

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102169088 B

(45) 授权公告日 2013.02.13

(21) 申请号 201010619663.3

(22) 申请日 2010.12.31

(73) 专利权人 清华大学

地址 100084 北京市海淀区清华大学清
华-富士康纳米科技研究中心 401 室
专利权人 鸿富锦精密工业(深圳)有限公司

(72) 发明人 朱振东 李群庆 张立辉 陈墨

(51) Int. Cl.

G01N 21/63(2006.01)

G01N 21/66(2006.01)

B81C 1/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN CN1342904A, 2002.04.03, 全文.

JP 特开 2005-219184A, 2005.08.18, 全文.

JP 特开 2007-93589A, 2007.04.12, 全文.

CN 101776603A, 2010.07.14, 全文.

CN 101799447A, 2010.08.11, 全文.

Cosmin Farcau ET AL. Mapping the SERS
Efficiency and Hot-Spots Localization on
Gold Film over Nanospheres Substrates.

《J. Phys. Chem.》.2010, 第 114 卷 (第 27
期), 11717-11722.

马文强等. 在银胶体系中罗丹明 B 单分子水
平上拉曼光谱研究. 《电子激光》.2005, 第 16 卷
(第 10 期), 1253-1256.

审查员 张晶

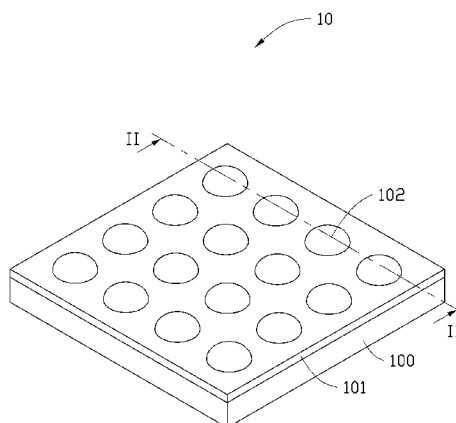
权利要求书 1 页 说明书 10 页 附图 11 页

(54) 发明名称

单分子检测方法

(57) 摘要

本发明涉及一种单分子检测方法,其主要包括以下步骤:提供一分子载体,所述分子载体包括一基底,所述基底一表面设置有多个三维纳米结构,在所述三维纳米结构表面及相邻三维纳米结构之间的基底的表面形成有金属层;在所述金属层远离基底的表面组装待测物分子;利用检测器对组装在基底上的所述待测物分子进行检测。所述单分子检测方法可以提高单分子检测的分辨率及准确度。



1. 一种单分子检测方法,其主要包括以下步骤:

提供一分子载体,所述分子载体包括一基底,所述基底一表面设置有多个三维纳米结构,在所述三维纳米结构表面及相邻三维纳米结构之间的基底的表面形成有金属层;

在所述金属层远离基底的表面组装待测物分子;

利用检测器对组装在基底上的所述待测物分子进行拉曼检测。

2. 如权利要求 1 所述的单分子检测方法,其特征在于,所述金属层的厚度为 2nm ~ 200nm。

3. 如权利要求 1 所述的单分子检测方法,其特征在于,所述分子载体的制备方法包括以下步骤:

提供一基底,所述基底具有一表面;

在所述基底的表面形成掩膜层;

采用反应性刻蚀气体对所述基底的表面进行刻蚀,在所述基底的表面形成三维纳米结构;以及

去除所述掩膜层。

4. 如权利要求 3 所述的单分子检测方法,其特征在于,所述在基底的表面形成掩膜层的方法为在所述基底的表面形成单层纳米微球。

5. 如权利要求 4 所述的单分子检测方法,其特征在于,所述在基底的表面形成单层纳米微球的方法为提拉法或旋涂法。

6. 如权利要求 3 所述的单分子检测方法,其特征在于,所述采用反应性刻蚀气体对所述基底的表面进行刻蚀的步骤在一微波等离子体系统中进行。

7. 如权利要求 3 所述的单分子检测方法,其特征在于,所述在所述基底的表面形成掩膜层的方法为在所述基底的表面形成具有多个开孔的连续膜。

8. 如权利要求 1 所述的单分子检测方法,其特征在于,所述分子载体的制备方法包括以下步骤:

提供一基底,所述基底具有一表面;

在所述基底的表面形成掩膜层;

采用反应性刻蚀气体对所述基底的表面进行刻蚀的同时对所述掩膜层进行腐蚀,在所述基底的表面形成多个阶梯状的三维纳米结构;以及去除所述掩膜层。

9. 如权利要求 1 所述的单分子检测方法,其特征在于,所述组装待测物分子的制备方法为:

提供一待测物分子的溶液,将所述形成有金属层的分子载体浸入待测物分子的溶液中;

浸入一定时间后,将所述分子载体取出,然后用水或乙醇对所述分子载体进行冲洗;以及

对所述分子载体进行干燥,将所述待测物分子组装在金属层表面。

单分子检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种单分子检测方法。

背景技术

[0002] 单分子检测(Single Molecule Detection, SMD)技术有别于一般的常规检测技术,观测到的是单个分子的个体行为,单分子检测技术在环境安全、生物技术、传感器、食品安全等领域应用广泛。单分子检测达到分子探测的极限,是人们长期以来追求的目标。与传统的分析方法相比,单分子检测法研究体系处于非平衡状态下的个体行为,或平衡状态下的波动行为,因此特别适合研究化学及生化反应动力学、生物分子的相互作用、结构与功能信息、重大疾病早期诊断、病理研究以及高通量药物筛选等。

[0003] 目前,已知有许多方法用于单分子检测,而分子载体的结构对单分子检测技术发展以及检测结果起着十分重要的影响作用。现有的多种单分子检测方法中,分子载体的结构将胶体银涂覆在玻璃表面,银颗粒通过胶体粘附于玻璃表面,然后将所述粘附有银颗粒的玻璃经过超声波洗涤,在玻璃表面形成分散的银颗粒,形成分子载体。然后将待测物分子设置于分子载体表面,通过拉曼检测系统向其分子载体上的待测物分子提供激光辐射。激光中的光子与待测物分子发生碰撞,从而改变光子的方向,产生拉曼散射。另外,光子与待测物分子发生能量交换,改变了光子的能量和频率,使该光子具有待测物分子的结构信息。通过传感器接收来自待测物分子的辐射信号,形成拉曼图谱,利用计算机对所述待测物分子进行分析。

[0004] 然而,现有技术中,由于所述玻璃的表面为一平整的平面结构,产生的拉曼散射信号不够强,从而使所述单分子检测的分辨率低,不适用于低浓度及微量样品的检测,从而应用范围受到限制。

发明内容

[0005] 有鉴于此,确有必要提供一种具有较高分辨率的单分子检测方法。

[0006] 一种单分子检测方法,其主要包括以下步骤:提供一分子载体,所述分子载体包括一基底,所述基底一表面设置有多个三维纳米结构,在所述三维纳米结构表面及相邻三维纳米结构之间的基底的表面形成有金属层;在所述金属层远离基底的表面组装待测物分子;利用检测器对组装在基底上的所述待测物分子进行拉曼检测。

[0007] 相较于现有技术,本发明通过设置金属层,在外界入射光电磁场的激发下,金属表面等离子发生共振,而由于金属层设置在三维纳米结构表面,可起到表面增强拉曼散射(SERS)的作用,使得拉曼散射信号增强,从而可以提高单分子检测的分辨率及准确度。

附图说明

[0008] 图1为本发明第一实施例提供的分子载体的结构示意图。

[0009] 图2为本发明第一实施例提供的分子载体沿II-II方向的剖视图。

- [0010] 图 3 为本发明第一实施例提供的半球状三维纳米结构阵列的扫描电镜照片。
- [0011] 图 4 为本发明第一实施例提供的分子载体中包括多个图案的三维纳米结构阵列的结构示意图。
- [0012] 图 5 为本发明应用分子载体的单分子检测方法的流程图。
- [0013] 图 6 为本发明第一实施例提供的分子载体中三维纳米结构的制备流程示意图。
- [0014] 图 7 为在基底表面六角形密堆排布之单层纳米微球的扫描电镜照片。
- [0015] 图 8 为本发明第二实施例提供的半椭球状三维纳米结构阵列的扫描电镜照片。
- [0016] 图 9 为本发明第二实施例提供的半椭球状三维纳米结构阵列的剖面示意图。
- [0017] 图 10 为本发明第三实施例提供的倒金字塔状三维纳米结构阵列的扫描电镜照片。
- [0018] 图 11 为本发明第三实施例提供的倒金字塔状三维纳米结构阵列的剖面示意图。
- [0019] 图 12 为本发明分子载体中不同三维纳米结构用于检测若丹明分子时得到的拉曼光谱。
- [0020] 图 13 为本发明第四实施例提供的双层圆柱状三维纳米结构阵列的扫描电镜照片。
- [0021] 图 14 为本发明第四实施例提供的分子载体的结构示意图。
- [0022] 图 15 为本发明第四实施例提供的分子载体沿 XV-XV 方向的剖视图。
- [0023] 图 16 为本发明第五实施例提供的分子载体的结构示意图。
- [0024] 图 17 为本发明第五实施例提供的分子载体沿 XVII-XVII 的剖视图。
- [0025] 主要元件符号说明
- | | | |
|--------|---------|-------------------------|
| [0026] | 分子载体 | 10, 20, 30, 40, 50 |
| [0027] | 基底 | 100, 200, 300, 400, 500 |
| [0028] | 金属层 | 101, 201, 301, 401, 501 |
| [0029] | 母板 | 1001 |
| [0030] | 三维纳米结构 | 102, 202, 302, 402, 502 |
| [0031] | 掩膜层 | 108 |
| [0032] | 反应性刻蚀气体 | 110 |
| [0033] | 第一圆柱 | 404 |
| [0034] | 第二圆柱 | 406 |
| [0035] | 第一圆柱空间 | 504 |
| [0036] | 第二圆柱空间 | 506 |

具体实施方式

- [0037] 下面将结合附图及具体实施例对本发明作进一步的详细说明。
- [0038] 请参阅图 1、图 2 及图 3, 本发明第一实施例提供一种用于单分子检测的分子载体 10, 所述分子载体 10 包括一基底 100、形成于基底 100 表面的多个三维纳米结构 102 以及设置于所述三维纳米结构 102 表面及相邻三维纳米结构 102 之间的基底 100 表面的金属层 101。
- [0039] 所述基底 100 可以为绝缘基底或半导体基底。具体地, 所述基底 100 的材料可以

为硅、二氧化硅、氮化硅、石英、玻璃、氮化镓、砷化镓、蓝宝石、氧化铝或氧化镁等。所述基底 100 的形状不限,只需具有两个相对设置的平面即可,本实施例中,所述基底 100 的形状为一平板状。所述基底 100 的大小、厚度不限,可以根据实际单分子检测的需要选择。本实施例中,所述基底 100 的材料为二氧化硅。

