



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106233124 B

(45) 授权公告日 2022.05.17

(21) 申请号 201580012289.1

(22) 申请日 2015.03.05

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106233124 A

(43) 申请公布日 2016.12.14

(30) 优先权数据
14158334.4 2014.03.07 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2016.09.06

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2015/054643 2015.03.05

(87) PCT国际申请的公布数据
W02015/132347 EN 2015.09.11

(73) 专利权人 一滴诊断公司
地址 瑞士纳沙泰尔

(72) 发明人 L·吉瓦斯 J·齐格勒
N·迪斯哈尔梅斯

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

专利代理师 王小东

(51) Int.Cl.
G01N 21/64 (2006.01)
G01N 21/77 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 102124128 A, 2011.07.13
CN 102124128 A, 2011.07.13
US 2012077190 A1, 2012.03.29
US 2009312188 A1, 2009.12.17
CN 101493410 A, 2009.07.29
CN 102387863 A, 2012.03.21
CN 102483422 A, 2012.05.30
CN 103335931 A, 2013.10.02

审查员 吴文惠

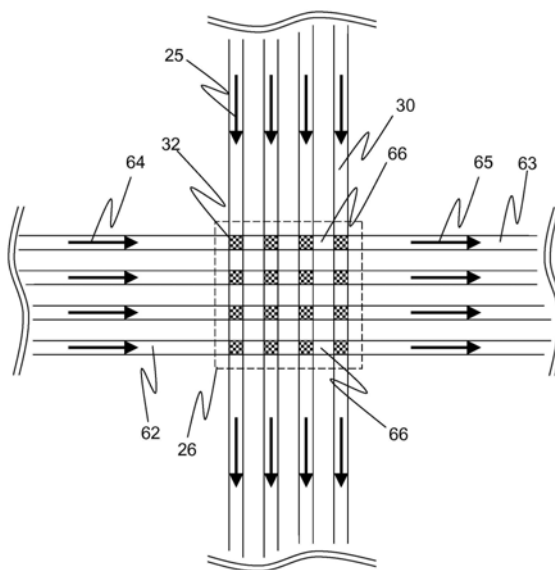
权利要求书2页 说明书19页 附图13页

(54) 发明名称

化验单元、读取器单元和诊断装置

(57) 摘要

本发明涉及化验单元、读取器单元和诊断装置。化验单元包括具有微流体系统的微流体芯片和具有布置在芯片上的矩形波导结构的光子系统，微流体系统能够将生理样品或者分析物溶液传送通过布置在芯片上的微流体通道，矩形波导结构能够引导近红外区、可见区或者近紫外区内的激发光。微流体通道和矩形波导结构在检测部位处彼此相交。在特定微流体通道和特定波导结构彼此相交的化验区域中，波导结构的芯的一个或多个侧面至少部分地面对微流体通道的内容积，使得在波导结构中引导的光的衰减场与微流体通道的内容积的某一部分重叠。在化验区域中，在波导芯的表面上定位有一个或多个捕获点，捕获点包括免疫测定的覆层，捕获抗体在芯表面上固定不动。



1. 一种用于在一个或多个生理样品上执行荧光检测化验的化验单元(1),该化验单元包括:

具有微流体系统(20)的微流体芯片,所述微流体系统能够将生理样品或者分析物溶液(110)传送通过布置在所述微流体芯片上的一个或多个微流体通道(30);以及

具有布置在所述微流体芯片上的两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)的光子系统(60),所述两个以上的矩形波导结构能够引导近红外区、可见区或者近紫外区内的激发光(64,65),每个矩形波导结构包括进入波导和输出波导并且包括线性结构,

所述一个或多个微流体通道和所述两个以上的矩形波导结构在检测部位(26)处彼此相交,其中,在特定微流体通道和特定波导结构彼此相交的化验区域(32)中,所述特定波导结构的芯(104)的一个或多个表面(105,105')至少部分地面对所述微流体通道的内容积,使得在所述特定波导结构内引导的光的消逝场与所述微流体通道的所述内容积的一个部分重叠,并且

其中,在所述化验区域(32)中,在所述芯(104)的所述表面(105,105')上定位有一个或多个捕获点(27),所述捕获点包括化验的捕获分子(112)的覆层,所述捕获分子在所述芯的所述表面(105,105')上固定不动。

2. 根据权利要求1所述的化验单元,其中,在化验区域(32)中,所述波导结构(66,67)的所述芯(104)布置在基层(102)上,并且嵌入在覆盖层(106)中,使得仅所述芯(104)的与所述基层相对的上表面(105)面对所述微流体通道(30)的所述内容积。

3. 根据权利要求1所述的化验单元,其中,在化验区域(32)中,所述波导结构(66,67)的所述芯(104)布置在基层(102)上,并且至少部分未嵌入在覆盖层(106)中,使得所述芯(104)的与所述基层相对的上表面(105)以及所述芯(104)的两个侧表面(105')面对所述微流体通道(30)的所述内容积。

4. 根据权利要求1所述的化验单元,其中,波导结构(66)包括单个波导或者波导束,所述波导束中的波导为单模波导或者多模波导。

5. 根据权利要求2所述的化验单元,其中,波导结构(66)包括单个波导或者波导束,所述波导束中的波导为单模波导或者多模波导。

6. 根据权利要求3所述的化验单元,其中,波导结构(66)包括单个波导或者波导束,所述波导束中的波导为单模波导或者多模波导。

7. 根据权利要求1所述的化验单元,该化验单元具有用于将光束耦合入所述两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)中的两个以上耦合元件(74)和/或用于将光束耦合出所述两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)的两个以上的耦合元件(75)。

8. 根据权利要求2所述的化验单元,该化验单元具有用于将光束耦合入所述两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)中的两个以上的耦合元件(74)和/或用于将光束耦合出所述两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)的两个以上的耦合元件(75)。

9. 根据权利要求3所述的化验单元,该化验单元具有用于将光束耦合入所述两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)中的两个以上的耦合元件(74)和/或用于将光束耦合出所述两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)的两个以上的耦合元件(75)。

10. 根据权利要求4所述的化验单元,该化验单元具有用于将光束耦合入所述两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)中的两个以上的耦合元件(74)和/或用于将光束耦合出所

述两个以上的矩形波导结构(62,66,67,63)的两个以上的耦合元件(75)。

11.一种用于执行荧光检测的免疫测定的诊断装置(3),该诊断装置包括一个或多个根据权利要求1至10中任一项所述的化验单元(1)以及用于读取在所述化验单元(1)上执行的免疫测定的结果的读取器单元(2),该读取器单元包括:用于以可释放的方式安装所述化验单元的保持器;用于产生激发光(64)的一个或多个光源(72);以及检测器单元(80),该检测器单元能够测量由安装在所述保持器上的所述化验单元发射的荧光发射光(68)。

12.根据权利要求11所述的诊断装置,其中,所述检测器单元(80)能够获得安装在所述保持器上的所述化验单元(1)的所述荧光发射光(68)的二维数字图像。

13.根据权利要求11或12所述的诊断装置,其中,所述检测器单元(80)包括数字图像检测器芯片。

14.根据权利要求13所述的诊断装置,其中,所述数字图像检测器芯片为CCD芯片。

15.根据权利要求11或12所述的诊断装置,该读取器单元包括光学元件,所述光学元件用于朝向安装在所述保持器上的所述化验单元(1)的耦合元件(74)引导所述激发光(64)。

16.根据权利要求13所述的诊断装置,该读取器单元包括光学元件,所述光学元件用于朝向安装在所述保持器上的所述化验单元(1)的耦合元件(74)引导所述激发光(64)。

17.根据权利要求11或12所述的诊断装置,该读取器单元包括检测元件(76),所述检测元件用于测量从安装在所述保持器上的所述化验单元(1)的波导(63)耦合出的激发光(65)的振幅。

18.根据权利要求13所述的诊断装置,该读取器单元包括检测元件(76),所述检测元件用于测量从安装在所述保持器上的所述化验单元(1)的波导(63)耦合出的激发光(65)的振幅。

19.根据权利要求15所述的诊断装置,该读取器单元包括检测元件(76),所述检测元件用于测量从安装在所述保持器上的所述化验单元(1)的波导(63)耦合出的激发光(65)的振幅。

化验单元、读取器单元和诊断装置

技术领域

[0001] 本发明涉及用于执行荧光检测化验的化验单元、用于读取该化验单元的结果的读取器单元以及具有这样的化验单元和读取器单元的诊断装置。

背景技术

[0002] 为了进行各种生化分析而可能分析诸如体液之类的生理样品。精确的医疗诊断是医学治疗的重要部分,诸如健康状况和疾病的识别、监控、预后以及伴随诊断。存在使用医疗诊断系统的两个主要背景:专用的医疗实验室和所谓的护理点(POC)测试。

[0003] 术语“生理样品”在本说明书的情形下应包括作为从患者获取的诸如血液、尿液、大便或者组织之类的生物材料或者基于这样的生物材料为随后的分析所准备的样品的所有材料。

[0004] 如在医学实验室中使用的实验室诊断装置通常提供了各种分析能力。实验室诊断装置是灵敏的、精确的以及灵活的,并且提供了高生产量。然而,他们还具有昂贵并且需要专业操作人员的缺点。为此,这样的诊断装置主要使用在医院实验室和集中医学实验室,在那里它们能够被最有效地使用。然而,由于这样的装置需要来自患者的生理样品,因此所述样品必须被运送到医学实验室以在那里进行分析,并且必须被适当地操纵和存储。从而分析结果仅在几个小时甚至几天之后才能使用。

[0005] 日益增多的大量诊断测试在接近患者的护理点处进行,例如在医疗实践中,护理点为医院的急救室中、救护车、在患者侧、在家或者在野外。护理点诊断装置通常是便携式的,并且能够快速地在几分钟内获得分析结果。他们的使用通常非常简单,从而使得诊断测试能够通过不具有特别培训的医疗人员或者甚至通过患者自己来进行。用于护理点诊断的装置分析小样品量、成本低且容易使用。在将样品引入到装置上之后能够直接获得结果。护理点诊断测试提供了人体的生化状态的概像。在医院和诊所中,它们作为临床实验分析仪的替代物或者补充物而由医疗人员使用。它们还在医院之外、在家或者在野外被使用。

[0006] 当前的护理点诊断装置通常不足以精确或者灵敏至能够作为仅有的信息源被依赖。诊断测试因此在临床实验室中通常需要重复进行。因此一个挑战是研制这样的护理点诊断装置,该护理点诊断装置足够灵敏和精确以提供临床实验室的等同替代物。

[0007] 近来,用于护理点诊断的新生代微流体芯片已被研制出,如例如在以下两篇论文中所公开的:L.Gervais、E.Delamarche的“Toward One-step Point-of-care Immunodiagnosics Using Capillary-driven Microfluidics and PDMS Substrates(关于毛细驱动的微流控技术和PDMS基底的一步式护理点免疫诊断学)”,Lab on a Chip 9, no.23(2009):3330.doi:10.1039/b906523g;以及L.Gervais、N.de Rooij、E.Delamarche的“Microfluidic Chips for Point-of-Care Immunodiagnosics(用于护理点免疫诊断学的微流体芯片)”,Advanced Materials 23, No.24(June 24,2011):H151-H176.doi:10.1002/adma.201100464。

[0008] 在简单添加血滴(小于20微升)并且使用非常少量的集成试剂(几皮升)之后,微流

体芯片能够执行数十种不同蛋白的高灵敏(皮摩尔)和精确(变化系数小于10%)的多路复用检测。尽管这些微流体芯片是有效的,但因为它们用硅制成因而仍旧是昂贵的,并且它们需要昂贵的高端荧光显微镜来进行光学信号的采集和量化。

[0009] 荧光是用于生化检测的主要转换技术之一,并且能够用于检测大量的分析物,尤其是病毒、蛋白、核酸、小分子和离子。处于基能态的荧光分子(荧光团)吸收具有一定激发波长的光子。在所激发的状态内部松弛到低能量水平之后,光子被自发地发射,从而导致荧光辐射。

[0010] 为了分析的目的,可测量的荧光发射必须取决于分析物的存在。存在两个重要的方案。

[0011] 在一个方案中,将适当制备的荧光团(所谓的荧光标记)键联到分析物。在分析物和未键联的荧光团分离之后,所检测的荧光辐射的量允许确定分析物的量。在免疫测定的典型情况下,在第一步骤中,荧光标记被选择性地键联到蛋白分析物:荧光标记通过将荧光团共价键联到抗体而被制备。荧光团抗体复合体然后键联到特定的蛋白分析物。在第二步骤中,待被检测的特定的分析物被选择性地键联到已固定在表面或者固相上的相应的抗体。结果,将被检测的分析物与荧光团一起也被固定在固相上。

[0012] 尤其是,表面荧光免疫测定是制药和诊断公司的主要设备。微阵列幻灯片能够容纳成百上千个捕获点,并且能够用于执行大规模多路复用蛋白和核酸化验。荧光检测极其灵敏并且能够以高精度检测表面上的单个分子。集成了蛋白和核酸的微阵列幻灯片和微阵列光学读取器的基于这样的强大实验室的系统由诸如Agilent、Illumina、Affymetrix、bio-Rad和Arrayit之类的制造商销售。

[0013] 在用于检测小分子和离子的另一方案中,分析物与荧光团相互作用,由此影响其荧光行为。通过对比所形成的荧光与在不具有分析物的情况下所期望的荧光,能够确定当前分析物的量。例如分析物可以与荧光团相互作用,使得荧光团内的非辐射松弛路径比其中发射光子的辐射路径更优选,由此对于给定的激发功率减少了所形成的荧光辐射(所谓的荧光猝灭)。

[0014] 诸如病毒和蛋白之类的分析物能够以下列两种方法被检测到。来自ViroCyt的装置“Virus Counter 2100”能够利用荧光标记来用于病毒滴定。病毒通过两种不同的荧光染料被着色,一种染料特定用于核酸,另一种染料特定用于病毒的膜蛋白。病毒计数器然后计数存在两个荧光输出的事件。这些事件被计数并且与流率结合以确定体病毒颗粒浓度。M.M.Ferris等人的(“Evaluation of the Virus Counter for rapid baculovirus quantitation (用于杆状病毒量化的病毒计数器的评估)”,*J.Virol.Methods*,171(2011),111.)报告了利用Virus Counter 2100来量化近似 10^6 vp/mL以上的杆状病毒样品得到与当前用于病毒滴定的黄金标准的噬菌斑测定一样可靠的病毒检测。

[0015] 在对抗性荧光化验中,来自样品的未被标记的分析物与附加到用于固相上的抗原部位的样品的未被荧光标记的分析物对抗。B.Guirgis等人的(“Gold nanoparticle-based fluorescence immunoassay for malaria antigen detection (用于疟疾抗原检测的基于黄金纳米颗粒的荧光免疫测定)”,*Anal.Bioanal.Chem.*402(2002),1019.)研制出一种对抗性荧光免疫测定,以检测血液样品中的疟疾抗原。

