

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部份請勿填寫)

※ 申請案號： 96134557

※ 申請日期：96.9.14

※IPC 分類：

G01N 1/55 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

光波導型表面電漿共振感測裝置

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

行政院農業委員會 / Council of Agriculture, Executive Yuan

代表人：(中文/英文)

蘇嘉全 / Su, Jia-Chyuan

住居所或營業所地址：(中文/英文)

臺北市 100 中正區南海路 37 號 /

No.37, Nanhai Rd., Zhongzheng District, Taipei City, Taiwan 100, R. O. C.

國 籍：(中文/英文)

中華民國/R.O.C.

三、發明人：(共 9 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 林啟萬 / Lin, Chii-Wann

2. 李政隆 / Lee, Jheng Long

3. 莊榮輝 / Juang, Rong-Huay

4. 林世明 / Lin, Shi ming

5. 李世光 / Lee, Chih- Kung

6. 朱瑞民 / Chu, Rea-Min

7. 王金和 / Wang, Ching-Ho

8. 方俊民 / Fang, jim-Min

9. 莊琮亮 / Chuang, Tsung Liang

國 籍：(中文/英文)

1-9. 中華民國 / ROC

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項第一款或第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

## 九、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於一種表面電漿共振型感測裝置，特別是關於一種光波導型表面電漿共振感測裝置。

### 【先前技術】

生物體內生理作用的表現，牽涉到許多複雜的生化反應機制，而這些生化反應機制，則牽涉到許多大分子 (macromolecule) 與其他分子的交互作用。因此，為了瞭解這些複雜的反應機制，許多可以偵測大分子反應的分析方法以及工具因應而生。

在眾多的分析方法與分析工具中，利用表面電漿共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 原理所發展的生物感測器 (Biosensor) 已經逐漸獲得重視。自 1990 年以來，已有多家廠商投入生產 (請參見表一，McDonnell, Chemical Biology (2001) 5:572-577)。SPR 的生物感測方式具有高靈敏度、無須對待測分子做任何標記 (Labeling Free)、可即時地分析分子間的交互作用、偵測速度快、可定量，並可大量平行篩檢等種種優點。在實際上的應用，例如偵測抗原與抗體間、酵素與基質間、激素與受體間，以及核酸與核酸等分子間之反應，也可與生物晶片配合，建立新藥篩選平台。除此之外，

表面電漿共振感測器也可應用於分析化學、環境工程，或軍事上。

表面電漿共振原理指的是，當光束以某一固定入射角入射於金屬表面時，光偵測器檢測到的反射光強度會接近零，也就是金屬膜的反射率近於零，未反射的光成為衰逝波(evanescent wave)，且沿著平行界面方向以一定的速度傳播，激發金屬的表面電漿共振，此即為全反射衰逝(Attenuated Total Reflection, ATR)現象。

習知的 SPR 感測器即利用上述的光學現象進行物質的量測，此種感測器一般係包含一金屬薄層以及一相鄰於該金屬薄層的感測區，該金屬薄層係建置於一具有介電性的稜鏡或光柵上，而該稜鏡或光柵是作為激發表面電漿共振的光耦合器。利用此類 SPR 感測器進行感測時，係使待測物通過感測區，另使一光線射入該稜鏡或光柵而到達該金屬薄層的表面，並測量該金屬薄層表面的反射光強度。因為感測器表面物質的變化，將使得感測器表面電漿共振的現象發生改變，藉由測定光反射率大幅降低的特定入射角度，即可測定不同物質間的交互作用，或是測定特定物質的濃度。

因為上述類型的 SPR 感測器測定時，主要是藉由調變入射光的角度量測反射光的強度變化，因此其解析度與靈敏度將受限於激發表面電漿共振之入射光的角度範圍。另一方面，激發表面電漿共振之入射光的角度

與入射光的波長有關，因此，若所使用的入射光波長產生變異，將使得量測的結果產生誤差。

另一類的 SPR 感測器為利用光波導作為光耦合器的 SPR 感測器，此類 SPR 感測器係包含一金屬薄層以及一相鄰於該金屬薄層的感測區，該金屬薄層係建置於一光波導之上。當入射光進入光波導後，入射光平行於介面之波向量分量等於表面電漿波之波向量時，即會激發表面電漿共振現象，導致光波導輸出端的光強度衰減。因為表面電漿波的波向量是由待測物與金屬膜的介電係數決定，因此，當待測物有變化時，其介電係數也會改變，藉由測定產生表面電漿共振現象時的特定波長或光強度的衰減量，即可測得不同物質間的交互作用，或是測定特定物質的濃度。

光波導型之 SPR 感測器可以利用二種測定模式進行物質的偵測。一為利用特定波長的光源，測定光強度的衰減量。另一者為利用連續波頻的白光，測定光強度大幅衰減的特定波長。因此，此種 SPR 感測器的解析度與靈敏度不受限於產生表面電漿共振之入射角的範圍。此外，此種光波導型 SPR 感測器更易積體化，微小化，並且只需使用相當微量的樣品，因此，更具有實用性。

