



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108474691 A

(43)申请公布日 2018.08.31

(21)申请号 201680079085.4

(22)申请日 2016.11.16

(30)优先权数据

62/255,804 2015.11.16 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.07.16

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/062361 2016.11.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/087574 EN 2017.05.26

(71)申请人 开米美景公司

地址 美国宾夕法尼亚州

(72)发明人 P·川度 S·斯图尔特

A·史密斯 H·戈默

(74)专利代理机构 北京嘉和天工知识产权代理
事务所(普通合伙) 11269

代理人 甘玲 缪策

(51)Int.Cl.

G01J 3/44(2006.01)

A61B 6/00(2006.01)

G01N 21/17(2006.01)

G01N 21/65(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书4页 说明书11页 附图10页

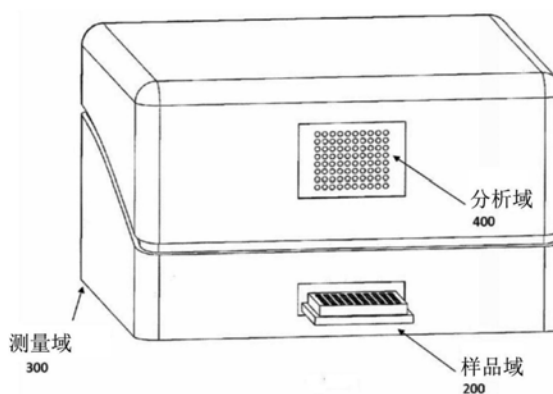
(54)发明名称

基于拉曼的免疫测定系统和方法

(57)摘要

本公开针对用于将拉曼数据与生物标志物数据融合以识别疾病和/或疾病进展的系统和方法。本文公开的系统可以包含用于从生物样品生成相互作用的光子的照射源和用于检测所述相互作用的光子以生成拉曼数据集的检测器。处理器被包含以将拉曼数据集与生物标志物数据集融合以识别疾病和/或疾病进展。本公开还包含方法,所述方法包括照射生物样品以生成相互作用的光子,并且检测所述相互作用的光子以生成拉曼数据集。从生物样品获得生物标志物数据集,并且将拉曼数据集与生物标志物数据集融合以生成指标分值。指标分值与疾病和疾病进展中的一个或更多个相关联。

100



1. 一种系统,所述系统包括:
照射源,所述照射源被配置为照射生物样品并且生成多个相互作用的光子;
检测器,所述检测器被配置为检测所述多个相互作用的光子并且生成至少一个拉曼数据集;以及
处理器,所述处理器被配置为将所述至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合以识别疾病和疾病状态中的一个或更多个。
2. 如权利要求1所述的系统,所述系统还包括:
光纤阵列光谱转换器装置,所述光纤阵列光谱转换器装置被配置为接收所述多个相互作用的光子并且生成光输出,所述光纤阵列光谱转换器具有第一端和第二端,所述第一端包括二维的多个光导纤维,所述第二端包括所述多个光导纤维的一维堆叠;以及
分光计,所述分光计光学地耦接至所述一维堆叠并且被配置为将所述光输出过滤成多个波长。
3. 如权利要求1所述的系统,其中所述照射源包括激光。
4. 如权利要求1所述的系统,其中所述照射源包括785nm的激光。
5. 如权利要求1所述的系统,所述系统还包括多壁板,所述多壁板被配置为保持多个生物样品。
6. 如权利要求1所述的系统,其中所述生物样品包含血液、血清、组织、血浆、尿液、精液、粪便和阴道溢液中的一种或更多种。
7. 如权利要求1所述的系统,其中所述生物样品包含干血。
8. 如权利要求1所述的系统,其中所述至少一个生物标志物数据集包含炎症应答和免疫应答中的一个或更多个。
9. 如权利要求1所述的系统,其中所述至少一个生物标志物数据集包含蛋白质的测量结果。
10. 如权利要求1所述的系统,其中所述至少一个生物标志物数据集包含前列腺特异抗原和癌胚抗原中的一个或更多个的测量结果。
11. 如权利要求1所述的系统,其中所述检测器包括CCD检测器、ICCD检测器、CMOS检测器、PMT、Si雪崩光电二极管、InGaAs检测器、InSb检测器和MCT检测器中的一种或更多种。
12. 如权利要求1所述的系统,其中所述拉曼数据集包括拉曼光谱和拉曼分子图像中的一种或更多种。
13. 如权利要求1所述的系统,其中所述处理器被配置为通过应用算法技术将所述至少一个拉曼数据集与所述至少一个生物标志物数据集融合,所述算法技术包含逻辑回归、偏最小二乘判别分析和图像加权贝叶斯融合算法中的一种或更多种。
14. 如权利要求1所述的系统,其中所述疾病包含癌症、自身免疫紊乱和神经退行性疾病中的一种或更多种。
15. 如权利要求1所述的系统,其中所述至少一个生物标志物数据集包含多个生物标志物的测量结果。
16. 一种方法,所述方法包括:
照射生物样品以生成多个相互作用的光子;
检测所述多个相互作用的光子以生成至少一个拉曼数据集;

从所述生物样品获得至少一个生物标志物数据集;以及

将所述至少一个拉曼数据集与所述至少一个生物标志物数据集融合以生成指标分值。

17. 如权利要求16所述的方法,其中所述指标分值定义疾病和疾病状态中的一个或多个。

18. 如权利要求16所述的方法,其中所述疾病是癌症。

19. 如权利要求16所述的方法,所述方法还包括使所述多个相互作用的光子通过光纤阵列光谱转换器。

20. 如权利要求16所述的方法,其中照射生物样品的操作包含用激光照射。

21. 如权利要求20所述的方法,其中所述激光具有约785nm的波长。

22. 如权利要求16所述的方法,其中检测所述多个相互作用的光子的操作包括用CCD检测器、ICCD检测器、CMOS检测器、PMT、Si雪崩光电二极管、InGaAs检测器、InSb检测器和MCT检测器中的一种或更多种检测。

23. 如权利要求16所述的方法,其中所述至少一个拉曼数据集包括拉曼光谱和拉曼图像中的一种或更多种。

24. 如权利要求16所述的方法,其中所述至少一个生物标志物数据集包括癌症生物标志物的测量结果。

25. 如权利要求24所述的方法,其中所述癌症生物标志物包含前列腺特异抗原和癌胚抗原中的一个或多个。

26. 如权利要求16所述的方法,其中将所述至少一个拉曼数据集与所述至少一个生物标志物数据集融合的操作包含应用算法技术,所述算法技术包含逻辑回归、偏最小二乘判别分析和图像加权贝叶斯融合算法中的一种或更多种。

27. 如权利要求16所述的方法,其中获得至少一个生物标志物数据集的操作包括从多个生物标志物获得生物标志物数据的测量结果。

28. 一种系统,所述系统包括:

照射源,所述照射源被配置为照射生物样品并且生成多个相互作用的光子;

光纤阵列光谱转换器装置,所述光纤阵列光谱转换器装置被配置为接收所述多个相互作用的光子并且生成光输出,所述光纤阵列光谱转换器具有第一端和第二端,所述第一端包括二维的多个光导纤维,所述第二端包括所述多个光导纤维的一维堆叠;

分光计,所述分光计光学地耦接至所述一维堆叠并且被配置为将所述光输出过滤成多个波长;

检测器,所述检测器被配置为检测所述光输出并且生成至少一个拉曼数据集;以及

处理器,所述处理器被配置为将所述至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合以识别疾病和疾病状态中的一个或多个。

29. 如权利要求28所述的系统,所述系统还包括多壁板,所述多壁板被配置位保持多个生物样品。

30. 如权利要求28所述的系统,其中所述生物样品包含干血。

31. 如权利要求28所述的系统,其中所述至少一个生物标志物数据集包含炎症应答和免疫应答中的一个或多个的测量结果。

32. 如权利要求28所述的系统,其中所述至少一个生物标志物数据集包含蛋白质的测

量结果。

33. 如权利要求28所述的系统,其中所述至少一个生物标志物数据集包含前列腺特异抗原和癌胚抗原中的一个或更多个的测量结果。

34. 如权利要求28所述的系统,其中所述检测器包括CCD检测器、ICCD检测器、CMOS检测器、PMT、Si雪崩光电二极管、InGaAs检测器、InSb检测器和MCT检测器中的一种或更多种。

35. 如权利要求28所述的系统,其中所述拉曼数据集包括拉曼光谱和拉曼图像中的一种或更多种。

36. 如权利要求28所述的系统,其中所述处理器被配置为通过应用算法技术将所述至少一个拉曼数据集与所述至少一个生物标志物数据集融合,所述算法技术包含逻辑回归、偏最小二乘判别分析和图像加权贝叶斯融合算法中的一种或更多种。

37. 如权利要求28所述的系统,其中所述疾病包含癌症。

38. 如权利要求28所述的系统,其中所述疾病选自由前列腺癌和结肠直肠癌组成的组。

39. 一种方法,所述方法包括:

照射生物样品以生成多个相互作用的光子;

使所述多个相互作用的光子通过光纤阵列光谱转换器以生成光输出;

检测所述光输出以生成至少一个拉曼数据集;

从所述生物样品获得至少一个生物标志物数据集;

将所述至少一个拉曼数据集与所述至少一个生物标志物数据集融合以生成指标分值。

40. 如权利要求39所述的方法,其中所述指标分值限定疾病、紊乱、疾病进展和紊乱进展中的一个或更多个。

41. 如权利要求39所述的方法,其中所述疾病是癌症。

42. 如权利要求39所述的方法,其中照射生物样品的操作包含用激光照射。

43. 如权利要求39所述的方法,其中所述激光具有约785nm的波长。

44. 如权利要求39所述的方法,其中检测所述光输出的操作包括用CCD检测器、ICCD检测器、CMOS检测器、PMT、Si雪崩光电二极管、InGaAs检测器、InSb检测器和MCT检测器中的一种或更多种检测。

