



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101846674 B

(45) 授权公告日 2013. 07. 03

(21) 申请号 201010183828. 7

(22) 申请日 2010. 05. 27

(73) 专利权人 苏州生物医学工程技术研究所
地址 215163 江苏省苏州市高新区科技城龙山路 14 号

(72) 发明人 王帆 崔锦江 姜琛昱 王策
檀慧明

(74) 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限公司 32200

代理人 曹毅

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006. 01)

G01N 21/25 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 201732091 U, 2011. 02. 02,

US 2003/0206693 A1, 2003. 11. 06,

US 2009/0195778 A1, 2009. 08. 06,

CN 101696934 A, 2010. 04. 21,

CN 1961206 A, 2007. 05. 09,

US 2009/0010588 A1, 2009. 01. 08,

CN 101424619 A, 2009. 05. 06,

CN 101696933 A, 2010. 04. 21,

陶厚超. 集成光波导磁场传感器的仿真研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库》. 2009,

审查员 张云

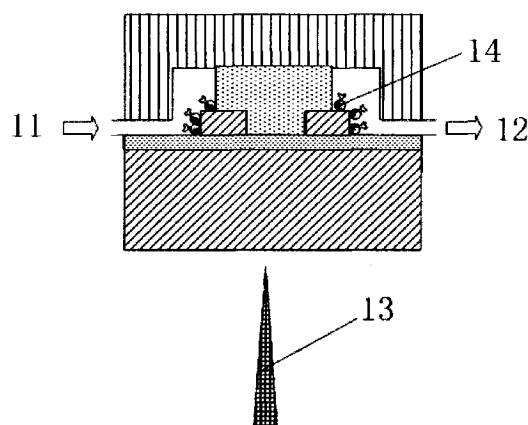
权利要求书1页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

光波导免疫传感器及其检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种光波导免疫传感器及其检测方法,所述光波导免疫传感器的基本结构包括一光波导谐振腔、一磁针以及一免疫反应池,其对纳米磁珠进行表面特异性修饰,并利用抗体-抗原反应捕捉待测物质,利用磁针将纳米磁珠有序地局域在环形或碟形光波导谐振腔表面,利用倏逝场感应免疫反应前后的折射率变化,并分析相应的谐振光谱变化,得到样品中的待测物质含量。本发明的光波导免疫传感器结构简单,基于结构紧凑的环形或碟形光波导谐振腔结构,利用磁针吸附免疫特异性修饰后的纳米颗粒到光波导表面,对谐振频率的偏移做出测量,实现准确、灵敏的免疫反应检测,器件可重复使用,具有很好的应用前景。



1. 一种光波导免疫传感器,包括一传感器衬底(7),其特征在于:所述传感器衬底(7)上设有一免疫反应池(9),所述免疫反应池(9)有一进液口(11)和一出液口(12),所述免疫反应池(9)上方设置有一反应池上覆盖层(10),所述免疫反应池(9)的底部设置有一光波导谐振腔(1),所述光波导谐振腔(1)上方设置有一光波导上限制层(4),所述光波导谐振腔(1)下方设置有一光波导下限制层(8),所述光波导上限制层(4)与所述光波导下限制层(8)之间有一耦合区(2),所述光波导谐振腔(1)通过所述耦合区(2)与一光波导(3)连接,所述光波导(3)有一进光口(5)和一出光口(6);所述光波导免疫传感器还包括一磁针(13),所述磁针(13)放置在所述光波导谐振腔(1)下方,所述磁针(13)的尖端指向所述光波导谐振腔(1)。

2. 据权利要求1所述的光波导免疫传感器,其特征在于:所述磁针(13)由一针状磁性材料与一磁极构成,或是直接由一磁极制成的磁针,用来形成指向所述光波导谐振腔(1)中心或由所述光波导谐振腔(1)中心出发的磁感线分布。

3. 根据权利要求1所述的光波导免疫传感器,其特征在于:所述光波导谐振腔(1)为环形或碟形谐振腔。

4. 一种根据权利要求1或2或3所述的光波导免疫传感器的检测方法,其特征在于:包括如下步骤,

1) 采用直径20-200nm的纳米磁珠,磁性量子点材料为Fe₃O₄,外包覆材料为聚苯乙烯,利用表面待用羧基的纳米磁珠和抗体通过EDC交联,得到表面修饰后纳米磁珠(14);

