



F 1000094805B



SUOMI-FINLAND
(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(B) (11) **KUULUTUSJULKAISU**
UTLAGGNINGSSKRIFT
3 (45) **Patentti myönnetty**
Patent meddelat 25 10 1985

94805

(51) Kv.1k.6 - Int.cl.6

G 01N 21/75

(21) Patenttihakemus - Patentansökning	883868
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	19.08.88
(24) Alkupäivä - Löpdag	19.08.88
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	23.02.89
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	14.07.95
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	

22.08.87 GB 8719885 P

04.09.87 GB 8720854 P

(71) Hakija - Sökande

1. **Amersham International plc**, Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire HP7 9NA,
United Kingdom, (GB)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. **Finlan, Martin Francis**, 7, Ballard Close, Aylesbury, Buckinghamshire, United Kingdom, (GB)
2. **Midgley, John Edward Maurice**, Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire,
United Kingdom, (GB)
3. **Charles, Stephen Alexander**, Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire,
United Kingdom, (GB)
4. **Irlam, James Christopher**, 3, Norman Court, Kingston Road, Staines, Middlesex,
United Kingdom, (GB)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Anturi biologista, biokemiallista ja kemiallista koestusta varten
Sensor för biologisk, biokemisk och kemisk testning

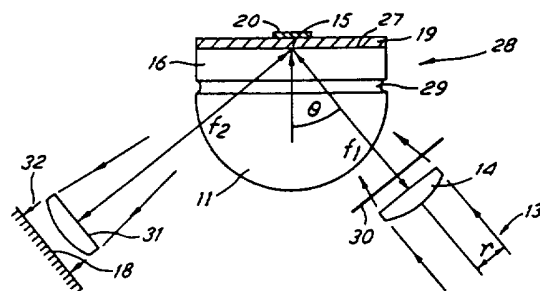
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

DE A 2222642 (G 01N 21/46), GB A 2173895 (G 01N 21/75), GB A 2185308 (G 01N 21/59),
US A 3650631 (G 01N 21/46)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Esillä olevan keksinnön kohteena on anturi, jonka yhteydessä käytetään pintaplasmaresonanssin (SPR) periaatetta näytteen (ei näy) ja säteilyherkän kerroksen 20 (esimerkiksi vasta-ainekerroksen) välisen reaktion tarkkailua varten. Kerros 20 asetetaan puolilieriömäisen linssin 11 ja dian 16 muodossa olevan optisen siirtokomponentin 28 pinnalle kiinnitetyn metallikalvon 19 takapintaan. Lähteestä (ei näy) tuleva yhdensuuntaistettu valo kohdistetaan linssin 2 välityksellä, joka fokusoi tulevan säteen kohdassa 3 olevaan polttopisteeseen, kohtaan 3 tulevan viuhkan muotoisen valon muodostamiseksi. Valo heijastuu sisäisesti kohdassa 3 ja tulee ulos komponentista 28 suuntausta varten ilmaisinsarjaan 18, jota keillataan elektronisesti. Valon tulokulma kohtaan 3 on sellainen,

että se kattaa kulman, joka aiheuttaa pintaplasmaresonanssin, yhdessä muun kulma-alueen kanssa, jolloin resonanssitilan edistymistä, näytteen ja säteilyherkän kerroksen välisen reaktion jatkuessa, voidaan tarkkailla.



Förhandenvarande uppfinning avser en givare, som använder principen för yt-plasmaresonans (SPR) för observation av reaktionen mellan ett prov (ej visat) och ett strålningskänsligt skikt (20), (t.ex. ett antikroppsskikt). Skiktet (20) placeras på baksidan av en metallisk film (19) bildad på ytan av en optiskt transmissiv komponent (28) i form av en halvcylindrisk lins (11) och en dia (16). Parallelliserat ljus från en källa (ej visad) tillförs via en lins (2), som fokuserar den inkommande strålen (1) i en brännpunkt vid punkt (3) och bildar ett solfjäderformigt ljus i punkt (3). Ljuset reflekteras internt i punkt (3) och går ut från komponenten (28) för att appliceras på en detektorserie (18), vilken avsöks elektroniskt. Ljuset infallsvinkel i punkt (3) är sådan, att den täcker den vinkel, som ger upphov till ytplasmaresonans, tillsammans med ett annat vinkelområde, varvid fesonanstillståndets förlopp kan observeras, medan reaktionen mellan provet och det strålningskänsliga fortlöper.

Anturi biologista, biokemiallista ja kemiallista koestusta varten

5 Esillä olevan keksinnön kohteena on anturi käyttöä varten biologisessa, biokemiallisessa ja kemiallisessa koestuksessa, sanotun anturin käsittäessä sähkömagneettista säteilyä päästävästä materiaalista tehdyn kappaleen, ainakin osalle sanotun kappaleen ensimmäistä pintaa kiinnitetyn metallimateriaalikerroksen, metallimateriaalikerrokseen asetetun säteilyherkstä materiaalista tehdyn kerroksen, välineet analysoitavan näytteen syöttämiseksi säteilyherkkään kerrokseen reagoimaan tämän kerroksen kanssa, elektromagneettisen säteilyn lähteen, joka säteily on suunnattu mainitun säteilyä päästävän kappaleen sisällesiten, että säteily heijastuu sisäisesti poispäin mainitun pinnan mainitusta osasta, ja ilmaisinvälineet asetettuna vastaanottamaan sisäisesti heijastuneen säteen.

20 Kun vasta-aineet asetetaan liikkumattomasti jollekin pinnalle, muuttuvat tämän pinnan ominaisuudet, kun vastaavaa antigeeniä sisältävä liuos asetetaan kosketukseen pinnan kanssa antaen siten antigeenin sitoutua vasta-aineen kanssa. Erityisesti pinnan optisten ominaisuuksien muutosta voidaan valvoa sopivien laitteiden avulla.

25 Pintaplasmaresonanssin (SPR) muodostamaa ilmiötä voidaan käyttää ilmaisemaan vähäiset muutokset pinnanheijastusindeksissä antigeenin ja vasta-aineen välisen reaktion jatkuessa. Pintaplasmaresonanssi merkitsee metallin rajapinnassa olevien vapaiden elektrodien muodostaman plasman värähtelyliikettä. Näihin värähtelyihin vaikuttaa 30 metallipinnan vieressä olevan materiaalin heijastusindeksi ja tämä muodostaa anturimekanismin perustan. Pintaplasmaresonanssi voidaan saada aikaan käyttämällä nopeasti vaimenevaa aaltoa, joka syntyy, kun polarisoitu valonsäde heijastetaan kokonaisuudessaan dielektrisyysvakioltaan 35 korkean väliaineen, esimerkiksi lasin, rajapinnasta. Tätä

tekniikkaa kuvaava artikkeli on julkaistu otsikolla "Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing", kirjoittajina Lieberg, Nylander ja Lundstrom, julkaisussa Sensors and Actuators, osa 4, sivu 299. Oheisten piirustusten kuviossa 1 on esitetty kaavio tässä artikkelissa selostetusta laitteistosta. Valonsäde 1 kohdistetaan laserlähteestä (ei näy) lasikappaleen 3 sisäpinnalle 2. Ilmaisista (ei näy) valvoo sisäisesti heijastettua sädettä 4. Lasikappaleen 3 ulkopinnalle 2 on kiinnitetty ohut metallikalvo 5, tehtynä esimerkiksi kullasta tai hopeasta, ja kalvoon 5 on asetettu ohut lisäkalvo 6, joka on tehty vasta-aineita sisältävästä orgaanisesta materiaalista. Antigeeniä sisältävä näyte 7 asetetaan kosketukseen vasta-ainekalvon 6 kanssa aiheuttaen siten reaktion antigeenin ja vasta-aineen kanssa. Jos sidonta tapahtuu, muuttuu kerroksen 6 heijastusindeksi vasta-ainemolekyylien koon johdosta ja tämä muutos voidaan ilmaista ja mitata käyttäen seuraavassa selostettavaa pintaplasmaresonanssitekniikkaa.

