

基于拉曼特征峰平移的 SERS 研究进展

杨建明¹, 翁国军^{1**}, 李剑君^{1,2}, 朱键¹, 赵军武^{1*}

¹西安交通大学生命科学与技术学院生物医学信息工程教育部重点实验室, 陕西 西安 710049;

²浙江西安交通大学研究院, 浙江 杭州 311200

摘要 表面增强拉曼散射(SERS)属于分子振动光谱,具有灵敏度高、选择性好、检测无损等特点,在材料、生物学、军事等领域具有广泛的应用。目前的研究主要利用拉曼信号分子特征峰强度变化进行检测。由于受到各种因素的影响,拉曼信号分子特征峰会发生移动,相比峰强度变化,拉曼特征峰平移具有更高的稳定性和更好的重现性,由此基于拉曼特征峰平移的SERS检测应用逐渐受到关注。在总结拉曼特征峰平移机制的基础上,介绍了基于拉曼特征峰平移的SERS在癌症与疾病诊断、环境监测及食品安全检测等领域的研究进展,这些研究进展为发展具有高稳定性SERS检测方法提供了新的策略与思路。

关键词 生物技术; 表面增强拉曼散射; 拉曼特征峰平移; 癌症与疾病诊断; 环境监测; 食品安全检测

中图分类号 O657.37

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202259.0617015

Advances on SERS Based on Shifting of Raman Characteristic Peaks

Yang Jianming¹, Weng Guojun^{1**}, Li Jianjun^{1,2}, Zhu Jian¹, Zhao Junwu^{1*}

¹Key Laboratory of Biomedical Information Engineering, Ministry of Education, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710049, China;

²Research Institute of Xi'an Jiaotong University, Hangzhou, Zhejiang 311200, China

Abstract Surface-enhanced Raman scattering (SERS) is a type of molecular vibration spectroscopy with numerous applications in materials, biomedicine, and the military due to its high sensitivity, good selectivity, and nondestructive nature. At present, the main strategy for SERS detection is using the intensity change of characteristic peaks of Raman reporters. The characteristic peaks of the Raman reporters would shift, resulting from the influence of various factors. SERS applications involving the shifting of Raman characteristic peaks have gradually gained popularity due to their higher stability and more reliable reproducibility when compared to intensity changes. In this review, we summarized the mechanism of Raman characteristic peak shifting and discussed recent advances in SERS detection based on Raman characteristic peak shifting in cancer and disease diagnosis, environmental monitoring, and food safety detection. These examples will provide new strategies and ideas for the development of high-stability SERS methods.

Key words biotechnology; surface enhanced Raman scattering; shifting of Raman characteristic peak; diagnosis of cancer and disease; environmental monitoring; food safety detection

收稿日期: 2021-08-19; 修回日期: 2021-09-14; 录用日期: 2021-09-24

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划(2020JM-028)、陕西省重点研发计划(2020GXLH-Z-003)、浙江省自然科学基金-基础公益研究计划(LGF20H180017)

通信作者: *nanoptzhao@163.com; **gjweng@xjtu.edu.cn

1 引言

表面增强拉曼散射(SERS)属于分子振动光谱,它继承了拉曼光谱丰富的化学指纹信息,并通过等离子体增强激发和散射提高了灵敏度^[1]。同时,由于其响应快、特异性强、检测无损等特性,在生化分析检测中展现出巨大的应用潜力,已被广泛应用于材料、生物医学、军事等领域^[2]。

目前SERS的应用主要是利用峰强度变化进行检测^[2-5]。与传统的生物分析方法相比,基于拉曼信号分子特征峰强度变化的检测显示出超灵敏^[6]、多通路检测等独特的优势并成功地应用于生物分子^[7-8]、癌细胞^[9]、病原体、环境污染物^[10]等领域。然而,SERS在实际检测应用领域仍存在一些挑战。SERS生物检测涉及光、表面等离子体纳米材料以及生物体系三者之间异常复杂的相互作用,因此信号的波动十分常见,而如何提高信号检测的重现性,使其能真实地反映生物体系自身的性质便成为亟待解决的问题^[1]。除此之外,基于拉曼信号分子特征峰强度变化的策略对分子的精确定量仍是一个重大的挑战。Ding等^[11]认为基于峰强度变化的传感器件的灵敏性和定量检测能力之间存在矛盾,若要完美解决该矛盾,只能够精准地将所有待检测分子输运到具有相同“热度”的“热点”区域,显然是难以实现的。

相比峰强度变化,拉曼特征峰平移具有更高的稳定性和更好的重现性,由此基于拉曼特征峰平移的SERS检测应用逐渐受到关注。2012年,Kho等^[12]报道了由抗体结合而引起的振动频率偏移,定量检测了流感H1蛋白和p53蛋白。由于SERS的高光谱多重性,可以解析相应的“应力传感器”发出的拉曼光谱,并通过拉曼峰平移来检测单个结合事件。Ma等^[13]还报道了基于SERS平移的免疫夹心法,该方法对肝癌早期标志物AFP进行检测,最低检测限为0.5 ng/mL。此外,还有研究人员基于该策略设计了Hg²⁺传感器^[14]。