2) 将表面修饰后纳米磁珠(14)混合入溶液中,并由进液口(11)引入免疫反应池(9)中;

3) 将磁针(13)尖端放置在光波导谐振腔(1)中心下方的位置,表面修饰后纳米磁珠(14)会被吸附在光波导谐振腔(1)表面;

4) 将某一红外波长和强度的激光通入进光口(5),并将出光口(6)输出的光信号导入光谱分析设备;

5) 从进液口(11)通入缓冲液,冲洗去未被吸附的表面修饰后纳米磁珠(14),再通入含有待测物的溶液,最后通入缓冲液冲洗去多余的溶液;

6) 利用光谱分析设备测量通入待测物前后的光谱变化,计算出待测物的浓度;

7) 检测结束后,撤去磁针(13),通入缓冲液清洗去表面修饰后纳米磁珠(14)。

光波导免疫传感器及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种传感器,具体涉及一种光波导免疫传感器及其检测方法。

背景技术

[0002] 随着经济的持续高速增长,人民群众生活水平迅速提高,城市化进程不断加快,生活环境不断发生变化。新的环境条件导致了新的疾病和疾病变异的出现,给我国的医疗卫生部门带来了新的压力。同时,传统重大疾病如艾滋病、结核病、肝炎等还未得到有效遏制,仍在危险着人民群众的健康。要保障健康,做好预防和治疗的工作,迫切需要在分子水平上对人体、周围环境、食品中潜在的对人类健康产生影响的生物物质进行快速、准确的检测。但是待测的生物物质往往含量微小,样品成分复杂,其检测非常困难。利用高选择性的抗原-抗体免疫反应实现对分析对象进行捕捉,可大幅提升传感器的选择性和灵敏度,这种传感设备被称为免疫传感器。免疫传感器是先进的检测、诊断设备的核心器件,研制出高性能免疫传感器有着重要的意义。

[0003] 免疫传感器将高灵敏度的传感技术与特异性免疫反应结合起来,现已能用于激素、病毒、癌细胞表面抗原、细菌表面抗原等的检测。但是传统的方法在针对微量样品时,往往需要进行繁琐的生化分离、样品培养、提纯扩增和生物富集等操作,耗费大量的时间和成本,延误病情,导致疾病的进一步传播。微流控技术将样品制备、反应、检测等基本操作集成到了一块很小的芯片上,把生化、光机电等领域的技术有机地结合在一起。微流免疫分析系统将免疫方法与微流控技术相结合,提升了传感器的选择性、准确性,将生化分析和检测设备的微型化、快速化带进了一个崭新的时代。微流免疫传感器是未来免疫传感器的发展方向之一。

[0004] 目前免疫分析的方法按其检测的物理量主要可分为电学和光学两类。基于电学的免疫传感技术结构简单、操作方便,但是易受温度、溶液 pH 值、离子浓度的影响,且不可避免的会受到电磁干扰。基于光学的免疫传感器不仅不受电磁干扰,还可在单器件上提供多参数的测量,并实现远程传感,具有很好的应用前景。尤其与集成光波导技术相结合,可大幅下降低化传感器的体积,提高集成度、降低成本。由于同样是基于平面加工技术,集成光波导技术与微流控技术完全兼容。目前,集成光学系统的免疫分析的主要技术有:

[0005] (1) 标记型。采用特殊的染色团对目标分子进行标记,然后利用荧光显微镜等设备进行分析。其灵敏度可以达到单个分子,非特异性响应小。但检测过程复杂,染色操作难以精确控制,无法针对个别分子进行染色,且染色标记往往会对生物分子产生一定的影响。

[0006] ①激光诱导荧光检测。是目前最灵敏的检测方法之一,但许多聚合物材料的自发荧光产生会产生大量的背景噪声,影响传感的选择性,样品的提纯和材料的选择显得非常重要。

