

激光与光电子学进展

荧光共振能量转移光微流激光偏振特性分析

赵佳奇, 张婷婷, 张天俊, 王文杰*, 刘绍鼎

太原理工大学新型传感器与智能控制教育部重点实验室, 山西 太原 030024

摘要 将一对可以产生荧光共振能量转移(FRET)的荧光分子分别作为供体染料和受体染料,以法布里-珀罗(F-P)微腔作为光学谐振腔,基于DNA分子的G-四链体结构研究FRET光微流激光的偏振特性。实验上,研究了5种不同 K^+ 浓度的DNA(其分子两端分别标记了一对可以产生FRET的荧光染料)溶液,用线偏振的泵浦光对其进行激发,将受体在平行偏振方向(平行于泵浦光偏振方向)的激光阈值曲线斜率和垂直偏振方向(垂直于泵浦光偏振方向)的激光阈值曲线的斜率的比值作为受体激光偏振度的检测信号。实验结果表明,随着DNA溶液中 K^+ 浓度的增加,受体激光的泵浦阈值逐渐降低,能量转换效率逐渐增加,而受体激光的斜率比逐渐变小,即偏振度逐渐降低。

关键词 荧光共振能量转移; 光微流激光; 法布里-珀罗微腔; 激光偏振

中图分类号 TN248.3

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP231079

Polarization Characterization of Fluorescence Resonance Energy Transfer Optofluidic Lasers

Zhao Jiaqi, Zhang Tingting, Zhang Tianjun, Wang Wenjie*, Liu Shaoding

Key Laboratory of Advanced Transducers and Intelligent Control System of Education, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, Shanxi, China

Abstract A pair of fluorescent molecules capable of producing fluorescence resonance energy transfer (FRET) were used as donor and acceptor dyes. The polarization properties of FRET optical microfluidic lasers were investigated based on the G-quadruplex structure of deoxyribonucleic acid (DNA) molecules using a Fabry-Perot (F-P) microcavity as an optical resonance cavity. In the experiment, five solutions of DNA of varying K^+ concentrations (whose molecular ends are each labeled with a pair of fluorescent dyes that can produce FRET) were studied and excited with linearly polarized pump light, and the ratio of the slope of the laser threshold curve of the acceptor in the parallel polarization direction (parallel to the pump light polarization direction) and the slope of the laser threshold curve (SER) in the vertical polarization direction (vertical to the pump light polarization direction) was used as the detection signal of the laser polarization of the acceptor. Findings indicate that as the K^+ content in the DNA solution increases, the pumping threshold of the acceptor laser decreases, energy conversion efficiency improves, and the slope ratio of the acceptor laser reduces, leading to decreased polarization.

Key words fluorescence resonance energy transfer; optofluidic laser; Fabry-Perot microcavity; laser polarization

1 引言

光微流激光作为一种新型的芯片式激光器和传感器^[1],近年来被广泛应用于DNA^[2-3]、蛋白质^[4-5]、细胞^[6-7]、生物组织^[8-9]等多种生物样品的高灵敏度检测。光微流激光采用光学微腔作为激光谐振腔,以置于腔内的荧光分子或标记有荧光分子的生物材料作为增益介质,通过光学谐振腔的放大作用,可实现对增益介质微小变化的放大^[10];当溶液中发生某种生物变化时,溶

液中增益介质的浓度随之改变,从而引起输出激光信号强度^[11]或波长^[12]发生改变。除强度和波长外,激光的偏振特性也可作为检测信号,以实现生物分子结构^[13]、分子量、极性^[14]等的检测,如文献^[15]通过研究光微流激光的偏振特性,实现了对生物小分子的直接测量,这是传统荧光偏振方法所不能实现的。

光微流激光有两种泵浦方式,即直接泵浦和基于荧光共振能量转移(FRET)^[16]的间接泵浦。当一种分子(称为供体分子)的荧光光谱与另一种分子(称为受

收稿日期: 2023-04-13; 修回日期: 2023-05-25; 录用日期: 2023-06-01; 网络首发日期: 2023-07-12

通信作者: *wangwenjie@tyut.edu.cn

体分子)的激发光谱重叠,且两种分子之间的距离满足一定条件时,通过偶极-偶极相互作用会发生供体分子与受体分子之间的FRET效应,使得供体分子的荧光强度减弱,受体分子的荧光强度增加^[17-18]。基于FRET的光微流激光(光微流FRET激光)采用供体染料和受体染料分子作为增益介质,在一定条件下可实现受体分子的激光出射^[19]。当两种染料分子确定时,FRET能量转移效率与供体分子和受体分子间的距离密切相关^[20],因此FRET效应被广泛应用于分子构象^[21-22]、细胞内分子的相互作用^[23-25]等的研究。而相比于传统的基于荧光信号的FRET检测,FRET光微流激光检测具有更高的检测灵敏度^[26-28]。在FRET光微流激光的产生和检测中,一般采用激光的波长和强度信号作为研究对象,而对于偏振特性的研究一般在直接泵浦方式下进行^[29-30]。

