

# 基于表面增强拉曼散射技术的癌症检测研究进展

林居强 阮秋咏 陈冠楠 冯尚源 李步洪 陈荣

(福建师范大学医学光电科学与技术教育部重点实验室,福建省光子技术重点实验室,福建 福州 350007)

**摘要** 表面增强拉曼散射(SERS)是一种可从单分子水平对样本进行检测和成像的振动光谱新技术,具有高灵敏度、高特异性、测量快速及对待测样本基本无损等优点,十分适合于癌症的早期筛查研究。近年来,SERS 技术应用于癌症检测已成为一个新的研究热点,表现出良好的发展前景。简要介绍了肿瘤组织、肿瘤细胞及癌症患者血液的 SERS 研究最新成果,对存在的研究难点、局限性及潜在应用价值进行了全面综述,对 SERS 技术在癌症检测中的发展前景进行了展望。

**关键词** 医用光学;表面增强拉曼散射;癌症检测;肿瘤组织;细胞;血液

中图分类号 O433.1 文献标识码 A doi: 10.3788/LOP50.080020

## Research Progress of Surface Enhanced Raman Spectroscopy for Cancer Detection

Lin Juqiang Ruan Qiuyong Chen Guannan Feng Shangyuan  
Li Buhong Chen Rong

(Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine, Ministry of Education,  
Fujian Provincial Key Laboratory of Photonic Technology, Fujian Normal University,  
Fuzhou, Fujian 350007, China)

**Abstract** Surface enhanced Raman scattering (SERS) has emerged as a new vibrational spectrum technology for the single-molecule detection and the imaging of samples. It has a great promise in studying the screening of early cancer for its high sensitivity, good specificity and rapidly noninvasive detection. Recently, the application of SERS in cancer detection has been a new research focus. In this review, we provide a brief introduction to the latest research achievements in tumorous tissues, tumorous cells and blood of cancer patients. Then we give a comprehensive discussion of the difficulties, limitations and applications of these works. The prospect of SERS technology for cancer detection is discussed.

**Key words** medical optics; surface enhanced Raman scattering; cancer detection; tumor tissue; cell; blood

**OCIS codes** 140.3550; 170.5660; 240.6695; 290.5910

## 1 引言

据世界卫生组织统计,每年全球超过 1200 万人被确诊患上癌症,约 760 万人死于癌症,无论在发达国家还是发展中国家,癌症都是导致人们死亡的主要“杀手”之一<sup>[1]</sup>。在我国城镇居民中,癌症已占死因的首位<sup>[2]</sup>。早期筛查可显著提高癌症患者 5 年生存率。然而,体腔内肿瘤通常需要组织病理学检查,即需做穿刺活检,作为一种有损操作,该方法难以实现癌症的早期诊断,并有可能造成患者体内组织出血、感染等并发症。因此,探索无损、快速且灵敏度和特异性高的癌症筛查和诊断新方法已成为与大众健康密切相关的研究热点。

拉曼光谱术是一种基于拉曼散射效应而发展起来的分子光谱技术,采用拉曼光谱技术可以从分子水平

收稿日期:2013-03-22;收到修改稿日期:2013-04-21;网络出版日期:2013-06-05

基金项目:国家自然科学基金(11274065,11104030,61178090,81101110)、福建省自然科学基金(2012J01254)

作者简介:林居强(1976—),男,博士,副教授,硕士生导师,主要从事生物医学光学成像与光谱学等方面的研究。

E-mail: jqlin@fjnu.edu.cn

本文电子版彩色效果请详见中国光学期刊网 www.opticsjournal.net

上探测组织细胞内的蛋白、核酸、脂类以及糖类等生物分子的精细结构和信息<sup>[3-4]</sup>。在肿瘤生长和发展过程中,上述分子的物质结构、构象和数量会发生明显变化,通过对比研究癌变和正常生物样本(组织、细胞或相关生物分子)的拉曼光谱,发现二者特征光谱的差异可以反映癌变信息,从而可应用于癌症诊断研究<sup>[5-6]</sup>。与常规检测技术相比,拉曼光谱技术具有样本预处理简单、无损和快速等优点,然而,由于分子的拉曼散射截面小,使得拉曼光谱信号非常微弱<sup>[7]</sup>(约为荧光的万分之一),一些与癌症相关的指纹信号易被荧光等背景噪声所掩盖。因此,如能对拉曼信号进行增强,同时抑制荧光等背景信号,将显著提高癌症检测的灵敏度。1974年,Fleishmann等<sup>[8]</sup>发现,当吡啶分子吸附在粗糙银表面上,其拉曼散射信号比溶液中吡啶分子的拉曼散射信号增强约6个数量级,这种增强效应被称为表面增强拉曼散射(SERS)效应。贵金属纳米颗粒具有特殊的光学、磁学、机械和化学等性质,可以应用在许多科学领域,例如,表面增强拉曼散射、表面等离子体共振传感、光催化等,在过去几十年中吸引了大量研究者的注意<sup>[9]</sup>。同时,贵金属纳米粒子还有猝灭荧光的作用,这是因为荧光分子一旦与金属直接接触或键合导致分子与金属间发生非辐射能量转移,而猝灭待测分子荧光,如纳米金颗粒由于具有高的消光系数和较宽的光谱吸收特性,13 nm的金颗粒在520 nm波长下的消光系数为 $2.7 \times 10^8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,比常规有机猝灭剂高3~5个数量级<sup>[10]</sup>。这种荧光猝灭的作用,大大降低了背景荧光的干扰,从而进一步提高SERS检测的灵敏度。目前SERS增强效应最高可达到 $10^{14} \sim 10^{15}$ 数量级,实现了某种意义上可称为灵敏度最高的单分子检测<sup>[11-13]</sup>。SERS技术保留了拉曼光谱简单、无损和快速等原有优点,同时具备了高灵敏度的独特优势。当前将SERS技术应用于癌症检测已成为国际上拉曼光谱领域的一个研究热点<sup>[14]</sup>。本文就近年来在体腔肿瘤组织、活性肿瘤细胞及癌症患者血液等方面的SERS研究中取得的一些重要进展做一综述。

