



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102326068 B

(45) 授权公告日 2015.04.08

(21) 申请号 201080008563.5

GO1B 9/02(2006.01)

(22) 申请日 2010.02.19

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

61/208,215 2009.02.20 US

61/279,077 2009.10.15 US

CN 1875243 A, 2006.12.06, 全文特别是说明书第6页第2行—第7页第8行以及图1—2.

CN 1875243 A, 2006.12.06, 全文特别是说明书第6页第2行—第7页第8行以及图1—2.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011.08.19

US 6655849 B1, 2003.12.02, 全文特别是说明书第2栏第8行—第3栏第54行和图1—3.

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2010/024801 2010.02.19

US 7319525 B2, 2008.01.15, 全文特别是说明书第4栏第64行—第5栏第58行以及图1—2.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/096702 EN 2010.08.26

US 7319525 B2, 2008.01.15, 全文特别是说明书第4栏第64行—第5栏第58行以及图1—2.

(73) 专利权人 万迈医疗仪器有限公司

地址 美国加利福尼亚州

US 6028666 A, 2000.02.22, 全文.

(72) 发明人 谭洪 谭玉山 曹二华 夏明

罗伯特·F·祖克

CN 2524241 Y, 2002.12.04, 全文.

JP 2007501403 A, 2007.01.25, 全文.

(74) 专利代理机构 北京商专永信知识产权代理

事务所(普通合伙) 11400

代理人 郭玥 葛强

US 2008291456 A1, 2008.11.27, 全文.

审查员 王树玲

(51) Int. Cl.

GO1N 21/25(2006.01)

GO1N 21/45(2006.01)

GO1N 33/483(2006.01)

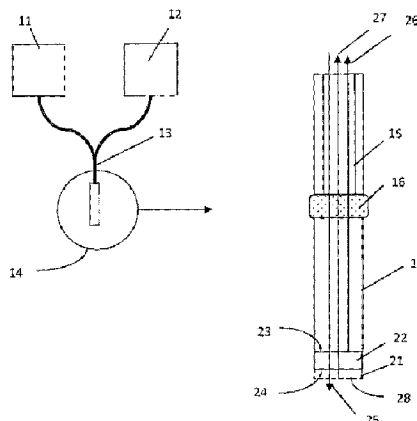
权利要求书2页 说明书9页 附图9页

(54) 发明名称

一种用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物的组件

(57) 摘要

本发明涉及一种组件,其用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物。该组件包括波导管,光学连接该波导管的整体式衬底,和直接结合至该整体式衬底的传感侧的薄膜层。该整体式衬底的折射指数比该薄膜层的透明材料的折射指数高。当样品中的被分析物分子与该薄膜层上涂覆的被分析物结合分子结合时,从第一反射面和第二反射面反射入该波导管的光之间的频谱干涉发生变化。



1. 一种用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物的组件,包括:

波导连接器,其包括波导管,其中该波导管将光信号从光源传递至该组件,并且该波导管将反射光信号从该组件传递至检测器;

整体式衬底,其具有结合侧和传感侧,该结合侧通过结合毂连接至该波导连接器;

结合介质,其位于该波导连接器和该整体式衬底之间,使该波导管与该整体式衬底光学连接,无任何间隙;其中该整体式衬底的折射指数高于该波导管的折射指数,其中该结合介质的折射指数介于该整体式衬底的折射指数和该波导管的折射指数之间;和

薄膜层,其直接结合至该整体式衬底的传感侧,

其中该薄膜层包括透明材料,包括被分析物结合分子层的第一反射面,和在该薄膜层和该整体式衬底之间的第二反射面,

由此,在样品中的被分析物分子结合至被分析物结合分子时,从所述第一和所述第二反射面反射入该波导管的光之间的频谱干涉发生变化。

2. 如权利要求 1 所述的组件,其中该整体式衬底的折射指数高于该薄膜层的透明材料的折射指数。

3. 如权利要求 1 所述的组件,其中该结合介质的折射指数大于 1.3。

4. 如权利要求 1 所述的组件,其中该整体式衬底是传感器纤维。

5. 如权利要求 1 所述的组件,其中该结合毂被插入该波导连接器。

6. 如权利要求 1 所述的组件,其中该结合毂包括结合介质。

7. 如权利要求 1 所述的组件,其中该波导连接器为套管,并且该套管被插入该结合毂。

8. 如权利要求 1 所述的组件,其中该波导连接器为套管,并且该结合介质在该套管和该结合毂的底部之间。

9. 一种用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物的组件,包括:

波导管;

整体式衬底,其具有结合侧和传感侧,该结合侧被光学连接至该波导管;

结合介质,其位于该波导管和该整体式衬底之间;其中该整体式衬底的折射指数高于该波导管的折射指数,其中该结合介质的折射指数介于该整体式衬底的折射指数和该波导管的折射指数之间;其中该结合介质的直径大于该整体式衬底的直径;

薄膜层,其直接结合至该整体式衬底的传感侧;其中该薄膜层包括透明材料,包括被分析物结合分子层的第一反射面,和在该薄膜层和该整体式衬底之间的第二反射面;

其中该波导管将光信号从光源传递至该组件,并且该波导管将反射光信号从该组件传递至检测器;和

其中该整体式衬底的折射指数高于该薄膜层的透明材料的折射指数;

由此,在样品中的被分析物分子结合至被分析物结合分子时,从所述第一和所述第二反射面反射入该波导管的光之间的频谱干涉发生变化。

10. 根据权利要求 9 的组件,其中该结合介质的折射指数大于 1.3。

11. 根据权利要求 1 或 10 的组件,其中该整体式衬底的长度比宽度或长度比直径的纵横比至少为 5 比 1。

12. 根据权利要求 1 或 10 的组件,其中该整体式衬底由玻璃,石英,或塑料组成。

13. 根据权利要求 1 或 10 的组件,其中该整体式衬底的折射指数至少为 1.55。

14. 根据权利要求 1 或 10 的组件, 其中 Y 形光学纤维结合器从该波导管连接至该光源和该检测器, 其中连接至该检测器的分支直径大于连接至该光源的分支直径。

一种用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物的组件

技术领域

[0001] 本发明涉及改善在样品中检测一种或多种被分析物的存在, 含量, 或结合率的装置, 特别是采用薄膜干涉计技术的装置。

背景技术

[0002] 基于被分析物-抗-被分析物结合配对的成员之间的结合事件的诊断测试被广泛应用于医学, 兽医学, 农业和研究用途。通常这类方法被用于检测样品中被分析物的存在或含量, 和/或该被分析物和抗-被分析物的结合率。典型的被分析物-抗-被分析物对包括核酸的互补链, 抗原-抗体对, 和受体-受体结合剂, 其中被分析物可以是该配对中任一成员, 以及该抗-被分析物分子, 相对成员。

[0003] 此类型的诊断方法经常采用具有已固定的抗-被分析物分子的固体表面, 样品被分析物分子将对其特异性结合, 并在限定的检测区域有高亲合力。在这类被称为固相分析的分析法中, 该固体表面在促进被分析物结合至已固定的抗-被分析物分子的条件被暴露至样品。结合事件可以被直接检测, 例如, 通过在质量, 反射率, 厚度, 颜色或其它结合事件的特性指示方面的变化。如果该被分析物经过预标记, 例如, 用发色团, 或荧光或放射标记, 该结合事件可通过在检测区域的可检测标记的存在和/或量进行检测。另外, 该被分析物可以在其结合于检测区域之后进行标记, 例如, 用第二荧光标记的抗-被分析物抗体。

[0004] 美国专利号 5, 804, 453 公开了一种在在样品溶液中测定物质浓度的方法, 其使用远端直接涂覆有试剂(捕获分子)的光学纤维, 该物质可与该试剂结合。然后将该远端浸入含有被分析物的样品。该被分析物与该试剂层的结合形成干涉图案, 并可通过分光计检测。

