

## 表面等离子体共振传感器的增敏策略与研究进展

叶林智<sup>1</sup>, 张璐薇<sup>1,2</sup>, 张镇西<sup>1</sup>, 姚翠萍<sup>1\*</sup><sup>1</sup>西安交通大学生命科学与技术学院生物医学光子学与传感研究所, 生物医学信息工程教育部重点实验室, 陕西 西安 710049;<sup>2</sup>西安交通大学食品装备科学与技术学院, 陕西 西安 710049

**摘要** 随着社会的发展,人类对疾病标志物、食品有害因子、环境污染物等的高灵敏和高特异性检测需求不断增长。基于表面等离子体共振(SPR)的传感器作为一种无标记、灵敏度高、可用于实时检测的生物传感器,在检测各类生物化学分子方面展现出了巨大的应用潜力。本文总结了近年来常用或正在快速发展的5种SPR传感器调制方式,在每种调制方式研究现状的基础上,根据近年来增强SPR传感器的研究,从纳米材料敏化和传感器结构优化两个方面总结讨论了增强传感信号的方法,以克服传统SPR传感器灵敏度较低且难以检测低浓度、低相对分子质量物质的缺点。

**关键词** 表面光学; 表面等离子体; 表面等离子体共振; 生物分子检测; 高灵敏检测; 传感器增敏策略

中图分类号 O539 文献标志码 A

DOI: 10.3788/CJL230925

## 1 引言

进入21世纪以来,疾病早期诊断、流行病毒检测、食品质量控制、环境污染监测等一直是人类社会关注的重点。具备高灵敏度、高特异性的分子检测技术是改善人类生活的关键。表面等离子体共振(SPR)传感器是一种灵敏度高、检测限低、适用范围广的检测装置,它基于传感器表面介质折射率的变化实时快速地进行分析、检测各类生物和化学物质<sup>[1-2]</sup>。SPR传感器不需要使用昂贵的标记物,基于光学的方法进行检测,能够避免检测元件与待测样品接触,适用于对不同生物分子的检测。经过近些年的发展,SPR生物传感器已经展现出了极为灵敏的检测能力<sup>[3]</sup>,可以检测浓度低至 $10^{-15}$  mol/L的蛋白质和核酸分子等生物标志物(如microRNA<sup>[4-5]</sup>和C反应蛋白<sup>[6]</sup>),并且具有很快的检测速度,具有巨大的应用潜力<sup>[7]</sup>。

此前,徐厚祥等<sup>[8]</sup>主要基于4类目标分析物梳理总结了SPR传感器在病毒检测领域的研究进展,并汇总了近年来SPR和局域表面等离子体共振(LSPR)病毒传感器的各项参数,比较了传感器的检测限。SPR传感器的应用领域很广,对病毒进行检测只是其应用的一个方面。苏荣欣等<sup>[9]</sup>总结了包括直接法、间接法、夹心法在内的SPR传感器方案对COVID-19定量检测的研究进展,并讨论了通过SPR传感器独特的亲和力和动力学分析实现分子间KD值计算的方法用于筛选治疗新型冠状病毒药物的可能性。车洁等<sup>[10]</sup>总结了

SPR技术在疫苗研制、生产、流通和使用全过程中的应用,展示了SPR技术相比传统技术在疫苗研发和应用方面的优势。李锋等<sup>[11]</sup>基于SPR传感器实时监测分子间相互作用的能力,评述了SPR技术在毒品检测、毒品作用机制、毒品疫苗和抗体研究等方面的应用,并预测了SPR技术在毒品研究中可能开展的工作。相比聚焦于SPR技术在不同领域应用的论文,本文将侧重于综述SPR传感器调制方式和信号放大方式,根据SPR中不同物理量的测量将SPR传感技术的调制方式总结为5种,并从纳米材料敏化和传感器结构优化两方面总结SPR信号放大方式的研究进展。

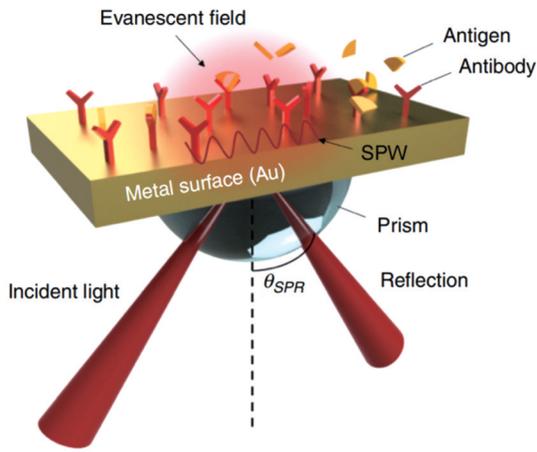
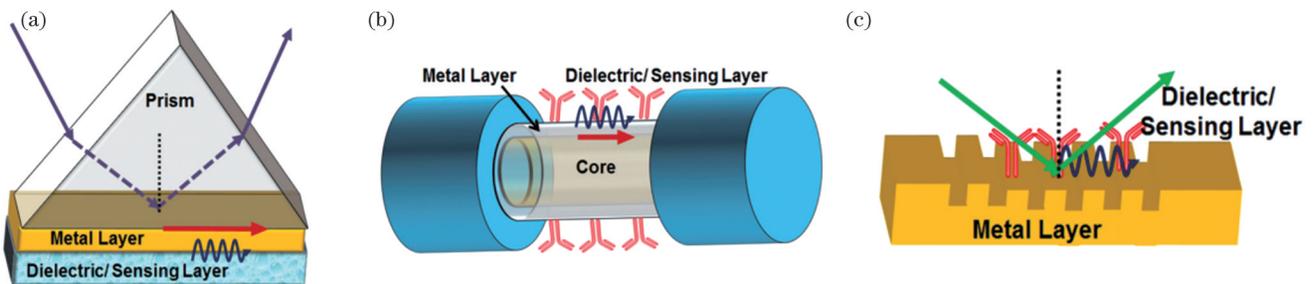
## 2 SPR检测原理

SPR是一种独特而简单的物理光学现象。当一定角度和频率的入射光照射到金属-介质表面时,入射光的大部分能量被金属中的电子吸收,致使反射光的强度大幅减弱。通常采用棱镜结构来耦合产生SPR现象。如图1<sup>[12]</sup>所示,当一定角度的入射光照射到棱镜-金属膜表面发生全反射时,入射光先透过光疏介质(金属)约一个波长的深度,接着沿金属界面流动约半个波长再返回光密介质(棱镜),透过光疏介质的波被称为消逝波或倏逝波。在入射光电磁场的作用下,金属表面不均匀分布的电子由于库仑力的作用形成了整个电子系统的振荡,进而形成了以一定频率在金属表面传播的表面等离子体波(SPW)<sup>[13]</sup>。当金属-介质界面处的消逝波与SPW的频率和波矢相同时,发生共

收稿日期: 2023-06-19; 修回日期: 2023-07-24; 录用日期: 2023-08-01; 网络首发日期: 2023-08-15

基金项目: 国家自然科学基金(U22A2092)

通信作者: \*zsyccp@xjtu.edu.cn

图 1 棱镜耦合型 SPR 传感器结构示意图<sup>[12]</sup>Fig. 1 Structure diagram of prism coupled SPR sensor<sup>[12]</sup>图 2 SPR 传感器的三种耦合方式<sup>[7]</sup>。(a)Kretschmann 棱镜耦合；(b)光纤耦合；(c)光栅耦合Fig. 2 Couple types of SPR sensor<sup>[7]</sup>. (a) Kretschmann prism coupling; (b) optical fiber coupling; (c) grating coupling

### 3 SPR 传感技术的调制方式

由 SPR 传感器的原理可知,SPR 的产生由入射光的波长和角度、金属材料的属性、棱镜折射率、介质折射率等参数决定。SPR 传感器检测到的介质折射率的微小变化可以通过这些参数的变化表现出来。基于不同参数的测量可以将 SPR 传感技术的检测方式分为 5 种,即光强调制、角度调制、波长调制、相位调制和古斯-汉森位移调制。

#### 3.1 光强调制型

光强调制型 SPR 传感技术将发光二极管(LED)或激光器作为单色光源,以固定的人射角照射,检测反射光强度的变化。入射角被固定在反射强度最低时,此时的人射角为 SPR 共振角;随着介质折射率增大,共振条件不再满足,反射光的强度相应增强。如图 3(a)所示,可以通过反射光的强度来检测待测物质浓度、膜厚等的变化。光强调制型 SPR 传感器具有结构简单、制备成本低等特点,但其会受到激光光源不稳定、外界噪声干扰大等的影响,检测灵敏度较低,检测折射率分辨率通常在  $10^{-5}$  RIU 左右。目前,光强调制型 SPR 传感器的研究主要集中在灵敏度提高和高通量检测上<sup>[14-15]</sup>。例如,光强调制型 SPR 传感器与成像系统相结合可在二维微阵列中实现高通量实时无标记生物传感,并行监测多种生物分子的相互作用<sup>[16]</sup>。

振,入射光的能量被金属表面的电子吸收,反射光的能量急剧下降。

SPW 在金属表面附近形成最强大的电磁场,并且电磁场强度向金属层和介质层两侧逐渐衰减,因此能量主要被束缚在金属-介质接触面附近。当金属表面介质折射率发生变化时,SPW 对应的波矢就会发生变化,需要改变入射光的波长或角度来重新满足共振条件。因此,可以通过 SPR 传感器对折射率的灵敏反应来确定待检测物质的浓度。SPR 传感器通常需要使用衰减全反射耦合方式,利用介电常数较高的材料来满足消逝波波矢匹配。SPR 传感器的耦合方式主要包括棱镜型、波导型和光纤型。另外一种特殊的耦合方式是利用光栅产生的倒波矢来增加入射光的波矢,以满足 SPR 的要求。图 2 是三种耦合方式示意图<sup>[7]</sup>。

Zeng 等<sup>[17]</sup>基于两个特定波长的反射光强度差值进行 SPR 成像,如图 3(b)所示,两个相机分别记录不同波长下二维阵列的反射光强度,通过两者的差值得到反映阵列不同位置折射率的图像信息。该系统在实现多通道高通量检测的同时将折射率分辨率提高到了  $2.24 \times 10^{-6}$  RIU。

#### 3.2 角度调制型

角度调制型 SPR 传感器采用 LED 或激光器作为单色光源。改变入射光的角度,并记录反射光的强度随入射角的变化,可以得到基于角度变化的反射光强度曲线。反射光强度最低时对应的角度即为共振角,共振角与溶液折射率一一对应,通过检测共振角的变化可以得到溶液中物质浓度的变化。采用角度调制型 SPR 传感器进行测量时需要获得不同入射角下的反射光强度。根据部件是否可以移动可将角度调制型传感器分为两种。其中一种基于可动部件(如步进电机)驱动入射光绕检测部件的中心进行旋转,结合探测器获取一定角度范围内的反射光强度。另一种不需要移动部件,利用透镜将平行光会聚成聚集光束,并照射芯片中心位置,实现对传感器的宽角度照射;或者将角度发散的扇形光束直接入射到棱镜-金属界面,由探测器阵列直接检测各个角度下的反射光强<sup>[18-19]</sup>。对于发散型结构,入射光以不同的角度照射在芯片的不同位置,对芯片整体的均匀度要求较高;对

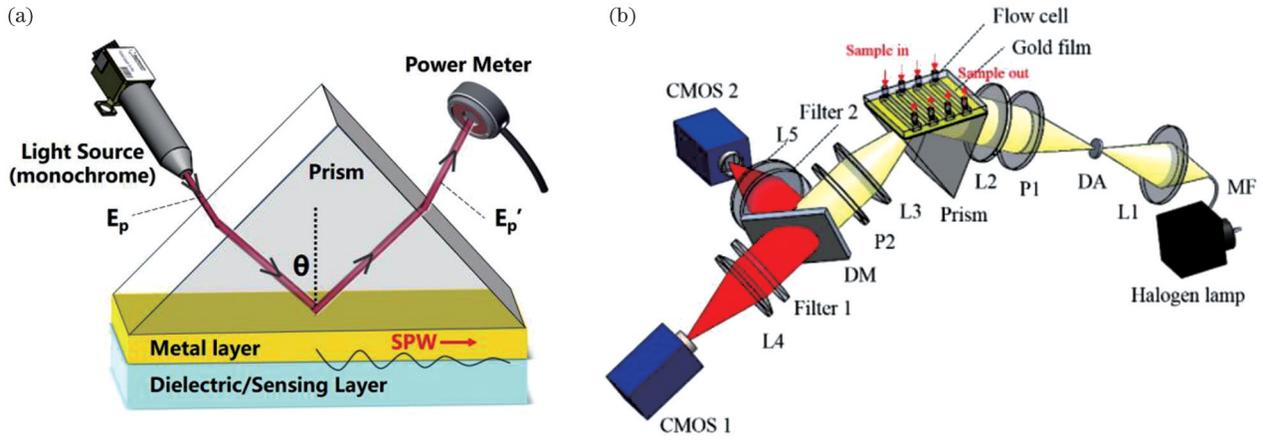


图 3 光强调制型 SPR 传感器。(a) 光强调制型 SPR 传感器检测原理示意图; (b) 双波长 SPR 成像系统示意图<sup>[17]</sup> (L1~L5: 透镜; DA: 光圈; MF: 多模光纤; DM: 二向色镜; P1~P2: 偏振片)

Fig. 3 Intensity interrogation SPR sensors. (a) Schematic diagram of the detection principle of the intensity interrogation SPR sensor; (b) schematic diagram of the dual wavelength SPR imaging system<sup>[17]</sup> (L1–L5: lens; DA: diaphragm aperture; MF: multimode fiber; DM: dichroic mirror; P1 and P2: polarizer)

于会聚型结构, 因为入射光主要会聚在芯片的某一直线范围内, 仅对该直线范围内的均匀度要求较高, 故角度调制型 SPR 传感器通常采用会聚型结构, 以提高传感器的检测性能。如图 4 所示, 在会聚型结构中, 所有入射角度的反射光同时被相机采集, 可以实时反映传感层折射率的变化, 避免了旋转部件带来的噪声和时间成本。角度调制型 SPR 传感器避免了光源波动带来的噪声<sup>[20]</sup>, 而且结构简单, 容易设计成便携式仪器, 折射率分辨率可以达到  $10^{-6}$  RIU, 配合信号增强技术后折射率分辨率可达  $10^{-7}$  RIU。目前, 角度调制型 SPR 传感器已相当成熟, 并已被广泛应用到各类生物化学分子检测中<sup>[21-22]</sup>。如图 4(b) 所示, Thadson 等<sup>[23]</sup>

提出了一种基于深度学习的表面等离子体共振角扫描方式, 并用其对氮气含量进行了检测。将基于深度学习的方法用于分析固定角度范围内的光谱数据, 可将传感器的测量精度提高至  $4.23 \times 10^{-6}$  RIU。Ertürk 等<sup>[24]</sup>采用分子印迹聚合物 (MIP) 对角度调制型 SPR 传感器进行修饰, 修饰后的传感器对皮肤分泌细菌因子 (RoxP) 的检测限为 0.23 nmol/L。Zheng 等<sup>[25]</sup>将角度调制型 SPR 传感器与聚集规则间隔短回文重复序列 (CRISPR) 技术相结合设计了高灵敏度 SPR 传感器。得益于 CRISPR 分子系统快速准确扫描基因组的能力, 该传感器实现了检测限为 1.3 fmol/L 的目标 DNA 序列检测。

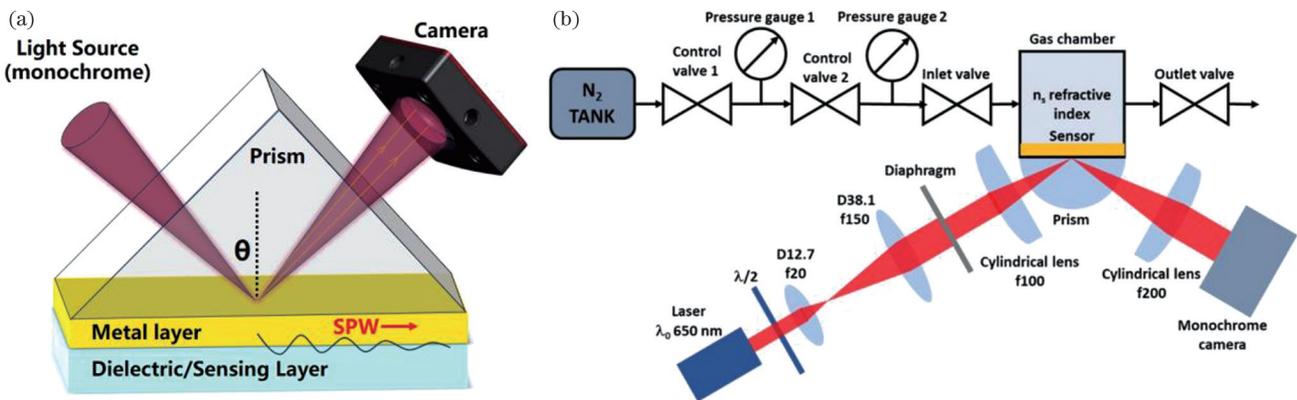


图 4 角度调制型 SPR 传感器。(a) 角度调制型 SPR 传感器检测原理示意图; (b) 检测氮气含量的角度调制型 SPR 传感装置<sup>[23]</sup>

Fig. 4 Angular interrogation SPR sensors. (a) Schematic diagram of the detection principle of the angular interrogation SPR sensor; (b) angular interrogation SPR sensor for detecting nitrogen content<sup>[23]</sup>

### 3.3 波长调制型

波长调制型 SPR 传感器通常采用白光作为入射光, 以固定入射角进行照射。通过光谱仪检测不同波长下反射率的变化, 波长调制型 SPR 传感器可以得到反射率随波长变化的光谱曲线。最低反射率对应的波长即为对应入射角下的共振波长。当金膜表面溶液的

