

高灵敏检测传感芯片应用于脑胶质瘤疾病检测

郝雨凡, 冯正云, 韩 超, 王泽云, 王庆芳, 汪丽平, 施辰君, 吴 旭, 彭 滢

(上海理工大学 光电信息与计算机工程学院, 上海 200093)

摘 要: 太赫兹波因其指纹谱识别和无损探测等特性可被应用于物质的快速定性与定量识别。现阶段太赫兹技术方法对物质含量检测的下限在毫克量级,然而实际生物医学样本中待测物的浓度通常在微克量级甚至以下,现有方法限制了其检测灵敏度和可行性。研究中以脑胶质瘤里的特异性物质肌醇(MI)和 γ -氨基丁酸(GABA)为例,基于电容电感效应,设计了一款增强太赫兹检测灵敏度的超材料芯片。然后通过测试 MI 和 GABA 在不同浓度下的太赫兹光谱,证明其各自随着浓度的变化,芯片谐振峰频移呈现不同的规律,从而进行有效的定性识别,且对于 MI 和 GABA 的已知样品,可以根据频移规律实现定量分析。根据实验数据计算可得,所设计的芯片对这两种样品含量检测下限分别为 3.457 μg 和 2.552 μg ,与传统压片法的检测极限相比提高了三个数量级。这些结果对后期生物医学中定性和定量检测疾病的微量特异性物质具有重要参考价值。

关键词: 超材料传感芯片; 太赫兹; 高灵敏检测; 脑胶质瘤

中图分类号: O439 **文献标志码:** A **DOI:** 10.3788/IRLA20210279

Application of high sensitive detection sensor chip in detection of brain glioma disease

Hao Yufan, Feng Zhengyun, Han Chao, Wang Zeyun, Wang Qingfang, Wang Liping,
Shi Chenjun, Wu Xu, Peng Yan

(College of Optical-Electrical and Computer Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: Terahertz wave can be applied to the rapid qualitative and quantitative identification of substances because of its characteristics of fingerprint identification and non-destructive detection. At present, the detection limit of terahertz technology is in the order of milligram. However, the concentration of the tested substance in the actual biomedical samples is usually in the order of microgram or even below, which limits the detection sensitivity and feasibility. In this study, by taking the glioma biomarkers: inositol (MI) and gamma aminobutyric acid (GABA) as an example, based on the inductive-capacitive (LC) resonance, a metamaterial chip was designed to enhance THz detection sensitivity. Then, the terahertz spectra of the chip covered by MI and GABA at different concentrations was tested to prove that their resonance frequency shifts show different rules with the change of concentration, basing on which the qualitative identification could be achieved. And for known samples of MI and GABA, quantitative analysis could be achieved according to the frequency shifts law. According to calculations based on experimental data, the lower detection limits of proposed chip for these two samples are 3.457 μg and 2.552 μg ,

收稿日期:2021-04-29; 修订日期:2021-05-06

基金项目:国家自然科学基金(国际(地区)合作与交流项目 81961138014, 优青 61922059)

作者简介:郝雨凡,女,本科生,主要从事太赫兹生物检测芯片方面的研究。

导师简介:彭滢,女,教授,博士,主要从事太赫兹生物检测芯片方面的研究。

respectively, which are three orders of magnitude higher than the detection limit of the conventional tableting method. These results have important reference value for the qualitative and quantitative detection of trace specific substances of diseases in later biomedicine.