在这些研究中,SERS衬底的不均匀性不可避免地会导致拉曼峰强度的变化,而基于拉曼特征峰平移的测量显示出比基于峰强度变化的方法更高的重复性。因此,研究人员逐渐转向对拉曼峰平移的测量,而取代基于强度变化的生物分子测定成为了一种新的趋势。本文总结了引起拉曼峰平移的机制以及该策略在癌症与疾病诊断、环境监测及食

品安全检测等领域的研究进展,并对其存在的挑战与未来的发展进行讨论。

2 拉曼峰平移机制

拉曼信号分子特征峰移动的机理因多种效应的存在而有所不同。如前所述, Ma等^[13]提出了基于机械变形的机制,拉曼信号分子形状的改变会导致拉曼峰的平移。再如Wang等^[15]发现的待检测分子与拉曼信号分子间的氢键也会导致SERS光谱峰的移动。总之,与拉曼信号分子的结合而引起的分子环境发生改变的因素都有可能对拉曼峰的平移产生影响。根据已有的研究报道,将拉曼峰平移机制分为两类,即分子机械形变(MD)^[12-13, 16-18]和电荷转移(CT)^[15, 19-25],如图1所示。

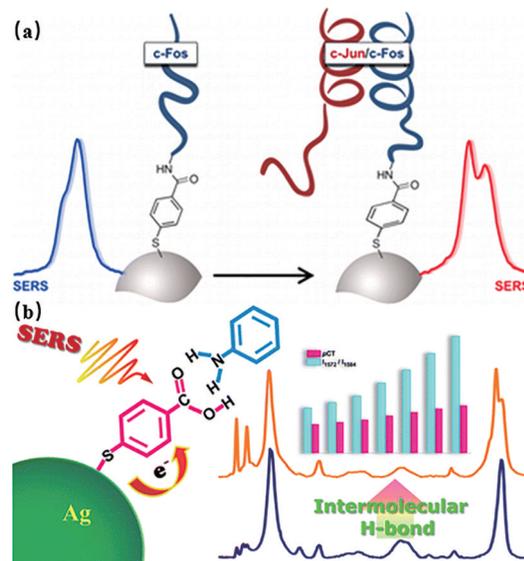


图1 拉曼特征峰平移机制。(a)拉曼信号分子的机械变形^[17];(b)分子间的电荷转移^[15]

Fig. 1 Mechanism of shifting of Raman characteristic peaks. (a) Mechanical deformation of Raman reporter^[17]; (b) charge transfer between molecules^[15]

2.1 分子形变机制

拉曼信号分子与抗体以及抗原的结合前后,应力的变化会导致分子形变,从而导致拉曼峰平移^[12]。Kho等^[12]将抗流感-H1抗体与拉曼信号分子4-对氨基苯硫酚(4-ATP)结合,抗体之间的空间位阻和分子排斥会引起4-ATP的初始拉伸。然而,当与流感-H1抗原结合后,空间斥力可以通过结合抗原之间的疏水相互作用来克服,从而导致抗原-抗体复合物稍微紧密地堆积在一起,1080 cm⁻¹和1580 cm⁻¹处的峰向更大波数方向移动,这表明H1

抗原与抗 H1 抗体的结合导致 4-ATP 内的应力松弛。Tang 等^[16]也将拉曼峰的平移归因于与抗原结合时 5,5-二硫双(琥珀酰亚胺-2-硝基苯甲酸酯)(DSNB)信号分子的化学环境的变化,从而导致正常模式的 SERS 频率变化。类似地, Ma 等^[13]发现平移的发生是由于甲胎蛋白分子量大,与甲胎蛋白结合导致苯环-S-银(ph-S-Ag)表面复合物发生变形。因此在这种情况下,4-巯基苯甲酸(4-MBA)的指纹图谱会发生由 ph-S-Ag 络合物的极化率变化引起的谱带的变化。

拉曼信号分子相对于底物方向的改变也可以引起 SERS 平移^[17],从而精确地定量抗原。在 Guerrini 等^[17]的设计中,蛋白质 c-Fos-噻吩以单体形式结合在自组装单分子层表面,c-Jun 的存在促进了异二聚体盘状络合物的形成,从而使拉曼信号分子的几何构型急剧重组为更刚性的构象。这种结构变化导致表面增强拉曼光谱的变化。

2.2 电荷转移机制

除了机械效应的影响,分子间 CT 也对表面增强拉曼光谱有一定的影响。CT 是吸附物和金属表面之间存在的强相互作用引起的。CT 会改变化合物上某些化学键的分子前线轨道的电子结构,从而导致与激发光相互作用后拉曼光谱中拉曼峰的平移^[24]。

