



表面等离子共振传感器的识别元件在医药领域中的研究应用进展

王晓飞, 张颖, 顾佳钰, 胡馨儿, 张海, 曹岩

Research and Application Progress on Recognition Components for Surface Plasmon Resonance Sensors in the Pharmaceutical Field

WANG Xiaofei, ZHANG Ying, GU Jiayu, HU Xiner, ZHANG Hai, CAO Yan

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202309014>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

侧流免疫层析定量检测方法的研究进展

Research progress on quantitative detection methods of lateral flow immunochromatography assay

药学实践与服务. 2024, 42(7): 273-277, 284 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202307037

钾离子竞争性酸阻滞剂的药学特征研究进展

Progress on pharmaceutical characteristics of potassium-competitive acid blocker

药学实践与服务. 2024, 42(7): 278-284 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202306040

食管癌的靶向治疗与免疫治疗研究进展

Research progress on targeted therapy and immunotherapy for esophageal cancer

药学实践与服务. 2024, 42(6): 231-237 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202306008

山楂酸药理作用的研究进展

Research progress on the pharmacological effects of maslinic acid

药学实践与服务. 2024, 42(5): 185-189 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202307052

肠道菌群参与糖尿病肾病的机制研究进展

Research progress on the mechanism of gut microbiota participating in diabetes nephropathy

药学实践与服务. 2024, 42(5): 181-184, 197 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202312023

机器学习在肾病综合征患者他克莫司个体化用药中的应用

Application of machine learning in individualized medication of tacrolimus in patients with nephrotic syndrome

药学实践与服务. 2024, 42(6): 227-230, 243 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202310007



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 综述 ·

表面等离子共振传感器的识别元件在医药领域中的研究应用进展

王晓飞¹, 张颖¹, 顾佳钰^{1,2}, 胡馨儿^{1,3}, 张海³, 曹岩¹ (1. 海军军医大学药理学系, 上海 200433; 2. 上海理工大学健康科学与工程学院, 上海 200093; 3. 同济大学附属妇产科医院, 上海 200040)

[摘要] 表面等离子共振(SPR)传感器是一种基于光学的检测技术, 基于 SPR 的生物传感器可实时动态检测生物样品, 具有无需标记和高灵敏度等卓越特点, 是表征分子间相互作用的重要工具。识别元件是 SPR 传感器的关键组成部分, 能够特异性识别和捕获目标分析物, 与传感器的选择性能有密切关系。综述采用抗体、适配体、分子印迹聚合物、蛋白质和金属纳米粒子作为识别元件的 SPR 传感器在医药研究中的进展。

[关键词] 表面等离子共振; 识别元件; 抗体; 核酸适配体; 分子印迹聚合物

[文章编号] 2097-2024(2024)00-0001-09 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202309014

Research and Application Progress on Recognition Components for Surface Plasmon Resonance Sensors in the Pharmaceutical Field

WANG Xiaofei¹, ZHANG Ying¹, GU Jiayu^{1,2}, HU Xiner^{1,3}, ZHANG Hai³, CAO Yan¹ (1. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 3. The First Maternal and Infant Health Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200040, China)

[Abstract] Surface plasmon resonance (SPR) sensor is an optical detection technique enables real-time and dynamic monitoring of biological samples. SPR-based biosensors have remarkable characteristics such as label-free detection and high sensitivity, making them important tools for studying molecular interactions. The recognition element, which plays a critical role in SPR sensors, allows for specific identification and capture of target analytes, closely influencing the selectivity performance of the sensor. The progress on SPR sensors in pharmaceutical research were reviewed, which focused on the application of recognition elements such as antibodies, aptamers, molecularly imprinted polymers, and metal nanoparticles.

[Key words] surface plasmon resonance; recognition element; antibodies; aptamers; molecularly imprinted polymer

1 概述

表面等离子共振(SPR)^[1,2]是指当偏振光以特定角度照射金属或其他导电材料时,在介质(通常是玻璃和液体)与金属之间的界面发生全反射,然后产生消逝波,同时入射光激发金属中的自由电子进行纵向振动,形成等离子波,消逝波与金属膜表面的等离子波发生共振的现象。SPR 传感器是一种基于 SPR 现象发展而来的分析技术,SPR 传感器表面结合的生物分子质量的变化使共振波长或共振角度发生偏移,从而能够对生物标记物进行定量监测^[3]。SPR 传感器可通过传感器芯片实时、原

位和动态测量各种生物分子,如多肽、蛋白质、寡核苷酸、寡聚糖,以及病毒、细菌、细胞、小分子化合物之间的相互作用,无须进行标记,也无须纯化各种生物组分,具有灵敏度高和耗样量低等突出优点。

识别元件也被称为目标受体,是生物传感器的重要组成部分。在 SPR 传感器中,识别元件被固定在传感器芯片上,参与特异性识别和捕获目标分析物,与传感器的选择性能密切相关,是实现生物传感器特异性检测的关键^[4]。目前识别元件主要包括抗体、核酸适配体(Apt)、分子印迹聚合物(MIP)、蛋白质和金属纳米粒子等,分别能够通过不同的生物样品的特异性结合实现检测。本文简要介绍了 SPR 传感器中不同识别元件的原理、检测范围、优势以及局限性,重点分析近些年国内外将不同识别元件的 SPR 传感器应用于医药领域研究的研究成果,如表 1 所示。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82174092);上海市科委资助项目(21ZR1483000);上海市浦江计划资助项目(21PJD083)

