

光学生物芯片梯形聚合物光栅的优化设计

车玉彩, 庄其仁, 智佳军

(华侨大学 信息科学与工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 利用光栅标量衍射理论的数值求解法, 研究一种可以包埋蛋白质分子的梯形聚合物光栅, 用于制作光学生物芯片. 通过分析二元光栅结构参数和折射率的变化对±1级和0级衍射光强比的影响, 获得优化的光栅结构参数: 光栅凹槽深度 h_0 为 $0.6 \mu\text{m}$; 光栅周期 d 为 $4 \mu\text{m}$; 工作波长 λ 为 632.8 nm ; 聚合物折射率 n_0 为 1.522 ; 两斜边角度 α_1 为 31° , α_2 为 90° ; 占空比 v 为 0.7 ; 埋入核酸适体厚度 h 为 $0.05 \mu\text{m}$.

关键词: 生物芯片; 梯形光栅; 占空比; 衍射光强比; 聚合物

中图分类号: O 437.4

文献标志码: A

根据透射归一化衍射光强公式, 讨论光栅的结构参数对衍射光强比的影响, 并进行光栅结构参数的优化设计. 由此得到优化后的主要参数高速度、高特异性、高灵敏的蛋白质检测技术是目前生物传感器研究面临的紧迫任务^[1-4]. 核酸适体能特异性地结合多肽、有机物、蛋白质、金属离子等各种配体, 它在核酸结构的多样性、蛋白质/DNA 相互作用等方面的研究日益受到重视^[5-6]. 徒永华等^[7]发展了一种基于核酸适配体的新型荧光生物传感器用于凝血酶蛋白的检测. Giridharan 等^[8]利用荧光偏振来检测免疫球蛋白(IgE), 最低检测限可达 $350 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$. 光学聚合物光栅具有易加工、重量轻及适于批量生产等优点, 被广泛应用于光学测量、集成光学、光信息处理等领域中, 最近也有人用于适体生物传感器^[9]. 研究发现, 微结构凹凸光栅±1级和0级衍射效率之比对光栅的凹槽深度敏感^[10-11], 如果将生物分子包埋在微结构凹凸光栅的凹槽内, 当发生生物学反应时, 凹槽深度改变, 通过检测衍射光强比, 就能得知特异生物分子的存在. 本文设计一种梯形聚合物光栅, 用于检测蛋白质分子生化反应.

1 二元梯形聚合物光栅的结构函数和衍射光强

光学生物芯片二元梯形聚合物光栅是一维方向上光程延迟呈周期性梯形分布的位相光栅, 它是一种纯相位光栅. 梯形聚合物光栅的结构, 如图1所示. 图1中: d 为光栅的1个周期; a 为光栅的上底; b_0 为光栅的下底; h_0 为光栅的深度; h 为生物芯片中蛋白质分子的厚度; 当 h 不为0时, 光栅的下底由 b_0 变为 b ; 梯形凸起的两个斜边与槽底面的夹角分别为 α_1, α_2 ($\alpha_1, \alpha_2 \in (0, \pi)$); 梯形的上底 a 为

$$a = b_0 - (h_0 - h)(\cot \alpha_1 + \cot \alpha_2) = b - h_0(\cot \alpha_1 + \cot \alpha_2). \quad (1)$$

设梯形光栅聚合物材料的折射率为 n_0 , 蛋白质分子折射率为 n , 入射光波长为 λ , 光栅缝数 N 趋于 ∞ , 振幅透射率 $\tau = 1$, 则频率为

$$f_0 = (n_0 h_0 - nh - (h_0 - h))/\lambda.$$

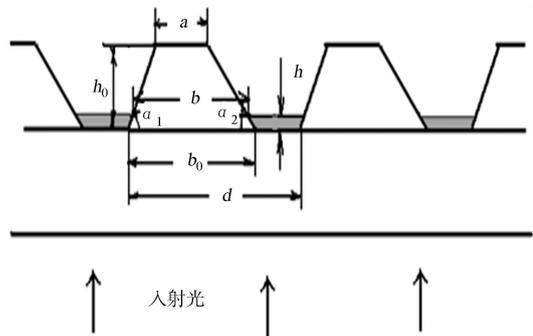


图1 聚合物生物芯片光栅结构示意图
Fig. 1 Schematic outlining the grating structure of polymer bio-chip

其中: f_0 为虚设参数.