[0007] ②化学发光检测。无需激发光源,因此可避免自发辐射带来的背景干扰,但是需要非常灵敏的探测器。

[0008] (2) 无标记型。可直接测定抗原-抗体复合时的物理、化学变化,制备和操作过程

简单,可实现动态、定量测量,是免疫传感器发展的重要方向之一。常用倏逝场感知光波导周围的折射率或吸收率变化,引起器件的输出光强或光谱发生相应的变化,探测出变化量即可推算待测物的浓度。

[0009] ①干涉检测。结构简单,易于实现,但是抗原-抗体反应引起的折射率变化通常很小,干涉臂的传感区往往需要相当的长度,限制了器件尺寸的减小。

[0010] ②表面等离子谐振检测。表面等离子体技术的波导传感器的灵敏度很高,但其灵敏度受共振峰宽度的影响,使工作波长受限,且可用于制作金属膜的材料种类较少,难以进一步优化性能。

[0011] ③谐振光谱检测。谐振腔波导周围的折射率发生变化后,会导致谐振频率的移动,可用来分析待测物质的浓度。由于等效探测长度 $L_{\text{eff}} \approx LQ$, 其中, L 为传感区长度, Q 为谐振腔品质因子,因此高 Q 值的光波导谐振腔可显著增加光与物质的等效探测长度和作用时间,提升传感灵敏度。集成光波导的谐振腔的主要结构有 Fabry-Parot 腔、碟形和环形谐振腔。Fabry-Parot 腔是重要的光学谐振腔,结构简单,但是需要制作反射面,而高质量的反射面难以用平面加工技术实现。

[0012] 由上面的比较和分析可以看出,集成光波导环形谐振腔型免疫传感器无需标记,灵敏度高,结构紧凑灵活,可应用于方便、快捷、灵敏和廉价的分子诊断和检测设备中,适合临床治疗和生物医学的发展的迫切需要。

[0013] 以往的光波导免疫传感器一般是直接在光波导表面进行特异性功能修饰,但是表面功能化操作的工艺复杂、难度大,价格相当昂贵,并会限制整个传感芯片的存放时间,且在同一材料表面做不同的改性操作难度大。这种方案再生难度大,再生操作通过会引起器件重复性的下降。采用磁分离技术,可将特异性修饰的表面和传感芯片分离,并实现传感芯片的再生。但是免疫抗体-抗原反应引起的折射率通常很小,利用光波导干涉的结构需要的干涉臂很长,限制器件灵敏度。

发明内容

[0014] 为克服现有技术中的不足,本发明的目的在于提供一种光波导免疫传感器,该免疫传感器,保存方便,无需荧光标记,尺寸小、易于集成,可对生物物质实现准确、灵敏的定量测量,并可重复使用。

[0015] 本发明的另一个目的在于提供一种利用本发明的光波导免疫传感器的检测方法。

[0016] 为了解决上述技术问题,实现上述目的,本发明采用了如下技术方案:

[0017] 一种光波导免疫传感器,包括一传感器衬底,所述传感器衬底上设有一免疫反应池,所述免疫反应池有一进液口和一出液口,所述免疫反应池上方设置有一反应池上覆盖层,所述免疫反应池的底部设置有一光波导谐振腔,所述光波导谐振腔上方设置有一光波导上限制层,所述光波导谐振腔下方设置有一光波导下限制层,所述光波导上限制层与所述光波导下限制层之间有一耦合区,所述光波导谐振腔通过所述耦合区与一光波导连接,所述光波导有一进光口和一出光口。

[0018] 进一步的,所述光波导免疫传感器还包括一磁针,所述磁针放置在所述光波导谐振腔下方,所述磁针的尖端指向所述光波导谐振腔。

[0019] 优选的,所述磁针由一针状磁性材料与一磁极构成,或是直接由一磁极制成的磁

针,用来形成指向所述光波导谐振腔中心或由所述光波导谐振腔中心出发的磁感线分布。

[0020] 优选的,所述光波导谐振腔为环形或碟形谐振腔。

[0021] 下面具体说明本发明的光波导免疫传感器的检测原理。

[0022] 光经由输入光波导进入所述耦合区,一部分光功率将耦合进所述光波导谐振腔,如果光波长适当,即满足光在所述光波导谐振腔内绕行一周后相位相同,形成叠加增强,于是光场将在所述光波导谐振腔内形成谐振。发生谐振的波长:

$$[0023] \quad \lambda_{res} = \frac{n_{eff} L_u}{m} \quad (1)$$

[0024] 其中, m 是正整数, n_{eff} 是有效折射率, L_u 是环形谐振腔的周长。

[0025] 发生谐振的光波长将在所述光波导谐振腔内聚集大量能量,使得光在所述光波导谐振腔内绕行时的损耗增大,如果使所述耦合区的耦合比例满足一定的关系,甚至可以使输出光波导的光功率为零。这意味着所述光波导谐振腔可以在谐振频率处引入一个强吸收点。