本文基于DNA分子G-四链体结构^[31],通过实验研究光微流FRET激光的偏振特性。采用法布里-珀罗(F-P)微腔作为激光谐振腔,以标记在DNA分子两端的FAM荧光基团和TAMRA荧光基团分别作为供体分子和受体分子。实验中,在DNA溶液中加入钾离子(K^+)可以诱导单链DNA分子形成稳定的G-四链体结构^[32],研究不同 K^+ 浓度下受体激光的出射情况,并着重分析其偏振特性。

2 实验方法

实验选取单链DNA片段5'-GGG TTA GGG

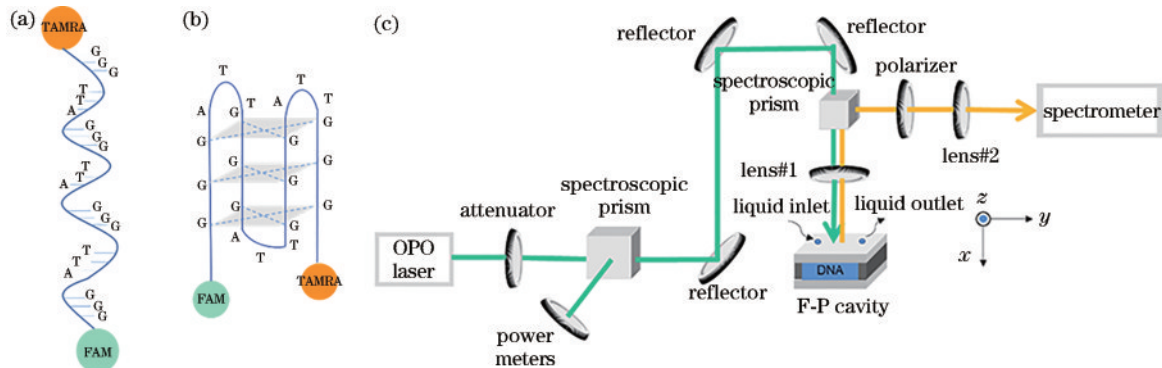


图1 实验装置和材料。(a)单链DNA;(b)G-四链体DNA;(c)实验装置图

Fig. 1 Experimental setup and materials. (a) Single-stranded DNA; (b) G-Quadruplex DNA; (c) diagram of the experimental setup

表1 配置的G-四链体溶液具体参数

Table 1 Specific parameters of the configured G-quadruplex solution

Ingredient	Concentration	pH
Tris-HCl buffer	0.1 mol/L	
DNA molecule solution	50 $\mu\text{mol/L}$	8.04
KCl solution	0, 5, 10, 20, 50 $\mu\text{mol/L}$	
LiCl solution	100, 95, 90, 80, 50 $\mu\text{mol/L}$	

实验所采用的光学微腔是F-P谐振腔,如图1(c)所示,其腔长为30 μm 。F-P微腔由两片平面反射镜构

成,平面反射镜以熔融石英玻璃为基底,其表面镀有高反射率介质膜:在500~620 nm波长处的反射率高于99.9%。在其中一片反射镜的表面制备两个小孔,分别作为溶液的入口和出口,以便于向F-P微腔中注入和更换溶液。

TTA GGG TTA GGG-3'作为研究材料,并在其3'和5'端分别标记FAM荧光基团和TAMRA荧光基团作为供体分子和受体分子。FAM分子和TAMRA分子是两种常用的DNA分子标记染料,由于其稳定的分子性能和光谱特性(如FAM分子的荧光光谱与TAMRA分子的激发光谱在很大程度上重叠),两种染料常被应用于FRET的研究中^[33-34]。当DNA溶液中没有诱导离子加入时,单链DNA分子呈自然伸展状态,供体分子和受体分子间的距离即为单链DNA分子的链长,如图1(a)所示;当溶液中加入一定诱导离子,如 K^+ 时,研究表明 K^+ 可诱导该单链DNA片段逐渐折叠形成G-四链体结构^[32],如图1(b)所示。G-四链体分子两端供体分子和受体分子之间的距离相对单链DNA时变短^[35],而FRET的能量转移效率随供体分子和受体分子之间距离的缩短而增大^[20],因此在G-四链体结构状态下,可发生明显的FRET效应。配置5种不同 K^+ 浓度的DNA溶液,研究不同溶液中受体分子的激光出射及激光偏振度。其中,配置溶液的具体参数如表1所示,5种溶液中,DNA分子浓度均为50 $\mu\text{mol/L}$,缓冲液浓度为0.1 mol/L, K^+ 浓度分别为0 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$,为保证溶液中氯离子浓度一致,分别加入浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 、95 $\mu\text{mol/L}$ 、90 $\mu\text{mol/L}$ 、80 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$ 的 Li^+ (研究工作表明, Li^+ 对G-四链体的形成没有影响^[32,36-37])。