習知光波導型之 SPR 感測器如 Yutaka Ohmori 等人 (Thin Solid Films, 393, 267-272, 2001) 以及 J. Dostalek (Sensors and Actuators B, 76, 8-12, 2001) 等人所提出之感測器。此類感測器係在一基材上，利用半導體製程中的光蝕刻法及鍍膜方法，設一具波導圖樣之金屬膜，再利用高溫離子交換法將離子佈植入基材中，使基材的折射率發生改變而製造出光波導。為了使波導能產生 SPR 現象，在波導上，必需再使用半導體製程設一金屬層以及用來調整感測範圍的介電層，做為 SPR 感測區域。此類光波導型 SPR 感測器主要為單通道的光波導 SPR 感測器，也就是在波導上只有一個感測區域。因為在波導上僅設有單一的感測區域，因此無法提供多樣本量測或參考物差分量測之可能，將使量測值產生較大的誤差。

另外，R.D. Harris 等人 (Biosensors & Bioelectronics 14(1999) 377-386) 亦提出光波導型 SPR 感測器，其雖於波導上設有 "Reference Arm"，但此種波導設計是將一波導一分為二的 Y 型分岔設計，如此會使得光分佈不均並且造成光衰減，這在製程精確度及成本上，是項難以克服的問題。

### 【發明內容】

基於上述，本發明的目的為提供一種光波導型表面電漿共振感測裝置，其可進行差分量測，包含：一基板；一底層；以及至少一組光波導層，該組光波導層包含一量測光波導通道以及一參考光波導通道，該量測光波導通道包含一表面電漿共振感測膜層，該量測光波導通道以及該參考光波導通道為各自獨立且實質上互為平行設置；且該底層材料之折射率高於該光波導層之折射率。

上述之基板可為矽晶片、玻璃或高分子材料。底層材料可為具有較高折射率之光阻、二氧化矽、摻雜雜質的二氧化矽(例如摻雜鍍或硼等的二氧化矽)，或是高分子材料。且其厚度較佳者為不低於 5  $\mu\text{m}$ 。

上述之光波導層材料可為具有較低折射率之光阻、二氧化矽、摻雜雜質的二氧化矽(例如摻雜鍍或硼等的二氧化矽)，或是高分子材料。且其厚度較佳者為不低於 10  $\mu\text{m}$ 。感測光波導層中相鄰光波導通道之間距可為 500-5000  $\mu\text{m}$ 。光波導通道之寬度可為 20-500  $\mu\text{m}$ 。

上述之表面電漿共振感測膜層較佳者為，於輸入光源為 400-1100nm 時，可產生表面電漿共振之膜層組合。其可為金屬膜、合金膜(例如金與銀之合金鍍膜)，或是由金屬膜與多層介電質膜所構成。

此外，上述之感測膜層可進一步包含一可與待測物結合之生物分子，例如核酸、胜肽，或是蛋白質，以作為可與待測物反應的探針(probe)或配位子(ligand)分子。

另外，上述之光波導型表面電漿共振感測裝置較佳者為可拋棄式的(disposable)。

再者，本發明之感測裝置可進一步包含一導流結構層，其係用以將待測物導入感測層進行測定。其可利用微米級的凹槽結構，例如深度為  $10\ \mu\text{m}$ ~ $500\ \mu\text{m}$  的凹槽結構，或是多孔隙材料之側向引流機構，或是合併使用此二種機構。待測物於上述機構中可以經由毛細作用通過凹槽結構之流道運輸或是擴散作用導入感測層。較佳者為，此導流結構層之折射率為 1.33-1.35。

上述之凹槽結構可以利用例如習知的微影或是光蝕刻技術製作，只要能建立微米級的凹槽結構即可。

上述之導流結構層可設於該光波導層之上。

該導流結構層之一種實施樣態可包含：一基材，其係作為承載其他結構的基層；一濾膜層，其係設於該基材之下，用以過濾導入樣品；一樣品載入墊材，其係設於該導流結構層的一端，用以載入該樣品；以及一吸收墊材，其係設於該樣品載入墊材的反向端，用以吸收過

量的多餘樣品。上述之濾膜層可為硝化纖維或醋酸纖維。

該導流結構層之另一種實施樣態可包含：一基材，其係作為承載其他結構的基層；一微米級凹槽結構，其係設於該基材面向光波導層之側，用以導入樣品；一樣品載入墊材，其係設於該導流結構層的一端，用以載入及過濾該樣品；以及一吸收墊材，其係設於該樣品載入墊材的反向端，用以吸收過量的多餘樣品。上述之樣品載入墊材可設有硝化纖維或醋酸纖維層，用以過濾樣品。

該導流結構層之又一種實施樣態可包含：一基材，其係作為基層；一微米級凹槽結構，其係設於該基材之下，用以導入並過濾樣品；一樣品載入墊材，其係設於該導流結構層的一端，用以載入該樣品；以及一吸收墊材，其係設於該樣品載入墊材的反向端，用以吸收過量的多餘樣品。上述之微米級凹槽結構可設有硝化纖維或醋酸纖維層，用以過濾樣品。