氢键会在许多体系中产生分子间相互作用,它可以改变金属-吸附分子体系的电子结构,对分子的某些固有性质和性能有很强的影响。Wang 等^[15]研

究的电荷转移对 4-MBA 表面增强拉曼散射的实验中,氢键影响吸附的 4-MBA 分子中电荷的重新分布,从而导致拉曼峰的平移。Yu 等^[26]观察到,底物与酶活性中心的结合引起的酶与信号分子间电子结构、极化率和电子密度的变化也导致拉曼峰的平移。还有其他的实验或理论研究也证明电荷转移/氢键对拉曼峰的平移具有重要的影响^[20-23, 25]。

3 基于拉曼特征峰平移的 SERS 研究进展

与传统基于峰强度变化的检测相比,拉曼峰平移这一策略更适用于分析生物大分子与高极性分子,这些分子在结合过程中会通过机械或氢键效应引起拉曼峰的大幅平移^[27]。其次,具有不同特征峰的拉曼信号分子的多样性使得基于拉曼峰平移的分析更容易实现对生物标志物的多重检测,这对疾病的早期诊断尤为重要。基于拉曼峰平移的检测方法要求拉曼光谱仪具有较高的分辨率,但在检测不同种类的物质时拉曼峰平移的差异较大。例如 Ma 等^[13]在检测 miRNA 时拉曼峰位移只有 $0.1\sim 1.6\text{ cm}^{-1}$,而 Kim 等^[28]利用该方法对 Cr^{3+} 和 Fe^{3+} 进行检测时,CN 伸缩带蓝移达 64 cm^{-1} ,所以基于拉曼峰平移的检测方法在检测特定目标时有一定的实际应用价值。近年来,拉曼峰平移策略受到越来越多的关注,在快速检测癌症标志物、环境污染物以及食品添加剂等领域具有巨大发展潜力,现有研究结果如表 1 所示。

表 1 基于拉曼特征峰平移的 SERS 研究进展

Table 1 Advances on SERS based on the shifting of Raman characteristic peaks

Category	Target	Raman reporter	Mechanism	Content range	Limit of detection	Reference
Protein	Influenza-H1 (H1) antigen	4-ATP	MD		2.2 nmol/L	[12]
	H1	4-ATP	MD		10 pmol/L	[29]
	c-Jun	Thiophenol	MD	$1\times 10^{-9}\sim 5\times 10^{-6}\text{ mol/L}$	5 nmol/L	[17]
	Protein carbonylation	4-MBA	CT	0.18-9 nmol/mL		[30]
	P53-protein	6-mercaptopurine	MD		2.5 nmol/L	[12]
	AFP	4-MBA	MD	0.5-1000 ng/mL	0.5 ng/mL	[13]
	AFP	4-MBA	MD	$10^{-12}\sim 10^{-8}\text{ mol/L}$	10^{-12} mol/L	[31]
	AFP	DSNB	MD	$10^{-13}\sim 10^{-10}\text{ mol/L}$		[16]
	GPC3	4-MBA	MD	$10^{-13}\sim 10^{-10}\text{ mol/L}$		[16]
	PSA	Graphene	MD	0.05-25 ng/mL	0.01 ng/mL	[32]
Nucleic acid	miR-223	DSNB	MD	$10^{-17}\sim 10^{-13}\text{ mol/L}$	10^{-17} mol/L	[31]
	miR-223	DSNB	MD		10^{-15} mol/L	[33]
	miR-26a-5p	4-MBA	MD		10^{-15} mol/L	[33]

续表

Category	Target	Raman reporter	Mechanism	Content range	Limit of detection	Reference
	miR-27a-3p	6-thio-guanine	MD		10^{-15} mol/L	[33]
	ctDNA	DSNB	MD	10^{-8} - 10^{-16} mol/L	1.2×10^{-16} mol/L	[34]
VOCs	Acetone	2,6-DMPI	CT			[35-36]
	Butylamine	2,6-DMPI	CT			[37]
	Ammonia	2,6-DMPI	CT			[28, 35-36]
	CCl ₄	2,6-DMPI	CT			[28, 36]
	Farnesol	2,6-DMPI	CT		76×10^{-6}	[28]
	(+)- α -pinene	2,6-DMPI	CT			[28]
Metal ions	Mn ²⁺ , Ni ²⁺ , Fe ²⁺ , Cr ³⁺ , Fe ³⁺	2,6-DMPI	CT		1 fmol/L	[28]
	Hg ²⁺	DASS	MD	10^{-3} - 10^{-6} mol L ⁻¹	10^{-8} mol/L	[14]
	Fe ³⁺	4-MBN	CT		0.1 pmol/L (free states) 0.08 μ mol/L (protein-bound states)	[38]
Small molecules	Melamine	TNB	CT		10^{-12} mol/L	[24]
	Glucose	4-MBA	CT	10^{-1} - 10^{-6} mol L ⁻¹	10^{-6} mol L ⁻¹	[26]