[作者简介] 王晓飞,硕士研究生, Tel: 15932210792, Email: kossely117@163.com

[通信作者] 曹岩,硕士生导师,研究方向:药物检测新技术, Email: caoyan@smmu.edu.cn

表 1 基于不同识别元件的 SPR 传感器在医药领域中的应用

识别元件	分析物	检测限	K_D 值	线性范围	参考文献	
抗体	杆状病毒抑制因子5	6.25 pg/ml	12.1 nmol/L	—	[5]	
	NS1蛋白	0.8 nmol/L	—	—	[6]	
	马血色素肌红蛋白	—	(270 ± 14)nmol/L	—	[7]	
	脱辅基肌红蛋白	—	(350 ± 13.5)nmol/L	—	[7]	
	白介素-8	—	82.2 nmol/L	—	[9]	
	吡嗪菌胺	10 ng/ml	0.82 nmol/L	—	[10]	
	诺氟沙星	0.02 ng/ml	—	—	[11]	
	三唑磷	0.096 ng/ml	—	0.98 ~ 8.29 ng/ml	[12]	
	适配体	β 淀粉样蛋白	0.2 pmol/L	—	—	[14]
		糖化血红蛋白	2.55 nmol/L	—	—	[15]
溶菌酶		2.4 nmol/L	—	—	[16]	
肌钙蛋白T		3.13 nmol/L	—	—	[17]	
新霉素B		5 nmol/L	6.5 μ mol/L	10 nmol/L ~ 100 μ mol/L	[19, 20]	
伊马替尼		—	—	0.7 ~ 10 μ mol/L	[21]	
军团菌		10 ^{4.3} CFU/ml	—	—	[22]	
副溶血性弧菌		—	2.4 nmol/L	—	[23]	
MIP		多巴胺	—	—	0.01 ~ 0.50 ppb	[31]
		肌红蛋白	4.72 ng/ml	—	—	[27, 28]
	牛血清蛋白	8.5 nmol/L	—	—	[29]	
	CA-125	0.01 U/ml	—	0.1 ~ 500 U/ml	[30]	
蛋白质	PD-1蛋白	10 nmol/L	—	—	[33]	
	刺突蛋白	—	0.37 nmol/L	—	[35]	
金属纳米粒子	Cu ²⁺	0.24 μ g/L	—	0.5 ~ 35 μ g/L	[37]	
	Hg ²⁺	8 nmol/L	—	20 ~ 100 nmol/L	[38]	
	Hg ²⁺	9.98 nmol/L	—	—	[39]	
	Cu ²⁺	200 nmol/L	—	10 ~ 250 μ mol/L	[40]	

注：“—”表示在原文中未说明。

2 不同识别元件在 SPR 的应用

2.1 抗体

由于抗体对蛋白质、病毒、细菌、细胞以及小分子等具有特异性结合,利用抗体作为识别元件检测生物样品目前在 SPR 传感器中应用最广泛、最普遍^[41]。随着抗体研发的发展,抗体作为识别元件也更广泛地应用到各种生物样品的检测中,并且其检测限不断降低,检测范围不断增大。

2.1.1 基于抗体对蛋白质的检测

Jena 等^[5]基于无标记 SPR 免疫传感器利用杆状病毒抑制因子 5 抗体检测狗血清中杆状病毒抑制因子 5 的含量,方法如图 1 所示, K_D 为 12.1 nmol/L,检测限低至 6.25 pg/ml,具有高灵敏度和特异性。患乳腺肿瘤犬的血清杆状病毒抑制因子 5 的平均

含量为(110.02±9.77)pg/ml,健康狗血清中检测到的平均含量为(30.28±2.99)pg/ml,这表明 SPR 传感器在犬科乳腺肿瘤的诊断中具有重要的潜在应用价值。

Widoretno 等^[6]为了检测登革热感染,在研究中利用 SPR 传感器检测非结构蛋白(NS1)抗体和 NS1 蛋白的相互作用,与目前可用的经典检测方法——酶联免疫吸附测定和逆转录聚合酶链反应进行了比较,在对从印度尼西亚登革热患者收集的 26 个样本的检测中,SPR 能够以更低的浓度和更短的时间正确识别所有 16 名阳性感染者。酶联免疫吸附测定法对 NS1 的检测限为 8 nmol/L,而 SPR 传感器检测限低至 0.8nmol/L。

Mihoc 等^[7]将蛋白水解表位提取质谱法和 SPR

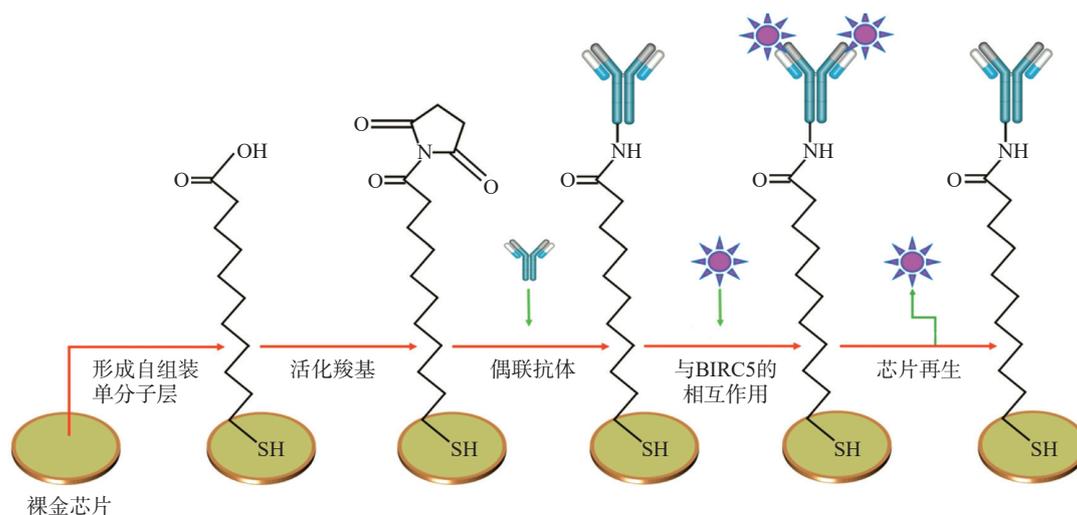


图1 裸金 SPR 传感器表面的制作和利用 SPR 传感器检测杆状病毒抑制因子 5^[6]