成,平面反射镜以熔融石英玻璃为基底,其表面镀有高反射率介质膜:在500~620 nm波长处的反射率高于99.9%。在其中一片反射镜的表面制备两个小孔,分别作为溶液的入口和出口,以便于向F-P微腔中注入和更换溶液。

FAM供体分子的最大激发波长是494 nm,而TAMRA受体分子的最大激发波长是565 nm^[38],所以实验选用488 nm的泵浦光作为泵浦源,供体分子在此波长处的吸收较大,而受体分子在此波长处的吸收很小。实验采用的装置图如图1(c)所示:488 nm的线偏振泵浦光(脉冲宽度为5 ns)由OPO激光器发出,通过

衰减片衰减,之后经过 5/5 分光棱镜分成两束,一束光进入功率计,用于测量泵浦光的强度,另外一束光通过反射镜、分光棱镜,经焦距为 3 cm 的透镜#1 聚焦后进入充满溶液的 F-P 微腔内,F-P 微腔中的光束直径为 191 μm 。在合适的泵浦光强度下,可在 F-P 微腔中产生激光信号。从 F-P 微腔发射的激光信号经过透镜#1、5/5 分光棱镜后通过偏振片和焦距为 2 cm 的透镜#2 聚焦到光纤探头上,随后由光纤将产生的激光信号传输到光谱仪中。图 1(c)中, x 方向为泵浦光进入 F-P 微腔前的传播方向, y 方向为泵浦光的偏振方向。当出射激光的偏振方向与泵浦光偏振方向平行(或垂直)时,定义此方向为出射激光的平行偏振方向[或垂直偏振方向(即 z 方向)]。通过旋转偏振片,可以在光谱仪上得到激光信号在平行偏振方向和垂直偏振方向的激光光谱图。

3 实验结果与讨论

基于上述实验方法,研究 5 种不同 K^+ 浓度的 DNA 溶液中受体分子的激光出射情况,并分析激光的偏振特性。图 2(a)、(b) 分别是 K^+ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时受体染料分子在平行偏振方向和垂直偏振方向出射的激光光谱图,其泵浦强度分别为 366.65 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ 、

752.51 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ 。图 2(a) 中两个激光峰的中心波长分别为 593.4 nm 和 597.3 nm,根据 F-P 微腔中纵模的产生条件可知,两个中心波长对应的模式数分别约为 136 和 135。图 2(b) 中激光峰的中心波长为 596.7 nm,对应的模式数约为 135。相比于图 2(a),图 2(b) 中激光峰变为一个,这可能是此时的泵浦能量在阈值附近,因此造成出射激光模式的不稳定。从图 2 可以看出,当 K^+ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时,受体染料也可以产生激光,但需要非常高的泵浦强度,且产生的受体激光信号很弱。这是因为当 K^+ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时,溶液中没有稳定的 G-四链体结构形成,受体激光的产生主要来自受体分子对泵浦光的直接吸收,但由于在 488 nm 泵浦波长处的吸收很弱,因此需要非常高的泵浦能量才能产生受体激光,而此时受体激光的偏振度很高,即相同泵浦能量下平行偏振方向的激光强度远远大于垂直偏振方向的激光强度。当在 DNA 溶液中加入一定浓度的 K^+ 时(如 K^+ 的浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时), K^+ 会诱导单链 DNA 分子形成 G-四链体结构,供体分子和受体分子间可产生明显的 FRET 效应。图 2(c)、(d) 分别是钾离子浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时受体染料分子在平行偏振方向和垂直偏振方向出射的激光光谱图,对应的泵

