

磁声结合的生物分子多特性检测系统^{*}

欧阳吉海¹, 文玉梅^{1,2}, 陈冬雨¹, 左 灿¹, 李 平¹

(1. 上海交通大学自动化与感知学院 上海 200240; 2. 上海交通大学海底科学与划界全国重点实验室 上海 200240)

摘要:对生物分子进行磁标记是生物分子技术中重要的操控手段,但是现有针对磁标记分子的检测系统存在检测对象单一,应用场景有限等问题。磁标记分子可以受磁场控制运动,采用厚度剪切石英振荡器作为传感器传感分子运动,分子的运动受分子本身或基载液特性影响,通过分析分子运动信号,就能检测影响运动的分子或基载液特性。据此,研发了磁声结合的磁标记生物分子多特性检测仪器系统,为磁标记分子多特性的检测应用提供充分的灵活性:系统使用直接数字合成信号发生器作为激励磁场和激励传感器振荡的信号源;通过直接数字合成信号发生器与计算机程序配合,系统可以自动调整传感器和磁场激励频率以获得最优信噪比传感信号;系统对传感器输出信号进行解调,采集其中分子运动信号进行信号处理和分析,提取多种信号特征以实现分子的多特性检测。测试结果表明,系统能够提取传感输出信号中调制的分子运动信号,激励频率寻优程序能够有效提高传感信号的信噪比,由此可实现浓度(ng/mL级)、流体动力学尺寸(nm级)等磁标记分子特性的检测。研发的仪器系统是一个开放性的生物分子检测平台,能够完成更多的磁标记分子特性检测和生化过程的监测,是一种全新的生物分子检测仪器技术。

关键词:生物传感系统;磁场调控;石英晶体微天平;磁标记生物分子;多特性检测

中图分类号: TH79 文献标识码: A 国家标准学科分类代码: 460. 40

Magneto-acoustically combined detection system for characterizing multi-parameter of biomolecules

Ouyang Jihai¹, Wen Yumei^{1,2}, Chen Dongyu¹, Zuo Can¹, Li Ping¹

(1. School of Automation and Intelligent Sensing, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China;
2. State Key Laboratory of Submarine Geoscience, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: Magnetic labeling of biomolecules is a crucial technique in biomolecular analysis and manipulation. However, existing detection systems for magnetically labeled molecules often suffer from limited detection targets and restricted application scenarios. Magnetically labeled molecules can be driven by external magnetic fields, and their motions can be monitored using a thickness-shear quartz oscillator sensor. These molecular motions are influenced by both the intrinsic properties of the molecules and the characteristics of the carrier fluid. By analyzing the corresponding motion signals, the properties of the molecules or the carrier medium can be effectively characterized. In this work, a magneto-acoustic integrated multi-parameter detection system for magnetically labeled biomolecules is developed, providing enhanced flexibility for diverse detection applications. The system employs direct digital synthesis (DDS) signal generators as excitation sources for both the magnetic field and the sensor oscillation. Coordinated control between the DDS modules and computer software allows automatic tuning of excitation frequencies to achieve the optimal signal-to-noise ratio (SNR). The sensor output signals are demodulated to extract molecular motion components, which are then processed and analyzed to derive multiple signal features for multi-parameter molecular characterization. Experimental results demonstrate that the system successfully extracts modulated molecular motion signals from the sensor output, and the frequency optimization algorithm effectively enhances the SNR of the sensor signals. Consequently, the system enables quantitative detection of molecular concentration at the ng/mL level and hydrodynamic size at the nanometer scale. The developed instrument serves as an open and extensible platform for multi-parameter detection and biochemical

process monitoring of magnetically labeled biomolecules, representing a novel and versatile technology for advanced biomolecular sensing.

Keywords: biosensing systems; magnetic field regulation; quartz crystal microbalance; magnetically labeled biomolecules; multi-parameter detection

0 引言

磁标记生物分子技术使用超顺磁性纳米粒子即磁珠作为磁性标签,通过修饰磁珠的表面结构^[1-2],可实现对细胞、细菌和蛋白质等生物分子的标记^[3-5],在生物分子技术中发挥着重要作用。磁珠具有磁性,因此可以使用磁传感器检测磁性的方法对磁标记分子进行检测。以磁通门、巨磁阻抗(giant magnetoimpedance, GMI)和巨磁阻(giant magneto-resistive, GMR)等磁传感器为传感元件的磁标记分子检测系统中,对人体内疾病相关蛋白质等的检测能达到 ng/mL 及更低的检测极限^[6-8]。但由于磁珠的粒径在纳米或微米尺度,使得磁珠的杂散场过小且存在相互干扰,要实现对磁标记分子磁性的测量必须使用超高灵敏度的磁传感器^[9-10],而且检测磁性的方法获得的仅为磁标记分子的浓度或数量信息^[11-12]。

AT-切石英晶体振荡器工作在厚度剪切振动模式^[13],厚度剪切振动对表面的力学条件极其敏感,其谐振频率或耗散因子会随晶体表面负载变化^[14-16]。在生化检测中,厚度剪切振动石英晶体振荡器通常被称作石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)。通过测量 QCM 的谐振频率^[17]或耗散因子^[18]的变化,可以测定负载质量或粘弹性等参数^[19-20]。现有关于 QCM 的检测系统的研发都是基于谐振频率或者耗散因子的测量。廖玉枝等^[21]开发了一款便携式 QCM 分析仪,通过差频方法测量 QCM 谐振频率变化,质量测量灵敏度为 0.61 Hz/ng。刘振邦等^[22]搭建了 QCM 耗散因子测量系统,但通过耗散因子变化仅能测量负载溶液的粘度。Melendez 等^[23]通过分析 QCM 的质量吸附-谐振频率关系,监测了 QCM 对牛血清蛋白的吸附行为,Murrieta-Rico 等^[24]使用 QCM、热电偶和频率计数器等集成的系统,分析了不同温度下 QCM 表面吸附质量所产生的频率变化。文献[23-24]通过测量 QCM 谐振频率变化,均只能完成吸附质量的测量。Shoaib 等^[25]通过带耗散因子监测的 QCM 仪器系统,评估了细胞在氧化应激中的粘弹性的变化,根据其采用的传感原理,系统不能对细胞其他性能进行评估。可以看出,受限于检测原理,现有 QCM 检测中负载处于静态或准静态,传感输出为负载静止时 QCM 的振荡信号,导致现有基于 QCM 的生物分子检测仪器系统都是针对特定的单一参数设计,缺乏灵活性和通用性,无法进行多特性尤其是生物分子粒径,免疫结合过程等分

子性状^[26-27]检测,具有很大的局限性。

实际上,石英晶体振荡器对表面力学条件的动态变化也同样具有高度敏感性,如果负载处于运动状态,运动就会调制到石英晶体振荡器的厚度剪切振动上,其输出信号就是被表面负载运动调制的调幅信号^[28]。由于具有磁性,磁标记分子可以在磁场调控下产生磁化运动,而生物分子的各种特性都会对其运动产生影响^[29-32],因此只要能够捕获生物分子的运动信号,就可以从中分析出需要检测的分子特性。

