



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102803944 B

(45) 授权公告日 2016.06.08

(21) 申请号 201080026050.7
 (22) 申请日 2010.04.09
 (30) 优先权数据
 12/422,125 2009.04.10 US
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2011.12.12
 (86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2010/030484 2010.04.09
 (87) PCT国际申请的公布数据
 W02010/118288 EN 2010.10.14
 (73) 专利权人 药物代谢动力公司
 地址 美国加利福尼亚
 专利权人 叶赫沙·沙查尔 温斯顿·吴
 莱斯利·法卡斯 托马斯·陈
 (72) 发明人 叶赫沙·沙查尔 温斯顿·吴
 莱斯利·法卡斯 托马斯·陈
 (74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285
 代理人 张广育 姜建成
 (51) Int. Cl.
 G01N 27/26(2006.01)
 G01N 27/403(2006.01)

(56) 对比文件
 US 4822566 , 1989.04.18,
 US 2002/0185379 A1, 2002.12.12,
 US 2006/0137981 A1, 2006.06.29,
 US 6846638 B2, 2005.01.25,
 US 2002/0012937 A1, 2002.01.31,
 US 2007/0151848 A1, 2007.07.05,
 Fang Wei 等. Aptamer-based electrochemical biosensor for Botulinum neurotoxin.《Anal Bioanal Chem》.2009, 第 393 卷 (第 8 期),
 Fang Wei 等. Aptamer-based electrochemical biosensor for Botulinum neurotoxin.《Anal Bioanal Chem》.2009, 第 393 卷 (第 8 期),
 Hyun-Seung Lee 等. Electrical detection of VEGFs for cancer diagnoses using anti-vascular endothelial growth factor aptamer-modified Si nanowire FETs.《Biosensors and Bioelectronics》.2008, 第 24 卷 (第 6 期), 第 1801-1805 页.

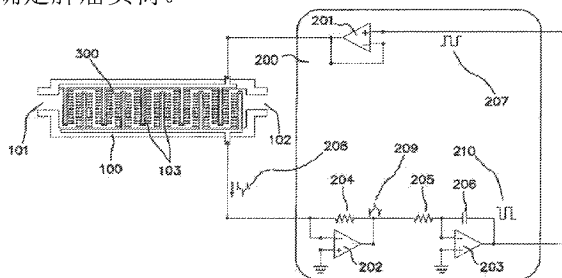
审查员 刘畅

权利要求书2页 说明书13页 附图6页

(54) 发明名称
 用于形成应用适体生物传感器的稳态环的方法和装置

(57) 摘要
 本发明提供了一种新型体系结构的固态生物传感器,用于血管内皮生长因子 (VEGF) 杂交的无标记物的检测。所述新装置是通过形成并联电容器的矩阵阵列实现,使得可获得低成本、便携、完全集成的装置。检测机制是基于循环系统 VEGF 与固定的 VEGF 适体的电化学结合;籍此这两种化合物的结合可调整新型电路的阈电压,改变所述电路的阻抗(电容)。该新型电路的特征还在于以 p-Si 底物编码的电极,增强 VEGF 分子和适体之间的亲和性。配置形成流体电池的装置,使得所述流可以递送 VEGF 样品至芯片的活性表面上。所述装

置可以具有并联电容器阵列,所述阵列作为集成的个体反电极发挥作用;具有计算装置,所述计算装置利用时域上的传感输出,目的是使得可检测、报告并形成用于 VEGF 测量的稳态环。而且,该检测器能够提供经准确测量的 VEGF 分子的体内定量变化率,提供该重要生物标记物的实时反馈,所述生物标记物可用于测量肿瘤对所递送的化学治疗剂和生物反应调节剂 (BRM) 的反应,以用于确定肿瘤负荷。



[转 续 页]

[接上页]

(51) Int. Cl.

G01N 27/327(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 27/00(2006.01)

1. 一种用于检测靶分子存在情况的适体-探针传感器阵列,所述传感器阵列包含:
适体,所述适体被配置为与指示蛋白结合以及改变所述指示蛋白的属性;
探针,所述探针被配置为与靶分子结合,其中所述适体和所述探针以这样的方式组合,该方式即当所述探针结合于所述靶分子时,所述适体和所述指示蛋白之间的结合模式变化;
底物;
由所述底物携带的多个密封的微机械电容器,连接于所述电容器的包括所述探针和所述适体的识别基团,所述识别基团接受所述靶分子;
用于检测所述多个电容器中的每一个的检测器;以及
被配置以计算指示所述靶分子的结果的处理器,
其中所述识别基团对VEGF靶有响应。
2. 权利要求1所述的传感器阵列,其中所述电容器中的至少某一个具有多个区域,所述多个区域中的每一个均有至少一个识别基团连接于所述区域。
3. 权利要求2所述的传感器阵列,其中所述多个区域中的某一个包括一个适体-探针复合体,其具有可吸引所述靶的电化学亲和性。
4. 权利要求1所述的传感器阵列,其中所述多个电容器中的某一个包含可结合于多种靶分析物的识别基团。
5. 权利要求1所述的传感器阵列,还包含连续的第一SiO₂、-硅烷化层、连接体层、发挥固定化剂功能的Macugen适体层,覆盖所述多个电容器中某一个的至少一部分。
6. 权利要求5所述的传感器阵列,其中所述连接体层为琥珀酸酐。
7. 权利要求1所述的传感器阵列,另外包含对所述检测器有响应的分析电路。
8. 一种系统,包含:
传感器,所述传感器包括:底物、由所述底物携带的电容器阵列、连接于所述底物的包括探针和适体的识别基团和用于检测靶的检测器,所述识别基团可接受所述靶;以及
用于递送待分析体液至所述传感器的递送系统,
其中所述识别基团对VEGF靶有响应。
9. 权利要求8所述的系统,其中所述递送系统包括输入口、连接于所述输入口的容器和连接于所述容器的输出口,所述底物的至少一部分暴露于所述容器中的流体中。
10. 权利要求9所述的系统,其中所述递送系统包括一个或多个壁,其中所述递送系统的壁具有适合的大小,以使所述体液可以无限制循环流过所述传感器单元。
11. 权利要求10所述的系统,其中所述递送系统的壁的大小定义为充满电的电容器值的函数,所述电容器值使得可以靶结合所述传感器阵列的最大功能化表面面积,而不降低所述体液流通过所述传感器单元壁的循环流速。
12. 一种方法,包括:
将传感器暴露于包含靶物质的流体,所述传感器包含被配置为吸引所述靶物质的电容器阵列和连接于所述电容器的识别基团,所述识别基团可接受所述靶物质;并且
分析所述识别基团以确定所述靶物质是否存在于所述流体中。
13. 权利要求12所述的方法,其中所述分析包括通过与所述传感器阵列接触的电子工具直接致动。

14. 权利要求12所述的方法,其中所述分析包括确定所述传感器的电容值变化、阻抗变化和随时间变化率中的一个或多个。

15. 权利要求12所述的方法,还包括调整所述电容器上的电容电荷,使得所述靶物质或者被所述传感器吸引或者不被吸引。

16. 一种用于检测生物分子存在情况的系统,所述系统包含:

被配置成允许包含生物分子的至少一种流体流过的流体流槽;

所述流体流槽中的至少一个电容元件包括至少一个这样的结构,所述结构被配置成当所述电容元件充电时吸引所述生物分子,当所述电容元件未充电时不吸引所述生物分子;以及

被配置以指示所述生物分子吸引情况的传感器。

17. 权利要求16所述的系统,其中所述至少一个结构被配置成当所述电容元件充电时结合于所述生物分子,当所述电容元件未充电时释放所述生物分子。

18. 权利要求16所述的系统,其中调整所述电容器的充电和放电,使得可短暂地吸引所述生物分子,而不导致所述生物分子聚集到足以阻碍流体流动。

19. 权利要求16所述的系统,其中调整所述电容器的充电和放电,使得可短暂地吸引所述生物分子,而不导致所述生物分子聚集到足以妨碍准确测量所述生物分子。

用于形成应用适体生物传感器的稳态环的方法和装置

技术领域

[0001] 本发明涉及化学生物传感器。更具体而言,本发明涉及固定并联板化学生物传感器和电容器阵列以及制造它们的方法。

背景技术

[0002] 血管内皮生长因子(VEGF)在正常血管发生期间以及在出现在包括癌症的许多疾病中的病理血管发生中起到关键作用。通过使用人源化单克隆抗体贝伐单抗(bevacizumab)(Avastin, Genentech/Roche)以及靶向VEGF受体(VEGFR)酪氨酸激酶的两种激酶抑制剂索拉非尼(sorafenib, Nexavar; Bayer)和舒尼替尼(sunitinib, Sutent, Pfizer)阻断VEGF的初步努力开始在人癌症患者中显示出希望,凸显了优化VEGF阻断的重要性。人肿瘤的生长和转移的发生依赖于全新形成血管,以达到低氧肿瘤微环境并向其提供养分。新血管形成受到靶向受体酪氨酸激酶(RTK)的特异性生长因子高度调节。