Key words: metamaterial sensor chip; terahertz; high sensitivity detection; brain glioma disease

0 引言

脑是高度发达的器官,是支配和调节人的一切生理活动的中枢;当脑的结构和功能产生异常时,会引起一系列异常的神经活动,同时也可能导致机体其它器官功能紊乱,进而对人体健康产生危害。其中,脑胶质瘤是最常见的原发性颅脑恶性肿瘤,其具有发病率高、复发率高、死亡率高的特点。常见的脑胶质瘤疾病检测技术主要以伊红染色法等为主的病理学染色技术以及计算机断层扫描(CT)、正电子发射断层扫描(PET)、磁共振成(MRI)为主的脑影像技术^[1]。虽然它们各有优点,但在应用于脑胶质瘤疾病研究时,依旧存在一定固有的局限性,例如:组织病理学染色检测周期长;CT和PET检查需要标记放射性元素;MRI的成像分辨率低和敏感性限等。这些局限性将在一定程度上阻碍生物学准确检测疾病发生后的病理变化以及全掌握脑疾病的发病机制。因此,脑胶质瘤的深入研究迫切地需要新检测技术的突破和发展。

太赫兹(THz)波是波长范围在 0.03~3.00 mm 区间的电磁波。它的频率处于微波和红外光波之间,是电子学到光子学的过渡区域^[2]。与其他波段相比较,太赫兹波用于生物学检测时具有如下优点:(1)其能量为毫电子伏特,不会因为电离从而破坏被检测物质本身的属性^[2-5];(2)大量生物分子的转动和振动频率在太赫兹频段范围内^[4-6],因此可用作物质指纹普识别;(3)与其他化学检测方法(如试剂盒法、质谱法等)相比,太赫兹光谱法可以实现快速无损的样品检测^[5-8]。

但是常规的太赫兹光谱检测通常在测量之前将待测物压制为片剂,随着样品浓度的降低,物质的太赫兹特征吸收峰将迅速减小,检测下限在毫克量级。而实际生物学样本中待测物的浓度通常在微克量级甚至以下,现有方法限制了其检测灵敏度和可行性。以脑组织为例,人脑组织细胞中含有数千种物质,但当疾病发生时,仅几种物质的浓度发生变化,其

中仅两三种物质标志脑胶质瘤发生和病变程度,且含量均在 5%~10% 内^[9],如:肌醇(MI)、 γ -氨基丁酸(GABA)等。其中 MI 作为真核生物中许多二级信使的结构基础起着重要的作用。在 100 g 脑组织中含有约 174.3 μmol ,且在脑胶质瘤中的含量增加约 100%^[10]。GABA 是大脑中各种抑制神经元和间神经元的主要递质。在正常脑组织的灰质中,GABA 浓度在 $(1.30\pm 0.36) \mu\text{mol/g}$ 范围内,白质中 GABA 浓度在 $(0.16\pm 0.16) \mu\text{mol/g}$ 范围内^[11],且在脑胶质瘤中含量升高了约 9 倍^[12]。因此,一些研究人员提议将太赫兹光谱法和超材料生物传感器相结合以提高检测限,其优点是:(1)样品消耗低,灵敏度高;(2)无标记检测;(3)快速响应和测量步骤简单^[13-15]。

通过常规的压片法太赫兹检测,发现对于微克量级别的样本,太赫兹与样本的共振响应非常微弱,导致光谱特征峰无法识别。因此,文中基于电容电感效应设计了一款太赫兹超材料芯片,以提升太赫兹检测的灵敏度和检测下限。文中以脑胶质瘤标志物 MI 和 GABA 的检测为例,将涂有样品的超材料芯片放入太赫兹时域系统中检测,分析了不同浓度的 MI 和 GABA 的透射光谱、芯片谐振峰频移量及频移规律,从而实现 MI 和 GABA 的定性识别与定量分析。

1 实验前期准备与实验装置

1.1 样品制备

纯品肌醇(MI)和 γ -氨基丁酸(GABA)(粉末,纯度 >99%) 均从 Sigma Aldrich 购置,并按制造商要求存储。对于纯样品的特征峰测试,将纯样品与聚乙烯粉末混合。MI 和 GABA 与聚乙烯粉末的质量混合比(mg : mg) 分别为 32.14 : 100 和 30 : 100。用 3 t (1 t = 1000 kg) 的力将混合粉末压制成 13 mm 的片剂。采样过程中的质量损失均控制在 1% 以内。

在超材料实验中,将纯品以不同质量加入至 1 mL 水(色谱纯)中混合均匀,得到 MI 的浓度分别为 0.28、0.55、0.69、1.10、1.39、2.21、2.78、4.42、5.55、

