

拾壹、圖式

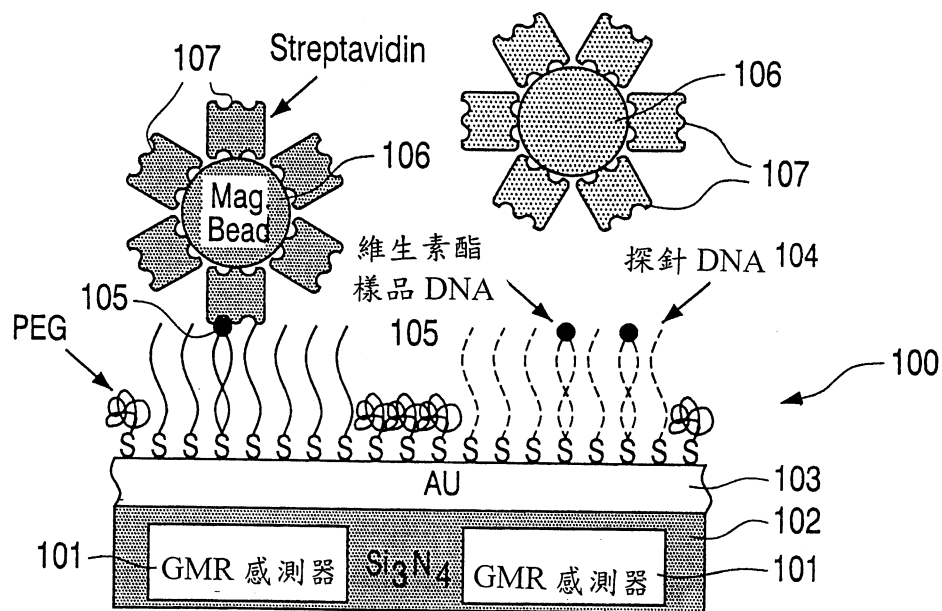


圖 1

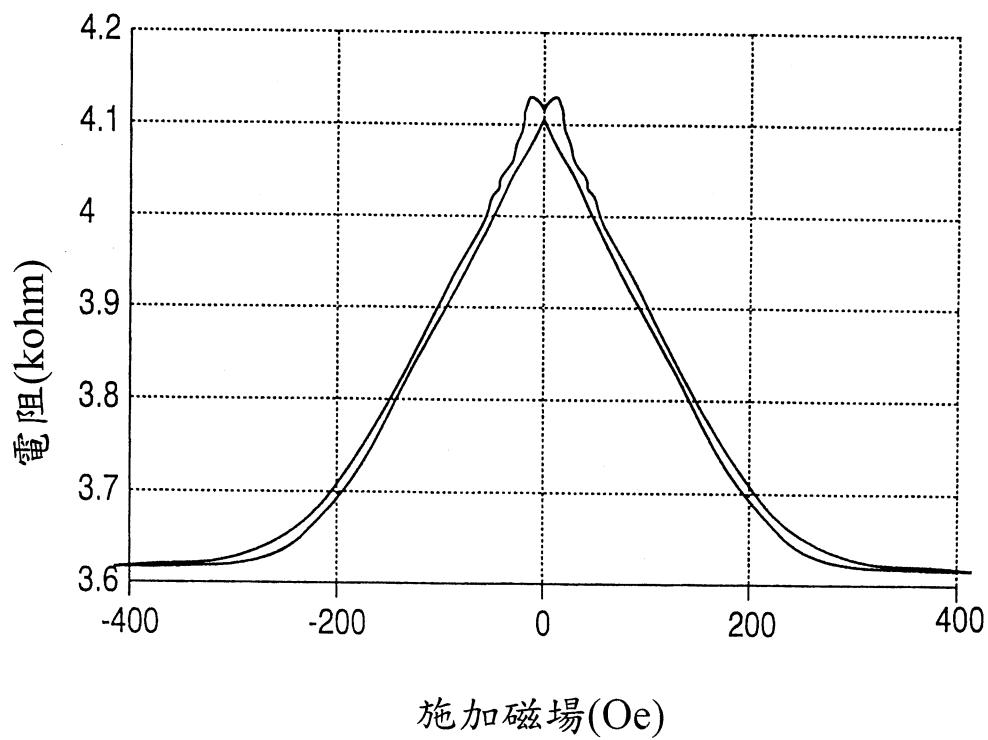


圖 2

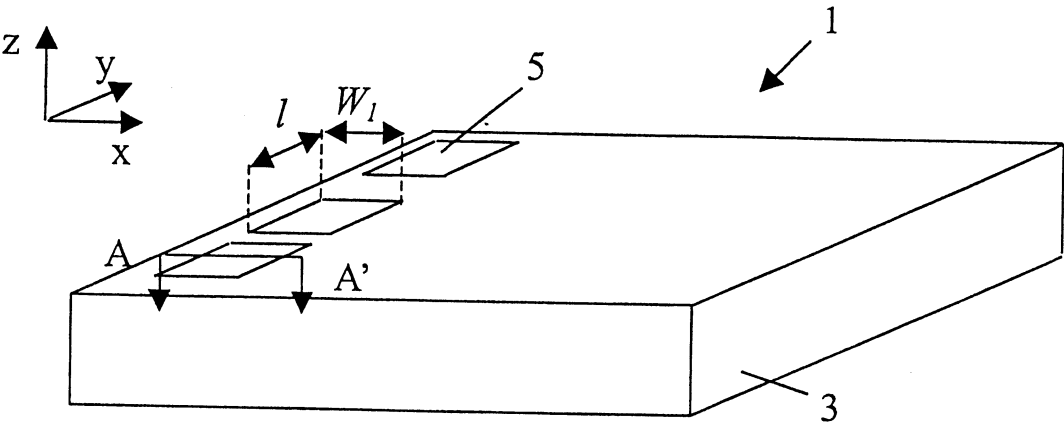


圖 3

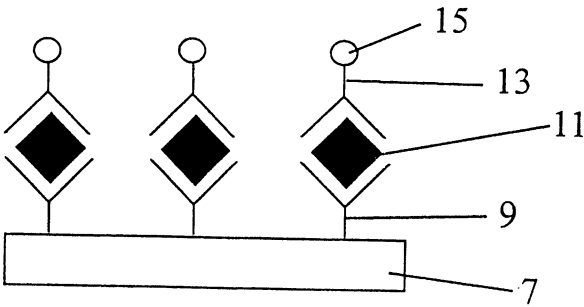


圖 4A

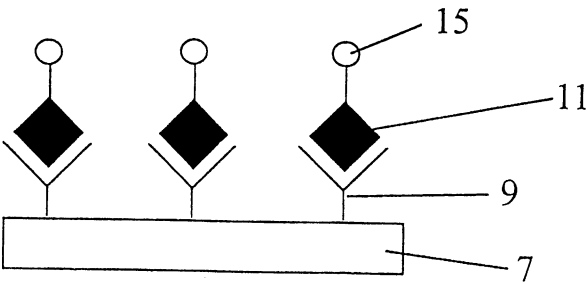


圖 4B

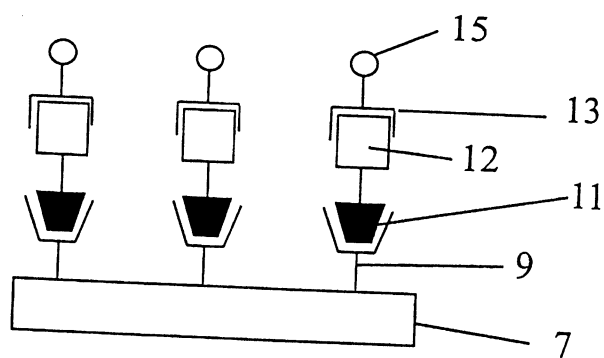


圖 4C

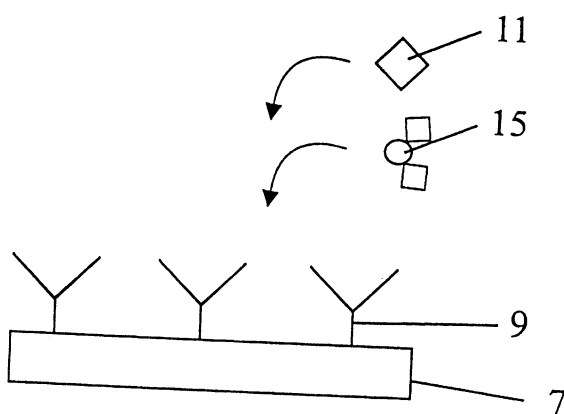


圖 4D

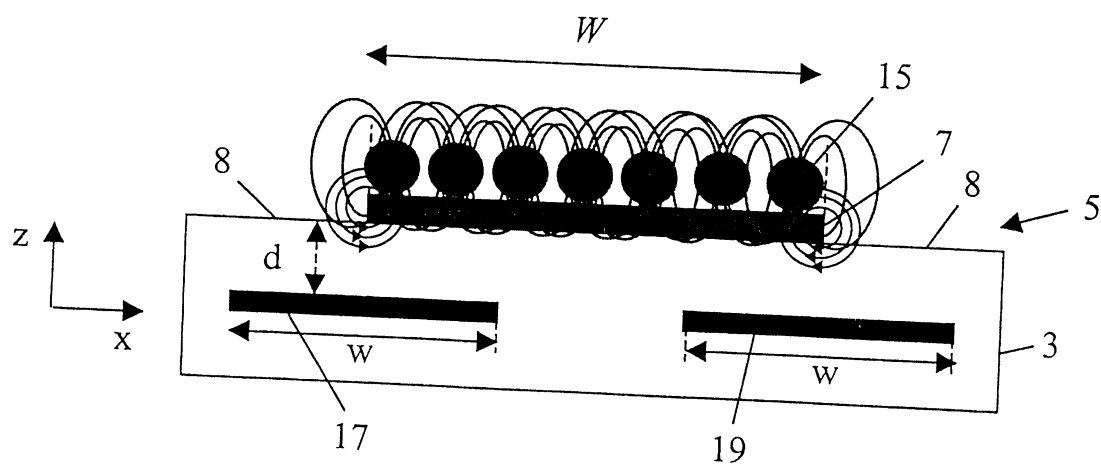


圖 5A

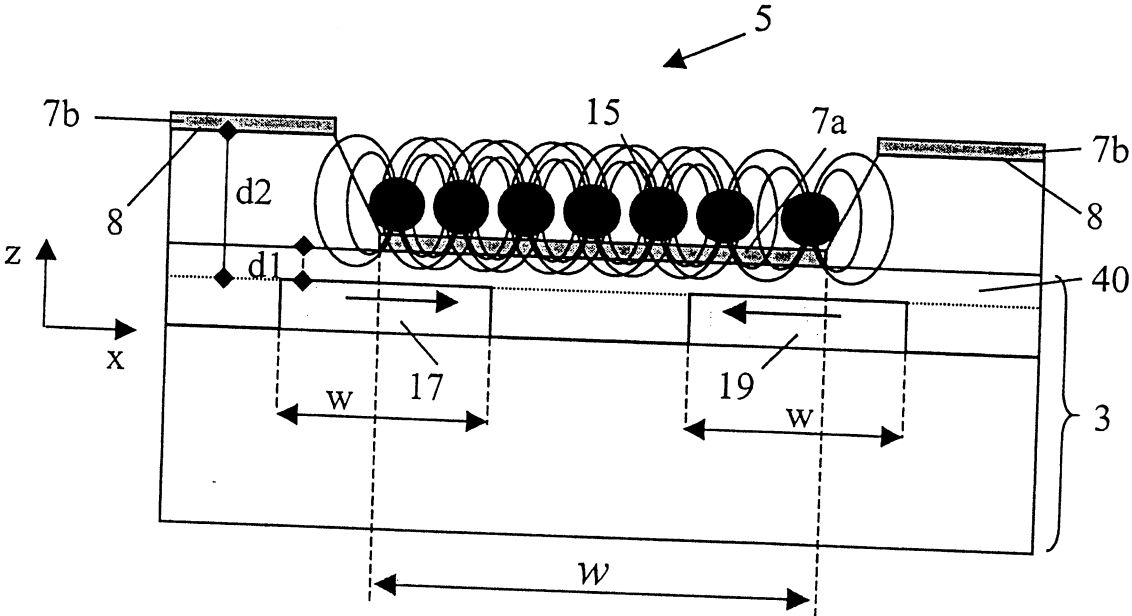


圖 5B

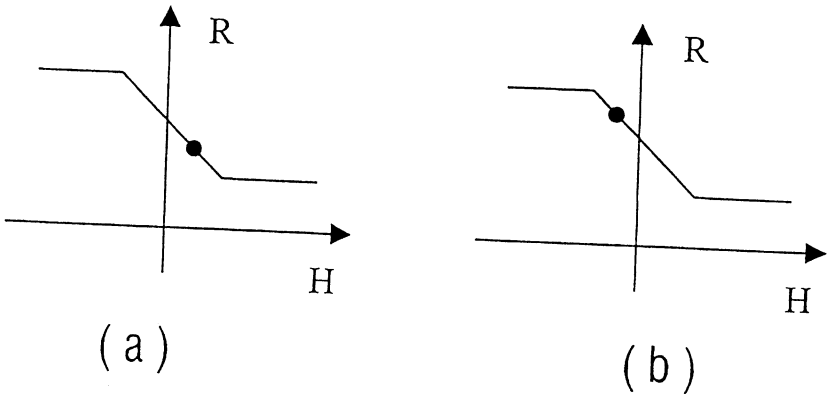


圖 5C

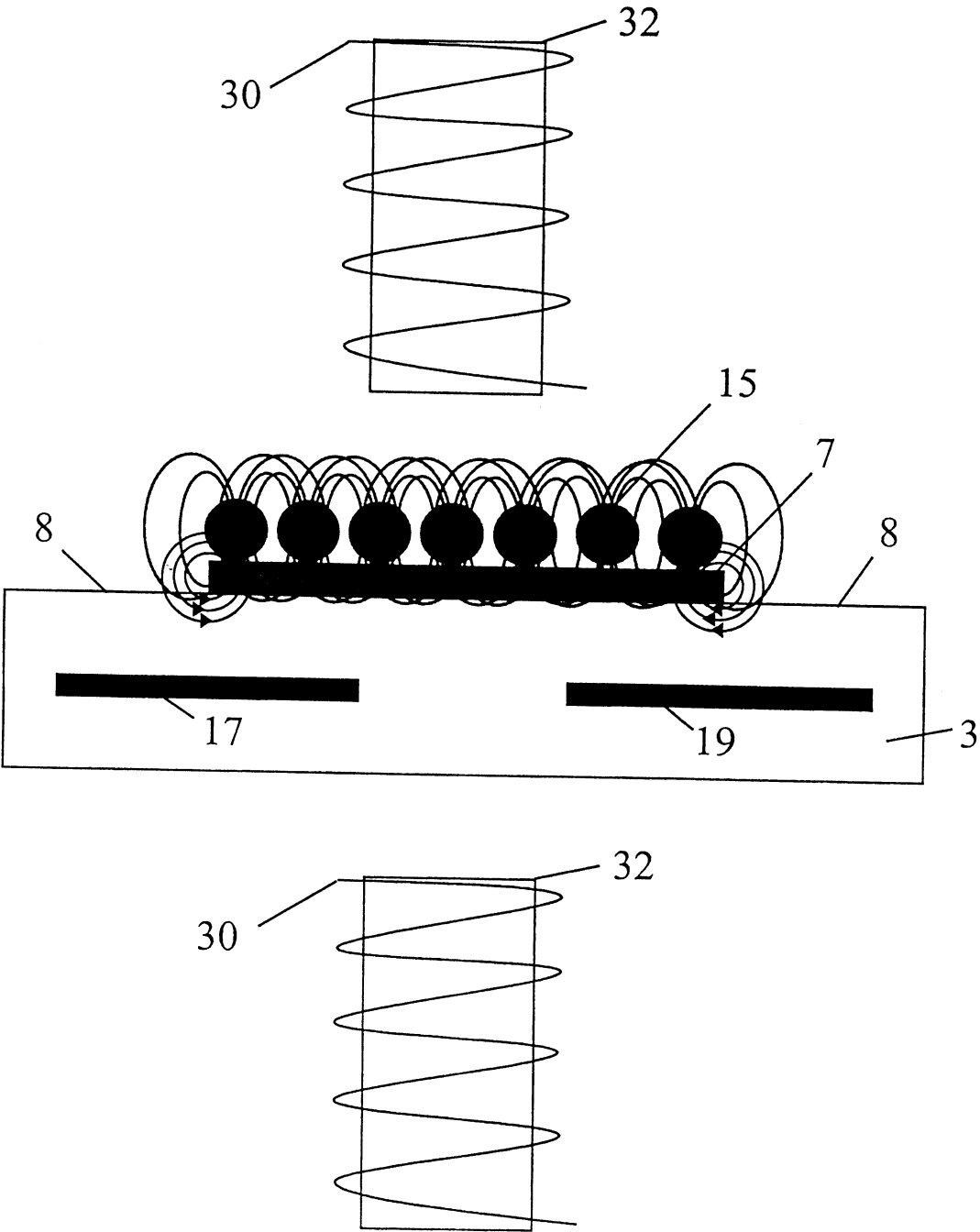


圖 6

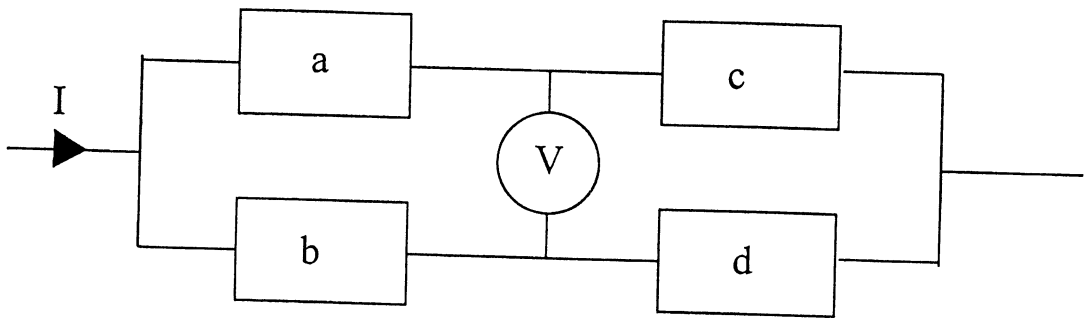


圖 7

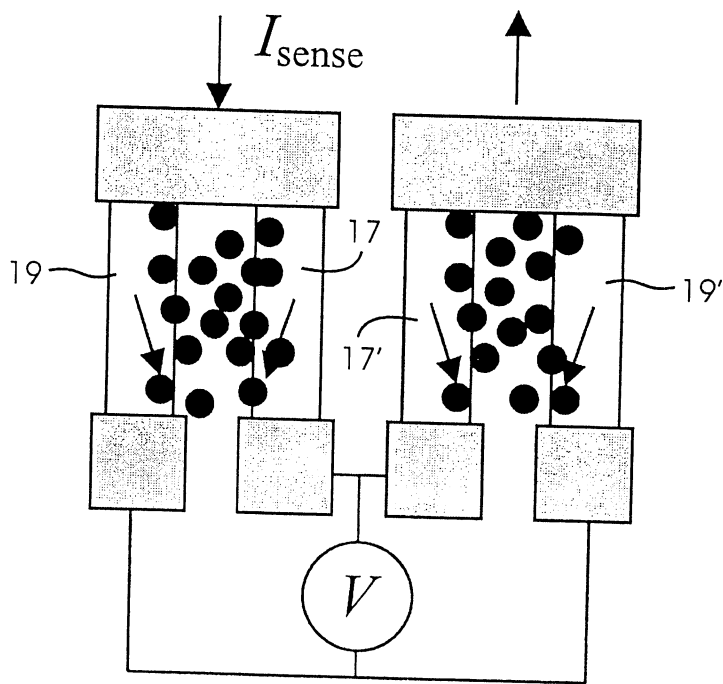


圖 8

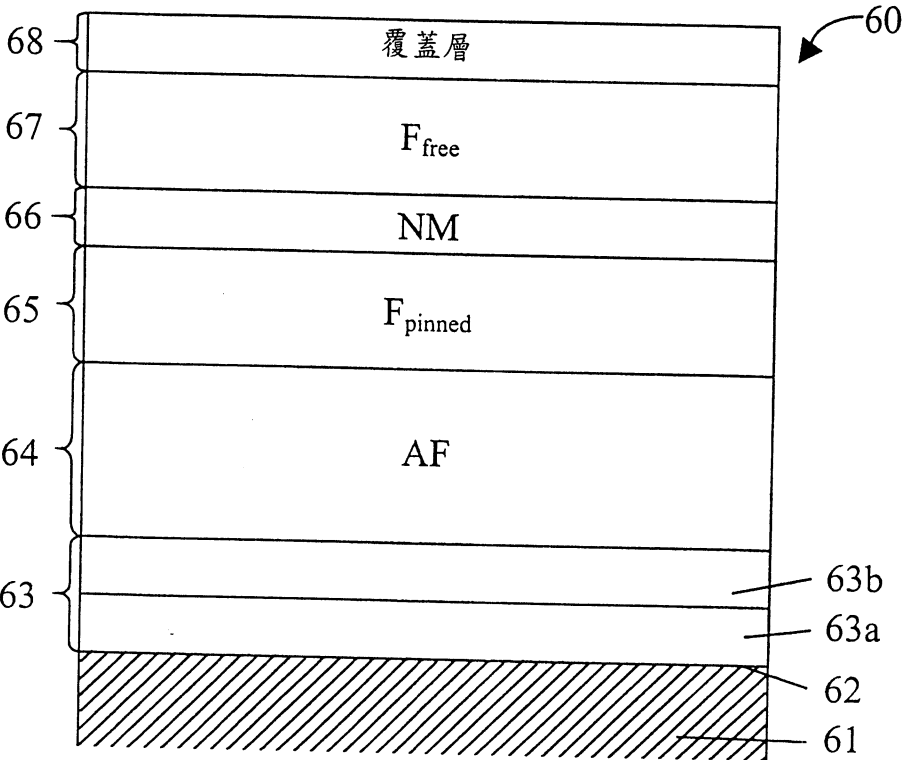


圖 9A

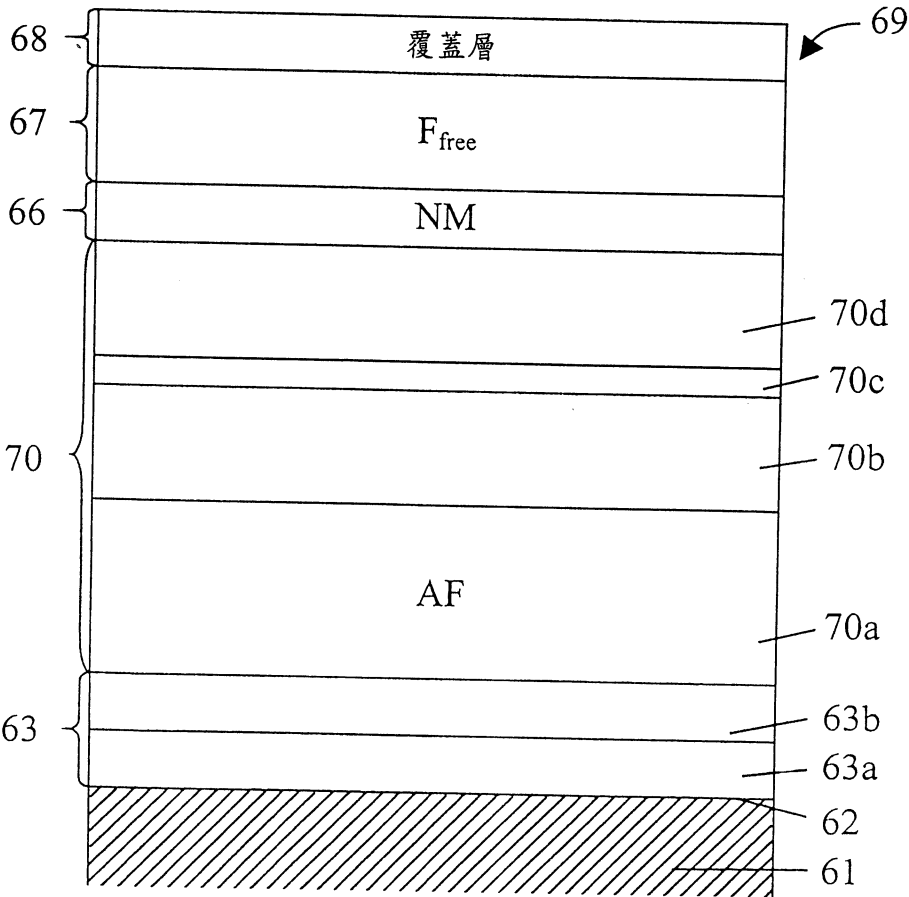


圖 9B

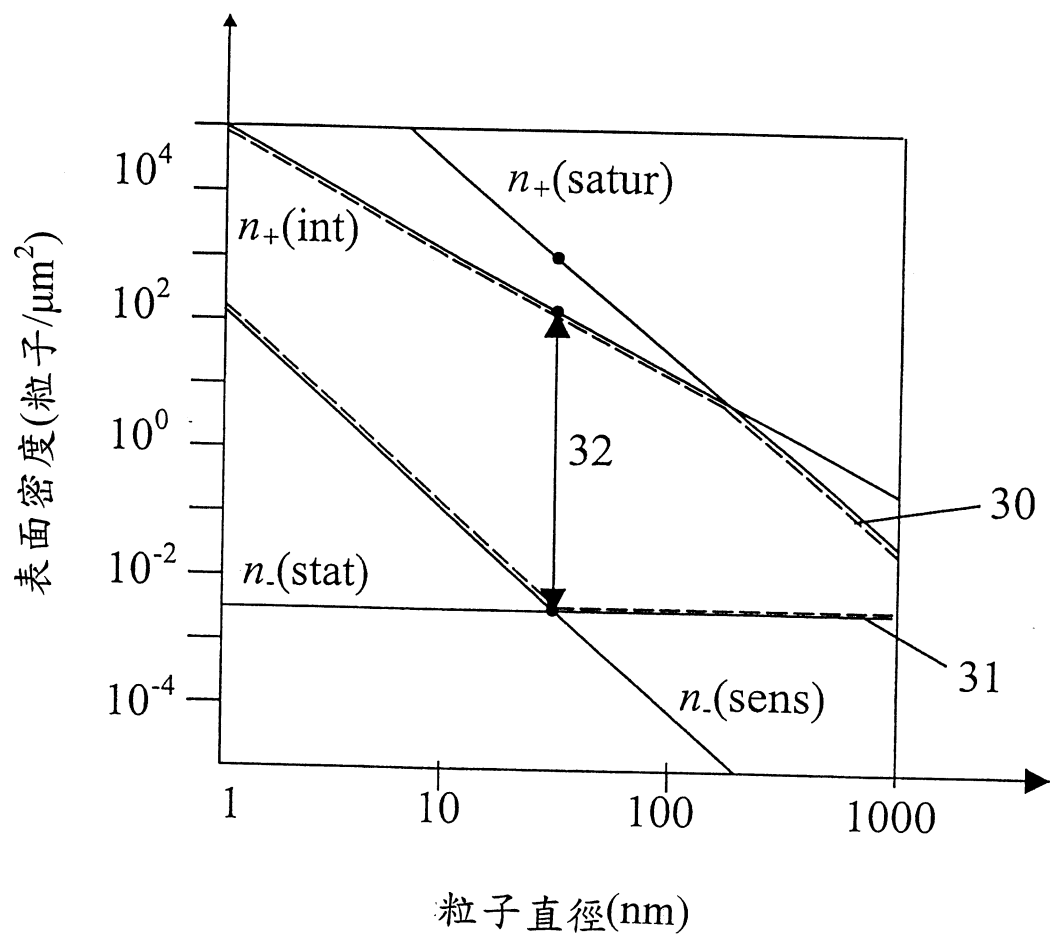


圖 10

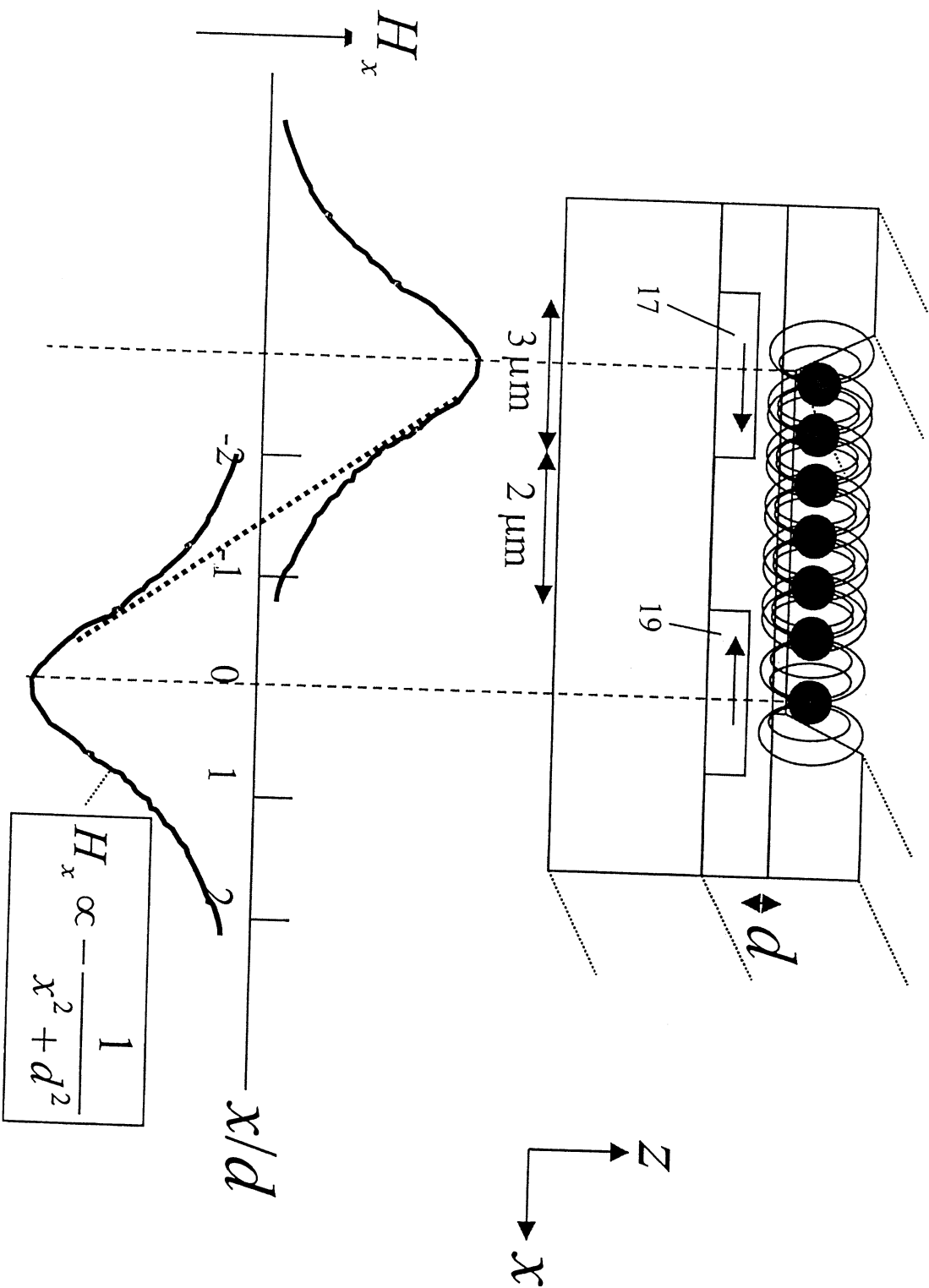


圖 11

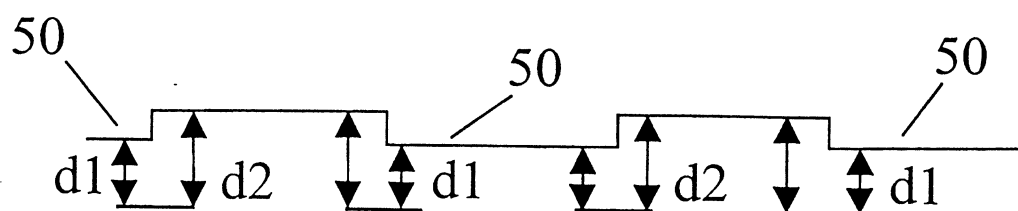


圖 12



發明專利說明書

(填寫本書件時請先行詳閱申請書後之申請須知，作※記號部分請勿填寫)

※申請案號：P1137286 ※IPC分類：C12Q1/68

※申請日期：P1.12.25

壹、發明名稱

(中文) 感測器及量測微陣列上磁性奈米粒子之表面密度之方法