Pintaplasmaresonanssi voidaan havaita kokeellisesti kuvion 1 mukaisen järjestelyn yhteydessä vaihtelemalla tulevan säteen 1 kulmaa ja tarkkailemalla sisäisesti heijastuneen säteen 4 voimakkuutta. Tietyissä tulokulmassa valoimpulssin rinnakkaiskomponentti on yhdenmukainen pintaplasmojen dispersion kanssa metallikalvon 8 vastakkaisella pinnalla 8. Edellyttäen, että metallikalvon 5 paksuus on valittu oikein, tapahtuu sähkömagneettinen kytkentä pinnassa 2 olevan lasin ja metallin rajapinnan ja pinnassa 8 olevan metallin ja vasta-aineen rajapinnan välillä pintaplasmaresonanssin ansiosta, ja siten heijastettu säde 4 vaimenee kyseisen tulokulman yhteydessä. Siten säteen 1 tulokulmaa vaihdeltaessa pintaplasmaresonanssi havaitaan jyrkkänä putouksena sisäisesti heijastetun säteen 4 voimakkuudessa tietyn tulokulman yhteydessä. Tulokulmaan, jossa resonanssi tapahtuu, vaikuttaa metallikalvoa 5 vasten olevan materiaalin - so. vasta-ainekerroksen 6 - hei-

jastusindeksi, ja resonanssia vastaava tulokulma on siten suorana mittana vasta-aineiden ja niiden antigeenien reaktiotilalle. Lisäherkkyttä voidaan saavuttaa valitsemalla tulokulma puoleen väliin heijastusputouskäyrää, jossa
5 herkkyys on pääasiassa suoraviivainen vasta-aineen ja antigeenin reaktion alussa, ja säilyttämällä sitten tämä tulokulma pysyvänä ja havaitsemalla ajan kuluessa tapahtuvat muutokset heijastuneen säteen 4 voimakkuudessa.

Tyypiltään kuviossa 1 selostetun kaltaisissa tunnetuissa järjestelmissä käytetään prismaa lasikappaleena 3.
10 Tämän järjestelyn esittävä kaavio on näytetty kuviossa 2, ja kyseessä on yksinkertaisesti kokeellinen järjestely, joka on tarkoitettu osoittamaan pintaplasmaplastuksen olemassaolo. Prismaa on merkitty numerolla 8 ja sen alapintaan on asetettu ohut metallikalvo 5. Laserlähteestä (ei
15 näy) lähtevä valo 1 tulee prismaan, jossa se heijastuu kohdassa 9 ennen tunkeutumistaan prisman sisälle. Sisäisesti heijastunut säde 4 heijastuu (kohdassa 10) lähtiesään prismasta.

20 Eräänä ongelmana tunnetuissa SPR-järjestelmissä on toiminnan hitaus vasta-ainekerroksen heijastusindeksin muutoksiin verrattuna. Toisena ongelmana, joka liittyy erityisesti kuvion 2 esittämän prisman käyttöön, on se, että tulokulman muuttuessa joko valonlähteen siirtämisen
25 tai prisman kiertämisen tai näiden molempien johdosta, se piste pinnalla 2 siirtyy, johon säde tulee. Metallikalvossa 5 ja vasta-aineen päällyksessä 6 tapahtuvien väistämättömien muutosten johdosta resonanssin seurauksena oleva tulokulma muuttuu tämän siirtymän johdosta, mikä puolestaan aiheuttaa ylimääräisen muutostekijän mittaukseen tehden siten vasta-ainekerroksen 6 alkuperäisen sitoutumattoman tilan ja sitoutuneen tilan väliset vertailut epätar-
30 kemmiksi.

Esillä olevan keksinnön tarkoituksena on aikaisemmin esiintyneiden epäkohtien poistaminen. Tähän päämää-
35

rään päästään keksinnön mukaiselle anturilla, jolle on tunnusomaista, että anturissa on välineet mainitun säteilyn fokusoimiseksi mainitun ensimmäisen pinnan osalle siten, että tuleva säde on konvergoiva viuhkasäde, joka kat-
5 taa tulokulma-alueen, joka sisältää pintaplasmaresonanssin aiheuttavan tulokulman, ja että mainittu tuleva säde antaa kohtaamispisteen tai -viivan mainitulle ensimmäiselle pinnalle, jonka resonanssiominaisuudet riippuvat näytteen ja herkän kerroksen välisestä reaktiosta, ja jossa mainitut
10 ilmaisinvälineet on asetettu vastaanottamaan divergoivan viuhkasäteen kattaman kulma-alueen, joka on mainitun tulevan säteen sisäisen heijastuksen tulos, joka vastaanotettu kulma-alue on riittävä mainittujen pintaplasmaresonanssin ominaisuuksien ilmaisun mahdollistamiseksi.

15 Esillä olevan keksinnön mukaisesti reagointiherkyyttä on parannettu huolehtimalla siitä, että lasin ja metallin rajapinnasta sisäisesti heijastunut tuleva säde on viuhkamaisesti hajaantuneen sähkömagneettisen säteilyn muodossa, tavallisesti näkyvällä tai miltei näkyvällä valoalueella. Tällä tavoin resonanssitilan edistymistä näytteen ja vasta-ainekerroksen välisen reaktion jatkuessa
20 voidaan tarkkailla. Eräässä esimerkissä tämä voidaan saada aikaan ottamalla "kiinteä" syöttösäde sähkömagneettisesta säteilylähteestä ja saattamalla tämä säde fokusoitumaan tulopisteeseensä lasin ja metallin rajapinnalla. Syöttösäde vastaa siten useita lasin ja metallin rajapintaan eri kulmissa tulevia säteitä. Laitteisto voidaan valita siten, että tämä kulmavaihtelualue on pintaplasmaresonanssia vastaavan putouskulma-alueen mukainen. Vastaava sisäisesti
25 heijastunut säde hajotetaan samalla tavoin tehokkaasti useiksi säteiksi, joita voidaan tarkkailla havaintoalueeltaan laajalla ilmaisimella tai kulmittain asetetulla ilmaisinsarjalla, jonka havaintoalue kattaa koko esiin tulevan säteen. Siten ilmaisimet kykenevät koodittamaan tiedot
30 koko putousalueelta millisekuntien aikana. Tällä tavoin
35

resonanssitilan edistymistä, reaktion näytteen ja vasta-
aineerokkeen välillä jatkuessa, voidaan tarkkailla.

Viuhkan muotoisen säteen käyttö lisää ongelmia
prisman yhteydessä (ks. edellä) ja näiden välttämiseksi
5 on huolehdittu siitä, että sen läpinäkyvän, tavallisesti
lasista valmistetun kappaleen pinta, johon valo tulee, on
kaareva ja sopivimmin ympyrän muotoinen ja asetettu sähkö-
magneettisen säteilyn muodostaman syöttösäteen suhteen si-
ten, että säde tulee kohtisuorasti pinnan tangentin suh-
teen tulokohdassaan. Tällöin se pinta, josta sisäisesti
10 heijastunut säde tulee ulos, on sopivimmin ympyrän muotoi-
nen.

