拓扑暗态：如何设计一种用于光学生物传感的超材料，实现近乎无限的灵敏度

G. Tselikov[1], A. Danilov[1], V. O. Shipunova[2], S. M. Deyev[2], A. V. Kabashin[1], A. N. Grigorenko[3]

[1] 艾克斯-马赛大学、法国国家科学研究中心、*UMR 7341 CNRS*、*LP3*、吕米尼校区 – *917*号信箱，*13288*，马赛*Cedex 9*，法国

[2] 舍米亚金-奥夫钦尼科夫生物有机化学研究所，俄罗斯科学院，米克卢霍-马克莱街*16/10*号，莫斯科*117997*，俄罗斯

[3] 物理与天文系，曼彻斯特大学，曼彻斯特，*M13 9PL*，英国 *K*

摘要

由于无需标记且分析速度快，光学生物传感器有望为生物医学诊断、安全以及环境与食品安全应用带来重大进展。然而，最先进的等离激元生物传感器实现方案的灵敏度存在根本性限制，这种限制源于系统损耗和/或生物芯片的几何结构。本文报道了拓扑暗超材料中的“剪刀效应”，该效应能够为生物传感提供近乎无限的 真正灵敏度，从而解决灵敏度瓶颈问题。我们说明了如何通过合理设计拓扑暗超材料实现“剪刀效应”，并介绍其制备策略。为验证这一效应在生物传感中的适用性，我们展示了对叶酸（对人类健康至关重要的维生素）的检测，其线性动态范围宽达 3 个数量级，检测限为 0.125 纳摩尔，性能比此前报道的所有光学对应技术都高出数个数量级。我们的研究为设计和实现对结合事件具有超高灵敏度的等离激元、半导体和介电超材料开辟了可能性。

引言

分析生物样品溶液中的目标分析物（例如抗原、蛋白质、肽、DNA、RNA片段）与固定在表面的选择性受体（例如抗体、蛋白质、肽等）之间的亲和结合相互作用，是生物医学诊断（例如检测感染和癌症的生物标志物、心血管监测、免疫状态评估、理性药物设计）、环境与食品安全（例如监测毒素或病原体）以及安全应用[1]中的关键任务之一。医院和实验室目前使用的传统标记型生物传感，需要使用荧光或放射性标记对分析物进行标记，以此报告生物分子结合；然而，由于存在会干扰反应的标记步骤，这种方法精确度不足、所需实验室设施成本高昂，而且耗时过长。另一种方法是采用光学转换生物传感，通过监测与生物膜厚度增加相关的光学折射率，记录生物分子相互作用，从而即时报告结合结果，并在数分钟内获得动力学常数[2]。近期大流行病凸显了这种无标记方法的重要性；疫情暴露出可靠、易用且可大规模生产的生物芯片严重短缺，而这类芯片本可即时提供准确的检测结果。等离激元传感器利用介质依赖的自由电子振荡（等离激元）光学激发，以及显著增强的等离激元介导电场来探测折射率变化，因此构成了无标记生物传感技术的核心，可用于检测多种至关重要的分析物[2-4]。然而，目前基于光谱（或角度）询问、采用表面等离激元共振（SPR）分析物[2,3]或局域等离激元共振（LPR）[4] 的等离激元生物传感架构存在严重的灵敏度瓶颈。实际上，就每单位体相折射率（RIU）变化所引起的光谱位移而言，SPR和LPR传感方案的灵敏度分别约为 $(3\text{-}10)\cdot 10^3$ 纳米/RIU[3] 和 $(2\text{-}5)\cdot 10^2$纳米/RIU[4]，，因此其检测限（LOD）会低数个数量级

与基于标记的传感器相比，这一瓶颈与一系列根本性限制因素有关，包括等离激元金属中的高损耗[5]，未耦合局域等离激元共振情况下共振品质较低[4,6]，以及在周期性纳米粒子阵列上实现先进表面晶格共振（SLR）时结构几何形状的限制[7,8]。由于共振曲线的极小值处存在陡峭跃变，以相位而非光谱询问作为传感参数，可以完全弥补等离激元生物传感器在灵敏度方面的不足[9,10]，但要实现超灵敏相位询问方案，需要经过适当设计的等离激元结构和更复杂的仪器读出。

我们最近描述了一种称为拓扑暗态（TD）的新现象[11,12]，，其特征是特定光学系统中的光反射/透射恰好为零；在测得的光谱中，它通常表现为一个定义明确的特征，即反射/透射下降至光强为零的点。在拓扑暗态下，由材料光学常数的光谱特性以及零反射/透射面的定位，反射/透射的缺失受到拓扑保护；即使拓扑暗结构的制备存在任何缺陷，这种特性仍然存在（不存在漫散射光时）。随后，我们描述了一组具有拓扑暗态的超材料（异质结构[13] 和纳米结构[11,14]），并证明拓扑暗态的产生可导致光相位出现极端奇点，可用于相位询问方案，从而大幅提高 无标记等离激元生物传感器的灵敏度[11,15,16]。

在此，我们进一步探究了设计的超材料中拓扑暗态（TD）产生所关联的光学现象，重点关注TD特征的光谱响应对折射率变化的表现。我们报告了一种“剪刀效应”，并从理论上表明，这种效应可带来近乎无限的

光谱灵敏度，用于记录结合型生物传感事件。我们阐述了如何设计和制备拓扑暗超材料（TDM），以实现“剪刀效应”。为验证这类超材料在生物传感中的适用性，我们以维生素叶酸（分子量为441.4 Da）为例进行无标记定量检测；叶酸是一种对人类健康至关重要的小分子。我们展示了TDM能够在较宽的浓度范围内（5 纳摩尔– 5000 纳摩尔）监测叶酸，而TDM的检测限（LOD）为0.125纳摩尔，远优于以往采用的无标记法和标记法。我们的工作为开发快速、低成本且超灵敏的无标记光学生物传感器开辟了新的可能，这类传感器可基于等离激元、半导体或介电材料及结构构建。

结果

衰减反射几何中的拓扑暗态

我们首先回顾拓扑暗态现象的主要特征：对于特定结构，在某些入射角和波长下，光反射（或透射）的光强为零。这里，我们着重讨论衰减反射几何（ATR）中的拓扑暗态，这种几何最适用于生物传感应用。考虑光从图1a所示结构反射的情形：一层薄TDM层（可以是平面、纳米结构或异质结构）置于折射率为n_1 的棱镜底部，并与折射率为n_3 的待研究介质接触（该介质可以是水或生物传感中常用的磷酸盐缓冲盐水）。对于给定的光偏振、TDM层厚度、入射角θ 和光波长λ，通过调节TDM层的光学常数（$n(\lambda)$、$k(\lambda)$），可以使光在图1a所示结构上的反射恰好为零，这是由于