本發明藉由設置各自獨立且實質上互為平行的量測光波導通道以及參考光波導通道，建立更為準確的差分量測。另外，本發明的感測裝置亦可為具有多組感測光波導層的感測器，如此可使單一 SPR 波導元件可以同時量測多種樣品，有別於傳統 SPR 波導元件之單一

量測。再者，藉由設置微米級的流道機構或多孔隙材料之側向引流機構的導流結構層，將使高通量檢測與高靈敏度可攜式儀器更具有可實施性。

以下將以具體實施例進一步說明本發明，下面所列舉之實施例係用以闡明本發明，並非用以限定本發明之範圍，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可做些許更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

### 【實施方式】

#### 實施例 1

第一圖所示為本發明的一種實施方式，此可為一可拋棄式之感測晶片(sensor chip)(1)。本發明是於一基板(2)上設置一底層(即為光波導披覆層)(3)，於底層(3)上設有至少一組光波導層(4)，該組光波導層包含一量測光波導通道(5)以及一參考光波導通道(6)。於該量測光波導通道之上，設有一表面電漿共振感測膜層(7)。

#### 實施例 2

第二圖所示為本發明的另一種實施方式。此實施方式是在感測晶片(1)上設有導流結構層(9)。樣品可由側向導入感測晶片(1)，光(8)進入光波導層(4)的量測光波導通道(5)以及參考光波導通道(6)，表面電漿共振感測

膜層(7)所測得的感測訊號(10)傳輸至光譜分析儀(11)進行差分運算並產生圖譜。為了操作上的方便性並兼具對感測晶片(1)及導流結構層(9)的保護，可於導流結構層(9)上方及感測晶片(1)下方設置二片可互相卡合的外殼，兩者組合後方便手持操作。

第三圖為導流結構層(9)之一剖面示意圖。此處例示的導流結構層(9)包含用以承載其他結構的基材(12)，於基材(12)的下方設有硝化纖維的濾膜層(13)，係用以過濾導入的樣品。於導流結構層(9)的一端設有樣品載入墊材(14)以載入液體樣品。於樣品載入墊材(14)的反向端設有吸收墊材(15)，用以吸收過量的多餘樣品。實際操作時，將待測樣品載入樣品載入墊材(14)，藉由濾膜層(13)使樣品濾除會干擾偵測結果的物質，並藉由此層的擴散作用使待測樣品導入感測晶片(1)進行感測，多餘的樣品則藉由吸收墊材(15)加以吸收。

### 實施例 3

第四圖所示為導流結構層之另一種實施方式(9')。此處例示的導流結構層(9')包含用以承載其他結構的基材(12')，於基材(12')的面向光波導層之側設有一微米級凹槽結構(16)，用以導入待測樣品。此微米級凹槽結構之深度可為  $10\ \mu\text{m}\sim 500\ \mu\text{m}$ ，其可利用例如習知的微影或是光蝕刻技術製作，藉此微米級凹槽結構的毛細作用可使液體樣品導入感測晶片(1)。此外，於導流結構

層(9')的一端設有樣品載入墊材(14)以載入液體樣品。於樣品載入墊材(14)的反向端設有吸收墊材(15)，用以吸收過量的多餘樣品。再者，用以過濾樣品的濾膜層可設於樣品載入墊材(14)區或設於微米級凹槽結構(16)內。此濾膜層可為硝化纖維或醋酸纖維，其可藉由溶解硝化纖維或醋酸纖維，再使其均勻披覆於樣品載入墊材(14)區或微米級凹槽結構(16)內而形成。實際操作時，將待測樣品載入樣品載入墊材(14)，藉由微米級凹槽結構(16)將樣品導入感測晶片(1)進行感測，多餘的樣品則藉由吸收墊材(15)加以吸收。實施例 4

根據第二圖的實施方式製備光波導型 SPR 感測器，製備濃度為 20-60%的甘油水溶液，以白光作為光源，並以光譜儀進行測定。結果如第五圖所示，甘油濃度越高時，光強度大幅衰減的特定波長越長。如第五圖所示，由所測得的特定波長與甘油的濃度可以推知兩者的關係曲線，並由所測得的特定波長及此關係曲線即可推知待測物的濃度。因此，本發明之感測裝置可以應用於不同濃度物質的測定。

#### 實施例 5

根據第二圖的實施方式製備光波導型 SPR 感測器，並且對於表面電漿共振感測膜層的金膜進行表面改質以及測量。首先使  $20 \mu\text{M}$  的橋接分子溶液流過金膜表面，以水及 PBS 緩衝液清洗後，以 EDC 與 NHS 的混

合溶液(混合比例為 4:1)流過感測膜層表面使表面活化，經水清洗後，使 Protein A 溶液流過感測膜層表面，將其固定於感測膜層表面，再以水及 PBS 溶液清洗。將  $6\ \mu\text{g/ml}$  的 ALV-J 單株抗體溶液流經感測膜層表面，以水及 PBS 溶液清洗，再使未知的抗原流經感測膜層表面。由第六圖中可知，本發明的感測裝置可利用波長的變動來監測感測膜層表面的變化。

