

光纤生物传感器在癌症早期检测的应用：论文综述

Matrew File

*Personal

matrewfile+research@elfile4138.moe

2023-11-26

摘要

基于光纤传输性质的生物传感器因其检测迅速、选择性强、成本低、便于使用等优点成为了近年来光纤应用研究的前沿领域之一。本文对光纤在生物传感器这一领域的一个技术路线进行了简要的技术架构回顾，并比较分析了两个对癌症标志物进行光纤检测的光纤生物传感器实例。

技术介绍

生物传感器

生物传感器是能选择性检测生物种类的电学、光学、化学、机械装置。为了增强其传感的选择性和灵敏性，其传感部分通常会经过生物修饰。

生物传感器可以有选择性的检测多种有生物活性的实体或其示踪物质，例如酶、抗体、核酸片段等。理想的生物传感器应当有尽可能高的灵敏性以有效的对痕量目标物进行检测，同时还应当有足够高的选择性以确保定向检测的准确性。其在医疗诊断、食品和水源的抗原和毒性物质检测等领域都有广泛用途。

光纤

光导纤维是一种由玻璃或塑料制成的纤维，作为介质波导利用光在其中的全反射效应实现光传播。

为了实现内全反射，光纤通常由两种具有不同折射率的光学材料制成，折射率较小的包层在外，折射率较大的纤芯在内。依据两种材料的混合方式不同，光纤分为渐变光纤（折射率连续变化）和突变光纤（折射率在包层和纤芯边界突变）。同时，满足内全反射要求光必须以特定角度范围入射波导，该角度范围称为光纤的受光锥角，其正弦值（无量纲）被称为对应光纤的数值孔径。该值与对应光纤的纤芯折射率与包层折射率的差值存在函数关系，参考 (Buck, 2004) 给出该关系：

$$V = \frac{2\pi}{\lambda} \rho (n_{co}^2 - n_{cl}^2)^{\frac{1}{2}}$$

其中 λ 是光源波长、 ρ 是纤芯半径、 n_{co} 和 n_{cl} 分别是纤芯和包层的折射率。

纤芯直径较大 ($>10\mu\text{m}$ ，标准一般为 $50\mu\text{m}$ 或者 $62.5\mu\text{m}$) 的光纤内光的传导可以用几何光学理论进行分析，该类光纤被称为多模光纤。由于多模光纤的数值孔径较大（一般模数平方正比于 V ），其一般对光源的容限较大（可以使用 LED 源），但其所承载的不同模态的光会在传播中产生光程差，继而发生多模态色散，

影响有效传输距离和传输速率。多模渐变光纤由于其内部折射率连续变化，光传播的路径可以被精心设计以极小化轴传导速度差值，继而减少光程差和色散；相较于多模突变光纤的折线光传播有着更佳的性能。

纤芯直径较小（一般小于光波长约十倍，标准一般为 $8\mu\text{m}$ 或 $10\mu\text{m}$ ）的光纤内光的传导必须使用麦克斯韦方程组导出电磁波方程式进行分析，该类光纤被称为单模光纤。单模光纤的数值孔径较为狭窄，一般仅允许单种模态的光通过。其对光源的容限较为狭窄（通常使用激光源），但具有更好的远距离传输能力和更大带宽。对单模光纤的波导分析显示，其光波传导很大一部分能量都以渐逝波的形式传导于包层。