[0016] 荧光标记还用于分子诊断中,以检测DNA或者RNA的特定序列。例如,Randox销售一

种称为“FH-Array”的装置,以检测家族性高胆固醇血症,并且囊性纤维化能够在MiSeqDx platform of Illumina上被检测到。

[0017] 荧光免疫测定还用于检测诸如激素、抗生素残留或者邻苯二甲酸酯类的小分子。S.J.Zoha等人(Clinical Chemistry 44(1998),2045)使用荧光免疫测定来检测促甲状腺激素。TSH.M.Sun等人(Steroids 75(2010),400)使用荧光免疫测定来检测雌二醇。Indexx实验室研制出Parallux(荧光免疫测定)来检测牛奶中的抗生素残留。L.Okerman等人(Journal of AOAC International,86(2003),236)使用Parallux免疫测定来同时检测牛和猪肾中的不同抗生素残留。为了确定水中的酞酸二环己酯,M.Zhang,Y.Sheng(J.Fluoresc.20(2010),1167)研制出一种对抗性荧光免疫测定来检测葡萄糖。H.Shibata等人(PNAS 107(2010),17894)合成了一种包括葡萄糖识别部位、荧光部位、间隔件以及聚合部位的荧光单体。通过观测荧光强度,他们可以在高灵敏范围内成功地追踪血液中的血液葡萄糖浓度波动。来自Terumo Cardiovascular的CDI BloodParameterMonitoring System(CDI血液参数监控系统)能够利用他们的荧光检测技术来检测血液气体,诸如pH、 pCO_2 、 pO_2 、 K^+ 、血氧饱和度(sO_2)。

[0018] 虽然它们具有许多优点,但高灵敏性的荧光检测系统还具有若干局限性。通常需要大的光学读取器系统,该光学读取器系统具有大且复杂的光学系统,典型地采用共焦的激光扫描显微镜。附加地,所述系统中的许多系统具有非常受限的流体控制,从而需要用于移液的专业人员或者移液机器人或者主动泵取。此外,在表面上和大反应器皿中的生化反应具有大的扩散距离,从而使得他们在输送受限的体系下操作。这些结合的局限性意味着高度灵敏的荧光检测在护理点诊断中是不常用的。

[0019] 其中一个关键的保持挑战是在不降低性能的情况下小型化用于信号读取的仪器。高端光学显微镜的等同物必须被小型化成操纵装置。

[0020] 一种方案是将流体、光学和生化结构直接集成在芯片上。功能元件的近似和微小距离(与实验室设备相比)允许在保持高性能的情况下更加有效地使用功率。

[0021] 用于成功化验的一个重要方面是信噪比(S/N)。在本公开内容的具体框架下,这对应于在存在荧光发射光时被记录的信号量相比于在无荧光时由相同传感器记录的信号量。显示大的S/N的系统能够以更高的确定性区分正向检测事件与负向检测事件。大的S/N也是必需的,以能够量化所检测的分析物。在该情况下,能够被检测到的最小浓度(即,检测极限)是信噪比的函数。类似地,化验的灵敏性(即,化验能够区分的两种浓度之间的最小差)直接取决于S/N。

[0022] 在标准的荧光化验中,激发光利用自由传播束来提供并且曝光大的区域。该方法具有三个主要缺点。首先,激发束通常覆盖比一个或若干个检测部位大得多的区域。这是必需的以例如确保穿过芯片的激发的良好均匀性。因此,大部分的激发功率通常保持不被使用,因此人为地降低了用于荧光团的激发的局部功率密度,或者其结果增大了所需要的激发功率的总量。其次,未被荧光团吸收的光仍旧自由地在检测系统内传播。这产生了降低总体信噪比的大量不想要的光。非常高质量的过滤器的使用可能变得必需以实现可接受的S/N,因此增加了系统的总成本。第三,激发光在检测区域之外的存在通过产生寄生荧光发射而对S/N可能不利。该寄生荧光能够由包括芯片的材料发射(通常被称为自动荧光)或者来自待被测试的样品中的其他化合物。后者在生理样品(诸如整个血液或者血浆)中的荧光化

验的情况下非常常见。

[0023] 在荧光检测的免疫测定的情况下,成功的化验依赖于有效地区别高荧标记密度的区域和低荧标记密度的区域的能力。该能力需要:(i) 荧光标记的有效激发;(ii) 激发光与较弱荧光发射信号的彻底分离;(iii) 键联标记与自由的无键联的标记的锐性分离;以及最后(iv) 荧光标记的荧光发射的灵敏性检测。

[0024] 衰减波激发已被用作处理所述需要的方案,其已使得研制各种检测系统。衰减波能够在诸如波导和腔之类的强光限制结构中产生,并且允许选择性地激发这种结构的表面附近的荧光标记。在下面,将更详细地说明波导结构中的衰减波的物理原理。

[0025] 波导是限制光并且强制其仅在一维或二维上传播的结构。在平面集成光学器件的范围中,能够区别两类波导:平板波导(一维)和矩形波导(二维)。

[0026] 平板波导包括位于两层低折射率材料之间的高折射率材料层。注入更高折射率层中的光能够在由层限定的平面内自由地传播而不传播到外部(限制在一维中)。在该构造中,由聚焦束的注入引起的引导波的强度以二次方的形式降低,因为注入点和测量点之间的距离增大。

[0027] 矩形波导包括具有矩形截面(具有高折射率)的线性结构,该矩形截面由低折射率的一个或者若干个介质在四侧包围。在该构造中,注入波导结构中的光能够沿着高折射率区域自由地传播,但是被防止朝向侧面上的低折射率介质逸出。这对应于二维限制。这类结构能够容易地传播光而在整个延伸距离上不显著地改变光强度。

[0028] 被强限制的引导波附近的衰减波的存在通过考虑平面波导的示例而能够被理解。以下的麦克斯韦方程组(证明矢量亥姆霍兹方程的传播电磁波)能够被针对电场分量书写为:

$$[0029] \quad \nabla^2 \vec{E}(r) + k^2 \vec{E}(r) = 0$$

[0030] 这里, $\vec{E}(r)$ 是指矢量电场, k 是传播波矢量。可以针对相关联的磁场 $\vec{H}(r)$ 书写相同的方程。矢量场的每个分量($E_x, E_y, E_z, H_x, H_y, H_z$)必须因此证明标量亥姆霍兹方程,其中 $\psi(r)$ 是以上场分量中的任何一个。

$$[0031] \quad \nabla^2 \psi(r) + k^2 \psi(r) = 0$$

[0032] 以下考虑非对称波导的最常见的情况。其包括三层不同的折射率:基层(下层)、具有最高折射率的芯层(中间层)以及覆盖层(上层)。在化验装置的情况下,覆盖层可以是诸如唾液、尿液、血液或者血浆之类的生理介质,在可见区内其折射率 n 在1.33至1.36之间。与之相比,芯层和覆盖层能够由玻璃(在可见区内折射率 n 通常在1.45至1.9之间)、诸如氮化硅(n 近似为2)或者氮化镓(n 近似为2.38)的半导体、或者更有利地诸如聚甲基丙烯酸甲酯、聚碳酸酯或者聚苯乙烯之类的聚合物。所述聚合物的折射率 n 通常能够为1.45至1.6的量级。

[0033] 注意,早前提及的所有材料和折射率值均针对在光谱的可见区内的操作而给出。还应注意的是,测试介质还可以显示以一定波长吸收,其能够以复合折射率 $n = \eta + i\kappa$ (其中 $\kappa \neq 0$)的形式被模化。

[0034] 包括基于聚合物的波导的光学装置的两个示例在以下两篇论文中被公开:A.Neyer、T.Knoche、L.Müller的“Fabrication of Low Loss Polymer Waveguides Using

Injection Moulding Technology (利用注射成型技术制造低损失聚合物波导)”, Electronics Letters 29, no.4 (1993) :399-401; 和K.B.Mogensen、J.El-Ali、A.Wolff、J.P.Kutter的“Integration of Polymer Waveguides for Optical Detection in Microfabricated Chemical Analysis Systems (用于光学检测的聚合物波导在微加工的化学分析系统中的集成)”, Applied Optics 42, no.19 (2003) :4072-4079。

[0035] 与材料的选择无关地,光学问题包括在三层之中的每一层中找寻证明标量亥姆霍兹方程的电(相应地磁)场分布。常见的是基于两个极化(即,横向电场(TE)和横向磁场(TM))通过分解电磁波组来简化该问题。仅考虑在成层介质中沿着z传播的TE波的情况,其中x是堆叠的方向,y被认为是无限的非变量,该问题能够被书写成:

$$[0036] \quad \frac{\partial^2}{\partial x^2} E_y(x) + (k_0^2 n^2(x) - \beta^2) E_y(x) = 0$$

[0037] 针对下列折射率构形:

$$[0038] \quad \begin{cases} n(x) = n_{clad} & d \leq x \\ n(x) = n_{core} & 0 \leq x \leq d \\ n(x) = n_{sub} & x \leq 0 \end{cases}$$

[0039] 其中 β 是沿着引导方向的传播波数量,并且d是芯层的厚度。

[0040] 前面的方程因此能够以方程组的形式被重新书写,他们中的每一个在可考虑的层内都是有效的,并且证明在每个界面处针对 $E_y(x)$ 的连续性关系以及其二阶导数。方程组能够被书写成:

$$[0041] \quad \begin{cases} \frac{\partial^2}{\partial x^2} E_y(x) - \kappa_{clad}^2 E_y(x) = 0 \\ \frac{\partial^2}{\partial x^2} E_y(x) + \alpha^2 E_y(x) = 0 \\ \frac{\partial^2}{\partial x^2} E_y(x) - \kappa_{sub}^2 E_y(x) = 0 \end{cases}$$

[0042] 其中:

$$[0043] \quad \begin{cases} -\kappa_{clad}^2 = n_{clad}^2 k_0^2 - \beta^2 \\ \alpha^2 = n_{core}^2 k_0^2 - \beta^2 \\ -\kappa_{sub}^2 = n_{sub}^2 k_0^2 - \beta^2 \end{cases}$$

[0044] 该方程组能够具有奇数解或者偶数解。仅考虑偶数解,与基本模式的情况一样,该解是:

$$[0045] \quad \begin{cases} E_y(x) = E_{clad} e^{-\kappa_{clad}^2 (d-x)} \\ E_y(x) = E_{core} \cos(\alpha x - \phi_s) \\ E_y(x) = E_{sub} e^{-\kappa_{sub}^2 x} \end{cases}$$

[0046] 其中 ϕ_s 是相移。以上能够看出的是,引导模式的电场的一部分在空间上分别以延伸常数 κ_{clad}^2 和 κ_{sub}^2 延伸到基层和覆盖层中。这两个以指数增长的延迟尾被称为引导模式的

消逝尾,并且能够例如用于激发位于界面附近的诸如荧光团之类的吸收分子。延迟常数主要取决于相对折射率和波导的非对称度以及激发波长。

[0047] 在使用消逝波来激发荧光团的现有系统中,消逝波通过将入射波总体内反射在光引导结构的界面上而产生。

[0048] 光引导结构通常根据他们是否基于光纤或者他们是否为平面的来区分。以相同的方式,基于光纤或者平面结构已研制出消逝波激发结构。

[0049] 如在例如WO 96/29589 A1和EP 0128723 A2中描述的系统对应于基于光纤的结构或者光纤状结构以进行免疫测定。光导棒或者光纤的外表面涂覆有生化捕获分子。然后使待被测试的溶液与该功能化表面接触。目标物和捕获分子通过生化反应彼此键联。结构内引导波的产生允许位于表面紧附近的荧光标记的目标-捕获复合体的局部激发。进一步远离地位于溶液内的荧光标记的目标物分子和未被键联的荧光标签未被激发并且因此不产生寄生背景发射。以相同的方式,仅位于表面上的荧光标记的目标物-捕获复合体能够将荧光耦合回到引导结构中。后者然后能够通过光纤与激发光隔离,并且利用光检测器被测量到。

[0050] 实验中将平面结构用于荧光的对于消逝激发也受到许多关注。这些结构通常包括沉积在低折射率的一个或多个基层的顶部上的具有更高折射率的一个或多个薄层。尽管引导层的厚度与激发波长相当,但层的侧向尺寸通常大得多。

[0051] 更程度的集成和更容易的制造和组装过程是平面装置优于光纤的强有力的优点。基于该原理已研制出多种系统。在US 5344784中,结构包括透明的介电基底、折射率小于基底的缓冲层以及呈沉积在缓冲层上的薄介电膜的形式波导层。所述波导层的折射率高于基底的折射率。然后将试剂层沉积在波导层的顶部上,从而面对待被测试的液体。具有合适波长的激发光束从背部穿过透明基底并且以选择为使得激发辐射总体上在内部反射的一定角度撞击在基底和缓冲层之间的界面上,并且消逝场穿透缓冲层。由于消逝耦合,因此激发辐射在高折射率的波导层内传播。荧光标记的分子或者颗粒在表面上的键联然后通过标记的消逝激发而被显示。键联到表面的荧光团被消逝场激发,并且产生荧光辐射。荧光发射的一部分通过系统耦合回,并且产生荧光的窄锥,所述荧光离开背面侧的基层,荧光在基层处被检测到。

[0052] WO 2006/135306 A1公开了一种类似的系统,该系统还包括位于波导层上方的微结构的图案。

[0053] 在US 2011/012026 A1中,使用了由衬垫分离的两个面对的波导层的结合。待被测试的溶液被引入两个引导层之间,因此有效地增大了相互作用的区域。

[0054] 另一方案使用二维波导来将激发波朝向微米量级或者亚微米量级的结构引导,该结构作为分析物的限制区域。在该情况下,引导结构具有在垂直方向与水平方向上与激发波长相当的尺寸。该构造的一个效果在于,激发光不必在反应部位附近被引入系统中,而是可以以一定距离耦合到该结构内,并且然后被以较小衰减朝向反应区域引导。

[0055] US 2002/110839 A1描述了一种系统,在该系统中,小的凹槽被集成在一组二维波导的覆盖层中。覆盖层由介电材料制成。凹槽的底部(在凹槽的底部定位分析物)与引导模式的消逝尾接触并且因此键联到波导芯的荧光标记能够被激发。

[0056] 在US 2008/152281 A1中描述的检测系统中,采取了类似的方案。在掩膜层中制造

一个或若干个凹槽。这些凹槽中的每一个的底部均与一个或若干个波导的芯接触。

[0057] 这样的系统的另一有效的实施能够在以下论文中发现:M.J.Levene的“Zero-Mode Waveguides for Single-Molecule Analysis at High Concentrations (用于高浓度下单个分子分析的零模式波导)”, *Science* 299, no.5607 (January 31, 2003): 682-686。在该工作中,在金属层中形成子波长孔,从而形成金属-包覆结构的零模式波导。该构造允许荧光发射增强并且成像下降至一个单一荧光团的低荧光水平。

