

· 综 述 ·

表面等离子共振技术在定量分析中的应用和研究

陈朗东^a,董中云^b,吕狄亚^c,朱臻宇^c,陆斌^b,曹岩^b(第二军医大学药学院;a.药物分析教研室,b.生化药学教研室,c.分析测试中心,上海 200433)

[摘要] 表面等离子共振(surface plasmon resonance,SPR)是一种基于物质间相互作用所导致的芯片表面质量变化而产生的一种光学现象,能够简单、快速、准确地对分子间作用的强度进行动态监测。SPR 生物传感器具有无标记、灵敏度高、检测结果准确、可在线实时检测等优点。SPR 技术在药物发现、临床诊断、食品安全、环境监测、蛋白组学等领域都有应用。对 SPR 在食品卫生、环境监测、临床应用中定量分析的相关应用和研究进行综述,期望能为相关研究提供参考。

[关键词] 表面等离子共振;定量分析;食品卫生;环境监测;生物医学分析

[中图分类号] Q81 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2018)01-0018-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.004

Application of surface plasmon resonance biosensor in quantitative analysis research

CHEN Langdong^a, DONG Zhongyun^b, LÜ Diya^c, ZHU Zhenyu^c, LU Bin^b, CAO Yan^b (a. Department of Pharmaceutical Analysis, b. Department of Biochemical Pharmacy, c. Analytical and Testing Center, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Surface plasmon resonance (SPR) is an optical phenomenon arises from mass changes on sensors based on interaction between substances, which could monitor the interaction between biomolecules quickly and accurately. It has the advantage of label-free, high specificity, high accuracy, real-time and on-line monitoring, which has attracted comprehensive attention in recent years. SPR biosensors could be applied in drug discovery, clinical diagnosis, food safety, environment monitoring and proteomics. In this manuscript, the application of SPR biosensors in food safety, environment monitor and biomedical analysis have been reviewed, which could provide reference to related research.

[Key words] surface plasmon resonance (SPR); immune sensing; food safety; environment monitor; biomedical analysis

表面等离子共振(surface plasmon resonance, SPR)生物传感技术是一种新兴的光学生物检测技术,与传统的生化分析方法相比,具有无标记、灵敏度高、可在线实时检测等优点,适用于监测生物分子之间的相互作用。1902年,Wood^[1]首次发现并记录了 SPR 效应。1971年,Kretschmann^[2]提出了 Kretschmann 棱镜结构,为 SPR 生物传感器的研究奠定了基础。经过几十年的发展,目前已有多种商品化的 SPR 生物传感器,包括 Biacore、Intersents、Nomadics 等。

SPR 可提供生物分子相互作用过程中的动力

学参数和亲和力常数等信息,适用于检测蛋白质、多肽、DNA、小分子化合物等几乎所有能够产生分子相互作用的物质。目前,SPR 生物传感器广泛应用于食品分析、临床诊断、蛋白组学研究、环境监测、病原微生物检测和药物发现等领域。本文对基于 SPR 生物传感器的定量方法的原理进行介绍,并对其在食品安全、环境监测和生物医学领域的应用进行综述,希望能为相关研究提供参考。

1 SPR 生物传感器简介

1.1 SPR 原理

SPR 是一种物理现象,当入射光以一定波长与入射角射入 2 种不同射率的介质表面时,引起金属自由电子共振并吸收能量,使反射光在一定角度内减弱。SPR 随着表面折射率的变化而变化,而表面折射率的变化又与结合在金属表面的生物分子质量成正比^[3]。SPR 生物传感器的硬件主要包括微流

[基金项目] 国家自然科学基金(81603067,81573396)

[作者简介] 陈朗东,博士,Email: pharmacylangdong@126.com

[通讯作者] 曹岩,博士,讲师,研究方向:表面等离子共振传感器在中药活性成分筛选中的应用,Tel: (021)81871331,Email: caoy@smmu.edu.cn

控系统、传感系统和光路系统3个部分。微流控系统主要用于将样品输送至传感器表面;传感系统包括玻璃棱镜及偶联有生物分子的传感芯片;光路系统则由光源、光学元件及光学检测器组成,用于获取SPR光谱。SPR的检测原理是将一种生物靶分子键合在生物传感器表面,再将含有另一种能与靶分子相互作用的分析物分子溶液流经生物传感器表面,生物分子之间的结合引起传感器表面的质量增加,同时引起折射率的变化,反映到仪器上表现为响应信号(response unit, RU)的变化,根据RU值可以对能产生相互作用的分子进行测量^[4]。