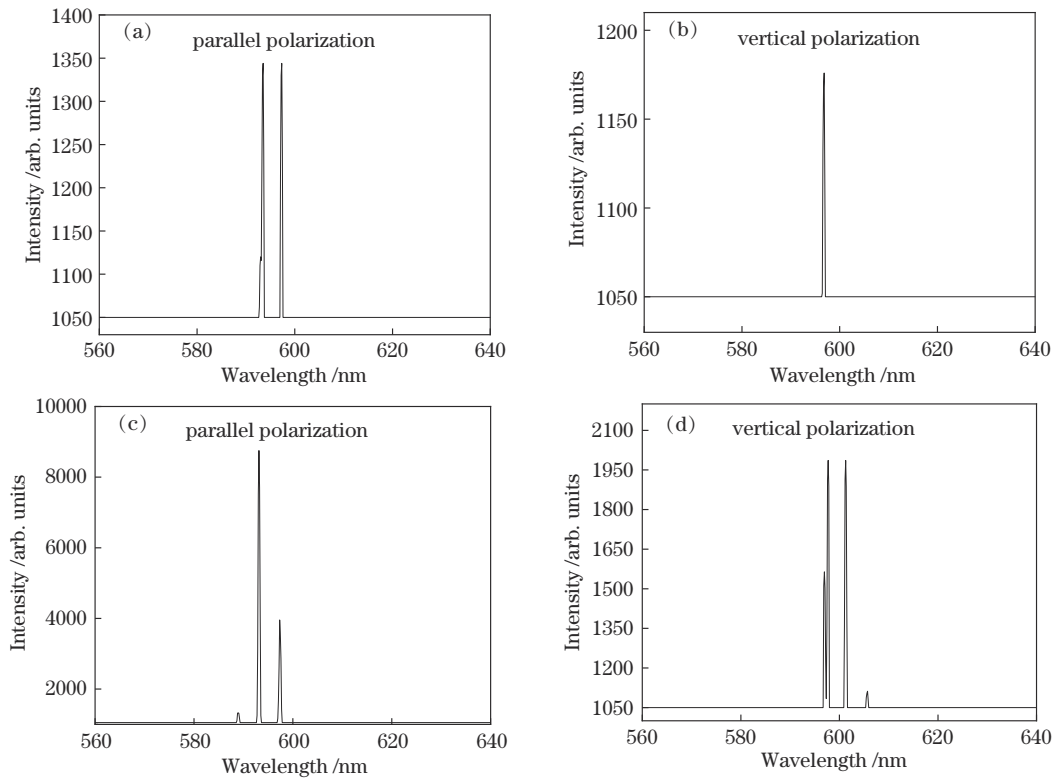


图 2 光谱图。(a) K^+ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时,受体激光在平行偏振方向的光谱图;(b) K^+ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时,受体激光在垂直偏振方向的光谱图;(c) K^+ 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时,受体激光在平行偏振方向的光谱图;(d) K^+ 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时,受体激光在垂直偏振方向的光谱图

Fig. 2 Spectral graphs. (a) Spectral graph of the receptor laser in parallel polarization direction at 0 $\mu\text{mol/L}$ K^+ ; (b) spectral graph of the receptor laser in vertical polarization direction at 0 $\mu\text{mol/L}$ K^+ ; (c) spectral graph of the receptor laser in parallel polarization direction at 10 $\mu\text{mol/L}$ K^+ ; (d) spectral graph of the receptor laser in vertical polarization direction at 10 $\mu\text{mol/L}$ K^+

浦强度均为 $177.04 \mu\text{J}/\text{mm}^2$ 。图 2(c) 中 3 个激光峰的中心波长分别为 589.1 nm、593.1 nm、597.3 nm (相邻波长差分别为 4 nm 和 4.2 nm), 对应的模式数分别约为 136、135、134。图 2(d) 中 3 个主激光峰的中心波长分别为 597.0 nm、601.3 nm、605.5 nm (相邻峰的波长差分别为 4.3 nm 和 4.2 nm), 对应的模式数分别约为 140、139、138。相比于图 2(c), 图 2(d) 中激光峰向长波段发生了漂移, 这可能是由于在较长时间的泵浦光作用下, 溶液的温度略有增加, 溶液的折射率变大, 因而造成激光波长向长波段漂移。从图 2(c)、(d) 可以看出, 在较低的泵浦强度 ($177.04 \mu\text{J}/\text{mm}^2$) 下, 可产生很强的受体激光信号, 且在竖直偏振方向也可观测到明显的受体激光信号。

通过改变泵浦光的强度, 可以得到不同泵浦强度下的受体激光光谱图, 对这些光谱图进行积分求和, 可以得到受体激光的出射强度随泵浦光强度的变化曲线, 即激光阈值曲线, 如图 3(a)~(e) 所示, 分别对应 K^+ 浓度为 $0 \mu\text{mol}/\text{L}$ 、 $5 \mu\text{mol}/\text{L}$ 、 $10 \mu\text{mol}/\text{L}$ 、 $20 \mu\text{mol}/\text{L}$ 、 $50 \mu\text{mol}/\text{L}$ 时的情况。其中, 方框和圆点分别代表受体激光在水平偏振方向和垂直偏振方向的强度, 实线和虚线分别对应线性拟合直线。从拟合曲线可以得到受体激光在水平偏振方向和垂直偏振