3.1 疾病与癌症标志物检测

灵敏而准确的癌症生物标志物检测对早期临床诊断、疾病监测和癌症治疗的成功至关重要。目前常用的标志物有蛋白质类如甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、前列腺特异性抗原(PSA)等,核酸类如 microRNA (miRNA)、循环肿瘤 DNA (ctDNA)。针对这些标志物开发敏感和特异的早期诊断方法可以及早发现癌症并降低死亡率^[39]。

PSA 是前列腺产生的一种糖蛋白,血清中 PSA 的正常临界值低于 4 ng/mL,存在前列腺癌和其他前列腺疾病时通常会升高。Liu 等^[32]通过对石墨烯的传感,展示了一种基于适配子的拉曼峰平移方法,该方法能对 PSA 进行快速、灵敏、无标记检测,检出限为 0.01 ng/mL。适配子和 PSA 之间的特异性结合会导致单层石墨烯的机械变形,影响具有拉曼活性的石墨烯 G 峰的振动频率,从而观察到峰的平移。

AFP 可用于肝癌的早期诊断。然而,目前检测 AFP 的方法往往会导致假阳性或假阴性结果,而且其他肝病也会导致 AFP 浓度升高^[40]。因此,开发一种具有特异生物特征和敏感信号表达的新方法来诊断肝癌是非常必要的。而基于拉曼峰平移的免疫分析方法检测肝癌生物标记物 AFP 的浓度时显示出极高的灵敏度和特异性^[13, 16, 31]。例如, Ma 等^[13]设计了一种基于 SERS 的夹心式免疫测定法,用平

移法定量测定 AFP,如图 2(a)所示,最低检测限为 0.5 ng/mL。Tang 等^[16]利用多重 SERS 平移免疫分析,将两个独立的 SERS 探针 4-MBA 和 DSNB 结合起来,实现了 AFP 和磷脂酰基醇蛋白聚糖-3 (GPC3)的双重检测。

转录因子是一种蛋白质,将它与基因的特定调节区结合,从而控制 RNA 聚合酶对其转录的启动^[17]。众所周知,许多异常的细胞过程,包括与肿瘤转化相关的异常细胞增殖,都与某些转录因子的异常表达密切相关。致癌蛋白 c-Jun 是 AP-1 转录复合体的一种成分,与几种人类癌症的致癌机制有关。Guerrini 等^[17]研制了一种基于拉曼峰平移的致癌蛋白 c-Jun 传感器,该传感器可以在复杂的生物介质中检测到纳摩尔水平的致癌蛋白 c-Jun。

口腔癌是最常见的癌症之一,对非侵入性、高特异性、高灵敏度的检测方法有很高的需求。唾液是非侵入性癌症检测的最佳样本,因为它含有大量的蛋白质和代谢物,可以反映个人的健康状况。因此,将其与高灵敏度、无标记的 SERS 技术相结合,对口腔癌的早期诊断有重要的作用^[41]。Fälåmaş 等^[41]利用主成分分析法研究了口腔癌和健康唾液样本间的区别,获得的 SERS 光谱表现出信号强度和平移的高度变异性。

