

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.  
G01N 21/64 (2006.01)  
G01N 33/53 (2006.01)



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200710048273.3

[45] 授权公告日 2009 年 12 月 2 日

[11] 授权公告号 CN 100565190C

[22] 申请日 2007.1.16

[21] 申请号 200710048273.3

[73] 专利权人 李 坚

地址 610054 四川省成都市成华区文德路  
211 号成电花园 4 幢 4 单元 1143 号

[72] 发明人 李 坚 谢 康 姜海明 谢 明  
杨华军

[56] 参考文献

US2006/0251371A1 2006.11.9

CN1595121A 2005.3.16

CN1682112A 2005.10.12

WO2004/113957A2 2004.12.29

CN1866012A 2006.11.22

US2004/0047378A1 2004.3.11

审查员 马美娟

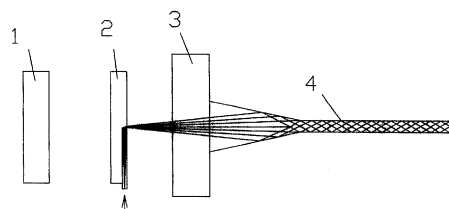
权利要求书 1 页 说明书 9 页 附图 2 页

[54] 发明名称

生化物质传感方法和生物传感器光学传感结构

[57] 摘要

生化物质传感方法，涉及光学技术领域，本发明将带有荧光体标记的特定抗体和待测物质置于反共振平面光波导内，并以激光照射，通过分析荧光信号判断待测物质中是否含有与特定抗体匹配的抗原。本发明的有益效果是，1) 波导内的导波光场比波导外的消逝场强的多，激发产生的荧光强度因而也提高了十倍以上。2) 避免了耦合损耗。3) 本发明可以有十数个狭槽波导通道，实现快速多通道同时检测。



- 1、生化物质传感方法，其特征在于，包括以下步骤：  
在反共振平面光波导内表面驻留特定的抗体；  
驱使被测样品流经反共振平面光波导内表面，使抗原与反共振平面光波导内表面驻留的抗体结合；  
在反共振平面光波导内加入带有荧光体标记的特定抗体，使其与反共振平面光波导内表面的抗原结合；  
在反共振平面光波导内传输激光，使其激发反共振平面光波导内表面的特定抗原带有的荧光体标记发出荧光信号；  
检测荧光信号。
- 2、如权利要求1所述的生化物质传感方法，其特征在于，所述荧光信号为逆向信号光。
- 3、生化传感器光学传感结构，包括：  
反共振平面光波导；  
激光耦合单元，用于将激光耦合入反共振平面光波导；  
信号光采集单元，用于采集从反共振平面光波导内反馈回来的荧光信号，其特征在于，所述荧光信号为逆向信号光。
- 4、如权利要求3所述的生物传感器光学传感结构，其特征在于：  
所述反共振平面光波导远端黑化；  
所述信号光采集单元包括非球面透镜和第一光学单元；  
反共振平面光波导、第一光学单元和非球面透镜为同轴排列；  
前述第一光学单元和非球面透镜用于汇聚来自波导内的荧光信号。
- 5、如权利要求4所述的生物传感器光学传感结构，其特征在于：  
激光通过45°镜面切口反射耦合到光波导。
- 6、如权利要求4所述的生物传感器光学传感结构，其特征在于：  
激光通过旁路耦合到光波导。
- 7、如权利要求3所述的生物传感器光学传感结构，其特征在于：  
所述反共振平面光波导内表面驻留有特定抗体。

## 生化物质传感方法和生物传感器光学传感结构

### 技术领域

本发明涉及光学技术领域，特别涉及生化传感器技术。

### 背景技术

20 世纪 70 年代以来，生物医学工程迅猛发展，作为检测生物体内化学成分的各种生物传感器不断出现。20 世纪 60 年代中期起首先利用酶的催化作用和它的催化专一性开发了酶传感器，并达到实用阶段；70 年代又研制出微生物传感器、免疫传感器等；80 年代以来，生物传感器的概念得到公认，作为传感器的一个分支它从化学传感器中独立出来，并且得到了发展，使生物工程与半导体技术相结合，进入了生物电子学传感器时代。当前，将生物工程技术与电子技术结合起来，利用生物中的奇特功能，制造出类似于生物传感器官功能的各种传感器，是国内外传感器技术研究的又一个新的研究课题，是传感器技术的新发展，具有很重要的现实意义。