1.2 SPR在含量测定中的方法

SPR生物传感器的检测基于生物分子间的相互作用,因此对所检测的样品前处理要求较低,无需标记和纯化,能快速、简便、准确地对低浓度样品进行测定,相比于目前常用的方法具有显著优势。基于SPR的定量检测通常可分为4种方法:直接检测法(direct assay)、三明治法(sandwich assay)、竞争抑制法(indirect competitive inhibition assay)和替代检测法(displacement assay)^[5]。

①直接检测法是将抗体直接结合到SPR芯片表面,被分析物流经芯片表面与抗体特异性结合,引起芯片表面质量的改变,从而引起响应角的变化。该方法适用于相对分子质量(分子量)大于10 000的物质的检测。②三明治法是将抗体固定在芯片表面,与流经的被分析物结合后,再流过第2种抗体,与结合在芯片表面的被分析物再次结合,增大被分析物的响应值,这种方法适用于检测具有多个抗原决定簇的大分子物质。对于小分子物质,通常使用竞争抑制法和替代检测法进行检测。③竞争抑制法即在芯片表面固定抗原(分析物),在待测溶液中加入一定量的抗体,抗体与分析物中的抗原先结合,未结合的抗体同芯片表面的抗原结合产生信号,由于抗体的分子量大于抗原,所以通过竞争抑制法能大大增强SPR的信号。④替代检测法的原理与竞争抑制法相似,区别是替代检测法将抗体偶联在芯片上。过量的带有标记的分析物与芯片表面的抗体反应,占据芯片上所有的结合位点。接着再将未标记的分析物注入系统进行分析,采用荧光或化学发光法检测标记的分析物的替代率^[6]。相比于前3种方法,第4种方法使用较少。

2 SPR生物传感器在定量分析中的应用

2.1 在食品分析中的应用

在食品工业,运用快速、简单、便捷的分析方法来监控食品的质量安全是非常必要的。传统的分析方法有高效液相色谱法(HPLC)、质谱光谱法(mass spectrometry, MS)、酶联免疫法(enzyme linked immune sorbent assays, ELISA)等,这些方法都存在耗时长、前处理烦琐等缺点。SPR凭借其独特的优势,在食品领域中应用越来越广泛,其应用包括检测食品中的药物残留、生物毒素的定量检测以及添加剂的检测等。

2.1.1 食品中药物残留的定量分析

在畜禽饲养和农作物生产过程中,抗生素类药物和杀虫剂等应用广泛,这些药物会对人的机体产生毒性作用。因此,检测食品中的药物残留是食品安全领域的一项重要任务。目前,利用SPR技术检测农产品中的药物残留已是一种相对成熟的技术。周宏敏等^[7]采用竞争抑制法检测牛奶中残留的磺胺甲 唑(sulfamethoxazole, SMX)。所得拟合抑制曲线标准对于SMX的测量范围为64~5 000 μg ,达到国家标准。该方法具有高效、便捷的优点,对牛奶样品进行离心处理后即可进行检测,在15 min内便能完成样品的前处理和检测。

Song等^[8]采用SPR生物传感器检测食品样品中残留的杀虫剂亚胺硫磷。检测采用竞争抑制法,该方法在8.0~60.0 ng/L范围内呈现良好的线性,对食品样品中亚胺硫磷的最低检测限为1.6 ng/L(S/N = 3)。该研究还对蔬菜、水果等样品中的残留杀虫剂进行了定量分析,使用乙腈对蔬果样品进行提取,快速离心后用微孔滤膜过滤,相比HPLC法需要使用固相萃取柱进行样品纯化,SPR法的前处理更为简单。该方法对食品样品中亚胺硫磷的回收率范围在86.4%~102.8%之间,变异系数为5.1%~12.6%。该研究表明SPR生物传感器技术在回收率、精确度、检测限和样品处理等方面均优于基于HPLC的检测方法。

2.1.2 食品中生物毒素的定量分析

生物毒素又称天然毒素,是指生物来源的对其他物种有害的有毒化合物^[9]。食品中的一些生物毒素能够直接引起人类中毒、引发包括癌症在内的各类疾病。利用SPR技术的独特优势能够快速、高效地对食品中的生物毒素进行检测。