(英文) SENSOR AND METHOD FOR MEASURING THE AREAL DENSITY
OF MAGNETIC NANOPARTICLES ON A MICRO-ARRAY

貳、發明人(共2人)

發明人 1 (如發明人超過一人，請填說明書發明人續頁)

姓名：(中文) 雷因德 寇胡恩
(英文) REINDER COELHOORN

住居所地址：(中文) 荷蘭愛因和文市普羅何斯蘭路6號
(英文) PROF. HOLSTLAAN 6, 5656 AA EINDHOVEN,
THE NETHERLANDS

國籍：(中文) 荷蘭 (英文) THE NETHERLANDS

參、申請人(共1人)

申請人 1 (如申請人超過一人，請填說明書申請人續頁)

姓名或名稱：(中文) 荷蘭商皇家飛利浦電子股份有限公司
(英文) KONINKLIJKE PHILIPS ELECTRONICS N. V.

住居所或營業所地址：(中文) 荷蘭愛因和文市格羅尼渥街1號
(英文) GROENEWOUDSEWEG 1, 5621 BA
EINDHOVEN, THE NETHERLANDS

國籍：(中文) 荷蘭 (英文) THE NETHERLANDS

代表人：(中文) J.L. 凡 德 渥
(英文) J. L. VAN DER VEER

發明人 2

姓名：(中文) 曼諾 威廉 荷西 普林斯

(英文) MENNO WILLEM JOSE PRINS

住居所地址：(中文) 荷蘭愛因和文市普羅何斯蘭路 6 號

(英文) PROF. HOLSTLAAN 6, 5656 AA EINDHOVEN,

THE NETHERLANDS

國籍：(中文) 荷蘭

(英文) THE NETHERLANDS

捌、聲明事項

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項 ☐ 第一款但書或 ☐ 第二款但書規定之期間，其日期為：_____

☒ 本案已向下列國家（地區）申請專利，申請日期及案號資料如下：

【格式請依：申請國家（地區）；申請日期；申請案號 順序註記】

1. 歐洲專利機構；2001年12月21日；01205152.0

2. _____

3. _____

