评述与进展

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.01052

表面等离子体共振免疫传感器在蛋白质检测中的应用及其研究进展

徐 霞 叶尊忠 吴 坚 应义斌*
(浙江大学生物系统工程与食品科学学院,杭州 310029)

摘 要 表面等离子体共振(SPR)技术是 20世纪 90年代发展起来的一种新型技术,应用 SPR原理可检测生物传感芯片上配位体与分析物之间的相互作用情况,在生命科学、医疗检测、药物筛选、食品检测及环境监测等领域具有广泛的应用需求。SPR技术可与免疫传感器结合,利用抗原抗体的特异性反应可用于各种蛋白质抗原的检测。本文重点总结了 SPR免疫传感器在食品及医疗领域蛋白质检测的应用,综述了近年来 SPR免疫传感技术在这该领域的研究热点及进展。

关键词 表面等离子体共振; 免疫传感器; 光学生物传感器; 蛋白质; 综述

1 引 言

表面等离子体子共振(Surface plasmon resonance, SPR)是一种利用金属薄膜的光学耦合产生的物理光学现象。20世纪 60年代,Otto和 Kretschmann分别发明了用可见光激发表面等离子体的方法[1]。1982年,Nylander等[2]首次将 SPR技术用于免疫传感器领域;1983年,Liedberg等[3]成功地将 SPR用于 IgG蛋白与其抗原的反应测定。1990年,Biacore AB公司开发出了首台商品化 SPR仪器。SPR可用于进行实时分析,简单快捷地监测 DNA与蛋白质之间、蛋白质与蛋白质之间、药物与蛋白质之间、核酸与核酸之间、抗原与抗体之间、受体与配体之间等等生物分子之间的相互作用[4],在生命科学、医疗检测、药物筛选、食品检测及环境监测等领域具有广泛的应用需求。

一些化学、光学及免疫学手段已被用来检测蛋白质大分子,生物传感器因能快速检测基质中存在的一种特异性蛋白或多种蛋白而备受关注[5]。其中免疫传感器采用抗体作为生物识别元件,是目前蛋白质检测中最为重要同时也是应用最为广泛的生物传感器方法。SPR技术可与免疫传感器结合,对不同类型的蛋白质实现高灵敏度的实时检测。同时 SPR商业化仪器的可行性也使得这一技术得到了迅速的发展[6]。

2 SPR免疫传感技术

2.1 SPR免疫传感器原理

已报道的 SPR传感器多采用棱镜对作为光学平台,通常一个 SPR免疫传感器由几个重要组件构成:光源、检测器、换能表面(通常是金膜)、棱镜、生物分子(抗原或抗体),以及流通系统[7],目前使用最为广泛的是 Kretschmann型棱镜 SPR传感器,图 1为这种 SPR结构免疫传感器的原理示意图。光线从光密介质照射到光疏介质时,若入射角度在某一适当范围内,在两介质的界面处将发生全反射。此时,光疏介质中存在一定的倏逝波,其共振幅度随着渗入深度的变化呈指数衰减,并导致靠近样品处金属表面电子振荡,形成沿着样品与金属表面传播的倏逝波,也是一种表面等离子波(Surface plasmon wave, SPW)。当入射光以临界角入射到棱镜表面的金膜即两种不同折射率的介质界面时,倏逝波与金属表面

2009-12-17收稿;2010-03-12接受
本文系国家自然科学基金(No. 30825027)资助项目
* E-mail: yingyb@zju.edu.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的等离子波产生共振。可在反射光谱上出现反射强度最低值 (即共振峰),此时的入射光临界角即为 SPR共振角。如果与金属表面接触介质的折射率或被测物介电常数发生变化,共振峰的位置 (SPR共振角或共振波长)将发生改变,因此可获得被测物在界面上发生反应的信息[8]。