Keksinnön ensimmäisessä sovellutusmuodossa läpinä-
kyvänä kappaleena on lasinen puolipallo, jonka tasainen
15 pinta on päällystetty ohuella metallikalvolla ja valonher-
källä päälliskerroksella edellä kuvatulla tavalla. Syötet-
tävän sähkömagneettisen säteilyn lähde, esimerkiksi valon-
lähde, on asetettu siten, että syöttösäde tulee puolipal-
lon muotoiseen kappaleeseen kohtisuorasti tulopisteen tan-
gentin suhteen, ja siten säde kulkee läpi heijastumatta
20 tullen ympyrän muotoisen tasaisen pinnan keskipisteeseen.
Tulokohta tasaiseen pintaan on siten sama viuhkamaisen sä-
teen kaikkia osia varten.

Muutakin kuin puolipallon muotoa voidaan käyttää,
25 esimerkiksi puolilieriötä, jolloin säde tulee linjan kaut-
ta pisteen sijasta, tai katkaistua puolipalloa tai puoli-
lieriötä, jonka kärki on leikattu pois, jolloin siis muo-
dostuu kappale, jossa on kaksi tasaista, todennäköisesti
yhdensuuntaista pintaa, ympyrän muotoisten sivujen liit-
30 tyessä näihin pintoihin.

Viuhkamainen säde voidaan pakottaa pääasiassa taso-
maiseen muotoon heijastamalla se kulkemaan raon kautta,
joka on asetettu tulopisteen kautta kulkevaan tasoon ja
sijoitettu pystysuorasti lasin ja metallin rajapinnan ta-
soon. Vaihtoehtoisesti voi käsite "viuhkamainen" tarkoit-
35

taa syöttösäteen jonkin osan muotoa ja itse säde voi ulottua toisille tasoille, jolloin se voi olla esimerkiksi kiilamainen tai kartion muotoinen.

5 Vaikka metallikalvolle kiinnitetyn kerroksen on tässä yhteydessä selostettu olevan immuunianalyysijä varten tarkoitettu vasta-ainekerros, niin on selvää, että mitä tahansa valonherkkää kerrosta, jonka heijastusindeksi muuttuu tapahtumien mukaisesti, voidaan käyttää valonherkän ilmaisimen muodostamiseksi tällä tavoin, jolloin tällä
10 ilmaisimella on laajat käyttömahdollisuudet biologian, biokemian ja kemian alalla. Valonherkkänä kerroksena voi esimerkiksi toimia DNA- tai RNA-koetin, joka sitoutuu koestuksen aikana täydentävästi koestettavan näytteen edustamaan liuokseen.

15 Metallisena kalvomateriaalina on yleensä hopea tai kulta, joka kiinnitetään tavallisesti paikoilleen höyrytyksen avulla. Kalvon on oltava mahdollisimman yhtenäinen huolehtiakseen pienistä liikkeistä tulevan säteen tulokohdassa. Oletetaan, että rakenteeltaan metallinen kalvo antaa parhaan resonanssin, ja on olemassa useita eri tapoja,
20 joiden avulla lasikappale voidaan esikäsitellä metallikalvon suorituskyvyn parantamiseksi ja erityisesti tällaisen kalvon luontaisen taipumuksen estämiseksi muodostaa jaksoittaisia saarekkeitä. Tällaisia esikäsittelytapoja ovat:

25 1. Upotus sulametallinitraatteihin tai muihin sulasuoloihin. Tällä tavoin pintaan tulee ioneja, jotka voidaan keskittää siten, että ne estävät saarekkeiden muodostumisen.

30 2. Kylmän tai kuumen lasin ionipommitus ydinkohdien muodostamiseksi. Useampien liikkuvien ionien poistamisen on osoitettu vähentävän sitä paksuutta, jossa höyrytetystä kalvosta tulee jatkuva.

35 3. Ilman sähköä tai sen avulla tapahtuva galvanointi kevyesti höyrytettyjen kalvojen päälle (paksuus 0 - 100 Ångströmiä). Ilman sähköä galvanoidut kalvot voivat

olla höyrytettyjä kalvoja paksumpia ja muodostaa vakaamat ydinkohdat sitä seuraavaa päällystämistä varten.

4. Höyrystäminen ilman sähköä galvanoiduille kalvoille. Ilman sähköä galvanoiduilla kalvoilla on suurempi
5 taipumus muodostaa saarekkeitä, saarekkeiden ollessa isompia ja pitempien etäisyyksien päässä toisistaan kuin höyrytettyjen kalvojen yhteydessä. Tämä voi olla edullista käytettäessä aallonpituudeltaan ennalta määrättyä valoa.

Päällystystehoa voidaan parantaa myös:

10 1. Valvomalla lasin pintalämpötilaa päällystyksen aikana. Lämpötilaltaan korkeamman alustakerroksen käyttö lisää saarekkeen kokoa ja niiden välistä etäisyyttä ja päinvastoin.

15 2. Höyrytyksen suorittaminen magneettisen tai sähköstaattisen kentän tai elektroneja lähettävän laitteen avulla höyryvirtauksen ionipitoisuuden valvomiseksi. Alustakerroksen varaustilan tiedetään vaikuttavan saarekkeiden rakenteeseen.

20 3. Höyrytetyn höyryvirtauksen tulokulman valvomisen lasipinnan suhteen. Höyrytettyjen atomien liikkuvuus ja siten niiden kyky muodostaa isompia saarekkeitä on suurempi, kun atomien liikemäärä lasipinnan suhteen lisääntyy.

25 Keksinnön havainnollistamiseksi selostetaan seuraavassa sen eräitä sovellutusmuotoja pelkästään esimerkin tavoin oheisiin piirustuksiin viitaten, joissa:

Kuviot 1 ja 2 esittävät kaavioita tunnetuista ko-
keellisista järjestelyistä pintaplasmaresonanssivaikutuk-
sen osoittamista varten;

30 Kuvio 3 esittää kaaviomaisesti keksinnön erään sovellutusmuodon mukaisen anturin poikkileikkauskuvantoa;

Kuvio 4 esittää kaavamaista sivukuvantoa esillä olevan keksinnön mukaisen anturin eräästä toisesta sovellutusmuodosta; ja

Kuviot 5(a) ja 5(b) esittävät keksinnön mukaisen järjestelyn avulla saavutettavaa suorituskkyä.

Kuvioon 3 viitaten kuviossa näkymättömästä lähteestä, joka voi sopivalla tavalla käsittää diodikollimaattorikynän, kuten Telefunken Electronic'in mallinumerolla TXCK 1200 valmistaman kynän, lähtevä leveydeltään $2r$ olevan sähkömagneettisen säteilyn muodostama yhdensuuntaistettu säde 13 tulee polttoväliltään f_1 olevaan puolilieriömäiseen fokusointilinssiin 14, joka aiheuttaa valon konvergoitumisen optisen siirtoelementin, jota on yleensä merkitty numerolla 28, ja metallipäällysteen muodossa olevan heijastavan kerroksen 19 välisessä rajapinnassa 27 olevaan pisteeseen 15. Optinen komponentti on tässä esimerkissä tehty lasisesta tukilevystä tai diasta 16 (jonka päälle on päällystetty heijastava kerros) ja puolilieriömäisestä linssistä 11, jonka kaarevuuskeskipiste on asetettu kohtaan 15. Sopiva indeksin mukainen neste on käytössä kohdassa 29 levyn 16 ja linssin 11 vastakkaisten pintojen välissä, tämän järjestelyn ollessa sellaisen, että kaikki linssistä 14 tulevan suppenevan säteen valopolut kulkevat radiaalisesti optisen siirtokomponentin 28 suhteen eivätkä siten taitu, vaan tulevat fokusoiduiksi keskitetysti kohtaan 15. Rako 30 pakottaa suppenevan säteen pääasiassa tasomaiseen viuhkan muotoon, niin että vain pieni osa valoa heijastavasta kerroksesta 19 tulee valaistuksi, mikä vähentää kaikki metallipäällysteen epäyhtenäisyyden aiheuttamat vaikutukset.