☐ 主張專利法第二十四條第一項優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；日期；案號 順序註記】

1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

5. _____

6. _____

7. _____

8. _____

9. _____

10. _____

☐ 主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

【格式請依：申請日；申請案號 順序註記】

1. _____

2. _____

3. _____

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

1. _____

2. _____

3. _____

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

1. _____

2. _____

3. _____

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

(1)

玖、發明說明

(發明說明應敘明：發明所屬之技術領域、先前技術、內容、實施方式及圖式簡單說明)

技術領域

本發明關於一種用於感測無定向定位之奈米尺寸磁性粒子的方法及裝置，特別是其關於磁性偵測裝置及在一微陣列或生物晶片上結合生物分子之方法。

先前技術

微陣列或生物晶片之導入改革了DNA(去氧核糖核酸)、RNA(核糖核酸)及蛋白質之分析，應用上例如有人類基因例如醫院內或由個別醫師或護士進行)、細胞學上之篩檢、生物及醫藥研究。

生物晶片，其亦稱為生物感測器晶片、生物微晶片、基因晶片或DNA晶片，係以其最簡單之基板形式組成，大量不同之探針分子接附於其上，在晶片上之明確定義區域上，欲分析分子或分子片段若完美匹配則可結合。例如，一DNA分子之片段結合於一獨特互補型DNA(c-DNA)分子之片段，結合反應之發生例如可利用結合於欲分析分子之螢光標記偵測，此可在短時間內分析少量或大量不同之平行分子或分子片段。一生物晶片可檢定於1000或更多之不同分子片段，可以預期的是使用生物晶片所得之資訊用途將在未來十年期間快速增加，導致諸如Human Genome Project等計畫及在基因與蛋白質上之後續研究。

