

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101836102 B

(45) 授权公告日 2012. 02. 29

(21) 申请号 200880112936. 6

(22) 申请日 2008. 10. 21

(30) 优先权数据

07119248. 8 2007. 10. 25 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 04. 23

(86) PCT申请的申请数据

PCT/IB2008/054329 2008. 10. 21

(87) PCT申请的公布数据

W02009/053902 EN 2009. 04. 30

(73) 专利权人 皇家飞利浦电子股份有限公司

地址 荷兰艾恩德霍芬

(72) 发明人 C·A·费许雷恩

J·A·H·M·卡尔曼

A·H·J·伊明克 M·梅珍斯

J·维恩 B·M·德布尔

T·P·H·G·扬森

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 王英 刘炳胜

(51) Int. Cl.

G01N 15/06(2006. 01)

审查员 葛佳佳

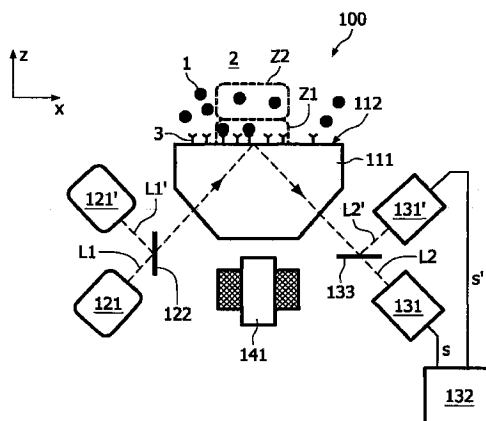
权利要求书 2 页 说明书 14 页 附图 16 页

(54) 发明名称

用于样品中靶粒子的传感器装置

(57) 摘要

本发明涉及一种用于确定在与样品室 (2) 相邻的接触面 (112) 上的靶粒子 (1) 的量的传感器装置 (100) 和方法。通过传感器元件 (SE) 检测在所述样品室中的靶粒子 (1), 并且提供至少一个相应的传感器信号 (s、s')。评估单元 (EU) 随后基于该传感器信号, 确定在紧接所述接触面 (112) 的第一区 (Z1) 中和远离所述接触面距离 (z) 的第二区 (Z2) 中的靶粒子 (1) 的量。在光学测量方法中, 可以使用在不同操作条件下 (例如波长、入射角) 发生的受抑全反射来提取关于所述第一区 (Z1) 和第二区 (Z2) 的信息。在磁测量方法中, 可以使用不同的磁激励场以差别化地激励在所述第一区和第二区 (Z2) 中的磁靶粒子。此外, 可以评估传感器信号 (s、s') 的时间过程, 特别是关于所述靶粒子 (1) 的随机移动进行所述评估。



1. 一种用于确定在样品室 (2) 的接触面 (112-612) 上的靶粒子 (1) 的量的传感器装置 (100-600), 在所述样品室中提供具有所述靶粒子 (1) 的样品, 所述传感器装置包括

a) 传感器元件 (SE), 其用于检测所述样品室 (2) 中的靶粒子 (1), 并且用于提供至少一个相应的传感器信号 (s, s');

b) 评估单元 (EU), 其基于所述至少一个传感器信号, 直接地或间接地确定紧接所述接触面 (112-612) 上的第一区 (Z1) 中和远离所述接触面 (112-612) 一段距离 (z) 的第二区 (Z2) 中的靶粒子 (1) 的量, 所述评估单元 (EU) 提供表示在所述第一区 (Z1) 中的靶粒子 (1) 的量的输出值, 其中, 考虑在所述第二区 (Z2) 中的靶粒子 (1) 的量来确定所述输出值。

2. 根据权利要求 1 所述的传感器装置 (100-600),

其特征在于, 所述传感器元件 (SE) 提供至少两个传感器信号 (s, s'), 所述传感器信号 (s, s') 以不同的方式分别对在所述第一区 (Z1) 中和所述第二区 (Z2) 中的靶粒子 (1) 的量敏感, 并且其特征在于, 所述评估单元 (EU) 确定所述传感器信号 (s, s') 的加权差。

3. 根据权利要求 1 所述的传感器装置 (600),

其特征在于, 所述样品室 (2) 包括与所述接触面 (612) 中靶粒子 (1) 不能够进入的部分相邻的隔离区 (613)。

4. 根据权利要求 1 所述的传感器装置 (100-200),

其特征在于, 所述传感器元件 (SE) 包括

a) 至少一个光源 (121、121'、221、221'), 其用于发射两条输入光束 ($L1, L1'$), 使得它们在不同条件下于所述接触面 (112-212) 处被全反射并作为对应的输出光束 ($L2, L2'$), 由此在所述输入光束 ($L1, L1'$) 于所述接触面 (112-212) 处的全反射期间产生具有不同衰减距离 (Z_e) 的倏逝波, 由此所述输入光束 ($L1, L1'$) 在所述接触面 (212) 处具有不同的光谱成分和 / 或入射角度 (θ);

b) 至少一个光检测器 (131、131'、231、231'), 其用于确定所述输出光束的光量并且用于提供相应的传感器信号 (s, s')。

5. 根据权利要求 1 所述的传感器装置 (300-600),

其特征在于, 所述传感器元件 (SE) 为磁传感器元件 (SE), 并且

所述传感器装置包括至少一个磁场发生器 (W1-W4), 其用于在所述样品室 (2) 中生成至少两个具有不同位形的磁激励场 (B, B'), 由此所述磁场发生器包括至少两条导线 (W1-W4), 所述导线能够被选择性地提供激励电流并且相对于所述磁传感器元件 (SE) 具有不同的几何布置;

其中, 所述磁传感器元件 (SE) 用于检测由磁靶粒子 (1) 对所述磁激励场作出反应而生成的磁反应场 (B_r) 并且用于提供相应的传感器信号 (s, s')。

6. 根据权利要求 5 所述的传感器装置 (300、500、600),

其特征在于, 其包括相对于所述磁传感器元件 (SE) 对称布置的导线 (W1-W4) 对, 并且其特征在于, 所述接触面 (112-612) 包括靶粒子 (1) 能够结合到其上的结合部位 (3)。

7. 根据权利要求 1 所述的传感器装置 (100-600),

其特征在于, 其包括用于主动移动靶粒子 (1) 的操控装置, 所述操控装置适于从所述传感器元件 (SE) 的敏感区域移除自由靶粒子 (1)。

8. 根据权利要求 7 所述的传感器装置 (100-600),

其特征在于,所述操控装置是磁场发生器(141)。

9. 根据权利要求1所述的传感器装置(100-600),

其特征在于,所述评估单元(EU)适于评估所述传感器信号(s 、 s')的时间过程,关于所述靶粒子(1)的随机移动进行所述评估,和/或其特征在于,所述评估单元(EU)适于确定所述传感器信号(s 、 s')的噪声功率,和/或其特征在于,所述评估单元(EU)适于确定在所述第二区(Z2)中的靶粒子(1)的平均数目,和/或其特征在于,所述评估单元(EU)适于确定在所述第二区(Z2)中的靶粒子(1)的平均数目的变化,和/或其特征在于,所述评估单元(EU)适于推断关于群集的靶粒子(1)的量的信息、关于所述接触面的覆盖范围的信息、和/或关于所述靶粒子的扩散特性的信息。

10. 根据权利要求9所述的传感器装置(100-600),

其特征在于,所述评估单元(EU)适于确定在高通滤波之后的所述传感器信号(s 、 s')的噪声功率。

11. 一种用于确定在与样品室(2)相邻的接触面(112-612)上的靶粒子(1)的量的方法,在所述样品室(2)中提供具有所述靶粒子的样品,所述方法包括:

a) 使用传感器元件(SE)检测在所述样品室(2)中的靶粒子(1)并且提供至少一个相应的传感器信号(s 、 s');

b) 使用评估单元(EU)基于所述至少一个传感器信号,直接地或间接地确定紧接所述接触面的第一区(Z1)中和远离所述接触面一段距离(z)的第二区(Z2)中的靶粒子(1)的量,所述评估单元(EU)提供表示在所述第一区(Z1)中的靶粒子(1)的量的输出值,其中,考虑在所述第二区(Z2)中的靶粒子(1)的量来确定所述输出值。

12. 根据权利要求11所述的方法,

其特征在于,提供至少两个传感器信号(s 、 s'),所述传感器信号(s 、 s')以不同的方式分别对在所述第一区(Z1)中和所述第二区(Z2)中的靶粒子(1)的量敏感。

13. 根据权利要求11所述的方法,

其特征在于,所述传感器信号(s 、 s')是从具有不同衰减距离(z_e)的倏逝波的受抑全反射中导出的。

14. 根据权利要求11所述的方法,

其特征在于,所述传感器信号(s 、 s')是从磁靶粒子(1)被具有不同位形的磁激励场(B 、 B')激励而生成的磁反应场(B_r)中导出的。

15. 根据权利要求11所述的方法,

其特征在于,评估所述传感器信号(s 、 s')的时间过程,特别是关于所述靶粒子(1)的随机移动进行所述评估。

16. 根据权利要求1到10中任意一项所述的传感器装置(100-600)进行分子诊断、生物样品分析或化学样品分析的用途。

用于样品中靶粒子的传感器装置

[0001] 本发明涉及一种用于确定在与其中提供靶粒子的样品室相邻的接触面上的靶粒子量的方法和传感器装置。此外,本发明还涉及此类装置的用途。

[0002] US 2005/213204A1 描述了一种三维共焦显微镜系统,其用于基于由共焦扫描器输出的样品切片图像的图像拾取数据执行图像处理,因而采集该样品的三维图像。

[0003] W091/03728 描述了一种导引的光波化学传感器系统,其适于测量在波导管上存在薄膜表面污染物时的化学物种的浓度。

[0004] 美国专利 US 2005/0048599A1 公开了一种用于微生物研究的光学方法,所述微生物用粒子进行标记以便可以对它们施加(例如磁)力。在该方法的一个实施例中,光束被引导穿过透明材料以到达其被全反射的表面。作为倏逝波离开透明材料的这束光被表面上的微生物和/或其他部件散射,并且随后被光电检测器检测或用于照亮微生物以进行视觉观察。

[0005] 此外,从 WO 2005/010543A1 和 WO 2005/010542A2(这两份专利文献以引用方式并入本申请中)中知道一种磁传感器装置,其例如可以用在微流控生物传感器中以检测用磁珠标记的分子,例如生物分子。所述磁传感器装置具有包括用于生成磁场的电线和用于检测由磁珠生成的杂散场的巨磁电阻(GMR)的传感器单元阵列。GMR 信号随后指示传感器单元附近的磁珠数目。

[0006] 基于这种情况,本发明的目的是提供替代方案以改善的精确度和可靠性地确定在样品室内、特别是在接触面上的靶粒子量。

[0007] 这一目的通过权利要求 1 所述的传感器装置、权利要求 9 所述的方法、以及权利要求 14 所述的使用来实现。从属权利要求公开了优选实施例。

[0008] 根据本发明的传感器装置用于确定在与样品室相邻的接触面上的靶粒子的量,其所述样品室中提供具有所述靶粒子的样品。

[0009] 在本文中,术语“靶粒子”包括应当被检测的任何连成片的材料,例如生物物质(生物分子、复合物、细胞片段、细胞等)。优选地,“靶粒子”包括感兴趣的物质及相关的标记粒子(原子、分子、复合物、纳米粒子、微粒子等),所述相关的标记粒子具有某些可以被检测到的性质(例如光学密度、磁化率、电荷、荧光、放射性等),因而这些性质可以间接地揭示出是否存在相关的感兴趣物质。此外,待确定的靶粒子可以都是同种类型的或是不同类型的(例如不同的生物分子)。

[0010] “样品室”通常是空腔或填充有像可以吸收样品物质的凝胶一样的某些物质的腔;它可是开放腔、闭合腔、或通过流体连接通道连接到其他腔的腔。

[0011] “接触面”是样品室与其他部件,例如透明载体或某些基底(例如半导体)之间的分界面,在该分界面上收集靶粒子。

[0012] 最后,应当注意的是,“靶粒子的量”可以以各种适当的方式进行表达,例如,表达为靶粒子(在给定的体积内)的绝对数目或总质量、或表示为密度(即单位面积或单位体积的靶粒子数目或质量)。

[0013] 所述传感器装置包括如下部件:

[0014] a) 传感器元件,其用于检测样品室内的靶粒子以及用于提供至少一个相应的传感器信号(其中,术语“传感器信号”在下文用于特指传感器元件的这一特定信号)。正如将要参考本发明的优选实施例加以举例说明的,所述传感器元件可以通过任意合适的方法或原理,例如通过光学测量、磁测量、机械测量、声学测量、热测量和/或电测量来实现对靶粒子的检测。所述传感器信号通常是描述与样品室的某些区域中的靶粒子的量有关的标值的电信号。

[0015] b) 评估单元,其用于基于至少一个上述传感器信号确定在“第一区”中和在不同的“第二区”中的靶粒子的量,其中,所述“第一区”被定义为直接布置在接触面上的样品室子区域,并且其中,所述“第二区”被定义为布置成远离接触面一段非零距离,即与所述接触面分离开一些中间空间的样品室子区域。所述第一区和第二区通常是不重叠的,但是一般允许很少量的重叠。此外,可以直接地或间接地确定在所述第一区中和/或第二区中的靶粒子的量,即所述评估单元可以提供直接代表所述量的值或仅仅暗示依赖于所述量的值。例如,所述评估单元可以提供直接代表与所述接触面相邻的第一区中的靶粒子的量的单一输出值,其中,该值通过考虑在所述第二区中的靶粒子量(例如,作为校正因子)加以确定。

