

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101263378 B

(45) 授权公告日 2012.03.07

(21) 申请号 200680033125.8

(22) 申请日 2006.06.29

(30) 优先权数据

11/177,707 2005.07.08 US

11/177,708 2005.07.08 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008.03.10

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/025400 2006.06.29

(87) PCT申请的公布数据

W02007/008440 EN 2007.04.05

(73) 专利权人 伊利诺伊大学评议会

地址 美国伊利诺伊州

(72) 发明人 B·T·坎宁安 I·布洛克

L·L·Y·陈

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 庞立志 李连涛

(51) Int. Cl.

G01N 21/25(2006.01)

G01N 33/52(2006.01)

G02B 5/18(2006.01)

(56) 对比文件

US 2003/017851 A1, 2003.01.23, 说明书第0007-0018, 0049, 0054, 0058, 0082, 0087, 0089, 0113, 0121段。

US 6270846 B1, 2001.08.07, 说明书第1栏第17-28行, 第2栏第46-50行, 第3栏第6-11行, 第4栏第29-41行, 图表1-2.

CN 1632929 A, 2005.06.29, 说明书全文.

CN 1160767 C, 2004.08.04, 说明书全文.

US 2003/0017850 A1, 2003.01.23, 说明书第0006-0014, 0060段.

FLANNERY C M ET AL. "Characterization of thin-film aerogel porosity and stiffness with laser-generated surface acoustic waves". Thin Solid Films 388 1-2. 2001, 388(1-2), 图表1.

审查员 孙晓明

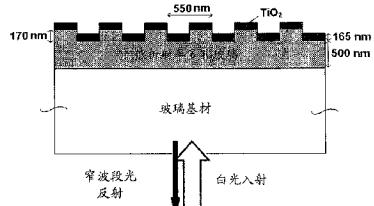
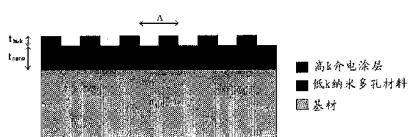
权利要求书 2 页 说明书 15 页 附图 12 页

(54) 发明名称

光子晶体生物传感器结构以及制作方法

(57) 摘要

本发明提供一种制造传感器的方法。在一种实施方案中,该方法包括在纳米多孔薄膜上图案化亚波长周期光栅,然后在该图案化的纳米多孔薄膜上沉积高介电常数材料。在另一种实施方案中,所述的方法包括在纳米多孔薄膜上沉积并图案化高介电常数材料。



1. 一种制造传感器的方法,该方法包括:

(a) 将液体弹性体放入亚波长周期光栅结构模具中,并固化该液体弹性体来形成阴模;

(b) 从所述的模具中取出该阴模;

(c) 将所述的阴模置入未固化的纳米多孔薄膜中,其中所述的未固化的纳米多孔薄膜通过基材进行支撑;

(d) 使纳米多孔薄膜完全固化、部分固化或未固化;

(e) 从完全固化、部分固化或未固化的纳米多孔薄膜中取出该阴模;

(f) 在完全固化、部分固化或未固化的纳米多孔薄膜上沉积高介电常数介电材料,其中形成传感器。

2. 权利要求 1 的方法,其中所述的纳米多孔薄膜包括多孔二氧化硅干凝胶,多孔气凝胶,多孔氢硅倍半氧烷,B 阶聚合物,多孔甲基硅倍半氧烷,多孔聚(亚芳基醚),或其组合。

3. 权利要求 1 的方法,其中所述的基材包括塑料、环氧树脂或玻璃。

4. 权利要求 1 的方法,其中所述的高介电常数介电材料是氧化锡、五氧化二钽、硫化锌、二氧化钛、氮化硅或其组合。

5. 权利要求 1 的方法,其中高介电常数介电材料的折射率是 1.8 到 3.0。

6. 权利要求 1 的方法,其进一步包括在高介电常数介电材料上沉积覆盖层。

7. 权利要求 1 的方法,其进一步包括在高介电常数介电材料的表面上固定一种或多种特定的结合物。

8. 权利要求 6 的方法,其进一步包括在覆盖层的表面上固定一种或多种特定的结合物。

9. 权利要求 7 的方法,其中所述的一种或多种特定的结合物不包括检测标记物。

10. 权利要求 8 的方法,其中所述的一种或多种特定的结合物不包括检测标记物。

11. 权利要求 1 的方法,其中所述的纳米多孔薄膜的折射率是 1.1 到 2.2。

12. 权利要求 1 的方法,其中所述的纳米多孔薄膜的折射率是 1.1 到 1.5。

13. 权利要求 1 的方法,其中所述的亚波长周期光栅结构的周期是 200nm 到 1500nm,并且该亚波长周期光栅结构的深度是 50nm 到 900nm。

14. 权利要求 1 的方法,其中所述的基材的折射率是 1.4 到 1.6。

15. 权利要求 1 的方法,其中所述的高介电常数介电材料的厚度是 30nm 到 700nm,并且所述的纳米多孔薄膜的厚度是 10nm 到 5000nm。

16. 一种制造传感器的方法,该方法包括:

(a) 在基材上固化具有低折射率的纳米多孔材料层;

(b) 在所述的纳米多孔材料上沉积高介电常数介电材料;以及

(c) 将所述的高介电常数介电材料图案化成亚波长周期光栅结构。

17. 权利要求 16 的方法,其中所述的纳米多孔材料包括多孔二氧化硅干凝胶,多孔气凝胶,多孔氢硅倍半氧烷,B 阶聚合物,多孔甲基硅倍半氧烷,多孔聚(亚芳基醚),或其组合。

18. 权利要求 16 的方法,其中所述的基材包括塑料、环氧树脂或玻璃。

19. 权利要求 16 的方法,其中所述的高介电常数介电材料是氧化锡、五氧化二钽、硫化

锌、二氧化钛、氮化硅或其组合。

20. 权利要求 16 的方法,其中所述的高介电常数介电材料的折射率是 1.8 到 3.0。
21. 权利要求 16 的方法,其进一步包括在所述的高介电常数介电材料上沉积覆盖层。
22. 权利要求 16 的方法,其进一步包括在所述的高介电常数介电材料的表面上固定一种或多种特定的结合物。
23. 权利要求 21 的方法,其进一步包括在覆盖层的表面上固定一种或多种特定的结合物。
24. 权利要求 22 的方法,其中所述的一种或多种特定的结合物不包括检测标记物。
25. 权利要求 23 的方法,其中所述的一种或多种特定的结合物不包括检测标记物。
26. 权利要求 16 的方法,其中所述的纳米多孔材料的折射率是 1.1 到 2.2。
27. 权利要求 16 的方法,其中所述的纳米多孔材料的折射率是 1.1 到 1.5。
28. 权利要求 16 的方法,其中所述的亚波长周期光栅结构的周期是 200nm 到 1500nm,并且该亚波长周期光栅结构的深度是 50nm 到 900nm。
29. 权利要求 16 的方法,其中所述的基材的折射率是 1.4 到 1.6。
30. 权利要求 16 的方法,其中所述的高介电常数介电材料的厚度是 30nm 到 700nm,并且所述的纳米多孔材料的厚度是 10nm 到 5000nm。

光子晶体生物传感器结构以及制作方法

[0001] 政府的利益

[0002] 本发明是在国家科学基金授予的批准号 BES04-27657 下由政府扶持做出的。政府在本发明中具有确定的权利。

背景技术

[0003] 基于表面构造的光子晶体的无标记物光学传感器目前被证实是用于进行广泛多样的生物化学的和基于细胞的分析的高度灵敏的方法。参见例如, Cunningham 等人, Label-Free Assays on the BIND System(对于盲系统的无标记物分析). Journal of Biomolecular Screening(生物分子筛选杂志), 2004. 9 :481-490。当用白光垂直入射照射时,这些传感器仅仅反射窄波段的波长,这里反射峰波长值 (PWV) 的正位移表示在传感器表面上的被检测材料的吸收。参见例如, Cunningham 等人, Colorimetricresonant reflection as a direct biochemical assay technique. (用作直接生物化学分析技术的比色共振反射)Sensor and Actuators B(传感器和加载器, B), 2002. 81 :316-328。通过在共振波长的空间束缚入射光子,在传感器表面产生高的光场,其延伸到测试样品中达短距离,很类似于渐逝场。在所述设备结构中的共振光子高度的空间束缚导致在该结构与被吸收的生物材料之间强的相互作用,以及导致能够进行蛋白质和细胞附着物 (attachment) 的高分辨率成像。参见例如 Li 等人, A new method forlabel-free imaging of biomolecular interactions(一种新的分子生物相互作用的无标记物成像). Sensors and Actuators B(传感器和加载器, B), 2004. 99 :6-13。

[0004] 以前,光子晶体光学生物传感器是从连续的塑料膜片,使用一种其中周期性的表面结构是使用 UV 固化的聚合物材料从硅主晶片进行复制的方法来制作的。参见例如 Cunningham 等人, A plastic colorimetricresonant optical biosensor for multiparallel detection of label-freebiochemical interactions(用于无标记物生物化学相互作用的多平行检测的塑料比色共振光学生物传感器). Sensors and Actuators B(传感器和加载器, B), 2002. 85 :219-226。这种图案化的聚合物随后可以用高折射率的 TiO₂ 层进行涂覆,该 TiO₂ 层通常比表面结构的高度更薄。这样的装置已经被证实用于各种不同的生物化学的和基于细胞的分析,具有小于 0.1pg/mm² 的质量密度灵敏度和能够检测单个细胞的大的动态范围。参见例如 Lin 等人, A label-free biosensors-based cell attachment assay forcharacterization of cell surface molecules(用于表征细胞表面分子的基于无标记物生物传感器的细胞附着物的分析). Sensors and Actuators B(传感器和加载器, B), 2005 年 4 月接受发表。通常,装置灵敏度的最佳化需要增加电磁场强度分布与沉积在所述光子晶体表面的上面的分子之间的相互作用。因此,光学材料的选择和表面结构拓扑的设计的目的是扩大从光子晶体的内部区域(这里它们不能与被吸收的材料相互作用)到该光子晶体的邻近区域(其包括液体测试样品)的电磁场轮廓 (profile)。

[0005] 本领域需要增加这些和其他类型的传感器的灵敏度以及降低它们的制造成本的方法。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明的一种实施方案提供一种制造传感器的方法。该方法包括将液体弹性体放入亚波长周期光栅结构模具中并固化液体弹性体来形成阴模 (negative mold)；从所述的模具中取出该阴模；将所述的阴模置入未固化的纳米多孔薄膜中，其中所述的未固化的纳米多孔薄膜通过基材进行支撑；使纳米多孔薄膜完全固化、部分固化或未固化；从所述的完全固化、部分固化或未固化的纳米多孔薄膜中取出该阴模；在所述的完全固化、部分固化或未固化的纳米多孔薄膜上沉积高介电常数介电材料，其中形成传感器。所述的纳米多孔薄膜可以包括多孔二氧化硅干凝胶，多孔气凝胶，多孔氢硅倍半氧烷，B 阶聚合物，多孔甲基硅倍半氧烷，多孔聚（亚芳基醚），或其组合。基材可以包括塑料，环氧树脂或玻璃。所述的高介电常数介电材料可以是氧化锡、五氧化二钽、硫化锌、二氧化钛、氮化硅或其组合。所述的高介电常数介电材料的折射率可以是大约 1.8 到大约 3.0。该方法可以进一步包括在高介电常数介电材料上沉积覆盖层。该方法可以进一步包括在高介电常数介电材料表面上固定一种或多种特定的结合物 (binding substance)。该方法可以进一步包括在覆盖层的表面上固定一种或多种特定的结合物。所述的一种或多种特定的结合物可以是无检测标记物的。所述的多孔薄膜的折射率可以是大约 1.1 到大约 2.2。所述的多孔薄膜的折射率可以是大约 1.1 到大约 1.5。亚波长周期光栅结构的周期可以是大约 200nm 到大约 1500nm，并且该亚波长周期光栅结构的深度可以是大约 50nm 到大约 900nm。基材的折射率可以是大约 1.4 到大约 1.6。所述的高介电常数介电材料的厚度可以是大约 30nm 到大约 700nm，并且所述的纳米多孔材料的厚度可以是大约 10nm 到大约 5000nm。