[0003] VEGF和Flk-1/KDR RTK作为关键的內皮细胞特异性因子参与病理血管发生所需的信号传递通路,包括肿瘤新血管发生。在正在生长的肿瘤中抑制VEGF酪氨酸激酶信号传递通路可阻断新血管形成,导致肿瘤生长停滞或消退。血管发生的生物学理解方面的进展已经导致开发了数种治疗形式,用于抑制VEGF酪氨酸激酶信号传递通路。许多的这些形式正进行临床研究以评价它们治疗多种形式的人癌症的可能性,但这类研究的能力受限于这样的事实,即不容易进行VEGF水平和VEGF转导趋向的实时体内测量。

[0004] 在正常发育中,VEGF是胚胎发生(血小管发生(vasculogenesis))和成体血管形成(血管发生(angiogenesis))中血管发生的关键调节物。在肿瘤发展中,活化VEGF通路可促进肿瘤血管化,有利于肿瘤生长和转移。异常VEGF功能还与包括动脉粥样硬化、银屑病、老年性黄斑变性、糖尿病失明、类风湿关节炎和甲状腺功能亢进的其他疾病相关。VEGF和VEGF-受体蛋白家族的成员具有不同但重叠的配体-受体特异性、细胞类型表达和功能。VEGF-受体活化反过来又可调节身体中促进內皮细胞生长、迁移和存活的信号传递过程的网络。

[0005] 可连续监测其周围环境以提供对不健康状态的背景统计和警示的生物传感器已知被用于医学技术中。以下是对现有技术的简要综述,包括对一些现有技术生物传感器的详述。文献详情通过本申请文本中记载的参考文献引用。例如,有许多重量分析生物传感器(gravimetric biosensor)的实例。检测基础是当各种分析物连接至共振元件时发生的共振器的共振频率降低。对生物分子分析物的分析物特异性是通过用配体功能化(处理)所述共振器的暴露表面而被赋予的,所述配体可识别并结合于多种所述靶分析物。靶生物分析物的合适结合实体的实例包括抗体、受体、凝集素、适体和寡核苷酸。

[0006] 在一个重量分析生物传感器中,所述固定的结合基团位于所述膜表面上的一个或多个区域中,所述区域在所述膜上的定位、大小和区域固定密度被设计成使靶分析物结合时观察到的频率和/或幅度偏移最大化并且使特异性结合和非特异性结合的所有组合之间的区别最大化。该区别可以采取三种形式:(a)所述膜的共振频率的改变,(b)较高阶谐振出

现或消失,或者(c)振幅衰变率的改变。在这类生物传感器中,单个的膜可以包括多个用于致动和用于传感目的的个体可寻址元件。该技术使得可以特异性刺激所选择的较高阶振动模式并且使得能够同时振动致动警报电路或类似装置。声波——有时被称为重量分析传感器——的原理是公知的,其应用在文献中出现已达十年以上。

[0007] 分子相互作用可以通过生物大分子的极化率而用电子方法检测到,通过使用发荧光的标签而用光学方法检测到,通过使用放射性标记的标签而用放射测量法检测到,或者用声学方法检测到。最近,基于MEMS的传感器已被纳入生物技术和生物医学领域中。应用声学传感器的范围包括:细胞检测、葡萄糖生物传感、抗体-抗原识别和蛋白质吸收。

[0008] 压电石英晶体微量天平(QCM)从20世纪50年代后期已经被用于检测气相和液相分析物。QCM技术在最近被应用于生物学分析物。QCM已被用于跟踪蛋白质被非特异性吸收至未改性的和改性的石英晶体表面电极上。将抗体固定于所述晶体表面可赋予分析物特异性。

[0009] 由于现有技术很广泛,所以发明人选择引用生物传感器领域的一些基础革新,因为这提供了大多数先进应用均基于其上的原理,例如Arwin et al.。美国专利4,072,576教导了一种用于研究生物化学反应的方法,其中活性或浓度待测的物质影响所述生物化学反应的特异性底物,所述方法包括提供涂敷有所述底物的电极,在包含所述电极的测量装置中确定电容作为控制值,将所述物质引入至所述测量装置,测量电容变化,从而获得所述样品中存在的物质的活性或浓度的定量测量值并影响所述电极上的特异性底物。

[0010] Schenck美国专利4,238,757描述了,包括常规源极和漏极的场效应晶体管在栅极区应用了一层对具体抗原特异性的抗体层。所述抗体层上的电解质溶液(例如0.155生理盐水)可为所述装置提供依漏极电压特性为转移的预设漏极电流。将所述电解质溶液换成包含所述抗原的另一种电解质溶液会由于抗原-抗体反应而改变所述蛋白质表面层的电荷,因此影响所述晶体管中半导体反型层的电荷浓度。因此漏极电流的时间变化率可提供所述替换溶液中抗原蛋白浓度的测量值。

[0011] Rice美国专利4,314,821描述了一种用于在包含能够结合抗原的干扰物质的液体样品中确定免疫反应活性物质总量的方法和试剂盒。所述方法包括以下步骤:使包含或疑似包含抗体的液体样品与压电振荡器表面接触,所述压电振荡器具有对连接于其上的抗体特异性的抗原层;洗涤并干燥所述振荡器;测量所述振荡器的共振频率;使所述振荡器表面与液体试剂接触,所述液体试剂包含过量的与结合于所述振荡器的所有抗体特异性反应的物质。此外,洗涤并干燥所述振荡器;并测量所述振荡器的共振频率相对于初次测量值的变化,从而使结合于所述振荡器的总抗体量区别于在先步骤中结合的干扰物质。

[0012] Malmros美国专利4,444,892提出了一种用于确定介质中分析物浓度的传感器和半导体装置。所述装置的特征是,由半导体有机聚合物构成的元件与对所述分析物有特异亲和性的结合物质相结合。

[0013] Iida等人的美国专利4,900,423教导了这样的技术,即其中公开了包含特异性作用于底物的酶的酶传感器和用于将酶反应过程中产生或消耗的物质或热的定量变化转换成电信号的换能器,其中所述酶是葡糖激酶。Iida教导了确定样品中葡萄糖的量是可能的,并教导了精确确定腺苷-5'-三磷酸(ATP)。在长期使用后所述传感器的响应时间几乎恒定,检测率的降低非常小。

发明内容

[0014] 提供如下发明内容以有利于对本发明特有的一些创新特征进行理解,但不是意欲进行全面描述。对本发明各个方面的全面了解可以通过将整个说明书、权利要求书、附图和摘要作为一个整体考虑而实现。在阅读说明书后,对本领域普通技术人员来说本发明的其他目标和优点将是明显的。

[0015] 本发明描述了一种具有如下体系结构的装置,即所述体系结构可用于构建用于无标记物检测VEGF杂交的固态生物传感器。在一个实施方案中,所述装置是通过以下方式实现:形成并联电容器的矩阵阵列,目的是达到高的信号与最小电化学变化的比,并伴随电等值,从而可获得低成本、便携、完全集成的装置。

[0016] 本发明涉及形成生物传感器,更具体而言涉及集成平台类型的电容阵列,所述集成平台类型是使用固态制造技术和被称为适体(选择用于与分子靶高亲和性结合的寡核苷酸配体)的寡核苷酸元件制造,所述适体可形成所述电容器板的电介质和杂交表面。所提出的发明的目标是将肿瘤发生的生长率模拟为所述传感器腔中其VEGF水平的函数,同时测量VEGF分子对所述电容器板的结合率,VEGF分子的肿瘤结合率的向量/趋势由所述装置的等效电路模拟。所述生物电容器计算所述系统的状态,目的是进一步作为用于所述目标腔中VEGF浓度的电平开关检测器(level-switch detector)。

[0017] 如上文所述,VEGF在正常血管发生期间以及在出现在包括癌症的多种疾病中的病理血管发生中起到关键作用。通过使用人源化单克隆抗体贝伐单抗(Avastin, Genentech/Roche)以及靶向VEGF受体(VEGFR)酪氨酸激酶的两种激酶抑制剂索拉非尼(Nexavar; Bayer)和舒尼替尼(Sutent, Pfizer)阻断VEGF的初步努力在人癌症患者中显示出希望,凸现了优化VEGF阻断的重要性。因此,对于任何精细调节的抗血管生成疗法,这样的体内植入装置是关键,即该装置可精确地提供有关VEGF水平的实时反馈,从而能够合理地调节、减弱或修改抗血管形成剂的摄取。本文描述的系统通过模拟以下过程测量VEGF水平:其中VEGF在已知时域内结合于固定VEGF适体,从而基于调节回路中的VEGF水平提供合适的反馈。

[0018] VEGF蛋白和它们的受体之间的相互作用由所述装置腔中受控条件下所述适体和所述VEGF受体的各个结合注释。信号传递事件及其生物学结果的详情可通过模拟所述VEGF分子结合于本发明装置的腔中存在的适体的结合率简明地描述;因此,这类并行过程可提供本发明装置的等效电路的必需定量趋势和浓度值。

[0019] 呈现了本发明VEGF检测器的制造,使用了对用于制造微型装置的技术和设备的显著改进,因此概述了微机械设备的的使用。硅制造和高精机械的改进开辟了用于研发应用的现在称为微电子机械系统(MEMS)的领域。随后开发的微型阀、泵、槽和热交换器使得可操作极其小的流体体积。与集成电路(IC)和MEMS领域中改善的大规模制造技术结合,微流装置和微化学系统被应用于实现本发明。