据此,研发了磁激励磁标记生物分子运动,以厚度剪切石英振荡器作为传感器,传感分子运动的磁声结合的分子多特性检测系统。通过施加外部磁场,使负载在传感器表面的磁标记分子产生磁化运动,传感器捕获分子运动,输出运动信号,通过对运动信号的分析,就可以检测出分子的多种特性参数。

1 检测原理

磁声结合的分子特性检测原理如图 1 所示,传感器在交流电压源激励下产生厚度剪切振动,其表面负载被测样品溶液。被标记生物分子由于与磁珠结合具有了磁性,施加磁场就可以使其极化,调控其状态或者使其运动。当施加交流磁场,极化的磁标记分子发生布朗弛豫,产生磁化旋转。施加间歇交流磁场,磁标记分子会发生包含瞬态的间歇运动。根据运动物理,磁标记分子本身的特性如浓度、免疫结合状态和分子尺寸等都会对极化运动产生影响。这表明分子的运动信号中会包含分子特性信息。因此,只要获取磁标记分子的运动信号,就可以从中分析获得磁标记分子的特性,实现对分子特性的检测。

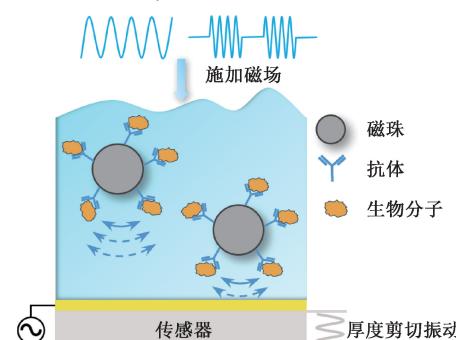


图 1 磁声结合的分子检测原理

Fig. 1 Schematic diagram of the magneto-acoustic combined detection principle for biomolecules

厚度剪切振动对于表面的力学条件极其敏感,这样传感器便可以拾取分子的运动信号。传感器的输出是表面电极之间的电位差,而通常一个表面电极接地,因此另一表面的振荡情况将决定输出信号。石英晶体受激振动时,其表面运动方程为:

$$\rho_q \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} + \xi \frac{\partial u}{\partial t} + C_s u = E e^{i\omega_q t} \quad (1)$$

式中: ρ_q 为石英晶体的密度; u 为质点沿厚度剪切方向的位移; C_s 为石英晶体的有效厚度剪切弹性系数; ω_q 为外加电压激励的频率; E 为传感器压电振荡的振幅; ξ 是传感器运动阻尼系数。在石英晶体应变为 0 时,石英晶体的弹性系数仅由二阶弹性系数 C_0 描述,当应变不为 0 时,三阶弹性系数 C_1 的作用开始显现,有效弹性系数 C_s 依赖于应变 $S(t)$,有效弹性系数^[33-35]为:

$$C_s = C_0 + C_1 S(t) \quad (2)$$

当传感器表面负载溶液中的粒子以频率 ω_s 作简谐运动时,运动与溶液产生的摩擦力对晶体振动产生扰动,表面处的应变随着运动而变化,应变可以表示为:

$$S(t) = S e^{i\omega_s t} \quad (3)$$

式中: S 为振幅。由式(1)~(3)可得:

$$u(t) = U_0 e^{i\omega_q t} + U_1 (e^{i(\omega_q + \omega_s)t} + e^{i(\omega_q - \omega_s)t}) \quad (4)$$

式中: U_0 为外部电压激励产生的主频响应幅度; U_1 为粒子运动引入的调制幅度。式(4)表明当传感器受频率 ω_q 的电压激励,且负载的粒子以频率 ω_s 做简谐运动时,传感器的输出信号为调幅信号,其载波频率为 ω_q ,调制频率为 ω_s 。所以当表面负载有运动时,传感器实际的电输出信号为:

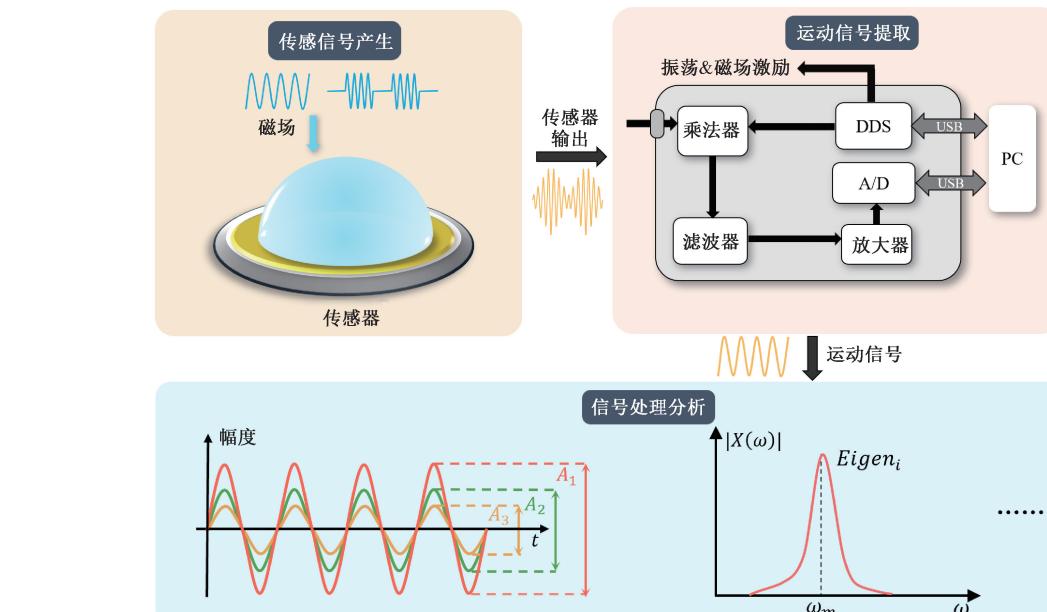


图 2 磁调控的磁标记分子多特性检测系统工作原理

Fig. 2 Working principle of the magnetically regulated multi-parameter detection system for magnetically labeled molecules

$$x(t) = x_q(t) + x_m(t) \times x_q(t) \quad (5)$$

式中: $x_m(t)$ 是负载运动产生的信号; $x_q(t)$ 是传感器的受激振动信号。

当外加正弦磁场时,磁性粒子产生磁化自旋运动,负载运动信号可表示为^[28]:

$$x_m(t) = A_m \cos(\omega_m t + \varphi_{m_0}) \quad (6)$$

式中: A_m 为运动信号的幅度,与磁性粒子的浓度成正相关;由于磁化特性的偶次非线性, ω_m 为偶次激励磁场频率(主要为 2 倍磁场频率)^[30], φ_{m_0} 为磁化运动信号的初相位。传感器的振动信号可表示为:

$$x_q(t) = A_q \cos(\omega_q t + \varphi_{q_0}) \quad (7)$$

式中: A_q 为厚度剪切振动的幅度; φ_{q_0} 为振动的初相位。

运动信号 $x_m(t)$ 由磁场激励产生,信号的特性由磁标记分子的本身特性确定,因此要检测分子特性,系统需要分析运动信号 $x_m(t)$,而不是传感器的振动信号 $x_q(t)$ 。若对传感输出信号 $x(t)$ 直接进行采集,由于传感器受激振动频率在其谐振频率邻域内,这样就需要极高的采样率,而且传感输出信号中磁标记分子运动信号 $x_m(t)$ 的强度远远小于振动信号 $x_q(t)$,采样数据对于运动信号 $x_m(t)$ 的分辨率会很低,无法实现分子特性的高灵敏检测。因此,系统需要对传感输出信号进行解调,提取磁标记分子运动信号,对其进行数据采集和分析。