整个结构的菲涅耳系数的性质[11]。这里， 是 TDM 层的复折射率，而 是该层的光学介电常数。

$$\varepsilon(\lambda) = \tilde{n}(\lambda)^2 = [n(\lambda) + ik(\lambda)]^2$$

$$\tilde{n}(\lambda) = \sqrt{\varepsilon(\lambda)}$$

因此，对于固定的 TDM厚度和入射角，在三维空间（$n(\lambda)$, $k(\lambda)$, λ)中，我们将得到所研究结构的零反射曲线。如果允许入射角θ 变化，就会得到图 1b 所示的零反射面（假想材料对应的青色曲面）。如果图 1b 中红色曲线所示的 TDM层光学常数光谱曲线（$n(\lambda)$,$k(\lambda)$）在零反射面的两侧各有一个点（见图 1b 中的 A 点和 B 点），那么 TDM 光学常数的光谱曲线必然与零反射面相交；根据拓扑学和若尔当定理[11]，这就保证了零反射点 C 的存在（图 1b）。从某种意义上说，零反射点 C 具有拓扑保护：TDM制备中的微小缺陷不会改变 A 点和 B 点相对于零反射面的位置，因此，尽管波长和入射角会略有不同，仍然可以观察到零反射点 C，这可由若尔当定理[11] 保证。需要强调的是，这些考虑仅在漫散射较弱、且可以对所研究结构应用菲涅耳理论时才成立。同样的考虑也适用于光透射，并能保证存在受拓扑保护的零透射点。本文将重点讨论衰减全反射条件下的拓扑暗态，因为这种几何构型在生物传感应用中十分有效。

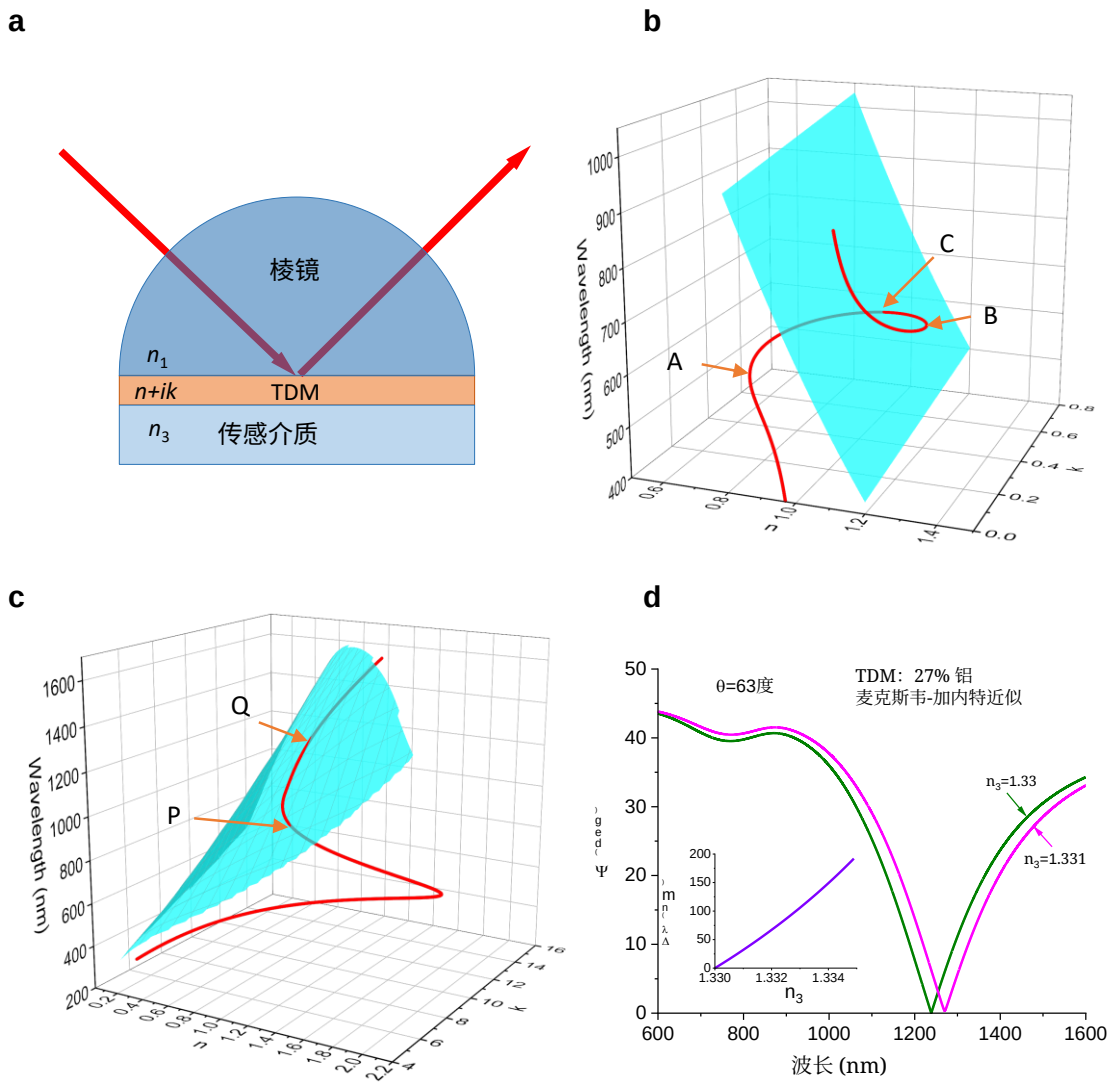


图 1：ATR几何结构中的拓扑暗态。 **a** 所研究的结构由耦合棱镜、TDM层和传感介质（例如水或PBS缓冲液）组成。**b** 所研究结构中的拓扑保护暗态，出现在点 C 处；此处 TDM 的光谱光学常数曲线（$n(\lambda)$, $k(\lambda)$，红色）与零反射面（青色）相交。**c** 对**a** 所示结构计算得到的零反射面（青色），其中 TDM 厚度为 21.696nm，n_1=1.513，且n_3=1.33。红色曲线表示在麦克斯韦-加内特近似下，针对由 27% Al 和 73% 底层介质构成的 TDM 层计算得到的光谱光学常数曲线。红色曲线在点 Q 处以一个很小的角度与零反射面相交。**d** 在固定入射角 θ=63.005° 下，探测介质的两种不同折射率n_3=1.33 和n_3=1.331（Ψ 的定义见方法）时，计算得到的光谱椭偏反射 Ψ 的变化。插图显示了 TD 的光谱（振幅）灵敏度随底层介质折射率的变化。TDM层的厚度为 21.696nm。