[0020] 在本发明中,微量溶液可用于使成本和影响最小,并且可延长寿命,这是因为消耗品的使用受限和监测肿瘤生长过程的内在需求以及排除超过一次性使用的耐久。本发明提供了一种先进的构型,所述构型包括协同且可变通的传感器系统,以多个装置操作于单个流体样品以借助板载处理逻辑块进行全自动化学分析。

[0021] 如上文所述,用于检测目的分子存在情况的生物传感器可应用于多个领域,包括医学诊断、生物医学研究以及检测生物和化学战争中使用的试剂。存在对具有高敏感性的廉价、袖珍传感器的需求,所述传感器用于在实时、体内、无标记物环境中检测VEGF分子,目的是报告状态例如趋势和浓度,并进一步使得可以形成闭环反馈回路以使用例如本发明指出的药物治疗法有效地调节(减弱、改变)所述生物活性。这样的装置公开于本发明中。

[0022] 利用基于适合结合VEGF分子的适体的电化学结合的机制,所述装置可以检测所述VEGF分子的存在情况。

[0023] 在一个实施方案中,所述传感器具有电极性,目的是在进一步调整所述电路的阈电压时自然地吸引VEGF分子的本身带的负电荷。在一个实施方案中,所述电极性可以被调整,目的是吸引并然后释放所述VEGF分子,以阻止VEGF分子在所述传感器上积累并且以保持生物流体连续流经所述传感器。

[0024] 所述传感器是用优选地以p-Si底物编码的电极构建,目的是增强所述VEGF分子和改变所述电路的阻抗(电容)的适体之间的亲和力。

[0025] 对这类传感器的需求还通过使用这样的流体电池强化,即该流体电池被配置以使VEGF样品可在所述芯片的活性表面流动。

[0026] 所述装置可以具有并联电容器阵列,其可作为集成的个体反电极发挥作用。所述装置还可以装配有计算装置,目的是使得可随时域传感输出,使得可检测、报告并形成稳态环(homeostatic loop)。

[0027] 所述装置的输出优选地被配置为活性送递机构的一部分,所述送递机构用于测量以及可能的医药剂的治疗介入。

[0028] 所述装置可以提供准确测量且可定量的VEGF分子的体内变化率并且使得可提高对肿瘤标记物的诊断。由于这些信息(VEGF水平和向量趋势(vectorial trend)),所述装置和其辅属电路可改良化学治疗剂和生物学反应调节剂(BRM)的送递系统,用于降低和消除肿瘤负荷的目的。

[0029] 在一个实施方案中,提供了一种不但温和且可逆,而且简单且稳健(robust)的方法,所述方法可以在一次操作中可靠地检测VEGF分子和/或建立用于进行所述方法的相关布置(arrangement)。

[0030] 通过方法步骤的具体适体序列的结合,根据本发明的至少一个实施方案可以实现一个目标。

[0031] 可以包括相关布置,用于执行至少一个实施方案的方法。

[0032] 在至少一个实施方案中,在每个情形下在所述VEGF适体结合于循环系统VEGF后进行测量,在所述时域中计数、保存并报告其电值。

[0033] 在一个具体的进一步改进中,所述至少一个实施方案的方法可有利地利用电化学检测的方法,特别是氧化还原循环结合适体标记物。所述适体捕获分子位于固体载体物质上,优选地在具有绝缘电极的硅芯片上。

[0034] 用于监测和控制所述芯片矩阵阵列位置上VEGF分子的杂交的至少一个装置,以及用于控制液体流速的装置和相关检测装置存在于至少一个实施方案的布置中。为此目的,在至少一个实施方案中,所述传感器芯片可以连接于包括精密泵的微流系统。微流系统的一个实例记载于2008年6月20日提交、题为“Magnetic Breather Pump and Method for

Treating a Brain Tumor Using the Same”的美国专利申请12/143,720中,该专利申请全文通过引用的方式纳入本文。

[0035] 多个实施方案涉及用于多重生物测定的信号放大方法。

[0036] 一般而言,生物靶复合体可由可以催化表面增强底物(例如适体)形成的种子物质加上标签。然后,所述靶复合体可以结合于包括VEGF标记物的捕获剂。然后,通过还原固定的VEGF适体(Macugen)而在所述种子物质上生成所述底物。所述靶信号被哌加他尼(Pegaptanib)(一种适体,聚乙二醇化的改性寡核苷酸)检测,哌加他尼采取能使它结合于细胞外VEGF的三维构象(在体外测试条件下,哌加他尼可结合于主要病理VEGF₁₆₅同种型(isoform))。

[0037] 因此,在一个实施方案中,提供了包括与第一特异性结合成员关联的靶分析物的生物靶复合体。所述靶复合体还包括可结合于所述第一特异性结合成员形成靶复合体的第二特异性结合成员。所述第二特异性结合成员包括适合用于催化表面增强的适体VEGF底物的形成的种子颗粒(seed particle)。随后,所述复合体底物可以借助所述电子电路活化,以提供所必需的阻抗效应变化。这些重要目标和其他重要目标根据如下对本发明的描述将变得清晰。

附图说明

[0038] 附图——其中同样的参考数字在所有各个视图中是指相同或功能相似的元件并且其被纳入说明书中并形成说明书的一部分——进一步对本发明举例说明,并且与具体实施方式一起用于解释本发明的原理。

[0039] 图1是所述装置的正投影截面,图示电子检测模块。

[0040] 图1A图示了本发明的优选实施方案,描绘来自所述电容器阵列的等效电极-电解质节点的一个单元。

[0041] 图2是VEGF检测器的电容布置的等轴视图的截面。

[0042] 图2A是电容VEGF传感器的正投影图的俯视图。

[0043] 图3图形描绘了所述VEGF传感器杂交元件。

[0044] 图3A是所述VEGF检测器的截面俯视图。

[0045] 图3B图形描绘了结合适体位点与其组成元件。

[0046] 图4是生物传感器电容器阵列的横截面,其矩阵阵列设计包括腔罩。

[0047] 图4A图示了描绘所述等效电路的所述电容器矩阵阵列。

[0048] 图5是配置在所述送递装置框图内的VEGF检测器的可能设计。

[0049] 图5A是所述优选实施方案的示意性框图——生物传感器被纳入作为检测、分析和报告系统的一部分。

[0050] 图5B是应用所述生物传感器的优选实施方案时形成的稳态环的示意性框图。

具体实施方式

[0051] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有的含义与本发明所属技术领域普通技术人员通常理解的相同。虽然与本文描述的那些类似或等价的任何方法和材料均可用于实施或测试本发明的主题,但还是将描述所述方法、装置和材料。本文提及

的所有出版物通过引用的方式纳入本文,目的是为了描述并公开所述出版物中报告的可能用于本发明的材料和方法。本文中任何内容都不能被解释为承认本发明由于在先发明而晚于这些公开物。

[0052] 本文使用的“VEGF和抗VEGF适体杂交”,是指VEGF 1与VEGF适体11的杂交过程,经VEGF和所述适体之间的分子识别实现。所述适体在其肝素结合结构域(HBD)而不是更为人所知的受体结合结构域处特异性结合于所述VEGF₁₆₅同种型,同时大部分结合能由HBD贡献(3kcal/mole或总体的23%)。VEGF的肝素结合结构域与任何已知蛋白均无显著的序列或结构相似性,因此代表一种新型的肝素结合结构域。大多数荷正电的氨基酸侧链位于羧基末端亚结构域的一个侧链上,或者位于氨基末端亚结构域中的邻近无序环上。所观察到的表面电荷分布表明这些残基组成了肝素相互作用位点。HBD不但在体外而且在体内都是VEGF₁₆₅-适体复合体中亲和性和特异性的主要决定因素。

[0053] 本文使用的“表面修饰”,是指Y.Han et al.,2005描述的过程,Y.Han et al.,2005描述了准备SiO₂表面14,为将其在室温下以MeOH/HCl(1/1)清洁30分钟,以超纯水(Milli-Q Gradient A10 18.2 M Ω)冲洗,并以氩气干燥。在下一步骤中,通过以3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES)的硅烷化步骤或者在气相中将所述表面以NH₂基团修饰。为了进行气相硅烷化,将所述芯片置于包含几滴甲硅烷的干燥器中。将所述干燥器密封并加热到100 $^{\circ}$ C以上,使所述芯片在低压(约1mbar)下与甲硅烷蒸气反应1-2小时。该技术应用生物相容的支架以提供可行的替代物,形成用于粘附的假体材料。使用经自组装的肽两亲化合物纳米纤维涂敷的支架来生长连接体12是有利的,由于其具有大的表面积(所述大的表面积使得可以存在大量位点用于琥珀酸酐12)、粘附和生长(琥珀酸酐也称为二氢-2,5-呋喃二酮,是分子式为C₄H₄O₃的有机化合物)。所述涂层的纤维性质使得连接体12可以通过扩散穿透所述表面,并且所述基质具有足够的表面积并暴露于连接体12。连接体12还与氨基-硅烷化13结合(将石英或玻璃晶圆(SiO₂ 14)的表面以不同的氨基硅烷溶液处理,其中表面密度随反应时间流逝而快速增大并产生所述多层)。氨基-硅烷化13,支架提供可行的替代物,形成用于粘附于所述SiO₂绝缘体表面14的假体材料。