折射率发生变化时, 由于共振条件发生了改变, 对应的共振波长也会发生红移或蓝移。因此, 通过对共振波长进行测量, 可以检测介质折射率或物质浓度的变化。波长调制型 SPR 传感器检测的动态范围较大, 灵敏度较高, 折射率分辨率可以达到  $10^{-6}$  RIU。目前已有较多研究聚焦于波长型 SPR 传感器灵敏度的提高上。

例如: Yi 等<sup>[26]</sup>基于波长调制型 SPR 传感器,使用夹心免疫测定法检测癌症抗原 125(CA125),结果显示传感器的灵敏度可达到 5676.9 nm/RIU,对 CA125 的检测限为 0.8 ng/mL; Chen 等<sup>[27]</sup>使用长波段光源作为 SPR 传感器的激发光源,长波段光源的使用提高了折射率灵敏度(11773.93 nm/RIU),并实现了 0.2 fmol/L 靶标 DNA 的测定。除了使用光栅或光谱仪分析共振波长外,还可以通过结合可调滤波器和 CCD 相机提取

光谱信息。这种方法由于不需要色散部件,适用于阵列或多通道检测。如图 5(b)所示, Wang 等<sup>[28]</sup>通过声光可调谐滤波器(AOTF)和低成本的无斑点卤素灯实现了快速波长扫描能力。通过调节 AOTF 的输出波长,获得了多个波长下的反射光强,拟合光谱曲线即可得到共振波长。Wang 等研制的系统实现了对二维生化样品的实时监测,折射率分辨率为  $1.17 \times 10^{-6}$  RIU, SPR 成像时间达到了 0.2 s/frame。

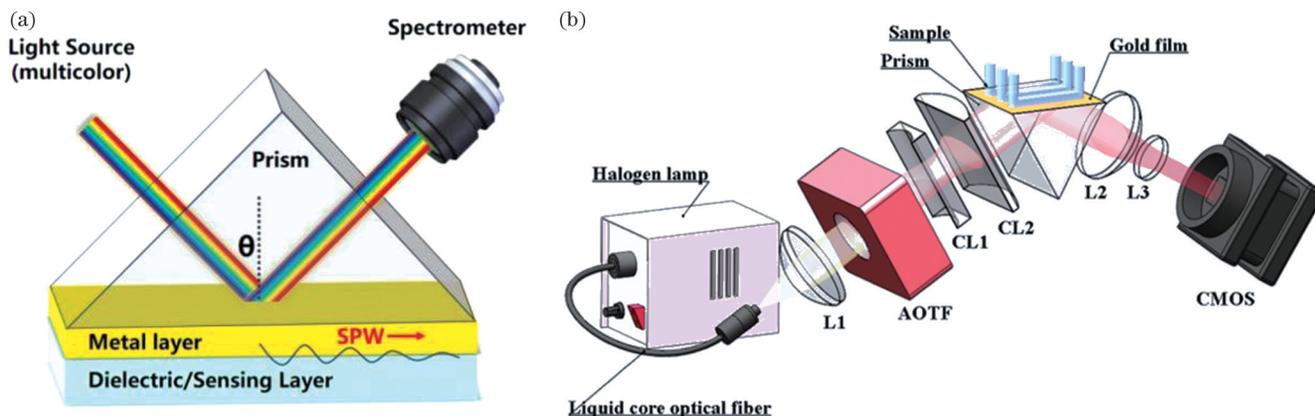


图 5 波长调制型 SPR 传感器。(a) 波长调制型 SPR 传感器检测原理示意图; (b) 波长调制型 SPR 成像系统<sup>[28]</sup> (L1~L3: 透镜; CL1~CL2: 柱面透镜)

Fig. 5 Wavelength interrogation SPR sensors. (a) Schematic diagram of the detection principle of the wavelength interrogation SPR sensor; (b) wavelength interrogation SPR imaging system<sup>[28]</sup> (L1~L3: lens; CL1 and CL2: cylindrical lens)

### 3.4 相位调制型

相位调制型 SPR 传感器使用单色光以固定角度入射。相位调制型 SPR 传感器用 p 偏振光(p 光)作为激发光,当介质折射率发生变化时,p 光的反射光强和相位都会发生变化。相位调制型 SPR 传感器用 s 偏振光(s 光)作为参考光,因为 s 光不参与金属的 SPR 效应,因此反射光强和相位基本不变。通过测量 p 光和 s 光相位差的变化,可以检测传感器表面介质折射率或溶液浓度。相位调制型传感器测量相位的方法包括光学外差法、椭圆偏法<sup>[29]</sup>、干涉法等。光学外差法通过声光调制器引入载波,再通过对干涉信号进行解调得到需要测量的相位,由此开发的 SPR 传感器的精度可达到  $5 \times 10^{-7}$  RIU<sup>[30]</sup>。椭圆偏法<sup>[31]</sup>测量的基本原理是:用一束椭圆偏光照射传感器芯片,光在芯片上的多次反射和折射将会引起反射光相位和偏振态的变化,通过测量反射光偏振状态的变化即可推算出待测物的浓度。椭圆偏法提供了相对较大的动态范围和较高的灵敏度,但检测速度较慢,难以实时检测。干涉法是应用最广泛的方法,它能够记录整个传感面上的相位变化。最常用的干涉法的原理如图 6(a)所示<sup>[32]</sup>,通过分波器将光源分为参考光和信号光,其中信号光携带着待检测物的浓度信息,用沃拉斯顿棱镜将 p 光和 s 光分开一定角度,从而可以同时分析 p 光和 s 光的干涉和相位信息。Wu 等<sup>[33]</sup>据此搭建的沃拉斯顿棱镜相位型 SPR 系统实现了超高的灵敏度,灵敏度极限为  $5.5 \times 10^{-8}$  RIU。相

比于其他传感器,相位调制型 SPR 传感器具有最高的灵敏度,但其检测的动态范围仅在  $10^{-4}$  RIU 左右<sup>[34]</sup>。近年来已有许多方法用于提高其检测范围,例如: Zeng 等<sup>[35]</sup>将白光作为光源,通过偏振干涉的方法提取 p 光和 s 光的相位差异,同时通过合适的算法选择不同折射率窗口下的最佳波长,级联各窗口最佳波长的相位变化,将传感器检测范围扩展到了 0.029 RIU。Miyan 等<sup>[36]</sup>进一步探讨了宽动态范围下的多通道和高通量检测,检测原理如图 6(b)所示。他们通过 AOTF 扫描各波长下二维检测面的相位信息,最终采用跟踪最佳波长的方法提取到了有效的相位信息,从而实现了多通道样品检测。SPR 传感器对 p 光的相位改变量非常敏感,检测精度可以达到  $10^{-8}$  RIU,但是相位调制型传感器的检测光路较为复杂,需要将相位信号转变为光强信号,检测装置难以实现便携化。目前,基于相位调制的 SPR 传感器仍处于实验室阶段,但其发展潜力巨大。

### 3.5 古斯-汉森位移调制型

当光由光密介质射向光疏介质并发生全反射时,反射光的出射点与入射光的入射点并不重合,而是在该界面上有一个横向的位移,该位移被称为古斯-汉森位移(GH 位移)。1947 年,Goos 和 Hänchen<sup>[37]</sup>在两种不同折射率介质接触面上检测到了古斯-汉森位移,但是古斯-汉森位移很小,难以检测到。2004 年, Yin 等<sup>[38]</sup>发现 SPR 可以明显增强古斯-汉森位移。当满足

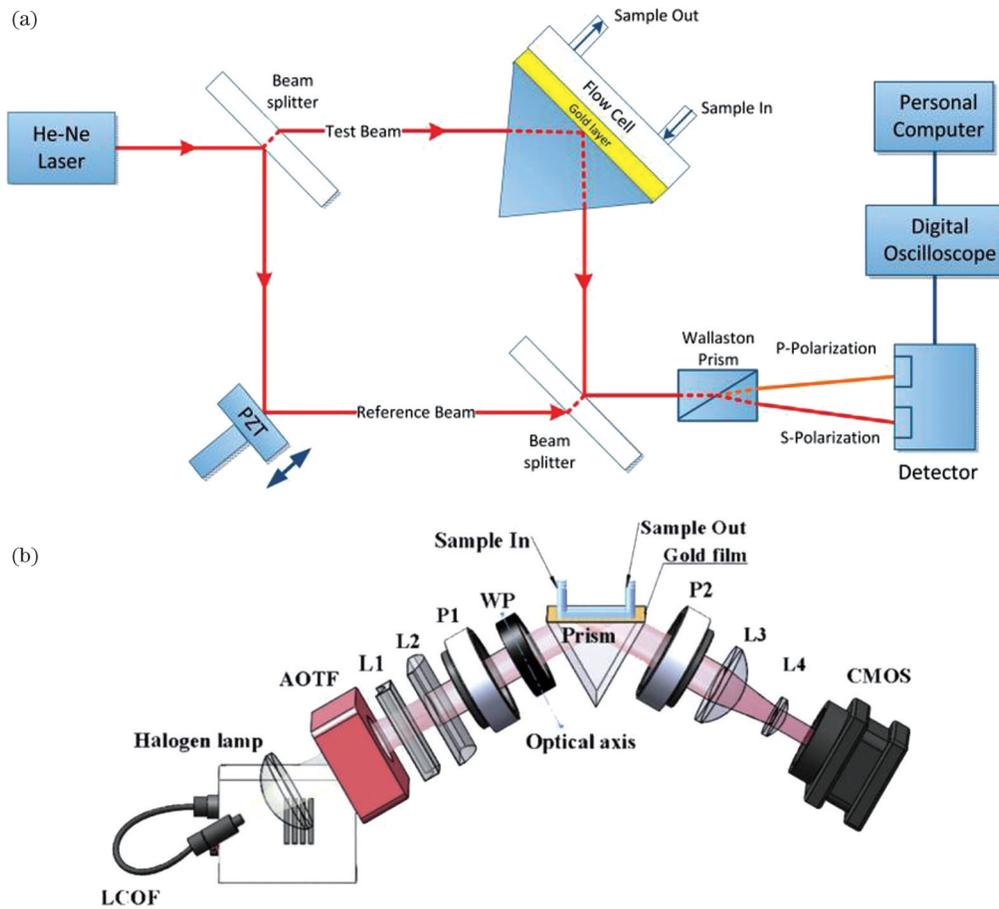


图 6 相位调制型 SPR 传感器。(a) 基于沃拉斯顿棱镜的相位调制型 SPR 传感器<sup>[32]</sup>；(b) 相位调制型 SPR 成像生物传感器系统示意图<sup>[36]</sup>(L1~L2: 透镜; AOTF: 声光可调谐滤波器; P1~P2: 偏振片; WP: 定制的波片, 可以使 p 光和 s 光间产生  $10^5$  nm 的光程差; LCOF: 液芯光纤; CMOS: 互补金属氧化物半导体相机)

Fig. 6 Phase interrogation SPR sensors. (a) Phase interrogation SPR sensor based on Wollaston prism<sup>[32]</sup>; (b) schematic of phase interrogation SPR biosensor system<sup>[36]</sup> (L1-L2: lens; AOTF: acoustic optics tunable filter; P1 and P2: polarizer; WP: custom wave plate, which can produce an optical path difference of  $10^5$  nm for its s- and p- component; LCOF: liquid core optical fiber; CMOS: complementary metal-oxide-semiconductor camera)

SPR 条件时, p 光反射光的相位在 SPR 效应的影响下发生较大变化, 而古斯-汉森位移与相位密切相关, 故古斯-汉森位移也会发生极大变化, 最大位移约为入射光波长的 50 倍。同相位调制的方式类似, 因为 s 光不参与 SPR 的过程, 古斯-汉森位移几乎可以忽略不计, 故将 s 光作为参考光。p 光的相位会受到 SPR 的强烈影响, 当传感器表面溶液浓度发生变化时, p 光的古斯-汉森位移较大。如图 7<sup>[39-40]</sup>所示, 通过测量 p 光和 s 光的古斯-汉森位移差值, 可以检测传感器表面介质折射率或物质浓度。与相位调制型类似, 古斯-汉森位移调制型 SPR 传感器具有极高的灵敏度, 检测精度可以达到  $10^{-7}$  RIU。Yin 等<sup>[38]</sup>研究了古斯-汉森位移与入射光波长、角度的关系, 结果显示: 通过不断调整入射角和波长可以达到一个相位突变的点 (即相位奇点), 在该点附近将获得极大的古斯-汉森位移。Yin 等基于相位奇点构建的 SPR 传感器的灵敏度为  $1.82 \times 10^{-8}$  RIU/nm, 检测分辨率低于  $4 \times 10^{-7}$  RIU。Jiang 等<sup>[41]</sup>则基于具有纳米沟槽结构的超表面构建了古斯-

汉森位移调制的 SPR 传感器, 该传感器的分辨率为  $10^{-8}$  RIU, 可以实现对  $0.1 \times 10^{-8}$  mol/L 牛血清蛋白的检测。虽然古斯-汉森位移型 SPR 传感器的结构简单, 但其检测动态范围同样较小, 依然需要不断优化传感器的结构和参数, 以便使其能够广泛应用于对各类生物分子的检测。

### 3.6 不同调制方式 SPR 传感器的性能对比

表 1 总结了 5 种 SPR 传感器的性能参数, 其中: 光强调制型 SPR 传感器具有较大的检测范围和最简单的装置结构, 但其最容易受到外界干扰 (如光源波动) 的影响, 折射率分辨能力较低; 角度和波长调制型 SPR 传感器的结构较为复杂, 但其不会受到光源波动等环境因素的影响, 同时具有较高的灵敏度和较大的检测范围, 已被广泛应用于商业化仪器中; 相位调制型 SPR 传感器具有最优的检测精度, 但其装置结构复杂而且检测的动态范围很窄, 仍需要投入大量精力来拓展其动态范围; 古斯-汉森位移调制型 SPR 传感器的结构相对较为简单, 而且具有与相位型调制 SPR 传感器

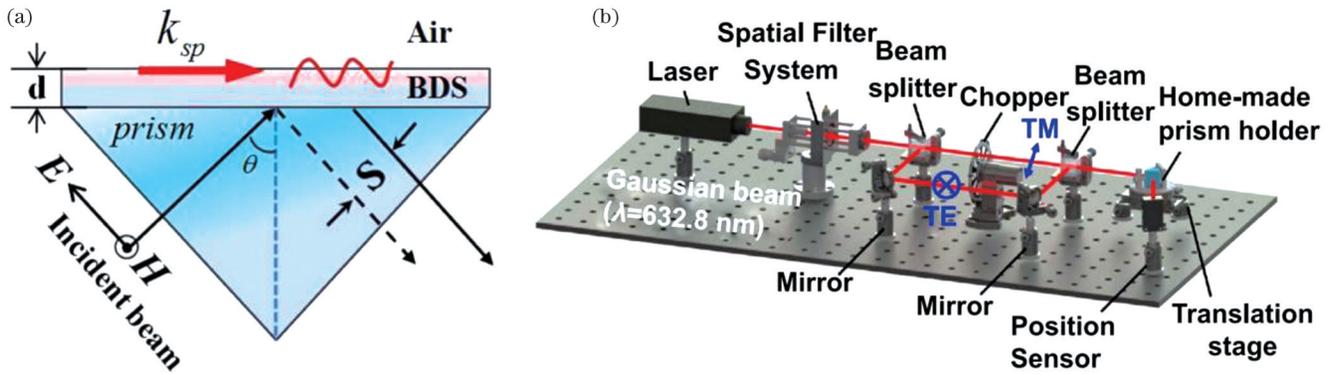


图 7 古斯-汉森位移调制型 SPR 传感器。(a)原理示意图<sup>[39]</sup>；(b)装置示意图<sup>[40]</sup>

Fig. 7 Goos-Hänchen shift interrogation SPR sensor. (a) Schematic diagram<sup>[39]</sup>; (b) structural diagram of the device<sup>[40]</sup>

表 1 不同调制方式 SPR 传感器的参数

Table 1 Parameters of SPR sensors with different interrogation methods

Interrogation method	Fixed parameter	Variable parameter	Detection physical quantity	Refractive index resolution /RIU	Dynamic detection range /RIU	Device complexity
Intensity interrogation	Wavelength, incident angle		Light intensity	$10^{-5}$ - $10^{-6}$	$\sim 0.03$	Simple
Angular interrogation	Wavelength	Incident angle	Light intensity at different angles	$10^{-6}$ - $10^{-7}$	$\sim 0.07$	General
Wavelength interrogation	Incident angle	Wavelength	Light intensity at different wavelengths	$10^{-6}$ - $10^{-7}$	$\sim 0.08$	Complex
Phase interrogation	Wavelength, incident angle		Light intensity with phase information	$10^{-8}$	$\sim 0.0004$	Most complex
GH shift interrogation	Wavelength, incident angle		Lateral displacement	$10^{-7}$ - $10^{-8}$	$\sim 0.0004$	General

相同的检测精度,但其同样需要优化传感器结构和参数,以提高检测的动态范围。

## 4 SPR 传感器信号放大方法

SPR 传感器具有无标记、灵敏度高、可以实时检测、应用范围广等优点,已被广泛应用于食品安全、药物筛选、环境监测、早期疾病预防等领域。但是,传统的 SPR 传感器存在易受温度影响和非特异性吸附难以区分等问题,而且难以检测低浓度、低相对分子质量的分析物。现今已有许多研究团队致力于 SPR 传感器灵敏度的提高,他们所用方法主要可以分为基于功能化纳米材料增强 SPR 传感器信号的方法以及基于传感器结构的创新优化来增强检测信号的方法。

### 4.1 功能化纳米材料增强 SPR 传感器

用于增强 SPR 传感器的功能化纳米材料注意包括贵金属纳米颗粒、磁性纳米颗粒、二维纳米材料等。纳米材料增强 SPR 传感器的机理主要可以归纳为以下 5 个方面:(a) 纳米材料表面激发的 LSPR 与传感膜上激发的表面等离子体波 (SPW) 耦合增强电场;(b) 纳米材料的大表面质量负载导致对传感表面的大扰动;(c) 从纳米材料表面到金属传感膜表面的电荷转移导致更大的倏逝场增强,从而放大 SPR 信号;(d) 目标分析物与纳米材料表面之间的  $\pi$  键堆积力提高了吸