TD材料在生物传感中的灵敏度与剪刀效应

零反射点 C 在反射光谱中呈现出清晰明确的特征，可用于无标记检测生物结合事件。TDM层的功能化过程可实现对生物分子的选择性检测，从而改变拓扑暗超材料的有效厚度（面密度灵敏度），或改变 TDM所接触介质的折射率（体灵敏度）。在这两种情况下，零反射面都会发生位移，并出现新的零反射点。于是，TDM振幅检测的灵敏度可表示为，其中 表示传感介质折射率变化所引起的零反射点的光谱位移。看起来，这种灵敏度不应很高，因为零反射面的位移通常很小。然而，与基于 LPR 或表面等离激元共振平台的生物传感不同，在后者中，人们测量共振曲线相对于其初始位置的位移（这是由于探测介质中或芯片表面发生了生物结合事件），而在拓扑暗态的情况下，我们测量零反射面相对于拓扑暗超材料的光谱曲线 *(n(λ), k(λ))* 的移动情况。因此，拓扑暗态结构的灵敏度在很大程度上取决于拓扑暗超材料的光谱曲线与零反射面相交时的角度。交角越小，α光谱位移和光谱灵敏度就可能越大。我们将这种因交角较小而导致灵敏度大幅提升的现象称为“剪刀效应”，这是基于剪刀的类比：随着剪刀刀刃运动速度的增加，刀刃交点的移动速度会快得多，其增幅与 成正比（其中α 以弧度表示）。

Δn_3

$1/\alpha$

很容易找到一种超材料，使其光学常数（*n*(λ), *k*(λ)）的光谱曲线以很小的角度与零反射面相交。图1c展示了图1a所示结构在这种情况下的一个理论示例。在此情况下，由铝（27%）与底部介质（73%）的混合物构成厚度为*d*=21.696nm 的 TDM，该混合物由麦克斯韦-加内特理论[17]描述

(某一种特定的有效介质并不重要，因为对于例如 Bruggeman 有效介质[17] 及其他介质，也会观察到这种效应）。该 TDM 的光谱光学参数（$n(\lambda)$, $k(\lambda)$）在图1c中以红色曲线表示。该 TDM 结构的零反射面在图1c中以青色曲面表示。可以看到，对于零反射点 Q，光谱曲线确实以很小的角度与零反射面相交（发生于入射角 θ=63.005° 和波长 1238.8nm）。通过计算研究介质折射率发生微小变化所引起的零反射面位移，我们可以找到光谱曲线与新零反射面相交的新点 Q′，从而得到新的零反射光谱位置，以及 TD 发生时略有不同的入射角。计算结果表明，对于所讨论结构的点 Q，在允许改变入射角以恢复 TD 的情况下，其光谱灵敏度 $S \approx 6 \cdot 10^3$ nm/折射率单位极高（其中 RIU 为折射率单位）。

不过，需要指出的是，在光学检测方案中，光的入射角通常是固定的。在这种情况下，拓扑暗超材料的灵敏度甚至会更高。例如，由 27% 铝和 73% 底部介质组成的 Maxwell-Garnett 拓扑暗超材料层，表现出更高的光谱灵敏度 $S \approx 3.2 \cdot 10^4$ 纳米/折射率单位；这一数值可由图 1d 及其插图推导得出。插图展示了在固定入射角 θ=63.005° 下，传感介质折射率 n_3 变化所导致的反射极小值光谱位置偏移（图 1d 中所用椭偏反射的定义见方法部分）。这种较高的光谱灵敏度（在此光谱范围内可与金芯片的表面等离子体共振灵敏度相媲美[3]）与“仿造”表面等离激元共振之间的联系，将在未来的论文中讨论。

超灵敏拓扑暗超材料的设计

图1c所述的情形给出了一个简单的理论算法，用于设计对传感介质具有近乎无限光谱灵敏度的超灵敏*TDM*（*UTDM*），适用于在固定角度下工作的图1a结构。该算法如图2所示。步骤1：固定TDM层的厚度和入射角。（可将TDM厚度选为5–30nm，以避免TD点数量减少；入射角 则应满足实现衰减全反射的条件，此时传感介质中仅存在倏逝波。）例如，在图2中，我们选取TDM厚度d=21.696nm和入射角 θ=63°。步骤2：针对两种不同的折射率n_3，在这些参数下构建零反射曲线（图2a中=1.33和=1.331对应的曲线分别以青色和灰色表示）。步骤3：在这两条零反射曲线上选取两个点，使它们之间具有足够大的光谱距离，例如图2a中的M点和N点。步骤4：设计一种超材料，使其光学常数光谱曲线经过M点和N点，如图2a中的红色曲线所示。按照设计，对于传感介质中相差所选光谱距离的两种折射率，该超材料都将产生恰好为零的反射，见图2b。因此，所构建的TDM将具有原则上可大到任意所需程度的光谱灵敏度，这符合“剪刀效应”。图2b绘出了采用UTDM的图1a结构的两条反射曲线，其光谱特性由图2a中的红色曲线描述。我们观察到，传感介质折射率仅发生微小变化，零反射波长便产生大幅偏移，从而得到*S*=10^5 nm/折射率单位的TD光谱灵敏度。

n_3' n_3''