[0040] 所述三维纳米结构 102 设置于所述基底 100 的一表面。该三维纳米结构 102 与基底 100 为一体成型结构。所述三维纳米结构 102 的结构类型不限,可以为凸起结构或凹陷结构。所述凸起结构为从所述基底 100 的表面向外延伸出的突起的实体,所述凹陷结构为从所述基底 100 的表面向内凹入形成凹进的空间。所述三维纳米结构 102 的结构类型可以根据实际需求及实验条件控制。如图 3 所示,本实施例中,所述三维纳米结构 102 为一半球状的凸起结构,所述半球状三维纳米结构 102 的直径为 30 纳米~1000 纳米,高度为 50 纳米~1000 纳米。优选地,所述半球状凸起结构的底面直径为 50 纳米~200 纳米,高度为 100 纳米~500 纳米。所述相邻的每两个半球状凸起结构之间的距离相等,可为 0 纳米~50 纳米。所述两个半球状凸起结构之间的距离是指所述半球状凸起结构的底面之间的距离,所述半球状凸起结构之间的距离为零纳米是指所述两个半球状凸起结构相切,其底面紧密相连,中间没有间隔。本实施例中,所述半球状三维纳米结构 102 之间的距离为 10 纳米。

[0041] 所述多个三维纳米结构 102 在基底 100 一表面以阵列形式设置。所述阵列形式设置指所述多个三维纳米结构 102 可以按照等间距行列式排布、同心圆环排布或六角形密堆排布等方式排列。而且,所述多个三维纳米结构 102 以阵列形式排布形成一个或多个相互间隔的单一图案。所述单一图案可以为三角形、平行四边形、体形、菱形、方形、矩形或圆形等。如图 4 所示,所述三维纳米结构 102 以阵列形式形成四个不同的图案。

[0042] 所述金属层 101 包覆于所述三维纳米结构 102 的表面以及相邻的三维纳米结构 102 之间基底 100 的表面。具体的,所述金属层 101 为金属材料形成的一连续的层状结构,可以为单层层状结构或多层层状结构。所述金属层 101 基本均匀沉积于所述多个三维纳米结构 102 表面以及相邻的三维纳米结构 102 之间的基底 100 的表面。所述相邻的三维纳米结构 102 之间形成一间隙(Gap),此处金属层 101 的表面存在表面等离子体共振,从而产生拉曼散射增强。所述金属层 101 可通过电子束蒸发、离子束溅镀等方法沉积在所述三维纳米结构 102 的表面以及相邻的三维纳米结构 102 之间的基底 100 的表面。所述金属层 101 的厚度为 2 纳米~200 纳米,优选的,所述金属层 101 的厚度均一。所述金属层 101 的材料不限,可为金、银、铜、铁或铝等金属。可以理解,本实施例中所述金属层 101 的材料并不限于以上几种,任何常温下为固态的金属材料都可以。本实施例中所述金属层 101 优选为厚度为 20 纳米的银。

[0043] 由于所述基底 100 具有多个三维纳米结构 102,主要有以下几个优点:第一,由于分子载体 10 中金属层 102 直接形成在基底 100 的表面,无须额外的粘结层或其它结构,因此,金属层可以很容易通过腐蚀等方式去除,然后根据单分子检测的需要而沉积不同材料的金属层,所述基底 100 可以重复使用,而所述金属层 101 可以根据实际检测单分子的需要而自由进行更换,不会对基底 100 表面的三维纳米结构 102 产生影响,即为一“自由平台”;其次,所述金属层 101 直接包覆于所述三维纳米结构 102 的表面,所述三维纳米结构 102 具有较大的表面积,使所述金属层 101 中的纳米金属颗粒可以不需要粘接层,就能牢固的附着在所述三维纳米结构 102 的表面以及相邻的三维纳米结构 102 之间基底 100 的表面,当

所述分子载体 10 用于检测单分子时,可以减少粘接层等其他化学因素在检测过程中产生的干扰,避免粘接层导电性介质对表面等离子体共振分布产生影响;再次,由于金属层 101 设置在三维纳米结构 102 的表面,在外界入射光电磁场的激发下,金属表面等离子体发生共振吸收,而三维纳米结构起到表面增强拉曼散射的作用,可提高 SERS 增强因子,增强拉曼散射。所述 SERS 增强因子与三维纳米结构 102 之间的间距相关,所述三维纳米结构 102 之间的距离越小,SERS 增强因子越大。所述 SERS 增强因子理论值可为 $10^5 \sim 10^{15}$,从而可以得到更好的单分子检测结果。本实施例中所述分子载体 10 的 SERS 增强因子大于 10^{10} 。

[0044] 请一并参阅图 5 及图 6,本发明进一步提供一种应用所述分子载体 10 的单分子检测方法,所述检测方法主要包括以下步骤:

[0045] 步骤(S 11),提供一分子载体,所述分子载体包括一基底,所述基底一表面设置有多个三维纳米结构,在所述三维纳米结构表面及相邻三维纳米结构之间的基底的表面形成有金属层,所述金属层附着于所述基底的表面;

[0046] 步骤(S12),在所述金属层远离基底的表面组装待测物分子;

[0047] 步骤(S13),利用检测器对组装在基底上的所述待测物分子进行检测。

[0048] 具体的,步骤(S11),提供一分子载体 10。

[0049] 所述分子载体 10 的制备方法主要包括:步骤(S111),提供一母板 1001;步骤(S112),在所述母板 1001 表面形成三维纳米结构 102,形成所述基底 100;步骤(S113),在所述基底 100 的表面形成一金属层 101,形成所述分子载体 10。

[0050] 在步骤(S111)中,该母板 1001 可以为绝缘材料或半导体材料。本实施例中所述母板 1001 的材料为二氧化硅。所述母板 1001 的厚度为 200 微米~300 微米。所述母板 1001 的大小、厚度和形状不限,可以根据实际需要选择。

[0051] 进一步,可以对所述母板 1001 的一表面进行亲水处理。

[0052] 首先,清洗所述母板 1001 的表面,清洗时采用超净间标准工艺清洗。然后,在温度为 $30^\circ\text{C} \sim 100^\circ\text{C}$,体积比为 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O} = x:y:z$ 的溶液中温浴 30 分钟~60 分钟,对所述母板 1001 的表面进行亲水处理,之后用去离子水冲洗 2 次~3 次。其中,x 的取值为 $0.2 \sim 2$,y 的取值为 $0.2 \sim 2$,z 的取值为 $1 \sim 20$ 。最后,用氮气对所述母板 1001 表面进行吹干。

[0053] 进一步,还可以对所述母板 1001 的表面进行二次亲水处理,其具体包括以下步骤:将亲水处理过后的所述母板 1001 在 2wt%~5wt% 的十二烷基硫酸钠溶液(SDS)中浸泡 2 小时~24 小时。可以理解,在 SDS 中浸泡过后的所述母板 1001 的表面有利于后续纳米微球的铺展并形成有序排列的大面积纳米微球。

[0054] 在步骤(S112)中,在所述母板 1001 表面形成三维纳米结构 102,形成所述基底 100 的方法具体包括以下步骤:

[0055] 步骤(S1121),在所述母板 1001 的任一表面形成掩膜层 108。

[0056] 母板 1001 所述掩膜层 108 为一单层纳米微球形成的层状结构。可以理解,采用单层纳米微球作为掩膜层 108,可以在纳米微球对应的位置制备得到凸起结构。

[0057] 所述在母板 1001 的表面形成一单层纳米微球作为掩膜层 108 具体包括以下步骤:

[0058] 首先,制备一含有纳米微球的混合液。

[0059] 本实施例中,在直径为 15 厘米的表面皿中依次加入 150 毫升的纯水、3 微升~5 微

升的 0.01wt%~10wt% 的纳米微球、以及当量的 0.1wt%~3wt% 的 SDS 后形成混合物,将上述混合物静置分钟 30~60 分钟。待纳米微球充分分散于混合物中后,再加入 1 微升~3 微升的 4wt% 的 SDS,以调节纳米微球的表面张力,有利于形成单层纳米微球阵列。其中,纳米微球的直径可为 60 纳米~500 纳米,具体地,纳米微球的直径可为 100 纳米、200 纳米、300 纳米或 400 纳米,上述直径偏差为 3 纳米~5 纳米。优选的纳米微球的直径为 200 纳米或 400 纳米。所述纳米微球可以为聚合物纳米微球或硅纳米微球等。所述聚合物纳米微球的材料可以为聚苯乙烯 (PS) 或聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA)。可以理解,所述表面皿中的混合物可依实际需求而按比例调制。

[0060] 其次,在所述母板 1001 的一表面形成一单层纳米微球混合液,并使所述单层纳米微球以阵列形式设置于所述母板 1001 的表面。

[0061] 本实施例中采用提拉法或旋涂法在所述母板 1001 的表面形成一单层纳米微球溶液。通过控制提拉法的提速或旋涂法的转速,所述单层纳米微球可以呈六角密堆排布、简单立方排布或同心圆环排布等。

[0062] 所述采用提拉法在母板 1001 的表面形成单层纳米微球溶液的方法包括以下步骤:首先,将经亲水处理后的所述母板 1001 缓慢的倾斜的沿着表面皿的侧壁滑入表面皿的混合物中,所述母板 1001 的倾斜角度为 9° 至 15°。然后,将所述母板 1001 由表面皿的混合物中缓慢的提起。其中,上述滑下和提起速度相当,均为 5 毫米/小时~10 毫米/小时。该过程中,所述纳米微球的溶液中的纳米微球通过自组装形成呈六角密堆排布的单层纳米微球。

[0063] 本实施例中,采用旋涂法在母板 1001 的表面形成单层纳米微球溶液,其包括以下步骤:首先,将亲水处理过后的母板 1001 在 2wt% 的十二烷基硫酸钠溶液中浸泡 2 小时~24 小时,取出后在所述母板 1001 的表面上涂覆 3 微升~5 微升的聚苯乙烯。其次,以旋涂转速为 400 转/分钟~500 转/分钟的速度旋涂 5 秒~30 秒。然后,以旋涂转速为 800 转/分钟~1000 转/分钟的速度旋涂 30 秒~2 分钟后。再次,将旋涂转速提高至 1400 转/分钟~1500 转/分钟,旋涂 10 秒~20 秒,除去边缘多余的微球。最后,将分布有纳米微球的母板 1001 的表面进行干燥后即可在所述母板 1001 的表面上形成呈六角密堆排布的单层纳米微球,进而形成所述掩膜层 108。此外,在形成所述掩膜层 108 之后还可以进一步对母板 1001 的表面进行烘烤。所述烘烤的温度为 50°C~100°C,烘烤的时间为 1 分钟~5 分钟。

[0064] 本实施例中,所述纳米微球的直径可为 400 纳米。请参阅图 7,所述单层纳米微球中的纳米微球以能量最低的排布方式排布,即六角密堆排布。所述单层纳米微球排布最密集,占空比最大。所述单层纳米微球中任意三个相邻的纳米微球呈一等边三角形。可以理解,通过控制纳米微球溶液的表面张力,可以使单层纳米微球中的纳米微球呈简单立方排布。