8.83 和 11.10 $\mu\text{mol/mL}$, GABA 的浓度分别为 0.67、2.67、5.33、10.67 和 21.34 $\mu\text{mol/mL}$ 。然后用电动移液枪每次取 50 μL 滴在超材料芯片表面, 彻底干燥进行测试, 其中通过固定移液枪的高度来确保每次样品的覆盖面积一致 (约为直径 5 mm 的圆形范围内), 使得样本厚度与样本量呈线性关系, 因此在光斑下的等效样品量与实际样品量之间为线性关系。

1.2 实验装置

笔者所在团队采用的实验装置为经典的太赫兹时域光谱 (THz-TDS) 系统, 系统动态范围为 ~ 60 dB, 其有效光谱范围为 0.5~3.0 THz, 以 1024 个单点累积数和 1.9 GHz 的分辨率进行测量。每个样本制备 3 个样品, 重复测量 4 次得到误差条, 所有测量都在低于 3% 的环境湿度下进行。

1.3 MI 和 GABA 的纯品 THz 光谱图

物质的太赫兹特征吸收峰来源于太赫兹波与物

质分子的振动/转动之间的共振吸收^[15]。笔者所在团队将准备好的 MI 和 GABA 压片放入太赫兹时域光谱 (THz-TDS) 系统进行对纯品测试, 得到 MI 和 GABA 的实际光谱。MI 的 THz 谱如图 1(a) 所示, 在 MI 有效质量为 32.14 mg 时, 纯品样本对应的特征峰分别在 1.47 THz 和 2.34 THz, 而在 MI 有效质量为 2.23 mg 时, 因特征峰幅度过小而无法有效识别。GABA 的 THz 谱则如图 1(b) 所示, 在 GABA 有效质量为 30 mg 时, 纯品样本对应的特征峰分别在 1.07 THz、1.49 THz 和 1.99 THz 处, 其在 1.47 THz 和 2.34 THz 处无特征吸收, 且在 GABA 有效质量为 1.65 mg 时, 同样无法识别其特征峰。由此知, 传统压片法直接进行 MI 和 GABA 物质检测的下限均在毫克量级, 无法满足实际样本中低浓度 (微克、纳克级别) 检测的应用需求。

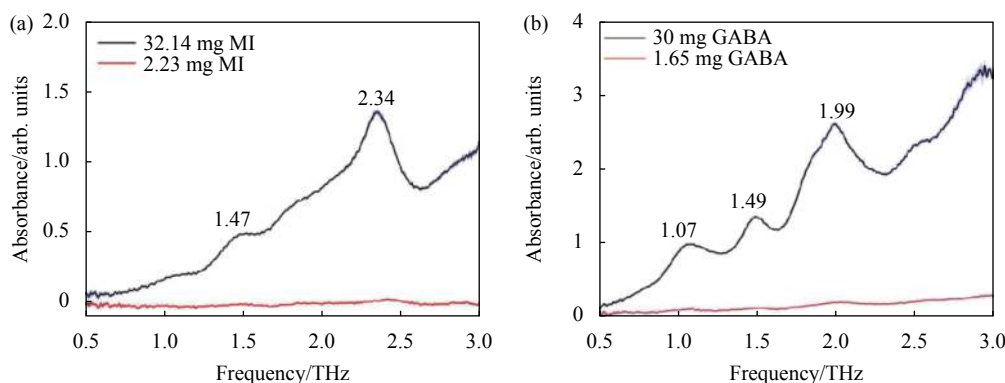


图 1 (a) MI 的 THz 特征光谱; (b) GABA 的 THz 特征光谱。误差棒以蓝色标于曲线上

Fig.1 (a) THz characteristic spectrum of MI; (b) THz characteristic spectrum of GABA. The error bars are marked on the curves in blue