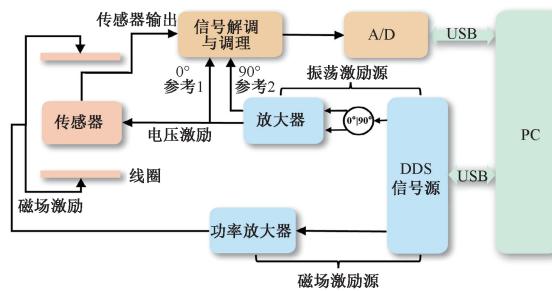
研发的磁声结合的分子多特性检测仪器系统工作原理如图 2 所示,传感器传感磁激励产生的分子运动,对传感输出信号进行解调,获取并采集分子运动信号,通过信号处理分析运动信号的特征参数,实现对分子特性的检测。

2 仪器系统设计

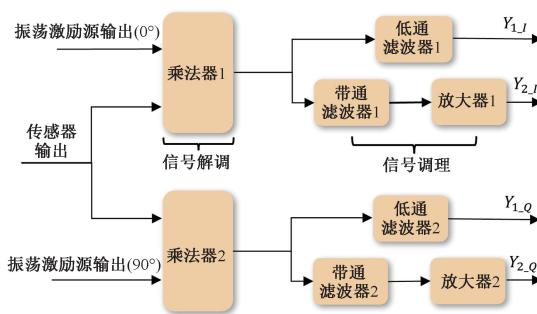
2.1 系统组成

根据工作原理,设计的仪器系统组成如图3(a)所示,按照功能,系统分为:传感信号产生、激励信号源、信号调理采集和信号处理部分。传感信号产生部分包括传感器和产生激励磁场的线圈,激励信号源部分包括传感器振荡激励源和磁场激励源,信号调理采集部分包括信号解调与调理模块和A/D采集卡,信号处理由计算机完成。

振荡激励信号和磁场激励信号由计算机控制的直接数字合成(direct digital synthesis, DDS)信号源产生。DDS器件能够实现数字信号高精度地转换为模拟信号^[36],可直接编程控制信号的幅度、频率和相位参数,灵活性和可控性强。市售石英晶体振荡器的谐振频率从数MHz到数十MHz都可以选用,但加载检测样品后,振荡器实际谐振频率较之标称的谐振频率会变化。



(a) 仪器系统功能结构
(a) Functional block diagram of the instrument system



(b) 信号解调和调理模块组成
(b) Block diagram of the signal demodulation and conditioning module

图3 仪器系统组成

Fig. 3 Overall block diagram of the instrument system

由式(5)~(7),传感器输出信号可表示为:

$$x(t) = (A_q + A_q \times x_m(t)) \times \cos(\omega_q t + \varphi_{q_0}) \quad (8)$$

由式(8)可知,传感器振动的幅度 A_q 决定传感器输出信号的强度,也决定了提取的运动信号的强度和信噪

比。因此,系统中通过DDS信号源调整电压激励频率,使其和传感器的实际谐振频率一致,使振动幅度 A_q 最大。

磁珠的谐振频率随着粒子的尺寸变化,对于纳米至微米级的磁珠,谐振频率在几十到几百Hz。因此,通过DDS信号源调整激励磁标记分子产生磁化运动的磁场频率,使其与磁标记分子的谐振频率一致,使磁标记分子产生最强的磁化运动,以使分子运动信号幅度 A_m 最大。

信号解调和调理模块如图3(b)所示,为了消除传感器受激振荡的初相的影响,使用两个乘法器进行正交相关解调。两个乘法器的一路输入均为传感器输出,另一路则分别是振荡激励信号和其90°移相。两个乘法器的输出如式(9)所示。

$$\begin{cases} x_{mult_1}(t) = x(t) \times \cos(\omega_q t) \\ x_{mult_2}(t) = x(t) \times \sin(\omega_q t) \end{cases} \quad (9)$$

结合式(5)~(7),有:

$$\begin{aligned} x_{mult_1}(t) &= \frac{A_q}{2} [\cos\varphi_{q_0} + \cos(2\omega_q t + \varphi_{q_0})] + \\ &\quad \frac{A_q}{2} [x_m(t) \cos\varphi_{q_0} + x_m(t) \cos(2\omega_q t + \varphi_{q_0})] \end{aligned} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} x_{mult_2}(t) &= \frac{A_q}{2} [\sin\varphi_{q_0} + \sin(2\omega_q t + \varphi_{q_0})] + \\ &\quad \frac{A_q}{2} [x_m(t) \sin\varphi_{q_0} + x_m(t) \sin(2\omega_q t + \varphi_{q_0})] \end{aligned} \quad (11)$$

由式(10)、(11)可知,每个乘法器的输出中包含运动信号分量 $x_m(t)$ 、 $2\omega_q$ 高频分量($x_m(t) \cos(2\omega_q t + \varphi_{q_0})$, $x_m(t) \sin(2\omega_q t + \varphi_{q_0})$)和直流分量($\frac{A_q}{2} \cos\varphi_{q_0}$, $\frac{A_q}{2} \sin\varphi_{q_0}$)。除了保留运动信号分量外,为了便于调整传感器激励频率,只保留与传感器振动信号幅值 A_q 相关的直流分量,计算得到幅值 A_q 作为调整传感器激励频率时的检测量。因此每个乘法器输出信号分为两路,一路经过低通滤波器,只保留直流分量,使用A/D采集卡的两个通道分别采集,再如式(12)计算两个乘法器该路输出的平方和,得到传感器振动信号幅值 A_q 。

$$A_q = 2\sqrt{Y_{1_J}^2 + Y_{1_Q}^2} = 2\sqrt{\left(\frac{A_q}{2} \cos\varphi_{q_0}\right)^2 + \left(\frac{A_q}{2} \sin\varphi_{q_0}\right)^2} \quad (12)$$

另一路使用带通滤波器进行滤波处理,滤波器通带覆盖磁珠的运动频率,滤除高频、直流分量和工频干扰,并对其进行放大以充分利用A/D采集卡的分辨率。同理,如式(13)得到运动信号 $x_m(t)$ 。

$$x_m(t) = 2\sqrt{Y_{2,I}^2 + Y_{2,Q}^2}/A_q = \frac{2}{A_q} \sqrt{\left(\frac{A_q}{2}x_m(t)\cos\varphi_{q_0}\right)^2 + \left(\frac{A_q}{2}x_m(t)\sin\varphi_{q_0}\right)^2} \quad (13)$$

仪器系统共用到3路DDS通道:第1路DDS输出信号经过功率放大器作为磁场激励源,驱动线圈产生磁场;第2路DDS输出经过电压放大作为传感器振荡激励源,并用作正交解调中的同相参考信号;第3路DDS输出信号相对于第2路信号具有90°相移,在正交解调中用作正交相位参考信号。