最早报道的生物化学传感器是在 70 年代和 80 年代初期，从那以后，生物化学传感器成了生化酶基及亲和力传感器(包括抗体, 抗原和核酸检测)的主要发展方向, 而且还不断引入了各种类型的光学技术和系统如光反射技术, 表面等离子体 (SPR) 技术, 倏逝波技术和集成光学以及基于光纤的光谱学技术和荧光测定法。在所有的这类传感器中, 捕获生物活性材料的主变换器通常是某种形式的光纤或平面衬底, 这层平面衬底通常都是波导层。

对生物体内肉眼无法观察到的生化活性物质以及药物的分布和代谢等进行动态连续监测，一直是医学家、药理学家和生理学家研究的目标。80 年代初 Peterson 等首先报告了用于测定生物体液 pH 的光纤化学传感器(fiber optic chemical sensor, FOCS)，开创了这一由光纤、光谱和计算机技术相互交叉渗透而形成的传感新技术的先河；随着技术的进步，光纤生物传感器也得到迅猛发展。近年来国内外仍不时有有关的文献报导，美国 Analytical Chemistry 期刊每二年都有专门对 Optical Sensors 的综合评述，分别对各国最近在光学化学传感器和生化传感器各方面的研究和应用进展进行介绍，包括 general reviews、fabrication、liquid sensors、biosensors、gassenors 以及其他方面的综述。

光波导具有结构简单，体积小，耐腐蚀，电绝缘性好，便于集成等特点。光波导对诸如折射率、吸收以及放光过程例如化学发光或荧光的变化敏感。这些变化对波导中传输的光起到了调制的作用，可利用光波导的这些特性制成各类传感器。其中光波导生物传感器是将光波导技术与生物工程技术相结合，它可以在生物医学领域中发挥重要作用

最早的平面波导传感器的应用是在 1983 年，苏黎世的瑞士联邦工学院的光学实验室采用仅 100-150nm 厚的高折射率的  $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$  的平面波导，利用其对相对湿度的敏感性现象发明了一种新的集成光学传感器。它利用了光波导的导波特性和高折射率平面波导的正交极化  $\text{TE}_0$  和  $\text{TM}_0$  模式。在波导表面覆上一层有化学选择性的薄层用

来吸附气体或液体样品中的待分析分子。薄层吸附待测分子使接近波导表面的倏逝场渗透深度范围内的环境折射率发生了改变, 这种效应同时也影响了导波模式的有效折射率  $n_{TE}$  和  $n_{TM}$ 。

国外光学生物传感器的研究非常活跃, 发表的文章很多。例如依靠吸附生物介质或化学物质造成折射率的变化而制成的比色谐振式生物传感器; 表面等离子体谐振 (SPR) 传感器从全反射角的变化来测量生物物质亲和力; 用 M-Z 干涉器结构来测量因传感臂表面吸附生物物质造成光波相位的变化, 从而使输出光强发生变化; 也有采用 M-Z 干涉器结构, 参考臂和传感臂传输的是偏振方向不同的导波光, 而形成偏振干涉器输出光强用  $45^\circ$  检偏器投射到光电探测器上。

波导传感器实质就是利用了倏逝波增强技术原理, 即波导层在特定条件下的倏逝波增强。在波导共振状态时, 倏逝波场强最强, 而满足平面波导谐振条件较为苛刻。光束入射角的微小变化、环境折射率的微小变化等都会明显影响近场光强和反射光强。利用这些敏感性, 可以制成多种传感器。平面波导共振技术近年来被越来越广泛地应用于化学、生物反应的检测和研究。由于对由高分子如蛋白质等的联接引起的表面折射率的变化非常敏感, 可将特制的生物敏感膜固定在波导表面, 将它制成免疫传感器。利用生物敏感膜的特异性, 这种生化传感器能够探测多种生物分子(如抗原、抗体等)间的反应。

