

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810051392.9

[51] Int. Cl.

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 3 月 25 日

[11] 公开号 CN 101393202A

[22] 申请日 2008.11.6

[21] 申请号 200810051392.9

[71] 申请人 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所

地址 130033 吉林省长春市东南湖大路 16 号

[72] 发明人 孔祥贵 张友林 曾庆辉 孙雅娟
刘晓敏

[74] 专利代理机构 长春菁华专利商标代理事务所
代理人 赵炳仁

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 1 页

[54] 发明名称

倏逝波光纤生物传感器及其应用

[57] 摘要

本发明涉及可广泛适用于分子生物学、生物学、食品检验、生物战剂和环境监测等领域的生物检测装置，特别是一种能够实现对生物靶标进行量化精确检测的倏逝波光纤生物传感器，包括光学检测系统、由一根光纤和在该光纤表面植被的捕获生物分子构成的光纤生物探针，所述的光纤本体内含有的掺杂的 La 系元素或过渡族元素的内定标离子，所述的内定标离子的浓度为 500 - 4000ppm。实现了光纤生物传感器的内定标参考的量化检测；减化了现有技术半量化或准量化生物检测技术中采用参考和检测两种光纤生物传感器同时进行的复杂过程，并提高了量化检测值的稳定性和检测精确度。

1. 一种倏逝波光纤生物传感器，包括光学检测系统、由一根光纤和在该光纤表面植被的捕获生物分子构成的光纤生物探针，其特征在于，所述的光纤本体内部含有掺杂的 La 系元素或过渡族元素的内定标离子，所述的内定标离子的浓度为 500—4000 ppm。

2. 权利要求 1 所述的倏逝波光纤生物传感器在快速检测生物分子中的应用，其特征是：将权利要求 1 所述的含有内定标离子的光纤生物探针放入待测溶液中，如果该溶液中存在与光纤生物探针上捕获生物分子同种的生物分子，由于生物分子的特异性结合而被捕获形成复合分子；然后再将光纤生物探针放入识别生物分子溶液中，该溶液中的识别生物分子与光纤生物探针上的相应的复合分子结合，则将其标记的荧光物质固定在光纤生物探针上，通过在光纤中传播的激光激发掺杂的内定标离子产生荧光，利用传播的激光产生的倏逝波场激发荧光物质，根据标记的荧光物质的荧光强度与内定标离子荧光强度的比值，表征观测溶液中生物分子的属性和含量。

倏逝波光纤生物传感器及其应用

技术领域

本发明涉及可广泛适用于分子生物学、生物医学、食品检验、生物战剂和环境监测等领域的生物检测装置，特别是一种能够实现对生物靶标，如细菌、生物战剂分子、病毒、脱氧核糖核酸（DNA）、多肽、抗原抗体等生物分子进行量化精确检测的倏逝波光纤生物传感器。

背景技术

目前，广泛使用的基于光纤倏逝波生物传感器的生物检测系统，是采用光波在光纤内以全反射方式传输过程中产生的倏逝波激发以生物亲和反应而结合于光纤探针表面标记有荧光染料的生物分子。把表面固定了一种捕获生物分子的光纤生物探针置于被检测样品中，该样品中如果存在与固定在光纤探针表面的生物分子同种生物物质，则两者将发生亲和反应形成复合分子，样品中的被测生物分子则结合到光纤探针的表面。然后再把该光纤探针置于具有荧光染料标记的识别生物分子溶液中，同样两者也会发生特异反应，该溶液中的识别生物分子与光纤生物探针上的复合分子结合，则将荧光染料固定于光纤探针的表面。通过倏逝波激发光纤探针表面倏逝波场范围内的荧光染料，从而检测被检测分子的生物物质的属性及其含量。但是对于以荧光为检测信号的光纤传感器系统存在着一个普遍的问题：光纤与光纤之间存在着差异，如：光纤入射角度的微小差别、光纤表面的缺陷、光源的微小波动或者被固定的抗体量的多少等原因都将引起每次测量信息的失真和较大的误差。这主要是由于荧光强度是一个相对值，因此要实现定量、精确检测，必然需要引入一个参考值，文献《Calibration of biosensor response using

simultaneous evanescent wave excitation of cyanine-labeled capture antibodies and antigens》(Analytical Biochemistry, 232(1995),74-78)中介绍了通过以下的方式来实现定量检测：在构建传感器时，对识别分子进行标记的同时需要对捕获分子也进行荧光标记。因此需要两套检测系统，导致价格昂贵、操作费时烦琐，使得此系统在当前的倏逝波光纤生物传感器中未见应用。