当光波透过光栅时,如果经过光栅槽脊和槽底的两光波光程差 $n_0 h_0 - nh - (h_0 - h) = \lambda$, 即 $f_0 = 1$ 时,将产生 2π 相位差. 所以 f_0 可看作 1 个光栅厚度为单位的空间频率, 比如光栅厚度为 1 个单位时,产生相位差为 $2\pi f_0$, 光栅厚度为 2 个单位时,产生相位差为 $4\pi f_0$.

振幅透射函数表达式为

$$t(x) = \left[\text{rect}\left(\frac{x - (h_0 - h) \cot \alpha_1}{(h_0 - h) \cot \alpha_1}\right) \exp\left(\frac{j2\pi x f_0}{(h_0 - h) \cot \alpha_1}\right) + \text{rect}\left(\frac{x - b + (h_0 - h) \cot \alpha_2}{(h_0 - h) \cot \alpha_2}\right) \exp\left(\frac{-j2\pi x f_0}{(h_0 - h) \cot \alpha_2} + \frac{-j2\pi b f_0}{(h_0 - h) \cot \alpha_2}\right) + \text{rect}\left(\frac{x - (h_0 - h) \cot \alpha_1 - \frac{a}{2}}{a}\right) \exp(j2\pi f_0) + \text{rect}\left(\frac{x - \frac{d}{2} - \frac{b}{2}}{d - b}\right) \right] \otimes \sum_{l=-\infty}^{\infty} \delta(x - ld). \quad (2)$$

式(2)中: \otimes 为卷积符号; l 为整数.

$$\text{rect}(x) = \begin{cases} 0, & |x| > \frac{1}{2}, \\ \frac{1}{2}, & |x| = \frac{1}{2}, \\ 1, & |x| < \frac{1}{2}. \end{cases} \quad (3)$$

当入射波是垂直入射的单位振幅平面波时,离开光栅平面距离为 z 的平面上的夫琅和费衍射光场的复振幅分布^[12]为

$$E(x', z) = - \int_{-\infty}^{+\infty} t(x) \exp(-j2\pi \frac{x'}{\lambda z} x) dx. \quad (4)$$

θ 为透射衍射角,角频率 $f = \frac{x'}{\lambda z} = \frac{\sin \theta}{\lambda}$, 在 z 平面上按总透射光强归一化处理后的衍射光强^[13]为

$$I(f) = E(f)E^*(f) = I_0(f) \sum_{l=-\infty}^{\infty} \delta(f - \frac{l}{d}). \quad (5)$$

式中: $*$ 表示共轭; $I_0(f) = \frac{1}{d^2} \sum_{m=1}^4 \sum_{n=1}^4 A_m A_n \cos(\beta_m - \beta_n)$, $A_1 = (h_0 - h) \cot \alpha_1 \sin c(f(h_0 - h) \cot \alpha_1 - f_0)$, $A_2 = (h_0 - h) \cot \alpha_2 \sin c(f(h_0 - h) \cot \alpha_2 + f_0)$, $A_3 = a \sin c(af)$, $A_4 = (d - b) \sin c[(d - b)f]$, $\beta_1 = \pi x f (h_0 - h) \cot \alpha_1 - \pi f_0$, $\beta_2 = 2\pi(b - \frac{(h_0 - h) \cot \alpha_2}{2})f - \pi f_0$, $\beta_3 = 2\pi((h_0 - h) \cot \alpha_1 + \frac{b - (h_0 - h)(\cot \alpha_1 + \cot \alpha_2)}{2})f - 2\pi f_0$, $\beta_4 = \pi(b + d)f$.