$\Delta\lambda$

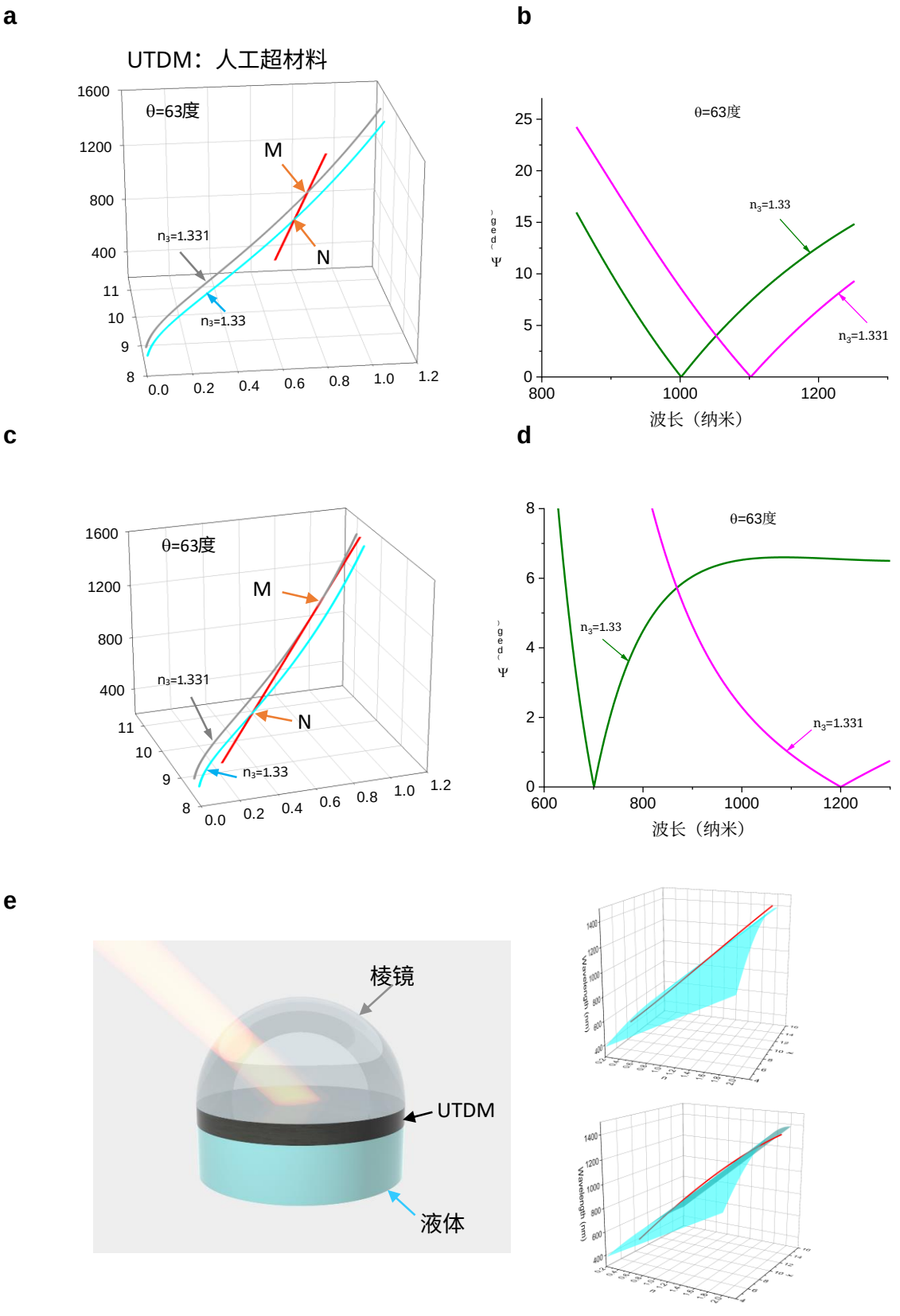


图2：拓扑暗超材料在生物传感中的无限光谱灵敏度。 **a** 入射角为63° 且TDM厚度为21.696nm时，传感介质的两种不同折射率n_3 对应的零反射曲线分别以青色和灰色表示。红色曲线表示假想超材料的光谱常数曲线，该曲线连接M点和N点。**b** 对于所描述的TDM，探测介质的两种不同折射率n_3=1.33和n_3=1.331对应的椭偏反射 Ψ计算结果为

的红色曲线**a**，显示零反射点移动了 100nm。 **c** 与 **a** 相同，但 M点和N点之间的光谱距离更大。 **d** 与 **b** 相同，但零反射点移动幅度更大，为 500nm。 **e** UTDM 的光学特性和几何结构。右侧上方和下方的插图展示了观察到 UTDM 的典型情形，其中青色表面表示零反射面，红色曲线表示 UTDM 光学常数的光谱曲线。

为了证明UTDM灵敏度可以达到任意给定数值，图2c展示了采用相同方法、显著增大M点和N点之间光谱间隔的应用实例。我们再次设计了一种超材料，其光学常数的光谱曲线经过图2c红色曲线所示的M点和N点。对于传感介质折射率变化=0.001时，该超材料使零反射点的波长偏移进一步增大至500nm，=5·10^5 nm/折射率单位，见图2d。这一灵敏度约为SPR条件下优化金芯片所观察到灵敏度的两个数量级以上[3]。显然，所提出的算法能够提供理论上的超材料，其光谱灵敏度几乎可以达到任意给定数值。

Δn_3

讨论与结论

实现剪刀效应的策略

图2e总结了图1a所示简单结构中UTDM生物传感的主要特征。该结构由一个耦合棱镜、一层薄的功能化TDM层和传感介质组成。光以大于该结构临界角的入射角照射该结构，，因此传感介质中仅产生倏逝场（光不会透过传感介质）。由于存在拓扑暗态，结构也不会产生反射。因此，在这种情况下，TDM的表现如同完美吸收体[18,19]。为了实现“剪刀效应”和高生物灵敏度，UTDM的光谱曲线应以很小的角度与零反射面相交（如图2e上方插图所示），或者在两个相近的点交叉、几乎与零反射面相切（见图2e下方插图），从而使TD点发生较大的光谱变化

在传感介质发生微小变化时，并为设计不同类型的UTDM开辟无限可能。最后，光谱曲线与零反射面的交角很小，这意味着UTDM的工作角度范围很窄，这也解释了为何此前未曾讨论过这一效应。

设计 UTDM 的一个重要环节，是设法制备具有给定光谱参数（$n(\lambda)$、$k(\lambda)$）的超材料。近年来，随着纳米光学和等离激元学的发展，这一课题受到了广泛研究[20-25]。设计具有给定光谱曲线的定制超材料，有多种方法，包括利用自然共振[11]， 、复杂的纳米结构化[11], 、表面等离激元共振异质结构[13], 等。这些超材料可以基于等离激元、半导体或介电纳米异质结构。

颇为幸运且有悖直觉的是，即使采用相当简单的纳米结构金属-介电超材料（例如由金属纳米颗粒构成的规则方阵），也能实现具有“剪刀效应”的TDM。图3a展示了在玻璃基底上制备的金哑铃结构方形阵列所构成的简单TDM的扫描电子显微镜图像（见方法），该TDM被用作图1a所示结构中的TDM层。该结构含有此TDM层时测得的衰减全反射椭偏反射如图3b所示（实验细节见补充信息）。该反射具有两个主要特征——波长为930 nm处极窄的衍射耦合表面晶格共振（SLR）（此处*s*偏振反射降为零）——以及在波长1185 nm、入射角为71°时观察到的拓扑暗态点。TD点仅在很窄的入射角范围内可观测到（入射角改变1° 便足以恢复较强反射），这表明它可能导致