## 2 体腔肿瘤组织的 SERS 检测

### 2.1 离体肿瘤组织 SERS 检测

2007年,刘燕楠等<sup>[15]</sup>将手术切除的离体组织样品浸泡在银溶胶中,采用633 nm的氩氦激光激发并测量获得人肺正常组织与癌变组织的SERS光谱,发现和正常组织相比,癌变组织蛋白质主链中酰胺Ⅲ和酰胺Ⅰ谱带的有序构象明显减少,脱氧核糖核酸(DNA)的骨架磷酸基团、脱氧核糖、磷酸-脱氧核糖和碱基的含量总体呈增加趋势,磷脂的链内纵向有序性参数明显下降。2008年,Pinzaru等<sup>[16]</sup>将银溶胶直接滴加在离体的正常和癌变结肠组织上,接着对银胶滴加位置进行632.8 nm激光激发并测量获得SERS光谱,发现相对于正常结肠组织,癌变组织中归属于DNA/核糖核酸(RNA)碱基及组氨酸、苯丙氨酸的谱峰强度显著增加,蛋白质主链中的酰胺Ⅰ谱带消失。2009年,本课题组采用金溶胶做为增强基底,采用785 nm近红外激发并测量获得人鼻咽正常组织与癌变组织的SERS光谱,发现二者在 $725 \text{ cm}^{-1}$ 、 $962 \text{ cm}^{-1}$ 和 $1366 \text{ cm}^{-1}$ 这三个谱峰强度差异最为明显,通过SERS成像技术可清晰直观地观察到这一差异<sup>[17]</sup>。2013年,Feng等<sup>[18]</sup>对44例食道癌患者的癌变组织进行了SERS检测,并与正常食道组织进行区分,诊断灵敏度和特异性分别达90.9%和97.8%。

上述研究工作中采用的是非标记SERS检测技术,即采用浸泡和滴加等手段将离体组织样品与金或银溶胶直接孵育后再进行激光激发检测,该方法简单、成本低且获得的SERS光谱信息量丰富。除此方法外,将SERS技术与抗原、抗体特异性免疫反应技术相结合还发展出一种SERS免疫检测技术,和非标记SERS技术相比,SERS免疫检测技术的灵敏度更高,而且可以对组织样本中的单组分或多组分进行特异性检测。2006年,Schlücker等<sup>[19]</sup>首次将SERS免疫检测技术应用于人前列腺癌变组织的检测,他们将前列腺特异性抗原(PSA)的一级抗体标记到中空的金纳米颗粒上构成免疫SERS探针,以SERS增强剂5,5'-二硫代二(琥珀酰亚氨基-2-硝基苯甲酸)(DSNB)为拉曼信号报告分子,成功检测到癌变组织中前列腺癌肿瘤标志物PSA抗原的表达。之后,Sun等<sup>[20-21]</sup>构建了一种复合有机-无机纳米粒子(COIN)的SERS免疫探针,对前列腺癌变组织进行SERS检测,准确率达90%以上。最近席刚琴等<sup>[22-23]</sup>构建了一种金/银核壳结构的SERS免疫探针分别对结肠和鼻咽的癌变组织进行检测,并对正常组织和癌变组织进行SERS成像(图1),展现了SERS免疫检测技术较高的灵敏度和特异性。SERS成像是组织切片上一定区域面积内进行点扫描,然后根据获取的SERS光谱的某个特征拉曼峰( $1586 \text{ cm}^{-1}$ )的强度变化并利用拉曼光谱软件对SERS谱