发明内容

本发明的目的在于为克服上述现有技术的缺点，以实现对生物分子直接利用现有光学系统来完成量化检测，提出一种改进的倏逝波光纤生物传感器。其操作简单，灵敏度高，信号稳定、检测费用低廉。

本发明倏逝波光纤生物传感器，包括光学检测系统、由一根光纤和在该光纤表面植被的捕获生物分子构成的光纤生物探针，其特点是，所述的光纤本体含有掺杂的 La 系元素或过渡族元素的内定标离子，所述的内定标离子的浓度为 500—4000 ppm。该掺杂元素在光纤中以离子形式存在，在可见和红外波段的辐射和吸收覆盖紫外，可见以及红外波段。

本发明倏逝波光纤生物传感器在快速检测生物分子中的应用，是将所述的含有内定标离子的光纤生物探针放入待测溶液中，如果该溶液中存在与光纤生物探针上捕获生物分子同种的生物分子，由于生物分子的特异性结合而被捕获形成复合分子；然后再将光纤生物探针放入所述的识别生物分子溶液中，该溶液中的识别生物分子与光纤生物探针上的相应的复合分子结合，则将其标记的荧光物质固定在光纤生物探针上，通过在光纤中传播的激光激发掺杂的内定标离子产生荧光，利用传播的激光产生的倏逝波场激发荧光物质，根据标记的荧光物质的荧光强度与掺杂离子荧光强度的比值，表征观测溶液中生物分子的属性和含量。

由于生物分子的特异结合性，被测溶液中的生物分子与生物探针上的捕获生物分子相结合，而形成复合分子，然后将光纤生物探针放入识别生物分

子溶液中，识别溶液中的生物分子与光纤生物探针上的复合分子结合，即将标记于识别生物分子上的荧光物质固定在光纤探针上。实现同时根据荧光物质的荧光来观测溶液中生物分子的存在和根据荧光物质的荧光强度的变化演示分子的反应过程。

本发明与现有技术相比具有以下优点：

1. 实现了光纤生物传感器的内定标参考的量化检测。由于在光纤制备原材料中掺杂了特定浓度的特征发光离子，以其特征发光光谱强度作为同一光纤生物传感器的量化检测的内定标参考值，因而实现了同一光纤生物传感器的量化检测。

2. 提高了量化检测值的稳定性和检测精确度。由于掺杂的特征发光离子为稀土发光离子，其 4f 电子受到了最外层电子的屏蔽，因而其受环境影响极小，光纤内定标的参考发光光谱强度稳定，光谱线窄，因此提高了光纤生物传感器的量化检测精确度和稳定性。

3. 减化了现有技术半量化或准量化生物检测技术中采用参考和检测两种光纤生物传感器同时进行的复杂过程。本发明技术中是在检测光纤中掺杂了特定浓度的发光稀土离子，内定标参考和生物检测均在同一光纤生物传感器内进行，因此减化了生物检测技术的复杂过程。

4. 降低了光纤生物传感器整机的复杂结构和成本。本传感器由于无需检测参考光纤，因而减少了光纤数目和激发光源及其光路设计的复杂性，从而也降低了成本。

本发明倏逝波光纤生物传感器的光纤生物探针的制作方法，包括以下步骤：

1、光纤的制作：

将分析纯（纯度大于 99.99%）的 SiO_2 和稀土或过渡族元素的氧化物按照设定比例混合后，按照常规的生产光纤的方式获得光纤；按常规做法对光纤

表面进行光刻处理，做成矩阵式分布的凹陷表面单元。

2、表面亲水化处理：

将上述得到的表面矩阵化的光纤探针表面先在清洗液 1 中清洗 30 分钟，再在清洗液 2 中清洗 30 分钟，然后在清洗液 3 中煮沸 10 分钟，制备出在表面矩阵化的光纤探针上具有亲水的极化层。

其中清洗液 1 为：浓 HCl:乙醇=1:1 (V/V)；

清洗液 2 为：浓硫酸；

清洗液 3 为：超纯水。

3、捕获生物分子层的制备：

将上述处理好的光纤探针放入捕获生物分子溶液持续 1 小时，然后拿出用去离子水洗净，即得到活性捕获生物分子层。

采用本发明倏逝波光纤生物传感器进行生物分子探测按如下步骤进行：

将一制好的掺杂内定标离子的光纤生物探针浸入待测的混合溶液，经过一定反应时间后，溶液中的生物分子与探针表面上生物分子特异性结合，形成分子复合物；然后把光纤浸入荧光物质标记的识别分子的混合溶液中，把荧光物质固定于探针的表面上。然后把得到的光纤生物探针通过透镜耦合到倏逝波光纤检测系统，通过在光纤中传播的激光激发掺杂的离子产生荧光，利用传播的激光产生的倏逝波场激发荧光标记物，根据荧光标记物的荧光强度与掺杂离子荧光强度的比值，表征观测溶液中生物分子的属性和含量。