[0026] 在溶液中通入待测物质后,将会在纳米磁珠表面发生免疫反应,免疫反应将改变所述光波导谐振腔周围的折射率,若周围折射率的改变,那么由于倏逝场的作用,所述光波导谐振腔的有效折射率将会发生改变。有效折射率与周围折射率变化的关系如下:

$$[0027] \quad \Delta n_{eff} = \frac{(\Delta n_M)^2}{\eta_0 P} \iint_M |E(x, y)|^2 dx dy \quad (2)$$

[0028] 其中, Δn_{eff} 有效折射率的变化, Δn_M 是发生免疫反应的后的折射率变化, η_0 是自由空间的特性阻抗, E 是电场矢量, P 是整个截面的总功率, M 是发生免疫反应的区域。

[0029] 根据公式 (2) 可知,免疫反应在所述光波导谐振腔表面发生的折射率变化将引起整个光波导的有效折射率变化,根据公式 (1),这个有效折射率变化又将引起谐振频率的变化,因此,输出光谱的吸收点也将随之移动。其移动量 $\Delta \lambda_{res}$ 与有效折射率的变化 Δn_{eff} 的关系为:

$$[0030] \quad \Delta \lambda_{res} = \frac{\Delta n_{eff} L_u}{m} \quad (3)$$

[0031] 假设免疫反应完全,即受体的量远大于待测物质的量,那么波导表面的折射率变化 Δn_M 与反应物质浓度的关系就可以表示为:

$$[0032] \quad \Delta n_M = \sigma \rho V \quad (4)$$

[0033] 其中, V 是加入的含待测物质的溶液体积, ρ 是待测物质浓度, σ 是能发生的免疫反应产生的折射率变化系数。

[0034] 因此,根据式 (1)–(4),利用光谱分析装置测量出谐振波长的移动,就可以计算出待测物质的含量。

[0035] 利用本发明的光波导免疫传感器的检测方法如下:

[0036] 表面修饰后纳米珠混入溶液中,再由进液口输入到免疫反应池中,将磁针靠近所述光波导谐振腔下方,使磁性纳米颗粒被吸附在光波导谐振腔表面,利用进光口导入激光,利用出光口将光信号送入光谱分析器,然后利用进液口导入含有待测物质的溶液,反应后再导入缓冲液,分析由阵列波导光栅输出的谐振光谱偏移,计算出相应的折射率变化,以及待测溶液中的待测物浓度,将磁针撤离谐振腔,并利用缓冲液冲洗去磁性纳米颗粒,可实现

此传感器的再生,以备下次使用。

[0037] 本发明的光波导免疫传感器结构简单,基于结构紧凑的环形或碟形光波导谐振腔结构,利用磁针吸附免疫特异性修饰后的纳米颗粒到光波导表面,对谐振频率的偏移做出测量,实现准确、灵敏的免疫反应检测,器件可重复使用,具有很好的应用前景。

[0038] 上述说明仅是本发明技术方案的概述,为了能够更清楚了解本发明的技术手段,并可依照说明书的内容予以实施,以下以本发明的较佳实施例并配合附图详细说明如后。本发明的具体实施方式由以下实施例及其附图详细给出。

