



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102667446 A

(43) 申请公布日 2012. 09. 12

(21) 申请号 201080049631. 2

(22) 申请日 2010. 10. 05

(30) 优先权数据

S2009/0855 2009. 11. 05 IE

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 05. 03

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2010/064862 2010. 10. 05

(87) PCT申请的公布数据

W02011/054614 EN 2011. 05. 12

(71) 申请人 沃特福德技术学院

地址 爱尔兰沃特福德

(72) 发明人 J. 奥玛霍尼

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 史新宏

(51) Int. Cl.

G01N 21/55(2006. 01)

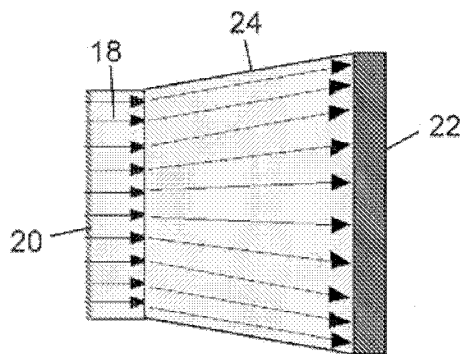
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

(54) 发明名称

纳米孔洞阵列生物传感器

(57) 摘要

一种生物传感器包括光透射光学组件 (18), 所述光透射光学组件包括多个并排熔接的光学纤维, 所述纤维在所述组件的相对面之间延伸并在其上结束用于将光传输通过所述组件。在所述光学组件的一个面上涂覆黄金膜 (20), 以及在黄金膜中形成的多个纳米孔洞阵列。



1. 一种生物传感器,包括:光透射光学组件,包括并排熔接的多个光纤,所述光纤在所述组件的相对面之间延伸并在其上结束用于将光传输通过所述组件;涂覆在所述光学组件的一个面的至少一部分上的金属性膜;以及在所述金属性膜中形成的多个纳米孔洞阵列。

2. 如权利要求 1 所述的生物传感器,其中,所述光学纤维在所述光学组件的相对面之间彼此实质上平行地延伸。

3. 如权利要求 1 所述的生物传感器,其中,所述光学纤维在所述光学组件的相对面之间汇聚。

4. 如权利要求 1、2 或 3 所述的生物传感器,其中,所述组件是板,所述相对面为该板的相对的实质上平行的表面。

5. 如任一前述权利要求所述的生物传感器,其中,所述纳米孔洞的最大尺寸  $d$  小于 500nm,优选地为从 80nm 到 200nm。

6. 如任一前述权利要求所述的生物传感器,其中,每个阵列具有  $d(1+n)$  的周期,其中  $d$  是纳米孔洞的最大尺寸,并且  $n$  具有从 0 到 4 的值。

7. 如任一前述权利要求所述的生物传感器,其中,金属性层的厚度小于 100nm,优选地小于 80nm,并且最优选地为从 10nm 到 14nm。

8. 如任一前述权利要求所述的生物传感器,其中,金属性层具有至少一个孔洞,该孔洞的最大尺寸至少是纳米孔洞的最大尺寸的十倍。

9. 如任一前述权利要求所述的生物传感器,其中,所述光学组件的一个面形成有多个凹陷,并且相应金属性膜纳米孔洞阵列被形成在所述凹陷的至少一些中。

10. 如权利要求 9 所述的生物传感器,其中,每个凹陷具有高达 2mm 的深度。

11. 如权利要求 9 或 10 所述的生物传感器,其中,每个凹陷具有高达  $0.5\text{cm}^2$  的面积。

12. 如任一前述权利要求所述的生物传感器,其中,所述金属性膜包括黄金。

13. 如任一前述权利要求所述的生物传感器,其中,所述光学组件的另一面被光学地耦接到光感测阵列。

14. 如权利要求 13 所述的生物传感器,其中,所述另一面被直接耦接到光感测阵列。

15. 如权利要求 13 所述的生物传感器,其中,所述另一面经由纤维光锥而间接耦接到所述光感测阵列,以至少部分地补偿所述另一面和感测阵列的区域之间的面积差异。

16. 一种制造生物传感器的方法,包括:提供包括并排熔接的多个光纤的光透射光学组件,所述光纤在所述组件的相对面之间延伸并在其上结束以用于将光传输通过所述组件;在所述光学组件的一个面的至少一部分上涂覆金属性膜;以及在所述金属性膜中形成多个纳米孔洞阵列。