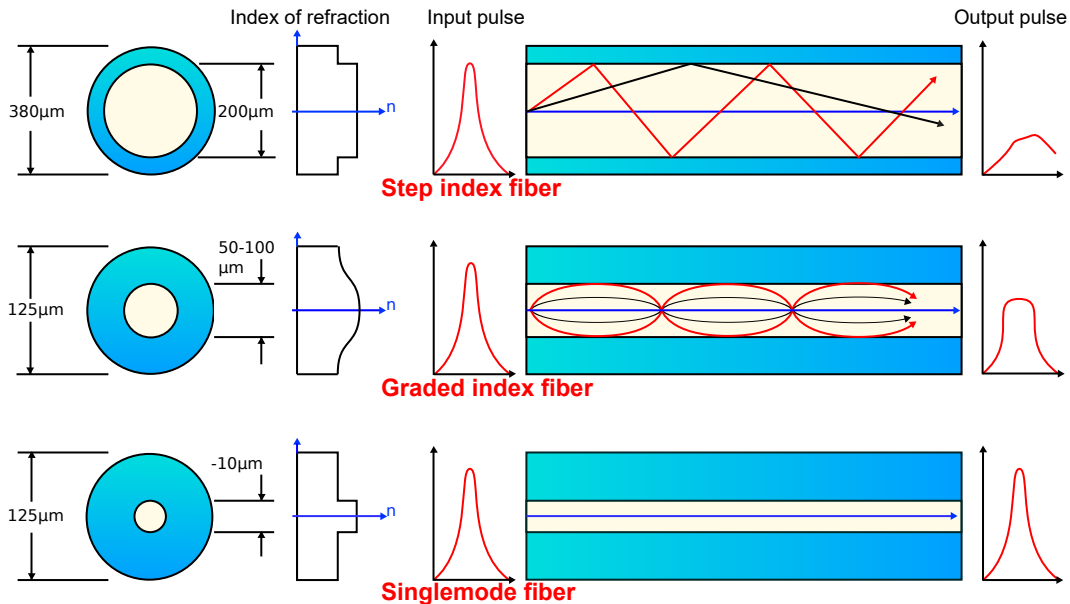


图 1: 光导纤维的类型 (Mrzeon, 2007)

渐逝波的范围对单模光纤传导的性能有重要影响。一般认为，渐逝波自纤芯与包层的交界处发出，在包层中指数衰减至 $1/e$ 的距离为其穿透深度。参考 (Pollock, 1995) 给出穿透深度的数学定义：

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi \sqrt{n_{co}^2 \sin^2 \theta - n_{cl}^2}}$$

其中 θ 是交界处的入射角。

光纤生物传感器 (Fiber Optic Bio-Sensor, FOBS)

尽管光纤设计的用途为尽可能少损耗的长距离传导光信号，但如果刻意的将（特别是单模的）光纤的纤芯与测试物接触，或者将包层替换为与测试物会发生反应继而改变性质的其他物质，由于其对渐逝波的吸收度不同，以渐逝波的形式传导于包层（即传感层）的光传导的状态也会受到影响。显然的，这一影响会被传导到接收端形成可检信号变化。籍由此理论，对包层进行特殊处理的光纤可以有效的作为传感器实现传感。光纤传感器的敏感度影响因素主要有两个方面：光线在传感段中折射的次数（即渐逝波被吸收的次数）和渐逝波的穿透深度。

早期的光纤生物传感器采取了直接移除包层的方式进行检测。但依据上述公式，使用 470 nm 标准光源在 $n_{co} = \sim 1.45$ 、 n_{aq} （生物检测中常用的溶液折射率） $= 1.33 \sim 1.34$ 的情况下，临界角将为 67° 。假定

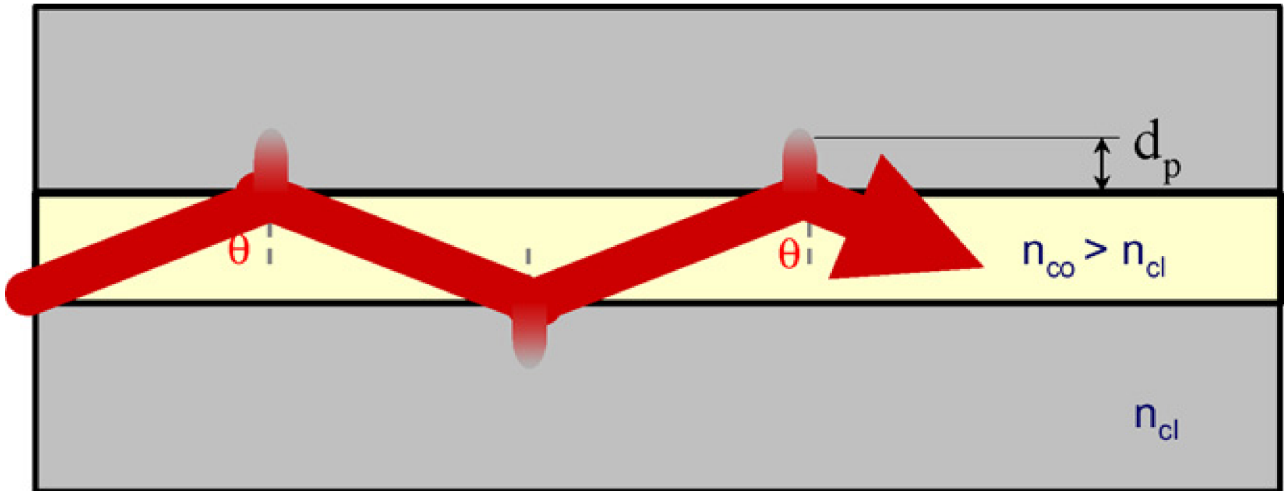


图 2: 沿长轴的光纤剖面 (Leung et al., 2007)