45. 如权利要求39所述的方法,其中所述至少一个拉曼数据集包括拉曼光谱和拉曼分子图像中的一种或更多种。

46. 如权利要求39所述的方法,其中所述至少一个生物标志物数据集包括癌症生物标志物的测量结果。

47. 如权利要求46所述的方法,其中所述癌症生物标志物包含前列腺特异抗原和癌胚抗原中的一个或更多个。

48. 如权利要求39所述的方法,其中将所述至少一个拉曼数据集与所述至少一个生物标志物数据集融合的操作包含应用算法技术,所述算法技术包含逻辑回归、偏最小二乘判别分析和图像加权贝叶斯融合算法中的一种或更多种。

49. 如权利要求39所述的方法,其中获得至少一个生物标志物数据集的操作包括从多个生物标志物获得生物标志物数据的测量结果。

50. 一种非暂时性存储介质,所述非暂时性存储介质含有机器可读程序代码,当所述机器可读程序代码通过处理器被执行时,使所述处理器进行以下操作:

使照射源照射生物样品以产生多个相互作用的光子；
使光纤阵列光谱转换器收集所述多个相互作用的光子并且生成光输出；
使检测器检测所述光输出并且生成至少一个拉曼数据集；以及
将所述至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合并且生成指标分值，其中所述指标分值表明疾病、紊乱、疾病进展和紊乱进展中的一个或多个。

51. 一种系统，所述系统包括：

拉曼成像子系统，所述拉曼成像子系统包含：

照射源，所述照射源被配置为照射生物样品并且生成多个相互作用的光子；以及
检测器，所述检测器被配置为检测所述多个相互作用的光子并且生成至少一个拉曼数据集；

免疫测定子系统，所述免疫测定子系统包含：

对应于感兴趣的生物标志物的至少一个抗体对；以及
第二抗体，所述第二抗体包含被配置为生成具有强度的颜色的基于颜色的报告分子成分；以及

处理器，所述处理器被配置为将颜色强度转换成生物标志物指标值并且将所述至少一个拉曼数据集与所述生物标志物数据指标值融合以生成拉曼免疫测定指标值。

基于拉曼的免疫测定系统和方法

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求提交于2015年11月16日、标题为“基于拉曼的测定”的美国临时申请序列号62/255,804的优先权和权益,其通过引用被整体并入本文。

[0003] 背景

[0004] 癌症不仅在死亡率和发病率方面是显著的,而且在治疗晚期癌症的费用和晚期癌症患者的降低的生产力和生活质量方面也是显著的。尽管癌症的普遍概念为不能治愈的疾病,但如果及时施用医学干预,则许多癌症可以被缓和、减缓或甚至治愈。

[0005] 癌症由各种机制引起,并非全部机制都被理解。癌症(当它们以实体肿块(solid mass)的形式出现时称为肿瘤)特征性地表现失控的细胞生长和/或增殖。癌细胞相对于细胞类型(癌细胞从所述细胞类型产生)往往表现其他特征性差异,所述特征性差异包含细胞表面蛋白、分泌蛋白、核蛋白和/或胞质蛋白的改变的表达、改变的抗原性、改变的脂质被膜(即,细胞膜)组成、改变的核酸生成、改变的形态以及其他差异。通常,通过观察肿瘤形成或通过观察这些特征性差异中的一个或更多个诊断癌症。因为癌症由正常组织的细胞产生,因此癌细胞最初可以与原始正常组织的细胞非常相似,往往使癌细胞的检测变得困难,直至癌症已经进展到癌细胞与相应的原始正常细胞之间的差异更显著的阶段。某些类型的癌症可以在它们易于检测之前发展到相对难以治疗的阶段。

[0006] 癌症的早期确定性检测和分类对于成功治疗往往是至关重要的。在许多癌症的诊断中包含确定癌症的类型和等级及其进展的阶段。此信息可以告知治疗选择,允许对相对早期阶段的、不扩散或缓慢扩散的癌症使用较温和的治疗(即,具有较少的不期望的副作用),以及对患者的健康构成较大风险的癌症的较侵袭性的治疗(即,具有较多不期望的副作用和/或较低的治疗指数)。

[0007] 当怀疑癌症时,医师将通常把肿瘤或一部分异常组织去除或活组织检查并且送往进行组织病理学分析。通常,准备样本所花费的时间大约为一天或更多。将来自病理学家的结果传达至医师和患者可以进一步减缓癌症的诊断以及任何指示治疗的开始。在样品收集与诊断之间的时期内,患者焦虑可能剧增。

[0008] 免疫测定发展的进步已经导致对疾病状态的大量生物标志物的识别。虽然一些生物标志物具有有限作用的临床意义,但是存在一些实例,其中单个生物标志物足以诊断特定的疾病状态(如HIV-1)。特异性的生物标志物包含癌胚抗原(CEA)和前列腺特异抗原(PSA)。遗憾的是,许多复杂的疾病需要多个生物标志物以产生有用的临床信息,并且最近的研究已经表明单个生物标志物的分析在疾病的检测和进展中可能是不充分的。

[0009] 结肠直肠癌(CRC)是一种缓慢发展的疾病,结肠直肠癌通常开始于结肠或直肠的衬里上的良性异常生长。未经治疗的生长可以导致恶性肿瘤以及将异常生物标志物释放到血液中。这些生物标志物可以在血液中检测到,并且可以用作液体活组织检查工具以非侵入性地筛查和诊断患者。CRC是发达国家中第三大常见癌症,仅在美国就有每年预测超过134000例新病例和49000例死亡。该疾病影响男性和女性两者,并且是癌症死亡率的第三个主要原因。CRC存活率与检测时的进展阶段直接相关。当在早期被检测到时,五年存活率大

于95%，但是晚期发现的存活率约为5%。美国国家癌症研究所估计，5%的美国人在其生命期内将被诊断患有CRC。虽然结肠镜检查仍然是推荐的筛查程序，但是存在并发症的风险，所述并发症包含肠撕裂和出血，所述风险在息肉摘除期间升高。

[0010] 在美国，CRC护理的费用取决于检测CRC的阶段，其中早期阶段治疗是最具成本效益的。然而，与侵入性结肠镜检查 and 粪便收集相关的成本、风险和不适造成CRC筛查的低参与度。CRC治疗是一个全球性的问题，并且疾病及其进展的可靠的、非侵入性的检测器将成为医学界的财富。

[0011] 非侵入性早期检测的另一重要方面涉及前列腺癌。目前，每19分钟就有一名男性死于前列腺癌。前列腺腺癌是男性中最常见的非皮肤癌，并且是男性中死于癌症的第二主要原因。尽管前列腺癌是男性中癌症死亡的主要原因，但是该疾病的高患病率表明患有前列腺癌的大多数男性不会死于该疾病。临床挑战是将患有侵袭性疾病的那些患者与患有进展较缓慢的种类的疾病的那些患者区分，即准确地表征癌症造成的风险。目前无法表征该疾病已经导致在某些情况下不必要的侵袭性治疗。因此，迫切需要改进疾病的存在和进展的预测以增强治疗决策制定。PSA是前列腺癌的敏感的血清标志物。然而，PSA已经被证明具有差的特异性，导致前列腺癌的过度诊断。

[0012] 因此，存在对缩短分析生物样品所需的时间，以便以高特异性识别癌症及其进展的公认的需求。此外，为了最小化侵入性外科手术和不必要的医学治疗，使用体液代替传统的组织/细胞样品将是有益的。

[0013] 概述

[0014] 本公开涉及用于组合来自生物样品的拉曼数据与生物标志物数据以识别紊乱或疾病和/或紊乱或疾病的进展的系统和方法。在一个实施方案中，系统可以包含照射源，所述照射源被配置以照射生物样品并且生成多个相互作用的光子。检测器被配置以检测多个相互作用的光子并且生成至少一个拉曼数据集。处理器可以被配置以将至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合以识别紊乱、疾病以及疾病和/或紊乱的进展中的一个或更多个。在另一个实施方案中，多个相互作用的光子可以通过光纤阵列光谱转换器装置，所述光纤阵列光谱转换器装置被配置以接收多个相互作用的光子并且生成光输出。光纤阵列光谱转换器可以包含第一端和第二端，所述第一端包括二维的多个光导纤维，所述第二端具有所述多个光导纤维的一维堆叠。在一个实施方案中，分光计光学地耦接至光纤阵列光谱转换器的一维堆叠，并且被配置以将光输出过滤成多个波长。

[0015] 在一个实施方案中，方法可以包含照射生物样品以生成多个相互作用的光子。多个相互作用的光子可以被检测以生成至少一个拉曼数据集。方法还包含从生物样品获得至少一个生物标志物数据集，并且将至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合以生成指标分值。指标分值可以包含疾病的存在和疾病的进展的指示。在另一个实施方案中，方法可以包含使多个相互作用的光子通过光纤阵列光谱转换器。

[0016] 附图的简要说明

[0017] 图1图示说明根据本公开的系统。

[0018] 图2图示说明根据本公开的基于拉曼的系统的外壳配置。

[0019] 图3A图示说明根据本公开的基于拉曼的系统。

[0020] 图3B图示说明根据本公开的光纤阵列光谱转换器 (FAST) 装置。

[0021] 图4图示说明根据本公开的方法的流程图。

[0022] 图5图示说明根据本公开的将拉曼表示为独立方法的辨别图,所述辨别图包含结肠直肠癌(CRC)和非癌症血液样品的拉曼指标。

[0023] 图6图示说明根据本公开的从单独的CEA生物标志物的测量结果生成的辨别图。

[0024] 图7图示说明根据本公开的经融合的拉曼与CEA生物标志物数据集的辨别图。

[0025] 图8图示说明根据本公开的图5-图7的方法的受试者工作特征(ROC)曲线。

[0026] 图9图示说明根据实施方案的使用FAST装置获取的人血清白蛋白(HSA)的拉曼光谱与常规的共焦系统的比较。

[0027] 详细描述

[0028] 本公开不限于所描述的特定的系统、装置和方法,因为这些可以变化。说明书中使用的术语仅用于描述特定版本或实施方案的目的,而不旨在限制本公开的范围。

[0029] 为了本申请的目的,下列术语将具有列于下文的各自的含义。除非另外定义,否则本文中使用的全部技术术语和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的含义相同的含义。本公开的任何内容不被解释为承认本公开中描述的实施方案无权凭借在先的发明而先于这样的公开。