17. 如权利要求 16 所述的生物传感器,其中,所述光学组件的一个面形成有多个凹陷,并且相应的金属性膜纳米孔洞阵列被形成在所述凹陷的至少一些中。

18. 一种生物感测装置,包括:如权利要求 13、14 或 15 中要求保护的生物传感器,用于照亮纳米孔洞阵列的给定波长的单色光源,以及用于处理从光感测阵列输出的信号的处理部件,其中所述纳米孔洞具有亚波长尺寸,并且所述金属性膜具有至少一个具有超波长尺寸的孔洞。

## 纳米孔洞阵列生物传感器

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种纳米孔洞 (nanohole) 阵列生物传感器, 以及一种包括该传感器的生物感测装置。

### 背景技术

[0002] W. L. Barnes, A. Dereux, T. W. Ebbesen, *Nature* 24 (2003) 804-830 公开了一种通过亚波长 (sub-wavelength) 孔径的特殊的光传输 (EOT), 其中通常入射在包含亚波长纳米孔洞的周期性阵列的金属膜上的可见光展示出比先前预期的更高的、作为幅度量级的峰值传输强度。纳米孔洞阵列是使用聚焦离子束加工 (milling) 而在沉积在玻璃衬底上的光学厚黄金膜上制作的。

[0003] 纳米孔洞的短有序阵列 (short ordered array) 以与周期性光栅 (grating) 相似的方式起作用, 允许入射辐射以激发特征频率的表面等离子体 (plasmon) 模式, 该特征频率取决于金属的介电函数、孔洞阵列的周期性、以及在金属膜表面的介质的介电函数。光通过孔洞传输的过程取决于金属膜的厚度。

[0004] 对于其中厚度太大以至于不能允许膜的两侧之间的等离子体 / 等离子体耦合的光学厚膜, 所述过程涉及向下隧道传送而通过孔径墙的消逝 (evanescent) 波, 导致在发射侧的小振幅光, 例如, 如 A. Kishnihan, T. Thio, T.J. Kima, H. J. Lezec, T. W. Ebbesen, P. A. Wolff, J. Pendry, L. Martin Moreno, F. J. Garcia-Vidal, *Opt. Commun* 200 (2001) 1-7 所公开的。在此点上, 等离子体在相对侧重新耦合到金属性的膜, 并且它们相关联的场干扰, 导致光的传播。

[0005] 对于其中存在相当多的等离子体 / 等离子体重叠的光学薄金属膜, 光发射显著增强。

[0006] P. R. H Strark, A. E. Halleck, D. N. Larson, *Methods* 37 (2005) 37-47 公开了纳米孔洞等离子体在生物感测的领域中的应用。这涉及用于通过在黄金膜上制作的纳米孔洞结构发送的光强度中的变化来检测折射率改变的感测方法。纳米孔洞结构是通过使用聚焦离子束来产生以 500nm 为周期的孔洞阵列而在光学厚膜上制作的。

[0007] 分别地, A. Dahlin, M. Zach, T. Rindzevicius, M. Kall, D. S. Sutherland, F. Hook *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 5043-5048 公开了用于生物感测的 EOT 的适用性。在他们的实验中, 在黄金的光学薄膜中随机地制作纳米孔洞, 并且证明了生物素 (biotin) / 中性链亲和素 (neutravidin) 免疫测定概念。在两种情况下, 生物传感器是基于穿过在标准显微镜玻璃切片上制作的纳米孔洞的周期性阵列的光传输。

[0008] J. C. Yang, J. Ji, J. M. Hogle, D. N. Larson *Biosensors and Bioelectronics*, 24 (2009), 2334-2338 公开了在单个衬底上的  $60 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$  区域内构建不同周期性的多达 25 个独立纳米孔洞阵列, 用于多元等离子体感测。

[0009] A. Dhawan, J. F. Muth *Materials Science and Engineering ;B*, 149 (3), (2008), 237-241 公开了在单独的单模和多模光纤的尖端构建的、并且展示了它们对于光纤光感测