由此,通过检测信号解调与调理模块中传感器振动信号幅值 A_q 和分子运动信号幅值 A_m ,再通过计算机中程序调整DDS信号源的频率,使 A_q 和 A_m 达到最大,系统便可以实现传感器振荡激励频率和磁场频率的自动优化调整,使系统采集的信号具有最优信噪比。

2.2 系统硬件

仪器系统中,DDS信号源、乘法器、放大器和滤波器等硬件电路决定了系统采集到的运动信号的质量,因此各部分都有相应功能和指标要求。

DDS信号源选取AD9959(Analog Devices, USA)信号源芯片,该DDS信号源共有4个独立可控的输出通道,输出频率最高达200 MHz,频率分辨率达0.12 Hz,直接通过USB接口连接计算机,通过串口指令控制可控制其输出参数。放大器选取THS3001(Texas Instruments, USA)运算放大器模块,增益带宽积420 MHz,输出电压可达20 Vpp。乘法器选取AD835乘法器(Analog Devices, USA),带宽为250 MHz。带通滤波器3 dB带宽为100~1 500 Hz,以滤除乘法器输出的高频成分并抑制50 Hz工频干扰,只通过运动信号。低通滤波器3 dB带宽为0~40 Hz,保留乘法器输出的直流成分并抑制50 Hz工频干扰。数据采集卡选用USB62405(简仪科技,中国)数据采集模块,具有4个24位模拟输入通道,分辨率为0.6 μV,采样频率范围为1~128 kS/s,满足幅值μV级别、频率百Hz级别的分子运动信号的采集需求。

仪器系统工作时,周围电磁环境对仪器系统中的信号传输会造成干扰。除了器件之间的连线均采用屏蔽线外,为各器件制作了3D打印聚乳酸(polylactic acid, PLA)外壳,并在外壳上包裹铝箔,以达到一定的电磁屏蔽效果。使用该方法后,系统信号调理电路的背景噪声水平从1~10 μV级别下降至0.1~1 μV级别,噪声水平下降了约20 dB。

2.3 系统软件

系统软件功能包括检测控制和信号处理。计算机与DDS信号源、采集卡之间通过串口方式通讯,可完成激励源控制,数据采集参数设置和激励频率寻优,采集处理结果显示和数据保存设置等。信号处理相关功能包括信号

幅值检测、频谱分析等分子特性检测要求的信号处理和分析算法。

图4(a)为传感器激励频率寻优程序流程图,首先设定起始传感器激励频率 f_{s1} 和传感器频率寻优分辨率 Δf_1 ,传感器激励频率从 f_{s1} 开始以频率分辨率 Δf_1 逐步增大,读取由式(12)计算得到的传感器振动幅值 A_q ,当其不再增大开始出现下降趋势时,则说明此时激励频率已逼近传感器的谐振频率,将此时的激励频率作为传感器最优激励频率。

磁场频率寻优程序流程如图4(b)所示,确定传感器最优激励频率,以此频率激励传感器,设定起始磁场激励频率 f_{m1} 和磁场频率寻优分辨率 Δf_2 ,读取由式(13)计算得到的运动信号 $x_m(t)$ 的幅值 A_m ,当其不再增大开始出现下降趋势时,则说明此时磁场频率已逼近磁性粒子的谐振频率,此频率下磁性粒子产生的运动信号最强,对应的磁场激励频率即为最佳磁场频率。

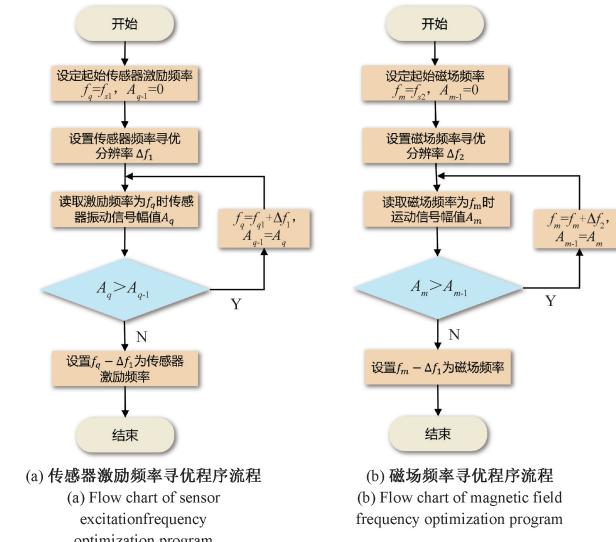


图4 激励频率寻优程序流程
Fig. 4 Flowchart of the excitation frequency optimization algorithm

分子特性检测操作流程如图5所示,寻得传感器最优激励频率后,根据检测任务顺序产生需要的磁场激励,采集每种磁场激励条件下的运动信号,直到需要模式的运动信号采集完毕,从采集的信号中提取检测特征,综合分析得到检测结果。

3 系统实现和性能测试

构建完成的仪器系统整体装置实物图如图6所示。

以LabVIEW为平台开发了图形化用户界面程序,如图7所示。

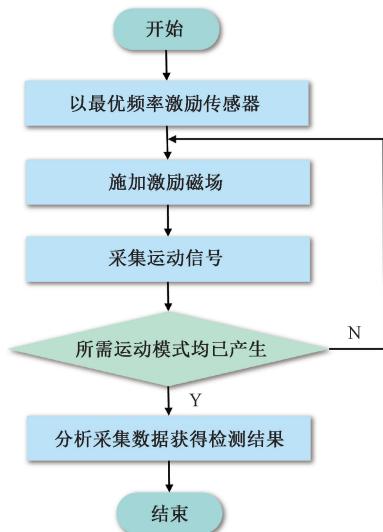


图5 分子特性检测操作流程

Fig. 5 Operational flowchart for molecular parameter detection



图6 仪器系统实物装置

Fig. 6 Photograph of the physical instrument system

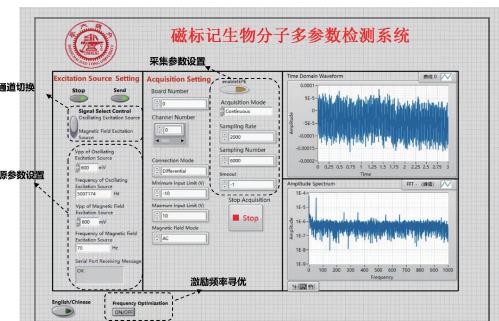
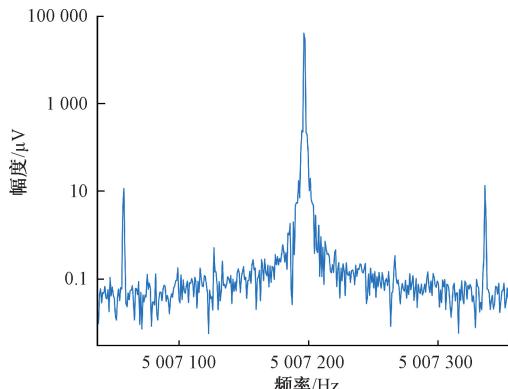