图2e所述的情形。图3c显示，从图1b提取的TDM光谱常数曲线确实以锐角与零反射线相交。

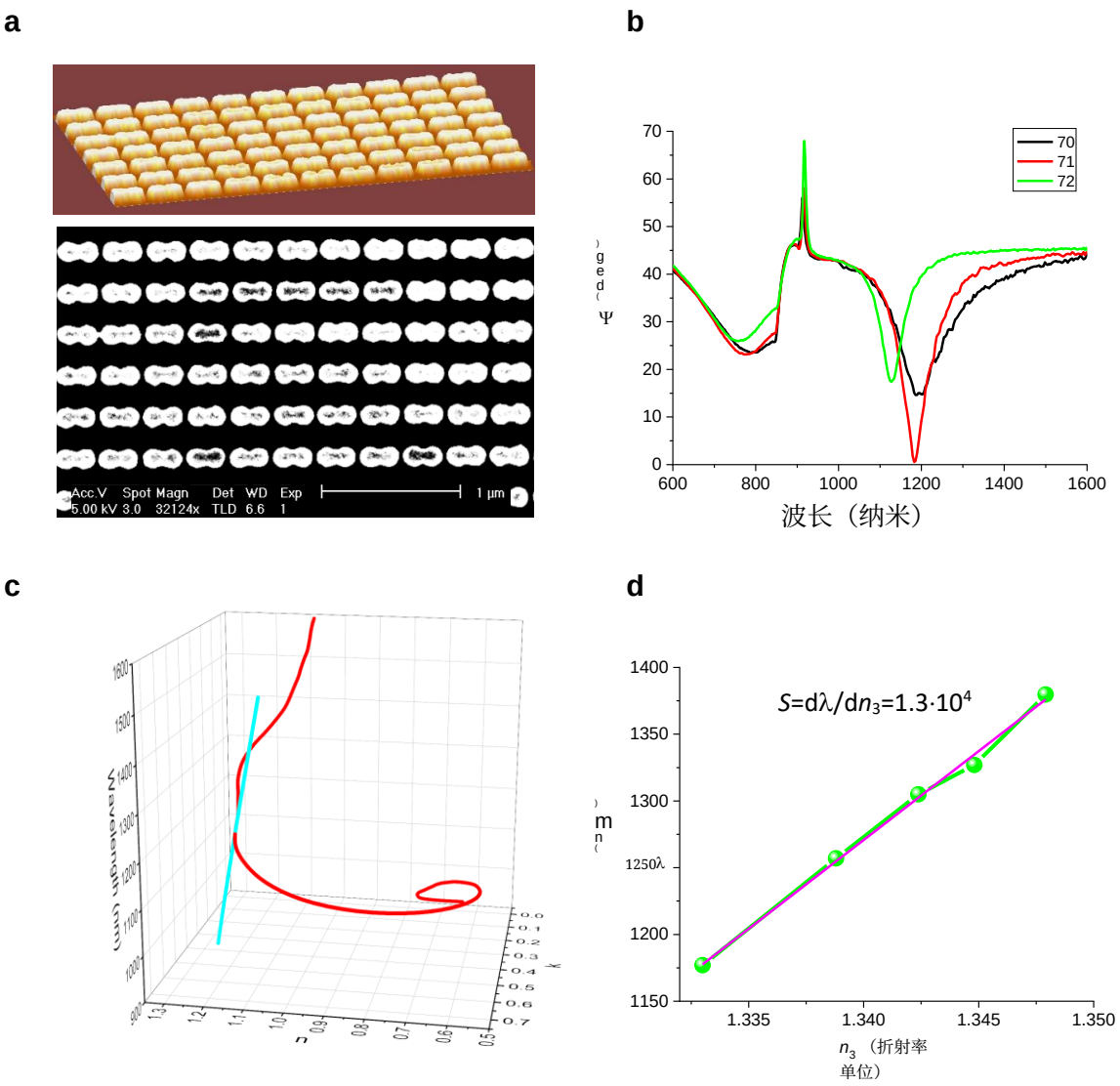


图3：基于金纳米颗粒规则方阵制备的拓扑暗超材料的"剪刀效应"及相关的增强光谱灵敏度。 **a** 制备的超材料的扫描电子显微镜图像。上图为三维图像，下图为二维图像。 **b** <style id='a'>所示的 TDM 在三个入射角下测得的椭偏反射 Ψ 。 **a c** 在测量参数下计算的零反射曲线（青色曲线）与从 **b** 中提取的 TDM 光学常数光谱曲线的交点。 **d** 使用水-甘油混合物测量的 **a** 中 TDM 结构的反射极小值变化（方法）。

为了检验图3a所示 TDM 的光谱灵敏度，我们测量了……的实验变化

通过改变传感介质的折射率n_3来改变反射极小值。这是通过

使用水-甘油混合液（补充信息）进行的，实验测得灵敏度为S = 1。3·10^4 纳米/折射率单位，比这些波长下的表面等离子体共振灵敏度高两倍多，见图 3d。还值得将所研究的 TD 超材料的 TD 模式灵敏度与表面晶格共振模式[15]的灵敏度进行比较。根据理论，衍射耦合表面晶格共振对折射率变化的灵敏度应达到$\Delta\lambda/\Delta n \sim d$，其中$d$为阵列周期[15]。由此可得，表面晶格共振的灵敏度为 320 纳米/折射率单位（在所研究的哑铃阵列中，表面晶格共振出现在 930 纳米处），比 TD 模式的灵敏度低 40 倍，证实了两者的性质不同。

Ultr借助拓扑暗超材料实现叶酸的高灵敏度检测 Is

为说明拓扑暗超材料在生物传感中的适用性，以及“剪刀效应”在生物传感中的实验应用，我们采用一种新方案进行了无标记生物传感测试，以水溶性维生素叶酸（FA、维生素B9、维生素M）为代表性低分子量化合物（441.4 Da），对其进行定量检测。叶酸是酶辅因子（统称为叶酸盐）的一类前体，在嘌呤、嘧啶和蛋氨酸的形成过程中发挥重要作用；叶酸参与DNA、RNA和蛋白质的生物合成，而其水平偏离正常值（人血清中为3-20 ng/mL或6.8 – 45.3 nM）可能引发严重健康问题，包括贫血、精神障碍、心血管疾病和脑血管疾病、致癌作用，或新生儿神经管缺陷。由于血清样本通常有限（尤其是新生儿样本），叶酸诊断方法必须具有极高灵敏度，同时叶酸水平监测应覆盖相对宽广的动态范围。在这些测试中，我们使用了图3所示的TDM，其对整体折射率变化具有相当高的灵敏度（1.3·10^4 nm/折射率单位）。检测采用有利于叶酸等小分子分析物的竞争分析模式。金表面修饰示意图