[0054] 本文使用的“适体固定”,是指H.S.Lee等人详细说明的过程,H.S.Lee等人描述了固定,借此抗VEGF RNA适体Macugen(650 μ g/管;3管)溶解于磷酸盐缓冲液(PB,200mM,pH 8)中,以制备浓度为20mM的适体溶液。将每个管在室温下孵育4小时。之后,加入适体溶液(500 μ L)并将其在pH 7.5和室温下孵育。将所产生的底物以磷酸盐缓冲液(PBS)和水以惯序方式洗涤。最后,将所述底物空气干燥,通过原子力显微镜(AFM)分析所述固定,表明由于固定抗VEGF适体使得表面厚度平均增加约3nm。

[0055] 使用单链核酸(适体)作为蛋白结合的亲和分子的概念,最初记载在1990年(Ellington and Szostak 1990,1992;Tuerk and Gold 1990),并且是基于短序列在存在靶的情况下折叠成独特三维结构的能力,所述三维结构以高亲和性和特异性结合所述靶。E.W.M Ng et al.,2006描述了适体是选择用于高亲和性结合于分子靶的寡核苷酸配体。例如,哌加他尼钠(Macugen;Eyetechnopharmaceuticals/Pfizer)是抗血管内皮生长因子(VEGF)-165的RNA适体,该VEGF同种型主要负责病理性眼部新血管形成和血管渗透性。由于哌加他尼钠对VEGF分子1的结合亲和性而使用它,哌加他尼钠是长28个核苷酸的且末端为五氨基连接体的寡核苷酸的共价缀合物,两个20kda单甲氧基聚乙二醇(PEG)单元经赖氨酸

残基上的两个氨基共价连接于所述五氨基连接体。将固定的适体复合体用于检测循环系统 VEGF₁₆₅ 同种型 1。

[0056] 本文使用的“制造硅绝缘体表面”，是指由 HS Lee et al., 2008 详述的过程，HS Lee et al., 2008 描述了被沉积以形成绝缘罩 17 内部交错电极阵列 103 的 Au 层 (100 μm)。用于 p 型掺杂的硅晶体 15 在 Au 导体表面 16 上生长，在 50 Torr 气压下和 530°C 下以 SiH₄ 前体的恒流。在该过程中，在 SiH₄:B₂H₆ 的相对压力比为 10:1 × 10⁻³ 下，硅晶体与作为 p 型掺杂剂的 B₂H₆ 原位掺杂。当所述 p 型底物 15 达到 1 μm 时，SiH₄ 流继续但 B₂H₆ 停止。在添加的 Si 层达到 10 nm 后，停止 SiH₄ 流；将温度升高至 820°C 并将气室向大气压开放，使得在干燥气氛中氧化以形成 SiO₂ 绝缘层 14。

[0057] 本文使用的“捕获剂”是能够结合靶分析物或靶试剂的分子或化合物，所述捕获剂可以直接或间接地连接于基本上固体的材料。所述捕获剂可以是任何这样的物质，即对于该物质存在天然的靶分析物（例如抗体、多肽、DNA、RNA、细胞、病毒等），或者对于该物质可以制备靶分析物并在测定法中所述捕获剂可以结合于一种或多种靶分析物。

[0058] 本文使用的“靶分析物”，是待使用本发明检测的测试样品中的物质。所述分析物可以是任何这样的物质，即对于该物质存在天然的捕获剂（例如抗体、多肽、DNA、RNA、细胞、病毒等），或者对于该物质可以制备捕获剂并在测定法中所述靶分析物可以结合于一种或多种捕获剂。“靶分析物”还包括任何抗原物质、抗体和它们的结合物。所述靶分析物可以包括蛋白质、肽、氨基酸、碳水化合物、激素、类固醇、维生素、药物（包括用于治疗目的给予的药物以及用于非法目的给予的药物）、细菌、病毒以及任何上述物质的代谢产物或抗体。

[0059] 本文使用的“靶分析物类似物”是指可与分析物捕获剂交叉反应的物质，但它的交叉反应程度比所述靶分析物本身的交叉反应程度大或者小。所述靶分析物类似物可以包括经修饰的靶分析物以及所述靶分析物分子的片段化部分或合成部分，条件是所述靶分析物类似物具有至少一个与目标靶分析物相同的表位位点 (epitomic site)。

[0060] 本文使用的“测试样品”是指包含待使用本发明检测和测定的靶分析物的电解质溶液。所述测试样品除了包含靶分析物外还可以包含其他组分，可以具有液体或气体的物理性质，并且可以是任何大小或体积，包括例如液体的流动流。所述测试样品除了包含所述靶分析物外还可以包含任何物质，条件是这些其他物质不干扰所述靶分析物与所述捕获剂的结合或者所述第一结合成员与所述第二结合成员的特异性结合。测试样品的实例包括但不限于：血清、血浆、痰、精液、尿、其他体液以及环境样品，例如地下水或废水、土壤提取物、空气和农药残留物。

[0061] 本发明人为了分析和测试本发明装置而使用的“方法和试剂”，是基于 HS Lee et al., 2008 文献所提供的信息。如下试剂不经进一步纯化即可用于鉴定所述方法：3-氨丙基二乙氧基硅烷 (APDES)、琥珀酸酐 (SA)、碳酸钠 (SC)、磷酸盐缓冲液 (PBS) 片剂、十二烷基硫酸钠 (SDS)、1-乙基-3-[3-(二甲氨基)丙基]碳二亚胺 (EDC)、N-羟基磺基琥珀酰亚胺 (磺基-NHS)、氢氧化钠 (NaOH)、氯化钠 (NaCl) (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO)。作为检测蛋白的人 VEGF₁₆₅ 购自 Cell Signaling Technology, Inc. (Danvers, MA)。据报道，人 VEGF₁₆₅ 编码 cDNA 被亚克隆至表达载体中并在酵母中表达。据报道，重组人 VEGF₁₆₅ 同二聚体被进一步纯化并保存在包含 0.1% BSA 的磷酸盐缓冲盐水 (PBS, pH 7.4) 中。使用 BIAcore 2000 仪器进行表面等离子共振技术 (SPR)。使用带有 Nanoscope IV 软件的数字 AFM 仪器拍摄原子力显微

镜(AFM)图像。将Tescan扫描电子显微镜(SEM)和纳米图形生成系统(NPGS)用于电子束曝光。

[0062] 本发明使用的“抗VEGF适体的合成”是指使用体外选择方法(SELEX,指数富集的配体系统进化)从合成核酸组合文库分离适体。

[0063] 所述“SELEX”方法是指这样的技术,即通过选择和扩增的反复循环以随机序列筛选非常大的寡核苷酸文库。如H.S Lee et al.,2008中所详述的,以寡核苷酸使用固相亚磷酸酰胺化学合成具有胺末端基团的抗VEGF RNA适体。合成适体的序列是5'-NH₂-AmUmGmCmAmGmUmUmUmGmAmGmAmAmGmUmCmGmCmGmCmAmU-3'。

[0064] “合成的抗VEGF RNA适体的结合亲和性”是指使用表面等离子共振技术(SPR)分析(Kang et al.,2008)来分析两个生物分子之间的相互作用。

[0065] 本发明使用的“抗VEGF RNA适体”是指将抗VEGF RNA适体以大约30nM至500nM的浓度溶解于磷酸盐缓冲液中,然后将其注入至所述传感器芯片上固定的VEGF之上。所述VEGF上对适体的吸收可导致适体-VEGF复合体的形成。

[0066] 本发明使用的“效应传感器几何形状”是指所述生物传感器的物理几何形状G_x以及以最小体积使感测面积最大化的其传感结构的布置。另外,通过所述传感器的流的横断面积必须大于所述流入口和流出口的横断面积,以使得所述传感器的物理几何形状不妨碍整个系统的流特征。由于所述传感器的几何形状所致的电容C_{Geometry}记载于方程1中,使用电介质(ε_r)作为与测试样品中靶分析物浓度相关的变量。

$$C_{\text{Geometry}} = \epsilon_r \epsilon_0 \frac{A}{d} \quad (1)$$

[0068] 其中ε_r是由VEGF分子(杂交后)、体液、抗VEGF适体、琥珀酸酐连接体、氨基杂交物质、SiO₂绝缘体和p-Si底物组成的介质的组合相对电容率(介电常数);ε₀是自由空间的电容率(8.854×10⁻¹²F/m);A是具有宽52和长53的电极板的总面积;d是板之间的间距51。选择A和d的值,使得所述电容变化可以以如下的技术有效地测量,但通过所述传感器单元100的所述体液环流不受限制。由于当VEGF结合时所述表面的厚度是约200nm的事实,所述间距可以小至数微米,而没有由于VEGF杂交限制所述流的风险。然而,因为d_{cap} 51和W_{cap} 52形成的横断面积必须至少与流入口和流出口的横断面积一样大,使得通过所述传感器的其流体流不会限制总体流特征。

[0069] 例如,假设3 French的入口直径,从微流体学角度,通过所述生物传感器的流体流的最小横断面积(d_{cap}×W_{cap})分别是大约100mm×8000mm。方程1中唯一的变量是随VEGF与所述表面分子的杂交而变化的组合介电常数ε_r。为了使小体积中的有效感测面积最大化,将电极板103以交叉指型模式布置。按照上文描述的绝缘体制作过程,一个传感器板的组合厚度是102.02μm(电极、两层p-底物和两层绝缘体的厚度之和)。宽度d(板之间的距离51)为100μm,每对电极所需的总空间是202.02μm。因为1cm²的板面积可提供大约10μF的足够电容,所以,选择A为1cm²,选择W_{cap}(板的宽52)为0.8cm(参见定义中的效应传感器几何形状),这导致所述板的总长为1.25cm或12500μm。L_{cap}(板的长53)选择为625μm,以交叉指型模式布置20个匝或电极对。因此,所述传感器的总内体积是8000μm(D)×725μm(H)×4040.4μm(L)。