生物传感器结合,利用肌红蛋白的单克隆抗体检测出马血红蛋白肌红蛋白的 K_D 为 (270 ± 14) nmol/L,脱辅基肌红蛋白的 K_D 为 (350 ± 13.5) nmol/L,并用蛋白水解法通过质谱确定了单克隆抗体和多克隆抗体的抗原表位。Lupu 等^[8,9] 同样以该法,利用白介素-8 的单克隆抗体对白介素进行检测,通过蛋白水解法确定了单克隆抗体的抗原表位。

2.1.2 基于抗体对小分子的检测

Ceballos-Alcantarilla 等^[10] 为了检测吡嗪菌胺,开发了其单克隆抗体作为识别元件,优化并验证了基于单克隆抗体的 SPR 直接免疫测定法,用于快速分析葡萄、葡萄汁和葡萄酒样品中的吡嗪菌胺。通过 SPR 检测的样品结果与液相二级质谱的结果进行比较,发现了极好的相关性($r=0.995$),并且在葡萄、葡萄汁和葡萄酒样品中的检测限低至 10 ng/ml。

Acaroz 等^[11] 采用单克隆抗体作为识别元件,利用 SPR 检测氟喹诺酮类药物,在优化条件下,该测定表现出非常高的灵敏度,例如,诺氟沙星的检测限可低至 0.02 ng/ml。为了证明该方法的适用性,对人工污染的牛奶、肉类、鱼类和虾样品进行了检测,平均回收率分别为 88.9%、76.2%、74.4% 和 77.9%。这些数据表明,该测定方法具有广泛的适用性。

可见,抗体作为一种最常见的特异性很强的识别元件,广泛应用于各种生物分子的检测,包括蛋白质、小分子等,并且具有较高的灵敏度和特异性,能够识别极少量的目标分子,然而抗体也存在制备过程繁琐、易产生交叉反应和易失活等一些缺点。基于抗体作为识别元件的 SPR 传感器能够进行灵敏精确的生物检测,尤其在感染性疾病的早期诊断和监测中显示出高效性和准确性。

2.2 核酸适配体

核酸适配体^[13] 是基于指数富集的配体系统进化(SELEX)技术从随机寡核苷酸文库中经过 8 ~ 20 轮不断筛选获得的对靶物质具有很高特异性和亲和力的寡核苷酸序列。这一小段经体外筛选得到的寡核苷酸序列能与相应的配体进行高亲和力和强特异性的结合,它的出现为生物医学界提供了一种新的高效快速识别的研究平台,并在许多方面展示了良好的应用前景。基于核酸适配体的 SPR 生物传感器因其简单、可行、可替代抗体和检测成本低等特点而受到广泛关注。

2.2.1 基于适配体对蛋白质的检测

Zheng 等^[14] 开发了一种基于双适配体的 SPR 传感器,用于定量检测 β 淀粉样蛋白 40(A β 40) 聚集体。这种基于双适配体的 SPR 传感器避免了空间位阻和表位的限制,A β 40 低聚物的检测限低至 0.2 pmol/L,并且其操作简单、识别元件的成本较低。该 SPR 传感器可成功应用于检测人工脑脊液和未稀释的真实脑脊液中的 A β 40 聚集体。Sun 等^[15] 利用适配体具有选择性高、制备简单、保存方便等优点,采用适配体 SPR 传感器进行糖化血红蛋白(HbA1c)检测,明显提高了 HbA1c 测量的准确性和灵敏度。

Mihai 等^[16] 使用基于适配体的 SPR 传感器对葡萄酒中的过敏原蛋白溶菌酶进行无标记检测,并优化了适配体用量、电泳缓冲液的组成、适配体与蛋白质的孵育时间、流速和样品预处理方式。结果表明,基于适配体的 SPR 传感器检测葡萄酒中的溶菌酶时具有高准确度和灵敏度,检测限低至 2.4 nmol/L,表现出良好稳定性、选择性。并分别在不同化合物(槲皮素、没食子酸、儿茶素、表儿茶

素、咖啡酸)存在下检测溶菌酶,其响应值与相同浓度的标准溶液响应值相比明显降低,证明了溶菌酶与槲皮素等酚类化合物具有相互作用。

Torrini 等^[17]利用肌钙蛋白 T 的适配体作为识别元件构建了 SPR 传感器,通过传感器对肌钙蛋白 T 进行检测,使用三明治法的适配体 SPR 传感器表现出更好的选择性,展现了适配体代替抗体作为识别元件的可行性。

2.2.2 基于适配体对小分子的检测

Tenaglia 等^[18]构建了基于核酸适配体的 SPR 传感器,直接检测人血清中的妥布霉素,对血药浓度进行监测。结果表明,使用针对妥布霉素的适配体,可以定量检测接受妥布霉素治疗并进行治疗药物监测的患者获得的临床样本中抗生素的浓度,并且基于适配体的直接检测与临床使用的质谱法具有良好的相关性($r=0.99$)。

Luan 等^[19]利用以核酸适配体为识别元件的 SPR 传感器筛选和检测氨基糖苷类抗生素,通过监测镀金膜上激光的角度变化,获得实时结合曲线。待测物质中抗生素与其适配体结合的解离常数和化学计量值均可使用 SPR 传感器的响应进行测量。检测了牛奶中新霉素 B,线性范围为 10 nmol/L ~ 100 μ mol/L,检测限低至 5 nmol/L。

