低于 Cu 的电阻和较高的电迁移耐受性(比 Cu 高 1000 倍)。还有另一应用领域可以是开发用于固定、检测、寻址、电读出的带有 CMOS 电路的 DNA 功能化电极，和可能发现信号放大在硅 DNA 芯片中具有潜在的用途。可能发现含有 DNA 功能化电极的硅芯片在构建纳米材料的纳米结构和原位装配研究中具有潜在的用途。也可能发现硅 DNA 芯片在医学诊断、国土安全装置、药物发现和生命科学研究工作中具有潜在的用途。



---

本申请公开了几种数值范围界限，其支持了所公开的数值范围内的任何范围，虽然说明书中未逐字说明精确的范围界限，但是本发明的实施方案可通过所公开的数值范围得以实施。最后，本申请引用的专利和出版物的所有内容(如果有)全文纳入本文作为参考。

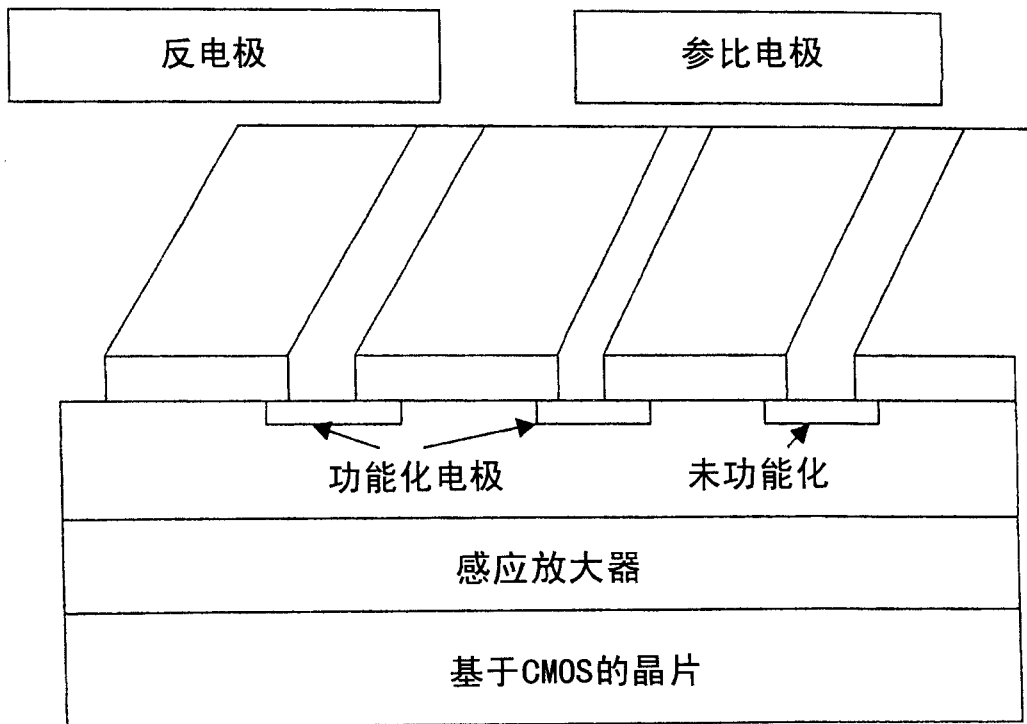


图 1

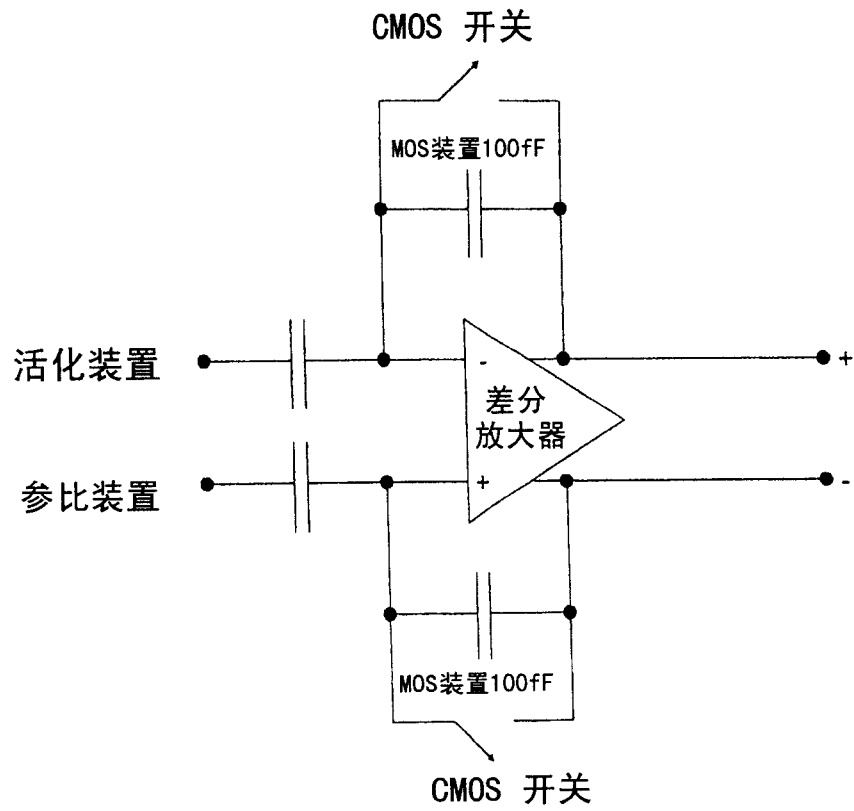