Cuccioloni等^[10]建立了利用SPR生物传感器检测黄曲霉毒素的方法。利用黄曲霉毒素与猪中性粒细胞弹性蛋白酶的相互作用进行检测。该方法对食品中黄曲霉毒素的定量检测限能够达到

1.67 $\mu\text{g}/\text{kg}$,可在 2 min 内完成对黄曲霉毒素的检测,提高了检测效率。

Yuan 等^[11]采用 SPR 生物传感器检测谷物和饮料中的赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)。该研究采用竞争免疫检测法检测 OTA。OTA 在燕麦和玉米中的检测限分别是 0.3 和 0.5 ng/g 。在酒类和其他饮料中,OTA 的检测限为 0.058 ~ 0.4 ng/ml 。该研究证明了 SPR 生物传感器技术能够快速定量检测食品基质中的 OTA 成分。

2.1.3 食品不合理添加剂的定量分析

在食品生产过程中,一些生产商会过量加入某些添加剂,这些添加剂会影响食用者的健康。因此,需要对食品中的不合理添加剂进行定量分析。孙明君等^[12]采用竞争抑制法对牛奶中的维生素 B₁₂ 进行检测。该方法的 RSD < 10%, 日内精密度试验 RSD 为 0.54%, 随机选取的 3 个样品回收率在 92.1% ~ 104.1% 之间。该方法样品前处理简单,分析速度快,是一种高效便捷的测量方法。

孙明君等^[13]采用竞争抑制法对牛奶中的叶酸进行检测。将叶酸共价偶联到芯片表面,在无抗牛奶中一定量叶酸结合蛋白 (folic acid-binding protein, FABP) 与叶酸结合,剩余的 FABP 则与芯片上的叶酸结合产生信号。该方法对叶酸的最低检测浓度为 0.006 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, RSD < 10%, 日内精密度试验 RSD 为 2.59%, 随机选取的 3 个样品回收率在 85.49% ~ 96.41% 之间。该方法前处理简单,是一种高效便捷的检测奶粉样品中叶酸含量的分析方法。

2.2 在环境监测中的应用

随着社会经济的发展,环境问题成为限制经济发展的重要因素,环境中各种指标的检测也备受关注。如何快速、简便、高效地检测环境中的污染物,是一项亟待解决的问题。SPR 技术在环境监测领域具有广泛的应用前景。

2.2.1 环境中生物毒素的定量分析

水污染的检测是环境监测的重点。目前对于水环境中生物毒素的检测方法存在灵敏度低、测试成本高等缺点。周宏敏等^[14]利用 SPR 技术建立了快速定量检测湖水中微囊藻毒素 (microcystin, MC) 的方法。该方法将 MC 共价偶联到 SPR 芯片表面,并利用免疫竞争抑制原理构建标准曲线,经简单处理后即可对湖水样品中的 MC 进行较为准确的检测。MC 的浓度测定范围可达 0.25 ~ 32 ng/ml 、非线性关系拟合 $R^2 = 0.99623$, 50 次 RSD 为 0.62%,

该方法能较为准确地测定 MC 浓度,可作为水体中 MC 的分析检测方法。

McNamee 等^[15]利用 SPR 方法检测海水样品中的海洋生物毒素,并与经典的 ELISA 法进行了对比。该方法将 3 种海洋生物毒素——石房蛤毒素、冈田酸和软骨藻酸偶联至 CM5 芯片表面,并用于检测海水样品中的 3 种毒素含量,这 3 种毒素的检测限分别为 0.82、0.36 和 1.66 ng/ml 。相比于经典的 ELISA 法,该方法的前处理步骤更为简单,且在 7 h 之内即可完成对 24 个样品中 3 种毒素的检测工作。

2.2.2 环境中有机污染物的定量分析

环境中有机物污染主要有三环芳烃、多氯联苯、烷烃、芳环类化合物及杀虫剂等,传统方法检测有机污染物耗时较长、所需成本较高,而利用 SPR 技术能对这类污染物进行快速检测。