Kho 等^[12]也证明了 4-ATP 和苯酚衍生物可以作为 SERS 活性的分子纳米应力传感器,用于蛋白

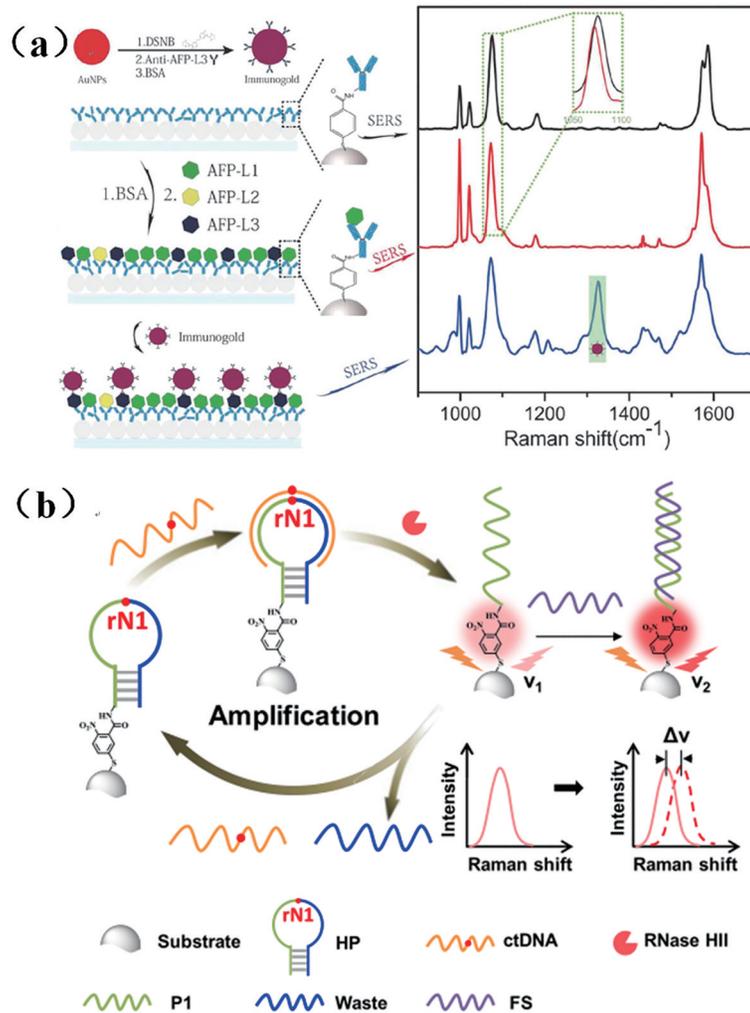


图 2 基于拉曼特征峰平移的检测应用。(a)肝癌标志物 AFP 高灵敏检测^[13]; (b) ctDNA 检测^[34]

Fig. 2 Applications based on the shifting of Raman characteristic peaks. (a) Highly sensitive detection of liver cancer marker AFP^[13]; (b) detection of ctDNA^[34]

质的灵敏检测。抗体偶联的拉曼信号分子的振动频率对靶抗原的浓度有定量的响应。随后,他们设计了一种简单易行的随机银薄膜作为高灵敏度的 SERS 衬底^[29],并对 H1 流感蛋白和 p53 蛋白进行检测,检测下限分别为 2.2 nmol/L 和 2.5 nmol/L。Ma 等^[30]还基于 SERS 平移的现象,将其应用于羧基化蛋白的检测,为人类疾病的诊断提供了良好的生物标志物检测手段。

Cheng 等^[31]和 Zhu 等^[33]利用分支 DNA 为 miRNA 的检测提供了一种超灵敏的传感策略。他们借助微接触打印技术,同时实现了对不同肝癌标志物,即 miRNA 和 AFP 的多重传感。分支 DNA 使单链 DNA 上的 miRNA 检测灵敏度提高了 2 个数量级。该方法在检测血清中低丰度的 miRNA,特别是在原发性肝癌的早期诊断方面显示出很高的潜力。

循环肿瘤 DNA 是一种很有前景的非侵入性生物标志物,可用于癌症的早期诊断。然而,要准确和灵敏地检测皮摩尔到飞摩尔的 ctDNA 浓度具有很大的挑战性。Zhang 等^[34]建立了一种 DNA-rN1-DNA 介导的拉曼峰平移分析方法,如图 2(b)所示,可以从肺癌正常组织的单个碱基对突变中灵敏地检测 ctDNA。该检测系统在磷酸盐缓冲溶液中表现出亚飞摩尔级别的灵敏度,在胎牛血清和人体生理介质中也表现出良好的性能。特别是对肺癌患者血清标本中 ctDNA 的灵敏检测,表明其在肺癌早期诊断和预后判断中具有很高的临床应用潜力。

3.2 环境监测和食品安全检测

空气中挥发性有机化合物(VOCs)会对生态环境和人类健康构成严重威胁,因为它们中的大多数是有毒性的、致癌的,例如丙酮和四氯化碳(CCl₄)。

婴儿或儿童的过敏、呼吸或免疫受到的影响在很大程度上与这些 VOCs 有关^[37]。Kim 等^[28, 35-37]基于拉曼峰平移的工作原理建立了 VOCs 传感器的平台。由于金 (Au) 纳米颗粒的表面电位会受到 VOCs 的影响,而 2,6-二甲基苯基异氰酸酯 (2,6-DMPI) 等有机异氰化物的 NC 伸缩带又非常容易受到与其连接的 Au 纳米颗粒的表面电位的影响,因此通过 2,6-DMPI 的表面增强拉曼光谱可以很容易地监测到 VOCs 的变化。例如,在分压为 12.8 kPa 的 CCl_4 蒸汽流动下,NC 伸缩带在 30 s 内从 2157 cm^{-1} 蓝移到 2177 cm^{-1} 。同样,在丙酮和甲醇流动下,NC 伸缩带也会蓝移。相反,在氨气和丁胺存在下,NC 伸缩带分别红移,达 7 cm^{-1} 和 12 cm^{-1} 。类似地,NC 伸缩带在典型的生物源 VOCs 法尼醇和 (+)- α -蒎烯作用下也会发生移动,分别蓝移 20 cm^{-1} 和红移 10 cm^{-1} 。在较低的分压下 (如 1 Pa, 相当于体积分数为 76×10^{-6} 的法尼醇),即使是 1 cm^{-1} 的蓝移或红移也可重复测量到,灵敏度极高。