[0005] 美国专利号 7, 394, 547 公开了一种生物传感器, 其第一光学透明元件机械式连接至光学纤维梢端, 它们之间有空气间隙, 然后作为干涉层的厚度大于 50 纳米的第二光学元件被连接于该第一元件的远端。在该第二光学元件的周围表面上形成生物层。另一个厚度为 5-50 纳米, 折射指数大于 1.8 的反射面层被覆盖于该干涉层和第一元件之间。在此参考文献中描述了在样品中基于频谱干涉的改变检测被分析物的原理, 其以参考方式被合并于此。

[0006] 美国专利号 7, 319, 525 公开了不同的结构, 其中光学纤维的一个部分被机械式连接至梢端连接器, 该梢端连接器由一个或多个光学纤维组成, 在该光学纤维部分和该梢端连接器的近端之间有空气间隙。在该光学纤维部分的远端表面上先形成该干涉层, 然后再形成该生物层。

[0007] 结合纤维之间的空气间隙具有若干缺点。一个缺点是减少结合效率。另一个问题是对准差。实际应用中, 对于传感器和仪器的不同配对, 难以保持相同和准确的空气间隙尺寸。另外, 空气-纤维界面易于导致更多地返回到分光计的反射, 从而降低测量的信噪比。

[0008] 尽管现有技术的功能上提供了基于薄膜干涉计的生物传感器的使用, 该干涉计的性能仍然需要改进。

发明内容

[0009] 概述

[0010] 本发明涉及一种组件,其用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物。该组件包括波导连接器,其包含波导管,其中该波导管将光信号从光源传递至该组件,该波导管还将反射光信号从该组件传递至检测器。该组件进一步包括整体式衬底,其具有结合侧和传感侧,该结合侧通过结合毂连接至该波导连接器,其中该波导连接器与该结合毂接合以在该波导管和该整体式衬底之间形成光学结合。该组件还包括结合介质,其位于该波导连接器和该整体式衬底之间,由此该波导管的末端可无间隙地连接该整体式衬底。该组件还包括薄膜层,其直接结合至该整体式衬底的传感侧,其中该薄膜层包括,透明材料,含被分析物结合分子层的第一反射面,在该薄膜层和该整体式衬底之间的第二反射面。当样品中的被分析物分子结合至该被分析物结合分子时,从该组件反射入该波导管的光之间的频谱干涉发生变化。

[0011] 在一个实施方式中,该结合毂被插入该波导连接器中。在另一个实施方式中,该波导连接器为套管,且该套管被插入该结合毂中。

[0012] 本发明还涉及一种组件,包括:(a)波导管;(b)整体式衬底,其具有结合侧和传感侧,该结合侧光学连接至该波导管;和(d)薄膜层,其直接结合至该整体式衬底的传感侧。该波导管将光信号从光源传递至该组件,并且该波导管还将反射光信号从该组件传递至检测器。该薄膜层包括透明材料,包括被分析物结合分子层的第一反射面,和介于该薄膜层和该整体式衬底之间的第二反射面。该整体式衬底的折射指数比该薄膜层的透明材料的折射指数高;并且该结合介质的折射指数大于 1.3,优选在该波导管和该整体式衬底的折射率之间。当样品中的被分析物分子与该被分析物结合分子结合时,从所述第一和第二反射面反射入该波导管的光之间的频谱干涉发生变化。在一个实施方式中,该组件还包括介于该波导管和该整体式衬底之间的结合介质,其中该结合介质的折射指数大于 1.3。

附图说明

[0013] 图 1 显示了本发明的总体实施方式。

[0014] 图 2A 和 2B 显示了薄膜干涉计中的检测原理。

[0015] 图 3 显示了被插入结合毂的探针。

[0016] 图 4 显示了带结合毂的生物传感器。

[0017] 图 5 显示了以结合毂实施的本发明。

[0018] 图 6A-C 显示了一个结合毂实施方式,其具有预装在该毂内部的结合介质。

[0019] 图 7A-E 显示了第二结合毂实施方式,其在该套管的梢端上形成有一滴结合介质。

[0020] 图 8A-C 显示了第三结合毂实施方式,其结合介质附着于该套管。

[0021] 图 9A-B 显示了第四结合毂实施方式,其结合毂包括结合介质。

[0022] 图 10A-C 显示了另一个结合毂实施方式,该结合毂包括结合介质。

[0023] 图 11A-C 显示了另一个结合毂实施方式,其结合介质附着于该波导连接器。

[0024] 图 12 显示了带不均匀分支的 Y 型连接器。

[0025] 图 13 显示了通过薄膜干涉计检测的结合分析的典型的干涉图案。

[0026] 图 14 同时显示了两个探针的缔合和解离曲线。

[0027] 详细说明

[0028] 定义

[0029] 除非在下文定义,权利要求和说明书中使用的术语将根据本领域技术人员所理解的通常含义进行解释。

[0030] 此处使用的“约”指在所列举值的 $\pm 15\%$ 以内。

[0031] 此处使用的“被分析物结合”分子指能参与和被分析物分子的特异性结合反应的任何分子。其实例包括,但不限于,(i) 抗原分子,其用于检测特异性针对该抗原的抗体的存在;(ii) 抗体分子,其用于检测抗原的存在;(iii) 蛋白质分子,其用于检测该蛋白质的结合配偶体的存在;(iv) 配位体,其用于检测结合配偶体的存在;或(v) 单链核酸分子,其用于检测核酸结合分子的存在。

[0032] 此处使用的“套管”指作为接插组件的一部分限制或容纳波导管的硬管。

[0033] 此处使用的“整体式衬底”指具有一个折射指数的单块固体材料,如玻璃,石英,或塑料。

[0034] 此处使用的“探针”指在传感侧包覆有薄膜层的整体式衬底。

[0035] 此处使用的“波导管”指一种装置(如导管,同轴电缆,或光学纤维),其被设计成限制和引导电磁波(如光)的传播;例如,波导管为用于引导超高频波导的金属管。

[0036] 此处使用的“波导连接器”指一种机械装置,其用于光学连接波导管系统的被锁定在一起的可分离配合零件。其又名波导结合器。

[0037] 发明人已经发现,使用结合介质代替空气间隙在整体式衬底和波导管之间进行连接可以减少结合损失,并减少从该波导管的表面和该整体式衬底的表面的反射。采用该结合介质,大为增加了结合效率,降低了不期望的对该分光计的反射,并且解决了由于空隙而来的对准问题。

[0038] 发明人还发现了折射指数比干涉层更高的整体式衬底在光学组件中的应用,由此免除了在该干涉层上涂敷一层位于该干涉层和该整体式衬底之间的高折射指数材料层的需要。

[0039] 图 1 显示了本发明的的总实施方式:生物传感器干涉计 10 包括光源 11,检测器 12,波导管 13 和光学组件 14。该光学组件 14 包括该波导管 15 的梢端,结合介质 16,整体式衬底 17,薄膜层(干涉层)22 和生物分子层 21。该薄膜层包括透明材料,第一反射面,其包括生物分子层 21,以及第二反射面 23,其位于该薄膜层和该整体式衬底之间。在该薄膜层 22 和该生物分子层 21 之间的分界面处还有传感表面 24。

[0040] 该装置中的光源 11 可以是白光源,如发光二极管(LED),其在广谱上产生光,例如,400 纳米或以下至 700 纳米或以上,通常在至少 100 纳米的光谱范围上发光。另外,光源可以为多源光源,其中每一个光源均具有不同特征波长,如设计用于在可见光范围中以不同的选定波长发光的 LED。通过单一光源也可以实现相同功能,例如,采用白光源,其带有适宜的过滤器,用于将不同选定波长的光引导至该光学组件上。

[0041] 检测器 12 优选为分光计,如 Ocean Optics USB 4000,其能够记录从该光学组件反射的干涉光的光谱。另外,在该光源工作以将不同选定波长引导至该光学组件上时,该检测器可以是简单的光探测器,其用于记录在每一个不同辐射波长下的光强。在又一个实施方