光波导生物传感器操作不容易, 很多工作仅停留在实验现象的观察上, 不容易转换为实用化的仪器。目前用于反恐、环保、水质、食物监测的唯一商品化的生物传感器系统是由美国海军研究室与

Research International 公司研制的小型便携式四通道荧光免疫探测器，商品名称为 RAPTOR。这为第三代产品，前两代为 Fast2000，Analyte2000。该系统是将电子学、流体力学、光学与控制软件集成为一体的高度自动化的检测设备，用于毒素、爆炸物、化学污染的现场监测。全机尺寸仅为  $18.6 \times 27.4 \times 17.3 \text{cm}$ ，不包括电池时的重量为 5.6 公斤，正常功耗为 7.2W。表 1 是美国研制的第三代生物传感器 RAPTOR 达到的技术指标。

国内一些高校也进行了生物传感器的研究，并取得一些进展。复旦大学进行了离子敏感场效应晶体管生物传感器的研究。浙江大学研究了光寻址电位传感原理的单细胞传感器。武汉科技大学和哈尔滨理工大学报道了酶生物传感器的研究成果。国防科技大学研究了光纤束荧光光纤消逝波生物传感器，该传感器采用多根光纤耦合，探测消逝波激发的荧光，类似于国外第一代传感器的结构，使用会受到种种限制。我们提出的生物传感器完全具有自主知识产权，不同于国内外同类传感器的结构。具有传感器作用面积大，检测时间短、灵敏度高、准确率高、可实现快速多通道同时检测等优点。

表 1: RAPTOR 的技术指标:

| Pathogen(病原体)                                                | Description/media                                | Limit of detection(检测极限)                            |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Ricin(蓖麻毒蛋白)                                                 | Protein toxin/water(蛋白毒素/水)                      | 1 ng/ml                                             |
| Staphylococcal enterotoxin B(葡萄糖球菌肠毒素 B)                     | Protein toxin/water(蛋白毒素/水)                      | 0.1-0.5ng/ml                                        |
| Bacillus anthracis(vegetative Sterne cells) 炭疽杆菌(营养细胞/全血))   | Vegetative cells/whole blood(营养细胞/全血))           | 100CFU/ml(菌落形成单位)                                   |
| Bacillus anthracis(irradiated Ames spores) 炭疽杆菌(扩散型 Ames 芽孢) | Irradiated spores/water(扩散型芽孢/水)                 | 5x10 <sup>2</sup> X10 <sup>2</sup> CFU/ml(菌落形成单位)   |
| Escherichia coli 0157:H7(大肠杆菌 0157:H7)                       | Vegetative cells/Hamburger slurry(营养细胞/汉堡包浆液)    | 100-1000CFU/ml(菌落形成单位)                              |
| Giardia lamblia(贾第虫蛋白)                                       | Vegetative cells/drinking water(营养细胞/饮用水)        | 5X10 <sup>2</sup> X10 <sup>2</sup> CFU/ml(菌落形成单位)   |
| Yersinia pestis F1 antigen(鼠疫杆菌 F1 抗原)                       | Capsular protein from cell wall/water(细胞壁荚膜蛋白/水) | 1ng/ml                                              |
| Ovalbumin(卵白蛋白)                                              | Protein toxin stimulant/water(蛋白毒素模拟体/水)         | 5ng/ml                                              |
| Cholera toxin(霍乱毒素)                                          | Protein toxin/water(蛋白毒素/水)                      | 0.1-1ng/ml                                          |
| Protein C (C 蛋白)                                             | Blood component/blood Plasma(血液组份/血浆)            | 160ng/ml                                            |
| Bacillus globigii(芽孢杆菌 globigii)                             | Sporulated bacteria stimulant/water(芽孢化细菌模拟体/水)  | 2.5X10 <sup>2</sup> X10 <sup>2</sup> CFU/ml(菌落形成单位) |
| Brucella abortus(布鲁菌 abortus)                                | Vegetative cells/water(营养细胞/水)                   | 7X10 <sup>2</sup> X10 <sup>2</sup> CFU/ml(菌落形成单位)   |
| Francisella tularensis                                       | Vegetative cells/water                           | 5X10 <sup>2</sup> X10 <sup>2</sup> CFU/ml(菌落形成单位)   |
| Salmonella typhimurium(鼠伤寒杆菌)                                | Vegetative cells/water(营养细胞/水)                   | 2X10 <sup>2</sup> X10 <sup>2</sup> CFU/ml(菌落形成单位)   |
| Vaccinia virus(痘苗病毒)                                         | Pox virus/water(痘病毒/水)                           | 10 <sup>2</sup> X10 <sup>3</sup> PFU/ml(噬斑形成单位)     |
| Cocaine(可卡因)                                                 | Drug of abuse/urine(滥用药物/尿液)                     | 50ng/ml                                             |
| TNT                                                          | Explosive/water(爆炸物/水)                           | 440ng/ml                                            |