水介质中,金属离子 (Mn、Ni、Hg、Fe、Cr、Co 等) 的痕量检测对净水安全至关重要。众所周知,过渡金属离子可以与异氰酸根离子形成稳定的配合物。2013 年, Kim 等^[28]报道了一种利用氰化物 SERS 平台监测有害金属的改进策略。他们利用氰化物 (CN) 结合 Au 纳米颗粒平台,通过拉曼峰位移法对金属离子的存在与否以及浓度进行检测。由于异氰基上的孤对电子具有相对于 CN 键的反键特性,因此 CN 伸缩带与过渡金属离子配位时会呈现出明显的蓝移。在三价离子 Cr^{3+} 和 Fe^{3+} 的存在下, CN 伸缩带蓝移达 64 cm^{-1} , 在 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Fe^{2+} 等二价金属离子存在下, CN 伸缩带发生了约 $26 \sim 35\text{ cm}^{-1}$ 的蓝移。而且利用 Co^{2+} , 可以检测到低至 1 fmol/L 浓度的过渡金属离子。极低的检测下限使得氰化物 SERS 技术在检测危险的过渡金属离子方面具有很好的前景。Hanif 等^[38]也采用了类似的原理,证实有机氰化物 (4-巯基苯甲腈, 4-MBN) 是捕获 Fe^{3+} 的优良前体,检测水平可达皮摩尔。

拉曼信号分子二甲基二硫代氨基甲酸钠 (DASS) 在汞存在时的振动频率也会受到影响,基于这一特殊现象, Chen 等^[14]将 SERS 平移与 Hg^{2+} 的浓度联系起来,设计了一种针对 Hg^{2+} 的高度灵敏的传感器。在固定 DASS 修饰的银纳米颗粒的芯片中加入 Hg^{2+} 溶液后, Hg^{2+} 特异性地与硫原子结合,在 1374 cm^{-1} 处发生平移。该方法对 Hg^{2+} 的检测限

为 10^{-8} mol/L 。此外,提出的方法对有机汞也表现出同样的现象。

三聚氰胺是一种富氮化合物,近年来,由于它被非法添加到奶制品中而受到越来越多的关注。一旦过量摄入三聚氰胺,就会出现严重的健康问题,甚至会导致婴儿死亡。因此,对奶制品中三聚氰胺含量的高可靠性、灵敏性的检测具有重要意义。Zhuang 等^[24]提出了一种基于 SERS 平移的检测三聚氰胺的方法,该方法利用多氢键诱导的 CT 效应,选用银-2-硝基-5-巯基苯甲酸 (Ag-TNB) 作为传感探针,依赖于 TNB 与三聚氰胺之间的多氢键作用,拉曼特征峰发生明显的平移。当与牛奶中的其他潜在干扰物质接触时,该系统对三聚氰胺表现出很高的选择性,而且检出限为 10^{-12} mol/L , 远低于安全标准。

4 总结与展望

主要讨论了拉曼峰平移的机制及其在癌症诊断和疾病治疗、环境和水质监测以及食品安全检测中的应用。将平移机制分为两类,即分子机械形变和电荷转移。信号分子化学环境即受到的力的变化、相对于基底的取向改变都会导致信号分子的形变。信号分子形变以及分子极化率的变化是导致 SERS 光谱发生平移的直接因素。根据拉曼峰平移的机制,可以总结出怎样更容易得到平移结果的方法。第一种方法,拉曼信号分子形变,应满足拉曼信号分子需带有苯环或者嘌呤环结构,拉曼信号分子同时充当连接子的要求。第二种方法,电荷转移,要求拉曼信号分子与待检测物之间会发生电荷转移,如多氢键作用。但是由于检测体系中存在的各种化学、机械效应也可能引起拉曼峰的平移,而且只能观察到拉曼峰平移的现象,却无法量化分子形变的程度或者电荷转移的情况,所以基于拉曼峰平移的策略比较适于定性检测。

在生物医学检测及体外诊断中,拉曼峰平移这一策略已经显示出比传统的基于强度改变的方法更为显著的优势。与传统的基于强度改变的方法相比,基于拉曼特征峰平移的方法在某些应用检测中体现出更好的重现性和更高的检测限。拉曼特征峰平移量与表面增强拉曼基底和待检测物的结合状态相关,要实现结合状态的可重复性,需要从表面增强拉曼基底、拉曼信号分子以及靶向探针三个方面来分析。就表面增强拉曼基底而言,要制备

密度高而均匀的纳米结构金属薄膜,以便获得可靠的拉曼增强信号。拉曼信号分子应尽量选择小分子的硫醇化芳烃,该类分子不仅具有与金/银基底紧密结合的硫酸盐基团,有些分子还可以进一步功能化与靶向探针结合或可直接靶向目标分子。对于靶向探针构建,如果拉曼信号分子不能直接靶向目标分子,则应在增强体系中构建可以与目标分子特异性结合的靶向探针。通过上述改进方法,基于拉曼特征峰平移的检测可行性有望进一步提高,如果与拉曼峰强度变化相结合,可获得比依靠峰强度变化更高的灵敏度。