Tartaggia 等^[21]为了在临床实践中实施抗癌药物伊马替尼的治疗药物监测,依靠适配体作为识别元件,利用 SPR 传感器进行检测,检测方法具有出色的选择性,并且不受人血浆样品成分的干扰。SPR 检测的结果与高效液相色谱-质谱联用技术的结果相比具有良好的相关性($r=0.9999$)。其根据监管指南收集了可靠的验证数据,并将该方法与标准分析技术进行了比较,从而为接受伊马替尼治疗的患者的治疗药物监测开发了一种可行的适配体传感器。

2.2.3 基于适配体对微生物的检测

Saad 等^[22]介绍了一种新的针对军团菌的检测策略——基于表面等离子共振成像 (SPRi) 的滴定测定法,该测定法使用嗜肺军团菌适配体,能有效避免传统 SPR 用于全细胞细菌检测存在的不足。与传统检测方法通过细菌培养(7 ~ 15 d)和逆转录聚合酶链反应(60 ~ 90 min)相比,该检测方法仅需 30 min 即可给出结果。没有标记或信号放大策略的情况下可以实现 $10^{4.3}$ CFU/ml 检测极限,并且信号放大策略的开发将进一步提高 SPRi 的滴定测定的灵敏度和准确性,以实现在环境监测或即时诊断等多个领域监测细菌。

Ahn 等^[23]将副溶血性弧菌的核酸适配体用于基于 SPR 的生物传感器,开发了快速、简单、特异的检测方法检测副溶血性弧菌。由于副溶血性弧菌的某些细胞外成分形成了二级和三级结构,基于适配体的 SPR 生物传感器平台可以清楚地识别副溶血性弧菌, K_D 为 2.4 nmol/L。基于核酸适配体的 SPR 传感器为诊断弧菌感染提供了一个快捷的检测平台,具有巨大的病原体检测潜力。

核酸适配体具有一些天然优势,例如:易于体外大量合成、重复性好、稳定性高且易于贮存;同时,适配体靶标广泛,包括农药、组织、细胞、病毒、蛋白质、毒素、维生素等;适配体易于被标记荧光且活性不受影响,因此易于结合应用其他检测技术。基于核酸适配体为识别元件的 SPR 传感器,在环境检测中,能够实时和高效的检测污染物、毒素等;在临床诊断中,能够高灵敏度和特异性的检测病原体、癌症标志物或者其他生物分子,并且其操作简便易行、检测成本较低。因此,核酸适配体有望成为优良的识别元件,也有望在 SPR 领域作为抗体的替代品。

2.3 MIP

分子印迹技术^[24, 25]是在特定的环境(溶剂体系)中,以模板分子(待识别的目标分子)与功能单体发生相互作用形成主客体复合物,在交联剂的作用下功能单体交联聚合并围绕模板分子形成三维网络空间结构,随后模板分子被洗脱,结合位点暴露,三维空间形成印迹孔穴,即 MIP。MIP 在结合力、官能团、空间形状和大小等方面与目标分子高度互补,对模板分子具有“记忆效应”,可以从复杂的混合物中结合目标分子。因此, MIP 具备了生物抗体的两个最重要特性——识别和结合特定目标分子的能力。

2.3.1 基于 MIP 对蛋白质的检测

Torrini 等^[26]以去甲肾上腺素为单体,开发并优化了一种高选择性和高灵敏度的 MIP,通过 SPR 生物传感器利用竞争法检测促性腺激素释放素(图 2),实现了实时、无标签的 SPR 生物检测。通过测试一系列在分子量和主序列方面从高到低相似度的肽验证其选择性,并且在选择性、可重复使用性和成本方面与高效液相和商业酶联免疫吸附测定试剂盒进行了直接比较,结果表明, SPR 传感器成本更低,且无需高度培训人员。与抗体相比较, MIP 可适应更复杂的环境,显示了以 MIP 为识别元件的 SPR 传感器的整体优良特性。

Osman^[27, 28]利用分子印迹技术制备了 SPR 传

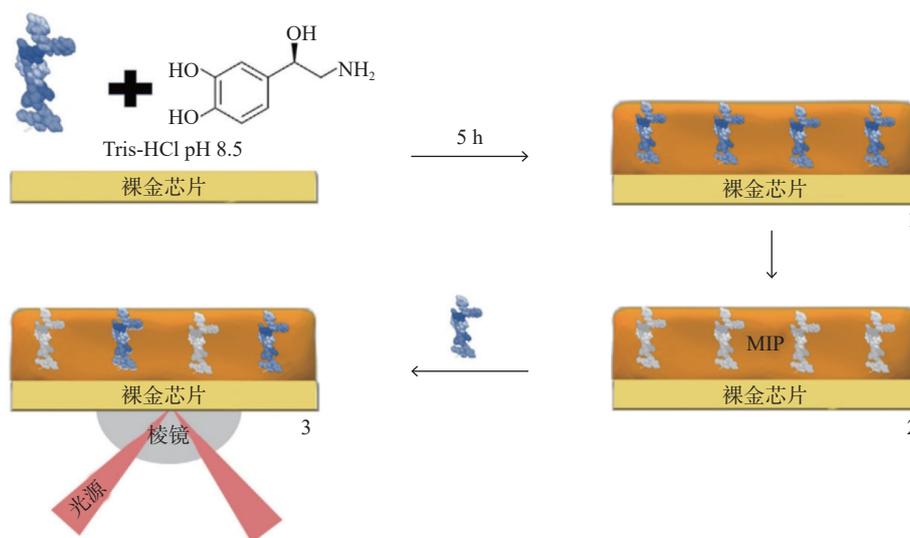


图2 利用SPR金芯片表面压印后检测促性腺激素释放素^[27]