[0008] 本发明另外一种实施方案提供一种制造传感器的方法。该方法包括在基材上固化具有低折射率的纳米多孔材料层；在所述的纳米多孔材料上沉积高介电常数介电材料；以及将所述的高介电常数介电材料图案化成光栅。所述的纳米多孔薄膜可以包括多孔二氧化硅干凝胶，多孔气凝胶，多孔氢硅倍半氧烷，B 阶聚合物，多孔甲基硅倍半氧烷，多孔聚（亚芳基醚），或其组合。基材可以包括塑料，环氧树脂或玻璃。所述的高介电常数介电材料可以是氧化锡、五氧化二钽、硫化锌、二氧化钛、氮化硅或其组合。所述的高介电常数介电材料的折射率是大约 1.8 到大约 3.0。该方法可以进一步包括在所述的高折射率介电材料上沉积覆盖层。该方法可以进一步包括在所述的高折射率介电材料表面上固定一种或多种特定的结合物。该方法可以进一步包括在所述的覆盖层表面上固定一种或多种特定的结合物。所述的一种或多种特定的结合物可以是无检测标记物的。所述的纳米多孔薄膜的折射率可以是大约 1.1 到大约 2.2。所述的纳米多孔薄膜的折射率可以是大约 1.1 到大约 1.5。所述的亚波长周期光栅结构的周期可以是大约 200nm 到大约 1500nm，并且该亚波长周期光栅结构的深度可以是大约 50nm 到大约 900nm。基材的折射率可以是大约 1.4 到大约 1.6。所述的高介电常数介电材料的厚度可以是大约 30nm 到大约 700nm，并且所述的纳米多孔材料的厚度可以是大约 10nm 到大约 5000nm。

[0009] 因此，用于传感器表面结构的非常低的折射率材料的使用显著地增加了检测的灵敏度。因此，相比于以前可行的，能够在测试样品中对具有 2-4 倍更低的浓度、分子量和结合亲和性的物质进行测量。

附图说明

- [0010] 图 1 表示纳米复制的纳米多孔光子晶体生物传感器的示意图。
- [0011] 图 2A-B 表示用 Gsolver 模拟预测的 (A) 本体 (bulk) 和 (B) 表面位移。
- [0012] 图 3A-B 表示盖印 (imprinted) 和固化的周期性的NANOGLASS®结构的 SEM 图像
- [0013] 图 4 表示纳米多孔传感器在浸入到去离子水 (DI) 和异丙醇 (IPA) 下的试验响应。
- [0014] 图 5A-F 表示用于纳米多孔传感器制作的加工流程。
- [0015] 图 6 表示高介电常数纳米多孔光子晶体传感器的示意图。
- [0016] 图 7 表示多孔玻璃传感器的横截面示意图。
- [0017] 图 8 表示暴露于去离子水的多孔玻璃传感器的共振峰, 如通过 RCWA 模拟所预测的。
- [0018] 图 9 表示试验测量的浸入到去离子水中的纳米多孔玻璃传感器的共振峰。
- [0019] 图 10 表示对于沉积在多孔玻璃和聚合物传感器设计 (design) 上的 PPL 的比较 PWV 位移的动态图。
- [0020] 图 11 表示 PWV 位移对聚合物厚度的局部图, 这里 PSS 和 PAH 的交替层对总实测位移做出贡献。
- [0021] 图 12 表示对于沉积在多孔玻璃和聚合物传感器设计上的蛋白质 A 的比较 PWV 位移的动态图。
- [0022] 图 13 表示用纳米多孔玻璃传感器测量的三个动物 IgGs 对蛋白质 A 的结合动力学。
- [0023] 图 14 表示每个不同的 IgG- 蛋白质 A 相互作用的 PWV 位移的传感器比较。
- [0024] 发明详述
- [0025] 本发明的一种实施方案提供一种传感器, 其可以, 尤其, 用于检测有机或无机材料, 例如蛋白质、DNA、小分子、病毒、细胞和细菌, 而不需标记物例如荧光或放射性标记物。当用宽的波长光源 (例如白光或 LED) 照射时, 本发明的光子晶体传感器仅仅反射非常窄波段的波长或者一种波长。被反射的颜色位移到与材料附着到传感器表面相应的更长的波长。本发明的光子晶体传感器结构提供比前述结构高 2-4 倍的灵敏度。在提供更高的灵敏度的传感器结构中一个关键的差异是用纳米多孔低折射率材料代替聚合物亚波长周期光栅结构。
- [0026] 还公开了用于制作能够低成本制造的传感器结构的方法。由于纳米多孔低折射率材料代替聚合物亚波长周期光栅结构, 因此本发明的传感器结构具有比现有技术的结构更高的灵敏度。当将恰好低于 (和备选地包括) 亚波长光栅结构的传感器结构的折射率减少到低于任何用在样品中的液体的折射率时, 光子晶体的电磁场与测试样品相互作用更强, 产生一种结构, 该结构的反射波长由于给定量的被吸收的生物材料而更强地调谐。该系统能够检测例如附着到其表面的单个细胞。
- [0027] 本发明的原理还可以应用到例如基于渐逝波的生物传感器和任何结合光学波导的生物传感器。参见例如美国专利 4,815,843 ;美国专利 5,071,248 ;美国专利 5,738,825。
- [0028] 传感器尤其应用于以下方面:药物研究 (例如高通量筛分、二次筛分、质量控制、细胞毒性、临床试验评估), 生命科学研究 (例如蛋白组学、蛋白质交互分析、DNA- 蛋白质交互分析、酶底物交互分析、细胞蛋白质交互分析), 诊断测试 (例如, 蛋白质的存在、

细胞鉴定)和环境监测(细菌和孢子的检测和鉴定),早先的专利申请和公开出版物描述了与高分辨率成像工具相结合的光子晶体生物传感器表面如何能够被用作仅使用纳升的样品材料而平行地对单一表面进行许多生物化学分析的平台。参见例如以下公开号的美国专利:2002/0168295;2002/0127565;2004/0132172;2004/0151626;2003/0027328;2003/0027327;2003/017581;2003/0068657;2003/0059855;2003/0113766;2003/0092075;2003/0026891;2003/0026891;2003/0032039;2003/0017580;2003/0077660;2004/0132214。

[0029] 光子晶体传感器

[0030] 本发明的光子晶体传感器可以被用来产生在特定波长的尖锐的光学共振反射,其可以用来以高灵敏度追踪分子例如生物材料的相互作用。

[0031] 光子晶体传感器包括亚波长结构化表面。亚波长结构化表面是一类衍射光学元件,其可以模拟薄膜涂层的效果。参见例如,Peng&Morris,"Resonant scattering from two-dimensional gratings,"(由二维光栅的共振散射)J. Opt. Soc. Am. A,第13卷,第5期,第993页,1996年5月;Magnusson,& Wang,"New principle for optical filters,"(滤光器的新原理)Appl. Phys. Lett.,61,第9期,第1022页,1992年8月;Peng & Morris,"Experimental demonstration of resonant anomalies in diffraction from two-dimensional gratings,"(二维光栅衍射中的共振偏差的实验证明)Optics Letters,第21卷,第8期,第549页,1996年4月。本发明的光子晶体传感器的光栅具有小于入射光线波长的光栅周期,使得除了反射的和透射的零级次(order)外,不允许衍射级次。光子晶体传感器可以包括光栅,所述光栅包括或涂覆有高介电常数介电材料,夹在基材层和覆盖层之间,所述覆盖层填充光栅的凹槽(grating groove)。任选地,不使用覆盖层。所述的光栅结构选择性地耦合(couple)窄波段波长的光。这种高度灵敏的耦合情形可以在反射的辐射光谱上产生共振光栅效果,导致窄波段的反射的或透射的波长。所述的光栅的深度和周期小于共振光栅效果的波长。

[0032] 光子晶体传感器结构的反射的或透射的颜色可以通过将分子如特定的结合物或结合配偶体(partner)或二者添加到覆盖层的上表面或光栅表面而改变。所添加的分子增加了入射辐射通过传感器结构的光路长度,并因此改变了最大的反射或透射将出现时的波长。

[0033] 在一种实施方案中,当用白光照射时,传感器被设计成仅反射单一波长或窄波段的波长。当分子被附着到传感器表面时,由于被耦合到光栅的光的光路改变,所反射的波长(颜色)出现位移(shifted)。通过固定分子例如特定的结合物到传感器表面,可以检测互补的结合配偶体分子,而不使用任何种类的荧光探针或颗粒标记物。可以借助浸入流体的或被干燥的传感器表面来实施检测技术。

[0034] 当光子晶体传感器用校准的白光照射并反射时,仅仅窄波段的波长或单一波段的波长被反射。窄波长波段被描述为波长“峰”。当分子被从传感器表面沉积或除去时,“峰波长值”(PWV)改变。读取装置使用校准的白光照射了传感器表面上的独特的位置,并收集校准的被反射的光线。将所收集的光线聚集于波长分光计中来测量 PWV。

[0035] 图1表示了本发明的光子晶体传感器的结构。该传感器包括基材,图案化的低k纳米多孔材料,和基本上均匀的高折射率涂层。低k纳米多孔材料的表面被图案化成亚波

长周期光栅结构,在其上沉积高折射率材料。

[0036] 通常,本发明的低 k 介电材料具有大约 1.1 到大约 3.9 的介电常数 k。低 k 介电材料的例子包括例如:含氟硅酸盐玻璃(大约 3.2- 大约 3.9);聚酰亚胺(大约 3.1- 大约 3);氢硅倍半氧烷(HSQ)(大约 2.9- 大约 3.2);金刚石类碳(大约 2.7- 大约 3.4);黑金刚石(SiCOH)(大约 2.7- 大约 3.3);聚对二甲苯基-N(大约 2.7);B 阶聚合物(CYCLOTENETM 和 SiLKTM)(大约 2.6- 大约 2.7);氟化聚酰亚胺(大约 2.5- 大约 2.9);甲基硅倍半氧烷(MSQ)(大约 2.6- 大约 2.8);聚(亚芳基醚)(PAE)(大约 2.6- 大约 2.8);氟化 DLC(大约 2.4- 大约 2.8);聚对二甲苯基-F(大约 2.4- 大约 2.5);PTFE(大约 1.9);多孔二氧化硅干凝胶和气凝胶(大约 1.1- 大约 2.2);多孔氢硅倍半氧烷(HSQ)(大约 1.7- 大约 2.2);多孔 SiLKTM(B 阶聚合物)(大约 1.5- 大约 2.0);多孔甲基硅倍半氧烷(MSQ)(大约 1.8- 大约 2.2);多孔聚(亚芳基醚)(PAE)(大约 1.8- 大约 2.2)。

[0037] 低 k 纳米多孔材料是无机的、多孔氧化物类低介电材料,其中折射率 n 是大约 1.1 到大约 2.2,并优选大约 1.1 到大约 1.5。低 k 纳米多孔材料可以是例如多孔二氧化硅干凝胶和气凝胶(大约 1.1- 大约 2.2);多孔 HSQ(大约 1.7- 大约 2.2);多孔 SiLKTM(B 阶聚合物)(大约 1.5- 大约 2.0);多孔 MSQ(大约 1.8- 大约 2.2);多孔 PAE(大约 1.8- 大约 2.2)。在本发明的一种实施方案中,所述的纳米多孔材料是 NANOGLASS[®],其为多孔 SiO₂。在该 SiO₂ 中产生多孔,由此将介电常数由大约 3.9 降低到高达 1.9。

[0038] 具有高折射率的、适于本发明的材料包括例如氧化锡、五氧化二钽、硫化锌、二氧化钛、氮化硅或其组合。高 k 介电材料具有大约 1.8 到大约 3.0 的折射率。折射率 n 被描述为介质的光学特性,并被定义为在自由空间的光速与在该介质中的光速的比值。基材可以包括例如玻璃、塑料或环氧树脂。

[0039] 在本发明的一种实施方案中,传感器用下面的参数来定义:

- [0040] n_{hiK} 大约从 1.8 到 3.0
- [0041] n_{nano} 大约从 1.1 到 1.5
- [0042] n_{sub} 大约从 1.4 到 1.6
- [0043] Λ 大约从 200nm 到 1500nm
- [0044] D 大约从 50nm 到 900nm
- [0045] t_{hiK} 大约从 30nm 到 700nm
- [0046] t_{nano} 大约从 10nm 到 5000nm

[0047] 在本发明的另一种实施方案中,所述的传感器结构包括下面的材料:

- [0048] 基材材料 玻璃
- [0049] 纳米多孔材料 Nanoglass[®] (Honeywell International, Santa Clara, CA)
- [0050] 高折射率涂层 TiO₂
- [0051] 并通过下面的参数来定义。
- [0052] n_{hiK} 2.25
- [0053] n_{nano} 1.17
- [0054] n_{sub} 1.50
- [0055] Λ 550nm
- [0056] D 170nm