式中,该检测器可以包括多个过滤器,其容许检测光强,例如,来自白色光源,在干涉反射波的多个选定波长中的每一个波长。

[0042] 波导管 13 将光信号从光源传递至光学组件,并将反射光信号从该光学组件传递至检测器。通常该波导管包括纤维束。分光计是典型的用于生物传感器干涉仪中的光检测器。

[0043] 结合介质 16 连接该波导管和该整体式衬底,在它们之间不留下任何空气间隙。该结合介质是光学透明材料,如聚合物,折射率匹配的凝胶,或折射率匹配的液体,其具有期望的特定折射指数。折射率匹配的液体应具有期望的物理和化学性质,如高粘度,低蒸气压(不易挥发)和低腐蚀率。适宜的用于结合介质的材料包括以下:聚碳酸酯,聚(甲基丙烯酸甲酯)(PMMA),聚苯乙烯(PS),聚丙烯(PP),丙烯腈丁二烯苯乙烯(ABS),折射率匹配的凝胶,折射率匹配的液体,或聚二甲硅氧烷(PDMS)。通常,该波导管 13 包括折射指数约为 1.5 的纤维材料。由于空气间隙的折射指数接近 1.00,该波导管和该整体式衬底之间的空气间隙将导致结合损失和高反射。当该结合介质连接该波导管和该整体式衬底而在它们中间不留任何空气间隙时,结合效率大为增加,反射降低,并且对准问题得到缓和。在一个优选实施方式中,该结合介质的折射指数介于该波导管和该整体式衬底的折射指数之间。

[0044] 由整体式绝缘材料制成的整体式衬底通过结合介质被连接至波导管的梢端。该整体式衬底的横截面可以是圆形,正方形,三角形,椭圆形,或矩形。在一个优选实施方式中,该整体式衬底的纵横比(长度比宽度或长度比直径)至少为 5 : 1。该整体式衬底材料的折射指数优选充分高于该薄膜层,以使该第二反射面有效反射被引导到该光学组件上的一部分光。优选该整体式衬底材料的折射指数高于 1.5,或高于 1.8,或高于 2.0。该整体式衬底材料的折射指数范围优选在约 1.55 至约 2.0 之间。当入射光以仍然容许全内反射的某一角度进入该基质相邻面时,该整体式衬底作为光波导管有效工作。在此实施方式中,该角度由该发光光学纤维的数值孔径,该基质,以及该基质和该发光光学纤维之间的机械结合综合定义。

[0045] 干涉层(薄膜层)是涂覆在该整体式衬底的传感侧上的透明材料。薄膜是薄的材料层,其厚度为零点几纳米(单层)至若干微米。电子半导体装置和光学涂层是受益于薄膜结构的主要应用。本发明的薄膜层通常厚度为至少 50 纳米,优选至少 100 纳米。示范性的厚度在约 100-5,000 纳米,优选 400-1,000 纳米之间。

[0046] 该薄膜层材料的折射指数优选类似于该第一反射面的折射指数,以使该光学组件的底部远端的反射主要从被分析物结合分子形成的层发生,而非从该光学元件和被分析物结合分子之间的分界面发生。类似的,当被分析物分子结合至该光学组件的下层时,该组件下端的光反射主要从该被分析物结合分子和被结合的被分析物形成的层发生,而非从该分界面区发生。形成该薄膜层的一种示范性的材料是 SiO_2 ,例如,折射指数为约 1.4-1.5 的高品质玻璃。该薄膜层还可以由作为整体式衬底的透明聚合物形成,如聚苯乙烯或聚乙烯,其折射指数优选为 1.3-1.8。

[0047] 该生物分子(被分析物结合分子)层 21 的厚度被设计成基于特定硬件和光学部件最优化总灵敏度。常规的固定化学作用被用于化学地,例如,共价地,将被分析物结合分子层附着于该光学元件的底部表面。例如,各种双功能试剂,其包含用于化学附着至 SiO_2 的硅氧烷基团,以及羟基,胺,羧基或用于生物分子附着的其它反应基团,如蛋白(例如,抗

原, 抗体), 或核酸。蚀刻或其它处理玻璃表面以增加被分析物结合分子可以结合的羟基基团密度的方法也是众所周知的。当该薄膜层由聚合物形成时, 如聚苯乙烯, 许多方法可用于暴露可用的化学活性表面基团, 如胺, 羟基, 和羧基基团。

[0048] 该被分析物结合层优选在该光学元件的远侧表面被密集涂覆的条件下形成, 以使被分析物分子和该层的结合使该层的厚度变化, 而非填入该层。该被分析物结合层可以是单层或多层基质。

[0049] 通过在该光学组件中来自该两个反射面的反射光柱的干涉, 测量被分析物的存在, 浓度, 和 / 或被分析物与该光学组件的结合率。特别地, 当被分析物分子附着或者脱离该表面时, 该第一反射层的平均厚度相应变化。因为所有的其它层的厚度保持相同, 由从该两个表面反射的光波形成的干涉波根据由于该被分析物结合变化的厚度而相移。

[0050] 在该光学组件中使用整体式衬底材料代替光学纤维具有若干优点。在一个优选实施方式中该整体式衬底的折射指数高于该薄膜层的透明材料的折射指数。因为该整体式衬底是单一的固体材料, 将易于选择折射指数比该薄膜层更高的材料。相反, 光学纤维通常为圆形截面的绝缘波导管, 其由绝缘材料组成 (芯材料), 该绝缘材料被另一种折射指数更低的绝缘材料 (包层) 围绕; 因此, 将难以变换折射指数。在现有技术中 (美国专利号 7, 394, 547), 该光学传感器纤维和该干涉层的折射指数基本相同, 其值约为 1.46。因此, 该现有技术在该干涉层上需要有额外的高折射率材料涂层, 以适当地反射入射光。

[0051] 在操作中, 入射光信号 25 从光源 11 发出, 并通过该波导管 13 被传递, 其中该入射光信号 25 通过该结合介质 16 被连接至该整体式衬底 17, 随后被连接至该薄膜层和该生物分子层 21。在该光学组件 14 之内, 光在该第二反射面 23 反射, 产生反射光信号 26。另外, 光在该第一反射面 28 反射, 产生反射光信号 27。在被分析物结合前, 该第一反射面是生物分子 (被分析物结合分子) 层 21 和样品溶液之间的表面。被分析物结合后, 该第一反射面变成被分析物分子层和样品溶液之间的表面。

[0052] 来自第一和第二折射面之间的边界的两个光信号形成频谱干涉图案, 如图 2a 所示。当生物分子与该薄膜层 (干涉层) 的周围表面上的被分析物分子结合时, 该第二反射信号的等价光程延伸。从而该频谱干涉图案从 T0 移动至 T1, 如图 2b 所示。通过测量该图案实时的连续不断的相移, 可以测量移动量对时间的动态结合曲线。被分析物和固定于该表面上的捕获分子的结合速率可被用于计算被分析物的浓度。因此, 此相移的测量是薄膜干涉计的检测原理。

[0053] 参照图 2a, 当该 AC 分量最大化而该 DC 偏移最小化时, 该生物传感器干涉计的性能增加。为实现这些目的, 必须增加入射光信号 25 从该光源 11 至该传感表面 24 的结合效率, 以及反射光信号 26 和 27 从该第一和第二折射面至该分光计 12 的结合效率。同时, 来自其他个分界面的反射应尽可能降低。

[0054] 在一个实施方式中, 本发明包括结合毂, 如图 3 所示, 其中探针 32 被插入模制塑料 31 的中心孔, 形成结构 33。然后该探针被插入该模制塑料毂的中心孔。图 4 显示了基于薄膜干涉仪的生物传感器的简化示意图。该生物传感器包括光源 11, 分光计 12, 波导管 13, 套管 41, 结合毂 31, 探针 42, 和传感表面 24。该探针和该传感表面 24 的梢端被浸入含有被分析物结合分子的涂覆溶液。