在等离子共振装置反应界面上修饰一层抗体分子,当抗原抗体识别后,金属薄膜表面介质的折射率发生改变。而 SPR共振角会随着折射率的改变而改变,折射率的变化又与结合在金属表面的生物大分子质量的变化成正比[9]。因此共振峰位移的大小将反映固定在金属表面生物分子量的变化,进而实现免疫分析。分辨率和检出限 (LOD)是判断 SPR传感器性能的关键指标。其中, SPR检测的物理量为折射率单位 RIU (Refractive index units)。

2.2　SPR免疫传感器检测方式和特点

SPR免疫传感器应用于抗原物质测定时主要有直接法、夹心法 (或"三明治"法)、抑制型以及竞争型这 4种检测方式,图 2即为这种测定方法的示意图。直接法中目标抗原直接与已固定的抗体结合,共振角的变化与目标分析物浓度呈正比,一般用于检测质量大于 10 kDa的生物大分子;夹心法中有两层抗体来固定抗原物质,提高了检出限和特异性,一般可用于检测具有多种抗原决定位点如蛋白质、细菌和病毒,及质量大于 5000 Da的大分子[10];小分子的目标分析物 (质量 <5000 Da)因无法引起足够的折射率变化,通常采用抑制型或竞争型的检测方式:抑制型方式中将已知浓度的抗体与目标分析物混合,并将混合液注射入固定有分析物的传感器表面,未复合的自由抗体可与之结合,反应信号与分析物浓度呈反比;竞争型方式利用偶联有大分子的分析物和原分析物与抗体的竞争结合,共振角的变化与分析物浓度成反比关系[8]。

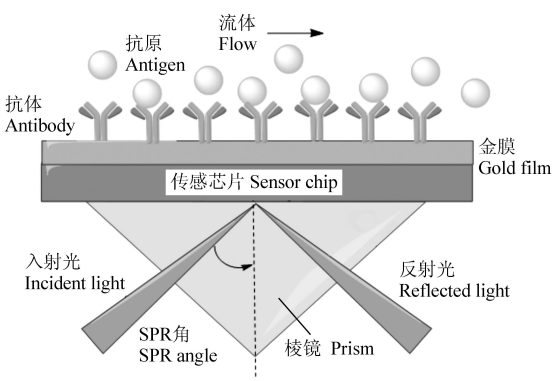

图 1　SRP免疫检测技术原理示意图[7]

Fig 1　Principle schematic of surface plasmon resonance (SPR) immunoassay techno-logy[7]

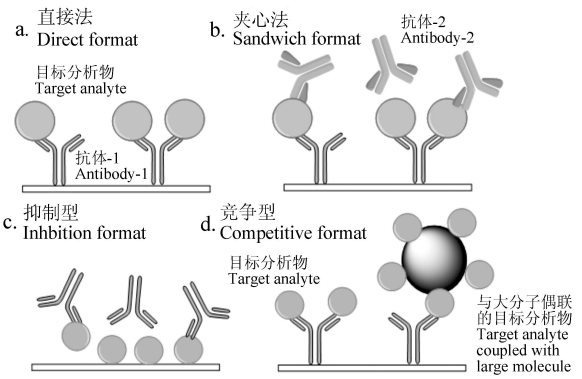

图 2　SRP免疫传感器主要检测方式示意图

Fig 2　Schematic of main detection formats in SPR immunosersor

基于 SPR免疫传感器的检测与其它传感技术相比具有如下优点[1,7~11]: (1)无需任何标记物,避免了标记物对于反应性能的影响或由于标记物存在而产生的假阳信号; (2)可采集在界面上连续、实时的生物分子反应信号,实现快速检测; (3)芯片再生可重复多次使用; (4)具有小型化和多点检测的可行性; (5)通过结合生物识别反应的特异性,可无差错检测避免临床诊断和危险爆炸物检测中的并发情况; (6)应用广泛,不需要对样品进行复杂预处理; (7)样品需要量少,灵敏度较高,商业化 SPR设备一般具备检测传感片表面吸附分析物 1 pg/mm^{2}的质量变化[10]; (8)能在浑浊甚至不透明的样品中进行检测。但是 SPR技术目前尚存在一些不足,其中最为突出的一点就是 SPR设备成本高。因此,提供比目前检测灵敏度更高且耐用的综合型 SPR生物传感器是分析化学家面临的挑战性课题[12]。