**【圖式簡單說明】**

- 第一圖 為本發明光波導型表面電漿共振感測裝置之一種實施方式的示意圖。
- 第二圖 為本發明光波導型表面電漿共振感測裝置之另一種實施方式的示意圖。
- 第三圖 為導流結構層之一剖面示意圖。
- 第四圖 為導流結構層之另一實施方式示意圖。
- 第五圖 根據第二圖的實施方式所製備的光波導型表面電漿共振感測裝置測定不同濃度的甘油水溶液。
- 第六圖 根據第二圖的實施方式所製備的光波導型表面電漿共振感測裝置，並且對於表面電漿共振感測膜層的金膜進行表面改質以及測量。

**【元件符號說明】**

- |              |           |
|--------------|-----------|
| 1 感測晶片       | 2 基板      |
| 3 底層         | 4 光波導層    |
| 5 量測光波導通道    | 6 參考光波導通道 |
| 7 表面電漿共振感測膜層 |           |
| 8 光          | 9 導流結構層   |

9' 導流結構層

10 感測訊號

11 光譜分析儀

12 基材

12' 基材

13 濾膜層

14 樣品載入墊材

15 吸收墊材

16 微米級凹槽結構

表 1、生產 SPR 生物感測器的廠商

廠商名稱 網址	產品名稱
BIACore AB (Uppsala, Sweden) <a href="http://www.biacore.com">http://www.biacore.com</a>	BIACore
Affinity Sensors (Franklin, MA) <a href="http://www.affinity-sensors.com">http://www.affinity-sensors.com</a>	IASys
Nippon Laser Electronics (Hokkaido, Japan) <a href="http://www.rieki.com">http://www.rieki.com</a>	SPR-670
Artificial Sensing Instruments (Zurich, Switzerland) <a href="http://www.microvacuum.com/products/biosensor">http://www.microvacuum.com/products/biosensor</a>	OWLS
IBIS Technologies BV (Enschede, The Netherlands) <a href="http://www.ibis-spr.nl">http://www.ibis-spr.nl</a>	IBIS
Texas Instruments (Dallas, TX) <a href="http://www.ti.com/spreeta">http://www.ti.com/spreeta</a>	TISPR
Aviv (Lakewood, NJ) <a href="http://www.avivinst.com">http://www.avivinst.com</a>	PWR-400
BioTul AG (Munich, Germany) <a href="http://www.biotul.com">http://www.biotul.com</a>	Kinomics
Quantech Ltd (Eagan, MN) <a href="http://www.quantechltd.com">http://www.quantechltd.com</a>	FasTraQ

**五、中文發明摘要：**

本發明提供一種光波導型表面電漿共振感測裝置，其可進行差分量測，包含：一基板；一底層；以及至少一組光波導層，該組光波導層包含一量測光波導通道以及一參考光波導通道，該量測光波導通道包含一表面電漿共振感測膜層，該量測光波導通道以及該參考光波導通道為各自獨立且實質上互為平行設置；且該底層材料之折射率高於該光波導層之折射率。

**六、英文發明摘要：**

十、申請專利範圍：

1. 一種光波導型表面電漿共振感測裝置，其可進行差分  
量測，包含：  
一基板；  
一底層；以及  
至少一組光波導層，該組光波導層包含一量測光波導  
通道以及一參考光波導通道，該量測光波導通道包含  
一表面電漿共振感測膜層，該量測光波導通道以及該  
參考光波導通道為各自獨立且實質上互為平行設置；  
且該底層材料之折射率高於該光波導層之折射率。
2. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感  
測裝置，其中該基板為矽晶片、玻璃或高分子材料。
3. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感  
測裝置，其中該底層材料係選自光阻、二氧化矽、摻  
雜雜質的二氧化矽，以及高分子所組成的群組。
4. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感  
測裝置，其中該底層厚度最小值為 5  $\mu\text{m}$ 。
5. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感  
測裝置，其中該光波導層材料係選自光阻、二氧化  
矽、摻雜雜質的二氧化矽，以及高分子所組成的群組。
6. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感  
測裝置，其中該光波導層厚度最小值為 10  $\mu\text{m}$ 。

7. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該感測光波導層中相鄰光波導通道之間距為 500-5000  $\mu\text{m}$ 。
8. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該光波導層中之光波導通道寬度為 20-500  $\mu\text{m}$ 。
9. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該表面電漿共振感測膜層為金屬膜或合金膜。
10. 如申請專利第 9 項所述之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該表面電漿共振感測膜層進一步包含一可與待測物結合之生物分子。
11. 如申請專利第 10 項所述之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該生物分子係選自核酸、胜肽以及蛋白質所組成的群組。
12. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該表面電漿共振感測膜層進一步包含多層介電質膜。
13. 如申請專利第 1 項所述之光波導型表面電漿共振感測裝置，進一步包含一導流結構層，該導流結構層係設於該光波導層之上。
14. 如申請專利第 13 項之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該導流結構層包含：  
一基材，其係作為承載其他結構的基層；