[0016] 最后,应当注意的是,所述评估单元可以实现为专用的电子硬件、具有相关软件的数字数据处理硬件、或两者的组合。

[0017] 所描述的传感器装置具有这样的优点:在两个不同的区中,即,在与接触面相邻的第一区中一通常是主要感兴趣的区,例如,在生物靶分子被结合到所述接触面的特定结合部位的情况下一以及同时在不同的第二区中(直接地或间接地)评估靶粒子的量。由于与所述接触面有距离,因此所述第二区提供关于大块样品中靶粒子的量或浓度的信息。这些信息被证明在很多情况下是非常有价值的,因为在所述两个区内的靶粒子量通常具有很强的互相关性,从而使得由测量得到正确结果需要同时考虑这两个量。在生物分子与接触面上的结合部位竞争靶粒子的竞争性测定中,生物分子的量例如仅当结合靶粒子(第一区)的量和自由靶粒子(第二区)的量两者都知道时,才能够正确确定。

[0018] 所述传感器装置可以具体实现为许多不同的形式。一大组实现(“双传感器信号方法”)的特征在于,传感器元件提供以不同方式分别与第一区中和第二区中的靶粒子的量有关或对第一区中和第二区中的靶粒子的量敏感的至少两个传感器信号。因此将这些至少两个传感器信号以适当的方式组合起来,可以揭示出在所述第一区中和/或第二区中的靶粒子的量。该方法一个直接实现可以使用能够在所述两个区以不同灵敏度进行测量的传感器元件,例如,提供在第一区以高灵敏度测量而在第二区以低灵敏度测量的第一传感器信号,以及以相反方式获得的第二传感器信号。

[0019] 在上述情况许多的实施例中,所述评估单元适于确定至少两个传感器信号间的加权差(或者,等价地,所有传感器信号的线性组合)。由此,简单的数学运算通常已经足以提取人们所感兴趣的信息。

[0020] 根据本发明的另一实施例,所述样品室包括与接触面的一部分相邻的、被定义为靶粒子不能进入的隔离区。传感器元件的测量同样覆盖这样的隔离区可以有利地判别传感器信号(s)在第一区和第二区之间的差别。

[0021] 下文中,将更加详尽地描述基于光学测量的“双传感器信号方法”的具体实现。在这些实施例中,所述传感器元件包括:

[0022] a) 至少一个光源,其用于发射两条光束,所述光束在下文中称之为“输入光束”,以便它们可以在所述接触面上在不同条件下进行全反射,从而产生相应的“输出光束”。

[0023] 必须注意的是,两条输入光束之间的差别可能是纯概念性的,即由同一光源发射的光子可能根据某些给定标准,例如在多色光源下它们的波长,分别被指定作为第一或第二输入光束。

[0024] 例如,所述光源可以包括激光或发光二极管(LED),任选地,配备有一些用于形成并引导输入光束的光学器件。此外,应当注意的是,全反射的发生要求输入光线传播到接触面所通过的介质的折射率大于与接触面相邻的材料(通常是样品)的折射率。这例如是如下情况:光传播的介质由玻璃($n = 1.6-2$)制成并且相邻的材料是水($n = 1.3$)。还应当注意的是,术语“全反射”应当包括称之为“受抑全反射”的情况,其中入射光中的一些在反射过程中丢失(被吸收、散射等)。

[0025] b) 至少一个光检测器,其用于确定输出光束中的光量,并且用于提供相应的传感器信号。所述光检测器可以包括任意合适的一个或多个借此可以检测给定光谱光线的传感器,例如光电二极管、光敏电阻、光电池、CCD芯片、或光电倍增管。所述“光量”例如可以表示为输出光线束在其横截面的至少一部分中的光强。

[0026] 利用全反射的光学测量具有这样的优点,即它们可以在与所述样品没有物理接触的情况下完成,它们独立于例如靶粒子的磁操控,并且它们严格限制在与接触面相邻的小体积内。

[0027] 上述将所描述的光学测量限制在接触面上的小体积内是由于这样的事实:在全反射期间产生的倏逝波以指数衰减穿透到相邻的介质、即样品中。两条输入光束全反射所需的不同条件优选地然后将使得倏逝波具有不同的衰减距离(其被定义为倏逝波的振幅已经衰减到 $1/e \approx 37\%$ 时的距离)。倏逝波随后将探查与接触面相邻的不同厚度的体积,这可以被用于分别提取关于第一区和第二区中的靶粒子的信息。

[0028] 所述两条输入光束可以优选地具有不同的光谱成分和/或在接触面上的入射角。这两个参数能够容易地进行控制并且对倏逝波的衰减距离具有至关重要的影响。

[0029] 下面,将基于对“磁靶粒子”,即具有磁性的或能够被磁化的靶粒子的磁检测,更加详尽地描述所述“双传感器信号方法”的具体实现。此类磁传感器装置的基本实施例包括:

[0030] 至少一个磁场发生器,其用于在样品室内生成至少两个具有不同位形的磁激励场。在上下文中,如果两个磁场的磁感应向量在样品室内不是彼此仅仅关于单一全局比例因子成比例,那么这两个磁场被理解为具有“不同的位形”。

[0031] 其中,所述磁传感器元件用于检测由磁靶粒子对上述磁激励场做出反应而生成的磁反应场,并且用于提供相应的传感器信号。所述磁传感器元件可以包括任意适于磁场检测的装置,例如在W02005/010543A1或W0 2005/010542A2中所描述的线圈、霍尔传感器、平面霍尔传感器、磁通门传感器、SQUID(超导量子干涉仪)、磁共振传感器、磁致伸缩传感器、或磁阻传感器,特别是GMR(巨磁电阻)、TMR(隧道磁电阻)、或AMR(各向异性磁电阻)。

[0032] 通过为磁激励场提供不同的位形,所描述的磁传感器装置能够在第一区和第二区中分别以不同的灵敏度检测样品室内的靶粒子。

[0033] 所述磁场发生器可以优选地包括至少两条导线,可以选择性地为所述导线提供用于生成磁激励场的激励电流,并且所述导线具有相对于磁传感器元件不同的几何布置。因

此,可以容易地产生具有不同位形的磁激励场,以允许选择性地探查所述第一区和第二区。

[0034] 在另一实施例中,所述磁传感器装置可以包括导线对,其中,每个导线对被布置为关于磁传感器元件对称。此类对称布置具有这样的优点,即某些不良影响(例如串扰)可以互相补偿。

[0035] 到目前为止,仅仅假定接触面是面对样品室的某些交界面,在此收集靶粒子。在本发明的优选实施例中,接触面将附加地包括靶粒子的结合部位。所述结合部位例如可以是某些靶粒子(例如抗原)可以特异性结合到上面的生物分子(例如抗体)。因此,除了为了方便检测将靶粒子固定在接触面上之外,结合部位的重要目的通常是从复杂混合物中特异选择出感兴趣的特定分子。

[0036] 在本发明的另一实施例中,传感器装置可以包括用于主动移动靶粒子的操控装置。所述操控装置可以具体地包括用于对磁靶粒子施加磁力(经由场梯度)的磁场发生器,例如电磁体。所述操控例如可以用于以加速的方式将靶粒子移动到接触面上。

[0037] 上述操控装置连同涂布结合部位的接触面可以任选地适于从传感器元件的敏感区域移除没有结合到结合部位的靶粒子。因此,可以执行冲洗处理,从而在所述区域内仅留有可以被传感器元件测量的结合的靶粒子。

[0038] 在下文中,将描述另一大组实现,其中,所述评估单元适于评估至少一个传感器信号的时间过程(“时间分析方法”)。这要求可以在不同时间点获得传感器信号的至少两个值(优选地,所述传感器信号将是随时间连续或准连续的)。在这些实施例中,将从传感器信号(s)的时间变化中提取出关于样品室的第一区和第二区的信息。应当注意的是,“双传感器信号方法”与“时间分析法”之间的边界是变化的,并且很大程度上依赖于对传感器信号的定义。因此,每个具有时间过程的传感器信号可以任意地以复用方式被分为对应于第一时间间隔的第一传感器信号和对应于第二时间间隔的第二传感器信号。在本发明的背景中,如果传感器元件在不同的操作条件下进行测量(例如使用不同波长的光或使用不同位形的磁场)则优选假设“双传感器信号方法”,而“时间分析方法”则更适合信号变化的原因在于样本内部(例如,靶粒子的移动)的情形。

[0039] “时间分析方法”的一个第一实施例与上面使用操控装置从传感器元件的敏感区域移除自由(未结合)靶粒子的概率有关。因此,传感器信号的时间过程可以(i)在第一时刻对应于存在未结合靶粒子的情况;而(ii)在第二时刻对应于从传感器元件的敏感区域将其去除的情况,即仅存在结合到接触面上的结合部位的靶粒子的情况。因此在这两个时刻进行的测量将能够导出分别在第一区中和第二区中所需的靶粒子的量。

[0040] 在“时间分析方法”的另一重要实现中,关于靶粒子的随机运动进行传感器信号的时间评估。由于这些粒子通常是像原子、分子、复合物或细胞这样的微观实体,它们将倾向于在液态样品中随机移动,这被称为“布朗运动”。这些移动通常分别在第一区中和第二区中是不同的,因此可以用于推断关于这些区的信息。例如,如果靶粒子结合在接触面的第一区中,那么它们的随机移动将近似为零。

[0041] 根据上述传感器装置的优选实施例,所述评估单元可以适于确定传感器信号的噪声功率(其通常与第二区中的靶粒子的量有关)。任选地,在进行高通滤波以去除缓慢变化(例如,由于结合过程)之后再进一步确定。均值 $\langle s \rangle = 0$ 的时变信号 $s(t)$ 的噪声功率可以由如下公式定义

$$[0042] \quad \sigma_s^2 = \langle s^2(t) \rangle$$

[0043] 在另一实施例中,所述评估单元可以适于确定在第二区中的靶粒子的平均数目以及该数目的变化。因为靶粒子的群集增加了变化,若所述平均数目和所述变化已知,则能够检测所述群集。

[0044] 更一般地,所述传感器装置的评估单元可以适于推断关于群集的靶粒子的量的信息、关于所述接触面的覆盖范围(例如,通过气泡)的信息、和/或关于所述靶粒子的扩散特性的信息。这些是针对可以利于增加所述测量的精度的参数的实例。

[0045] 本发明还涉及一种用于确定在与样品室相邻的接触面上的靶粒子的量的方法,在所述样品室中提供具有所述靶粒子的样品,其中,所述方法包括以下步骤:

[0046] a) 使用传感器元件检测在所述样品室内的靶粒子并且提供至少一个相关的传感器信号;

[0047] b) 使用评估单元基于至少一个传感器信号,直接地或间接地确定在紧接所述接触面的第一区中和远离接触面一段距离的第二区中的靶粒子的量。

[0048] 根据所述方法的第一优选实施例,提供至少两个传感器信号,所述传感器信号以不同的方式分别对所述第一区中和第二区中的靶粒子的量敏感。

[0049] 在上述情况下,所述传感器信号中的至少一个可以与样品室中没有靶粒子的区域有关。例如,该区域可以是靶粒子不能进入的隔离区,或者是样品室中已经冲洗掉未结合靶粒子的区域。

[0050] 在光学测量方法中,所提到的两个传感器信号可以从具有不同衰减距离的倏逝波的受抑全反射中导出。

[0051] 或者,所述两个传感器信号可以从被具有不同位形的磁激励场激励的磁性靶粒子的磁反应场中导出。

[0052] 此外,可以评估至少一个传感器信号的时间过程,特别是关于所述靶粒子的随机移动进行所述评估。

[0053] 所述方法的以上实施例通常描述为上述类型的传感器装置执行的步骤。因此,参考以上对传感器装置的描述可以获得关于这些方法的细节、优点和变型的更多信息。

[0054] 本发明还涉及上述传感器装置进行分子诊断、生物样品分析、或化学样品分析、食物分析、和/或法医分析的用途。例如,分子分析可以在直接或间接附接到靶分子上的磁珠或荧光粒子的帮助下完成。

[0055] 本发明的这些或其他方面将从下文描述的实施例中变得显然,并且参考这些实施例进行阐述。这些实施例将借助于附图通过举例的方式加以描述,在附图中:

[0056] 图1示意性地示出了根据本发明的依赖于受抑全反射的光学传感器装置;

[0057] 图2示出了图1中装置的变型,其中,使用具有不同入射角的输入光束;

[0058] 图3示出了随着具有不同波长的倏逝波离开接触面的距离和不同入射角而变的场振幅;

[0059] 图4示出了不同波长的依赖于入射角的倏逝波的衰减距离;

[0060] 图5以如图3中的图表示出了对于入射角度 65° 且两个长度不同的波长的依赖于离开接触面距离的倏逝波的场振幅;

[0061] 图6示出了在同一平面上具有四条导线和GMR传感器的磁传感器装置的(a)第一

操作状态和 (b) 第二操作状态；

[0062] 图 7 示出了图 6 的磁传感器装置在 (a) 第一操作状态和 (b) 第二操作状态中依赖于离开接触面的距离的测量信号以及 (c) 这些数据的加权差；

[0063] 图 8 示出了在 GMR 传感器一侧具有两条导线的磁传感器装置的 (a) 第一操作状态和 (b) 第二操作状态；

[0064] 图 9 示出了在两个平行平面布置有四条导线的磁传感器装置的 (a) 第一操作状态和 (b) 第二操作状态；

[0065] 图 10 示出了图 9 的磁传感器装置在 (a) 第一操作状态和 (b) 第二操作状态中依赖于离开接触面的距离的测量信号以及 (c) 这些数据的加权差；

[0066] 图 11 示出了在其他几何参数情况下对应于图 10c) 的图表；

[0067] 图 12 示出了在同一平面具有两条导线和 GMR 传感器并且在其上面一半为隔离区的磁传感器装置的 (a) 第一操作状态和 (b) 第二操作状态；

[0068] 图 13 示出了图 12 的磁传感器装置在 (a) 第一操作状态和 (b) 第二操作状态依赖于离开接触面的距离的测量信号以及 (c) 这些数据的加权差；