图 2

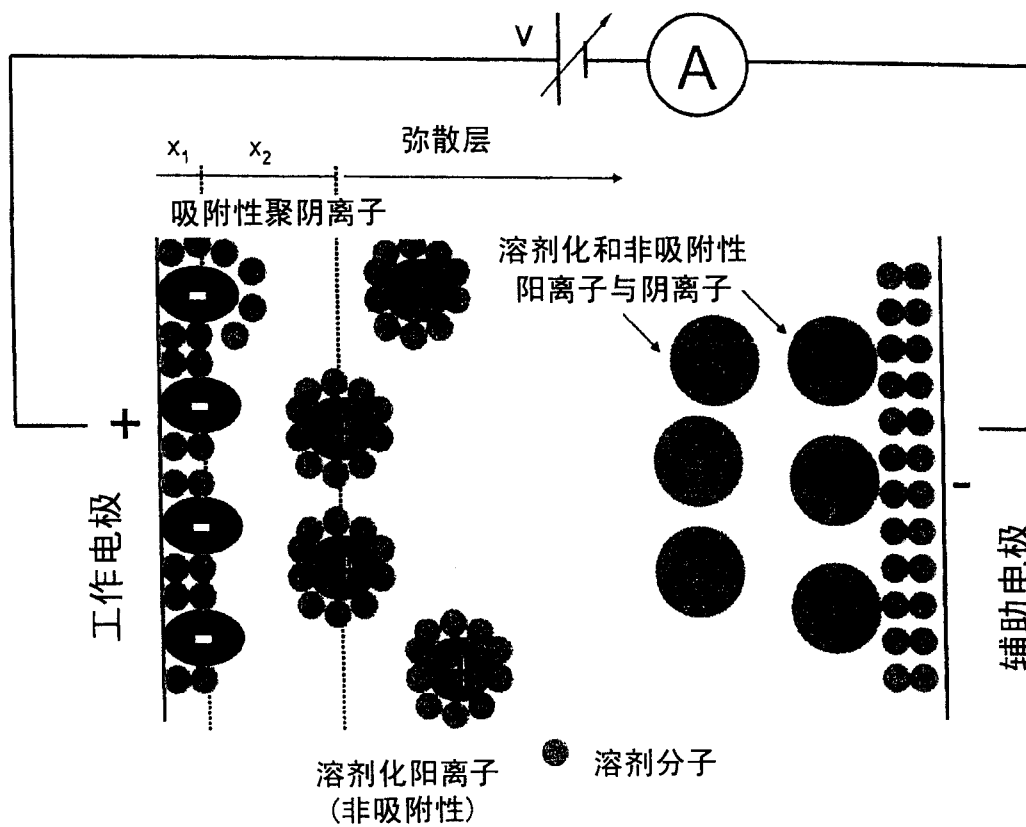


图 3

杂交前后浮动电极的示意图

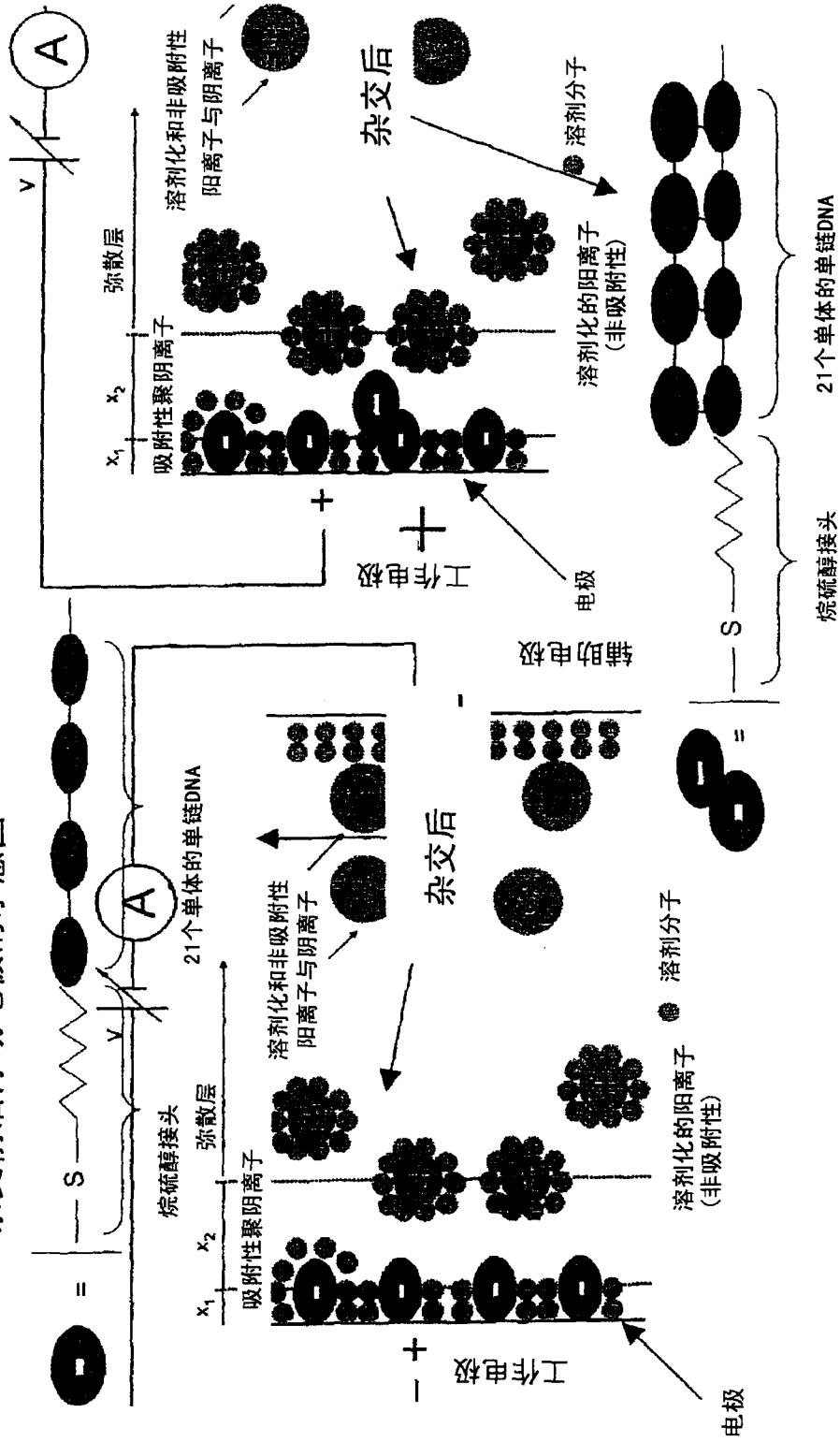