的可行性的纳米孔洞阵列。

[0010] 表面等离子体 (SP's) 是在金属表面出现的折射率敏感的电荷密度振荡。经由增加入射光的动量 (momentum) 以满足等离子体散射关系的适当耦合机制而利用光方便地激发, 已经将它们成功地布置于许多商业仪器中作为调查化学和生化交互作用的方法。如在 US 6, 441, 904 和 US 2006/0108219 中公开的, 这些仪器典型地使用棱镜、波导或光栅来增加在连续金属表面上入射的光的动量, 所述连续金属表面包含担当电介质的接纳分子的层。它们的在金属和电介质的接触面周围的折射率的改变的灵敏度导致光的角度分布、反射谱或反射强度的改变。对其的测量提供配体-受体结合 (ligand-receptor binding) 的无标记测量, 用于化学和生化化验。

[0011] 在一次记录多个单独化验时, 等离子体共振检测的这些方法并不轻易给予它们自身高吞吐量筛选 (screening) 应用。

### 发明内容

[0012] 本发明提供一种生物传感器, 包括: 光透射光学组件, 包括并排熔接的多个光纤, 所述光纤在所述组件的相对面之间延伸并在其上结束用于将光传输通过所述组件; 涂覆在所述光学组件的一个面的至少一部分上的金属性膜; 以及在所述金属性膜中形成的多个纳米孔洞阵列。

[0013] 优选地, 所述光学组件的一个面形成有多个凹陷, 并且相应金属性膜纳米孔洞阵列被形成在所述凹陷的至少一些中。

[0014] 本发明还提供一种制造生物传感器的方法, 包括: 提供包括并排熔接的多个光纤的光透射光学组件, 所述光纤在所述组件的相对面之间延伸并在其上终止用于将光传输通过所述组件; 在所述光学组件的一个面的至少一部分上涂覆金属性膜; 以及在所述金属性膜中形成多个纳米孔洞阵列。

[0015] 本发明还提供一种生物感测装置, 包括: 如上指定的生物传感器; 用于照亮纳米孔洞阵列的在给定波长的单色光源; 以及处理部件, 用于处理从光感测阵列输出的信号, 其中所述纳米孔洞具有亚波长尺寸, 并且所述金属性膜具有至少一个具有超波长尺寸的孔洞。

### 附图说明

[0016] 现在将借助于示例, 参照附图, 来描述本发明的实施例, 附图中:

[0017] 图 1 是用于测量 EOT 的传统安排的示意图。

[0018] 图 2 是根据本发明的生物传感器的实施例的示意性侧视图。

[0019] 图 3 是合并如图 2 所示的生物传感器的生物感测设备的示意图。

### 具体实施方式

[0020] 图 1 示出了用于测量 EOT 的现有技术纳米孔洞阵列生物感测装置。在涂覆在玻璃切片 12 上的黄金膜 10 中形成多个亚波长纳米孔洞阵列。利用单色光照亮黄金膜 10, 并且穿过切片 (slide) 12 传输的光通过油浸透镜 16 而被聚焦在 CCD 检测器 (感光阵列) 14 上。在使用时, 将小量的生物学分析物放置于每个纳米孔洞阵列上, 并且以已知方式对由 CCD

检测器关于每个纳米孔洞阵列而感测的光的强度进行分析,以便提供关于样本的信息。这个装置的一个缺点在于在纳米孔洞膜的接触面处的光散射以及玻璃切片降低了光传输到 CCD 检测器的效率。

[0021] 图 2 示出了根据本发明的生物传感器的实施例。所述生物传感器包括纤维光学面板 (faceplate) 18, 例如, 美国纽约州 10523, Elmsford, Schott North America 公司所生产的类型。面板 18 包括并排 (side-by-side) 熔接的多个并行光学纤维, 所述纤维在面板的相对平行主表面之间垂直延伸并终止在其上以便形成光学透明板, 其允许从板的一个主表面到另一个主表面的 1 : 1 光传输。优选地, 每个光学纤维具有大于 6 微米的核心直径, 并且熔接的面板优选地面积大于  $1\text{m}^2$ , 最优选地尺寸上至  $15\text{cm} \times 15\text{cm}$ , 与传统微井板 (well plate) 的尺寸对应。