附效率;(e) 功能化纳米材料进一步触发二次信号放大的催化活性。

#### 4.1.1 贵金属纳米颗粒

贵金属纳米颗粒,特别是金纳米颗粒 (AuNP),是提高 SPR 传感器性能的常用纳米材料。这些粒子也被称为等离子体纳米颗粒。它们能在可见光和近红外波长区表现出很强的吸收。由于 LSPR 的作用,粒子表面会被激发出一个大的电场。研究表明,SPR 的灵敏度与传感器表面的电场强度密切相关,电场越大,SPR 传感器对周围介质的变化越敏感。当 LSPR 与传统 SPR 传感器上的金属薄膜产生的表面等离子体波耦合时,可以获得更大的场增强,从而获得更高的灵敏度<sup>[42]</sup>。此外,金属纳米颗粒的表面易于耦联各种功能分子,允许人们方便地调整目标分子在金属颗粒表面的覆盖率以及二者的结合效率,以便使目标分子与 SPR 传感膜特异性地相互作用。在不同金属的纳米颗粒中,银纳米颗粒 (AgNP) 具有最优的 LSPR 效应,在可见光区域有很强的吸收。但在大多数生物应用中,AuNP 的应用更为广泛,因为它具有优异的生物相容性和稳定性,并且与硫醇具有强的亲和力。下面将主要讨论 AuNP 和 AgNP 在 SPR 信号放大上的应用。

1998 年,Natan 研究团队<sup>[43]</sup>首次使用 AuNP 来增强 SPR 传感器,他们使用粒径为 11 nm 的 AuNP 来检

测人体免疫球蛋白,得到的检测灵敏度是传统 SPR 传感器的 25 倍。AuNP 的 LSPR 吸收峰受其尺寸、形状和周围介质介电常数的强烈影响。同样,SPR 传感器信号也会受到所用纳米颗粒的影响。选择合适的 AuNP 的尺寸及其到传感器金膜的距离,将纳米颗粒对应的 LSPR 与 SPR 传感器的表面等离子体波耦合,可以获得最大的场增强效果,从而提高传感器的灵敏度。Zeng 等<sup>[44]</sup>发现 AuNP 的尺寸对 SPR 传感信号的增强有很大影响。他们模拟了粒径为 40~80 nm 的 AuNP 与金膜间的电场强度分布。如图 8 所示,当 AuNP 与 SPR 传感膜的距离固定为 5 nm 时,增强的 SPR 传感信号随粒径的增大而减小,40 nm 的 AuNP 具有最好的耦合效应。这主要是由于粒径大于 40 nm 的 AuNP 的散射比吸收的影响更大。Golden 等<sup>[45]</sup>研究了粒径为 10 nm 的 AuNP 作为增强粒子时,其与 SPR

传感膜之间的耦合距离(0~26 nm)以及 SPR 激发波长(540~780 nm)对 AuNP 介电功能的影响。结果表明:耦合距离对 AuNP 周围电磁场的影响十分明显,最优的耦合距离将极大地增强 SPR 信号。Kajisa 课题组<sup>[46]</sup>发现:当 AuNP 与金属膜之间的距离固定在 30 nm 时,粒径为 150 nm 的大尺寸 AuNP 能更有效地诱导其与金芯片衬底之间的等离子体激元耦合;与 40 nm 的 AuNP 相比,150 nm 的 AuNP 的 SPR 共振角位移增大了 10 倍。Kajisa 课题组采用 150 nm 大尺寸 AuNP 增强的 SPR 传感器对 SARS-CoV-2 病毒 N 蛋白进行了检测,检测限为 85 fmol/L(4 pg/mL),与典型的 RT-PCR 测试的灵敏度(LOD:~30 copy/mL;4.5 pg/mL)相当。在检测不同的分析物时,往往需要不同的检测方式。使用 AuNP 进行信号放大时,应按需优化颗粒尺寸和耦合距离,以获得最优的传感信号。

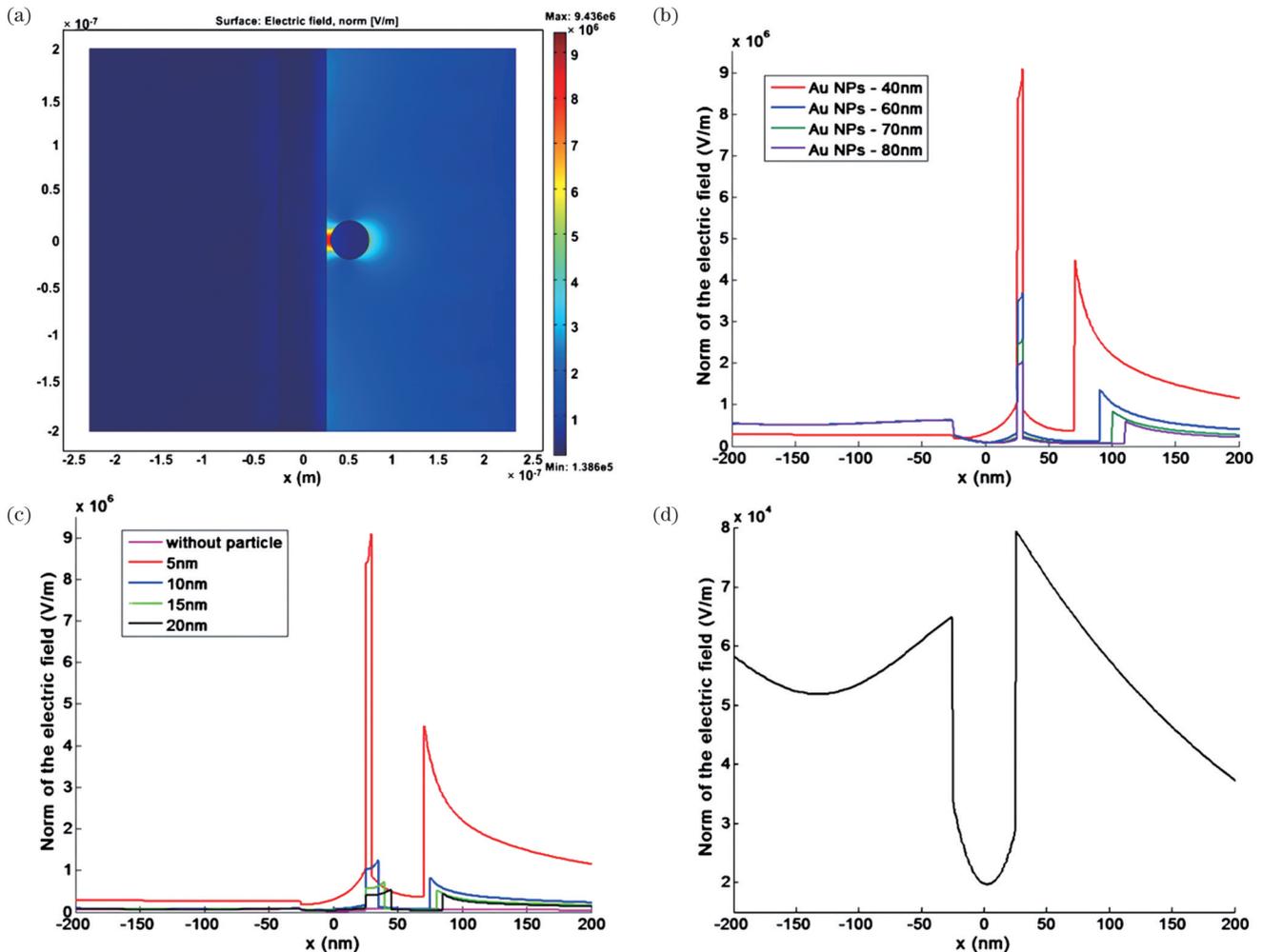


图 8 球形 AuNP 耦合到传感膜的有限元模拟<sup>[44]</sup>。(a) 耦合 AuNP(直径为 40 nm,与金膜的距离为 5 nm)后的电场分布;(b) 耦合不同尺寸 AuNP 后的电场分布( $y=0$ );(c) AuNP(直径为 40 nm)与金膜之间的距离不同时电场分布( $y=0$ );(d) 无 AuNP 时的电场分布( $y=0$ )

Fig. 8 Finite element simulation of spherical AuNP coupling to the sensing film<sup>[44]</sup>. (a) Electric field distribution after coupling AuNP (diameter is 40 nm, distance from the Au film is 5 nm); (b) electric field distribution ( $y=0$ ) after coupling AuNP with different diameters; (c) electric field distribution ( $y=0$ ) at different distances between AuNP (40 nm in diameter) and the Au film; (d) electric field distribution without AuNP ( $y=0$ )

此外,金纳米棒(AuNR)<sup>[42,47]</sup>、金纳米星(AuNS)<sup>[48-49]</sup>等非球形 AuNP 也被应用于 SPR 传感器增强。这些非球形 AuNP 的尖锐部位由于“热点”效应,会带来更大的局域电场增强,对介质折射率的响应比球形 AuNP 更强<sup>[50]</sup>。例如, Kim 等<sup>[51]</sup>设计了一种使用金纳米棒增强的夹心结构,并用其对诺如(NoV)病毒衣壳蛋白进行了检测。他们用 SPR 技术筛选出 NoV 病毒衣壳蛋白的两种 DNA 适体序列,其中一个适体被共价修饰到薄金片表面,而另一个适体被修饰在金纳米棒表面。该传感器在缓冲液中可检测低至 70 amol/L 的 NoV 蛋白,比不含金纳米棒的三明治平台的检测效果好  $10^5$  倍。金纳米棒带来的大折射率变化是信号放大的主要原因。2017 年, Lee 课题组<sup>[52]</sup>使用一种金纳米星增强的适体-抗体夹心三明治结构来检测相对分子质量较小的四环素(TC)。金纳米星的 LSPR 特性使其在 SPR、表面增强拉曼散射(SERS)等光学生物传感器中被广泛应用。Lee 课题组使用金纳米星耦联的抗体将检测浓度降低至 10 amol/L,其检测能力是仅使用抗体时的  $10^3$  倍。

仅使用 AuNP 来增强 SPR 传感有时也无法实现对一些低相对分子质量分析物的检测,此时,研究人员通常会使用多重放大策略来解决这一问题。例如, Liu 等<sup>[53]</sup>采用超三明治结构检测了 microRNA(miRNA)。如图 9(a)所示,在靶 miRNA 存在的情况下,发夹探针的茎环结构展开, DNA 连接的 AuNP 与

发夹探针的末端杂交。随后, DNA 连接的 AuNP 通过添加两个报告 DNA 序列启动了 DNA 超三明治结构的形成。由于 AuNP 的局域等离子体激元与表面等离子体激元波之间的电子耦合,以及 DNA 超夹层结构导致的介质在金膜上折射率的进一步增大, SPR 响应显著增强。然后,大量带正电的 AgNP 被均匀地吸附到 DNA 超三明治结构上,进一步增强 SPR 反应。该传感器采用无酶多重信号放大策略,可以检测低至 0.6 fmol/L 的 miRNA-21。此外,氧化石墨烯<sup>[54-55]</sup>、二硫化钼(MoS<sub>2</sub>)<sup>[56]</sup>等二维纳米材料也常与 AuNP 联合用于 SPR 传感器信号的放大,这种放大的实现常常基于石墨烯等材料带来的更大质量的负载,或是基于二维纳米材料的大比表面积来连接大量 AuNP。Wu 等<sup>[57]</sup>设计了基于过渡金属碳化物 Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>-MXene 的 SPR 传感器,该传感器采用多壁碳纳米管(MWCNTs)-聚多巴胺(PDA)-AgNP 作为信号增强剂。如图 9(b)所示, Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>-MXene 是一类新的二维(2D)过渡金属碳化物,具有较大的表面积,可负载致密的 AuNP 并使其不聚集。传感芯片表面捕获的 MWCNTs-PDA-AgNP 纳米共轭物可以有效地提高传感芯片表面介质的折射率,同时,纳米共轭物上的 AgNP 与底层 AuNP、金膜之间的电磁耦合也可以放大响应信号。整个传感结构的协同效应可使灵敏度显著提高,为癌胚抗原(CEA)的测定提供了  $2 \times 10^{-16} \sim 2 \times 10^{-8}$  mol/L 的动态范围,检测限为 0.07 fmol/L。

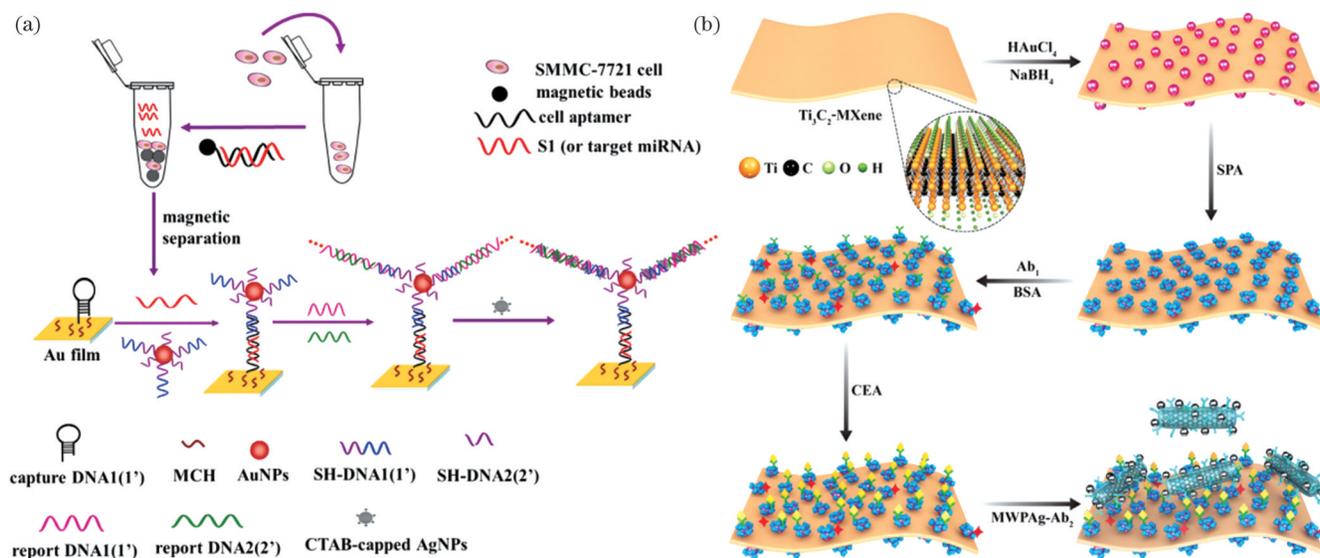


图 9 基于多重放大策略的检测方法。(a) 基于超级三明治结构检测 miRNA 的示意图<sup>[53]</sup>; (b) 基于过渡金属碳化物 MXene 的二维 SPR 生物传感器的检测流程<sup>[57]</sup>

Fig. 9 Detection method based on multiple amplification strategy. (a) Schematic diagram of miRNA detection based on super sandwich structure<sup>[53]</sup>; (b) schematic showing the detection procedure of the 2D MXene-based SPR biosensor<sup>[57]</sup>

与其他贵金属相比, AgNP 具有更强的 SPR 吸收峰强度和更高的消光系数,同时具有独特的光学性质、高催化活性和高双电层电容。但是 AgNP 的稳定性较差,易被氧化,容易在溶液中聚集,而且生物相容性较差,在生物分子检测的应用方面受到了限制。因

此,如何避免 AgNP 在溶液中被氧化是将 AgNP 应用到传感器中的关键。Mahmudin 等<sup>[58]</sup>的研究表明,在用化学还原法制备 AgNP 时,加入稳定剂如聚乙烯醇(PVA)可以使合成的 AgNP 的吸收光谱曲线变尖,产生较窄的吸收带,并可使其具有良好的分散性。他们

将采用该方法制备得到的 AgNP 应用在 SPR 传感器上,引起了更大的 SPR 共振角偏移和反射率。AgNP 的形状、尺寸同样影响着 SPR 信号的放大。Park 等<sup>[59]</sup>研究了不同形状的银纳米板(如圆形纳米盘、五边形纳米板和三角形纳米板)在增强 SPR 传感器中的作用,并证明了非圆形可以比圆形提供更大的增强,这归因于非圆形的锋利边缘带来的更大的局部场增强。此外,AgNP 也被用作夹心结构来增强 SPR 传感。2021 年,Wu 等<sup>[60]</sup>开发了一种基于表面等离子体共振成像 (SPRi) 的生物传感器,该传感器利用 Au-

on-Ag 异质结构和 DNA 四面体框架(DTF)同时检测临床样本中与多种非小细胞肺癌(NSCLC)相关的外泌体 miRNA。如图 10 所示,外泌体 miRNA 被固定在金阵列芯片上的各种 DTF 探针捕获,随后,单链 DNA(ssDNA)功能化银纳米立方(AgNC)与捕获的外泌体 miRNA 杂交,再将 ssDNA 包被的 AuNP 组装在 AgNC 表面形成 Au-on-Ag 异质结构,便可实现 SPR 响应的放大。该生物传感器具有 2 fmol/L~20 nmol/L 的宽检测范围以及 1.68 fmol/L 的超低检测限。