入射角为 80° ，穿透深度预计仅为 $0.145\mu\text{m}$ (Leung et al., 2007) 较常见生物质的尺寸不足以产生足够的可辨识灵敏度。

如果单模光纤的纤芯数值孔径在传播过程中发生变化（因为纤芯的几何结构改变，或者局部的反射率改变），传输中就会发生模式耦合，继而产生多模传输。多模传输相较于单模传输所产生的渐逝波穿透深度范围更大，产生的信号具有更高的灵敏度，即可被实用的应用于光纤传感。

这一改变可以以多种形式产生，例如：

- 弯曲检测端；
- 锥化 (Tapering) 检测端；

等。

弯曲光纤会导致导光产生更高阶的模式，继而产生具有更大穿透深度的渐逝波场。(Khijwania and Gupta, 1998) 的实验指出，光纤传感器的敏感度与其纤芯直径成反比相关、与其数值孔径正相关；若产生 U 形弯曲，敏感度与弯曲半径平方反比相关。后续研究 (Khijwania and Gupta, 2000) 更进一步的实验得出了 U 形弯曲的最佳半径。

锥化同时实现了暴露纤芯至检测面，和增强渐逝波的强度和穿透深度两个目的。锥化可以在除去包层后在纤芯上实现，也可以直接锥化整个光纤体；可以锥化光纤尖端，也可以锥化光纤中部。依据锥化方式不同，所产生的几何结构也不同，主要分为阶梯型、锥型和复合型。(Mignani et al., 1998) 对中部锥化的光纤能量损耗进行了建模和实验分析，发现锥化光纤的能量损耗（与灵敏度成正比）约为 10 倍于未锥化光纤。(Villatoro et al., 2005) 更进一步的定义了渐逝波场与总光导的能量比 (R) 量化描述锥化设计。

基于此原理的传感器通常产生的信号较弱，需要结合特定的传导机制对其传感信号进行增益和解读。常见的检测向量包括：

- 纯光强；
- 渐逝波吸收；
- 荧光；
- 表面等离子共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR)；

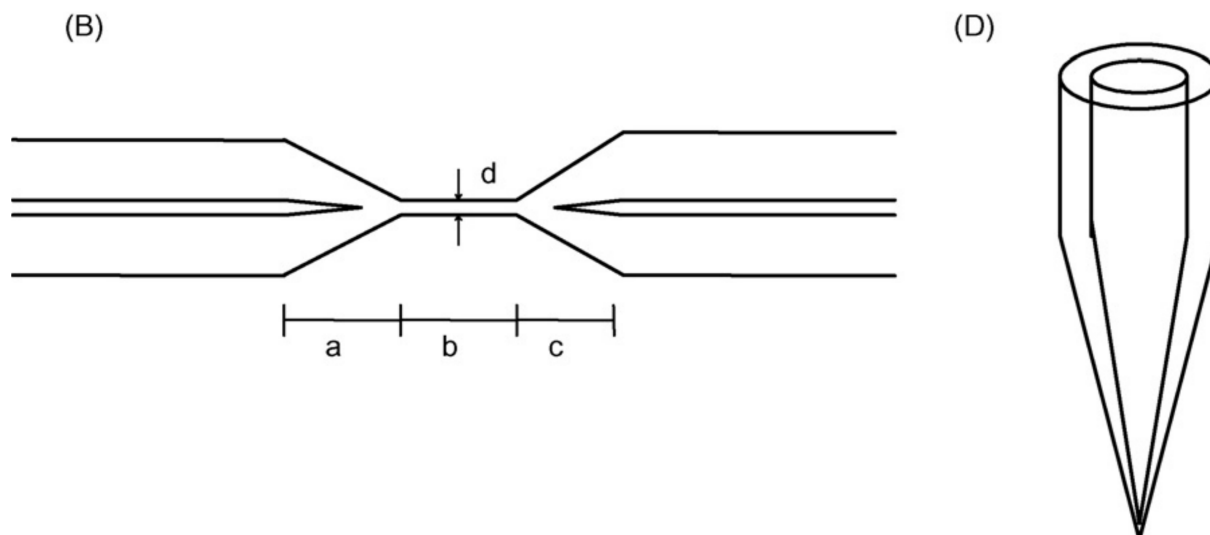


图 3: 锥化光纤的两种方式 (Leung et al., 2007)

等。

对于渐逝波荧光现象，通常有两种构建传感器的方式。一种是使用荧光标志物：外来的荧光标志物仅在检测物存在的情况下才能被光纤传输的渐逝波激发荧光；另一种是在光纤表面先附着荧光染料，并检测检测物存在时荧光的减弱情况。这一种检测方式存在一个特别的问题：数值孔径不匹配，即纤芯与包层的模载容量不匹配导致的信号耦合受限。(Anderson et al., 1994) 设计了一个直接移除包层（没有锥形缓冲段）的渐逝波荧光传感器，但这一设计返回的荧光效果并不实用。