[0055] 本发明涉及一种组件, 其用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物。该组件

包括：(a) 波导连接器，其包含波导管，其中该波导管将光信号从光源传递至该组件，且该波导管还将反射光信号从该组件传递至检测器；(b) 整体式衬底，其具有结合侧和传感侧，该结合侧通过结合毂连接至该带有波导管的波导连接器；(c) 结合介质，其位于该波导连接器和该整体式衬底之间，以使该波导管光学连接该整体式衬底，而没有任何空隙；和 (d) 薄膜层，其直接结合至该整体式衬底的传感侧，其中该薄膜层包括透明材料，含有被分析物结合分子层的第一反射面，和介于该薄膜层和该整体式衬底之间的第二反射面；从该组件反射入该波导管的光之间的频谱干涉由此可以在样品中的被分析物分子与该被分析物结合分子结合时发生变化。

[0056] 在一个实施方式中，该结合毂被插入该波导连接器中。在另一个实施方式中，该波导连接器为套管，且该套管被插入该结合毂中。

[0057] 在一个实施方式中，该结合毂包括结合介质。在另一个实施方式中，该波导连接器为套管，并且该结合介质在该套管和该结合毂的底部之间。

[0058] 在图 5 中，生物传感器 50 显示了以结合毂 51 实现的本发明。生物传感器 50 是用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物的组件。生物传感器 50 包括套管 55，其包含波导管 13，其中该波导管 13 将来自该光源 11 的入射光信号传递至该结合毂 51，并将反射光信号从该结合毂 51 传递至该分光计 12（检测器）。生物传感器 50 还包括探针 42，其通过结合毂 51 连接至该具有波导管 31 的套管 55，并且套管 55 被插入该结合毂 51。在该结合毂 51 之内，结合介质 53 位于该套管 55 和该探针 52 之间，以使该波导管 31 的末端直接接触该探针 42 的整体式衬底，而没有任何间隙，如空气间隙。

[0059] 图 6 显示了具有结合毂组件 60 的一个图 5 的结合毂实施方式。结合毂 51 具有预装于结合毂 51 内部并在其底部的结合介质 16，如图 6a 所示。探针 42 在该毂的底部接触该结合介质 16。如图 6b 所示，带有纤维束（波导管 13）的套管 55 被插入结合毂 51。如图 6c 所示，该结合介质 16 连接探针 42 和该仪器纤维束（波导管 13），而没有任何间隙。由此，该结合介质 16 位于该套管 55 和该结合毂 51 的底部之间。

[0060] 图 7 显示了具有结合毂组件 70 的图 5 的第二结合毂实施方式，其在该套管的梢端上形成有一滴结合介质。图 7a 显示带纤维束（波导管 13）的套管 55 被浸入折射率匹配凝胶或液体的结合介质的储库 65（图 7b）。在图 7c 中，该具有纤维束（波导管 13）的套管 55 从该储库 65 被移出，导致该套管 55 的梢端上形成一滴结合介质 16。在图 7d 中，所得具有纤维束（波导管 13）的套管 55 被插入结合毂 51。结果是该滴结合介质 16 无间隙连接探针 42 和该仪器纤维束（波导管 13），如图 7 所示，由此，该滴结合介质 16 位于该套管 55 和该结合毂 51 的底部之间。

[0061] 图 8 显示了带有结合毂组件 80 的图 5 的第三结合毂实施方式，该结合毂组件 80 具有预装在套管 55 上的结合介质 81，如图 8 所示。在图 8b 中，带有结合介质 81 和纤维束（波导管 13）的套管 55 被插入结合毂 51。结果是结合介质 81 连接探针 42 和仪器纤维束（波导管 13），而没有任何间隙，如图 8c 所示。由此，该结合介质 81 位于该套管 55 和该结合毂 51 的底部之间。

[0062] 图 9 显示了图 5 的第四结合毂实施方式，其结合毂组件 90 包括结合介质，如聚合物材料。如图 9a 所示，结合毂 92 包括结合介质。在图 9b 中，带纤维束（波导管 13）的套管 55 被插入结合毂 51。结果是套管 55 接触结合毂 92 的底部，而探针 42 接触该结合毂 92

的相对侧,使该套管 55 和探针 42 之间无间隙结合。

[0063] 图 10a-10c 显示了另一个具有结合毂组件 100 的结合毂实施方式。组件 100 包括波导连接器 102 和可移动探针 101。图 10a 是透视图,其显示该波导连接器 102 和该可移动探针 101 彼此不连接。该波导连接器 102 在顶端具有孔 114,波导管(例如纤维)在该处被插入。图 10b 是彼此不连接的该波导连接器 102 和该可移动探针 101 的剖视图。图 10c 显示该可移动探针 101 被插入该波导连接器 102。

[0064] 首先参照图 10a,该可移动探针 101 由被薄膜层包覆的整体式衬底 104,以及在中央有孔 105 的筒形结合毂 103 组成。该整体式衬底 104 被沉积上薄膜涂层,如 SiO_2 层和被分析物结合分子。该整体式衬底 104 为杆状,其长度至少比直径大 5 倍。如图 10b 所示,该可移动探针具有用于检测被分析物的传感表面 111 和结合面 112。在一个设计中,该毂 103 由透明塑料制成。该毂 103 中的孔 105 不是贯通孔,其一端具有和该毂 103 相同材料的透明塑料层 108。层 108 是筒形毂 103 的顶部。该衬底 104 朝着该层 108 的结合表面 112 的内壁插入该衬底的结合表面,从而固定连接至该毂 103。

[0065] 此层 108 作为该衬底的结合表面 112 和装在该波导连接器 102 内的波导管 113 之间的光学结合介质。此处显示的该波导连接器具有弹性啮合臂 107,以接合该毂 103 并保持充足的摩擦力,来将该衬底 104 相对于该波导管 113 固定于适当位置。

[0066] 该波导连接器 102 的内部具有和该波导管的表面齐平的平坦接合表面 109。该毂 103 具有平坦顶面 110。当被接合时,该顶面 110 被推向该接合表面 109,以使这两个表面之间的间隙完全闭合。该层 108 作为结合介质被夹在该衬底 104 的结合表面 112 和波导管 113 之间。在具有折射指数大于空气的结合介质的情况下,其优选在该波导管 113 和衬底 104 之间,将提高结合效率,最小化不希望的返回该分光计的反射,并减少该衬底 104 和该波导管 113 之间的横向偏移的灵敏度。

[0067] 图 10c 显示了该波导连接器 102 和该可移动探针 101 的接合。

[0068] 图 11a-11c 显示了具有结合毂组件 110 的另一种结合毂实施方式的细节。组件 100 由波导连接器 202 和可移动探针 201 组成。图 11a 为透视图,其显示该波导连接器 202 和该可移动探针 201 彼此不连接。图 11b 是彼此不连接的该波导连接器 202 和该可移动探针 201 的剖视图。该波导连接器 202 在顶端具有孔 114,该波导管(例如纤维)在其中被插入。图 11c 显示被插入该波导连接器 202 的该可移动探针 201。

[0069] 首先参照图 11a,该可移动探针 201 由杆状的长度至少比直径大 5 倍的整体式衬底 104,以及在中央具有孔 205 的筒形毂 203 组成。如图 11b 所示,该衬底 104 具有传感表面 111 和结合表面 112。该毂 203 由透明塑料组成。该衬底 104 通过插入该孔,直至该结合表面 112 与该毂的顶面 210 齐平,而被固定连接至该毂 203。该传感表面 111 被沉积以薄膜涂层,其包括 SiO_2 层和能被用于检测被分析物的被分析物结合分子。

[0070] 结合介质 213 被装在该波导连接器 202 内部的波导管 113 末端。该结合介质优选自光学透明的弹性材料或液体状材料。一个例子是 PDMS。此处显示的该波导连接器 202 具有弹性啮合臂 107,以接合该毂 203,并保持充足的摩擦力来将该衬底 104 相对于该波导管 113 固定于适当位置。