一種用於電子式偵測樣品分子結合於探針分子之方法已由Clinical Micro Sensors(CMS)驗證，其係Motorola之子公司，且揭述於D.H. Farkas, "Bioelectric detection of DNA and

(2)

發明說明續頁

the automation of molecular diagnostics”, The Journal of the Association for Laboratory Automation, volume 4, number 5 (1999), pp.20-24。其發展出一“生物電氣性DNA偵測晶片”，其原理上需使用二茂鐵(ferrocene)標籤分子，此為電子源或槽。捕捉式探針係接附於生物晶片上之塗金電極上，捕捉式探針為單束DNA且互補於目標物DNA或RNA序列之一獨特區域。當一含有目標物DNA之樣品導入匣內時，在一電極表面上之特定捕捉式探針即遇到來自樣品之互補DNA，因而發生結合或混合化。系統亦含有DNA序列，稱為信號探針，且有專有之電子標籤接附於此，諸信號探針亦結合於目標物DNA序列，目標物序列對於捕捉式探針及信號探針二者之結合可將電子標籤連接於表面。一分子片段之結合係藉由發生一電流通過一結合於分子之電極而偵測，當一輕微之交流電壓施加於電極與晶片上方溶液之間時，因為標籤釋出電子，而產生一可透過電極而偵測出來之特徵信號，此即指出目標物DNA之存在。在此概念內，信號係正比於已發生之結合反應之絕對值，每週期及每結合DNA/c-DNA對所流過之電子數係極小(數個或數十個)。上述報告提到實際上電流在pA至 μ A範圍內，不利的是其未指明電極面積或結合對之絕對值(可預設為極大值)，專有之信號處理技術用於辨識及定量目標物DNA序列。

第二原理為粒子陣列計數(BARC)生物晶片，揭述於Biosensors & Bioelectronics 14, 第731至739頁(1998);, D.R.Baselt, 著作“A biosensor based on magnetoresistance technology”, Biosensors &

(3)

發明說明續頁

Bioelectronics 14, 805(2000)R.L.Edelstein等人著作,“The BARC biosensor applied to the detection of biological warfare agents”, 及 Journal of Magnetism and Magnetic Materials 225 (2001),第138至144頁,M.M.Miller等人著作,“A DNA array sensor utilizing magnetic microbeads and magnetoelectronic detection”。

使用磁阻式材料則產生一堅固之單一組件式微結構偵測器，其同時監視數百、數千或甚至數百萬個實驗。如圖1所示，偵測器100具有一由許多微米尺寸磁阻式感測器101構成之陣列，為了方便說明，圖中僅示二探針位置且各備有一GMR感測器。諸感測器101設於接附有二探針DNA 104之基板表面下方一極小之深度處(=氮化矽 Si_3N_4 鈍化層102之厚度加上一較薄金層103)，維生素酯樣品DNA 105結合於探針DNA 104，若核甙酸序列，則形成之配對即呈互補。解決方法為在探針-樣品DNA混合化發生後，添加自由浮動之磁性 streptavidin 塗佈微粒子106，粒子藉由一 streptavidin -維生素鍵之形成而結合於已與探針DNA混合之樣品DNA。因此若存在具有序列互補於二探針DNA 104之樣品DNA 105，樣品DNA 105將粒子106附著於感測器101。所用之粒子106具有1 μm 直徑，在粒子106中，存在有奈米尺寸之磁性粒子(圖中未示)，其係因尺寸小而呈超順磁性。諸奈米尺寸之粒子典型上為氧化鐵，且以疊層狀散布於或塗布於一聚合物或矽母質，以形成大約1 μm 直徑之粒子，未結合之粒子則利用一小磁場組合於一小磁場梯度去除，或以一緩衝液洗滌。存在於生物晶片上之結

合粒子則藉由在一垂直於基板平面之較小、已知、外磁場內將粒子磁化而偵測。

儘管上述實例係用於DNA之偵測，但是其他分子，例如蛋白質，亦可利用先前技術BARC生物晶片而偵測。

在上述論文中，粒子之存在係利用基板內之巨型磁阻式(GMR)半惠斯頓電橋型感測器偵測，且其電阻對施加磁場曲線揭示於圖2。半惠斯頓電橋係由一供粒子存在於上方之敏感性組件、及一無粒子存在於上方之參考組件組成，所用GMR材料之電阻對磁場曲線在零磁場周側幾乎呈對稱，如圖2所示，因此磁場方向之符號並未量測。GMR材料之電阻反應於一正或負施加磁場而皆減少大約相用量，從圖2中可以看出，GMR材料內有一特定之磁滯，接近於零磁場處特別明顯，因此，小磁場之準確偵測幾乎是不可能。

BARC生物晶片概念可行，但是D.R.Baselt, "A biosensor based on magnetoresistence technology", Biosensors & Bioelectronics 13, 731-739(1998)之圖9中所示結果顯示出一不良之信號-雜訊比(SNR)，主要問題在於所用之大(1 μm)粒子緩慢擴散通過溶液，即使是在容許粒子與樣品DNA之間長時間結合後，仍僅有少量粒子結合於混合後之樣品分子，導致一弱信號。第二點，粒子具有一定之磁力矩分布(一既定磁場)，其在每一感測器僅有一或少量粒子存在時會對信號-雜訊比有負面影響。依專家所示，用於單一粒子量測用之信號-雜訊比可以利用較小之感測器表面積增強。惟，當每枚探針使用許多感測器時，所需之電子電路變得極

(5)

發明說明續頁

為複雜。再者，大約1 μm 之大型磁性粒子之緩慢Brownian運動係指其在磁性粒子到達一結合位置之前需耗費長時間，因此實際量測需耗費長時間。

Tondra et al. 在“Model for detection of immobilized superparamagnetic nanosphere assay labels using giant magnetoresistive sensors”, J. Vac. Sci. Technol. A 18(4), Jul/Aug 2000, pp.1125-1129內揭露一GMR感測器可以偵測出任意尺寸之單一順磁性粒子，只要符合一特定條件即可，其中一者為感測器之尺寸大約相同於粒子者，此條件係在500 nm之粒子半徑時最容易符合。藉由克服GMR感測器製造上之技術困難即可減小粒子半徑至100 nm，而進一步減小粒子半徑至10 nm則需要更先進之粒子製造技術以及GMR感測器製造。此解決方法之缺點在於需要探針面積相關於GMR感測器之準確定位，其比例為0.5 μm 以下。

Chemla et al. 在“Ultrasensitive magnetic biosensor for homogeneous immunoassay”, PNAS, December 19, 2000, vol. 97, no.26內揭露一以SQUID為主之感測器，其使用磁性粒子。一平面內磁場施加以令接附於一基板上之非活動區的磁性奈米粒子之磁力矩解除無定向，非活動區位於一井內且以一米拉(Mylar®)片做舉例說明。隨後切斷磁場，依據Né el機構之所附奈米粒子之磁性雙極之釋放產生一可量測之時間，其取決於數秒週期內通過SQUID之磁通量，此通量係由一接近於非活動區邊緣之SQUID探針偵測，極體液體內之超順磁性奈米粒子可依Brownian運動而自由移動

(6)

發明說明續頁

，且在無施加場時即不產生磁場。SQUID通量偵測器之缺點在於其昂貴及僅能在低溫下操作。

發明內容

本發明之一目的在提供一種用於在一生物晶片內準確偵測磁性粒子之方法及裝置，且具有一增進之信號-雜訊比。

本發明之另一目的在提供一種在一生物晶片內偵測磁性粒子之快速方法及一相對應裝置。

本發明之又一目的在提供一種簡便且經濟之用於偵測磁性粒子的方法及裝置，且特別是不需要個別磁性粒子相關於感測器做精確定位。

依本發明所示，上述目的之達成係藉由一種磁阻式感測器裝置，用於決定直接或間接地結合於目標物之磁性奈米粒子之存在或一表面密度，磁阻式感測器裝置包含一基板，其具有一接附於此之結合位置以選擇性結合一目標物，及一磁阻式感測器，用於至少當磁性奈米粒子結合於目標物時可偵測其磁場，其中磁阻式感測器包含複數對第一及第二磁阻式感測元件或第一及第二群磁阻式感測元件，各對係相關聯於且平行於一具有至少一結合位置之探針元件，第一及第二磁阻式元件或第一及第二群磁阻式感測元件之輸出饋送至一比較器電路。

本發明亦包括一種用於在一基板上決定磁性奈米粒子之存在或量測其表面密度之方法，其包含以下步驟：

-結合一目標物以選擇性結合基板上之結合位置，目標樣品係直接或間接地以磁性奈米粒子標示，

(7)

發明說明續頁

-感測結合之磁性奈米粒子存在於一結合位置，藉此決定以磁性奈米粒子標示之目標物之存在或密度，

-其中感測步驟係利用磁阻式感測器元件抽出自結合於一結合位置之奈米粒子所產生磁場衍生之二信號而實施；及決定二信號之間之差異。

探針面積，即附著有探針元件如抗體者處之晶片上之面積，其寬度及長度，以及磁阻式(MR)感測器元件之寬度及長度，係遠大於待量測其存在與濃度之磁性奈米粒子之直徑。奈米粒子例如可具有一在1與250 nm之間之直徑，較佳為在3與100 nm之間，最佳為在10與60 nm之間。對於如此小之粒子，擴散極為快速。感測器元件之寬度及長度係大於奈米粒子之平均直徑至少一因數10或更大，較佳為一因數100或更大，例如1 μm ×1 μm 。用於感測器元件之其他尺寸亦可行，若使用不同尺寸，則可得到不同S/N比。

“微陣列”或“生物晶片”係關於一平坦表面上所產上之陣列，其構成複數不連續反應或潛伏隔間，而可藉由其在陣列上之位置或x-y座標辨識，此陣列適用於評估特定結合對構件之間之特定結合特徵。本發明極適用於競爭性檢定或位移性檢定。本發明之上述及其他特性及優點可由配合於相關圖式之本發明以下詳細說明中獲得瞭解，圖中舉例說明本發明之原理。此說明僅為舉例方便，不應以此侷限本發明之範圍。以下提出之參考圖式即關於附圖。

實施方式

本發明將相關於特殊實施例及參考於特定圖式以說明之

(8)

發明說明續頁

，但是除了申請專利範圍，本發明並不限於此。例如，本發明將參考於各探針元件所用之二磁阻式感測器以說明之，但是本發明並不限於此。例如，4、6或更多之偶數感測器元件可用於各探針元件且分成二群，來自各群之輸出隨後轉移至一差壓比較器或一加總電路。所述之圖式僅為簡示圖且非侷限性，圖式並未依比例繪示。

文後之詳細說明即提出一備有以下規格之非侷限性實例：

- a) 生物晶片面積為 $1 \times 1 \text{ mm}^2$ ，
- b) 在生物晶片面積上有100枚不同探針，各探針具有 10^{-2} mm^2 (例如 $100 \text{ } \mu\text{m} \times 100 \text{ } \mu\text{m}$) 之面積 (寬 $W_1 \times$ 長 l)，
- c) 在各探針元件處有無奈米粒子及/或奈米粒子密度存在之量測係在3分鐘之總週期期間實施100次。

本發明並不限於具有此一尺寸與既定值之系統，其僅由申請專利範圍限制。

一生物晶片10包含一基板3，且在其表面處備有至少一探針面積5，較佳為複數個，如圖3所示。各探針面積5包含較佳為長條形之探針元件7於其表面之至少一部分上，如圖5A、5B之二實施例所示，容後詳述。

如圖4A、4B及4C、4D所示，一探針元件7備有結合位置9，例如結合分子或抗體，可以選擇性結合一目標樣品11，例如一目標分子物種或一抗原，可結合於一母質之任意生物分子皆可用於本發明中，其實例為：

-核酸：DNA、RNA雙重或單一標準型或DNA-RNA混合

(9)