[0070] 如图1、1A、2和2A所指出的,所述电化学电池的“测量技术”是基于可变电容器单元的传感原理,在所述电容器单元中所述电极/溶液界面模型110的电介质(ε_r)是可变的。在

该模型中,在抗VEGF适体11上成股的VEGF蛋白1在电极和溶液之间引入另外的绝缘层14,导致所述界面模型的电容性组分的可测量变化。基于电荷的电容测量(CBCM)技术,可以测量所述电极-溶液界面阻抗的电容性组分的该变化。该CBCM技术的测量原理是以合适频率充电和放电所述VEGF电化学电池,从半周期平均电流测量其等效电容,记录在方程2中。

$$[0071] \quad I_{\text{avg}} = -\frac{\Delta Q}{T/2} = -\frac{C\Delta V}{T/2} = -2C\Delta V/f \quad (2)$$

[0072] 其中 ΔV 和 f 为已知, I_{avg} 可测量。该测量技术显示于200中,其由两个单独的电路组成。运算放大器电压跟随器(Op Amp voltage follower)201可增加所述电化学电池的输入阻抗,使得所述电池可以被几乎完美的方波207驱动,所述方波207来自微控制器401的数字输出信号线。选择所述方波的频率(f)为在半周期中完全充电和放电所述电化学电池中电容器的最大频率。充电所述电容器可形成使得需要的分子结合的电荷场,放电所述电容器可释放所述分子。这允许所述装置能够结合和去结合,以便于没有蛋白的持续累积或结合。利用已知电阻器值 R_1 204,200的第二部分将 I_{avg} 208转换成电压值,并利用运算放大器202放大。在运算放大器202的输出处的 V_1 209可以如方程3所示进行计算。

$$[0073] \quad V_1 = -C_{\text{cell}} R_1 \frac{dV_{\text{in}}}{dt} \quad (3)$$

[0074] 运算放大器集成电路203将瞬时电压值209转换成方波210,如方程4中所示。

$$[0075] \quad V_{\text{out}} = -\frac{1}{C_2} \int \frac{V_1}{R_2} dt \quad (4)$$

[0076] 将方程2代入方程3,200的输出作为其输入的函数,可以如方程5计算,形成方程6。

$$[0077] \quad V_{\text{out}} = -\frac{1}{C_2 R_2} \int -C_{\text{cell}} R_1 \frac{dV_{\text{in}}}{dt} dt \quad (5)$$

$$[0078] \quad V_{\text{out}} = \frac{C_{\text{cell}} R_1}{C_2 R_2} V_{\text{in}} \quad (6)$$

[0079] 200的输出电压由ADC 402取样,与 C_{cell} 的值成比例。

[0080] 本发明使用的“稳态控制机制”,是指所述生物传感器的测量变量11被调节。所应用的稳态控制机制的3个组件解释如下。接收器是生物传感器100,其与电容检测器电路200结合,用来监测并产生与杂交靶分析物分子(例如VEGF 1)成比例的输出信号。所述接收器可感测靶分析物的到达并向控制电路发送信息,所述控制电路设定变量保持的区间。所述控制电路是微控制器401,其决定对所述刺激的合适反应。然后,所述控制电路发送信号至效应器(效应器是泵405),以将生物试剂注入至所述系统。所述稳态方法用于实现可限制肿瘤生长而不危及所述肿瘤部位附近的外围组织的稳定平衡状态。如果发生偏离所述平衡的改变,那么所述控制机制通过以正反馈增强之或者以负反馈降低之来校正所述偏差。

[0081] 图1是所述生物传感器装置的正投影横截面,图示了电子检测模块。在一个实施方案中,所述装置和其绝缘罩100装配有流体流入口101和流出口102。电解质溶液3经入口101和出口102流入所述生物传感器,并有可能连接于图5中所描述的泵和阀布置。装置100由形成电容板103的且以捕获剂编码的电极阵列组成。所述电极被设计成交叉指型模式,目的是在小体积中使传感器表面积最大化。装置100与电子模块200交界,所述电子模块200形成电

容检测器电路。检测器电路200包括运算放大器缓冲器201；电流电压放大器202，包括电阻器204；运算放大器集成电路203，包括电阻器205和电容器206。电阻器205和电容器206的值分别与电阻器204和装置100的电容大致匹配，使得输出信号210与输入方波207大致相同。输入方波207的半周期应该显著大于电阻器204和电容100形成的RC常数，使得运算放大器202有足够的时间对方波207导致的急剧转换放电。由于100的电容会随靶分析物到达增加，所以输出信号210的幅度成比例增加。该测量技术背后的详细机制在上文定义部分被进一步详细说明。

[0082] 图1A图示的实施方案描绘了电容器阵列103的等效电路。由参考标记110所标示的电路示意性剖视图被表示为包括电极A和测试样品溶液之间界面的电阻(R_A)105；电极A和测试样品溶液之间的双层电容(C_A)106；传感器本体100中的测试样品溶液的电阻，被称为(R_s)107；电极B/溶液界面的电阻(R_B)108；以及电极B/溶液界面的双层电容(C_B)109。形成生物传感器的电容器阵列110与电容检测器电路200交界。运算放大器缓冲器201可增加检测电路110的输入阻抗，并确保来自输入信号的几乎完美的方波207。与分析物和捕获剂的杂交成比例的电流信号208，由于电路110的阻抗而在其输出处检测。有源放大器202将电流信号208转换成电压信号209，其曲线下面积与所述杂交成比例。

[0083] 图2是VEGF检测器的电容布置的等轴视图的截面。该图描绘了图1和图1A标示的元件，这些元件进一步解释并阐明了等效电子模块110和支配VEGF生物传感器100性能的传感原理之间的关系(内在地描绘了本发明的优选实施方案)。传感器100的功能是通过所述传感器将成股的抗VEGF适体11有效固定在传导电极表面16的能力来最好地定义。所述电解质溶液(电极之间的介质)是体液，例如脑脊液3。电极16由p-Si底物15编码，以增强VEGF 1和抗VEGF适体11之间的亲和性。绝缘层(二氧化硅)14保护荷正电底物15，荷正电底物15经杂交物质(氨基-硅烷化)13结合于连接体(琥珀酸酐)12。然后，所述抗VEGF适体(Macugen)通过与所述连接体结合而被固定。由于固定Macugen造成的表面厚度的总增加是约10nm。当将VEGF蛋白1引入至体液中时，它们结合于以抗VEGF适体编码的电极表面。所述VEGF分子和所述抗VEGF适体的结合可改变所述电极溶液界面的阻抗(主要是其电容)。当所述VEGF分子在其肝素结合结构域与Macugen杂交时，总厚度是约200nm。

[0084] 所述VEGF生物传感器是基于这样的电化学方法，即该方法利用了基于对经生物修饰的电极溶液界面的电容测量值的无标记物检测技术。因此，生物传感器100的总电容可建模为方程2中所示的 C_{cell} 。

$$[0085] \quad C_{cell} = C_{geometry} + C_{electrode/solution} \quad (2)$$

[0086] $C_{geometry}$ 是由于方程1所示的传感器的几何形状所致的电容。 $C_{electrode/solution}$ 是在电化学电池110中两个电极中每一个和所述溶液之间形成的双层电容106和109。该双层电容可以如方程3所示建模。 $C_{electrode/solution}$ 由方程9和10中对于电极A和B的 C_A 和 C_B 表示。

$$[0087] \quad \frac{1}{C_{electrode/solution}} = \frac{1}{C_{insulator}} + \frac{1}{C_{silica}} + \frac{1}{C_{Macugen}} + \frac{1}{C_{protein}} \quad (3)$$

[0088] 当所有Macugen均与VEGF结合时， C_{cell} 的总值是大约10F/cm²的感测表面积，动态区间是大约3μF/cm²。

[0089] 图2A是电容VEGF传感器的正投影图的俯视图，在此所述电容器板被标识为它们各

自有效的几何术语 G_x 300。选择A和d的值,使得可以以如下技术有效地测量电容变化。如图2中所述,通过假设所述体液无限制循环流过传感器单元100并通过设置所述静态流速为恒定值,限定用于选择尺寸 $51[(d_{cap})$,在计算所述电容值中所述传感器板之间的距离]和 $52[(W_{cap})$,用于计算所述电容值的所述传感器板的宽]的边界条件。

[0090] 图3图示描绘了VEGF₁₆₅同二聚体1和传感器元件之间的杂交。所述传感器元件由通过连接于连接体12而固定的抗VEGF适体11组成。所述连接体是琥珀酸酐,也称为二氢-2,5-呋喃二酮,是分子式为 $C_4H_4O_3$ 的有机化合物。连接体12接着连接于氨基-硅烷化13,氨基-硅烷化13将整个所述生物靶复合体结合于绝缘体表面14。绝缘体表面14下的荷正电p-底物15可吸引所述荷负电VEGF分子向下到达它们结合适体11的表面。导电电极16提供所述电化学电池和其余控制系统之间的接口。