[0069] 图 14 汇总出与磁传感器装置有关的各种数学表达式；

[0070] 图 15 示出了在冲洗步骤之前和之后进行测量的典型测定期间传感器装置的归一化响应；

[0071] 图 16 举例说明了对于不同程度的群集在给定体积内的单个靶粒子的数目的概率分布；

[0072] 图 17 示出了洛仑兹谱；

[0073] 图 18 汇总出与传感器信号的随机评估有关的各种数学表达式。

[0074] 在这些附图中,相同的附图标记或相差 100 的整数倍的数字指的是相同或相似的部件。

[0075] 生物传感器例如可以用于检测唾液中滥用药物的路旁检验。滥用药物通常是只拥有一个表位的小分子,因此不能由夹心法进行检验。竞争性或抑制测定是检测这些分子的方法。公知的竞争性测定配置是将感兴趣分子耦合到接触面上,并且通过将抗体连接到检测标记(例如酶、荧光团、或磁珠)上来制备靶粒子。该系统使用标记后的抗体(靶粒子)在样品中和在表面上的感兴趣分子之间执行竞争性测定。显然,结合粒子的量与加入样品中的靶粒子浓度有关。因此,必须事先知道或者在准确定量结果测量期间确定所加入的靶粒子的数目。

[0076] 竞争性测定的上述方案在一个实例中举例说明了,在传感器表面上方体积内的靶粒子(标记)的体积浓度包含有价值的信息。一般而言,通常必须校准对溶液中的靶粒子量的测量。然而,由于在筒内被干燥的靶粒子的变化的解离分散特性,因此常常事先不知道该量。因此将在下面解释用以确定溶液中靶粒子量的各种方法。

[0077] I. 使用 FTIR 借助于光学传感器装置的双传感器信号方法

[0078] 图 1 示出了具有根据本发明的传感器装置的一般配置。所述配置包括载体 111,所述载体例如可以由玻璃或如聚苯乙烯的透明塑料制成。载体 111 位于靠近样品室 2,在所述样品室中可以提供具有待检靶成分(例如药品、抗体、DNA,等等)的样品流体。所述样品还包括诸如超顺磁珠的磁性粒子,其中,这些粒子通常作为标记结合到上述的靶成分中。为

了简单起见,仅在此图中示出了靶成分和磁性粒子的组合,并将在下文称之为“靶粒子 1”。应当注意的是,除了磁性粒子,同样可以使用其他的标记粒子,例如带电荷的粒子或荧光粒子。

[0079] 在载体 111 和样品室 2 之间的交界面形成称之为“接触面”112 的表面。该接触面 112 涂布有能够特异性结合靶粒子的捕获元素 3,例如抗体。

[0080] 所述传感器装置包括用于可控制地在接触面 112 处和样品室 2 的邻近空间内生成磁场的磁场发生器 141,例如,具有线圈和核的电磁体。在该磁场的帮助下,可以操控靶粒子 1,即磁化、特别是移动靶粒子 1(在使用具有梯度的磁场时)。因此,例如,可以将靶粒子 1 吸附到接触面 112 上以便加速其到所述表面的结合,或者在测量之前,从接触面上冲洗掉未结合的靶粒子。

[0081] 所述传感器装置还包括光源 121,所述光源 121 产生输入光束 L1,该光束通过“入射窗”透射进入载体 111。可以使用激光或 LED,特别是可购买到的 DVD($\lambda = 658\text{nm}$) 激光二极管作为光源 121。可以使用准直透镜使输入光束 L1 平行,并且可以使用例如 0.5mm 的针孔减小光束直径。输入光束 L1 以大于全反射(TIR)的临界角 θ_c 的角度抵达接触面 112,因此被全反射为“输出光束”L2。输出光束 L2 通过另一表面(“出射窗”)离开载体 111,并且通过光检测器 131 所检测。光检测器 131 确定输出光束 L2 的光量(例如表示为该光束在整个光谱或光谱的某一部分中的光强)。通过耦合到检测器 131 的评估单元 EU 的评估和记录模块 132 在一段观察期内评估并任选地监测相应的传感器信号 s。

[0082] 也可能使用检测器 131 来采样由被输入光束 L1 激发的荧光粒子 1 所发射的荧光,其中,该荧光例如可以特异性与反射光 L2 区分开。尽管下面的描述集中在对反射光的测量,但是这里所讨论的原理也可以进行必要的修正以用于进行荧光的检测。

[0083] 所描述的传感器装置 100 应用光学器件来进行靶粒子 1 的检测。为了消除或至少最小化背景的影响(例如,诸如唾液、血液等的样品流体的影响),检测技术应该是表面特异性的。正如上面所指出的,这是通过使用受抑全反射(FITR)的原理来实现的。该原理基于这样的事实,即当入射光束 L1 全反射时,倏逝波衰减(指数下降)进入样品 2。如果该倏逝波随后与另一介质(如结合靶粒子 1)相互作用,那么一部分输入光将被耦合到样品流体中(这称之为“受抑全反射”),并且反射强度将会降低(而对于干净的界面或没有相互作用的情况,反射强度将会是 100%)。根据扰动量,即在所述 TIR 表面上或在非常靠近(在大约 200nm 内)所述 TIR 表面(不是在样品室 2 的其他部分)的靶粒子量,反射强度将会相应地下降。因此,该强度下降是对结合靶粒子 1 量的直接测量。

[0084] 所描述的过程与所施加的磁场无关。这使得可以对制备、测量和冲洗步骤进行实时地光学监测。所监测到的信号也可以用于控制测量或各个处理步骤。

[0085] 所描述的结合用于进行致动的磁标记的光读出的优点如下:

[0086] - 筒便宜:载体 111 可以由一张相对简单、注塑成型的高分子材料制成。

[0087] - 复用进行多分析物检验的可能性大:在一次性筒内的接触面 112 可以任选地进行大面积的扫描。或者,可以进行大面积成像,以允许大的检测阵列。此类阵列(位于光学透明的表面上)可以通过例如将不同结合分子喷墨印刷在光学表面上制成。

[0088] 所述方法还能够通过使用多光束和多检测器和多致动磁体(不论机械移动还是电磁致动)在孔板上进行高吞吐量的检验。

[0089] - 致动和感测是互不相关的：对靶粒子的磁致动（通过大磁场和磁场梯度）并不影响感测过程。因此，所述光学方法允许在致动期间对所述信号进行连续监测。这提供了所述测定过程的很多细节并且允许基于信号斜率的简单动力学检测方法。

[0090] - 接口简单：在筒和读取器之间的电连接是不必要的。光学窗口是仅需要探查所述筒。因此可以实施非接触的读取。

[0091] - 能够进行低噪声的读取。

[0092] 正如当前所描述的，传感器装置 100 仅仅用于检测与接触面 112 紧紧相邻的“第一区”Z1 内的靶粒子。为了使得所述装置能够测量大体积浓度，即为了检测远离接触面 112 距离 $z > 0$ 的“第二区”Z2 内的靶粒子，所述“第二区”是，传感器装置的传感器元件 SE 延伸使得附加地发送第二输入光束 L1' 进入载体 111。该第二输入光束 L1' 由第二光源 121' 产生，并且使用分色镜 122 或分束器迭加到第一输入光束 L1。在图 1 中，两条输入光束 L1、L1' 的波长应当是不同的。因此，在接触面 112 处通过 FTIR 产生并且随后沿同一路径离开载体 111 的相应的输出光束 L2、L2' 可以通过另外的分色镜 133 或分束器分离开，其中，第二输出光束 L2' 由第二光检测器 131' 检测。所述第二光检测器 131' 产生相应的第二传感器信号 s' 并将其发送到评估单元 EU 的评估和记录模块 132。

[0093] 代替分离的检测器 131 和 131'，也可以是单一检测器的解决方案（假设所述检测器的灵敏度对于所有使用的波长是足够的）。为了分离不同的信号响应，可以应用时分复用（TDM）、频分复用（FDM）或两者的组合。在 FDM 的情况下，同步检测提供足够的信号分离。此外，单一光源可以用于产生具有倍频的第二波长（例如使用非线性晶体）。

[0094] 所描述的传感器装置 100 的延伸是基于这样的事实，即在输入光束 L1、L1' 的 TIR 期间所产生的倏逝波的场振幅 FA 根据如下方程随到接触面 112 的距离 z 而变：

$$[0095] \quad FA \propto \exp\left(-\frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{n_A^2 \sin^2(\theta) - n_B^2} \cdot z\right) \quad (1)$$

[0096] 其中， λ 是相应的输入光束的波长， θ 是其入射角，而 n_A 和 n_B 是各自相关介质的折射率。如果第一输入光束和第二输入光束具有集合 $\{n_A/n_B, \theta, \lambda\}$ 中的至少两个不同的参数，可以由此探查与接触面 112 相邻的样品介质的不同深度。因为仅有折射率比率是很难改变的，所以输入光束应当优选地至少具有不同的波长和入射角的组合，即要么不同的波长（如图 1 那样），要么不同的角度，要么两者都不同（如图 2 那样）。根据方程 (1)，这导致倏逝衰减距离的差别以及因此不同的深度响应。

[0097] 优选地，输入光束 L1、L1' 被相同的感测区域反射。根据各自的信号 s 和 s' ，可以确定接触面 112 上方靶粒子在第一区 Z1 的表面浓度以及其在第二区 Z2 中的浓度。当使用两个以上不同的参数时，可以提取出关于深度分布的更多细节信息。

[0098] 图 2 示出了传感器装置 200 的替代设计，其中，与修改后的载体 211 一起使用多个入射角 θ ，所述载体提供多个面，作为针对输入光束 L1、L1' 和输出光束 L2、L2' 的垂直入射窗或出射窗。特别地，如果使用载体的半球状的入射窗或出射窗时，甚至能够进行角度有限的扫描。

[0099] 代替对于每条输出光束 L2 和 L2' 的分离的检测器 231、231'，也可以使用像 CCD 或 CMOS 传感器这样的像素检测器。

[0100] 此外，可以使用单一宽光谱光源（例如白色 LED）来代替适度单色、独立光源。通

过测量反射输出光束的光谱,可以随后提取靶粒子的分布(优选地结合以生物基质的透射测量的方式的补偿)。为了检测可以使用彩色 CCD。更先进的解决方案将使用单色仪或类似的构造,例如,使用光栅或棱镜以便多路分离输出光。在这种情况下,简单的单色(线性)CCD 可以用于进行光谱的空间检测。为每个检测器和束参数检测 2D 图像将为构建 2D(x,y)靶粒子高度分布图提供信息。

[0101] 图 3 描绘了对于两个不同波长和三个不同入射角从介质 A 延伸到介质 B(样品)的倏逝波的归一化场振幅 FA。根据方程 (1),场振幅 FA 随着距离 z 呈指数衰减。对于更长的波长 λ 和更小的角度 θ (即更靠近临界角),衰减变慢(对于更小的 n_A/n_B 比率也是如此)。为了描述衰减距离的特征,通常使用距离 z_e ,在此距离处场振幅已经衰减到在交界面 ($Z = 0$) 处振幅的 $1/e$ 。该 $1/e$ 水平在图 3 中被描绘为水平虚线。在图 4 中示出了随入射角 θ 变化的相应距离 z_e 。明显地,接近(但大于)临界角的角度 θ 给出最大的衰减距离。然而,应当注意的是,入射角越接近临界角,对样品流体中不必要污染和背景粒子越敏感。

[0102] 用作靶粒子中的标记的磁珠的常规大小是 300nm。为了检测这些磁珠,可以使用以入射角 θ 为 65° 的 650nm 激光,对应于上述折射率的衰减距离为 228nm(图 4)。这对于检测接触面上第一区 Z1 内的靶粒子是很好的,而不会对更远离所述表面的磁珠没有任何显著影响。然而,为了也检测更远离接触面、即在第二区 Z2 内的磁珠,需要显著更大范围的倏逝波。这可以通过使用具有更长波长,例如 1550nm 的第二光源实现。针对这种情况,图 5 示出了倏逝场振幅 FA 与距接触面的距离 z 关系曲线的实例。显然,所述范围可以扩展到大约 1 微米,特别是在考虑散射的情况时(比照 $n_{A,1550nm} = 1.50$ 、 $\lambda = 1550nm$ 的实线)。应当注意的是,由于源自生物基质的背景信号与载体材料和磁珠相比具有较低的折射率,因此该信号依然缺失(或者至少非常小)。

[0103] 信号响应,即由于吸收和/或被靶粒子散射/输出耦合(outcoupling)所造成的输出光束反射强度的降低,直接与倏逝波的局部场振幅(在靶粒子分布上得到的)有关。因此,通过测量每束参数的信号响应,可以提取有关靶粒子分布的信息。这例如可以通过将靶粒子分布拟合到各自信号响应来实现。

[0104] 以下实例更进一步举例说明了这种情况:在图 5 中 650nm 的曲线仅仅与第一 1 到 1.5 单层的磁珠显著相互作用。因此,相应的信号将仅仅对在接触面的第一区 Z1 内的磁珠敏感。对于 1550nm 的情况,情况就十分不同:与 650nm 相比,接触面的磁珠将给出几乎相等的响应(尽管由于从 0 到 300nm 的更大的平均场振幅,而期望稍微更大的信号),但是由于长指数尾的影响,位于更远距离的磁珠的响应将明显更大。因为在两种情况下都知道场振幅的分布曲线,所以直接确定与所测得的信号响应相应的磁珠分布。显然,可以得到的(不同)束参数以及相关的信号变化越多,可以更加详细地确定磁珠分布。