假定把梯形凸起的中位线与光栅周期的比值定义为梯形光栅的占空比 v , 即 $v = (a + b)/(2d)$, 则

$$v = \frac{2b - (h_0 - h)(\cot \alpha_1 + \cot \alpha_2)}{2d}. \quad (6)$$

2 梯形聚合物光栅参数设计

当光垂直入射生物芯片时,梯形聚合物光栅的衍射效率将随生物芯片中蛋白质分子厚度(h)的变化而变化. 根据衍射效率的变化,可间接测量生物芯片上是否产生了生物学反应. 为了得到足够高的灵敏度,需要对梯形聚合物光栅参数进行优化设计.

光学生物芯片梯形聚合物光栅的设计内容,主要包括光栅周期(d)、占空比(v)、深度(h_0)、梯形光栅斜边倾斜角度(α_1, α_2)、埋入核酸适体(初始蛋白质分子)厚度(h). 梯形聚合物光栅参数的设计是依据 1 级和 0 级衍射的光强比 $\eta_{1,0} = \frac{I(1)}{I(0)}$, 或者 -1 级和 0 级衍射的光强比 $\eta_{-1,0} = \frac{I(-1)}{I(0)}$ 随聚合物光栅参数

的变化而设计的, η 也称为衍射效率比. 1 级和 0 级衍射的光强依据式(5)计算, 当 $f=0$ 时为 0 级衍射, 当 $f=1$ 时为 1 级衍射.

当梯形不是等腰梯形时, 光强分布在正负级次间将呈现不对称分布, +1 级和 -1 级衍射光强与 0 级衍射光强比也不相等. 但由于光栅结构是可左右互易的, 为简单起见, 以下衍射光强比 η 都是指 +1 级光强与 0 级光强的比值.

2.1 光栅斜边角度对衍射光强比的影响

不同占空比(v)的衍射光强比(η)随斜边角度(α_1, α_2)的变化曲线, 如图 2 所示. 图 2 中: $h_0 = 0.6 \mu\text{m}$; $d = 4 \mu\text{m}$; $\lambda = 632.8 \text{ nm}$; $n_0 = 1.58$; $h = 0.1 \mu\text{m}$.

从图 2 中可以看出: 对于不同的占空比和 α_2, α_1 从 0 开始增大时, 衍射光强比先快速增大, 在 $\alpha_1 = \alpha_{1,m}$ 时到达一个最大值 η_{max} , 此后, 衍射光强比随着 α_1 的增大而缓慢减小, 比较稳定. 可见, 在 α_1 较小时 ($\alpha_1 < \alpha_{1,m}$), 衍射光强比 η 随 α_1 的变化很大(增大), 这对生物芯片的测量精度是不利的, 同时, 也对梯形聚合物光栅的制作精度提出更高的要求^[14].

因此, 梯形聚合物光栅的斜边角度应选择大角度为最佳, 即取 $\alpha_1 > \alpha_{1,m}, \alpha_2 > \alpha_{2,m}$, 与衍射光强比最大值 η_{max} 相对应的两斜边角度 $\alpha_{1,m}$ 和 $\alpha_{2,m}$, 如表 1 所示, 当取 $\alpha_1 = \alpha_2 = 90^\circ$ 时, 即为矩形光栅. 从图 2 还可看出: 占空比对衍射光强比影响明显.