發明說明續頁

型，有或無變化者。核酸陣列係屬習知。

-蛋白質或胜，有或無變化者，例如抗體、DNA或RNA結合蛋白質。近年來，含有酵母完全蛋白質性之柵條已公開。

-寡或多醣體或糖。

-小分子，例如抑制劑、配合基、交聯於一母質或透過一間隔基分子。

標註於柵條上之物為最適當之化合物群，例如酵母/蛋白質群、寡核甙酸群、抑制劑群。

目前有多種不同之可行性可將磁性奈米粒子15連接於目標物11，其實例則揭示於圖4A、4B、4C及4D中。

在圖4A中，以磁性粒子15標示之感測器分子13可以選擇性結合一目標物11。當執行隨機搜尋時，例如，篩檢一特定組織萃取物之DNA結合蛋白質結合於一含有核甙酸群之柵條，感測器分子應具有一極廣泛之特性。在此例子中，可以使用一感測器分子且其具有一反應於胺基或羧基之間隔基，具有一反應於糖、DNA之反應基的其他感測器分子亦適用。在一直接搜尋之例子中，可以使用特製之感測器分子，例如，以一蛋白質篩檢一蛋白質群係用於假設蛋白質-蛋白質交互作用，而一抗體為一明顯之選擇，單同本生物及多同本生物抗體二者皆可使用。如圖4A所示，磁性粒子15係間接結合於目標樣品11。

在圖4B中，目標樣品11分子係直接以磁性奈米粒子15標示。

(10)

發明說明續頁

在圖4C中，目標樣品11係以標籤12標示，此一標示之目標樣品11(例如維生素酯樣品DNA)係選擇性結合於結合位置9，由磁性奈米粒子15標示之感測器分子13(例如streptadivin)可以選擇性結合於目標樣品11上之標籤12。再一次，磁性奈米粒子15間接結合於目標樣品11。

在圖4D中，有一目標物11及一以磁性奈米粒子15標示之目標物存在於流體或氣體中。在一競爭性檢定中，具有磁性奈米粒子之目標物可做選擇性結合，若其比目標物更早到達結合位置9。越多以磁性奈米粒子15標示之目標物結合，則越少目標物存在於流體或氣體中。

依本發明所示，磁性粒子15較佳為具有一直徑小於1 μm 、具有一平均磁性力矩 m 之超順磁性奈米粒子。奈米粒子指具有至少一尺寸範圍在1 nm與250 nm之間之粒子，較佳為在3 nm與100 nm之間，最佳為在10 nm與60 nm之間，其直接或間接地接附於生物晶片1之基板3上之探針元件7，較佳為利用圖4A、4B或4C中所示之任一方法或類此者。奈米粒子15通常無定向地定位於晶片1上之一井定義面積內，井定義區域為一探針面積5，探針面積5具有一寬度 W_1 及一長度 l ，奈米粒子15之表面密度為 n (奈米粒子/ m^2)，表面密度大體上為時間函數。

探針面積5可為單一長條，除了單一長條外，亦可以使用相鄰之一定數量較短條，使得由單一探針5占用之總面積變成較為正方形，如圖3所示。由於此舉並未影響電子靈敏度上之結果，因此文後僅進一步詳細說明單一長條形探針面

積5。

生物晶片1之功能如下。各探針元件7一特定型式之結合位置9，目標樣品11呈現於或通過探針元件7，且若結合位置9與目標樣品11匹配，其即相互結合。隨後，磁性奈米粒子15直接或間接地聯結於目標樣品11，如圖4A、4B、4C所示。磁性奈米粒子15容許讀出由生物晶片1聚集之資訊。奈米粒子較佳為依本發明所示之超順磁性奈米粒子15，超順磁性奈米粒子為鐵磁性粒子，其在零施加磁場時，時間-平均磁化即因為熱感應磁性力矩反轉而呈零，該項反轉經常為磁化量測之時間比例，平均反轉頻率係由以下所得：

$$v=v_0 \exp(-KV/kT)$$

其中 KV (K 為磁性異方性能量密度尺及 V 為粒子體積)為需要克服之能量障壁，及 v_0 為反轉嘗試頻率(典型值： 10^9 s^{-1})。

在本發明之某些實施例中，超順磁性奈米粒子15較佳為垂直於晶片之平面而磁化，以利讀出由生物晶片1聚集之資訊。在其他實施例中，奈米粒子係平行於晶片之平面而磁化。

一磁阻式(MR)感測器，例如一巨型磁阻式(GMR)、一隧道型磁阻式(TMR)或一異方性磁阻式(AMR)感測器，係依本發明提供以讀出由生物晶片1聚集之資訊，由此讀出粒子存在與否及/或決定或估計探針面積5上之磁性奈米粒子15之表面密度。

在一AMR、GMR或TMR材料中，當一或多層之磁化方向係因施加一磁場而改變時，電阻即改變。GMR為用於層狀

結構之磁阻，層狀結構具有導體中間層於變換磁性層之間，而TMR為用於層狀結構之磁阻，層狀結構包含磁性金屬電極層及一誘電層。

在GMR技術中，結構已發展出其中二極薄磁性膜極為緊密，第一磁性膜係固定，意指其磁性方向固定，通常藉由將其接近於一交換偏壓層而達成，亦即用於固定第一磁性膜磁性方向之一抗鐵磁性層。第二磁性層或活動層具有一活動、可變之磁性方向。在源自超順磁性奈米粒子15磁化變化之本例子中，磁場變化會造成活動磁性層之磁性方向旋轉，因而增加或減少整體感測器結構之電阻。當感測器及固定層之磁性朝向相同方向時，通常出現低電阻，而當感測器及固定膜之磁性方向相反時，則出現高電阻。

TMR可觀察於由一隔離(隧道)障壁層分離之二鐵磁性電極層構成之系統中，此障壁層需極薄，即1 nm尺寸。只有如此，電子才能穿隧通過此障壁層，即一完全之量子-機械輸送過程。再一次，一層之磁性配列可以在不影響其他者下改變，其利用一交換偏壓層。再一次在源自超順磁性奈米粒子15磁化變化之本例子中，磁場變化會造成感測器膜之磁性方向旋轉，因而增加或減少整體感測器結構之電阻。

鐵磁性材料之AMR係電阻對於電流與磁化方向所形成角度之依存性，此現象係因電子散射於鐵磁性材料截面時之不對稱所致。

在後文中，將考量具有一GMR感測器之實施例，但是本

發明並不限於此。

在一第一實施例中，如圖5A所示，磁阻式感測器，例如一GMR感測器，其包含一第一感測器元件例如一GMR元件17，及一在基板3表面下方一距離 d 處積合於生物晶片基板3之第二感測器元件例如一GMR元件19。諸GMR元件17、19各包含一備有相同磁化方向之固定膜，即平行於或實質上平行於 x 方向，及一活動膜或感測器膜，其磁化方向可以因為一外磁場而改變。為了讀出生物晶片1，結合於此之超順磁性奈米粒子15係由一垂直於生物晶片1平面之外部均勻磁場磁化，使用垂直磁場可以產生一純粹而平均之磁場於由鄰近感測器元件17、19之奈米粒子覆蓋之長條形面積之二側。探針面積僅重疊於一半之GMR感測器長條，因此在感測器長條內由奈米粒子產生之純粹而平均磁場即在沿著或接近於長條中央軸線處為最大。磁化之奈米粒子15則在下層GMR膜平面中產生相對立磁性感應向量之區域，如圖11所示，且生成之磁場係由GMR感測器元件17、19偵測。一座標系統已導入圖3及圖5A、5B中，且依據該座標系統，探針元件7及GMR元件17、19係在 y 方向延伸一長度 l 。若磁阻式感測器元件17、19位於 xy 平面，則GMR感測器元件17、19僅能偵測到磁場之 x 分量，磁化之超順磁性奈米粒子15生成之磁場係由第一GMR元件17及第二GMR元件19偵測。在探針元件7之寬度 W 上，磁性粒子之有限(非無限)空間範圍有助於一由GMR元件17、19平面中之磁場產生之淨信號，探針元件邊緣處之磁性粒子並無鄰近粒子於一側，

因此來自諸粒子之磁場係在感測器元件17、19內之一方向中具有一淨平面內磁場分量。較接近於一感測器17、19中央之粒子令其平面內磁場由二側上之相鄰粒子中性化至一定程度，因此所有粒子皆有助於在感測器元件17、19內產生之信號。儘管所有奈米粒子皆對淨磁場有某些助益，但是接近於探針元件邊緣處之粒子較有助於總磁場。因為一磁性感測器元件17、19幾乎在中央處較敏感，因此在垂直投影中，探針元件7邊緣處之磁性奈米粒子15較佳為在感測器元件17、19之中央。感測器之功能並非極為取決於GMR長條之間之距離W，其可選擇遠大於奈米粒子之直徑。舉例而言，第一GMR元件17及第二GMR元件19中之固定膜二者可朝向正x方向，在圖5A之例子中，第一GMR元件17之活動膜或感測器膜之磁化方向亦在正x方向，而第二GMR元件19之活動膜或感測器膜之磁化方向則在負x方向。固定膜以及第一GMR元件17活動膜之磁化方向相同，第一GMR元件17即呈現低電阻。由於固定膜以及第二GMR元件19活動膜之磁化方向相反，故第二GMR元件19呈現高電阻。第一GMR元件17及第二GMR元件19對於因為奈米粒子磁化所造成磁場之反應係分別揭示於圖5C(a)、(b)，如諸圖表所示，相較於依奈米粒子所在處而偏壓GMR元件，其磁場在平行或反平行方向。

奈米粒子15之外部磁化可用習於此技者熟知之任意方式達成，特別是可利用備有一鐵磁芯32之二線圈30達成，如圖6所示。例如藉由施加約10 mA電流，即產生一垂直於基

板之磁場，以利於磁化及對準奈米粒子15之磁性力矩。若二線圈30之中心係沿著一垂直於基板3之線而定位，若線圈直徑大約等於或大於線圈間之距離，及若通過二線圈之電流相等，則施加之磁場即在一等於線圈面積之面積上近乎完美地垂直於基板3。藉由具有一或二線圈之一小(x,y,z)移動，即可以有利地產生改變線圈位置之選項，使磁場之一線性梯度出現於探針面積處，另者，梯度可以利用一電流差產生，其亦可以有利地相關於樣品面積而產生略為改變線圈方位之選項，生成小且井控制之平面內磁場分量。藉由使用一磁場及一磁場梯度之結合，磁性粒子之結合強度可在不同方向中決定。不良之結合可以偵測出來，因為在一特定磁場處磁性奈米粒子失去其結合且在其移至群體時不再由MR感測器元件偵測，即遠離於感測器而不易偵測，此對於大型蛋白質尤其重要，同時DNA之結合或多或少會通/斷。藉由在x方向中使用小且井控制之平面內磁場分量，若交換偏壓式GMR或TMR感測器係來自活動與固定層之間之一殘留磁性耦合，則可以修正零磁場位置之R(H)曲線中心之可能非必要性變移。

在一GMR感測器之第二實施例中，如圖5B所示，探針面積5之表面具有一緩衝或隔離區，以防止或減低此區域內任意奈米粒子意外地影響到量測。例如半導體感測器元件之表面可以建構，建構之目的可在於移動粒子遠離感測器，使其不再影響到量測，此建構例如可藉由圖5B所示之階級構型而實質達成，即具有一梯度構型，例如，利用異方性

或同方性蝕刻溶液蝕刻感測元件之半導體材料，以形成一井。另者，探針面積可由一溝渠圍繞，其深度足以將任意奈米粒子隔離於感測器。除了此一實質建構外，探針面積5之表面亦可做化學性或生化性建構，例如提供結合位置於探針面積5之探針元件7上，但是不在鄰次於探針元件7之探針面積區域8上。防水材料亦可用於諸緩衝區。

感測器包含薄膜材料，在參考於GMR材料之例子中，其他薄膜材料亦為可行，例如AMR、TMR或具有 $H=0$ 周圍實質線性 $R(H)$ 曲線之MR材料。感測器係由一分離層40分離於磁性奈米粒子15，例如二氧化矽、氮化矽、或有機材料如光阻劑或環氧樹脂。

