

表面等离子体共振成像检测桃胶多糖与半乳糖凝集素-3 的相互作用

帅玉环¹, 齐攀², 李莹³, 胡翠英¹, 蔡梦洁⁴, 冉艳红⁴, 李仕萍^{5**}, 钟金钢^{5*}

¹暨南大学理工学院物理学系, 广东 广州 510632;

²广东交通职业技术学院电子工程系, 广东 广州 510650;

³暨南大学预科部, 广东 广州 510610;

⁴暨南大学生命科学技术学院生物工程学系, 广东 广州 510632;

⁵暨南大学理工学院光电工程系, 广东 广州 510632

摘要 利用自组装的数字全息表面等离子体共振成像技术, 分别检测了两种具有不同分子质量的桃胶多糖(PGP-1 与 PGP-2)与半乳糖凝集素-3 的相互作用。制备了表面等离子体共振成像生物芯片, 同时检测了具有不同浓度的桃胶多糖样品与半乳糖凝集素-3 的结合过程, 制作了标准曲线, 并计算了相互作用的结合平衡常数。结果表明, 两种具有不同分子质量的桃胶多糖可以直接结合半乳糖凝集素-3, 其中 PGP-1 的结合平衡常数为 $8.36 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, PGP-2 的结合平衡常数为 $1.24 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 。结合曲线符合生物分子相互作用的规律, 证明了该方法在多通量生物检测中的可行性。该方法实验装置简单、易操作、无需标记、成本低, 在高通量分析技术中具有一定的应用前景。

关键词 表面光学; 表面等离子体共振成像; 数字全息; 桃胶多糖; 半乳糖凝集素-3; 分子间相互作用; 高通量

中图分类号 O436.1

文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP56.092402

Detection of Interaction Between Peach-Gum Polysaccharides and Galectin-3 via Surface Plasmon Resonance Imaging

Shuai Yuhuan¹, Qi Pan², Li Ying³, Hu Cuiying¹, Cai Mengjie⁴, Ran Yanhong⁴,
Li Shiping^{5**}, Zhong Jingang^{5*}

¹Department of Physics, College of Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou Guangdong, 510632, China;

²Department of Electronics Engineering, Guangdong Communication Polytechnic, Guangzhou, Guangdong 510650, China;

³Pre-University, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510610, China;

⁴Department of Bioengineering, College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China;

⁵Department of Optoelectronic Engineering, College of Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China

Abstract The interactions between galectin-3 and two types of peach-gum polysaccharides with different molecular weights (PGP-1 and PGP-2) were detected herein via self-assembly surface plasma resonance (SPR) imaging based on digital holography. Different concentrations of peach-gum polysaccharides and Galectin-3 were simultaneously detected on an SPR biochip prepared for detecting the concentrations. The standard curves were derived and the binding equilibrium constants of the reactions were calculated. The results show that the two types of peach-gum polysaccharides can directly bind to Galectin-3. The binding equilibrium constants of PGP-1 and PGP-2 are 8.36×10^5

收稿日期: 2018-10-16; 修回日期: 2018-11-26; 录用日期: 2018-12-04

基金项目: 国家自然科学基金(61605063)、广东高校省级重点平台和重大科研项目(2017GKTSCX017)、广东省自然科学基金(2018A030313912)、广东省高等职业院校珠江学者岗位计划资助项目(2016 年度)

* E-mail: tzjg@jnu.edu.cn; ** E-mail: tlisp@jnu.edu.cn

10^5 and $1.24 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, respectively. The binding curves conform to the law of biomolecular interaction, demonstrating the feasibility of the proposed method in high-throughput biological detection. The proposed method can be easily controlled and is simple, label-free, and inexpensive. It is potentially applicable to the high-throughput microanalysis technology.

Key words optics at surfaces; surface plasmon resonance imaging; digital holography; peach gum polysaccharide; galectin-3; biomolecular interaction; high-throughput

OCIS codes 240.6680; 090.1995; 000.1430

1 引言

桃胶为蔷薇科植物桃 [*Prunus persica* (L.) Batsch] 或山桃 [*Prunus davidiana* (Carr.) Franch] 等树身受到损坏 (如虫咬、划伤、切伤等) 或生病后渗透出来的胶质半透明物质^[1], 主要成分为半乳糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸等组成的多糖。桃胶对于人和动物都无毒害作用, 且具有很高的药用价值, 如抗肿瘤、抗炎症、抗衰老、治疗二型糖尿病等^[2]。半乳糖凝集素-3 (Gal-3) 是半乳凝素家族中唯一一种嵌合型的成员^[3], 能促进肿瘤细胞增殖和迁移^[4-5]。检测桃胶多糖与半乳糖凝集素-3 的相互作用, 可以初步阐释桃胶的抗肿瘤机理, 以促进桃胶的综合开发利用。检测生物分子相互作用的技术有荧光共振能量转移^[6]、酵母双杂交技术^[7]、亲和层析^[8]、酶联标记分析 (ELISA)^[9-10], 以及表面等离子体共振 (SPR) 生化分析技术等^[11-13]。有些生化分析技术需要化学标记, 这对检测结果有一定的影响。SPR 技术不需要对样品进行标记, 能实时监测生物分子相互作用, 便于研究其时序性特点与规律; 因此, 在研究生物分子相互作用上具有很大的优势。目前, SPR 生化分析技术已在医学、生物化学、环境检测、食品分析等许多领域应用^[14-21]。