[0091] 图3A是VEGF检测器的截面俯视图,提供作为几何形状 G_x 300的一个可能构型,从而可在形成生物传感器100时使用其他几何设计。

[0092] 图3B图形描绘了结合适体位点与其组成元件。该图描绘了作为最有效且广泛表达的同种型并且作为具有两个相同肝素结合位点的经二硫键连接的同二聚体分泌的VEGF₁₆₅同二聚体1,可在其肝素结合结构域2与抗VEGF适体(Macugen)11杂交。连接体12例如琥珀酸酐,可用于产生配体与含胺聚合体和/或蛋白的缀合物,特别是用于与螯合剂、药物、酶、可检测标记物等形成抗体缀合物。所述连接体可用作氨基-硅烷化13和 SiO_2 绝缘表面14之间的支架。

[0093] 图4是作为具有其矩阵阵列103的电容器形成的生物传感器100的横截面视图,矩阵阵列设计包括腔罩17。所述生物传感器包含以形成电容板103的VEGF传感器编码的电极阵列,目的是通过提供在所述生物芯片罩17的参数内的最大表面面积而使得对所述电路的电容变化的响应最大化。该图还描述了,流体流入口101和流出口102、电接口16,并且绝缘罩17被描述为本发明的装置的参数。

[0094] 图4A显示VEGF生物传感器100的等效电路110,以及所述电路可以怎样分解以模拟所述电容器矩阵阵列中的每对电容板103。每对电容板103可与所述溶液形成电极-电解质界面,所述界面可以以等效电路120表示。因为所述溶液介质是动态的,所以每对板的电路在所述电极/溶液界面处短路。因此,整个传感器110的等效电路可绘制为每对板的组合电路,每对板与其相邻的对是电并联的。方程9-13使得110的参数可以来自每对板120的参数。

$$[0095] \quad C_A = C_{A1} | C_{A2} | \dots | C_{An} = \sum_n C_{An} \quad (9)$$

$$[0096] \quad C_B = C_{B1} | C_{B2} | \dots | C_{Bn} = \sum_n C_{Bn} \quad (10)$$

$$[0097] \quad R_A = R_{A1} | R_{A2} | \dots | R_{An} = \frac{1}{\sum_n \frac{1}{R_{An}}} \quad (11)$$

$$[0098] \quad R_B = R_{B1} | R_{B2} | \dots | R_{Bn} = \frac{1}{\sum_n \frac{1}{R_{Bn}}} \quad (12)$$

$$[0099] \quad R_s = R_1 | R_2 | \dots | R_n = \frac{1}{\sum \frac{1}{R_i}} \quad (13)$$

[0100] 图5是包括VEGF生物传感器100的送递装置800的可能设计的框图。该图显示了VEGF生物传感器100沿导管管道104与其他生理传感器(包括压力传感器406、pH传感器407和SpO₂ 408)串联。压电泵404将来自肿瘤部位600的脑脊液循环通过所述传感器的系列。来自所述传感器的数据是通过TI-ADS8344数模转换器402获取,用于由TI-MSP430微控制器401处理,TI-MSP430微控制器401控制经泵组405对来自容器500的抗癌药物的送递。MICS收发器使得植入的送递装置800经MICS基站702与医师计算机701通信。

[0101] 图5A描述了送递装置800的可能设计中的数据流和控制机制。对在肿瘤部位600处血管发生可用的VEGF 1量的调节是通过循环泵404完成,所述循环泵404可控制流体流404.2,从肿瘤部位404.1带出测试样品,并送递注入的抗癌药物404.4。另外的泵组405可调节来自容器500的抗癌药物404.3的注入。从所述肿瘤部位带回的测试样品被循环通过一系列的传感器,以获得与肿瘤生长以及抗癌药物治疗进展相关的信息。所述传感器(例如压力传感器406、pH传感器407、SpO₂ 408和VEGF生物传感器100)将物理和生物信息转换成电信号402.1、402.2、402.3和402.4。所述信号被ADC 402转换成数据数字401.1,用于被微控制器401处理。通过将控制信号401.3发送至泵404和405,导致抗癌药物404.3的注入,微控制器401关闭所述稳态环(在图5B中描述)的反馈通路。注入方案在所述微控制器内的所述“查找表”或模型中编程,并且可以经通信链路(例如Zarlink-70101医学植入物通信服务(MICS)收发器403)来升级401.5。所述MICS收发器还可以用于将403.1、传感器数据和装置状态无线传输至医师计算机701,用于实时监测和数据记录701.1。

[0102] 图5B是由本发明的实施方案形成的稳态环801的正投影图。所述稳态方法被用于实现限制肿瘤生长而又不危及所述肿瘤部位附近的外围组织的稳定平衡状态。所述稳态方法在微控制器401内部编程,输入来自传感器,例如VEGF生物传感器100、压力406、pH 407和SpO₂ 408。提取有关肿瘤生长(例如生长因子、颅内压、组织状态和代谢率)的信息,以基于所述“查找表”中的参数确定治疗的进展。所述传感器信息还可用于计算使所述系统适于实现所需参数的内部状态。所述“查找表”产生致动参数,以控制影响肿瘤部位600中状态的泵。在一个实施方案中,所述查找表由医师或护理者制备。在一个实施方案中,所述查找表是使用经验数据从患者断面产生。所述内部状态可以基于医师经无线收发器403的外部输入更新。

[0103] 应理解,给出所述示例性实施方案的目的仅在于示例,不应将其认为是对由以下权利要求限定的发明作出限制。例如,尽管一项权利要求的要素是在下文中以某一组合方式给出,但是必须要清楚地理解,本发明包括更少的、更多的或者不同的要素——这些要素已在上文被公开——的其他组合,即便最初并未以这样的组合形式要求保护。两个要素以要求保护的组合形式组合起来的这一教导还应该被理解为同时也考虑到两个要素并没有彼此组合、而是可单独使用或者以其他组合方式组合的要求保护的组合。本发明的任何公开要素的删减明确被认为在本发明的范围内。

[0104] 在本说明书中用来描述本发明及其各个实施方案的词不仅应理解为其通常定义,还应理解为包括通过本说明书中的具体定义所限定的超出通常定义范围之外的结构、材料

或者作用。因此,如果某一元件依据说明书的上下文可被理解为包括一种以上的含义,那么其在权利要求中的使用必须被理解为是得到说明书和该词自身支持的所有可能含义的上位含义。

[0105] 因此,以下权利要求书的词或者要素的定义在本说明书中被定义为不仅包括字面上给出的要素组合,还包括以基本相同方式执行基本相同功能从而获得基本相同结果的全部等效结构、材料或者作用。因此,在此层面上,应理解,可使用两个或更多个要素对下面的权利要求书中的任何一个要素进行等效替代,或者使用单个要素替代某项权利要求中的两个或更多个要素。尽管要素在上文中描述为某些组合形式的作用,乃至被描述为最初以相同形式要求得到保护,但是应明确地理解,要求保护组合的一个或者多个要素在某些情况下可自组合中删减,并且要求保护组合可涉及子组合或子组合的变化方案。

[0106] 由本领域普通技术人员所见的与要求保护主题之间的略微差异(现已知或随后设计)明确地被认为在权利要求的范围内是等同的。因此,现已为本领域普通技术人员所知或随后为其所知的明显替代方案被定义为在所限定要素的范围内。

