

基于 RCWA 的蛋白质光学生物传感器的研究

黄子吉^{1,2}, 任哲毅^{1,2}, 肖杰^{1,2}, 白忠臣^{1,2}, 陆安江^{1,2*}

(1. 贵州大学 大数据与信息工程学院, 贵阳 550025;

2. 贵州省光电子技术及应用重点实验室, 贵阳 550025)

摘要:设计了一种蛋白质光学生物传感器, 运用严格耦合波 (RCWA) 方法对该传感器进行理论分析, 通过计算机仿真模拟, 分析了传感器敏感介质膜系的反射率与激光入射角度和待测蛋白质的折射率、厚度之间的关系。由模拟结果可得: 光学生物传感器敏感介质膜系的反射率和激光入射角度与待测蛋白质的折射率、厚度都有良好的线性响应特性, 且随着厚度增加灵敏度增加。因此, 可以通过检测传感器敏感介质膜系的反射率和入射角度得到待测蛋白质的折射率, 通过调控抗体层和抗原层的厚度增减灵敏度。该光学生物传感器可用于检测蛋白质的种类和含量, 具有灵敏度高、实时和无标记等优点。

关键词:光学生物传感器; 蛋白质检测; 严格耦合波分析法 (RCWA); 反射率; 折射率

中图分类号: O439; TP212.14 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-5561(2018)01-0034-04

DOI: 10.13921/j.cnki.issn1002-5561.2018.01.010

Research on protein optical biosensor based on RCWA

HUANG Ziji^{1,2}, REN Zheyi^{1,2}, XIAO Jie^{1,2}, BAI Zhongchen^{1,2}, LU Anjiang^{1,2*}

(1. College of Big Date and Information Engineering, Guizhou University,

Guiyang 550025, China; 2. Key Lab of Optoelectronic Technoology and

Application Guizhou Province, Guiyang 550025, China)

Abstract: This paper designs protein optical biosensor, theoretically analyzes the sensor by rigorous coupled wave(RCWA) method, analyzes the relationship between the reflectivity of sensitive media membrane system from the sensor and laser incidence angle and the refractive index, thickness of the protein by computer simulation. From the simulation results can be obtained: the reflectivity of sensitive media membrane system from the sensor and the laser incidence angle and refractive index, thickness, incidence angle of the protein has a good linear response characteristic, and the sensitivity increases with the increase of thickness. So that the refractive index of the protein can be obtained by detecting the reflectance of sensitive media membrane system from the sensor and the laser incident angle, and can control the thickness of antibodies and antigens to increase or decrease the sensitivity. The optical biosensors designed can be used to detect the type and content of proteins, it has the advantages of high sensitivity, real-time and no mark.

Key words: optical biosensor; protein detection; RCWA; reflectivity; refractive index

0 引言

光学生物传感器的技术原理是利用光学物质与

待测生物成分发生物理或化学作用, 使其光学性质发生改变, 进而测出待测物质的基本信息。由于光学生物传感器具有操作简单、稳定性好和不会对待测物造成损伤等特点^[1,2], 被广泛应用于生物分析等研究领域。蛋白质含量的检测是临床医学中常用来诊断疾病的重要手段, 它在生物、食品方面具有重要的意义。目前, 常用蛋白质检测方法主要有 Biuret 法、紫外吸收法、Bradford 法和定氮法等^[3,4], 这几种方法有制备工艺

收稿日期: 2017-09-26。

基金项目: 国家科技支撑计划(2015BAK28B02)资助; 国家国际合作专项(2014DFA00670)资助; 贵州省科技重大专项(黔科合重字[2016]3022号)资助。

作者简介: 黄子吉(1991-), 女, 硕士, 主要研究方向为光电子技术的应用。

* 通信作者: 陆安江(E-mail: 39146565@qq.com)。

复杂、耗时长和易存在干扰物质等缺点,不能广泛应用于蛋白质含量的检测^[5-7]。折射率是一种会随着环境中温度、浓度等参数的变化而变化的物理特性,通过检测待测样品的光学性能、色散和浓度等物理量可以间接获得待测物质的折射率。因此,可以通过检测待测样品的折射率来检测蛋白质的含量,