Kohdasta 15 sisäisesti heijastunut valo kulkee hajaantuvana tasomaisena viuhkan muotoisena säteenä takaisin ulos komponentista 28 saapuen fokusoivaan linssiin 31, joka synnyttää valonsäteen 32, joka on varustettu pääasiassa yhdensuuntaisilla sivuilla tai joka ainakin hajaantuu vähemmän kuin komponentista 28 tuleva viuhkamainen valo. Säde 32 tulee ilmaisimeen 18, jonka muodostaa esimerkiksi sarja valonherkkiä ilmaisimia, ja on selvää, että

linssin 31 päätehtävänä on vähentää hajaheijastumia ilmaissimessa 18 varmistaen sen, että säde 32 osuu kohtisuorasti sen pintaan. Jos hajaheijastumat ovat kuitenkin merkityksettä tai jos ilmaisinsarja 18 voidaan asettaa vaivattomasti lähelle komponentin 28 poistopintaa (mahdollisesti jopa kiinnittää tai kerrostaa tähän pintaan), ei linssiä 31 tarvita.

Ilmaisinsarja on asetettu synnyttämään sähkösignaaleja, jotka ilmaisevat valonvoimakkuuden vaihtelut säteen 32 poikkileikkauksessa, SPR-vaikutuksen taas ilmaistessa, että voimakas absorptio tapahtuu tietyn kulman yhteydessä sen nestemateriaalin mukaisesti, jolle heijastava kerros 19 on alttiina. Nämä sähkösignaalit näytteitetään ja digitoidaan sekä syötetään sopivaan analyysilaitteeseen, joka voi käsitellä mikroprosessorin tai suuremman tietokoneen.

Voi olla suotavaa ulkoisen valon häiritsevien vaikutuksien minimoimiseksi tarvitsematta turvautua koko laitteiston tai ainakin komponenttien 5 ja 28 peittämiseen, järjestää sellainen tilanne, että valo varustetaan ominaismodulaatiolla ja että ilmaisimet ja/tai käsittelypiirit "viritetään" reagoimaan etupäässä tähän modulaatioon.

Seuraavassa selostetaan keksinnön erästä toista sovellutusmuotoa kuvioon 4 viitaten. Kuvion 4 esittämä laite käsittelee puolipallon muotoisen läpinäkyvästä materiaalista, kuten lasista tai kvartsista, tehdyn kappaleen 11, joka on suljettu koteloon 12. Sähkömagneettisen säteilyn lähde (ei näy) saa aikaan sähkömagneettisen säteilyn yhdensuuntaistetun syöttösäteen 13. Tämän säteilyn taajuuden on oltava sellainen, että se synnyttää pintaplasma-aallot, ja käytännössä se on näkyvällä alueella tai lähellä sitä. Sopivat lähteet käsittelevät neonlaserin tai infrapunadiodilaserin, mutta myös tavanomaista valonlähdettä sopivilla suodattimilla ja kolliattoreina varustettuna voitaisiin käyttää.

Linssiä 14 käytetään saattamaan yhdensuuntainen syöttösäde 13 fokusoitumaan aivan puolipallon 11 ympyrän muotoisen tasaisen pinnan keskikohdan yläpuolelle etäisyyden päähän asetettuun pisteeseen 15. Piste 15 on läpinäkyvästä materiaalista, kuten lasista, jonka heijastusindeksi on sama kuin puolipallolla 11 tai lähellä sitä, tehdyn dian 16 pinnalla. Järjestely on sellainen, että piste 15 on puolipallon kaarevuuden likimääräisessä keskipisteessä.

Kohdassa 15 sisäisesti heijastunut säteily kulkee ulos puolipallosta hajaantuvan säteen 17 muodossa säteilyherkkään ilmaisimeen 18, joka antaa sähköisen tulostussignaalin analyysiä varten ulkoisissa kytkennöissä (eivät näy) kuvatulon tavalla. Ilmaisimena voi esimerkiksi olla diodisarja tai varaussiirtorekisteri tai vastaavanlainen kuvauslaite.

Laitteen käytännöllisessä sovellutusmuodossa metallinen kalvokerros 19 kiinnitetään edellä mainitun dian 16 pintaan. Piste 15, johon syöttösäde fokusoidaan, tulee siten metallikalvon ja dian 16 väliseen rajapintaan. Metallikalvon pintaan kiinnitetään valonherkkä kerros 20, jonka heijastusindeksi muuttuu kokeen jatkuessa. Tällaisena valonherkkänä kerroksena voi esimerkiksi olla vastaainekerros. Valonherkkä kerros 20 on rajattu suhteellisen pienelle aktiiviselle alueelle pisteen 15 ympärille ja absorboivasta aineesta tehtyyn kiekkomaiseen levyyn 21 muodostetun keskireiän sisälle. Kiekon 21 päälle on asetettu kaksi lisäkiekkolevyä 22, 23, jotka on tehty valoa absorboimattomasta materiaalista. Ylemmässä kiekossa 23 oleva keskiaukko rajoittaa kaivomaisen syvennyksen 25, johon koestettava näyte asetetaan. Levyn 22 keskiaukko on kooltaan sopiva aiheuttaakseen kaivossa 25 olevan nesteen kulkemisen kapillaarivaikutuksen välityksellä kerroksen 20 yläpuolella olevaan aktiiviseen vyöhykkeeseen. Kiekon 21 paksuus määrittää syvyyden aktiivista vyöhykettä varten aukosta 24 kapillaarivaikutuksen avulla tulevan näytenes-

teen radiaalisesti ulospäin suuntautuvan liikkeen edesauttamiseksi. Absorptiolevy 21 absorboi aktiivisen vyöhykkeen ohi virranneen näytteen.

5 Koko laiteyksikkö käsittäen dian 16, kiekkolevyn 21 ja kiekkolevyt 22 ja 23, on kertakäyttöinen, niin että uutta valonherkän kerroksen 20 sisältävää uutta laiteyksikköä voidaan käyttää kutakin koestusta varten. Dia 16 asetetaan puolipallon 11 tasaisen pinnan päälle sopivimmin sen jälkeen, kun tähän tasaiseen pintaan on levitetty ohut 10 kerros optista öljyä tai rasvaa hyvän optisen kytkennän varmistamiseksi puolipallon ja dian välille. Vaihtoehtoisesti itse puolipallo voi olla kertakäyttöinen, kunhan sen valmistus on vain kyllin halpaa, jolloin ei ole mitään tarvetta käyttää erillistä diaa 16, ja metallikalvo 19 15 voidaan kiinnittää suoraan puolipalloon.

Laitteen käyttöä varten asetetaan koestettava näyte, joka sisältää vasta-ainemolekyylien kanssa kerroksessa 20 sitoutumaan kykenevää antigeenia, kaivoon 25, niin että näyte kulkee aukon 24 kautta kapillaarivaikutuksen avulla. 20 Aukosta 24 tuleva nestenäyte alkaa virrata radiaalisesti ulospäin kaikkiin suuntiin kohti absorptiolevyä 21 ohittaen vasta-ainekerroksen 20. Kerroksen 20 vieressä oleva näyte täydennetään siten jatkuvasti kokeen kestäessä, mikä varmistaa maksimaalisen herkkyyden.

