



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103748450 A

(43) 申请公布日 2014. 04. 23

(21) 申请号 201280040414. 6

代理人 郑立 王萍萍

(22) 申请日 2012. 08. 17

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

61/525, 669 2011. 08. 19 US

61/560, 596 2011. 11. 16 US

61/669, 004 2012. 07. 06 US

G01N 15/14 (2006. 01)

G01N 21/51 (2006. 01)

G01N 21/65 (2006. 01)

G01N 15/02 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 02. 19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2012/052019 2012. 08. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/027034 EN 2013. 02. 28

(71) 申请人 马尔文仪器有限公司

地址 英国乌斯特郡

(72) 发明人 E·尼尔·路易斯

(74) 专利代理机构 上海旭诚知识产权代理有限公司

公司 31220

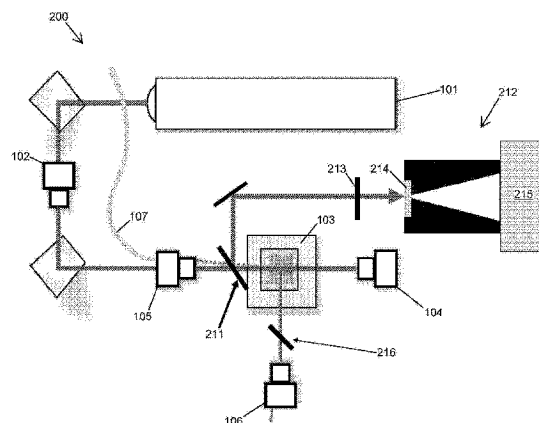
权利要求书2页 说明书7页 附图10页

(54) 发明名称

双模式微粒表征

(57) 摘要

本发明涉及用于检测悬浮微粒的性质的方法和设备。公开的实施例包括光学仪器(200),其用于检测样品的性质,其包括:样品池(103),用于容纳颗粒散布的样品;相干光源(101),其被配置成用来照射样品池(103)中的样品;光强度检测器(104,106),其被放置用来接收和测量来自相干光源(101),由样品池(103)中的样品弹性散射的光的强度;以及光谱光检测器(212),其被放置和配置用来接收和测量来自相干辐射源(101),由样品池(103)中的样品非弹性散射的光的波长范围。



1. 一种用于检测样品性质的光学仪器,包括:
样品池,所述样品池用于容纳微粒散布的样品;
相干光源,所述相干光源被配置成用来照射所述样品池中的所述样品;
光强度检测器,所述光强度检测器被放置用来接收和测量来自所述相干光源,由所述样品池中的所述样品弹性散射的光的强度;及
光谱光检测器,所述光谱光检测器被放置和配置用来接收和测量来自所述相干辐射源,由所述样品池中的所述样品非弹性散射的光的波长范围。
2. 根据权利要求1所述的光学仪器,其中所述光谱光检测器是拉曼检测器。
3. 根据权利要求1或2所述的光学仪器,其中所述相干光源是激光。
4. 根据任一前述权利要求所述的光学仪器,还包括衰减器,所述衰减器放置在以下所列的其中一项或更多项之间:
所述相干光源和所述样品池;
所述样品池和所述光谱光检测器;及
所述样品池和所述光强度检测器。
5. 根据权利要求4所述的光学仪器,其中所述衰减器被配置成可切换的,以在第一状态下为由所述光强度检测器接收到的光提供预定量的衰减,在第二状态下为由所述光谱光检测器接收到的光提供较小量的衰减。
6. 根据权利要求5所述的光学仪器,其中所述光强度检测器被配置成当所述衰减器在所述第二状态下时不检测光。
7. 根据任一前述权利要求所述的光学仪器,还包括滤波器,所述滤波器被配置成将来自所述相干辐射源,由所述样品池中的所述样品非弹性散射的选定波长范围的光发射至所述光谱光检测器。
8. 根据权利要求7所述的光学仪器(200),其中所述滤波器是陷波滤波器。
9. 根据任一前述权利要求所述的光学仪器,其中所述光谱测定检测器被配置成沿着正交于来自所述光源的入射光的路径和/或沿着反向于所述入射光的路径,接收来自所述样品池的散射光,用于检测背散射光。
10. 根据任一前述权利要求所述的光学仪器,其中所述相干辐射源包括第一和第二相干光源,且其中所述光强度检测器响应于由所述第一相干光源发射的光,所述光谱光检测器响应于由所述第二相干辐射源发射的光。
11. 根据任一前述权利要求所述的光学仪器,其中所述光强度检测器和所述光谱光检测器都被配置成在当所述样品池中的所述样品的性质发生变化的测量期间接收和测量光。
12. 根据权利要求10所述的光学仪器,其中所述性质是酸碱度和温度中的一个或更多个。
13. 一种检测微粒散布的样品的光学性质的方法,所述方法包括:
将所述样品放置在样品池中用于分析;
用来自相干光源的入射光激发样品;
用光强度检测器检测来自被激发的所述样品的弹性散射光;及
用光谱光检测器检测来自被激发的所述样品的非弹性散射光。
14. 根据权利要求13所述的方法,其中在检测来自被激发的所述样品的弹性和非弹性

散射光期间,所述样品是用来自共用相干辐射源的光激发的。

15. 根据权利要求 13 所述的方法,其中在检测来自所述样品的弹性散射辐射的步骤和检测来自所述样品的非弹性散射辐射的步骤期间,所述激发的步骤是用不同的相干辐射源激发所述样品。

16. 根据权利要求 13 至 15 中任一权利要求所述的方法,其中当所述样品的状态发生变化时,所述激发所述样品的步骤被重复。

17. 根据权利要求 16 所述的方法,进一步包括步骤:当所述状态发生变化时,在检测来自被激发的所述样品的弹性散射辐射的步骤的结果和检测来自被激发的所述样品的非弹性散射辐射的步骤的结果之间,进行相关联。

18. 根据权利要求 16 或 17 所述的方法,其中所述状态是温度或酸碱度。

19. 根据权利要求 13 至 18 中任一权利要求所述的方法,进一步包括步骤:基于检测来自被激发的所述样品的弹性散射辐射和检测来自被激发的所述样品的非弹性散射辐射的步骤的结果,将所述样品中的种类的化学性质的变化与在所述状态中的变化相联系。

20. 根据权利要求 13 至 19 中任一权利要求所述的方法,其中所述激发和检测的步骤被重复以评估所述样品的可制造性、稳定性、保质期、质量控制、质量保证或配方中的一个。

21. 根据权利要求 13 至 20 中任一权利要求所述的方法,其中放置、激发、检测和移除的步骤被执行用于蛋白质悬浮微粒、生物药品微粒或用于酶微粒、蛋白质微粒、DNA 序列微粒、RNA 序列微粒、疫苗微粒、病毒微粒或病毒类微粒中的一个或更多个。

22. 根据权利要求 13 至 20 中任一权利要求所述的方法,进一步包括从检测到的所述弹性散射辐射获得所述样品的物理性质的步骤,以及从检测到的所述非弹性散射辐射获得所述样品的化学性质的步骤。

23. 根据权利要求 22 所述的方法,其中获得物理性质的步骤包括获得粒子尺寸或多分散性值,获得化学性质的步骤包括获得化学鉴别或分子结构的量度。

24. 根据权利要求 22 所述的方法,其中放置、激发、检测和移除的步骤被执行用于蛋白质,且其中获得物理性质的步骤包括获得蛋白质聚合尺寸分布,获得化学性质的步骤包括从拉曼测量获得蛋白质二级和三级结构信息。

25. 根据权利要求 24 所述的方法,其中获得化学性质的步骤包括获得关于蛋白质折叠或蛋白质变性 / 复性的信息。

双模式微粒表征

技术领域

[0001] 本发明涉及用于检测悬浮微粒的性质的方法和设备。

背景技术

[0002] 现有一些不同的方式来表征复杂纳米微粒材料,比如蛋白质和蛋白质的大聚合物。光学显微镜法是一种相对花费较少的技术,它可以提供关于细胞和高度聚合蛋白质的有限量的尺寸和形状信息。例如,那些执行动态光散射(DLS)、静态光散射(SLS)、或尺寸排阻色谱法(SEC)的仪器能够提供关于各种各样的纳米材料和纳米微粒的尺寸的更高的分辨率信息,但它们缺少传递结构和形状信息的能力。而更精密的仪器,例如那些执行圆二色性(CD)、拉曼光谱、或傅里叶变换红外(FTIR)光谱的装置能够提供关于比如蛋白质材料的分子结构和构象的信息,但缺少提供关于这些材料的尺寸或尺寸分布的任何直接信息的能力。最昂贵的仪器,例如执行X射线晶体学和多核磁共振(NMR)的仪器能够提供大量关于复杂纳米微粒,比如更大蛋白质的结构信息,但这些装置要花费百万美元或更多,并且对于常规测量、质量保证和质量控制用途来说显得不是特别有用处。

