



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I623736 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 05 月 11 日

(21)申請案號：103123844

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 07 月 10 日

(51)Int. Cl. : G01N15/00 (2006.01)

G01N15/06 (2006.01)

G01N21/01 (2006.01)

(30)優先權：2013/07/10 美國

61/844,662

2014/07/07 美國

14/324,872

(71)申請人：克萊譚克公司 (美國) KLA-TENCOR CORPORATION (US)

美國

(72)發明人：柯爾 法蘭西斯可 KOLE, FRANCISCO (US)；克里斯坦西 喬漢斯 G M

CHRISTIAANSE, JOHANNES G. M. (NL)；科爾克 葛瑞格 KIRK, GREG (US)；

喬瓦 溫佛瑞德 堤伊 CHOW, WINFRED TEE (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 8162149B1

US 2004/0201845A1

US 2006/0055934A1

審查人員：林永昌

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：5 共 25 頁

(54)名稱

於液體檢查中用以作為低對比度標準之顆粒懸浮液

PARTICLE SUSPENSIONS USED AS LOW-CONTRAST STANDARDS FOR INSPECTION OF LIQUIDS

(57)摘要

在某些實施例中，一種用於驗證與生物顆粒一起使用之人工目視檢查程序或一光學分析儀器之方法可包含使用該光學分析儀器檢查一標準顆粒。該標準顆粒溶液可包含懸浮於溶液中之標準顆粒之一已知濃度，其中該等標準顆粒具有一定義大小及形狀分佈。該等標準顆粒可具有實質上類似於該等生物顆粒之一折射指數之一折射指數。該方法可包含從該檢查評估在該標準顆粒溶液中之標準顆粒之一濃度。該方法可包含評估標準顆粒之該經評估濃度與標準顆粒之該已知濃度之間的一差異。該方法可包含基於該等濃度之間的該經評估差異修改該光學分析儀器之一或多個參數。該方法可包含評估該光學分析儀器之一偵測效率。

In certain embodiments, a method for validating the human visual inspection process or an optical analysis instrument for use with biological particles may include inspecting a standard particle solution using the optical analysis instrument. The standard particle solution may include a known concentration of standard particles suspended in solution with the standard particles having a defined size and shape distribution. The standard particles may have a refractive index that is substantially similar to a refractive index of the biological particles. The method may include assessing a concentration of standard particles in the standard particle solution from the inspection. The method may include assessing a difference between the assessed concentration of standard particles and the known concentration of standard particles. The method may include modifying one or more parameters of the optical analysis instrument based on the assessed difference

between the concentrations. The method may include assessing a detection efficiency of the optical analysis instrument.

指定代表圖：

符號簡單說明：

- 400 . . . 程序
- 402 . . . 形成標準顆粒
- 404 . . . 選擇標準顆粒
- 406 . . . 將標準顆粒放置於一溶液中
- 408 . . . 評估標準顆粒

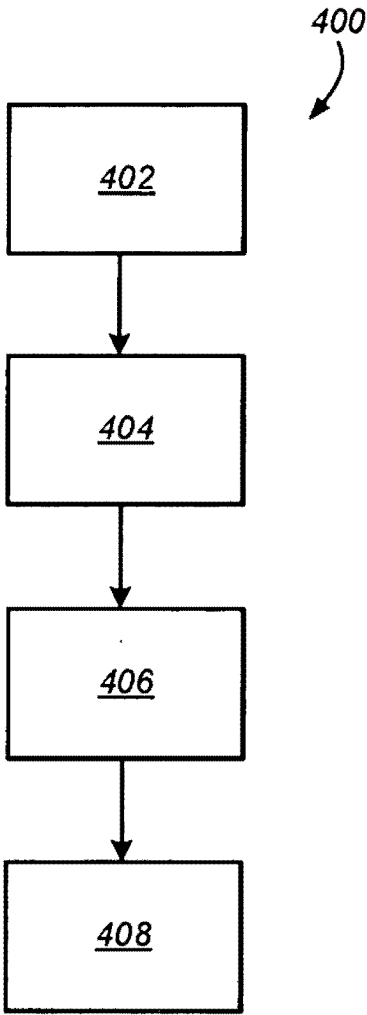


圖 4

發明摘要

※ 申請案號： 103123844

※ 申請日： 103/07/10

※IPC 分類： **G01N 15/00** (2006.01)

G01N 15/06 (2006.01)

G01N 21/01 (2006.01)

【發明名稱】

於液體檢查中用以作為低對比度標準之顆粒懸浮液

PARTICLE SUSPENSIONS USED AS LOW-CONTRAST

STANDARDS FOR INSPECTION OF LIQUIDS

【中文】

在某些實施例中，一種用於驗證與生物顆粒一起使用之人工目視檢查程序或一光學分析儀器之方法可包含使用該光學分析儀器檢查一標準顆粒。該標準顆粒溶液可包含懸浮於溶液中之標準顆粒之一已知濃度，其中該等標準顆粒具有一定義大小及形狀分佈。該等標準顆粒可具有實質上類似於該等生物顆粒之一折射指數之一折射指數。該方法可包含從該檢查評估在該標準顆粒溶液中之標準顆粒之一濃度。該方法可包含評估標準顆粒之該經評估濃度與標準顆粒之該已知濃度之間的一差異。該方法可包含基於該等濃度之間的該經評估差異修改該光學分析儀器之一或多個參數。該方法可包含評估該光學分析儀器之一偵測效率。

【英文】

In certain embodiments, a method for validating the human visual inspection process or an optical analysis instrument for use with biological particles may include inspecting a standard particle solution using the optical analysis instrument. The standard particle solution may include a known concentration of standard particles suspended in solution with the standard particles having a defined size and shape distribution. The standard particles may have a refractive index that is substantially similar to a refractive index of the biological particles. The method may include assessing a concentration of standard particles in the standard particle solution from the inspection. The method may include assessing a difference between the assessed concentration of standard particles and the known concentration of standard particles. The method may include modifying one or more parameters of the optical analysis instrument based on the assessed difference between the concentrations. The method may include assessing a detection efficiency of the optical analysis instrument.