2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D) 是一种有机含氯除草剂,易进入水体和土壤,对人体健康造成危害。周宏敏等^[16]采用三明治法先将 2,4-D 结合到芯片表面,在工作浓度中加入一定量 2,4-D 构建标准曲线,并采用羊抗小鼠 IgG 增强信号。上述方法的标准偏差为 7.73, RSD 为 2.27%。抑制标准曲线在信号增强后,测定范围为 0.05 ~ 4 ng/ml 。该方法利用二抗将信号放大,可将灵敏度提高 20 倍,对水体中的 2,4-D 检测限最低可降低至 0.05 ng/ml 。

Tan 等^[17]采用 SPR 生物传感器检测水中的内分泌干扰物 17 β -雌二醇 (17 β -estradiol, E2)。在 $2.50 \times 10^{-13} \sim 2.50 \times 10^{-9} \text{ mol}/\text{L}$ 范围内, E2 与 SPR 角之间有良好的线性关系 ($R^2 = 0.993$)。该方法可用于实时而便捷地检测环境样品中的 E2 或其他有机污染物。

2.2.3 环境中金属元素的定量分析

水体中的重金属如果在人体内过多聚集,超过人体耐受程度,会对人体健康造成危害。目前,利用 SPR 技术检测水体中重金属的方法发展迅速,具有良好的应用前景。

Chah 等^[18]建立了一种选择性测定水体中的 2 价汞离子的 SPR 分析方法。该方法采用 1,6-己二硫醇 (1,6-hexanedithiol) 对纳米金芯片进行修饰,修饰后的芯片即可选择性吸收样品中的 2 价汞离子。该研究对水样中从 1.0 $\text{nmol}/\text{L} \sim 1.0 \text{ mmol}/\text{L}$ 一系列不同浓度的 2 价汞离子进行了检测,研究表明样品中其他金属离子对检测不产生影响。

Wang 等^[19]利用 SPR 成像技术结合阳极溶出伏安法检测水体中的重金属离子。该方法可对水样中十亿分之一到百万分之一的铅离子和汞离子进行检测。水样中铅离子与汞离子的浓度与 SPR 信号呈现良好的线性关系 ($R^2 = 0.99$)。相比于阳极溶出伏安法,该方法受检测样品的背景干扰小,消耗样品少,分析速度更快。

2.3 在生物医学领域中的应用

SPR 生物传感器能够对分析物进行选择性的检测与定量分析,使其可应用于多种临床样品的检测,如血浆、尿液、唾液和细胞组织等^[20]。相对于经典的免疫比浊法、荧光免疫法、ELISA 等方法,基于 SPR 生物传感器的定量分析方法具有快速、准确、无需标记的优势,并能简化前处理过程。因此,基于 SPR 生物传感器的定量分析方法在生物医学领域具有良好的研究前景。

2.3.1 SPR 生物传感器应用于生物标志物的定量分析

生物标志物 (biomarker) 是一种能用于评价正常生理过程、疾病损伤和药物疗效的生化指标。定量检测生物标志物对疾病的诊断与治疗具有重要意义^[21]。生物标志物在疾病前期的浓度通常都非常低,SPR 生物传感器低检测限的特点在检测生物标志物方面具有广泛的应用前景。

罗阳等^[22]将微量白蛋白尿 (microalbuminuria, MA)、 α -1 微球蛋白 (α -1-microglobulin, α -1-MG)、 β -2 微球蛋白 (β -2-microglobulin, β -2-MG)、尿 IgG 的单克隆抗体固定于免疫传感器芯片上,利用 SPR 传感器对人尿液样品中的微量蛋白含量进行分析。标准曲线的 R^2 均在 0.98 以上,检测灵敏度分别是 α -1-MG 5 μ g/L、 β -2-MG 7.3 μ g/L、MA 11.5 μ g/L、IgG 22 μ g/L。该方法可实现对尿液中多种微量蛋白的准确定量检测。

Vega 等^[23]使用慢病毒颗粒作为载体,将趋化因子受体 CXCR4 偶联于 SPR 芯片表面,检测人尿液样品中 CXCL12 的浓度。该方法在 5 ~ 40 nmol/L 范围内呈线性关系,RSD 为 10%,芯片与芯片之间的偏差为 12%。芯片在 4 周内保持稳定,且能进行 150 次以上的分析。该研究为分析尿液中的 CXCL12 浓度提供了一种便捷、快速且准确的分析方法,适用于临床诊断。