[0057] t_{hiK} 120nm

[0058] t_{nano} 600nm

[0059] 使用 GSolver (Grating Solver Development Co., Allen, TX) 和 FDTD Solutions (Lumerical Solutions, Inc., Vancouver, BC, 加拿大) 来模拟上面的实施方案。示于图 2A 中的结果预示了本体灵敏度相比于前先设计的灵敏度提高了 1 倍以上。本体灵敏度通过本体位移系数来确定, 其对于这个实施方案的定义和计算如下。

$$[0060] \frac{\Delta PWV}{\Delta n} = \frac{\lambda_{IPR} - \lambda_{DI}}{n_{IPR} - n_{DI}} = \frac{794.4 - 779.6}{1.378 - 1.330} = 308.3$$

(1)

[0061] 不混有纳米多孔材料的设计的模拟和实验数据都给出了大约 150 的本体位移系数。

[0062] 由于所提出的装置通过渐逝场和非常接近于传感器表面的材料的相互作用而发挥作用, 所以不但考虑全部的本体介质的折射率, 而且考虑在传感器上面的薄层的折射率是有益的。图 2 表示了以通过具有 1.40 折射率的层建模的 20nm 厚的“生物涂层”的 GSOLVER 模拟结果。尽管单独的生物分子或生物分子单层的片段 (fractions) 不具有确定的折射率值, 但是为了说明的目的, 生物层被模拟为确定厚度的均匀薄膜。

[0063] 示于图 3 中的图案化的 NANOGLOSS ® 结构的 SEM 图像证明了一种成功的盖印方法。当 TiO₂ 沉积后, 使用去离子水和异丙醇, 通过检查用读取装置上的分光计捕捉的所形成的峰波长 (PWV) 位移来询问 (interrogated) 所完成的传感器的灵敏度。使用图 4 的试验数据, 应用等式 1, 可以计算本体位移系数 :

$$[0064] \frac{\Delta PWV}{\Delta n} = \frac{\lambda_{IPR} - \lambda_{DI}}{n_{IPR} - n_{DI}} = \frac{855.1 - 841.1}{1.378 - 1.330} = 291.7$$

[0065] 虽然是模拟, 但其落入所证实的约 5% 的偏差范围内。

[0066] 亚波长光栅的横截面曲线可以包括任何周期性重复函数 (function), 例如“矩形波”。光栅可以包括重复的形状图案, 例如连续的平行线、正方形、圆、椭圆、三角形、梯形、正弦波、卵形、矩形和六边形。

[0067] 传感器可以包括一维的线性光栅表面结构, 即一系列的平行线或凹槽。虽然二维光栅在横跨传感器表面的平面的两个横向方向中具有都是亚波长的特征, 一维光栅的横截面仅仅在一个横向方向上是亚波长的, 而长度 (long dimension) 可以大于共振光栅效果的波长。

[0068] 这些包括例如, 三角形或 V 形、U 形、倒 V 或 U 形、正弦曲线形、梯形、阶梯形和正方形。所述的光栅还可以在高度上正弦变化。

[0069] 可以使用交替的传感器结构, 其由一组同心环组成。在这种结构中, 每个同心环的内径和外径的差等于大约光栅周期的一半。每个相继的环具有比前一个环的内径约大一个光栅周期的内径。所述的同心环图案延伸而覆盖单个传感器位置——例如微阵列点 (microarray point) 或微量滴定板孔。每个单独的微阵列点或微量滴定板孔具有在其中中心化的单独的同心环图案。这样的结构的全部偏振方向具有相同的横截面曲线。同心环结构的光栅周期小于共振反射光的波长。

[0070] 本发明的传感器可以进一步包括在与基材层相对的光栅表面上的覆盖层。在存在覆盖层的情况下, 一种或多种特定的结合物被固定在与光栅相对的覆盖层的表面上。优

选地，覆盖层包括具有比包括光栅的材料更低的折射率的材料。覆盖层可以包括例如玻璃（包括旋涂玻璃（SOG））、环氧树脂或塑料。

[0071] 在光栅上没有平面化 (planarizing) 覆盖层的情况下，也可以获得共振反射。不使用平面化覆盖层的情况下，周围介质（例如空气或水）填充该光栅。因此，分子在暴露于该分子的光栅的全部表面上，而不仅仅在上表面上，被固定到该传感器。

[0072] 本发明提供了共振反射结构和透射过滤结构。对于共振反射结构，光输出的测量是在所述结构的与照射光束的同一侧进行的。对于透射过滤结构，光输出的测量是在所述结构的与照射光束的相反一侧进行的。反射的和透射的信号是互补的。也就是说，如果波长是强反射的，则其是弱透射的。假定所述的结构自身没有能量吸收，则在任何给定波长，反射的+透射的能量是恒定的。共振反射结构和透射滤光片被设计成在特定波长给出高效反射。因此，反射滤光片将“通过”窄波段的波长，而透射滤光片将从入射光“切掉”窄波段的波长。

[0073] 在本发明的一种实施方案中，提供了一种光学装置。光学装置包括类似于本发明的任何传感器的结构；但是，光学装置不包括固定在光栅上的一种或多种结合物。光学装置可以被用作窄波段滤光器。

[0074] 基于渐逝波的传感器可以包括基材承载的波导薄膜；在波导薄膜（并且任选地作为基材的一部分）之间是衍射光栅。参见例如美国专利 4,815,843。低 k 介电材料例如低 k 纳米多孔材料可以用于所述的衍射光栅或低 k 纳米多孔材料和基材的组合。所述的波导包括波导薄膜和基材。波导薄膜可以是例如氧化锡、五氧化二钽、硫化锌、二氧化钛、氮化硅或其组合，或者聚合物例如聚苯乙烯 (polystyrole) 或聚碳酸酯。衍射光栅存在于波导薄膜和基材的界面或者存在于波导薄膜的体积中。该衍射光栅包括低 k 材料，例如低 k 纳米多孔材料。波导薄膜的折射率高于邻近介质（即基材和测试样品）的折射率。所述基材可以是例如塑料、玻璃或环氧树脂。特定的结合物可以被固定在所述波导薄膜的表面上和添加到该表面的测试样品上。激光在该波导薄膜内通过总内反射来传播。由于结合到其的分子引起的波导薄膜折射率的改变可以通过观察所发射的输出耦合的光的角度的变化而检测。

[0075] 传感器的制造

[0076] 本发明的传感器可以当纳米多孔材料是未固化的、可变形状态时，使用柔性的橡胶模板来将光栅结构压花到纳米多孔材料中来制造。不同于非柔性的固体模板，柔性的橡胶模板允许由纳米多孔材料的固化过程而产生溶剂蒸发离去。许多柔性的模板可以用单个硅晶片“主”模板而低成本产生，并且单个的柔性的模板可以多次使用而廉价地生产许多结构化纳米多孔亚波长光栅结构。

[0077] 传感器可以在大表面上廉价地生产并且还可以例如，结合到单一用途的标准一次性分析液体处理格式中，例如微板、微列阵载玻片或微流体片。

[0078] 图 5 概述了一种用于制作结合纳米多孔层的光子晶体的工艺流程。设计了图案化的“主 (master)”晶片，其通常是硅或玻璃，其包含将与随后盖印到多孔薄膜中的那些精确相应的特征（参见图 5A）。该主晶片 (master) 然后用作模具，在其中灌入液体弹性体，如图 5B 所示。固化后，小心地从主晶片上剥离最新形成的负性橡胶“子 (daughter)”模。在所述的多孔薄膜应用到期望的基材后，所述的子模放置在未固化的膜的顶上，例如图 5D 所示。在模具处于适当位置的情况下，多孔材料被部分固化、完全固化或未固化。气体可透过

的橡胶模具允许在这个固化过程中的溶剂挥发。一旦所述的薄膜能够保持刚性的形状，则剥离子模并使剩余的结构完全固化。表示在图 5F 中的所完成的装置是通过将薄的、高折射率材料均匀地沿着多孔薄膜的图案化表面沉积而获得的。

[0079] 另一种用于制作结合纳米多孔层的光子晶体生物传感器的方法表示在图 6 中。对于这种结构，将纳米多孔材料层固化在基材上。接着，将高介电常数材料均匀地沉积在所述多孔层的上面。高介电常数材料具有比纳米多孔材料的 k 高大约 5% 的介电常数 k。在本发明的一种实施方案中，该高介电常数材料具有大于大约 3.5 的 k。被沉积的高 k 材料然后通过电子束或 DUV 光刻 (lithography) 而图案化，并随后蚀刻来获得期望的特征。虽然由于对每个装置需要高分辨率的光刻加工，这种传感器设计不是成本有效的，但是它显示出对于获得类似于上述通过盖印制作的传感器所见的灵敏度增强的希望。

[0080] 基于渐逝波的生物传感器还可以使用如本文中所述的同样的方法来制造。

[0081] 特定的结合物和结合配偶体

[0082] 一种或多种特定的结合物可以通过例如物理吸附或者化学结合而被固定在光栅或覆盖层（如果存在的话）上。特定的结合物可以是例如有机分子如核酸、多肽、抗原、多克隆抗体、单克隆抗体、单链抗体 (scFv)、F(ab) 片段、 $F(ab')_2$ 片段、Fv 片段、小有机分子、细胞、病毒、细菌、聚合物、肽溶液、单链或双链 DNA 溶液、RNA 溶液、含有来自组合化学库的化合物的溶液或生物样品；或无机分子。生物样品可以是例如血液、血浆、血清、胃肠分泌物、组织或肿瘤的匀浆、滑液、粪便、唾液、痰、囊液、羊水、脑脊髓液、腹膜液、肺灌洗液、精液、淋巴液、眼泪或者前列腺液。

[0083] 优选地，一种或多种特定的结合物被排列在传感器上的不同特定的位置的微列阵中。一种或多种特定的结合物可以被结合到它们的特定的结合配偶体。特定的结合物的微列阵包括在本发明传感器表面上的一种或多种特定的结合物，使得表面包含许多不同特定的位置，每个具有不同的特定的结合物或者具有不同量的特定的结合物。例如，列阵可以包括 1、10、100、1,000、10,000 或 100,000 不同特定的位置。这样一种传感器表面被称为微列阵，因为一种或多种特定的结合物典型地被布置在 x-y 坐标的规则的栅格图案中。但是，本发明的微列阵可以包括布置在任何类型的规则或不规则图案中的一种或多种特定的结合物。例如，不同特定的位置可以限定一种或多种特定的结合物的微阵列点。微阵列点直径可以是大约 50 到大约 500 微米。微阵列点直径还可以是大约 150 到大约 200 微米。

[0084] 本发明传感器上的微列阵可以通过将一种或多种特定的结合物的微液滴放置到例如光栅或覆盖层表面上的位置的 x-y 栅格上而产生。当该传感器暴露于包括一种或多种结合配偶体的测试样品时，所述的结合配偶体将优选地被吸引到微列阵上的不同特定的位置，其包括对所述的结合配偶体具有高亲合力的特定的结合物。一些不同特定的位置将在它们的表面上聚集结合配偶体，而其他的位置将不是这样。

[0085] 特定的结合物特定地结合到与本发明的传感器表面接触的结合配偶体。特定的结合物特定地结合到它的结合配偶体，但是基本上不结合到其他的与传感器表面接触的结合配偶体。例如，在所述的特定的结合物是一种抗体并且它的结合配偶体是特定的抗原的情况下，所述的抗体特定地结合到所述的特定的抗原，但是基本上不结合到其他抗原。结合配偶体可以是例如核酸、多肽、抗原、多克隆抗体、单克隆抗体、单链抗体 (scFv)、F(ab) 片段、 $F(ab')_2$ 片段、Fv 片段、小有机分子、细胞、病毒、细菌、聚合物、肽溶液、单链或双链 DNA 溶

液、RNA 溶液、含有来自组合化学库的化合物的溶液、无机分子或生物样品。

[0086] 本发明微列阵的一个例子是核酸微列阵，其中在该列阵中的每个不同特定的位置包含不同的核酸分子。在这种实施方案中，在所述核酸微列阵中的点检测测试样品中与核酸的相反链的互补化学结合。

[0087] 尽管微量滴定板是最普通的用于生物化学分析的格式，但是微列阵日益被视为是用于使可以在一个时刻测量的生物化学相互作用的数目最大化同时使贵重试剂的体积最小化的手段。通过用微阵列点样仪 (microarray spotter) 将特定的结合物应用到本发明的传感器上，可以获得 10,000 特定结合物 /in² 的特定结合物密度。通过聚焦照射光束来询问单个的微列阵位置，传感器可以被用作无标记物的微列阵读取系统。

[0088] 虽然对于特定的结合物或结合配偶体而言，无需包括可检测到的标记物，但是可检测到的标记物可以被用来检测传感器表面上的特定的结合物或结合配偶体。在本发明的特定的结合物和结合配偶体没有检测标记物的情况下，它们仍然可以包括其他类型的标记物和标识物，用以增加分析灵敏度、固定特定的结合配偶体到生物传感器表面、强化特定的结合物对他们的结合配偶体的结合和杂化、以及用于其他目的。