[0071] 当被接合时,该毂的顶面 210 被压向该结合介质 213,以使该波导管 113 和该衬底 104 之间的间隙完全闭合。该结合介质 213 被夹在该衬底 104 的结合表面 112 和该波导管

113 之间。在具有折射指数大于空气的结合介质的情况下,其优选在该波导管 113 和该衬底 104 之间,将提高结合效率,最小化不希望的返回该分光计的反射,并减少该衬底 104 和该波导管 113 之间的横向偏移的灵敏度。

[0072] 图 11c 显示了该波导连接器 202 和该可移动探针 201 的接合。

[0073] 如先前所指出的,波导管可以被提供为 Y 形光学纤维结合器 (Y 形结合器)。图 12 中示范了 Y 形光学纤维结合器的一个改进的实施方式。实施方式 100 包括光源 11,分光计 12,和 Y 形结合器,其具有连接至该光源 11 和分光计 12 的不均匀分支 121。为了增加该生物传感器的性能,与该分光计 12 (检测器) 的连接尺寸被设计成比光源 11 的连接尺寸更大。如图 12 所示,当使用 Y 形光学纤维结合器时,优选将较小直径的光学纤维与较大直径的光学纤维融合。该较小者将被用于来自光源 11 的照明光,较大者用于该分光计 12。此结构能够使更多反射光到达该分光计 12,因此增加了总体结合效率。

[0074] 本发明还涉及一种用于在样品中基于薄膜频谱干涉检测被分析物的组件。该组件包括:(a) 波导管;(b) 整体式衬底,其具有结合侧和传感侧,该结合侧被光学连接至该波导管;(c) 薄膜层,其直接结合至该整体式衬底的传感侧;其中该波导管将光信号从光源传递至该组件,并且该波导管还将反射光信号从该组件传递至检测器;该薄膜层包括透明材料,包括被分析物结合分子层的第一反射面,在该薄膜层和该整体式衬底之间的第二反射面;该整体式衬底的折射指数高于该薄膜层的透明材料的折射指数;由此,当样品中的被分析物分子结合至该被分析物结合分子时,从所述第一和所述第二反射面反射入该波导管的光之间的频谱干涉发生变化。在此组件中,所有的术语具有和前面所记载内容相同的特征。

[0075] 在一个设计中,该组件通过将该波导管和该整体式衬底端对端连接,去除了它们之间的间隙。另外,该组件还在该波导管和该整体式衬底之间包括结合介质,以填充其间的任何间隙。该结合介质的折射指数通常大于约 1.3,优选在该波导管和该整体式衬底的折射指数之间。

[0076] 在又一个设计中,在该波导管和该整体式衬底之间有间隙。

[0077] 此申请中所述的装置能被用于以下用途:(i) 以梢端上携带的抗物种 (species) 抗体,用于筛选具有高抗体表达的细胞系的杂交瘤细胞表达系;(ii) 以梢端上携带的抗原表征对应该抗原的高亲和力抗体;(iii) 以梢端上携带的蛋白质,用于识别和表征该蛋白质的结合配偶体 (DNA, RNA, 蛋白, 糖类, 有机分子);(iv) 以梢端上携带的糖类或糖基部分,用于识别和表征该糖类的结合配偶体 (例如, DNA, RNA, 蛋白, 糖类, 有机分子);(v) 以梢端上携带的可参与多蛋白质复合物的蛋白质,用于表征该结合组分和 / 或复合物形成的动力学;(vi) 以该梢端上携带的小蛋白质结合分子,用于识别和表征该分子的蛋白质结合剂;(vii) 以该梢端上携带的抗体,用一组被分析物标准构建该被分析物的校准曲线。采用此校准曲线可以测定被分析物在未知溶液 (细胞培养上清液, 生物样品, 工艺混合物等) 中的浓度。(viii) 以梢端上携带的单链核酸,例如, ssDNA 或 RNA, 用于识别和表征特异性结合该核酸的分子。

[0078] 以下实施例进一步示范了本发明,其不应被解释为将本发明的范围限制为其中所述的特定步骤。

具体实施方式

[0079] 实施例 1. 链霉亲和素探针的制备

[0080] 1 毫米直径及 2 厘米长度的玻璃棒（整体式衬底），其结合端和传感端均被抛光。该传感端先用物理汽相沉积技术涂覆以厚度 650 纳米的 SiO_2 涂层（薄膜层），然后按照制造商的方案，用化学气相沉积工艺（Yield 工程系统，1224P）沉积氨基丙基硅烷（APS）。沉积 APS 以固定蛋白质。APS 通过疏水性和离子相互作用的组合将蛋白质吸附至该探针的表面。蛋白质还可以通过用交联试剂共价结合而被结合至 APS 的氨基集团。APS 仅为单层，约 7 纳米厚。

[0081] 然后该探针（包覆以 SiO_2 和 APS 的玻璃棒）被插入该模制塑料毂的中心孔，如图 3 所示。随后用胶粘剂或锁定机构将该探针锁定至该毂。

[0082] 然后具有传感端的该探针被浸入 $50 \mu\text{g/ml}$ 的链霉亲和素的 pH 7.4 磷酸盐缓冲液（PBS）溶液（Scripps 实验室）。使链霉亲和素吸附至该探针 5 分钟后，在 PBS 中洗涤该探针梢端，然后浸入 10% 蔗糖溶液 30 秒钟，随后在 30°C 干燥一小时，再在干燥条件下保存。通常该探针至少浸入 0.5 毫米。

[0083] 实施例 2. A 蛋白与人类 IgG 结合的检测

[0084] 如图 3 所示，每个探针先在套管中被连接到波导管。该波导管连接卤素光源和分光计，使得该光会被传输至该探针的传感表面，并且会被传输至分光计，用于测量。可以建立多个这种系统以实现并行检测。这些分光计测量来自这些探针的传感端的反射光并以每个波长下的波长和光强的实时函数输出频谱干涉图案。图 13 显示了典型的干涉图案。峰和谷左移形式的相变表示薄膜厚度减少（分子在该传感表面上脱离）；右移表示薄膜厚度增加（分子在该传感表面上缔合）。通过将干涉图案转换为数字格式，可用计算机在任何时间情形测定厚度改变。可以对应于时间绘制结合曲线（或缔合和解离曲线）。因此可以分析其一在溶液中，其一固定在探针的传感表面上的两种不同分子之间的分子相互作用的动力学。在量化分析中，可以由动力学得出溶液中的被分析物分子浓度：较快的结合动力学意味着较高的被分析物浓度。

[0085] 用两个平行测量的探针论证了一个实施例。图 14 同时显示了两个探针的缔合和解离曲线。

[0086] 为了开始分析，将该探针的传感端浸入 PBS 中约 20 秒，以水化被固定的链霉亲和素（步骤 1）。此步骤还被用于建立结合曲线的基准。然后在步骤 2 中，这些探针被转移至浓度为 $50 \mu\text{g/ml}$ 的生物素酰化的 A 蛋白样品（Pierce Chemical）的 PBS 溶液。约 100 秒后有约 1 纳米的移动。步骤 3 要求在 PBS 中短暂洗涤这些探针传感端。步骤 4 显示了浓度为 0.1mg/ml 的人类 IgG（Jackson ImmunoResearch）的 PBS 溶液与 A 蛋白涂覆的探针传感端的结合。在约两分钟内，该薄膜层（ SiO_2 涂层）加生物分子层的总厚度增加 6.5 纳米（步骤 4）。为了解离该 IgG/A 蛋白复合物，将这些探针转移至 pH 4 的乙酸钠溶液，在约 75 秒内，该薄膜厚度降低 3 纳米（步骤 5）。