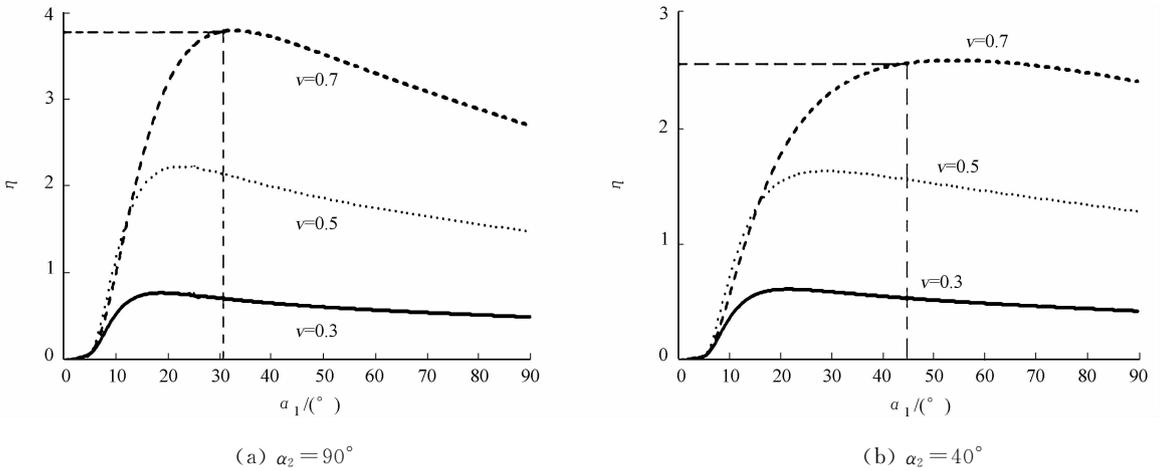


图 2 不同占空比的衍射光强比随斜边角度变化曲线

Fig. 2 Curves of diffraction intensity ratio with changing bevel edge angles and different occupy ratio

表 1 衍射光强比达到最大值时的梯形光栅两斜边角度

Tab. 1 Angles of bevel edge on the trapezoidal grating while diffraction intensity ratio has to be a maximum

$\alpha_{1,m}/(^\circ)$	30	40	35	30	30	30	30	25	25
$\alpha_{2,m}/(^\circ)$	10	20	30	40	50	60	70	80	90
η_{max}	0.326	1.263	2.063	2.576	2.929	3.195	3.412	3.600	3.755

2.2 占空比对衍射光强比的影响

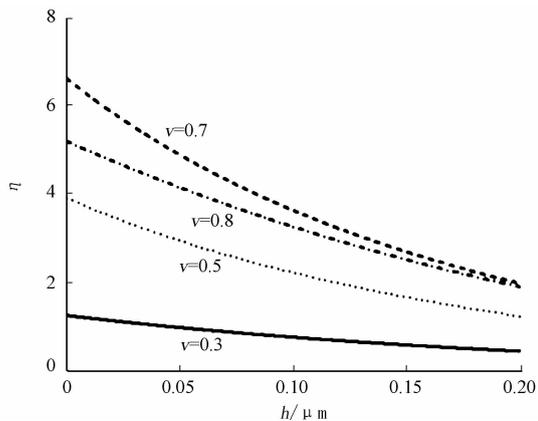
衍射光强比(η)随厚度(h)的变化曲线, 如图 3 所示. 从图 3 可以看出: 当占空比(v)继续增大时($v = 0.8$)衍射光强比出现下降趋势. 因此, 存在 1 个占空比的取值范围使衍射光强比变化较大的区域. 由图 3 可知: 这个区域在 $v = 0.7$ 附近.

另一方面, 因为测量的是梯形聚合物光栅槽底蛋白质分子的厚度, 所以衍射光强比随厚度的变化曲线斜率越大灵敏度越高, 由图 3 可知: $v = 0.7$ 附近的曲线斜率也是最大的, 此时, 蛋白质分子厚度的测量灵敏度最高.

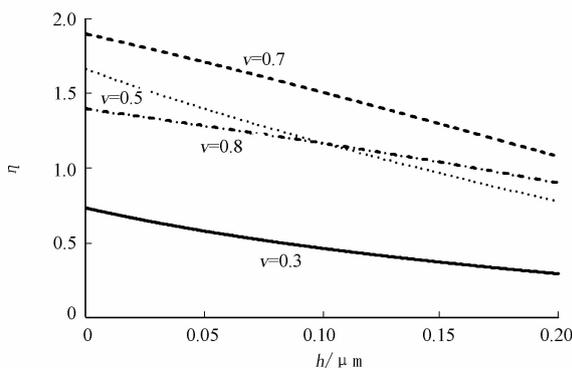
2.3 折射率对衍射光强比的影响

比较图 2~3, 及表 1 的数据可知: 当 $\alpha_1 = 31^\circ, \alpha_2 = 90^\circ$ 时, 衍射光强比较大, 有利于提高测量信噪比, 而占空比为 0.7 时, 测量灵敏度比较高. 在此组参数下, 计算得到的衍射光强比(η)随蛋白质分子折射率(n)变化的曲线, 如图 4 所示.