附图说明

图 1 是以 Tm^{3+} 作为内定标离子得到的结果示意图。

具体实施方式

以下结合实施例对本发明作进一步详细描述。

实施例 1

本发明倏逝波光纤生物传感器，包括光学检测系统、由一根光纤和在该

光纤表面植被的捕获生物分子构成的光纤生物探针，其特点是，所述的光纤本体内含有掺杂的 Tm^{3+} 离子， Tm^{3+} 离子浓度为 500—4000ppm；该掺杂元素在光纤中以离子形式存在，在可见和红外波段的辐射和吸收覆盖紫外，可见以及红外波段。

(1) Tm^{3+} 离子掺杂光纤的制作：

实验所用原料 SiO_2 、 Tm_2O_3 均为分析纯，纯度大于 99.99%。 Tm 在光纤中的含量为 1000 ppm，将上述原料按照一定比例混合然后按照常规的生产光纤的方式获得光纤。

(2) 表面亲水极化处理：

将上述得到的纤芯表面先在清洗液 1 中清洗 30 分钟，再在清洗液 2 中清洗 30 分钟，然后在清洗液 3 中煮沸 10 分钟，制备出在表面矩阵化的纤芯上具有亲水的极化层。

其中所述清洗液 1 为：浓 HCl :乙醇=1:1 (V/V)；

清洗液 2 为：浓硫酸；

清洗液 3 为：超纯水。

(3) 捕获分子层的制备：

将上述表面亲水化处理的纤芯，放入 IgG 蛋白质溶液 (1mg/ml)，使蛋白质自然吸附在纤芯表面上，持续 30 分钟时间，然后洗净，即形成了检测所用的探针。

(4) 制备量子点标记的识别分子

选择发光波长 585nm 的量子点，其表面含有羧基，浓度为 10^{-7}M 的量子点溶液，向量子点中分别加入 20 μL 0.05M 的 NHS 以及同样体积的 0.5M 的 EDC 溶液，搅拌 30—60 分钟；之后向发光在 585nm 的量子点溶液中加入同样浓度的 IgG 抗体。

(5) 应用上述掺杂 Tm 离子的生物探针进行生物分子检测；

将该探针浸入含有 585nm 标记的识别分子溶液，经过一定反应时间后探针表面上捕获生物分子与对应溶液中的分子特异性结合，使得量子点固定在探针的表面。量子点的发光以及掺杂的 Tm 离子的发光通过先技术倏逝波光纤生物传感器光学检测系统检测，得到图 1 所示光谱图。

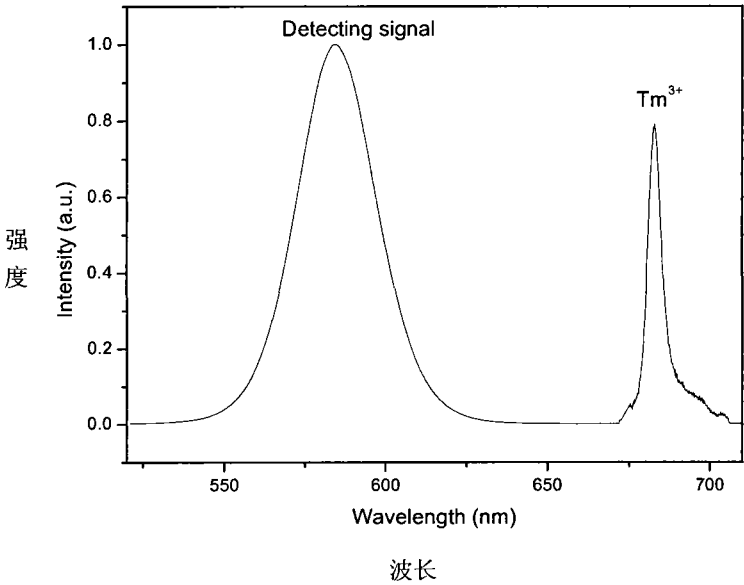


图 1