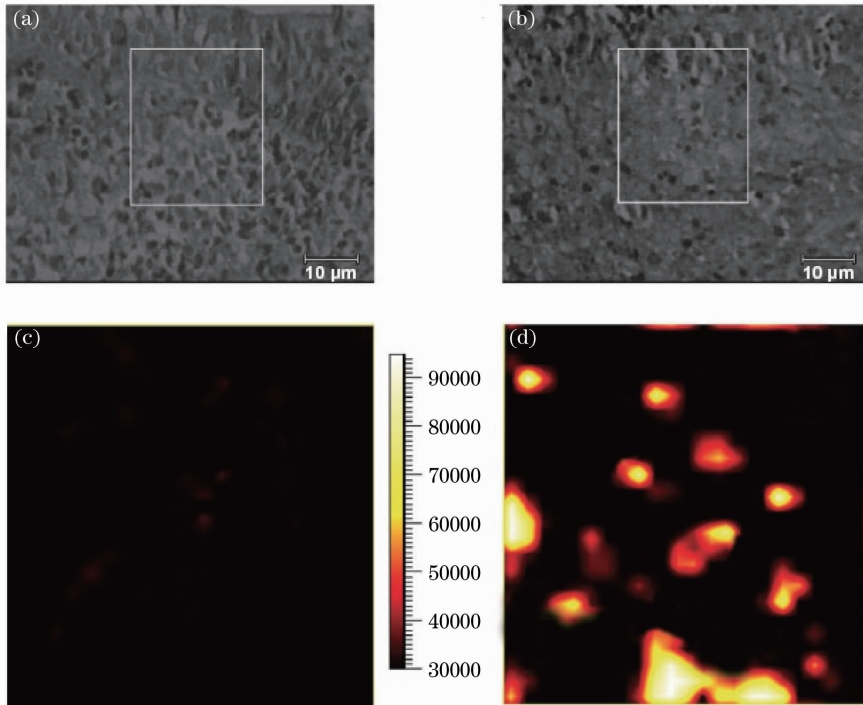


图 1 免疫 SERS 探针对(a),(c)正常和(b),(d)癌变的鼻咽组织的 SERS 成像结果和组分空间分布图

Fig. 1 Imaging results with immune SERS probe and tissues component spatial distributions for (a), (c) normal and (b), (d) cancer nasopharyngeal tissues

峰面积进行拟合从而获得 SERS 成像图。用不同的颜色表示每个像点的特征拉曼峰的强度，红色表示拉曼峰的强度最高，黑色代表拉曼峰的强度最低，从而构建出某种生化成分在组织切片上的空间分布图。

## 2.2 活体肿瘤 SERS 检测

离体肿瘤组织的 SERS 研究已经展现了 SERS 方法较高的诊断灵敏度和特异性，然而，待测样本仍需要通过组织活检获取。为了充分发挥 SERS 检测方法快速、无损的优势，研究者进一步开展了活体肿瘤的 SERS 研究。2008 年，Qian 等<sup>[24]</sup>首次将免疫 SERS 检测技术应用于活体肿瘤检测。首先，他们构建了一种可特异性识别肿瘤标志物 EGFR 的 SERS 免疫探针，探针合成基本过程如下：先将拉曼信号报告分子孔雀石绿(MGITC)吸附在 60 nm 的金纳米颗粒上，然后用聚乙二醇(PEG)进行包被形成 PEG 单分子层，最后将 EGFR 的特异性配体 ScFv 连接到 PEG 单分子层。当这种 SERS 免疫探针被静脉注射到裸鼠体内后，可被体内的肿瘤组织特异性结合并富集，从而在肿瘤部位检测到强的 SERS 信号，其他正常组织部位则信号弱或无信号(图 2)。之后，Keren 等<sup>[25]</sup>构建了一种硅包被的免疫 SERS 探针对裸鼠体内的肿瘤组织进行检测，并对该免疫 SERS 探针对裸鼠体内的组织器官分布进行了研究。以上研究结果很好地展现了 SERS 技术在癌症临床诊断上具有的潜在应用价值<sup>[26]</sup>，然而，相关问题仍待解决，如免疫 SERS 探针的生物安全性、尺寸及最佳注射剂量等问题，还需要进一步研究。

## 3 活性肿瘤细胞的 SERS 检测

在对活性肿瘤细胞的 SERS 研究中，最关键一步是如何将 SERS 探针(金或银纳米粒子等)导入活性肿瘤细胞内。目前常用的方法主要有以下几种。

**直接孵育方法：**该方法是一种利用细胞自身内吞生理功能的“被动吸收”模式，尽管耗时较长(超过 20 h)，但方法简单易行，目前广泛应用于活性细胞的 SERS 研究。如 Kneipp 等<sup>[27-30]</sup>采用直接孵育方法将金或银纳米粒子等 SERS 基质导入活性贴壁细胞，分别对前列腺癌细胞、乳腺癌细胞和骨肉瘤细胞等多种贴壁肿瘤细胞进行了 SERS 研究。然而该方法难以获得活性悬浮态细胞的 SERS 信号<sup>[31-32]</sup>。