[0105] II. 使用磁传感器装置的双传感器信号方法

[0106] 用于分别确定在第一区 Z1 和第二区 Z2 内的靶粒子浓度的第二方法基于磁传感器装置,所述磁传感器装置包括磁电阻传感器元件,用于响应于以至少两个刺激状态施加的激励电流而生成磁场的至少两个导电元件,其中,将源自所述刺激状态的传感器响应组合为指示对在所述传感器装置上方体积内的靶粒子浓度的信号。在磁传感器装置的另外改进中,隔离区可以禁止靶粒子进入传感器装置上方的体积。通过由于至少两个刺激状态的结果而产生至少两个传感器响应,所述传感器上方给定 z 位置处的靶粒子的净响应(net

response) 被最小化。这样,在传感器表面处或上方的磁珠的响应被控制为零。

[0107] 图 6 举例说明了实现了上述原理的磁传感器装置 300 的第一实施例。整个生物传感器通常可以包括附图所示类型的传感器单元(例如 100)的阵列。传感器装置 300 包括四条嵌入到朝向样品室 2 的接触面 312 下方公共平面的基底 311 的导线 W1、W2、W3、W4。同上,接触面 312 涂布有用于包括作为标记的磁珠的靶粒子 1 的结合部位 3;为了简单起见,靶粒子 1 将在下文中简单地用磁珠来识别。在导线 W1-W4 的中间,设置巨磁电阻(GMR)传感器元件 SE。GMR 元件 SE 和导线 W1-W4 都连接到评估单元 EU,所述评估单元 EU 为它们提供适当的(激励和感测)电流,并且采样测量信号 s 、 s' (即通过 GMR 元件 SE 的压降)。

[0108] 图 6 中 a) 示出了传感器装置 300 的第一操作状态,其中,平行激励电流在外侧的导线 W1 和 W4 中流动。这产生了第一次磁激励场 B,所述磁激励场 B 使靶粒子 1 的磁珠磁化(为了简单起见,仅仅画出了一根导线的磁场)。来自这些磁珠的杂散场或反应场 B_r 在 GMR 元件 SE 中引入平面内的磁化分量,所述磁化分量导致可测量的电阻变化。如果没有另外地说明,在所示的磁传感器中,导线的宽度 b_w 、GMR 元件的宽度 b_s 、导线间的距离 a_w 以及导线和 GMR 元件间的距离 a_s 都是相等的,典型值大于为 $3\mu\text{m}$ 。此外,导线和 GMR 元件的公共底部位于接触面 312 下大约 $c = 1\mu\text{m}$ 的距离处。

[0109] 图 7a) 示出了对于第一操作状态而言随垂直位置 z 变化的 GMR 元件对大浓度磁珠的归一化响应 u (具有如下参数:统一体密度 1 磁珠/ μm^3 ;200nm 的 Ademtech 磁珠;GMR 长度 $100\mu\text{m}$;GMR 灵敏度 $0.003\Omega\text{m/A}$;W1 中的激励电流 25mA;GMR 中的传感器电流 5mA;选择电流使得总热散是 25mW)。

[0110] 图 6b) 示出了传感器装置 300 的第二操作状态,其中,激励电流在内侧的导线 W2 和 W3 中流动而其余参数与第一状态相同。图 7b) 在与图 7a) 中相似的图表中示出了得到的归一化传感器响应 u' 。

[0111] 随后,可以根据图 14 的公式 (14-1),通过两个传感器响应 u 和 u' 的加权相减来计算新的信号 u_{cb} 。该信号在图 7c) 中加以描述并且示出了在接触面上 $2-9\mu\text{m}$ 间的敏感体积。

[0112] 作为对磁珠总量的响应的 GMR 电压等于方程 (14-2) 的值 U 。公式 (14-3) 给出每个状态以 1s 测量间隔的 $R_{\text{GMR}} = 500\Omega$ 的 GMR 的热噪声本底 $e_{\text{th,GMR}}$ 。结果,公式 (14-4) 是加权相减之后的噪声本底 e_{th} 。公式 (14-5) 的值给出体积密度 d (单位体积的磁珠),用于以 2s 的测量间隔实现 6dB 的信噪比 SNR(2 的因子)。

[0113] 出于说明的原因,描述了归一化电压的相减,显然,这不是在实际执行中两个状态的 GMR 电压加权相减的情况。

[0114] 还应当注意的是,包括例如反平行电流、其他几何结构和其他数量的导线(在不同的 z 位置)的其他激励方案可以实现相同的目标。后面还将对这些修改中的一些作出详细描述。此外,相同的技术可以用于抑制体响应。

[0115] 所说明的算法的最大优点是,它在同一物理位置测量了表面密度(第一区域 Z1)和体密度(第二区域 Z2),在所述物理位置处液体流可以很好地控制并且足够高。此外,不需要表面图案,这避免了额外的成本和对微液体流的阻碍。

[0116] 等式 (14-1) 的相减加权 α 可以基于以下因素找到:除了对磁珠的响应,由于激励导线 W1-W4 所产生的平面内磁场,GMR 元件 SE 还包括磁串扰(MXT)信号分量。结果,在两

个测量状态的 GMR 信号 U_1 、 U_2 通过等式 (14-6) 加以表达,其中, d 是磁珠密度,并且其中,因子 α 和 β 两者都依赖于几何结构,并且可以根据生产过程中的变化而变化。如果需要,可以在以下两步校准过程中获得这些因子,要么针对使用之前的整批传感器,要么针对各个传感器:

[0117] 1. 在没有磁珠 ($d = 0$) 的情况下,测量两种状态下的传感器信号 U_1 、 U_2 。

[0118] 2. 在通过例如沉淀应用统一的表面磁珠密度后,由 (14-7) 给出所观察到的两种状态下的传感器信号 V_1 、 V_2 。从所述等式中,因子 α 遵循等式 (14-8)。

[0119] 图 8 示出了传感器装置 400 的变型,其仅包括在 GMR 元件 SE 同一侧的两个激励导线 $W1$ 和 $W2$,所述激励导线分别在状态 1 和状态 2 中使用相反方向的电流进行顺序激励。按照如上方式对产生的传感器信号进行评估。

[0120] 在图 9 所示的磁传感装置 500 的实施例,使用了具有四条导线的两个金属层。在图 9a) 的第一状态中,激励较低的导线 $W2$ 和 $W3$,而在图 9b) 的第二状态中,激励上面的导线 $W1$ 和 $W4$ 。导线高度的典型值是 $h_w = 0.35 \mu\text{m}$,而彼此间的距离和 / 或与接触面的距离是 $d_1 = 0.5 \mu\text{m}$ 。

[0121] 图 10a) 和 b) 示出了 (类似于图 7 并且具有相同的参数) 相应的归一化 GMR 电压 u 和 u' 。使用因子 $\alpha = 1.05$ 进行这些值的加权相减 (参照等式 (14-1)) 产生图 10c) 的组合响应 u_{cb} ,其示出了传感器上方从 1.7 到 $5 \mu\text{m}$ 的敏感体积。

[0122] 针对这种情况进行与等式 (14-2) 到 (14-5) 相同的计算从而产生 (14-9) 所给出的值。

[0123] 通过将导线 $W2/W3$ 和 GMR 元件 SE 间的间距 a_s 从 $3 \mu\text{m}$ (图 9、10) 增加到 $4 \mu\text{m}$,敏感体积可以更进一步减小。图 11 以可与图 10c) 相比的图表中示出了对于均匀体密度的组合的净体响应 u_{cb} 如何变为零,因为敏感高度被限制在 1.7 到 $2 \mu\text{m}$ 之间。显然,这种情况可以有多种变型。

[0124] 图 12 示出了另一磁传感器装置 600,其包括位于 GMR 元件 SE 两侧的两条刺激导线 $W1$ 和 $W2$,以及占传感器一半的隔离区 613。在图 12a) 的第一状态中,在导线 $W1$ 、 $W2$ 中施加相同方向的激励电流,而它们在图 12b) 的第二状态中是反向平行的。图 13a) 和 b) 分别示出了相应的归一化 GMR 电压 u 和 u' (与图 7 相同的参数)。

[0125] 通过在这两种状态之间顺序切换,以及通过根据等式 (14-1) (其中因子 $\alpha = 2.19$) 对 GMR 电压 u 、 u' 进行加权相减,实现图 13c) 的组合信号 u_{cb} ,其示出了传感器上方 $2-4 \mu\text{m}$ 之间的敏感体积。在这种情况下, α 的值依赖于隔离区 613 的几何结构和位置。可以在实际生物测量之前对其进行校准。

[0126] 针对这种情况进行与等式 (14-2) 到 (14-5) 相同的计算从而产生 (14-10) 所给出的值。

[0127] III. 时间分析方法

[0128] 获取有关在与接触面相邻的第一区 $Z1$ 内以及大块样品内更远的第二区 $Z2$ 内的靶粒子浓度的信息的另一方法,基于对传感器信号的时间过程的评估,特别是基于对传感器信号中噪声的随机性质的测量。这可以通过例如测量噪声幅度 (功率) 和传感器输出的解调噪声减去热噪声水平的频谱来实现。

[0129] 在下面的说明中,对没有结合到接触面的自由靶粒子 (例如磁标记) 的传感器响

应被认为是噪声,而对结合靶粒子的响应被认为是感兴趣的信号。由于实际上靶粒子通过热运动移入和移出传感器元件的敏感体积,因此会产生波动,这使得噪声处理具有随机特性。所提出的方法基于这样的认识,即,靶粒子的热运动或布朗运动依赖于其的大小(直径)、液体的粘性和液体温度,并且它是具有特征(平均)速度的平稳随机过程。

[0130] 尽管现在将讨论通过上面所描述的磁传感器装置所测量的磁靶粒子的布朗运动所引起的噪声的性质,但是所描述的方法并不受限于此,其也可以应用于例如光学传感器。

[0131] 图 15 举例说明了时间分析方法的第一具体实现,其中,对在传感器敏感体积内的自由靶粒子标记密度的估计可以从测定结束时的传感器信号 s 和在冲洗之后传感器信号 s' 之间的差中获得。由于热运动,靶粒子或磁珠移入和移出敏感体积,从而在传感器信号 u 中产生噪声。然而,平均起来,粒子并没有移动;因此,在传感器上方敏感体积内的自由靶粒子的平均数目 $\langle N_s \rangle$ 仅仅是样品室内自由靶粒子的总数目 N_{tot} 中的一小部分。如果假定均匀的粒子分布,那么根据图 18 的等式 (18-1) 给出该平均数目,其中, V_s 和 V_{tot} 分别是敏感区域的体积和总体积的体积。

[0132] 所有的粒子独立移动且并不记忆先前的位置或轨迹。在敏感体积内找到 N_s 个粒子的概率可以称为空间泊松过程。因此,对在传感器上方的体积内移动靶粒子的平均传感器响应与该体积内的自由靶粒子的密度成比例。应当注意的是,在敏感体积内传感器响应函数不均匀时该线性关系仍然如此;在这种情况下,传感输出仅仅等于按照平均传感器响应比例缩放的敏感体积内靶粒子的平均数目。

[0133] 通过从生物测定结束时所获取的、与信号(表面结合靶粒子)和噪声平均两者有关的传感器信号 s 中,减去冲洗(即从传感器表面移除未结合靶粒子)后的、仅与表面结合靶粒子有关的传感器信号 s' ,可以获得对在传感器敏感体积内的靶粒子密度的评估。在图 15 中,勾画出将该过程应用于端点测量,然而,显然,所述方法也可以用于动力学测定。

[0134] 应当注意的是,也可以实现一半的隔离区(参照图 12),使得专门地测量来自移动粒子的信号,而不会测量结合靶粒子。该方法能够在单一步骤中确定噪声平均。

[0135] 如果传感器体积内的自由靶粒子均匀分布,那么总粒子密度可以通过根据体积比缩放传感器敏感体积内的自由粒子密度来获得,如上所述。然而,实际上,由于磁致动而不可能是均匀的,这有效地增加了靠近传感器表面的磁珠密度。

[0136] 在时间分析方法的另一具体实现中,对传感器敏感体积内的靶粒子密度的评估可以从生物测定期间传感器响应的噪声功率中获得。

[0137] 所有的粒子独立移动且并不记忆先前的位置或轨迹。假设在两个连续的观察例子中靶粒子可以进入和离开敏感体积,那么在敏感体积内找到 N_s 个粒子的概率可以称为泊松过程。敏感体积内的磁珠数目的变化等于 $\sigma_N^2 = N_s$,因此噪声功率也与 N_s 成比例。

[0138] 应当注意的是,在敏感体积内传感器响应函数不均匀时该线性关系仍然如此,这是因为噪声功率仅仅与传感器响应的变化成比例缩放。

[0139] 相比于敏感区内的粒子数目的波动,结合到生物传感器接触面的粒子的动力学特性非常慢。因此,来自结合粒子的信号可以很容易通过频域滤波与噪声分离开。使用高通滤波器,仅有噪声并且能够测量噪声功率。

[0140] 通过从测定期间的传感器响应的噪声功率中减去生物测定之前所测量的热噪声功率,可以获得对靶粒子密度的估计。

[0141] 在时间分析方法的另一具体实现中,关于群集的靶粒子(磁珠)量的信息可以通过比较传感器敏感体积内的靶粒子的平均数目与靶粒子数目的变化来获得。

[0142] 对于空间泊松过程,均值和变化相等。如果在传感器敏感区内既有单个的磁珠又有群集的磁珠,那么真实的空间泊松过程会有误差。集群移入和移出感测区导致概率分布的扩散,这是因为分布的尾值被扩大而均值降低。因此,由于集群的存在,噪声变化被有效地增加,图 16 对此进行了举例说明。

[0143] 关于集群的量的信息可以通过确定噪声平均和变化的比率来获得,参照等式(18-2)。

[0144] 传感器信号内存在噪声也可以用作确定是否生物传感器以任何方式(例如,被气泡)被模糊的基础。显然,如果在生物传感器中存在气泡,那么来自样品流体的靶粒子可能不能到达表面,并且传感器不能正确运行。不存在重噪声(bulk noise)指示出在传感器表面附近不存在靶粒子。