以及相关实验程序见图4a、b（更详细的实验说明见补充信息）。

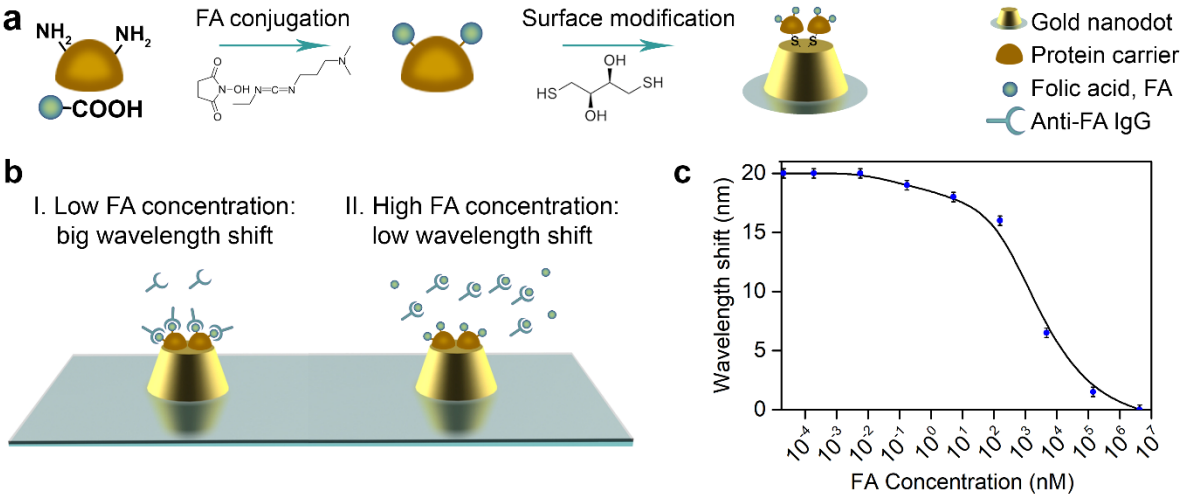


图4：利用 TDM 在"剪刀效应"条件下无标记检测叶酸。 **a** 金表面修饰示意图：将与叶酸偶联的载体蛋白用于实现竞争性叶酸检测。首先，通过碳二亚胺化学将载体蛋白（牛血清白蛋白）与叶酸偶联。随后，用 DTT 孵育蛋白质-叶酸，以还原巯基，从而实现黄金表面生物修饰。**b** 竞争性无标记叶酸检测示意图。先将待测叶酸样品与抗叶酸IgG预孵育。接着，将所得的叶酸-抗叶酸IgG复合物泵入含有液体池的装置中，池内设有包覆叶酸的金纳米点。当叶酸浓度较低时（I），金表面上的所有叶酸结合位点均被抗叶酸抗体覆盖，因此检测到的信号足够强。当叶酸浓度足够高时（II），所有抗叶酸抗体都已预先被叶酸封闭，因此IgG无法与金表面结合，检测到的信号较弱。**c**反射率最小值的光谱位置随叶酸浓度（纳摩尔）的变化关系。

在实验中，泵入液体池的溶液中FA的浓度在$2\cdot10^{-5}$ 纳摩尔和$4\cdot10^{6}$ 纳摩尔之间变化。如图4c所示，FA浓度的变化使与拓扑暗态相关的反射率最小值逐渐发生约20 nm的光谱位移；当FA浓度达到5皮摩尔时，信号趋于饱和。值得注意的是，在FA浓度从5纳摩尔到5000纳摩尔的宽广范围内（跨越3个数量级），传感响应呈线性，这对FA监测至关重要。在竞争性检测中，检测限（LOD）通常依据$2\cdot\sigma$ 准则确定：$LOD = A - 2\cdot\sigma$，其中A是饱和时的最大信号，σ 是最后一个"零"点测量的误差。将光谱测量的 σ 值（0.4 nm）代入后，可得

光谱检出限为0.125纳摩尔。该检出限水平似乎远优于已报道的其他光学生物传感器。事实上，这一数值至少比基于标记的传感器（纳米粒子增强型表面等离子体共振下为0.38 μM [26], 80 纳摩尔[27], 2.9纳摩尔[28]）和无标记传感器（表面等离激元共振下为2.3纳摩尔[29] ，LPR下为100纳摩尔[30]）的已报道检出限低20倍；与大多数其他方法（如电化学、毛细管电泳等）相比，则低了几个数量级[31]。值得注意的是，与表面等离激元共振[29] 相比，灵敏度提高20倍这一结果无法仅用体相折射率变化灵敏度的提升来解释，因为所研究样品的灵敏度仅略高（为$1.3 \cdot 10^4$ nm/折射率单位，而类似光谱范围内表面等离激元共振下观测到的值为$(2\text{-}5) \cdot 10^3$ nm/折射率单位）。我们认为，这种提升源于更强的电场对目标分子的探测作用，以及与表面等离激元共振下的平坦金表面相比，纳米结构拓扑暗模具有更好的电磁场局域能力。需要指出的是，测得的检出限受TDM的光谱灵敏度（$1.3 \cdot 10^4$ nm/折射率单位）限制，而该灵敏度取决于特定实验布局中的“剪刀效应”效率。正如上文所示，可以设计出灵敏度达到 10^5-10^6 nm/折射率单位甚至更高的拓扑暗超材料；这在当前的光学转导生物传感技术中是无法想象的。值得一提的是，这里描述的拓扑暗态效应所带来的高灵敏度，可能早已在一些先前研究中被观察到，但当时并未明确识别或得到恰当解释。具体而言，有研究报道，使用由垂直排列在玻璃基底上的长金纳米棒（400-450 nm）“森林”构成的等离激元纳米棒超材料，灵敏度可达$3.2 \cdot 10^4$ nm/折射率单位[32], ；而在三维木堆式等离激元晶体超材料中，观测到的灵敏度为$2.4 \cdot 10^3$ nm/折射率单位[33]。对这些研究所报告实验数据的详细分析表明，两种情况下，准有效介质在相对狭窄的角度变化范围内均呈现近乎为零的反射强度，这是拓扑暗态现象的典型特征。