[0058] 在又一方案中,一组激发波导能够与一组微流体通道结合使用以执行化验。这样的系统的示范能够在以下论文中发现:F.S.Ligler、Ch.Rowe Taitt、L.C.Shriver-Lake、K.E.Sapsford、Y.Shubin、J.P.Golden的“Array Biosensor for Detection of Toxins (用于毒素的检测的阵列生物传感器)”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 377, no.3 (October 1, 2003): 469-477。与以上提及的微凹槽方案相比,这样的系统具有制造和实施更为简单的优点,从而使得该方案在一次性装置方面更引人注目。该方案还在生化反应的动力学方面存在清楚的优点。虽然如此,但这样的系统还具有两个主要缺点。首先,在微流体装置中合适的过滤功能的缺乏需要使用预处理的生物流体,因此排除了使用实验室之外的装置。其次,微流体层必需在冲洗和成像荧光点之前被鸣响 (peeled)。这些操作对于将该方法应用至护理点装置中是禁止的。

[0059] 在论文“Plastic lab-on-a-chip for fluorescence excitation with integrated organic semiconductor lasers (用于通过集成的有机半导体激光器进行荧光激发的塑料芯片实验室)” (Ch.Vannahme等人, *Optics Express* 8179, 2011) 中,公开了用于实现基于荧光的化验的芯片实验室平台。微流体芯片由聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 制成,并且包括用于运送待被分析的流体的微流体通道和与微流体通道相交的一组波导。用于产生激发辐射的集成的有机半导体激光器被实现为光学增益区域,该光学增益区域从将掺杂有有机染料 (DCM) 的有机半导体 (Alq3) 沉积在分布式布拉格光栅 (DBG) 上以产生激光条件来获得。激光器被在外部泵取,并且所发射的激发光耦合到波导。该光被引导至波导和微流体通道的交叉部处的相互作用区域,光在该相互作用区域处激发悬浮的分析物或者溶液中的分析物的荧光。所形成的荧光发射信号利用CCD照相机和分光仪来检测。

[0060] 在所公开的微流体芯片中,高度的光子集成(二级激光源、光栅和波导)产生了在芯片制造方面高水平的复杂性,其对于将这样的微流体芯片使用于实际的护理点情景中是不利的。首先,DBG在PMMA中的印刷是相对不能容忍故障的过程,其对于在大型系列中一致地执行是复杂的。其次,需要两个高精度的对准步骤来产生光子电路。一个步骤包括PMMA的深UV曝光,以将波导模式化成与DBG对准。另一步骤是通过掩膜遮蔽将有机半导体和染料局部沉积在DBG上。最后,内波导测量的一致性很可能相当程度地取决于芯片上每个独立的集成激光器的特征。由于后者对于制造、环境和操作条件显示出高敏感性,因此不得不期望低的测量精度。

[0061] 在论文“Fluorescence excitation on monolithically integrated all-polymer chips (单体集成的所有聚合物芯片上的荧光激发)” (M.Schelb等人, *J.Biomed.Optics* 15(4), 041517, 2010) 中,公开了另一芯片实验室系统,其中PMMA基底被蚀刻和模式化,以产生垂直交叉的微流体通道和一个或若干个波导的结合。多个荧光标记种类(磷脂和细胞)被沉积在微流体通道和波导的交叉部处。激发光通过玻璃纤维被耦合到

平面波导中。在通道与波导的交叉部处,激发光被耦合出波导的端面,从而面对通道侧壁,激发光在通道侧壁处激发固定的荧光标记。荧光然后利用光学显微镜被检测到。

[0062] 在所公开的系统,激发光的耦合通过胶接在波导的端面上的光纤来实现。这排除了将这样的系统使用在基于一次性芯片的护理点情景的可能性。另外,圆形光纤与矩形波导之间的模式耦合虽然可行但是需要在设计方面高度注意以使得有效。在该文献中不存在该方面的信息。

[0063] 第二个主要的缺点来自于波导被微流体通道中断。引导光被强制离开波导并且在自由空间中传播。在这些条件下,大量的激发光被期望从微流体芯片的侧壁出现并且然后由最后的成像系统收集,这由于相当大地降低了由于寄生散射引起的信噪比。

[0064] US 6438279B1公开了一种具有脊波导结构和微流体通道的化验芯片装置和制造该装置的方法。激发光在第一波导中被引导至微流体通道,激发光在那里离开波导结构并且进入到微流体通道中,激发光在那里基本照射存在于相互作用的容积中的样品,所述相互作用的容积的宽度为 $1\mu\text{m}$ 以下,并且深度在 0.125 至 $1\mu\text{m}$ 之间,由此激发存在于所述容积中的荧光团。在穿过相互作用的容积之后,利用第二波导重新收集激发光,第二波导与第一波导不同,并且定位成与已用于照射样品容积的第一波导相对。所发射的荧光由外部光学检测系统检测到。

[0065] 由于第一波导终止在相互作用的容积处,因此激发光例如由于在界面处的衍射和反射以及在样品容积中的散射而损失。第二波导的增大宽度需要有效地收集并且重新耦合尽可能多的光。结果,存在于微流体通道之后的第二波导中的激发光的量被相当程度地减小。由于通过光在各种各样的样品液体中散射也导致光损失,因此所形成的微流体通道的衰减效果不可再生,这导致剩余的激发光基本上不能用于进一步的定量测量。

[0066] 所公开的系统所需要的尺寸和材料不适合于当前塑料制品的批量制造方法,诸如注射成型。光刻和反应离子刻蚀技术通常需要利用硅、二氧化硅和感光材料。此外,宽度为 $1\mu\text{m}$ 以下并且深度在 0.125 至 $1\mu\text{m}$ 之间的相互作用的容积与整体血液中的细胞成分(用于所述装置的典型的分析物矩阵)相比较小。然而,在将整个血液作为样品的情况下,存在阻碍相互作用的容积的大机率,因为整个血液过滤不能始终移除所有细胞成分。另外,具有这样小尺寸的通道对于流体样品具有高的阻力。将所述方法实施到被动微流体系统中非常困难。因此在所公开的系统,流体被以电泳的方式传送。

[0067] 在论文“Three-dimensional Microfluidic Confinement for Efficient Sample Delivery to Biosensor Surfaces-Application to Immunoassays on Planar Optical Waveguides (用于向生物传感器表面的有效的样品输送的三维微流体限制-应用于平面光学波导上的免疫测定)”(O.Hofmann等人,Anal.Chem.74,5243,2002)中,公开了一种实验设备,该设备允许研究限制流对速度的影响,在该速度下,基于荧光的免疫测定能够发生。该实验装置包括由氮化硅(SiN)和二氧化硅(SiO_2)制成的半导体波导层以及布置在光学波导的顶部上的聚二甲硅氧烷(PDMS)微流体流动池。流动池具有两个入口,一个入口用于注入待被分析的溶液,第二个入口用于将允许分析物与免疫反应区域相互作用的截面进行调整的溶液注入。荧光的激发和检测经由平面波导层进行,其中引导的激发光的消逝部分用于激发固定的荧光团。激发光通过光栅被耦合入,并且相同的光栅用于将荧光发射耦合出。点检测器用于记录荧光信号。

[0068] 所公开的装置具有许多缺点。首先,平板波导/一维引导层的使用对于总体激发效率具有负面影响,其由于缺乏侧向限制而可能差若干个数量级。因此所公开的装置能够被预期为是不合适的并且对于激发光入口和化验部位之间的较长距离来说不能适当地起作用,尤其是因为检测还经由平板波导发生从而进一步降低了可用的光信号。

[0069] 其次,诸如SiN和SiO₂之类的材料的使用抑制了非昂贵一次性装置的实现。第三,所公开的测量体系测量耦合入波导层以及耦合出波导层的荧光发射。该方案不仅对于发射的荧光总量非常低效,而且其不提供任何空间辨别。该方案因此可能遭受从反应区域之外的区域发出的不想要的信号。其也抑制了将这样的系统用于多路复用的应用,因为任何不同的化验区域都将其荧光信号耦合到相同的波导层中,而不可能将一些信号部分彼此进行区分。

[0070] 应强调的是,迄今所述的检测方法必须与使用相似类型的平面引导结构的那些检测方法进行区分,在平面引导结构的检测方法中,检测体系以局部的有效折射率的变化为基础。在US6395558 B1中公开了这样的系统的示例。

[0071] 发明目的

[0072] 本发明的总体目的是提供一种针对上述问题和其他问题来改善现有技术的状态的化验单元和具有这样的化验单元的诊断装置。

[0073] 尤其是,根据本发明的化验单元和诊断装置允许以高灵敏性和精度以及有效地使用激发功率来执行荧光检测化验测试。

[0074] 与基于荧光检测系统的传送和反射相比,根据本发明的化验装置和诊断装置提供了增强的信噪比。

[0075] 根据本发明的化验装置和诊断装置为分布在延长区域上的多个探头/化验区域提供了均匀的衰减波激发场。

[0076] 不同化验区域的荧光信号将能够清楚地区分。

[0077] 化验的结果利用低复杂性的光学检测系统将比现有技术状态下更能够访问。

[0078] 根据本发明的化验单元能够有利地通过尽可能少的制造步骤以低成本来制造。

[0079] 根据本发明的诊断系统的与生理样品接触或者在使用之后以另外的方式被污染的所有元件应该有利地是化验单元的一部分,其通常在使用之后将被丢弃。

[0080] 有利地,根据本发明的化验单元将能够在无在先治疗的情况下处理体液。

[0081] 这些和其他目的主要通过根据本发明的化验单元、读取器单元和诊断装置来实现。

发明内容

[0082] 根据本发明,一种用于在一个或多个生理样品上执行荧光检测化验的化验单元包括具有微流体系统的微流体芯片和具有布置在所述微流体芯片上的两个以上的矩形波导结构的光子系统,所述微流体系统能够将生理样品或者分析物溶液传送通过布置在所述微流体芯片上的一个或多个微流体通道,所述两个以上的矩形波导结构能够引导近红外区、可见区或者近紫外区内的激发光。所述一个或多个微流体通道和所述两个以上的矩形波导结构在检测部位处彼此相交。在特定微流体通道和特定波导结构彼此相交的化验区域中,所述波导结构的芯的一个或多个侧表面至少部分地面对所述微流体通道的内容积,使得在

所述波导结构内引导的光的消逝场与所述微流体通道的所述内容积的一个部分重叠。

[0083] 在本发明的情形下,矩形波导结构/二维波导旨在包括任何基本线性结构,该基本线性结构具有带一定折射率的基本矩形截面,该基本线性结构由低折射率的介质包围,使得耦合到所述波导结构中的光能够沿着所述线性结构维度自由地传播,但是在其他两个维度上被限制。这包括例如具有锥形截面的也为线性的波导结构。

[0084] 利用消逝场允许激发存在于所述微流体通道的重叠区域中的荧光团,而不会较大地损失所述波导中的激发光功率,因为如果激发光穿过所述微流体通道则将发生激发光功率的较大损失。因此可以随后提供仅具有一个波导结构且具有基本均匀激发光场的一个以上的微流体通道,而不因样品容积中的散射或者界面处的反射等而损失。

[0085] 在根据本发明的化验单元的有利实施方式中,在所述波导芯的所述表面上定位有一个或多个捕获点,所述捕获点包括化验的捕获分子的覆层,所述捕获分子在所述芯表面上固定不动。

[0086] 例如,所述捕获点可以包括免疫测定的捕获抗体。

[0087] 用于激发一个芯片上的化验测试的荧光团所必需的所述微流体系统以及所述光子系统的集成(其可被称为微流控光学芯片)允许以用于制造芯片上的微结构的已知技术、成本高效地制造这样的化验单元。所形成的化验单元(其必须在使用之后丢弃)仅包括非昂贵部分。

[0088] 在根据本发明的这样的化验单元的一个有利实施方式中,在化验区域中,所述波导结构的芯层布置在基层上,并且嵌入在覆盖层中,使得仅所述芯的与所述基层相对的上表面面对所述微流体通道的所述内容积。

[0089] 在根据本发明的这样的化验单元的另一个有利实施方式中,在化验区域中,所述波导结构的芯层布置在基层上,并且至少部分地未嵌入在覆盖层中,使得所述芯的与所述基层相对的上表面以及所述两个侧表面面对所述微流体通道的所述内容积。

[0090] 有利地,波导结构包括单个波导或者波导束,所述波导束中的波导为单模波导或者多模波导。

[0091] 有利地,根据本发明的该化验单元具有用于将光束耦合入所述一个或多个波导中的一个或多个耦合元件和/或用于将光束耦合出所述一个或多个波导的多个耦合元件。

[0092] 一种用于读取在如上所讨论的根据本发明的化验单元上执行的免疫测定的结果的读取器单元,该读取器单元包括:用于以可释放的方式安装化验单元的保持器;用于产生激发光束的一个或多个光源;以及检测器单元,该检测器单元能够测量由安装在所述保持器上的化验单元发射的荧光发射光。

[0093] 在这样的读取器单元的有利实施方式中,所述检测器单元能够获得安装在所述保持器上的化验单元的所述荧光发射光的二维数字图像。

[0094] 在根据本发明的读取器单元中,所述检测器单元包括数字图像检测器芯片,所述数字图像检测器芯片例如为CCD芯片。

[0095] 根据本发明的读取器单元的特别有利的实施方式包括光学元件,所述光学元件用于朝向安装在所述保持器上的化验单元的耦合元件引导所述激发光束。

[0096] 根据本发明的读取器单元能够包括检测元件,所述检测元件用于测量从安装在所述保持器上的化验单元的波导耦合出的激发光的振幅。

[0097] 这样的特征例如具有的有利之处在于,由不同的波导结构激发的化验区域的荧光信号在数量上能够被对比或者在不同波导结构的衰减特征上的制造过程的效果能够相应地被校正。

[0098] 一种用于执行荧光检测的免疫测定的根据本发明的诊断装置包括如以上讨论的根据本发明的一个或多个化验单元以及如以上讨论的根据本发明的读取器单元。

附图说明

[0099] 为了便于较充分地理解本发明,现在对附图进行说明。这些说明不应被视为限制本发明,而仅旨在是为了示例。

[0100] 图1示意性地示出了根据本发明的诊断装置,该诊断装置与计算机系统连接。

[0101] 图2示意性地示出了根据本发明的化验单元的实施方式,该化验单元具有微流体系统和光子系统。

[0102] 图3示意性地示出了根据本发明的诊断装置的光学系统的侧视图,该光学系统包括根据本发明的化验单元的光子系统。

[0103] 图4示意性地示出了根据本发明的化验单元的俯视图,该化验单元在多个波导和微流体通道的相交点处具有捕获点矩阵。

[0104] 图5示意性地示出了沿着微流体通道的轴线通过捕获点处的波导结构的可行几何形状的剖视图,其中(a)不具有已穿过捕获点的分析溶液,并且(b)具有存在于捕获点处的分析溶液,并且示出了电场振幅。