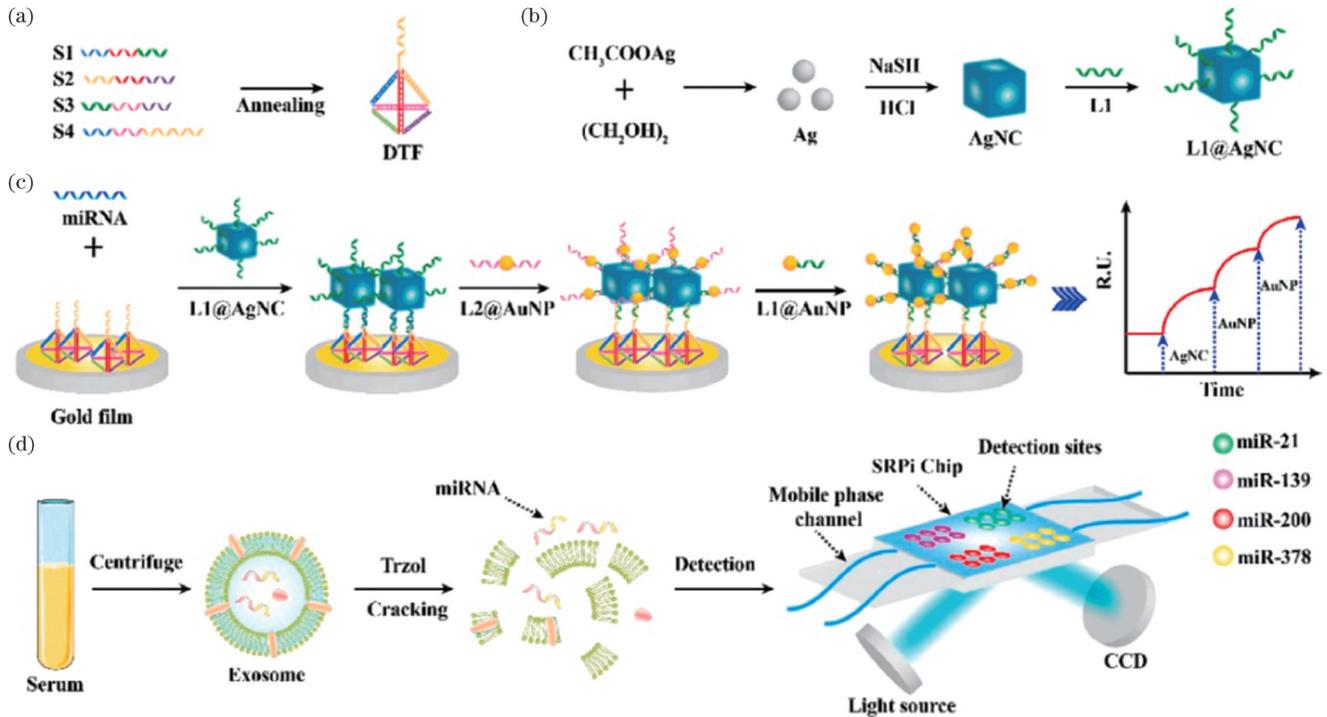


图 10 使用 SPRi 生物传感器检测外泌体 miRNA 的示意图<sup>[60]</sup>。(a)DTF 的自组装;(b)ssDNA 功能化 AgNC 的合成;(c)SPRi 芯片上 Au-on-Ag 异质结构的自组装;(d)外泌体 miRNA 的提取和检测

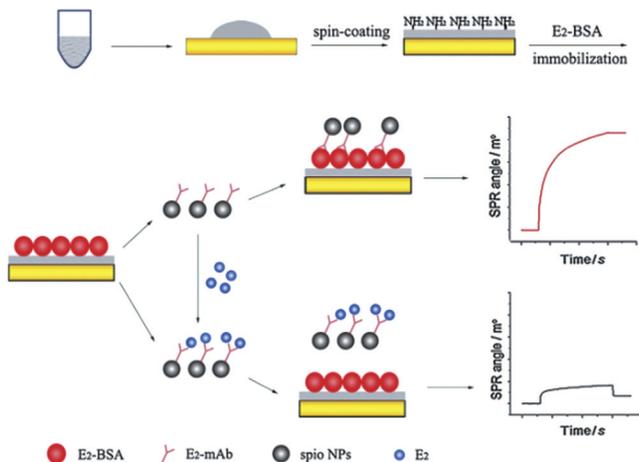
Fig. 10 Schematic diagram of the exosomal miRNA detection using SPRi biosensor<sup>[60]</sup>. (a) Self-assembly of DTF; (b) synthesis of ssDNA-functionalized AgNC; (c) self-assembly of Au-on-Ag heterostructures on the SPRi chip; (d) extraction and detection of exosomal miRNA

在最近的研究中,AgNP 同样被用于与石墨烯等二维纳米材料联合实现 SPR 信号的多重放大。例如,Nangare 等<sup>[61]</sup>提出了一种壳聚糖介导的氧化石墨烯修饰的 SPR 生物传感器,用于  $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )的高灵敏度检测。他们采用成熟果实外壳提取液还原 AgNO<sub>3</sub> 制备了 AgNP,并使用壳聚糖(CS)阳离子聚合物和聚苯乙烯磺酸盐(PSS)阴离子聚合物在 AgNP 表面逐层构建了 AgNPs-CS-PSS-CS 组装体。CS 层表面大量的氨基为抗 A $\beta$  抗体固定化提供了大量的位点、特定的方向和高选择性。通过碳二亚胺化学法将合成的氧化石墨烯(GO)固定在胺修饰的镀金传感器芯片上,然后在活化的 GO 表面固定抗 A $\beta$  抗体修饰的 AgNPs-CS-PSS-CS,由此便可构成检测 A $\beta$  的传感器。该传感器信号放大主要源于以下几个因素:1) 氧化石

墨烯纳米片具有更大的表面积和更好的固定能力;2) 聚电解质修饰的致密的 AgNP 具有丰富的结合位点来定向固定抗 A $\beta$  抗体;3) 金涂层和高质量密度 AgNPs-CS-PSS-CS@抗 A $\beta$  抗体共轭导致的电磁耦合。这些因素往往是设计 SPR 传感器时需要用到的。2022 年,Wu 等<sup>[62]</sup>将抗 SARS-CoV-2 刺突 S1 蛋白修饰的 PDA-AgNP 纳米杂化物作为夹心法中的放大标签,采用设计的 Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>-MXene 纳米片修饰的传感平台实现了对 S1 蛋白的高灵敏度检测。合成的 PDA 纳米球用来吸附 AgNP,同时通过席夫碱反应固定抗体。基于 Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>-MXene 纳米片和 PDA-AgNP-抗 S1 蛋白形成的传感器,对 S1 蛋白的检测范围为 0.0001~1000 ng/mL,检测限为 12 fg/mL,在 SARS-CoV-2 的早期诊断和筛查中具有潜在的应用前景。

## 4.1.2 磁性纳米颗粒

磁性纳米颗粒(MNPs)具备与 AuNP 相似的尺寸,高的比表面积使得 MNPs 具有用于各种化学反应的高表面能。此外,MNPs 可采用通用的表面改性方法进行改性,从而允许人们方便地将所需的生物分子偶联在其表面。与其他纳米颗粒相比,MNPs 的优点是生产成本低,其所具有的磁性使其能够有效地从溶液中分离出待检测的分析物,并可以通过磁场调控吸附于传感器表面而无需其他连接物。因此,具备高相对分子质量、高折射率、高磁性和低成本的 MNPs 引起了研究人员的极大关注,将其应用于增强 SPR 检测。对于 SPR 信号的放大方法,研究人员大多选择夹心法,MNPs 也不例外<sup>[63-64]</sup>。Zhao 等<sup>[65]</sup>基于适体功能化 AuNP(GNP-Apt)和抗体修饰磁等离子体纳米颗粒(MNPs-Ab)构建了 SPR 传感器,并用其对 B 型利钠肽(BNP)进行了检测。在 BNP 存在时,可形成 MNP-Ab/BNP/GNP-Apt 纳米共轭物,该共轭物可通过磁铁从复杂样品中快速分离出来。分离后的纳米共轭物通过 DNA 互补配对连接到传感器表面完成检测。该传感器对 BNP 的动态检测范围为 100 fg/mL~10 ng/mL,检出限为 28.2 fg/mL,可成功检测临床样品中的 BNP。2018 年,Jia 等<sup>[66]</sup>基于间接竞争法开发了一种以 MNP 为放大元件的增强型 SPR 生物传感器系统,并将其用于实时测定雌二醇(E<sub>2</sub>)。通过蛋白 A 将抗雌二醇单克隆抗体(E<sub>2</sub>-mAb)与 MNPs 偶联用于信号放大,可以提高检测灵敏度。用戊二醛将抗原(E<sub>2</sub>-BSA)固定在旋涂有壳聚糖的传感器芯片表面,如图 11 所示,在检测过程中,E<sub>2</sub>-BSA 和样品中的 E<sub>2</sub> 将竞争与 E<sub>2</sub>-mAb-MNPs 的结合。由于 E<sub>2</sub> 阻止了 E<sub>2</sub>-mAb-MNPs 和 E<sub>2</sub>-BSA 的结合,所以在 E<sub>2</sub> 存在的情况下 SPR 响应降低。换句话说,SPR 传感器响应与 E<sub>2</sub> 浓度成反比。Jia 等对掺入 E<sub>2</sub> 的牛奶样品进行了检测,结果显示:在 1.95~2000 ng/mL 范围,SPR 传感器响应与 E<sub>2</sub> 浓度之间的线性关系良好,检

图 11 E<sub>2</sub> 检测示意图<sup>[66]</sup>Fig. 11 Schematic diagram of estradiol detection<sup>[66]</sup>

测限(LOD)为 0.81 ng/mL。在 SPR 传感器的应用方面,磁性等离子体纳米颗粒(MagPlas NP)相比于 MNP 受到了更多关注,因为它同时具有贵金属等离子体材料的等离子体共振特性和磁性材料的磁性<sup>[64,67]</sup>。2021 年,Huang 等<sup>[68]</sup>利用磁场辅助诱导 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 包裹的 AgNPs(Ag@MNPs)在金膜表面组装纳米链(M-Ag@MNPs),以此构成传感器,并用该传感器检测了唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素(Siglec-15)。实验证明,M-Ag@MNPs 修饰的传感器与传统的裸金传感器相比,显示出了更高的折射率灵敏度,提高了检测精度和质量因数。在相同浓度的 Siglec-15 下,M-Ag@MNPs 传感器的 SPR 角度偏移显著高于传统金传感器。M-Ag@MNPs 传感器对 Siglec-15 的检测限为 1.36 pg/mL。

## 4.1.3 二维纳米材料

二维纳米材料具有优异的光电性能和表面性质,在生物传感方面表现出非凡的性能。典型的二维纳米材料包括碳纳米材料、WS<sub>2</sub>、MoS<sub>2</sub>、SnSe、黑磷等。二维纳米材料增强 SPR 传感主要表现在以下 4 个方面<sup>[69]</sup>:(a) 二维纳米材料具有大比表面积和丰富的官能团,为活性生物分子提供了大量连接位点;二维纳米材料通过  $\pi$ - $\pi$  堆积相互作用,与具有芳香环的蛋白质和核酸的结合能力较强<sup>[70]</sup>。(b) 石墨烯、过渡金属二卤化物等可以防止银等活性等离子体金属被氧化。(c) 二维纳米材料层与金属薄膜之间的功函数不同;二维纳米材料具有较高的载流子迁移率,可以增强界面电场,同时能加速等离子体金属与探针分子之间的电荷转移,从而提高等离子体传感器的灵敏度。(d) 二维纳米材料的厚度易于控制,这使得等离子体传感器的性能可以进行精细调整。

石墨烯等碳纳米材料作为一类极为重要的二维纳米材料,具有优异的光学、力学、电学特性,在材料、电气、能源、生物等领域被广泛应用,近年来在 SPR 传感增强方面的应用日益增多。2010 年,Wu 等<sup>[71]</sup>首次从理论上证明了将石墨烯沉积在传感器金膜表面可以增强 SPR 信号。他们发现石墨烯的光学吸收特性和生物分子吸附会导致 SPR 信号增强,并通过模拟发现灵敏度与石墨烯涂层的层数成正比,10 层石墨烯传感器的灵敏度相比于传统金膜 SPR 生物传感器提高了 25%。在使用氧化石墨烯(GO)等检测 DNA 时,了解二者的结合能力十分重要。Xue 等<sup>[72]</sup>发现单链 DNA(ssDNA)与 GO 表面的结合能力明显高于双链 DNA(dsDNA)。他们通过实验发现 GO 与 ssDNA 之间的相互作用主要是氢键作用,而 dsDNA 与 GO 的结合主要与  $\pi$  堆叠力及疏水相互作用有关。因此,Xue 等采用间接竞争法来检测 ssDNA,如图 12(a)所示,向修饰有 GO 的传感器中加入耦联 ssDNA 的 AuNP(AuNP-ssDNA)以及相配对的 ssDNA(csDNA),与 csDNA 结合的 AuNP-ssDNA 将游离于溶液中,而未结合的另一

部分 AuNP-ssDNA 将吸附于 GO 上形成可测量的信号, 所检测的目标 csDNA 与结合在 GO 表面上的 AuNP-ssDNA 的数量成反比。该传感器通过 AuNP 放大 SPR 信号, 对目标 csDNA 的检测限为 10 fmol/L。Hu 等<sup>[73]</sup>采用金属涂层倾斜光纤布拉格光栅 (TFBG) 传感器来检测多巴胺, 光纤表面修饰了单层石墨烯。TFBG 传感器提供了高密度窄包层模式谱梳的额外谐振机制, 与 SPR 更宽的吸收谱重叠, 可以实现高精度

检测。如图 12(b) 所示, 首先通过  $\pi-\pi$  堆积作用和氢键将适体 ssDNA 结合到石墨烯表面, 当多巴胺存在时, ssDNA 适体构象从随机柔性结构转变为刚性茎环结构。ssDNA 适体构象的变化会显著改变 ssDNA 与等离子体能量场之间的有效重叠面积, 因此将诱导更大的等离子体相位和 SPR 光谱变化。该传感器在  $10^{-13} \sim 10^{-8}$  mol/L 范围内对多巴胺浓度显示出线性响应。

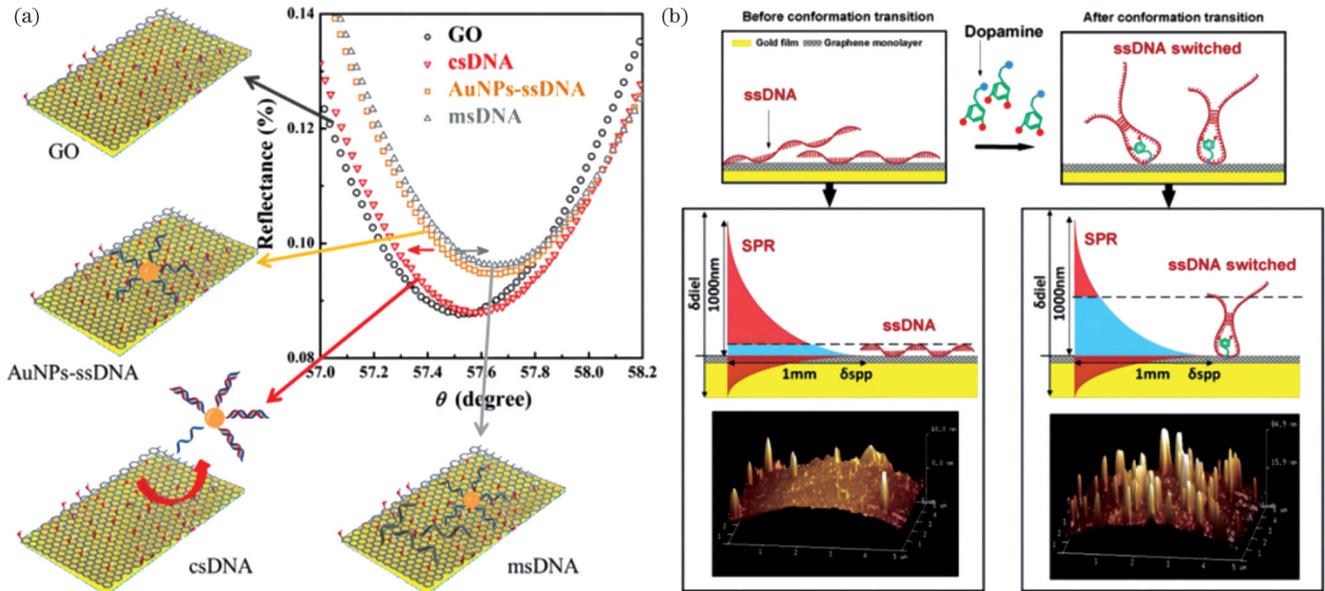


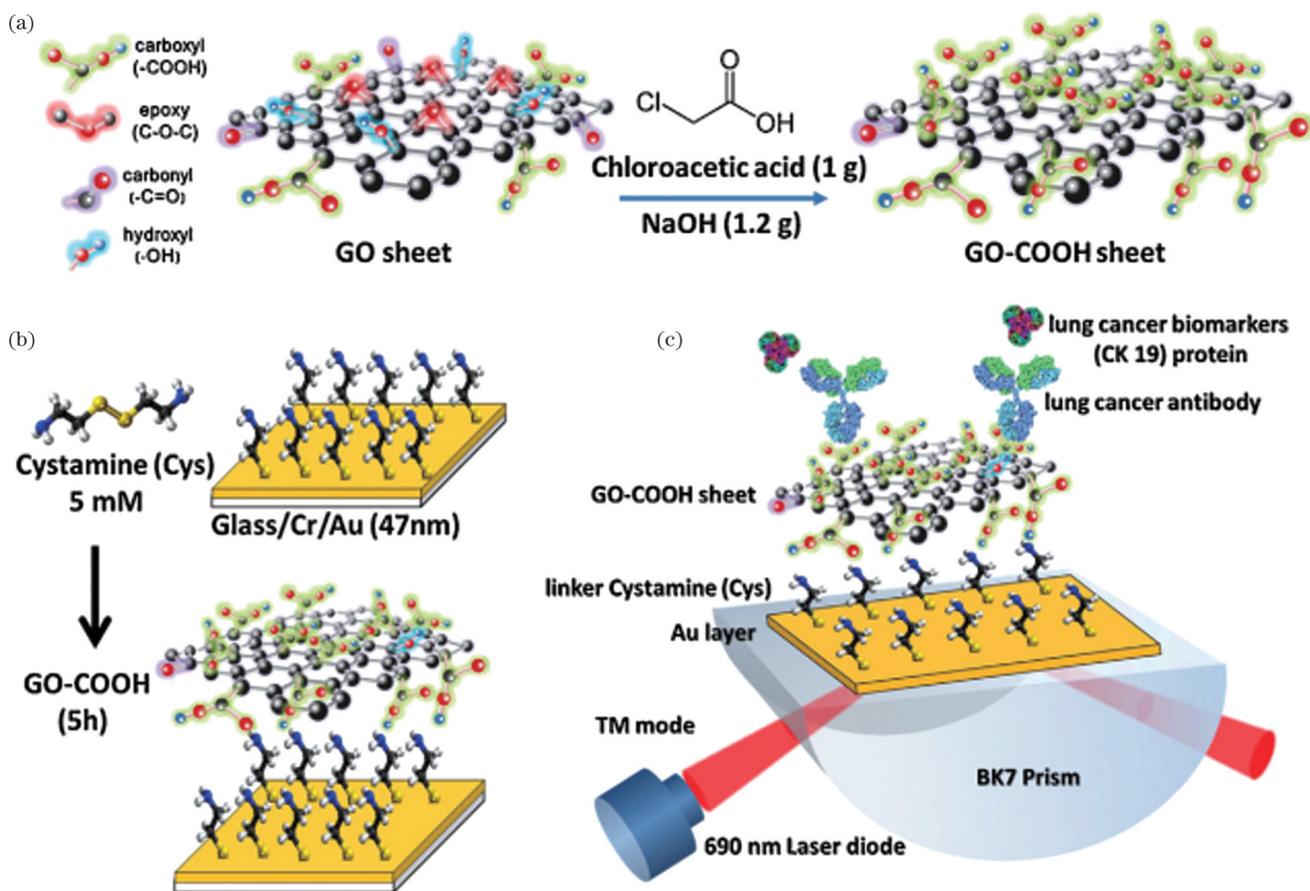
图 12 基于石墨烯增敏的 SPR 传感器。(a) 基于 ssDNA、dsDNA 与 GO 结合能力差异的 SPR 传感器<sup>[72]</sup>; (b) 基于适配体的多巴胺传感机制示意图 (多巴胺的存在导致 ssDNA 适配体的构象发生变化)<sup>[73]</sup>