[0089] 一种或多种特定的结合物的固定

[0090] 分子可以被固定在传感器上，使得它们将不会由于冲洗过程而被洗掉，以及使得对测试样品中的分子的结合不受传感器表面的阻止。几种不同类型的表面化学手段已经被用于将分子共价附着到例如，用于不同类型的微列阵和传感器中的玻璃上。这些相同的方法可以容易地适应于本发明的传感器。

[0091] 一种或多种类型的分子可以通过物理吸附（即不使用化学键）或通过化学结合（即使用化学键）附着到传感器表面。化学结合可以产生在传感器表面上的分子的更强的附着并提供表面结合的分子的确定的取向和构型。

[0092] 其他类型的化学结合包括例如胺活化、醛活化和镍活化。这些表面可以用来将几种不同类型的化学键附着到传感器表面。虽然胺表面可以用来附着几种类型的连接分子 (linker molecule)，但是醛表面可以用来直接结合蛋白质，不需要另外的连接物 (linker)。镍表面可以用来结合具有混入的组氨酸 (" his") 标记 (tag) 的分子。用镍活化表面检测 "his- 标记的" 分子是本领域公知的 (Whitesides, Anal. Chem. 68, 490, (1996))。

[0093] 特定的结合物固定到塑料、环氧树脂或高折射率材料可以基本上如所述的固定到玻璃一样进行。但是，可以取消酸洗步骤，此处这种处理将损害其中特定的结合物固定其上的材料。

[0094] 含液体的容器

[0095] 本发明的传感器可以包括内表面，例如含液体的容器的底部表面。含液体的容器可以是例如微量滴定板孔、试管、陪替培养皿或微流体通道。本发明的一种实施方案是结合到任何类型的微量滴定板的传感器。例如，传感器可以通过将反应容器的壁装配到共振反射表面上而被结合到微量滴定板的底部表面，使得每个反应“点”可以暴露于不同特定的测试样品。因此，每个单独的微量滴定板孔可以充当各自的反应容器。因此，各自的化学反应可以在邻近的孔中发生，而不需要混合反应流体，并且化学上不同特定的测试溶液可以被应用于单个的孔。

[0096] 用于药物高通量筛选实验室、分子生物学研究实验室和诊断分析实验室的最常见的分析格式是微量滴定板。所述板是标准尺寸的塑料盒 (cartridge), 其可以包含 96、384 或 1536 个单独的分布于栅格中的反应容器。由于这些板的标准机械构造, 因此设计液体分配、自动化板操作和检测系统, 从而与这种常见的格式一起工作。本发明的传感器可以被结合到常规的微量滴定板的底部表面。因为传感器表面可以在大的区域中制作, 并且因为读取系统不与传感器表面物理接触, 因此可以限定任意数量的单独的传感器区域, 其仅仅受照射光学元件的聚焦分辨率和沿着传感器表面扫描照射 / 检测探针的 x-y 工作台的限制。

[0097] 传感器还可以结合到其他一次性实验室分析格式例如微列阵载玻片、流动池和细胞培养板。为了与现有的微列阵处理装置例如点样仪 (spotters) 和培养室的兼容性, 将传感器结合到普通实验室格式中是令人期望的。

[0098] 传感器的使用方法

[0099] 可以使用本发明的传感器, 例如, 平行研究一种或多种分子 / 分子相互作用; 例如, 通过应用一种或多种结合配偶体到具有固定其表面上的一种或多种特定的结合物的传感器上, 可以检测一种或多种特定的结合物对它们各自的结合配偶体的结合, 而不使用标记物。将传感器用光线照射, 并检测来自传感器的光线的最大反射波长或最小透射波长。如与其中一种或多种特定的结合物没有结合到它们各自的结合配偶体的情形相比较, 如果一种或多种特定的结合物已结合到它们各自的结合配偶体, 那么光线的反射波长位移。在将传感器用包含一种或多种特定的结合物的不同特定的位置的列阵进行覆盖的情况下, 那么从传感器的每个不同特定的位置检测光线的最大反射波长或最小透射波长。

[0100] 在本发明的一种实施方案中, 以列阵格式可以将各种特定的结合物例如抗体固定到本发明的传感器上。所述传感器然后与包括结合配偶体的所关注的测试样品例如蛋白质相接触。仅仅特定地结合到固定到传感器上的抗体的蛋白质保持对传感器的结合。这种方法基本上是酶连接的免疫吸收剂分析的大规模版本, 但是不需要使用酶或荧光标记物。

[0101] 可以通过检测来自传感器的光线反射波长并且将一种或多种酶施加到该传感器来检测酶的活性, 其中在所述传感器上已固定一种或多种特定的结合物。清洗该传感器并用光线照射。自传感器测定光线的反射波长。在一种或多种酶通过酶活性改变了传感器的一种或多种特定的结合物的情况下, 光线的反射波长位移。

[0102] 另外, 测试样品, 例如, 含有结合配偶体的细胞溶解产物可以被应用到本发明的传感器, 随后清洗以除去未结合的材料。结合到传感器的结合配偶体可以随后从传感器上洗脱并通过例如质谱来识别。任选地, 噬菌体 DNA 展示文库可以应用到本发明的传感器, 随后清洗除去未结合的材料。结合到传感器上的单个噬菌体颗粒可以被分离, 然后可以对这些噬菌体颗粒中的插入片段 (inserts) 进行排序而确定结合配偶体的身份。

[0103] 对于上面的应用, 特别是蛋白组应用, 选择性结合材料的能力, 例如, 由测试样品到本发明传感器上的结合配偶体, 随后选择性地从传感器的不同特定的位置除去结合的材料以便进一步分析的能力是有利的。本发明的传感器还能够通过测量光线反射波长的位移来检测和量化结合到传感器列阵不同特定的位置的来自样品的结合配偶体的数量。此外, 在一个不同特定的传感器位置处的波长位移可以与在其他的不同特定的传感器位置处的正和负控制进行比较从而确定结合到传感器列阵的不同特定的位置的结合配偶体的数量。

[0104] 在本发明的一种实施方案中, 可以检测第一分子与第二测试分子之间的相互作

用。使用上述的传感器；但是，没有固定在其表面上的特定的结合物。因此，该传感器包括一维或二维光栅、支撑所述一维或二维光栅的基材层和任选地，覆盖层。如上所述，当照射所述传感器时，在反射辐射光谱中产生共振光栅效果，并且光栅的深度和周期小于该共振光栅效果的波长。

[0105] 为了检测第一分子与第二测试分子之间的相互作用，将第一和第二分子的混合物应用到传感器上的不同特定的位置。不同特定的位置可以是传感器上的一个点或者孔，或者可以是传感器上的大的区域。第一分子和第三对照分子的混合物也被应用到传感器上的不同特定的位置。该传感器可以是与上述相同的传感器，或者可以是第二传感器。如果该传感器是相同的传感器，则第二不同特定的位置可以用于第一分子和第三对照分子的混合物。或者，在第一和第二分子被从传感器清洗后，可以使用相同的不同特定的传感器位置。所述的第三对照分子不与第一分子相互作用，并且与第一分子尺寸大约相同。测量来自一个或多个传感器的不同特定的位置的光线的反射波长的位移。如果来自具有第一分子和第二测试分子的不同特定的位置的光线的反射波长的位移大于来自具有第一分子和第三对照分子的不同特定的位置的反射波长的位移，则第一分子和第二测试分子相互作用。相互作用可以是，例如，核酸分子的杂化、抗体或抗体片段与抗原的特定结合、以及多肽的结合。第一分子、第二测试分子或第三对照分子可以是，例如，核酸、多肽、抗原、多克隆抗体、单克隆抗体、单链抗体 (scFv)、 $F(ab)$ 片段、 $F(ab')$ ₂ 片段、Fv 片段、小有机分子、细胞、病毒和细菌。

[0106] 本文中任何地方所提及的全部的专利、专利申请和其他科学或技术著述以其全部内容引入作为参考。本文中所述的作为目前优选的实施方案代表的方法和组合物是示例性的，并且目的不是限制本发明的范围。本文中的改变和其他用途对本领域技术人员来说是显而易见的，并且包涵于本发明的精神中。在不存在任何的没有明确在本文中公开的一种或多种要素、一种或多种限制的情况下，本文中例证性描述的本发明能够适当地进行实践。因此，例如，在本文中各自实例中，任何的术语“包括”、“基本上由…组成”和“由…组成”可以用其他两个术语中的任一个来代替。已经被使用的术语和表述被用作说明书的术语而非限制，并且这样的术语和表述的使用目的不是排除所示和所述的特征或它们的一部分的任何等价物，但是，应当理解在所要求保护的发明的范围内各种变形是可能的。因此，应当理解尽管本发明已经通过实施方案和任选的特征进行了特定的公开，但是本文中所公开的概念的变形和变化被认为是在如说明书和所附权利要求所限定的本发明的范围内。

[0107] 此外，在本发明的特征或方面按照备选内容的马库什组或其他组进行描述的情况下，本领域技术人员将认识到本发明因此还按照所述的马库什组或其他组的任何单独的组元或组元的子集进行了描述。

[0108] 实施例

[0109] 实施例 1

[0110] 计算机模拟

[0111] 使用严格耦合波分析 (Rigorous Coupled Wave Analysis, RCWA) 和时域有限差分 (Finite Difference Time Domain, FDTD) 模拟来预测一维表面光子晶体生物传感器的共振波长和本体折射率灵敏度。该装置结合了低折射率 ($n = 1.17$) 纳米多孔介电表面结构来代替以前报道过的聚合物 ($n = 1.39$) 表面结构。使用软接触压花方法来产生在玻璃基

材上的表面结构化低折射率多孔薄膜（其具有与以前的聚合物结构相同的深度和周期）以便能够进行并排的灵敏度对比。通过将灵敏度表征为本体折射率和表面吸附材料的方法来比较多孔玻璃生物传感器与非多孔聚合物生物传感器的灵敏度。最后，进行蛋白质结合分析对比来证明传感器的稳定性和所述装置用于选择性检测功能的能力。

[0112] 使用两个软件包来建模和模拟所述的聚合物和多孔玻璃传感器。首先，使用 RCWA 算法的 2-D 衍射光栅分析工具 (GSOLVER) 提供了用于最初的传感器建模的快速和简单的方法。第二，FDTD (Lumerical) 提供了更加通用和强大的工具，其能够对由任意的源照射的任意光学装置计算在任何时间或光谱位置的任何场分量。参见例如 Kunz & Luebbers, The Finite Difference Time Domain method for Electromagnetics (用于电磁学的时域有限差分方法). 1993, Boca Raton :CRC Press。使用 FDTD 来校验 RCWA 结果并用来更深入的观察改变所述传感器结构的效果。

[0113] RCWA 和 FDTD 模拟都表明将先前装置的图案化的 UV 固化聚合物用低折射率材料进行取代产生本体位移系数的 2 倍增加。通过 RCWA 预测浸入到 DI H₂O 中多孔玻璃传感器的共振波长为 844.3 nm，具有大约 2 nm 的半峰全宽 (FWHM)，如图 8 所示。模拟预示了具有传感器几何形状微小改变的本体位移系数更进一步的改进。

[0114] 使用 DI H₂O 和 IPA 的本体灵敏度测试是在 23 个多孔玻璃传感器和 11 个聚合物传感器上进行的。对于所述的多孔玻璃和聚合物传感器来说，平均 PWV 位移分别是 13.6 ± 2.4 nm 和 5.1 ± 1.5 nm。所测量的多孔玻璃传感器的本体位移系数 (Δ PWV / Δ n) 是聚合物装置的 2.7 ± 1.2 倍。在 DIH₂O 中的多孔玻璃装置的测量给出了 829.5 ± 16.5 nm 的平均 PWV 和 3.5 ± 2.5 nm 的 FWHM。所测量的光谱之一在图 9 中示出，其中所述的响应已经被规格化成为理想的反射体来说明任何的仪器损失。从所述的复制装置测量的较低的反射效率和更宽的 FWHM 可以被归结为小的、但是可测量的材料损失以及在该复制结构中所观察到的缺陷。所测量的光谱特征的大的差异是由于，至少在部分上由于，使用几种略微不同的（尽管标称相同的）主图案和缺少对复制过程的自动控制。