[0107] 因此,权利要求应被理解为包括上文专门示例和描述的内容、概念上等同的内容、可被明显替代的内容以及基本纳入本发明基本理念的内容。

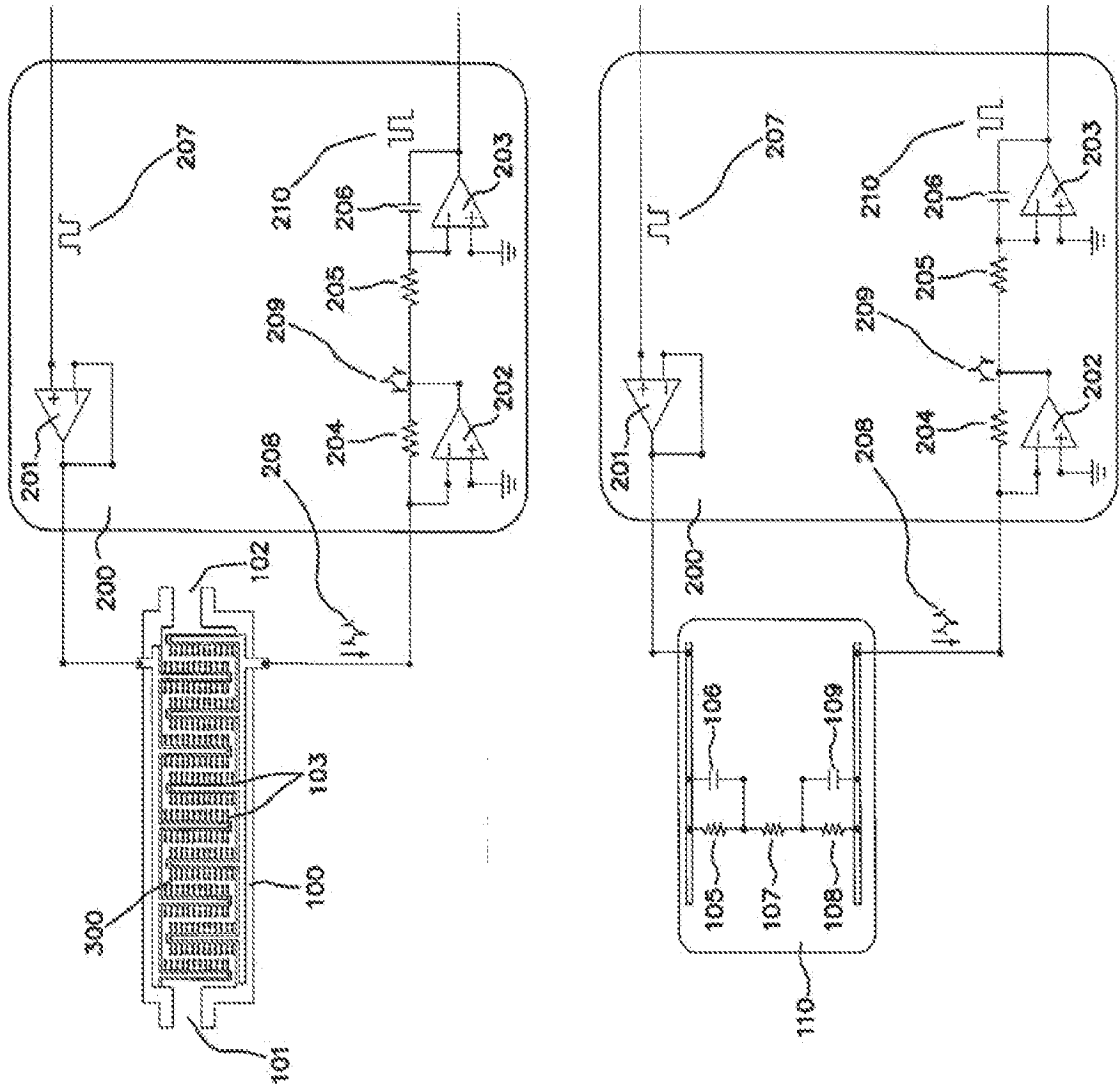


图1

图1A

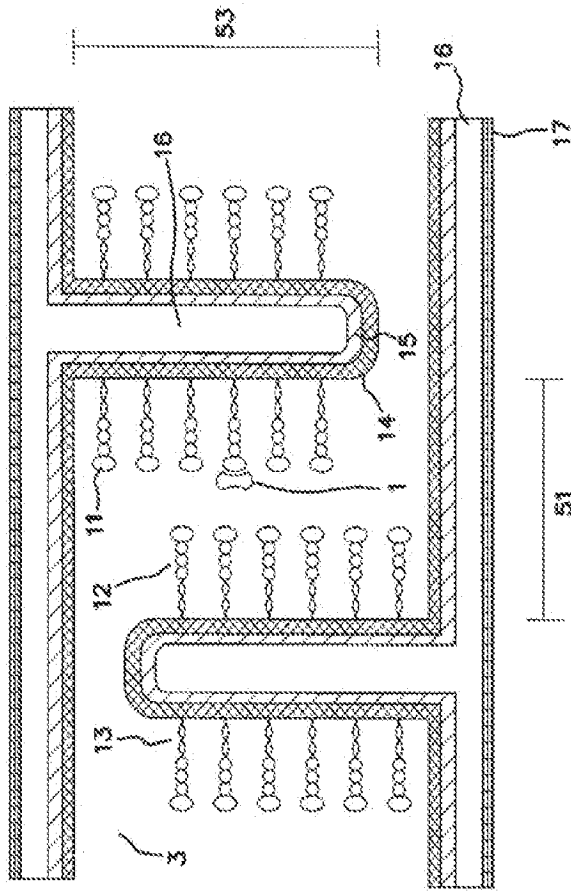


图2

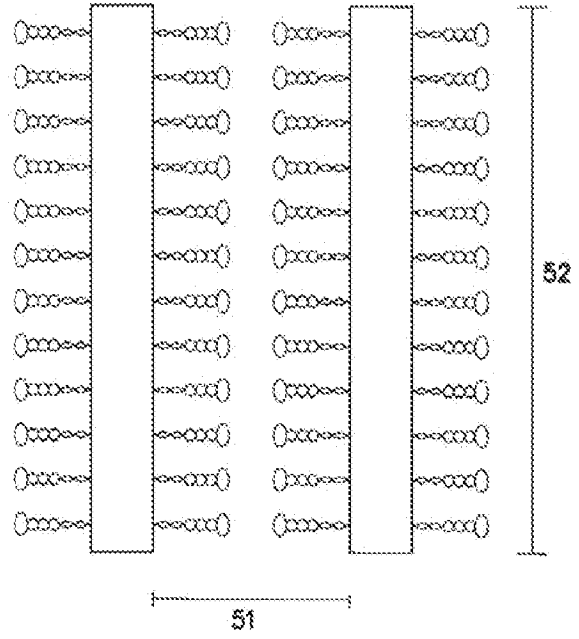


图2A

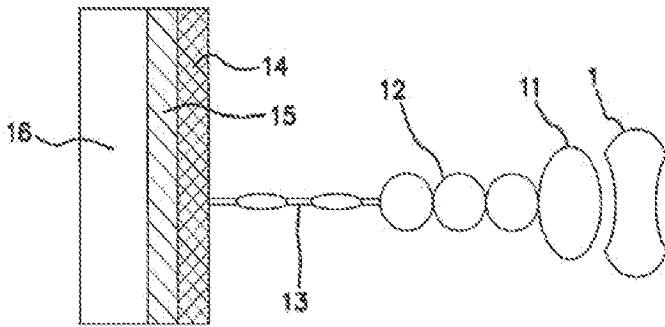


图3

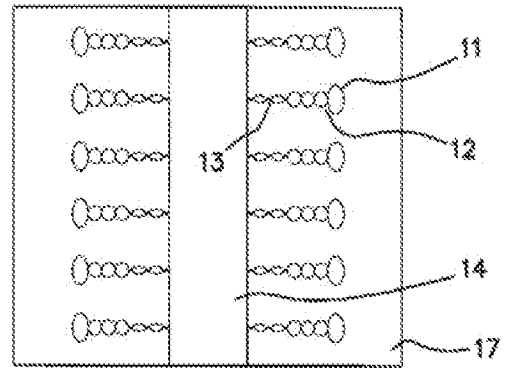