[0003] 本发明的目的是解决一个或更多个上述问题。

发明内容

[0004] 根据本发明的第一方面,提供了一种用于检测样品性质的光学仪器,包括:

[0005] 样品池,所述样品池用于容纳微粒散布的样品;

[0006] 相干光源,所述相干光源被配置成用来照射所述样品池中的所述样品;

[0007] 光强度检测器,所述光强度检测器被放置用来接收和测量来自所述相干光源,由所述样品池中的样品弹性散射的光的强度;及

[0008] 光谱光检测器,所述光谱光检测器被放置和配置用来接收和测量来自相干辐射源,由所述样品池中的样品非弹性散射的光的波长范围。

[0009] 所述光谱光检测器是拉曼检测器。所述相干光源可以是激光。所述光强度检测器是光子计数检测器。

[0010] 衰减器放置在以下所列的其中一项或更多项之间:

[0011] 所述相干光源和所述样品池;

[0012] 所述样品池和所述光谱光检测器;及

[0013] 所述样品池和所述光强度检测器。

[0014] 所述衰减器被配置成可切换的,以在第一状态下为由所述光强度检测器接收到的光提供预定量的衰减,在第二状态下为由所述光谱光检测器接收到的光提供较小量的衰减。所述光强度检测器被配置成当所述衰减器在第二状态下时不检测光。

[0015] 所述光学仪器包括滤波器,所述滤波器被配置成将来自所述相干辐射源,由所述样品池中的样品非弹性散射的选定波长范围内的光发射至所述光谱光检测器。所述滤波器是陷波滤波器。

[0016] 所述光谱测定检测器被配置以沿着正交于来自光源的入射光的路径和 / 或沿着反向于入射光的路径,接收来自所述样品池的散射光,用于检测背散射光。

[0017] 在特定实施例中,所述相干辐射源包括第一和第二相干光源,且其中所述光强度检测器响应于由所述第一相干光源发射的光,所述光谱光检测器响应于由所述第二相干辐射源发射的光。

[0018] 所述光强度检测器和所述光谱光检测器都被配置以在当所述样品池中的样品的性质发生变化的测量期间接收和测量光。所述性质是酸碱度和温度中的一个或更多个。

[0019] 根据本发明的第二方面,提供了一种检测微粒散布样品的光学性质的方法,所述方法包括:

[0020] 将所述样品放置在样品池中用于分析;

[0021] 用来自相干光源的入射光激发样品;

[0022] 用光强度检测器检测来自被激发的样品的弹性散射光;及

[0023] 用光谱光检测器检测来自被激发的样品的非弹性散射光。

[0024] 在检测来自被激发的样品的弹性和非弹性散射光期间,所述样品是用来自共用相干辐射源的光激发的。

[0025] 激发的步骤包含在检测来自所述样品的弹性散射辐射的步骤和检测来自所述样品的非弹性散射辐射的步骤期间,用不同的相干辐射源激发所述样品。

[0026] 当所述样品的状态变化时,激发所述样品的步骤被重复。所述方法进一步包括步骤:当所述状态变化时,在检测来自被激发的样品的弹性散射辐射的步骤的结果和检测来自被激发的样品的非弹性散射辐射的步骤的结果之间,进行相关联。所述状态是温度或酸碱度。

[0027] 所述方法进一步包括步骤:基于检测来自被激发的样品的弹性散射辐射和检测来自被激发的样品的非弹性散射辐射的步骤的结果,将所述样品中的种类的化学性质的变化与在所述状态中的变化相联系。

[0028] 激发和检测的步骤被重复以评估所述样品的可制造性、稳定性、保质期、质量控制、质量保证或配方中的一个。

[0029] 放置、激发、检测和移除的步骤被执行用于蛋白质悬浮微粒、生物药品微粒或用于酶微粒、DNA 序列微粒、RNA 序列微粒、疫苗微粒、病毒微粒或病毒类微粒中的一个或更多个。

[0030] 所述方法进一步包括从检测到的弹性散射辐射获得所述样品的物理性质的步骤,以及从检测到的非弹性散射辐射获得所述样品的化学性质。

[0031] 获得物理性质的步骤包括获得粒子尺寸或多分散性值,获得化学性质的步骤包括获得化学鉴别或分子结构的量度。

[0032] 放置、激发、检测和移除的步骤可以被执行用于蛋白质,且其中获得物理性质的步骤包括获得蛋白质聚合尺寸分布,获得化学性质的步骤包括从拉曼测量获得蛋白质二级和三级结构信息。

[0033] 获得化学性质的步骤包括获得蛋白质折叠或蛋白质变性 / 复性的信息。

[0034] 根据本发明的系统能比一些较昂贵的 X 射线晶体学和多维核磁共振(NMR)装置以较低费用提供大量关于纳米微粒和其他纳米材料,比如较大蛋白质的结构和化学信息。这

样的代价是在现有 DLS/SLS 系统上的一个相对简单的附加装置。在一些实施例中,双模式装置能使用单个辐射源来获得关于弹性和非弹性散射的互补信息。

[0035] 根据本发明进一步的总的方面,提供了一种用于检测样品性质的光学仪器,包括:

[0036] 用于容纳用于分析的样品的装置,

[0037] 用于激活样品的装置,

[0038] 用于检测来自被激活的样品的弹性散射辐射的装置,及

[0039] 用于检测来自被激活的样品的非弹性散射辐射的装置。

[0040] 根据本发明进一步的总的方面,提供了一种用于检测样品性质的光学仪器,包括:

[0041] 用于容纳样品的容器;

[0042] 一个或更多个相干辐射源,被放置以照射容器中的样品;

[0043] 多个散射检测器,被放置以接收来自相干辐射源,由容器中的样品以不同角度散射的光;及

[0044] 至少一个光谱测定检测器被放置以接收来自相干辐射源,由容器中的样品非弹性散射的光。

[0045] 根据本发明进一步的总的方面,提供了一种检测样品的光学性质的方法,包括:

[0046] 放置用于分析的样品;

[0047] 对样品进行非弹性光谱测量;及

[0048] 基于之前的非弹性光谱测量的表征,使用另一种类的测量获得关于来自非弹性光谱测量的样品的至少一个物理性质。

[0049] 对样品进行非弹性光谱测量的步骤可包括执行拉曼测量。

[0050] 根据本发明进一步的总的方面,提供了一种用于检测样品性质的光学仪器,包括:

[0051] 用于容纳样品的容器,

[0052] 一个或更多个相干辐射源,被放置以照射容器中的样品,

[0053] 至少一个光子计数检测器,被放置以接收来自相干辐射源,由容器中的样品弹性散射的光,及

[0054] 至少一个光谱测定检测器,被放置以接收来自相干辐射源,由容器中样品非弹性散射的光。

[0055] 根据本发明进一步的总的方面,提供了一种检测样品光学性质的方法,包括:

[0056] 放置用于分析的样品,

[0057] 激发样品,

[0058] 检测来自被激发的样品的弹性散射辐射,

[0059] 检测来自被激发的样品的非弹性散射辐射,及

[0060] 移除样品。

附图说明

[0061] 以下通过示例性的实施例结合附图的方式,对本发明做进一步详细地描述,其

中：

[0062] 图 1 是一个现有技术 DLS/SLS 测量系统的框图，该系统可被用作根据本发明的一个示范性系统的基础；

[0063] 图 2 是基于图 1 中的 DLS/SLS 测量系统的根据本发明的双模式散射系统的示意实施例的框图；

[0064] 图 3 是用图 2 的系统获得的 50 毫克 / 毫升 BSA 溶液在 61℃ 的示意性拉曼光谱；

[0065] 图 4 是用图 2 的系统获得的 50 毫克 / 毫升 BSA 溶液在 61℃ 的示意性尺寸分布图；

[0066] 图 5 是用图 2 的系统获得的一系列不同温度下的拉曼和 DLS 尺寸测量的组合图；

[0067] 图 6 是基于激光衍射测量系统的根据另一实施例的双模式散射系统的示意实施例的框图；

[0068] 图 7 是一个图表，显示了 z 均值半径和拉曼酰胺 III 强度 (1297cm^{-1}) 的图，作为在滴定时 BSA 样品的 pH 值的函数；

[0069] 图 8 是一个拉曼位移测量和与 BSA 10 毫克 / 毫升的溶液 DLS 尺寸测量的相关性的图；

[0070] 图 9 是一个拉曼强度的图，作为 10 毫克 / 毫升 BSA 和 IgG 溶液的拉曼位移的函数；及

[0071] 图 10 显示拉曼强度的图，结合与 DLS 多分散性和尺寸的相关性作为 BSA (图 10a) 和 IgG (图 10b) 溶液的拉曼位移的函数。

具体实施方式

[0072] 根据本发明的系统可以从头开始构建，或可以是基于已有的现成的光学仪器。这样一个系统可以基于光学仪器 100，比如 Zetasizer 纳米粒子测量系统，它是如图 1 所概括地示意。Zetasizer 粒子测量仪器线可以从英国莫尔文的莫尔文仪器有限公司购得，并且在专利申请 W02010/04182 中被进一步详细地描述，此专利申请的内容通过引用合并于此。

[0073] 粒子测量系统 100 包括相干辐射源 101，如激光。激光 101 的输出被提供至衰减器 102，选择性地通过一个或多个中间反射镜 110a、110b，穿过样品池 103，到传输监控器 104 上。经典 90° 光学件 106 和 / 或背散射光学件 105 接收来自样品池 103 中的悬浮微粒样品的散射辐射并测量从光源 101 接收到的和由样品池 103 中的样品弹性散射的光的强度。对于两套光学件 105、106 的一个或两个所接收到的散射辐射可以通过光纤 107 传播到雪崩光电二极管 (APD) 108。光电二极管 108 的输出在 DLS 的情况下可以使用相关器 109 相关，或在 SLS (未示出) 的情况下使用一个集成器集成。

[0074] 参考图 2 和图 3，根据本发明的一个方面，修改图 1 的系统 100 以实现双模式检测的一个方法是在背散射路径中添加一个介质滤波器 211。这个介质滤波器 211 将较长波长的光传播至光谱测定检测器 212，如拉曼检测器。拉曼检测器 212 可以包括一个或多个激光陷波滤波器、衍射光栅 214 和维度检测器 215，如电荷耦合装置 (CCD)。虽然拉曼检测如图 2 所示在背散射路径进行，它还可以或者作为替换地从许多不同的角度中的一个或多个进行，包括从经典 90° 路径的截取点 216 进行。因此在总体方面，光谱测定检测器 212 可配置为沿着正交于入射光的路径和 / 或沿着反向于入射光的路径，接收来自所述样品池的散射光，用于检测背散射光。

[0075] 在操作中,图 2 的系统 200 中的激光 101 用于 DLS 和拉曼测量。DLS 测量期间,衰减器 102 打开,APD108 不饱和(图 1)。拉曼测量期间,衰减器 102 是关闭的,以便让高水平的照明用于拉曼测量。通过交替 DLS 和拉曼测量,系统 200 可获得弹性和非弹性散射信息。这两种检测类型可以提供关于一个特定悬浮的互补信息。例如,DLS 测量可以提供微粒聚合的信息,而拉曼测量可以提供聚合原因的信息或者是否单个粒子的结构发生了变化的信息。这可以有助于调查生物制药的聚合,这可以是一个严重的问题,因为它们聚合时会失去功效甚至是有害的。仪器 200 也可以用来将一个微粒悬浮与另一个做比较。这可能是有用的,例如当比较来自一个公司的生物制药配方与来自另一家公司生产的生物相似药。

[0076] 还有许多其他方法来建立一个配置为获得这些类型的补充信息的系统。例如,系统可以配有分开的来源,用于围绕分开的光学路径组织的不同测量。系统也可以采用不同的光元素的布置和/或不同的选择性或切换元素,如移动镜子或斩波器,以实现两种类型的测量。在一个实施例中,例如,衰减器 102 可以放在光纤 107 路径上,允许同时进行 DLS 和拉曼测量。

[0077] 参见图 3-5、可以操作图 2 的系统 200 以提供光谱信息,如拉曼光谱 301(图 3)和物理性质的信息,如对同样样本在有效地相同时间的尺寸分布 401(图 4)。这些测量也可以在不同条件下连续进行,如样品温度、浓度、pH 值或组成。图 5 展示了 DLS 平均尺寸数据 501 的图(左手的刻度,以 nm)和拉曼位移数据 502(右手刻度,以 cm^{-1})作为温度的函数(以 $^{\circ}\text{C}$)用于蛋白质溶液的图。随着温度的增加,DLS 尺寸数据显示粒子尺寸的增加,表明蛋白质的聚合,而拉曼位移信息表明蛋白质的结构变化,在这种情况下,这解释为 α 螺旋的丧失。因此在一般方面,光强检测器和光谱光检测器皆配置为在样品池的样品的性质发生变化的测量期间,接收和测量光。样品被测期间,样品的性质可能会缓慢改变,如通过改变样品的 pH 值或温度,或可能改变为一种正在进行的反应的结果。因此这种双重测量的优点是清楚的,因为可以对同一样品在同一测量期间通过交替进行 DLS 和拉曼测量进行不同的测量。测量可以手动执行,也可以使用标准的机器人加载系统自动执行,如 x-y 阶段,或使用自动移液系统。

[0078] 为了从测量中得到信息,如尺寸分布或化学信息,根据本发明实施例的光学仪器系统可以与运行在通用计算机平台上专用软件程序结合地来实现,其中存储的程序指令在处理器上被执行。该系统也可以实现全部或部分使用专用硬件来实现相同的功能。而出于阐述的目的,系统可以分解成一系列模块和步骤,本领域的普通技术人员将会认识到也可以把它们组合起来和/或将它们不同地进行分割以实现不同的分解。

[0079] 参见图 6,微粒的双模式表征的另一种方法是同步执行拉曼和激光衍射测量。激光衍射技术是基于以下原则:通过一激光束的粒子将以一个角度散射光线,这个角度与它们的尺寸直接相关。随着粒径减小,观察到的散射角度以对数地增大。观察到的散射强度也取决于粒子的尺寸并,相当近似地,与粒子的横截面积相关联地减小。因此大粒子以小角度高强度散射光,而小颗粒以较大角度低强度散射光。在激光衍射系统内进行的主要测量是捕获来自被研究的粒子的光散射数据。

[0080] 根据本发明的这方面的系统可以从头开始构建,或他们可以基于已有的现成的仪器。在一个实施例中,这样一个系统可以基于 Mastersizer3000 粒子尺寸分析仪,其可以从英国莫尔文的莫尔文仪器有限公司获得。一个模范系统 300,示意性地在图 6 中绘示出,包

括相干光源,如与可选的衰减器 602 一起的红色激光 601,用于提供相干的、强烈的固定波长的光的来源。也可以提供可选的第二个相干光源,如蓝色激光 621。系统 300 进一步包括样品呈现系统,如样品池 603,其被配置为使被测材料通过入射激光束,优选地是以在已知的、可再生的分散状态下的粒子 604 的均匀流的形式。

[0081] 提供了第一系列检测器,包括焦平面检测器 605a 和一系列大角度检测器 605b,以测量由样品池 603 中分散的粒子散射入射光而在一个宽的角度范围内产生的光图像。提供了第二个系列的检测器 606、612,以测量来自样品池 603 和用于拉曼检测的背散射的光。介质滤波器 611 可以被放置在多个背散射光的路径中的一个上,滤波器 611 被配置为将较长波长光传播至光谱测定检测器,如拉曼检测器 612。拉曼检测器 612 可以包括一个或多个激光陷波滤波器 613、衍射光栅 614 和维度检测器 615,如电荷耦合装置 (CCD)。尽管拉曼检测显示为在多个背散射路径中的一个上进行,它还可以或作为替换地从许多不同的角度中的一个或多个进行,包括从经典 90° 路径的截取点开始。如图 2 中所述的实施例。