[0065] 步骤(S1122),采用反应性刻蚀气体 110 对所述母板 1001 的表面进行刻蚀,在所述母板 1001 的表面形成多个三维纳米结构 102。

[0066] 所述采用反应性刻蚀气体 110 对母板 1001 的表面进行刻蚀的步骤在一微波等离子体系统中进行。所述微波等离子体系统为反应离子刻蚀(Reaction-Ion-Etching, RIE)模式。所述反应性刻蚀气体 110 基本不与所述纳米微球发生反应,但所述反应性刻蚀气体 110 对母板 1001 的表面进行刻蚀,形成多个三维纳米结构 102,得到所述基底 100。

[0067] 本实施例中,将形成有单层纳米微球的母板 1001 的表面放置于微波等离子体系统中,且该微波等离子体系统的一感应功率源产生反应性刻蚀气体 110。该反应性刻蚀气体 110 以较低的离子能量从产生区域扩散并漂移至所述母板 1001 的表面。所述反应性刻蚀气体对所述单层纳米微球之间的母板 1001 的表面进行刻蚀,而不与所述纳米微球进行反应,从而形成所述三维纳米结构 102。可以理解,通过控制反应性刻蚀气体 110 的刻蚀时间可以控制三维纳米结构 102 间的间距以及三维纳米结构 102 的高度。

[0068] 本实施例中,所述微波等离子体系统的工作气体包括六氟化硫(SF_6)和氩气(Ar)或六氟化硫(SF_6)和氧气(O_2)。其中,六氟化硫的通入速率为 10 标况毫升每分~60 标况毫升每分,氩气或氧气的通入速率为 4 标况毫升每分~20 标况毫升每分。所述工作气体形成的气压为 2 帕~10 帕。所述等离子体系统的功率为 40 瓦~70 瓦。所述采用反应性刻蚀气体 110 刻蚀时间为 1 分钟~2.5 分钟。优选地,所述微波等离子体系统的功率与微波等离子体系统的工作气体的气压的数值比小于 20 : 1。

[0069] 进一步,所述反应性刻蚀气体 110 中还可以加入三氟甲烷(CHF_3)、四氟甲烷(CF_4)或其混合气体等其它气体以调节刻蚀速率。所述三氟甲烷(CHF_3)、四氟甲烷(CF_4)或其混合气体的流量可以为 20 标况毫升每分~40 标况毫升每分的。

[0070] 可以理解,通过控制所述刻蚀的条件以及刻蚀气氛,可以得到不同的凸起的三维纳米结构 102,如半椭球状凸起结构等。如果所述掩膜层 108 为一具有多个开孔的连续膜,则可以得到凹陷的三维纳米结构 102,如半球状凹陷结构、半椭球状凹陷结构、倒金字塔状凹陷结构等。

[0071] 步骤(S1123),去除所述掩膜层 108,得到所述基底 100。

[0072] 采用四氢呋喃(THF)、丙酮、丁酮、环己烷、正己烷、甲醇或无水乙醇等无毒或低毒环保溶剂作为剥离剂,溶解纳米微球,可以去除纳米微球残余,保留形成在母板 1001 表面的三维纳米结构 102。

[0073] 本实施例中,通过在丁酮中超声清洗去除聚苯乙烯纳米微球。

[0074] 步骤 S113,在所述三维纳米结构 102 表面及相邻三维纳米结构 102 之间的基底 100 的表面形成一金属层 101,形成所述分子载体 10。

[0075] 所述金属层 101 可采用电子束蒸发、离子束溅射等方式,在所述基底 100 表面垂直蒸镀金属薄膜。由于所述基底 100 表面形成有三维纳米结构 102,从而,在三维纳米结构 102 及相邻三维纳米结构 102 之间的间隙中的基底 100 表面形成金属薄膜,进而形成所述分子载体 10。所述金属层 101 的厚度为 2 纳米~200 纳米,所述金属层 101 的材料不限,可为金、银、铜、铁或铝等金属。本实施例中所述金属层 101 厚度优选为 20 纳米。

[0076] 步骤 S 12,在所述金属层 101 远离基底的表面组装待测物分子。

[0077] 所述组装待测物分子主要包括一下步骤:

[0078] 首先,提供一待测物分子的溶液,所述待测物溶液的分子浓度可为 10^{-7}mmol/L ~ 10^{-12}mmol/L 可根据实际需要制备,本实施例中所述分子浓度为 10^{-10}mmol/L ;

[0079] 其次,将所述形成有金属层 101 的分子载体 10 浸入待测物溶液中,浸泡时间可为 2min ~ 60min,优选的为 10min,使所述待测物分子均匀的分散于所述金属层 101 的表面;

[0080] 最后,将所述分子载体 10 取出,用水或乙醇对所述分子载体进行冲洗 5 ~ 15 次,然后利用干燥装置如吹风机等将所述分子载体 10 吹干,使残留的水或乙醇蒸发,将所述待

测物分子组装在金属层 101 的表面。

[0081] 步骤 S13, 利用检测器对所述待测物分子进行检测。

[0082] 将所述组装有待测物分子的分子载体 10 置于检测装置中, 利用检测器如拉曼光谱仪对所述待测物分子进行检测。本实施例中, 所述拉曼光谱仪的检测参数为 He-Ne : 激发波长 633 纳米, 激发时间 10sec, 设备功率为 9.0mW, 工作功率为 $9.0\text{mW} \times 0.05 \times 1$ 。

[0083] 本发明提供的单分子检测方法, 具有以下优点: 首先, 现有技术的单分子检测方法为在基底上沉积粘接层, 然后在粘接层上形成金属纳米结构作为分子载体, 因此所述粘接层对单分子检测产生一定的影响, 而本发明所述三维纳米结构通过反应离子刻蚀的方法直接形成于基底之上, 金属层直接沉积于基底的表面, 因此可以防止粘接层等化学因素对检测结果产生影响; 其次, 本发明所述单分子检测方法中的分子载体具有三维纳米结构, 分子载体中的金属层直接沉积于基底表面, 而现有技术中金属纳米结构必须通过粘接层固定于基底表面, 从而使得单分子检测的结果受到影响; 再次, 所述三维纳米结构的形状、大小、间距等可以通过控制制备条件等方便的进行控制, 即可操作性高; 第四, 通过在三维纳米结构表面设置金属层, 可以提高单分子检测的分辨率, 尤其是对于染料、生物分子、荧光材料以及六代联苯等不能用常规检测方法检测的物质, 也均可以利用本方法进行检测。

[0084] 请一并参阅图 8 至图 9, 本发明第二实施例提供一种分子载体 20, 所述分子载体 20 包括一基底 200、形成于基底 200 表面的多个三维纳米结构 202 以及设置于所述三维纳米结构 202 表面及相邻三维纳米结构 202 之间的基底 200 表面的金属层 201。所述分子载体 20 的结构与第一实施例中所述分子载体 20 的结构基本相同, 其不同在于, 所述分子载体 20 中的三维纳米结构 202 为凸起的半椭球状结构。

[0085] 所述半椭球状三维纳米结构 202 的底面为圆形, 其直径为 50 纳米~1000 纳米, 高度为 50 纳米~1000 纳米。优选地, 所述半椭球状凸起结构的底面直径为 50 纳米~200 纳米, 高度为 100 纳米~500 纳米。所述相邻的每两个半椭球状凸起结构之间的距离相等, 所述两个半椭球状凸起结构之间的距离是指所述半椭球状凸起结构的底面之间的距离, 可为 0 纳米~50 纳米。本实施例中, 所述半球状三维纳米结构 202 之间的距离为 40 纳米。

[0086] 所述金属层 201 沉积于所述三维纳米结构 202 的表面以及相邻的三维纳米结构 202 之间基底 200 的表面。具体的, 所述金属层 201 为单层层状结构或多层层状结构。所述金属层 201 基本均匀沉积于所述多个三维纳米结构 202 表面以及相邻的三维纳米结构 202 之间的基底 200 的表面。所述分子载体 20 的 SERS 增强因子理论值可为 $10^5 \sim 10^{15}$, 本实施例中所述分子载体 20 的 SERS 增强因子约为 10^6 。

[0087] 请一并参阅图 10 至图 11, 本发明第三实施例提供一种分子载体 30, 所述分子载体 30 包括一基底 300、形成于基底 300 表面的多个三维纳米结构 302 以及设置于所述三维纳米结构 302 表面及相邻三维纳米结构 302 之间的基底 300 表面的金属层 301。所述分子载体 30 的结构与第一实施例中所述分子载体 30 的结构基本相同, 其不同在于, 所述分子载体 30 中的三维纳米结构 202 为凹陷的倒金字塔结构。

[0088] 所述凹陷的倒金字塔结构是指所述基底 300 的表面向内凹入形成凹进的空间呈倒金字塔形。所述倒金字塔形三维纳米结构 302 的底面的形状不限, 可为三角形、矩形及正方形等其他几何形状。所述三维纳米结构 302 凹入基底 300 表面的高度为 50 纳米~1000 纳米, 所述倒金字塔三维纳米结构 302 的顶端形成的夹角 α 可为 15 度~70 度。本实施例

中,所述三维纳米结构 302 的底面为一正三角形,所述正三角形的边长为 50 纳米~1000 纳米。优选的,所述倒金字塔形三维纳米结构 302 的底面边长为 50 纳米~200 纳米,凹入基底表面的高度为 100 纳米~500 纳米,所述顶端形成的夹角 α 为 30 度。所述相邻的每两个倒金字塔三维纳米结构 302 之间的距离相等,所述每两个倒金字塔三维纳米结构 302 之间的距离是指所述倒金字塔三维纳米结构的底面之间的距离,可为 0 纳米~50 纳米。

[0089] 所述金属层 301 沉积于所述倒金字塔形三维纳米结构 302 的表面以及相邻的三维纳米结构 302 之间基底 300 的表面。具体的,所述金属层 301 为单层层状结构或多层层状结构。所述金属层 301 基本均匀沉积于所述多个三维纳米结构 302 表面以及相邻的三维纳米结构 302 之间的基底 300 的表面。所述分子载体 30 的 SERS 增强因子理论值可为 $10^5 \sim 10^{15}$,本实施例中所述分子载体 30 的 SERS 增强因子约为 10^8 。

[0090] 图 12 为本实施例中所述分子载体的三维纳米结构分别为半球状、倒金字塔状以及半椭球状结构时,用于检测若丹明分子的拉曼光谱。

[0091] 请参阅图 13、图 14 及图 15,本发明第四实施例提供一种用于单分子检测的分子载体 40,所述分子载体 40 包括一基底 400、设置于基底 400 上的多个三维纳米结构 402,以及设置于所述三维纳米结构 402 表面及相邻三维纳米结构 402 之间的基底 400 的金属层 401。所述金属层 401 附着于所述三维纳米结构 402 以及三维纳米结构 402 之间基底 400 的表面。本发明第二实施例所述的分子载体 40 与第一实施例中所述分子载体 10 的结构基本相同,其不同在于,所述分子载体 40 中的三维纳米结构 402 为一阶梯状结构。