2 芯片结构与测试

该节中, 为实现上述脑胶质瘤中特异性物质 MI 和 GABA 的高灵敏、低浓度检测, 设计了一款超材料传感芯片, 下面进行详细阐述。

2.1 传感芯片仿真结果

基于电容电感效应, 使用 COMSOL 软件先设计了一款特征透射型谐振环。为获得较强的透射响应, 提高灵敏度, 衬底的吸收应越低越好^[15]。因此笔者课题组选用熔石英材料, 衬底厚度为 $t=500 \mu\text{m}$ 。通过太赫兹光谱系统测试了它的介电常数。在 2.0~2.6 THz

范围内, 其平均相对介电常数为 $4+0.05i$ 。超材料谐振周期为 $p=35 \mu\text{m}$, 衬底表面用 50 nm 厚的金 (Au) 属薄膜 (灰色阴影部分) 在衬底上形成周期性金属开口谐振环 SRR, 谐振环的几何参数如图 2(a) 所示, 环开口的大小 $g=3 \mu\text{m}$, 内圆直径 $D_2=9.8 \mu\text{m}$, 外圆直径 $D_1=16 \mu\text{m}$, 线宽 $d=3.1 \mu\text{m}$ 。

由于在 COMSOL 仿真时, 纳米级别厚度的金层相对微米级别大小的结构会使网格剖分为精密, 导致非常庞大的计算量。因此, 在熔石英衬底的上表面添加一个完美电导体代替实际的金层, 减少计算量。其中完美电导体是一层电阻可以忽略不计的介质, 由