感器,用于检测人血清中的肌红蛋白。通过在SPR传感器的金表面涂上印有肌红蛋白的聚纳米粒子MIP,制备了基于SPR的MIP传感器,并用不同浓度的肌红蛋白溶液评估了MIP/SPR纳米传感器检测肌红蛋白的能力,结果表明,检测限和定量限分别为4.72 ng/ml和15.74 ng/ml,具有很高的灵敏度。为了确证SPR传感器的选择性,对肌红蛋白、溶菌酶、细胞色素C和牛血清白蛋白的进行了竞争性检测,结果显示,SPR传感器对肌红蛋白有很高的选择性。

Arcadio等^[29]利用一种基于聚甲基丙烯酸甲酯覆盖的金纳米膜,与用于检测牛血清蛋白的MIP受体相结合,利用SPR传感器对牛血清蛋白进行检测,检测限低至8.5 nmol/L,并有进一步提高灵敏度的潜力。开发的SPR芯片可连接简易的光源和光谱仪,为SPR设备的小型化和便携化提供了可能。

Rebello^[30]利用糖类抗原125(CA-125)制备MIP,以此为识别元件通过SPR传感器检测CA-125。结果表明,该SPR传感器具备良好的选择性和较高的灵敏度,检测限低至0.01 U/ml,线性浓度范围为0.1~500 U/ml。并且可被成功地应用于人工血清样品的CA-125分析,回收率为91%~105%,平均相对误差为5.8%。可见,SPR传感器具有灵敏度高、无需标签、实时检测以及样品消耗低的突出优势。

2.3.2 基于MIP对小分子的检测

Deniz等^[31]制备了多巴胺压印的聚纳米颗粒MIP,并以未用多巴胺分子压印的聚纳米颗粒MIP作为对照,利用SPR传感器对水溶液和生物样品中的多巴胺进行了选择性和敏感性检测,在

0.01~0.5 ppb浓度范围内获得了良好的线性关系,相关系数 r 分别为0.990 8(0.01~0.075 ppb)和0.990 9(0.075~0.5 ppb),用0.5 ppb多巴胺溶液评估该SPR传感器的可重复性,测定的相对标准偏差小于1.7%。基于SPR的多巴胺检测技术,有效避免了传统技术样品制备繁琐、成本高、设备复杂等使用限制,并且不需要耦合过程,传感器制备简单,可被成功应用于检测人工血浆和生理血清样品中的多巴胺。

2.3.3 基于MIP对微生物的检测

Cennamo等^[32]针对检测SARS-CoV-2病毒的需要,设计了一种特定的MIP受体,并与SPR相结合,用于SARS-CoV-2刺突蛋白的S1亚单位的识别。结果表明,该光学-化学传感器的灵敏度高于逆转录聚合酶链反应,并且检测时间短(10 min),其结果初步证明,MIP/SPR是一种能快速进行SARS-CoV-2病毒检测的方法,可在大量样本上进一步验证。

MIP近些年来在合成上已得到很大的创新和进步,与天然生物分子相比,不但具有同等的识别特异性,还具备了更高的稳定性,并且成本低、制备简单,在取代天然生物分子作为生物传感器识别元件上具有潜在的优势。基于MIP的SPR传感器因其高度选择性和灵敏度,已被广泛应用于包括环境污染、药物分子等在内的多种小分子检测领域,可以在早期疾病诊断或生物研究中特异性识别生物标志物。

2.4 蛋白质

蛋白质作为识别元件可用于检测蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质-小分子的特异性结合,其优点

是种类丰富、易于表达、特异性好,并且蛋白质作为药物靶点的主要组成,使基于蛋白质作为识别元件的 SPR 传感器在筛选药物中可以直接针对关键的生物分子,提高药物疗效和选择性,缺点在于蛋白质的纯化成本较高且费时、稳定性欠佳。

Yang 等^[33]为了无标记检测多价蛋白质结合及其动力学过程,利用 pNIPAm-co-AAc 纳米凝胶与目标分子形成多价蛋白质复合物,将其作为 SPR

传感器识别元件,可以无标记定量测量多价蛋白结合与单价或非特异性蛋白质-蛋白质相互作用,且不会产生增强响应(图 3)。该方法用于检测程序性死亡受体(PD-1)抗体与两种 PD-1 蛋白多价蛋白结合时,检测限可低至 10 nmol/L。该方法能够从复杂的介质中分析双特异性或多价靶分子,而无需或最大限度地减少预处理程序,对多价蛋白结合及其动力学的简便而准确的检测开辟了一条新的途径。