附图说明

[0039] 图1为本发明的去除反应室上覆盖层后的光波导免疫传感器的基本结构俯视图。

[0040] 图2为在图1结构上加上反应室上覆盖层后,图1的A-A'剖面图。

[0041] 图3为在图1结构上加上反应室上覆盖层后,图1的B-B'剖面图。

[0042] 图4为将磁针放置在光波导谐振腔中心附近的下方,将免疫修饰后的纳米磁珠吸附在光波导表面的示意图。

[0043] 图5为本发明通入待测物溶液前后的输出光谱曲线。

[0044] 图中标号说明:1、光波导谐振腔,2、耦合区,3、与谐振腔耦合的波导,4、光波导上限制层,5、进光口,6、出光口,7、传感器衬底,8、光波导下限制层,9、免疫反应池,10、免疫反应池上覆盖层,11、进液口,12、出液口,13、磁针,14、表面修饰后纳米磁珠。

具体实施方式

[0045] 下面结合附图和实施例对本发明的技术实施过程做进一步说明。

[0046] 参见图1、图2、图3、图4所示,一种光波导免疫传感器,包括一传感器衬底7,所述传感器衬底7上设有一免疫反应池9,所述免疫反应池9有一进液口11和一出液口12,所述免疫反应池9上方设置有一反应池上覆盖层10,所述免疫反应池9的底部设置有一光波导谐振腔1,所述光波导谐振腔1上方设置有一光波导上限制层4,所述光波导谐振腔1下方设置有一光波导下限制层8,所述光波导上限制层4与所述光波导下限制层8之间有一耦合区2,所述光波导谐振腔1通过所述耦合区2与一光波导3连接,所述光波导3有一进光口5和一出光口6。

[0047] 所述光波导免疫传感器还包括一磁针13,所述磁针13放置在所述光波导谐振腔1下方,所述磁针13的尖端指向所述光波导谐振腔1。

[0048] 优选的,所述磁针13由一针状磁性材料与一磁极构成,或是直接由一磁极制成的磁针,用来形成指向所述光波导谐振腔1中心或由所述光波导谐振腔1中心出发的磁感线分布。

[0049] 优选的,所述光波导谐振腔1为环形或碟形谐振腔。

[0050] 利用本发明的光波导免疫传感器的检测过程如下:

[0051] 1) 采用采用直径20-200nm的纳米磁珠,本实施例中直径选用80nm的纳米磁珠,磁性量子点材料为 Fe_3O_4 ,外包覆材料为聚苯乙烯,利用表面待用羧基的纳米磁珠和抗体通过EDC交联,得到表面修饰后纳米磁珠14;

[0052] 2) 将表面修饰后纳米磁珠14混合入溶液中,并由进液口11引入免疫反应池9中;

[0053] 3) 将磁针 13 尖端放置在光波导谐振腔 1 中心下方的位置, 表面修饰后纳米磁珠 14 会被吸附在光波导谐振腔 1 表面, 如图 4 所示;

[0054] 4) 将某一红外波长和强度的激光通入进光口 5, 并将出光口 6 输出的光信号导入光谱分析设备;

[0055] 5) 从进液口 11 通入缓冲液, 冲洗去未被吸附的表面修饰后纳米磁珠 14, 再通入含有待测物的溶液, 最后通入缓冲液冲洗去多余的溶液;

[0056] 6) 利用光谱分析设备测量通入待测物前后的光谱变化, 变化曲线如图 5 所示 (图中实线部分表示通入待测物前的情况, 虚线部分表示通入待测物后的情况), 然后利用式 (1)-(4) 可计算出待测物的浓度;