方向的泵浦阈值以及能量转换效率 (即曲线的斜率), 这些结果被总结在表 2 中。结合图 3 和表 2 可知: 1) 当 K^+ 浓度为 $0 \mu\text{mol}/\text{L}$ 时, 受体激光在水平偏振方向和垂直偏振方向的泵浦阈值很高, 分别为 $356.52 \mu\text{J}/\text{mm}^2$ 和 $715.84 \mu\text{J}/\text{mm}^2$, 而曲线的斜率非常小, 特别是在垂直偏振方向曲线斜率仅为 4.88。这是因为当 K^+ 浓度为 $0 \mu\text{mol}/\text{L}$ 时, 溶液中并没有形成稳定的 G-四链体结构, 供体分子和受体分子间距离较大, 不能形成显著的 FRET 效应。此时受体激光的产生主要来自受体分子对 488 nm 泵浦光的吸收, 但受体分子在此波长处的吸收很弱, 因此产生的激光泵浦阈值很高, 能量转换效率很低。2) 随着 K^+ 浓度的增加, 受体激光在水平偏振方向和垂直偏振方向的激光泵浦阈值逐渐降低, 相应的能量转换效率逐渐增加。这是因为随着 K^+ 浓度的增加, 溶液中逐渐形成了稳定的 G-四链体结构, 供体分子和受体分子间距离变短, 二者之间可形成明显的 FRET 效应。3) 随着 K^+ 浓度的增加, 受体激光在水平偏振方向和垂直偏振方向的激光泵浦阈值差异以及曲线斜率差异变得越来越小。即随着 K^+ 浓度的增加, 受体激光的偏振度发生了明显的变化, 除在水平偏振方向外, 在垂直偏振方向有更多的激光能量产生。

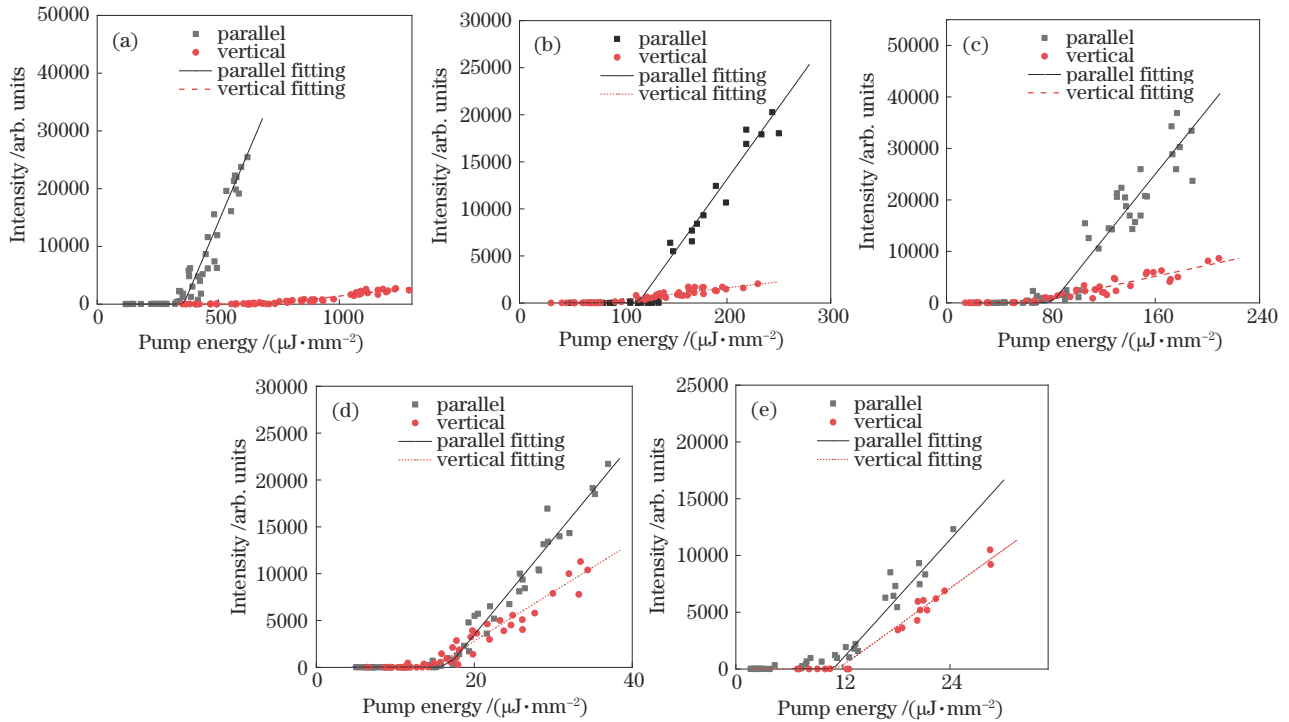


图 3 DNA 分子浓度 $50 \mu\text{mol}/\text{L}$ 时, 不同 K^+ 浓度下, TAMRA 受体在平行偏振方向和垂直偏振方向的激光泵浦阈值曲线。

(a) $0 \mu\text{mol}/\text{L}$; (b) $5 \mu\text{mol}/\text{L}$; (c) $10 \mu\text{mol}/\text{L}$; (d) $20 \mu\text{mol}/\text{L}$; (e) $50 \mu\text{mol}/\text{L}$