## 发明内容

本发明所要解决的技术问题是,提供一种较现有技术有更高灵敏

度的生化物质传感方法和传感器结构。

本发明解决所述技术问题采用的技术方案是，生化物质传感方法，将带有荧光体标记的特定抗体和待测物质置于反共振平面光波导内，并以激光照射，通过分析荧光信号判断待测物质中是否含有与特定抗体匹配的抗原。

所述荧光信号为逆向信号光。

本发明还提供一种生化传感器光学传感结构，包括：

反共振平面光波导；

激光耦合单元，用于将激光耦合入反共振平面光波导；

信号光采集单元，用于采集从反共振平面光波导内反馈回来的荧光信号。

所述信号光采集单元还包括一个双色滤光片。所述反共振平面光波导远端黑化；所述信号光采集单元包括非球面透镜和第一光学单元；反共振平面光波导、第一光学单元和非球面透镜为同轴排列。

进一步的说，激光通过 45° 镜面切口反射耦合到光波导，或者激光通过旁路耦合到光波导。

所述反共振平面光波导内表面驻留有特定抗体。

本文所述的逆向信号光是指被激光所激发产生的、在波导内传输方向与激光相反的荧光信号。

本发明的有益效果是：

1) 激励荧光体的是波导中传输的导波光场而不是波导表面微弱得多的消逝场。波导内的导波光场比波导外的消逝场强的多，激发产

生的荧光强度因而也提高了十倍以上。

2) 荧光产生在波导内部而不是产生在波导外部, 避免了耦合损耗。

3) 本发明可以有十数个狭槽波导通道。每个狭槽经不同的活化处理, 可在表面上驻留一层不同的抗体, 因此一次检测可确定或排除多种抗原因子, 可实现快速多通道同时检测。

以下结合具体实施方式和附图对本发明作进一步的说明。

## 附图说明

图 1—2 是本发明实施例 1 的结构示意图。

图 3 是本发明实施例 2 的结构示意图。

图 4 是本发明波导率示意图。其中, 5 为衬底材料, 6 为高折射率层, 7 为低折射率层, 8 为待测物质溶液, 9 为激光传输方向, 10 为荧光传输方向。

## 具体实施方式

本发明的生化物质传感方法将带有荧光体标记的特定抗体和待测物质置于反共振平面光波导内, 并以激光照射, 通过分析荧光信号判断待测物质中是否含有与特定抗体匹配的抗原。所述荧光信号为逆向信号光。

本发明的生化传感器光学传感结构, 参见图 1, 包括:

反共振平面光波导 4;

激光耦合单元, 用于将激光耦合入反共振平面光波导;

信号光采集单元,用于采集从反共振平面光波导内反馈回来的荧光信号。信号光采集单元由第一光学单元3、非球面镜1和滤光片2构成。第一光学单元和非球面镜的作用在于汇聚波导内的荧光信号,滤光片提高信噪比。采用非球面镜(柱面镜)是因为本实施方式只需考虑汇聚垂直方向的信号光。

实施例1,参见图1-2。本发明的传感工作区波导4厚度约为30  $\mu\text{m}$ ,垂直方向上波导的宽度足够大以至每个狭槽可考虑成一个反共振平面波导。传感头后方中间为一锥形微透镜集光区,使入射光以适当的角度进传感区波导,第三部分为非球面微透镜1,用于收集从传感波导输出的荧光信号。其工作原理如下:用激光二极管作光源,使用自聚焦微透镜,将激光束耦合入反共振平面波导中。45°切口镀上反射镜面,使得在模注波导的轴线上形成一个点光源。这种以与轴线成90°的方式注入激光束,使得入射光与从波导返回的荧光信号互不相干。