[0057] 7) 检测结束后, 撤去磁针 13, 通入缓冲液清洗去表面修饰后纳米磁珠 14。

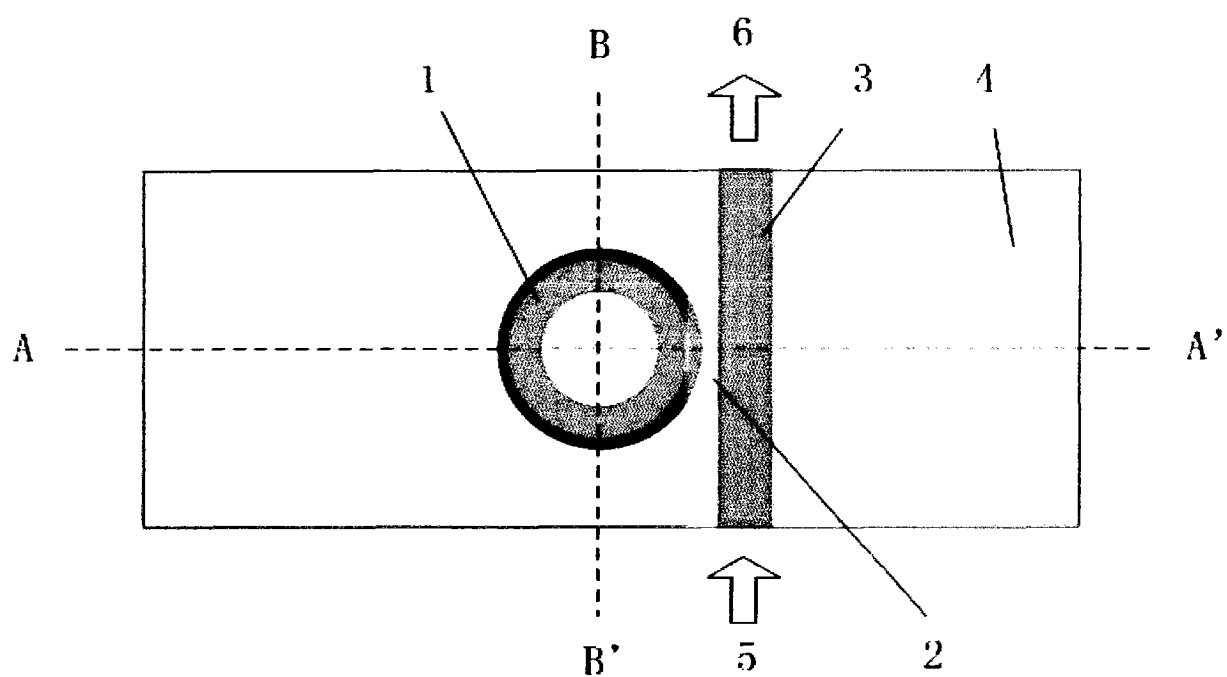


图 1

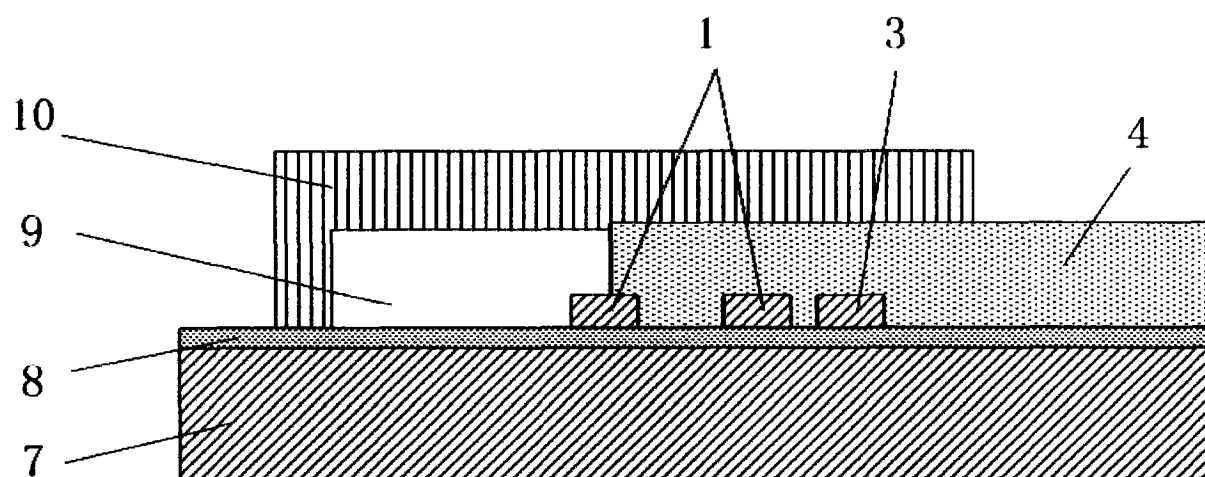


图 2

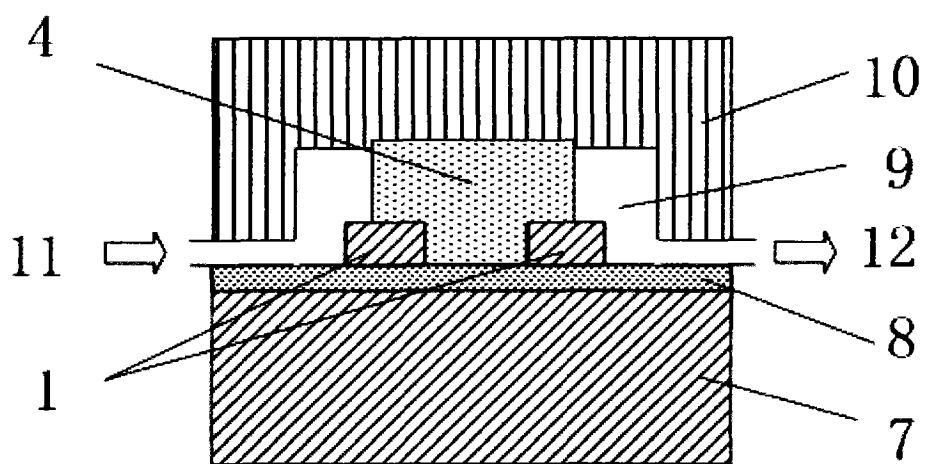


图 3

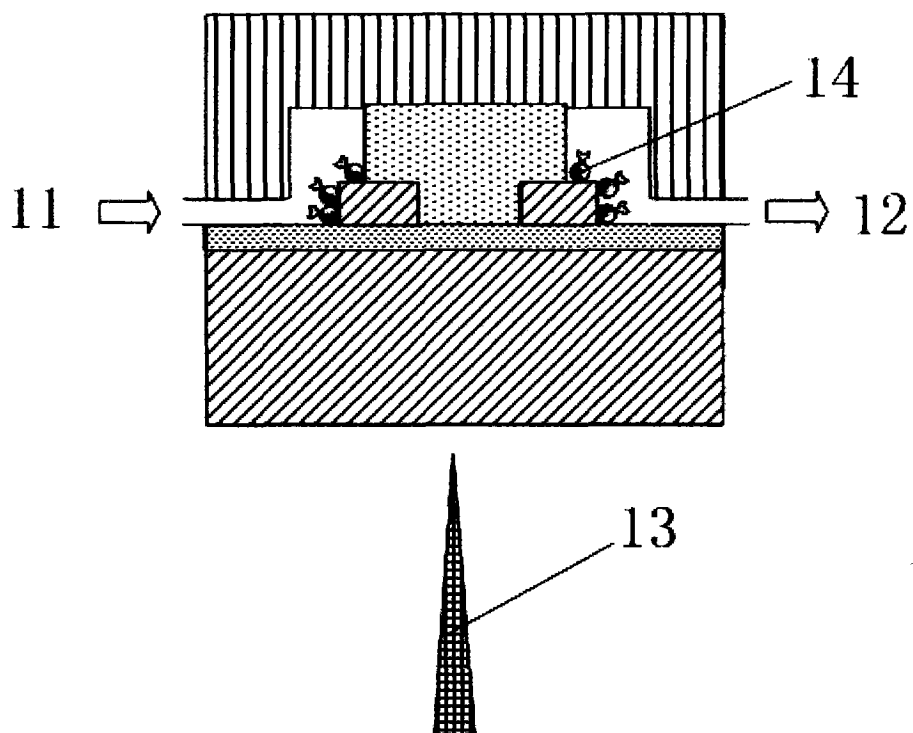


图 4

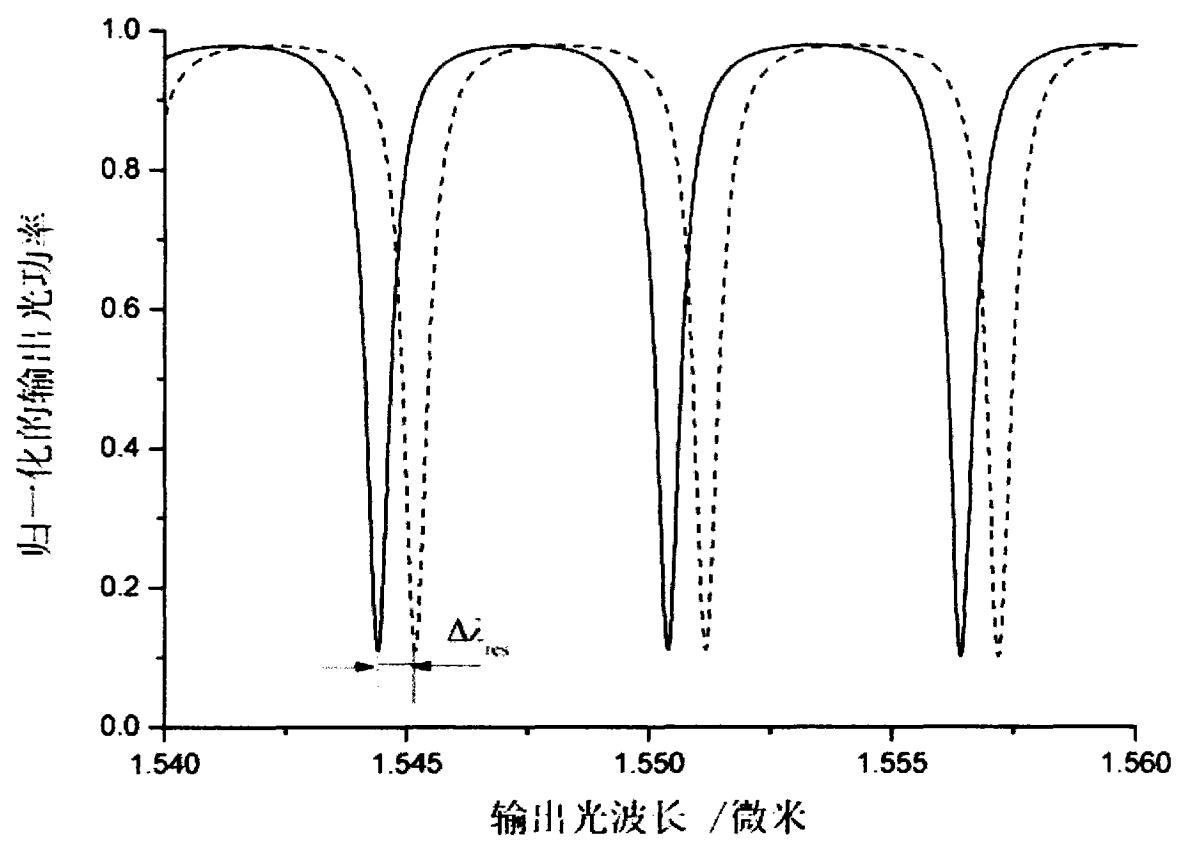


图 5

专利名称(译)	光波导免疫传感器及其检测方法		