**免疫结合方法：**Sha 等<sup>[33-34]</sup>合成了一些针对肿瘤细胞上皮细胞表型的免疫金纳米 SERS 探针结合在肿

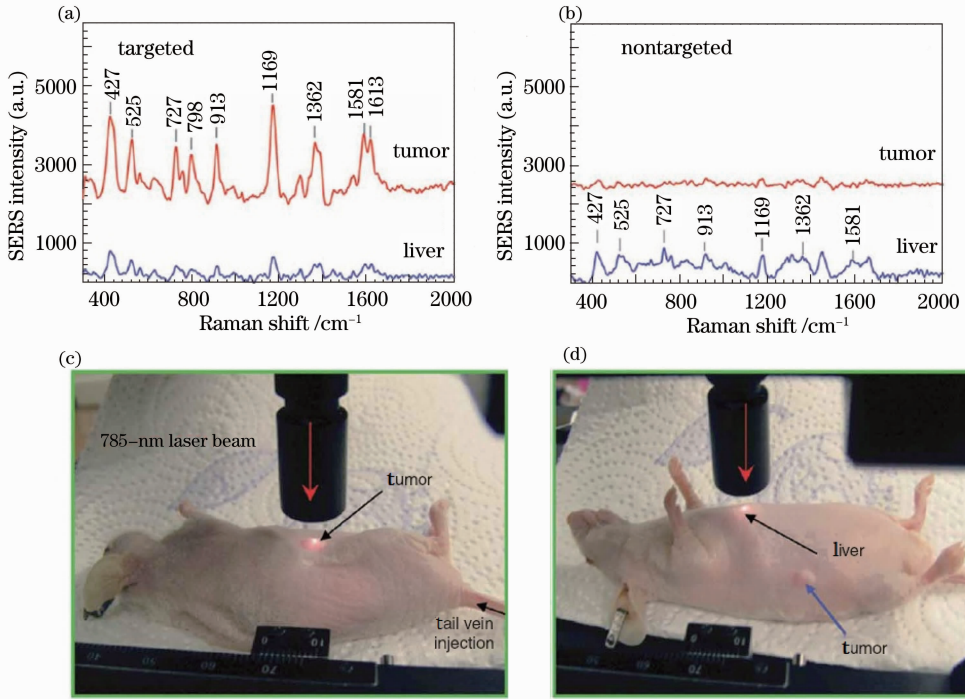


图 2 活体肿瘤 SERS 检测。(a)免疫 SERS 探针和(b)非标记的 SERS 探针从裸鼠肿瘤及肝脏部位获取的 SERS 图谱；(c),(d)检测照片

Fig. 2 SERS detection of *in vivo* tumor. (a) SERS spectrum with immune SERS probe and (b) SERS spectrum with label-free SERS probe obtained from tumor and liver of the nude mice; (c), (d) detection process

瘤细胞膜表面,对人和大鼠的外周血中的乳腺癌、肺癌和喉癌等肿瘤细胞进行了 SERS 检测。这种基于免疫识别的 SERS 预处理方法需要制备相应的免疫 SERS 探针并通过免疫识别结合在活性细胞膜表面,操作较繁复。更为关键的是,肿瘤细胞在转移过程中会发生上皮-间质转化,从而丢失某些上皮细胞的表型,以这些表型为靶抗原的上述检测方法容易造成诊断结果的假阴性<sup>[35]</sup>。

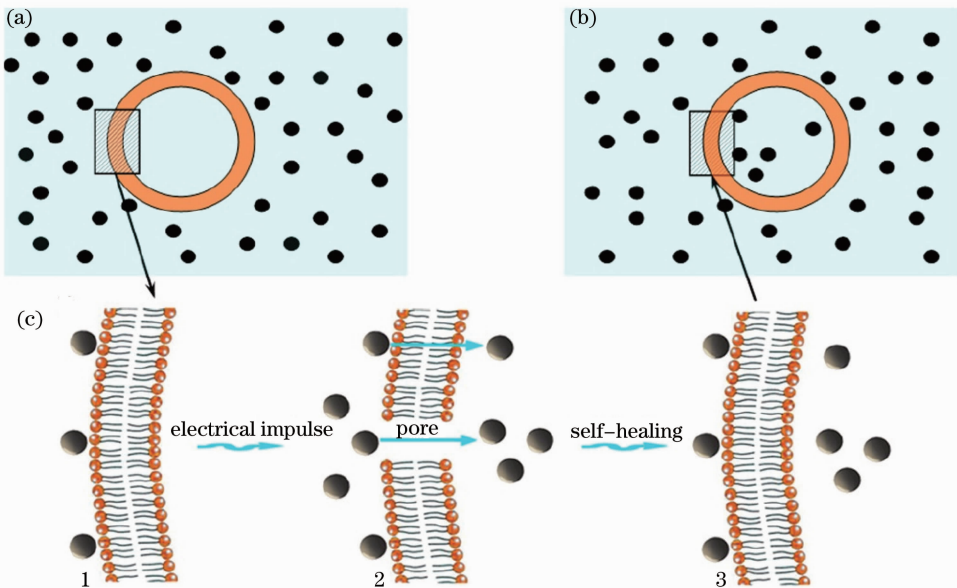


图 3 SERS-细胞电穿孔方法流程图。通过(a)细胞孵育,(b)膜自我修复,(c)电穿孔三个步骤完成银纳米颗粒导入细胞

Fig. 3 Schemes of the procedure for SERS-cell electroporation. (a) Cell incubation; (b) cell membrane self-healing; (c) electroporation

其他方法:如细胞自还原方法可通过胞内还原酶作用将离子态金还原生成金纳米粒子进行 SERS 检测,但需耗费较长时间(约 36 h)<sup>[36]</sup>,光纤 SERS 探头<sup>[37]</sup>和微注射方法<sup>[38]</sup>操作繁复且无法对批量细胞进行 SERS 预处理,均难以在活性细胞的 SERS 研究中广泛应用。

从上述研究现状可以清楚的看到,尽管有关活性细胞 SERS 探针的导入方法层出不穷,但耗时长、操作繁复等问题仍未得到解决,如何将 SERS 探针导入活性悬浮细胞仍是一个研究难点。2009 年,本课题组在对表皮鳞癌等贴壁肿瘤细胞开展的 SERS 研究中首次提出一种 SERS-细胞电穿孔方法(图 3),使细胞 SERS 的预处理时间由传统的 20 h 缩短到 1 min 以内,从而大大加快了细胞 SERS 检测速度<sup>[39]</sup>。和直接孵育的“被动吸收”模式不同,SERS-细胞电穿孔方法是一种“主动导入”模式,受贴壁或悬浮等不同细胞类型的影响较小。在此基础上,俞允等<sup>[40-42]</sup>进一步改良了 SERS-细胞电穿孔方法并成功将 SERS 探针导入活性悬浮肿瘤细胞中。以上研究结果表明 SERS-细胞电穿孔方法在活性肿瘤细胞 SERS 研究中具有良好的应用前景<sup>[43]</sup>。