[0030] 除非上下文另外明确指出,否则如本文所使用的,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“所述(the)”包含复数提及。因此,例如,对“样品”的提及是对本领域技术人员已知的一个或更多个样品及其等同物的提及等。

[0031] 如本文所使用的,术语“约”意为其正在使用的数字的数值的加或减10%。因此,约50%意为在40%至60%的范围内。

[0032] 本公开涉及用于通过将一个或更多个拉曼光谱数据集与一个或更多个生物标志物数据集融合以生成指标分值而分析生物样品及其成分的系统和方法。在一个实施方案中,指标分值包括拉曼免疫测定指标分值。拉曼免疫测定指标分值可以包括指示疾病、紊乱、疾病状态和紊乱状态中的一个或更多个的分值。疾病或紊乱的状态可以被称为进展。疾病的进展可以包含疾病已经发展到的程度,例如,疾病阶段。在一个实施方案中,疾病阶段可以包含癌症阶段。拉曼免疫测定指标分值可以是可扩展的度量标准,其中较高的指标分值与更持久和发展的疾病相关联。

[0033] 在一个实施方案中,生物样品可以被分析以确定疾病、紊乱、疾病状态和紊乱状态中的一个或更多个。适合于本文中的分析的生物样品的实例包含(不限于)体液,如尿液、唾液、痰、粪便、血液、血清、血浆、汗、黏液、脓、精液、从伤口挤压出的液体、灌洗、脑脊液、阴道液及其组合。尽管本公开关注于确定生物样品的疾病状态,即疾病的存在和/或疾病的进展阶段,但是本公开还预期本文公开的系统和方法可以用于确定样品的其他特征(例如代谢状态、水合状态、炎症状态及其组合)和/或在疾病状态的定义内的先兆病况。此外,虽然本文提供的实施例涉及结肠直肠癌和前列腺癌的检测,但是本公开不限于这些癌症。如对本领域技术人员而言根据本公开显而易见的是,本文所描述的系统和方法可以用于分析各种各样的癌症和其他疾病,所述其他疾病包含自身免疫紊乱和神经退行性疾病。除了检测生物样品中癌症的存在之外,本文所描述的系统和方法还可以应用于确定癌症等级和/或阶段。

[0034] 如本文所使用的,术语“生物标志物”指生物样品中的可测量的物质,其的存在指

示一些现象,如,不限于,疾病、感染、炎症、免疫应答和/或环境暴露。在一个实施方案中,生物标志物包含癌症生物标志物。在另一个实施方案中,生物标志物包含DNA序列和蛋白质。在一个实施方案中,生物标志物包含CEA。在另一个实施方案中,生物标志物包含PSA。其他生物标志物可以适合于在本公开的实施方案中使用,并且根据本公开,这样的生物标志物对本领域技术人员而言将是显而易见的。在一个实施方案中,可以分析血液或血清样品的CEA或PSA,并且所述分析可以导致生物标志物指标分值。生物标志物指标分值可以包含每毫升血液中生物标志物的量的测量结果。例如,以纳克每毫升血液(ng/ml)表示PSA,并且以微克每升血液($\mu\text{g/L}$)表示CEA。小于约4.0ng/ml的PSA的生物标志物指标分值被认为正常。高于这样的值,可以推荐前列腺活组织检查。在CEA的情况下,高于约2.5 $\mu\text{g/L}$ 的生物标志物指标分值可以指示结肠直肠癌。然而,单独的生物标志物指标分值已经被证明不足以明确地诊断疾病。假阳性可以导致患者不得不经受侵入性活组织检查以便进行全面的诊断。

[0035] 在一个实施方案中,可以将生物标志物指标分值(在本文中可选地称为生物标志物数据集)与拉曼数据集融合用于生成拉曼免疫测定指标分值。在一个实施方案中,生物标志物数据集包含生物标志物指标。本文公开的拉曼免疫测定指标分值提供的信息比单独的生物标志物数据集或拉曼数据集具有更高的特异性和更高的敏感度。

[0036] 拉曼分子成像(RMI)涉及与数字成像结合的多个空间分辨的拉曼光谱的收集。RMI允许定量信息的收集,所述定量信息可以用于客观分析而非临床显微镜检查技术(如组织病理学)常用的主观分析。用于进行RMI的仪器通常包括激光源、图像采集光学部件和成像检测器。重要的是,与其他方法相比,RMI是一种无试剂工具,其降低每次测定的费用。自动化算法使用例行程序对光谱进行预处理,所述例行程序可以包含例如基线校正、矢量归一化、滤除宇宙事件、以及将高荧光或异常光谱分类为异常值。

[0037] 在一个实施方案中,拉曼数据集和生物标志物数据集可以分别被获得并且被融合以生成拉曼免疫测定指标分值。在另一个实施方案中,拉曼数据集和生物标志物数据集可以大体上同时被获得。在一个实施方案中,如本领域技术人员已知的,可以通过可商业获得的拉曼光谱显微镜获得拉曼数据。已知的拉曼装置尽管适合于在本文所描述的实施方案中使用,但需要过长的时间以获取每个光谱约90秒量级的重复拉曼光谱。通常,每个拉曼数据集获得多达15个重复拉曼光谱。因此,常规系统可以具有多达或超过30分钟的拉曼数据集的采集时间。在另一个实施方案中,可以使用拉曼装置获得拉曼数据集,所述拉曼装置被配置以在少于约10分钟内捕获拉曼数据集。在另一个实施方案中,在少于约7分钟内获取拉曼数据集。在另一个实施方案中,在少于约5分钟内获取拉曼数据集。在另一个实施方案中,在少于约3分钟内获取拉曼数据集。

[0038] 图1图示说明根据实施方案的系统500。系统500可以包含拉曼成像子系统505、免疫测定子系统515和控制子系统530。拉曼成像子系统505可以包含用于照射生物样品(未示出)的激光照射源507,以及FAST光纤束509。在一些实施方案中,拉曼成像子系统可以排除FAST光纤束。拉曼成像子系统505还可以包含用于检测已经与生物样品相互作用的光子的CCD检测器511。可以从拉曼成像子系统505收集拉曼分子图像数据。在一个实施方案中,可以使用干燥的样品在背景(如铝涂覆的载玻片(未示出))上收集拉曼分子图像数据。在一个实施方案中,可以在载玻片上存在多个样品,并且可以识别感兴趣的区域。

[0039] 系统500还可以包含控制子系统530。控制子系统530可以包含计算机处理器540和

与计算机处理器540通信的机器可读代码或软件560。在一个实施方案中,控制子系统560可以控制从拉曼成像(RMI)子系统505和免疫测定子系统515的数据收集。在另一个实施方案中,控制系统530可以控制RMI子系统505和免疫测定子系统515以几乎同时捕获拉曼分子图像和免疫测定数据。通过几乎同时收集RMI数据和免疫测定数据,可以消除与样品储存和样品质量有关的影响。在一个实施方案中,控制子系统560控制一系列中的一个或多个:从经识别的感兴趣的区域的数据收集、处理光谱、应用算法以除去荧光和其他不适合的光谱数据、以及应用一个或多个算法以计算拉曼指标值513和免疫测定指标值525。

[0040] 系统500还可以包含免疫测定子系统515。免疫测定子系统515可以包含特异性生物标志物520的抗体对。免疫测定测试结果可以包含基于颜色的测定的颜色示值读数523,并且可以生成指标值525。在一个实施方案中,可以使用被配置为以“夹层(sandwich)”形式或多孔堆叠捕获免疫测定数据的多孔板(未示出)中的液体样品来操作免疫测定子系统515。在一个实施方案中,用捕获抗体涂覆多孔板,并且在多孔板的孔中孵育生物样品。可以通过洗涤去除未与抗体结合的部分生物样品。可以添加对被测试生物标志物特异性的一种或更多种检测抗体。此外,可以添加含有基于颜色的报告分子成分的酶样二级抗体以报告免疫测定指标值525的色值。在一个实施方案中,控制子系统530可以被配置以将基于颜色的报告分子的颜色强度转换为指标值525。

[0041] 图2、图3A和图3B提供根据实施方案的具有用于获得拉曼数据集的拉曼子系统的说明性装置。在标题为SYSTEM AND METHOD FOR SERUM BASED CANCER DETECTION、并且被转让给开米美景公司(ChemImage Corporation)的美国专利申请公布号2015/0294076中进一步详细说明了此装置。此申请被整体并入本文。

[0042] 图2、图3A和图3B的装置包含如图2中图示说明的系统100的示例性外壳。系统100可以包括用于放置分析中的样品的样品域200、用于生成放置在样品域200中的样品的至少一个拉曼数据集的测量域300、以及用于分析由测量域300生成的数据的分析域400。

[0043] 图3A是根据实施方案的系统100的更详细的表示。如图3A中所图示说明的,样品域200还可以包括用于放置样品的台210。此台210可以移动以对分析中的各种样品进行分析。在一个实施方案中,可以将样品附着到载玻片上或放置在孔板(如微量滴定样品板230)中。样品可以被放置在收集光学部件(如显微镜物镜240)下用于分析。

[0044] 测量域300可以包括RGB相机320,所述RGB相机320被配置以生成代表样品的RGB图像。至少一个反射镜310可以被配置以引导来自样品的光子通过至少一个透镜315到达RGB相机320。生成的RGB图像可以用于帮助对齐样品用于分析和/或查找样品中的形态特征或感兴趣的区域。RGB图像也可以与由测量域300生成的拉曼数据集相关联。