表面等离子共振是渐逝波现象的一个变体。使用该类技术的传感器通常是一个由金属包覆的光导介电体。在这种状态下，渐逝波场不再直接与检测物或者激发的荧光分子进行反应，而是以等离子体的形式传导到金属层的表面。当一个 P 偏振化的光束满足共振条件时，其会激发一个电荷密度共振，以表面等离子共振的形式影响表面上下 100nm 的范围。当这一现象发生时，反射光的强度会大大减弱，所减弱的频率（或分光后呈现的反射角度）与检测物的反射率有关。

一般的，金或银被用于 SPR 传感器的金属涂层。金层的使用会导致共振参数随折射率而变化，而银层可以窄化共振带，从而提高信噪比。但银层相较于金层化学性质不够稳定，因此有提议 (Sharma and Gupta, 2005) 两种金属同时使用。

案例研究

(Ribaut et al., 2017): Cancer biomarker sensing using packaged plasmonic optical fiber gratings: Towards in vivo diagnosis

癌症的早期诊断对提高患者的生存率至关重要，然而传统的组织活检作为金标准因其手术取样的特性，难以应用于筛查。近期癌症筛查的焦点集中在特定癌症标识物的检测，尤其是借助生物传感器，但这些方法同样需要取样，限制了其在体内直接检测方面的应用。因此，该研究致力于探索一种新颖的体内直接癌症活检方法。

该研究的首要特点在于在光纤传感器上实现了直接的体内活检。其选择以肺癌标志物 CK17 作为目标检测物，通过在聚丙烯酰胺替代组织材料模型上的测试，达到了理想的高敏感度，并在实际人体肺部样本上进