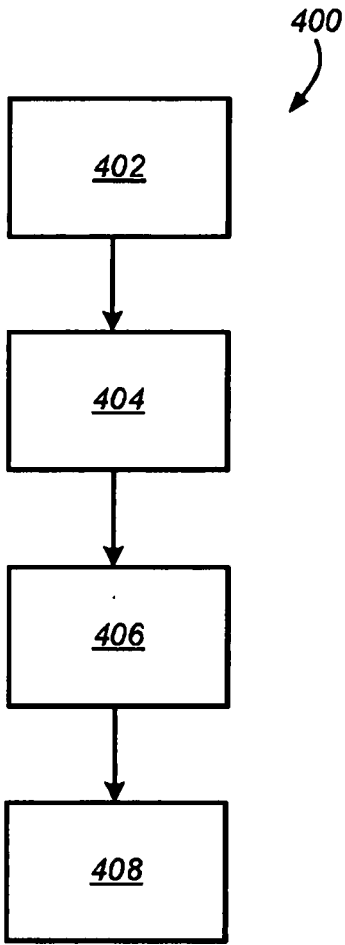


圖 4

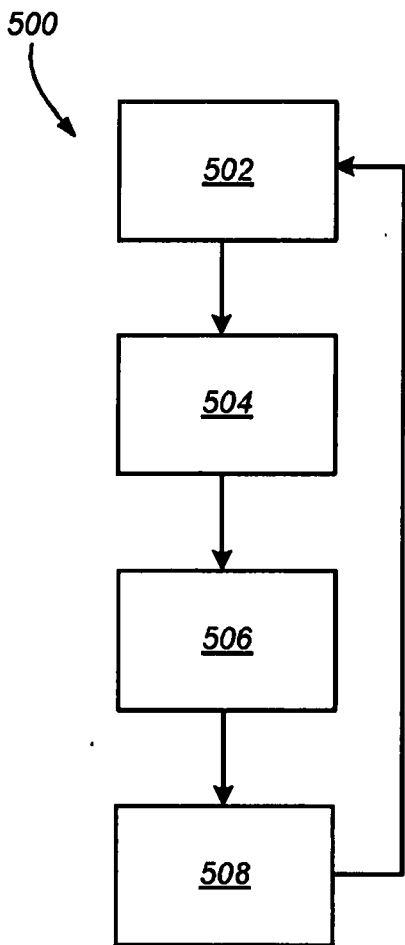


圖 5



【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（4）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

400 程序

402 形成標準顆粒

404 選擇標準顆粒

406 將標準顆粒放置於一溶液中

408 評估標準顆粒

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

（無）

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

於液體檢查中用以作為低對比度標準之顆粒懸浮液

PARTICLE SUSPENSIONS USED AS LOW-CONTRAST
STANDARDS FOR INSPECTION OF LIQUIDS

【優先權主張】

本專利主張2013年7月10日申請之美國臨時專利申請案第61/844,662號之優先權，該案之全部內容以引用的方式併入本文中。

【技術領域】

本發明係關於用於液體檢查之一標準懸浮液。更特定言之，本發明係關於(1)允許校準、驗證及/或比較檢查及分類顆粒懸浮液之儀器之一標準懸浮液及(2)用於顆粒懸浮液之目視檢查之一標準。

【先前技術】

生物製藥公司經常將生物藥物產品特性化為在小玻璃瓶、針筒或其他容器中之可注射液體形式。通常檢查此等容器是否存在外來顆粒，但亦可檢查由蛋白質藥物物質自身之聚集形成之顆粒(例如，以便判定一藥物產品之安全性)。另外，將醫療裝置塗佈有生物相容性物質之醫療裝置製造商可在清洗裝置之後檢查溶液以尋找已從裝置脫落之顆粒。

類似地，在生命科學之領域中，諸如顯微鏡及流式血細胞計數器之光學儀器用於分析顆粒之生物特性，包含生物細胞、微泡、細菌及病毒。此等顆粒及蛋白質聚集體(此後稱為生物顆粒)通常具有接近於其中顆粒及蛋白質聚集體呈現至光學儀器之溶液之折射指數之一低折射指數。

藉由人眼之目視檢查以及各種檢查儀器用於偵測生物顆粒。然而，考慮到生物顆粒之隨機形狀及大小及生物顆粒由於其等與其等懸浮於其中之溶液之小折射指數差異而展現之相對低對比度，人工檢查員與儀器之間的結果可變化且可難以比較結果。圖1描繪在一容器中之蛋白質聚集體之一實例之一照片。

為確保非內服藥物之療效及安全性，美國藥典第<788>章要求可注射藥物之製造商報告大於10 μm 之任何顆粒之數目在每一單位容積之一計數及大於25 μm 之顆粒之數目在每一單位容積之一計數，包含蛋白質聚集體顆粒。基於2013年2月美國FDA (食品及藥物管理局)指導方針的新條款(其舉出對蛋白質聚集體引起之免疫性之增加關注)，具有新規則之新的一章可要求監控微粒大於2 μm 之生物藥物產品。由於蛋白質聚集體之折射指數($n \sim 1.34$ 至 1.40)接近於基於蛋白質之藥物溶液之折射指數($n \sim 1.34$ 至 1.36)，故蛋白質聚集體可難以偵測。亦存在形狀及外觀變化之數個不同蛋白質黏聚物類型。舉例而言，從橢圓形至絲狀(從0.8至0.1之縱橫比)及從非結晶至結晶。