由图 4 可知: 折射率对衍射光强比影响很大, 对于特异性生化反应, 只需测量蛋白质分子厚度的变



(a) $\alpha_1 = 31^\circ, \alpha_2 = 90^\circ$



(b) $\alpha_1 = 44^\circ, \alpha_2 = 40^\circ$

图 3 衍射光强比随厚度的变化曲线

Fig. 3 Curves between diffraction intensity ratio and thickness

化,因此,衍射光强比随折射率变化越小越好.图 4 中: $h=0.05 \mu\text{m}$ 时,衍射效率随折射率变化最小,考虑到 $h=0.05 \mu\text{m}$ 时测量灵敏度较高(图 3),可以将 h 设计为 $h=0.05 \mu\text{m}$,当发生生化反应其厚度将变为 $h=(0.05+\Delta h) \mu\text{m}$,一般 Δh 在 nm 量级.

但通常蛋白质分子厚度的变化也伴随着折射率的微小变化,即对衍射光强比产生共同效应.衍射光强比随蛋白质厚度,折射率的变化关系,如图 5 所示.

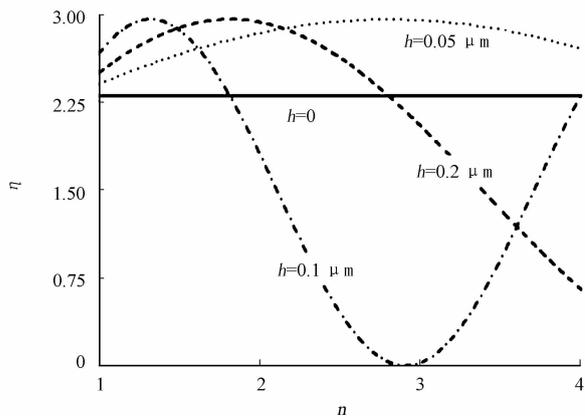


图 4 厚度不同时衍射效率随折射率的变化

Fig. 4 Diffraction efficiency with the changes of the refractive indices of protein for different thickness

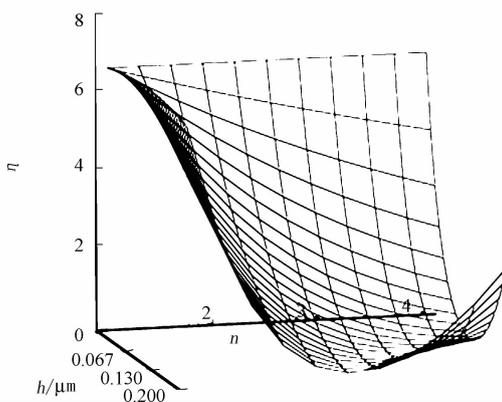


图 5 衍射光强比随蛋白质厚度、折射率的变化关系

Fig. 5 Relationship among diffraction intensity ratio, thickness and refractive index of protein

3 结论

设计一种光学生物芯片梯形聚合物光栅,用于检测蛋白质分子生化反应.当光栅梯形槽中生物分子发生结合或解析生物学反应时,凹槽深度将发生改变.

根据二元梯形聚合物光栅的结构函数和衍射光强公式,分析梯形聚合物光栅占空比、两斜边角度,及埋入核酸适体(初始蛋白质分子)厚度和光栅 1 级和 0 级衍射效率之比的关系,得到一组衍射效率比大、检测灵敏度高的光栅参数.优化后的主要参数值:光栅凹槽深度 h_0 为 $0.6 \mu\text{m}$;光栅周期 d 为 $4 \mu\text{m}$;工作波长 λ 为 632.8 nm ;聚合物折射率 n_0 为 1.522 ;两斜边角度 α_1 为 $31^\circ, \alpha_2$ 为 90° ;占空比 v 为 0.7 ;埋入核酸适体厚度 h 为 $0.05 \mu\text{m}$.