目前,常用的折射率检测方法主要有表面等离子体共振法、倏逝波法和荧光传感器法等^[8-10],但这些检测方法需要昂贵的设备和复杂的前期处理过程,不能广泛应用于实际检测中。因此,设计一种简便易行、花费低廉、灵敏度高且快速实时高效的光谱学方法来测定蛋白质含量(特别是微量含量)已成为当前快速检测领域的研究热点。基于此,本文运用严格耦合波(RCWA)设计一款蛋白质光学生物传感器^[11,12]。

1 光学生物传感器结构分析

1.1 传感器结构设计

本文设计的光学生物传感器的结构示意图如图 1 所示。该传感器的结构包括石英基底层(T1)、PMMA 层(T2)、金属光栅层、抗原层(T3)和待测蛋白质抗体层(T4)。各膜层参数示意图如图 2 所示,其中金属光栅层的材料为金(Au),周期 $\Lambda=1562.5\text{nm}$,光栅高度为 $d=1000\text{nm}$;T1 层的内部折射率 $n_1=1.45$;T2 层的宽度为 $2P$,高度为 $300P$ ($P=312.5\text{nm}$),内部折射率 $n_2=1.5$;T3 初始宽度为 $5P$,高度为 $300P$,内部折射率 $n_3=1.34$;T4 初始宽度为 $5P$,高度为 $300P$,内部折射率为 n_4 。

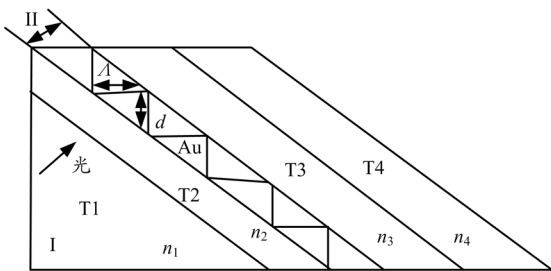


图 1 光学生物传感器

我们使用 RCWA 方法对所设计的传感器进行分析,并通过计算机实现仿真模拟。当待测蛋白质分子附着在金属光栅检测区域表面时,由传感器内部入射一束光到金属光栅检测区。光在光栅界面处发生反射和透射,反射率和透射率的变化曲线图中共振峰的高度位置变

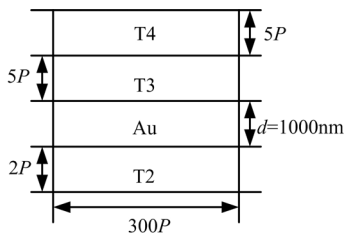


图 2 各膜层参数示意图

化对应待测蛋白质的含量变化。因此,通过检测传感器金属光栅区域敏感介质膜系的反射率或透射率可以测定蛋白质的含量和信息。

1.2 传感器原理

本文用 RCWA 法求解横磁波入射时,此光学生物传感器的反射电磁场分布,进而求得传感器敏感介质膜系的光反射率^[13-15]。

首先,用傅里叶级数将光栅结构材料的介电常数展开为:

$$\varepsilon(x)=\sum_h \varepsilon_h \exp\left(j\frac{2\pi h}{p}x\right), h=0,1,2,3,\dots \quad (1)$$

其中, x 表示傅里叶级数展开方向; j 为虚部; h 表示傅里叶展开的级数, $h=1,2,3,\dots$; ε_h 为第 h 级介电常数分量。

然后,对于横磁偏振,入射光的归一化频率为:

$$H_{inc,y}=\exp[-jk_0n_1(x\sin\theta+z\cos\theta)] \quad (2)$$

其中, n_1 表示 T1 层的内部折射率, θ 表示入射光与 y 方向夹角。入射区域 I 和反射区域 II 的归一化磁场分别为:

$$\begin{cases} H_{I,y}=H_{inc,y}+\sum_i R_i \exp[-j(k_{xi}x-k_{Lzi}z)] \\ H_{II,y}=\sum_i T_i \exp\{-j[k_{xi}x-k_{Lzi}(z-d)]\} \end{cases} \quad (3)$$