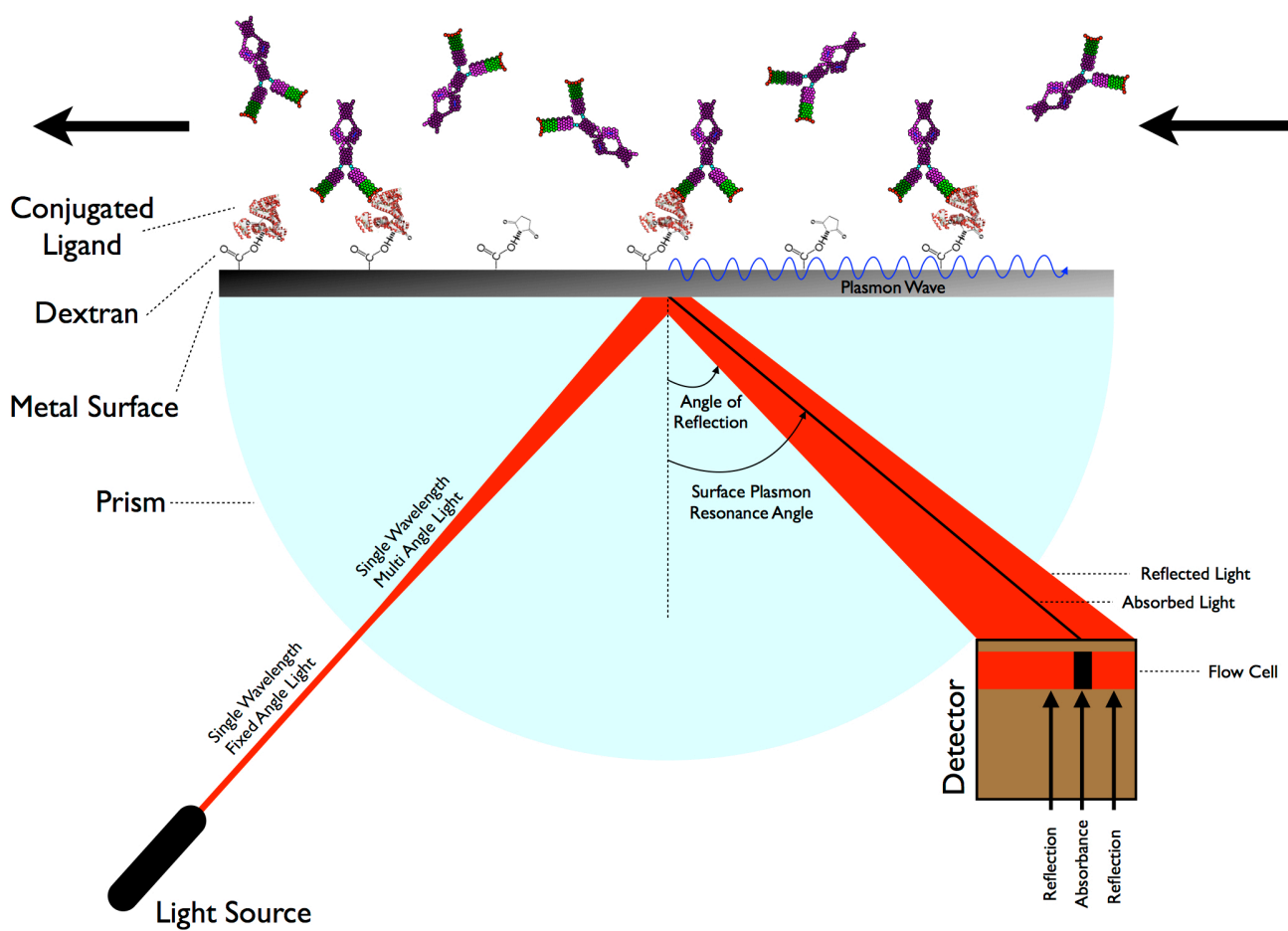


图 4: SPR 现象原理图 (SariSabban, 2011)

行了验证。

该传感器的检测向量为 SPR。此外，还结合了倾斜光纤布拉格光栅 (Tilted Fiber Bragg Grating, TFBG) 技术以增强选择性。光纤布拉格光栅 (Fiber Bragg Grating, FBG) 是一种建构在光纤纤芯上的分散式布拉格反射器。其通过在纤芯制造周期性的反射率突变继而形成介电反射镜结构，从而实现了对特定波长光的带阻过滤。

该光学仪器的理论基础是菲涅尔反射。光在经过不同反射率的介质时会在界面处产生反射，反射率的大小与介质折射率差有关。当多层不同折射率的介质交互周期性的堆叠时，反射光会形成相长干涉，继而形成对光的强反射。如果层数足够多而折射率差足够小，这一反射就会对波长产生高度选择性。

TFBG 的基本原理与 FBG 一致，但周期性的突变层产生了特定角度的倾斜。这一倾斜会导致部分反射光产生更加复杂的模式耦合，模式表现受环境和包层情况影响。通过检测模式的变化，即可反映出 TFBG 段的环境情况。

探测器的结构设计采用通信级单模光纤作为基底，通过氩离子激光在纤芯掺杂反射率突变片，使其工作在反射模式下。金层薄膜上附着自组装单链层，并附着 CK17 标志物抗体。整个光纤传感段封装入 POM (聚甲醛) 探头中，与偏振器和传感源连接。这一探头有利于在穿刺检查中保护传感段的宏观结构完整性。检测光源为近红外波长，与生物质吸收峰接近，能有效提高检测灵敏度。