[0092] 所述阶梯状结构设置在所述基底 400 表面。所述阶梯状结构为阶梯状凸起结构。所述阶梯状凸起结构为从所述基底 400 表面向外延伸出的阶梯状突起的实体。所述阶梯状凸起结构可以为一多层台状结构,如多层三棱台、多层四棱台、多层六棱台或多层圆柱等。优选地,所述阶梯状凸起结构为多层圆柱结构。所述阶梯状凸起结构的最大尺度为小于等于 1000 纳米,即其长度、宽度和高度均小于等于 1000 纳米。优选地,所述阶梯状凸起结构结构长度、宽度和高度范围为 10 纳米~500 纳米。

[0093] 本实施例中,所述三维纳米结构 402 为一阶梯状凸起的双层圆柱结构。具体地,所述三维纳米结构 402 包括一第一圆柱 404 以及一设置于该第一圆柱 404 表面的第二圆柱 406。所述第一圆柱 404 靠近基底 400 设置。所述第一圆柱 404 的侧面垂直于基底 400 的表面。所述第二圆柱 406 的侧面垂直于第一圆柱 404 的上表面,所述上表面是指所述第二圆柱 406 远离基底 400 的表面。所述第一圆柱 404 与第二圆柱 406 形成一阶梯状凸起结构,所述第二圆柱 406 设置在所述第一圆柱 404 的范围内。优选地,所述第一圆柱 404 与第二圆柱 406 同轴设置。所述第一圆柱 404 与第二圆柱 406 为一体结构,即所述第二圆柱 406 为第一圆柱 404 的顶面延伸出的圆柱状结构。

[0094] 所述第一圆柱 404 的底面直径大于第二圆柱 406 的底面直径。所述第一圆柱 404 的底面直径为 30 纳米~1000 纳米,高度为 50 纳米~1000 纳米。优选地,所述第一圆柱 404 的底面直径为 50 纳米~200 纳米,高度为 100 纳米~500 纳米。所述第二圆柱 406 的底面直径为 10 纳米~500 纳米,高度为 20 纳米~500 纳米。优选地,所述第二圆柱 406 的底面直径为 20 纳米~200 纳米,高度为 100 纳米~300 纳米。所述第一圆柱 404 以及第二圆柱 406 的尺寸可以根据实际需要制备。本实施例中,所述第一圆柱 404 与第二圆柱 406 同轴设置。所述第一圆柱 404 的底面直径为 380 纳米,高度为 105 纳米。所述第二圆柱 406 的底面直

径为 280 纳米,高度为 55 纳米。所述相邻的第一圆柱 404 之间的距离为可为 0 纳米~50 纳米;所述相邻两第二圆柱 406 之间的距离为 10 纳米~100 纳米。

[0095] 所述双层圆柱的三维纳米结构 402 的制备方法与第一实施例中所述三维纳米结构 102 的制备方法基本相同,其不同在于,采用反应性刻蚀气体对母板的表面进行刻蚀的同时,对所述掩膜层进行腐蚀。通过控制刻蚀时间与刻蚀方向,一方面,所述反应性刻蚀气体对所述单层纳米微球之间的所述母板的表面进行刻蚀,从而形成第一圆柱 404;另一方面,所述反应性刻蚀气体同时对所述母板的表面上的单层纳米微球进行腐蚀,形成更小直径的纳米微球,即单层纳米微球中的每一纳米微球被刻蚀削减为比所述第一圆柱 404 直径更小的纳米微球,使所述反应性刻蚀气体可以对所述第一圆柱 404 进行进一步刻蚀,从而形成所述第二圆柱 406,进而形成所述多个阶梯状的三维纳米结构 402。

[0096] 所述金属层 401 沉积于所述三维纳米结构 402 的表面以及相邻的三维纳米结构 402 之间基底 400 的表面。具体的,所述金属层 401 为由多个分散的纳米金属颗粒铺展形成的单层层状结构或多层层状结构。所述纳米金属颗粒分散于所述多个三维纳米结构 402 表面以及相邻的三维纳米结构 402 之间的基底 400 的表面。

[0097] 相对于第一实施例,本发明第二实施例提供的分子载体 40,由于所述三维纳米结构 402 为一凸起的双层圆柱结构,相邻的双层圆柱结构之间形成两个距离不同的间隙(Gap),即相邻的第一圆柱 404 之间形成一间隙,相邻的第二圆柱 406 之间形成另一个间隙。因此,当所述分子载体用于单分子检测时,在检测器发出的激光的激发下,相邻的第一圆柱 404 之间间隙处的金属层 401 产生表面等离子体激元共振,同时第二圆柱 406 之间间隙处的金属层 401 产生等离子体激元共振,增强了金属层表面的拉曼散射,因此可以进一步的提高 SERS 增强因子,增强拉曼光谱,提高所述单分子检测的分辨率,使得单分子检测结果更加的准确。

[0098] 请参阅图 16 及图 17,本发明第五实施例提供一种用于单分子检测的分子载体 50,所述分子载体 50 包括一基底 500、设置于基底 500 上的多个三维纳米结构 502 以及设置于所述三维纳米结构 502 表面及相邻三维纳米结构 502 之间的基底 500 的金属层 501。本发明第五实施例所述的分子载体 50 与第四实施例中所述分子载体 50 的结构基本相同,其不同在于,所述分子载体 50 中的三维纳米结构 502 为一阶梯状凹陷结构。

[0099] 所述阶梯状凹陷结构为从基底 500 表面向基底 500 内凹陷形成的阶梯状凹陷的空间。所述阶梯状凹陷结构可以为一多层台状结构,如多层三棱台、多层四棱台、多层六棱台或多层圆柱等。优选地,所述阶梯状凹陷结构为多层圆柱结构。所谓阶梯状凹陷结构为多层圆柱结构是指所述阶梯状凹陷的空间为多层圆柱形状。所述阶梯状凹陷结构的最大尺度为小于等于 1000 纳米,即其长度、宽度和高度均小于等于 1000 纳米。优选地,所述阶梯状凹陷结构结构长度、宽度和高度范围为 10 纳米~500 纳米。

[0100] 本实施例中,所述三维纳米结构 502 的形状为一双层圆柱结构,所述圆柱结构为一圆柱状结构空间,具体包括一第一圆柱空间 504,以及一与所述第一圆柱空间 504 连通的第二圆柱空间 506。所述第一圆柱空间 504 与第二圆柱空间 506 同轴设置。所述第一圆柱空间 504 靠近基底 500 的表面设置。所述第一圆柱空间 504 的直径大于第二圆柱空间 506 的直径。所述第一圆柱空间 504 的直径为 30 纳米~1000 纳米,高度为 50 纳米~1000 纳米。所述第二圆柱空间 506 的直径为 10 纳米~500 纳米,高度为 20 纳米~500 纳米。所述第二

圆柱空间 506 以及第二圆柱空间 506 的尺寸可以根据实际需要制备。

[0101] 所述多个三维纳米结构 502 在所述基底 500 上的表面以阵列形式设置。所述以阵列形式设置指所述多个三维纳米结构 502 可以按照简单立方排布、同心圆环排布或六角形密堆排布等方式排列,而且所述以阵列形式设置的多个三维纳米结构 502 可以形成一个单一图案或多个图案。所述相邻的两个三维纳米结构 502 之间的距离相等。具体的,所述相邻的第一圆柱空间 504 之间的距离为可为 1 纳米~1000 纳米,优选为 10 纳米~50 纳米;所述相邻两第二圆柱空间 506 之间的距离为 15 纳米~900 纳米,优选的为 20 纳米~100 纳米。所述多个三维纳米结构 502 在所述基底 500 上的表面设置的形式以及相邻的两个三维纳米结构 502 之间的距离可以根据实际需要制备。本实施例中,所述多个三维纳米结构 502 呈六角形密堆排布形成一单一正方形图案。

[0102] 所述双层圆柱状空间的三维纳米结构 502 的制备方法第四实施例中所述三维纳米结构 402 的制备方法基本相同,其不同在于,所述掩膜层为一具有多个开孔的连续膜。所述反应性刻蚀气体对开孔中的基板的表面进行刻蚀的同时,对所述掩膜层进行腐蚀。一方面,所述反应性刻蚀气体对所述开孔的所述基板的表面进行刻蚀,从而形成第一圆柱空间 504;另一方面,所述反应性刻蚀气体同时对所述基板的表面上的掩膜层进行腐蚀,使所述开孔变大,使所述反应性刻蚀气体对所述基板刻蚀范围更大,从而形成所述第一圆柱空间 504,最后在开孔对应的位置制备得到阶梯状凹陷结构。可以理解,通过控制反应性刻蚀气体的刻蚀时间可以控制三维纳米结构 502 间的间距,也可以控制三维纳米结构 502 中所述第一圆柱空间 504 以及第二圆柱空间 506 的尺寸。所述具有多个开孔的连续膜可以通过纳米压印、模板沉积等方式制备。

[0103] 本发明第五实施例提供的分子载体 50 与第四实施例所提供的分子载体 40 所起的作用基本相同。由于所述三维纳米结构 502 为一双层圆柱状空间,因此所述双层圆柱状空间具有两个不同的间隙,即第一圆柱空间 504 形成一间隙,第二圆柱空间 506 形成另一个间隙。因此,当所述分子载体用于单分子检测时,在外界入射光电磁场的激发下,第一圆柱空间 504 中的金属层产生表面等离子体激元共振,同时第二圆柱空间 506 的金属层产生等离子体激元共振,增强拉曼散射,因此可以进一步的提高 SERS 增强因子,提高所述单分子检测的分辨率,使得单分子检测结果更加的准确。