奈米粒子15之磁化係由一施加垂直於生物晶片1表面(即沿著z軸線)之外磁場控制，感測器目前曝露於由奈米粒子15生成之磁場，其(長條形平均)平面內分量在由磁性奈米粒子覆蓋之探針區域側邊下方特別高。在施加一垂直磁場時，感測器17、19之電阻差之變化係用於量測探針元件上之奈米粒子之表面密度。測探針元件之下表面7a上之磁性奈米粒子15之表面密度定為密度 σ_1 ，而上表面上者為度 σ_2 。使用一凹入之探針區域(即圖5B中之 $d_2 \neq 0$)可減少對於停留在探針面積外表面上之磁性粒子之敏感度，亦即未特別結合於探針分子者。為了減低對於凹入區域內流體中之奈米粒子之體積密度之信號之可能助益，可以施加一額外之清洗步驟，或者粒子可以藉由施加一磁場及一磁場梯度而拉離感測器表面。

(17)

發明說明續頁

表面粒子密度典型上範圍在零與 10^3 - 10^4 粒子/ μm^2 之間。

在實施上，其較易於在表面上構成微米或次微米尺寸之實質結構，同時極難以利用微米或次微米圖案構成高品質之生化表面。

在本發明之第二實施例中，感測器係由一對感測器元件17、19組成，其結構則相關於圖5B中所示者。磁性粒子之表面密度係衍生自當施加一垂直磁場時二感測器元件17、19之電阻變化差，由於感測器元件17、19同樣敏感於外磁場之一平面內分量之效應或熱漂移，諸不必要之效應即抵銷。一用於取得信號之實際方法為使用感測器17、19做為一惠斯頓電橋(Wheatstone bridge)內之元件a、b，如圖7所示，其中元件c、d係(約略)相等之非磁性電阻，或同類型之磁性電阻如感測器a、b，因為其電阻不會在施加磁場中變化，此例如可藉由不施加探針分子接近於元件c、d、藉由施加c、d感測器上方之探針分子至一遠寬於c、d感測器面積總寬度之區域(因此所有二極性磁場之淨效應為零)、或在當處施加一厚蓋層於感測器c、d頂部上使其對於磁性粒子之敏感度降低。感測器c、d不需要具有相同於感測器a、b者之實質尺寸。用於取得信號之詳細實際方法不限，吾人稱此系統為半惠斯頓電橋(half-Wheatstone bridge)。

其有利於當感測器元件17、19及標稱相同之感測器元件17'、19'形成一全惠斯頓電橋時，如圖8所示，在此元件17、19、17'、19'相當於圖7所簡示結構中之元件a、b、c、d。對於一固定之感測電流 I_{sens} ，表面粒子密度取自電壓計之

信號係如圖8所示量測，此一組合之一實際實施方式係簡示於圖12中，其中可看見一列凹入區域50。使用一探針元件之二感測器元件17、19之間或感測器組17、19之間之差異量測優點在於其不需要參考感測器元件且取得一高偵測靈敏度，同時保持獨立於外界之影響，例如溫度。一全惠斯頓電橋之靈敏度係二倍於一其他相同半惠斯頓電橋之靈敏度。

比較器之輸出例如提供一是否存在有奈米粒子之指示(當其超過一最小臨界值時)，或者可用於決定或估計粒子之表面密度。

對於含有固定與活動磁性層之長條形GMR及TMR感測器材料，一實質上呈線性且無磁滯電阻對磁場之曲線可以利用一磁性結構取得，其中交換偏壓方向垂直於長度方向(電流方向)，且活動層之易磁化方向平行於長度方向。感測器所敏感之外磁場係垂直於長條之長度方向。活動層之磁化從一平行方向旋轉至‘固定’切換偏壓層非平行方向之磁場範圍(‘切換磁場’)係由多項有助於磁性異方性之組合決定，包括例如在一磁場內生長所致之內部助益，及包括形狀異方性，此即所謂之交叉式異方性。為了取得零施加磁場周側之一實質上呈線性 $R(H)$ 曲線，因為固定層之存在而作用於活動層上之有效耦合磁場應該減小至切換磁場以下之一值。有不同之助益於此耦合，因為中間層內之針孔所致之耦合、中間層交換耦合、及因為非平坦性磁性金屬/中間層介面所致之靜磁性耦合可以利用相當厚之中間層而減低

，相關於有限長條寬度之靜磁性耦合例如可以藉由採用活動與固定層之厚度而減低，或藉由使用可有效地減低其磁化之其他者乘以層厚度之積。其亦可不減低對於耦合磁場之諸各別助益，但是藉由設計一系統以減低所有耦合助益之總和，其中不同助益有相反之符號。

對於AMR材料造成零磁場周側線性 $R(H)$ 曲線之習知方法係俗稱之軟性鄰層法及紅白柱法，二方法皆有效造成一結構，其中對於 $H=0$ 而言，電流與磁化之間角度接近於 45° 。

本發明用於一感測器裝置之適當GMR結構60第一實例係如圖9A所示，GMR結構60包含一熱氧化矽基板61且其具有一主表面62。在基板61之主表面62上，施加一堆疊層如首先為一(複數)緩衝層63、一抗鐵磁(AF)64、一固定鐵磁(F_{pinned})65、一非磁性材料(NM)66、一活動鐵磁(F_{free})67及一覆蓋層68，65、66、67皆為金屬。特別是，針對此第一實例，上述諸層各可由以下材料及厚度組成：

- 對於緩衝層63：一3 nm厚之鉭層且在其頂面上有一3 nm厚之 $\text{Ni}_{80}\text{Fe}_{20}$ 層63b，

- 對於AF 64：一10 nm厚之 $\text{Ir}_{20}\text{Mn}_{80}$ 層，

- 對於 F_{pinned} 層65：一6 nm厚之鈷層，

- 對於NM層66：一3 nm厚之銅層，

- 對於 F_{free} 層67：一6 nm厚之 $\text{Ni}_{80}\text{Fe}_{20}$ 層，及

- 對於覆蓋層68：一3 nm厚之鉭層。

$\text{Ir}_{20}\text{Mn}_{80}$ 層64為一抗鐵磁(AF)，可令鈷層65之磁化固定在一垂直於GMR長條17、19長度之方向中，此係藉由在一磁

場中生長鈷層 65 而達成，或者在該生長後，藉由在一磁場中自俗稱之‘燙印溫度’以上之一溫度(針對材料而考量於大約 300°C)冷卻該系統。銅層 66 將固定之鈷層 65 分離於活動之 $\text{Ni}_{80}\text{Fe}_{20}$ 層 67，上鈹層 68 可在晶圓沉積後而曝露於空氣時避免 GMR 結構 60 氧化，下鈹層 63a 及鄰接之 $\text{Ni}_{80}\text{Fe}_{20}$ 層 63b 則有助於建立或生長一適當之微結構及結晶方向。

一適當 GMR 結構 69 第二實例係如圖 9B 所示，GMR 結構 69 包含一熱氧化矽基板 61 且其具有一主表面 62。在基板 61 之主表面 62 上，施加一堆疊層如首先為一(複數)緩衝層 63、一人造抗鐵磁(AAF)70、一非磁性材料(NM)66、一活動鐵磁(F_{free})67 及一覆蓋層 68。特別是，針對此第二實例，上述諸層各可由以下材料及厚度組成：

- 對於緩衝層 63：一 3 nm 厚之鈹層 63a 且在其頂面上有一 3 nm 厚之 $\text{Ni}_{80}\text{Fe}_{20}$ 層 63b，

- 對於 AAF 70：一 AF 層，例如一 10 nm 厚之 $\text{Ir}_{20}\text{Mn}_{80}$ 層 70a、一 6 nm 厚之鈷層 70b、一 0.8 nm 厚之鈦層 70c 及一 6 nm 厚之鈷層 70d，

- 對於 NM 層 66：一 3 nm 厚之銅層，

- 對於 F_{free} 層 67：一 6 nm 厚之 $\text{Ni}_{80}\text{Fe}_{20}$ 層，及

- 對於覆蓋層 68：一 3 nm 厚之鈹層。

AAF 層 70 具有 AF/鈷/鈦/銅形式，鈦層 70c 之厚度係經選擇以利於使二鈷層 70b、70d 之磁化方向可因為鈦層 70c 上之交換耦合而反平行，AF 層 70a 使二鈷層 70b、70d 之磁化垂直於 GMR 長條 17、19 之長度軸線。

此第二 GMR 結構 69 優異於第一 GMR 結構 60 之處在於磁性結構相對於外磁場而較為穩定，再者，因為由釘層 70c 分離之二鈷層 70b、70d 之間之厚度比，故可選擇固定層 70d 與活動層 67 之間之一可調整耦合，此可補償一小耦合於固定層 70d 與活動層 67 之間之銅層 66 上。所有耦合之總和主要選擇為零，因此在零施加磁場處(即無粒子)，活動層 67 之磁化正垂直於其中一固定層 70d(且因而平行於長條 17、19 之軸線)。銅層 66 越薄，磁阻越大，但是活動與固定層 65、67 (或 70d、67) 之間之平行耦合也越大(例如厚度為 3 nm)。藉由來自 AAF 70 之靜磁場，其符號及大小可以藉由改變層 70b、70d 之厚度差而改變，其修正於此而導致 MR 感測器裝置較為敏感。

奈米粒子 15 之直徑(圖 3 中未示)遠小於 W ，遠小於係指至少一因數 10，較佳為一因數 100 或更小。

有三種操作模式，各為本發明之一分離實施例：

-在施加一磁場垂直於感測器元件平面時之電阻變化量測。三種可行之實施例已說明於上：藉由使用一分離式元件、藉由感測器元件 17、19 之輸出之差異比較(半惠斯頓電橋)、或藉由使用一全惠斯頓電橋(如前所述)量測。

-磁場切斷後之磁化量測。在此例子中，由感測器元件 17、19 量測之磁場係因為結合於探針之諸粒子之緩慢磁化衰退(熱釋放)所致，來自未結合粒子之磁化衰退則更快，因為其快速無定向之旋轉運動所致。迅於切斷磁場後，其淨磁化因而可忽略不計，差異比較偵測(半及全惠斯頓電橋)亦可

用於此模式中。

-一平面內磁場切斷後之磁化量測。此並非一較佳實施例，平面內磁化在感測器元件17、19內造成一平面內磁場，惟，此平面內磁場並不像接近於磁性雙極子末端之磁場般強，且因此此技術之靈敏度較低。所量測來自奈米粒子之磁場亦因為結合於探針之諸粒子之緩慢磁化衰退(熱釋放)所致，來自未結合粒子之磁化衰退亦更快，因為其快速無定向之旋轉運動所致。迅於切斷施加磁場後，其淨磁化因而可忽略不計，惟，在此模式中，來自二感測器17、19之輸出幾乎相同，因此可以使用單一中央設置式感測器元件以替代二感測器。在一半惠斯頓電橋中，此感測器之電阻變化可以比較於無探針分子處之晶片上一面積下方之標稱相同(參考)感測器者，因而無粒子存在。相似地，一全惠斯頓電橋可以使用位於一探針區域下方之a、d感測器及位於無探針分子處之晶片上一面積下方之b、c感測器產生。

在本發明中，所有諸模式皆可考量。為了能夠以一裝置提供所有三種模式，感測器裝置可以配備一組件，以產生一垂直於探針元件平面之磁場(模式1、2)或一平行於奈米粒子平面內探針元件平面之磁場(模式3)或必要時二者皆具。相似地，可以提供開關以利於分別量測感測器長條之電阻，或例如可以量測電阻之總和或差異。

超順磁性奈米粒子15之所需磁性性質，較特別的是其釋放時間分布，係針對不同模式而呈相異，如文後所述。

當探針元件7在y方向中夠長且粒子密度 n 夠大時，因奈米

(23)