25 Näytteen virratessa kerroksen 20 ohi kaikki näytteessä olevat, kerroksessa 20 olevien vasta-aineiden kanssa sitoutumaan kykenevät antigeenit tekevät näin muuttaen siten kerroksen 20 heijastusindeksiä reaktion jatkuessa. Tätä heijastusindeksin muutosta valvotaan jatkuvasti kokeen aikana kohdistamalla fokusointi valonsäde 13 kohtaan 30 15. Edellyttäen, että olosuhteet ovat oikeat - erityisesti että tulokulma kohdassa 15 on oikea -, johtaa säteen 13 käyttö plasma-aallon syntymiseen, jolloin syöttösäteestä imetään energiaa ja lähtösäteen 17 voimakkuus tulee vai- 35 mennetuksi kyseisen tulokulman yhteydessä. Syöttösäde on

asetettu siten, että sen kulma-alueen keskikulma on suunnilleen puolessa välissä heijastuskyvyn pudotusta, kuten edellä on selostettu, ja koe suoritetaan vakiosuuruisella tulokulmalla valvoen heijastuneen säteen voimakkuutta tämän keskipistetasen ylä- ja alapuolella. Tällöin saadaan suoraviivainen ja erittäin herkkä tulostus.

Alkuperäisenä heijastuskyvyn pudotuksena, joka valitaan tulokulman asetusta varten, olisi oltava pudotus, joka saadaan, kun jokin neutraali tai puskuriliuos kulkee kennon kautta, tai kun koestettava näyte kulkee kennon kautta kuitenkin ennen kuin siinä tapahtuu mitään reaktiota. Jälkimmäisen menetelmän yhteydessä, jota nykyisin pidetään parempana, on otettava huomioon, että nesteen alkaessa virrata aktiivisen vyöhykkeen vieressä olevan kerroksen 20 ohi, ei heijastusindeksi ala muuttua välittömästi vasta-aine/antigeenireaktion johdosta. Jää siten riittävästi aikaa ottaa alkuperäinen lukema reagoimattoman näytteen virratessa ohi, jolloin tätä lukemaa voidaan käyttää takaisinkytkentäjohtotusta käyttäen tulokulman nopeaan säätämiseen sopivaan arvoon, joka on heijastuskyvyn pudotuksen keskivälillä, niin että kokeen loppuosa voidaan suorittaa tämän kiinteän kulman avulla.

Eräässä keksinnön mukaisessa sovellutusmuodossa puolipallon 11 korvaa puolilieriö. Tässä tapauksessa kuvioiden 3 ja 4 voidaan katsoa esittävän osia sopivasta laitteesta, puolilieriön 11 ulottuessa paperin ylä- ja alapuolelle. Puolilieriön käyttö antaa mahdollisuuden resonanssin linja-alueeseen yhden ainoan pisteen 15 asemasta, ja siten suoraviivaisen aktiivisen alueen muodostamiseen. Aukosta 24 tulee rako ja kaivosta 25 pitkänomainen. Valonlähde synnyttää "levymäisen" lähtösäteen, joka voidaan fokusoida lieriömäisen linssin 3 välityksellä linjaan 15. Ilmaisin on samoin suoraviivainen käsittäen sopivimmin erilliset ilmaisimet tai ilmaisinsarjat, jotka kukin on asetettu tarkkailemaan erityistä osaa linjasta 15.

Puolilieriömäisen linssin 11 etuna on se, että sitä voidaan käyttää useiden kokeiden suorittamiseen samanaikaisesti yhden ainoan näytteen avulla. Tätä tarkoitusta varten kerros 20 käsittää sarjan erillisiä herkkyysalueita, joissa kussakin on erilaista vasta-ainetta, jolloin kutakin erillistä aluetta valvoo oma ilmaisin 18. Kaivoon 25 asetettu yksinkertainen näyte virtaa raon 24 kautta aktiiviselle alueelle reagoiden samanaikaisesti eri herkkyysalueisiin ja antaen yksittäiset tulostuslukemat, joita voidaan valvoa ilmaisimien 18 tavoin.

Vaikka puolipallo/puolisyylinteri 11 on esitetty varustettuna 180° kaarevuudella, voidaan itse asiassa todeta, että vain lähellä tasaista pintaa olevaa aluetta käytetään ja siten huomattava osa kappaleesta 11 voidaan leikata pois katkaistun puolipallon tai puolilieriön muodostamiseksi kuvatuslaisella tavalla esimerkiksi kuviossa 4 näkyvää katkoviivaa pitkin.

Kuten edelläolevasta käy ilmi, keksintö mahdollistaa käyttökelpoisen kulma-alueen tutkimisen samanaikaisesti kokonaan tai ainakin huomattavaksi osaksi, jolloin tutkimusnopeutta rajoittavat vain sarjassa 18 olevien ilmaisimien sekä asianomaisen näytteen ja laskentapiirien ominaisuudet. Tämä mahdollistaa alkumuutosilmiöiden ja muiden analyysin aikana mahdollisesti esiintyvien muutosten valvonnan sallien myös nopeiden kalibrointitarkastusten suorittamisen.

On lisäksi havaittu, että jos kukin analyysi tai sarja aloitetaan heijastuskyvyn kiinteällä arvolla (jonka määrittää laskentapiirien sopiva ulostulo), on nestenäytteen absoluuttinen heijastusindeksi, joka voi vaihdella eri näytteiden yhteydessä, merkityksetön. Tärkeää on se, että keksintö mahdollistaa halutun heijastuskyvyn määrittämisen erittäin lyhyessä ajassa, joka on SPR:ää varten tarvittavaa kemiallista sitoutumisaikaa lyhyempi, nestenäytteen kyseisen aineosan ja heijastavan kerroksen välillä.

Keksinnön lisäetuna on se, että se sallii kalibrointitarkistusten tekemisen tunnetuilla SPR-ominaisuuksilla varustetuilla nesteillä muodostaakseen korvaavaa tietoa, jota voidaan säilyttää laskentapiireissä, jolloin näitä tarkistuksia voidaan käyttää automaattisesti korjauksina niin haluttaessa kliinisen analyysin aikana. Tätä korvaavaa tietoa voidaan käyttää esimerkiksi heijastuskyvyn muutosten pisteen 15 yläpuolelle nousevien vaihtelujen sallimiseksi, tämän ilmiön esiintyessä erityisesti silloin, kun heijastuskerros muodostetaan höyrytyksen avulla.

Kuvio 5 esittää kuvioiden 3 ja 4 mukaiseen järjestykseen sisältyvästä ilmaisimesta saatua videosignaalia näytettynä oskilloskoopin ruudussa. SPR-resonanssi on selvästi näkyvissä.

Ilmaisin keilataan sähköisesti, yleensä noin 200 kertaa sekunnissa, resonanssin liikkeen "tosiaikavalvontaa" varten biokemikaalien sitoutuessa metallilla päällystetyn levyn 16 pintaan. Kuvion 5a esittämää heijastuskyvykäyrää on moduloitu laserdiodilähteestä tulevan säteen miltei Gaussin profiilin avulla. Tämä profiili voidaan poistaa kuvion 5b esittämän sopivan signaalikäsittelyn avulla, joka käsittää ympäristöllisen valon aiheuttaman kiinteän taustavaikutuksen vähentämisen kyseisestä signaalista ja tämän signaalin jakamisen ilman mitään resonanssia olevalla signaalilla.