[0104] 另外,本领域技术人员还可以在本发明精神内做其它变化,这些依据本发明精神所做的变化,都应包含在本发明所要求保护的范围内。

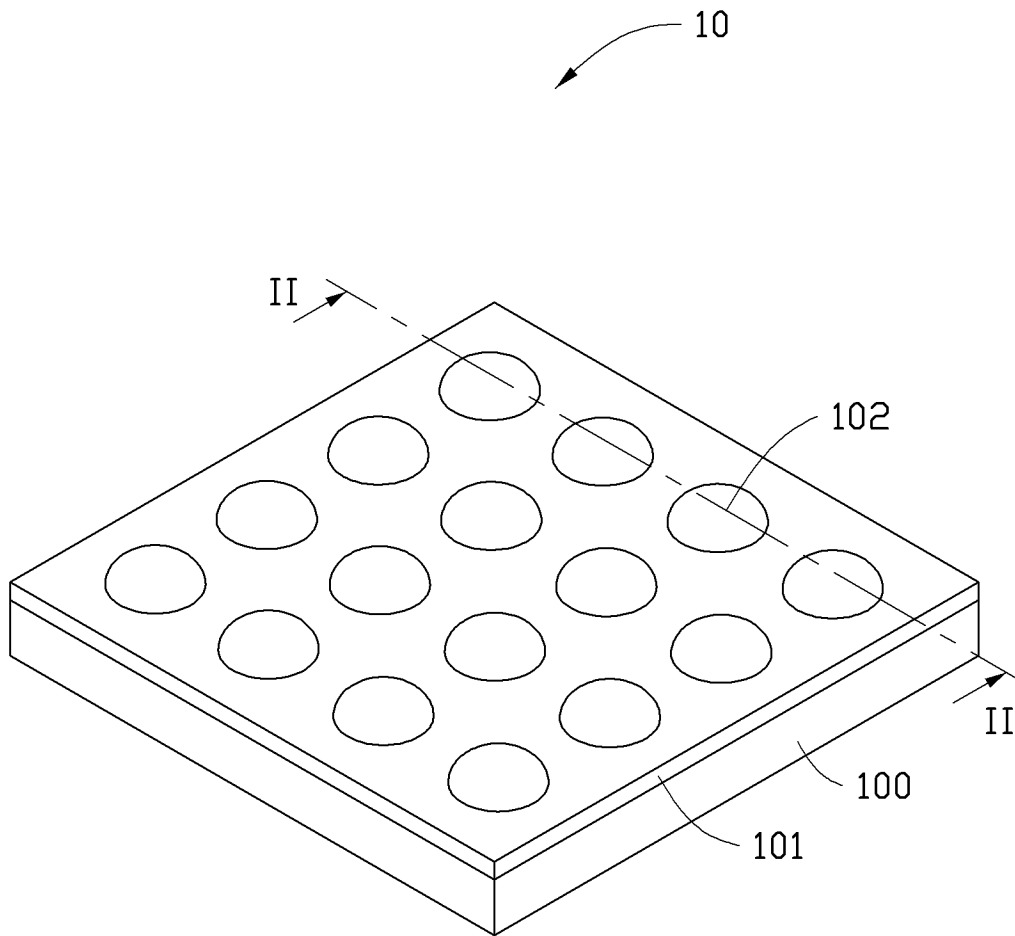


图 1

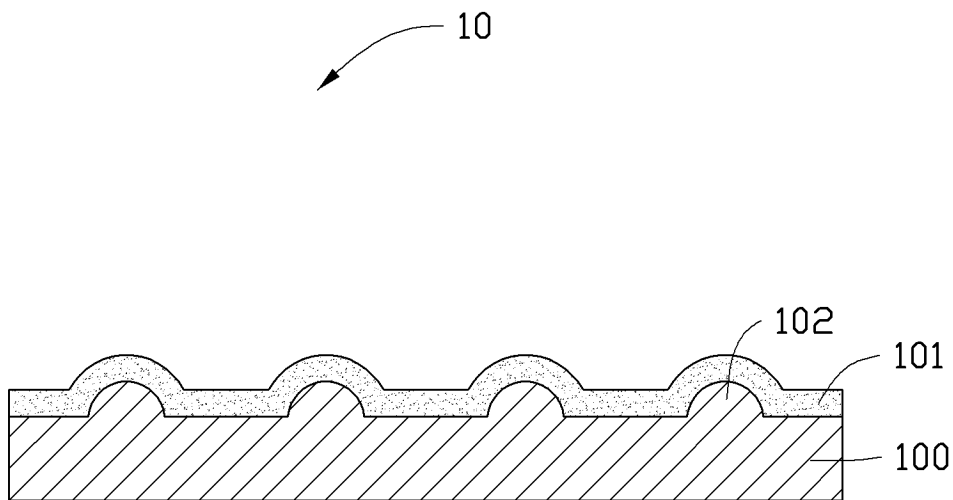


图 2

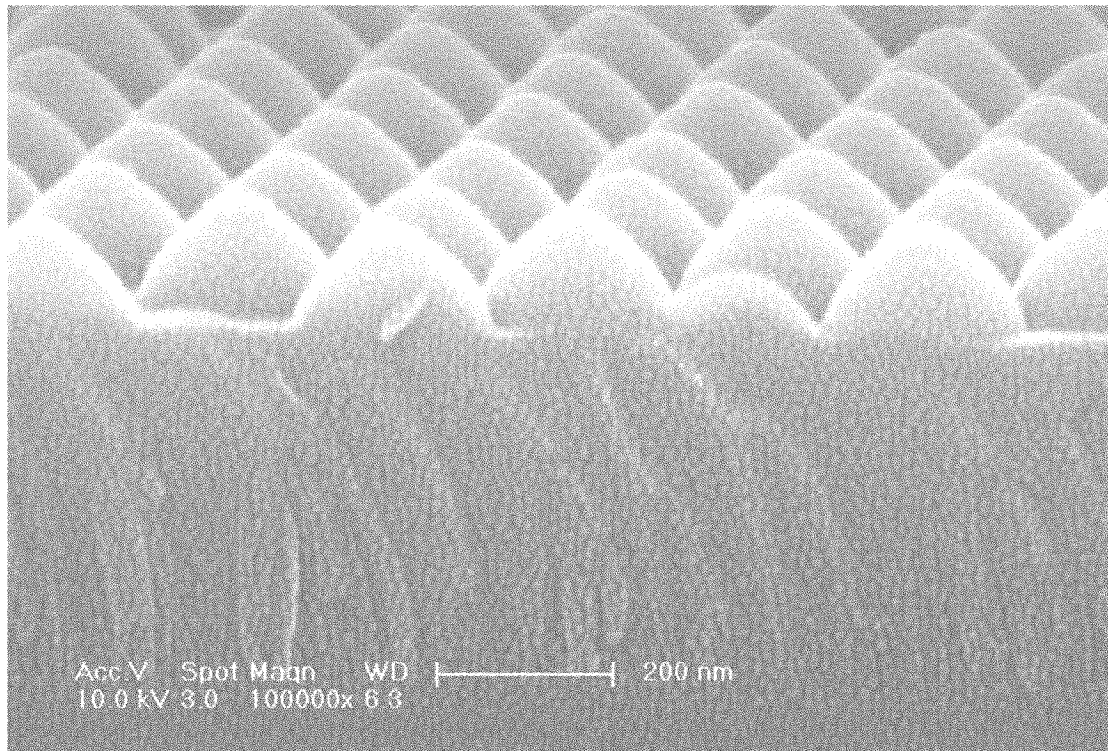


图 3