[0115] 实施例 2

[0116] 传感器制作

[0117] 将源自溶胶 - 凝胶的低折射率纳米多孔二氧化硅薄膜（参见例如美国专利 6,395,651）结合到传感器中来代替先前设计中使用的 UV 固化的环氧树脂。因为低折射率的材料是通过加热固化而非 UV 暴露，因此需要开发一种新的制作方法。尽管很显然塑料基材不能维持用于多孔玻璃退火所必需的高温，但是理想的是保留了低成本的盖印方法。一种对于溶胶 - 凝胶玻璃盖印可行方法是使用聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 模具和玻璃基材。参见例如 Parashar 等人, Nano-replication of diffractive opticalelements in sol-gel derived glasses (在源自溶胶 - 凝胶的玻璃中的衍射光学元件的纳米复制). Microelectronic Engineering, 2003. 67-8 :710-719。

[0118] 所述的低 k 生物传感器的亚波长光栅结构是使用光刻、成型和盖印的方法的结合而形成的。首先用 Sylgard 184 PDMS (Dow Corning) 子模复制硅晶片图案，该图案具有最终的传感器中所期望的表面结构的正图像。为了便于 PDMS 模具从所述硅晶片中脱出，该晶片是用二甲基二氯硅烷 (Repel Silane, Amersham Biosciences) 的脱模层进行表面处理的。参见例如 Beck 等人, Improving stamps for 10nm level wafer scalenanoimprint

lithography. Microelectronic Engineering, 2002. 61-2 :441-448。该PDMS 复制品然后被用来盖印未固化的旋涂在玻璃基材上的 NANOGLASS ⑦的薄膜 (Honeywell Elec. Mat.) , 所述薄膜是一种低折射率的溶胶凝胶玻璃。一旦所述的低折射率电介质变硬, 则除去该柔性的 PDMS 模具并通过进一步的烘焙来使所述的溶胶 - 凝胶玻璃完全固化。该传感器结构通过蒸镀 175nm 的 TiO₂ 到所述的图案化的表面来完成。随后用二甲基二氯硅烷的表面处理促进了生物吸附并且提高了传感器的稳定性。图 7 表示了该装置横截面的示意图。

[0119] 所述的聚合物结构类似于先前出版物中所描述的聚合物结构。参见例如 Cunningham 等人, A plastic colorimetric resonant optical biosensor for multiparallel detection of label-free biochemical interactions. Sensors and Actuators B, 2002. 85 :219-226。尽管聚酯 / 聚合物和低折射率多孔玻璃装置分别使用 120nm 和 165nm TiO₂ 涂层, 但是两种结构都使用 550nm 周期和 170nm 的盖印深度。这两种装置将在整个其余的实施例中被称为“聚合物”和“多孔玻璃”传感器。所述的聚合物装置以排列并附着到无底的 96 孔标准微量滴定板 (SRU Biosystems) 上的传感器的列阵的形式提供。所述的多孔玻璃装置在 75mm×25mm×1mm 玻璃显微镜载玻片上制作。对于每个载玻片上的 5-6 个传感器, 将粘性橡胶孔 (Research International Corp.) 附着在所述的玻璃表面来提供液体包含物。

[0120] 使用去离子水 (DI H₂O, n = 1.333) 和异丙醇 (IPA, n = 1.378) 来测定每个传感器的本体位移系数。首先, 将 DI H₂O 移液到传感器的表面并测量 PWV。读取装置的构造先前已经报道过。参见例如 Cunningham 等人, colorimetric resonant reflection as a direct biochemical array technique. Sensors and Actuators B, 2002. 81 :316-328。将宽波长光源耦合到光纤, 其从基材下垂直入射来照射所述的光子晶体表面的大约 2mm 直径区域。反射光通过第二光纤进行收集并用分光计测量, 第二光纤被捆扎而紧接于所述的照射纤维。自动运动工作台能够在定时间隔平行收集来自许多孔的反射数据, 使得获得动态信息。

[0121] 接下来, 彻底干燥所述表面并对 IPA 重复前述步骤。然后计算 DIH₂O 和 IPA 之间的本体位移系数 :PWV 的变化除以本体折射率的变化。

[0122] 实施例 3

[0123] PPL 生物附着测试

[0124] 表面吸附材料的灵敏度表征为借助施用到传感器表面的 0.01M 磷酸盐缓冲盐水 (PBS :pH = 7.4) 来检测制备成 0.5mg/ml 溶液的 PoIy (LyS, Phe) (PPL ;Sigma-Aldrich ;MW = 35, 400Da) 的单层薄膜。在 1 分钟的取样间隔中, 生物附着测试从将 PBS 移液到测试孔中开始。10 分钟之后, 将缓冲液用 PPL 溶液代替并使其稳定 30 分钟。然后清洗这些孔三次并用 PBS 填充而获得最后的 30 分钟的数据测量。

[0125] PPL 被沉积在 5 个多孔玻璃和 9 个聚合物传感器上。图 10 比较了一个装置的动态图, 表明多孔玻璃传感器有大约 4 倍的表面灵敏度增加。第一步建立了基线, 第二个步骤对应于 PPL 的快速表面吸附和饱和, 并且最后的第三部分的曲线说明在通过用 PBS 缓冲液冲洗而消除弱的或非特定结合的分子后的单层稳定性。在 PPL 固定到多孔玻璃传感器上的过程中产生的 PWV 位移比使用聚合物装置所测量的 PWV 位移饱和得更慢。显然, 多孔玻璃传感器表面明显不利于蛋白质单层吸附。进一步的表面化学最优化应当会减轻这种效果。

但是,所述的多孔玻璃传感器在将未结合的分子洗掉后表现出优异的稳定性。

[0126] 实施例 4

[0127] 多层聚合物测试

[0128] 为了表征作为距离传感器表面的距离的函数的不同的灵敏度,将一系列聚合物电解质单层沉积在传感器上。当在检测装置上连续监测时,通过在带正负电荷的聚合物层之间交变,可以在传感器上形成堆栈的均匀的自限的聚合物。参见例如 Cunningham 等人, Enhancing the surfacesensitive of colorimetric resonant optical biosensors. Sensors and ActuatorsB, 2002. 87(2) :365-370。将三个不同的聚合电解质沉积在传感器表面上:阴离子聚(4-苯乙烯磺酸钠)(PSS; MW = 70000Da)、阳离子聚(亚乙基酰亚胺)(PEI; MW = 60000Da)和阳离子聚(烯丙基胺氯化氢)(PAH; MW = 70000Da)。所述的聚合物电解质购自 Sigma-Aldrich。用去离子水制备 0.9MNaCl 缓冲液溶液(Sigma-Aldrich)。将所述的聚合物电解质以 5mg/ml 的浓度溶解在该缓冲液中。在 1 分钟的取样间隔中,在 5 分钟的步骤中进行多层表面灵敏度表征。首先,将 NaCl 缓冲液移液到传感器孔中。接着,将该缓冲液除去和用 PEI 溶液代替。然后清洗所述孔三次并用缓冲液填充。对 PSS 和 PAH 重复前面两个步骤直到 7 个 PSS-PAH 层已经沉积在单个 PEI 层上。

[0129] 在它们被吸附到所述表面上时,前述的 PSS 和 PAH 的 14 个交替层每个产生被检测的 PWV 中的可测量的位移。图 11 给出了 PWV 位移对聚合物厚度的空间曲线图,其中在清洗步骤之后,在缓冲液中测量每个 PWV 位移。每个聚合物电解质的单层是大约 4.4nm 厚并且具有 1.49 的折射率。参见例如, Picart 等人, Determination of structural parameterscharacterizing thin films by optical methods :A comparison between scanning angle reflectometry and optical waveguide lightmode spectroscopy. Journal of Chemical Physics, 2001. 115(2) :1086-1094。所述的多孔玻璃传感器表现出为所述的聚合物传感器的大约 1.5 倍的平均表面灵敏度。但是,应当提到的是沉积在多孔玻璃装置上的每个所述的前两层(大约 9nm)产生了两倍于其余各层值的 PWV 位移,而在聚合物装置中未观察到这样的效果。

[0130] 实施例 5

[0131] 生物分析:蛋白质 A-IgG

[0132] 为了证明用所提出的装置的选择性检测,进行生物分析,其表征了人、羊和鸡的 IgG 的蛋白质 A 的亲合性。蛋白质 A(Pierce Biotechnology) 是用 0.01M PBS 制备成 0.5mg/ml 的浓度。在使用前用 0.22 μm 注射过滤器(Nalgene) 过滤器过滤所述的缓冲液。将人、羊和鸡免疫球蛋白 G(IgG) 血清(Sigma-Aldrich) 在 0.01M PBS 中稀释成浓度为 0.5mg/ml。在每个步骤之间允许 30 分钟并且间隔 1 分钟取样,首先将 PBS 溶液移液到传感器的孔。接着,将所述的缓冲液用蛋白质 A 溶液代替。然后冲洗所述的孔三次,并用缓冲液填充。在信号稳定后,将所述孔中的三个孔的缓冲液用人、羊和鸡的 IgG 代替,而将第四个孔放置作为仅仅含有缓冲液的参照物。最后,除去 IgGs 并再次冲洗所述的孔并用 PBS 填充来获得最后 30 分钟的数据测量。

[0133] 将蛋白质 A 引入到 15 个多孔玻璃和 16 个聚合物传感器的孔中。在清洗步骤之后所产生的 PWV 位移是多孔玻璃装置的大约 4 倍。图 13 表示了所测试的多孔玻璃传感器的具有蛋白质 A 的人、羊和鸡的 IgG 的实测结合动力学,而图 14 给出了两种装置之间的对

于每个抗体的终点 PWV 位移比较（相对于没有 IgG 的参考孔）。在聚合物传感器表面上，蛋白质 A 的表面吸附饱和得更快，这类似于在 PPL 生物附着测试中所观察到的。多孔玻璃装置表现出对具有蛋白质 A 更高亲合力的抗体更大的灵敏度。以两倍的灵敏度检测人 IgG 结合，而鸡 IgG 缺乏对于蛋白质 A 的任何特异性（参见例如，Richman 等人，*The binding of Staphylococcal protein A by the sera of different animal species. Journal of Immunology, 1982. 128 :2300-2305*），产生相当的响应并提供非特定结合的量度。

[0134] 将光子晶体生物传感器设计成将电磁能耦合到沉积到它的表面上的来自液体测试样品的生物材料。虽然所述装置自身是由低折射率表面结构和高折射率介电涂层组成，但是填充在所述表面结构中的液体测试样品也必须被认为是该传感器的整体部分——以及唯一的可以引起共振波长的改变的动态组件。将非常低折射率材料结合到光子晶体生物传感器结构中的目的是使共振波长的电磁场偏向于与液体测试样品较强的相互作用并且和不与表面吸附的材料相互作用的光子晶体的内部区域较弱的相互作用。

[0135] 旋涂低 k 介电材料的使用平衡了 (leverage off) 在集成电路制造团体进行的大量的投资，所述团体需要快速加工、结构稳定性和排除液体渗透。这个工作的独特的方面是使用盖印方法来精确地将亚微米表面结构赋予到纳米多孔玻璃薄膜，而不使用光刻。在固化加工的最初阶段过程中，在低 k 薄膜表面上盖印工具的存在不会改变最终的固化结构化薄膜的折射率。所述的盖印方法能使主要的成本仅仅存在于所述的“主”硅晶片制造中，这又用来产生几乎不限数量的“子”PDMS 盖印工具。每个 PDMS 工具可以被用来产生大量的传感器结构而不损坏该工具，这是因为仅仅需要很小的力来使得旋涂液体低 k 层适应于该工具。在盖印之后，该低 k 介电薄膜在热板上使用易于自动化的办法快速固化。已经发现柔性的盖印工具的使用比用硅主晶片直接盖印更加有利，因为 PDMS 模具更易于从部分固化的低 k 薄膜中脱出，并且能够使在固化过程中释放的挥发性溶剂透过。虽然在本文所述的工作中仅盖印了 1×3 英寸的显微镜载玻片区域，但是所述的盖印方法可以按比例放大到更大的表面面积来达到能够制造大到足以覆盖整个 96 孔或 384 孔标准微板（大约 3×5 英寸）的传感器面积。

[0136] 在多孔玻璃传感器结构和聚合物传感器结构比较过程中发现的一种令人感兴趣的和有用的结果是在本体折射率灵敏度和表面吸附的层灵敏度之间赢得了灵敏度不同。尽管计算机建模精确预测了对于由覆盖多孔玻璃传感器表面的溶液的本体折射率变化导致的 PWV 位移所测量的大约 2 倍的灵敏度增加，但是对于被吸附材料的薄层一贯测量出 PWV 位移的大约 4 倍增加。通过使用聚合物多层试验来测量 PWV 位移随厚度的变化（图 11），我们能够表征作为距传感器表面的距离的函数的耦合电磁场的相互作用强度。对于多孔玻璃传感器，被吸附的聚合物的头若干单层的相互作用特别强，而对于每个在聚合物传感器结构上被吸附的单层，聚合物厚度和 PWV 之间的关系是高度线性的。测试样品和共振电磁场分布之间的相互作用是非常复杂的，因为被检测的材料可以吸附到所述结构的水平和垂直表面，其中特征场曲线从每个表面延伸到样品。对于多孔玻璃生物传感器，基于表面的检测灵敏度被提高到超出了本体灵敏度的改进。因为大多数生物分子相互作用被期望在距传感器表面的头几纳米的范围内发生，因此表面灵敏度对于增加基于表面的生物化学分析中的灵敏度是最重要的。