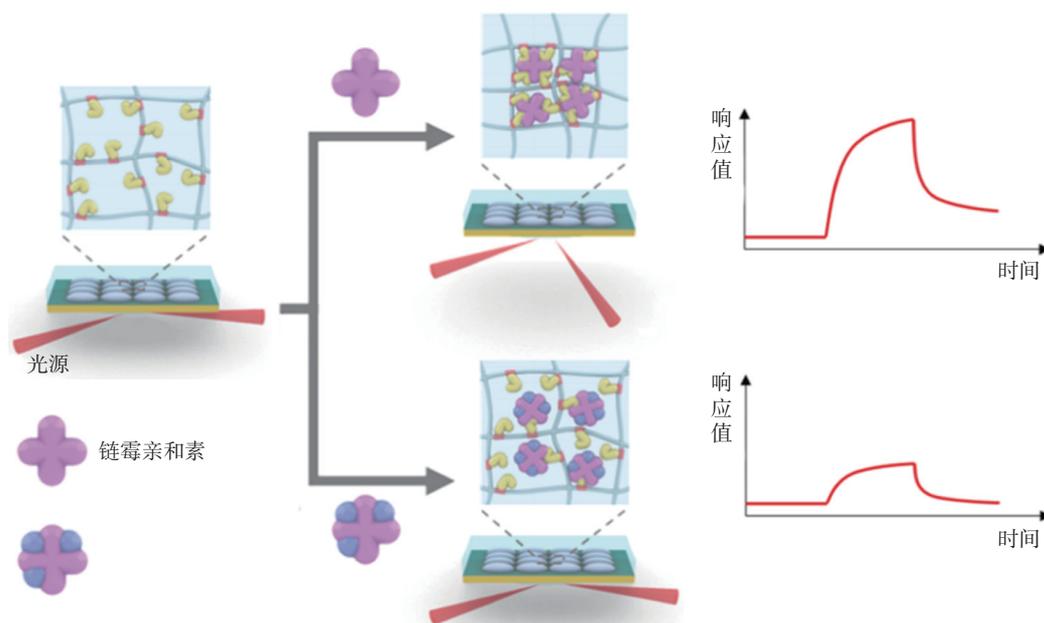


图 3 使用纳米凝胶与目标分子形成的多价蛋白质复合物对单价/多价分析物进行 SPR 分析^[34]

Vachali^[34]使用标准胺偶联方法将叶黄素的类固醇生成急性调节域蛋白 3 固定在传感器表面,利用 SPR 传感器来研究类胡萝卜素及其结合蛋白之间的相互作用,该方法简单灵活,有助于快速和可重复地获取结合数据。由于 SPR 是一种非破坏性方法,有助于最大限度地减少样品使用量。此外,SPR 也已经开始用于与类胡萝卜素结合的其他大分子的研究,以表征蛋白的功能。

Zhu 等^[35]先用血管紧张素酶 2(ACE2)作为识别元件,利用 SPR 传感器验证了 ACE2 与刺突蛋白结合结构域的相互作用,测得 K_D 为 0.37 nmol/L。然后分别将 ACE2 和严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2 刺突蛋白作为识别元件,通过将含不同浓度(0 ~ 125 $\mu\text{mol/L}$)化合物的 20 nmol/L 刺突蛋白溶液连续流过 ACE2 表面,观察信号响应,筛选出阻断作用最强的化合物 02B05(去甲泽拉木醛),测定了 02B05-ACE2 和 02B05-刺突蛋白的结合亲和力分别为 1.736 $\mu\text{mol/L}$ 和 1.039 $\mu\text{mol/L}$,竞争实验结果表明,筛选出的化合物 02B05 可有效阻断刺突蛋白与 ACE2 蛋白的结合。

蛋白质作为在 SPR 传感器中常用的识别元件,在研究蛋白质-蛋白质、蛋白质-小分子相互作用,靶向药物筛选上具有较大潜力,并且灵敏度高、特异性强,但同抗体一样,仍然存在稳定性欠佳、易失活、保存要求高等特性。利用蛋白质作为识别元件的 SPR 传感器能够在药物开发过程中帮助筛选和评估候选药物分子与目标蛋白质之间的结合情况。此外,在生物医学研究领域,在探索蛋白质间相互作用、研究蛋白质与其他分子的结合机制等方面的应用,有助于揭示生物分子网络和信号传导路径的复杂性。

2.5 金属纳米粒子

由于金属纳米粒子的局域共振与传感薄膜的 SPR 之间存在共振耦合,因此金属纳米粒子可增强 SPR 传感器的信号^[36],在研究中可作为 SPR 传感器的放大标签。基于金属纳米粒子的 SPR 传感器可以大大提高其光谱吸收强度,在检测领域具有广阔的应用前景。

Peng 等^[37]开发了一种基于银纳米粒子的 SPR 传感器,用于自动比色检测水样中的痕量 Cu^{2+} 。该

方法对 Cu^{2+} 的测定具有高灵敏度和良好的选择性。 Cu^{2+} 浓度为 $10 \mu\text{g/L}$ 的样品的相对标准偏差 (RSD, $n=7$) 为 1.21%, $25 \mu\text{g/L}$ 的样品的 RSD 为 1.03%。该方法具有简单、快速、低成本和灵敏的特点,已成功应用于水质研究和食品安全,并被证明对现场监测和污染调查具有巨大的潜在价值。

Janani 等^[38] 报道了一种利用银纳米颗粒作为探针的 SPR 技术对 Hg^{2+} 进行高灵敏度和特异性检测。在 396 nm 处的吸光度与 $20 \sim 100 \text{ nmol/L}$ Hg^{2+} 存在着极好的线性关系 ($r=0.996$), 具有较高的灵敏度,并且在其他金属离子的检测中表现出了良好特异性,检测水平不受 pH、温度和含盐量的影响,在检测和定量测定各种水样中的 Hg^{2+} 离子方面表现出高效性。

金属纳米粒子,特别是金纳米粒子和银纳米粒子,因其独特的光学性质而在增强 SPR 传感器信号方面扮演了重要角色。这些纳米粒子通过局部表面等离子体共振效应能够显著增强传感器的信号,为检测信号的放大提供了一种独特的方法。尤其在重金属离子检测领域,基于金属纳米粒子的 SPR 传感器显示出了极高的灵敏度和优良的选择

性,这使得它们成为检测痕量污染物的强大工具。然而,尽管金属纳米粒子在增强 SPR 传感器性能方面具有显著的优势,它们的应用仍然面临一些挑战,其制备和功能性过程需要精确控制,以确保它们具有适当的尺寸、形状和表面化学性质,而这一过程往往复杂且成本较高,限制了基于金属纳米粒子的 SPR 传感器在更广泛应用中的推广。