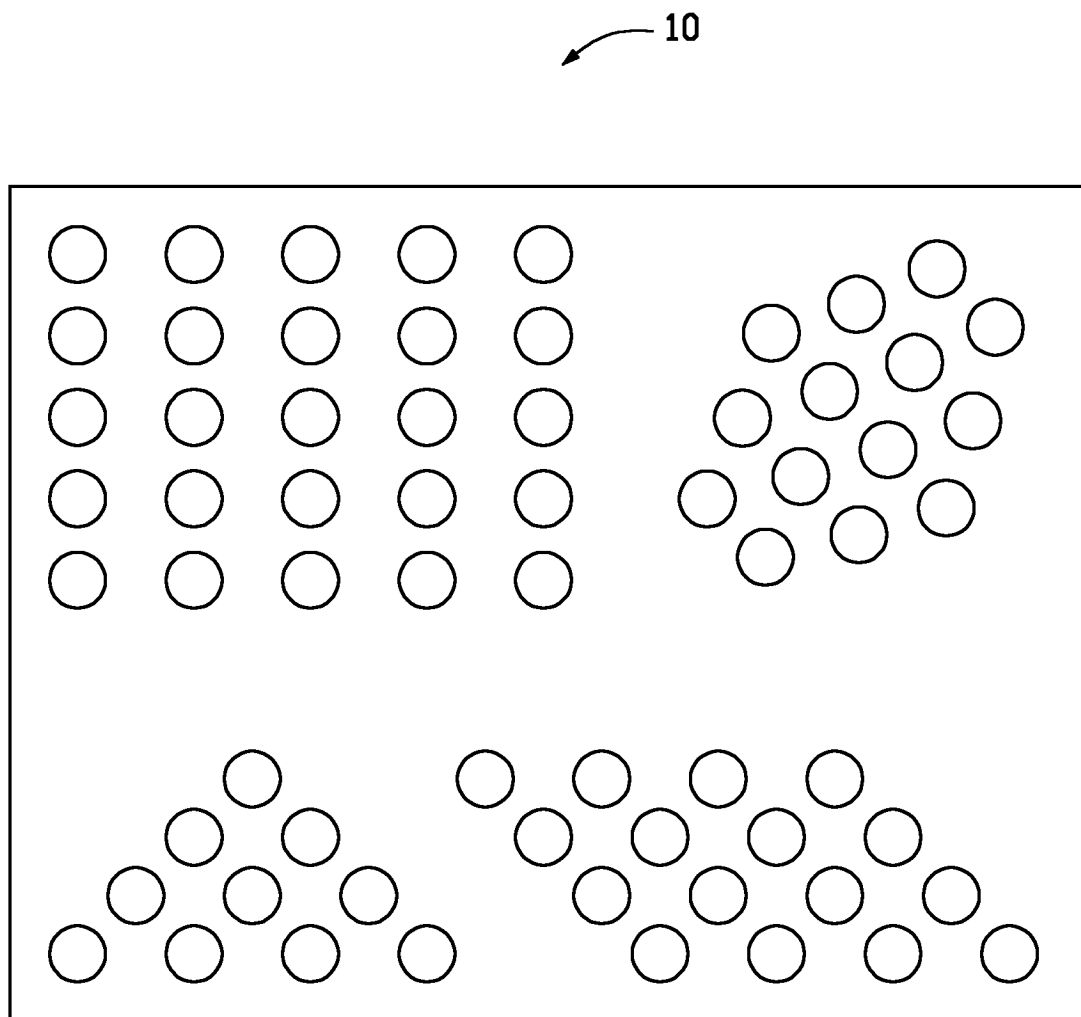


图 4

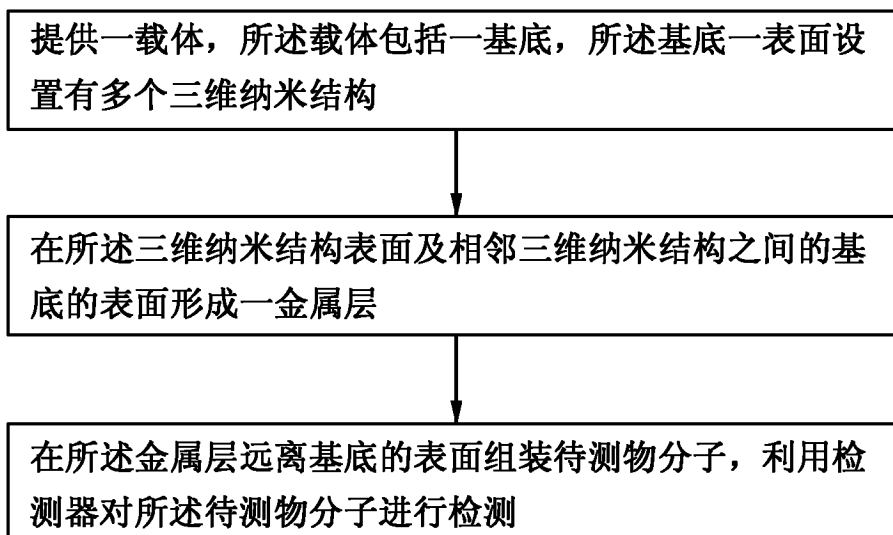


图 5

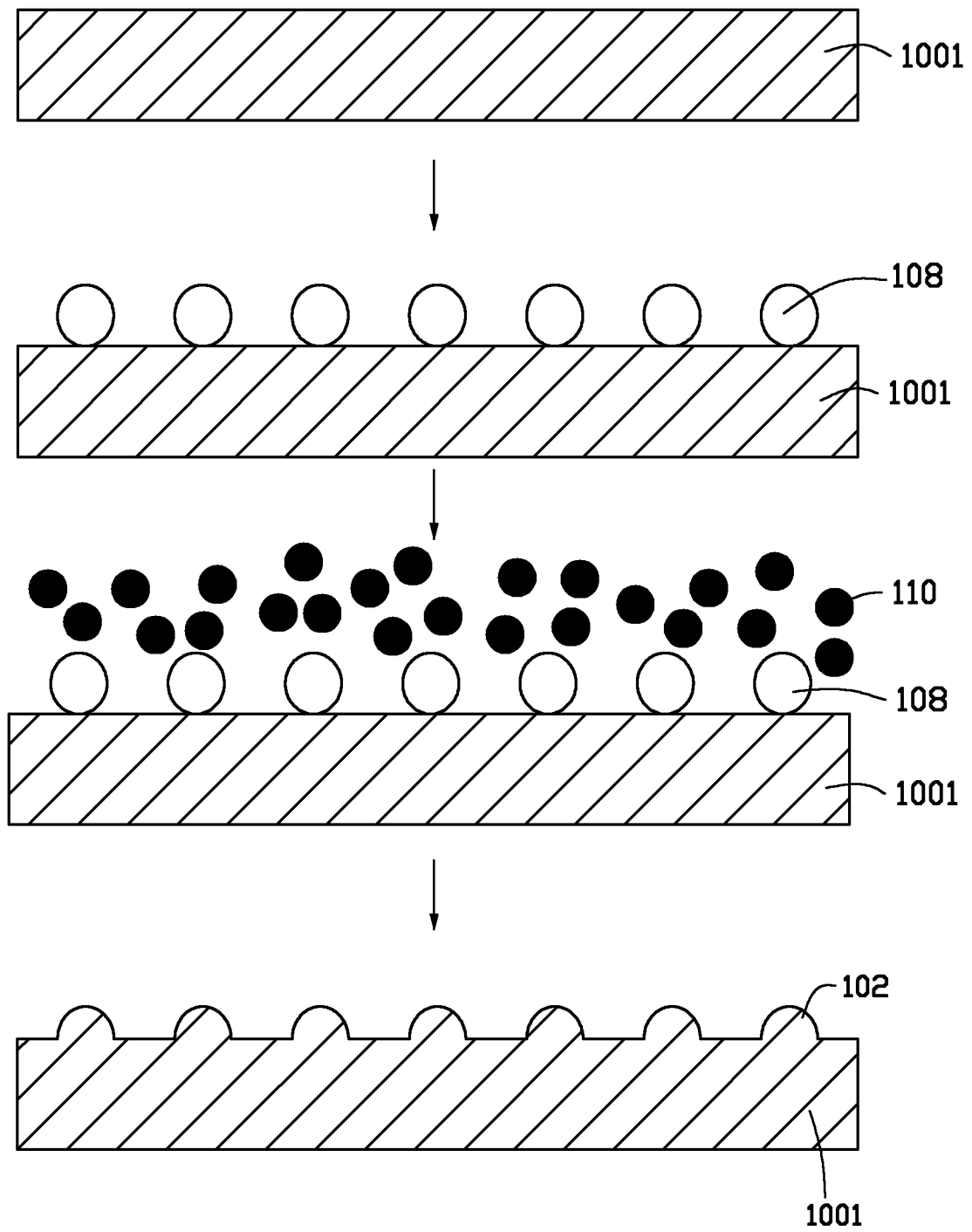


图 6

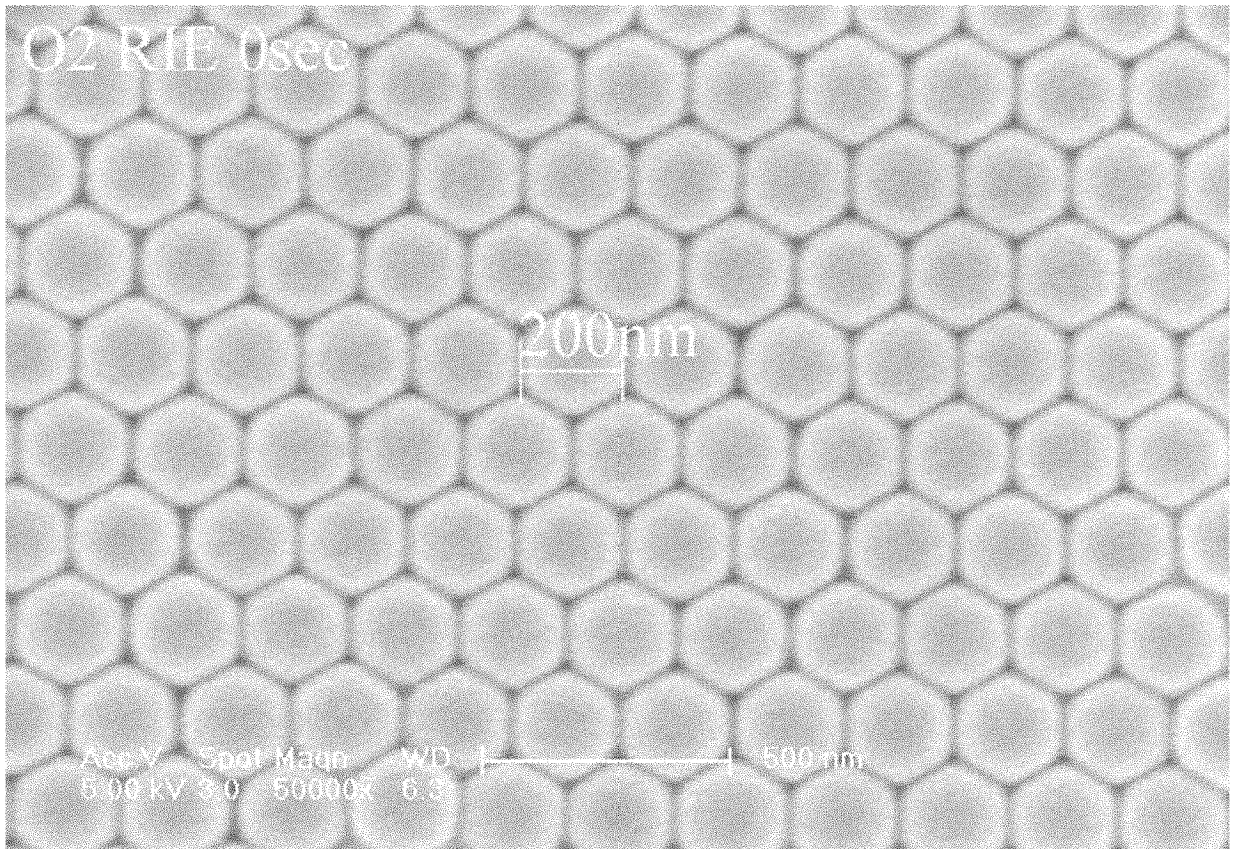


图 7

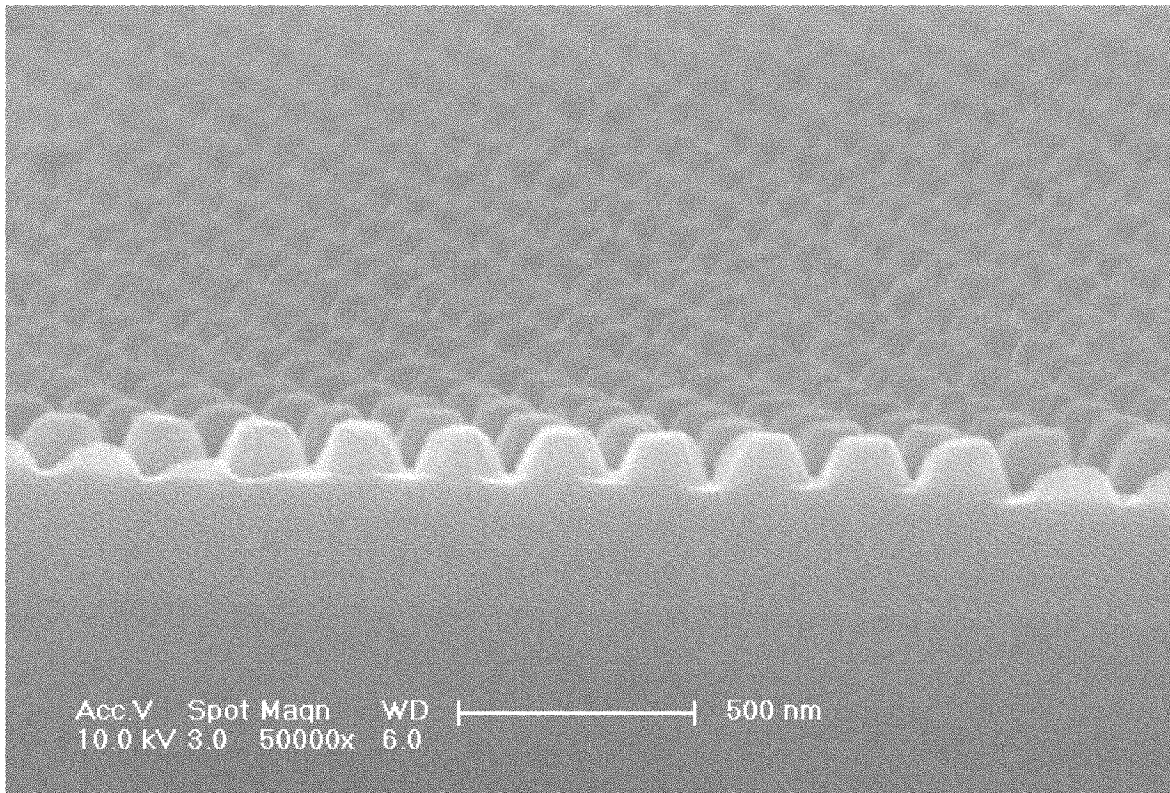


