

激光散射法识别和检测病毒初探

李玉传 于国萍 丁孔贤

(武汉大学物理系)

张楚喻

(武汉大学病毒系)

Preliminary study of detecting virus content by laser scattering effect

Li Yuchuan, Yu Guoping, Ding Kongxian

(Department of Physics, Wuhan University, Wuhan)

Zhang Chuyu

(Department of Virology, Wuhan University, Wuhan)

Abstract: In this paper, we present a laboratory method to determine the species of viruses and content of given virus by laser scattering effect and optical fiber sensing technique. This technique may have extensive application in viral diagnostics.

Key words: laser scattering effect, optical fiber sensing technique, virus

复杂的病毒很容易发生突变, 在测试过程中为了保持一定的环境温度、湿度、气氛以及对于毒性强的病毒, 为了确保工作人员的健康和安全, 防止交叉感染, 采用光纤传感技术是很有意义的。为了达到隔离遥测的目的, 本实验采用了非功能型光强调制式光纤传感装置。

光散射法检测病毒是以病毒的理化性质为依据的。光波通过病毒悬浮液介质时, 当病毒微粒大小约为入射光波的 $\lambda/10 \sim \lambda/20$ 时, 发生瑞利散射, 散射光强为

$$\frac{I_{sc}}{I_{in}} = \frac{9\pi^2 N V^2}{2\lambda^4} \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right)^2 (1 + \cos^2 \theta) \quad (1)$$

式中 I_{sc} 、 I_{in} 分别为 θ 方向散射光强和入射光强, N 为单位体积内悬浮液中病毒微粒数目, V 为病毒体积, n 为介质折射率。

当两种不同波长 λ_1 、 λ_2 同时入射时, 则有

$$\frac{I_{sc1}}{I_{in1}} - \frac{I_{sc2}}{I_{in2}} = 9\pi^2 V^2 \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right)^2 (1 + \cos^2 \theta) \left(\frac{1}{\lambda_1^4} - \frac{1}{\lambda_2^4} \right) \cdot N \quad (2)$$

因 λ_1 、 λ_2 引起的色散很小, 上式中 $n_1 \approx n_2 \approx n$ 。

令

$$\left. \begin{aligned} A &= \frac{I_{sc1}}{I_{in1}} - \frac{I_{sc2}}{I_{in2}} \\ K &= 9\pi^2 V^2 \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right)^2 (1 + \cos^2 \theta) \left(\frac{1}{\lambda_1^4} - \frac{1}{\lambda_2^4} \right) \end{aligned} \right\} \quad (3)$$

则

$$A = K \cdot N \quad (4)$$

对于确定的病毒和一定的实验条件, λ_1 、 λ_2 、 θ 和 V 都是已知的, n 、 I_{scj} 、 I_{inj} ($j=1, 2$) 可以测得,

由(2)式便可算得浓度 N 。

用“比较法”不但可以识别病毒并可确定其浓度。在一定实验条件下, K 值是各类病毒的一个特征量, 因而可预先测出各种病毒的 $A \sim N$ 曲线组, 作为病毒的特性“标记”, 任意一未知病毒, 用其相对浓度 βN 测出 $A \sim \beta N$ 曲线, 与“标记”曲线比较, 根据其斜率 K 的特征便可确定其类型和相应的浓度值。若将 $A \sim N$ “标记”贮存于计算机中, 机内运算程序是将接到的待测信号与“标记”进行比较, 然后输出病毒信息, 这样便可大大缩短检测时间。

实验装置如图 1 所示。

由 He-Cd ($\lambda_1 = 441.6 \text{ nm}$) 和 He-Ne ($\lambda_2 = 632.8 \text{ nm}$) 激光器发出的光, 经半反射镜分成两路, 一路光强为 I_{in} ; 直接进入探测器 D_1 、 D_2 , 再输入信号处理器; 另一路光垂直入射病毒溶液槽。在槽的一侧垂直于光传播方向上装一显微物镜 L_1 ($\times 20$, $N \cdot A = 0.20$) 和一光阑 S_2 , 以将 $\theta = 90^\circ$ 方向的散射光耦合进光纤, 输出光经透镜 L_2 耦合进单色仪分出波长 λ_1 和 λ_2 后, 再分别由探测器 D_3 、 D_4 转换成光电流并送入信号处理器, 最后输出待测信息。调节可调节光阑 S_1 , 可使 $I_{in1} \approx I_{in2}$ 。实验中采用的是

多模光纤。纤芯直径 $150 \mu\text{m}$, 包层直径为 $350 \mu\text{m}$, 耗损约为 52 dB/km , 传输长度 6 m 。 L_1 的孔径 $\phi = 10 \text{ mm}$, 溶液槽除了输出、输入部分透明外, 其他部分涂黑。

采用 λ_1 、 λ_2 双波差分检测, 可消除光路中各元件吸收、反射损耗、光纤损耗、光源波动及环境变化的影响, 因而可以降低测量误差, 提高信噪比。

我们对几种病毒进行了测试, 结果如图 2 所示。其中对脊髓灰质炎病毒的测量结果与“空斑法”的结果进行比较基本相符合, 其数据列于表 1 中。

我们对所得结果讨论如下:

1. 散射法测得浓度高于空斑法所测结果。其原因主要是空斑法测的是“活病毒”所形成的空斑, 而死亡的无浸染性的病毒则不形成空斑; 二是散射介质中的杂质影响。

2. 散射法测量浓度的下限, 即灵敏度 $\geq 10^5$ 个/ml, 高浓度则无明显限制; 而“空斑法”则适于测量 $< 10^{12}$ 个/毫升的浓度, 两者相配合, 可以相互补偿。