Patenttivaatimukset:

1. Anturi käyttöä varten biologisessa, biokemiallisessa ja kemiallisessa koestuksessa, sanotun anturin
5 käsittäessä sähkömagneettista säteilyä päästävästä materiaalista tehdyn kappaleen (11,16), ainakin osalle sanotun kappaleen ensimmäistä pintaa (27) kiinnitetyn metallimateriaalikerroksen (19), metallimateriaalikerrokseen (19) asetetun säteilyherkstä materiaalista tehdyn kerroksen
10 (20), välineet analysoitavan näytteen syöttämiseksi säteilyherkkään kerrokseen (20) reagoimaan tämän kerroksen kanssa, elektromagneettisen säteilyn lähteen (13), joka säteily on suunnattu mainitun säteilyä päästävän kappaleen (11,16) sisälle siten, että säteily heijastuu sisäisesti
15 pois päin mainitun pinnan mainitusta osasta, ja ilmaisinvälineet asetettuna vastaanottamaan sisäisesti heijastuneen säteen, t u n n e t t u siitä, että anturissa on välineet (14) mainitun säteilyn fokusoimiseksi mainitun ensimmäisen pinnan (27) osalle (15) siten, että tuleva säde on
20 konvergoiva viuhkasäde, joka kattaa tulokulma-alueen, joka sisältää pintaplasmaresonanssin aiheuttavan tulokulman, ja että mainittu tuleva säde antaa kohtaamispisteen tai -viivan mainitulle ensimmäiselle pinnalle, jonka resonanssiominaisuudet riippuvat näytteen ja herkän kerroksen (20)
25 välisestä reaktiosta, ja jossa mainitut ilmaisinvälineet (18) on asetettu vastaanottamaan divergoivan viuhkasäteen (17) kattaman kulma-alueen, joka on mainitun tulevan säteen sisäisen heijastuksen tulos, joka vastaanotettu kulma-alue on riittävä mainittujen pintaplasmaresonanssin ominaisuuksien ilmaisun mahdollistamiseksi.
30

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen anturi, t u n n e t t u siitä, että mainitusta lähteestä tuleva säteily saapuu kappaleeseen (11,16) toisen, kaarevan pinnan kautta.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen anturi, t u n -
n e t t u siitä, että toisen pinnan kaarevuuskeskipiste
on mainitulla ensimmäisellä pinnalla (27).

5 4. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2 tai 3 mukai-
nen anturi, t u n n e t t u siitä, että mainittu toinen
pinta on ympyrän muotoinen.

10 5. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 3 tai 4
mukainen anturi, t u n n e t t u siitä, että sähkömag-
neettisen säteilyn muodostama syöttösäde tulee kappalee-
seen (11,16) kohtisuorasti tulopisteen pintatangentin suh-
teen.

15 6. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen
mukainen anturi, t u n n e t t u siitä, että ilmaisinvä-
lineet (18) on asetettu kappaleen (11,16) ulkopuolelle, ja
että sisäisesti heijastunut säde (17) tulee ulos mainitus-
ta kappaleesta kappaleen kolmannen pinnan kautta, joka on
kaareva.

20 7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen anturi, t u n -
n e t t u siitä, että kolmannen pinnan kaarevuuskeskipis-
te on mainitulla ensimmäisellä pinnalla (27).

25 8. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2-7 mukainen
anturi, t u n n e t t u siitä, että mainittu säteilyä
päästävä kappale (11,16) on muodoltaan puolipallo, jonka
tasainen pinta on mainittu ensimmäinen pinta (27) ja jonka
ympyrän muotoinen pinta sisältää sanotun toisen pinnan, ja
että ensimmäisen pinnan mainittu osa on asetettu mainitun
ensimmäisen pinnan keskikohtaan.

30 9. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2-7 mukainen
anturi, t u n n e t t u siitä, että sanottu säteilyä
päästävä kappale (11,16) on muodoltaan puolilieriö, jonka
tasainen pinta on mainittu ensimmäinen pinta (27), ja jon-
ka kaareva pinta sisältää mainitun toisen pinnan, ja että
ensimmäisen pinnan mainittu osa on asetettu mainitun en-
simmäisen pinnan pituussuuntaiselle keskiakselille.

10. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 8 tai 9 mukainen anturi, t u n n e t t u siitä, että kappaleen (11,16) kaarevan pinnan yläosa on leikattu pois katkaistun puolipallon tai puolilieriön muodostamiseksi.

5 11. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen anturi, t u n n e t t u siitä, että ilmaisinvälineinä (18) on laaja-alainen ilmaisin, joka on asetettu kattamaan koko esiin tuleva säde.

10 12. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen anturi, t u n n e t t u siitä, että ilmaisinvälineinä (18) on sarja kulmittain asetettuja ilmaisimia, jotka on asetettu kattamaan koko esiin tuleva säde.

15 13. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen anturi, t u n n e t t u siitä, että sanottuna säteilyherkkänä kerroksena (20) on vasta-ainekerros, joka reagoi vastaavaa antigeenia sisältävän näytteen kanssa.

Patentkrav

1. Sensor för användning vid biologisk, biokemisk eller kemisk testning, vilken sensor har ett block (11, 5 16) av ett för elektromagnetisk strålning transparent material, ett skikt (19) av metalliskt material, vilket är applicerat på åtminstone ett parti av en första yta (27) på blocket, ett skikt (20) av strålningsmaterial, vilket är applicerat på skiktet av metalliskt material, organ 10 anordnade att på det sensitiva skiktet (20) anbringa ett prov, som ska analyseras, för att detta ska reagera med det sensitiva skiktet, en källa för elektromagnetisk strålning (13), som riktas mot det transparenta blocket (11, 16) på sådant sätt, att den invändigt reflekteras 15 bort från nämnda parti av nämnda yta, samt ett detektororgan, som är placerat för att mottaga den invändigt reflekterade strålen, k ä n n e t e c k n a d av att den har organ (14) anordnade att fokusera strålningen mot nämnda parti (15) av nämnda första yta (27) på sådant sätt, att 20 den infallande strålen är en konvergerande solfjäderstråle, som spänner över ett infallsvinkelområde, som innefattar den vinkel vid vilken ytplasmonresonans åstadkommes, och att den infallande strålen ger en infallspunkt eller -linje på den första ytan, varvid resonansens karakteris- 25 tik är beroende av reaktionen mellan provet och det sensitiva skiktet (20), och att detektororganen (18) är anordnat att mottaga ett vinkelområde inom spännvidden för en divergerande solfjäderstråle (17) som erhålles vid den infallande solfjäderstrålens invändiga reflektion, vilket 30 vinkelområde är tillräckligt för att möjliggöra detektering av ytplasmonresonansens nämnda karakteristik.

2. Sensor enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d av att strålningen från källan införes i blocket (11, 16) via en andra, krökt yta.

3. Sensor enligt patentkrav 2, k ä n n e t e c k -
n a d av att den andra ytans krökningscentrum är beläget
på den första ytan (27).

5 4. Sensor enligt patentkrav 2 eller 3, k ä n n e -
t e c k n a d av att den andra ytan är cirkulär.

5. Sensor enligt patentkrav 2, 3 eller 4, k ä n -
n e t e c k n a d av att den elektromagnetiska strålnin-
gens ingångsstråle införes i blocket (11, 16) vinkelrätt
mot ytans tangent i ingångspunkten.