图 8

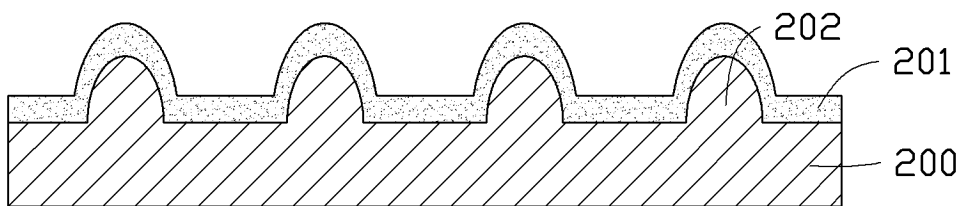


图 9

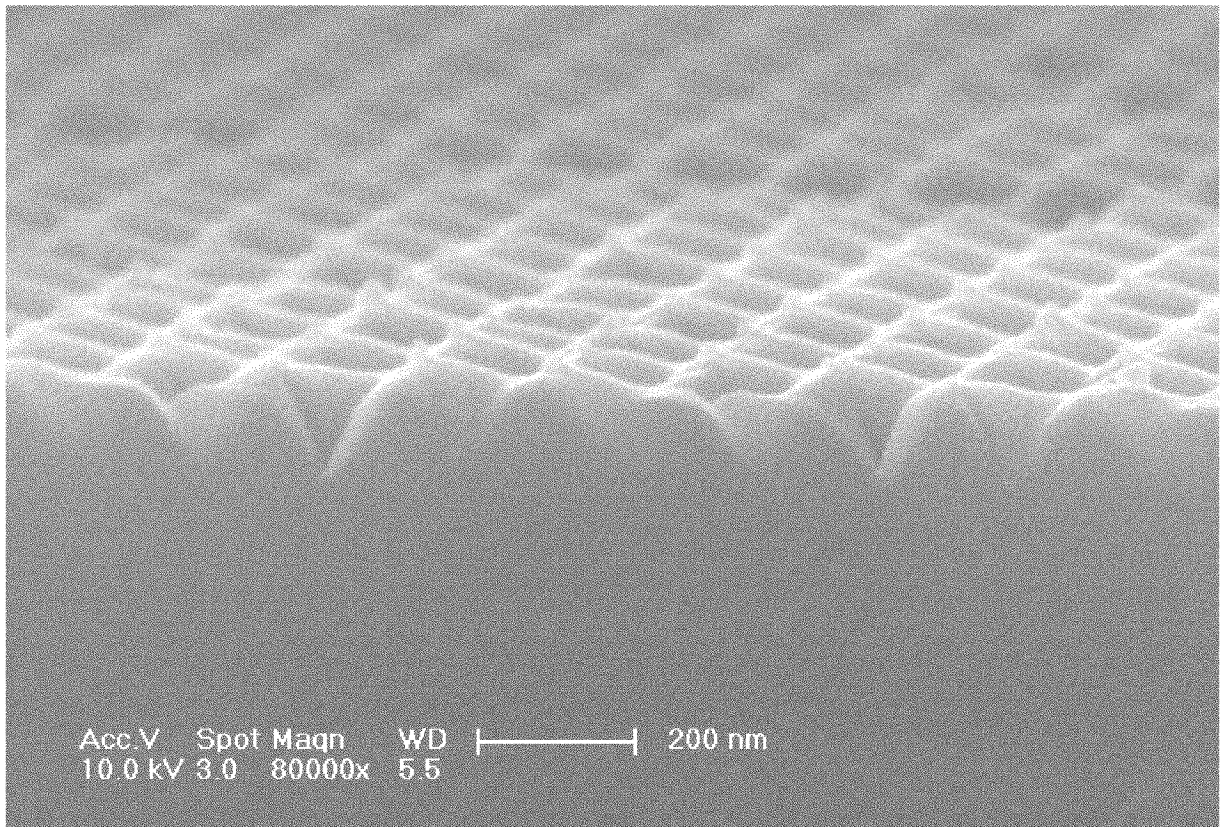


图 10

30

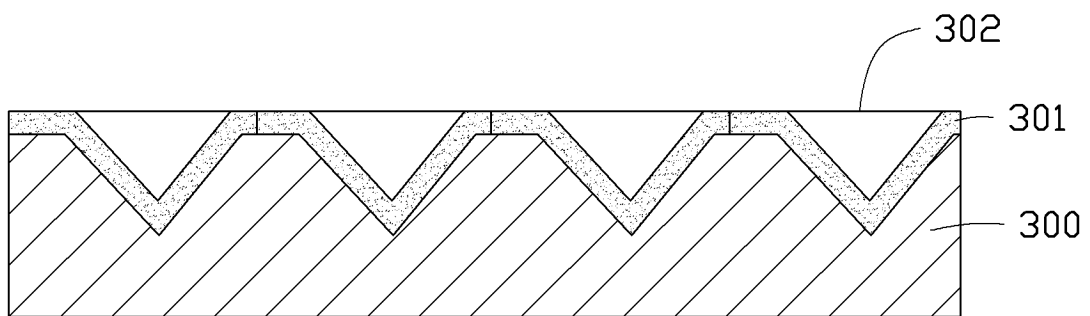


图 11

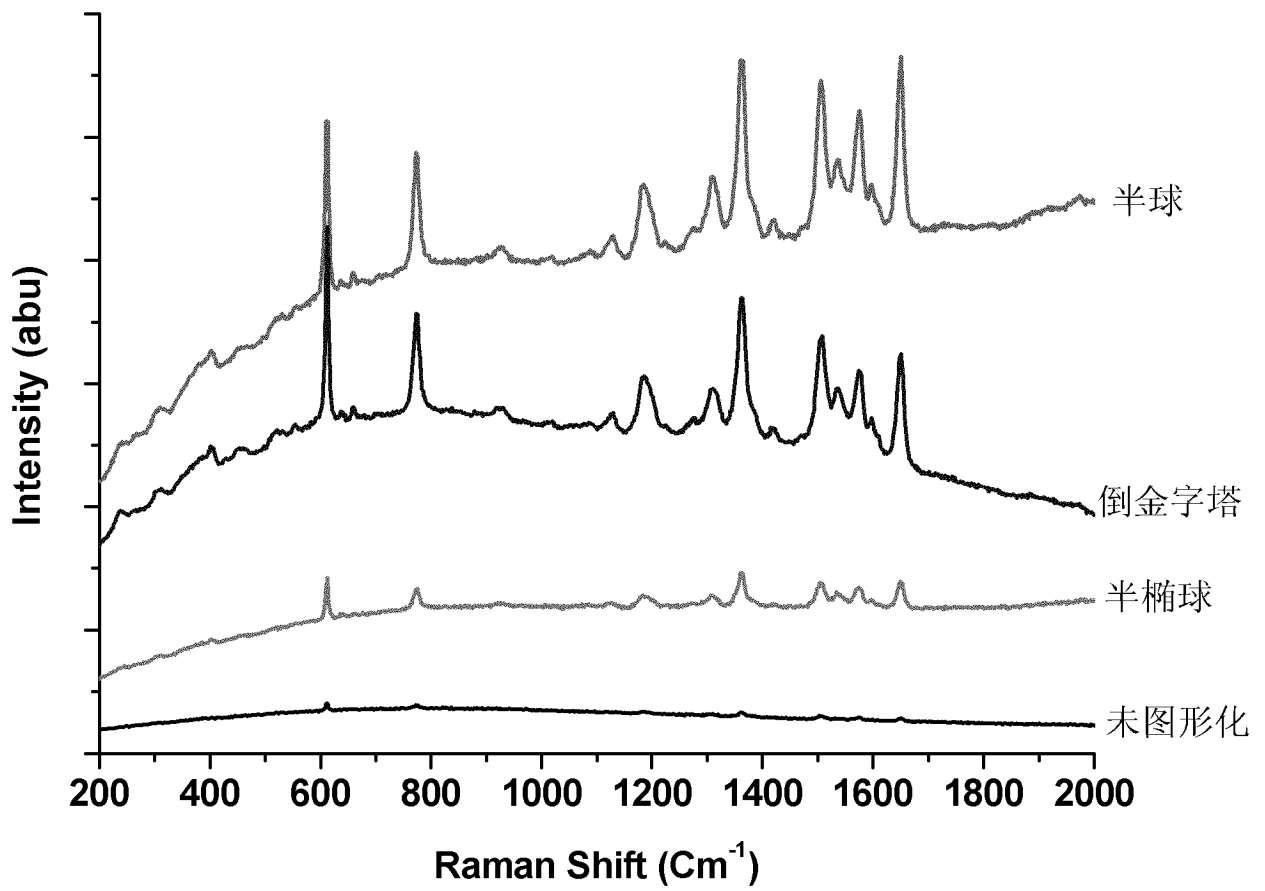


图 12