[0045] 仍然参考图3A,测量域300还可以包括被配置以发射照射光子的至少一个激光照射源325,所述照射光子可以通过激光带通滤波器(LBF) 330以滤除不感兴趣的波长的光并且允许感兴趣的一个或多个波长的光通过。这些经过滤的照射光子可以通过至少一个机械装置335(如二向色反射镜或二向色分光镜)被引导至样品。

[0046] 照射光子可以照射样品并且生成至少一种多个相互作用的光子。如本文所使用的,“相互作用的光子”可以包括由样品散射的光子、由样品吸收的光子、由样品反射的光子、由样品发射的光子及其组合。

[0047] 多个相互作用的光子可以通过长通滤波器(LPF) 340以滤除具有短波长的光子并

且由至少一个反射镜345引导通过透镜350到达光纤阵列光谱转换器 (FAST) 装置355的二维端。在图3B中更详细地图示说明了FAST装置355。

[0048] 在图3B中,FAST装置355包括二维端356和一维端357。在一个实施方案中,二维端356可以具有排序,如蛇形排序。FAST装置355的二维端356可以包括被拉成一维光纤堆叠357的光导纤维的二维阵列。在一个实施方案中,二维端365可以是非线性的(所述二维端365可以是任何非线性构型,例如,圆形的、正方形的、矩形的等),并且一维线性端357可以是线性的。

[0049] 相互作用的光子的至少一部分可以被聚焦到FAST装置的输入(二维端365)上,所述输入可以包含多达数千根单独的光纤,每根光纤收集由生物样品的激发区域中特定的对应位置散射的(或吸收的、反射的和/或发射的)光。在另一个实施方案中,FAST装置可以包含小于约100根光纤。在另一个实施方案中,FAST装置可以具有约96根光纤。

[0050] 一维光纤堆叠357(输出端)可以在分光计360的入射狭缝处被取向,如图3B中所图所示说明的。分光计360可以起作用以将多个光子分离成多个波长并且提供来自每根光纤的独立的色散光谱。可以在单个测量周期中获得多个拉曼光谱并且因此可以获得样品区域的多次询问。包含FAST装置容许系统100以与常规拉曼传感器收集一个光谱花费的时间量约相同的时间量捕获多个拉曼光谱。因此,FAST装置容许采集时间的相当大的减少。

[0051] 再次参考图3B,光子可以在检测器365处被检测以生成拉曼数据集。在一个实施方案中,处理器(和/或软件)370可以用于提取被嵌入在由检测器365生成的单帧中的光谱/空间信息。

[0052] 参考图3B,361表示示例性的检测器365输出,362表示示例性的光谱重建,并且363表示示例性的图像重建。

[0053] 在一个实施方案中,感兴趣的区域可以通过FAST装置被光学地匹配到激光光斑的区域以最大化收集拉曼效率。在一个实施方案中,本公开预期其中仅移动激光束以在视场(FOV)内扫描的配置。本公开还预期其中样品被移动并且激光束是静止的实施方案。

[0054] 将“扫描”FOV与拉曼收集FOV匹配是可能的。FOV被成像到矩形FAST装置上以便每根FAST光纤从FOV的一个区域收集光。通过将整个FOV的面积除以光纤的数量,容易计算出每根光纤产生最大空间分辨率的面积。拉曼散射仅在激光激发样品时生成,因此将仅在收集区域正在被激光束扫描的那些光纤处获得拉曼光谱。仅激光束扫描是一个快速的过程,可以利用现成的电流计驱动式反射镜系统。

[0055] FAST装置355的构造需要对每根光纤在阵列的二维端356和远端一维端357两者处的位置的了解。每根光纤从二维阵列(成像端)中的固定位置收集光并且(通过该光纤的远端357)将此光传输到检测器365上的固定位置。

[0056] 每根光纤可以跨越多于一个检测器行,允许在重构图像中比每根光纤一个像素更高的分辨率。实际上,与光纤像素(即,与各自的光纤相关的检测器中的像素)之间的插值结合的这种超分辨率,实现了比其他可能的方式高得多的空间分辨率。因此,空间校准不仅可以涉及对成像端和远端处的光纤几何特性(即光纤对应性)的了解,而且可以涉及对与给定光纤相关的检测器行的了解。

[0057] 与其他光谱方法相比,使用FAST装置的基本优势之一是分析速度。FAST技术可以同时获取几个至数千个全光谱范围的空间分辨光谱。可以使用常规手段以从给定的材料生

成单个光谱花费的时间量来获取完整的光谱成像数据集,特别是对于易受激光诱导的光损伤的样品。也可以用多个检测器实现FAST装置,并且可以将颜色编码的FAST光谱图像叠加在其他高空间分辨率灰阶图像上,以提供对样品的形态和化学性质的有效洞悉。

[0058] 利用FAST装置是配置系统100的一种方式,其可以被称为“多点”分析。为了进行多点分析,根据生物样品的性质和期望的多点取样的类型,待评估的生物样品和视野(field)被全部或部分地照射。照射视野可以被分成多个相邻的、不相邻的或重叠的点,并且可以在每个点处生成光谱。在一个实施方案中,这些光谱可以是平均的。在另一个实施方案中,可以充分地增加照射光斑尺寸以在样品的大的区域上空间地取样/平均。这也可以包含样条取样(transect sampling)。

[0059] 举例来说,可以照射整个样品并且通过评估选定点处的相互作用的光子来进行多点分析。可替代地,可以照射样品的多个点,并且可以评估从这些点发出的相互作用的光子。这些点可以被连续地评估(即,顺序地)。为了实施此策略,在采集时间与光谱图谱的空间分辨率之间存在固有的折中。每个完整的光谱花费一定的时间来收集。随着样品的每单位面积收集更多光谱,光谱图谱的表观分辨率和数据采集时间两者都增加。在另一个实施方案中,可以针对图像场(image field)中全部选定点并行(即,同时)评估相互作用的光子。全部点的这种并行处理被指定为化学成像,并且当选择非常大数量的空间点和光谱通道(spectral channel)时,可能需要大量的数据采集时间、计算时间和容量。然而,当评估相对少的数量的光谱通道时,可能需要较少的数据采集时间、计算时间和容量。

[0060] 在一个实施方案中,可以在FOV(例如,显微镜的放大视野)中的多个点处评估相互作用的光子,所述FOV中的多个点合起来表示仅FOV的区域的一部分(多点)。已经发现,在表示视野的总体区域的少数区域的点处(例如,在两个、三个、四个、六个、十个、五十个、一百个、或更多个、和/或总计表示视野的25%、5%、1%或更少的点处)对FOV进行取样可以提供有价值的FOV表示。点可以是FOV的图像的单个像素或由多个相邻或分组的像素在图像中表示的像素区域。被评估为单个点的区域或像素的形状不是关键性的。例如,圆形的、环形的、正方形的或矩形的区域或像素可以被评估为单个点。也可以在行扫描配置中评估像素行。

[0061] 对应于多点分析的每个点的区域可以以各种已知的方式被选择或生成。在一个实施方案中,可以使用结构化照射。举例来说,放置在照射或收集光路中的共焦掩模(mask)或衍射光学元件可以将照射或收集限制到具有限定的几何关系的样品的某些部分。

[0062] 在FOV中多个点的光谱分析(多点分析)允许高质量的光谱感测和分析,而不需要在图像的每个图像元素(像素)处进行光谱成像。光学成像(例如,RGB成像)可以在样品上进行(例如,同时地或分别地),并且光学图像可以与选定的光谱信息组合以限定和定位感兴趣的区域。同时从此感兴趣的区域的完全不同的位置快速地获得光谱的操作允许高效且准确的光谱分析和样品中成分的识别。此外,样品中或FOV中感兴趣的区域的识别可以被用作应当进行所述样品或FOV的该部分的更详细的拉曼散射(或其他)分析的信号。

[0063] FAST光谱和/或成像应用所需的大量光导纤维对多点方法涉及的成像分光仪提出了特别的需求。多点分析可以利用含有两根至数千根光纤的束中的较大直径的光纤,而不是具有数百万像素。在光谱感测和分析的多点方法中,不需要完整的光谱成像(其将需要至少数千个相邻像素以创建物理图像)。相反,同时在两个至数千个点处进行的光谱感测可以从分析和识别所需的样品上的各种各样的点快速地(以秒量级)提供高质量的空间分辨光

谱。因此,即使FOV中被分析的点的精确几何布置不是已知的,所述点仍然具有可以跨越样品或FOV的限定的几何布置。被分析的点对于生物样品的疾病状态可以是有信息性的。

[0064] 再次参考图3A,光子可以被传递至分光计360,其中分光计被配置以将相互作用的光子过滤成多个波长。检测器365可以被配置以生成至少一个拉曼数据集。在一个实施方案中,拉曼数据集可以包括下列中的至少一个:至少一个拉曼光谱和至少一个拉曼化学图像。在一个实施方案中,检测器365还可以包括下列中的至少一个:CCD检测器、ICCD检测器、CMOS检测器、PMT、Si雪崩光电二极管、InGaAs检测器、InSb检测器和MCT检测器。

[0065] 系统100还可以包括至少一个处理器370。处理器370可以起作用以在测量域300和分析域400两者中执行各种功能。在测量域300中,处理器370可以包括测量控制器375,所述测量控制器375可以包括软件以控制系统100的各种特征,如系统的数据采集和校准。

[0066] 系统100还可以包括分析域400,所述分析域400配置以分析由测量域300生成的数据。处理器370可以在分析域400中起作用以分析拉曼数据集。可以基于此分析生成分析报告420。此分析报告420可以包括分析中的生物样品的疾病状态的确定。

[0067] 在一个实施方案中,系统100还可以包括至少一个参考数据库,所述参考数据库包括至少一个参考数据集,其中每个参考数据集与已知的疾病状态相关。此参考数据可以被储存在处理器370中并且被访问以分析从生物样品生成的拉曼数据集。图2-图3B中图示说明的装置及该装置的其他实施方案在美国专利申请公布号2015/0294076中被进一步详细说明,并且这样的实施方案可以适合于在本公开的实施方案中使用。