传感区的平板表面预先经活化处理,在表面上驻留一层特定的抗体(AB)。当被测样品流经已驻留了特定抗体的平板表面时,样品中的抗原体(Ag)将与相应的抗体结合。这种抗体/抗原的结合具有非常强的选择性,一一对应。如果待测样品中不含与抗体对应的抗原,平板表面驻留的抗体不会与其他抗原(或毒素,化学污染物)结合。与试样中的抗原结合之后,在平板表面形成了抗体(AB)/抗原(Ag)双层结构,这时加入试剂(即是带有荧光体标记的特定抗体)。试剂中的抗体又与平板表面的抗原结合,最终在平板表面形成抗体/抗原/

荧光体这样一个夹层结构。当平板闭合形成反共振平面波导时，待测物质产生的抗体/抗原/荧光体夹层结构将出现在波导内部，因此受到在波导中传输的激光的充分照射，激励波导内表面夹层结构中的荧光体。荧光体发出波长比激发光波长更长的荧光，在波导中反向传输的部分由光电探测器探测。如图 2。出现荧光讯号表示被测试样中存在目标抗原。波导的远端黑化，使激发光不被反射到光电探测器。这种探测技术中采用了波导远端黑化，安排激光光束与信号光束逆向传输，并插入双色滤光片 2 均是为了提高信噪比。这对弱信号检测非常重要。