## 4 癌症患者血液的 SERS 检测

血液采样方便快捷,很适合用于癌症的大众筛查研究。如血液中甲胎蛋白(AFP)是唯一经美国食品药品监督管理局(FDA)批准临床使用的肝细胞癌(HCC)血清学诊断标志物,常用于临床 HCC 筛查。但由于普通拉曼光谱的分子散射截面小、散射光强弱和散射效率低等原因,导致直接检测生物液的拉曼光谱进行成分分析和诊断疾病的报道中往往存在探测灵敏度较低、低浓度生物液信号弱和分子信息获取量少等问题<sup>[44]</sup>。2010 年,本课题组将 SERS 技术应用于鼻咽癌患者血浆的 SERS 研究,在对患者血液样品离心获取其上层血浆后,将银溶胶与其直接混合,用 785 nm 激光激发并测量获取其 SERS 光谱<sup>[45]</sup>。最后通过多变量分析方法对患者和健康人血浆 SERS 光谱进行区分,诊断灵敏度和特异性分别为 90.7%和 100%。在此基础上,又开展了基于不同偏振激光激发的胃癌患者血浆 SERS 研究。结果表明:对不同偏振激光激发获得的血浆 SERS 光谱使用相同的分析手段进行区分,其诊断灵敏度和特异性明显不同,左旋圆偏振激发光诊断效果最佳,右旋圆偏振激发光其次,优于非偏振以及线偏振激光激发<sup>[46]</sup>。2011 年,刘仁明等<sup>[47-48]</sup>分别对肝癌和结肠癌患者的血清进行了 SERS 研究,发现癌症患者与健康人血清的 SERS 光谱存在显著差异。

血液作为生物体与外界主要养份及代谢产物循环与交换的介质,其组成成分十分复杂,对血液直接进行 SERS 检测时,由于 SERS 技术灵敏度高达单分子水平,血液中各种组分信号均有可能得到最大程度放大,一些无关组分的增强信号就可能干扰或覆盖与癌症密切相关的特征组分信号。2011 年,本课题组提出一种 SERS-膜电泳方法<sup>[49-50]</sup>,对胃癌和鼻咽癌血浆蛋白进行 SERS 研究,即先利用醋酸纤维薄膜电泳技术从胃癌患者血液中分离纯化出血浆蛋白,和 SERS 增强基质混合制备成为非标记的 SERS 探针,再进行 SERS 检测。图 4 是 SERS-膜电泳方法检测血浆中血浆蛋白的工作流程图,主要分为以下 4 个步骤:1)醋酸纤维薄膜电泳结束后,左侧的醋酸纤维素膜使用氨基黑 10B 染色,然后将右侧未染色膜条对应位置[图 4(a)虚线处]的薄膜剪下来。2)蛋白和银纳米粒子混合液制备,先将白蛋白和球蛋白的膜条剪碎,分别收集到两个 1.5 mL 的离心管中,加入冰醋酸溶解后与银胶 37 °C 孵育搅拌 30 min 后收集溶液并进行 SERS 光谱检测。3)获取胃癌血浆白蛋白的 SERS 光谱[图 4(c)中谱线 i,ii 是作为空白对照的醋酸纤维素膜的 SERS 光谱]。4)获取血浆球蛋白的 SERS 光谱[图 4(d)中谱线 iii,iv 是作为空白对照的醋酸纤维素膜的 SERS 光谱]。SERS-膜电泳方法与血浆 SERS 检测方法的最大不同在于,前者使血浆蛋白中含有的癌症信息通过 SERS 效应得到最大程度的增强,同时避免了血浆中其他组分的干扰。因此,SERS-膜电泳技术极大地提高了癌症血浆蛋白 SERS 光谱区分的灵敏度和特异性,该方法的诊断灵敏度和特异性均接近 100%。

## 5 结束语

对 SERS 技术在癌症检测中的研究进展和应用前景从组织、细胞和血液等方向做了综述。SERS 技术在未来实际临床应用中已显现出一些良好的发展前景,如检测灵敏度高,能从分子水平给出诊断信息,诊断标准更为定量,诊断结果更具客观性。然而,SERS 技术在癌症检测中的研究还处于初级阶段,仍存在以下