10 6. Sensor enligt något av de föregående patentkrav,
k ä n n e t e c k n a d av att detektororganen (18) är
placerat utanför blocket (11, 16) och att den invändigt
reflekterade strålen (17) utträder ur blocket via en tred-
je, krökt yta på blocket.

15 7. Sensor enligt patentkrav 6, k ä n n e t e c k -
n a d av att den tredje ytans krökningscentrum är beläget
på den första ytan (27).

8. Sensor enligt något av patentkrav 2 - 7, k ä n -
n e t e c k n a d av att den transparenta kroppen (11,
20 16) har formen av en halvsfär, vars plana yta utgör nämnda
första yta (27) och vars cirkulära yta innefattar nämnda
andra yta, varvid nämnda parti av nämnda första yta är
beläget vid den första ytans centrum.

9. Sensor enligt något av patentkrav 2 - 7, k ä n -
25 n e t e c k n a d av att den transparenta kroppen (11,
16) har formen av en halvcylinder, vars plana yta utgör
nämnda första yta (27) och vars krökta yta innefattar
nämnda andra yta, varvid nämnda parti av nämnda första yta
är beläget på den första ytans längsgående centrumaxel.

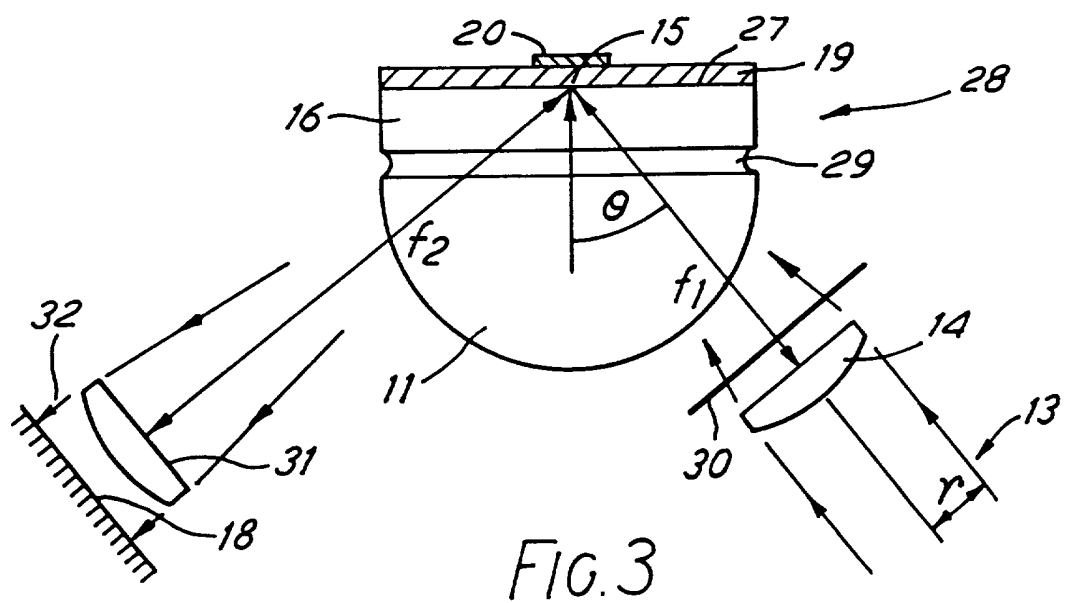
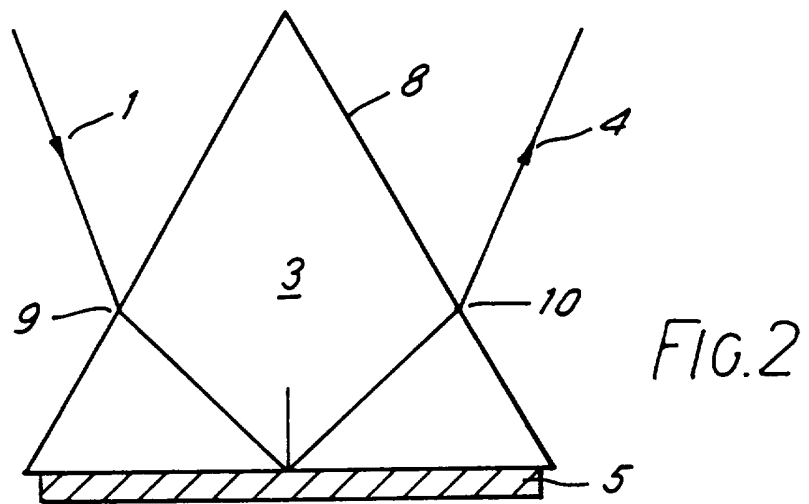
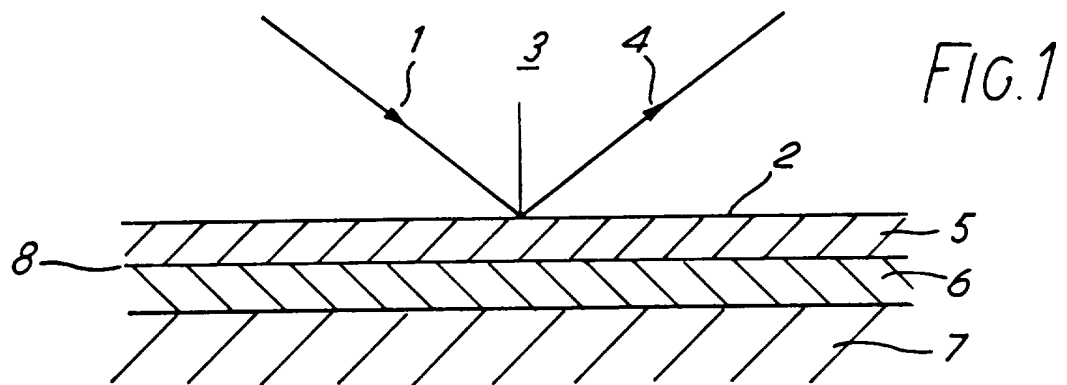
30 10. Sensor enligt patentkrav 8 eller 9, k ä n n e -
t e c k n a d av att det övre partiet av kroppens (11,
16) krökta yta är borttaget för att bilda en stympad
halvsfär eller halvcylinder.

35 11. Sensor enligt något av de föregående patent-
krav, k ä n n e t e c k n a d av att detektororganen (18)

har formen av en detektor, som har stor yta och är placerad för att upptaga hela den utgående strålen.

5 12. Sensor enligt något av de föregående patentkrav, k ä n n e t e c k n a d av att detektororganen (18) har formen av en uppsättning i vinkelled åtskilda detektorer, som är placerade för att upptaga hela den utgående strålen.

10 13. Sensor enligt något av de föregående patentkrav, k ä n n e t e c k n a d av att det strålningsskiktet (20) är ett antikropp-skikt, som ska reagera med ett prov, som innehåller en motsvarande antigen.