[0105] 图6示意性示出了沿着波导结构的轴线通过位于检测部位处的波导结构的可行几何形状的两个变形的剖视图。

[0106] 图7示出了捕获点处的波导结构和微流体结构的立体图。

[0107] 图8示意性地示出了沿着微流体通道的轴线通过捕获点处的波导结构的另一可行几何形状的剖视图,其中(a)不具有已穿过捕获点的分析溶液,并且(b)具有存在于捕获点处的分析溶液。

[0108] 图9示意性地示出了呈突出几何形状的位于捕获点处的波导芯,其中(a)为侧视图,(b)为俯视图。

[0109] 图10示意性示出了捕获点处的波导结构和微流体通道的四个有利几何形状。

[0110] 图11示出了检测部位的检测矩阵的细节的示意图,其中(a)具有嵌入的波导结构,(b)具有突出的波导结构。

[0111] 图12是用于根据本发明的化验单元中的波导阵列的两个有利的激发光强度分布体系的示意图。

[0112] 图13是用于利用波导激发光腔的两个有利的体系结构的示意图。

具体实施方式

[0113] 下文中提供的示例提供了本发明的改进性示意,但不适于将本发明限制于本文所公开的特征。相同的或者至少它们的功能相同的部件在下面用相同的或者至少相当的附图标记来表示。

[0114] 将利用荧光检测免疫测定作为荧光检测化验测试的示例来描述本发明。然而,如

对于本领域技术人员清楚的,本发明能够通过其中荧光团永久地或者在分析过程的一些阶段处固定在表面上的任何其他的荧光检测化验技术来实现。因此,所描述的在微流体芯片上的荧光检测免疫测定的实施方式将仅代表示意性示例,而不旨在将本发明限制于化验的该具体类型。

[0115] 在图1中示意性地示出了根据本发明的诊断装置3的示例性实施方式。诊断装置3包括呈一次性微流体芯片的形式的根据本发明的化验单元1和可重复使用的读取器单元2,在化验单元1上执行荧光化验测试,并且借助可重复使用的读取器单元2能够读取来自化验单元1的诊断测试的荧光化验的结果。两个附加的一次性化验单元1' 准备随后使用。

[0116] 所示的读取器单元2的示例性实施方式包括位于外壳的侧壁上的狭槽,化验单元能够被以可释放的方式安装在该狭槽中。在该图中,化验单元1被示出为插入狭槽中。然而,本领域技术人员将了解读取器单元和化验单元能够以可释放的方式操作性联接的其他可行方式。

[0117] 读取器单元2经由通用数据链路5(例如USB连接或者WLAN连接)与通用计算机系统4连接。在所给出的示例中示出的计算机系统4是标准计算机装置,即,具有显示器和键盘的台式电脑。然而,该计算机系统还可以是便携式计算机装置,例如,移动式计算机、平板装置、智能手机等。

[0118] 一次性化验单元1包括一次性的荧光化验元件以及有利地与样品材料接触并且因此在使用后变脏的所有其他部件。可重复使用的读取器单元2有利地包括能够被使用一次以上的所有部件,具体地为激发和检测系统的昂贵的光学和电子部件以及检测、评估和装置控制所需要的电子部件。

[0119] 基于本发明的具体实施方式,计算机系统4可以用于获得来自读取器单元的测量数据并且用于评估所述数据,和/或将所评估的数据作为诊断结果呈现给使用者,和/或向读取器单元发送操作指令等等。然而,还可以将这种功能的一部分或者所有部分集成在读取器装置中,在随后的情况下其能够用作单独的诊断装置。

[0120] 根据本发明的一次性化验单元1有利地被实现为微流体芯片,该微流体芯片包括作为其两个主要功能部件的微流体系统20和光子系统60。

[0121] 在图2中示意性地示出根据本发明的化验单元1的有利实施方式,图2示出了微流体系统20和光子系统60的功能示意图。

[0122] 微流体系统20沿下游方向包括注射垫22、样品制备部分24、检测部位26以及毛细泵28。不同的部分由窄流体通道30流体连接,分析溶液因此在诊断测试过程期间穿过窄流体通道30前进。在注射垫22中,待对其执行诊断测试的流体样品被引入该系统中。在样品制备部分24中,样品被制备用于随后的分析。样品制备部分能够包括诸如过滤器、裂解部以及繁殖室之类的特征,这取决于样品的种类和待执行的分析测试。在繁殖室中,发生必备的化学反应,例如分析物分子与荧光标记的耦合反应。在检测部位26中,分析物溶液与固定的捕获抗体相互作用,并且测量所产生的荧光信号。毛细泵28根据诊断测试协议沿着流体路径分别传送样品流体或者分析物溶液。

[0123] 化验单元的光子系统60包括一个或多个耦合元件74,激发光束64借助所述一个或多个耦合元件被耦合到一个或多个进入波导62中。所述进入波导62朝向检测部位26引导激发光64,激发光的消逝尾激发靠近波导表面的荧光标记,并且所发出的荧光被检测到。这将

在下面被更详细地说明。

[0124] 光子系统的波导以大体的直角与检测部位26相交,并且然后输出波导63将剩余的光引离到其他耦合元件75,光在其他的耦合元件处被耦合出光子系统。

[0125] 在图3中,以示意性侧视图示出了根据本发明的诊断装置3的光学系统70。光学系统一方面包括一次性化验单元1的光子系统60以及还包括被有利地实现为读取器单元2的一部分并且能够被重复使用的光学元件。

[0126] 光学系统70包括激发光源72。该光源例如能够被实现为激光二极管、发光二极管(LED)、超发光二极管等,并且产生用于激发荧光团所必需的激发光64。

[0127] 激光二极管的使用具有两个主要优点,尤其是如果激光二极管是侧向和纵向单模的。所形成的非常窄的线宽使得激发和发射的光谱区域的分离比在具有较大的线宽的光源的情况下更容易。其次,激光器受益于大的光学范围,这使得它们理想地适合于将光有效地耦合到波导中。

[0128] 除了一个单一光源用于所有波导之外,能够使用诸如二极管阵列等的多个光源。激发光源72有利地实现为根据本发明的诊断装置3的可重复使用的读取器装置2的一部分。然而,该光源还可以实现为一次性化验单元1的一部分。

[0129] 光学系统还包括耦合元件74,耦合元件74易于将由激发光源72发出的激发光束64耦合到平面的进入波导62中,从而将光朝向检测部位26引导。耦合元件74能够作为光子系统60的一部分被包括在一次性化验单元/微流体芯片上,或者能够被设置为被包括在可重复使用的读取器装置2中的外部元件。

[0130] 耦合元件74例如能够被实现为将激发束64聚焦在波导输入侧面上的透镜,或者实现为以将光束64短暂地耦合到进入波导62中的棱镜,如图中所示,或者实现为诸如光栅耦合器或者微镜之类的垂直耦合器。将光通过波导的侧面耦合到波导中的透镜具有非常有效的优点,从而呈现为在激光模式和波导模式之间具有良好的模式匹配。该构造仍然对对准错配灵敏。棱镜耦合器在机械方面是稳定的,但是需要棱镜被放置在距波导的芯非常短的距离(代表性地为大约100nm以下)是有效的。光栅耦合器具有不需要诸如透镜或者棱镜之类的任何外部元件的优点,因为光栅被直接制造在波导的芯上或者芯的附近。尽管它们的尺寸小,但它们能够与绝热锥协同使用,以放松光源对准的机械公差(参照D.Taillaert等人的“An Out-of-Plane Grating Coupler for Efficient Butt-Coupling Between Compact Planar Waveguides and Single-Mode Fibers”,IEEE J.Quantum Electronics, Vol.38,No.7,July 2002)。

[0131] 在替代变形中,光学系统70包括一个或多个Y型连接部或者分离器(未示出),以将耦合到一个单个波导中的激发光精确地分布到一组随后的分布波导中。这些分布波导均承载从耦合进入部位到检测部位的激发光。

[0132] 检测部位26包括诸如波导的光子结构或者腔。波导是用于荧光激发的非常有利的结构,因为它们能够限制如下的大量的光功率,这些光功率的方向横向于传播方向、尺寸大约为几微米以下并且距离能够达到几毫米。强限制波导的界面处的消逝尾能够由诸如荧光团的相邻的分子吸收并且重新发射然后被检测到的荧光发射。

[0133] 光学微腔或者纳米腔能够临时地限制光。与波导结合来使用它们提供了优于波导自身的附加优点。通过腔模式共振的给定量的电磁能量将保持存储在腔内一定时间量。该

时间量由其质量因子(Q)给定。腔的质量因子越大,其使腔内的能量衰减花费的时间越长。该现象能够被有利地使用于荧光激发,因为存储在腔内的光能够与其附近的吸收分子(像荧光团)相互作用得比标准传播波更长的时间。对于给定的波导输入功率,这直接导致荧光信号大增加。

[0134] 存在两个主要类型的光学微腔或者纳米腔。第一类型对应于回音壁模式(WGM)谐振器,该谐振器包括微环、微环室和微球体。第二类型对应于镜和光子带隙(PBG)谐振器,并且包括法布里-珀罗(FP)腔、分布式布拉格谐振器(DBR)和光子晶体(PhC)腔,它们均能够被实施成多种构造。

[0135] 在检测部位内设置一个或多个化验区域32,在化验区域处,用于具体的分析物蛋白的捕获抗体被固定在波导结构的表面上,并且与分析物溶液接触。在与免疫测定积极响应的情况下,已被以荧光标记在上游繁殖室24中的目标抗原/分析物蛋白由波导结构的表面附近的固定抗体捕获,从而导致荧光团在表面上的聚集。波导结构内的激发光的所限制的电磁场的消逝尾激发所聚集的荧光标记,所聚集的荧光标记随后发射荧光发射68。

[0136] 荧光标记的荧光发射68由布置在化验区域32的矩阵上方的检测器单元80检测到。在可行的实施方式中,检测器单元80能够被实现为CCD照相机系统。这样的实施方式允许多个化验区域32的荧光发射信号的并行检测。检测器单元80有利地实现为可重复使用的单元2的一部分。

[0137] 替代地或者附加地,还能够在波导结构的与化验区域32对置的一侧设置检测单元。

[0138] 基于光学系统的具体设计,可以设置另外的光学元件,以使检测器的灵敏性最佳。例如能够施加带过滤器以在检测之前移除激发杂散光。

[0139] 剩余的激发光65通过输出波导63被引导离开检测部位。该废弃的激发光然后通过第一耦合元件74类似的另一耦合元件75被耦合出输出波导63和光子系统60。然后能够利用诸如聚焦透镜和光电二极管之类的合适的检测元件76检测光振幅。所获得的信号因为例如考虑到单独的一次性化验单元1、1'的具体衰减值而能够被用作基准,以增加灵敏性和精确性。

[0140] 在另一方案中,剩余的激发光65被吸收,以避免废弃的激发光反射回到光子系统60中,其中检测部位中由于散射等而能够形成不想要的背景噪音。

[0141] 在图4中示意性地示出了根据本发明的化验单元1的检测部位26的俯视图。在左侧,四个相同的进入波导62将来自耦合入结构(未示出)的激发光64引向中心中的检测部位26。在已穿过检测部位之后,输出波导63使剩余的激发光65离开而朝向右侧的耦合出结构(未示出)。

[0142] 在检测部位26中,波导与四个微流体通道30相交,这四个微流体通道将分析物溶液25从上游的繁殖室(未示出)通过检测部位26朝向下游倾倒部位等传送。在化验区域32处(即,微流体通道30与波导结构66相交的位置处),荧光团标记的分析物溶液与波导结构的表面上的固定的捕获抗体接触。在与某个化验区域32的具体抗体对应的荧光标记的抗原存在于分析物溶液中的情况下,分析物-荧光团复合体将聚集在表面上,分析物-荧光团复合体在表面上能够由波导结构中的激发光波的消逝尾激发。以下将进一步说明这样的波导结构的可行实施方式。

[0143] 基于该理念,原理上可以为N个不同化验区域均提供用于不同目标蛋白的固定的捕获抗体,这允许N个蛋白的平行的、多路复用的免疫测定检测。替代地,可以为少于N个蛋白提供多余的测试和控制,而具有进一步增大的可靠性。

[0144] 在图5中示意性示出了波导结构66在检测部位处的可行有利几何形状。该波导结构包括基层102、比基层102的折射率高的芯层(波导芯)104以及比芯层104的折射率低的覆盖层106。芯层的上表面105与分析物溶液110(通常为诸如血浆的体液)直接接触。如图5中的(a)所示,所述上表面设置有固定的捕获抗体112,该固定的捕获抗体形成捕获点27。固定的捕获抗体112具体地键联到某些抗原,即,将被检测到的蛋白分子。结果,捕点获27仅对这样的蛋白选择性地灵敏。

[0145] 在分析物溶液110中存在所述某种抗原114时,捕获抗体-抗原复合物117形成在芯层的上表面105上。在先已与大量存在的荧光标记116形成复合物118的抗原114键联到芯层的上表面105上的固定的捕获抗体112,如图5中的(b)所示。

[0146] 图5中的(b)的右侧的示意性曲线表征对于沿着垂直于该表面的轴线激发光的第一引导模式的电场分布。而大部分场位于芯层104内,两个消逝尾存在于芯层的外侧,芯层的每侧一个。由于基层102和分析物溶液110之间的折射率构形的不平衡,因此较大的消逝尾将位于基层中,而较小的消逝尾位于分析物溶液110中。因此激发光基本上仅存在于芯层表面紧附近的分析物溶液110内,并且仅靠近该表面的荧光团116能够吸收激发光光子,并且随后发射荧光光子。分析物溶液内的未反应的荧光标记116未被激发,并且其降低了信号背景并且增大了信噪比。

[0147] 应提及的是,图5中的(b)中的尺寸纯粹是示意性的。抗体具有近似10nm的尺寸,并且波导和电场的尺寸在几个微米的范围内。

[0148] 如果芯层的上表面105的相邻区域也设置有捕获抗体,则是不利的。在制造捕获抗体覆盖层时不区分波导芯表面和相邻的覆盖层表面可以使得制造更为简单。附着到覆盖层上的抗体的荧光团由于缺乏激发场而不被简单地激发。

[0149] 图6中的(a)以沿着芯层104的轴线的剖面图示意性地示出了根据本发明的诊断装置1的检测部位26上的波导结构66和微流体通道30结构的可行构造。光子结构和微流体结构被实施在芯片的基层102上。与图5中的示例类似,芯层104嵌入在周围的覆盖层中(不可见)。微流体通道30位于在芯层104的上方延伸的覆盖层106中。上层108沉积在基部覆盖层106的顶部上,并且形成微流体通道30的罩。

[0150] 在捕获点27处,微流体通道30与一个或多个芯层104相交。在该部位处,芯层104的上表面105处于打开状态,并且设置有固定的捕获抗体112。由于检测点上的荧光团的荧光发射必须被光学检测到,因此上层108和/或基层102被选择为在可见区内是透明的。