图7 用户界面程序

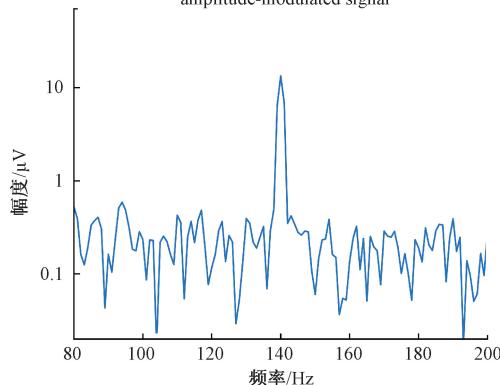
Fig. 7 Diagram of the user interface program

对仪器系统提取运动信号的功能进行了测试,结果如图8所示。图8(a)展示了传感器输出的频谱,原始传感信号为一调幅信号,载波信号频率即为传感器的振荡激励频率。幅度最高的调制成为激励磁场频率(70 Hz)的二倍频(140 Hz)分量^[30],即运动信号分量。原始传感信号经过系统的解调和调理后,得到磁标记分子的运动信号,运动信号的频谱如图8(b)所示,运动信

号频率即为磁场频率的二倍频(140 Hz)。以上结果表明,系统能够成功从传感器输出信号中提取得到磁标记分子的运动信号,对运动信号的采集分辨能力达到0.1 μV级别。



(a) 传感器输出调幅信号频谱
(a) Frequency spectrum of sensor output amplitude-modulated signal



(b) 解调后运动信号频谱
(b) Frequency spectrum of motion signal after demodulation

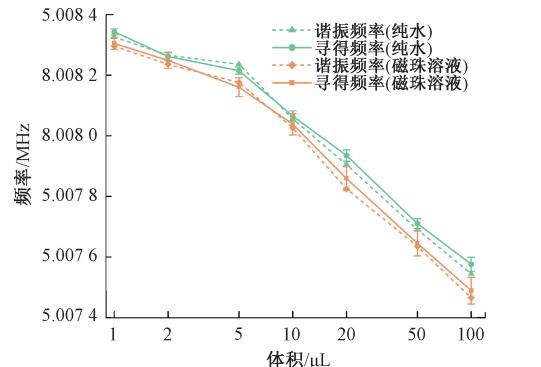
图8 系统提取运动信号功能测试结果

Fig. 8 Functional test results of motion signal extraction by the system

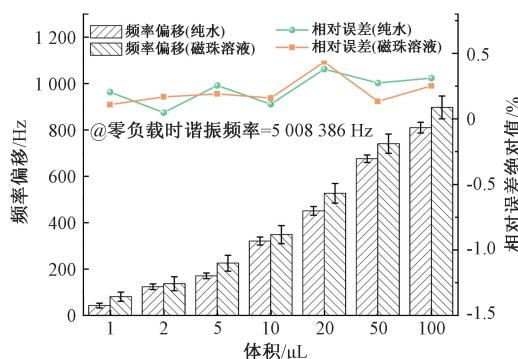
对于传感器激励频率寻优功能,测试了传感器在负载不同体积的磁珠溶液或纯水时的寻优效果,使用频率计(SRS QCM200)测得传感器的谐振频率。寻优程序中,传感器由于负载导致的频率变化在百Hz级别,因此传感器激励频率寻优分辨率 Δf_1 设为20 Hz。比较寻找到的最优激励频率与实际谐振频率。结果如图9(a)所示,由于质量负载效应,随着负载的纯水或磁珠溶液体积的增加,传感器的谐振频率逐渐下降,程序寻得的传感器最优激励频率也随之下降。结果表明无论是负载纯水还是磁珠溶液,实际谐振频率与程序自动寻得最优频率的变化曲线基本一致。

图9(b)分析了不同负载溶液体积下,程序寻得的最优激励频率与传感器谐振频率之间的相对误差,以及相对于零负载时谐振频率的偏移情况。结果表明,随着负

载体积的增加,寻得最优频率相对于零负载谐振频率的偏移逐渐增大。不同的负载体积下,寻得最优激励频率与相应实际谐振频率之间的相对误差的绝对值均小于0.5%,这表明传感器激励频率寻优程序能够在不同的负载体积条件下调整传感器的激励频率至最优状态。



(a) 负载不同体积溶液传感器谐振频率与寻得频率对比
(a) Comparison between the sensor resonant frequency and the optimized frequency under different solution volumes



(b) 不同溶液体积下寻得频率相对零负载偏移及相对误差
(b) Frequency deviation and relative error of the optimized frequency relative to the unloaded state at different solution volumes

图9 传感器最优激励频率寻找结果

Fig. 9 Results of optimal sensor excitation frequency search

对于磁场频率寻优功能,测试了粒径2.8与1 μm的磁珠在不同磁场频率下的运动信号强度和最优磁场激励频率寻找结果。寻优程序中,磁珠谐振频率变化在数十至数百Hz,因此磁场频率寻优分辨率 Δf 设为5 Hz。如图10所示,不同磁场频率下,不同粒径磁珠的运动信号强度均呈先变强后变弱的整体变化趋势,运动信号最强处对应磁场频率即为最佳磁场频率。程序寻得最优磁场频率 f_{opt} 与实际运动信号最强处频率一致,表明磁场频率寻优程序能寻得不同粒径磁性粒子的最优磁场激励频率。

表1比较了有无寻优过程时分别得到的运动信号,以进一步说明传感器激励频率寻优和磁场频率寻优对运动信号的影响。以负载20 μL的磁珠溶液为例,无寻优时传感器激励频率为5 008 386 Hz,磁场频率为30 Hz,经过寻优后传感器激励频率为5 007 859 Hz,磁场频率70 Hz。经过寻优后,运动信号的强度由1.686 μV提高

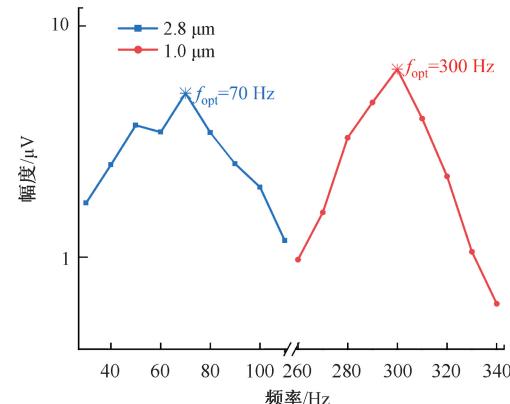


图10 2.8与1 μm磁珠最优激励磁场频率寻找结果
Fig. 10 Results of optimal excitation magnetic field frequency search for 2.8 and 1 μm magnetic beads

至5.366 μV,提高至未寻优时的3.18倍,信噪比由-11.48 dB提高至3.31 dB,提高了14.79 dB。这表明寻优程序能有效提高系统检测的运动信号强度和检测信号信噪比。

表1 有无寻优过程得到的运动信号参数比较

Table 1 Comparison of motion signal parameters obtained with and without frequency optimization