新范式 无标记生物传感

作为本研究提出的核心观点，通过合理设计拓扑暗超材料来实现“剪刀效应”，我们从理论上提出了无标记光学生物传感的新范式，其灵敏度几乎不受限制。事实上，此类生物传感模式的传统范式是利用共振现象（SPR、LPR 等），并追踪共振曲线相对于其初始位置的变化，以检测传感器表面发生的生物结合事件。与此不同，我们提出利用拓扑零反射现象：借助 TDM 模拟具有适当光学常数n和k的有效介质，并研究这一零反射位置相对于 TDM 光谱曲线$n(\lambda)$和$k(\lambda)$的光谱位移。我们证明，通过合理设计 TDM，可以实现由光谱曲线与零反射面之间极小的交角所引发的“剪刀效应”，从而使生物传感器灵敏度提高数个数量级。我们还介绍了 UTDM 的设计途径，其依据是设计具有给定光谱特性的超材料这一可能性。值得注意的是，UTDM 不仅可以采用金属制成，也可以采用半导体或介电结构制成；此外，由于零反射受到拓扑保护，局部结构缺陷似乎并不显著。因此，与许多其他超材料结构不同，UTDM 可以通过纳米颗粒光刻或自组装等经济高效的方法制备。我们的工作为理论研究者设计用于生物传感及其他应用的超灵敏 TDM 开辟了无尽可能，也为实验研究者利用纳米结构和异质结构（超）材料实现这些 UTDM 带来了令人振奋的新机遇。

从潜在应用角度来看，我们展示了利用 TDM 进行 FA监测的可行性，其灵敏度创下纪录，并在宽动态范围内实现了线性响应。拓扑暗超材料可轻松适配于更智能的基础研究和生物医学应用，或用于高

灵敏检测其他低分子量化合物和蛋白质，包括临床相关的抗生素、毒素、激素及疾病相关抗体。同样重要的是，可对超薄介电超材料进行适当的结构设计，使传感器表面能够固定多种受体，从而为并行高通量分析大量目标分析物开辟了新途径。例如，在临床实践中，超灵敏检测低分子量化合物（如各种碳水化合物代谢物、同型半胱氨酸、胆固醇、维生素及各种激素），对于分析患者当前的疾病阶段并监测其变化趋势十分必要。开发可靠且灵敏的方法来分析非法药物或体育运动中的兴奋剂也至关重要。在食品工业中，为检测病原体、抗生素或维生素而采用的各类分析方法也十分普及；这些方法既可显著稀释样品（以消除基质效应），又无需复杂的样品制备。考虑到超薄介电超材料及所需硬件的成本相对较低，基于超薄介电超材料的生物传感技术是新一代快速即时检测的理想平台，例如用于新冠肺炎快速分析或术中诊断。

总之，我们报告了一种利用新型超材料实现的“剪刀效应”，这种效应在检测生物结合事件时可提供极高（理论上无限）的光谱灵敏度，从而有望解决当前无标记光学生物传感技术的灵敏度瓶颈问题。我们提供了一种算法，可设计出具有任意给定光谱灵敏度的超灵敏TDM。利用“剪刀效应”，我们通过实验展示了在宽达 3 个数量级的线性动态范围内检测叶酸，检测限为 0.125 纳摩尔，其性能比此前报告的所有光学对应技术都高出数个数量级。我们的工作为开发稳健、低成本、快速且易于使用的无标记光学生物传感器铺平了道路。

材料与 方法

器件制备

通过电子束光刻，在覆盖有 5nm 铬（Cr）薄底层的洁净显微玻璃基底上，制备了高质量、规则且均匀的金耦合点对阵列（该铬层通常用于避免电子束光刻过程中产生电荷积累）。为改善后续剥离工艺，我们采用了双层抗蚀剂（底层为 80 nm、浓度 3% 的 495 聚甲基丙烯酸甲酯（PMMA），顶层为 50 nm、浓度 2% 的 950 PMMA）。使用 LEO-RAITH 电子束光刻系统进行曝光，随后在 1:3 的甲基异丁基酮（MIBK）与异丙醇（IPA）显影液中显影 30 s。光刻完成后，借助 Moorfield 系统，通过电子束蒸发沉积 5nm 铬（以增强附着力）和 90nm 金。沉积速率精确控制在 1.0 ˚A s^{-1}，本底压力为 1.0 ×10^{-6} Torr。采用经过校准的石英晶体微天平（CQM）监测生长中的金属薄膜厚度。进行剥离时，将样品浸入丙酮中约 1 h。最后，对制备的双纳米点结构进行扫描电子显微镜（SEM）成像，以确定点的尺寸、纳米结构的周期性以及点对中两点之间的间距。关于样品制备的更多细节，请参阅我们此前的研究[11]。

椭偏参数 Ψ 和 Δ

椭偏术是一种灵敏的方法，可用于测量材料的光学性质。椭偏术通常会提供从物体反射的光的振幅（Ψ）和相位（Δ）参数。这些参数与复反射场振幅有关和 (其中 是入射光， 以及 是*p*-和*s*-

$$_{i}\mathrm{Er}\,\overline{\mathrm{E}^{p}}=$$

$$_{i}\text{呃}\,\overline{\mathrm{E}^{s}}=\qquad E_i \qquad E_p \qquad E_s$$

$$\rho = \frac{r_p}{r_s} = \tan(\Psi)\exp(i\Delta)$$

分别偏振）由下式给出 [34]。函数Ψ表示*p*-和*s*-偏振对应的菲涅耳反射振幅之比的模，而Δ表示*p*-和*s*-偏振光分量之间的相移。光谱椭偏仪可以测量 Ψ 和Δ随光波长的变化。此外，变角椭偏仪可测量Ψ 和Δ随入射角的光谱变化。还可以测量不同入射角下R_p、T_p所表示的*p*-偏振光以及（R_s、T_s所表示的*s*-偏振光的反射光强和透射光强。使用由 J.A. Woollam 制造的 M-2000F 变角光谱椭偏仪（VASE），采用旋转补偿器-分析器配置，在 240–1700 nm 的波长范围内对 TDM 纳米结构进行了测量。

致谢

A.N.G. and V.G.K. 感谢石墨烯旗舰计划核心3（881603）的支持。

作者贡献

A.N.G. 提出研究构想，并对 UTDM 结构进行了理论模拟。V.G.K.、G.T.、A.D、V.O.S.、S.M.D.、A.V.K、A.N.G. 设计并开展了实验。所有作者均分析并讨论了所得数据。A.N.G. 和 A.V.K. 根据合作者提供的数据撰写了稿件。A.N.G. 和 A.V.K. 指导了该项目。所有作者均已批准稿件的最终版本。