[0151] 在第二可行构造中,如图6中的(b)所示,与图5中的示例类似,光子结构被实施在基层102上,芯层104被嵌入覆盖层中(不可见)。另一方面,微流体结构30位于上层108中。

[0152] 为了制造如上所示的复合物结构,不同的材料层能够被沉积在基层102上。替代地,两个元件能够分离地制造并且最终彼此叠置,以形成完整的芯片结构。例如,可以通过在基底上布置覆盖层和嵌入的芯层104、通过制造具有微通道30的上层108并且将上层108安装在基部上来制造如图6中的(b)中所示的结构。

[0153] 为了进一步说明化验区域32处的相交的波导结构66和微流体通道30的结构,图7

以立体图示出了与图6中的 (b) 类似的结构剖切详细图。在芯片基层102上沉积有嵌入覆盖层106中的芯层104。在覆盖层106/芯层104的顶部上沉积有上层108,在该上层中定位有微流体通道30。在通道30与芯层104相交的位置处,芯层的上表面105处于打开状态(深灰区域),以及相邻的覆盖层的表面也处于打开状态(浅灰区域)。打开的芯层的上表面105的至少一部分设置有一层固定的捕获抗体(未示出),从而形成捕获点27,荧光标记的分析物蛋白稍后附着到该捕获点上。

[0154] 在操作期间,微流体通道被填充有分析物溶液,分析物溶液因此覆盖芯层104和覆盖层的表面。激发光在芯层104中被引导。激发光场的消逝尾与和芯层的上表面105邻近的区域重叠。存在于该区域中的荧光团被激发,并且发出荧光辐射。荧光辐射的一部分穿过透明的上层108,并且能够在外侧被观察者78观察到。

[0155] 波导结构66在捕获点27处的替代几何形状在图8中被示意性地示出。在该示例中,未使用嵌入的覆盖层。结果是芯层104从基层102突出。芯层的侧表面105' 和上表面105与分析物溶液110接触。固定的捕获抗体112固定在芯层的所有可到达的表面上,这增大了整个相互作用的区域,并且因此增大了可用的荧光信号和信噪比。

[0156] 对于如图5至图7中所示的嵌入的波导芯几何形状,在化验区域32中,芯层104从其上表面由上层108或者覆盖层106覆盖的部分直接变化到其与分析物溶液接触的部分。

[0157] 在如图8中所示的突出的波导芯几何形状中,有利的是提供了在捕获点处从嵌入几何形状到突出几何形状的绝热变化,在嵌入几何形状中,芯被嵌入基层、覆盖层和上层中,在突出几何形状中,芯的三个表面处于打开状态并且与分析物溶液接触。

[0158] 在图9中示出了这样的有利几何形状的可行实施方式。芯层104沉积在基层102上,覆盖层106嵌入在两个侧面上。波导结构由透明的上层108覆盖,在上层中形成微流体通道30。微流体通道和进入波导62以直角相交。在化验区域32中,当芯层104在微流体通道30的左侧离开侧壁31时,芯层104最初侧向嵌入在覆盖层106中。覆盖层的高度然后减小从而形成锥状结构,直到在中央部107中,芯层104的上表面105和两个侧表面105' 处于打开状态。在右侧,覆盖层的高度再次增大从而形成锥状结构,直到芯层104和覆盖层106到达右侧的侧壁31'。完全嵌入的情况与露出的情况之间的该逐渐变化减小了不利的光学效果,诸如反射、所引导的激发光的损失等。

[0159] 与图8类似,芯层的上表面105和侧表面105' 设置有固定的捕获抗体(未示出),以捕获分析物蛋白和荧光团的复合体。

[0160] 如前面所说明的,在化验区域32中,仅所引导的激发场的一小部分在波导的界面紧附近与测试介质重叠。除了限定了可检测的荧光团的实际量的接触区域的量,捕获点27的尺寸和分布也是产生丰富的荧光信号的重要因素。

[0161] 图10中示出了用于实现用于在根据本发明的化验单元中的不同蛋白分子的捕获点的四个不同的方案,这四个不同方案在蛋白点和波导的宽度之间具有不同的比率。

[0162] 图10中的 (a) 与图7类似地示出了波导结构66和捕获点27的可行实施方式的俯视图,其中移除了罩上层。单个侧向多模式波导结构66包括嵌入覆盖层106中的芯层。芯层104在可见区中或UV范围附近与激发波长相比是相当宽的(例如芯层104的宽度为50微米)。在波导结构66与微流体通道30的相交点处,存在单个的大捕获点27。该捕获点的尺寸与波导宽度相当,并且包括设置在芯层104的上表面105的顶部上的固定的捕获抗体的覆层。多模

式波导结构66中的激发光激发存在于芯层的上表面105处的荧光团。

[0163] 在如图10中的 (b) 所示的替代实施方式中,在芯层的上表面105上布置有较小捕获点27的矩阵,较小捕获点的宽度例如为5微米。多模式波导结构66具有与图10中的 (a) 的前面的实施方式中相似的尺寸。所有的捕获点27都对相同的分析物蛋白灵敏。结果是小荧光发射点的矩阵来取代大的荧光发射点。

[0164] 在如图10中的 (c) 所示的另一替代实施方式中,五个单模式波导结构66的束与微流体通道30相交。波导芯具有几个微米的宽度。与图10中的 (a) 类似,大的捕获点27存在于芯层的上表面105上以及该表面的覆盖层106的相邻区域上。仅波导芯的表面上的荧光团将被激发。

[0165] 在又一另外的实施方式中,如在图10中的 (d) 中所示,与图10中的 (c) 类似的五个单模式波导结构66与微流体通道30相交。与图10中的 (b) 类似的较小捕获点27的矩阵布置在芯层的上表面105上。波导结构66具有与图10中的 (a) 的前面的实施方式类似的尺寸。所有的捕获点27都对相同的分析物蛋白灵敏。结果是小荧光发射点的矩阵来取代大的荧光发射点。

[0166] 有利的是,当检测部位27的图像被评估时,执行某个化验区域32的全部荧光发射的集成。为此,无需检测单元来分解化验区域32的不同捕获点27。

[0167] 在图11中的 (a) 中示意性地示出了根据本发明的化验单元的有利实施方式的检测部位26的化验区域32的子集的细节,波导结构的几何形状与图10中的 (c) 类似。该视图与布置在上层上方的检测系统(未示出)的视图相似。在所示的细节中,三个单模式波导的两个波导束与三个微流体通道30相交。芯层104嵌入在覆盖层106中。在波导束67与微流体通道的相交的化验区域32处,布置有大的捕获点27。

[0168] 每个捕获点27均对于不同的分析物蛋白灵敏。因此分析由检测器单元获得的在检测部位处荧光发射的数字图片的评估系统通过测量并整合捕获点27的区域中的全部信号而将能够确定某个捕获点处某个分析物的存在。捕获点的不同列和排之间的距离考虑到不同参数而被选择。尤其是根据检测系统的分辨率极限来选择最小距离,其必须能够清楚地区分不同化验区域32的信号以及相邻的化验区域之间的光子系统中的可能干扰。

[0169] 以上讨论的实施方式的具有突出的波导结构的变形在图11中的 (b) 中示出,使用与图9类似的嵌入芯和突出芯之间的过渡。在微流体通道中的每个波导芯周围的锯齿结构因此对应于覆盖材料的锥,用于将波导模式从嵌入构造绝热地转化为突出构造。覆盖层106' 防止相邻的微流体通道30之间的干扰。

[0170] 耦合到每个波导中的激发光功率的良好均匀性是如在根据本发明的化验单元上执行的矩阵免疫测定测试的重要方面,以获得不同捕获点的荧光信号之间的相当的关系。图12提供了两个有利的光分布体系的示意图。

[0171] 在如图12中的 (a) 给出的第一方案中,借助均具有四个波导结构66的两个束,每个波导结构从左侧的耦合元件74至右侧的检测部位26、26' 并且最终至耦合出部位(未示出)均完全彼此独立。激发光被分离地注入每个波导中,并且为每个波导提供相似的激发强度的元件位于微流体芯片的外侧,有利地位于可重复使用的读取器单元上。穿过不同波导的均匀的光强度能够通过线性照明装置来实现,该线性照明装置具有将公共激发光源的光分布在不同波导的耦合元件上的运动镜。

[0172] 在如图12中的 (b) 中给出的第二方案中, 公共的输入波导62a借助Y型连接部/波导分离器61依次被分成相继的进入波导62、62'。以此方式, 均匀的激发功率被提供到每个检测部位。用于相同地分布激发光的装置位于一次性化验单元上。

[0173] 图13示出了两个构造以将来自芯层104的光耦合到光腔90中。耦合到光腔90中的电磁场临时地存储在该腔内, 并且用于短暂地激发捕获点27上的相邻的荧光团。

[0174] 在如图13中的 (a) 所示的一个有利的实施方式中, 光腔90位于芯层104的一侧上, 使得传播模式的消逝尾能够激发腔的共振模式。共振模式自身拥有消逝成分, 其能够由捕获点27中的荧光团吸收。所激发的荧光团在返回到他们的基态时发射荧光。待被传送通过波导的激发光的波长必须位于波导带宽内, 并且必须被调整成腔的谐振波长, 从而使得电磁能量耦合到腔模式并且自由激发附近的荧光团。

[0175] 在这样的实施方式的一个变形中, 波导包括脊背形波导, 并且腔包括支撑回音壁模式的微环腔。该构造的优点在于其能够利用标准的平板印刷方法容易地制造。微环谐振器能够支承具有非常大质量因子的光学模式, 从而导致强的轻物质相互作用以及因此荧光的增强的激发。在另一有利变形中, 波导包括光子晶体W1波导, 并且腔能够包括光子晶体L3腔。

[0176] 在如图13中的 (b) 所示的另一有利实施方式中, 光腔90位于两个对准的芯层104, 104' 之间。在该构造中, 在输入波导62a、芯层104中引导的光耦合到光腔90和输出波导63, 只要激发波长被调整成腔的谐振波长即可。

[0177] 在整个说明书中引用了多个文献, 这些文献的公开内容均通过引用全文结合于本文中。

[0178] 本发明不局限于本文所描述的具体实施方式的范围。实际上, 除了本文所描述的那些实施方式, 从前述说明和附图, 本领域技术人员将清楚本发明的各种修改。因此, 这样的修改旨在落入所附权利要求的范围内。

[0179] 附图标记列表

[0180]	1、1'	化验单元
[0181]	2	读取器单元
[0182]	3	诊断装置
[0183]	4	计算机系统
[0184]	5	数据链路
[0185]	20	微流体系统
[0186]	22	注射垫
[0187]	24	样品制备部分
[0188]	25	分析物溶液
[0189]	26、26'	检测部位
[0190]	27	捕获点
[0191]	28	毛细泵
[0192]	30	微流体通道
[0193]	31、31'	通道的侧壁
[0194]	32	化验区域

[0195]	60	光子系统、光子层
[0196]	61	波导分离器
[0197]	62、62'	进入波导
[0198]	62a	输入波导
[0199]	63	输出波导
[0200]	64	激发光束、激发光
[0201]	65	剩余的激发光
[0202]	66	波导结构
[0203]	67	波导束
[0204]	68	荧光发射
[0205]	70	光学系统
[0206]	72	光源
[0207]	74	耦合元件
[0208]	75	耦合元件
[0209]	76	检测元件
[0210]	78	观察者
[0211]	80	检测器单元
[0212]	90	光腔
[0213]	102	基层
[0214]	104、104'	芯层
[0215]	105	芯层的上表面
[0216]	105'	芯层的侧表面
[0217]	106、106'	覆盖层
[0218]	107	中央部
[0219]	108	上层
[0220]	110	分析物溶液
[0221]	112	固定的捕获抗体/捕获分子
[0222]	114	抗原/分析物分子
[0223]	116	荧光团、荧光标记
[0224]	117	捕获抗体-抗原复合体
[0225]	118	抗原-荧光标记复合体
[0226]	119	捕获抗体-抗原-荧光标记复合体