尽管拉曼峰平移策略已成功完成对不同目标的检测,但仍存在一些挑战。首先,拉曼峰位移量小,这与拉曼峰平移的机制尚不明确有关,未来仍需要不断地探索拉曼峰平移机制,通过选择分子形变较大的分子作为信号分子有望提高平移量,如开发具有拉曼信号的蛋白质及核酸类生物大分子。其次,拉曼信号分子和靶向探针的有限选择也限制了应用,目前拉曼峰平移检测相关研究中所使用的拉曼信号分子只有 4-MBA、DSNB 等几种(详见表 1)。针对靶向探针的筛选,最为重要的是在复杂环境中可以特异性识别靶标分子,可在增强基底中构建抗原-抗体识别或 DNA/RNA 杂交等特异性结合体系。最后,需进一步研究增强基底的微型化,以扩展拉曼峰平移在体内检测中的应用。可以预见的是,基于拉曼峰平移的方法正在不断发展和完善,在疾病标志物及环境污染物检测等领域拥有广阔前景。

参 考 文 献

- [1] Zong C, Xu M, Xu L J, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis: reliability and challenges[J]. Chemical Reviews, 2018, 118(10): 4946-4980.
- [2] Shvalya V, Filipič G, Zavašnik J, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for chemical and biological sensing using nanoplasmonics: the relevance of interparticle spacing and surface morphology[J]. Applied Physics Reviews, 2020, 7(3): 031307.
- [3] Balčytis A, Nishijima Y, Krishnamoorthy S, et al. From fundamental toward applied SERS: shared principles and divergent approaches[J]. Advanced Optical Materials, 2018, 6(16): 1800292.
- [4] Zhou X, Hu Z, Yang D, et al. Bacteria detection: from powerful SERS to its advanced compatible techniques[J]. Advanced Science, 2020, 7(23): 2001739.
- [5] Schlücker S. Surface-enhanced Raman spectroscopy: concepts and chemical applications[J]. Angewandte Chemie (International Ed. in English), 2014, 53(19): 4756-4795.
- [6] Xing H J, Zhang J, Yin Z H, et al. Carbon nanotube/silver used for highly sensitive self-calibrating Raman detection[J]. Acta Optica Sinica, 2020, 40(12): 1224001.
邢豪健, 张洁, 尹增鹤, 等. 碳纳米管/银用于高灵敏自标定拉曼检测[J]. 光学学报, 2020, 40(12): 1224001.
- [7] Jiang C L, Liu R Y, Han G M, et al. A chemically reactive Raman probe for ultrasensitively monitoring and imaging the *in vivo* generation of femtomolar oxidative species as induced by anti-tumor drugs in living cells[J]. Chemical Communications, 2013, 49(59): 6647-6649.
- [8] Dong X H, Tang S Z, Chen S Y, et al. Study on synovial arthritis based on surface-enhanced Raman scattering spectroscopy[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2021, 58(1): 0117001.
董弦虎, 汤淑珍, 陈孙裕, 等. 基于 SERS 光谱技术的滑膜型关节炎研究[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(1): 0117001.
- [9] Qi Y F, Liu Y H, Liu D M. Research progress on application of Raman spectroscopy in tumor diagnosis [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2020, 57(22): 220001.
祁亚峰, 刘宇宏, 刘大猛. 拉曼光谱技术在肿瘤诊断上的应用研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2020, 57(22): 220001.
- [10] Cialla-May D, Zheng X S, Weber K, et al. Recent progress in surface-enhanced Raman spectroscopy for biological and biomedical applications: from cells to clinics[J]. Chemical Society Reviews, 2017, 46(13): 3945-3961.
- [11] Ding Q, Wang J, Chen X, et al. Quantitative and sensitive SERS platform with analyte enrichment and filtration function[J]. Nano Letters, 2020, 20(10): 7304-7312.
- [12] Kho K W, Dinis U S, Kumar A, et al. Frequency shifts in SERS for biosensing[J]. ACS Nano, 2012, 6(6): 4892-4902.
- [13] Ma H, Sun X, Chen L, et al. Multiplex immunochips for high-accuracy detection of AFP-L3% based on surface-enhanced Raman scattering: implications for early liver cancer diagnosis[J].