目前目視檢查依靠生物顆粒與周圍液體之間的透明度差異。用於檢查(偵測)微米大小之顆粒之儀器通常涉及隨著顆粒流動通過一清透流動室(flow cell)時其等之成像、或光散射、或光阻擋。儀器可使用目視及/或基於機器之檢查程序。藉由供應商或一使用者校準/驗證此等儀器之每一者之大小量測精確度及顆粒計數精確度。通常，使用具有一良好定義且均勻之直徑及定義濃度之聚苯乙烯球(珠)提供校準/驗證。可從諸如 Thermo Fisher Scientific (美國馬薩諸塞州沃爾瑟姆)、Polysciences, Inc. (美國賓夕法尼亞州沃靈頓)之供應商及其他供應商購買取得聚苯乙烯珠。

使用聚苯乙烯珠之光學儀器校準及驗證存在三個基本缺點。第一缺點係聚苯乙烯珠具有比所關注之一些顆粒(例如， $n \sim 1.34$ 至

1.40之蛋白質聚集體)更高之一折射指數(通常 $n=1.599$)。因此，聚苯乙烯珠之光學信號並不充分表示由具有相同大小之一低對比度顆粒(諸如生物顆粒)產生之信號。歸因於顆粒之間的折射指數及透明度差異，生物顆粒可產生比具有相同大小之一聚苯乙烯球更低之一信號。因此，生物顆粒可被錯誤分類且導致錯誤分析結果。另外，在低對比度顆粒(例如，生物顆粒)事件產生低於使用具有相同大小之聚苯乙烯珠建立之分析臨限值之一信號時可從分析消除低對比度顆粒事件。此可導致低對比度顆粒之錯誤計數結果。同樣地，低折射指數使生物顆粒更難以被人眼觀察，亦導致錯誤計數結果。

一第二缺點係一些生物顆粒係不規則形狀之三維(3-D)物體而非均勻球形物體(如聚苯乙烯珠)。生物顆粒之不規則形狀可對光學分析儀器造成某些挑戰。舉例而言，儀器僅可基於3-D顆粒之一二維(2-D)投影產生一信號。因此，歸因於顆粒在訊問點之隨機定向，在一流入式偵測器中量測具有不規則形狀之顆粒可產生儀器回應之廣泛分佈。此外，不規則形狀顆粒可導致相較於具有相同大小之聚苯乙烯珠之大小分佈之一更廣泛大小分佈。因此，可從分析消除不規則形狀顆粒(諸如一些生物顆粒)且導致錯誤計數結果。

一第三缺點係在懸浮液中之聚苯乙烯珠之濃度可歸因於取樣之系統差異而變化。舉例而言，可能在聚苯乙烯珠已開始在懸浮液中沉澱後才在懸浮液之中央取樣母聚苯乙烯珠懸浮液，導致後來樣品中之不同濃度。

因此，可期望創建一標準懸浮液，其(1)允許目視檢查方法之標準化且(2)允許使用更緊密匹配諸如生物顆粒之低對比度且可能具有不規則形狀之顆粒之性質之標準顆粒校準、驗證及/或比較光學分析儀器。在標準懸浮液中之標準顆粒應為穩定、可複製且具有關鍵性質之均勻性以允許操作者在必要時適當地調整儀器或分析軟體參數。顆

粒標準懸浮液應支持透過使用一內部濃度標準對定義濃度進行校正。對儀器及/或分析軟體參數之適當調整可允許在樣品之間、在分析儀器之間及/或在量測實驗室之間精確地比較結果。

【發明內容】

在某些實施例中，與目視檢查或與一光學分析儀器一起使用之一標準顆粒懸浮液可包含一溶液及複數個標準顆粒。該複數個標準顆粒可懸浮於該溶液中。該複數個標準顆粒可具有一定義大小及形狀分佈。該等標準顆粒可具有實質上類似於生物顆粒之一折射指數之一折射指數。

在某些實施例中，一標準顆粒懸浮液提供比目前市場上之產品更緊密類似生物顆粒之性質之量測標準。此等更具代表性之標準將改良儀器校準、驗證、分析及個別儀器之間、儀器類型之間及實驗室之間的比較。

在某些實施例中，解決具有一低折射指數之生物顆粒之光學分析。此等生物顆粒之實例可包含蛋白質聚集體、生物細胞、微泡、外泌體、細菌及病毒。

在某些實施例中，該等標準顆粒之該折射指數在約1.34與約1.42之間。該等標準顆粒可具有一良好特性化之大小分佈，例如，在一選定標準顆粒大小之約10%內變化之大小分佈。該標準顆粒大小可經特別選擇，例如，諸如以下大小：2 μm 、10 μm 及25 μm ，或來自生物顆粒之大小範圍之任何其他選定大小。

在某些實施例中，該等標準顆粒可包含從由以下構成之群組選擇之聚合材料：PTFE、ETFE、PDMS及FEP。

在某些實施例中，該等標準顆粒及該溶液可包含一或多個添加劑。該等添加劑可將該等標準顆粒及該溶液之折射指數差異調整為實質上類似於在生物顆粒之天然溶液中之該等生物顆粒之該折射指數差