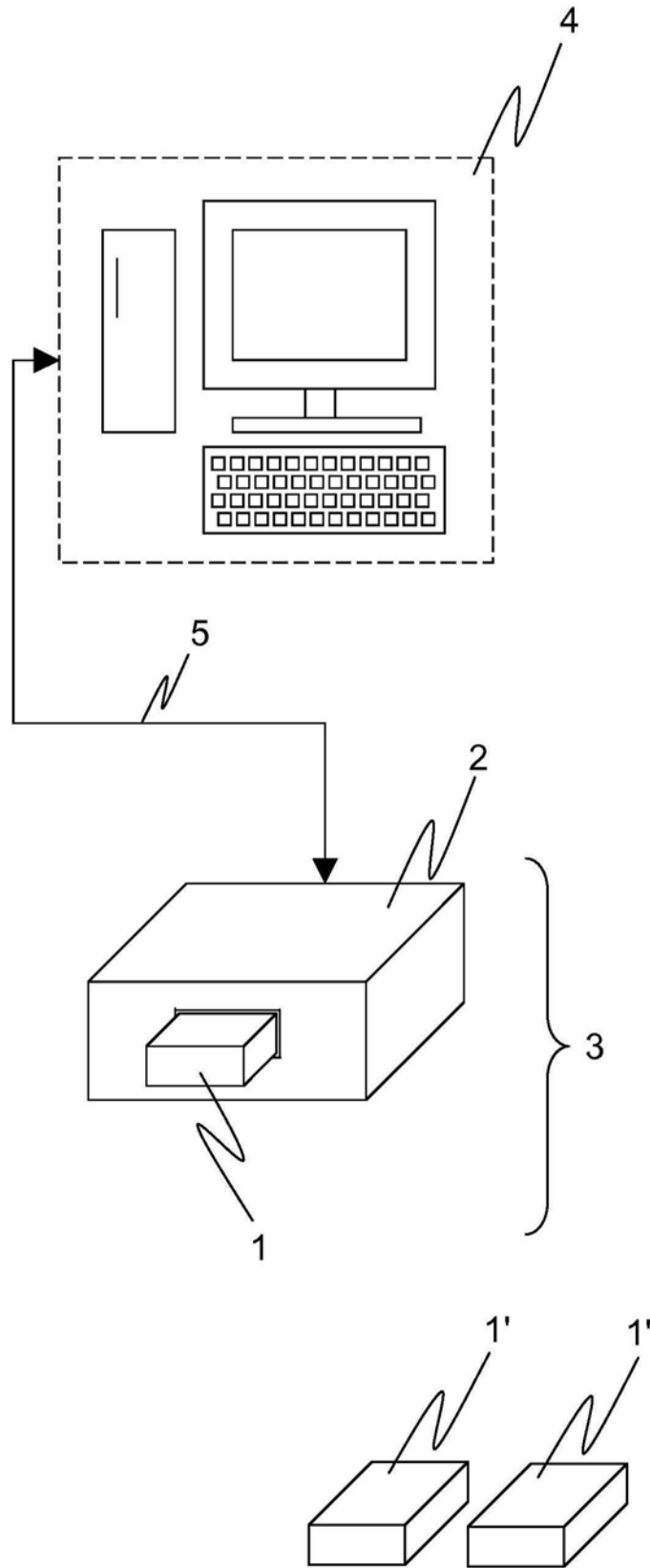


图1

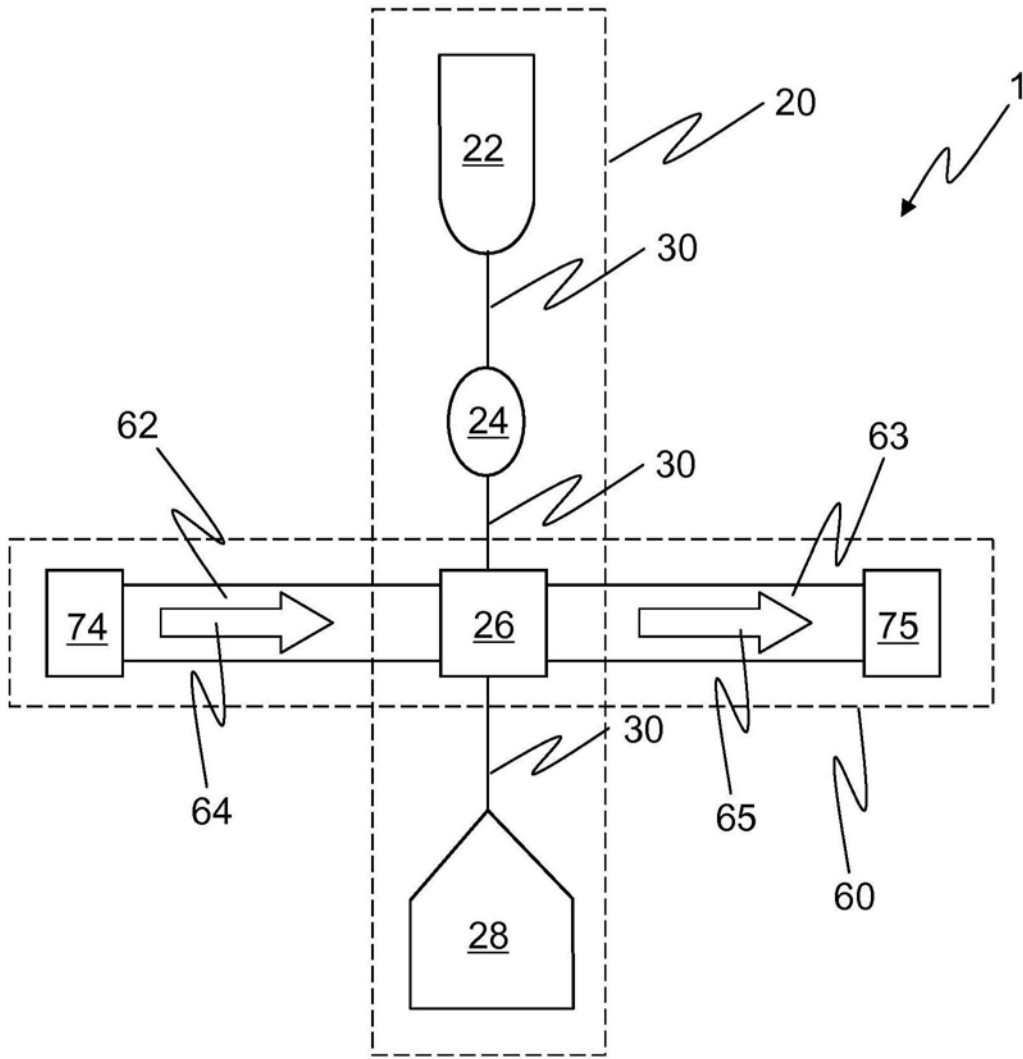


图2

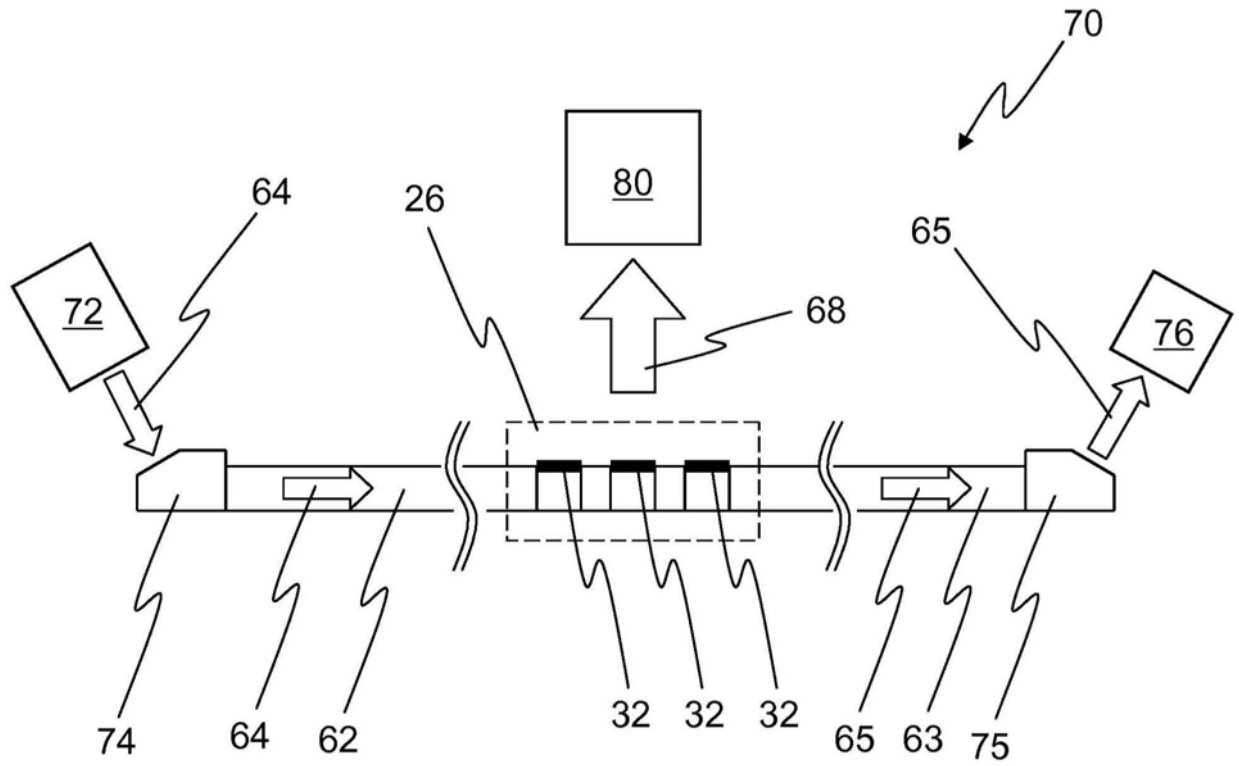


图3

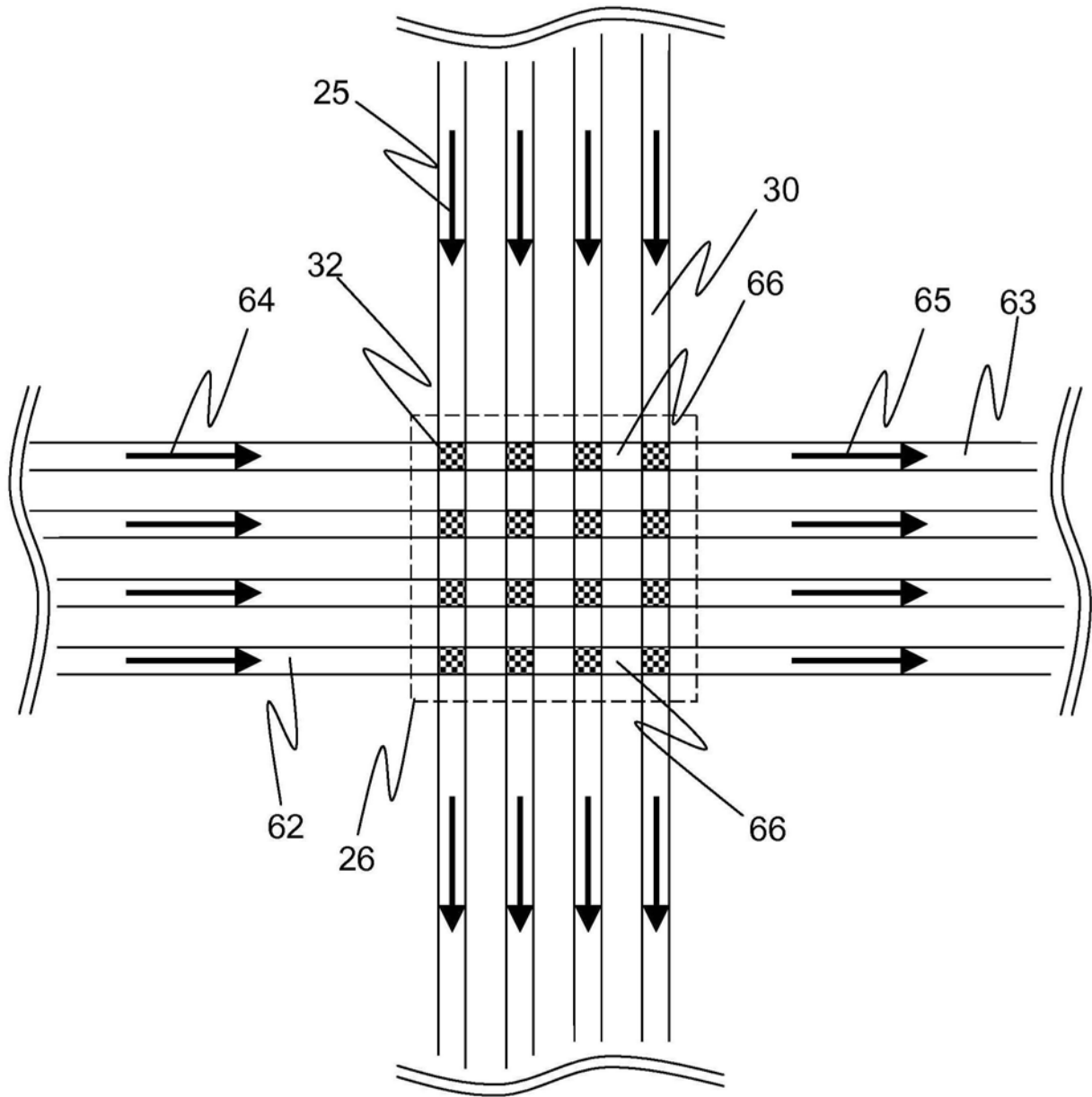
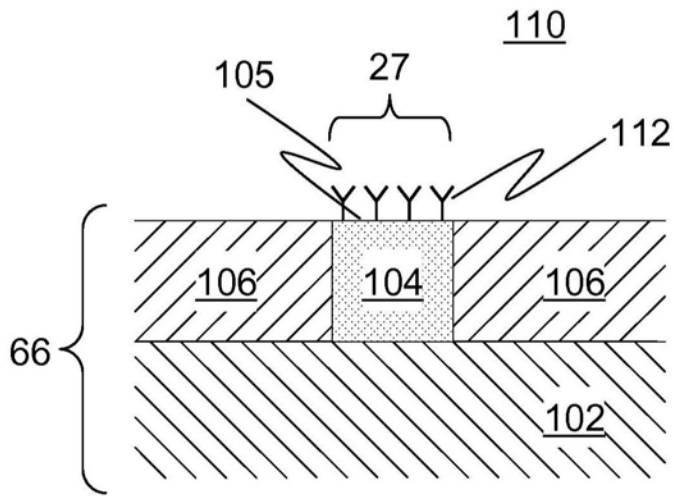


图4

(a)



(b)