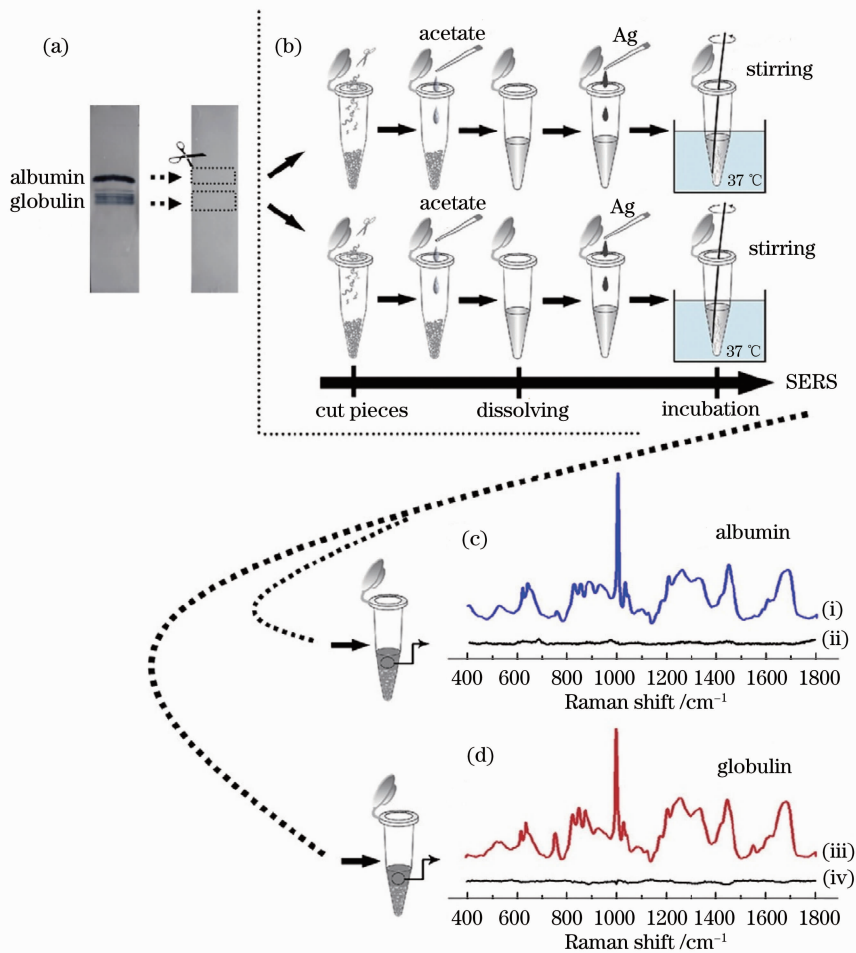


图4 SERS-SERS-膜电泳方法流程图。(a)剪下白蛋白和球蛋白对应的膜条;(b)制备蛋白和银纳米粒子混合液;(c)i是胃癌血浆白蛋白的SERS光谱,ii是作为空白对照的醋酸纤维素膜的SERS光谱;(d)iii是血浆球蛋白的SERS光谱,iv是作为空白对照的醋酸纤维素膜的SERS光谱

Fig. 4 Schemes of the procedure for SERS-cellulose acetate film electrophoresis. (a) Cut off the albumin and globulin bands; (b) prepare protein and silver mixed solution; (c) SERS spectra of sample gastric cancer albumin (curve i) and blank cellulose acetate membrane (curve ii); (d) SERS spectra of sample gastric cancer globulin (curve iii) and blank CA membrane (curve iv)

不足之处:1)在癌症检测中尚未建立SERS的诊断标准,无法对不同的癌症SERS光谱进行区分;2)现有的SERS增强基质种类较少,常用的仅有金、银、铜三种;3)在癌症检测中现有的SERS检测方法较少,手段较单一。

为了进一步挖掘SERS技术的优势,提出以下建议:

1) 建立癌症的SERS检测数据库,包括对健康人组织、细胞、血液中各种成分的SERS分析数据,为SERS技术在癌症临床应用提供依据和标准。

2) 提高SERS光谱的重现性和稳定性。为此,除对原有SERS增强基质制备方法进行改进和发展外,还需发展更多种金属作为SERS增强基质,并建立一些新的SERS增强基质制备技术。

3) 发展适用于医学检验的SERS检测新技术。将SERS技术与一些生物医学技术特别是无损的检测分析技术相结合,发展一些SERS检测新技术,全面解析癌症信息,充分发挥SERS技术在癌症检测中高灵敏度和特异性的优势。

未来的研究热点将主要集中在发展无损、快速、特异性和灵敏度高的癌症SERS检测方法,这些研究结果将为大规模、快速癌症大众筛查提供经济有效的SERS检测新技术。可以预见,SERS技术将成为一种强