其中, R_i 为 I 区的第 i 阶反射波的归一化磁场振幅, T_i 为 II 区的第 i 阶反射波的归一化磁场振幅, d 为光栅高度。 k_{xi} 、 k_{Lzi} 分别为常数 k_0 在 x 轴和 z 轴上的分量:

$$k_{xi}=k_0[n_1\sin\theta-i(\lambda_0/p)] \quad (4)$$

$$k_{Lzi}=\begin{cases} +k_0\left[n_l^2-(k_{xi}/k_0)^2\right]^{1/2}, & k_0n_l>k_{xi} \\ -jk_0\left[(k_{xi}/k_0)^2-n_l^2\right]^{1/2}, & k_0n_l<k_{xi} \end{cases}, l=I,II \quad (5)$$

其中, λ_0 为入射波的波长。根据式(1)~式(5),再联立区域 I、II 边界处的切线电场和切线磁场连续的边界条件^[16],即可求得反射光的总反射率 R_r :

$$R_r=\sum_{i=1}^n R_i R_i^* \operatorname{Re}\left(\frac{k_{Lzi}}{k_0n_1\cos\theta}\right) \quad (6)$$

根据式(6)可以计算出光学生物传感器敏感介质膜系的总反射率。

2 模拟结果与讨论

2.1 激光入射角、传感器敏感介质膜系的反射率与蛋白质折射率三者间的关系

蛋白质抗体层折射率 n_4 变化时,激光入射角与传

传感器敏感介质膜系反射率的关系如图 3 所示。随着激光入射角度的不断变化,光学生物传感器敏感介质膜系的反射率出现不同的波峰值;随着待测蛋白质抗体层折射率变化(n_4 的变化范围为 1.32~1.37),传感器敏感介质膜系的反射率变化波峰的位置和峰值大小也会发生相应变化。

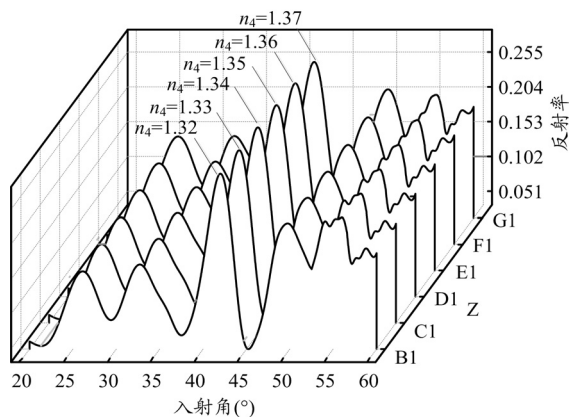


图 3 n_4 变化时,激光入射角与敏感介质膜系反射率的变化关系

折射率 n_4 在 1.32~1.37 范围内变化时,最大反射角处的激光入射角与敏感介质膜系反射率之间的关系如图 4 所示。可以看出,增加待测蛋白质膜层 n_4 后,传感器敏感介质膜系的反射率可以通过检测波峰处的激光入射角度来获得。

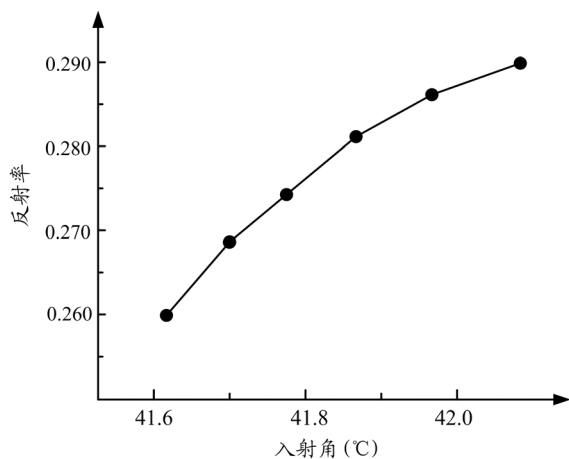


图 4 n_4 变化时,最大反射角处的激光入射角与传感器敏感介质膜系反射率之间的关系

图 5 为跟踪图 3 中指向峰值的激光入射角度随抗体层折射率变化的变化情况。由图 5 可知,在某一反射波峰处,其激光入射角度与待测蛋白质折射率的变化关系满足线性关系,如式(7)所示:

$$y = A + Bx \quad (7)$$

其中, A 表示截距, B 表示斜率。经计算得到相关系数 $R^2=0.99827$ 。因此,检测反射光谱中特定波峰处的激光

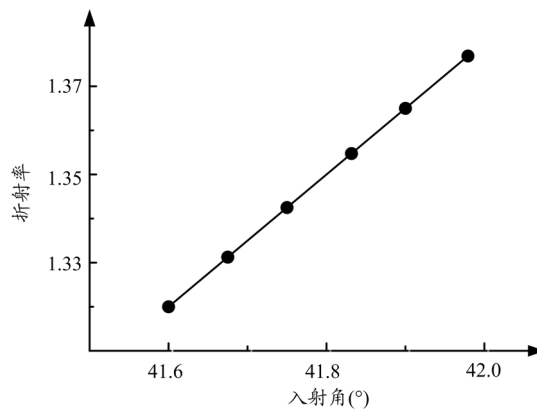


图 5 特定峰值处,激光入射角与折射率的变化关系

入射角度即可获得待测蛋白质的折射率,从而确定待测蛋白质的信息。

2.2 传感器敏感介质膜系的反射率、蛋白质抗体层和抗原层厚度与蛋白质折射率的关系。

在本文设计的传感器结构中,与金属光栅层相邻的是 PMAA 层;在传感器中 PMAA 层的折射率保持不变;当其余参数确定时,反射峰的位置由金属光栅层和相邻介质的折射率来决定。因此,可以通过改变抗原层和待测蛋白质抗体层的折射率和厚度来观察反射峰的变化,用以测定蛋白质的相关信息。

2.2.1 不同折射率下的对比分析

光学生物传感器敏感介质膜系的反射率随待测蛋白质抗原层和抗体层折射率(n_3 和 n_4) 变化的情况如图 6 所示。可以看出,在厚度相同且其它参数不变的前提下,传感器敏感介质膜系的反射率与 n_3 和 n_4 呈式(7)的线性关系,相关系数 R^2 分别为 0.99587 和 0.95141。因此,可以由传感器敏感介质膜系的反射率得到待测蛋白质折射率的变化,从而可以检测出待测蛋白质的含量。

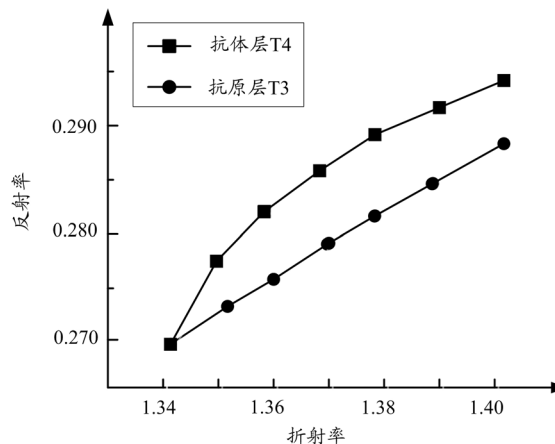


图 6 传感器敏感介质膜系的反射率与待测蛋白质抗原层、抗体层折射率的变化关系

2.2.2 不同厚度下的对比分析

传感器敏感介质膜系的反射率除了与待测蛋白质抗体层、抗原层折射率有关,还与其抗体层、抗原层的厚度有关。当抗原层的厚度为 $4.8P$ 、抗体层厚度分别为 $4.9P$ 和 $5P$ 时,光学生物传感器敏感介质膜系的反射率与待测蛋白质折射率的变化关系如图 7 所示。可以看出,反射率随折射率变化的变化曲线满足式(7)的线性关系,相关系数 R^2 依次为 0.99659、0.993 和 0.98786。因此,在折射率一定的情况下,可以通过反射率的变化得到待测蛋白质抗体层和抗原层的厚度变化。

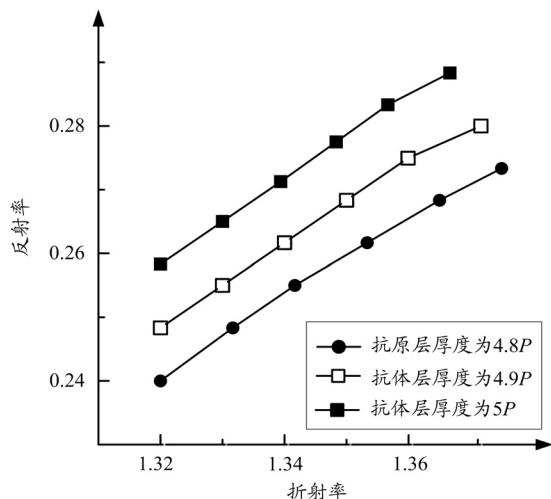


图 7 随着抗体层、抗原层厚度变化下,传感器敏感介质膜系的反射率与待测蛋白质折射率之间的变化关系

综合以上实验结果我们可以得出结论:待测蛋白质的折射率可由光学生物传感器敏感介质膜系的反射率和激光入射角度来检测,且待测蛋白质抗体层和抗原层的折射率变化和厚度变化都会对待测蛋白质的含量测定产生相应影响。