随着生命科学技术的持续发展, 以及 SPR 技术在各类生物体系检测中的深入, 对 SPR 技术的需求越来越高。传统 SPR 技术主要是单通道分析, 难以满足高分辨、高通量、大范围的生命物质分析。因此, 发展实时快速的高分辨、高通量分析技术具有重要的应用价值, 也是生化分析技术的发展趋势之一, 如引入光纤光栅传感器^[22-23]。因光学表面波折射率传感成像在医学上具有很大的优势^[24], 于是, 作为免标记、可原位实时探测分子相互作用的表面等离子体共振成像 (SPRI) 方法获得了发展的动力, 具有极大的应用前景^[25]。商业化 SPRI 仪器的价格大都昂贵, 仪器操作比较繁琐, 一般只能得到强度成像或相位成像, 而基于数字全息的 SPRI 技术能同时获得强度图像与相位图像, 扩大了折射率的检测范围,

检测样品数量种类也能相应增加^[26]。本文结合数字全息技术搭建了一套新型的 SPRI 检测系统, 利用自组装单分子层技术 (SAM) 固定探针, 可以同时检测不同浓度的桃胶多糖与半乳糖凝集素-3 的动力学结合过程。

2 材料与设备方法

2.1 材料与试剂

桃胶多糖 PGP-1 (分子质量为 12103 u) 和桃胶多糖 PGP-2 (分子质量为 13790 u) 为暨南大学生命科学技术学院生物工程系实验室纯化的多糖样品; 半乳糖凝集素-3 (分子质量为 26.1 ku) 购于 PeptoTech 公司; 巯基十一烷酸 (11-MUA)、巯基己酸 [$\text{HS}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$]、乙醇胺 (Eth)、N-羧基琥珀酰亚胺 (NHS)、碳二亚胺 (EDC) 购于美国 Sigma 公司; 其他试剂购于北京化学试剂公司。磷酸缓冲盐溶液 (PBS): 2 mmol/L NaH_2PO_4 , 2 mmol/L Na_2HPO_4 , 150 mmol/L NaCl , pH 值为 7.4。

用 PBS 配制相应浓度的溶液, 半乳糖凝集素-3 的浓度为 $1.91 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 。桃胶多糖 PGP-1 及 PGP-2 按照与 Gal-3 的浓度比配制: 当 Gal-3 与 PGP-1 的浓度比为 1:5, 1:10, 1:20 时, PGP-1 的配制浓度分别为 9.587×10^{-7} , 1.917×10^{-6} , $3.835 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$; 当 Gal-3 与 PGP-2 的浓度比为 1:10, 1:20, 1:40 时, PGP-2 的配制浓度分别为 1.913×10^{-6} , 3.826×10^{-6} , $7.652 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 。

2.2 仪器与设备

2.2.1 原理

SPR 是一种利用 P 偏振光, 发生在电介质和金属界面上的物理光学现象^[27]。SPR 能很灵敏地检测出金属薄层上电介质折射率的变化, 在一定条件下发生共振, 反射光能量会急剧变弱, 即使介质折射率有微小的改变, 反射光的相位和强度也会发生明显的变化。所有材料都具备固有的折射率, 这样就能通过检测生物样品微小的折射率变化来进行生化分析。激发表面等离子体波的装置有 Otto 和 Kretschmann^[28], 本文采用 Kretschmann 装置。生

物芯片经过一系列的修饰固定过程后,在其表面滴加待检测的样品溶液,样品与生物芯片发生相互作用,随着作用时间的增加,折射率会随之改变,反射光的相位与强度也随之改变。因此,可以根据互补金属氧化物半导体(CMOS)相机捕获的反射光的相位和强度图来分析生物分子间的相互作用。

根据等价递推方法^[29]计算固定入射角下,反射率 R 与相位 ϕ 随着样品折射率变化的关系曲线。当 P 偏振光的入射角为 70.58° (水的共振角)时,反射率和相位随折射率的变化关系如图 1 所示,其中入射波长为 632.8 nm ,金膜厚度为 50 nm ,棱镜折射率为 1.516 ,金膜介电常数为 $-13.4+1.4j$ 。由图 1 可以看出,相位变化快时,对应的反射率变化较慢,反之亦然。当入射角为 70.58° 时,水滴的反射率和相位随厚度的变化关系如图 2 所示,在此条件下,水滴厚度在 600 nm 左右时相位与反射率开始慢慢发生变化。