[0145] 另外,对自由靶粒子密度的量化也能够得到一种检测是否存在足够标记的方法。例如,当将磁珠存储在生物传感器中时,它们可能没有完全地分散在样品室内。噪声性质可以用于确定是否存在足够的标记,因此传感器是否正确运行。

[0146] 在下文中,将证明可以根据噪声功率谱密度函数来估计靶粒子(例如超顺磁标记)的扩散系数。在平衡情况下,磁珠进入和离开传感器敏感区的迁入率和迁出率是相等的。迁移过程可以表征为敏感体积内磁珠数目的波动的自相关函数。自相关函数可以表达为等式(18-3),其中,敏感体积内的自由磁珠数目的变化等于 $\sigma_N^2 = N_s$,而 τ 是系统的时间常数。时间常数 τ 对应于敏感体积的扩散时间。通常,布朗运动被表征为某一观察时间 Δt 内的均方位移。等式(18-4)给出了三维的均方位移,其中, D 是扩散系数。然后,等式(18-5)给出了对于边长为 r 的立方体敏感体积的扩散时间常数。

[0147] 上述因素并不限于立方体敏感体积。对于不同形状的体积,可以获得不同的扩散时间常数。例如,通常磁生物传感器的敏感体积不是立方体的,而是具有相比于敏感表面相对小的高度 h 的扁平箱体。因此,磁珠标记迁移主要发生在垂直于传感器表面的方向,因而主要是在该方向上的时间常数。然后可以由等式(18-6)来描述出与该一维模型有关的时间常数。

[0148] 噪声功率谱密度函数(PSDF)等于自相关函数的傅里叶变换,其具有图 17 的洛伦兹形式以及等式(18-7)。因此,可以通过将模型 PSDF 拟合到所测量到的功率谱并优化未知参数 τ 来确定时间常数。例如 -3dB 点,即归一化功率密度已经降到 0.5(参照图 17)时的频率,可以用作测量时间常数的基础。

[0149] 应当注意的是,传感器信号中的噪声的 PSDF 也具有洛伦兹形式。如果敏感体积内的传感器响应并不均匀,那么仅仅通过传感器响应就能依比例确定噪声的 PSDF。

[0150] 虽然上面是参考具体实施例描述的本发明,但是本发明也可以有各种的修改和扩展,例如:

[0151] - 传感器元件可以是用于基于靶粒子的任意性质来检测传感器表面上或附近是否存在靶粒子的任意合适的传感器,例如,它可以经由磁方法、光学方法(例如成像、荧光、化学发光、吸收、散射、表面等离子体共振、拉曼,等等)、声学检测(例如表面声波、体声波、悬臂、石英晶体等)、电学检测(例如传导、阻抗、电流、氧化还原循环),等等方法进行检测。

[0152] - 磁传感器可以是基于对传感器表面上或附近的粒子的磁性质的检测的任意合适的传感器,例如线圈、磁阻传感器、磁致伸缩传感器、霍尔传感器、平面霍尔传感器、磁通门传感器、SQUID、磁共振传感器,等等。

[0153] - 除了分子测定之外,使用根据本发明的传感器装置还可以检测到更大的基团,例如细胞、病毒、或细胞或病毒的片段、组织提取液,等等。

[0154] - 所述检测可以在有或没有关于传感器表面进行传感器元件扫描的情况下发生。

[0155] - 可以按照端点测量并且通过动态或间歇地记录信号来导出测量数据。

[0156] - 作为标记的粒子可以直接由感测方法检测到。并且,可以在检测前对所述粒子进行进一步的处理。进一步处理的实例是,为了便于检测而添加材料或修改标记的(生物)化学或物理性质。

[0157] - 所述装置和方法可以用于若干生物化学测定类型,例如结合/未结合测定、样品测定、竞争性测定、置换测定、酶测定,等等。其特别适合于DNA检测,因为很容易进行大规模复用并且可以通过喷墨打印将不同的寡核苷酸(oligos)溅射到光学基质上。

[0158] - 所述装置和方法适于传感器复用(即并行使用不同的传感器和传感器表面)、标记复用(并行使用不同类型的标记)以及室复用(即并行使用不同的反应室)。

[0159] - 所述装置和方法可以用作针对小样品体积的快速、鲁棒、易于使用的床旁生物传感器。所述反应室可以是将要与紧致读取器一起使用的一次性物品,其包括一个或多个场产生装置以及一个或多个检测器装置。同时,本发明的装置、方法和系统可以用于自动高吞吐量测试。

[0160] 在这种情况下,所述反应室例如是装配到自动仪器中的孔板或小试管。

[0161] 最后,必须指出,在本申请中,术语“包括”并不排除其他的元件或步骤,“一”或“一个”并不排除多个,并且单个处理器或其他单元可以实现若干装置的功能。本发明在于每个新的特征属性以及每种特征属性组合。此外,权利要求书中的附图标记不应解释为对其范围的限制。