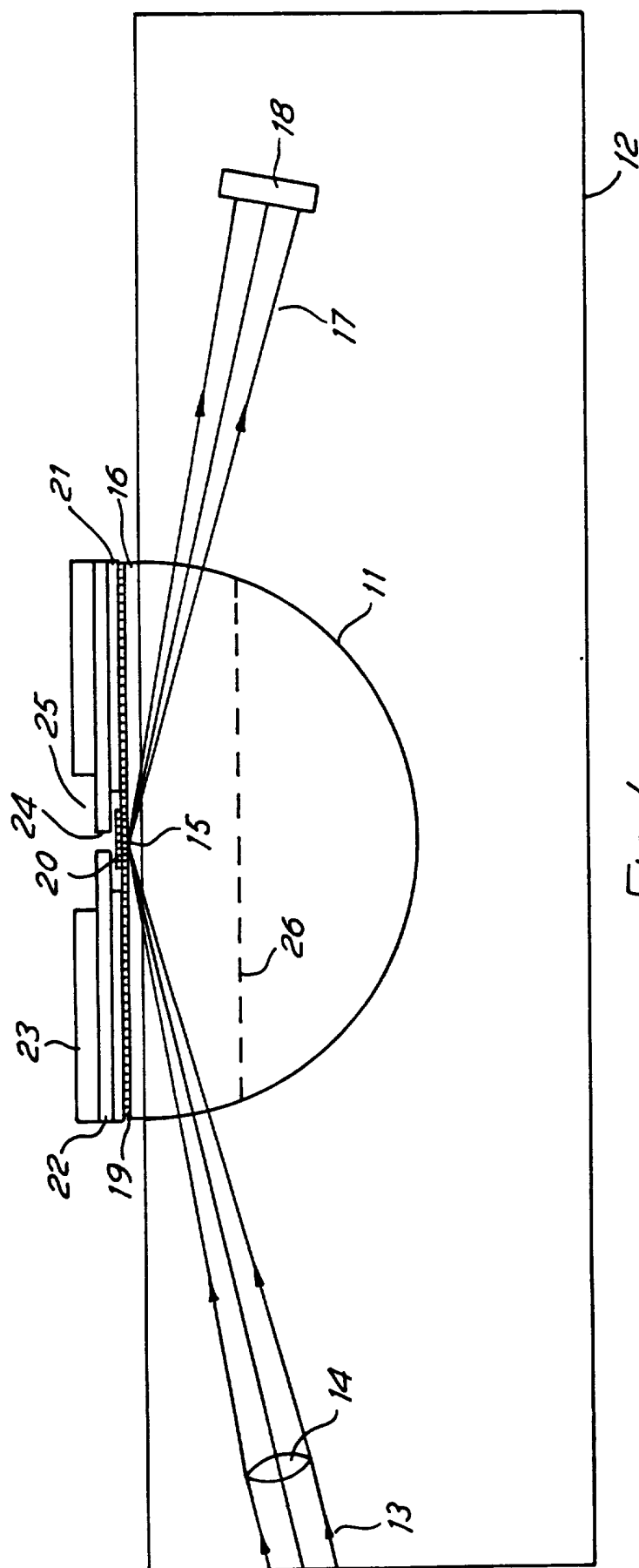


FIG. 4

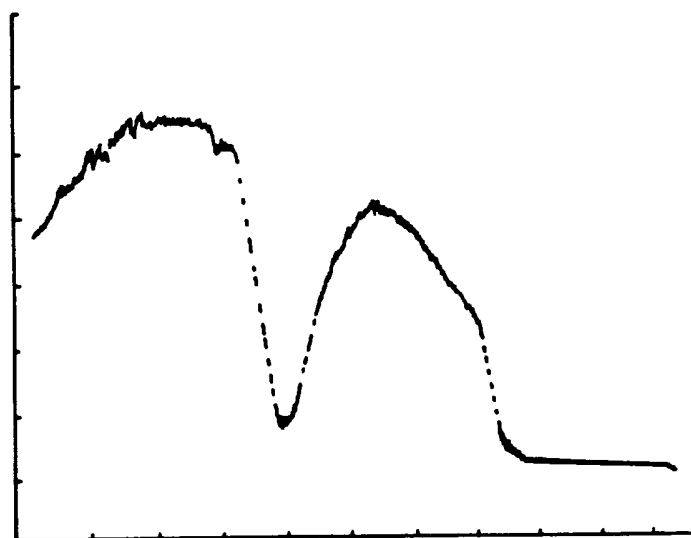


FIG. 5(a)

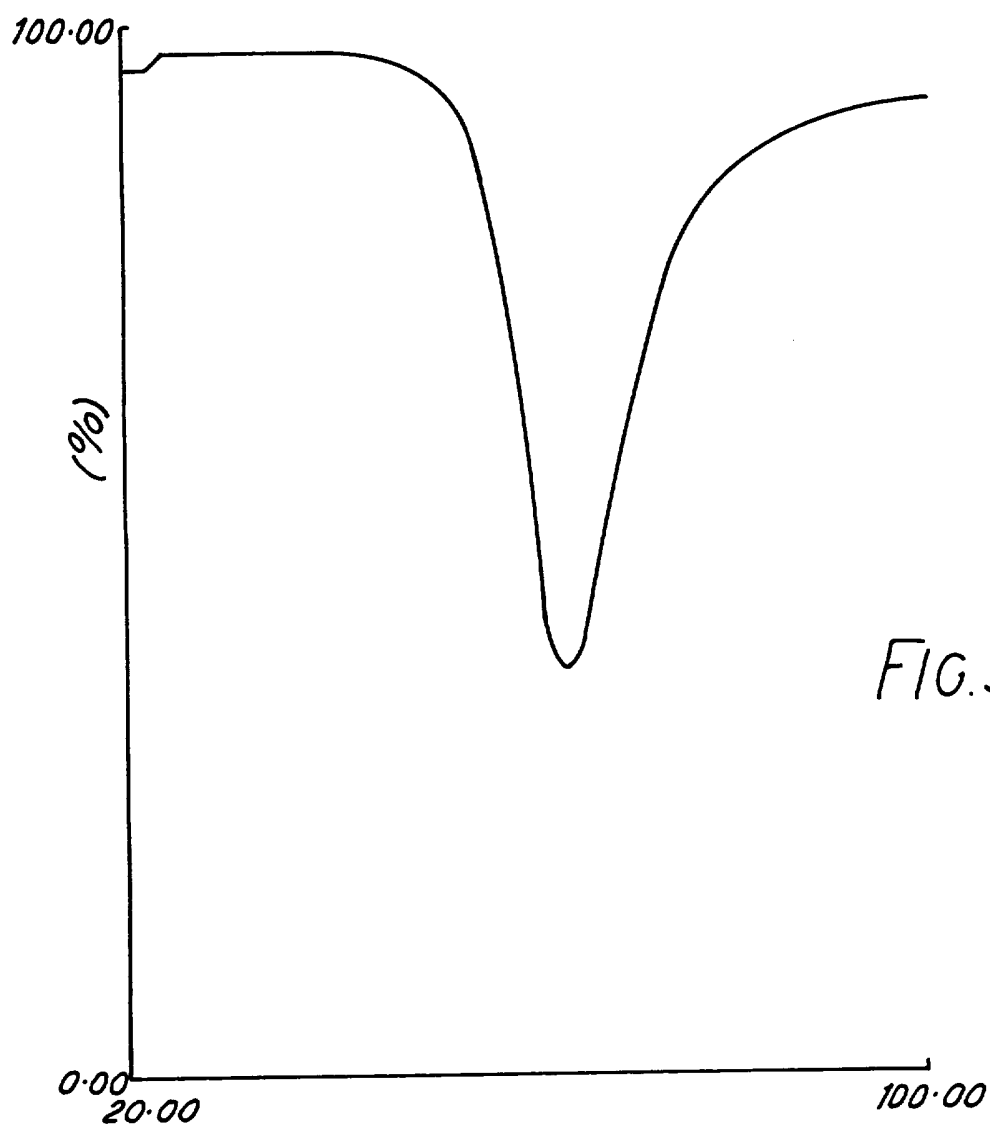


FIG. 5(b)