Fig. 12 SPR biosensor based on graphene sensitization. (a) SPR sensor based on the difference between ssDNA and dsDNA when binding with GO<sup>[72]</sup>; (b) schematic diagram of dopamine sensing mechanism based on aptamers (the presence of dopamine leads to conformational changes in ssDNA aptamers)<sup>[73]</sup>

除了利用石墨烯与 DNA 间的氢键和  $\pi-\pi$  堆积作用等进行检测外, 石墨烯也被用于蛋白质等其他生物分子的检测<sup>[74]</sup>。He 等<sup>[75]</sup>在石墨烯修饰的金膜上通过  $\pi-\pi$  堆积作用吸附叶酸受体对血清中的叶酸蛋白 (FAP) 进行了检测。石墨烯在方便人们耦联含芳香环的生物分子受体的同时, 也会吸附检测溶液中的其他生物分子, 造成非特异性吸附, 影响实验结果。He 等通过预先将人血清、牛血清白蛋白混合物 (HS:BSA) 吸附到叶酸修饰的传感器上, 获得了高度抗污染的界面, 同时该传感器还保持了对 FAP 的传感能力。该传感器最终的检测限为 5 fmol/L, 线性检测范围相对较小, 这可能是由于防污 HS:BSA 混合物阻断了叶酸受体的结合。羧基功能化氧化石墨烯 (GO-COOH) 为蛋白类抗原的固定提供了一条重要途径, 同时 GO 的功能化使其具有更强的导电性。Chiu 等<sup>[76]</sup>提出了一种基于 GO-COOH 的 SPR 芯片, 它可通过对血清中细胞角蛋白 19 (CK 19) 的定量分析来检测非小细胞肺癌。Chiu 等通过实验证明了 CK 19 抗体与 CK 19 之间相互作用的动力学结合特

异性, 并证明了金膜上 COOH 修饰的 GO 片不仅可以增强 SPR 传感器表面的电场强度, 而且与传统的裸金 SPR 芯片相比对 CK 19 具有更高的检测灵敏度。如图 13 所示, 通过将低质量浓度 (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的 CK 19 抗体固定在 SPR 芯片上, 最低可检测质量浓度低至 0.05  $\text{pg}/\text{mL}$  的 CK 19, 该值远低于血清蛋白的正常生理水平 (3.3  $\text{ng}/\text{mL}$ )。2021 年, Mao 等<sup>[77]</sup>设计了三功能的多肽 (M-Pep), 并采用石墨烯修饰的金芯片来检测外泌体中的 PD-L1。他们设计的多肽含三个功能域, 即石墨烯组装、防污、PD-L1 特异性结合域。多肽通过  $\pi$  键作用实现与石墨烯的非共价结合, 防污结构域上的亲水残基可以阻止其他蛋白的非特异性结合, PD-L1 识别结构域被证明能够快速且高特异性地检测外泌体中 PD-L1 外的结构域。该传感器集防污、结合、识别功能于一体, 在没有使用信号放大的情况下, 实现了对 PD-L1 的高灵敏检测 (LOD: 20 particle/mL)。

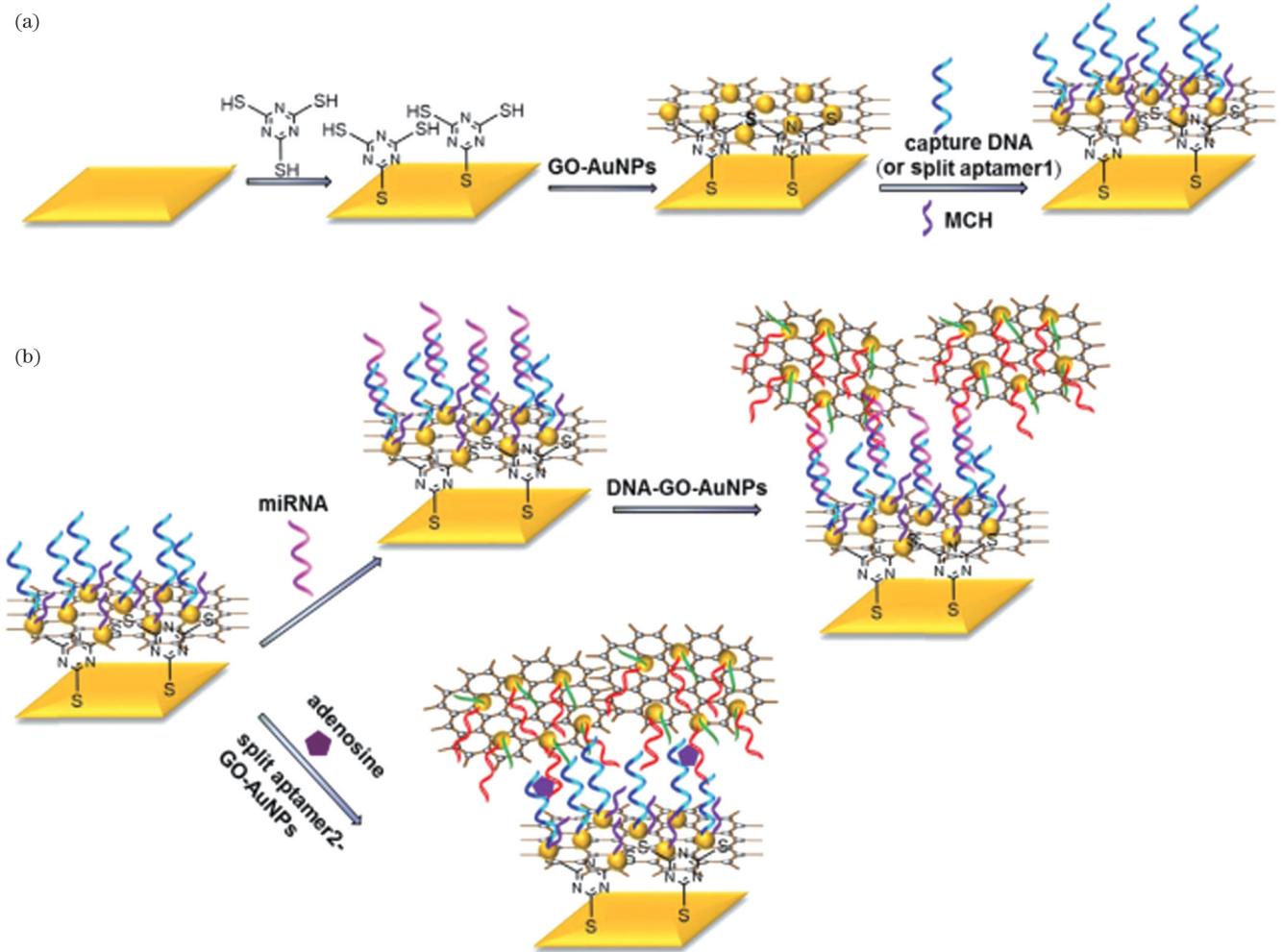
除了将石墨烯直接沉积在金属衬底上作为传感层外, 石墨烯还可以作为 SPR 传感器的放大标签<sup>[54]</sup>。

图 13 基于羧基化的氧化石墨烯检测 CK 19<sup>[76]</sup>Fig. 13 CK 19 detection with carboxylated graphene<sup>[76]</sup>

Chen 课题组<sup>[78]</sup>基于催化发夹效应 (CHA) 和作为放大标签的 AuNP-还原氧化石墨烯 (rGO), 开发了一种新型的光纤 SPR 传感器。他们根据目标 DNA, 设计了部分互补的发夹 HP1 和 HP2, HP1 和 HP2 分别被固定在光纤金膜表面和 AuNP-rGO 上。当目标 DNA 存在时, 它将打开 HP1 的发夹结构并与之结合, 同时 HP1 新暴露的黏性端通过与 HP2 的黏性端反应触发第二个 CHA; 然后, 目标 DNA 被释放, 并触发下一个 HP1-HP2 结合, 从而产生多个信号输出。值得一提的是, 上述发夹 HP1 和 HP2 互补的部分设计了两个碱基的错配, 这一设计有效防止了 HP1 和 HP2 之间在没有靶标情况下的自发反应, 提高了信噪比, 同时提高了 HP2 对目标 DNA 的替换效率。该传感器通过金膜表面的 AuNP-rGO 数量反映目标 DNA 的数量, 检测限可达 12 pmol/L。Li 等<sup>[79]</sup>采用两层 GO-AuNPs 复合材料来检测 miRNA 和小分子腺苷。如图 14 所示, 与 Chen 课题组的方法类似, Li 等同样采用 GO-AuNPs 作为放大标签, GO 片表面 AuNP 的表面等离子体通过近场中的能量转移被共振激发, 产生强的局部电磁场, 从而增强 SPR 响应。同时, GO 片表面 AuNP 的高质量密度和介电常数也改善了 SPR 响应。不同的是, Li 等在金膜表面修饰了一层 GO-AuNPs, 由于其具有高的比表面积, 可以固

定更多的 DNA 分子, 因而可以实现更低的检测限 (0.1 fmol/L)。虽然石墨烯的大比表面积、优异的电荷转移能力、 $\pi-\pi$  堆叠相互作用、易于功能化等优点为 SPR 信号放大提供了便利, 但是在复杂的检测环境下, 也需要时刻注意石墨烯带来的非特异性吸附的影响。

石墨烯对 SPR 信号的增强主要源于其大比表面积、优异的电荷转移能力和  $\pi-\pi$  键堆积作用。有研究表明<sup>[71,80]</sup>, 随着传感器石墨烯沉积层数的增加, 灵敏度逐渐增强, 在层数达到约 10 层时灵敏度达到最大值。但即使 SPR 衬底上有如此厚的石墨烯层, 灵敏度增强因子也仅从 1.25 增大到 2。这主要是因为石墨烯的光学吸收较低 (约为 2.3%), 以至于不能吸收足够的能量来促进石墨烯和金属薄膜之间的有效电荷转移。二硫化钨 (WS<sub>2</sub>)、二硫化钼 (MoS<sub>2</sub>)、MXene 等二维纳米材料不仅具有更高的光学吸收能力, 还具有大比表面积、高折射率等优异的物理性质, 受到了研究人员的广泛关注。如图 15 所示, Zeng 等<sup>[80]</sup>使用石墨烯-MoS<sub>2</sub> 混合结构开发了一种新型的基于相位调制的 SPR 传感器, 其灵敏度比传统 SPR 传感器高 500 倍。与传统 SPR 传感器相比, MoS<sub>2</sub> (5%)、石墨烯 (2.3%) 的光学吸收效率和 Au 膜的更高功函数将增强电子转移, 从而提高传感器的性能。

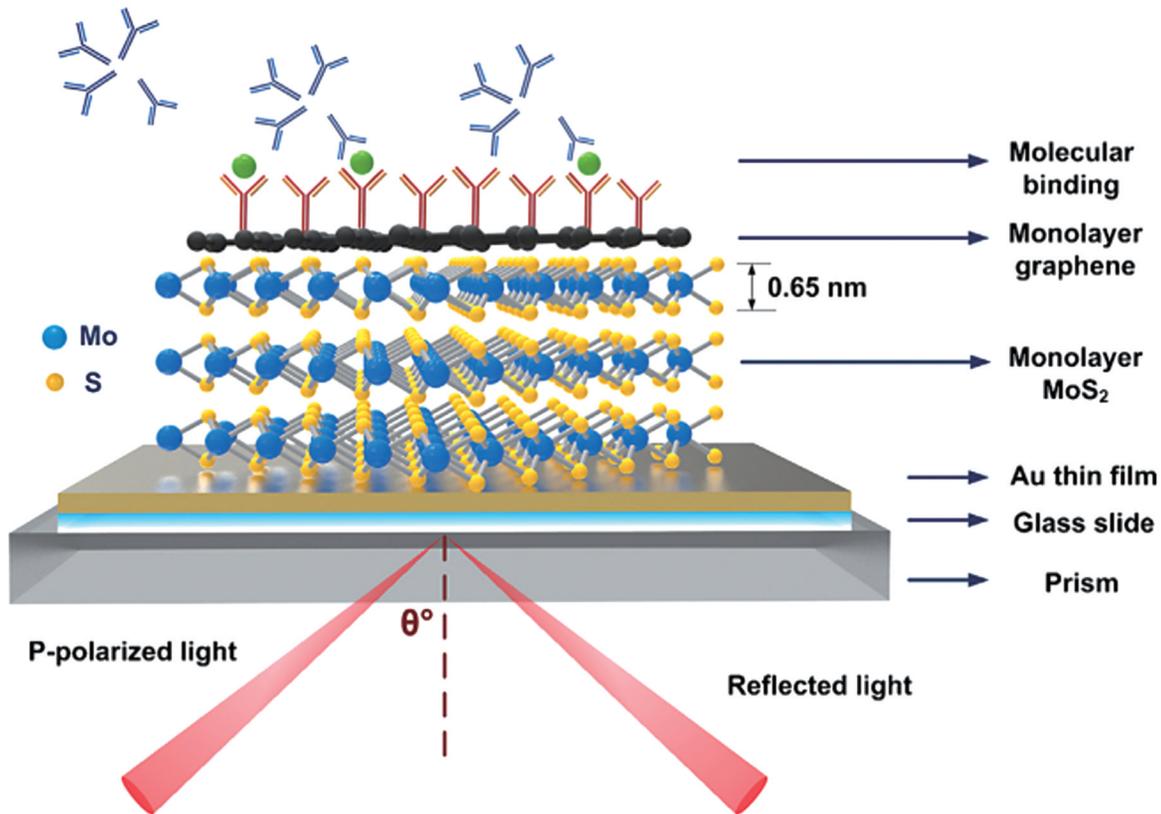
图 14 基于 GO-AuNPs 复合材料的 SPR 传感器示意图<sup>[79]</sup>Fig. 14 Schematic illustration of the SPR biosensor based on GO-AuNPs composites<sup>[79]</sup>

Zeng 等证明了相位调制比角度调制更灵敏,同时他们通过增加 MoS<sub>2</sub> 层数发现三层 MoS<sub>2</sub> 优化的传感器具有最佳的检测性能。Chen 等<sup>[81]</sup>研究了沉积 MoS<sub>2</sub> 纳米片对 SPR 传感器信号的影响。相比于用单层连续的 MoS<sub>2</sub> 大范围涂覆金属衬底,物理沉积 MoS<sub>2</sub> 无疑是更为简单的方法。Chen 等发现,随着沉积循环次数增加,灵敏度先增加后下降。沉积两层 MoS<sub>2</sub> 纳米片时,可以获得 2793.5 nm/RIU 的最大灵敏度;沉积 MoS<sub>2</sub> 纳米片超过两层时,由于倏逝场传播长度减小,灵敏度逐渐降低。

Chiu 等<sup>[82]</sup>将羧基功能化的 MoS<sub>2</sub> 修饰在 SPR 芯片上,用于检测肺癌相关生物标志物 CK 19 片段 (CYFRA21-1) 和胎儿唐氏综合征生物标志物妊娠相关血浆蛋白 A2 (PAPP-A2)<sup>[83]</sup>。Chiu 等的实验证明了羧基功能化可以提高 MoS<sub>2</sub> 的导电性和电子转移速率,从而增强了芯片表面的电场强度。基于羧基化 MoS<sub>2</sub> 的 SPR 芯片具有特异性三维配位位点的优势,不仅为抗体的结合提供了更多位点,还显著提高了结合亲和力和灵敏度。Chiu 等设计的羧基化 MoS<sub>2</sub> 对两种疾病标志物的检测限均为 0.05 pg/mL,优于传统的酶联免

疫吸附试验 (ELISA), 具有广泛的适用性。值得一提的是,Chiu 等发现在运行缓冲液中添加牛血清蛋白 (BSA)、NaCl、Tween-20 可以有效降低非特异性吸附对 SPR 检测的影响。BSA 和 Tween-20 可以破坏离子和疏水性生物分子的表面键,而 NaCl 可以破坏蛋白质与羧基表面之间的电荷相互作用,从而减少非特异性结合。