異。

在某些實施例中，該等標準顆粒之至少一者可包含一或多個圖案。該等圖案之至少一者可包含具有沿著該標準顆粒之長度變化之寬度及間距之條紋。

在某些實施例中，該懸浮液可用於一光學分析儀器之校準及/或驗證。

在某些實施例中，該懸浮液可用於目視檢查人員之訓練及/或檢定及用於目視檢查協定之驗證。

在某些實施例中，用於驗證與生物顆粒一起使用之一光學分析儀器之一方法可包含：使用該光學分析儀器檢查一標準顆粒懸浮液。懸浮於溶液中之該等標準顆粒可具有一定義大小及形狀分佈、濃度及與該溶液不同之折射指數。該等標準顆粒可具有實質上類似於該等生物顆粒之一折射指數之一折射指數。該方法可包含：從該檢查評估在該標準顆粒溶液中之標準顆粒之一濃度。該方法可包含：評估標準顆粒之該經評估濃度與標準顆粒之已知濃度之間的一差異。該方法可包含：基於該等濃度之間的該經評估差異修改該光學分析儀器之一或多個參數。該方法可包含：量化一校正因數以考量該儀器之偵測效率。該方法可包含量化一濃度校正因數以考量該標準顆粒懸浮液中之濃度改變。

在某些實施例中，該光學分析儀器之該等參數之至少一者包含一臨限對比度等級。該光學分析儀器之該等參數之至少一者可包含一影像處理參數。該等標準顆粒之至少一些可包含一或多個MTF（調變傳送函數）測試圖案。該方法可包含使用該MTF測試圖案評估該光學分析儀器之光學效能及基於該評估修改一或多個參數。

在某些實施例中，該方法可包含自該檢查之該標準顆粒懸浮液中之該等標準顆粒之一大小分佈。

在某些實施例中，該方法可包含報告在該標準顆粒溶液中之該等標準顆粒之一量測形狀分佈。

在某些實施例中，該方法可包含標準顆粒，其等具有類似於生物顆粒之一折射指數或該等標準顆粒與該溶液之間類似於生物顆粒與其等天然溶液之一折射指數差異。

在某些實施例中，該方法可包含具有已知濃度之標準顆粒懸浮液。

在某些實施例中，該方法可包含標準顆粒懸浮液，其具有標準顆粒之一個以上群體，每一者具有不同大小分佈或不同形狀分佈或不同折射指數或不同濃度。

在某些實施例中，用於形成一標準顆粒懸浮液之一方法可包含由一聚合材料形成複數個標準顆粒。該方法可包含選擇具有類似大小及形狀之標準顆粒以提供具有類似大小及形狀之複數個標準顆粒。該方法可包含將該等標準顆粒放置於一溶液中，其中在該溶液中之該等標準顆粒具有實質上類似於生物顆粒之一折射指數之一折射指數。該方法可包含評估在該溶液中之該等標準顆粒之一濃度。

在某些實施例中，該方法可包含使用一微影程序形成該等標準顆粒。

在某些實施例中，該方法可包含使用一過濾程序選擇具有類似大小及形狀之該等標準顆粒。

在某些實施例中，在溶液中之該等標準顆粒之該折射指數在約1.34與約1.42之間。

在某些實施例中，該方法可包含報告在該溶液中之該等顆粒之一經量測大小及/或形狀分佈及/或折射指數及/或濃度。一些此等量測可追溯至SI單位。

【圖式簡單說明】

在結合隨附圖式時參考目前較佳但仍根據本發明之闡釋性實施例之下列詳細描述將更完整瞭解本發明之方法及設備之特徵及優勢，在圖式中：

圖1描繪在一容器中之蛋白質聚集體之一實例之一照片。

圖2描繪用於一標準懸浮液中之一標準顆粒之一實施例之一表示。標準顆粒在形狀上可為均勻或不均勻且可包含一或多個材料且可含有一測試圖案。

圖3描繪在溶液中之標準顆粒之一實施例之一表示。

圖4描繪用於製成一標準顆粒溶液之一程序之一實施例之一流程圖。

圖5描繪用於使用一標準顆粒溶液驗證一光學分析儀器之一程序之一實施例之一流程圖。

雖然本發明可以有各種修改及替代形式，但其之特定實施例在圖式中藉由實例展示且將在本文中詳細描述。圖式可不按比例繪製。應理解，圖式及其等之詳細描述並不意欲將本發明限於所揭示之特定形式，而相反地，本發明將涵蓋如隨附申請專利範圍定義之歸屬於本發明之精神及範疇內之所有修改、等效物及替代方案。

【實施方式】

圖2描繪用於一標準懸浮液中之一標準顆粒之一實施例之一表示。標準顆粒200可用於用作光學分析儀器之一標準懸浮液之一流體懸浮液中。標準懸浮液可用於光學分析儀器之校準、驗證及/或比較。光學分析儀器包含(但不限於)使用目視或基於機器之程序光學檢查流體懸浮液是否存在顆粒(例如，識別顆粒)之儀器。此等光學分析儀器亦可量測或評估經識別顆粒之一或多個特性。特性可包含(例如)顆粒之大小及/或形狀及/或透明度及/或不透明度及/或濃度。

在某些實施例中，標準顆粒200具有實質上類似於一生物顆粒之

材料性質。舉例而言，標準顆粒200可具有實質上類似於一生物顆粒之一折射指數、一比重、一大小及/或一形狀。在某些實施例中，標準顆粒200由一聚合材料形成。用於標準顆粒200之聚合材料之實例包含(但不限於)PTFE (聚四氟乙烯)(例如，Teflon®)、ETFE (乙烯四氟乙稀)(例如，Tezfel®或Fluon®)、PDMS (聚二甲基矽氧烷)(例如，Sylgar®)或FEP (氟化乙烯丙烯，其為六氟丙烯及四氟乙稀之一共聚物)。此等材料可具有實質上類似於生物顆粒之一折射指數。舉例而言，PTEE可具有1.350之一折射指數 n ，ETFE可具有1.398之一折射指數且PDMS可具有1.4118之一折射指數。