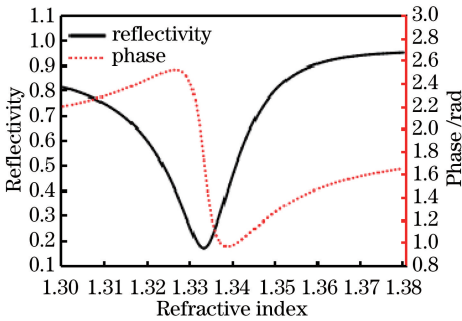


图 1 入射角为 70.58° 时反射率与相位随折射率的变化
Fig. 1 Reflectivity and phase versus refractive index at incident angle of 70.58°

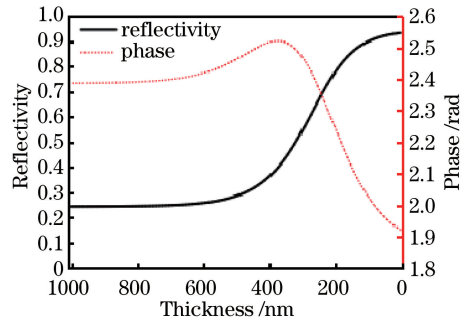


图 2 入射角为 70.58° 时反射率与相位随样品厚度的变化
Fig. 2 Reflectivity and phase versus sample thickness at incident angle of 70.58°

2.2.2 装置

SPRI 检测系统示意图如图 3 所示,图 4 为实物图。直角棱镜的材质为 K9 玻璃,用与其折射率相近的匹配液(松柏油)将镀有 50 nm 厚金膜的盖玻片贴敷在底部。调节氦氖激光器(波长为 632.8 nm)发出 P 偏振光,再通过一个由 40 倍物镜和 $15\text{ }\mu\text{m}$ 小孔组成的空间滤波器 SF 和凸透镜 L 后,变成一束平行光,然后由分光棱镜(BS1)分成一束物光和一束参考光。物光由平面反射镜(M1)反射到直角棱镜底部,待测样品滴敷在金膜上,物光射过样品后,携带着样品的信息从棱镜的另一面射出。参考光由平面反射镜(M2)反射后再与携带样品信息的物光汇合到分光棱镜(BS2)上,调整其位置,使得这两束光形成合适的干涉条纹,再由 CMOS 相机记录接收到计算机上,利用数字再现算法^[30],可得到样品的强度与相位图。

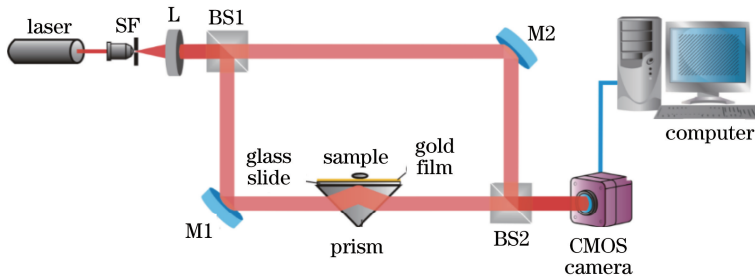


图 3 SPRI 实验装置图
Fig. 3 Experimental device of SPRI

2.3 方法

2.3.1 水滴蒸发

为了检测该套 SPRI 系统的稳定性,进行了水滴蒸发实验。调整好实验装置,用移液枪吸取 $0.2\text{ }\mu\text{L}$ 去离子水,滴在金膜中央,用 CMOS 相机每 0.2 s 采集一张图片传到计算机中,连续采集 40.4 s ,共 202 张全息图,再用数字再现算法对全息图进行

再现,分别得到 202 张强度图和相位图。时间分别为 $0, 34.4, 40.4\text{ s}$ 的强度图和相位图如图 5 所示。由于角度的关系,CMOS 拍摄得到的图像在一个方向上会有一定的压缩,为了便于观察,强度图像取负值。对强度图像与相位图像中间 $5\text{ pixel}\times 5\text{ pixel}$ 作平均,画出它们随时间变化的曲线图,如图 6 所示。由图 6 可知,SPR 发生在反射率最小,即 34.4 s