是否寻优	幅值/μV	信噪比/dB
无寻优	1.686	-11.48
经过寻优	5.366	3.31

4 生物分子检测验证

4.1 材料制备

以研发的仪器系统作为测量平台,进行了磁标记分子浓度测试和流体动力学尺寸测试实验。实验中使用磁珠为10 mg/mL的链霉亲和素化磁珠(streptavidinated magnetic beads,记为MB)原料溶液。链霉亲和素是一种具有极高生物结合亲和力的蛋白质,将链霉亲和素包覆在磁珠表面形成链霉亲和素化磁珠,可形成磁标记检测中典型的磁珠-链霉亲和素生物探针^[37]。浓度测试中,以磷酸盐缓冲液作为稀释溶剂,使用梯度稀释法得到1 000、100、10、1、0.1 μg/mL等一系列浓度的磁珠溶液。

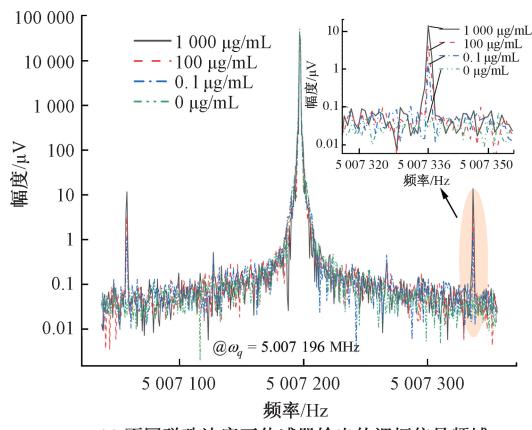
流体动力学尺寸测试实验中,首先制备1 mg/mL的磁珠溶液,再将0.2、1.5、3 μg/mL的兔PSA(prostate specific antigen, PSA)多克隆抗体(polygonal antibody,记为PAB)与磁珠溶液混合,室温振荡孵育30 min,得到不同配比的MB-PAB溶液,分别记为MB-0.2PAB、MB-

1.5PAB 和 MB-3PAB。采用同样方法,使用磁珠溶液和鼠 PSA 单克隆抗体(monoclonal antibody,记为 mAB)制备了 MB-2mAB、MB-3mAB、MB-4mAB 和 MB-5mAB。

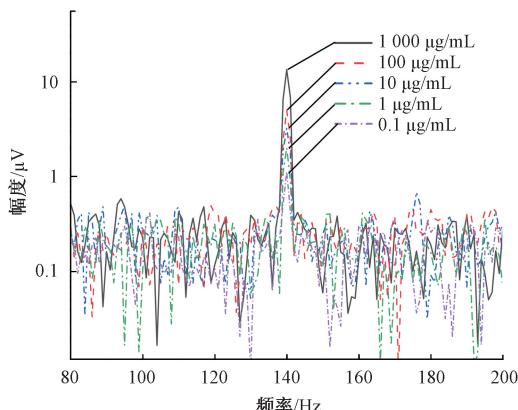
4.2 检测结果与分析

测试时,滴加 100 μL 待测溶液至传感器表面电极,使用激励频率寻优功能寻得最优频率,传感器的最优激励频率为 5.007 196 MHz,磁场最优激励频率为 70 Hz。

磁珠浓度测试实验的结果如图 11、12 所示。图 11(a)描述了不同磁珠浓度下传感器输出的原始传感信号频谱图,幅度最高的边带为磁场频率二倍频即 140 Hz 分量,该分量即为磁化运动信号。图 11(b)为传感器输出信号经过解调调理后得到的信号频谱,可以发现磁珠浓度越大,对应的运动信号幅度越大。因此运动信号的幅度与磁珠浓度具有正相关性,为浓度测量分析中关注的特征量。



(a) 不同磁珠浓度下传感器输出的调幅信号频域
(a) Frequency spectrum of the amplitude-modulated signal output from the sensor at different magnetic bead concentrations



(b) 不同磁珠浓度下解调后的运动信号频域
(b) Frequency spectrum of the demodulated motion signal at different magnetic bead concentrations

图 11 不同磁珠浓度下传感器输出信号与运动信号频域

Fig. 11 Frequency spectra of the sensor output and motion signals at different magnetic bead concentrations

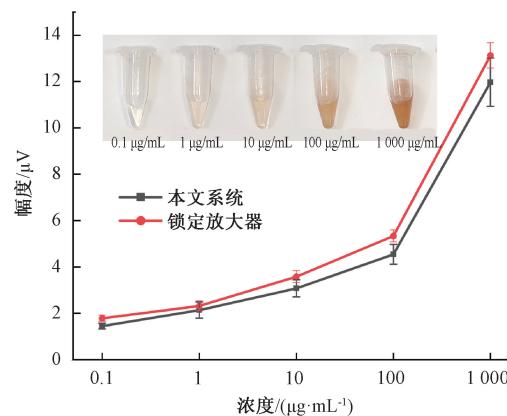


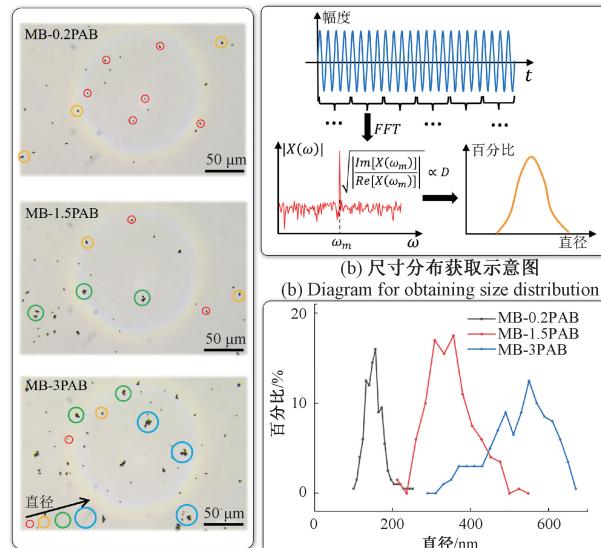
图 12 运动信号的幅度与磁珠浓度关系

Fig. 12 Relationship between the motion signal amplitude and magnetic bead concentration

对不同浓度下的磁化运动信号强度进行了定量测量,如图 12 所示,并与市售锁定放大器(Zurich MFLI-5 MHz, Switzerland)的测量结果进行了比较,结果表明在磁珠浓度 0.1~1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围,两者具有相近的测量结果,验证了系统信号采集处理功能的可靠性。

仪器系统采集的是分子的运动信号,所以根据检测特性不同,可以从信号中提取和分子特性对应的信号特征进行分析。根据检测机理分析,分子的流体动力学尺寸影响运动信号频谱中运动频率处虚部与实部的比值^[30]。

MB-0.2PAB、MB-1.5PAB 和 MB-3PAB 这 3 组样品的显微成像图如图 13(a)所示,随着样品制备时加入的 PAB 生物分子浓度的增高,与磁珠结合的 PAB 分子增多,样品中尺寸更大粒子的数目增多,粒子尺寸的整体分布情况往更大尺寸方向偏移。