Fig. 3 Laser pumping threshold curves of TAMRA receptors in parallel and vertical polarization directions for different K^+ concentrations at DNA molecule concentration $50 \mu\text{mol}/\text{L}$. (a) $0 \mu\text{mol}/\text{L}$; (b) $5 \mu\text{mol}/\text{L}$; (c) $10 \mu\text{mol}/\text{L}$; (d) $20 \mu\text{mol}/\text{L}$; (e) $50 \mu\text{mol}/\text{L}$

为了更清晰地表征受体激光偏振度随 K^+ 浓度的变化情况, 采用斜率比 (R_{SER})^[15] 作为受体激光偏振度

的参数指标:

$$R_{\text{SER}} = \eta_{//} / \eta_{\perp}, \quad (1)$$

表 2 不同 K^+ 浓度下受体激光在平行偏振方向和垂直偏振方向的激光阈值及曲线斜率Table 2 Curve slopes and laser thresholds in the parallel and perpendicular directions for acceptor lasers with different concentration of K^+ in the solvent

$c(K^+) / (\mu\text{mol/L})$	Slope of the threshold curve $/ (\text{mm}^2 \cdot \mu\text{J}^{-1})$		Threshold $/ (\mu\text{J} \cdot \text{mm}^{-2})$	
	Parallel polarization	Vertical polarization	Parallel polarization	Vertical polarization
0	98.47	4.88	356.52	715.84
5	153.41	12.77	114.19	71.93
10	315.59	54.41	80.66	65.30
20	1022.50	524.47	16.41	14.67
50	869.69	565.54	10.82	11.52

式中： η_{\parallel} 和 η_{\perp} 分别表示受体激光在平行偏振方向和垂直偏振方向的阈值曲线斜率。结合式(1)和图 3 可以看出，当平行和垂直偏振方向的激光阈值相近时， R_{SER} 值近似等于相同泵浦强度下平行和垂直偏振方向出射的激光强度之比。采用 R_{SER} 值作为激光偏振度的指标，主要是为了消除激光能量的不稳定性对测量结果造成的误差。基于表 2 可以得到受体激光的偏振度 (R_{SER} 值) 随 K^+ 浓度的变化曲线，具体如图 4 所示。可以看出，随着 K^+ 浓度的增加， R_{SER} 值逐渐降低并趋于平稳。这是因为随着溶液中 K^+ 浓度的增加，DNA 分子逐渐形成稳定的 G-四链体结构，因此供体分子和受体分子间可发生明显的 FRET 效应。在泵浦光的作用下，供体分子首先吸收泵浦激光处于激发态，而由于受体分子和供体分子间的 FRET 效应，受体分子吸收来自激发态供体分子的能量而产生激光，而激发态供体由于分子旋转扩散的影响，其偏振度远小于泵浦光，所以受体出射激光的偏振度也会进一步降低。在 DNA 分子溶液中， K^+ 浓度越高，形成的 G-四链体结构越多，供体和受体之间的 FRET 效率越高，受体依赖 FRET 间接泵浦的比例越大，受体激光的偏振度则越小。从图 4 的实验结果可以得出：1) 通过测量受体激光的偏振度，可以实现对溶液中低浓度 K^+ 的测量， K^+ 的浓度

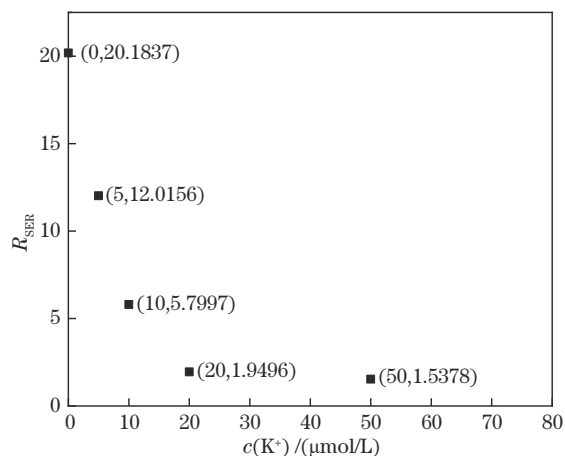
测量范围主要依赖于溶液中的 DNA 分子浓度，当需要检测较高浓度范围的 K^+ 时，溶液中 DNA 分子的浓度也要相应提高；2) 当溶液中有稳定的 G-四链体结构形成时，通过 FRET 效应，在线偏振光的泵浦下，可以实现不同偏振度的光微流激光产生，如当溶液中 K^+ 的浓度为 $50 \mu\text{mol/L}$ 时，出射激光的偏振度为 1.54，此时出射的激光为椭圆偏振光。通过优化实验条件，有望实现圆偏振激光的产生。这些结果为新型激光光源的产生提供了新的方法。