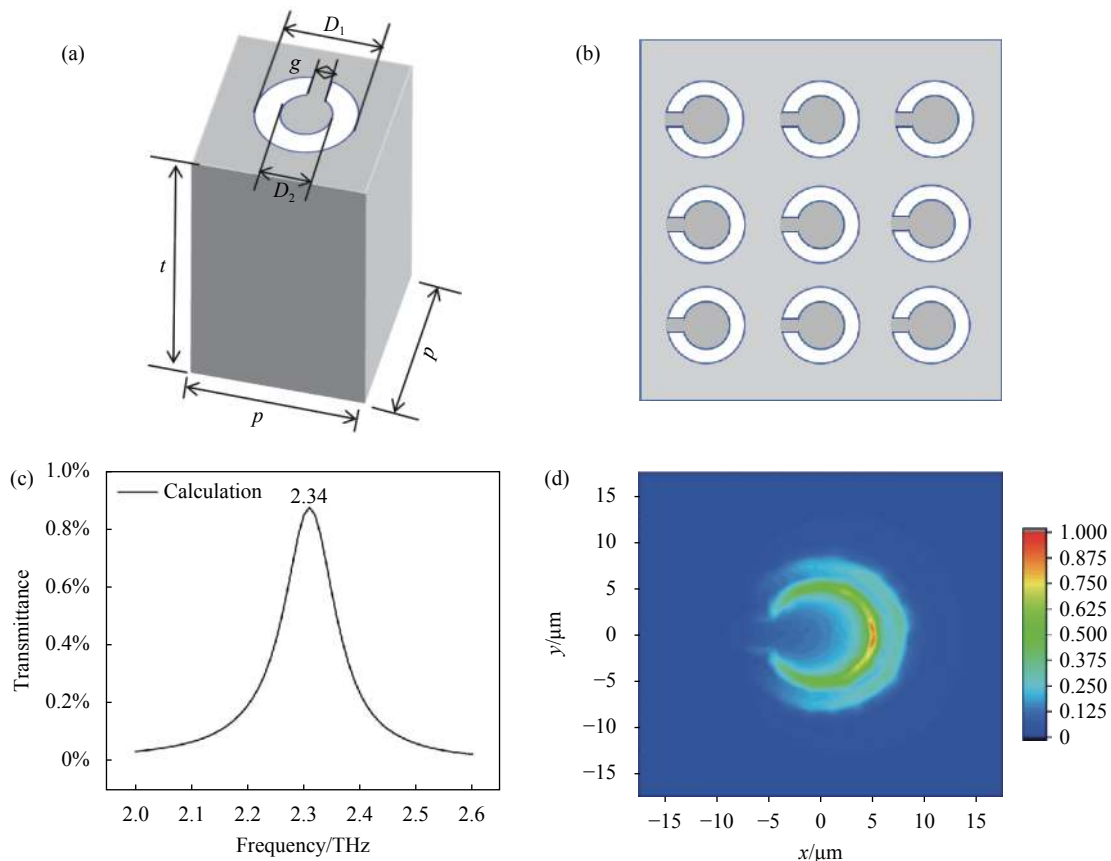


图 2 (a) 太赫兹谐振环芯片结构参数; (b) 结构多个排布图; (c) 理论的图谱数据; (d) COMSOL 计算得到归一化的电场分布

Fig.2 (a) Structure parameters of THz resonant ring chip; (b) Structure multiple layout drawings; (c) Theoretical map data; (d) The normalized electric field distribution calculating by COMSOL

于金在太赫兹波段是一种良好的导电材料,在仿真时可以近似为完美电导体。根据该结构计算得到的太赫兹特征吸收峰位于 2.41 THz 处,如图 2(c) 所示。其对应的归一化电场分布如图 2(d) 所示,可知电场模限制在了圆环状的裂隙处,这是因为当电场偏振方向即垂直于 y 轴时,即电场偏振方向为 x 轴方向时,开口环结构能够在金属表面引起感应环流,从而引起载流子分布不均,这种共振被称为 LC 共振。在介电特性方面,由于 LC 共振的存在,材料在对应的频率存在介电损耗,最终使其透射频谱出现单峰特性^[16]。在样本的覆盖下,超材料芯片的等效电容电感发生变化,导致 LC 共振频率发生变化。且不同样本的介电常数不同,因此最终超材料芯片的等效电容电感的变化会随物质的种类发生不同变化趋势,导致出现不同的 LC 共振规律。基于该原理,笔者课题组将该超材料芯片用于生物传感测试。

2.2 芯片的加工与测试

根据理论设计的参数,芯片加工得到超材料芯片在 200 倍显微镜下的部分结构如图 3(a) 所示。该芯片放置于太赫兹时域光谱系统中测得的太赫兹光谱如图 3(b) 所示,可以看到结构的谐振峰中心频率处于 2.38 THz 处,对于实验和仿真的光谱,其特征峰的位置(频率)和强度(透过率)皆存在不同。对于频率上的不同,这是由于在仿真时,考虑到金的电导率良好,为了提升计算效率,笔者所在团队使用一层完美电导体来代替实际的金层,因而最终超结构表面的等效电容电感存在差异,LC 振荡的频率也就存在偏移。而透过率的差异则是由于两点:(1) 仿真时的完美电导体是一个不计厚度的平面,因此计算时不会考虑金层所产生的介电损耗,而实际结构的金层具有一定厚度,因此会对太赫兹波产生吸收;(2) 由于加工技术的限制,存在公差,无法完美实现仿真时的设计。

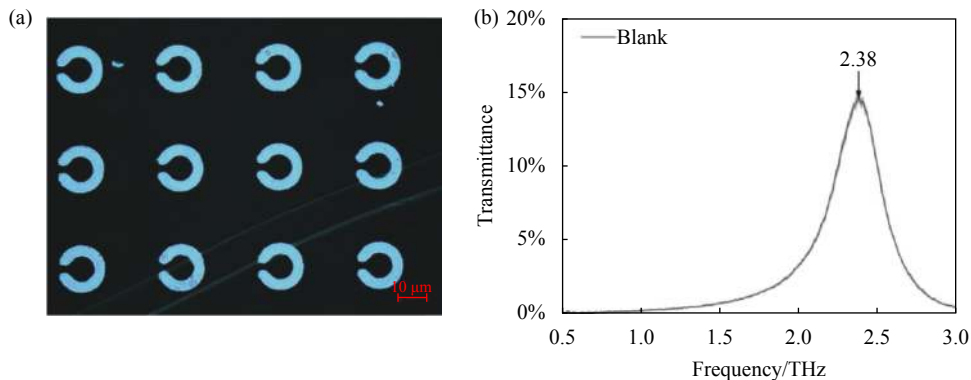


图 3 太赫兹谐振环芯片实物测试。(a) 显微镜下的超材料芯片的部分结构照片 (200×); (b) 芯片实测的太赫兹光谱, 其误差棒以灰色标于曲线上
Fig.3 Physical test of THz resonant ring chip. (a) Partial structural photos of metamaterial chip under microscope (200×); (b) THz spectrum measured by the chip. The error bar is marked on the curve in grey