3 总结与展望

抗体是最广泛应用的识别元件,是基于抗原-抗体特异性识别的原理进行检测,但其在检测目标、成本和稳定性方面存在一定限制;核酸适配体合成简便、稳定性高且易于标记,但其更容易受到环境(如:离子强度、盐浓度和 pH 值)的影响,限制了其在测试中的广泛应用;MIP 具有耐热、耐化学试剂和机械性能优良优势,且成本较低,但其制备过程复杂、耗时较长以及模板分子渗漏等问题仍需解决;蛋白质作为识别元件具有靶向筛选药物的潜力,但其存在稳定性差、成本高等局限性;金属纳米粒子作为信号放大标签,在重金属离子检测方面具有独特优势,但应用范围受限、制备要求高(表 2)。

表 2 不同识别元件的优缺点及应用范围

识别元件	优点	缺点	应用范围
抗体	高特异性和灵敏度,能够识别极小量的目标分子,适用范围广泛	制备过程繁琐,成本较高,易产生交叉反应,稳定性有限	广泛应用于各种生物分子的检测以及感染性疾病的早期诊断
适配体	制备简单、成本低、稳定性高	结合亲和力和可能低于抗体;可能受环境因素的影响	检测小分子、蛋白质、细菌等
MIP	耐热、耐化学试剂、机械性能优良,成本较低,可重复使用	识别特异性和亲和力可能不如生物识别元件;制备过程复杂、耗时,可能存在模板分子渗漏问题	检测小分子、某些蛋白质
蛋白质	高特异性和灵敏度,可通过基因工程方法定制	稳定性差,成本高,制备和纯化过程复杂	分析蛋白-蛋白相互作用,靶向药物筛选
金属纳米粒子	可以显著增强 SPR 传感器的信号,尤其适用于放大检测信号	应用范围受限,制备要求高	主要用于重金属离子的检测

本文综述了基于不同识别元件的 SPR 传感器在临床医药领域中的研究进展,识别元件是 SPR 传感器的重要组成部分,SPR 传感器的发展依赖于识别元件的发展。各种识别元件都在 SPR 传感器中展现了不同的优势和潜力,相信随着对识别元件的深入研究,SPR 传感器不仅可以继续发挥其无需标记、实时快速的优势,而且将在准确度、灵敏度上进一步提高,在医药研究中不断拓展更加广泛的应用领域。

【参考文献】

[1] WEIX X, YIN M, ZHANG L, et al. Surface Plasmon Resonance (SPR) biosensor for detection of mycotoxins: a re-

view[J]. *J Immunol Meth*, 2022, 510: 113349.

[2] MULYANTIB, NUGROHOHS, WULANDARIC, et al. SPR-based sensor for the early detection or monitoring of kidney problems[J]. *Int J Biomater*, 2022, 2022: 9135172.

[3] SWAMIS, KAYENATF, WAJIDS. SPR biosensing: cancer diagnosis and biomarkers quantification[J]. *Microchem J*, 2024, 197: 109792.

[4] 张泽, 张颖聪, 于洪伟, 等. 生物传感器识别元件的种类及其在临床检验中的研究进展 [J]. *临床检验杂志*, 2020, 38(10): 767-771.

[5] JENA S C, SHRIVASTAVA S, SAXENA S, et al. Surface plasmon resonance immunosensor for label-free detection of BIRC5 biomarker in spontaneously occurring canine mammary tumours[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 13485.