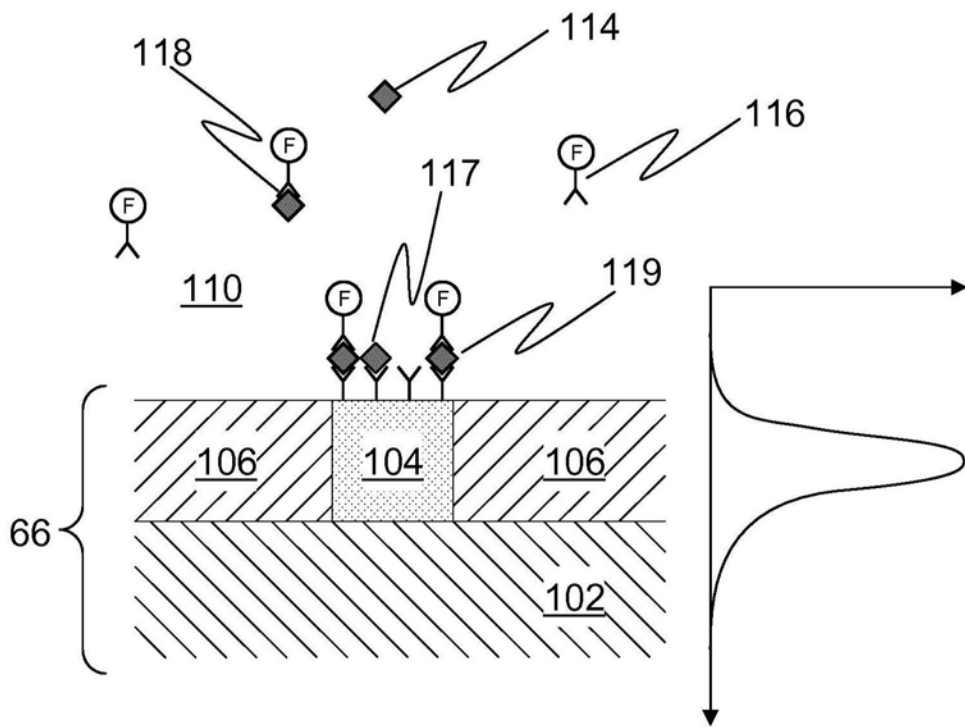


图5

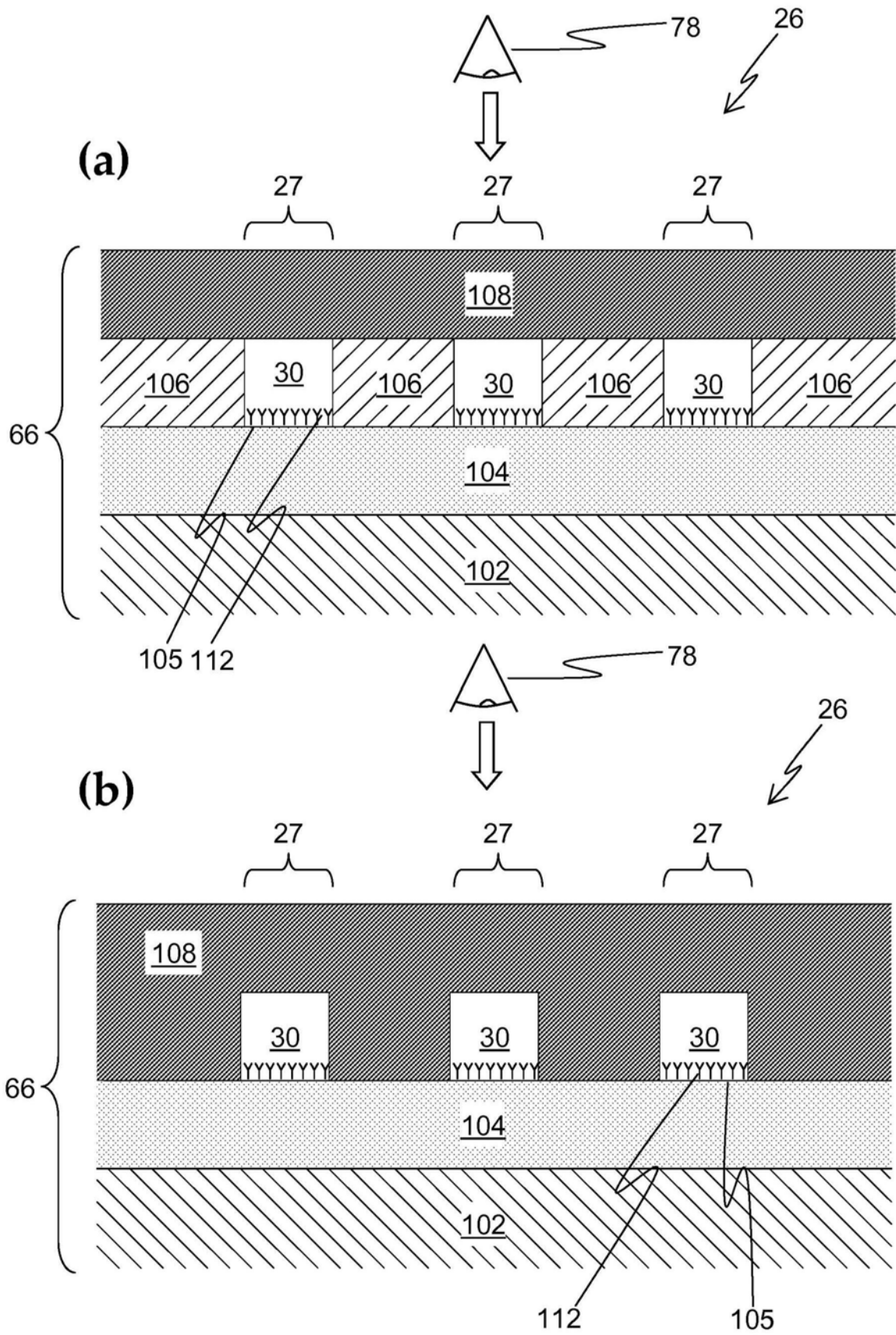


图6

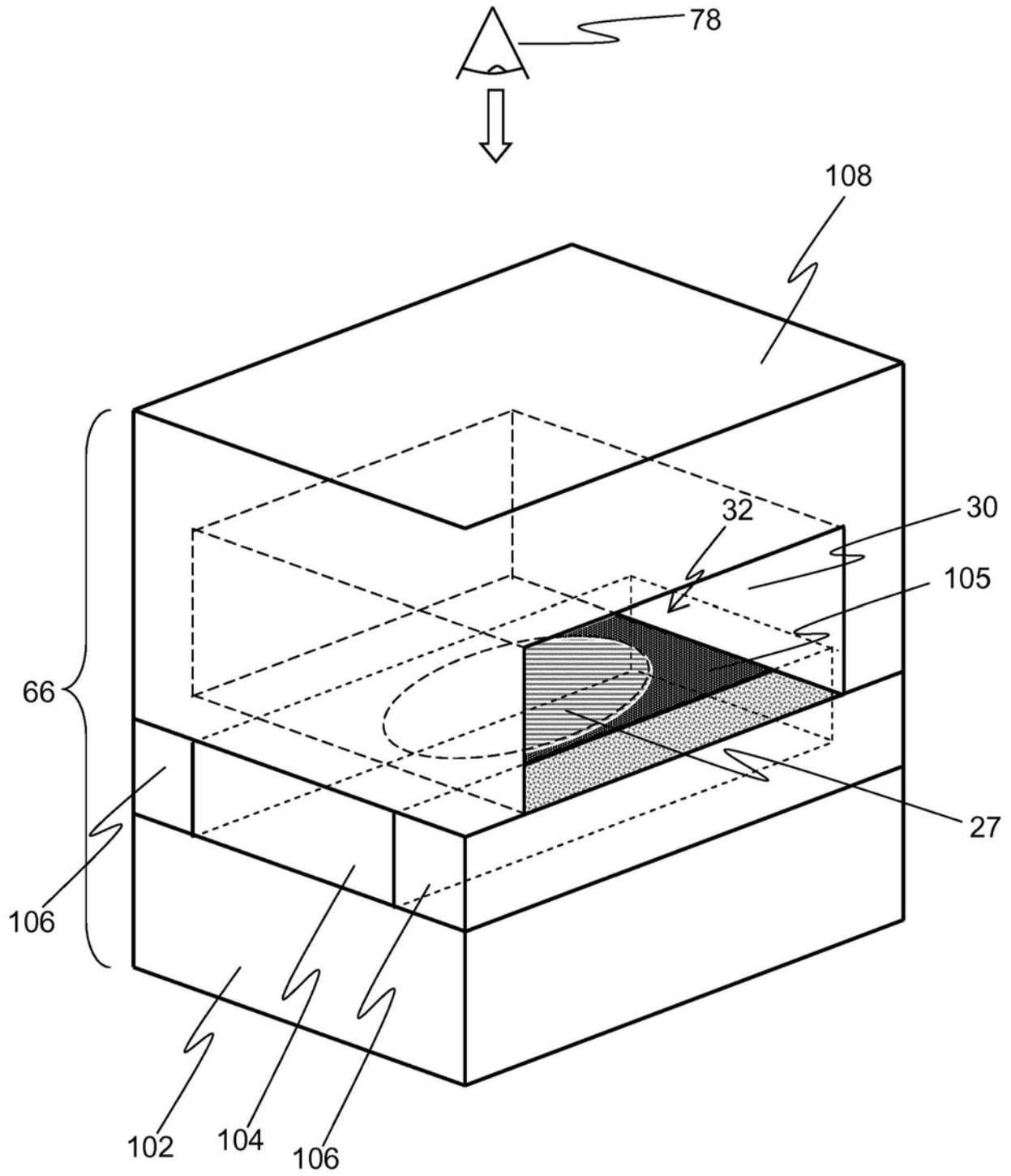
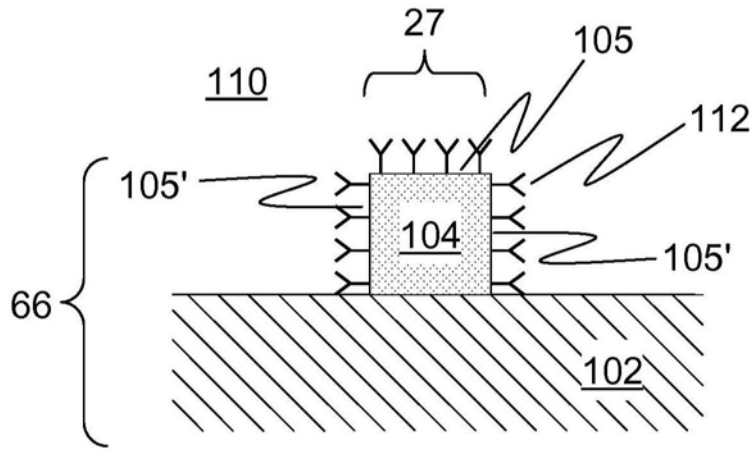


图7

(a)



(b)