[0082] 在操作中,图 6 的系统 300 中的激光 601 (和 / 或 621) 被用于激光衍射和拉曼测量。在激光衍射测量期间,衰减器 602 打开,这样散射检测器不饱和 (图 1)。在拉曼测量期间,衰减器 602 是关闭的,以便让高水平的照明用于拉曼测量。通过交替激光衍射和拉曼测量,系统可获得关于一个特定悬浮的互补信息。例如,激光衍射测量可以提供样品的物理性质的信息,而拉曼测量可以提供样品的化学组成信息。

[0083] 在其他的实施例中,还有许多其他方法,用以建立起获得这些类型的互补信息的系统。例如,系统可以配有分开的来源,用于围绕分开的光学路径组织的不同测量。系统也可以采用不同的光元素的布置和 / 或不同的选择性或切换元素,如移动镜子或斩波器,以实现两种类型的测量。在一个实施例中,例如,衰减器 602 可以被放置成允许同时进行激光衍射和拉曼测量。

[0084] 在测量期间可获得的尺寸范围直接与散射测量的角范围相关。现代激光衍射仪器进行约 0.02 度到 135 度的测量。当检测器 605 在小角度处紧密组合在一起而在大角度处更宽的间隔开时,对数检测器序列产生最佳灵敏度。检测器序列也可以设置为不同尺寸的粒子的相等体积产生类似的被测信号。使用这种方法,当被测量的散射角增大时,检测器的尺寸也增大。

[0085] 一旦进行了同时测量,测量之间的关系就可以建立。这可以进一步了解样品和 / 或允许一个测量获取另外其他的可能通常用来测量的信息。用下面的例子对这种方法更详细地进行描述。

[0086] 示例 1

[0087] 参见图 7,在不同 pH 水平下对牛血清白蛋白 (BSA) 的样品进行双模拉曼和 DLS 测量。随着 pH 值的增加,DLS 测量 701 显示了一种趋势,这种趋势指示了粒子尺寸的变化。同时,拉曼测量 702 也以与 DLS 测量的变化相关的方式改变。DLS 和拉曼测量的变化被认为由 pH 值的变化产生的蛋白质的去折叠所引起。这种去折叠被认为导致分子尺寸的增大,并且当其去折叠,会引起蛋白质的二级结构中的可测量的变化。

[0088] 示例 2

[0089] 参见图 8 到 10,针对牛血清白蛋白 (BSA) 的样品在不同温度水平下执行双模式拉曼和 DLS 测量。随着温度的增加,进行并记录 DLS 测量和拉曼测量 801 (图 8)。使这两组值

相关联以产生图表（虚线 802），表明尺寸变化是怎样与在不同波长的拉曼光谱的变化相关联的。然后用免疫球蛋白 G (IgG) 重复实验。

[0090] 在实验的这个第一部分中使用温度调整，但也可以改变其他物理性质，如 pH 值。尽管在这种情况下用 DLS 尺寸参数，也可以使用其他 DLS 参数，如多分散系数，它提供了一种样品中尺寸分布的测量方法。

[0091] 如图 9 所示，化学结构特点对应于化合物的拉曼光谱的不同部分。例如，在较高的拉曼位移处的第一个区域 901 中的大顶峰对应于 BSA 和 IgG 两者的主干，而在略低位移处的第二个区域 902 中的较小顶峰对应于芳香族侧链。这些知识可以帮助了解物理性质影响分子的方式。

[0092] 如图 10 和图 10b 所示，DLS 和拉曼测量之间的相关图显示出在不同波长下更强的相关性。图 10a 绘示了 BSA 的拉曼测量 1001a 以及与 DLS 多分散性 1002a 和尺寸 1003a 的相关性的图表，而图 10b 绘示出了拉曼测量 1001b 以及与 IgG 的 DLS 多分散性 1002b 和尺寸 1003b 的相关性的图表。这些相关性可以与相应的分子特性匹配，以确定哪些特性可能会受到物理变化的影响。使用这种技术可以显示，例如，比起响应于 pH 值的改变，蛋白质更响应于温度的变化而不同地发生性质改变以及 / 或发生聚合。

[0093] 也可以执行其他类型的变化的实验，如温度、盐浓度、药物或其他化学浓度、离子强度、和 / 或变性水平。这些类型的双模式实验也可以进行，以确定其他类型的不同材料的化学和物理性质。例如，当样品状态变化时，拉曼测量可以用来检测样品的结晶度，激光衍射用来检测样品的尺寸。这可以使得更深入地理解在不同的条件下到什么程度一个样品会呈现结晶的，无定形的，和 / 或多形态的性质。有了这种类型的理解，就可以执行拉曼测量，以了解在一个特定系统下的样品的物理性质的信息，如尺寸、形状、直径、纵横比的信息。还可以了解其他使用 DLS 进行测量另外可获知的性质，包括物理化学性质，如蛋白质 ζ 电势、电荷和等电位点。这个交叉测量原则可以根据不同的时间表，在双模式系统中的任何类型的测量间使用。在质量控制情况下，例如，用两种测量技术，被测物质可能被充分地表征，但常规测试可能只会执行其中之一。为常规测试所选的技术可能会因为各种各样的原因而被选择，比如，因为它更便宜、更快、更可测量的、或更可靠。

[0094] 根据本发明的系统可以适用于各种应用，包括研究、质量控制、配方开发、稳定性测试、可制造性测试，效率测试，发布测试和药物发现。他们也适用于各种各样的材料，如生物制药、小和大分子蛋白质，赋形剂，颜料和其他工业粉末。

[0095] 本发明已结合多个具体实施例详述。然而，诸多预期将落在本发明的范围内的修改对于本领域技术人员来说也应该是明显的。因此，它的目的旨在，本发明的保护范围仅由权利要求所限定。此外，权利要求的顺序不应被解释为限制权利要求中任何特定词的范围。