2.3.2 SPR 生物传感器应用于病原体的定量分析

病原体的检测对于预防流行病和传染病意义重大,传统的检测病原体的方法包括 ELISA 法、免疫

荧光试剂法和聚合酶链式反应法^[24]。近年来,SPR 技术在病原体的检测方面也有了较大的发展。

Nilsson 等^[25]采用间接抑制法对血凝素进行定量检测。采用氨基偶联法将重组的血凝素蛋白偶联至 Biacore T100 的葡聚糖芯片表面。特异性抗体用血清溶解,再与病毒反应,通过检测与 HA 芯片结合的自由抗体推算病毒的含量。该方法的检测限为 0.5 mg/L,个体内变异系数为 2%。用经典的放射免疫单扩散法完成检测需要 22 h,而氨基偶联法则只需要 9 h,提高了检测效率。

Wang 等^[26]报道了一种将单链 DNA 扩增技术结合经典 SPR 检测系统用于快速检测绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、破伤风梭菌和产气荚膜梭菌的方法。将 4 种具有专属性的单链 DNA 偶联至 SPR 芯片表面,从细菌中提取 4 种细菌的 DNA 进行 PCR 扩增,扩增后的产物在芯片表面进行 DNA 杂交,从而完成对 4 种细菌的检测。该方法可对受细菌感染的临床样品进行检测,检测限为绿脓杆菌 0.03 nmol/L,金黄色葡萄球菌 0.01 nmol/L,破伤风梭菌和产气荚膜梭菌的检测限分别为 0.01 和 0.02 nmol/L。SPR 检测法与传统方法有相同的检测率 ($P < 0.05$)。

2.3.3 SPR 生物传感器应用于激素的定量分析

激素的定量检测在疾病的诊断中发挥着重要作用。放射免疫学法是目前应用最为广泛的检测方法^[27],除此之外,HPLC、ELISA 等方法都有应用。SPR 相对于这些方法,它不需要使用放射性元素,而灵敏度和精密度都能达到放射免疫法的水平,具有较高的应用价值。

Frasconi 等^[28]采用 SPR 技术对尿液和唾液样品中的皮质醇和可的松进行实时定量分析。该方法将皮质醇和可的松的抗体偶联至芯片表面进行检测,其检测限为 3 μ g/L。该方法对皮质醇和可的松具有良好的专属性,其他的类固醇不会对实验产生干扰。该方法所需的分析时间在 15 ~ 20 min,同时传感器经 100 次检测后依旧保持稳定。

Zhang 等^[29]利用 SPR 技术实现了在飞摩尔级别上对睾酮的定量分析。该研究将水溶性大孔分子印迹膜 (water-compatible macroporous molecularly imprinted film, MIF) 应用于 SPR 传感器表面,并用于检测人尿液样品中睾酮的含量。该方法的检测限为 10^{-15} g/ml,是目前采用 SPR 进行小分子检测的最低极限。该方法具有很高的选择性,在孕酮和雌二醇等相似物的干扰下依旧可以完成检测。

3 总结与展望

3.1 SPR 生物传感器的优势

SPR 生物传感技术具有其独特的优势:①无需标记;对于低浓度物质的检测,传统的方法是采用荧光标记技术。荧光标记对蛋白的活性有很大影响,并可能干扰检测结果^[30]。而 SPR 技术无需标记,能避免标记检测对结果的影响。②实时检测;SPR 的信号响应值与芯片表面的质量相关,能够对芯片表面的分子结合进行实时监测,检测速度快。③可再生;再生试剂的使用大大降低了检测成本,快速的再生能力在分析大量样品的工作中具有显著优势;④专属性强;SPR 基于特定分子间的相互作用,只有存在相互作用的分子才能被检测出来,专属性强,结果可靠性高。

3.2 SPR 生物传感器在含量测定方面存在的问题及对策

目前,SPR 生物传感器在定量分析研究中仍存在一些问題。首先,目前大部分基于 SPR 生物传感器的检测方法都依赖于大型仪器,成本高昂,只能在实验室完成。而许多检测场合,如对食品或水质的检测,如果取样后送回实验室分析,将降低检测的速度和准确性。因此,需要开发更便于携带的 SPR 生物传感器,以推广 SPR 技术在生活中的应用。近年来,已有多个实验室开展了便携式 SPR 生物传感器的研究^[31,33],随着便携式 SPR 传感器的研究不断深入,SPR 技术在生活中的应用将会越来越广。