MoS<sub>2</sub>、WS<sub>2</sub> 等材料由于其中的硫与汞之间存在较强的软-软相互作用,对 Hg<sup>2+</sup> 的吸附能力较强,是 Hg<sup>2+</sup> 传感的理想候选材料。Xue 等<sup>[84]</sup>通过静电吸附法制备了在芯片表面形成超结构的 MoS<sub>2</sub> 传感层,超结构 MoS<sub>2</sub> 的层间间距为 9.4 Å,是传统 MoS<sub>2</sub> 材料的 3 倍多。MoS<sub>2</sub> 中较大的层间距和大量的不饱和键,促进了 Hg<sup>2+</sup> 的传输和吸附,提高了 SPR 传感器的灵敏度。2021 年, Liu 等<sup>[85]</sup>使用化学气相沉积法生长了富含晶界 (GB) 的多晶单层 WS<sub>2</sub> 薄膜,生长的 WS<sub>2</sub> 晶粒的平均尺寸仅为 40 nm,并通过大量的 GB 拼接在一起。高表面密度的 GB 提供了丰富的结构缺陷或活性硫位点,通过形成 S—Hg 键来有效吸收 Hg<sup>2+</sup>,从而促进了基于 GB 的 SPR 传感器对 Hg<sup>2+</sup> 的检测。Liu 等设计的基于

图 15 石墨烯-MoS<sub>2</sub>增强 SPR 生物传感器示意图<sup>[80]</sup>Fig. 15 Schematic diagram of graphene-MoS<sub>2</sub> enhanced SPR biosensor<sup>[80]</sup>

多晶 WS<sub>2</sub>(MoS<sub>2</sub>)薄膜的 SPR 传感器对 Hg<sup>2+</sup> 有着极高的特异性和灵敏度,检测限为 1 amol/L。同年, Liu 等<sup>[86]</sup>拓展了基于富含 GB 的 SPR 传感器的应用,实现了对新型冠状病毒代表性 RNA 序列(RdRp、ORF1ad 和 E)的高灵敏检测,检测方法如图 16 所示。多晶 WS<sub>2</sub>(MoS<sub>2</sub>)薄膜中高密度的 GB 具有较高的能量活性,为 AuNPs 的生长提供了大量活性位点。AuNPs 不仅可以作为连接剂耦联 DNA 探针,还可以通过 LSPR 耦合来提高检测灵敏度。用相应的 DNA 探针修饰富含 GB 的 WS<sub>2</sub>薄膜后进行检测,结果显示,对三种 RNA 序列的检测限均可达到 0.1 fmol/L。Liu 等开发的基于富含 GB 的传感器为基于二维纳米材料的 SPR 检测提供了一种新途径。

除了石墨烯、MoS<sub>2</sub>、WS<sub>2</sub>之外,其他二维纳米材料如 MXene<sup>[57, 87]</sup>、黑磷(BP)<sup>[88]</sup>等也被用在 SPR 传感器表面作为增强传感层。Yang 等<sup>[89]</sup>提出了一种由 Ta<sub>2</sub>C/MXene(Ta<sub>2</sub>C-M)修饰的金涂层倾斜光纤布拉格光栅(TFBG)SPR 传感器。Ta<sub>2</sub>C-M 具有优异的载流子转移能力,而且其表面有大量的亲水性官能团。Ta<sub>2</sub>C-M 修饰的传感器的灵敏度相比修饰前提高了 23.3%,其对两种致癌食品添加剂糖精和 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)的检测限为 10<sup>-11</sup> mol/L。Wang 等<sup>[90]</sup>将二维金属有机框架材料(MOF)应用于 SPR 传感增强。合成的 Cu-TCPP(四卟啉)二维 MOF 纳米片中的卟啉分子具有  $\pi$  堆积电活性,可以在 MOF 结构中进行电荷运输,

因而具有良好的电子迁移率。Cu-TCPP 优异的光电特性以及其自身与金膜 SPW 的耦合增强了传感器表面的电场,使其对折射率变化更为敏感。2021 年, Wang 等<sup>[40]</sup>用原子薄的 Ge<sub>2</sub>Sb<sub>2</sub>Te<sub>5</sub>(GST)作为敏化层,开发了一种基于相位奇异性的 SPR 传感器。GST 材料在可见光和近红外区域的吸收率高于石墨烯、MoS<sub>2</sub>和 WS<sub>2</sub>等其他二维材料, Wang 等通过调节 GST 的厚度(2 nm)实现了等离子体共振的零反射。与强度或波长的温和变化不同,当反射几乎为零时,光学相位会发生急剧变化,进而诱导巨大的横向位置漂移(古斯-汉森位移)。作为相位高阶信号的古斯-汉森位移被发现比近年来报道的其他信号模态要大得多,可将 SPR 传感器的灵敏度提高几个数量级。Wang 等开发的相位奇异的 SPR 传感器是一类极为灵敏的检测器,可检测到的最大古斯-汉森位移为 341.90  $\mu$ m,灵敏度系数为 5.95  $\times$  10<sup>4</sup>  $\mu$ m/RIU,对肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$  的检测限为 10<sup>-15</sup> mol/L。2019 年, Xue 等<sup>[91]</sup>通过理论模型比较了石墨烯和锑烯与 ssDNA 和 dsDNA 的相互作用,结果发现锑烯与 ssDNA 之间的相互作用最强,且锑烯与 ssDNA 的相互作用比石墨烯与 ssDNA 的相互作用强得多。因此,以锑烯作为敏化层的 SPR 传感器具有比石墨烯作为敏化层的 SPR 传感器<sup>[72]</sup>更高的灵敏度。如图 17 所示, Xue 等优化了锑烯纳米片的层数(4 层),通过 ssDNA 与锑烯之间的强相互作用将 AuNR-ssDNA 复合物吸附到锑烯纳米片上。当加入互补目标 miRNA 后,由于双链 DNA

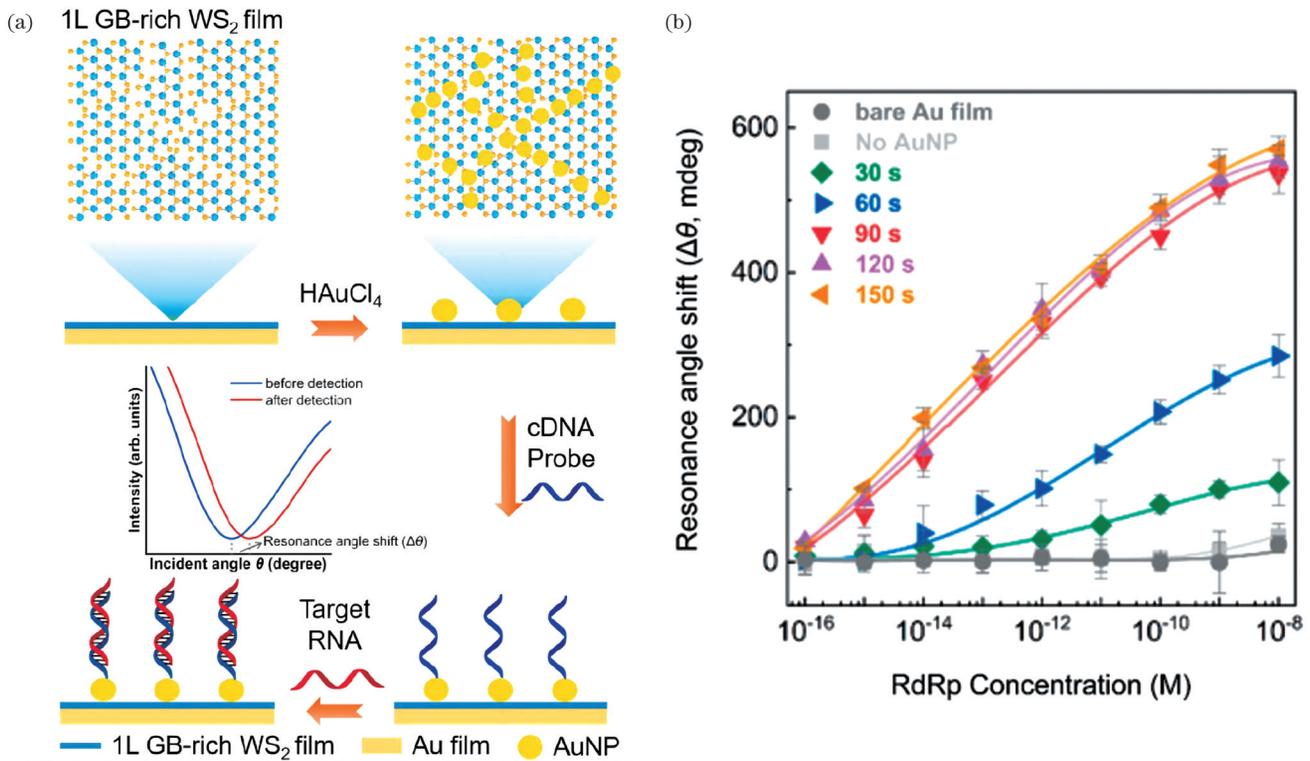


图 16 富含 GB 的单层 WS<sub>2</sub> 的 SPR 传感器<sup>[86]</sup>。(a) 示意图; (b) 对 RdRp 序列的检测结果  
Fig. 16 SPR biosensors based on 1L GB-rich WS<sub>2</sub> films<sup>[86]</sup>. (a) Schematic diagram; (b) the result of detecting RdRp

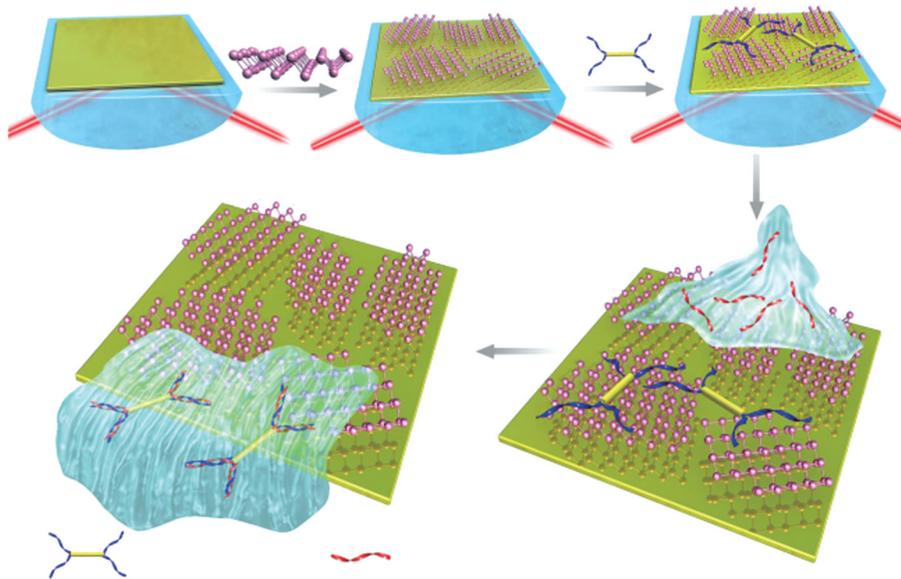


图 17 与锑烯纳米材料集成的 miRNA 传感器的制备和检测原理<sup>[91]</sup>  
Fig. 17 Fabrication and detection principle of an miRNA sensor integrated with antimonene nanomaterial<sup>[91]</sup>

与锑烯的亲合力较低, 杂交后的靶标从锑界面上解吸, 从而可以通过 SPR 信号的变化来反映目标 miRNA 的浓度。锑烯对 ssDNA 的高亲合力以及 AuNR 局域等离子体的共振耦合, 为传感器对 miRNA 或 ssDNA 的检测带来了极高的灵敏度, 检测限可达 10 amol/L。

#### 4.2 传感器结构优化增强 SPR 传感器

##### 4.2.1 Fabry-Pérot 腔

由于材料固有的损耗和加工的不均匀性等问题, 金属薄膜中存在辐射阻尼和能量损失, 导致 SPR 检

测装置的线宽较大。可以通过耦合 Fabry-Pérot (FP) 腔的方式来减小线宽。2010 年, Ameling 等<sup>[92]</sup>提出了一种增强局部等离子体激元传感器传感特性的方法, 该方法是基于纳米结构中的局域等离子激元与光子微腔的结合提出的。如图 18 所示, 金属纳米棒置于金属镜面上方布拉格距离处形成 FP 微腔, 构成耦合光子-等离子体系统。纳米棒的局域等离子激元共振和等离子激元激发时的相移对纳米棒周围材料的折射率变化极为敏感。与单纯的等离子体纳米棒相比,

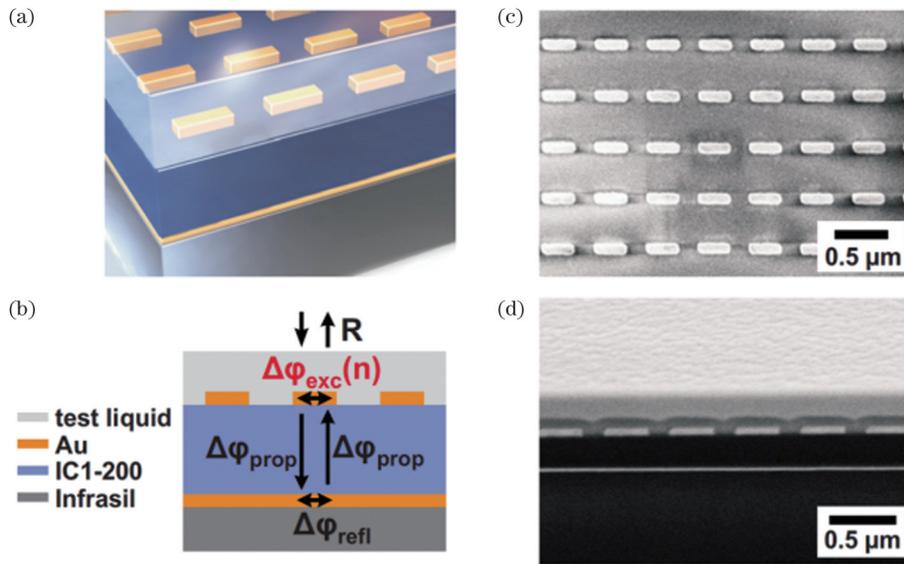


图 18 基于 FP 腔和金纳米棒的 SPR 检测装置<sup>[92]</sup>。(a) 纳米棒阵列与空腔相结合的示意图；(b) 电磁波在纳米棒-微腔结构中一次往返时发生的相移；(c) 裸露纳米棒的电镜照片；(d) 纳米棒位于金镜前布拉格距离处的电镜照片

Fig. 18 SPR detection device based on Fabry-Pérot cavity and AuNRs<sup>[92]</sup>. (a) Nanorods array combined with a cavity; (b) phase shifts occurring at one roundtrip of an electromagnetic wave in the nanorod-microcavity combination; (c) scanning electron microscopy picture of the bare nanorods; (d) scanning electron microscopy picture showing nanorods at Bragg distance in front of a gold mirror

耦合光子-等离子体系统通过 FP 共振缩小了半峰全宽 (FWHM), 并对微小的折射率变化表现出更灵敏的响应。

2020 年, Zeng 等<sup>[93]</sup>通过在光栅和金属薄膜之间添加间隔层, 研发了一种基于 FP 腔的硅光栅折射率生物传感器, 该传感器可以在红外区域产生较小的 FWHM 值。通过调整间隔层的厚度来优化反射率曲线的最小倾角, 使传感器的最大灵敏度达到了 1820 nm/RIU, 品质因数为 293.5 RIU<sup>-1</sup>。Liu 等<sup>[94]</sup>基于高反射光子晶体 (PC)、缺陷层和金膜构成了一个光子腔, 并在缺陷层中实现了 FP 共振。由于 FP 腔的 FWHM 窄化效应和场增强, 该传感器与传统的裸金传感器相比具有更高

的灵敏度和更尖锐的共振角。2021 年, Allison 等<sup>[95]</sup>基于 FP 腔, 将 SPR 传感器的光学信号转变成电信号, 简化了传感装置的结构和信号检测方式。传统 SPR 传感器的光学透明衬底被半透明非晶硅层取代, 该非晶硅层在金层和透明氧化锡 (ITO) 导电电极之间形成了吸收层。如图 19 所示, 当入射光在金膜处发生共振时, 入射光与金膜中的 SPW 耦合, 此时反射到硅层中的光强最小, 形成的光电流最小。当分析物特异性结合到传感表面时, 由于共振条件不再满足, 反射光形成的电流便会增大。金膜和 ITO 层形成的 FP 腔带来了更尖锐的共振峰, 同时硅层的加入使得 FP 腔形成了一个有效的光电转换器, 通过对应电流的变

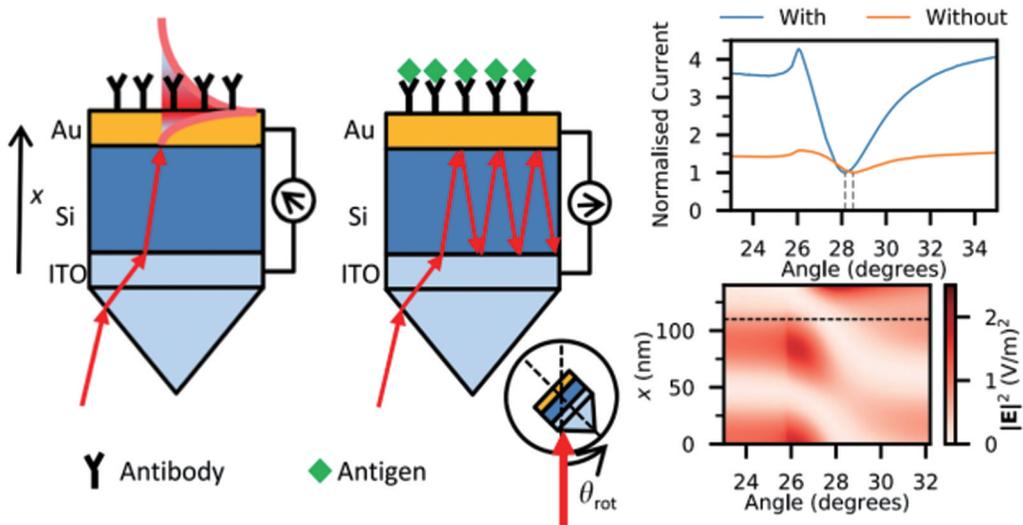


图 19 基于 FP 腔的 SPR 传感器检测示意图<sup>[95]</sup>

Fig. 19 Schematic diagram of SPR biosensor detection based on Fabry-Pérot cavity<sup>[95]</sup>