参考文献:

[1] MILLER A E, HOLLARS C W, LANE S M, et al. Fluorescence cross-correlation spectroscopy as a universal method for protein detection with low false positives[J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(14): 5614-5622.

- [2] HAN X X, JIA H Y, WANG Y F, et al. Analytical technique for label-free multi-protein detection based on western blot and surface-enhanced raman scattering[J]. *Analytica Chemistry*, 2008, 80(8): 2799-2804.
- [3] SHAN Gui-ye, WANG Shuang, FEI Xiao-fang, et al. Heterostructured ZnO/Au nanoparticles-based resonant raman scattering for protein detection[J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2009, 113(5): 1468-1472.
- [4] CHIEN J H, CHEN P H, KUO L S, et al. Protein detection using a radio frequency biosensor with amplified gold nanoparticles[J]. *Applied Physics Letters*, 2007, 91(14): 143901-143904.
- [5] KIM Y H, KIM J P, HAN S J, et al. Aptamer biosensor for label-free detection of human immunoglobulin E based on surface plasmon resonance[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2009, 139(2): 471-475.
- [6] CHENG A K H, SEN D, YU H Z. Design and testing of aptamer-based electrochemical biosensors for proteins and small molecules[J]. *Bioelectrochemistry*, 2009, 77(1): 1-12.
- [7] 徒永华, 程圭芳, 林莉, 等. 基于核酸适配体的新型荧光纳米生物传感器用于凝血酶的测定[J]. *高等学校化学学报*, 2006, 27(12): 2266-2270.
- [8] GIRIDHARAN G, JAY R U, DOUGLAS F H. DNA aptamer-based bioanalysis of IgE by fluorescence anisotropy[J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(7): 1963-1970.
- [9] LIAO W, ALBA N A, RANDALL B A, et al. Conducting polymer-based impedimetric aptamer biosensor for in situ detection[J]. *Analytical and Bioanalytical-Chemistry*, 2008, 392(5): 861-864.
- [10] 刘荣祁, 陈建荣, 林宝卿, 等. 浮雕矩形光栅刻槽深度的衍射测量方法[J]. *应用激光*, 2009, 29(3): 252-255.
- [11] 江天府, 文军, 蒋昌云. 位相光栅的矢量和标量衍射理论的分析比较[J]. *广西师范大学学报: 自然科学版*, 2001, 19(3): 15-18.
- [12] BORN M, WOLF E. Principles of optics: Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light[M]. Oxford: New York Pergamon Press, 1999: 425-430.
- [13] 张海涛, 巩马理, 赵达尊, 等. 高密度光盘存储中的梯形光栅设计和误差分析[J]. *光学学报*, 2002, 22(1): 92-98.
- [14] 于百英, 庄其仁, 阮思旭. 采用模压技术的聚合物矩形光栅制作[J]. *华侨大学学报: 自然科学版*, 2007, 28(2): 151-154.

Optimal Design of the Trapezoidal Polymer Grating for Optical Biochip

CHE Yu-cai, ZHUANG Qi-ren, ZHI Jia-jun

(College of Information Science and Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The trapezoid polymer gratings used for optical biochip, in which protein molecules can be embedded, are discussed by using numerical method of the grating scalar diffraction theory. Analysis of the influence of diffraction intensity ratio, the 1st-order (plus or minus) and the zero-order, due to changes in dual refractive index and grating structure parameters, the optimized structure parameters of grating occurred at grating groove of depth $0.6 \mu\text{m}$, grating constant $4 \mu\text{m}$, light of wavelength $632.8 \mu\text{m}$, polymer with a refractive index of 1.552, two bevel angles $\alpha_1 = 31^\circ$ and $\alpha_2 = 90^\circ$, duty-cycle is 0.7, and the embedded aptamers's thickness $h = 0.05 \mu\text{m}$.

Keywords: bio-chips; trapezoid grating; occupy ratio; diffraction intensity ratio; polymer

(责任编辑: 钱筠 英文审校: 吴逢铁)