其次,检测的通量有限。SPR 技术能实时检测芯片表面的分子结合,然而它所记录的是整个芯片表面光斑区域的全部信号,其精确度不高,检测通量低。为提高检测通量,已经有研究者提出了基于微阵列的 SPR 成像技术^[34]。与传统 SPR 生物传感器不同的是,SPR 成像技术采用高分辨率相机作为光电检测装置,可得到芯片表面不同区域的图像信息,大大提高了检测的通量^[35]。

最后,SPR 生物传感器灵敏度较差。根据 SPR 的检测原理,当生物识别原件的分子量极大(如膜蛋白),而所检测的化合物分子量很小时,所得到的响应信号将会非常低,这会给准确定量带来障碍^[36]。而膜蛋白是药物的主要作用靶点,具有重要的研究价值。因此,需要寻找合适的小分子化合物的信号放大方法,以提高 SPR 生物传感器的灵敏度。

【参考文献】

[1] Wood RW. On a remarkable case of uneven distribution of

light in a diffraction grating spectrum[J]. *Proceed Phys Soc Lond*, 1902, 18(1): 269-275.

- [2] Kretschmann E. The determination of the optical constants of metals by excitation of surface plasmons[J]. *Zeitschrift Für Physik A Hadrons Nuclei*, 1971, 241(4): 313-324.
- [3] Hoa XD, Kirk AG, Tabrizian M. Towards integrated and sensitive surface plasmon resonance biosensors; a review of recent progress[J]. *Bios Bioelectr*, 2007, 23(2): 151-160.
- [4] Homola J. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species [J]. *Chem Rev*, 2008, 108(2): 462-493.
- [5] Shankaran D, Gobi K, Miura N. Recent advancements in surface plasmon resonance immunosensors for detection of small molecules of biomedical, food and environmental interest[J]. *Sens Actuat B; Chem*, 2007, 121(1): 158-177.
- [6] Charles PT, Rangasammy JG, Anderson GP, *et al.* Micro-capillary reversed-displacement immunosensor for trace level detection of TNT in seawater[J]. *Analyt Chim Acta*, 2004, 525(2): 199-204.
- [7] 周宏敏, 欧惠超, 姜浩, 等. 利用表面等离子共振技术快速检测牛奶中的磺胺甲 唑[J]. *食品科学*, 2010, 31(6): 168-171.
- [8] Song Y, Liu M, Wang S. Surface plasmon resonance sensor for phosmet of agricultural products at the ppt detection level [J]. *J Agricult Food Chem*, 2013, 61(11): 2625-2630.
- [9] 胡军娜, 吕春爽, 王金峰, 等. 生物毒素的研究进展[J]. *河北省科学院学报*, 2016, 33(4): 64-68.
- [10] Cuccioloni M, Mozzicafreddo M, Barocci S, *et al.* Biosensor-based screening method for the detection of aflatoxins B1-G1 [J]. *Analyt Chem*, 2008, 80(23): 9250-9256.
- [11] Yuan J, Deng D, Lauren DR, *et al.* Surface plasmon resonance biosensor for the detection of ochratoxin A in cereals and beverages[J]. *Analyt Chim Acta*, 2009, 656(1-2): 63-71.
- [12] 孙明君, 陈雍硕, 郑小龙, 等. SPR 技术对奶粉中维生素 B₁₂ 检测方法的建立[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(12): 3891-3897.
- [13] 孙明君, 陈雍硕, 郑小龙, 等. 奶粉中叶酸生物传感器检测方法的研究与应用[J]. *食品研究与开发*, 2013, 34(22): 49-51.
- [14] 周宏敏, 欧惠超, 任鹏, *et al.* 利用 SPR 技术测定湖水中微囊藻毒素[J]. *中国环境科学*, 2012, 32(7): 1284-1287.
- [15] Mcnamee SE, Elliott CT, Delahaut P, *et al.* Multiplex biotoxin surface plasmon resonance method for marine biotoxins in algal and seawater samples [J]. *Envir Sci Pollut Res Int*, 2013, 20(10): 6794-6807.
- [16] 周宏敏, 欧惠超, 王洁, 等. 一种基于 SPR 的 2,4-D 检测技术[J]. *环境科学与技术*, 2014, 37(120): 337-405.
- [17] Tan Y, Wei T. Detection of 17beta-estradiol in water samples by a novel double-layer molecularly imprinted film-based biosensor[J]. *Talanta*, 2015, 141: 279-287.
- [18] Chah S, Yi J, Zare RN. Surface plasmon resonance analysis of aqueous mercuric ions [J]. *Sens Actuat B; Chem*, 2004,