[0087] 本发明及其制作和使用的方式和步骤现已用充分，清楚，简要和准确的术语进行了叙述，以使其所涉及领域技术人员能够进行同样的制造和使用。应当理解，上述内容描述了本发明的优选实施方式，并且在不离开权利要求所述的本发明范围的前提下，还可以进行修改。为了特别指出和清楚地申明被认为是发明的主题内容，以下权利要求总结了此说明书。

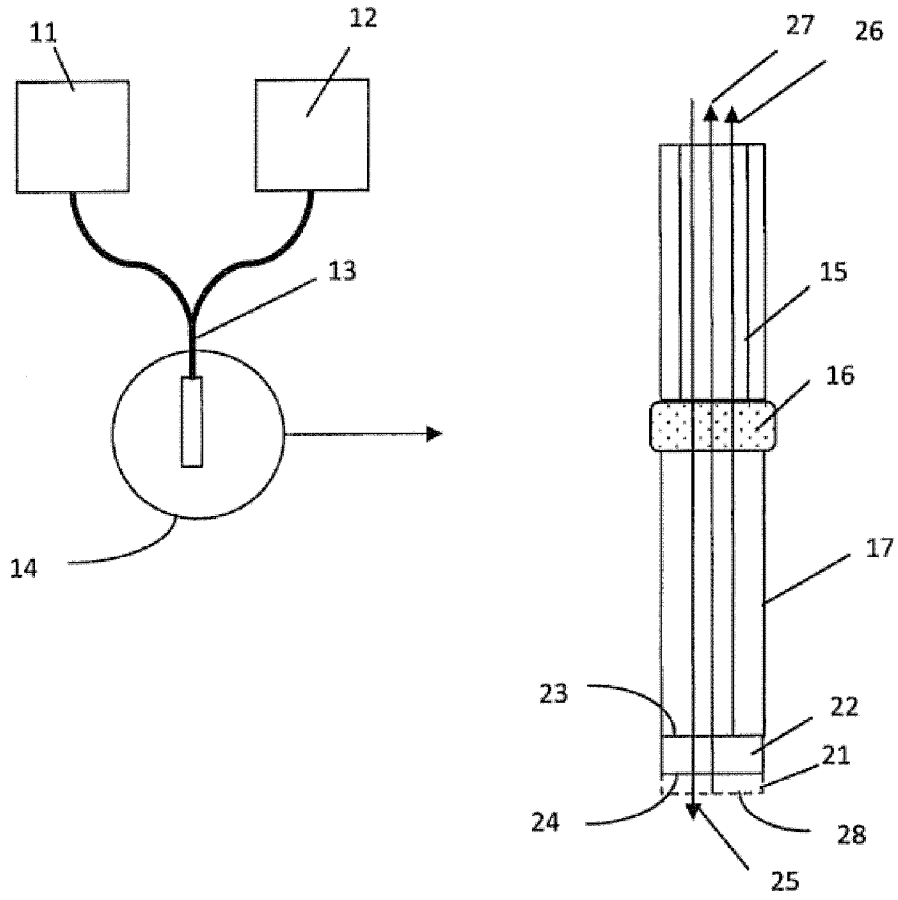


图 1

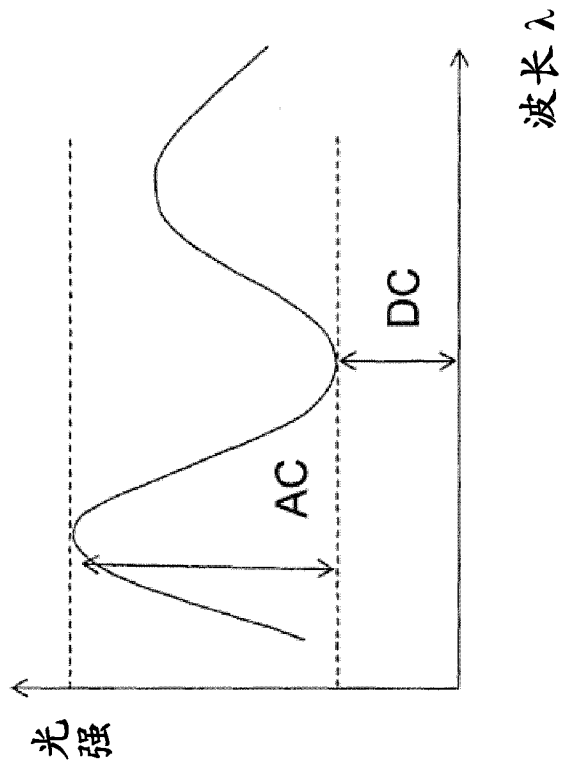


图 2A

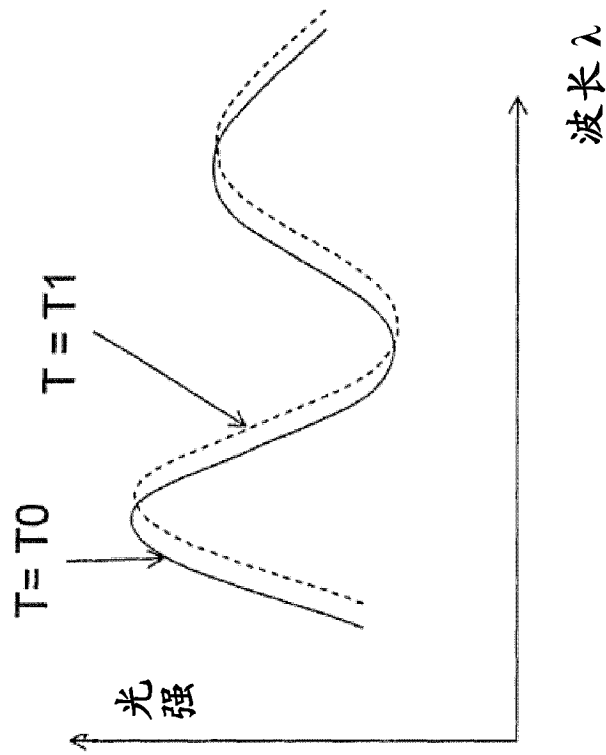


图 2B

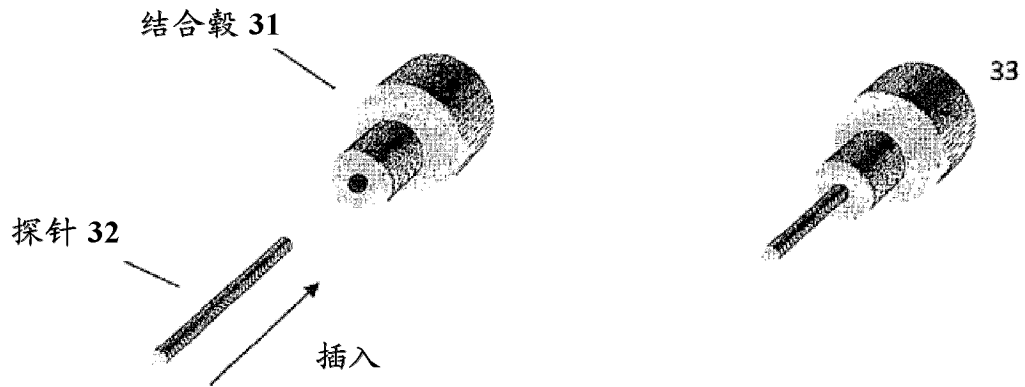


图 3

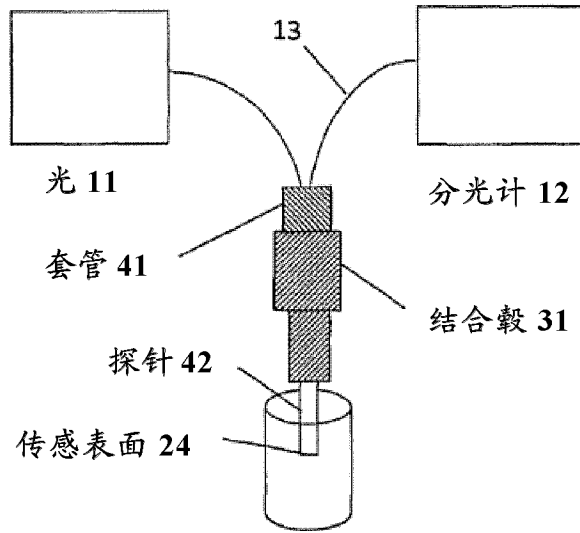


图 4

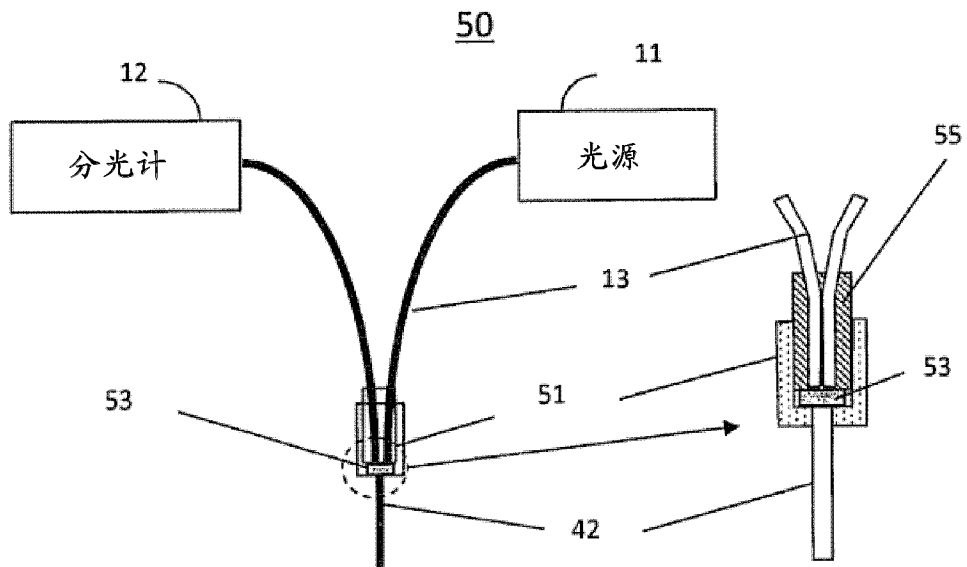


图 5

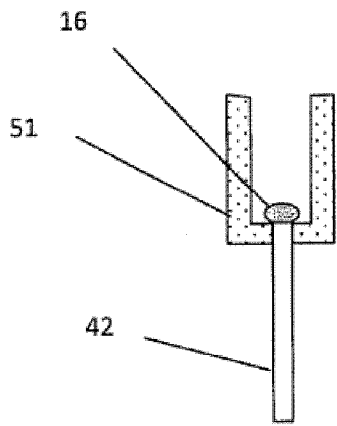