有力的癌症筛查手段,并有望推广到其他疾病的普查,从而为改善大众健康、造福人类做出贡献。

### 参 考 文 献

- 1 A Jemal, F Bray, M M Center, *et al.*. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69–90.
- 2 Lei Tonghai. Mortality and constitution of the top 10 of most common cancers in China[J]. *China Cancer*, 2010, 19(12): 801–802.  
雷通海. 中国最常见的 10 种癌症死亡率和构成[J]. *中国肿瘤*, 2010, 19(12): 801–802.
- 3 G Shetty, C Kendall, N Shepherd, *et al.*. Raman spectroscopy; elucidation of biochemical changes in carcinogenesis of oesophagus[J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(10): 1460–1464.
- 4 J Lin, H Xu, Y Wu, *et al.*. Investigation of FFA-associated recombinant membrane receptor protein expression in HEK293 cells using Raman spectroscopy, calcium imaging, and atomic force microscopy[J]. *Anal Chem*, 2013, 85(3): 1374–1381.
- 5 P Chen, A Shen, X Zhou, *et al.*. Bio-Raman spectroscopy; a potential clinical analytical method assisting in disease diagnosis[J]. *Anal Methods*, 2011, 3(6): 1257–1269.
- 6 J W Chan, D S Taylor, T Zwerdling, *et al.*. Micro-Raman spectroscopy detects individual neoplastic and normal hematopoietic cells[J]. *Biophys J*, 2006, 90(2): 648–656.
- 7 Liao Yanlin, Liu Ye, Cao Jie, *et al.*. A surface enhanced Raman scattering spectrum detection system based on fiber devices [J]. *Chinese J Lasers*, 2012, 39(7): 0715002.  
廖艳林, 刘 晔, 曹 杰, 等. 一种基于光纤器件的表面增强拉曼散射光谱检测系统[J]. *中国激光*, 2012, 39(7): 0715002.
- 8 M Fleischmann, P Hendra, A Mc Quillan. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode [J]. *Chem Phys Lett*, 1974, 26(2): 163–166.
- 9 Wang Junqiao, Zhang Xinzhen, Sun Liping, *et al.*. Laser-induced deposition of Silver nanoparticles films and microstructures onto glass substrates[J]. *Chinese J Lasers*, 2011, 38(1): 0107001.  
王俊俏, 张心正, 孙立萍, 等. 激光诱导银纳米颗粒薄膜和微结构[J]. *中国激光*, 2011, 38(1): 0107001.
- 10 R Jin, G Wu, Z Li, *et al.*. What controls the melting properties of DNA-linked gold nanoparticle assemblies[J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(6): 1643–1654.
- 11 X M Qian, S Nie. Single-molecule and single-nanoparticle SERS; from fundamental mechanisms to biomedical applications [J]. *Chem Soc Rev*, 2008, 37(5): 912–920.
- 12 J Kneipp, H Kneipp, K Kneipp. SERS—a single-molecule and nanoscale tool for bioanalytics[J]. *Chem Soc Rev*, 2008, 37(5): 1052–1060.
- 13 L Tong, T Zhu, Z Liu. Approaching the electromagnetic mechanism of surface-enhanced Raman scattering; from self-assembled arrays to individual gold nanoparticles[J]. *Chem Soc Rev*, 2011, 40(3): 1296–1304.
- 14 K C Bantz, A F Meyer, N J Wittenberg, *et al.*. Recent progress in SERS biosensing[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2011, 13(24): 11551–11567.
- 15 Liu yannan, Zou Zuquan, Liu Yanqing, *et al.*. Surface-enhanced Raman spectra of natural tissue and cancerous tissue of lung[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2007, 27(10): 2045–2048.  
刘燕楠, 邹祖全, 刘燕青, 等. 肺正常组织与癌变组织的表面增强拉曼光谱[J]. *光谱学与光谱分析*, 2007, 27(10): 2045–2048.
- 16 S C Pinzaru, L Andronie, I Domsa, *et al.*. Bridging biomolecules with nanoparticles; surface-enhanced Raman scattering from colon carcinoma and normal tissue[J]. *J Raman Spectrosc*, 2008, 39(3): 331–334.
- 17 S Feng, J Lin, M Cheng, *et al.*. Gold nanoparticle based surface-enhanced Raman scattering spectroscopy of cancerous and normal nasopharyngeal tissues under near-infrared laser excitation[J]. *Appl Spectrosc*, 2009, 63(10): 1089–1094.
- 18 S Feng, J Lin, Z Huang, *et al.*. Esophageal cancer detection based on tissue surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis[J]. *Appl Phys Lett*, 2013, 102(4): 043702.
- 19 S Schlücker, B Küstner, A Punge, *et al.*. Immuno-Raman microspectroscopy; *in situ* detection of antigens in tissue specimens by surface-enhanced Raman scattering[J]. *J Raman Spectrosc*, 2006, 37(7): 719–721.
- 20 L Sun, K B Sung, C Dentinger, *et al.*. Composite organic-inorganic nanoparticles as Raman labels for tissue analysis[J]. *Nano Lett*, 2007, 7(2): 351–356.
- 21 B Lutz, C Dentinger, L Sun, *et al.*. Raman nanoparticle probes for antibody-based protein detection in tissues[J]. *J Histochem Cytochem*, 2008, 56(4): 371–379.
- 22 Xi Gangqin, Chen Yanping, Chen Gang, *et al.*. Surface-enhanced Raman scattering spectroscopic assay of