3. 目前此法测量精度尚低, 相对误差在 $(0.1 \sim 0.4)\%$ 。

4. 对于各向异性病毒溶液, 如 TMV (菸花叶病毒) 不适宜用此方法测量。

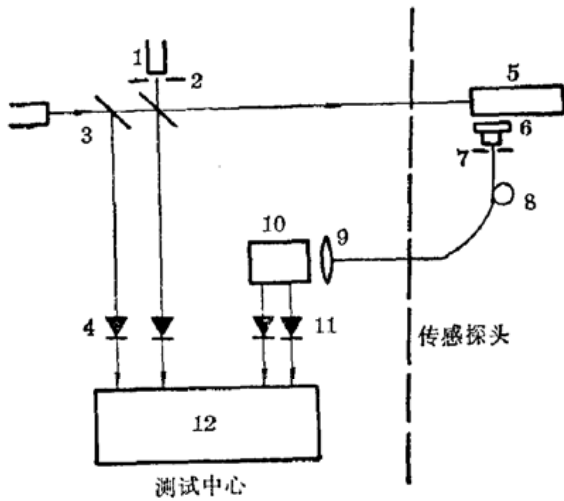


图 1 传感装置示意图

- 1—光源; 2—光阑 S_1 ; 3—半反射镜;
- 4—光探测器 D_1 、 D_2 ; 5—病毒溶液槽;
- 6—显微物镜 L_1 ; 7—光阑 S_2 ; 8—输出
- 光纤; 9—透镜 L_2 ; 10—单色仪; 11—
- 探测器 D_3 、 D_4 ; 12—信号处理器

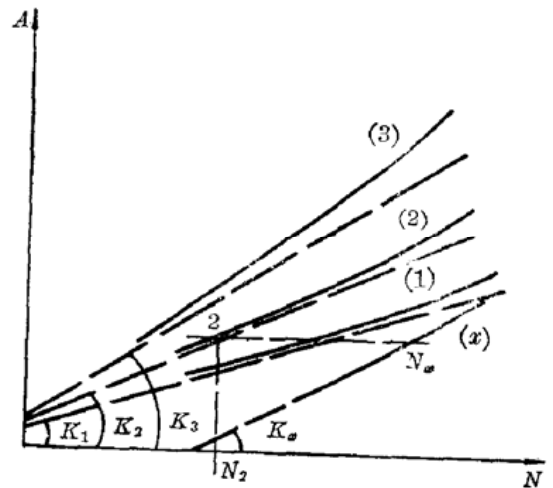


图 2 病毒特征“标记”图

- (1) f_2 噬菌体病毒; (2) 脊髓灰质炎病毒;
- (3) 疱疹病毒; (x) 所测未知病毒; $\therefore K_x = K_2$, $\therefore (x)$ 为病毒(2),
- 且 $N_x = N_2$
- 实线: 实验值; 虚线: 理论值

表 1 脊髓灰质炎病毒浓度测验结果

空斑法测浓度(个/ml)	2×10^7	4×10^7	8×10^7	9×10^7	10×10^8
本实验所测浓度(个/ml)	2.010×10^7	4.014×10^7	8.008×10^7	9.010×10^7	10.071×10^8

5. 本实验采用“hanks”平衡水溶液(pH7.0~7.2), 经过 $0.3 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤的病毒悬浮于溶液中。由于采用了双波法($\lambda_1=441.6 \text{ nm}$ 作为信号光, $\lambda_2=632.8 \text{ nm}$ 作为参考光)使病毒溶液的吸收(560.0 nm 附近有一吸收峰)和较大颗粒杂质(如细菌碎片)的米氏散射等等对测量影响可以消除, 但对于溶液中大小接近于待测病毒的其他病毒以及其它杂质等所引起的干扰则无法消除, 带来测量误差, 需要与电镜观察法相互配合。

6. 溶液需恒温在适当温度下测量, 避免在临界状态附近分子密度起伏发生强烈散射。本文所述技术用于病毒测试, 其主要优点是快速、简便, 若配合微机处理可在数分钟内获得结果。而用“空斑法”或动物试验法测定, 常常需要几天甚至十几天时间, 而且操作繁琐, 容易污染。不过, 目前我们还刚刚开始这一工作, 很多问题有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 M. Francon, 物理光学(机械工业出版社, 北京, 1983), p. 85

(收稿日期: 1988年5月27日)

氦-氖激光处理蕃茄种子最适剂量的研究

李玉滨 郭桂云 王好友

(哈尔滨师范大学生物系)

Study of optimum He-Ne laser irradiation dose on tomato seeds

Li Yubin, Guo Guiyun, Wang Haoyou

(Department of Biology, Harbin Normal University, Harbin)

Abstract: Irradiating tomato seeds with He-Ne laser at different doses showed the following results. When the power density was about 0.02 W/cm^2 and the irradiation period was around 6 minutes, the germination of seeds and the growth of seedling were the best, the isoenzyme activity was the strongest and the cell division of root tip cells were obviously increased.

Key words: laser irradiation, tomato seeds

激光作为育种手段已被应用了多年并且产生了许多良好的效果。但在这个领域中仍有许多具体问题有待于探索, 如对某种作物或品种应用何种激光、什么剂量使其向人们预期的方向发展等等。我们以氦-氖激光为光源对蕃茄的两个品种的种子进行了不同功率密度、不同时间