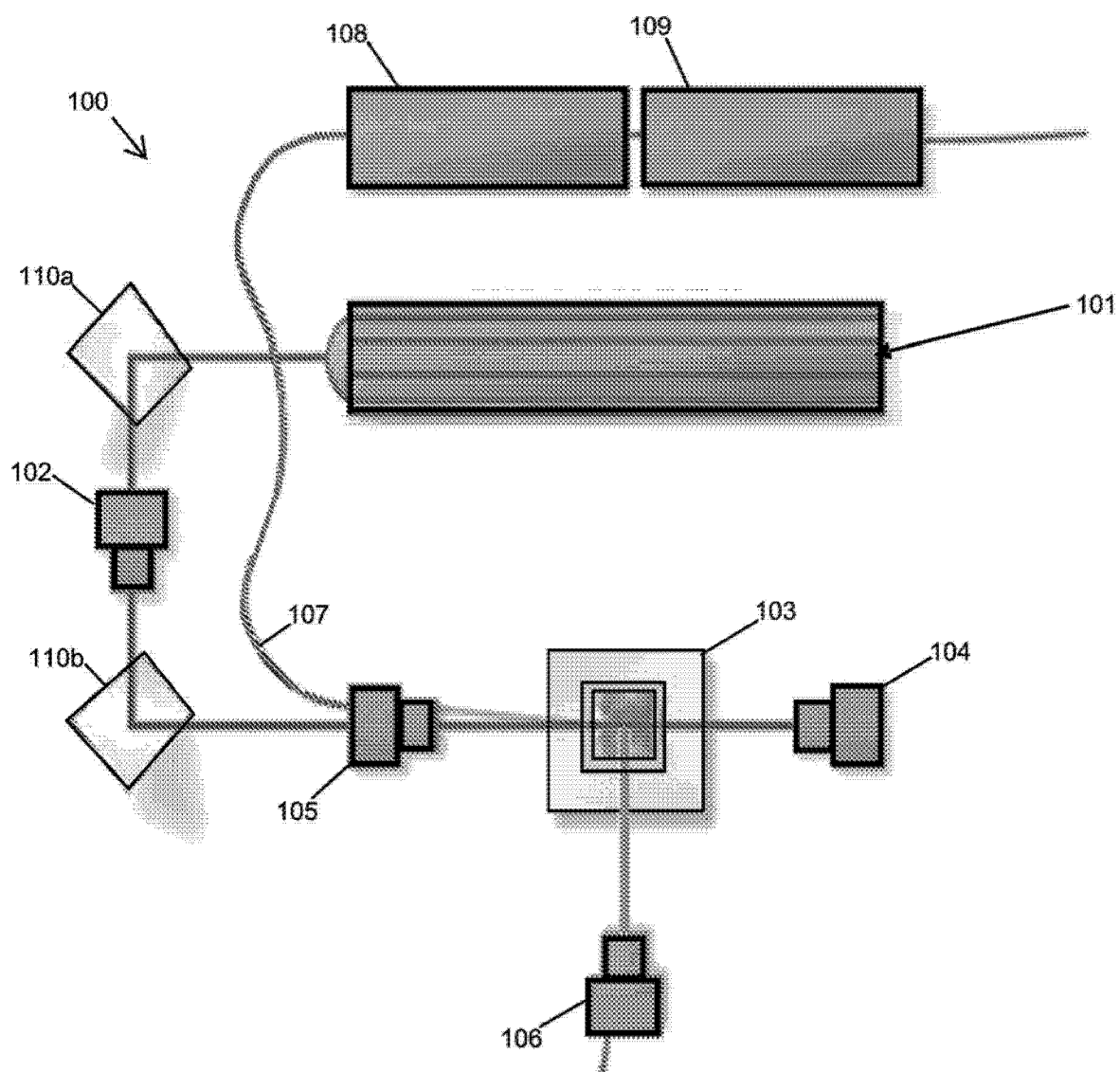


图 1
现有技术

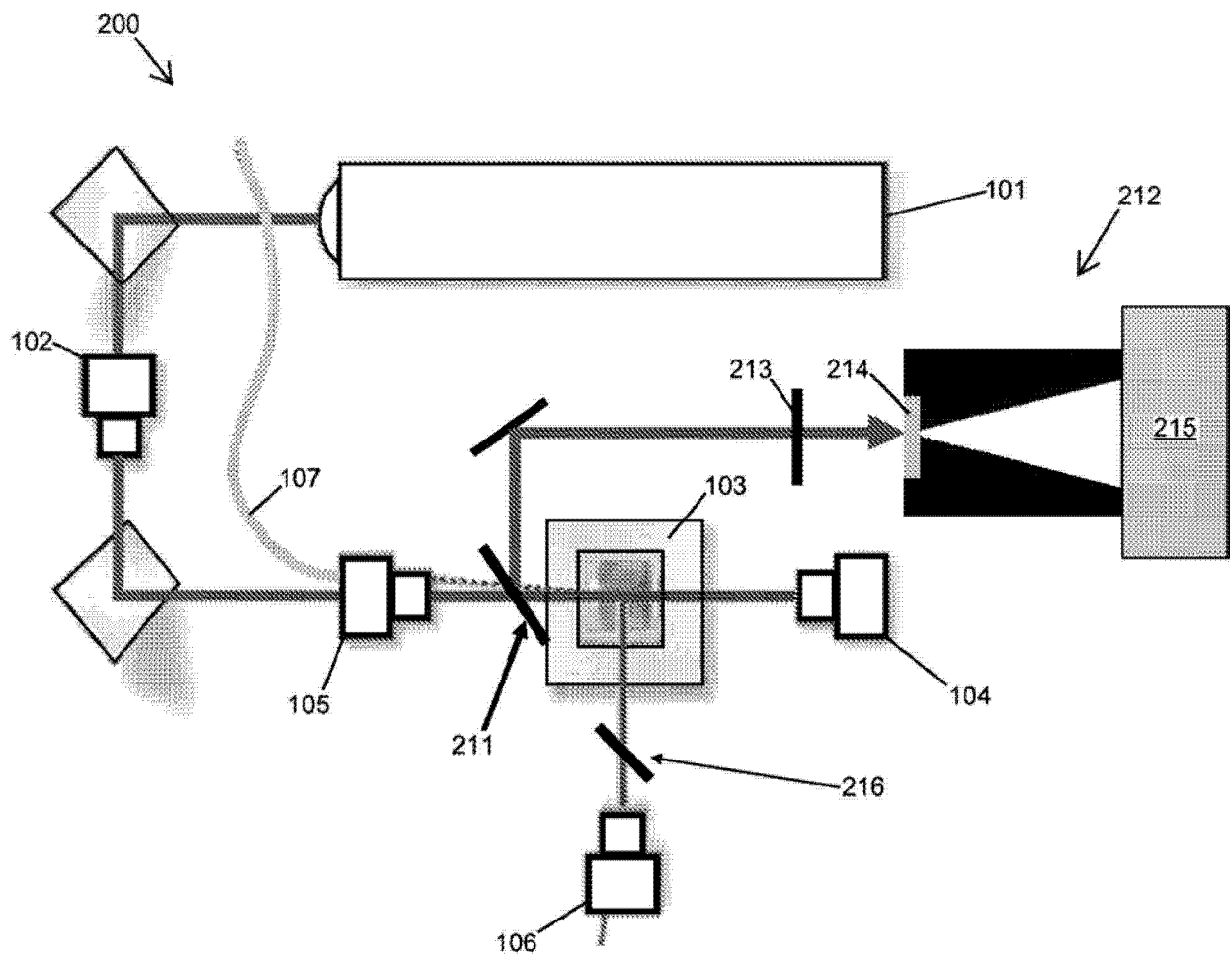


图 2

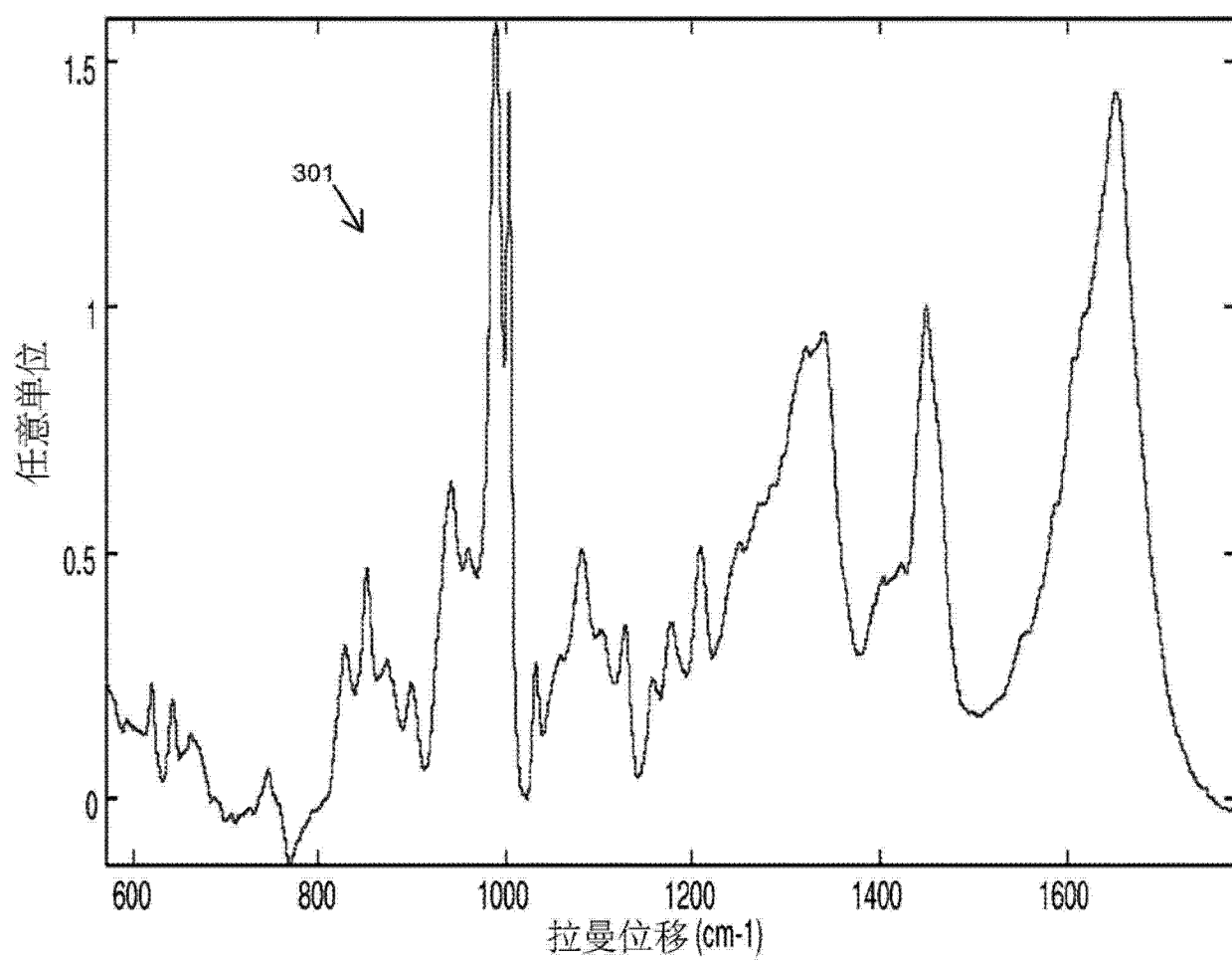