[0068] 在一个实施方案中,将从生物样品收集的至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合以形成拉曼免疫测定指标分值。在另一个实施方案中,至少一个生物标志物数据集包含1个、2个、3个或4个生物标志物。在另一个实施方案中,至少一个生物标志物数据集包含多于4个生物标志物。在一个实施方案中,至少一个拉曼数据集包含多个拉曼光谱。在一个实施方案中,拉曼数据集包含拉曼图像。在另一个实施方案中,拉曼数据集包含至少一个拉曼光谱和至少一个拉曼图像。在一个实施方案中,拉曼数据集可以包含高光谱拉曼图像。

[0069] 在一个实施方案中,使用图像加权贝叶斯融合(IWBF)方法将至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合。在一个实施方案中,蒙特卡罗(Monte Carlo)可以被用于训练步骤中以查找产生融合结果的优化权重,所述融合结果具有不比最好单个测试的检测性能差的检测性能,并且具有比单独执行的单个感测策略中任一个更好的整体检测性能。

[0070] 拉曼免疫测定指标分值可以被用于识别疾病和疾病状态,其具有超过单独的生物标志物测试和拉曼数据的较高水平的性能(敏感度和特异性)。可以通过使用受试者工作特性(ROC)曲线来测量性能,所述受试者工作特性(ROC)曲线可以显示测试的敏感度和特异性以及ROC曲线下面积(AUC)。在一个实施方案中,拉曼免疫测定包含比单独的拉曼数据集或生物标志物数据集的AUC大约5%的AUC。在另一个实施方案中,拉曼免疫测定包含大于约8%的AUC。在另一个实施方案中,拉曼免疫测定包含大于约10%的AUC。可以通过将至少一个拉曼数据集与一个生物标志物融合来实现本文公开的系统和方法的增加了的性能;然而,可以通过将拉曼数据集与多于一个生物标志物组合来增强性能。

[0071] 本公开还针对用于生成拉曼免疫测定的方法。转到图4,在一个实施方案中,方法

700包含照射701生物样品以生成多个相互作用的光子。照射的操作可以包含,用激光照射。在一个实施方案中,激光包含约785nm的波长。可以通过检测器检测705相互作用的光子以生成至少一个拉曼数据集。在另一个实施方案中,方法可以包含使多个相互作用的光子通过光纤阵列光谱转换器以生成第一光输出,其中通过检测器检测所述第一光输出。方法还包含从生物样品获得707至少一个生物标志物数据集,并且将至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合709以生成指标分值。在一个实施方案中,指标分值指示疾病或紊乱的存在和/或阶段(进展)。在另一个实施方案中,疾病是癌症。在另一个实施方案中,疾病可以包含前列腺癌或结肠直肠癌中的一种或更多种。

[0072] 本公开还针对含有机器可读程序代码的非暂时性处理器可读存储介质,当通过处理器执行所述非暂时性处理器可读存储介质时,其使处理器引起照射源照射生物样品以产生多个相互作用的光子。在一个实施方案中,处理器可以使光纤阵列光谱转换器收集多个相互作用的光子并且生成光输出。在另一个实施方案中,处理器可以使检测器检测来自光纤阵列光谱转换器的光输出和多个相互作用的光子中的一个或更多个,并且生成至少一个拉曼数据集。在另一个实施方案中,处理器可以将至少一个拉曼数据集与至少一个生物标志物数据集融合并且生成指标分值。指标分值可以指示疾病和/或紊乱的存在和/或其进展中的一个或更多个。

[0073] 在一些实施方案中,系统可以包含至少一个参考数据库,所述参考数据库包括至少一个参考数据集。参考数据集可以包含一个或更多个已知的数据集,所述已知的数据集与已知的拉曼光谱学和成像数据、已知的生物标志物免疫测定数据和已知的经融合的数据集相关,所述已知的经融合的数据集包括来自至少一个拉曼数据集和至少一个生物标志物数据集的已知的经融合的数据。在一个实施方案中,系统可以访问已知的参考数据库以识别疾病和/或紊乱(包含所述疾病和/或紊乱的状态或进展)。此外,系统可以访问已知的参考数据库以识别拉曼免疫测定指标分值,所述拉曼免疫测定指标分值基于至少一个拉曼数据集和至少一个生物标志物数据集的经融合的数据集。

实施例

[0074] 实施例1

[0075] 图5-图8示出在患者中用于检测结肠直肠癌(“CRC”)的单独的拉曼数据集(“拉曼”)、单独的CEA生物标志物数据(“CEA”)以及与CEA融合的拉曼数据集(“经融合的”)与非癌症的比较。非癌症患者包含通过结肠镜检查被证实为具有阴性结果、有和没有并存病的那些患者。在图5中,将拉曼表示为独立方法的辨别图示出CRC和非癌症血液样品的拉曼指标。图6示出从单独的CEA的测量结果生成的辨别图。融合方案导致图7中所示的辨别图。对应于三种方法的ROC曲线在图8中示出。在这三种方法中,单独的CEA的测量结果产生检测患有CRC的患者的最低性能,其中AUC为0.68。当单独使用拉曼时,其表现更好,其中AUC为0.73。然而,经融合的数据的整体性能显示大幅度增加,其中所得到的AUC为0.80,比单独的拉曼的AUC高几乎10%。使用经融合的数据,113例患者研究的敏感度和特异性分别为85%和71%。

[0076] 当将拉曼、CEA和经融合的数据与来自临床背景样品(患有结肠炎、良性胃肠病况、增生性息肉、以及经结肠镜检查确认的阴性结果有和没有并存病的患者)的CRC样品的辨别

比较时,观察到类似的结果。单独的拉曼性能产生具有0.72的AUC的ROC曲线,并且单独的CEA测量结果导致具有0.62的AUC的ROC曲线。经融合的数据使AUC产生8%的增加达到0.78。对于经融合的数据,此306例患者研究的敏感度和特异性分别为75%和71%。

[0077] 实施例2

[0078] 表1和表2示出与RMI的批内和批间变异性有关的数据。通过产生被确认CRC阳性的单个样品的五个独特重复的指标值来确定批内变异性,所得到的变异性为0.05%。通过产生来自被确认CRC阳性的五个样品中的每个的一个独特重复的指标值来确定批间变异性,所得到的变异性为0.21%。被证明的低变异性暗示RMI是与IA融合的合适方法。

研究 ID	指标值	%CV
S1_R1	0.9986	
S1_R2	0.9996	
[0079] S1_R3	0.9998	
S1_R4	0.9997	
S1_R5	0.9992	
平均值	0.9994 ± 0.0005	0.05%

[0080] 表1

研究 ID	指标值	%CV
S1_R1	0.9951	
S2_R1	0.9999	
[0081] S3_R1	0.9996	
S4_R1	0.9997	
S5_R1	0.9999	
平均值	0.9989 ± 0.002	0.21%

[0082] 表2

[0083] 实施例3

[0084] 图9图示说明与使用HSA样品的常规共焦RMI数据收集相比,基于FAST的系统的优势。图9示出来自两种方法的平均光谱。表3示出每个方法的特征的比较。重要地,包含FAST装置的系统在信噪比仅适度的降低的情况下将收集时间从22.5min减少至0.17min。

	FAST 原型	常规
[0085] 激光功率 (785 nm)	500 mW	100 mW
光漂白时间	0 sec	30 sec
采集时间	10 sec	60 sec
最大#取样点	96	1
取样区域	320X>G1.0	$2.2 \times 10^{-7} \text{ cm}^2$
HSA 酰胺 I 信号	22,276 counts	10,155 counts
SNR	87.3	101.0
通量 (Min/测试)	0.17	22.5

[0086] 表3

[0087] 虽然本公开已经通过描述其示例性实施方案被阐明,并且虽然已经相当详细地描述了实施方案,但是申请人的意图不是约束或以任何方式将所附权利要求的范围限制成这样的细节。对于本领域技术人员而言,附加的优势和修改将容易显现。因此,本公开在其更广泛的方面不限于所示出和描述的任何具体细节、代表性装置和方法、和/或说明性实施例。因此,在不脱离申请人的总体发明构思的精神或范围的情况下,可以偏离这样的细节。