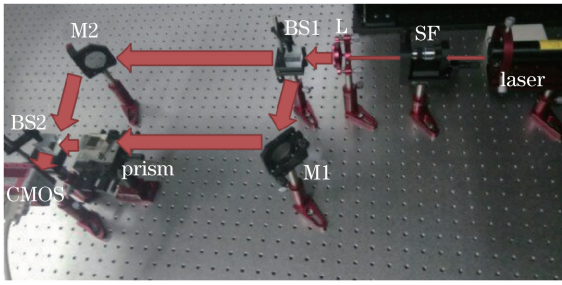


图4 实验装置实物图

Fig. 4 Physical map of experimental device

时。在这之前,蒸发过程中强度与相位随时间只有微小的波动,呈稳定趋势,虽然可能会受一些电子噪声的影响,但系统检测还是相对稳定的。由图2可知,水滴厚度很薄时相位与强度才开始发生变化,在此次实验环境下,水滴蒸发过程中相位与强度发生明显改变的时间持续大概7 s,大约在31 s时水滴厚度达到了影响相位与强度变化的程度,这与模拟曲线大致相适应,但与图2中模拟水滴的反射率曲线存在一定的偏差,在30 s后有个明显的下降过程。可能的原因是:水滴实际蒸发过程比理论计算时简单认为只是水膜逐渐变薄的过程更复杂,例如实验所用的去离子水纯度不够,可能含有一定的杂质,其折射率与图2中模拟水滴的折射率存在一定的偏差,在水滴蒸发过程中,其反射率会随着折射率的变化先减小后增加。

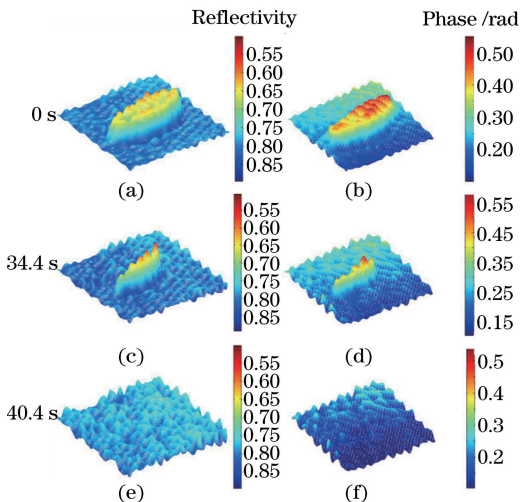


图5 水滴溶液蒸发过程中的反射率图与相位图。

(a)(c)(e)强度图;(b)(d)(f)相位图

Fig. 5 Reflectivity and phase diagrams during water droplet evaporation. (a)(c)(e) Intensity diagrams; (b)(d)(f) phase diagrams

2.3.2 生物芯片的制备

进行生物分子相互作用实验时,首先要制备生

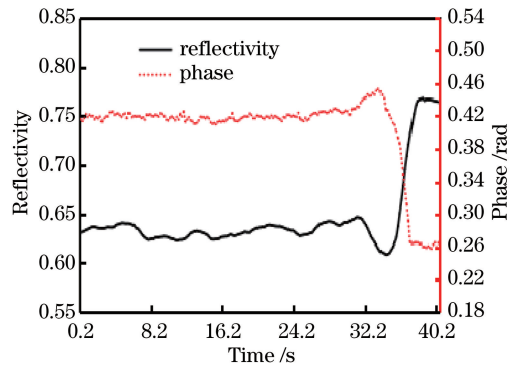


图6 水滴蒸发反射率和相位随时间的变化曲线

Fig. 6 Rereflectivity and phase versus time during water droplet evaporation

物芯片,制备过程包括修饰、活化、固定和封闭灭活等步骤,具体如下:

1) 用自组装单分子层技术修饰金膜,将清洗干净的膜浸入质量比为1:9的5 mmol/L的巯基十一烷酸(11-MUA)和巯基己酸的乙醇溶液中,对金膜表面进行化学修饰3 h,修饰液中的巯基与金键结合形成羧基,取出修饰好的金膜,用PBS清洗3次后晾干。

2) 对芯片进行活化,修饰好的金膜放入0.1 mol/L的NHS和0.1 mol/L EDC混合溶液中,将芯片表面的羧基活化成活酯(注意要避免光),活化15 min后用PBS清洗3次后晾干。

3) 固定探针,将浓度为 1.91×10^{-7} mol/L的Gal-3溶液均匀地覆盖在整片金膜上,固定探针15 min后取出金膜,用PBS清洗3次后晾干。

4) 封闭芯片,加入pH值为8.5的1 mol/L乙醇胺,将剩余的酯键灭活,封闭3 min后取出金膜芯片,用PBS清洗3次后晾干,完成生物芯片的制备。

3 结果与分析

3.1 桃胶多糖 PGP-1 与 Gal-3 的动力学结合过程

将制备好的生物芯片用香柏油贴敷在直角棱镜底面,调整好实验装置,将浓度分别为 9.587×10^{-7} , 1.917×10^{-6} , 3.835×10^{-6} mol/L的PGP-1溶液在生物芯片上进行人工点样,盖上湿盒防止蒸发。为了减小人工点样给实验带来的迟滞误差,实验只取3个浓度点。用CMOS相机每0.3 s采集一张反应过程的全息图存入计算机中,持续采集270 s,共900张全息图,用数字再现算法进行再现,得到反应的强度图与相位图。