3 结束语

本文通过计算机仿真,设计了一种蛋白质光学生物传感器,运用严格耦合波(RCWA)方法对提出的模型进行理论分析,分析了光学生物传感器敏感介质膜系的反射率与激光入射角度和待测蛋白质的折射率、厚度之间的关系。结果表明,光学生物传感器敏感介质膜系的反射率与激光入射角度和待测蛋白质的折射率、厚度具有良好线性响应特性,并随着厚度的增加灵敏度增加。所以,本文设计的光学生物传感器可以同时检测蛋白质的含量和种类,且具有灵敏度高、

实时和无需标记等特点,在蛋白质含量的检测领域中具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] BORISOV S M, WOLFBEIS O S. Optical Biosensor [J]. Chemical Reviews, 2008, 108(2): 423-461.
- [2] 袁小平,何杰,刘荣贵,等.声表面波生物传感器发展与应用[J]. 压电与声光, 2014, 36(6): 865-871.
- [3] HUANG S, LU M, LI B, et al. Real-time detection on the expression of soluble protein and inclusion body in the recombinant escherichia coli with laser tweezers raman spectroscopy[J]. Chinese Journal of Lasers, 2014(12): 251-259.
- [4] 赵璐,何婷,丁文欢,等.考马斯亮兰法(Bradford 法)测定驼乳中蛋白质的含量[J]. 应用化工, 2016, 45(12): 2366-2368.
- [5] 王高,冯巧玲,薛忠晋,等.基于共振瑞利散射血清蛋白浓度检测的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(3): 752-755.
- [6] WANG Bin, LI Rongzhen, GENG Wenbo, et al. Development and verification of a method for rapid determination of protein content in human coagulation / anticoagulation factor products [J]. Chinese Journal of Biologicals, 2016, 29(4): 429-432.
- [7] 刘海静,许长华,李伟明,等.基于红外指纹图谱的螺旋藻品质分析和蛋白含量测定[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(4): 977-981.
- [8] 熊贻坤,皇旭光.基于熔融拉锥光纤的液体折射率传感器[J]. 光学学报, 2009, 29(7): 1956-1960.
- [9] 曾捷,梁大开,曹振新.光纤 SPR 传感器测量液体折射率的研究[J]. 压电与声光, 2005, 27(1): 18-20.
- [10] 金凤泽,杜春雷,史立芳,等.表面等离子体波成像传感器的实验研究[J]. 红外与激光工程, 2010, 39(2): 275-278.
- [11] NISKANEN I, RÄTY J, PEIPONEN K E. A method for the detection of the refractive index of irregular shape solid pigments in light absorbing liquid matrix.[J]. Talanta, 2010, 81(4-5): 1322-1324.
- [12] PU Xiaoya, DU Xusheng, LIU Bo. Determination of Fructose and Glucose Contents in Honey by Liquid Chromatography-refractive Index Detection Method and Direct Titration Method[J]. Agricultural Biotechnology, 2016(2): 31-33.
- [13] 白忠臣,肖伟,黄政,等. RCWA 方法设计阶梯形光学甲醇溶液检测探针[J]. 压电与声光, 2013, 35(3): 342-344.
- [14] LORRAIN N, HIRAOUI M, GUENDOUZ M, et al. Functionalization control of porous silicon optical structures using reflectance spectra modeling for biosensing applications [J]. Materials Science & Engineering B, 2011, 176(14): 1047-1053.
- [15] ANDERSON G P, GOLDEN J P, LIGLER F S. An evanescent wave biosensor—Part I: Fluorescent signal acquisition from step-etched fiber optic probes.[J]. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 1994, 41(6): 578-584.
- [16] LIU S, CHEN X. Estimation of the convergence order of rigorous coupled-wave analysis for binary gratings in optical critical dimension metrology [J]. Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering, 2012, 51(8): 081504-1-081504-7.