4 结 论

采用 F-P 微腔作为光学谐振腔、FAM 荧光基团和 TAMRA 荧光基团分别作为供体染料和受体染料，研究 5 种不同 K^+ 浓度的 DNA 溶液中光微流 FRET 激光的产生及其偏振特性。实验结果表明， K^+ 可诱导溶液中的单链 DNA 形成稳定的 G-四链体结构，随着溶液中 K^+ 浓度的升高，受体激光的泵浦阈值逐渐降低，能量转换效率逐渐升高，受体激光的偏振度逐渐降低，即 R_{SER} 值逐渐减小。实验结果可实现对 K^+ 浓度的测量，同时也为其他离子（如 Na^+ 、 Mg^{2+} 等可以诱导单链 DNA 形成 G-四链体结构的离子^[39-40]）的检测提供了一种新的方法。除在检测方面的应用外，实验结果也为新型激光光源的产生提供了新的方法。

参 考 文 献

- [1] Kuswandi B, Huskens J, Verboom W. *Optical sensing systems for microfluidic devices: a review*[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 601(2): 141-155.
- [2] Sun Y Z, Fan X D. *Distinguishing DNA by analog-to-digital-like conversion by using optofluidic lasers*[J]. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 2012, 51(5): 1236-1239.
- [3] Lee W, Fan X D. *Intracavity DNA melting analysis with optofluidic lasers*[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(21): 9558-9563.
- [4] Tan X T, Chen Q S, Zhu H B, et al. *Fast and reproducible ELISA laser platform for ultrasensitive protein quantification*[J]. *ACS Sensors*, 2020, 5(1): 110-117.
- [5] Wang Z, Liu Y Z, Gong C Y, et al. *Liquid crystal-*

图 4 受体激光的 R_{SER} 值随 K^+ 浓度变化的散点图Fig. 4 Scatter plot of R_{SER} values of acceptor with potassium ion concentration