补充信息

补充信息可供查阅。如需联系或索取材料，请联系 A.N.G。

竞争性财务利益

作者声明不存在相互竞争的财务利益。

参考文献

1 Banica, F.-G.《化学传感器与生物传感器：基础与应用》（John Wiley & Sons，2012）。2 Liedberg, B., Nylander, C. & Lundström, I. 表面等离激元共振生物传感的起源。生物传感器与生物电子学 10, i-ix, doi:https://doi.org/10.1016/0956-5663(95)96965-2 (1995)。3 Homola, J. 用于检测化学和生物物种的表面等离激元共振传感器。《化学评论》108, 462-493, doi:10.1021/cr068107d (2008)。4 Anker, J. N. 等. 等离激元纳米传感器生物传感。Nature Materials 7, 442-453, doi:10.1038/nmat2162 (2008)。5 Maier, S. A. 等离激元学：基础与应用。（Springer Science & Business Media，2007）。6 Wang, F. & Shen, Y. R. 金属纳米结构中局域等离激元的一般性质。Physical review letters 97, 206806 (2006)。7 Kravets, V., Schedin, F. & Grigorenko. 基于金属纳米颗粒阵列中局域等离激元衍射耦合的极窄等离激元共振。Physical review letters 101, 087403 (2008)。8 Kravets, V. G., Kabashin, A. V., Barnes, W. L. & Grigorenko, A. N. 等离激元表面晶格共振：特性与应用综述。《化学评论》118, 5912-5951, doi:10.1021/acs.chemrev.8b00243 (2018)。9 Kabashin, A. V. & Nikitin, P. I. 用于传感器应用的基于表面等离激元共振的干涉仪。《量子电子学》27, 653-654, doi:10.1070/qe1997v027n07abeh001013 (1997)。10 Kabashin, A. V., Patskovsky, S. & Grigorenko, A. N. 表面等离激元共振生物与化学传感中的相位与振幅灵敏度。Opt. Express 17, 21191-21204, doi:10.1364/OE.17.021191 (2009)。11 Kravets, V. G. 等. 用于无标记单分子检测的等离激元超材料奇异相位纳米光学。Nature Materials 12, 304-309, doi:10.1038/nmat3537 (2013)。12 Malassis, L. 等. 自组装等离激元超材料中的拓扑暗态。《先进材料》26, 324-330, doi:https://doi.org/10.1002/adma.201303426 (2014)。13 Wu, F. 等. 用于表面等离激元共振生物传感的层状材料平台。《科学报告》9, 1-10 (2019)。14 Kravets, V. G., Schedin, F., Kabashin, A. V. & Grigorenko, A. N. 金纳米谐振器集体等离激元模式对局部环境的灵敏度。Opt. Lett. 35, 956-958, doi:10.1364/OL.35.000956 (2010)。15 Danilov, A. 等. 用于生物传感应用的等离激元超材料阵列中的超窄表面晶格共振。生物传感器与生物电子学 104, 102-112 (2018)。16 Kabashin, A. V. 等. 用于探测二维材料和功能界面的相位响应傅里叶纳米换能器。《先进功能材料》29, 1902692, doi:https://doi.org/10.1002/adfm.201902692 (2019)。17 Choy, T. C. 有效介质理论：原理与应用。第165卷（牛津大学出版社，2015）。

18 Kravets, V. G., Schedin, F. & Grigorenko, A. N. 等离激元黑体：几乎完全吸收纳米结构金属涂层中的光。*Physical Review B* **78**, 205405, doi:205405 10.1103/PhysRevB.78.205405 (2008)。19 Liu, N., Mesch, M., Weiss, T., Hentschel, M. & Giessen, H. 红外完美吸收体及其作为等离激元传感器的应用。*Nano Letters* **10**, 2342-2348, doi:10.1021/nl9041033 (2010)。20 Leonhardt, U. 光学共形映射。*Science* **312**, 1777-1780, doi:10.1126/science.1126493 (2006)。21 Pendry, J. B., Schurig, D. & Smith, D. R. 控制电磁场。*Science* **312**, 1780-1782, doi:10.1126/science.1125907 (2006)。22 Leonhardt, U. & Philbin, T. G. 载于 *Progress in Optics* 第53卷（编者 E. Wolf）69-152（Elsevier，2009）。23 Chen, H., Chan, C. T. & Sheng, P. 变换光学与超材料。*Nature Materials* **9**, 387- 396, doi:10.1038/nmat2743 (2010)。24 Huidobro, P. A., Nesterov, M. L., Martín-Moreno, L. & García-Vidal, F. J. 等离激元学的变换光学。*Nano Letters* **10**, 1985-1990, doi:10.1021/nl100800c (2010)。25 Pendry, J. B., Aubry, A., Smith, D. R. & Maier, S. A. 变换光学与亚波长光控制。*Science* **337**, 549-552, doi:10.1126/science.1220600 (2012)。26 Zhang, W. 等. 碳量子点作为荧光传感器，用于无标记检测生物样品中的叶酸。*Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **229**, 117931 (2020)。27 Liu, S., Hu, J. & Su, X. 基于水溶性 CuInS 2 量子点检测抗坏血酸和叶酸。*Analyst* **137**, 4598-4604 (2012)。28 Cao, Y., Griffith, B., Bhomkar, P., Wishart, D. S. & McDermott, M. T. 功能化金纳米颗粒增强的竞争测定，结合表面等离激元共振实现小分子代谢物的灵敏检测。*Analyst* **143**, 289-296 (2018)。29 Indyk, H. E. 等. 通过基于光学生物传感器的免疫测定法测定婴儿配方奶粉和牛奶中的生物素与叶酸。*Journal of AOAC International* **83**, 1141-1148 (2000)。30 Ahmad, R. 等. 采用合成受体的水溶性等离激元纳米传感器，用于无标记检测叶酸。*Chemical Communications* **51**, 9678-9681, doi:10.1039/C5CC01489A (2015)。31 Batra, B., Narwal, V., Kalra, V., Sharma, M. & Rana, J. 叶酸生物传感器：综述。*ProcessBiochemistry* **92**, 343-354 (2020)。32 Kabashin, A. V. 等. 用于生物传感的等离激元纳米棒超材料。*Nature materials* **8**, 867-871 (2009)。33 Aristov, A. I. 等. 用于超灵敏生物传感的三维等离激元晶体超材料。*Scientific reports***6**, 1-8 (2016)。34 Azzam, R. M. A. & Bashara, N. M. 椭偏术与偏振光。（North-Holland，1977）。