[6] Widoretmo, SJAHURACHMAN A, DEWI B E, et al. Surface

- plasmon resonance analysis for detecting non-structural protein 1 of dengue virus in Indonesia[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2020, 27(8): 1931-1937.
- [7] MIHOC D, LUPU L M, WIEGAND P, et al. Antibody epitope and affinity determination of the myocardial infarction marker myoglobin by SPR-biosensor mass spectrometry[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2021, 32(1): 106-113.
- [8] WIEGAND P, LUPU L, HÜTTMANN N, et al. Epitope identification and affinity determination of an inhibiting human antibody to interleukin IL8(CXCL8) by SPR- biosensor-mass spectrometry combination[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2020, 31(1): 109-116.
- [9] LUPU L M, WIEGAND P, HOLDSCHICK D, et al. Identification and affinity determination of protein-antibody and protein-aptamer epitopes by biosensor-mass spectrometry combination [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12832.
- [10] CEBALLOS-ALCANTARILLAE, ABAD-FUENTESA, AGULLÓC, et al. Immunochemical method for penthiopyrad detection through thermodynamic and kinetic characterization of monoclonal antibodies[J]. *Talanta*, 2021, 226: 122123.
- [11] ACAROUZU, DIETRICH, KNAUER, et al. Development of a generic enzyme-immunoassay for the detection of fluoro (quinolone)-residues in foodstuffs based on a highly sensitive monoclonal antibody[J]. *Food Anal Meth*, 2020, 13(3): 780-792.
- [12] GUOY R, LIUR, LIUY, et al. A non-competitive surface plasmon resonance immunosensor for rapid detection of triazophos residue in environmental and agricultural samples[J]. *Sci Total Environ*, 2018, 613-614: 783-791.
- [13] HERMANN T, PATEL D J. Adaptive recognition by nucleic acid aptamers[J]. *Science*, 2000, 287(5454): 820-825.
- [14] ZHENG Y, GENG X H, YANG X H, et al. Exploring interactions of aptamers with $A\beta_{40}$ amyloid aggregates and its application: detection of amyloid aggregates[J]. *Anal Chem*, 2020, 92(3): 2853-2858.
- [15] SUN D P, WU Y, CHANG S J, et al. Investigation of the recognition interaction between glycosylated hemoglobin and its aptamer by using surface plasmon resonance[J]. *Talanta*, 2021, 222: 121466.
- [16] MIHAI, VEZEANU, POLONSCHIIC, et al. Label-free detection of lysozyme in wines using an aptamer based biosensor and SPR detection[J]. *SensActuat B Chem*, 2015, 206: 198-204.
- [17] TORRINI F, PALLADINO P, BRITTOLI A, et al. Characterization of troponin T binding aptamers for an innovative enzyme-linked oligonucleotide assay(ELONA) [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(29): 7709-7716.
- [18] TENAGLIA E, FERRETTI A, DECOSTERD L A, et al. Comparison against current standards of a DNA aptamer for the label-free quantification of tobramycin in human sera employed for therapeutic drug monitoring[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 159: 341-347.
- [19] LUAN Y X, WANG N, LI C, et al. Advances in the application of aptamer biosensors to the detection of aminoglycoside antibiotics[J]. *Antibiotics*, 2020, 9(11): 787.
- [20] DE-LOS-SANTOS-ALVAREZ N, LOBO-CASTAÑÓN M J, MIRANDA-ORDIERES A J, et al. SPR sensing of small molecules with modified RNA aptamers: detection of neomycin B[J]. *Biosens Bioelectron*, 2009, 24(8): 2547-2553.
- [21] TARTAGGIA S, MENEGHELLO A, BELLOTTO O, et al. An SPR investigation into the therapeutic drug monitoring of the anticancer drug imatinib with selective aptamers operating in human plasma[J]. *Analyst*, 2021, 146(5): 1714-1724.
- [22] SAADM, CASTIELLO F R, FAUCHERS P, et al. Introducing an SPRi-based titration assay using aptamers for the detection of *Legionella pneumophila*[J]. *SensActuat B Chem*, 2022, 351: 130933.
- [23] AHN J Y, LEE K A, LEE M J, et al. Surface plasmon resonance aptamer biosensor for discriminating pathogenic bacteria *Vibrio parahaemolyticus*[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2018, 18(3): 1599-1605.
- [24] CHEN L X, XU S F, LI J H. Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications[J]. *Chem Soc Rev*, 2011, 40(5): 2922-2942.
- [25] 成琛, 史楠, 姜霄震. 分子印迹光学生物传感器的研究进展 [J]. *高校化学工程学报*, 2020, 34(3): 572-581.
- [26] TORRINI F, PALLADINO P, BALDONESCHI V, et al. Sensitive 'two-steps' competitive assay for gonadotropin-releasing hormone detection via SPR biosensing and polynorepinephrine-based molecularly imprinted polymer[J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1161: 338481.
- [27] OSMAN B, UZUN L, BEŞİRLI N, et al. Microcontact imprinted surface plasmon resonance sensor for myoglobin detection[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2013, 33(7): 3609-3614.
- [28] ATAYNO, OSMANB, AKGOLS, et al. Preparation of molecularly imprinted SPR nanosensor for myoglobin detection[J]. *CurrApplPolymSci*, 2018, 2(2): 102-111.
- [29] ARCADIOF, ZENIL, PERRIC, et al. Bovine serum albumin protein detection by a removable SPR chip combined with a specific MIP receptor[J]. *Chemosensors*, 2021, 9(8): 218.
- [30] REBELOT S C R, COSTA R, BRANDÃO T S C, et al. Molecularly imprinted polymer SPE sensor for analysis of CA-125 on serum[J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1082: 126-135.
- [31] TÜRK MEND, BAKHSHPOUR, GÖKTÜRKI, et al. Selective dopamine detection by SPR sensor signal amplification using gold nanoparticles[J]. *New J Chem*, 2021, 45(39): 18296-18306.
- [32] CENNAMO N, D'AGOSTINO G, PERRI C, et al. Proof of concept for a quick and highly sensitive on-site detection of SARS-CoV-2 by plasmonic optical fibers and molecularly imprinted polymers[J]. *Sensors*, 2021, 21(5): 1681.
- [33] YANG H M, TEOH J Y, YIM G H, et al. Label-free analysis of multivalent protein binding using bioresponsive nanogels and surface plasmon resonance(SPR) [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(5): 5413-5419.
- [34] VACHALI P P, LI B X, BARTSCHI A, et al. Surface plasmon

- resonance (SPR) -based biosensor technology for the quantitative characterization of protein-carotenoid interactions[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2015, 572: 66-72.
- [35] ZHU Z L, QIU X D, WU S, et al. Blocking effect of demethylzeylasteral on the interaction between human ACE2 protein and SARS-CoV-2 RBD protein discovered using SPR technology[J]. *Molecules*, 2020, 26(1): 57.
- [36] ZENG S W, YU X, LAW W C, et al. Size dependence of Au NP-enhanced surface plasmon resonance based on differential phase measurement[J]. *SensActuat B Chem*, 2013, 176: 1128-1133.
- [37] PENG J J, LIU G K, YUAN D X, et al. A flow-batch manipulated Ag NPs based SPR sensor for colorimetric detection of copper ions (Cu²⁺) in water samples[J]. *Talanta*, 2017, 167: 310-316.
- [38] JANANI B, SYEDA, THOMAS M, et al. Enhanced SPR signals based on methylenediphosphonic acid functionalized Ag NPs for the detection of Hg (II) in the presence of an antioxidant glutathione[J]. *JMolLiq*, 2020, 311: 113281.
- [39] YUAN H Z, SUN G Y, PENG W, et al. Thymine-functionalized gold nanoparticles (Au NPs) for a highly sensitive fiber-optic surface plasmon resonance mercury ion nanosensor[J]. *Nanomaterials*, 2021, 11(2): 397.
- [40] DEYMEHKARE, ALITAHERM, KARAMIC, et al. Synthesis of SPR Nanosensor using Gold Nanoparticles and its Application to Copper(II) Determination[J]. *Silicon*, 2018, 10(4): 1329-1336.
- [41] MAURIZ E, GARCÍA-FERNÁNDEZ M C, LECHUGA L M. Towards the design of universal immunosurfaces for SPR-based assays: a review[J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2016, 79: 191-198.
- [收稿日期] 2023-09-07 [修回日期] 2024-06-21
[本文编辑] 李睿旻