一濾膜層，其係設於該基材之下，用以過濾並導入樣品；

一樣品載入墊材，其係設於該導流結構層的一端，用以載入該樣品；以及

一吸收墊材，其係設於該樣品載入墊材的反向端，用以吸收過量的多餘樣品。

15. 如申請專利第 13 項之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該導流結構層包含：

一基材，其係作為承載其他結構的基層；

一微米級凹槽結構，其係設於該基材面向該光波導層之側，用以導入樣品；

一樣品載入墊材，其係設於該導流結構層的一端，用以載入該樣品；以及

一吸收墊材，其係設於該樣品載入墊材的反向端，用以吸收過量的多餘樣品；

一濾膜層，其係設於該樣品載入墊材之區域。

16. 如申請專利第 13 項之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該導流結構層包含：

一基材，其係作為承載其他結構的基層；

一微米級凹槽結構，其係設於該基材面向該光波導層之側，用以導入樣品；

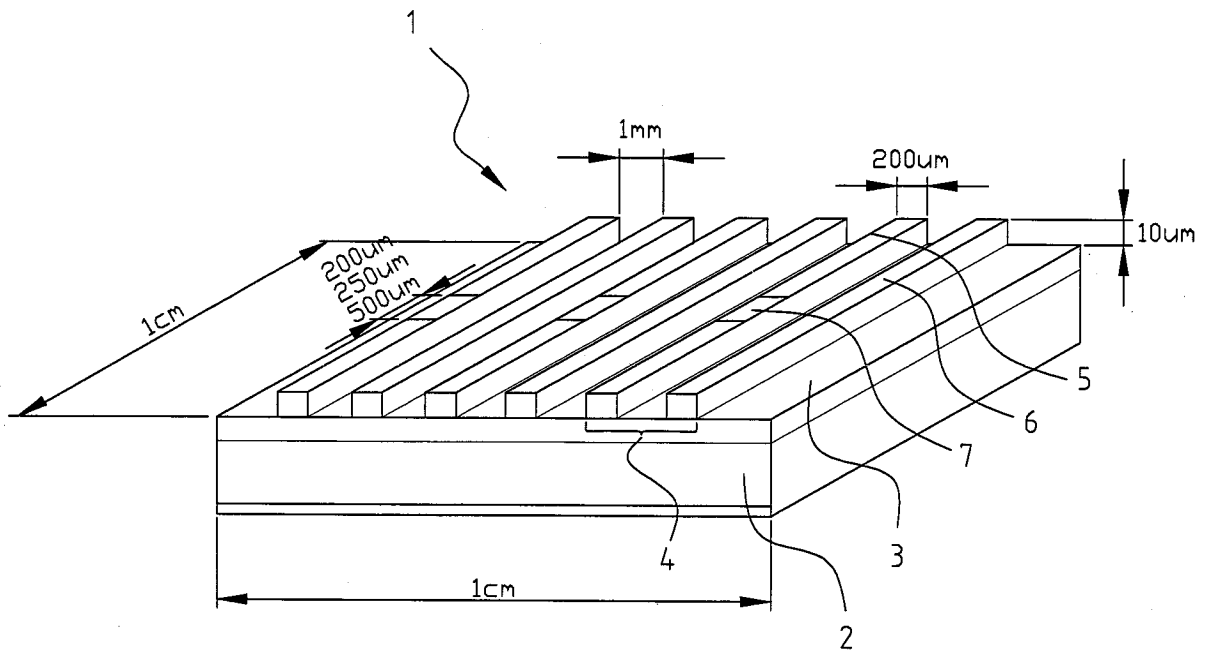
一樣品載入墊材，其係設於該導流結構層的一端，用以載入該樣品；以及

一吸收墊材，其係設於該樣品載入墊材的反向端，用以吸收過量的多餘樣品；

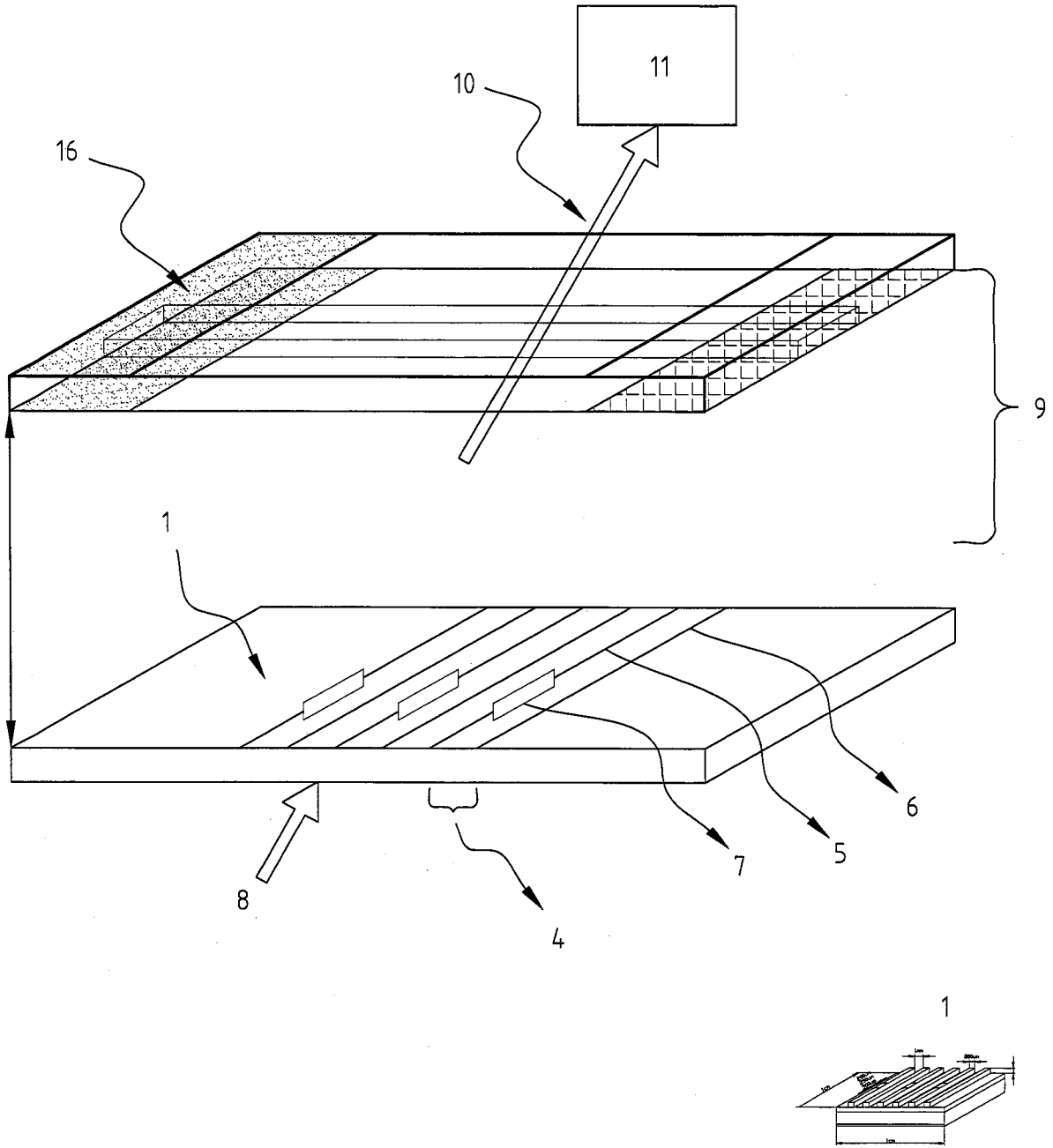
一濾膜層，其係設於該微米級凹槽結構之內。

17. 如申請專利第 14 - 16 項之任一項之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該濾膜層為硝化纖維或醋酸纖維。
18. 如申請專利第 17 項之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該導流結構層之折射率為 1.33-1.35。
19. 如申請專利第 1 項之光波導型表面電漿共振感測裝置，其中該光波導型表面電漿共振感測裝置可拋棄式。