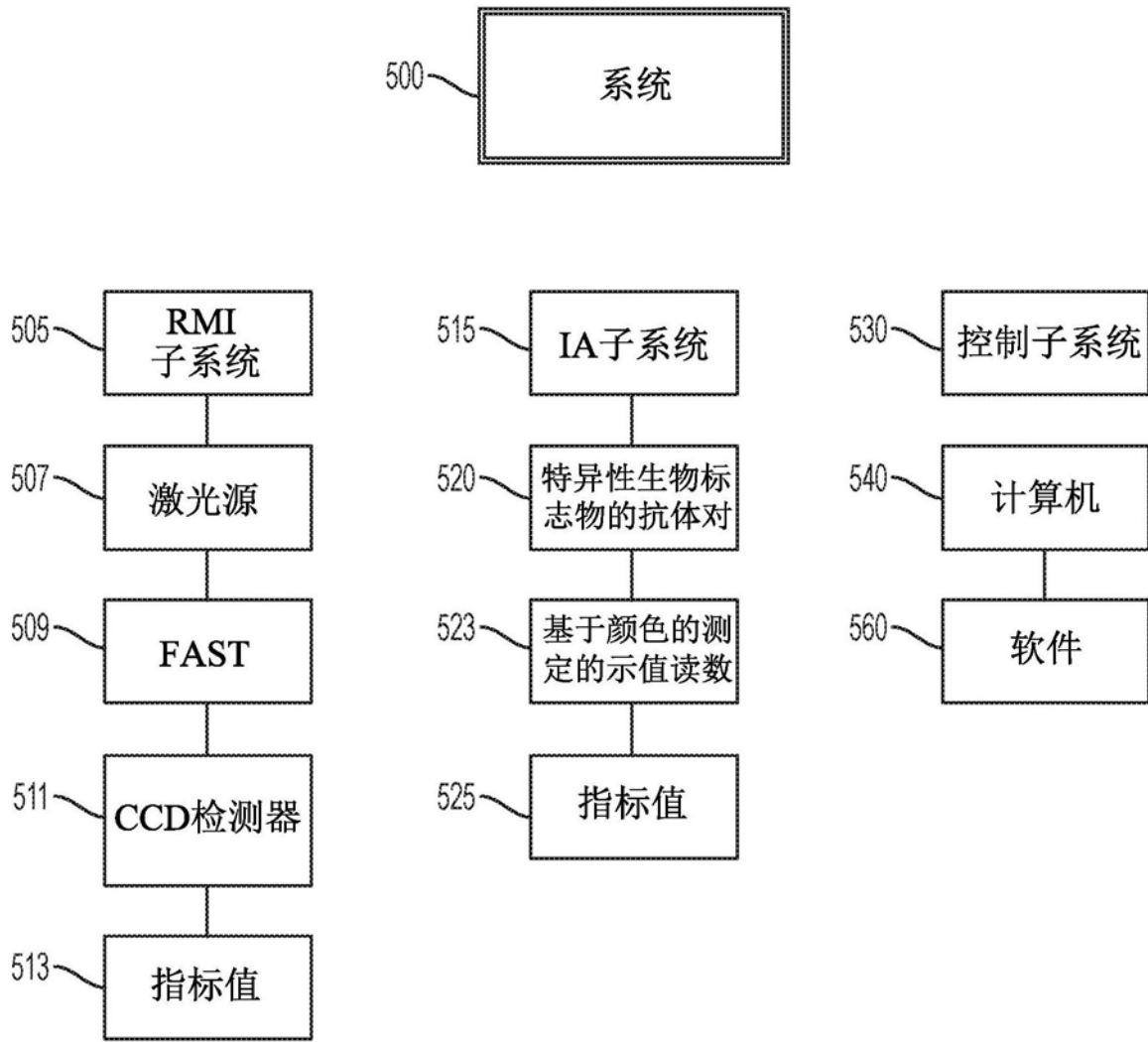


图1

100

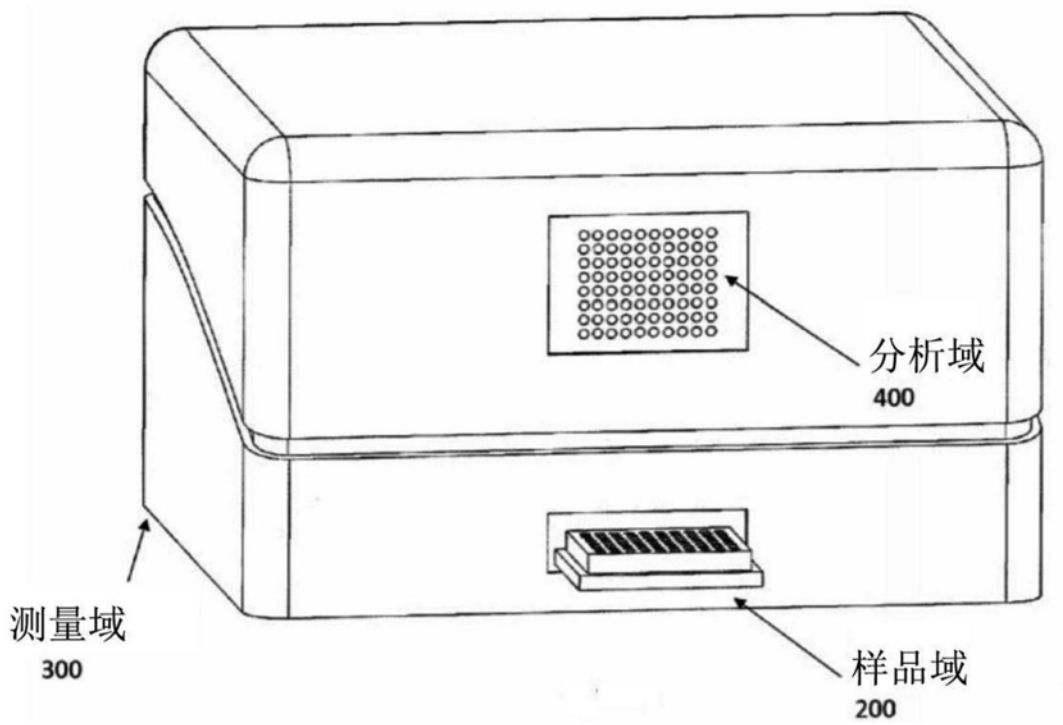


图2

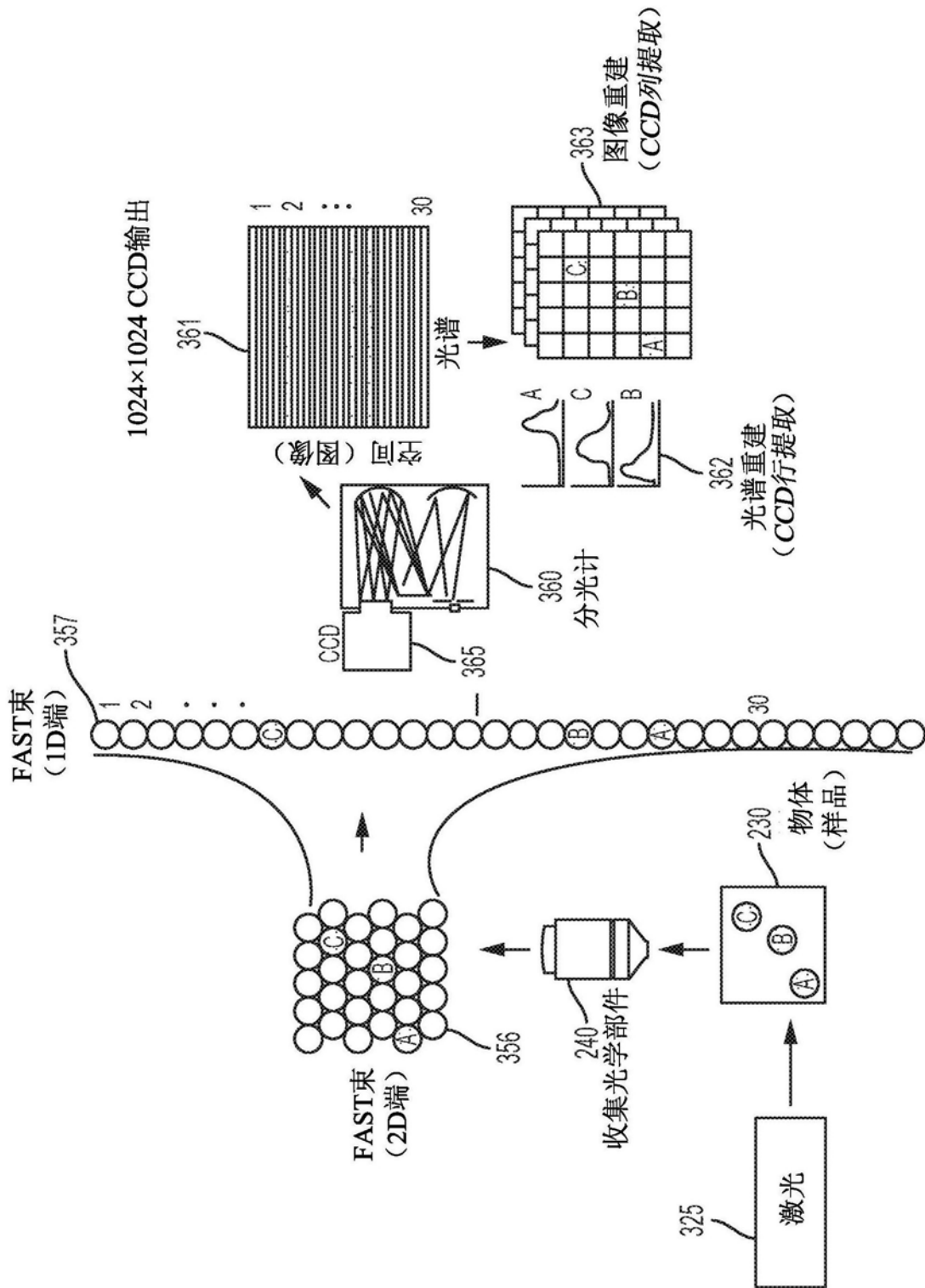


图3B

700

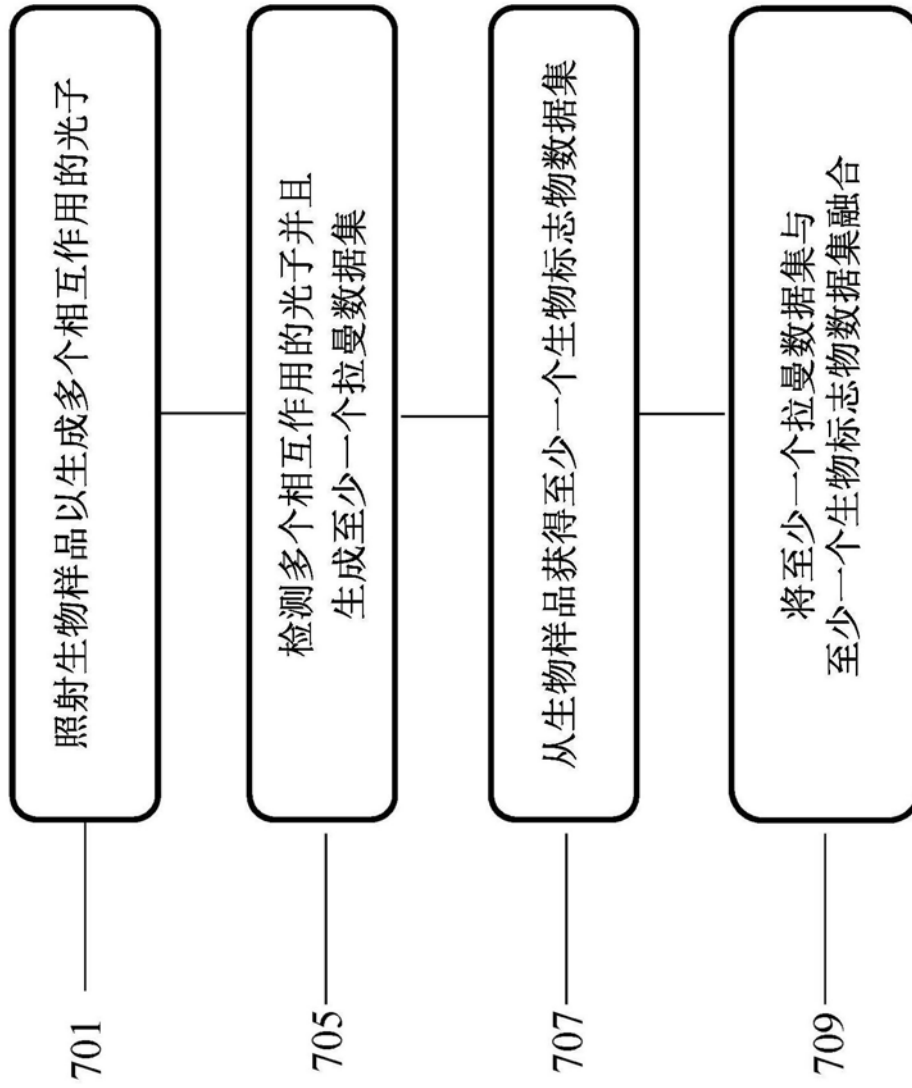


图4

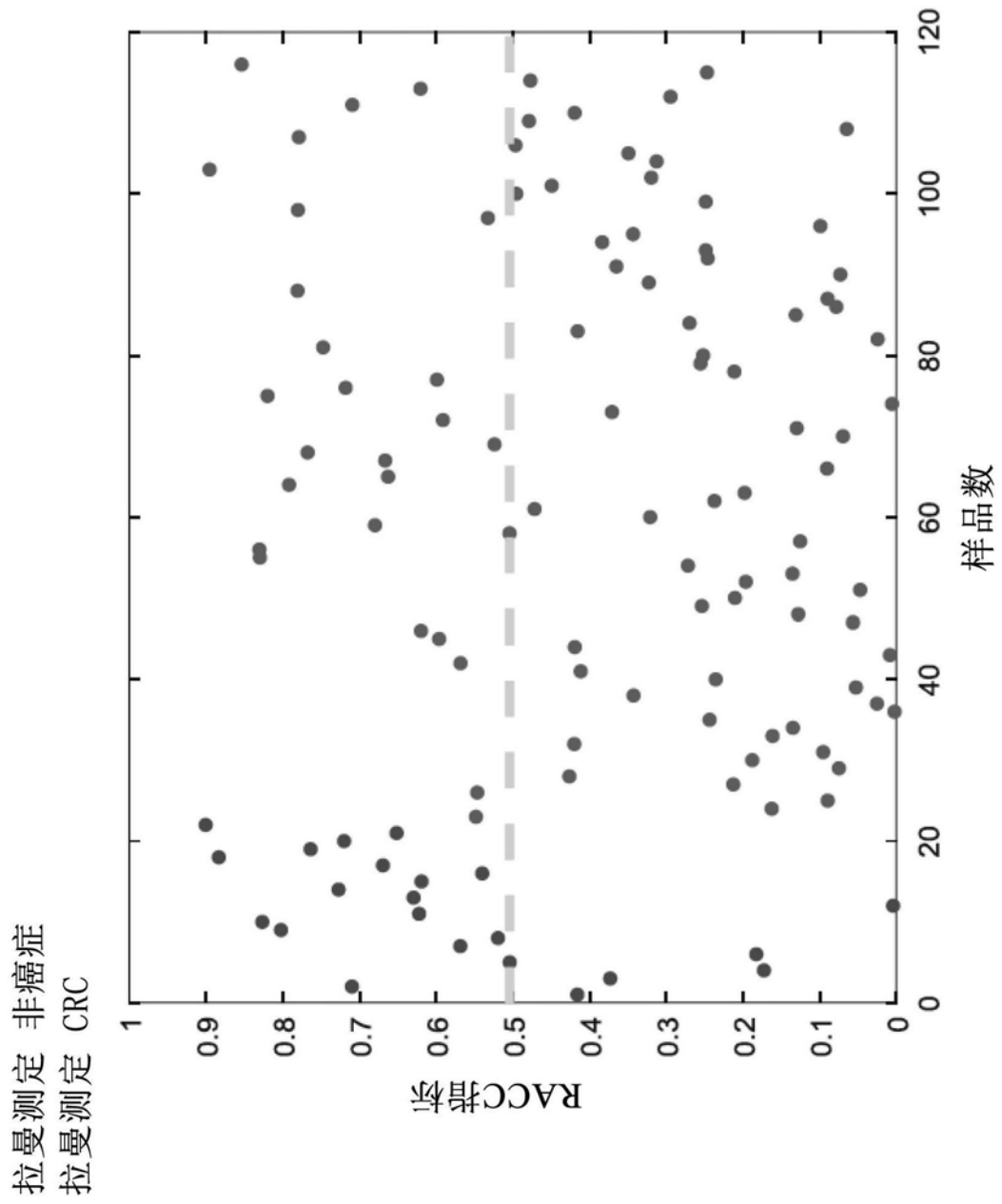


图5

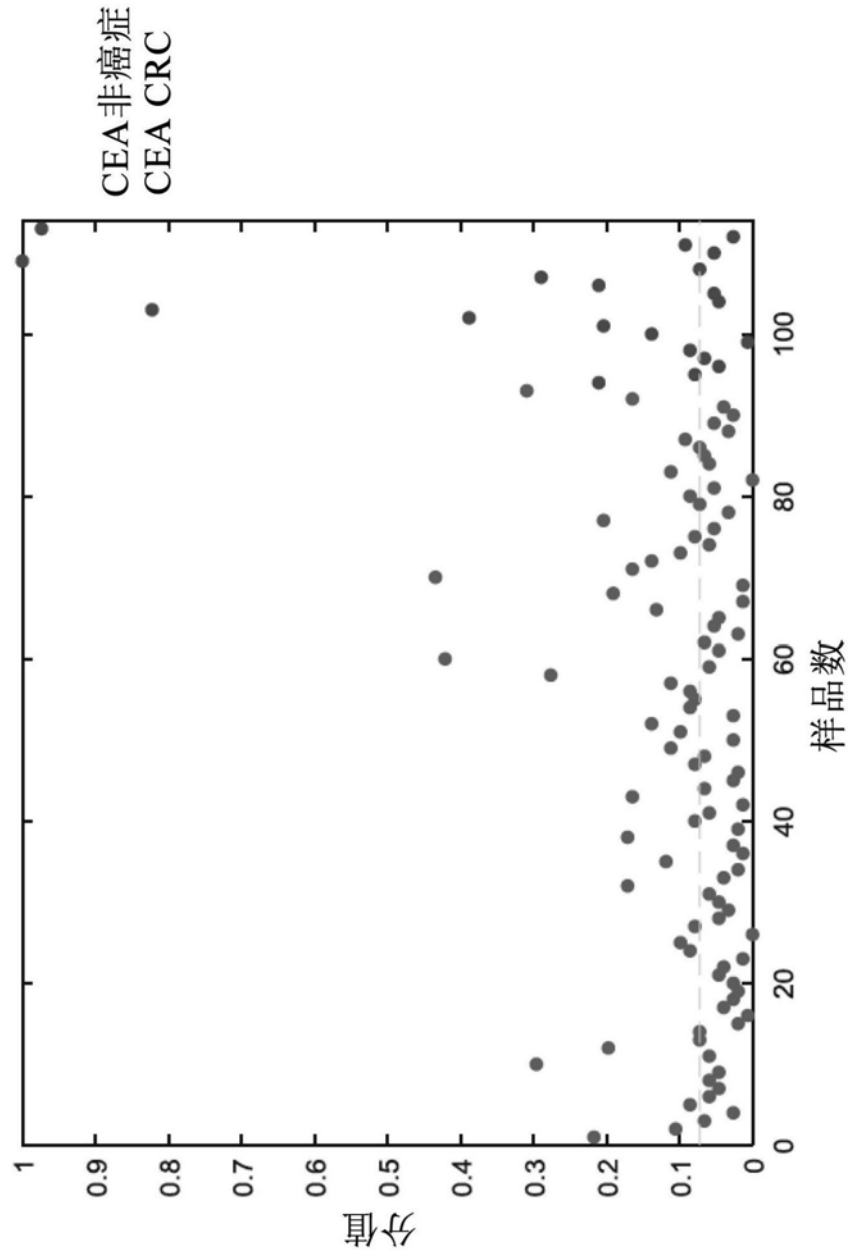


图6

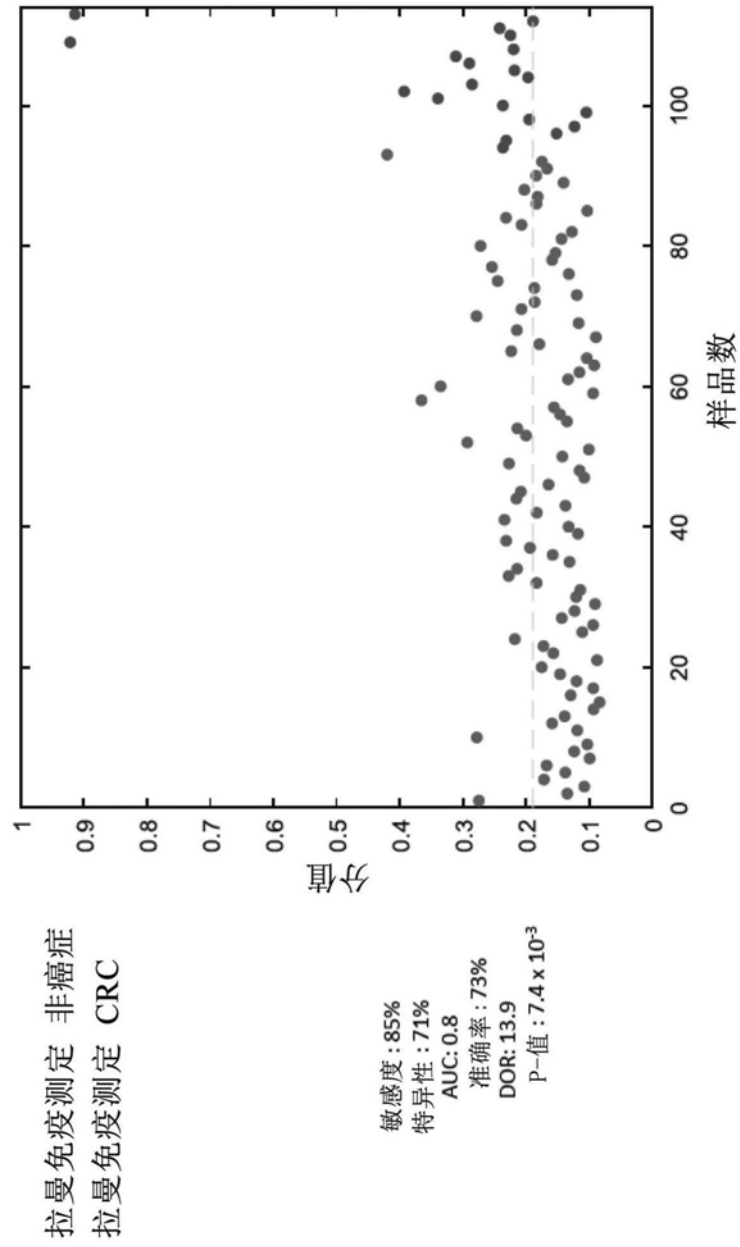


图7

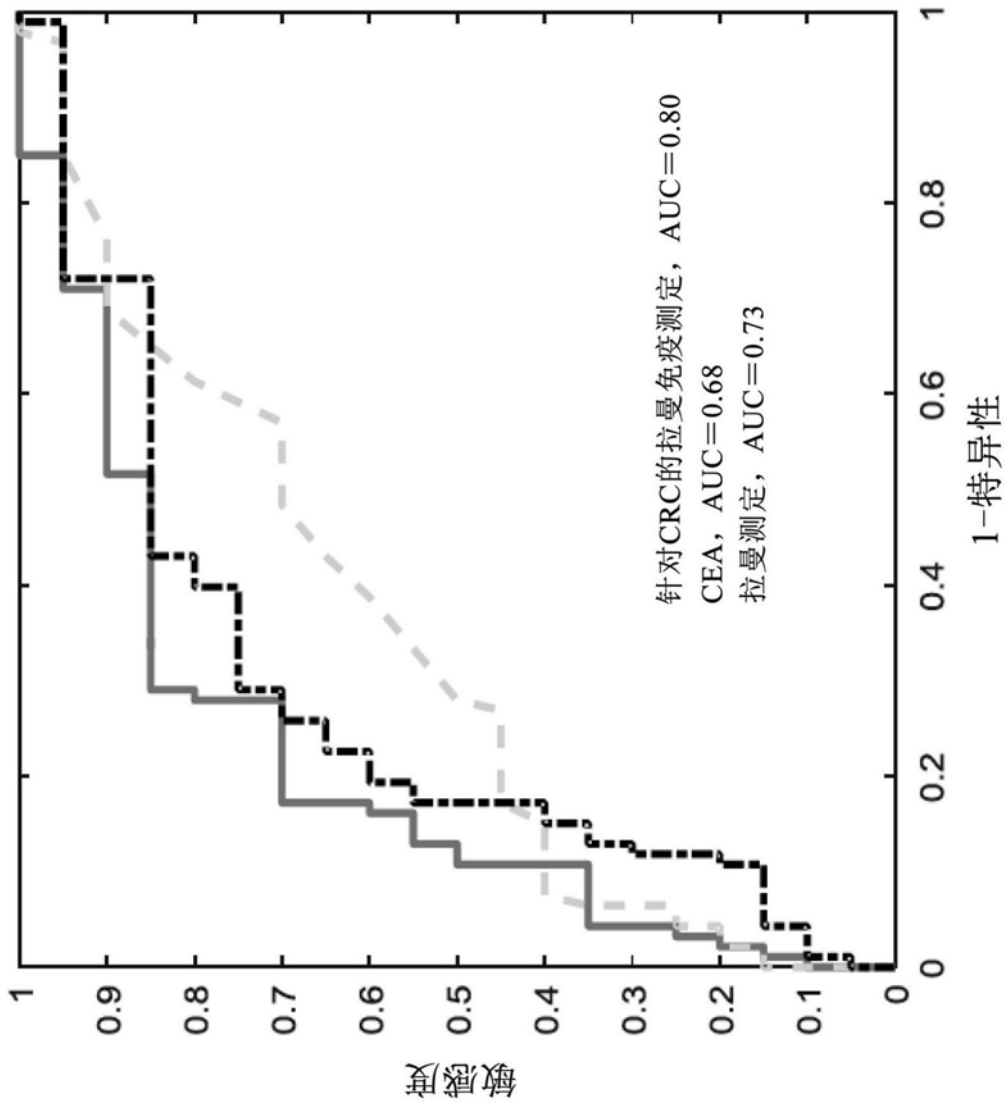


图8