化即可实现对分析物如新型冠状病毒 S 蛋白的高灵敏检测 (LOD: 10 pg/mL)。Allison 等所构建的传感器不需要对共振角度或波长进行检测,因此装置不需要精密复杂的光学仪器,是构建便携式仪器的一种有效途径。

#### 4.2.2 纳米孔阵列

超常光学传输 (EOT) 现象是指当入射光通过具有规则排列和周期性重复的亚波长小孔的金属薄膜时,可在特定的波长下出现超常的光传输增强。1998 年, Ebbesen 等<sup>[96]</sup>在探索金属薄膜中亚微米纳米孔阵列的光学特性时发现,这样的纳米孔阵列在入射光波长大于阵列周期的情况下会显示出非常特异的零级透射光谱 (入射光和被探测光共线)。当波长为纳米孔直径的 10 倍时,可以观察到透射的尖峰,此时透射光强为入射光强的 2 倍,这比标准孔径理论预测的要大几个数量级。进一步的研究表明, EOT 现象的出现通常归因于光波在金属-介电界面上产生的 SPR 以及经由纳米孔产生的结构性衍射。当金属膜表面介质折射率发生改变时,透射光的尖峰位置发生改变。因此,基于纳米孔阵列的透射光谱,研究人员开发出了一系列传感器来检测生物分子<sup>[97]</sup>。

Kim 等<sup>[98]</sup>在三角形纳米孔径阵列上检测了链霉素和素-生物素的相互作用,验证了最大化局域光场与目标分子分布之间的空间重叠对信号增强的作用。他们通过光激发三角形纳米孔边缘或尖角区域的热点效应,蚀除了对应热点区域的阳性光刻胶。硫醇修饰的生物素被固定在对热点区域,使得局域光场与目标分子间的空间重叠最大化,相比传统的 SPR 传感器提

高了三个数量级以上的检测灵敏度。Kim 等的实验证明了非圆形纳米孔尖锐的角或边缘会带来增强的局域场,这一点与贵金属纳米颗粒类似。2020 年, Song 等<sup>[99]</sup>基于银纳米棒覆盖银纳米孔阵列设计了一种 SERS/SPR 双模生物传感器。他们用聚苯乙烯珠作为“掩膜”,得到了均匀排列的纳米孔阵列,并在芯片表面进一步生长了倾斜的银纳米棒 (AgNR), 由此得到的芯片具有优异的各向异性、超常光学传输和强局域表面等离子体共振。在他们的设计中, DNA 四面体探针被固定在 AgNR 上,同时使用 DNA 超级三明治传感策略,这两项措施实现了约 10 倍的 SPR 信号增强和约 4 倍的 SERS 信号增强。Song 等将其开发的传感器用于人血清中目标 DNA 的检测,结果显示 SERS 检测 (0.77 fmol/L) 相比于 SPR 阵列检测 (0.51 pmol/L) 有着更低的检测限,但 SPR 的特异性远高于 SERS,从而证明了多种检测方式的同时使用有利于提高传感器的整体性能。基于纳米孔阵列的传感器可以直接通过透射光进行检测,在临床化方面具有巨大潜力。2021 年, Huang 等<sup>[100]</sup>制备了一个直径为 220 nm、深度为 500 nm、周期为 440 nm 的锥形纳米杯阵列传感芯片。如图 20 所示,通过在金属膜表面和纳米金表面耦联新型冠状病毒 S 蛋白抗体,将耦联二抗的 AuNP 作为放大标签,实现了对 SARS-CoV-2 病毒颗粒的检测。该检测方法通过对 640 nm 处透射光强的检测,可以在 15 min 内检测到低至 370 vp/mL 的病毒浓度,透射光强与病毒浓度在 0~10<sup>7</sup> vp/mL 范围内具有良好的对数线性。在通用 96 孔板阅读器和手持智能手机连接设备上显示的测量结果表明,该低成本和快速检测方

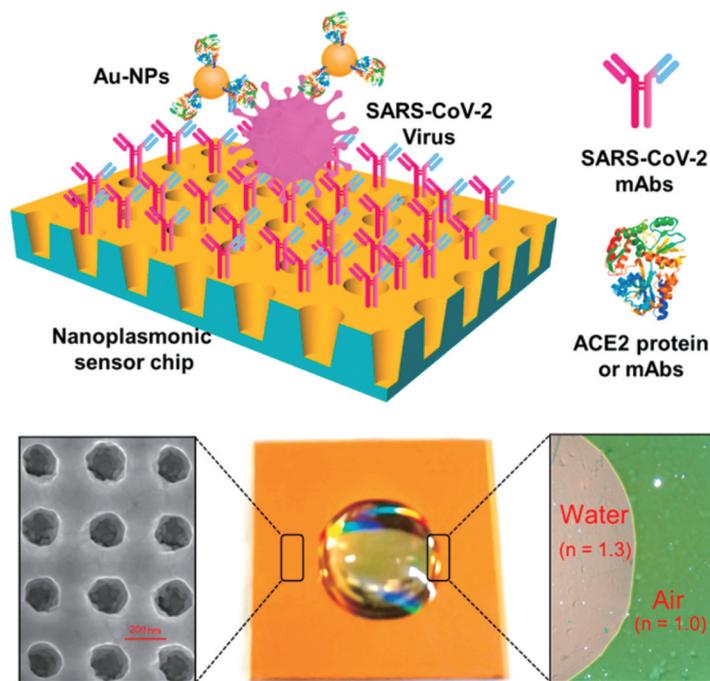


图 20 基于纳米孔的 SPR 传感器无标记检测 SARS-CoV-2 假病毒<sup>[100]</sup>

Fig. 20 Label-free detection of SARS-CoV-2 pseudovirus with an SPR sensor with nanopores<sup>[100]</sup>

法适用于常规临床环境和资源有限的场合。

## 5 总结与展望

就目前的研究进展来说,SPR 传感器检测方式中的角度调制型和波长调制型检测方式是精度较高且较为便利的方式,而且这两种检测方式在商业化产品和科学研究中都被广泛应用。相位调制型和古斯-汉森位移调制型检测方式虽然仍处于实验室研究阶段,需要继续探索合适的 SPR 芯片和仪器结构,但其更高的灵敏度与检测精度使其具有巨大的应用潜力。角度调制型和古斯-汉森位移调制型传感器相较其他几种传感器的结构更为简单,在便携化检测方面具有更广阔的前景。

目前,增强 SPR 传感器的方法主要包括功能化纳米材料敏化和传感器结构优化两个方面。前者主要包括贵金属纳米粒子、磁纳米颗粒、二维纳米材料等,主要通过 LSPR 耦合增强电场或大表面负载来实现检测信号的增强;后者主要包括 FP 腔、纳米孔阵列等,其中 FP 腔通过将光束束缚在纳米腔中来减小金属阻尼效应带来的信号损失,纳米孔阵列基于超常光传输实现简便灵敏的检测。然而,在大多数 SPR 检测中,信号是芯片多个检测微区的平均输出,这是现今增强 SPR 传感器的方法存在极限的原因。因此,考虑优化传感器结构或使用多重放大策略是解决这一问题的有效途径。此外,SPR 与其他信号检测方法(如 SERS)联合使用,可以提高传感器的整体性能,弥补检测限较低时的缺陷。

总的来说,SPR 传感器具备快速采样、低 LOD、宽线性范围、高灵敏度和高选择性的优点,在癌症预防、病毒检测、环境污染监测等方面具有巨大的潜力。目前,SPR 传感器主要是基于角度和波长调制的结构,已被广泛用于各类生化分子的检测,但其在便携化、现场检测应用和商业化方面依然存在挑战:1) 需要对生物识别分子的固定、配体-分析物间的相互作用和芯片的再生过程等进行大量的实验操作验证,在更换检测物时需要重新验证传感条件;2) 由于 SPR 传感器通常需要精密复杂的光学仪器,故其体积较大且成本较高,难以在保持高灵敏度的同时实现小型化和便携化;3) SPR 芯片通常需要使用磁控电子溅射、物理气相沉积等方法进行制备,成本较高,难以普及;4) SPR 传感器在应用过程中可能依然存在非特异性结合及环境因素的影响;5) 由于芯片上常常耦联特异的生物分子,容易受到外界环境的污染或损坏,保存时间较短。

SPR 传感器实现便携化和商业化应用尚待时日,需要将大量的研究投入传感器结构的优化、传感器元件的集成化、多通道和高通量的集中应用等方面。就目前的发展趋势而言,预期 SPR 传感器可以从以下几个方面实现突破:1) 开发光纤型 SPR 传感器,通过集成小型光谱仪来缩小仪器的体积,并实现实时快速检

测;2) 通过附加参考通道来监测非特异性吸附和环境因素对传感器产生的影响,从而减小传感器的噪声;3) 开发基于微阵列的 SPR 成像技术,实现对多种检测物的同时检测。可以预见,随着材料和结构方面的进步,SPR 传感器技术将越来越成熟,可以在降低成本的同时保持对生物分子检测的优异特性。

## 参 考 文 献

- [1] Zeng S W, Baillargeat D, Ho H P, et al. Nanomaterials enhanced surface plasmon resonance for biological and chemical sensing applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2014, 43(10): 3426-3452.
- [2] Philip A, Kumar A R. The performance enhancement of surface plasmon resonance optical sensors using nanomaterials: a review [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2022, 458: 214424.
- [3] Hassan M M, Sium F S, Islam F, et al. A review on plasmonic and metamaterial based biosensing platforms for virus detection[J]. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 2021, 33: 100429.
- [4] Wang X, Hou T, Lin H Y, et al. *In situ* template generation of silver nanoparticles as amplification tags for ultrasensitive surface plasmon resonance biosensing of microRNA[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 137: 82-87.
- [5] Nie W Y, Wang Q, Yang X H, et al. High sensitivity surface plasmon resonance biosensor for detection of microRNA based on gold nanoparticles-decorated molybdenum sulfide[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 993: 55-62.
- [6] Yi R M, Zhang Z, Liu C X, et al. Gold nanoparticles-enhanced gold-silver alloy surface plasmon resonance sensor for the detection of C-reactive protein[C]//European Conference on Biomedical Optics 2019, June 23-25 2019, Munich, Germany. Washington, D.C.: Optica Publishing Group, 2019: 11075\_63.
- [7] Shrivastav A M, Cvelbar U, Abdulhalim I. A comprehensive review on plasmonic-based biosensors used in viral diagnostics[J]. *Communications Biology*, 2021, 4: 70.
- [8] 徐厚祥, 徐彬, 熊吉川, 等. 表面等离子体共振和局域表面等离子体共振技术在病毒检测领域的研究进展[J]. *中国激光*, 2022, 49(15): 1507401.  
Xu H X, Xu B, Xiong J C, et al. Research progress of surface plasmon resonance and local surface plasmon resonance in virus detection[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(15): 1507401.
- [9] 苏荣欣, 刘晓, 车津晶, 等. 基于表面等离子体共振传感器的 COVID-19 检测与药物评价[J]. *天津大学学报(自然科学与工程技术版)*, 2023, 56(1): 1-10.  
Su R X, Liu X, Che J J, et al. Detection and drug evaluation of COVID-19 based on surface plasmon resonance sensor[J]. *Journal of Tianjin University (Science and Technology)*, 2023, 56(1): 1-10.
- [10] 车洁, 邵祝军. 表面等离子体共振技术在疫苗领域中的应用[J]. *中国疫苗和免疫*, 2022, 28(4): 475-480.  
Che J, Shao Z J. Application of the surface plasmon resonance technique in the vaccine field[J]. *Chinese Journal of Vaccines and Immunization*, 2022, 28(4): 475-480.
- [11] 李锋, 陈园园, 魏佳韵, 等. 表面等离子体共振技术在毒品研究中的应用及展望[J]. *中国药物依赖性杂志*, 2020, 29(6): 406-410, 419.  
Li F, Chen Y Y, Wei J Y, et al. Application and prospect of surface plasmon resonance in drug research[J]. *Chinese Journal of Drug Dependence*, 2020, 29(6): 406-410, 419.
- [12] Asghari A, Wang C, Yoo K M, et al. Fast, accurate, point-of-care COVID-19 pandemic diagnosis enabled through advanced lab-on-chip optical biosensors: opportunities and challenges[J]. *Applied Physics Reviews*, 2021, 8(3): 031313.
- [13] Raether H. Surface plasmons on smooth surfaces[M]//Springer

- tracts in modern physics. Heidelberg: Springer, 1988, 111: 4-39.
- [14] Laplatine L, Leroy L, Calemczuk R, et al. Spatial resolution in prism-based surface plasmon resonance microscopy[J]. *Optics Express*, 2014, 22(19): 22771-22785.
- [15] Baganizi D R, Leroy L, Laplatine L, et al. A simple microfluidic platform for long-term analysis and continuous dual-imaging detection of T-cell secreted IFN- $\gamma$  and IL-2 on antibody-based biochip[J]. *Biosensors*, 2015, 5(4): 750-767.
- [16] Thiel A J, Frutos A G, Jordan C E, et al. *In situ* surface plasmon resonance imaging detection of DNA hybridization to oligonucleotide arrays on gold surfaces[J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(24): 4948-4956.
- [17] Zeng Y J, Zhou J E, Sang W, et al. High-sensitive surface plasmon resonance imaging biosensor based on dual-wavelength differential method[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2021, 9: 801355.
- [18] Löfås S, Malmqvist M, Rönnerberg I, et al. Bioanalysis with surface plasmon resonance[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1991, 5(1/2/3/4): 79-84.
- [19] Dougherty G. A compact optoelectronic instrument with a disposable sensor based on surface plasmon resonance[J]. *Measurement Science and Technology*, 1993, 4(6): 697-699.
- [20] Huang Y H, Ho H P, Wu S Y, et al. Detecting phase shifts in surface plasmon resonance: a review[J]. *Advances in Optical Technologies*, 2012, 2012: 1-12.
- [21] Kumbhat S, Gehlot R, Sharma K, et al. Surface plasmon resonance based indirect immunoassay for detection of 17 $\beta$ -estradiol [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2019, 163: 211-216.
- [22] An N, Li K, Zhang Y K, et al. A multiplex and regenerable surface plasmon resonance (MR-SPR) biosensor for DNA detection of genetically modified organisms[J]. *Talanta*, 2021, 231: 122361.
- [23] Thadson K, Sasivimolkul S, Suvarnapaet P, et al. Measurement precision enhancement of surface plasmon resonance based angular scanning detection using deep learning[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 2052.
- [24] Ertürk Bergdahl G, Andersson T, Allhorn M, et al. *In vivo* detection and absolute quantification of a secreted bacterial factor from skin using molecularly imprinted polymers in a surface plasmon resonance biosensor for improved diagnostic abilities[J]. *ACS Sensors*, 2019, 4(3): 717-725.
- [25] Zheng F, Chen Z, Li J F, et al. A highly sensitive CRISPR-empowered surface plasmon resonance sensor for diagnosis of inherited diseases with femtomolar-level real-time quantification[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(14): 2105231.
- [26] Yi R M, Zhang Z, Liu C X, et al. Gold-silver alloy film based surface plasmon resonance sensor for biomarker detection[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2020, 116: 111126.
- [27] Chen S M, Liu Y, Yu Q X, et al. Self-referencing SPR biosensing with an ultralow limit-of-detection using long-wavelength excitation [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 327: 128935.
- [28] Wang X L, Zeng Y J, Zhou J E, et al. Ultrafast surface plasmon resonance imaging sensor via the high-precision four-parameter-based spectral curve readjusting method[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(2): 828-833.
- [29] Kochergin V E, Beloglazov A A, Valeiko M V, et al. Phase properties of a surface-plasmon resonance from the viewpoint of sensor applications[J]. *Quantum Electronics*, 1998, 28(5): 444-448.
- [30] Nelson S G, Johnston K S, Yee S S. High sensitivity surface plasmon resonance sensor based on phase detection[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1996, 35(1/2/3): 187-191.
- [31] Deng S J, Wang P, Yu X L. Phase-sensitive surface plasmon resonance sensors: recent progress and future prospects[J]. *Sensors*, 2017, 17(12): 2819.
- [32] Zeng Y J, Hu R, Wang L, et al. Recent advances in surface plasmon resonance imaging: detection speed, sensitivity, and portability[J]. *Nanophotonics*, 2017, 6(5): 1017-1030.
- [33] Wu S Y, Ho H P, Law W C, et al. Highly sensitive differential phase-sensitive surface plasmon resonance biosensor based on the Mach-Zehnder configuration[J]. *Optics Letters*, 2004, 29(20): 2378.
- [34] Huo Z C, Li Y, Chen B, et al. Recent advances in surface plasmon resonance imaging and biological applications[J]. *Talanta*, 2023, 255: 124213.
- [35] Zeng Y J, Wang X L, Zhou J E, et al. Phase interrogation SPR sensing based on white light polarized interference for wide dynamic detection range[J]. *Optics Express*, 2020, 28(3): 3442-3450.
- [36] Miyan R B, Wang X L, Zhou J E, et al. Phase interrogation surface plasmon resonance hyperspectral imaging sensor for multi-channel high-throughput detection[J]. *Optics Express*, 2021, 29(20): 31418-31425.
- [37] Goos F, Hänchen H. Ein neuer und fundamentaler versuch zur totalreflexion[J]. *Annalen Der Physik*, 1947, 436(7/8): 333-346.
- [38] Yin X B, Hesselink L, Liu Z W, et al. Large positive and negative lateral optical beam displacements due to surface plasmon resonance[J]. *Applied Physics Letters*, 2004, 85(3): 372-374.
- [39] You Q, Li Z F, Jiang L Y, et al. Giant tunable Goos - Hänchen shifts based on surface plasmon resonance with Dirac semimetal films[J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2020, 53(1): 015107.
- [40] Wang Y Y, Zeng S W, Crunteanu A, et al. Targeted sub-attomole cancer biomarker detection based on phase singularity 2D nanomaterial-enhanced plasmonic biosensor[J]. *Nano-Micro Letters*, 2021, 13(1): 96.
- [41] Jiang L, Zeng S W, Xu Z J, et al. Multifunctional hyperbolic nanogroove metasurface for submolecular detection[J]. *Small*, 2017, 13(30): 1700600.
- [42] Law W C, Yong K T, Baev A, et al. Sensitivity improved surface plasmon resonance biosensor for cancer biomarker detection based on plasmonic enhancement[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(6): 4858-4864.
- [43] Lyon L A, Musick M D, Natan M J. Colloidal Au-enhanced surface plasmon resonance immunosensing[J]. *Analytical Chemistry*, 1998, 70(24): 5177-5183.
- [44] Zeng S W, Yu X, Law W C, et al. Size dependence of Au NP-enhanced surface plasmon resonance based on differential phase measurement[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, 176: 1128-1133.
- [45] Golden M S, Bjonnes A C, Georgiadis R M. Distance and wavelength dependent dielectric function of Au NPs by angle-resolved SPRi[J]. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 2010, 240: S1-S5.
- [46] Yano T A, Kajisa T, Ono M, et al. Ultrasensitive detection of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein using large gold nanoparticle-enhanced surface plasmon resonance[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 1060.
- [47] Zhang H, Sun Y, Wang J, et al. Preparation and application of novel nanocomposites of magnetic-Au nanorod in SPR biosensor [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2012, 34(1): 137-143.
- [48] Zagorodko O, Spadavecchia J, Serrano A Y, et al. Highly sensitive detection of DNA hybridization on commercialized graphene-coated surface plasmon resonance interfaces[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(22): 11211-11216.
- [49] Lepinay S, Staff A, Ianoul A, et al. Improved detection limits of protein optical fiber biosensors coated with gold nanoparticles[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 52: 337-344.
- [50] Stone J, Jackson S, Wright D. Biological applications of gold nanorods[J]. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2011, 3(1): 100-109.
- [51] Kim S, Lee S, Lee H J. An aptamer-aptamer sandwich assay with nanorod-enhanced surface plasmon resonance for attomolar concentration of norovirus capsid protein[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 273: 1029-1036.