图7为反应0和270 s的强度图与相位图,D1、D2、D3分别是浓度 9.587×10^{-7} , 1.917×10^{-6} , 3.835×10^{-6} mol/L的PGP-1液滴。为了进一步了解结合的动力学特性,画出在整个检测过程中D1、D2、D3等不同浓度多糖液滴的相位值随时间的变化

关系图,分别取相位图中5 pixel \times 5 pixel作平均值得出图8。由图8可知,在相同条件下,当样品中PGP-1浓度大时,与芯片表面Gal-3探针结合的数量多,结合速度快,从而导致折射率的变化快,相位响应值快速增大,PGP-1浓度与相位响应值呈正相关。

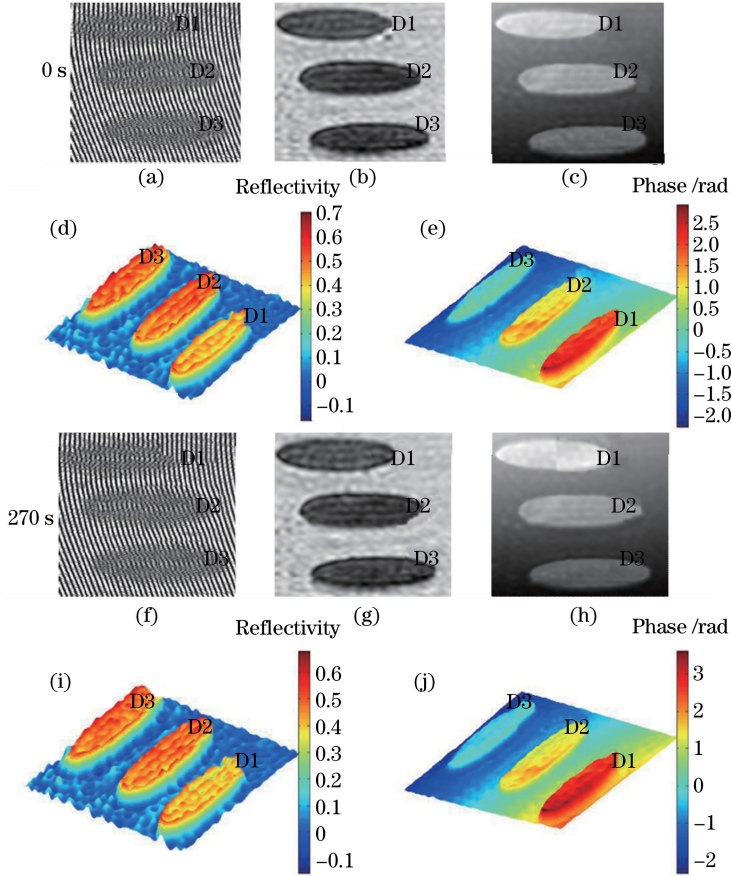


图7 反应第0和第270 s的全息图、强度图和相位图。(a) 0 s时全息图;(b) 0 s时再现强度图;(c) 0 s时解包裹相位图;(d)图(b)的三维显示图;(e)图(c)的三维显示图;(f) 270 s时全息图;(g) 270 s时再现强度图;(h) 270 s时解包裹相位图;(i)图(g)的三维显示图;(j)图(h)的三维显示图

Fig. 7 Digital holograms, intensity images, and phase images recorded at 0 and 270 s. (a) Digital hologram at 0 s; (b) reconstructed intensity image at 0 s; (c) reconstructed phase image at 0 s; (d) three-dimensional (3D) representation of (b); (e) 3D representation of (c); (f) digital hologram at 270 s; (g) reconstructed intensity image at 270 s; (h) reconstructed phase image at 270 s; (i) 3D representation of (g); (j) 3D representation of (h)

图9为桃胶多糖PGP-1与浓度为 1.91×10^{-6} mol/L的Gal-3结合的标准曲线,以结合相对饱和时(第250 s)的响应相位值为纵坐标,样品PGP-1的浓度为横坐标绘制PGP-1的标准曲线, $9.587 \times 10^{-7} \sim 3.835 \times 10^{-6}$ mol/L的样品相位响应值与浓度基本呈线性关系,拟合标准曲线方程为 $f(x) = 1.86 \times 10^5 x + 0.0428$,相关系数 $R^2 = 0.987$,均方根误差为0.0032。根据动力学常数计算模型,优先选择Langmuir模型^[31-32],

$$d\phi/dt = -k_d\phi, \quad (1)$$

$$\begin{aligned} d\phi/dt &= k_a C_A (\phi_{\max} - \phi) - k_d \phi = \\ &= k_a C_A \phi_{\max} - k_a C_A \phi - k_d \phi = \\ &= k_a C_A \phi_{\max} - (k_a C_A + k_d) \phi, \quad (2) \\ K_A &= k_a / k_d, \quad (3) \end{aligned}$$