發明說明續頁

粒子15位置之無定向所致之GMR信號上之效應即做平均。
 一典型設計可以具有一探針元件7，其在y方向中具有長度
 $l=1\text{ nm}$ ，及在x方向中具有寬度 $W=3\text{ nm}$ ，各GMR元件17、
 19之寬度 w 可為 $w=3\text{ }\mu\text{m}$ ，其在x方向中之大約一半係位於探
 針元件7下方。若由一探針面積5佔用之總寬度 W_t 係取自各
 探針元件7之寬度 W 、各GMR元件17、19之一半寬度加上一
 差距以消除交叉磁場效應，且該差距取為 $5\text{ }\mu\text{m}$ ，則在 1×1
 mm^2 之一生物晶片1上有足夠空間可用於相鄰之100個探針
 面積5。若每單位面積有大量粒子用於沿著正z軸線而磁化
 之奈米粒子15，則長條平均磁場即以圖5A、5B所示之磁場
 線簡示，其等於一因為長條邊緣處二平行電流線所致之一
 磁場，且電流為

$$I = m \times n \quad (\text{等式 1})$$

顯然，每超順磁性奈米粒子15之力矩 m 應該盡可能大，以
 用於一即定體積之奈米粒子15，以取得一盡可能大之磁
 場。

GMR元件17、19探測磁場之x分量，其對於第一GMR元
 件17為正而對於第二GMR元件19為負。若座標系統之原點
 取在第一GMR元件17之中間，則元件17內之磁場之平均x
 分量為：

$$H_{x,av} = \frac{1}{2\pi} \frac{1}{w} \int_{-w/2}^{w/2} dx \frac{m \times n \times d}{x^2 + d^2} = \frac{2}{2\pi} \frac{m \times n}{w} \times \arctan \frac{w}{2d} \quad (\text{等式 2})$$

因此 $H_{x,av}$ 可以藉由使GMR元件17、19之寬度 w 變小且基

(24)

板表面下方GMR元件17、19之深度 d 小於或等於 w 而增加，使探針元件7之寬度 W 變小並不會改變在各GMR元件17、19處感測到之磁場，只要探針元件7之寬度 W 大約等於GMR元件17、19之寬度 w 及基板表面下方GMR元件17、19之深度 d 即可，或者較大。因探針元件7中間處之奈米粒子15所致之磁場則不偵測，否則，信號會隨著減小探針元件7之寬度 W 而減小，因此使探針元件7之寬度 W 遠大於GMR元件17、19之寬度 w 並非總是有利，除非為了實際上之原因，例如圖案化技術。

信號呈相反之該對GMR元件17、19可用於構成一惠斯頓電橋結構，其中所有組件皆呈磁性相等，亦即在所有支線中皆有相等之交換偏壓方向。此一惠斯頓電橋之實例揭示於圖8內，因為省略一非主動參考MR元件導致信號加倍，且一共同模式信號(例如因為平面內之外磁場所致或因為熱漂移所致)消除。

信號電壓得自：

$$V_s = 2 \times I_{sense} \times \Delta R = 2 \times I_{sense} \times \left(\frac{\Delta R}{R} \right)_{\max} \times \frac{H_{x,av}}{\Delta H_{\max}} \times \frac{l}{w} \times R_{sheet}, \quad (\text{等式3})$$

其中 I_{sense} 為感測電流，

R_{sheet} 是GMR薄層電阻，

$\left(\frac{\Delta R}{R} \right)_{\max}$ 為當使用全動態範圍時之磁阻比，及

$(\Delta H)_{\max}$ 為磁場範圍，其中元件完全切換。若形狀異方

(25)

性決定此範圍，

$$(\Delta H)_{\max} = 2 \times \frac{t}{w} M_{\text{sat}}, \quad (\text{等式 4})$$

t 及 M_{sat} 分別為活動磁性層之厚度及飽和磁化。

結合(等式 1)-(等式 4)導出：

$$V_s = \frac{1}{\pi} \times m \times n \times \arctan \frac{w}{2d} \times \left(\frac{\Delta R}{R} \right)_{\max} \times \frac{I_{\text{sense}}}{t \times M_{\text{sat}}} \times \frac{l}{w} \times R_{\text{sheet}}$$

電子雜訊假設係因為熱雜訊所致，r.m.s.熱雜訊電壓如下：

$$V_N = \sqrt{4kTR\Delta f} \cong \sqrt{4kT \frac{l}{w} R_{\text{sheet}} \frac{1}{t_{\text{meas}}}},$$

其中有效量測時間 t_{meas} 等於量測信號期間之時間，假設在量測之前磁化假設為零(因為粒子為超順磁性)，此定義一參考位準，信號對雜訊比等於 $\text{SNR} = V_s / V_N$ 。

為了系統之正確功能，第一模式(在施加磁場期間量測磁化)較佳為所有粒子之超順磁性釋放時間遠小於施加磁場期間之時間及實施量測之時間，至少為一因數 5 或更小，較佳為一因數 10 或更小。粒子之磁化幾乎在磁場導通及切斷之瞬間同時導通及切斷，在此例子中，量測後之粒子之間之磁性雙極交互作用可以不計，且結合反應可以進行而不受量測之間之此交互作用干擾，此要求奈米粒子內之磁性粒子應該具有體積 V 與磁性異方性常數 K 之乘積且其相當小。在此第一操作模式中，未結合於晶片 1 之粒子 15 不應該在

一量測期間出現於晶片介面，此可藉由在各量測前之一清洗步驟達成，或者在施加一磁場及一磁場梯度平行於法向後將未結合之粒子暫時移離晶片1。生成之力應該足以在晶片表面上方移動數微米(在表面處其雙極磁場小，且相關於GMR元件17、19之其位置充分無定向性，因此原因而亦可以不計淨信號)。另方面，該力應該小於破壞結合所需之力。

在第二(及第三)操作模式中(即磁場切斷後之磁化量測)，一磁場先在一週期 t_f 期間施加，且在磁場切斷後，衰退信號之 p 量測係在一週期 $p \times t_{meas} \approx t_f$ 期間實施，理想上，在磁場切斷後，所有超順磁性奈米粒子15應該完全磁化，但是在實施 p 量測之順序後，所有粒子15應該已喪失其磁化，否則粒子15會在量測週期期間之間之反應週期期間磁性交互作用，意即僅有粒子15可以用於釋放時間小於 t_f 時。藉由在連續量測循環內施加交替符號之磁場，即可防止具有一釋放時間大於 t_f 之少量不必要部分之結合粒子15建立一總磁性力矩，其單調地隨著完成之量測循環數而增加，及在施加磁場週期期間之間不致於衰退至零。另方面，釋放時間應該大於 t_{meas} ，否則甚至是磁場切斷後之第一次量測亦不產生一信號。

在實施上，前文指出釋放時間應該在1 ms與1 s之間(如後所述)，此相較於第一操作模式而及一更難之要求。在此範圍以外之粒子並無助於信號，故理想上應該不出現，因此粒子直徑應呈一極良好之近似單調性分布。用於產生

(27)

發明說明續頁

此粒子之一方法係屬習知，且揭述於 S. Sun et al., “Monodisperse FePt Nanoparticles and Ferromagnetic Nanocrystal Superlattices”, Science 287,1989-1992(2000)。

SNR係依下表所規定而計算於一系統，系統參數為舉例說明，用於市面可得之35 nm磁性粒子，例如磁鐵礦(Fe_3O_4)粒子。

M	$1 \times 10^{-17} \text{ Am}^2$	一球形35 nm磁鐵礦粒子之磁力矩(使用室溫磁化之文獻值， $M=480 \text{ kA/m}$)
W	$3 \times 10^{-6} \text{ m}$	探針元件7之寬度
L	$1 \times 10^{-3} \text{ m}$	探針元件7及GMR元件17、19之長度
W	$2 \times 10^{-6} \text{ m}$	GMR元件17、19之寬度
D	$0.5 \times 10^{-6} \text{ m}$	此容許一厚導電層於GMR元件17、19與基板表面之間，以利於冷卻
I_{sense}	1 mA	感測電流，若使用一適當之散熱層則此值不致過大
$(\Delta R/R)_{\text{max}}$	0.06	當使用全動態範圍時之旋轉閥之磁阻比
R_{sheet}	20Ω	旋轉閥之薄片電阻
T	3 nm	旋轉閥之活動磁性層之層厚度
M_{sat}	800 kA/m	旋轉閥之活動磁性層之飽和磁化
T	300K	室溫

所示之力矩 m 為飽和力矩，其已在施加磁場高於1.2 kA/m時取得，各MR元件上之電壓為10V，一量測期間每探針之功率為20 mW，數值結果如下：

(28)

$$\begin{aligned}
 V_S &= 8.8 \times 10^{-16} \times n \quad [V] \\
 V_N &= 1.3 \times 10^{-8} \times \sqrt{\frac{1}{t_{meas}}} [V] \\
 SNR &= 6.8 \times 10^{-8} \times n \times \sqrt{t_{meas}}
 \end{aligned}$$

若假設偵測奈米粒子15所需之最小SNR為10(20dB)，則奈米粒子之最小可偵測表面密度 n_{min} 為

$$n_{min} \cong \frac{1.5 \times 10^8}{\sqrt{t_{meas}}} \quad [\text{粒子} / \text{m}^2]$$

在一 10^{-8} m^2 ($100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$)探針面積上之最少可偵測粒子數為

$$\frac{1.5}{\sqrt{t_{meas}}}$$

若每探針面積之絕對粒子數過少則上述理論即崩潰，底限可為50，此意指增加量測時間 t_{meas} 將導致奈米粒子之最小可偵測數減少，直到 t_{meas} 為1ms。幸運的是，此量測時間遠低於量測之目標重覆時間以下(3分鐘量測100次)，使用較大之量測時間並無助益，因此對於所用之參數，其結論為當 $t_{meas} > 1\text{ms}$ 時，在一探針面積上可以準確量測之最少可偵測粒子數50係由統計決定，而非由GMR感測器之靈敏度。

粒子之最大可量測表面密度等於以下二密度之最低者：

在此密度以上則粒子之間之磁性雙極交互作用、或位阻變得太強，對於35 nm粒子而言，此為100粒子/ μm^2 之密度。

來自粒子之磁場上之密度使GMR感測器飽和，若 $H_{x,av} > 1/2 \Delta H_{sat}$ ，則發生連續統計近似值，即在一大約960粒子/ μm^2 之密度。

此二密度皆非取決於量測時間 t_{meas} ，舉例而言，粒子之間之交互作用而非GMR飽和磁場，其通常決定粒子之最大可量測數。

對於第一操作模式而言時間平均功率散失為2 mW，其假設有100枚探針且每探針為1:1000之工作週期(每秒量測一次，週期為1ms)。相似地，對於第二操作模式而言，功率散失為 $p \times 2\text{mW}$ ， p 為每週期之1 ms量測間隔數。

對於第二操作模式而言，1/f雜訊變得很重要，特別是若信號衰退之週期係以長到1s時間量測。

上述結果可以概論如下，可以偵測之粒子表面密度不應低於密度 n_{stat} ，即相當於每探針約50粒子之統計決定值，在上述理論以下者即崩潰。對於具有一面積等於 $10^4 \mu\text{m}^2$ 之探針而言， $n_{\text{stat}} = 0.005/\mu\text{m}^2$ 。若粒子間之交互作用或位阻太大，則可以量測之粒子表面密度必然低於該密度 n_{stat} 。假設 $n_{\text{int}} \approx 1.25 \times 10^5/d^2$ ， d 為nm單位之粒子直徑。因此，無關於所使用GMR元件之靈敏度、量測時間及粒子之磁力矩，動態範圍之最高可行寬度為：

$$\text{最大動態範圍} \approx 2 \times 10^7/d^2$$

由此觀點來看，使用小粒子較為有利，因為其隨著動態範圍之寬度而增加。惟，密度之實際下限並非得自 n_{stat} ，而是一值 $n_{\text{sens}} = n_{\text{min}}$ ，其取決於GMR感測器之靈敏度，此在

(30)

如果 $n_{-}(\text{sens}) > n_{-}(\text{stat})$ 時成立。 $n_{-}(\text{sens})$ 之值係反比於粒子體積且反比於量測時間之平方根。此外，密度之實際上限並非得自 $n_{+}(\text{int})$ ，而是 GMR 元件飽和時之 $n_{+}(\text{satur})$ ，如果 $n_{+}(\text{satur}) < n_{+}(\text{int})$ 。針對此假設條件， $n_{+}(\text{satur}) = 4.11 \times 10^7 / d^3$ 。