图 6A

60

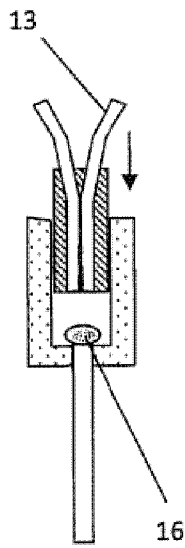


图 6B

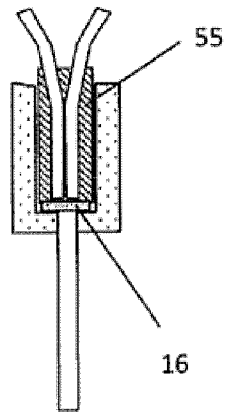


图 6C

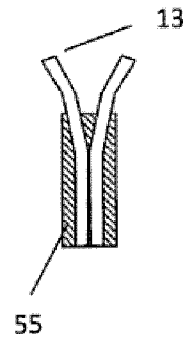


图 7A

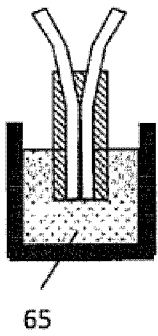


图 7B

70

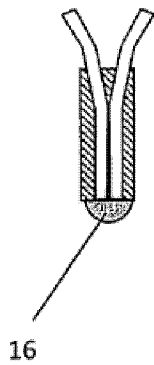


图 7C

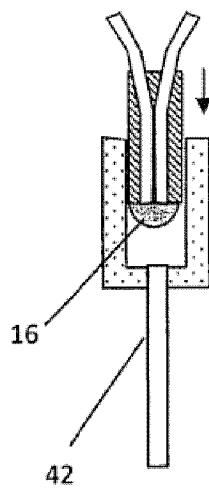


图 7D

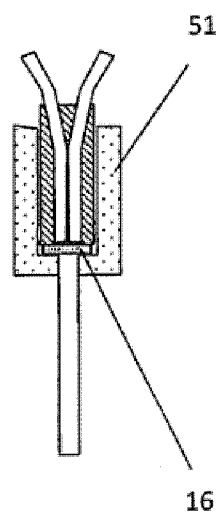


图 7E

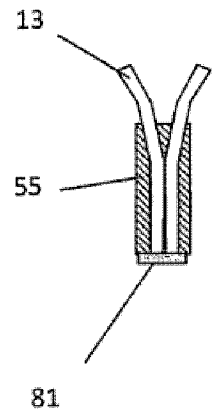


图 8A

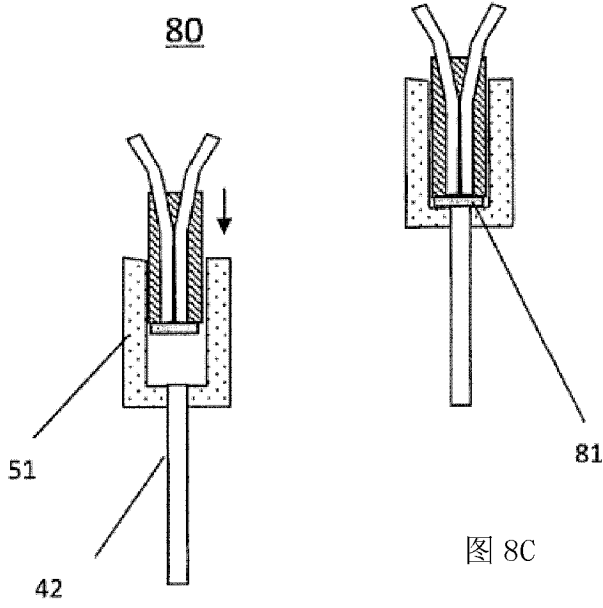


图 8B

图 8C

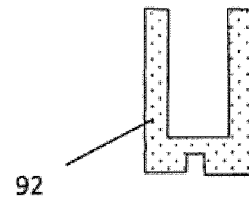