- immunohistochemically stained human colon cancer tissue[J]. Chinese J Lasers, 2011, 38(9): 0904001.
- 席刚琴, 陈燕坪, 陈刚, 等. 基于表面增强拉曼光谱的结肠癌组织免疫分析[J]. 中国激光, 2011, 38(9): 0904001.
- 23 Y Chen, X Zheng, G Chen, *et al.*. Immunoassay for LMP1 in nasopharyngeal tissue based on surface-enhanced Raman scattering[J]. Int J Nanomed, 2012, 7: 73–82.
- 24 X Qian, X H Peng, D O Ansari, *et al.*. *In vivo* tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags[J]. Nature Biotechnol, 2008, 26(1): 83–90.
- 25 S Keren, C Zavaleta, Z Cheng, *et al.*. Noninvasive molecular imaging of small living subjects using Raman spectroscopy [J]. PNAS, 2008, 105(15): 5844–5849.
- 26 S Schlücker. SERS microscopy: nanoparticle probes and biomedical applications[J]. Chem Phys Chem, 2009, 10(9-10): 1344–1354.
- 27 J Kneipp, H Kneipp, B Wittig, *et al.*. Novel optical nanosensors for probing and imaging live cells[J]. Nanomedicine, 2010, 6(2): 214–226.
- 28 J Kneipp, H Kneipp, W L Rice, *et al.*. Optical probes for biological applications based on surface-enhanced Raman scattering from indocyanine green on gold nanoparticles[J]. Anal Chem, 2005, 77(8): 2381–2385.
- 29 Y Huang, V P Swarup, S W Bishnoi. Rapid Raman imaging of stable, functionalized nanoshells in mammalian cell cultures [J]. Nano Lett, 2009, 9(8): 2914–2920.
- 30 H W Tang, X B Yang, J Kirkham, *et al.*. Probing intrinsic and extrinsic components in single osteosarcoma cells by near-infrared surface-enhanced Raman scattering[J]. Anal Chem, 2007, 79(10): 3646–3653.
- 31 A Beljebbar, G D Sockalingum, H Morjani, *et al.*. Raman and SERS microspectroscopy on living cells: a promising tool toward cellular drug response and medical diagnosis[C]. SPIE, 1999, 3608: 175–184.
- 32 K Kneipp, A S Haka, H Kneipp, *et al.*. Surface-enhanced Raman spectroscopy in single living cells using gold nanoparticles[J]. Appl Spectrosc, 2002, 56(2): 150–154.
- 33 M Y Sha, H Xu, M J Natan, *et al.*. Surface-enhanced Raman scattering tags for rapid and homogeneous detection of circulating tumor cells in the presence of human whole blood[J]. J Am Chem Soc, 2008, 130(51): 17214–17215.
- 34 X Wang, X Qian, J J Beitler, *et al.*. Detection of circulating tumor cells in human peripheral blood using surface-enhanced Raman scattering nanoparticles[J]. Cancer Res, 2011, 71(5): 1526–1532.
- 35 Chen Hong, Wang Zhi, Wu jian. Circulating tumor of hepatocellular carcinoma and their clinical implications[J]. J Clinical Hepatology, 2011, 27(8): 796–800.
- 陈洪, 王智, 吴健. 肝癌循环肿瘤细胞的研究现状[J]. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(8): 796–800.
- 36 A Shamsaie, M Jonczyk, J Sturgis, *et al.*. Intracellularly grown gold nanoparticles as potential surface-enhanced Raman scattering probes[J]. J Biomed Opt, 2007, 12(2): 020502.
- 37 I Chourpa, F H Lei, P Dubois, *et al.*. Intracellular applications of analytical SERS spectroscopy and multispectral imaging [J]. Chem Soc Rev, 2008, 37(5): 993–1000.
- 38 R Gessner, P Rosch, R Petry, *et al.*. The application of a SERS fiber probe for the investigation of sensitive biological samples[J]. Analyst, 2004, 129(12): 1193–1199.
- 39 J Lin, R Chen, S Feng, *et al.*. Rapid delivery of silver nanoparticles into living cells by electroporation for surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Biosens Bioelectron, 2009, 25(2): 388–394.
- 40 Y Yu, J Lin, Z Huang, *et al.*. Improved electroporation parameters of delivering silver nanoparticles into living C666 cells for surface-enhanced Raman scattering[C]. J Phys: Conf Ser, 2011, 277(1): 012045.
- 41 Yu Yun, Lin Juqiang, Huang Hao, *et al.*. Effect of silver colloid concentration on electroporation for intracellular surface enhanced Raman scattering[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2011, 38(10): 961–966.
- 俞允, 林居强, 黄浩, 等. 银胶浓度对电穿孔获取细胞内表面增强拉曼光谱的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 2011, 38(10): 961–966.
- 42 J Lin, Y Yu, B Li, *et al.*. Electrical pulse-mediated enhanced delivery of silver nanoparticles into living suspension cells for surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Laser Phys Lett, 2012, 9(3): 240–246.
- 43 W Xie, L Su, A Shen, *et al.*. Application of surface-enhanced Raman scattering in cell analysis[J]. J Raman Spectrosc, 2011, 42(6): 1248–1254.
- 44 Liu Shupeng, Zhu Hongfei, Chen Na, *et al.*. Surface enhanced Raman scattering spectrum analysis of nude mouse serum with Au nanoparticles active substrate[J]. Chinese J Lasers, 2012, 39(5): 0504004.
- 刘书朋, 朱鸿飞, 陈娜, 等. 金颗粒为活性基底的裸鼠血清表面增强拉曼散射光谱分析[J]. 中国激光, 2012, 39(5): 0504004.



- 45 S Feng, R Chen, J Lin, *et al.*. Nasopharyngeal cancer detection based on blood plasma surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis[J]. *Biosens Bioelectron*, 2010, 25(11): 2414–2419.
- 46 S Feng, R Chen, J Lin, *et al.*. Gastric cancer detection based on blood plasma surface-enhanced Raman spectroscopy excited by polarized laser light[J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(7): 3167–3174.
- 47 Liu Renming, Liu Ruiming, Wu Yanchun, *et al.*. Investigations on NIR-SERS spectra of serum for liver cancer based on NIR-SERS substrate[J]. *Acta Optica Sinica*, 2011, 31(6): 0630001.  
刘仁明, 刘瑞明, 武延春, 等. 基于新型 NIR-SERS 基底的肝癌血清 NIR-SERS 光谱研究[J]. *光学学报*, 2011, 31(6): 0630001.
- 48 Li Xiaozhou, Yang Tianyue. Detection and discrimination of normal and colorectal cancer serum using Raman spectroscopy [J]. *J Light Scattering*, 2011, 23(4): 138–141.  
李晓舟, 杨天月. 正常人和结肠癌患者血清的拉曼光谱探测与区别[J]. *光散射学报*, 2011, 23(2): 138–141.
- 49 J Lin, R Chen, S Feng, *et al.*. A novel blood plasma analysis technique combining membrane electrophoresis with silver nanoparticle-based SERS spectroscopy for potential applications in noninvasive cancer detection[J]. *Nanomedicine*, 2011, 7(5): 655–663.
- 50 J Lin, R Chen, S Feng, *et al.*. Surface-enhanced Raman scattering spectroscopy for potential noninvasive nasopharyngeal cancer detection[J]. *J Raman Spectrosc*, 2012, 43(4): 497–502.