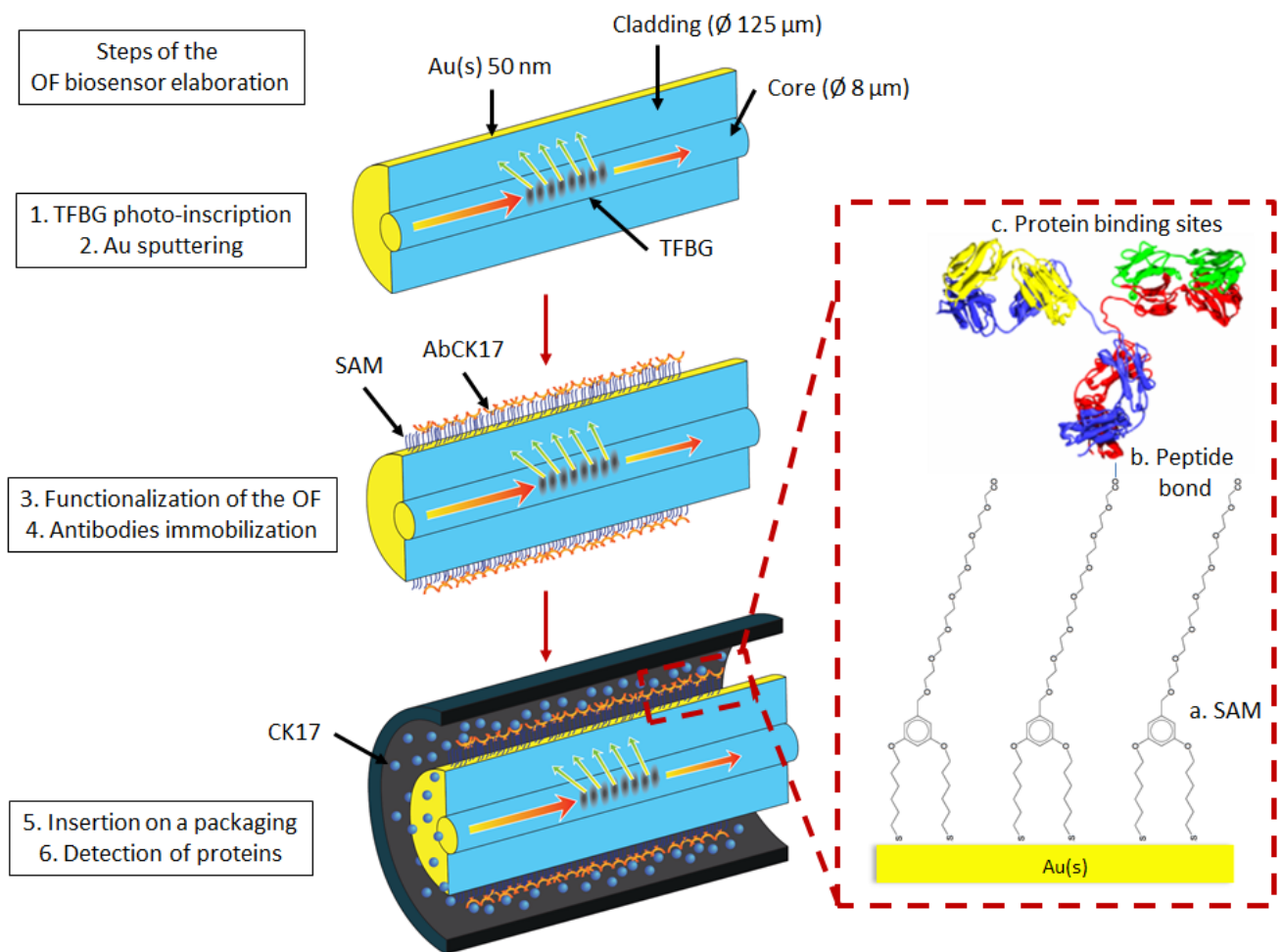


图 5: 传感器的制作模式图 (Ribaut et al., 2017)

所制造的探头在含 CK17 的生物质 Buffer 以及活体样本中进行了直接检测。

在生物物质 Buffer 溶液中，在 5 分钟的反应时间后对最敏感的模式振幅进行了检测，峰强度产生了 1.2dB 的变化。对含 CK17 的 Buffer 溶液和对照组的反射率分析未显示差异，证明这一变化并非受反射率影响，而是来自结合了 CK17 抗原的金层的 SPR 反应。

在活体检测中，10 分钟的反应时间中峰强度产生了 0.61dB 的偏移。该偏移过程展现了显著的时间-强度线性正比 ($R^2 = 0.98$)，可以作为阳性发生的有力佐证。

(Zhou et al., 2019): Black phosphorus based fiber optic biosensor for ultrasensitive cancer Diagnosis

石墨烯、过渡金属二硫属化物单层 (Transition Metal Dichalcogenides, TMDs)、硼碳氮化物 (Boro-carbonitrides) 等新型二维单层材料因其高度优势的机械、电、光、化学性质，近年来成为了材料学研究的一个热门领域。黑磷单层作为这类二维单层材料之一，由于其独特的晶体结构和晶体内键排布，具有极高的面积-体积比、空穴迁移率、分子吸收能等。其优异的材料性能虽然在光电性质和应用方面受到过关注，但其在生物医疗方面的应用因其弱生物相容性而一直受到限制。

该研究首次提出了基于黑磷单层涂覆层的神经元特异性烯醇化酶 (Neuron-specific enolase, NSE) 标识物生物传感器。其主要使用了聚赖氨酸与黑磷层结合以产生生物活性，并结合需检测的 NSE 抗体。

与 (Ribaut et al., 2017) 相似的，该传感器的技术基础是 SPR-TFBG。TFBG 段的加工方式与其也相似，都使用氩离子激光。与其不同的是，该研究中黑磷纳米单层的合成和沉积是一个较大挑战。该研究使用了其前序研究 (Sun et al., 2015) 的合成方式，使用异丙醇黑磷乳液在超声波中成层后再离心分离。所合成的黑磷层大小在数十至数百纳米之前，而层厚约为 8-26 层原子。光纤表面经氢氧化钠处理附着羟基，再浸入 (3-氨基丙基) 三乙氧基硅烷 (APTES) 的 5% 体积分数乙醇溶液。其会和羟基反应生成硅-氧-硅键，继而形成带正电荷的表面。清洗后的反应面再浸入分立出的异丙醇黑磷乳液，其会在溶剂蒸发的过程中经电荷结合沉积在光纤表面上。