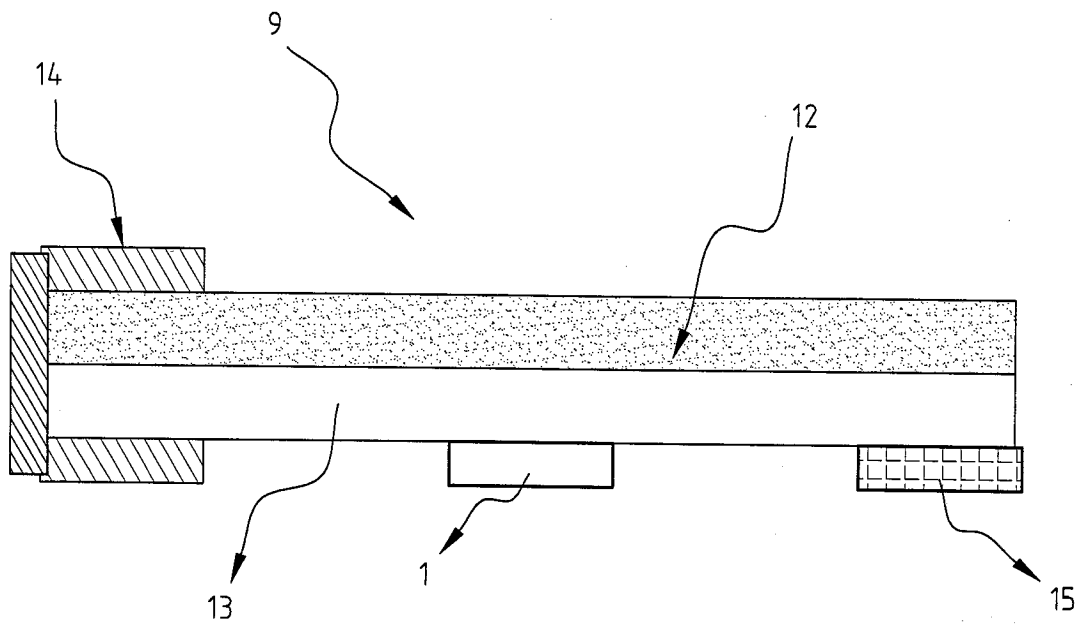
十、圖式



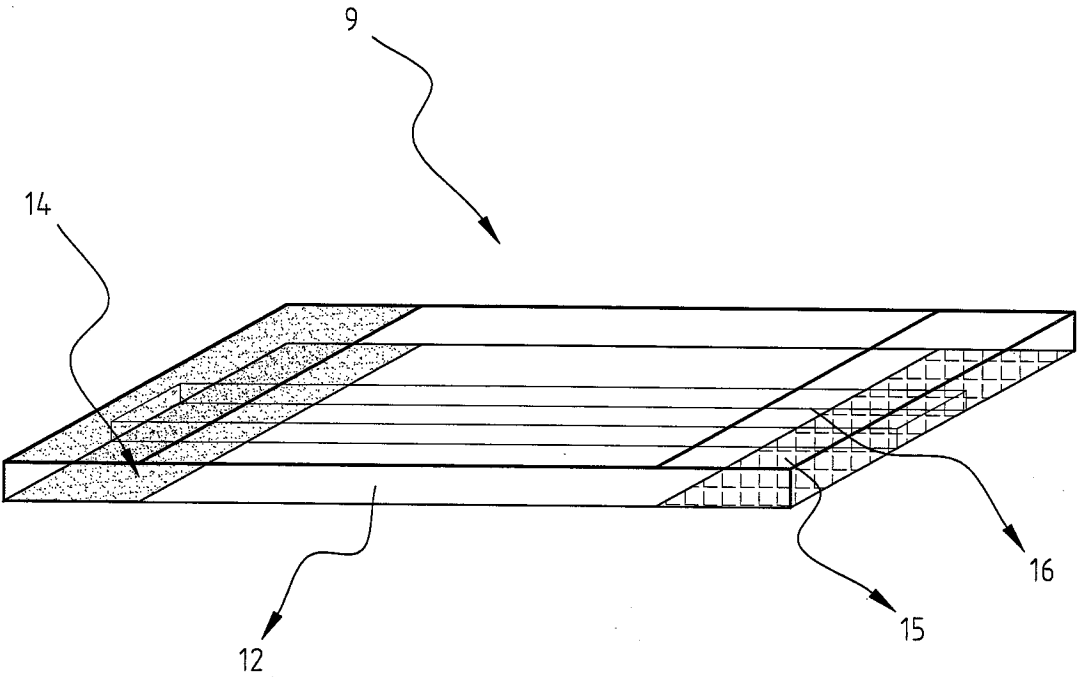
第一圖



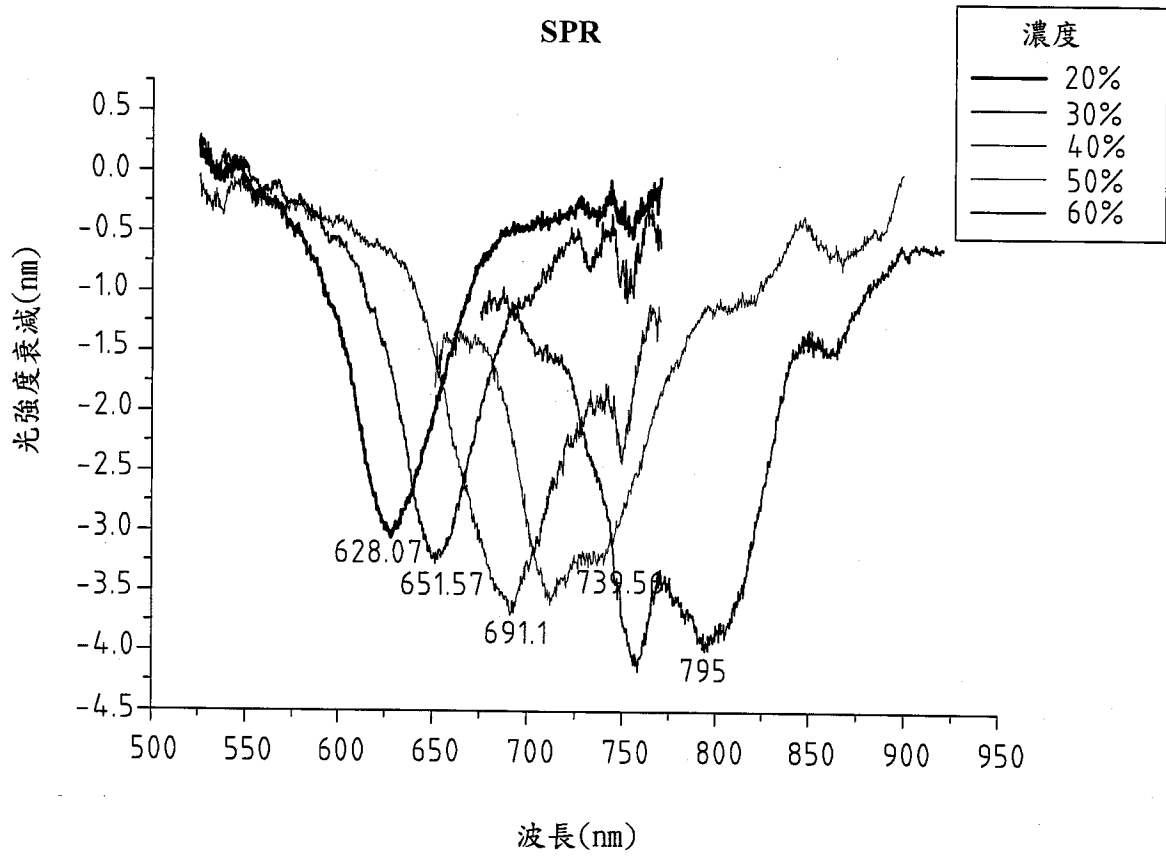
第二圖



第三圖

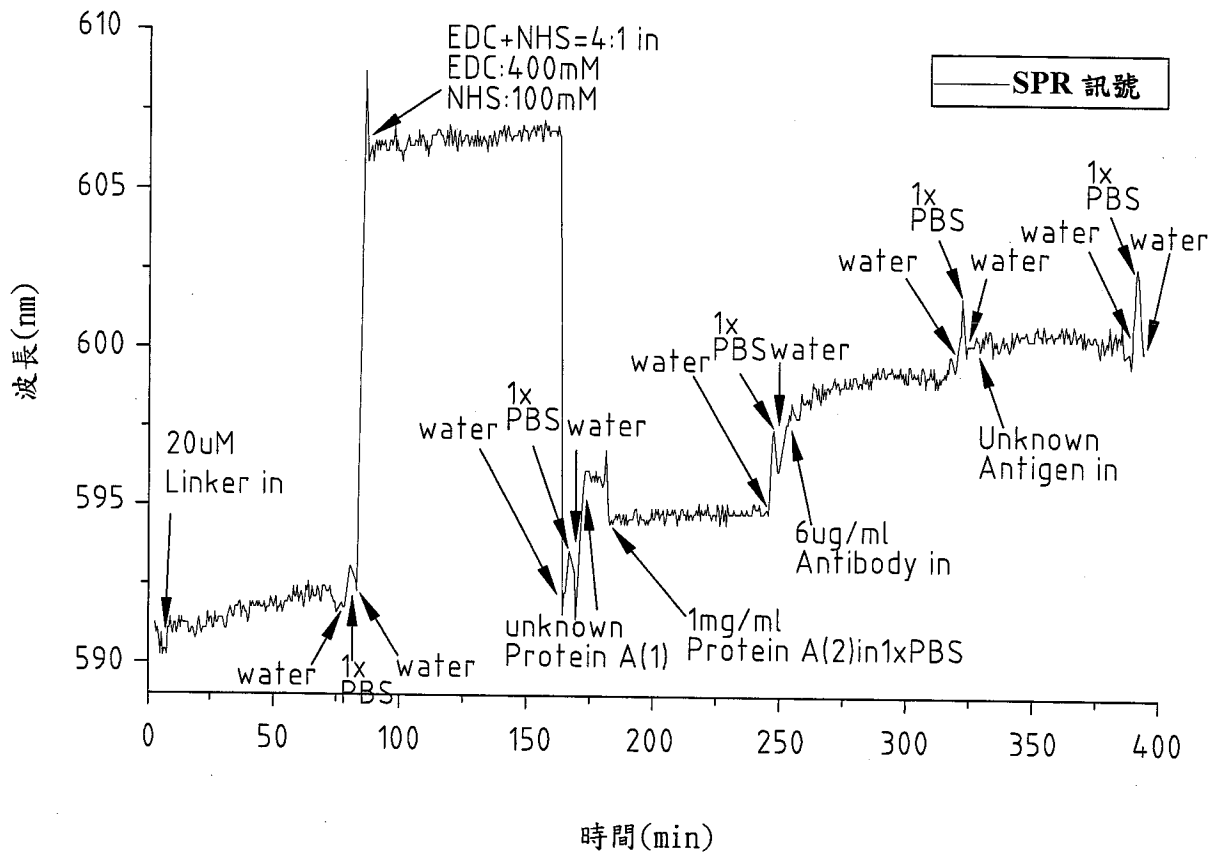


第四圖



第五圖

SPR Point V.S. 時間



第六圖

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第一圖

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

- |   |            |   |         |
|---|------------|---|---------|
| 1 | 感測晶片       | 2 | 基板      |
| 3 | 底層         | 4 | 光波導層    |
| 5 | 量測光波導通道    | 6 | 參考光波導通道 |
| 7 | 表面電漿共振感測膜層 |   |         |

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無