[0022] 在第一实施例中, 面板 18 的每个主表面都被打磨平坦并且光滑, 没有除了要在它们之一上形成的纳米孔洞阵列以外的额外结构。

[0023] 在第二实施例中, 面板 18 的一个主表面提供有圆形凹陷或井的矩阵, 其容纳纳米孔洞阵列, 并且在使用中, 容纳要测试的分析物。优选地, 一系列的井是使用粉末爆破制作的, 诸如, 由荷兰的艾恩德霍芬市 (Eindhoven) 的 Anteryon BV 所提供的) 制作的。面板 18 可以在矩形矩阵中包括多达 1536 个单独的井, 每个井容纳多达 1ml 的液体。例如, 每个井可以是上至 2mm 深并且面积为  $0.5\text{cm}^2$ 。

[0024] 面板 18 的一个主表面至少部分地涂覆有黄金膜 20。膜 20 的厚度小于 100nm, 优选地厚度小于 80nm, 并且最优选地厚度为从 10nm 到 14nm。如以上所讨论的, 厚于 100nm 的层在光学上很厚, 并且不能展示 EOT。面板 18 在主表面上被提供有井时, 将黄金膜沉积在该表面上, 至少在井内。

[0025] 在黄金膜 20 中形成多个矩形阵列的纳米孔洞。在面板 18 具有井处, 纳米孔洞的阵列被形成在井内的黄金膜上, 至少在包含担当单独传感器的各自阵列的多数井处 (如将要描述的, 有些井可能包含更大的孔洞)。纳米孔洞阵列可以通过电子束或软胶体平版印刷 (soft colloidal lithography) 技术来制造, 所述技术诸如被描述在如下文献中: “Colloidal lithography and current fabrication techniques producing in-plane nanotopography for biological applications”, MA Wood, J R Soc Interface(2007) 4, 1-17, 2006 年 8 月 23 日。

[0026] 纳米孔洞优选是圆形的并且具有亚波长直径, 典型地在 80nm 到 200nm 的范围内, 但是在任何情况下优选地小于 500nm。对于“亚波长”, 我们意思是纳米孔洞的直径小于正在使用的用于照亮阵列的光的波长。每个阵列都具有周期 P, 其是纳米孔洞直径的整数倍:

$$P = d(1+n)$$

[0027] 其中,  $d$  是纳米孔洞的直径, 并且  $n$  优选地是 0 和 4 之间的整数值。纳米孔洞的周期优选地不大于 2.5 微米。

[0028] 假定满足以上要求, 不需要所有阵列具有相同的纳米孔洞直径或阵列周期, 并且虽然它们应该是规则的, 但是它们不必是矩形阵列。此外, 纳米孔洞不必是圆形的, 在这种情况下, 以上的  $d$  指代它们的最大尺寸。

[0029] 除了亚波长纳米孔洞以外, 在至少一些井 (在存在井处) 中的黄金膜中形成许多超波长孔洞, 并且这些将具有至少比纳米孔洞大 10 倍 (典型地大于 1.6 微米) 的直径或最

大尺寸。由于面板 18 允许光直接通过这些超波长孔洞,它们当作消失,这可以用于确定在邻近纳米孔洞上入射的光的强度,使得感测电路能够确定对于正在通过邻近纳米孔洞传输的光的基线,并且从而改善后续处理中的信噪比。

[0031] 与承载黄金膜的表面相对的面板 18 的主表面经由纤维光锥 (optic taper) 24 被耦接到 CCD 检测器 22,所述光锥 24 与 CCD 检测器结合。CCD 检测器的面积可以为从  $20 \times 20\text{mm}$  到  $100 \times 100\text{mm}$ ,并且包括多达  $8192 \times 8192$  个像素;所述锥 24 可以从检测器 22 到面板 18 变宽或者变窄,以便补偿面板 18 和检测器之间的面积差。所述锥担当波导,以从传感器直接向 CCD 像素传输光。英国的埃塞克斯郡 CM1 2QU 的切姆斯福德市的 E2V Technologies 上市公司供应具有附带纤维光锥的 CCD 传感器。熔接的纤维面板 18 可以通过光学胶体来与 CCD/锥组合件对接,然后将所述两个组件弹簧耦接在一起。