- [52] Kim S, Lee H J. Gold nanostar enhanced surface plasmon resonance detection of an antibiotic at attomolar concentrations via an aptamer-antibody sandwich assay[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(12): 6624-6630.
- [53] Liu R J, Wang Q, Li Q, et al. Surface plasmon resonance biosensor for sensitive detection of microRNA and cancer cell using multiple signal amplification strategy[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 87: 433-438.
- [54] Wang Q, Li Q, Yang X H, et al. Graphene oxide-gold nanoparticles hybrids-based surface plasmon resonance for sensitive detection of microRNA[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 77: 1001-1007.
- [55] Wu Q, Sun Y, Ma P, et al. Gold nanostar-enhanced surface plasmon resonance biosensor based on carboxyl-functionalized graphene oxide[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2016, 913:137-144.
- [56] Tan J S, Chen Y Y, He J, et al. Two-dimensional material-enhanced surface plasmon resonance for antibiotic sensing[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 455: 131644.
- [57] Wu Q, Li N B, Wang Y, et al. A 2D transition metal carbide MXene-based SPR biosensor for ultrasensitive carcinoembryonic antigen detection[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 144: 111697.
- [58] Mahmudin L, Suharyadi E, Utomo A B S, et al. Influence of stabilizing agent and synthesis temperature on the optical properties of silver nanoparticles as active materials in surface plasmon resonance (SPR) biosensor[C]. *AIP Conference Proceedings*, 2016, 1725(2): 020041.
- [59] Park J, Kim Y. Effect of shape of silver nanoplates on the enhancement of surface plasmon resonance (SPR) signals[J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2008, 8(10): 5026-5029.
- [60] Wu W W, Yu X L, Wu J L, et al. Surface plasmon resonance imaging-based biosensor for multiplex and ultrasensitive detection of NSCLC-associated exosomal miRNAs using DNA programmed heterostructure of Au-on-Ag[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 175: 112835.
- [61] Nangare S, Patil P. Chitosan mediated layer-by-layer assembly based graphene oxide decorated surface plasmon resonance biosensor for highly sensitive detection of  $\beta$ -amyloid[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 214: 568-582.
- [62] Wu Q, Wu W, Chen F F, et al. Highly sensitive and selective surface plasmon resonance biosensor for the detection of SARS-CoV-2 spike S1 protein[J]. *The Analyst*, 2022, 147(12): 2809-2818.
- [63] Chen H X, Qi F J, Zhou H J, et al.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @Au nanoparticles as a means of signal enhancement in surface plasmon resonance spectroscopy for thrombin detection[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2015, 212: 505-511.
- [64] Zou F, Wang X X, Qi F J, et al. Magneto-plasmonic nanoparticles enhanced surface plasmon resonance TB sensor based on recombinant gold binding antibody[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 250: 356-363.
- [65] Zhao J L, Liang D L, Gao S W, et al. Analyte-resolved magnetoplasmonic nanocomposite to enhance SPR signals and dual recognition strategy for detection of BNP in serum samples[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 141: 111440.
- [66] Jia Y T, Peng Y, Bai J L, et al. Magnetic nanoparticle enhanced surface plasmon resonance sensor for estradiol analysis[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 254: 629-635.
- [67] Li Q, Dou X W, Zhao X S, et al. A gold/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocomposite for use in a surface plasmon resonance immunosensor for carbendazim[J]. *Microchimica Acta*, 2019, 186(5): 313.
- [68] Huang X, Hu J J, Zhu H, et al. Magnetic field-aligned  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -coated silver magnetoplasmonic nanochain with enhanced sensitivity for detection of Siglec-15[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 191: 113448.
- [69] Zhou J, Yang T Q, Chen J J, et al. Two-dimensional nanomaterial-based plasmonic sensing applications: advances and challenges[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2020, 410: 213218.
- [70] Singh M, Holzinger M, Tabrizian M, et al. Noncovalently functionalized monolayer graphene for sensitivity enhancement of surface plasmon resonance immunosensors[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(8): 2800-2803.
- [71] Wu L, Chu H S, Koh W S, et al. Highly sensitive graphene biosensors based on surface plasmon resonance[J]. *Optics Express*, 2010, 18(14): 14395-14400.
- [72] Xue T Y, Cui X Q, Guan W M, et al. Surface plasmon resonance technique for directly probing the interaction of DNA and graphene oxide and ultra-sensitive biosensing[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 58: 374-379.
- [73] Hu W J, Huang Y Y, Chen C Y, et al. Highly sensitive detection of dopamine using a graphene functionalized plasmonic fiber-optic sensor with aptamer conformational amplification[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 264: 440-447.
- [74] Patil P O, Pandey G R, Patil A G, et al. Graphene-based nanocomposites for sensitivity enhancement of surface plasmon resonance sensor for biological and chemical sensing: a review[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 139: 111324.
- [75] He L J, Pagneux Q, Larroulet I, et al. Label-free femtomolar cancer biomarker detection in human serum using graphene-coated surface plasmon resonance chips[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 89: 606-611.
- [76] Chiu N F, Lin T L, Kuo C T. Highly sensitive carboxyl-graphene oxide-based surface plasmon resonance immunosensor for the detection of lung cancer for cytokeratin 19 biomarker in human plasma[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 265: 264-272.
- [77] Mao Z H, Zhao J L, Chen J, et al. A simple and direct SPR platform combining three-in-one multifunctional peptides for ultra-sensitive detection of PD-L1 exosomes[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 346: 130496.
- [78] Zhou C, Sun C J, Luo Z W, et al. Fiber optic biosensor for detection of genetically modified food based on catalytic hairpin assembly reaction and nanocomposites assisted signal amplification [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 254: 956-965.
- [79] Li Q, Wang Q, Yang X H, et al. High sensitivity surface plasmon resonance biosensor for detection of microRNA and small molecule based on graphene oxide-gold nanoparticles composites[J]. *Talanta*, 2017, 174: 521-526.
- [80] Zeng S W, Hu S Y, Xia J, et al. Graphene-MoS<sub>2</sub> hybrid nanostructures enhanced surface plasmon resonance biosensors[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2015, 207: 801-810.
- [81] Chen Y F, Hu S Q, Wang H, et al. MoS<sub>2</sub> nanosheets modified surface plasmon resonance sensors for sensitivity enhancement[J]. *Advanced Optical Materials*, 2019, 7(13): 1900479.
- [82] Chiu N F, Yang H T. High-sensitivity detection of the lung cancer biomarker CYFRA21-1 in serum samples using a carboxyl-MoS<sub>2</sub> functional film for SPR-based immunosensors[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 8: 234.
- [83] Chiu N F, Tai M J, Nurrohman D T, et al. Immunoassay-amplified responses using a functionalized MoS<sub>2</sub>-based SPR biosensor to detect PAPP-A2 in maternal serum samples to screen for fetal Down's syndrome[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2021, 16: 2715-2733.
- [84] Xue T Y, Qi K, Hu C Q. Novel SPR sensing platform based on superstructure MoS<sub>2</sub> nanosheets for ultrasensitive detection of mercury ion[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 284: 589-594.
- [85] Liu L X, Ye K, Lin C Q, et al. Grain-boundary-rich polycrystalline monolayer WS<sub>2</sub> film for attomolar-level Hg<sup>2+</sup> sensors[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 3870.
- [86] Liu L X, Ye K, Jia Z Y, et al. High-sensitivity and versatile

- plasmonic biosensor based on grain boundaries in polycrystalline 1L WS<sub>2</sub> films[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 194: 113596.
- [87] Wu L M, You Q, Shan Y X, et al. Few-layer Ti<sub>5</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub> MXene: a promising surface plasmon resonance biosensing material to enhance the sensitivity[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 277: 210-215.
- [88] Yuan Y F, Yu X T, Ouyang Q, et al. Highly anisotropic black phosphorous-graphene hybrid architecture for ultrasensitive plasmonic biosensing: theoretical insight[J]. *2D Materials*, 2018, 5 (2): 025015.
- [89] Yang W, Cheng Y Y, Jiang M S, et al. Design and fabrication of an ultra-sensitive Ta<sub>2</sub>C MXene/Au-coated tilted grating sensor[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2022, 369: 132391.
- [90] Wang Y D, Mao Z H, Chen Q, et al. Rapid and sensitive detection of PD-L1 exosomes using Cu-TCPP 2D MOF as a SPR sensitizer[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 201: 113954.
- [91] Xue T Y, Liang W Y, Li Y W, et al. Ultrasensitive detection of miRNA with an antimonene-based surface plasmon resonance sensor[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 28.
- [92] Ameling R, Langguth L, Hentschel M, et al. Cavity-enhanced localized plasmon resonance sensing[J]. *Applied Physics Letters*, 2010, 97(25): 253116.
- [93] Zeng L W, Chen M, Yan W, et al. Si-grating-assisted SPR sensor with high figure of merit based on Fabry-Pérot cavity[J]. *Optics Communications*, 2020, 457: 124641.
- [94] Liu G S, Xiong X, Hu S Q, et al. Photonic cavity enhanced high-performance surface plasmon resonance biosensor[J]. *Photonics Research*, 2020, 8(4): 448-456.
- [95] Allison G, Sana A K, Ogawa Y, et al. A Fabry-Pérot cavity coupled surface plasmon photodiode for electrical biomolecular sensing[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 6483.
- [96] Ebbesen T W, Lezec H J, Ghaemi H F, et al. Extraordinary optical transmission through sub-wavelength hole arrays[J]. *Nature*, 1998, 391(6668): 667-669.
- [97] Patching S G. Surface plasmon resonance spectroscopy for characterisation of membrane protein-ligand interactions and its potential for drug discovery[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2014, 1838(1): 43-55.
- [98] Kim K, Lee W, Chung K, et al. Molecular overlap with optical near-fields based on plasmonic nanolithography for ultrasensitive label-free detection by light-matter colocalization[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 96: 89-98.
- [99] Song C Y, Jiang X Y, Yang Y J, et al. High-sensitive assay of nucleic acid using tetrahedral DNA probes and DNA concatamers with a surface-enhanced Raman scattering/surface plasmon resonance dual-mode biosensor based on a silver nanorod-covered silver nanohole array[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(28): 31242-31254.
- [100] Huang L P, Ding L F, Zhou J, et al. One-step rapid quantification of SARS-CoV-2 virus particles via low-cost nanoplasmonic sensors in generic microplate reader and point-of-care device[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2021, 171: 112685.

## Research Advances and Sensitization Strategies for Surface Plasmon Resonance Sensors

Ye Linzhi<sup>1</sup>, Zhang Luwei<sup>1,2</sup>, Zhang Zhenxi<sup>1</sup>, Yao Cuiping<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Biomedical Information Engineering of Ministry of Education, Institute of Biomedical Photonics and Sensing, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, Shaanxi, China;

<sup>2</sup>School of Food Equipment Engineering and Science, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, Shaanxi, China

### Abstract

**Significance** With the development of society, the demand for improved quality of human life is increasing. The threats of cancer, pandemic viruses, declining food safety, and environmental pollution have gradually become the critical issues in human society. Therefore, the early diagnosis and treatment of cancer, development of drugs, rapid and sensitive detection of viruses, monitoring of environmental pollution, and inspection of food safety are vital for human life and health. Early biomarkers of cancer, such as tumor necrosis factor (TNF), exosomes, and circulating tumor DNA, have an extremely low abundance in the human body. Environmental pollution and food inspection have also necessitated the requirements for detecting extremely low concentrations of markers. Therefore, biosensors with high specificity and sensitivity are urgently required to satisfy society's needs.

Many methods have been used to detect various biochemical markers, including polymerase chain reaction (PCR), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), liquid chromatography, and mass spectrometry. The PCR and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) are the gold standards for nucleic acid and protein detection, respectively. However, the PCR typically requires a long detection time (3–3.5 h), expensive instruments and equipment, specific laboratory environments, and professional laboratory personnel. In ELISA, most antibodies require enzyme labeling, which often results in false positives and affects the parameters, making them unsuitable for early detection. Liquid chromatography-mass spectrometry often requires large and expensive mass spectrometers for operation and has low repeatability. However, sensors based on surface plasmon resonance (SPR) do not require expensive markers, and optical detection methods can prevent physical and chemical contact between the sensors and analytes. SPR biosensors can also perform a simple, cost-effective, accurate, and timely detection of biochemical markers to support rapid medical decisions and actions. Currently, the detection limit displayed by SPR sensors is not inferior to that of PCR and ELISA detection methods; the detection program is simpler and can be automated, which compensates for the shortcomings of traditional detection methods and has significant application potential.

With the continuous development of the SPR technology for biomarker detection, researchers have significantly expanded the

detection capabilities of SPR sensors. However, traditional SPR sensors are typically susceptible to temperature, have difficulty distinguishing non-specific adsorption, and have difficulty detecting low concentrations and low relative molecular mass analytes. To solve these problems, several research teams have developed methods based on sensor structures and functionalized materials to improve SPR sensor sensitivity. Therefore, a summary of the existing research will guide the future development of this field.

**Progress** In this study, we first divide the detection methods of SPR biosensors into five types based on measurements of different parameters by the sensor. We explain the basic principles of various interrogation methods for detecting biomarkers and present a comparison of the advantages and disadvantages of the different interrogation methods (Table 1). In terms of current research progress, the detection methods for SPR sensors are mainly based on two types: angular interrogation and wavelength interrogation SPR biosensors, which have improved detection accuracy and higher convenience. The phase interrogation and Goos-Hänchen shift interrogation types exhibit higher detection sensitivity and accuracy; however, it is still necessary to continue investigating the optimal structure of chips and instruments. For system complexity, the angular interrogation type and Goos-Hänchen shift interrogation type have simpler structures and broader prospects for portable detection. Next, we summarize the research progress in SPR sensor sensitization from the aspects of nanomaterial sensitization and sensor structure optimization, based on the methods recently used by researchers to enhance SPR sensitivity. In terms of nanomaterials, including precious metal nanoparticles, magnetic nanoparticles, and two-dimensional nanomaterials, the enhancement of detection signals is mainly achieved through large-surface loads or localized surface plasmon resonance (LSPR) coupling to enhance the electric field. The optimization of the sensing structure includes the combination of a SPR sensor with a structure, such as a Fabry-Pérot cavity or nanohole array. The Fabry-Pérot cavity reduces the signal loss caused by the metal damping effect by binding the light beams in the nanocavity. The nanopore array achieves a simple and sensitive detection based on significant optical transmission. Finally, we summarize the main shortcomings of current SPR sensors and propose possible solutions.

**Conclusions and Prospects** Overall, SPR sensors have the advantages of a low detection limit, wide linear range, low sample requirement, high sensitivity, and high selectivity, with high potential for cancer prevention, virus detection, and environmental pollution monitoring. Researchers can apply appropriate interrogation methods to develop portable, highly sensitive, and high-throughput SPR biosensors. By appropriately selecting and combining various sensitization methods, SPR sensors that can overcome existing detection capabilities are developed. Although SPR sensors still face challenges such as high costs and difficulties in achieving portability, SPR sensor technology will advance with the progress in materials and structural science, maintaining excellent characteristics for biomolecular detection while minimizing costs.

**Key words** optics at surface; surface plasmon; surface plasmon resonance; biomolecular detection; high sensitivity detection; sensor sensitization strategy