式中: C_A 为样品浓度; ϕ_{\max} 为传感芯片上形成最多复合物时所得的响应; ϕ 为时间 t 时的响应值; k_a 为结合速率常数; k_d 为解离速率常数; K_A 为结合平衡常数。

取图8曲线变化最快的部分,先对该部分响应与时间求微分,然后再对响应值作线性拟合,求出斜

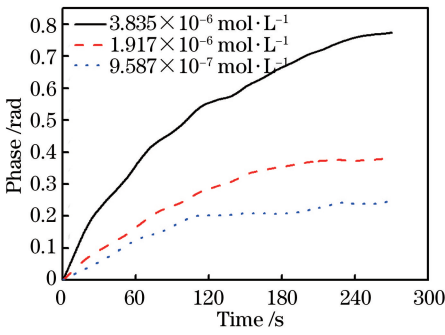


图 8 PGP-1 相位值随时间的变化
Fig. 8 PGP-1 phase versus time

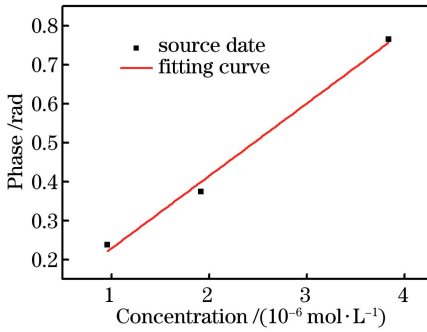


图 9 PGP-1 反应的标准曲线

Fig. 9 Standard curve of PGP-1 reaction

率,最后用该斜率与对应的样品浓度做线性拟合,所得斜率为结合速率常数,数值为 $6663.4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$,如图 10 所示,计算得出的结合平衡常数为 $8.36 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 。

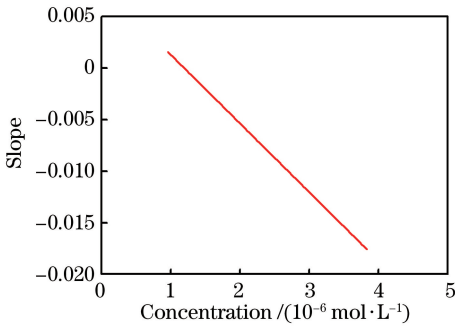


图 10 PGP-1 反应的结合速率计算曲线
Fig. 10 Calculated curve of binding rate for PGP-1 reaction

3.2 桃胶多糖 PGP-2 与半乳糖凝集素-3 的动力学结合过程

为了尽量减小样品制备带来的误差,该处生物芯片制备与上述芯片同时制备,在相同的条件下将浓度分别为 1.913×10^{-6} , 3.826×10^{-6} , $7.652 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 的 PGP-2 溶液在生物芯片上点样,用 CMOS 相机每 0.3 s 采集一张结合过程的全息图存

入计算机中,持续采集 327 s,共 1090 张全息图,用数字再现算法进行再现,同样得到结合的强度图与相位图。画出在整个测量过程中 3 个不同浓度多糖液滴的相位值随时间变化的关系图,分别取相位图中 $5 \text{ pixel} \times 5 \text{ pixel}$ 作平均值得出图 11。由图 11 可知,结合先快后慢,再逐步趋于饱和,结合过程近似对数函数关系,符合反应规律。曲线中间出现的一些饱和状态,是由于分子结合动力学过程中,某些分子结合不均匀所引起的。以 300 s 时的相位响应值为纵坐标,PGP-2 样品浓度为横坐标,绘制 PGP-2 反应的标准曲线,如图 12 所示。标准曲线方程为 $f(x) = 2.27 \times 10^5 x + 0.04673$,相关系数 $R^2 = 0.981$,均方根误差为 0.0275。根据动力学常数计算模型求出结合速率常数,如图 13 所示,数值约为 $3930.25 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$,结合平衡常数为 $1.24 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 。由表 1 数据可知,PGP-2 的结合平衡常数比 PGP-1 的结合平衡常数小。

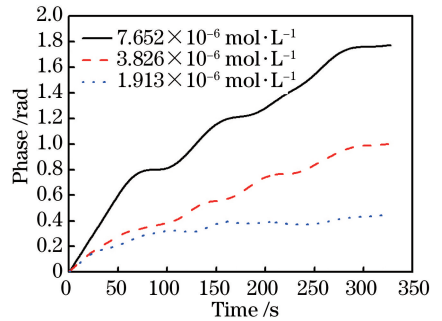


图 11 PGP-2 相位随时间的变化
Fig. 11 PGP-2 phase versus time

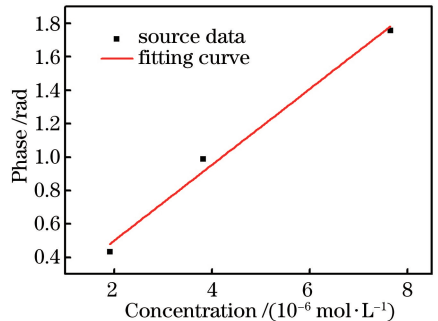


图 12 PGP-2 反应的标准曲线

Fig. 12 Standard curve of PGP-2 reaction

4 结 论

利用能获得强度图和相位图的表面等离子体共振成像系统,同时检测不同浓度的桃胶多糖 (PGP-1 和 PGP-2) 与 Gal-3 分子间相互作用的过程。为验证理论分析,建立了基于数字全息的表面等离子体