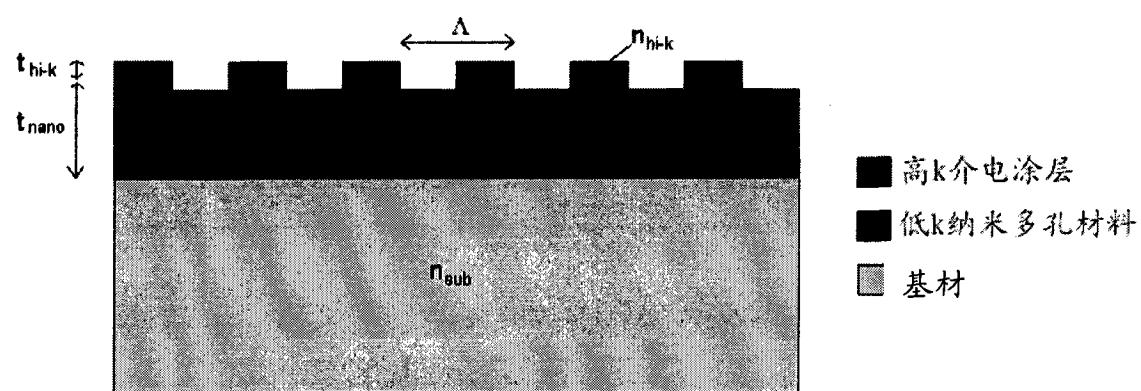


图 1

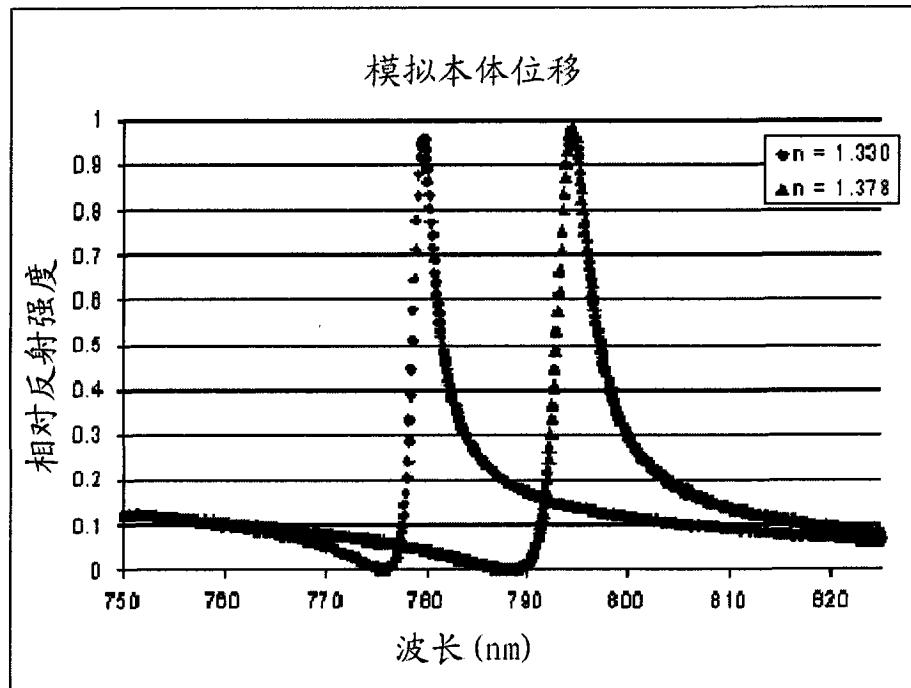


图 2A

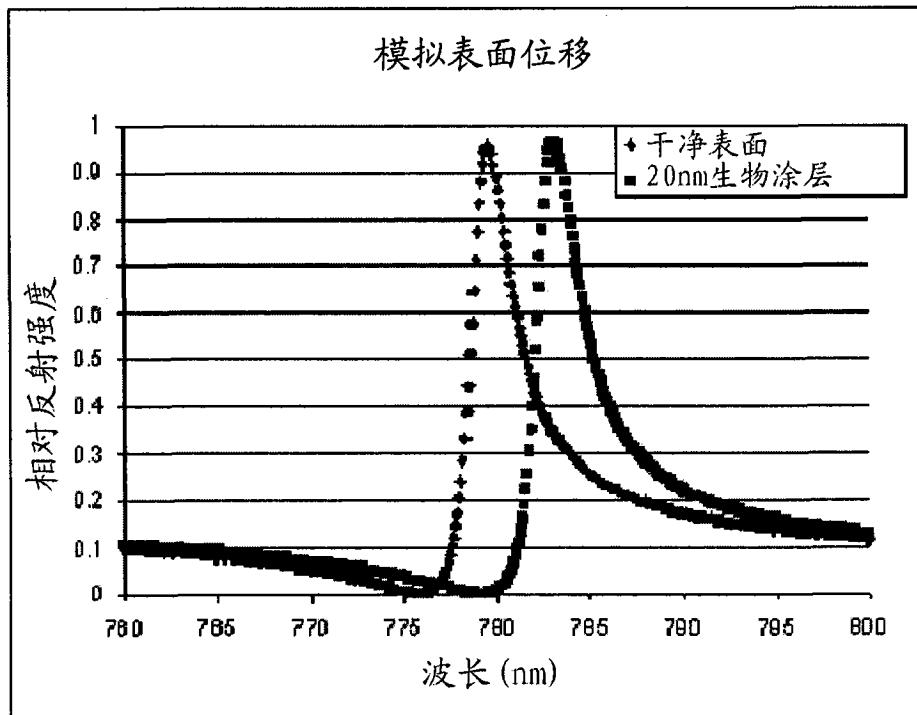


图 2B

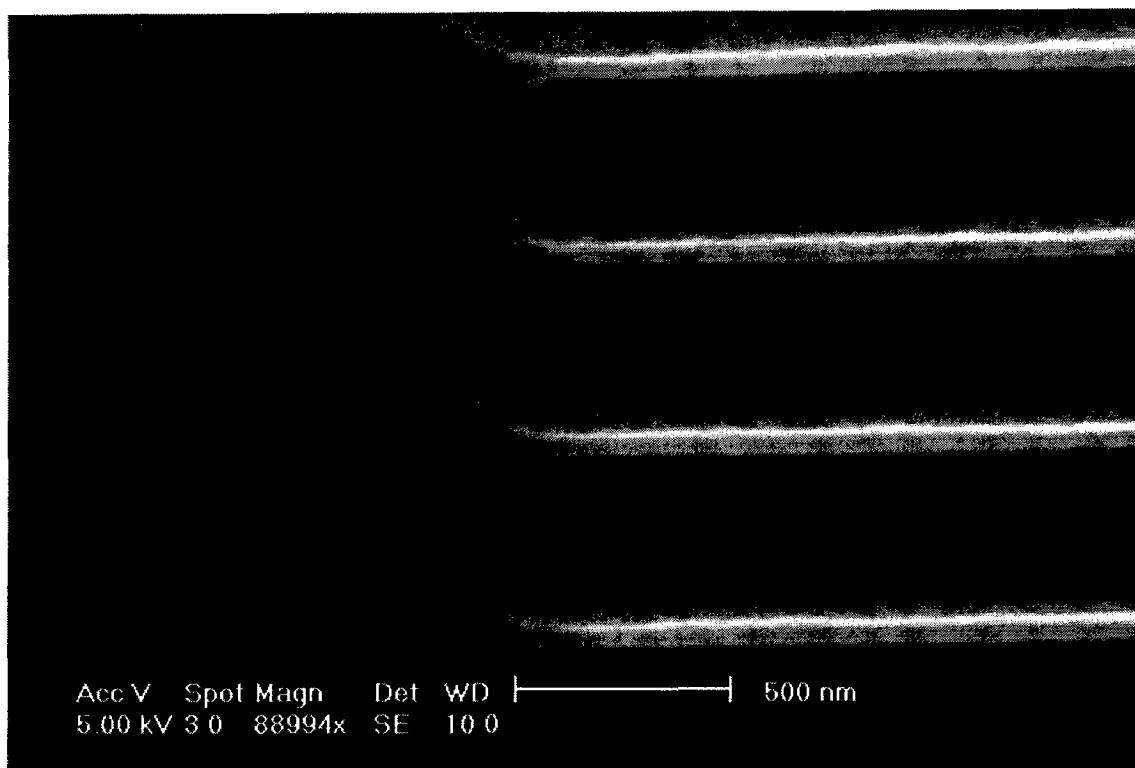


图 3A

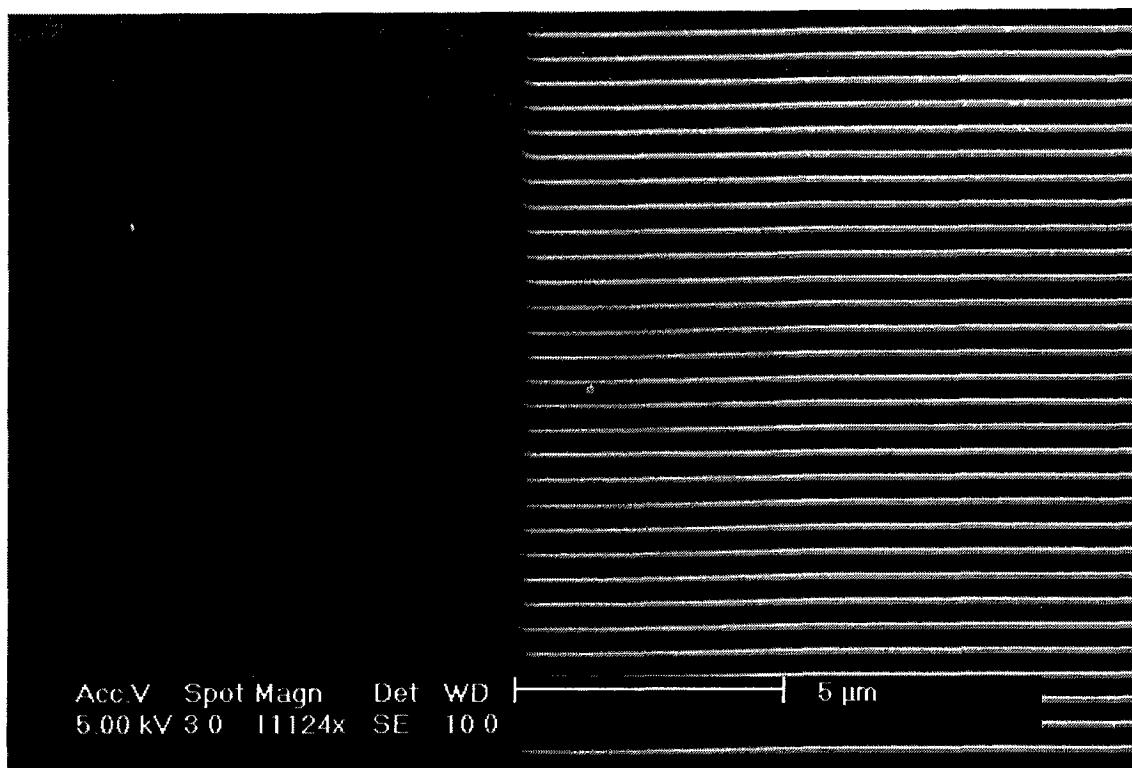


图 3B

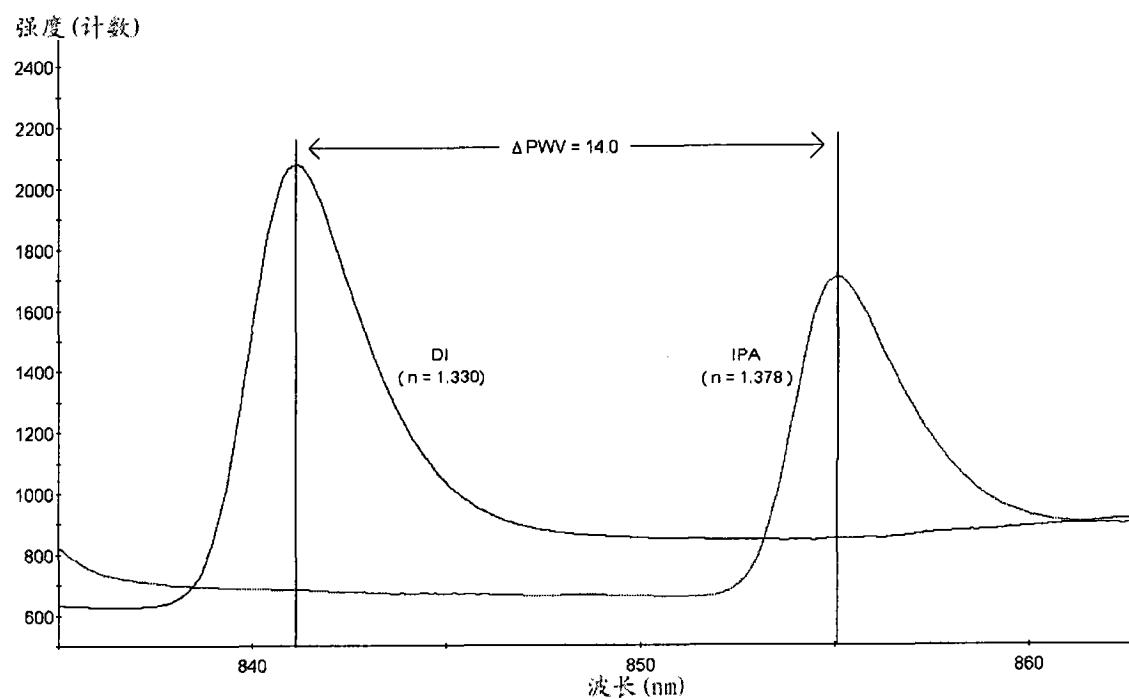


图 4

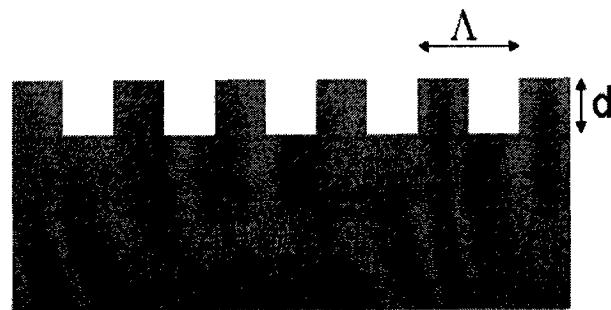


图 5A

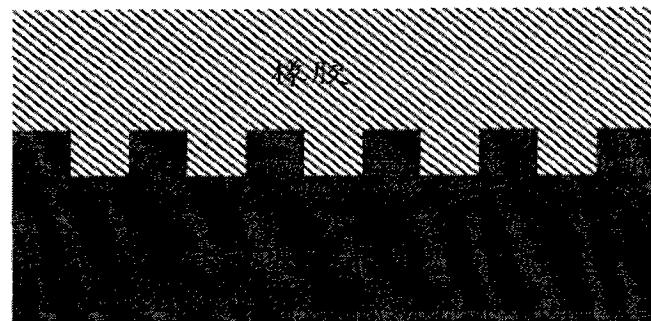


图 5B

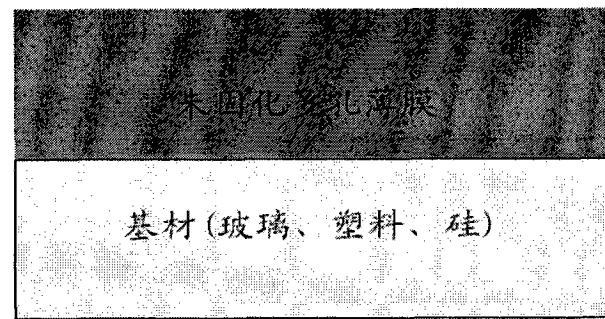
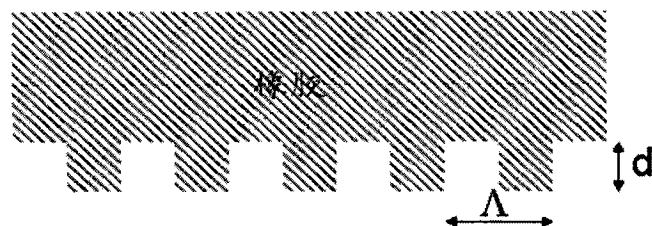