- 99(2): 216-222.
- [19] Wang S, Forzani ES, Tao N. Detection of heavy metal ions in water by high-resolution surface plasmon resonance spectroscopy combined with anodic stripping voltammetry [J]. *Analyt Chem*, 2007, 79(12): 4427-4432.
- [20] Mariani S, Minunni M. Surface plasmon resonance applications in clinical analysis [J]. *Analyt Bioanalyt Chem*, 2014, 406(9-10): 2303-2323.
- [21] 黄敏. 整合生物标志物体系的建立及在疾病诊断和药物疗效评价中的应用[D]. 上海:华东理工大学, 2012.
- [22] 罗阳, 张波, 高维寅, 等. 表面等离子体免疫传感器同步定量尿液中多种微量蛋白的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(7): 658-662.
- [23] Vega B, Calle A, Sanchez A, *et al.* Real-time detection of the chemokine CXCL12 in urine samples by surface plasmon resonance [J]. *Talanta*, 2013, 109: 209-215.
- [24] 王红. 非典型呼吸道病原体检测方法研究进展[J]. *内科*, 2015, 10(4): 560-562.
- [25] Nilsson CE, Abbas S, Bennemo M, *et al.* A novel assay for influenza virus quantification using surface plasmon resonance [J]. *Vaccine*, 2010, 28(3): 759-766.
- [26] Wang J, Luo Y, Zhang B, *et al.* Rapid label-free identification of mixed bacterial infections by surface plasmon resonance [J]. *J Transl Med*, 2011, 9(1): 85.
- [27] 符继红, 孙晓红, 王吉德, 等. 植物激素定量分析方法研究进展[J]. *科学通报*, 2010, 55(33): 3163-3176.
- [28] Frasconi M, Mazzarino M, Botre F, *et al.* Surface plasmon resonance immunosensor for cortisol and cortisone determination [J]. *Analyt Bioanalyt Chem*, 2009, 394(8): 2151-2159.
- [29] Zhang Q, Jing L, Zhang J, *et al.* Surface plasmon resonance sensor for femtomolar detection of testosterone with water-compatible macroporous molecularly imprinted film [J]. *Analyt Biochem*, 2014, 463: 7-14.
- [30] Yin L, Wang W, Wang S, *et al.* How does fluorescent labeling affect the binding kinetics of proteins with intact cells? [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 66: 412-416.
- [31] Fernandez F, Hegnerova K, Piliarik M, *et al.* A label-free and portable multichannel surface plasmon resonance immunosensor for on site analysis of antibiotics in milk samples [J]. *Biosens Bioelectron*, 2010, 26(4): 1231-1238.
- [32] Fernandez F, Pinacho DG, Sanchez-Baeza F, *et al.* Portable surface plasmon resonance immunosensor for the detection of fluoroquinolone antibiotic residues in milk [J]. *J Agricult Food Chem*, 2011, 59(9): 5036-5043.
- [33] Prabowo B A, Wang RY, Secario MK, *et al.* Rapid detection and quantification of enterovirus 71 by a portable surface plasmon resonance biosensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 92: 186-191.
- [34] Smith EA, Corn RM. Surface plasmon resonance imaging as a tool to monitor biomolecular interactions in an array based format [J]. *Appl Spectrosc*, 2003, 57(11): 320A-332A.
- [35] Yao J, Stewart ME, Maria J, *et al.* Seeing molecules by eye: surface plasmon resonance imaging at visible wavelengths with high spatial resolution and submonolayer sensitivity [J]. *Angewandte Chemie (International ed in English)*, 2008, 47(27): 5013-5017.
- [36] Ma G, Guan Y, Wang S, *et al.* Study of small-molecule-membrane protein binding kinetics with nanodisc and charge-sensitive optical detection [J]. *Anal Chem*, 2016, 88(4): 2375-2379.

[收稿日期] 2017-07-24 [修回日期] 2017-11-01

[本文编辑] 李睿旻