[0032] 纤维光学面板 18 具有高数值孔径以用于直接收集传输光,数值孔径对于 CCD 锥和纤维光学面板都接近 1。整合 (binning) 和合并各个像素以便形成超像素创建了足够大小的光检测器,以从形成实际传感器的传感器阵列的单个集合收集光。

[0033] 优选地,将来自图 3 中单色仪 26 的单一波长光直接聚焦于面板 18 上的黄金膜 20 上。CCD 检测器 22 记录每个纳米孔洞阵列的传输光谱。在这种情况下,由用于处理输出自 CCD 检测器的信号的处理电路 28 来确定峰值传输波长。峰值传输波长根据以下等式,与纳米孔洞阵列的周期、黄金膜的介电函数以及接触膜的分析物的介电函数有关:

$$[0034] \quad \lambda_{\max} = \frac{P}{v} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}}$$

[0035] 其中,  $v$  是衍射级并且  $P$  是光栅的周期。

[0036] 一种可替换布置允许宽带辐射直接照亮传感器。在这种情况下,测量传输信号的振幅。

[0037] 在其它实施例中,可以将面板 18 直接光学地耦接到 CCD 检测器 22 (即,省略锥 24),如果这两个组件的面积兼容的话,并且面板其自身可以合并轻微的锥。可替换地,可以直接在锥 24 上形成黄金膜 20 和纳米孔洞阵列,省略面板 18。

[0038] 虽然在实施例中膜 20 是由黄金制成的,还可以使用其它金属性膜,诸如,银、铂和钯。

[0039] 本发明不限于在此描述的实施例,其被修改或改变,而不背离本发明的范围。

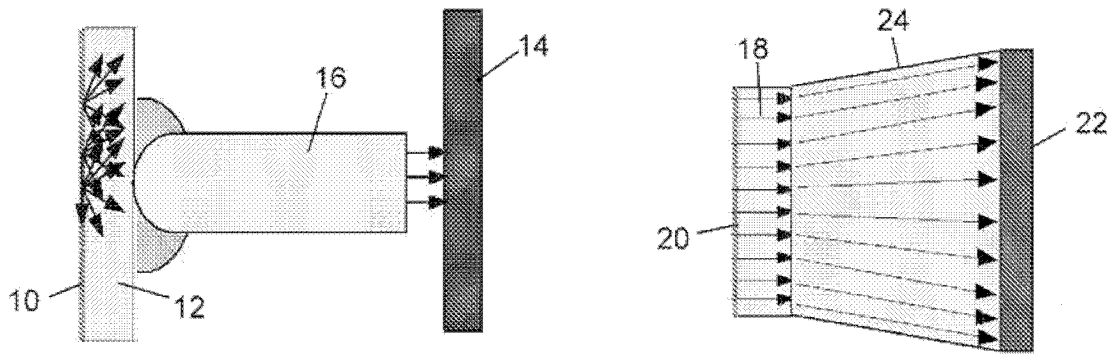


图 1(现有技术)

图 2

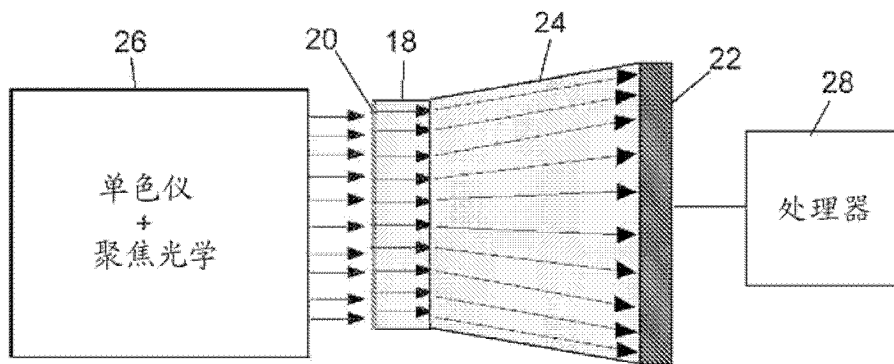


图 3