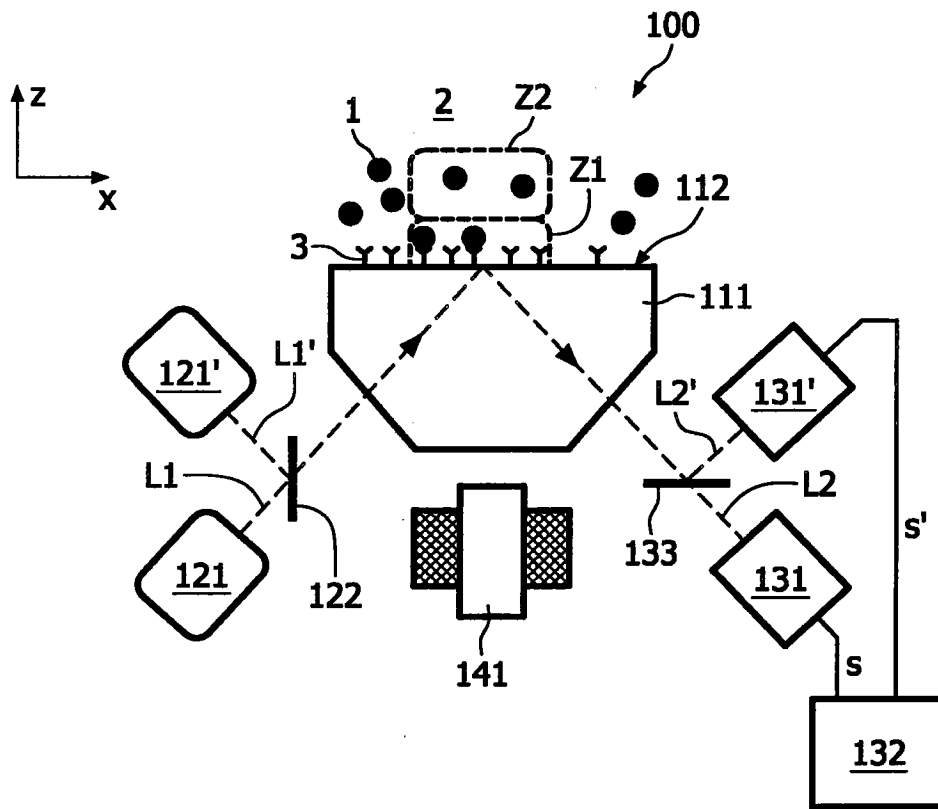


图 1

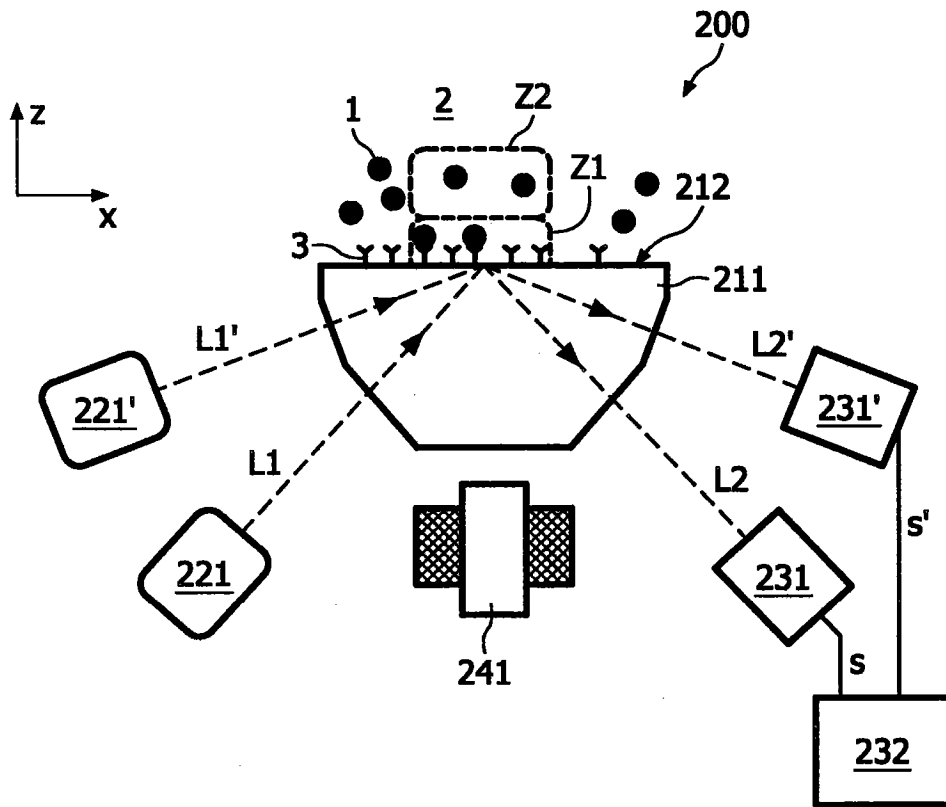


图 2

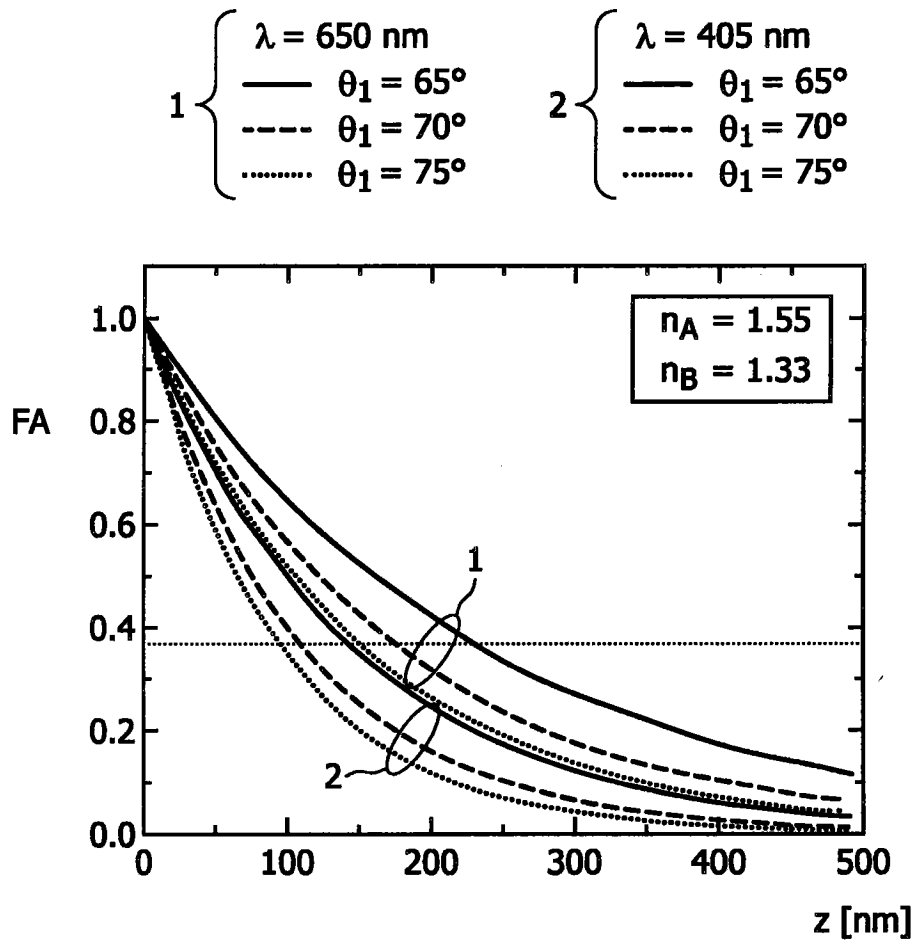


图 3

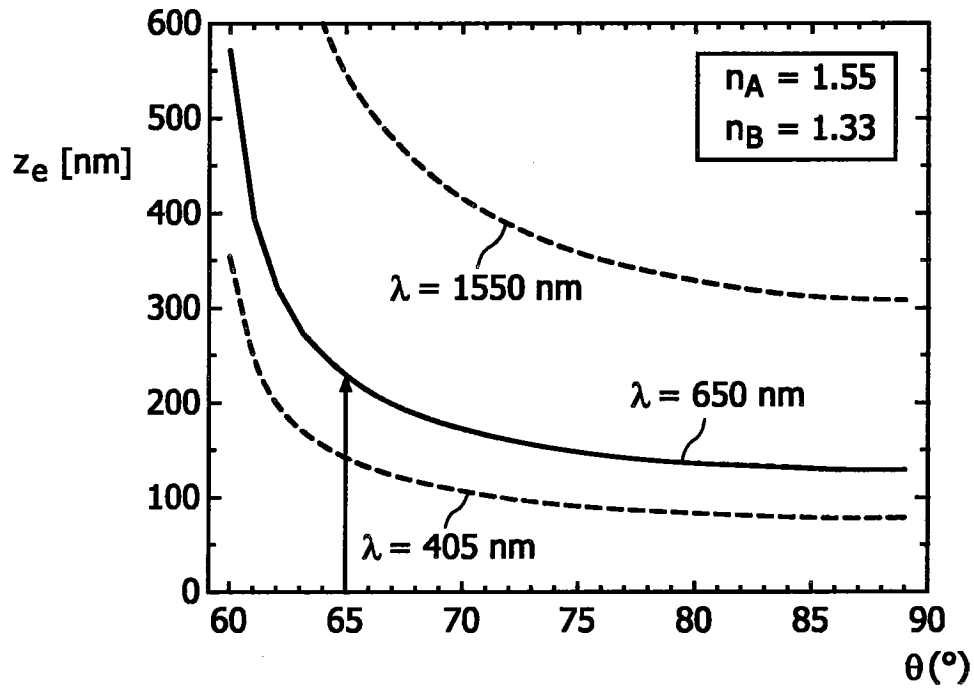


图 4

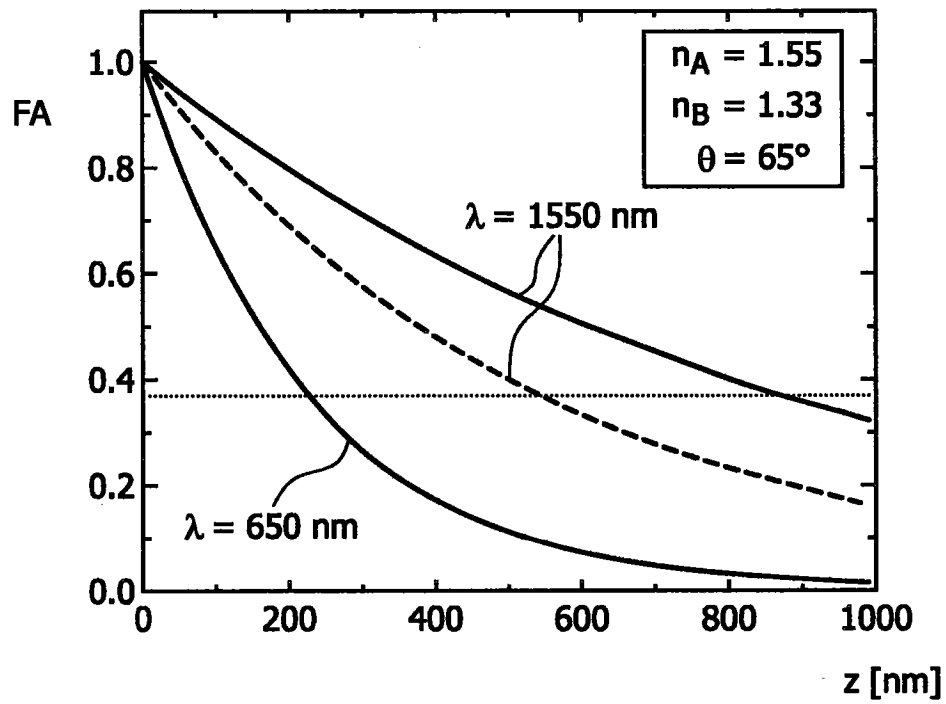


图 5

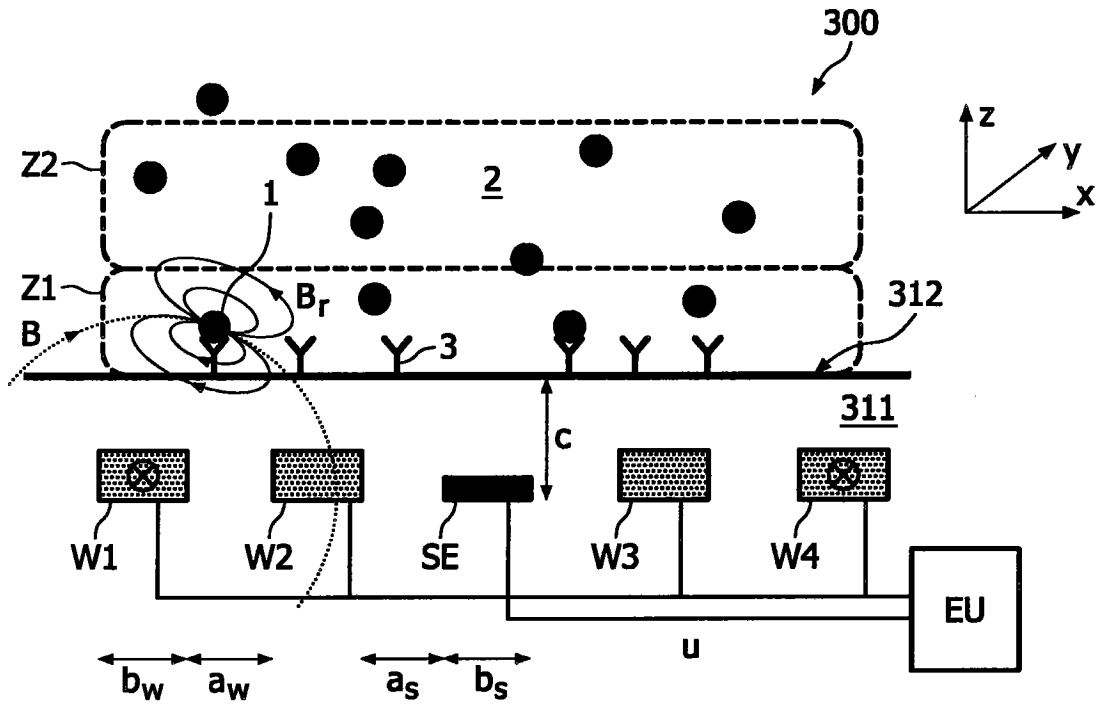


图 6a

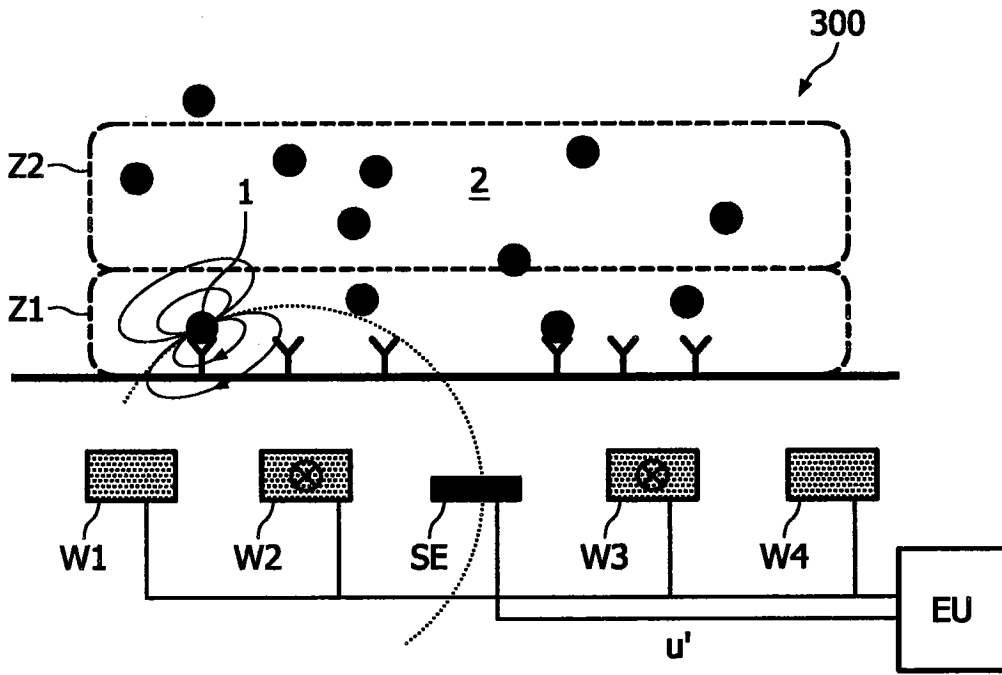


图 6b

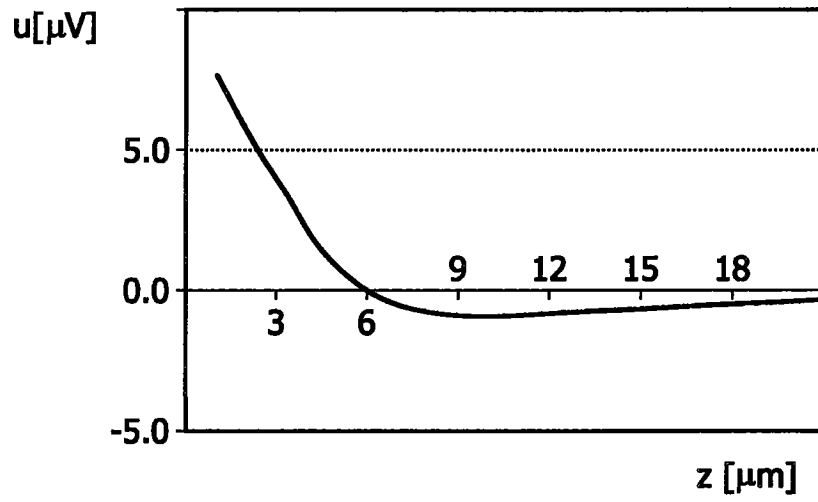


图 7a

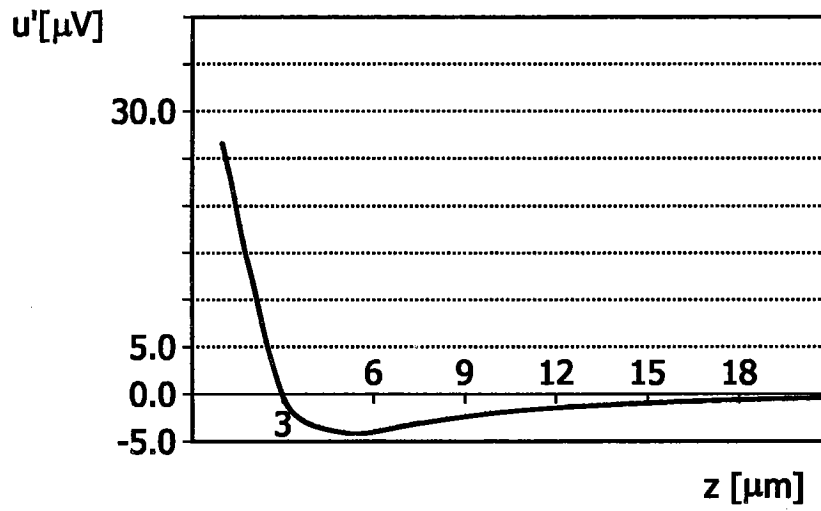


图 7b

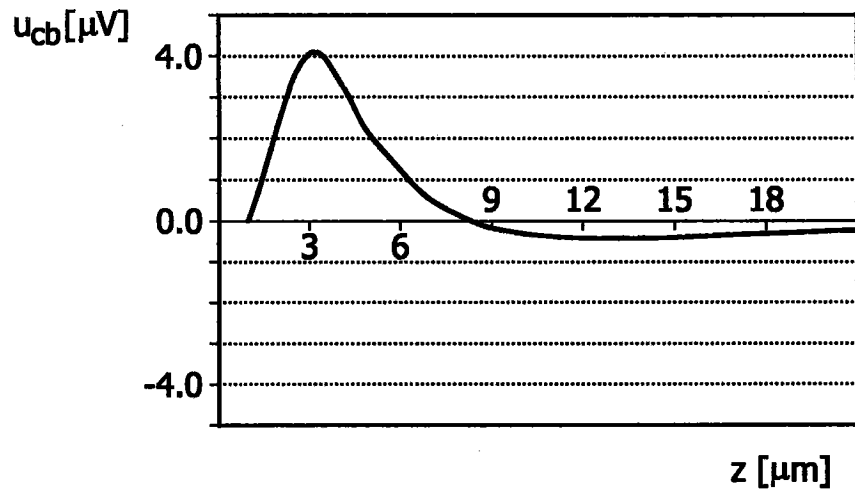


图 7c

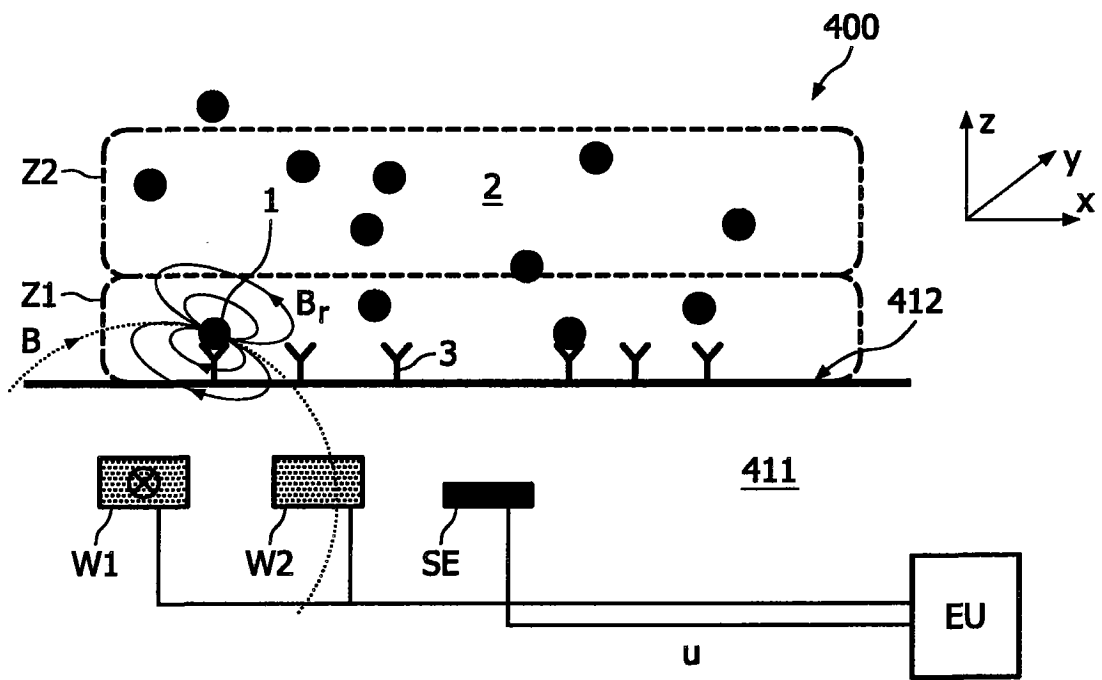


图 8a

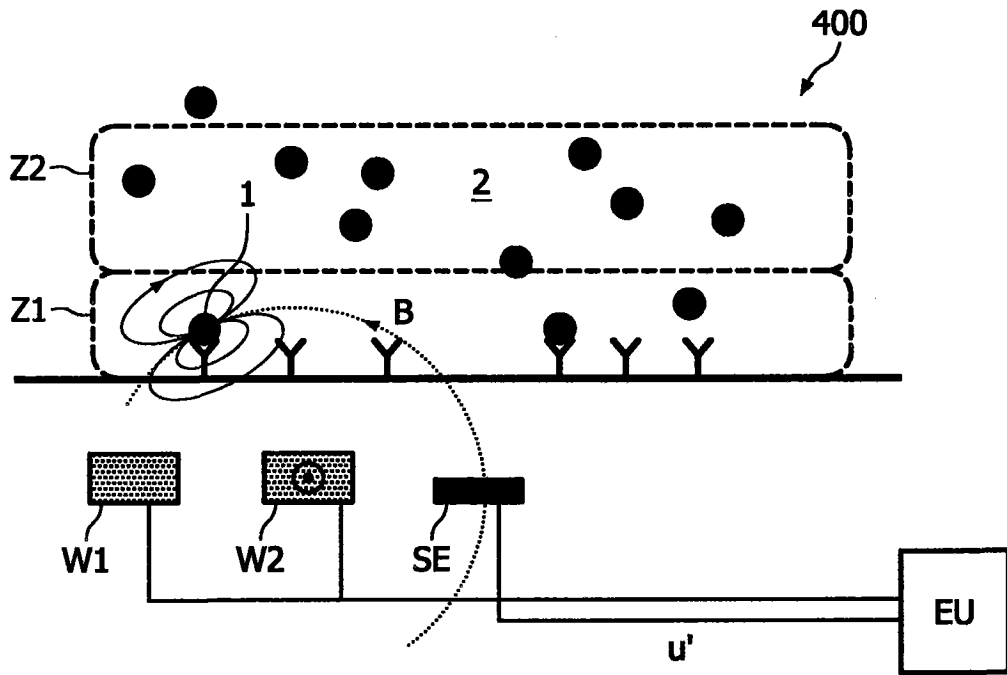


图 8b

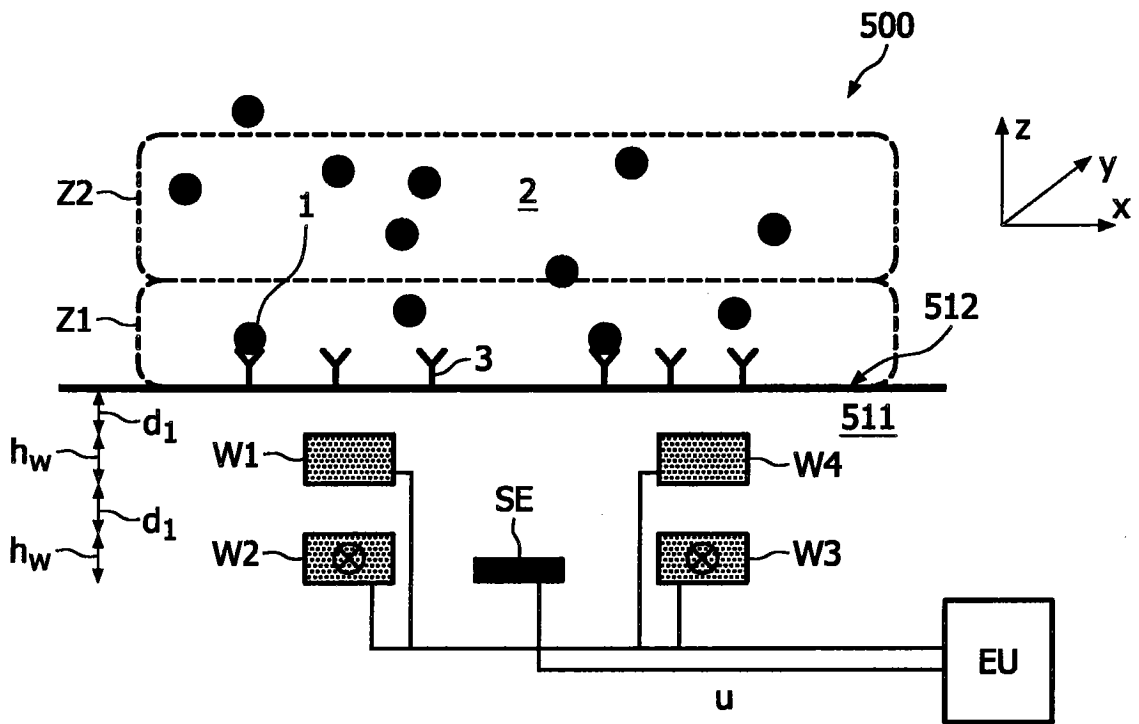


图 9a

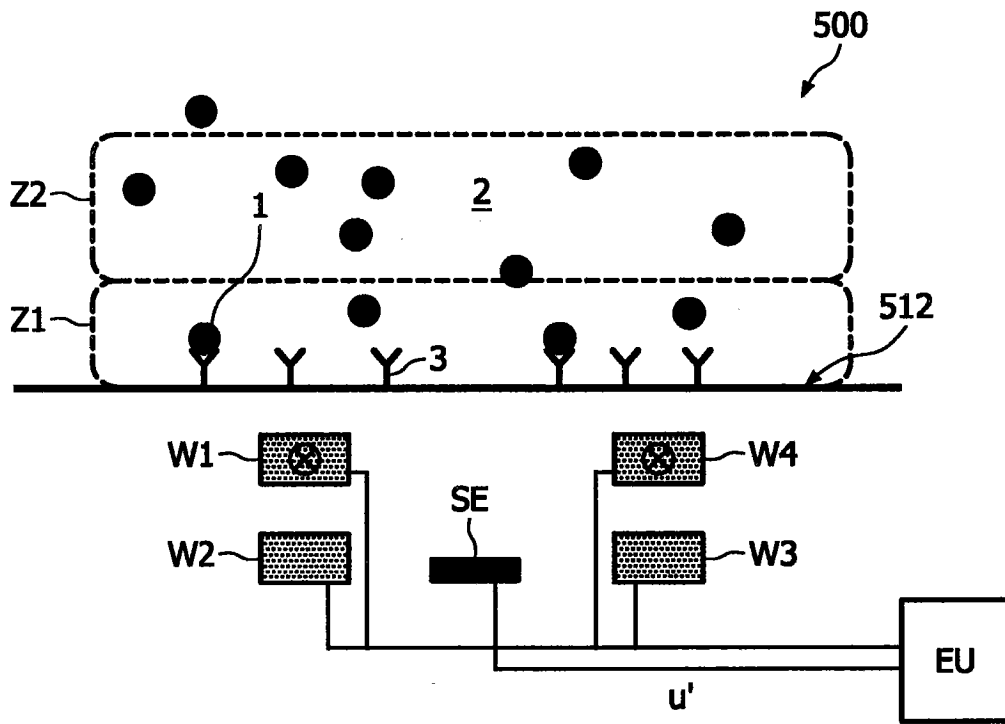


图 9b

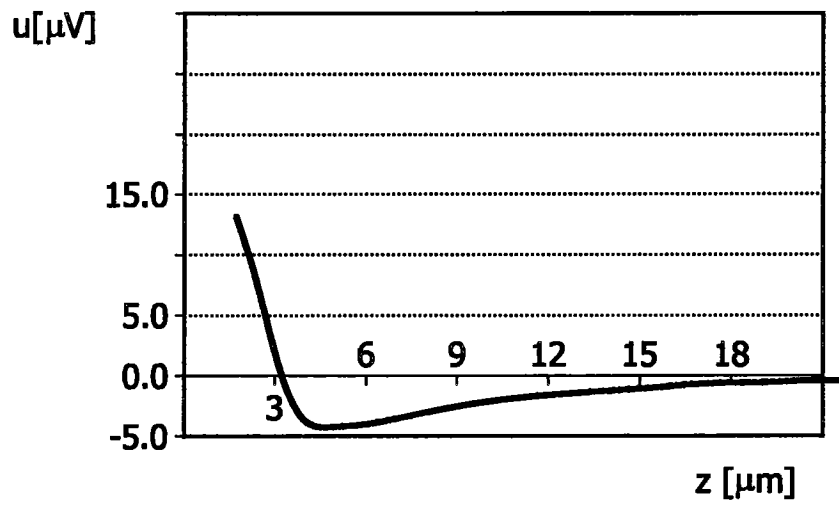


图 10a

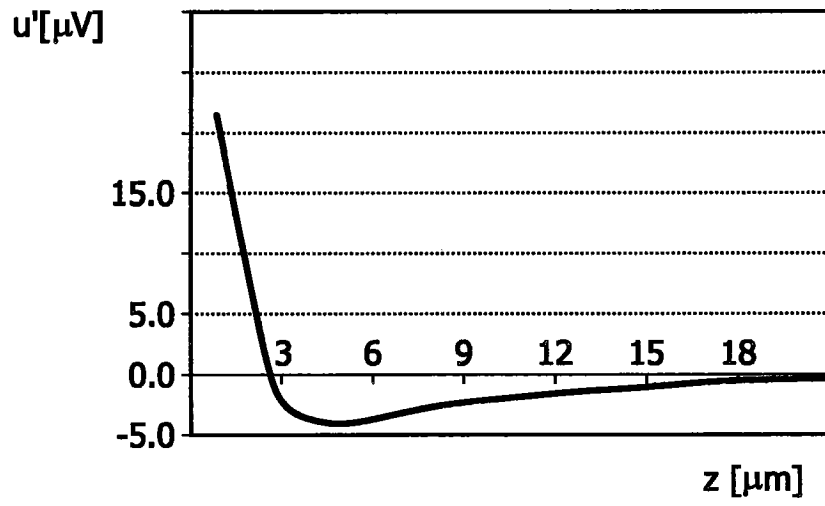


图 10b

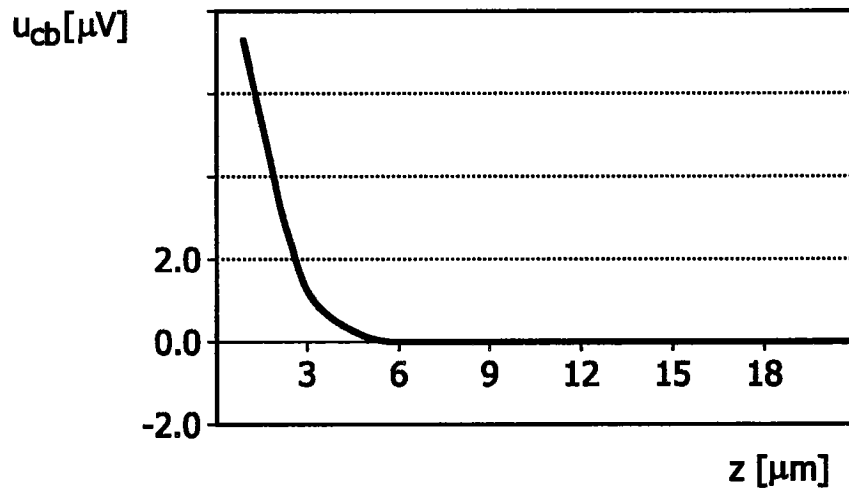


图 10c

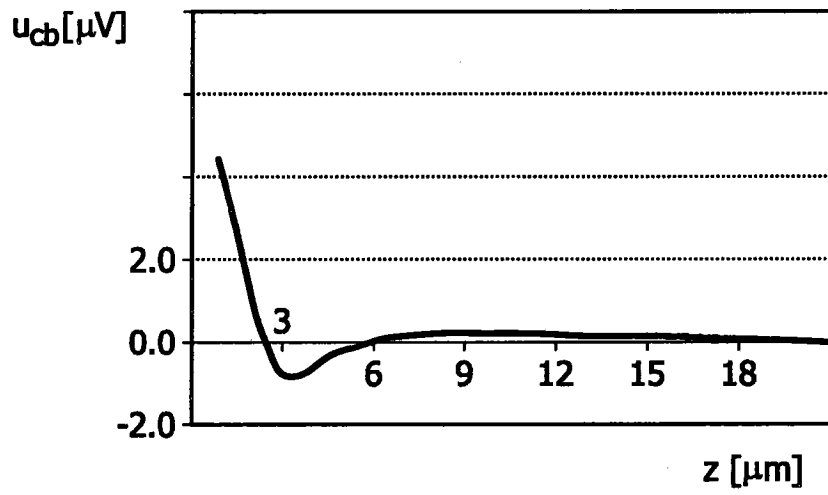


图 11