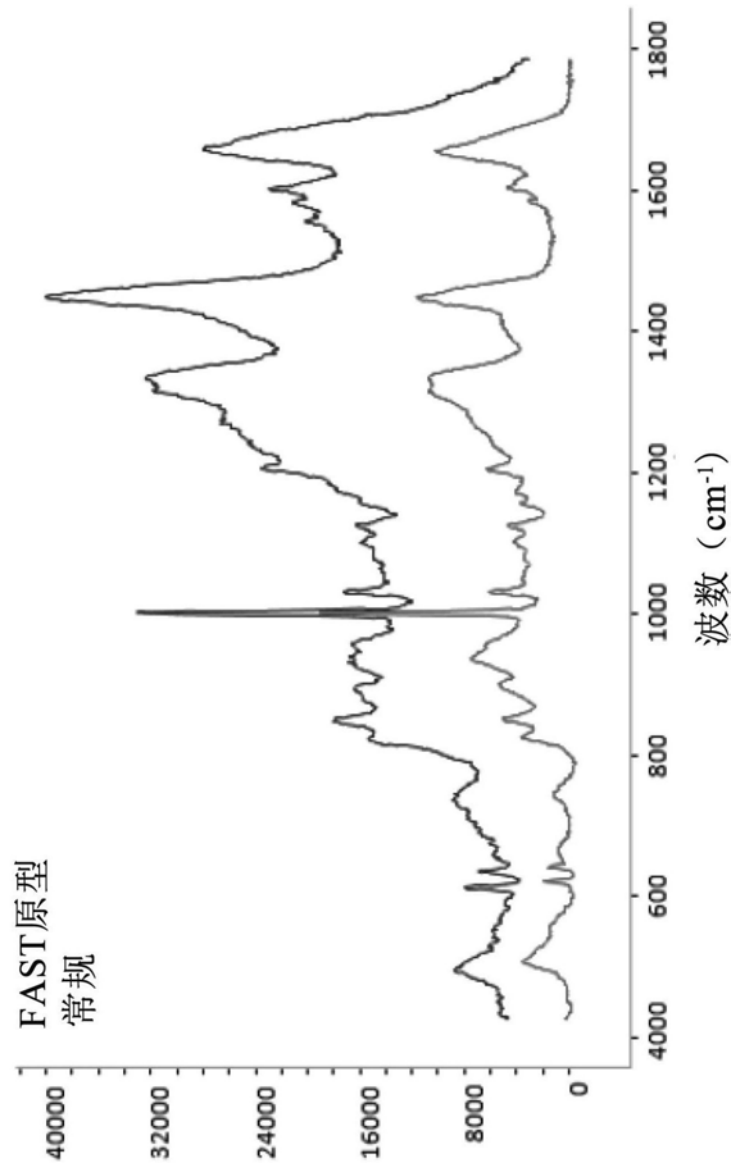


图9

专利名称(译)	基于拉曼的免疫测定系统和方法		
公开(公告)号	CN108474691A	公开(公告)日	2018-08-31
申请号	CN201680079085.4	申请日	2016-11-16
[标]发明人	P 川度 S斯图尔特 A史密斯 H戈默		
发明人	P·川度 S·斯图尔特 A·史密斯 H·戈默		
IPC分类号	G01J3/44 A61B6/00 G01N21/17 G01N21/65 G01N33/53		
CPC分类号	G01J3/0218 G01J3/0291 G01J3/2823 G01J3/44 G01N21/65 G01N2201/0833 G01N21/17 G01N33/53 G01N2800/50 G01N2800/52 G01N2800/56 G01N2800/60 G16H50/20		
代理人(译)	甘玲 缪策		
优先权	62/255804 2015-11-16 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

100

本公开针对用于将拉曼数据与生物标志物数据融合以识别疾病和/或疾病进展的系统和方法。本文公开的系统可以包含用于从生物样品生成相互作用的光子的照射源和用于检测所述相互作用的光子以生成拉曼数据集的检测器。处理器被包含以将拉曼数据集与生物标志物数据集融合以识别疾病和/或疾病进展。本公开还包含方法，所述方法包括照射生物样品以生成相互作用的光子，并且检测所述相互作用的光子以生成拉曼数据集。从生物样品获得生物标志物数据集，并且将拉曼数据集与生物标志物数据集融合以生成指标分值。指标分值与疾病和疾病进展中的一个或更多个相关联。