图 4

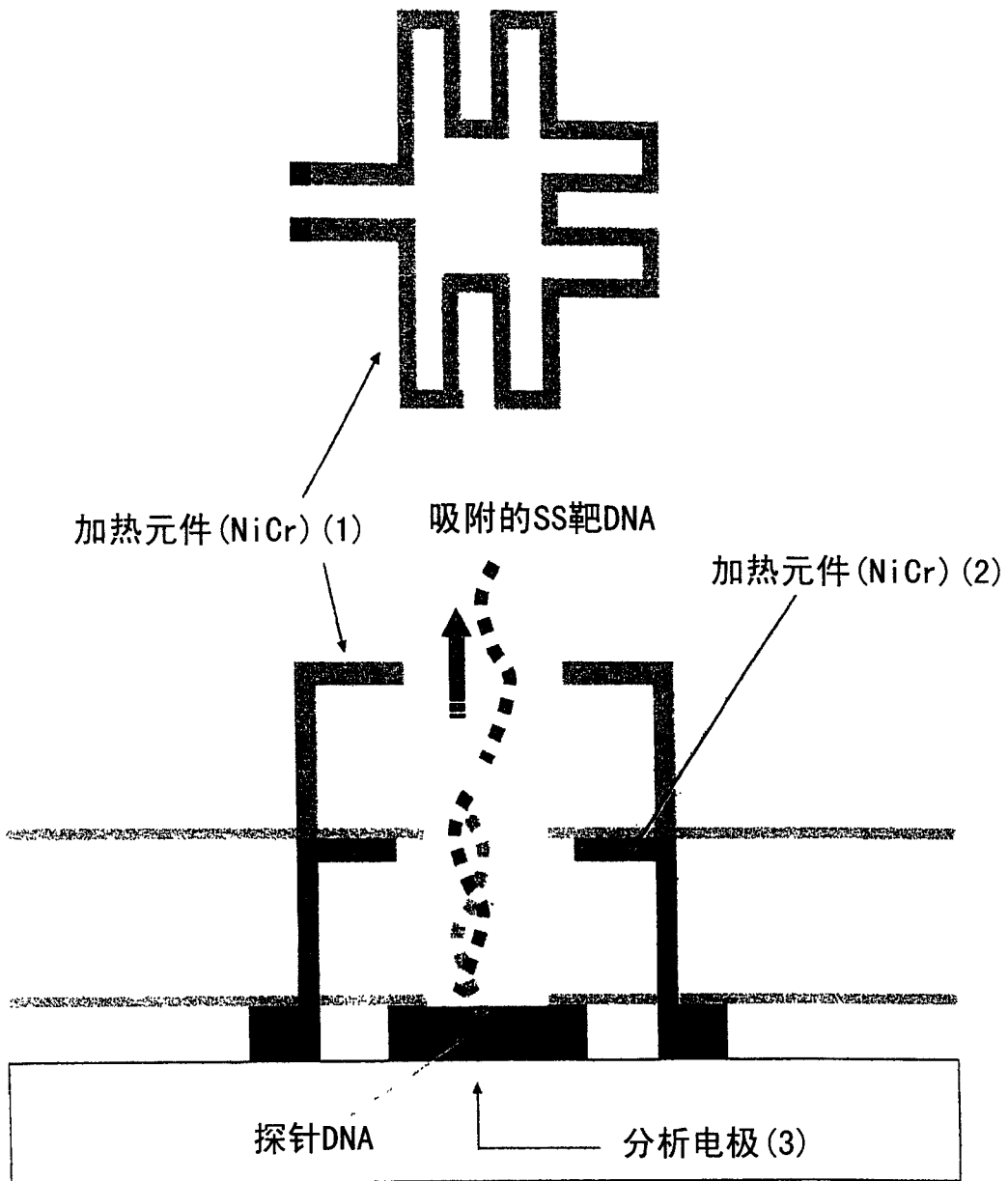


图 5

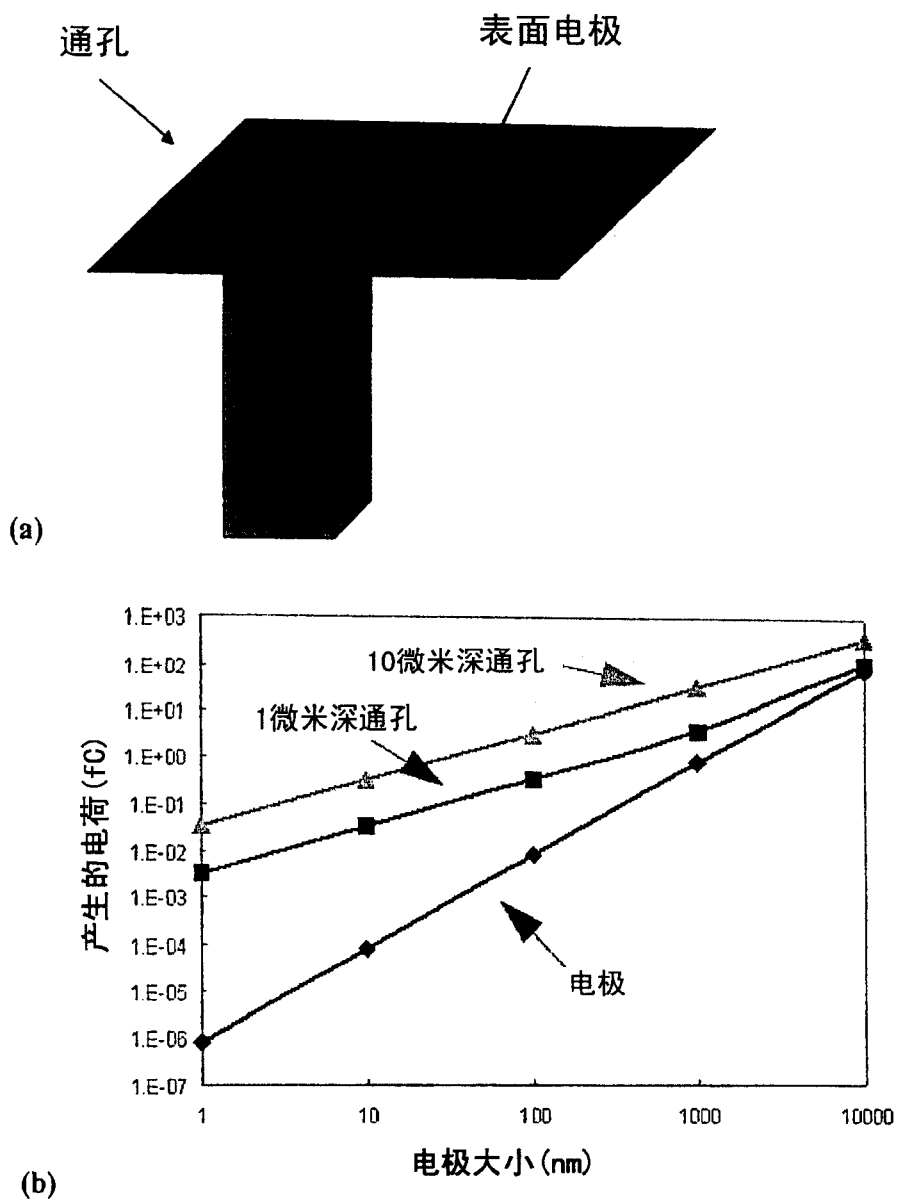