2.3 测试结果与数据分析

2.3.1 超材料传感芯片对 MI 样品的响应

如图 4(a) 所示, 在超材料芯片试验中, 随着芯片表面 MI 样品的增加, 同时出现了峰频移和峰幅度变化两个现象: (1) 峰幅度下降: 随着样品浓度增加, 其对太赫兹波产生更多吸收, 导致光谱透过率降低。(2) 峰向低频移动: 发现超材料芯片的谐振峰随着样品浓度的变化而移动, 因为超材料对其表面覆盖样品的相对介电常数非常敏感。随着相对介电常数的变化, 谐振峰的位置也会随之改变^[17-18]。同时笔者所在团队还从图 4(a) 中明显观察到 MI 浓度增加时, 芯片的谐振峰都向低频移动 (红移), 提取不同浓度的频移量来分析其与浓度的函数关系, 对数据进行拟合, 见图 4(b), 通过函数拟合得到线性方程, $f(n)=a+b \cdot n$, 函数

中 $f(n)$ 为频移量 (THz), n 为样品的浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$), 函数系数为: $a=0.00225$, $b=0.01235$, 决定系数 (R^2)= 0.9805 的拟合优度。

2.3.2 超材料传感芯片对不同样品的响应

另外, 用同一芯片测试了脑胶质瘤另一标志物 γ -氨基丁酸 (GABA), 如图 5(a) 所示, 随着芯片表面 GABA 样品的增加, 同样出现了峰频移和峰幅度变化两个现象。提取不同浓度的频移量来分析其与浓度的函数关系, 对数据进行拟合, 如图 5(b) 所示, 通过函数合得到非线性方程 $f(n)=a \cdot \exp(b \cdot n) + c \cdot \exp(d \cdot n)$, 函数中 $f(n)$ 为频移量 (THz), n 为样品的浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$), 函数系数为: $a=0.07539$, $b=0.03814$, $c=-0.07471$, $d=-0.2549$, 可以获得决定系数 (R^2)= 0.9999 的拟合优度。

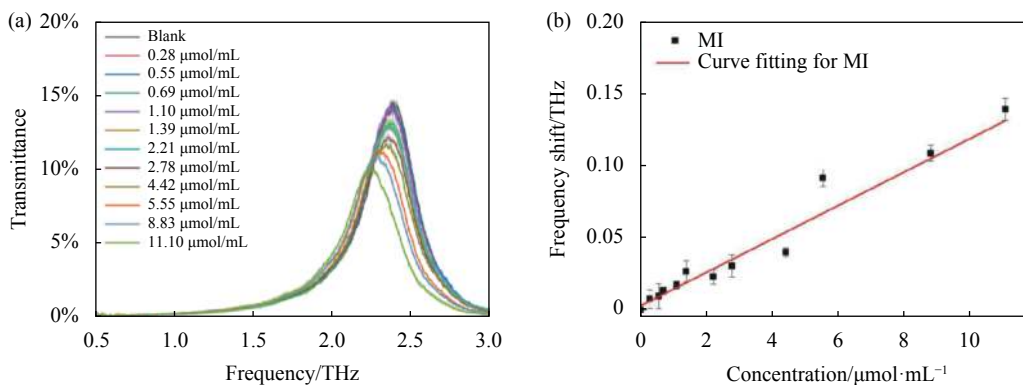


图 4 MI 的测试结果。(a) 不同浓度 MI 覆盖的超材料芯片的太赫兹光谱; (b) 不同浓度 MI 下芯片谐振峰频移变化。测量误差棒标于各自曲线/点上

Fig.4 Testing results of MI. (a) Terahertz spectra of MI covered metamaterial chips with different concentrations; (b) The change of formant frequency shift of chip under different concentration of MI. The error bars are marked on the curves/points