圖3描繪在溶液300中之標準顆粒200之一實施例之一表示。標準顆粒200可放置於溶液300中以形成一標準顆粒懸浮液(例如，一標準懸浮液)。在某些實施例中，溶液300係一緩衝溶液。溶液300可具有性質及/或包含添加劑，其等調整標準顆粒200之折射指數差異及/或浮力以更精確匹配在選定生物顆粒之公式化緩衝溶液中之選定生物顆粒之折射指數差異及/或浮力。舉例而言，可將糖、甘油或其他添加劑提供至溶液300以調整在溶液中之標準顆粒200之折射指數差異及/或浮力。在某些實施例中，在溶液300中之標準顆粒200具有在約1.34至約1.42之間的一折射指數。在一些實施例中，在溶液300中之標準顆粒200具有在約1.3至約1.45之間、在約1.32至約1.43之間或在約1.34至約1.4之間的一折射指數。

在某些實施例中，在溶液300中之標準顆粒200具有如生物顆粒之實質上類似光學性質，使得標準顆粒可用於校準及/或驗證用於分析溶液中之生物顆粒之一光學分析儀器。舉例而言，在溶液300中之標準顆粒200可用於校準及/或驗證光學分析儀器之大小回應。在某些實施例中，標準顆粒200提供如生物顆粒之相同光學對比度。然而，不同於生物顆粒，標準顆粒200在溶液300中可具有實質上均勻大小及

形狀。在某些實施例中，標準顆粒200包含具有圍繞選定計數臨限大小之一緊密大小分佈之標準顆粒。計數臨限大小可為最大及/或最小大小(例如，直徑)，依此大小實施對於顆粒之一數目之一計數(例如，針對低於及/或高於計數臨限大小之顆粒發現一顆粒計數)。生物顆粒之典型計數臨限大小可為(例如)約2 μm 、約10 μm 或約25 μm 。因此，在一些實施例中，標準顆粒200具有圍繞約2 μm 、圍繞約10 μm 或圍繞約25 μm 之緊密大小分佈。緊密大小分佈可為(例如)在選定大小之約1%內、約5%內或約10%內。

圖4描繪用於製成一標準顆粒溶液之程序400之一實施例之一流程圖。在402中，使用本文中描述之一或多個程序由一聚合材料形成標準顆粒(例如，標準顆粒200)。在404中，選擇具有選定大小及形狀(例如，類似大小及形狀)之標準顆粒以提供具有類似大小及形狀之複數個標準顆粒。舉例而言，可如本文中所描述過濾或以其他方式選擇形成之標準顆粒以提供具有類似大小及形狀之複數個標準顆粒。在406中，標準顆粒可放置於一溶液(例如，溶液300)中。在某些實施例中，溶液中之標準顆粒(例如，溶液300中之標準顆粒200)可具有其他所要品質，例如，一特定折射指數或比重。在408中，可使用本文中描述之技術評估(例如，量測)標準顆粒之一濃度。在一些實施例中，可使用本文中描述之技術評估(例如，量測)標準顆粒之一大小及/或形狀。

在某些實施例中，在402中形成標準顆粒包含從市售粉末(例如，PTFE、ETFE、PDMS或FEP之粉末)製成標準顆粒(例如，標準顆粒200)。舉例而言，可藉由將粉末過濾為具有所要(選定)大小及形狀分佈之選定粉末顆粒而製成標準顆粒。舉例而言，可使用乾篩或濕篩、場流分離(FFF)、其他流體選擇方法及/或其等之組合過濾粉末。作為一實例，PTFE粉末可從Polysciences, Inc. (美國賓夕法尼亞州沃靈頓)

獲得且使用從Postnova Analytics, Inc. (美國猶他州鹽湖城)獲得之一場流分離系統過濾以產生具有一選定大小及形狀分佈之PTFE標準顆粒。

在某些實施例中，使用微影及/或蝕刻程序製成標準顆粒。舉例而言，可使用傳統半導體微影及蝕刻程序製成標準顆粒。在一實施例中，一矽晶圓(例如，一4吋矽晶圓)可具有圖案化於晶圓之表面上之一硬化光阻劑(例如，SU-8光阻劑)。塑膠材料(例如，粉末或液體塑膠材料)可填充於由光阻劑形成之圖案中以形成具有選定形狀及/或大小之標準顆粒。可使用(例如)振動、氣流或浸沒於一超音波清洗槽中而從表面釋放標準顆粒。

在一些實施例中，由使用一模具之較新壓紋或沖壓微影程序(諸如奈米壓印微影(NIL))或微影-電鍍-模製程序(諸如LIGA、UV-LIGA或Force-LIGA)製成顆粒。壓紋或沖壓微影程序可用於針對諸如FEP之材料產生標準顆粒。一些較新壓紋或沖壓微影程序能夠在來自各種微影產生之模具之各種塑膠材料中具有小至約50 nm之大小且具有大縱橫比之一模具上產生特徵部。