图 6

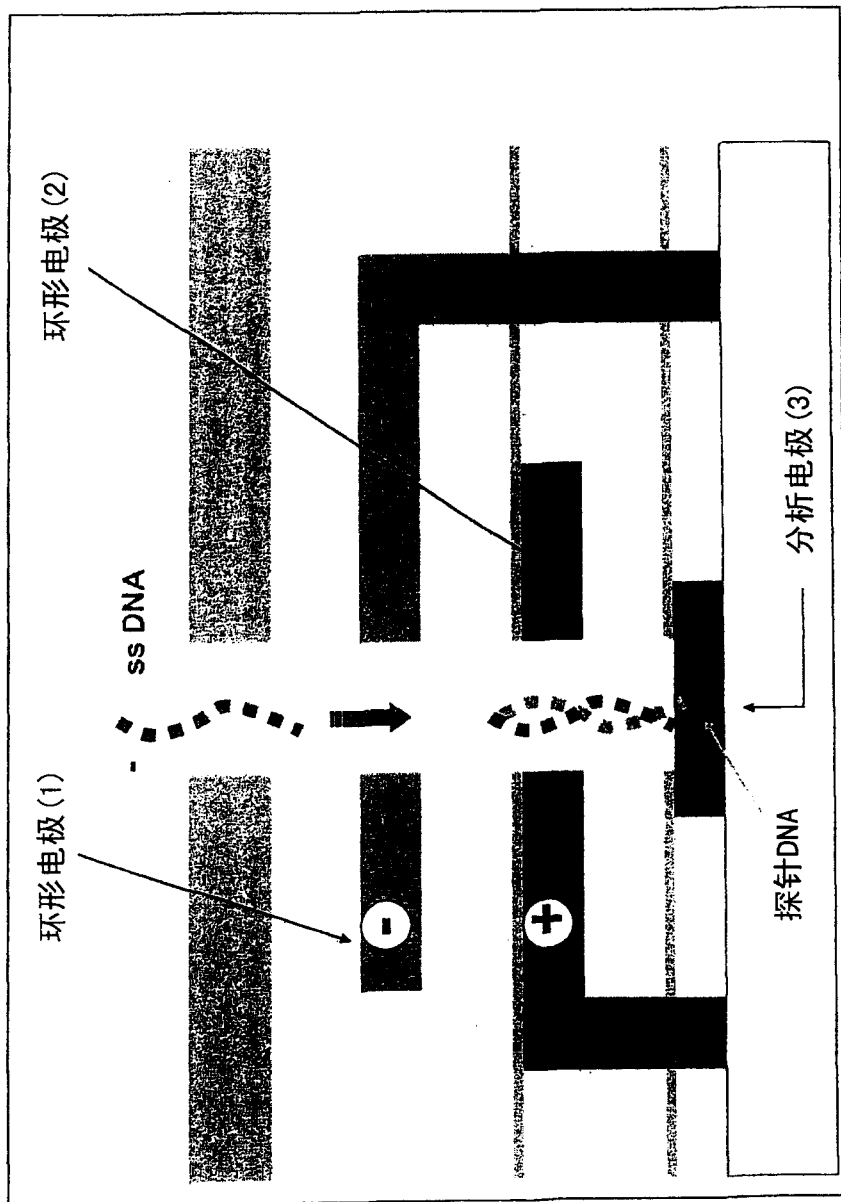


图 7



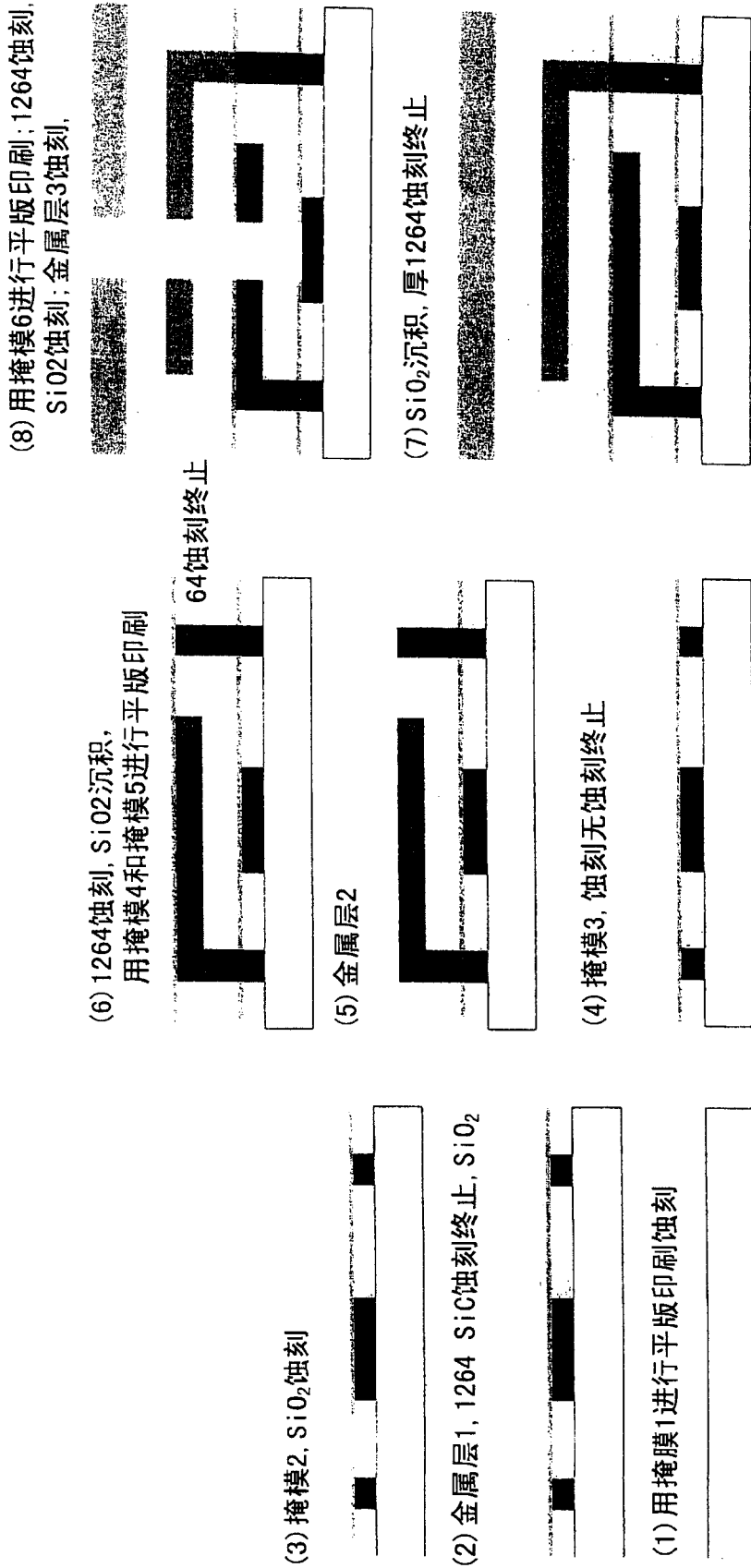


图 8