图 3

以强度进行尺寸分布

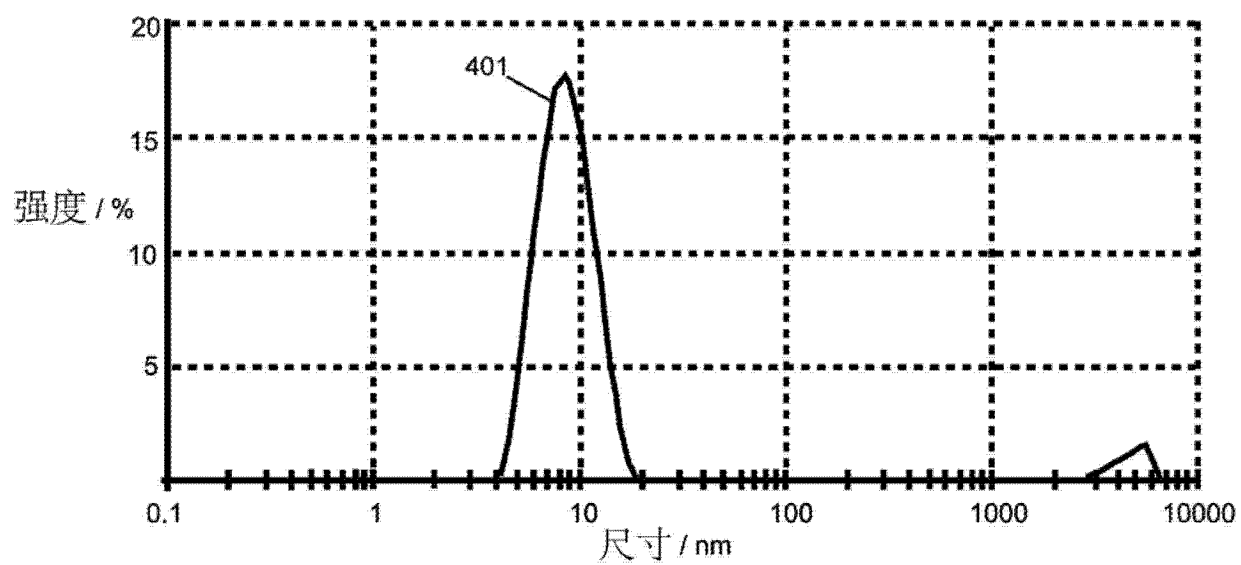


图 4

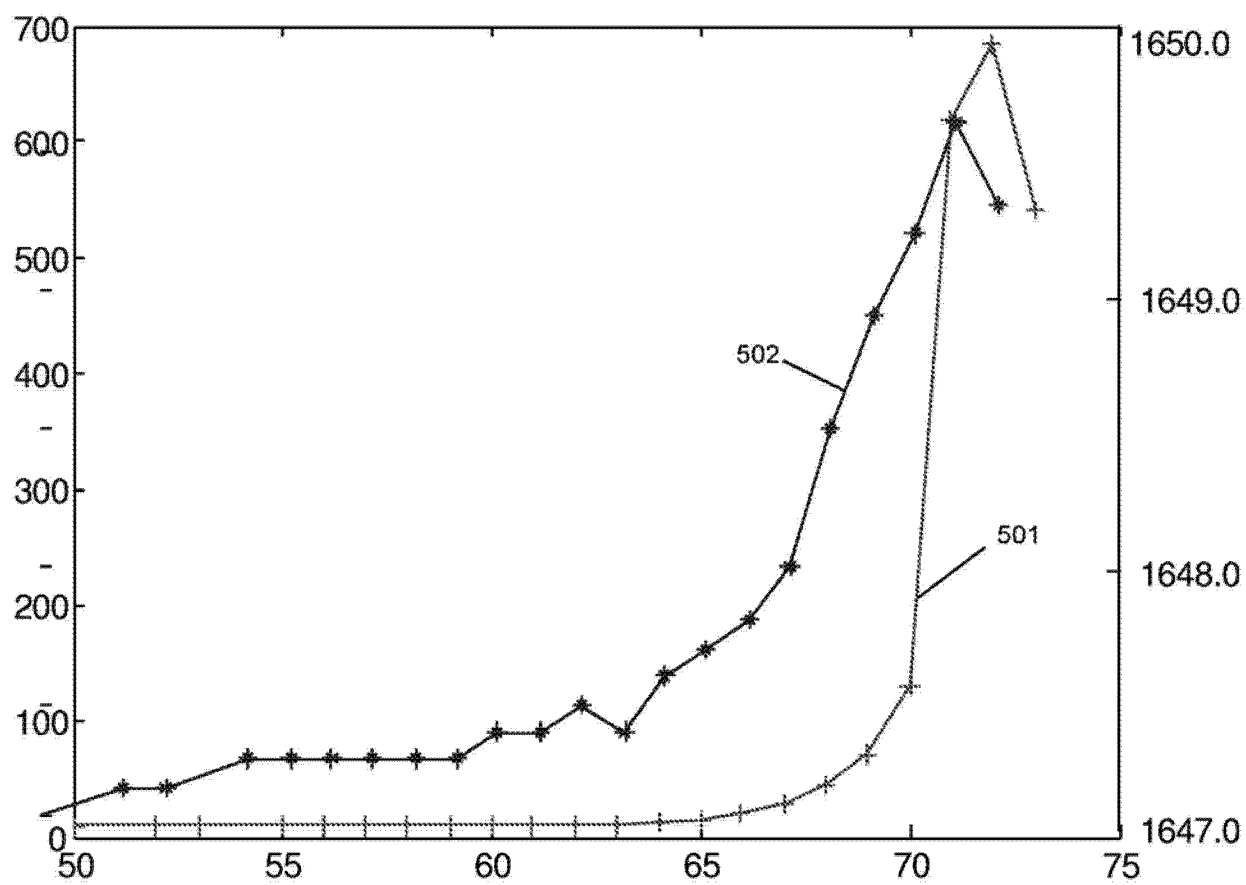