舉例而言，可由矽、碳化矽、石英或金屬製成一模具。模具可為一塑模或滾筒，其可具有形成於塑模或滾筒之表面中或從塑模或滾筒之表面突出之形狀。接著，模具可經按壓至一塑膠薄膜中或填充有塑膠材料(例如，塑膠粉末或液體)以在塑膠材料中形成具有所要形狀及大小之標準顆粒。舉例而言，在壓力下，模具(塑模)可經按壓至藉由加熱預軟化之塑膠中，按壓至呈一預固化液體狀態之塑膠中或壓紋至一塑膠薄膜中。在一模具上產生此等特徵部可提供具有所要(選定)大小之所要(選定)標準顆粒形狀之大量生產(例如，產生具有用於標準懸浮液中之所要形狀及大小分佈之標準顆粒200)。

在一項實施例中，在1 μm 至100 μm 狀態下之一薄塑模可以不規

則且顯得像聚集體(例如，蛋白質聚集體)之塑模形狀製成。諸如PDMS之塑膠可模製於薄塑模中。在另一實施例中，壓紋或奈米壓印微影(NIL)技術可應用至塑膠材料(例如，ETFE、PTFE、PDMS)之薄膜或層。此等壓紋或壓印薄膜可用於建構所要標準顆粒。在又另一實施例中，不同形式之塑膠材料(例如，薄膜、顆粒或液體)之一組合可用於製造具有諸如(但不限於)折射指數或浮力之特別調諧之特性之標準顆粒。

在某些實施例中，微影或蝕刻技術及(可能地)額外處理可用於提供標準顆粒外觀及/或其他特性之精確修改。因此，此等技術可提供可經設計以複製特定類型之生物顆粒之外觀之受控生物顆粒標準變體之大量生產。舉例而言，在一些實施例中，在一壓紋或沖壓中使用之模具可經設計以在標準顆粒上產生使其等顯得更非結晶(模糊)或更結晶(硬邊)之表面特徵部。

對模具(及/或對標準顆粒)之其他表面修改包含可模糊或裂解表面之電漿或化學(溶劑)蝕刻處理。此等修改可提供標準顆粒外觀之受控修改。電漿或化學蝕刻處理亦可提供降低塑膠材料之疏水性之一方法。降低用於標準顆粒之塑膠材料之疏水性可進一步模擬生物顆粒之行為。

在一些實施例中，描述之微影程序允許其他材料包含於主要塑膠材料中或沿著主要塑膠材料之側。其他材料可層疊於標準顆粒中之不同層中(例如，標準顆粒具有多個層，層之一或多者中具有不同材料)。此等所包含材料可更改在一液體中之標準顆粒(例如，在溶液300中之標準顆粒200)之光學外觀及/或浮力。此等修改可涉及包含空氣或另一特定氣體之陷滯氣泡及/或涉及使用具有不同於主要材料之折射指數或比重之其他材料之混合或共聚作用。

在某些實施例中，將使用一蝕刻程序形成於及截留於塑膠材料

之塑模中之標準顆粒釋放(例如，劃分為標準顆粒)。舉例而言，反應離子蝕刻(RIE)用於蝕刻氟聚合物以將塑膠材料塑模釋放(劃分或分離)為所要標準顆粒。使用描述之微影及/或蝕刻程序產生標準顆粒200可以高處理量提供所要標準顆粒之生產(例如，大量生產)。可使用可跨多個生產現場標準化之精確及定義之生產協定產生標準顆粒。

在一些實施例中，藉由從固體材料研磨顆粒製成標準顆粒。在2011年7月10日由Biochemical Science Division, NIST, Gaithersburg, MD之Dean C. Ripple, Joshua R. Wayment, Michael J. Carrier發表為Amer. Pharm. Rev. 14:90-96之「Standards for the Optical Detection of Protein Particles」中找到由研磨形成標準顆粒之一實例，該文以宛如全文闡述引用的方式併入本文中。

在某些實施例中，在404中之選擇標準顆粒包含選擇性地隔離具有類似大小及形狀之標準顆粒。舉例而言，過濾、乾篩或濕篩、場流分離及/或其他流體選擇方法可用於選擇具有用於一標準懸浮液中之類似大小及形狀之標準顆粒。大小選擇之一些額外實例包含(但不限於)使用一序列之篩孔尺寸或電鑄網篩過濾懸浮液、沈降場流分離、離心法後接著小標準顆粒之抽吸、連續慣性集中於流動(參見(例如)Dino DiCarlo著作之「Inertial Microfluidics」, Lab On A Chip, Royal Society of Chemistry, 2009年9月, 3038-3046, 其以宛如全文闡述引用的方式併入本文中)及/或交叉流分離。

在某些實施例中，在408中之評估標準顆粒含量測溶液中之標準顆粒之大小及/或濃度。可使用與可建立回到SI單位之可追溯性之適當量測標準(通常來自諸如NIST之一國家標準實驗室之一標準參考材料)組合之任何數目個技術量測大小。此等技術可包含以下技術之一或多者：光學顯微鏡、TEM (透射電子顯微鏡)或濕E-TEM顯微鏡、SEM (掃描電子顯微鏡)顯微鏡、庫爾特(Coulter)計數器、奈米孔量測

(由英國牛津之Izon Science Ltd製成之系統)、微流體成像(例如，由Fluid Imaging Technologies (美國緬因州斯卡伯勒)或Protein Simple (美國加利福尼亞州聖克拉拉)製成之系統)、動態光散射或光阻擋方法。量測濃度可包含使用以下技術之一或多者：庫爾特計數器、奈米孔量測、光學顯微鏡、微流體成像、動態光散射或光阻擋方法。在一些實施例中，亦量測顆粒之形狀。

可在針對標準顆粒之批量層級或個別單位層級進行大小及/或濃度之量測。批量層級量測可為大小、形狀及濃度之統計有效量測，其代表來自一單一生產運行或來自一穩定製造程序之大量標準顆粒。可從大批量數量提取散佈(運送)之單位。可針對每一運送單位進行單位層級量測，其中大小、形狀及計數僅表示單一單位之內容。