- amplified optofluidic biosensor for ultra-highly sensitive and stable protein assay[J]. *Photonix*, 2021, 2(1): 18.
- [6] Bragheri F, Minzioni P, Vazquez R M, et al. Optofluidic integrated cell sorter fabricated by femtosecond lasers[J]. *Lab on a Chip*, 2012, 12(19): 3779-3784.
- [7] Wu D, Niu L G, Wu S Z, et al. Ship-in-a-bottle femtosecond laser integration of optofluidic microlens arrays with center-pass units enabling coupling-free parallel cell counting with a 100% success rate[J]. *Lab on a Chip*, 2015, 15(6): 1515-1523.
- [8] Mashaghi S, van Oijen A M. Droplet microfluidics for kinetic studies of viral fusion[J]. *Biomicrofluidics*, 2016, 10(2): 024102.
- [9] Churski K, Kaminski T S, Jakiela S, et al. Rapid screening of antibiotic toxicity in an automated microdroplet system[J]. *Lab on a Chip*, 2012, 12(9): 1629-1637.
- [10] Yang J, Guo L J. Optical sensors based on active microcavities[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2006, 12(1): 143-147.
- [11] Yang X, Luo Y H, Liu Y L, et al. Mass production of thin-walled hollow optical fibers enables disposable optofluidic laser immunosensors[J]. *Lab on a Chip*, 2020, 20(5): 923-930.
- [12] Duan R, Li Y Z, He Y C, et al. Quantitative and sensitive detection of lipase using a liquid crystal microfiber biosensor based on the whispering-gallery mode[J]. *The Analyst*, 2020, 145(23): 7595-7602.
- [13] Lowery T J, Rubin S M, Ruiz E J, et al. Applications of laser-polarized ^{129}Xe to biomolecular assays[J]. *Magnetic Resonance Imaging*, 2003, 21(10): 1235-1239.
- [14] Zagdoun A, Casano G, Ouari O, et al. Large molecular weight nitroxide biradicals providing efficient dynamic nuclear polarization at temperatures up to 200 K[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(34): 12790-12797.
- [15] Yuan Z Y, Cheng X, Zhou Y K, et al. Distinguishing small molecules in microcavity with molecular laser polarization[J]. *ACS Photonics*, 2020, 7(8): 1908-1914.
- [16] Aas M, Chen Q S, Jonáš A, et al. Optofluidic FRET lasers and their applications in novel photonic devices and biochemical sensing[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2016, 22(4): 188-202.
- [17] 李慧娟, 林方睿, 徐云剑, 等. 基于 FLIM-FRET 技术揭示 OVCAR-3 细胞膜和 BSA-DOX 纳米颗粒的相互作用[J]. *中国激光*, 2023, 50(3): 0307112.
Li H X, Lin F R, Xu Y J, et al. Elucidation of interaction between OVCAR-3 cell membranes and BSA-DOX nanoparticles based on FLIM-FRET[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2023, 50(3): 0307112.
- [18] 高璐, 翟士贤, 孙晗, 等. 基于一次成像测量 FRET 系统校正因子的智能型 QuanTi-FRET 方法[J]. *中国激光*, 2022, 49(5): 0507203.
Gao L, Zhai S X, Sun H, et al. Automatic QuanTi-FRET method for measuring system correction factors based on single imaging[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(5): 0507203.
- [19] Ahamed M B, Palanisamy P K. Nd: YAG laser pumped energy transfer distributed feedback dye laser in Rhodamine 6G and Acid blue 7 dye mixture[J]. *Optics Communications*, 2002, 213(1/2/3): 67-80.
- [20] Sabanayagam C R, Eid J S, Meller A. Using fluorescence resonance energy transfer to measure distances along individual DNA molecules: corrections due to nonideal transfer[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2005, 122(6): 061103.
- [21] Blanco M, Walter N G. Analysis of complex single-molecule FRET time trajectories[J]. *Methods in Enzymology*, 2010, 472: 153-178.
- [22] Heyduk T. Measuring protein conformational changes by FRET/LRET[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2002, 13(4): 292-296.
- [23] Pollok B A, Heim R. Using GFP in FRET-based applications[J]. *Trends in Cell Biology*, 1999, 9(2): 57-60.
- [24] Wang Y P, Lang M C, Lu J S, et al. Demonstration of intracellular real-time molecular quantification via FRET-enhanced optical microcavity[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 6685.
- [25] Li J, Wang J L, Liu S Y, et al. Amplified FRET nanoflares: an endogenous mRNA-powered nanomachine for intracellular microRNA imaging[J]. *Angewandte Chemie*, 2020, 132(45): 20279-20286.
- [26] Chen Q S, Zhang X W, Sun Y Z, et al. Highly sensitive fluorescent protein FRET detection using optofluidic lasers[J]. *Lab on a Chip*, 2013, 13(14): 2679-2681.
- [27] Chen Q S, Liu H J, Lee W, et al. Self-assembled DNA tetrahedral optofluidic lasers with precise and tunable gain control[J]. *Lab on a Chip*, 2013, 13(17): 3351-3354.
- [28] Zhang X W, Lee W, Fan X D. Bio-switchable optofluidic lasers based on DNA Holliday junctions[J]. *Lab on a Chip*, 2012, 12(19): 3673-3675.
- [29] Wang Y H, Bao L, Liu Z H, et al. Aptamer biosensor based on fluorescence resonance energy transfer from upconverting phosphors to carbon nanoparticles for thrombin detection in human plasma[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(21): 8130-8137.
- [30] Chen Q S, Kiraz A, Fan X D. Optofluidic FRET lasers using aqueous quantum dots as donors[J]. *Lab on a Chip*, 2016, 16(2): 353-359.
- [31] Biffi G, Tannahill D, McCafferty J, et al. Quantitative visualization of DNA G-quadruplex structures in human cells[J]. *Nature Chemistry*, 2013, 5(3): 182-186.
- [32] Juskowiak B, Galezowska E, Zawadzka A, et al. Fluorescence anisotropy and FRET studies of G-quadruplex formation in presence of different cations[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2006, 64(4): 835-843.
- [33] Ergin E, Dogan A, Parmaksiz M, et al. Time-resolved fluorescence resonance energy transfer[TR-FRET]assays for biochemical processes[J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2016, 17(14): 1222-1230.
- [34] De Rache A, Mergny J L. Assessment of selectivity of G-quadruplex ligands via an optimised FRET melting assay[J]. *Biochimie*, 2015, 115: 194-202.

- [35] Lee J Y, Okumus B, Kim D S, et al. [Extreme conformational diversity in human telomeric DNA](#)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(52): 18938-18943.
- [36] 张婷婷, 侯梦迪, 贾卓楠, 等. [基于激光的 G-四链体高分辨率熔解曲线分析](#)[J]. 激光与光电子学进展, 2022, 59(7): 0717002.
Zhang T T, Hou M D, Jia Z N, et al. [Laser-based high resolution melting analysis for studying G-quadruplexes](#)[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2022, 59(7): 0717002.
- [37] De Cian A, Guittat L, Kaiser M, et al. [Fluorescence-based melting assays for studying quadruplex ligands](#)[J]. Methods, 2007, 42(2): 183-195.
- [38] Lin Y W, Chiu T C, Chang H T. [Laser-induced fluorescence technique for DNA and proteins separated by capillary electrophoresis](#)[J]. Journal of Chromatography B, 2003, 793(1): 37-48.
- [39] Chaires J B. [Human telomeric G-quadruplex: thermodynamic and kinetic studies of telomeric quadruplex stability](#)[J]. The FEBS Journal, 2010, 277(5): 1098-1106.
- [40] Lin J, Yan Y Y, Ou T M, et al. [Effective detection and separation method for G-quadruplex DNA based on its specific precipitation with \$Mg^{2+}\$](#) [J]. Biomacromolecules, 2010, 11(12): 3384-3389.