图 5C

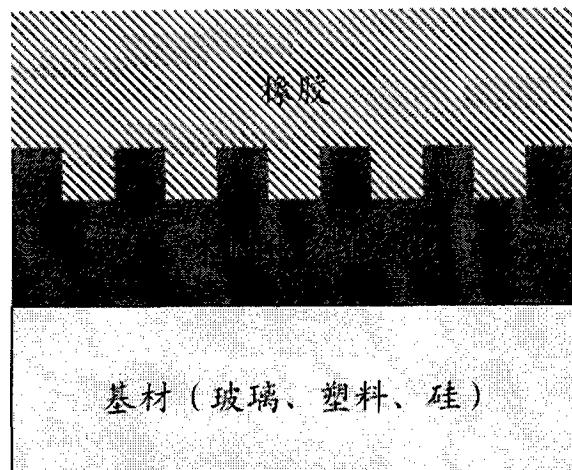


图 5D

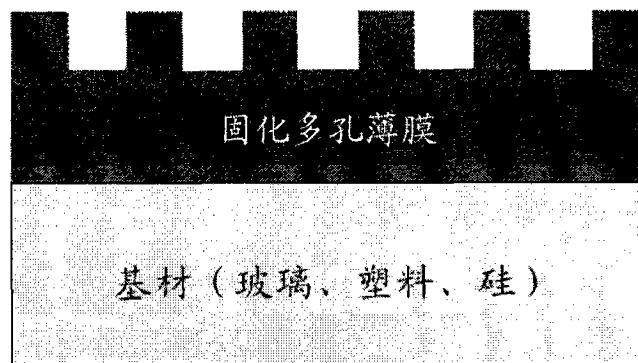


图 5E

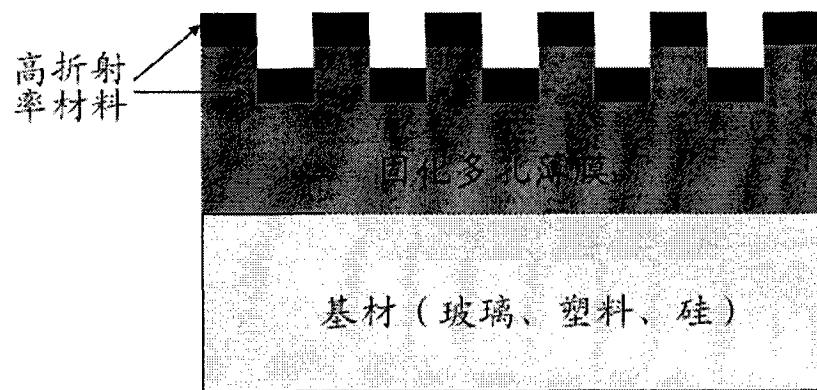


图 5F

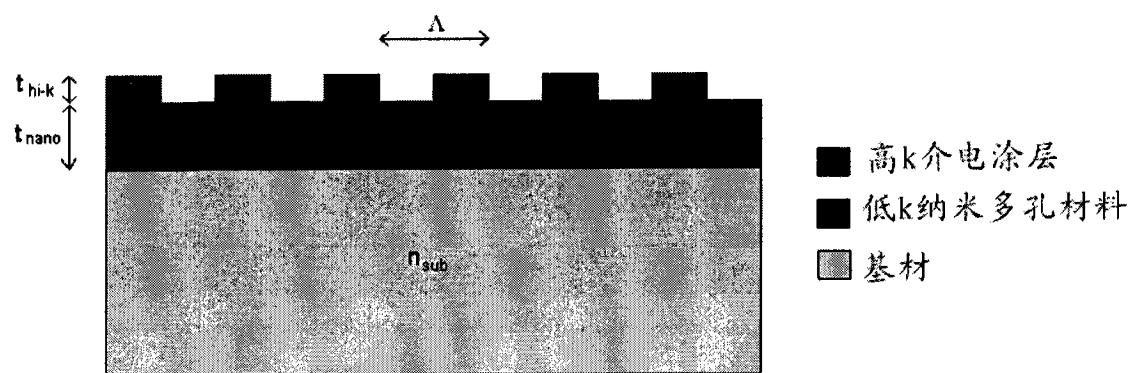


图 6

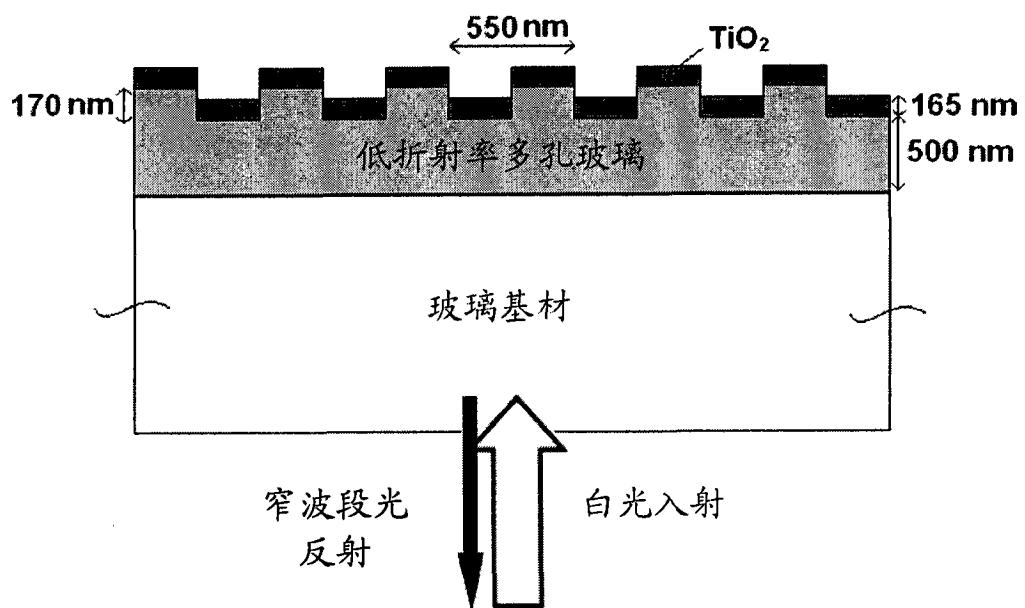


图 7

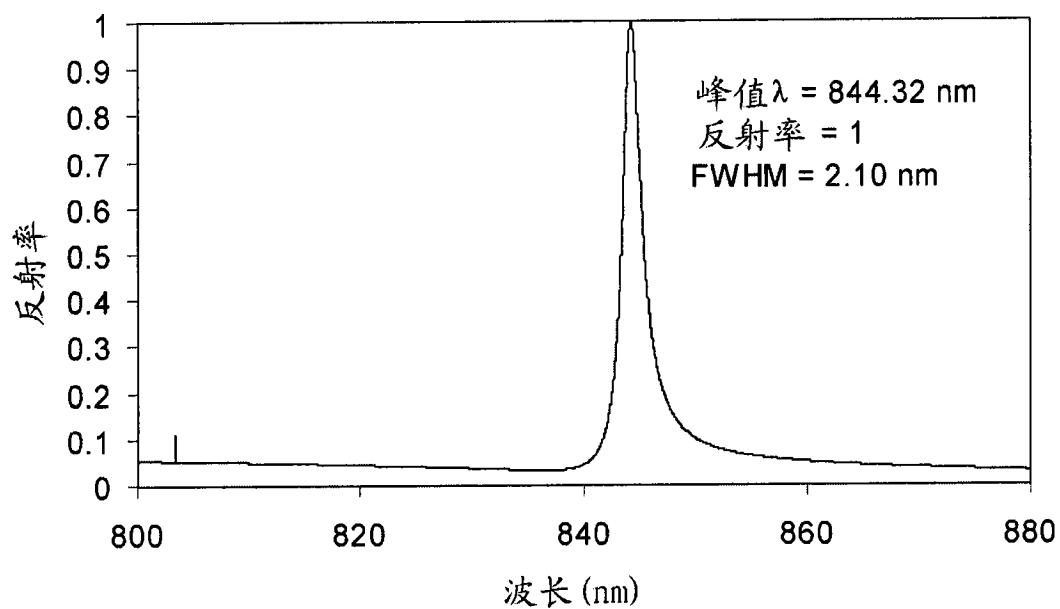