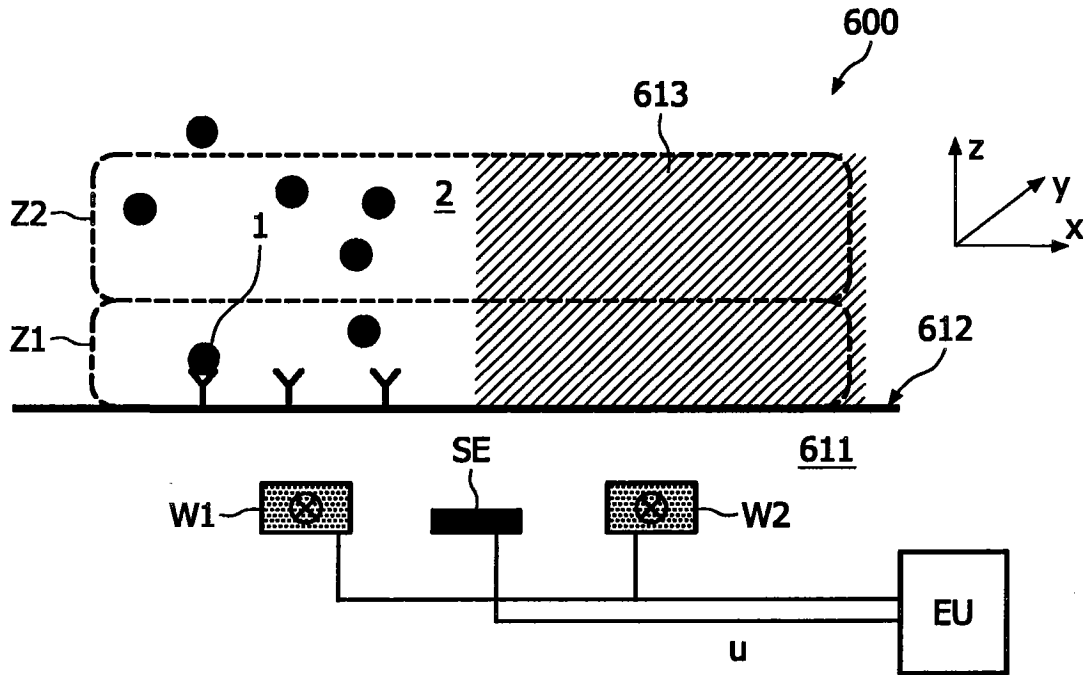


图 12a

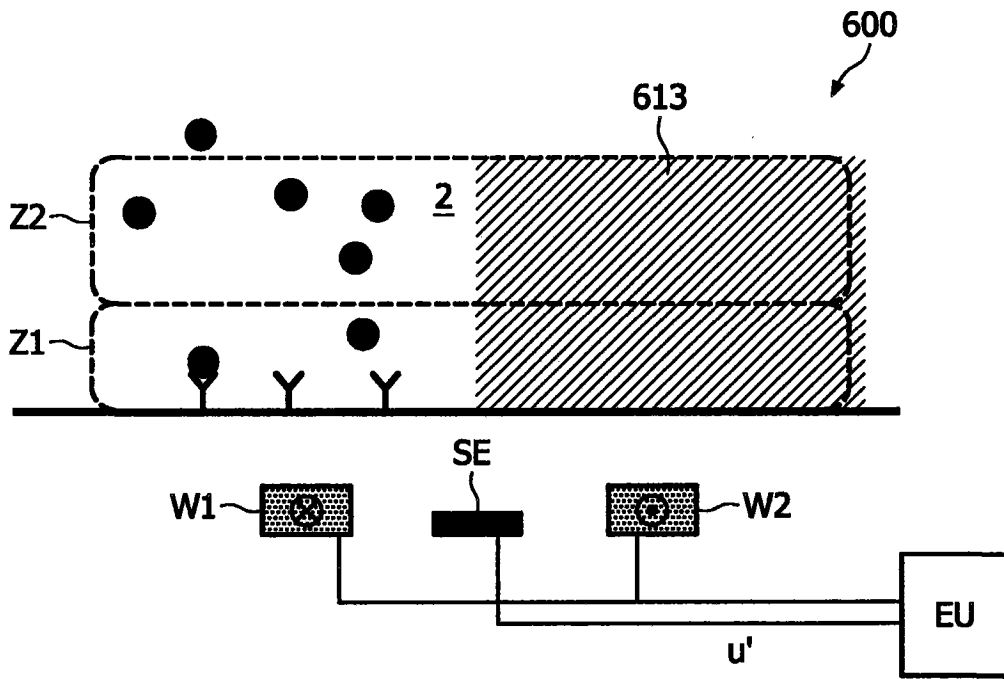


图 12b

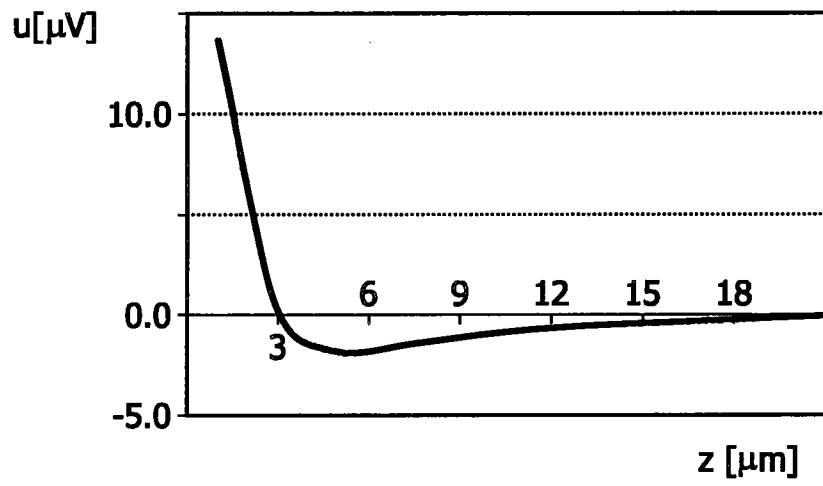


图 13a

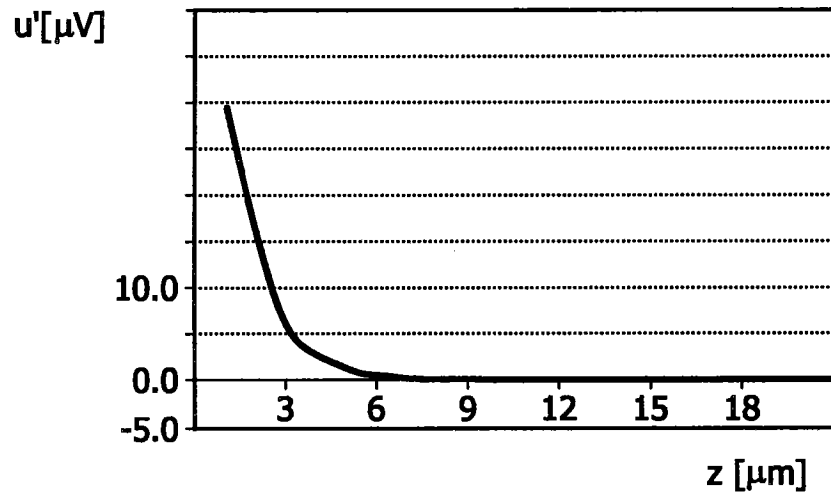


图 13b

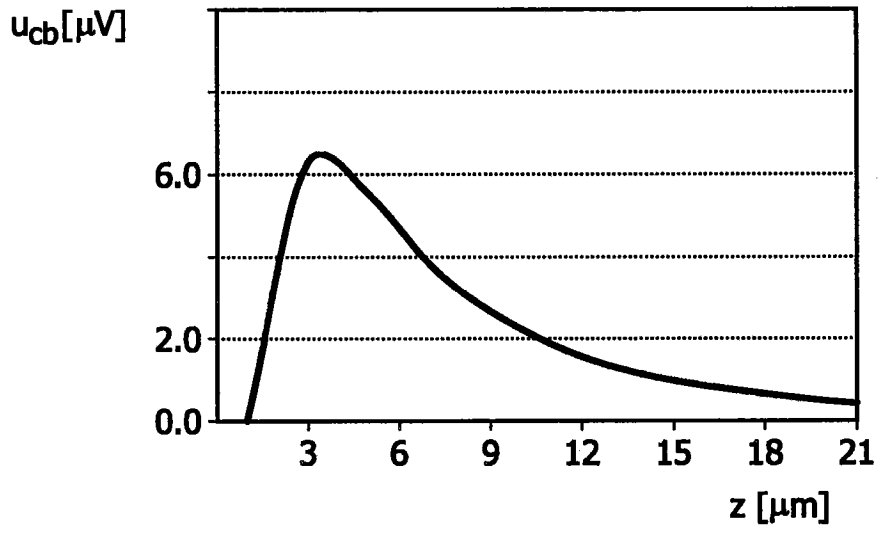


图 13c

$$u_{cb} = u - \alpha u' \quad \alpha = \frac{u}{u'} \Big|_{z=1\mu\text{m}} = 0.29 \quad (14-1)$$

$$U = \int_{z=1\mu\text{m}}^{\infty} u_{cb}(z) dz = 9\mu\text{V} \quad (14-2)$$

$$e_{\text{th,GMR}} = 0.13 \cdot \sqrt{R_{\text{GMR}} \cdot 1/2} = 2.1\text{nV} \quad (14-3)$$

$$e_{\text{th}} = e_{\text{th,GMR}} \cdot \sqrt{1+\alpha^2} = 2.1\text{nV} \quad (14-4)$$

$$d = \frac{\text{SNR} \cdot e_{\text{th}}}{U} = \frac{2 \cdot 2.1 \cdot 10^{-9}}{9 \cdot 10^{-6}} = 5 \cdot 10^{-4} / \mu\text{m}^3 \quad (14-5)$$

$$U_1 = \text{MXT} + d \quad U_2 = \beta \cdot \text{MXT} + \alpha \cdot d \quad (14-6)$$