图 5

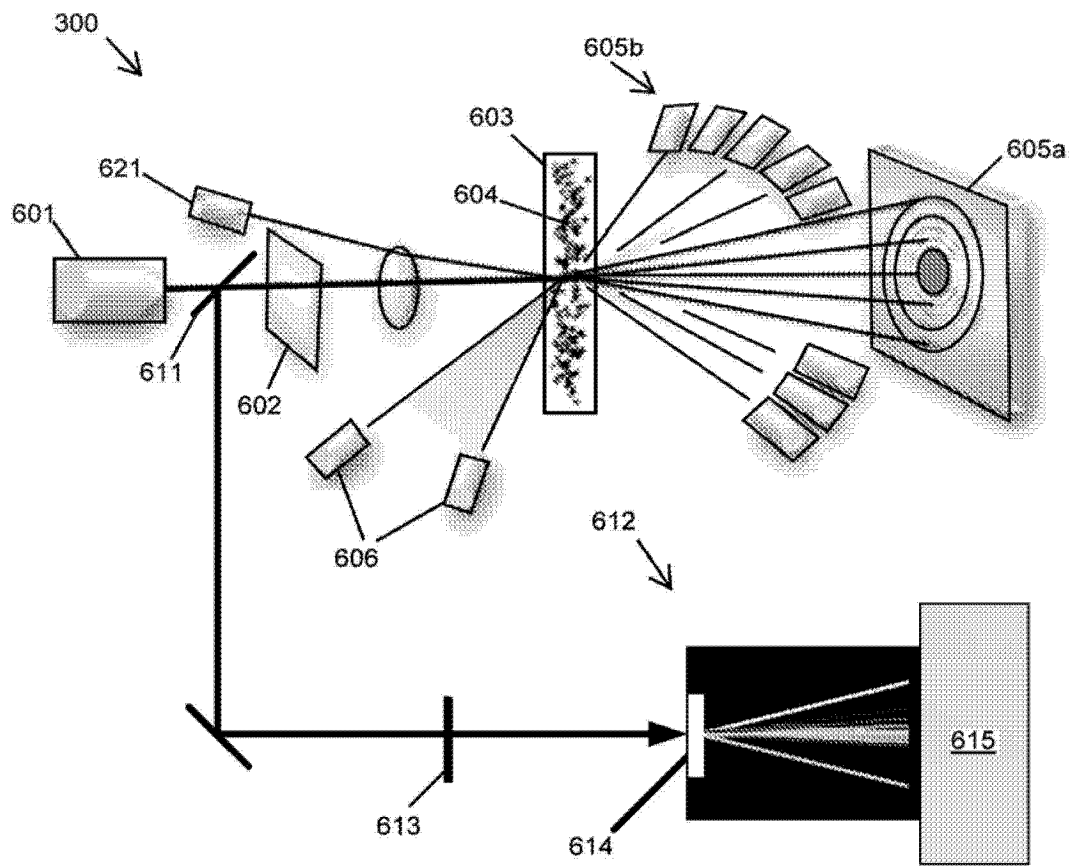


图 6

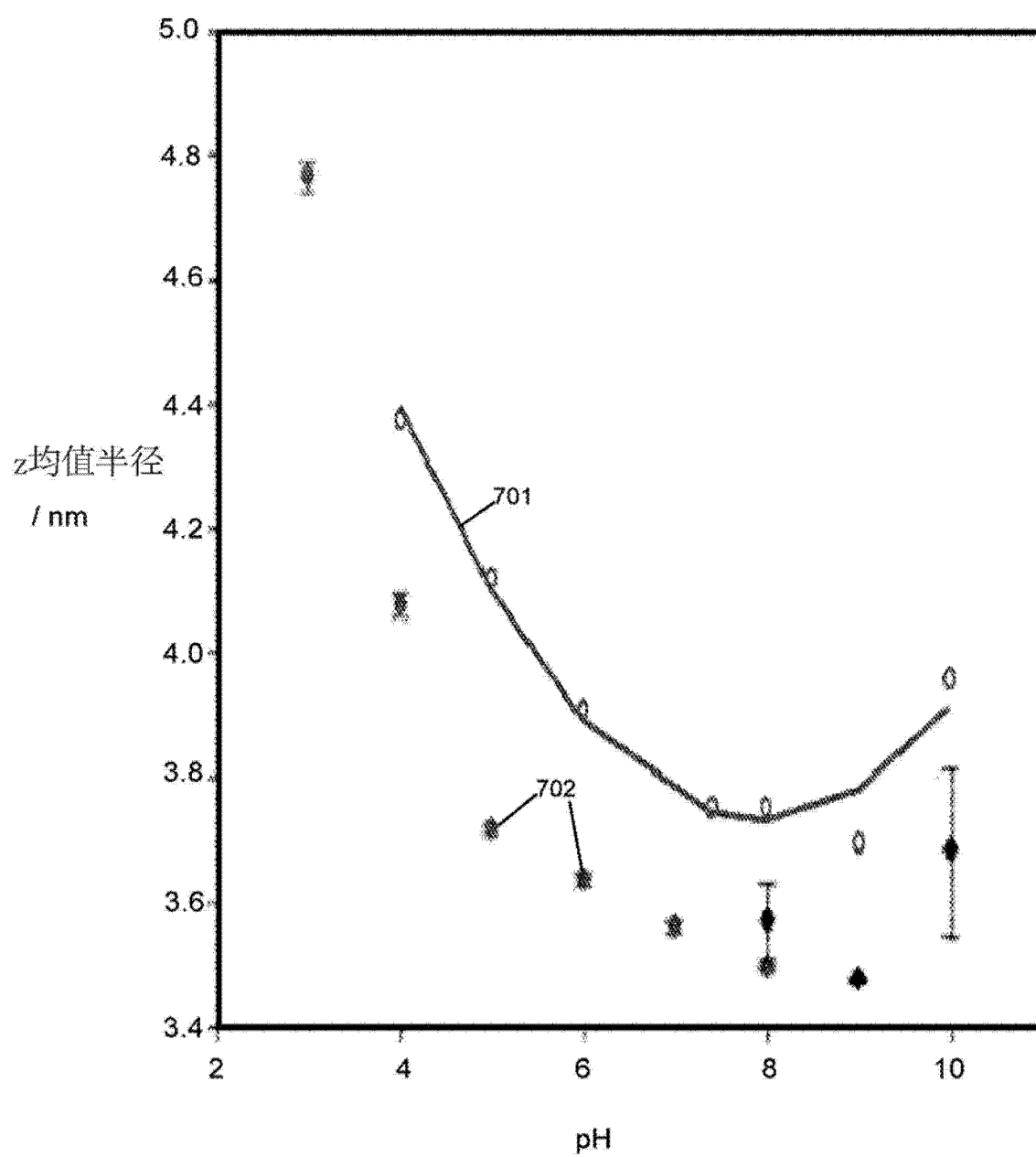


图 7