圖 10 係一圖表，揭示表面密度做為粒子直徑之函數 (nm 單位)。從圖中可知，動態範圍可演繹於系統，做為磁性粒子直徑之函數，參數值如上表所示，及量測時間為 1 ms。動態範圍之上限若針對較高粒子直徑時即用 $n_{+}(\text{satur})$ ，此因磁阻性元件飽和所致，而對較低粒子直徑時即用 $n_{+}(\text{int})$ ，此因粒子間之交互作用或位阻所致。動態範圍之下限若針對較高粒子直徑時即用 $n_{-}(\text{stat})$ ，此因探針面積上之粒子統計 (隨機) 位置所致，而對較低粒子直徑時即用 $n_{-}(\text{sens})$ ，此因磁阻性元件之靈敏度所致。整體靈敏度上限為線 30，且整體靈敏度下限為線 31，針對 35 nm 粒子之動態範圍為雙箭頭 32。從圖 10 中可知，假設量測時間為 1 ms，則以 35 nm 粒子半徑最佳。MR 元件飽和磁場減少或粒子磁化增加會造成 $n_{-}(\text{sens})$ 及 $n_{+}(\text{satur})$ 線平行向下移動，分開或組合時，系統之此二項改良可將理想直徑移動至大約 10 nm，造成 2×10^5 之動態範圍。

請注意為了簡明已假設磁化之磁場可以完全磁化粒子。針對一最大磁化之磁場 115 kA/m，當粒子半徑在大約 10 nm 以下時此項假設即告崩潰， $n_{-}(\text{sens})$ 線之實際值應較高於圖 10 中所示者。

儘管本發明已參考於較佳實施例而揭示及說明，習於此

(31)

發明說明續頁

技者可以瞭解的是在不脫離本發明之精神及範疇下，其形式及細部仍可有多種變換型式及變化。

圖式簡單說明

圖1係先前技術之一BARC晶片簡示圖。

圖2係先前技術之一多層GMR感測器裝置對於一施加磁場之反應(電阻)之圖表。

圖3係一生物晶片之立體圖。

圖4A、4B、4C揭示一探針元件備有結合位置以選擇性結合目標樣品之詳細說明，且磁性奈米粒子直接或間接地以不同方式結合於目標樣品。

圖4D揭示一競爭性檢定之簡示圖。

圖5A係圖3中之A-A'所示之圖3生物晶片上之一探針面積實施例之截面圖。

圖5B係圖3中之A-A'所示之圖3生物晶片上之一探針面積另一實施例之截面圖。

圖5C係本發明之一多層GMR感測器裝置對於一施加磁場之反應(電阻)之圖表。黑點簡示各磁阻式感測器元件之支點R(H)值。

圖6說明一結構，其中備有一鐵磁芯之二線圈係用於磁化磁性奈米粒子。

圖7係一惠斯頓電橋之簡示圖。

圖8係本發明之一惠斯頓電橋結構之簡示圖，其中所有組件皆磁性相等。

圖9A、9B揭示用於實施本發明之適當GMR結構之分別第

一及第二實例。

圖10係一圖表，揭示可偵測表面密度之上及下限，其做為磁性奈米粒子直徑之函數。

圖11係一圖表，說明在GMR感測器元件平面中之磁性奈米粒子之磁場之x分量。

圖12簡示在複數磁性感測器元件上方之一多級結構。

在不同圖式中，相同之參考數字係指相同或相似元件。

圖式代表符號說明

1	生物晶片
3	基板
5	探針面積
7,7a,7b	探針元件
8	區域
9	結合位置
11	目標樣品
12	標籤
13	感測器分子
15	磁性奈米粒子
17,19,17',19'	GMR感測器元件
30	線圈
32	鐵磁芯
40	分離層
50	凹入區域
60,69	GMR結構

(33)

發明說明續頁

61	熱氧化矽基板
62	主表面
63	緩衝層
64	抗鐵磁(AF)
65	固定鐵磁(F_{pinned})
66	非磁性材料(NM)
67	活動鐵磁(F_{free})
68	覆蓋層
70	人造抗鐵磁(AAF)
63a	鈹層
63b	$\text{Ni}_{80}\text{Fe}_{20}$ 層
70a	$\text{Ir}_{20}\text{Mn}_{80}$ 層
70b,d	鈷層
70c	鈳層
100	偵測器
101	磁阻式感測器
102	Si_3N_4 鈍化層
103	金層
104	探針DNA
105	樣品DNA
106	粒子

肆、中文發明摘要

本發明關於一種用於在一生物晶片上磁性偵測生物分子結合之方法及裝置。

本發明揭露一種磁阻式感測器裝置，用於量測微陣列上磁性奈米粒子之表面密度，磁性奈米粒子(15)係直接或間接地結合於目標樣品(11)。磁阻式感測器裝置包含一基板(3)，其具有接附於此之結合位置(9)以選擇性結合一目標物(11)，及一磁阻式感測器，用於偵測結合於目標樣品之奈米粒子(15)之磁場。磁阻式感測器包含複數磁阻式感測元件(17, 19)，其寬度及長度係大於奈米粒子(15)之直徑至少一因數10或更大，較佳為一因數100或更大。本發明亦揭露一對應之方法。

伍、英文發明摘要

The present invention relates to a method and a device for magnetic detection of binding of biological molecules on a biochip.

A magnetoresistive sensor device for measuring an areal density of magnetic nanoparticles on a micro-array, the magnetic nanoparticles (15) being directly or indirectly coupled to the target sample (11), is described. The magnetoresistive sensor device comprises a substrate (3) having attached thereto binding sites (9) able to selectively bind target sample (11), and a magnetoresistive sensor for detecting the magnetic field of the nanoparticles (15) coupled to the target sample. The magnetoresistive sensor comprises a plurality of magnetoresistive sensing elements (17, 19), the width and length dimensions of which are at least a factor 10 or more, preferably a factor 100 or more larger than the diameter of the nanoparticles (15).

A corresponding method is described as well.

拾、申請專利範圍

1. 一種磁阻式感測器裝置，用於決定直接或間接地結合於一目標物之磁性奈米粒子之存在或一表面密度，磁阻式感測器裝置包含

位於一基板上之至少一探針元件，且具有一接附於其上之結合位置以選擇性結合一目標物，及

一磁阻式感測器，用於至少當磁性奈米粒子結合於目標物時可偵測其磁場，

其中磁阻式感測器包含複數對第一及第二磁阻式感測元件或第一及第二群磁阻式感測元件，各對係相關聯於且平行於一具有至少一結合位置之探針元件，第一及第二磁阻式感測元件或第一及第二群磁阻式感測元件之輸出係饋送至一比較器電路。

2. 如申請專利範圍第1項之磁阻式感測器裝置，進一步包含產生組件，用於產生一垂直於磁阻式感測元件之磁場。
3. 如申請專利範圍第1項之磁阻式感測器裝置，其中該基板定義一探針面積，至少一探針元件位於其中，及在一實質上呈垂直方向之投影中可見一重疊面積於該等磁阻式感測元件之間。
4. 如申請專利範圍第1項之磁阻式感測器裝置，進一步包含產生組件，用於產生一平行於磁阻式感測元件之磁場。
5. 如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置，

其中磁阻式感測元件之寬度及長度係大於奈米粒子之平均直徑至少一因數10或更大，較佳為一因數100或更大。

6. 如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置，其中該裝置係一微陣列。
7. 如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置，其中該第一及第二磁阻式感測元件係巨型磁阻式(GMR)元件。
8. 如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置，其中該第一及第二磁阻式感測元件係隧道型磁阻式(TMR)元件。
9. 如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置，其中該第一及第二磁阻式感測元件係異方性磁阻式(AMR)元件。
10. 如申請專利範圍第1或2項之磁阻式感測器裝置，其中一對磁阻式感測元件形成一惠斯頓電橋或一半惠斯頓電橋。
11. 如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置，其中一對第一及第二磁阻式感測元件或複數群第一及第二群磁阻式感測元件之各磁阻式感測元件係在相同方向中偏壓。
12. 如申請專利範圍第1項之磁阻式感測器裝置，其中各磁阻式感測元件包含一磁阻式材料之長條，磁阻式材料具有一線性電阻對磁場曲線且實質上無磁滯。

13. 如申請專利範圍第1項之磁阻式感測器裝置，其中比較器電路係積合於另一設於基板內之電子電路。
14. 如申請專利範圍第12項之磁阻式感測器裝置，其中磁阻式感測元件之寬度為探針元件之寬度之至少50%，較佳為至少60%，最佳為至少70%。
15. 如申請專利範圍第12項之磁阻式感測器裝置，其中磁阻式感測元件至探針元件之距離係小於磁阻式感測元件之寬度。
16. 如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置，其中磁性奈米粒子係超順磁性。
17. 如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置，其中感測器裝置具有一結構表面。
18. 如申請專利範圍第17項之磁阻式感測器裝置，其中該結構表面具有一階級構型。
19. 如申請專利範圍第17項之磁阻式感測器裝置，其中該結構表面具有一階梯形構型。
20. 如申請專利範圍第17項之磁阻式感測器裝置，其中該結構表面係一化學性結構表面。
21. 如申請專利範圍第20項之磁阻式感測器裝置，其中該化學性結構表面係藉由僅具有結合位置於一部分表面上而取得。
22. 一種用於在一基板上決定磁性奈米粒子之存在或量測其表面密度之方法，其包含以下步驟：

結合一目標物至位於該基板上的至少一探針元件上

之選擇性結合位置，該目標物係直接或間接地以磁性奈米粒子標示，

感測結合之磁性奈米粒子存在於一結合位置，藉此決定以磁性奈米粒子標示之目標物之存在或密度，

其中感測步驟係利用複數對第一及第二磁阻式感測器元件或第一及第二群磁阻式感測元件，其中每一對都相互關聯且位於與至少一探針元件平行處，以抽出自結合於結合位置之奈米粒子所產生磁場衍生之二信號而實施；及

決定二信號之間之差異。

23. 如申請專利範圍第22項之方法，其中一磁場係施加垂直於磁阻式感測元件。
24. 如申請專利範圍第22項之方法，其中一磁場係施加平行於磁阻式感測元件。
25. 如申請專利範圍第22、23或24項之方法，其中感測步驟係利用一磁阻式感測器而實施，其包含複數巨型磁阻式(GMR)感測元件。
26. 如申請專利範圍第22、23或24項之方法，其中感測步驟係利用一磁阻式感測器而實施，其包含複數隧道型磁阻式(TMR)感測元件。
27. 如申請專利範圍第22、23或24項之方法，其中感測步驟係利用一磁阻式感測器而實施，其包含複數異方性磁阻式(AMR)感測元件。
28. 如申請專利範圍第22項之方法，其中感測步驟係利用一

惠斯頓電橋或一半惠斯頓電橋而實施。

29. 如申請專利範圍第22、23或24項之方法，其中結合及感測步驟係在一微陣列上之複數探針元件處實施。
30. 如申請專利範圍第22、23或24項之方法，其中磁性奈米粒子係超順磁性。
31. 一種在一流體內量測一目標物之方法，其包含以下步驟：

結合一目標物至位於基板上的至少一探針元件上之選擇性結合位置，目標物係直接或間接地以磁性奈米粒子標示，

感測結合之磁性奈米粒子存在於該結合位置，藉此決定以磁性奈米粒子標示之目標物之存在或密度，

其中感測步驟係利用複數對第一及第二磁阻式感測器元件或第一及第二群磁阻式感測元件，其中每一對都相互關聯且位於與至少一探針元件平行處，以抽出自結合於一結合位置之奈米粒子所產生磁場衍生之二信號而實施；及

決定二信號之間之差異。

32. 如申請專利範圍第31項之方法，其中流體係血液。
33. 如申請專利範圍第31項之方法，其中流體係尿液。
34. 一種如申請專利範圍第1、2、3或4項之磁阻式感測器裝置之使用。
35. 一種用於在一流體內偵測一選定類型分子之方法，藉此使一含有磁性奈米粒子之劑物導送入流體內，該劑物則

化學反應於該選定類型分子，以形成一目標物；及藉此使目標物利用申請專利範圍第31、32或33項之方法偵測。

陸、(一)、本案指定代表圖為：第 5A 圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

3	基板
5	探針面積
7	探針元件
8	區域
15	磁性奈米粒子
17,19	GMR 感測器元件

柒、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：