所制造出的黑磷单层附着的光纤被浸入聚赖氨酸溶液中，聚赖氨酸通过静电作用结合在黑磷表面上。附着后的光纤再浸入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺 (EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 和 NSE 抗体的混合溶液中进行免疫偶联反应，将 NSE 抗体绑定在表面。

所制造的传感器在含有不同浓度的 NSE 抗原的磷酸盐缓冲生理盐水中进行了测试。在低至 1ng/mL 的抗原浓度下，检测端依然产生了显著的波长偏移。对数据进行拟合，抗原的浓度与波长偏移存在显著的对数正比关系 ($R^2 = 0.98$)。同时，单个传感器多次测量的可行性也进行了实验验证，确认了单个传感器可稳定的用于多次测量。另外，为了验证传感的选择性，传感器也在其他非目标检测物 (如免疫球蛋白 G (IgG)、前列腺特异抗原 (PSA)) 溶液中进行验证，结果显示其偏移情况显著小于目标抗体，证明了其高选择性。

结论和未来展望

光纤生物传感器因其检测迅速、选择性强、成本低、便于使用等优点，在医疗诊断、食品和水源的抗原和毒性物质检测等领域有广泛用途。本论文对光纤传感器的基本性质和工作原理进行了简要回顾，并主要讨论了其在癌症标志物检测方面的应用。

同时，本文分别介绍了两个光纤生物传感器的应用案例，分别是使用封装的等离子体光纤光栅进行体内癌症诊断，以及使用基于黑磷的光纤光学生物传感器进行超敏感的癌症诊断。

这两个案例都展示了光纤生物传感器在癌症早期诊断中的潜力，进一步证明了这种技术的重要性和应用价值。然而，这仍然是一个快速发展的研究领域，未来的研究可能会在以下几个方面取得进展。

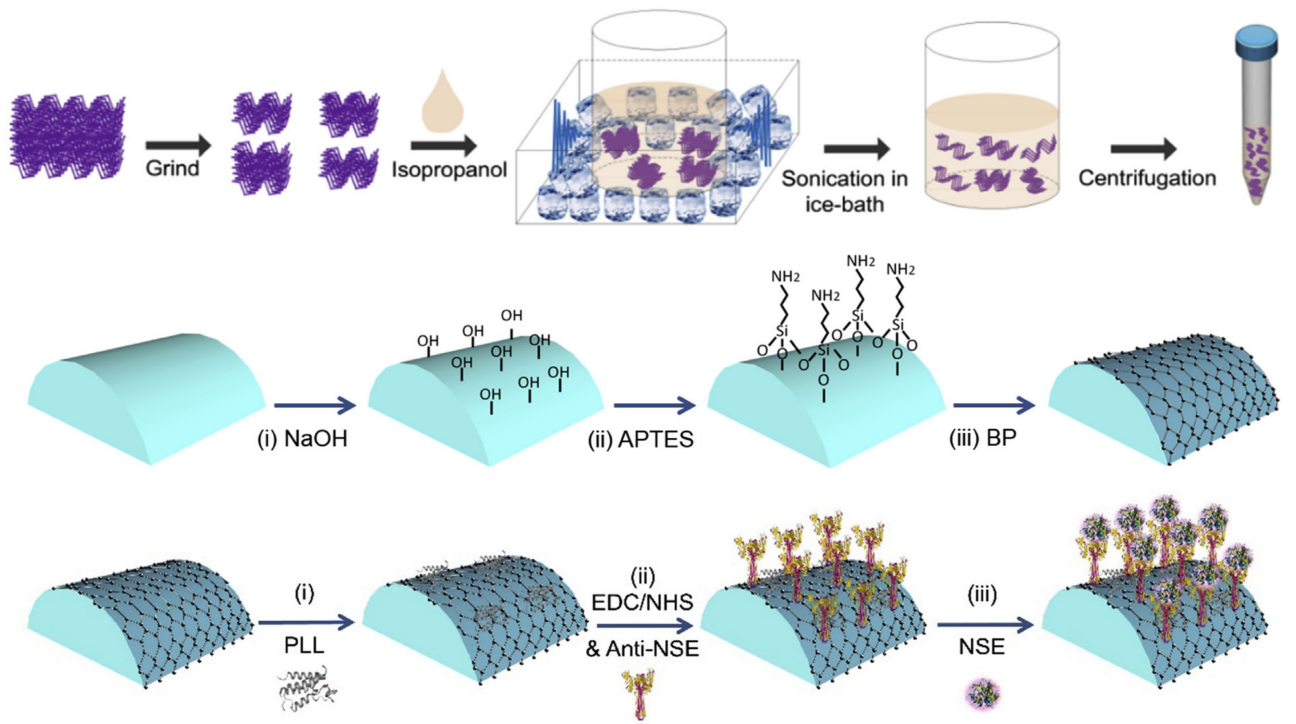


图 6: 整体制作流程 (Zhou et al., 2019)