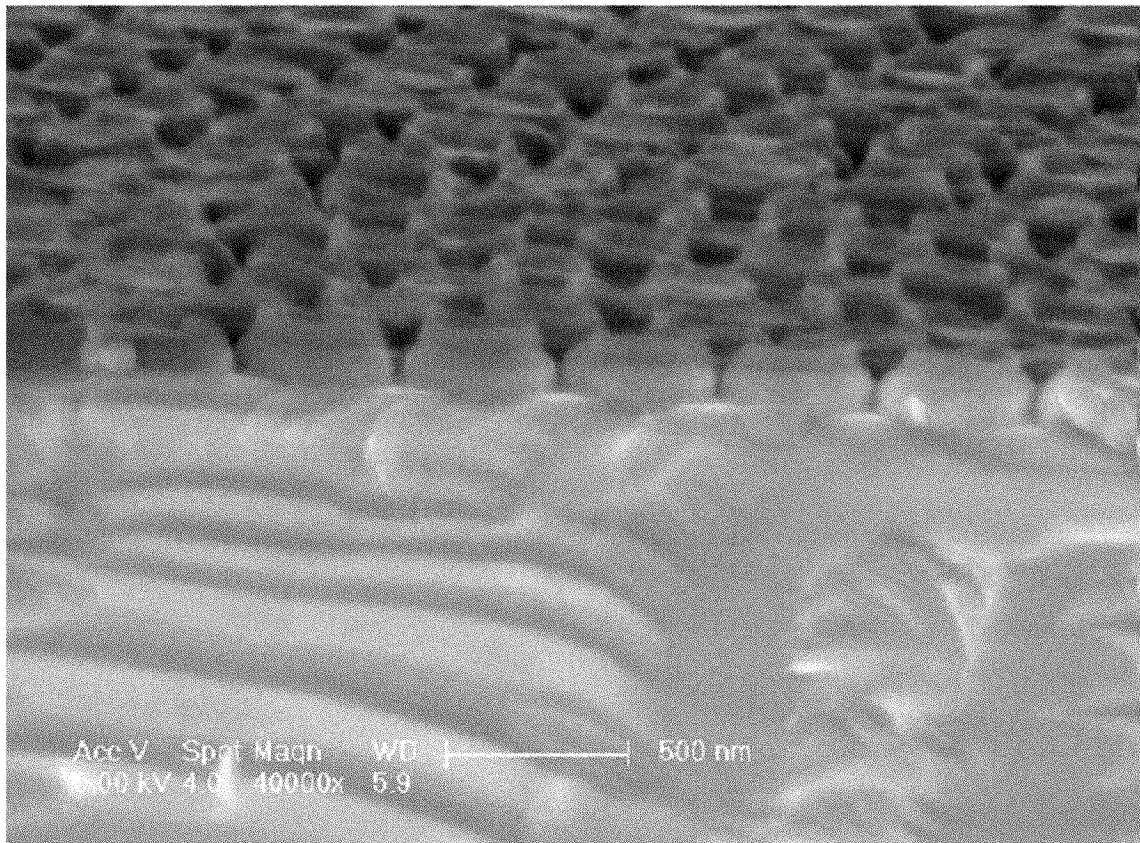


图 13

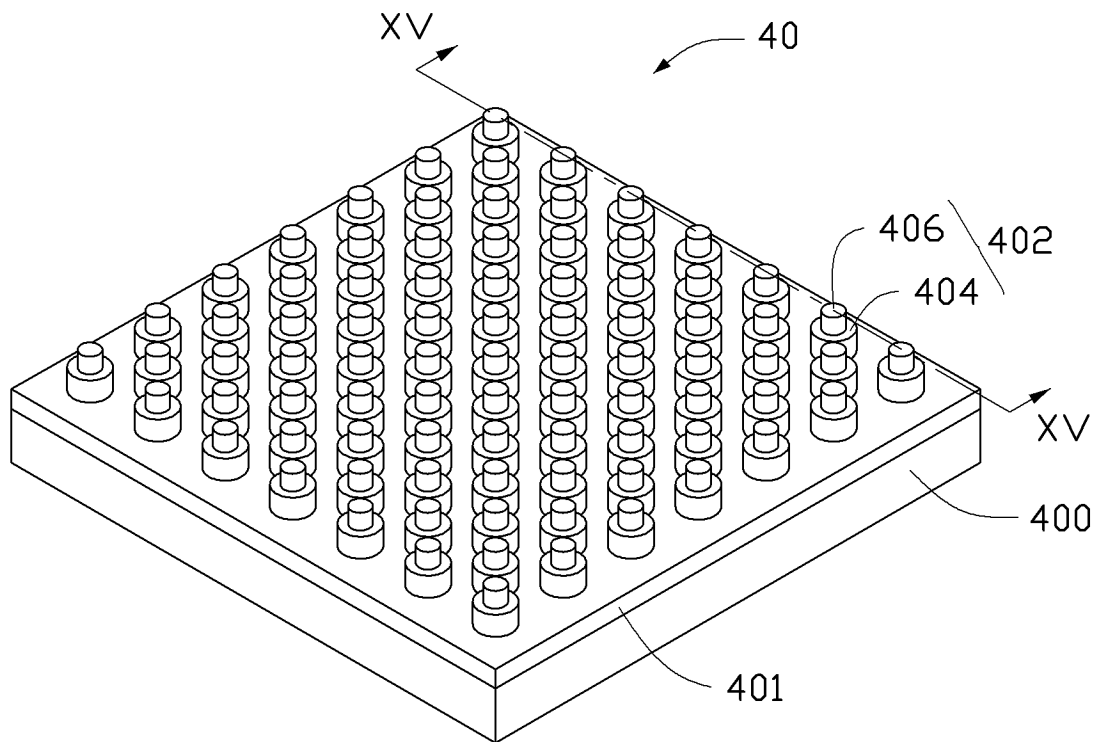


图 14

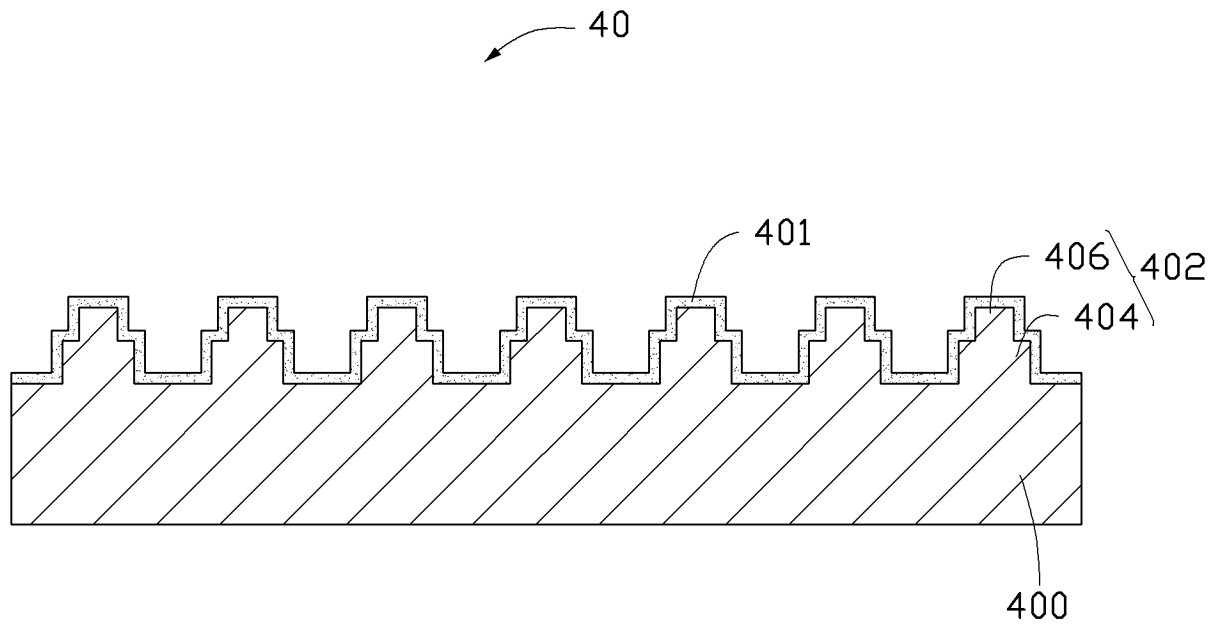


图 15

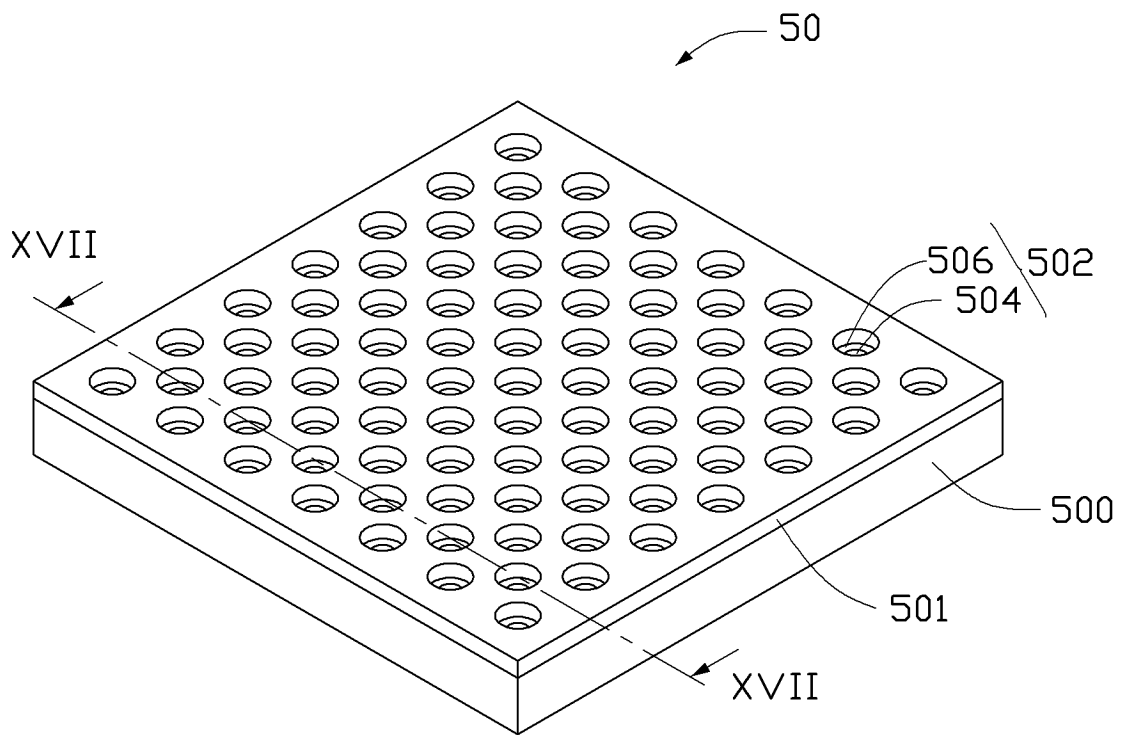


图 16

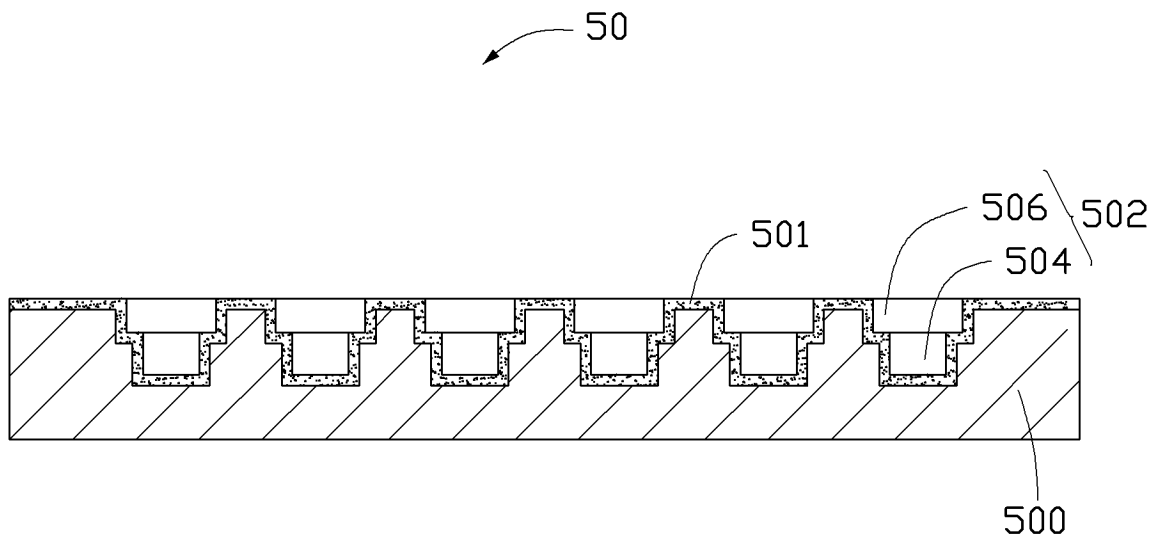


图 17