公开(公告)号	CN101846674B	公开(公告)日	2013-07-03
申请号	CN201010183828.7	申请日	2010-05-27
[标]申请(专利权)人(译)	苏州生物医学工程技术研究所		
申请(专利权)人(译)	苏州生物医学工程技术研究所		
当前申请(专利权)人(译)	苏州生物医学工程技术研究所		
[标]发明人	王帆 崔锦江 姜琛昱 王策 檀慧明		
发明人	王帆 崔锦江 姜琛昱 王策 檀慧明		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/25		
代理人(译)	曹毅		
审查员(译)	张云		
其他公开文献	CN101846674A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种光波导免疫传感器及其检测方法，所述光波导免疫传感器的基本结构包括一光波导谐振腔、一磁针以及一免疫反应池，其对纳米磁珠进行表面特异性修饰，并利用抗体-抗原反应捕捉待测物质，利用磁针将纳米磁珠有序地局域在环形或碟形光波导谐振腔表面，利用倏逝场感应免疫反应前后的折射率变化，并分析相应的谐振光谱变化，得到样品中的待测物质含量。本发明的光波导免疫传感器结构简单，基于结构紧凑的环形或碟形光波导谐振腔结构，利用磁针吸附免疫特异性修饰后的纳米颗粒到光波导表面，对谐振频率的偏移做出测量，实现准确、灵敏的免疫反应检测，器件可重复使用，具有很好的应用前景。