在某些實施例中，使用具有已知濃度之一標準顆粒懸浮液驗證及/或校準一光學分析儀器之計數效能，其中標準顆粒類似於所關注之低對比度顆粒(例如，生物顆粒)。舉例而言，標準顆粒懸浮液可包含如本文中描述而形成且如在圖3中展示放置於溶液300中之標準顆粒200。圖5描繪用於使用標準顆粒懸浮液驗證一光學分析儀器之程序500之一實施例之一流程圖。

在502中，可使用光學分析儀器檢查標準顆粒懸浮液。標準顆粒懸浮液可具有懸浮於溶液中之標準顆粒之一已知濃度(例如，如在上文408中評估)。在504中，可藉由光學分析儀器量測(例如，從光學檢查)而評估溶液中之標準顆粒之濃度。在506中，可評估(例如，評價)經評估濃度與已知濃度之間的一差異。在508中，可基於濃度之間的經評估差異修改光學分析儀器之一或多個參數。在修改參數之後，可使用新參數重複程序500。可重複程序500直至使用光學分析儀器找到之經評估濃度匹配在標準顆粒懸浮液中之標準顆粒之已知濃度。若經評估濃度並不匹配在標準顆粒懸浮液中之標準顆粒之已知濃度，則程

序500可導致對光學分析儀器之偵測效率之一評估。

在某些實施例中，在溶液300中之標準顆粒200與所關注生物顆粒之間的相似性包含透明度及折射指數以及大小及形狀之相似性。在508之一實施例中，光學分析儀器之一使用者可修改儀器配方參數(例如，臨限對比度等級、影像處理參數等)直至使用標準顆粒懸浮液(例如，在溶液300中之標準顆粒200)達成預期計數或直至可量化儀器之一偵測效率。隨後，由於已使用具有類似於生物顆粒之性質之顆粒(例如，標準顆粒200)校準及/或驗證光學分析儀器，故使用者可更有信心使用光學分析儀器實際計數在特定大小範圍中之生物顆粒。

在某些實施例中，標準顆粒懸浮液(例如，在溶液300中之標準顆粒200)為光學分析儀器之使用者提供以一或多個物理參數記錄之一特性化標準。此等參數可關於標準顆粒大小、形狀、折射指數及濃度之分佈且可施加至針對由光學分析儀器執行之每一類型之量測之一或多個度量。此等度量之實例包含(但不限於)針對大小之弗雷特(Feret)直徑及等效圓直徑(ECD)，及針對形狀之縱橫比(AR)及圓度。記錄標準可作為可用於量化光學分析儀器之敏感性之嚴格基線。可基於光學分析儀器對於具有特定大小、形狀或其他所記錄物理特性及在標準中之成分濃度之標準顆粒之偵測速率而評估光學分析儀器之敏感性。

在某些實施例中，標準顆粒懸浮液之一組合提供用於評估濃度改變之一內部標準。一標準顆粒懸浮液可包含標準顆粒之一個以上群體，每一者具有一定義濃度，標準顆粒除折射指數以外之每一定義參數皆相似。可提供在光學分析儀器中具有一高偵測速率之至少一個不透明群體。方法可包含評估一或多個不透明群體之濃度之改變及施加此一經量測改變以修改一或多個幾乎透明之標準顆粒群體之起始濃度。

在一些實施例中，標準顆粒懸浮液(例如，在溶液300中之標準顆粒200)允許來自不同儀器或不同量測實驗室之結果及/或從比較不同分析方法而找到之結果。由於標準顆粒懸浮液已經特性化且具有一判定大小及形狀分佈及一折射指數，故標準顆粒懸浮液允許此等其他(可能)變量之比較。在一些實施例中，標準顆粒懸浮液允許適當記錄隨著時間之一致儀器效能。

在一些實施例中，標準顆粒200包含一或多個圖案202，如在圖2中展示。圖案202可經設計以產生一廣泛範圍之空間頻率。另外，圖案202之影像可用於量測光學分析儀器之MTF (調變傳送函數)。量測光學分析儀器之MTF可用於校準儀器及/或將儀器與其他儀器匹配。在一些實施例中，標準顆粒200浸潤於溶液300中且溶液具有性質及/或包含添加劑，其等調整標準顆粒及/或標準顆粒上之圖案202與溶液300之折射指數差異。

在某些實施例中，如在圖2中展示，標準顆粒200係具有圖案202之一光滑桿狀標準顆粒。圖案202可包含具有沿著標準顆粒200之長度變化之寬度及間距之條紋。在一些實施例中，圖案202包含一MTF測試圖案。MTF測試圖案可用於使用標準顆粒200量測顯微鏡光學效能。然而，標準顆粒200可包含其他圖案202及/或具有可用於評估一顯微鏡系統(例如，光學分析儀器)之敏感性之其他形狀。在一些實施例中，圖案202可層疊於標準顆粒200中。層疊圖案202可用於測試解析度及/或集中於距相機或光學分析儀器之範疇之不同距離處。

在一些實施例中，一較長尺寸之標準顆粒200平行於在光學分析儀器中之流體流動行進。在一些實施例中，標準顆粒200經設計以覆蓋光學分析儀器之一視野。舉例而言，標準顆粒200可安放於光學分析儀器之一流動室內。標準顆粒200可包含圓形及/或光滑邊緣及/或一親水性表面以抑制標準顆粒黏結或堵塞於流