图 9A

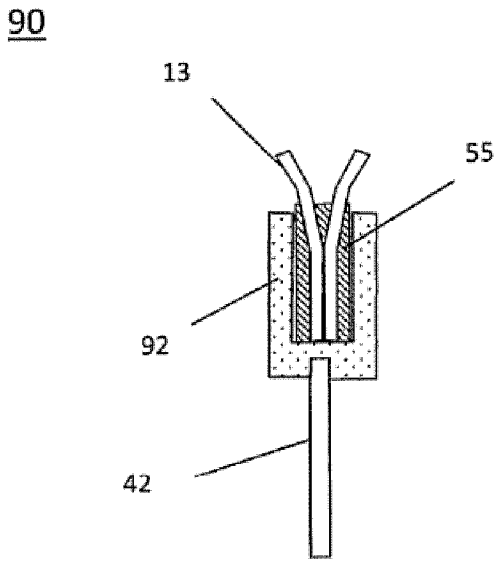


图 9B

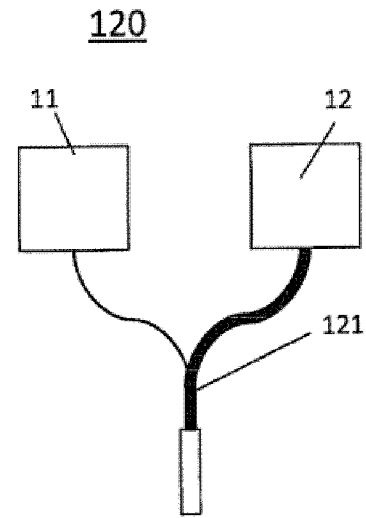


图 12

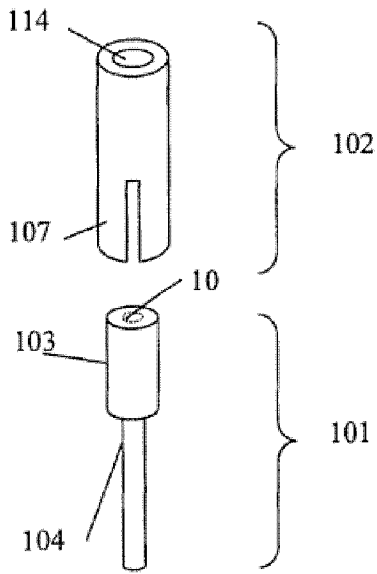


图 10A

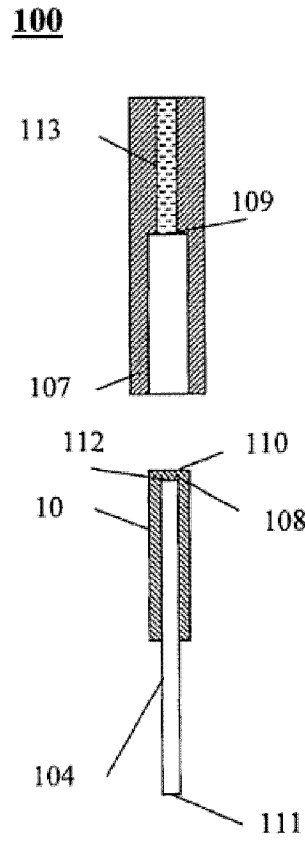


图 10B

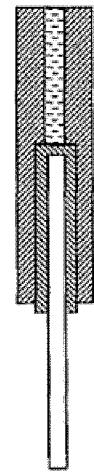


图 10C

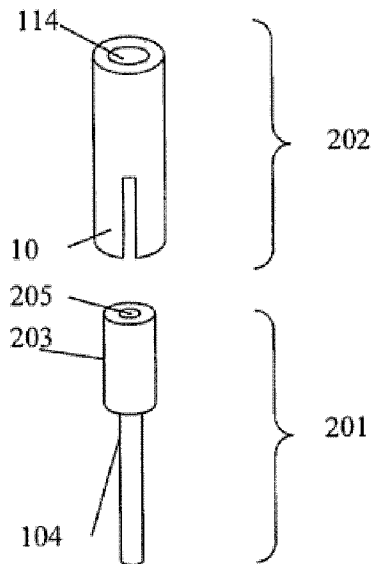


图 11A

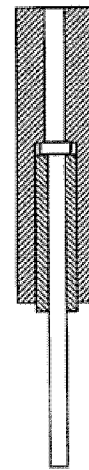
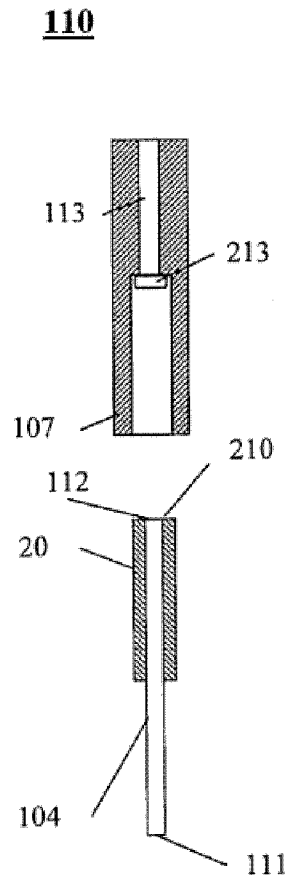


图 11C

图 11B

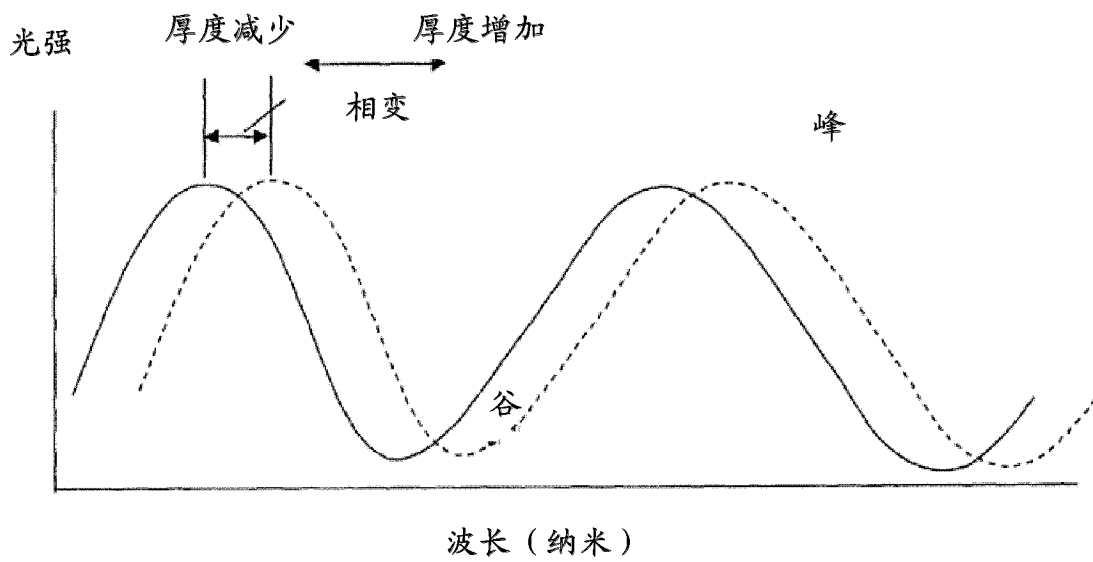


图 13

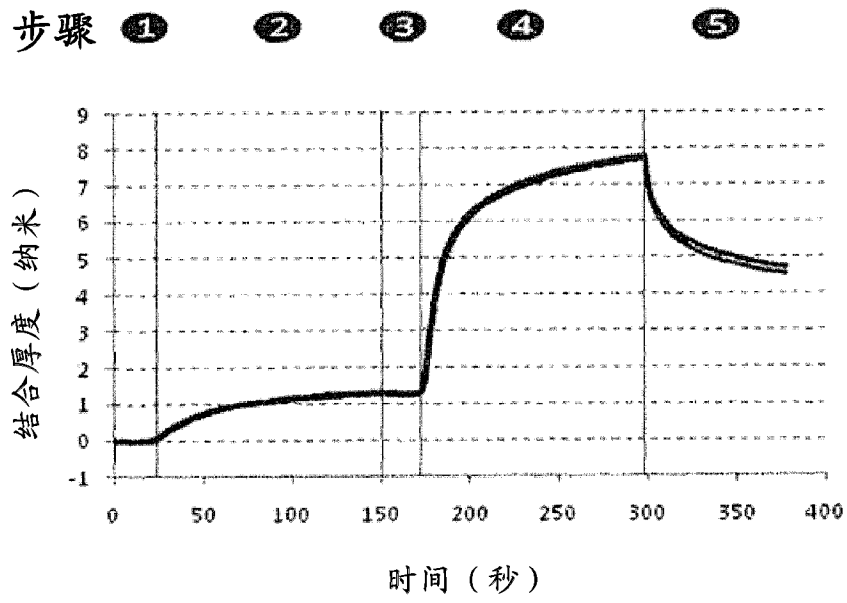


图 14