如果激光与信号光在波导内同向传输，信噪比将会比较低，但如果辅以外部组件以提高信噪比，也能实现与本实施例近似的效果。

实施例 2：本实施例与实施例 1 的区别在于，激光以旁路耦合进入波导，如图 3。

本发明的待测物质溶液与高低相间的光学材料共同组成 ARROW 波导，如图 4。

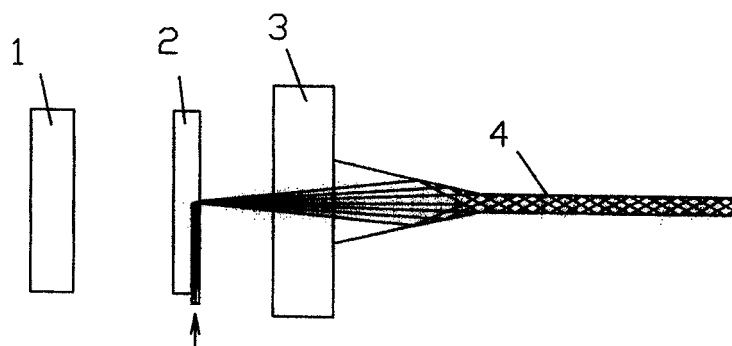


图1

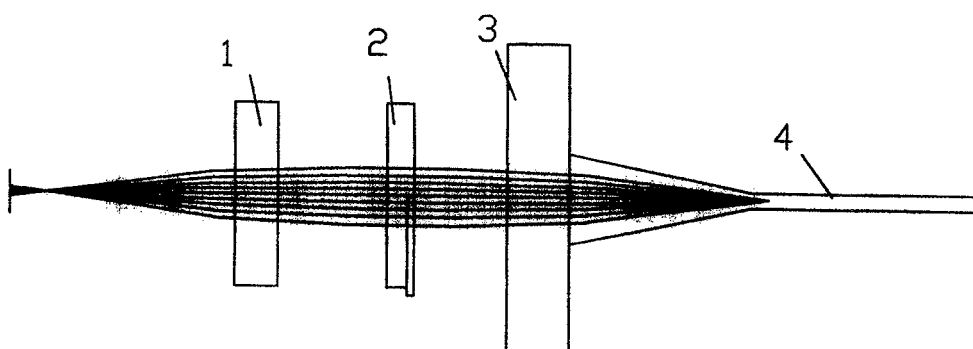


图 2

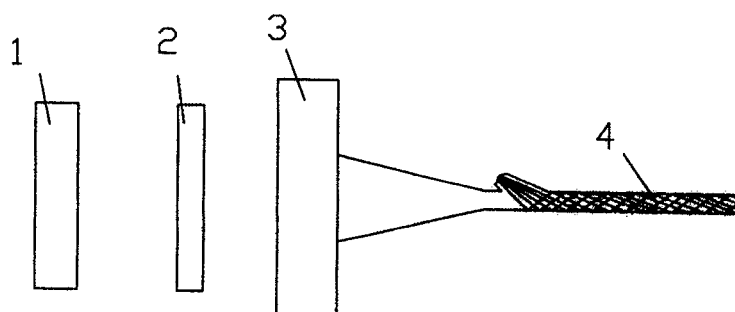


图 3

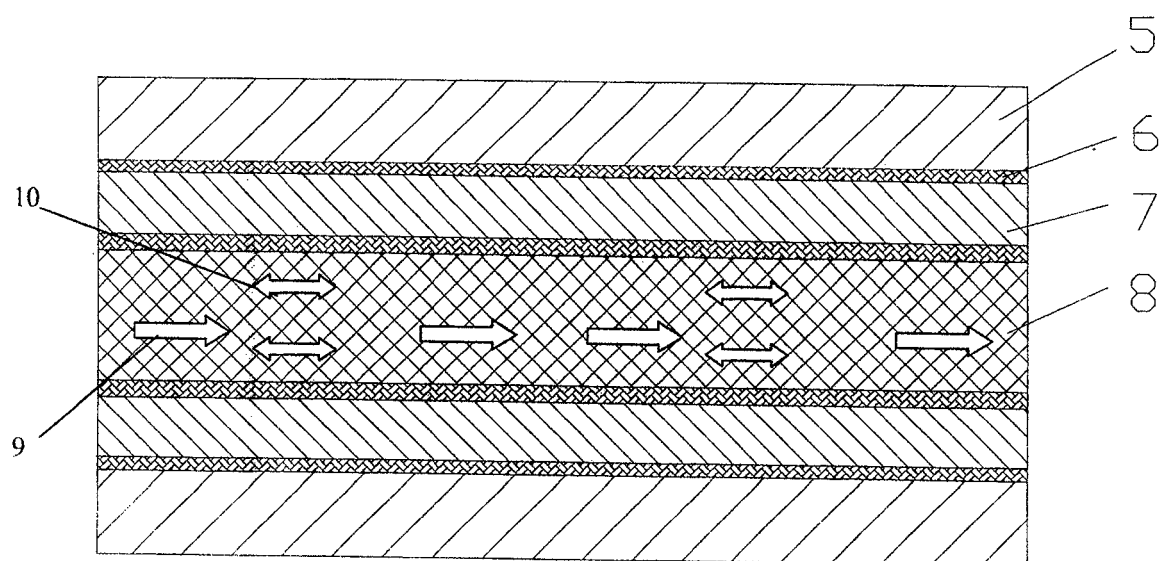


图 4

|                |                                                |         |            |
|----------------|------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 生化物质传感方法和生物传感器光学传感结构                           |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN100565190C</a>                   | 公开(公告)日 | 2009-12-02 |
| 申请号            | CN200710048273.3                               | 申请日     | 2007-01-16 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 李健                                             |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 李坚                                             |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 李坚                                             |         |            |
| [标]发明人         | 李坚<br>谢康<br>姜海明<br>谢明<br>杨华军                   |         |            |
| 发明人            | 李坚<br>谢康<br>姜海明<br>谢明<br>杨华军                   |         |            |
| IPC分类号         | G01N21/64 G01N33/53                            |         |            |
| 审查员(译)         | 马美娟                                            |         |            |
| 其他公开文献         | CN101017142A                                   |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a> |         |            |

#### 摘要(译)

生化物质传感方法，涉及光学技术领域，本发明将带有荧光体标记的特定抗体和待测物质置于反共振平面光波导内，并以激光照射，通过分析荧光信号判断待测物质中是否含有与特定抗体匹配的抗原。本发明的有益效果是，1)波导内的导波光场比波导外的消逝场强的多，激发产生的荧光强度因而也提高了十倍以上。2)避免了耦合损耗。3)本发明可以有数十个狭槽波导通道，实现快速多通道同时检测。