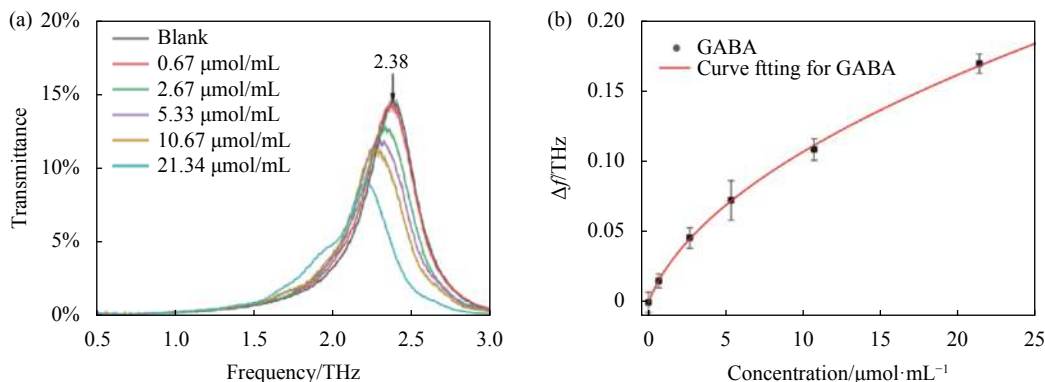


图 5 GABA 的测试结果。(a) 不同 GABA 浓度覆盖的超材料芯片的太赫兹光谱; (b) 不同 GABA 浓度下芯片谐振峰频移变化。测量误差棒标于各自曲线/点上

Fig.5 Testing results of GABA. (a) Terahertz spectra of metamaterial chips covered with different concentrations of GABA; (b) The change of formant frequency shift of chip under different concentrations of GABA. The error bars are marked on the curves/points

2.4 结果分析

从图 4 和图 5 的结果可知, 所设计的超材料芯片对于 MI 和 GABA 具有不同的响应函数, 虽然由于实验中制备样本和系统抖动都会产生误差, 导致函数拟合优度有差异, 但是, 依旧可以通过对未知样本的浓度累积测试, 从而通过识别其频移曲线的参数来定性识别样本的种类。因为 MI 和 GABA 的介电常数不同, 所以对于覆盖了 MI 和 GABA 的超材料芯片, 其等效电容电感不同, 导致 LC 振荡频率不同, 因此具有不同的频移规律。此外, 通过对实验中最低浓度的测试样品的数据计算可得, 所设计的芯片对 MI 和 GABA 实际检测下限分别达 3.457 μg 和 2.552 μg , 优于传统的压片检测三个数量级。

3 结论

文中基于电容电感效应设计了一款超材料传感芯片并将其应用于脑胶质瘤中特异性物质 MI 和 GABA 的检测。根据芯片测试结果可知: (1) 相比于传统压片法, 采用超材料传感芯片检测 MI 和 GABA 能够达到微克量级, 依据样品的最低浓度进行计算, 可得实际检测下限分别达 3.457 μg 和 2.552 μg , 优于传统的压片检测三个数量级, 明显提高了检测灵敏度; (2) 芯片对于 MI 和 GABA 具有超材料特征峰变化规律, 因而能够基于这种变化规律实现对于 MI 和 GABA 的定性和定量识别。这也表明, 所设计的超材料传感芯片不仅能用于脑胶质瘤疾病检测, 还可以应用于其他疾病检测, 因为不同疾病标志物具有不同的