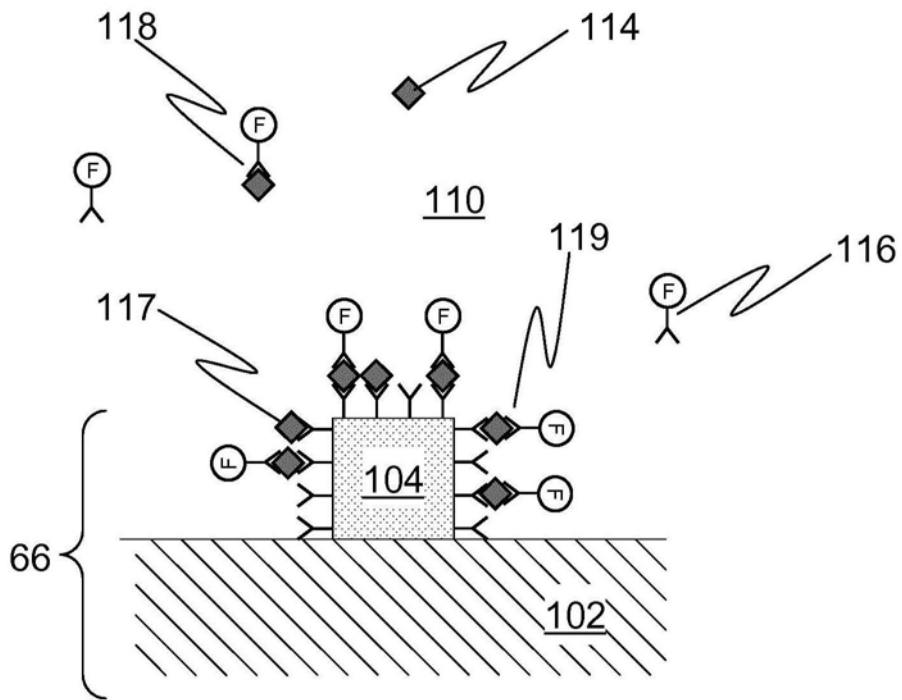


图8

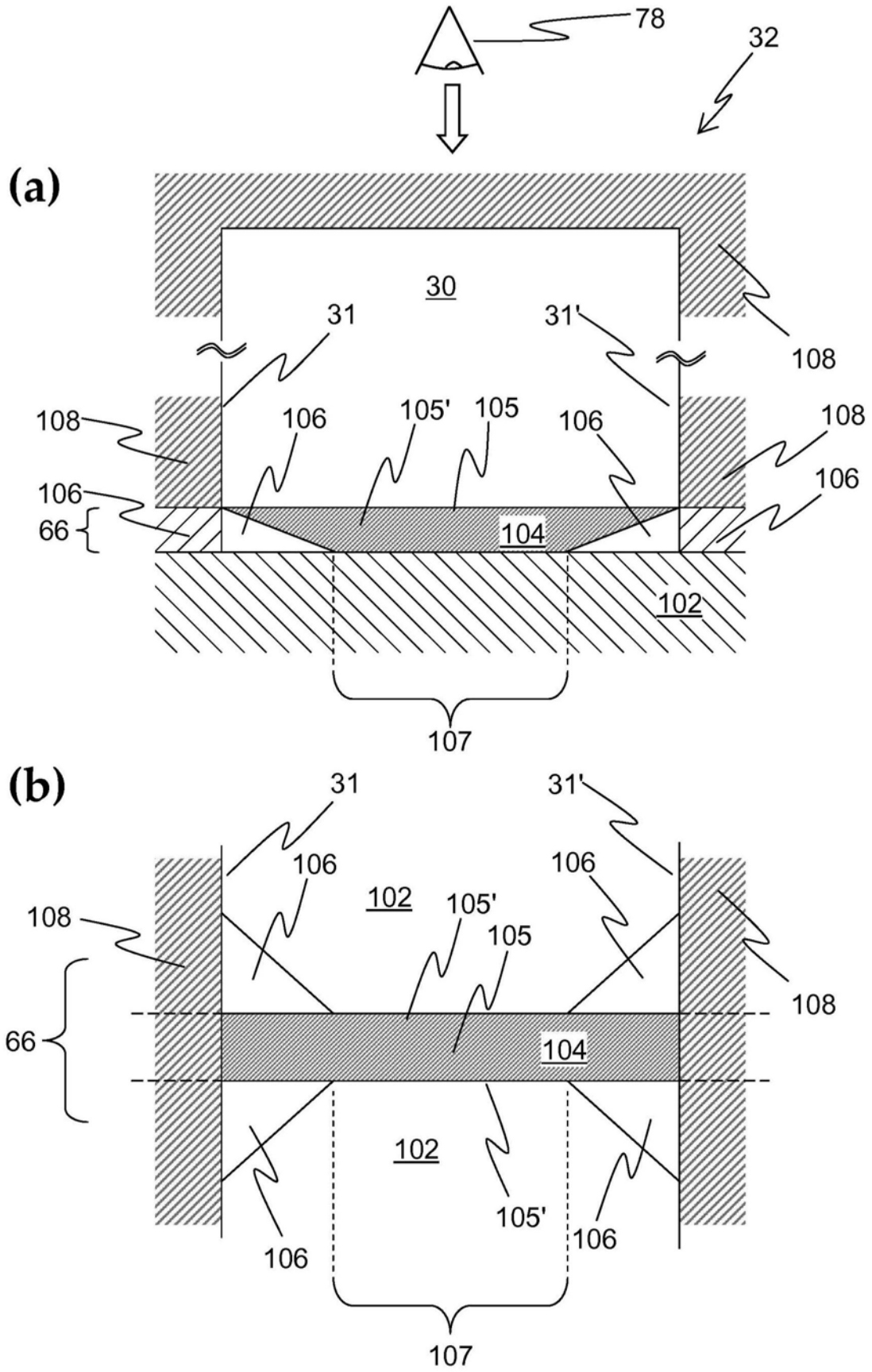


图9

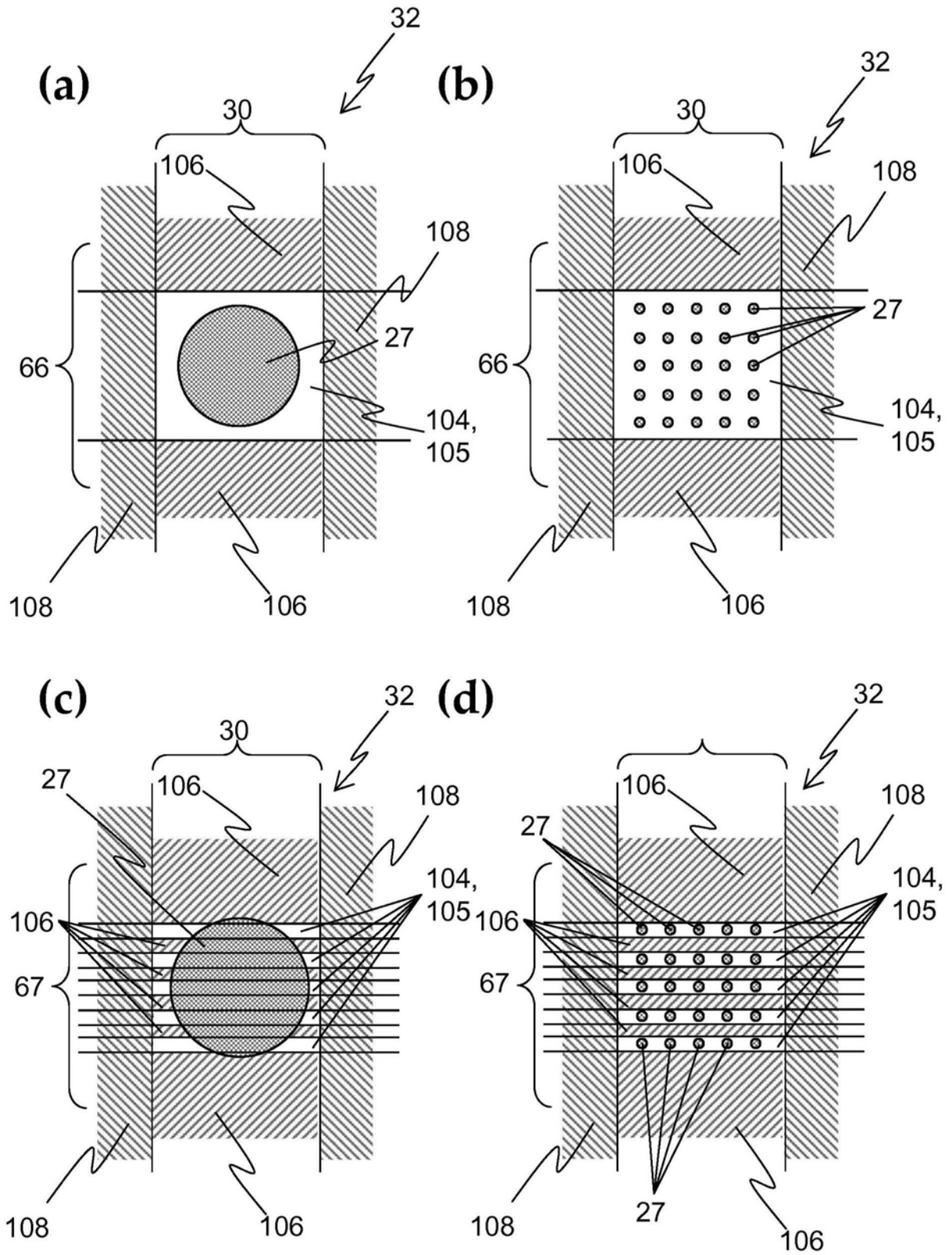


图10

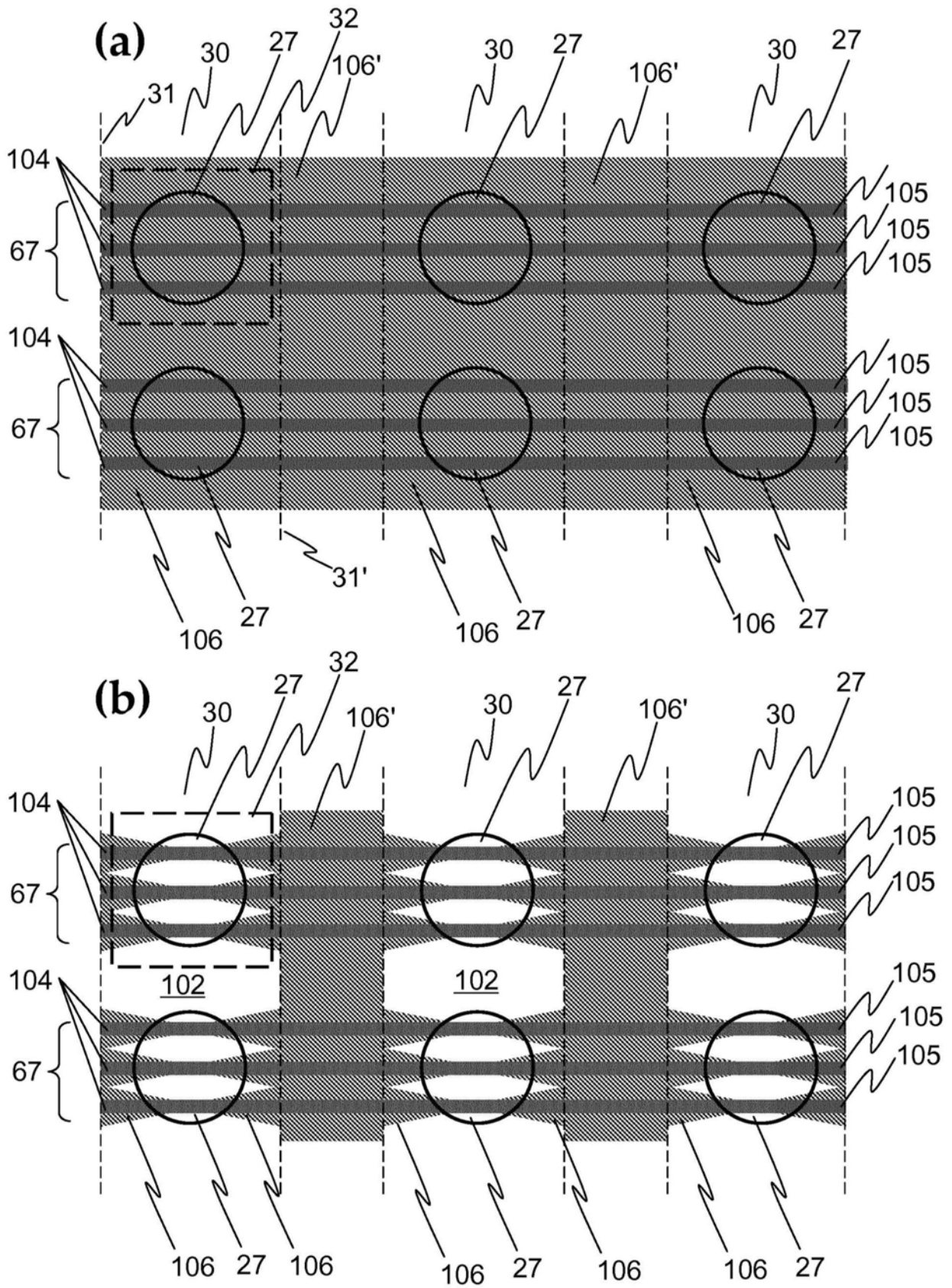


图11

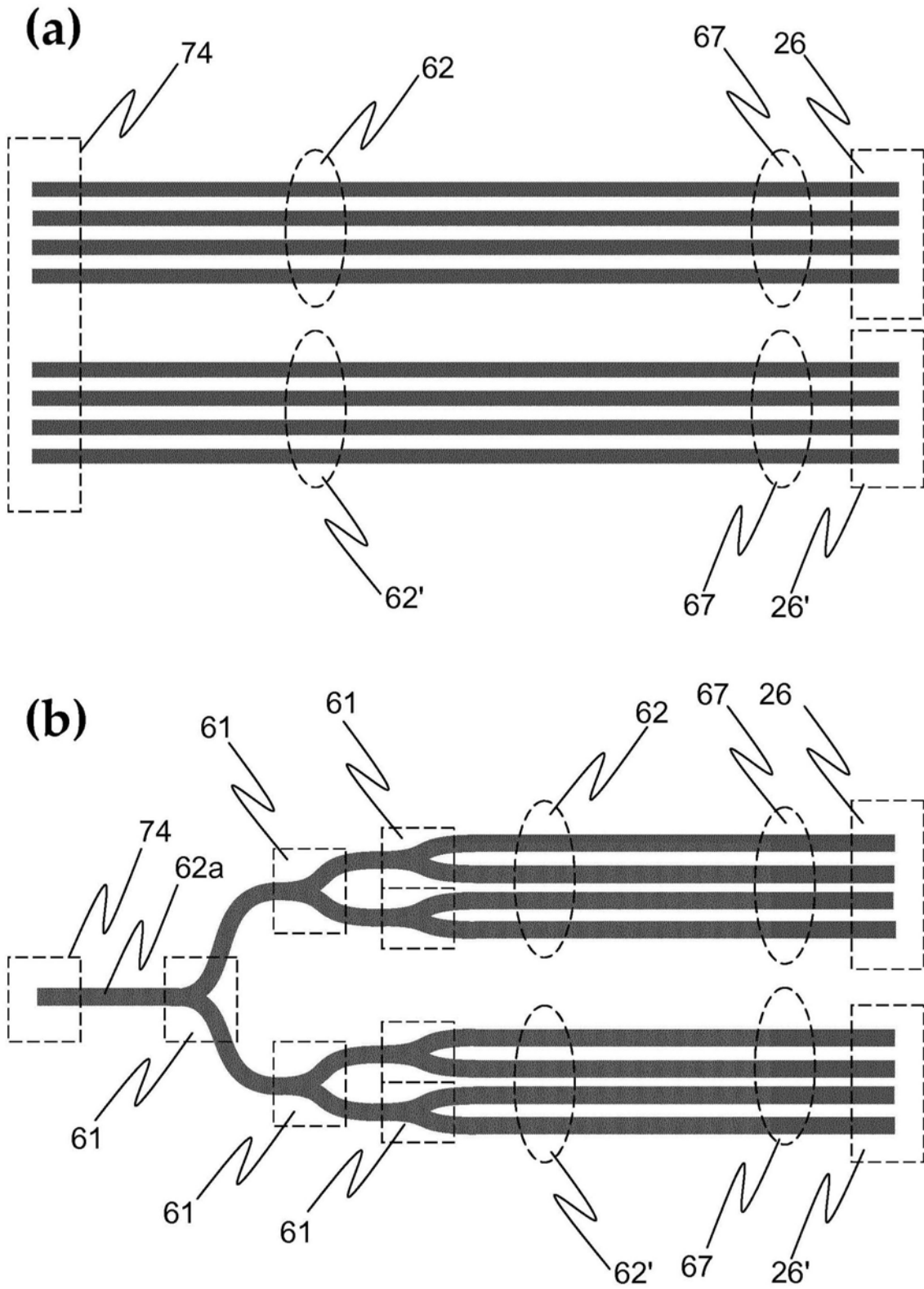
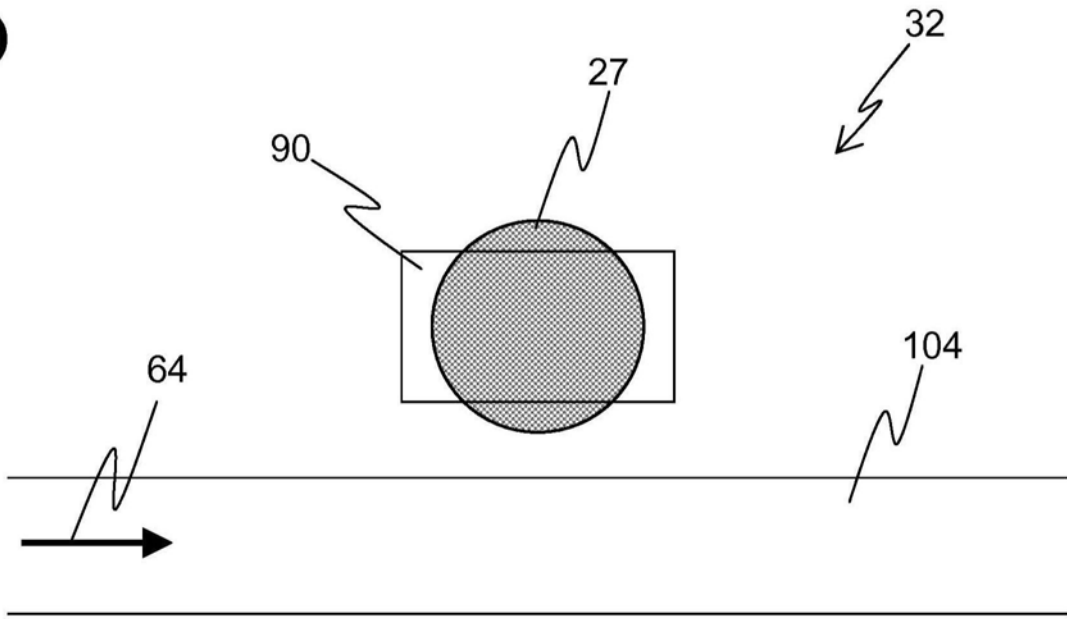


图12

(a)



(b)

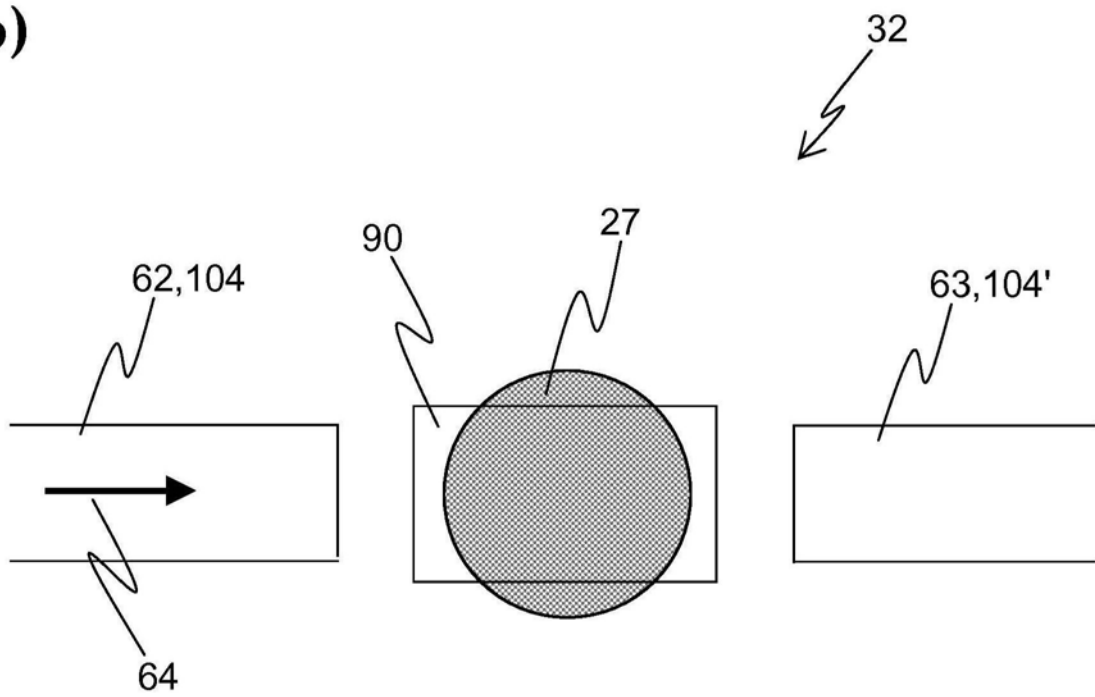


图13