$$V_1 = U_1 + d \quad V_2 = U_2 + \alpha \cdot d \quad (14-7)$$

$$\alpha = \frac{V_2 - U_2}{V_1 - U_1} \quad (14-8)$$

$$U = 18\mu\text{V}, e_{\text{th,GMR}} = 2.1\text{nV}, e_{\text{th}} = 3.0\text{nV}, d = 3.4 \cdot 10^{-4} / \mu\text{m}^3 \quad (14-9)$$

$$U = 49\mu\text{V}, e_{\text{th}} = 5\text{nV}, d = 2 \cdot 10^{-4} / \mu\text{m}^3 \quad (14-10)$$

图 14

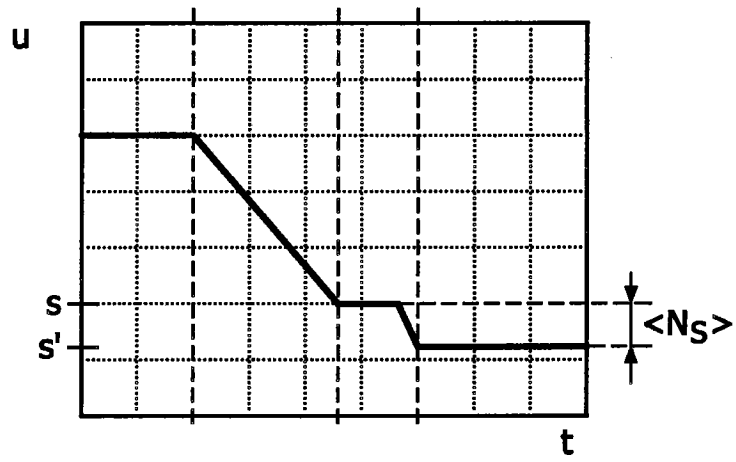


图 15

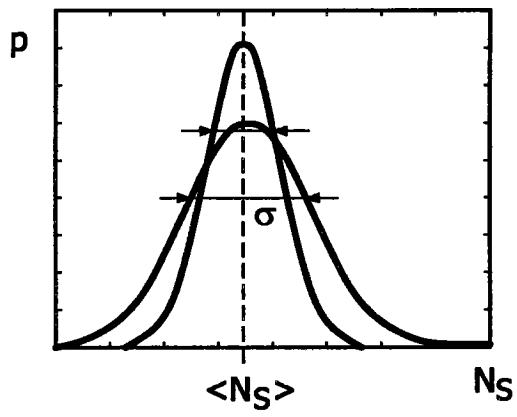


图 16

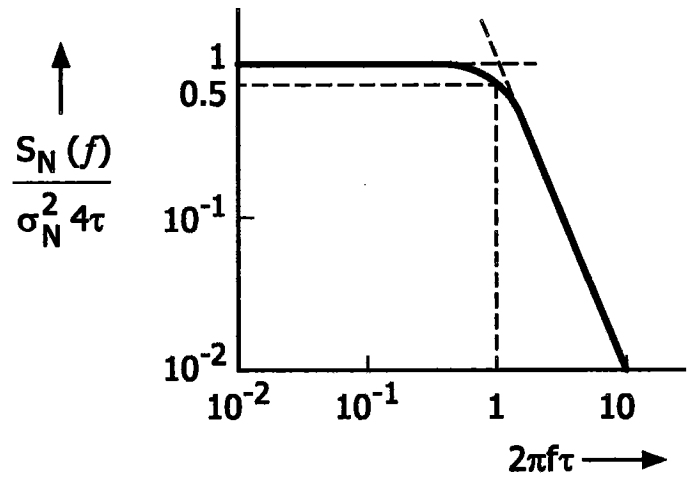


图 17

$$\langle N_s \rangle = N_{\text{tot}} \frac{V_s}{V_{\text{tot}}} \quad (18-1)$$

$$r = \frac{\langle N_s \rangle}{\sigma_N^2} < 1 \quad (18-2)$$

$$\phi(t) = \sigma_N^2 e^{-t/\tau} \quad (18-3)$$

$$\sigma_r^2 = 6D\Delta t \quad (18-4)$$

$$\tau = \frac{r^2}{6D} \quad (18-5)$$

$$\tau = \frac{h^2}{2D} \quad (18-6)$$

$$S_N(f) = \sigma_N^2 \frac{4\tau}{1 + (2\pi f\tau)^2} \quad (18-7)$$

图 18