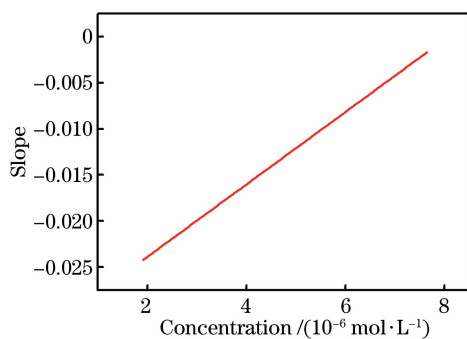


图 13 PGP-2 反应的结合速率计算曲线

Fig. 13 Calculated curve of binding rate for PGP-2 reaction

表 1 动力学参数

Table 1 Kinetic parameters

Sample	Binding rate constant, $k_a / (M^{-1} s^{-1})$	Binding equilibrium constant, K_A / M^{-1}
PGP-1	6663.40	8.36×10^5
PGP-2	3930.25	1.24×10^5

共振成像实验系统,用水滴蒸发的实验结果与其理论分析的一致性证明了该系统稳定可行。利用本实验系统大致建立了 $9.587 \times 10^{-7} \sim 3.835 \times 10^{-6}$ mol/L浓度范围的 PGP-1 和 $(1.913 \sim 7.652) \times 10^{-6}$ mol/L 浓度范围的 PGP-2 分别与半乳糖凝集素-3 相互作用的标准曲线,PGP-1 与 Gal-3 的结合平衡常数大于 PGP-2 与 Gal-3 的结合平衡常数。结果表明,这两种桃胶多糖样品具有与 Gal-3 直接结合的活性,为桃胶多糖的深度开发利用提供了基础数据。该实验装置和方法简单可行,无需标记,操作简单,适合同时对不同浓度的同一样品进行检测分析,适用于基础研究,及大量样品的筛选与对比,可大大缩短检测时间,降低成本,且所需样品量少,在高通量生物分子相互作用检测中具有良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Huang X S. The properties, processing, development and utilization of peach gum[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2004, 26(1): 47-51.
黄雪松. 桃胶的性质、加工及其开发利用[J]. 特产研究, 2004, 26(1): 47-51.
- [2] Zheng Y L, Dong P P, Mei Q X. Progress in pharmacological action and clinical application of characteristic chemical constituents of peach gum[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2017, 28(7): 1728-1730.
郑依玲, 董鹏鹏, 梅全喜. 桃胶特性化学成分药理作

- 用及临床应用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(7): 1728-1730.
- [3] Barondes S H, Castronovo V, Cooper D N W, *et al.* Galectins: a family of animal β -galactoside-binding lectins[J]. Cell, 1994, 76(4): 597-598.
- [4] Kobayashi T, Shimura T, Yajima T, *et al.* Transient silencing of galectin-3 expression promotes both *in vitro* and *in vivo* drug-induced apoptosis of human pancreatic carcinoma cells [J]. Clinical & Experimental Metastasis, 2011, 28(4): 367-376.
- [5] Ahmed H, Alsadek D M M. Galectin-3 as a potential target to prevent cancer metastasis [J]. Clinical Medicine Insights-Oncology, 2015, 9: 113-121.
- [6] Jepsen M D E, Sparvath S M, Nielsen T B, *et al.* Publisher correction: development of a genetically encodable FRET system using fluorescent RNA aptamers [J]. Nature Communications, 2018, 9: 669.
- [7] Fields S, Song O K. A novel genetic system to detect protein-protein interactions [J]. Nature, 1989, 340(6230): 245-246.
- [8] Totten S M, Kullolli M, Pitteri S J. Multi-lectin affinity chromatography for separation, identification, and quantitation of intact protein glycoforms in complex biological mixtures [M] // Totten S M, Kullolli M, Pitteri S J. Methods in molecular biology. New York: Springer, 2017: 99-113.
- [9] Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G [J]. Immunochemistry, 1971, 8(9): 871-874.
- [10] Verma M S, Tsaloglou M N, Sisley T, *et al.* Sliding-strip microfluidic device enables ELISA on paper [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 99: 77-84.
- [11] Zhang Y P, Shi S Y, Guo J F, *et al.* On-line surface plasmon resonance-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for analysis of human serum albumin binders from Radix Astragali [J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1293: 92-99.
- [12] Nedelkov D, Nelson R W. Surface plasmon resonance mass spectrometry: recent progress and outlooks [J]. Trends in Biotechnology, 2003, 21(7): 301-305.
- [13] Liparoto S F, Ciardelli T L. Biosensor analysis of the interleukin-2 receptor complex [J]. Journal of