图3A

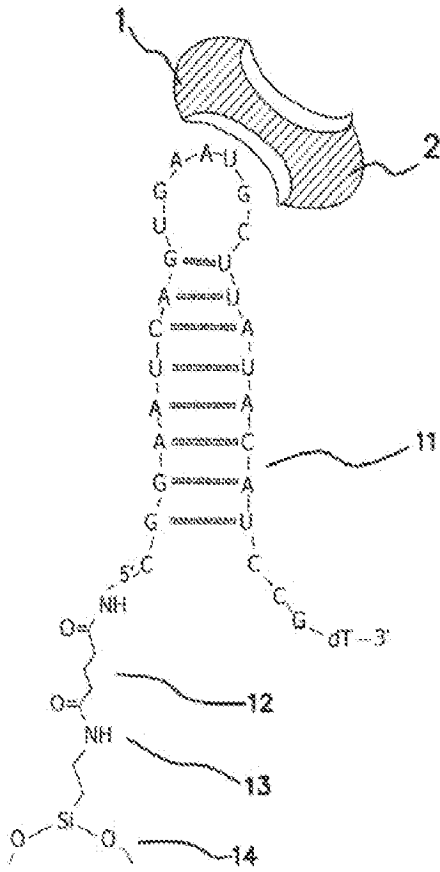


图3B

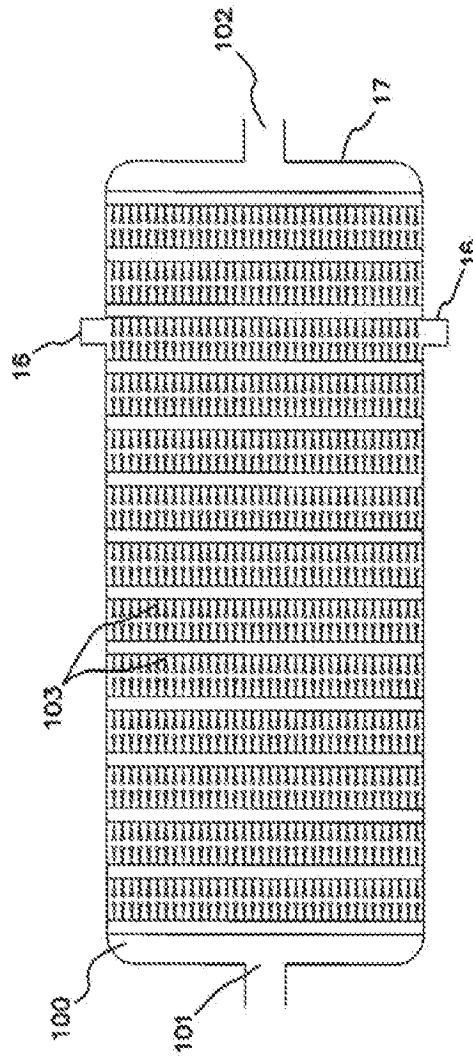


图4

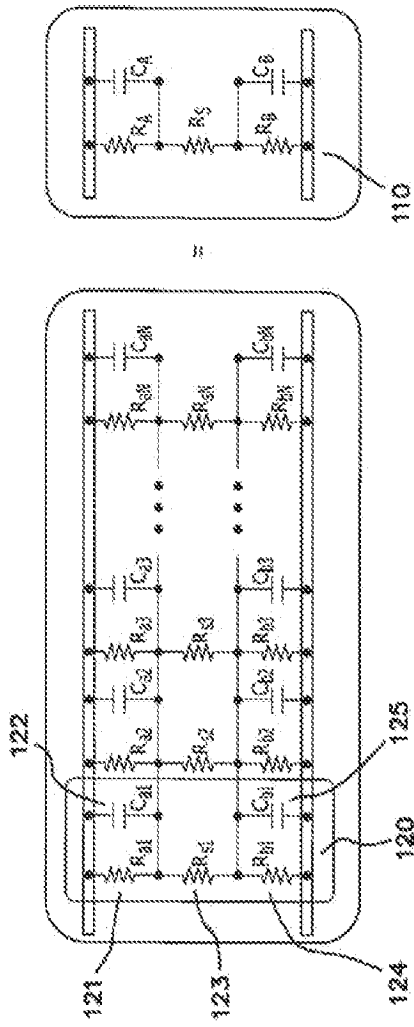


图4A

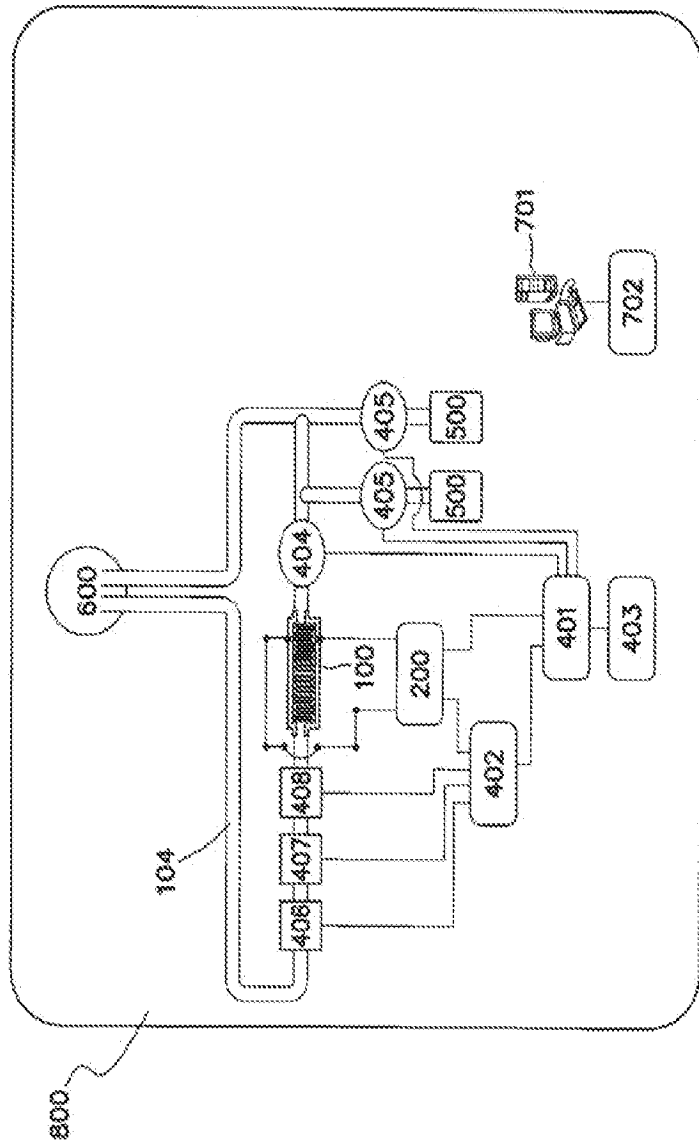


图5

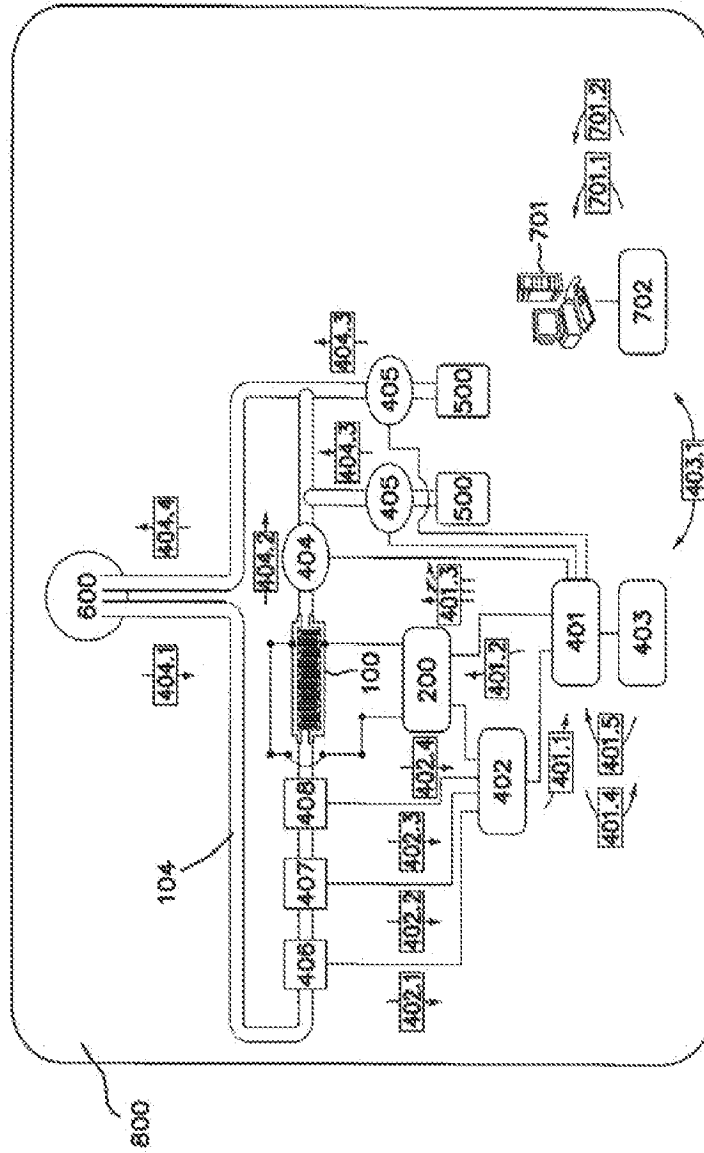


图5A

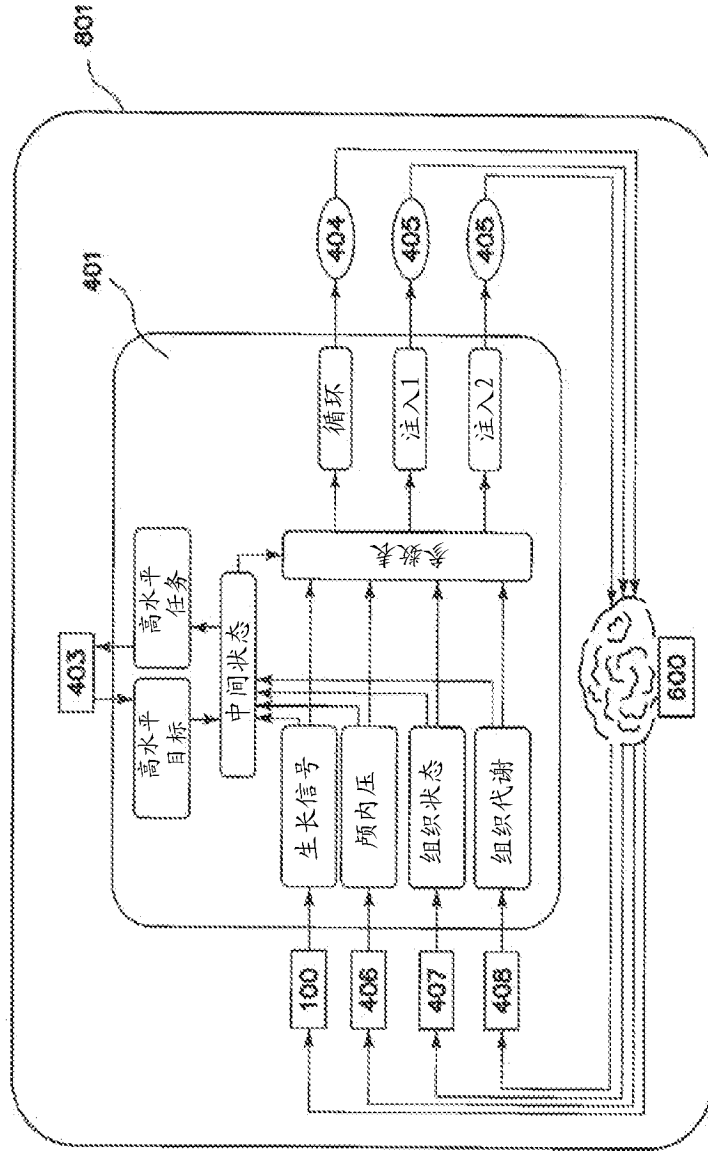


图5B