两篇论文的比较分析显示了在基本原理和结构不变的前提下，新型材料（如所提到的二维单层材料）的应用可以有效的促进传感器的灵敏度和选择性进一步发展。因此，该方向的研究应当密切关注新型光电材料的进展，促进跨学科交流合作。

光纤所带来的小型化传感对于非侵入性的体内诊断有着重要价值。现有的生物传感多关注于对预制备的生物物质溶液的检测，所研究的案例提出了一个新颖的方向，即对弱液体检测物的优化检测，值得后续探索。

另外，随着机器学习和人工智能技术的发展，光纤传感器所返回的数据可以被进一步的深度挖掘，从而提取出更加灵敏的数据特征，促进传感自动化发展。

总的来说，基于光纤的生物传感器技术在癌症诊断中的应用前景十分广阔。随着相关技术的发展和 innovation，我们期待在未来看到更多的突破和进步。

Reference

- Anderson, G.P., Golden, J.P., Ligler, F.S., 1994. An evanescent wave biosensor. I. Fluorescent signal acquisition from step-etched fiber optic probes. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 41, 578–584. <https://doi.org/10.1109/10.293245>
- Buck, J.A., 2004. *Fundamentals of optical fibers*, 2nd ed. ed, Wiley series in pure and applied optics. John Wiley & Sons, Hoboken, N.J.
- Khijwania, S.K., Gupta, B.D., 2000. Maximum achievable sensitivity of the fiber optic evanescent field absorption sensor based on the U-shaped probe. *Optics Communications* 175, 135–137. [https://doi.org/10.1016/S0030-4018\(00\)00465-X](https://doi.org/10.1016/S0030-4018(00)00465-X)
- Khijwania, S.K., Gupta, B.D., 1998. Fiber optic evanescent field absorption sensor: Effect of fiber parameters and geometry of the probe.

- Leung, A., Shankar, P.M., Mutharasan, R., 2007. A review of fiber-optic biosensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* 125, 688–703. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.03.010>
- Mignani, A.G., Falciai, R., Ciaccheri, L., 1998. Evanescent Wave Absorption Spectroscopy by Means of Bi-Tapered Multimode Optical Fibers. *Appl Spectrosc* 52, 546–551. <https://doi.org/10.1366/0003702981943851>
- Mrzeon, 2007. [English: Optical fiber types.](#)
- Pollock, C.R., 1995. *Fundamentals of optoelectronics*. Irwin, Chicago.
- Ribaut, C., Loyez, M., Larrieu, J.-C., Chevineau, S., Lambert, P., Remmelink, M., Wattiez, R., Caucheteur, C., 2017. Cancer biomarker sensing using packaged plasmonic optical fiber gratings: Towards in vivo diagnosis. *Biosensors and Bioelectronics* 92, 449–456. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.10.081>
- SariSabban, 2011. [English: Surface Plasmon Resonance \(SPR\) configuration.](#)
- Sharma, A.K., Gupta, B.D., 2005. On the sensitivity and signal to noise ratio of a step-index fiber optic surface plasmon resonance sensor with bimetallic layers. *Optics Communications* 245, 159–169. <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2004.10.013>
- Sun, Z., Xie, H., Tang, S., Yu, X., Guo, Z., Shao, J., Zhang, H., Huang, H., Wang, H., Chu, P.K., 2015. Ultrasmall Black Phosphorus Quantum Dots: Synthesis and Use as Photothermal Agents. *Angew Chem Int Ed* 54, 11526–11530. <https://doi.org/10.1002/anie.201506154>
- Villatoro, J., Luna-Moreno, D., Monzón-Hernández, D., 2005. Optical fiber hydrogen sensor for concentrations below the lower explosive limit. *Sensors and Actuators B: Chemical* 110, 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.01.009>
- Zhou, L., Liu, C., Sun, Z., Mao, H., Zhang, L., Yu, X., Zhao, J., Chen, X., 2019. Black phosphorus based fiber optic biosensor for ultrasensitive cancer diagnosis. *Biosensors and Bioelectronics* 137, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.04.044>