图 8

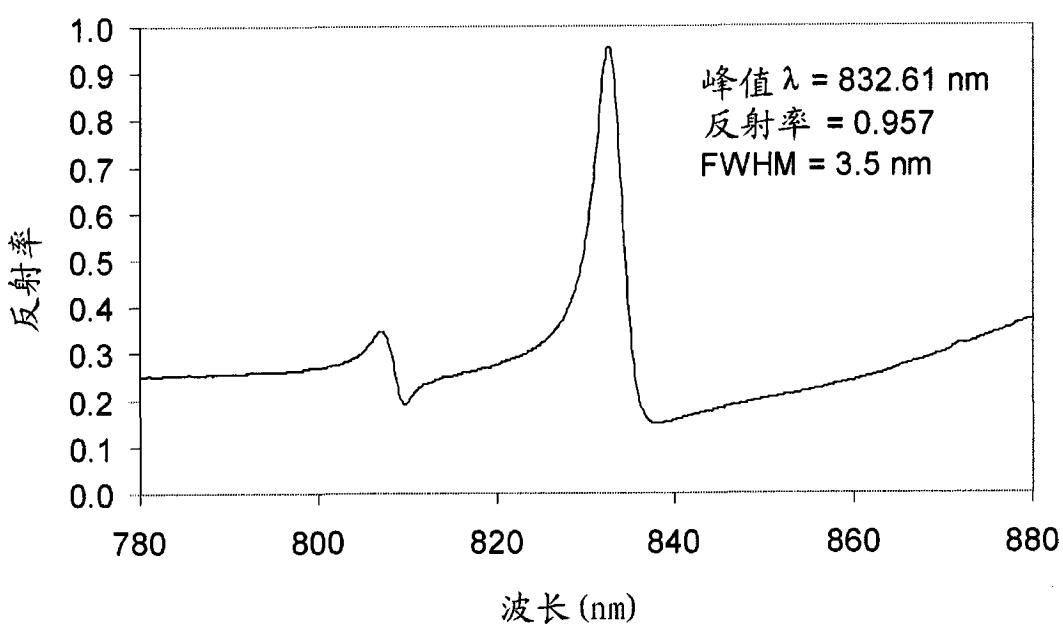


图 9

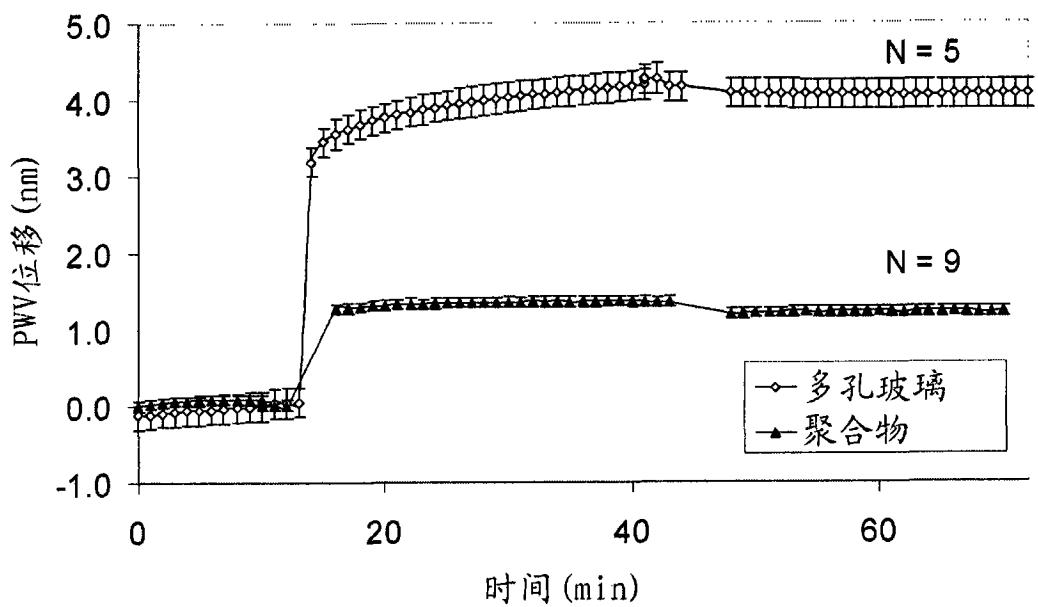


图 10

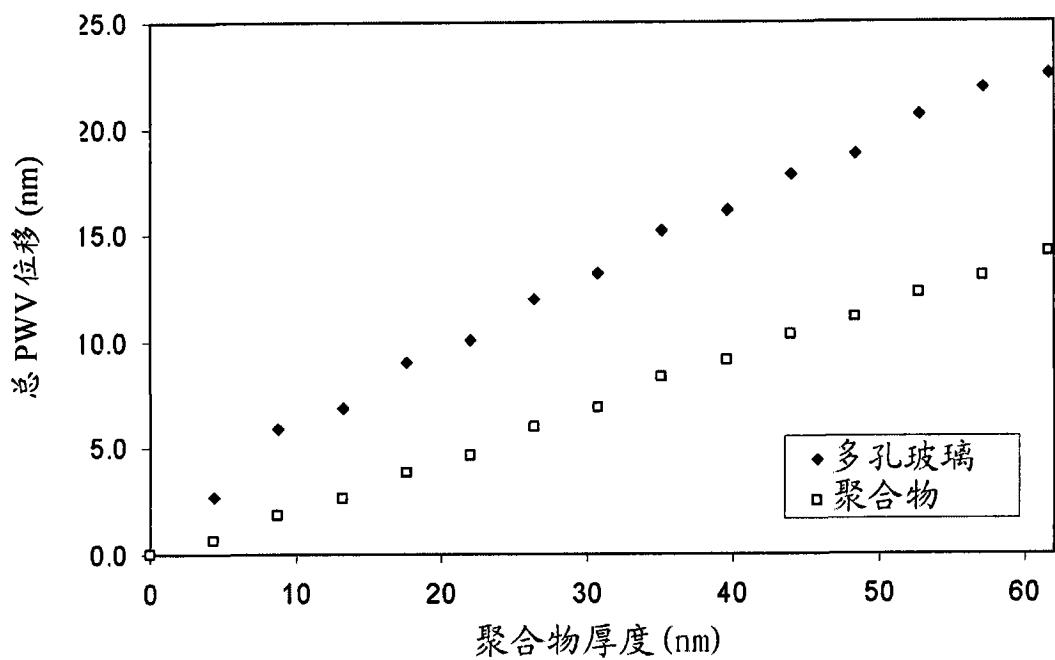


图 11

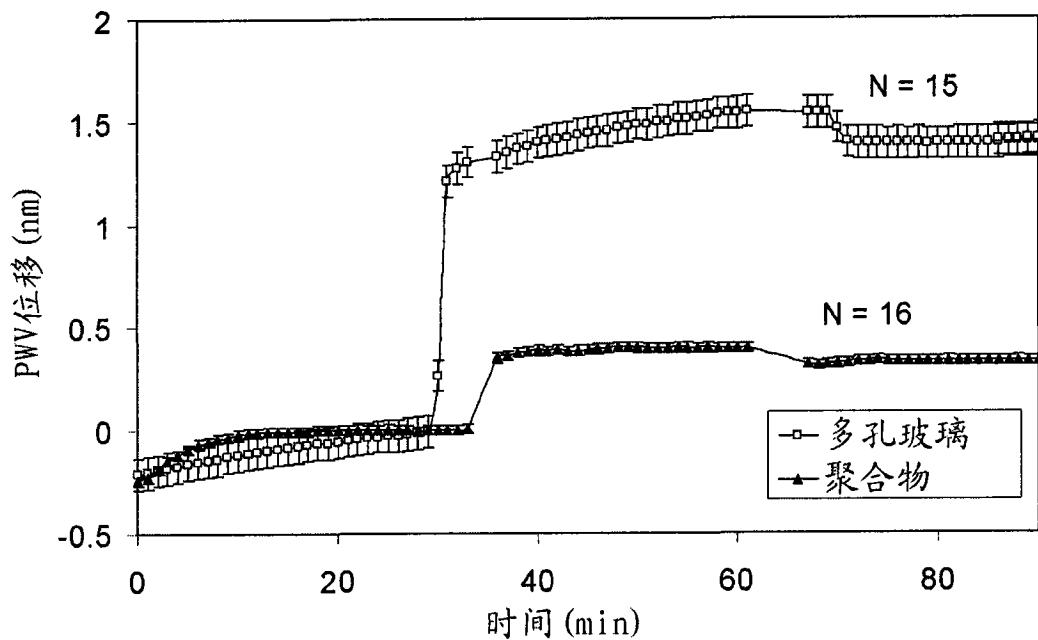


图 12

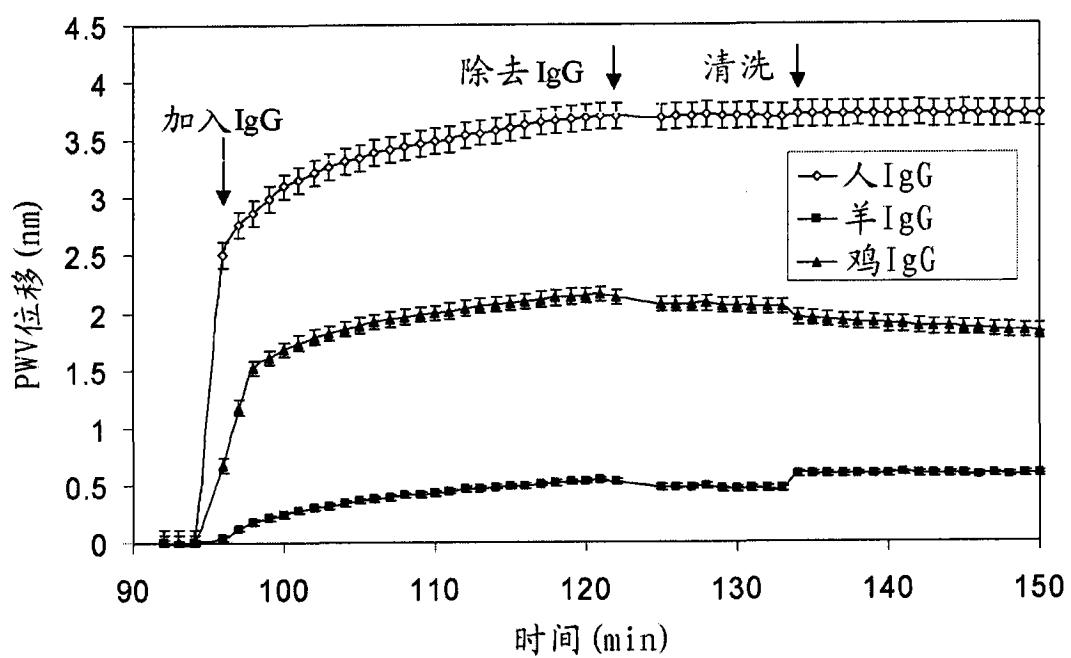


图 13

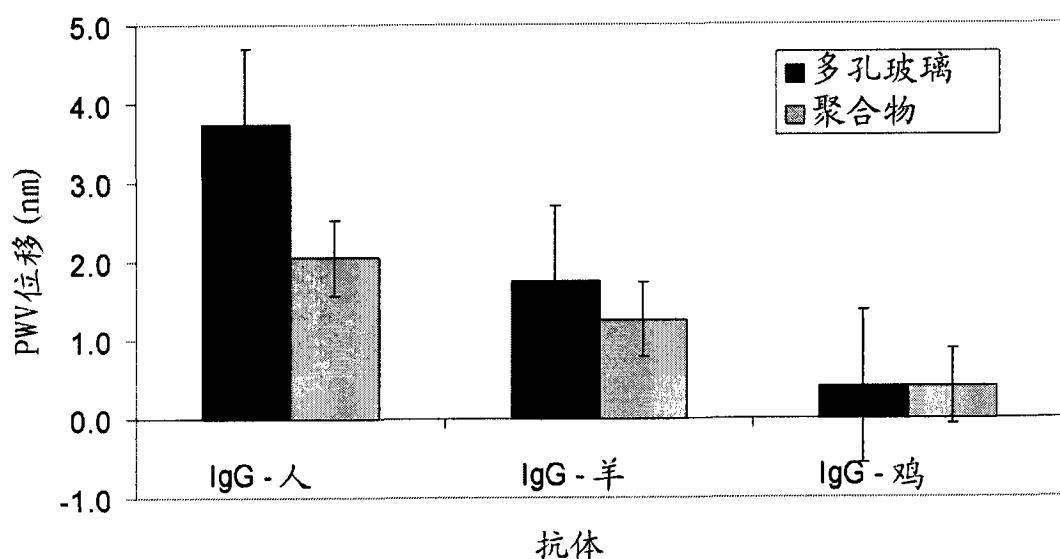


图 14