(a) 样品显微成像 (a) Microscopic imaging of samples

(c) 样品尺寸分布 (c) Size distribution diagram of samples

图 13 流体动力学尺寸测试结果

Fig. 13 Results of hydrodynamic size measurements

样品尺寸分布结果的获取过程如图 13(b) 所示, 对提取得到的磁化运动信号, 首先对其进行傅里叶变换, 提取频谱峰值对应频率处(即运动信号频率)的虚部与实部幅值之比的平方根作为特征值。这一系列特征值的分布曲线即与样品中磁标记分子的流体动力学尺寸的分布曲线成正比^[30]。由此便能够得到被测样品的流体动力学尺寸的分布情况, 结果如图 13(c) 所示, 随着样品中加入的 PAB 生物分子浓度的增高, 尺寸分布曲线逐渐往大尺寸方向偏移, 与实际情况相符, 表明仪器系统能够有效评估磁标记生物分子的流体动力学尺寸变化和分布情况。

表 2 为系统与动态光散射(dynamic light scattering, DLS)方法测量结果方面的比较表。DLS 方法是目前流体动力学尺寸测量最具代表性且应用最广泛的方法^[38], 选择粒子尺寸累积分布曲线中百分比达到 50% 时对应的尺寸(D50)作为比较参数^[30,39]。可以看到, 两种方法对于不同尺寸的磁标记生物分子的测量结果具有一致性, 说明系统可以准确地评估流体动力学尺寸的变化和分布情况。

表 2 系统与 DLS 方法的流体动力学尺寸测量结果比较

Table 2 Comparison of hydrodynamic size measurement results between this system and the DLS method

方法	D50 尺寸/nm				
	MB	MB-2mAB	MB-3mAB	MB-4mAB	MB-5mAB
DLS	87	96	113	224	409
系统	84	108	158	252	366

与现有的磁标记检测技术相比, 系统和磁通门^[7]、GMR^[8,40]等相比在浓度检测上的检测极限均可达 ng/mL 级别, 但磁传感器采用检测磁性的方式, 无法测量流体动力学尺寸等分子性状信息。

以上两种参数检测为仪器系统可测试特性的两个示例, 由于系统能够提取得到磁标记生物分子的运动信号, 分子的各种特性都会体现在运动信号中, 在此平台上还将有更多的可测量参数。

5 结 论

本研究设计并实现了磁声结合的生物分子多特性检测系统, 系统包含无需生物装饰的厚度剪切模式石英晶体传感器, 用于获取外加磁场引起的磁标记生物分子的磁化运动信号。通过分析和综合磁化运动信号, 可获得生物分子的多种而非单一特征。系统设计具有灵活性, 其核心硬件 DDS 信号源可编程控制, 信号分析由数字信号处理实现, 同时系统的操作简便, 能够自动设置最佳传

感器激励频率和磁场激励频率。总体而言, 系统是一个多功能的开放性平台, 适用于磁标记生物分子的多种特性参数研究, 还能够监测生物分子在免疫反应等生化反应中的动态过程。这对于提高疾病的准确性和及时性以及评估药物开发的效率具有重要意义。

参考文献

- [1] ABEDINI-NASSAB R, MIANDOAB M P, SASMAZ M. Microfluidic synthesis, control, and sensing of magnetic nanoparticles: A Review [J]. *Micromachines*, 2021, 12(7): 768.
- [2] DILLEN A, SCARPELLINI C, DAENEN W, et al. Integrated signal amplification on a fiber optic SPR sensor using duplexed aptamers [J]. *ACS Sensors*, 2023, 8(2): 811-821.
- [3] LI T AN, WANG K, ZHENG CH J, et al. Magnetic frequency mixing technological advances for the practical improvement of point-of-care testing [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2021, 119(2): 347-360.
- [4] HUANG Y, LIANG R Q, YU H, et al. Thi-Au-Fe₃O₄ confined in ZIF-8 nanoreactor as signal-amplifying tag for constructing high-efficiency electrochemical platform [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 305: 127496.
- [5] PIRES N M M, DONG T, YANG ZH CH, et al. A fluorescence sensing method with reduced DNA typing and low-cost instrumentation for detection of sample tampering cases in urinalysis [J]. *Annals of Biomedical Engineering*, 2020, 48(2): 644-654.
- [6] ZHU Y, ZHANG Q, LI X, et al. Detection of AFP with an ultra-sensitive giant magnetoimpedance biosensor [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 293: 53-58.
- [7] SUN X CH, LEI CH, GUO L, et al. Sandwich immunoassay for the prostate specific antigen using a micro-fluxgate and magnetic bead labels [J]. *Microchimica Acta*, 2016, 183(8): 2385-2393.
- [8] CAMPANILE R, ACUNZO A, SCARDAPANE E, et al. Multifunctional core @ satellite magnetic particles for magnetoresistive biosensors [J]. *ACS Omega*, 2022, 7(41): 36543-36550.
- [9] CAI G ZH, YANG Z X, CHEN Y CH, et al. Magnetic bead manipulation in microfluidic chips for biological application [J]. *Cyborg and Bionic Systems*, 2023, 4: 0023.
- [10] HU J X, GOU J, YANG M, et al. Room-temperature colossal magnetoresistance in terraced single-layer graphene [J]. *Advanced Materials*, 2020, 32 (37): 2002201.
- [11] HAN H, SOHN B, CHOI J, et al. Recent advances in