介电常数, 使得超材料传感芯片对其具有不同的响应。此外, 通过内标法还可以实现通过超材料传感芯片对混合物的定性和定量分析^[14]。这些结果证明了将超材料传感芯片应用于脑胶质瘤诊断的可行性, 但是对于真实的组织样本, 其组分复杂, 目前的芯片灵敏度仍然欠缺。因此, 需要同时从芯片频移响应和系统的分辨率增强的方向上进行改进。

参考文献:

- [1] Li Can, Wang Xin, Zhai Shuang. Detection of diseased brain based on medical image [J]. *Journal of Changchun University of Technology*, 2020, 41(2): 162-167. (in Chinese)
- [2] Wang Y Y, Wang L P, Li T, et al. Terahertz characteristic absorption spectrum analysis of homocysteine [J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(10): 1030003. (in Chinese)
- [3] Xie Q, Yang H R, Li H G, et al. Explosives identification based on terahertz time domain spectroscopy [J]. *Optical Precision Engineering*, 2016, 24(10): 2392-2399. (in Chinese)
- [4] Wang S F, Wang Q C, Peng Y. Mechanism study of terahertz radiation regulation in multi-color laser field [J]. *Journal of the Optical Society of America B*, 2020, 37(11): 3325-3334. (in Chinese)
- [5] Yan Jun, Wang Liping, Li Tian, et al. Quantitative identification of homocysteine in liquid by terahertz technology [J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2019, 48(8): 0819001. (in Chinese)
- [6] Zhang J F, Yuan X D, Qin S Q. Tunable terahertz and optical metamaterials [J]. *Chinese Journal of Optics*, 2014, 7(3): 349-364. (in Chinese)
- [7] Zhu Y M, Shi C J, Wu X, et al. Research on algorithm of

- terahertz spectroscopy in biomedical detection [J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 41(1): 0130001. (in Chinese)
- [8] Gao Xiang, Liu Xiaoqing, Dai Zijie, et al. Integrated terahertz confocal imaging system based on waveguide structure [J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2019, 48(S2): S219001. (in Chinese)
- [9] Peng Y, Yuan X R, Zou X, et al. Terahertz identification and quantification of neurotransmitter and neurotrophin mixture [J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(11): 4472-4479. (in Chinese)
- [10] Bianchi L, Micheli E D, Bricolo A, et al. Extracellular levels of amino acids and choline in human high grade gliomas: An intraoperative microdialysis study [J]. *Neurochemical Research*, 2004, 29(1): 325-334.
- [11] Choi I Y, Lee S P, Merkle H, et al. In vivo detection of gray and white matter differences in GABA concentration in the human brain [J]. *NeuroImage*, 2006, 33(1): 85-93.
- [12] Gu H Y, Shi C J, Wu X, et al. Molecular methylation detection based on terahertz metamaterial technology [J]. *Analyst*, 2020, 145(20): 6705-6712.
- [13] Wang L P, Wu X, Peng Y, et al. Quantitative analysis of homocysteine in liquid by terahertz spectroscopy [J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(5): 2570-2577. (in Chinese)
- [14] Pan X C, Yao Z H, Xu X L, et al. Fabrication, design and application of THz metamaterials [J]. *Chinese Optics*, 2013, 6(3): 283-296. (in Chinese)
- [15] Guo L H, Wang X K, Zhang Y. Terahertz digital holographic imaging of biological tissue [J]. *Optical Precision Engineering*, 2017, 25(3): 611-615. (in Chinese)
- [16] Luo C W, Zhao Z Y, Song Z Q, et al. Terahertz extraordinary transmission from flexible C-shape split-ring resonators [J]. *Journal of East China Normal University (Natural Science)*, 2016, 6(1): 0107-06. (in Chinese)
- [17] Singh R, Cao W, Al-Naib I, et al. Ultrasensitive terahertz sensing with high-Q Fano resonances in metasurfaces [J]. *Applied Physics Letters*, 2014, 105(170): 171101.
- [18] Peng Y, Shi C J, Zhu Y M, et al. Qualitative and quantitative analysis algorithm of terahertz spectroscopy in biomedical detection [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2019, 46(6): 0614002. (in Chinese)