動室中。

將理解，本發明並不限於(當然)可變化之描述之特定系統。亦將理解，在本文中使用的術語僅出於描述特定實施例之目的且不在限制。如此說明書中所使用，單數形式「一」及「該」包含複數指涉物，除非在文中另外明確指示。因此，舉例而言，對於「一形狀」之指涉包含兩個或兩個以上形狀之一組合且對於「一液體」之指涉包含液體之混合物。

鑒於此描述，熟習此項技術者將明白本發明之各種態樣之進一步修改及替代實施例。因此，此描述將僅解釋為闡釋性且出於教示熟習此項技術者執行本發明之大體方式之目的。將理解，本文中展示及描述之本發明之形式將視為目前較佳實施例。元件及材料可取代在本文中繪示及描述之該等元件及材料，部分及程序可顛倒，且可單獨利用本發明之某些特徵，全部如熟習此項技術者在獲得本發明之此描述之益處之後將明白。在不脫離如在以下申請專利範圍中描述之本發明之精神及範疇之情況下可對本文中之元件做出改變。

【符號說明】

- 200 標準顆粒
- 202 圖案
- 300 溶液
- 400 程序
- 402 形成標準顆粒
- 404 選擇標準顆粒
- 406 將標準顆粒放置於一溶液中
- 408 評估標準顆粒
- 500 程序
- 502 檢查標準顆粒懸浮液

- 504 評估溶液中之標準顆粒之濃度
- 506 評估經評估濃度與已知濃度之間的一差異
- 508 修改光學分析儀器之一或多個參數

申請專利範圍

1. 一種標準顆粒懸浮液，其經組態以與人工目視檢查及一光學分析儀器中之至少一者一起使用，該標準顆粒懸浮液包括：
 - 一溶液；
 - 一或多個複數個標準顆粒，其等懸浮於該溶液中，其中每一複數個標準顆粒具有一經定義大小及形狀分佈，且其中該等標準顆粒具有類似於生物顆粒之一經定義折射指數及一浮力；及
 - 在該溶液中之一或多個添加劑(additives)，其中該等添加劑將該等標準顆粒與該溶液之折射指數差異調整為類似於該等生物顆粒與其等之天然溶液之折射指數差異。
2. 如請求項1之懸浮液，其中該等標準顆粒之經定義大小具有自約1奈米至約1毫米之範圍。
3. 如請求項1之懸浮液，其中該等標準顆粒包括從由以下構成之群組選擇之聚合材料：PTFE、ETFE、PDMS及FEP。
4. 如請求項1之懸浮液，其中該等標準顆粒之至少一者包括一或多個圖案。
5. 如請求項4之懸浮液，其中該等圖案之至少一者包含沿著該標準顆粒之長度而變化寬度及間距之條紋。
6. 如請求項1之懸浮液，其中該懸浮液用於一光學分析儀器之校準及驗證中之至少一者。
7. 一種標準顆粒懸浮液，其經組態以與人工目視檢查及一光學分析儀器中之至少一者一起使用，該標準顆粒懸浮液包括：
 - 一溶液；
 - 一或多個複數個標準顆粒，其等懸浮於該溶液中，其中每一複數個標準顆粒具有一經定義大小及形狀分佈，其中該等標準

顆粒具有圍繞一選定顆粒大小之一經定義大小分佈，且其中該等標準顆粒具有類似於生物顆粒之一經定義折射指數及一浮力；及

在該溶液中之一或多個添加劑，其中該等添加劑將該等標準顆粒與該溶液之折射指數差異調整為類似於該等生物顆粒與其等之天然溶液之折射指數差異。

8. 如請求項7之懸浮液，其中該選定標準顆粒大小具有自約1奈米至約1毫米之範圍。
9. 如請求項7之懸浮液，其中該等標準顆粒包括從由以下構成之群組選擇之聚合材料：PTFE、ETFE、PDMS及FEP。
10. 如請求項7之懸浮液，其中該等標準顆粒之至少一者包括一或多個圖案。
11. 如請求項10之懸浮液，其中該等圖案之至少一者包含沿著該標準顆粒之長度而變化寬度及間距之條紋。
12. 如請求項7之懸浮液，其中該懸浮液用於一光學分析儀器之校準及驗證中之至少一者。
13. 一種標準顆粒懸浮液，其經組態以與人工目視檢查及一光學分析儀器中之至少一者一起使用，該標準顆粒懸浮液包括：

一溶液；

一或多個複數個標準顆粒，其等懸浮於該溶液中，其中每一複數個標準顆粒具有一經定義大小及形狀分佈，其中該等標準顆粒具有類似於生物顆粒之一經定義折射指數及一浮力，且其中該等標準顆粒之該折射指數具有使該標準顆粒在溶液中透明而變得在溶液中不透明之值之範圍；及

在該溶液中之一或多個添加劑，其中該等添加劑將該等標準顆粒與該溶液之折射指數差異調整為類似於該等生物顆粒與其

等之天然溶液之折射指數差異。

14. 如請求項13之懸浮液，其中該等標準顆粒具有圍繞一選定顆粒大小之一經定義大小分佈。
15. 如請求項13之懸浮液，其中該等標準顆粒之經定義大小具有自約1奈米至約1毫米之範圍。
16. 如請求項13之懸浮液，其中該等標準顆粒包括從由以下構成之群組選擇之聚合材料：PTFE、ETFE、PDMS及FEP。
17. 如請求項13之懸浮液，其中該等標準顆粒之至少一者包括一或多個圖案。
18. 如請求項17之懸浮液，其中該等圖案之至少一者包含沿著該標準顆粒之長度而變化寬度及間距之條紋。
19. 如請求項13之懸浮液，其中該懸浮液用於一光學分析儀器之校準及驗證中之至少一者。