- Molecular Recognition, 1999, 12(5): 316-321.
- [14] Majka J, Speck C. Analysis of protein-DNA interactions using surface plasmon resonance [M] // Seitz H. Analytics of protein-DNA interactions. Advances in biochemical engineering/biotechnology, Berlin, Heidelberg: Springer, 2007, 104: 13-36.
- [15] Shushama K N, Rana M M, Inum R, *et al.* Graphene coated fiber optic surface plasmon resonance biosensor for the DNA hybridization detection: simulation analysis [J]. Optics Communications, 2017, 383: 186-190.
- [16] Jain P K, El-Sayed I H, El-Sayed M A. Au nanoparticles target cancer [J]. Nano Today, 2007, 2(1): 18-29.
- [17] 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.
- [18] Joshi S, Segarra-Fas A, Peters J, *et al.* Multiplex surface plasmon resonance biosensing and its transferability towards imaging nanoplasmonics for detection of mycotoxins in barley [J]. The Analyst, 2016, 141(4): 1307-1318.
- [19] Cooper M A. Optical biosensors in drug discovery [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2002, 1(7): 515-528.
- [20] Li Y, Qi P, Li S P, *et al.* A label-free surface plasmon resonance biochip for *in situ* detection of shrimp hemocyanin [J]. Food Science, 2017, 38(12): 234-239.
李莹, 齐攀, 李仕萍, 等. 表面等离子体共振生物芯片无标记实时检测虾血蓝蛋白 [J]. 食品科学, 2017, 38(12): 234-239.
- [21] Campbell C, Kim G. SPR microscopy and its applications to high-throughput analyses of biomolecular binding events and their kinetics [J]. Biomaterials, 2007, 28(15): 2380-2392.
- [22] Fan Z K, Zhang Z C, Wang B Z, *et al.* Research progress of the photonic crystal fiber refractive index sensor based on surface plasmon resonance [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2019, 56(7): 070004.
范振凯, 张子超, 王保柱, 等. 基于表面等离子体共振效应光子晶体光纤折射率传感器的研究进展 [J]. 激光与光电子学进展, 2019, 56(7): 070004.
- [23] Tong K, Dang P, Wang M T, *et al.* Enhancement of sensitivity of photonic crystal fiber surface plasmon resonance biosensor using TiO₂ film [J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(6): 0610002.
童凯, 党鹏, 汪梅婷, 等. 采用 TiO₂ 薄膜增强光子晶体光纤表面等离子体共振生物传感器灵敏度的建模分析 [J]. 中国激光, 2018, 45(6): 0610002.
- [24] Zhang C L, Xin Z Q, Min C J, *et al.* Refractive index sensing imaging technology based on optical surface wave [J]. Acta Optica Sinica, 2019, 39(1): 0126006.
张崇磊, 辛自强, 闵长俊, 等. 基于光学表面波的折射率传感成像技术 [J]. 光学学报, 2019, 39(1): 0126006.
- [25] Wong C L, Olivo M. Surface plasmon resonance imaging sensors: a review [J]. Plasmonics, 2014, 9(4): 809-824.
- [26] Li S P, Zhong J G. Simultaneous amplitude-contrast and phase-contrast surface plasmon resonance imaging by use of digital holography [J]. Biomedical Optics Express, 2012, 3(12): 3190.
- [27] Otto A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection [J]. Zeitschrift Für Physik a Hadrons and Nuclei, 1968, 216(4): 398-410.
- [28] Fontana E, Kim J M, Llamas-Garro I, *et al.* Microfabricated Otto chip device for surface plasmon resonance-based optical sensing [J]. Applied Optics, 2015, 54(31): 9200.
- [29] Chen S J, Su Y D, Hsiu F M, *et al.* Surface plasmon resonance phase-shift interferometry: real-time DNA microarray hybridization analysis [J]. Journal of Biomedical Optics, 2005, 10(3): 034005.
- [30] Schnars U, Jüptner W P O. Digital recording and numerical reconstruction of holograms [J]. Measurement Science and Technology, 2002, 13(9): R85-R101.
- [31] Skidmore G L, Chase H A. Two-component protein adsorption to the cation exchanger S Sepharose® FF [J]. Journal of Chromatography A, 1990, 505(2): 329-347.
- [32] Qi P, Zhong J G, Ma X, *et al.* Real time and label-free research on the detection of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide based on surface plasmon resonance technique [J]. Clinical Laboratory, 2018, 64(1/2): 113-122.