- Analytical Chemistry, 2017, 89(17): 8877-8883.
- [14] Chen L, Zhao Y, Wang Y, et al. Mercury species induced frequency-shift of molecular orientational transformation based on SERS[J]. *The Analyst*, 2016, 141(15): 4782-4788.
- [15] Wang Y, Ji W, Sui H M, et al. Exploring the effect of intermolecular H-bonding: a study on charge-transfer contribution to surface-enhanced Raman scattering of p-mercaptobenzoic acid[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2014, 118(19): 10191-10197.
- [16] Tang B, Wang J, Hutchison J A, et al. Ultrasensitive, multiplex Raman frequency shift immunoassay of liver cancer biomarkers in physiological media[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(1): 871-879.
- [17] Guerrini L, Pazos E, Penas C, et al. Highly sensitive SERS quantification of the oncogenic protein c-Jun in cellular extracts[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(28): 10314-10317.
- [18] Kitagawa T, Tashiro K, Yabuki K. Stress distribution in poly-p-phenylenebenzobisoxazole (PBO) fiber as viewed from vibrational spectroscopic measurement under tension. I. stress-induced frequency shifts of Raman bands and molecular deformation mechanism [J]. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 2002, 40(13): 1269-1280.
- [19] Wang Y, Yu Z, Ji W, et al. Enantioselective discrimination of alcohols by hydrogen bonding: a SERS study[J]. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 2014, 53(50): 13866-13870.
- [20] Wang X F, Liu R H, Gui Z, et al. Superconductivity at 5 K in alkali-metal-doped phenanthrene[J]. *Nature Communications*, 2011, 2: 507.
- [21] Zhang C F, Huang Z B, Yan X W, et al. Charge transfer effect on Raman shifts of aromatic hydrocarbons with three phenyl rings from ab initio study[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2019, 150(7): 074306.
- [22] Osawa K, Hamamoto T, Fujisawa T, et al. Raman spectroscopic study on the solvation of p-aminobenzonitrile in supercritical water and methanol [J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2009, 113(13): 3143-3154.
- [23] Yang B, Cao X W, Wang C, et al. Investigation of hydrogen bonding in Water/DMSO binary mixtures by Raman spectroscopy[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 228: 117704.
- [24] Zhuang H J, Zhu W F, Yao Z Y, et al. SERS-based sensing technique for trace melamine detection: a new method exploring[J]. *Talanta*, 2016, 153: 186-190.
- [25] Ge M, Xu M M, Yuan Y X, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopic investigation on adsorption kinetic of carbon monoxide at the solid-gas interface [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2020, 153(23): 234704.
- [26] Yu Z, Chen L, Park Y, et al. The mechanism of an enzymatic reaction-induced SERS transformation for the study of enzyme-molecule interfacial interactions [J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2016, 18(46): 31787-31795.
- [27] Zhu W F, Hutchison J A, Dong M D, et al. Frequency shift surface-enhanced Raman spectroscopy sensing: an ultrasensitive multiplex assay for biomarkers in human health[J]. *ACS Sensors*, 2021, 6(5): 1704-1716.
- [28] Kim K, Lee J W, Shin K S. Cyanide SERS as a platform for detection of volatile organic compounds and hazardous transition metal ions[J]. *The Analyst*, 2013, 138(10): 2988-2994.
- [29] Perumal J, Kong K V, Dinish U S, et al. Design and fabrication of random silver films as substrate for SERS based nano-stress sensing of proteins[J]. *RSC Advances*, 2014, 4(25): 12995-13000.
- [30] Ma H, Liu S L, Zheng N Q, et al. Frequency shifts in surface-enhanced Raman spectroscopy-based immunoassays: mechanistic insights and application in protein carbonylation detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(15): 9376-9381.
- [31] Cheng L, Zhang Z, Zuo D, et al. Ultrasensitive detection of serum MicroRNA using branched DNA-based SERS platform combining simultaneous detection of α -fetoprotein for early diagnosis of liver cancer[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(41): 34869-34877.
- [32] Liu S, Huo Y P, Bai J L, et al. Rapid and sensitive detection of prostate-specific antigen via label-free frequency shift Raman of sensing graphene[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 158: 112184.
- [33] Zhu W F, Cheng L X, Li M, et al. Frequency shift Raman-based sensing of serum MicroRNAs for early diagnosis and discrimination of primary liver cancers [J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(17): 10144-10151.
- [34] Zhang J, Dong Y, Zhu W, et al. Ultrasensitive detection of circulating tumor DNA of lung cancer via an enzymatically amplified SERS-based frequency

- shift assay[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(20): 18145-18152.
- [35] Kim K, Kim K L, Shin D, et al. Effect of polar organic vapors on surface potential of Au nanoparticle aggregates probed by surface-enhanced Raman scattering of 2, 6-dimethylphenylisocyanide[J]. *Chemical Communications*, 2010, 46(21): 3753-3755.
- [36] Kim K, Kim K L, Shin K S. Effect of organic vapors on Au, Ag, and Au-Ag alloy nanoparticle films with adsorbed 2, 6-dimethylphenyl isocyanide[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2013, 411: 194-197.
- [37] Kim K, Lee J W, Shin D, et al. Organic isocyanide-adsorbed gold nanostructure: a SERS sensory device for indirect peak-shift detection of volatile organic compounds[J]. *The Analyst*, 2012, 137(8): 1930-1936.
- [38] Hanif S, Liu H L, Chen M, et al. Organic cyanide decorated SERS active nanopipettes for quantitative detection of hemeproteins and Fe^{3+} in single cells[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(4): 2522-2530.
- [39] Nair M, Sandhu S S, Sharma A K. Cancer molecular markers: a guide to cancer detection and management [J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2018, 52: 39-55.
- [40] Choi J Y, Jung S W, Kim H Y, et al. Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total-AFP[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2013, 19(3): 339-346.
- [41] Fălămaș A, Rotaru H, Hedeșiu M. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) investigations of saliva for oral cancer diagnosis[J]. *Lasers in Medical Science*, 2020, 35(6): 1393-1401.