- magnetic nanoparticle-based microfluidic devices for the pretreatment of pathogenic bacteria [J]. *Biomedical Engineering Letters*, 2021, 11(4): 297-307.
- [12] BAO B, TIAN X R, WANG R D, et al. A novel method for multiple cardiovascular disease biomarker detection using a SERF-based microfluidic platform [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2024, 415: 135989.
- [13] KERIVAN E M, TOBIN L, BASIL M, et al. Molecular and cellular level characterization of cytoskeletal mechanics using a quartz crystal microbalance [J]. *Cytoskeleton*, 2023, 80(5/6): 100-111.
- [14] 李璟, 李东, 王艳林. 石英晶体负载谐振电阻测量技术研究[J]. 电子测量技术, 2009, 31(2): 15-17.
LI J, LI D, WANG Y L. Load resonant resistance measurement technique research of quartz crystal [J]. *Electronic Measurement Technology*, 2009, 31(2): 15-17.
- [15] 李东, 王艳林. 分布电感对石英晶体测试精度的影响及补偿[J]. 电子测量与仪器学报, 2017, 31(3): 487-491.
LI D, WANG Y L. Effect and compensation of distributed inductance on the test accuracy of quartz crystal [J]. *Journal of Electronic Measurement and Instrumentation*, 2017, 31(3): 487-491.
- [16] 黄子军, 卞雷祥, 李辉, 等. 高Q值超低功耗谐振式磁传感器的设计与实现[J]. 电子测量与仪器学报, 2021, 35(5): 1-7.
HUANG Z J, BIAN L X, LI H, et al. Design and fabrication of a resonant magnetic field sensor with high quality factor and low power consumption[J]. *Journal of Electronic Measurement and Instrumentation*, 2021, 35(5): 1-7.
- [17] SAUERBREY G. Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung [J]. *Zeitschrift Für Physik*, 1959, 155(2): 206-222.
- [18] RODAHL M, HÖÖK F, KROZER A, et al. Quartz crystal microbalance setup for frequency and Q-factor measurements in gaseous and liquid environments [J]. *Review of Scientific Instruments*, 1995, 66(7): 3924-3930.
- [19] ADAMCZYK Z, MORGÀ M, NATTICH-RAK M, et al. Nanoparticle and bioparticle deposition kinetics [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2022, 302: 102630.
- [20] LI W W, LI J, WU Y Y, et al. A novel method in identifying pyroptosis and apoptosis based on the double resonator piezoelectric cytometry technology[J]. *Biosensors (Basel)*, 2023, 13(3): 356.
- [21] 廖玉枝, 司士辉, 陈金华, 等. 可调基准频率源的便携式石英晶体微天平分析仪[J]. *分析化学*, 2019, 47(7): 992-997.
LIAO Y ZH, SI SH H, CHEN J H, et al. Portable quartz crystal microbalance analyzer with adjustable reference frequency source [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2019, 47(7): 992-997.
- [22] 刘振邦, 马英明, 韩冬雪, 等. 新型耗散型电化学石英晶体微天平的研制[J]. *分析化学*, 2018, 46(8): 1171-1177.
LIU ZH B, MA Y M, HAN D X, et al. Development of a novel broadband adaptive electrochemical quartz crystal microbalance with dissipation monitoring [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 46(8): 1171-1177.
- [23] MELENDREZ D, HAMPITAK P, JOWITT T, et al. Development of an open-source thermally stabilized quartz crystal microbalance instrument for biomolecule-substrate binding assays on gold and graphene [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1156: 338329.
- [24] MURRIETA-RICO F N, PETRANOVSKII V, SERGIYENKO O, et al. QCM modified with FAU zeolite nanostructures for analysis of temperature induced adsorbed mass changes[J]. *Measurement*, 2021, 172: 108935.
- [25] SHOAIB S, TABRIZIAN M. A QCM-D sensing strategy for investigating the real-time effects of oxidative stress on the viscoelastic properties of pre-osteoblast cells [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 293: 235-246.
- [26] MACHINI W B S, OLIVEIRA-BRETT A M. Antileishmanial drug miltefosine-dsDNA interaction in situ evaluation with a DNA-electrochemical biosensor[J]. *Electroanalysis*, 2017, 30(1): 48-56.
- [27] ZHOU B, HAO Y, WANG ZH Y, et al. Dynamical and noninvasive monitoring of curcumin effect on the changes in the viscoelasticity of human breast cancer cells: A novel model to assess cell apoptosis[J]. *Talanta*, 2022, 236: 122899.
- [28] CHEN D Y, WEN Y M, LI P, et al. Dynamic magnetic excitation detection method for low-concentration superparamagnetic particles via quartz crystal microbalance [J]. *IEEE Sensors Journal*, 2022, 22(23): 22495-22502.
- [29] CHEN D Y, WEN Y M, LI P, et al. Magnetically modulated differential quartz crystal microbalances for rapid, ultrasensitive, and direct probing of prostate-specific antigens conjugated with magnetic beads [J].

- ACS Sensors, 2023, 8(11): 4031-4041.
- [30] ZUO C, WEN Y M, CHEN D Y, et al. Dynamic monitoring of biomolecular hydrodynamic dimensions by magnetization motion on quartz crystal microbalance[J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(19): 7421-7428.
- [31] ZUO C, WEN Y M, CHEN D Y, et al. Residence time prediction in magnetically controlled biomolecular local rebinding-dissociation kinetics[J]. Analytica Chimica Acta, 2024, 1331: 343341.
- [32] CHEN D Y, WEN Y M, LI P, et al. Low LOD and non-adsorption probing of functionalized magnetic beads using quartz crystal microbalance under bimodal magnetic field[J]. IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 2023, 72: 9507109.
- [33] 张家泰, 文玉梅, 鲍祥祥, 等. 表面溅射 FeGa 薄膜的 AT 切型石英谐振磁场传感器[J]. 仪器仪表学报, 2021, 42(3): 42-49.
- ZHANG J T, WEN Y M, BAO X X, et al. AT-cut quartz resonant magnetic field sensor with surface sputtered FeGa film[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2021, 42(3): 42-49.
- [34] 鲍祥祥, 文玉梅, 陈冬雨, 等. 变截面 FeGa 膜/AT 切石英晶片复合谐振磁场传感器[J]. 仪器仪表学报, 2021, 42(12): 56-64.
- BAO X X, WEN Y M, CHEN D Y, et al. Variable cross-section FeGa film/AT-cut quartz wafer composite resonant magnetic field sensor[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2021, 42(12): 56-64.
- [35] 杨晓朋, 文玉梅, 陈冬雨, 等. FeGa 膜/AT 切石英晶片双面复合蝶形谐振磁场传感器[J]. 仪器仪表学报, 2024, 45(3): 17-25.
- YANG X P, WEN Y M, CHEN D Y, et al. Butterfly-shaped FeGa film/AT-cut quartz wafer double-sided composite resonant magnetic field sensor[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2024, 45(3): 17-25.
- [36] PATEL P R, MARTIN R K. End-to-End direct digital synthesis simulation and mathematical model to minimize quantization effects of digital signal generation[J]. IEEE Open Journal of the Communications Society, 2020, 1: 1647-1657.
- [37] BRAMBILLA D, SOLA L, DAMIN F, et al. Immobilization of biotinylated antibodies through streptavidin binding aptamer[J]. Talanta, 2023, 265: 124847.
- [38] SDOBNOV A, PIAVCHENKO G, BYKOV A, et al. Advances in dynamic light scattering imaging of blood flow[J]. Laser & Photonics Reviews, 2023, 18(2): 2300494.
- [39] ANZINI P, REDOGGLIO D, ROCCO M, et al. Light scattering and turbidimetry techniques for the characterization of nanoparticles and nanostructured networks[J]. Nanomaterials, 2022, 12(13): 2214.
- [40] GAO Y, HUO W S, ZHANG L, et al. Multiplex measurement of twelve tumor markers using a GMR multi-biomarker immunoassay biosensor[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 123: 204-210.

作者简介



欧阳吉海, 2022 年于上海交通大学获得学士学位, 现为上海交通大学硕士研究生, 主要研究方向为磁标记生物分子检测系统。

E-mail: 1977767430@sjtu.edu.cn



Ouyang Jihai received his B. Sc. degree from Shanghai Jiao Tong University in 2022. He is currently pursuing an M. Sc. degree at Shanghai Jiao Tong University. His main research interests include magnetic labeling and detection systems for biomolecules.

文玉梅(通信作者), 1984 年于北京航空航天大学电子工程系获得学士学位, 1987 年于中国运载火箭技术研究院获得硕士学位, 1997 年于重庆大学获得博士学位。现为上海交通大学自动化与感知学院、上海交通大学海底科学与划界全国重点实验室教授, 博士生导师。主要研究方向为信息获取与处理、传感器与仪器、能量采集。

E-mail: yumei.wen@sjtu.edu.cn

Wen Yumei (Corresponding author) received her B. Sc. degree in Electrical Engineering from Beihang University in 1984, her M. Sc. degree from China Academy of Launch Vehicle Technology in 1987, and her Ph. D. degree from Chongqing University in 1997. She is currently a professor and doctoral supervisor with the School of Automation and Intelligent Sensing and the State Key Laboratory of Submarine Geoscience, Shanghai Jiao Tong University. Her research interests include information acquisition and processing, sensors and instrumentation, and energy-harvesting.