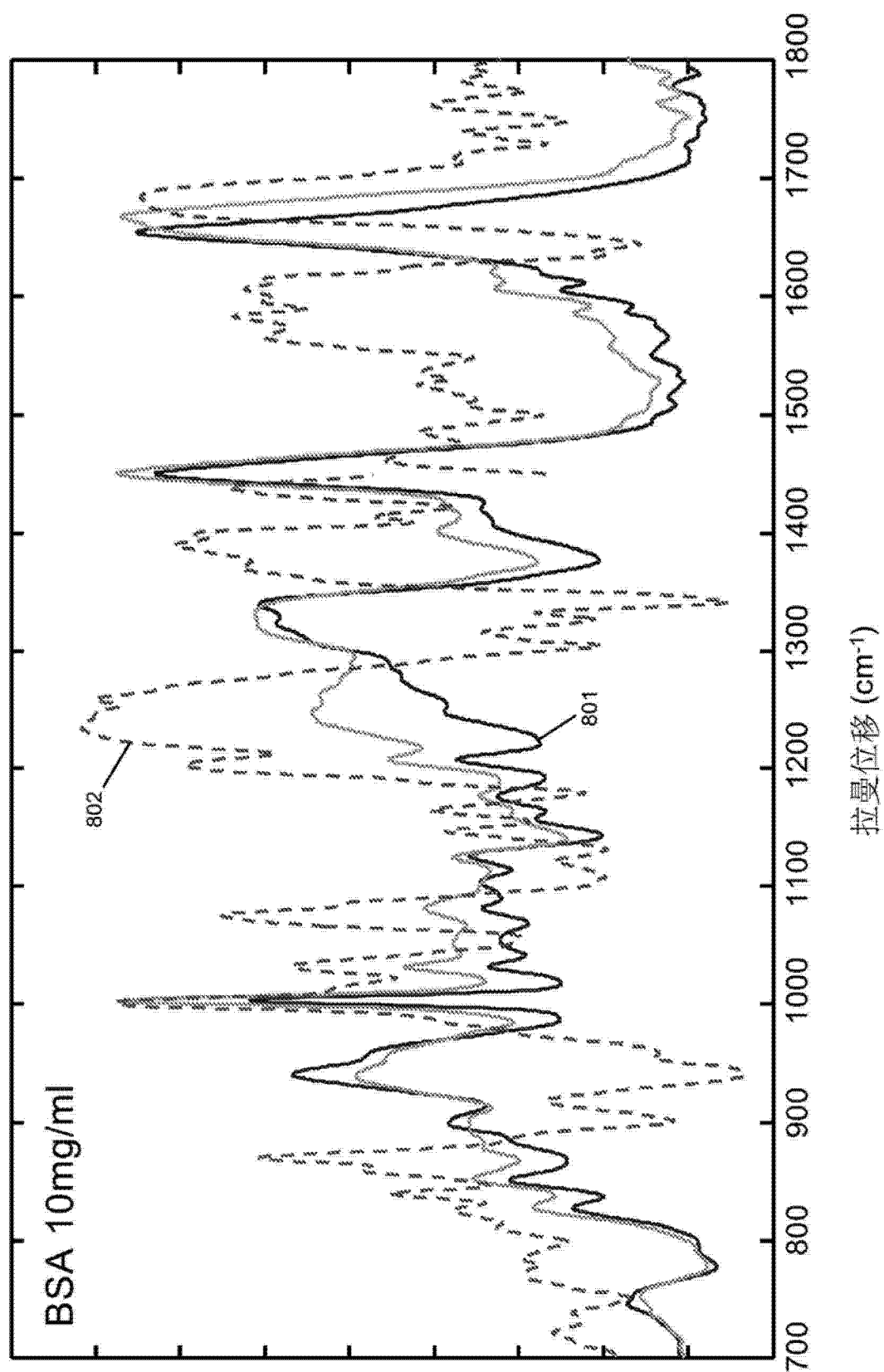


图 8

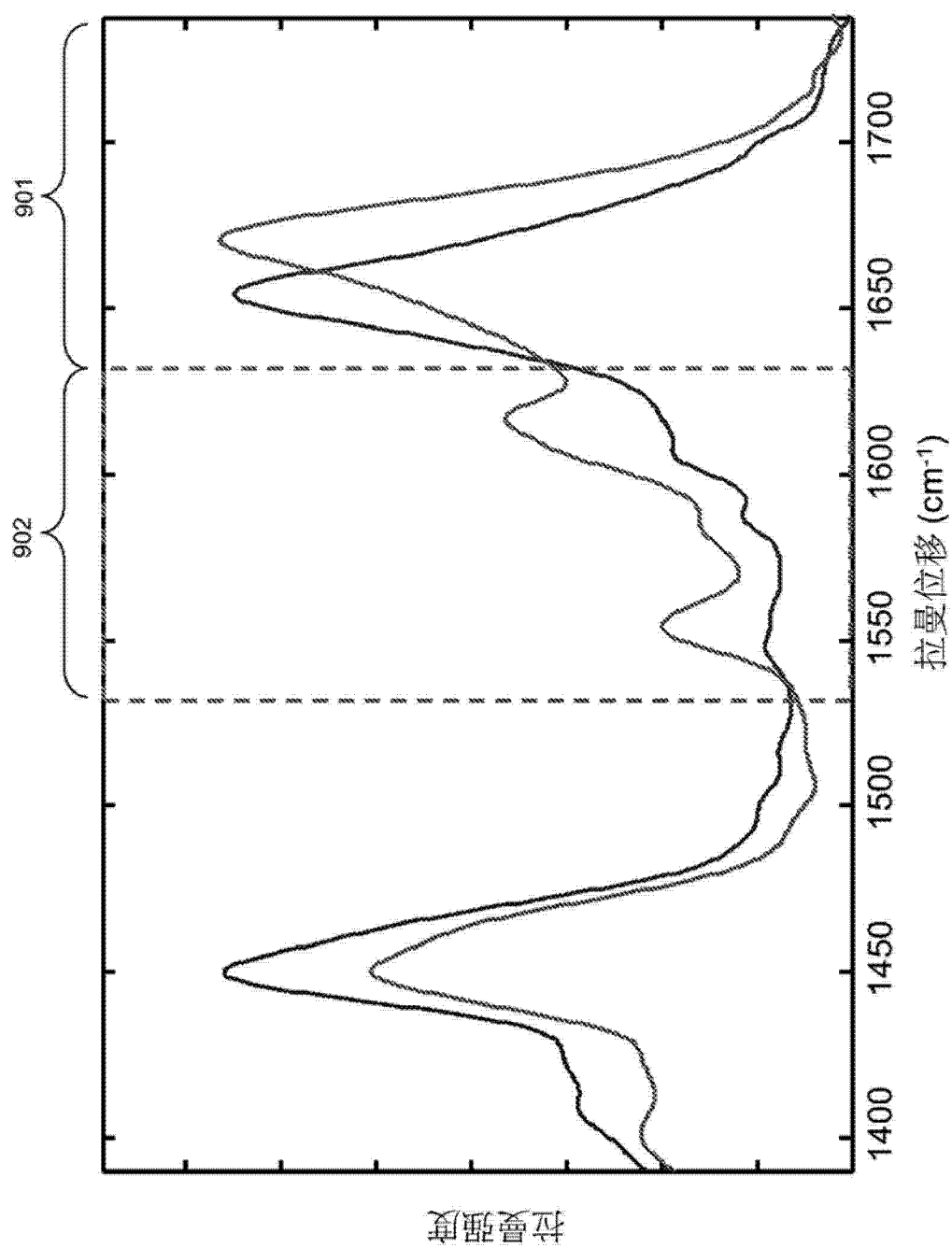


图 9

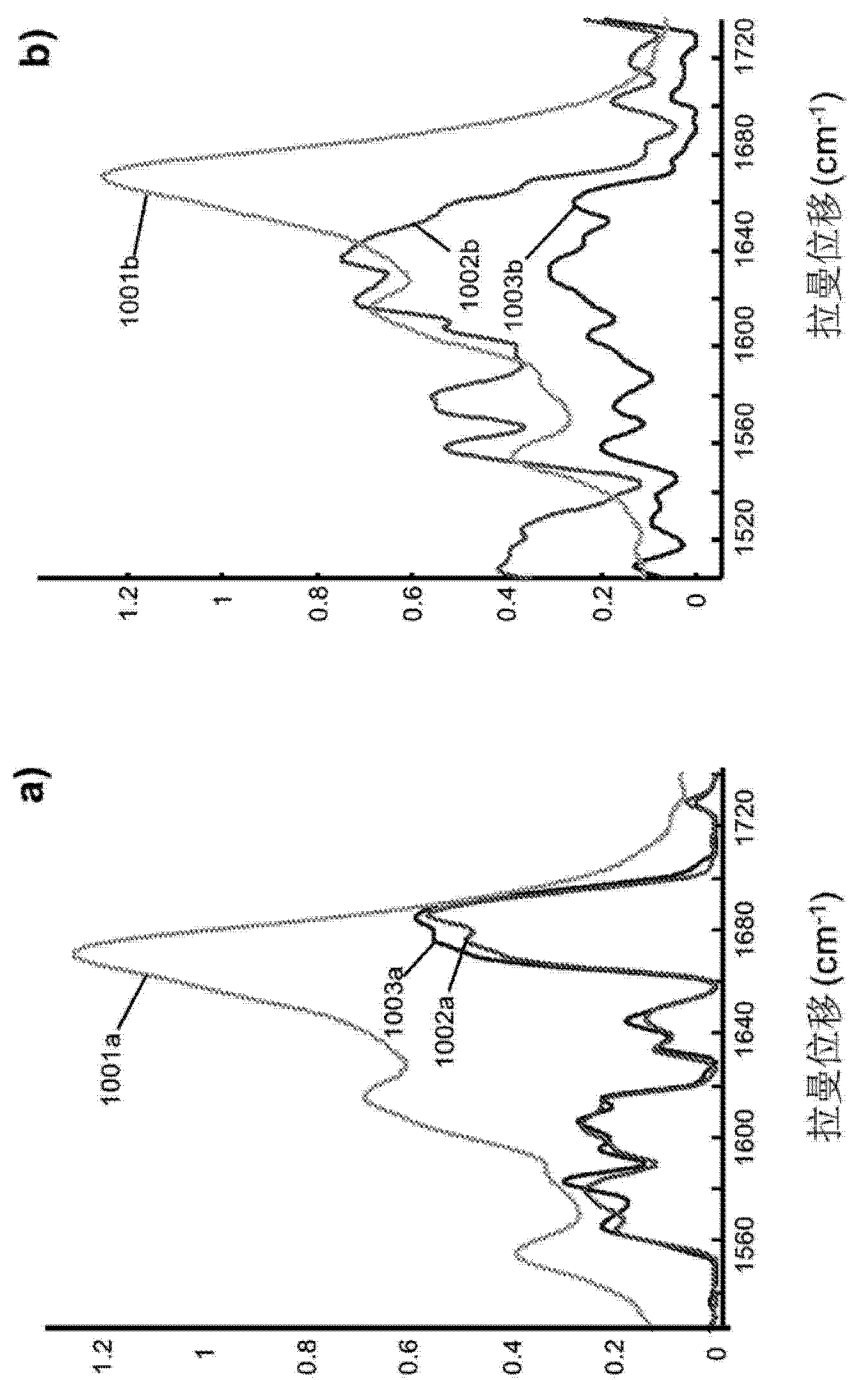


图 10