2.3　几种商业化 SPR仪器和设备

2.3.1　Biacore仪器　瑞典 Biacore公司 (目前属于美国 GE Healthcare公司)最早将 SPR技术商业化,并主导了 SPR相关设备市场[13]。Biacore提供了实时观察生物分子间相互作用的技术,可实时反映分子结合过程中每秒变化的情况,无需借助标记物进行分析。目前已有 Biacore1000, 2000, 3000, Biacore X和 Biacore Q等多个系列的产品[14]。Biacore芯片有很多种类,应用最广的是 CM5型,其金表面镀有

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

一层羧甲基化葡聚糖,带有化学基团如 —NH_2 ,— SH ,— CHO ,— OH ,— COOH 的生物分子可通过化学反应,以共价键偶联的方式与葡聚糖上的羧基偶联,从而使生物分子固定到传感片表面。Biacore微流体处理系统具有 4个通道的流动池,可分别检测独立的 SPR信号;流动池很小(60 nL),实际上消除了质量迁移的问题,因为分析物分子并不依赖于传感器表面的扩散过程,使动力学检测的时间缩短[13]。Biacore功能强大且性能稳定,但是该设备价格昂贵,仪器较笨重,操作复杂。

2.3.2 Texas Instruments仪器 TI(Texas Instruments)公司在小型化、便携式 SPR仪器市场占有很大的份额。该公司 Spreeta系列的 SPR小型设备可以做到与硬币一般大小的尺寸,而且操作简单,价格便宜,这为实际应用中现场实时检测提供了很大的方便[15]。

2.3.3 IBIS Technologies仪器 BIS(Instrument for Biomolecular Interaction Sensing) Technologies是一家致力于免标记分析以及利用阵列技术深入监测生物分子间相互作用的仪器公司。该公司开发了独特的免标记表面等离子体共振成像(Surface plasmon resonance imaging, SPRI)传感仪器,可实现高精度、高动态范围、多阵列的实时成像[16]。同时,BIS还开发了 Biacore芯片的适配器,为用户提供了更多的选择。

2.3.4 BI仪器 美国生物仪器传感公司(BI, Biosensing Instrument)采用独特的设计,研制的仪器具有高灵敏度检测多种分析物,在极宽的响应时间内研究不同速率的动力学反应,以及最大的多样性和灵活性等特点[17]。BI2000, BI3000等系列的 SPR设备结合了先进的流动注射技术,并与电化学检测技术联用,实现电化学 SPR分析。

3 蛋白质检测中的应用

3.1 食品分析

3.1.1 牛奶蛋白 SPR免疫传感器可以有效地鉴别掺假的牛奶。Haasnoot等[18]利用 Biacore 3000设备来检测牛奶中掺假的大豆、豌豆以及可溶性小麦蛋白等非牛奶低成本蛋白质。将与这 3种蛋白质来源相对应的多抗分别固定在不同流动通道上,溶解后的奶粉通过相应的通道时,与抗体对应的植物蛋白可直接被检测出来。总的运行时间加上芯片再生所耗只需 5 min,奶粉中植物蛋白占总牛奶蛋白含量的检出限低于 0.1%。但 Biacore设备运行成本高,不利于在食品领域广泛应用。Haasnoot等[19]进一步将便携式、成本较低的 Spreeta™型 SPR生物传感器与液体处理系统相结合,利用抑制型方式来检测混杂在羊奶中牛奶 κ酪蛋白以及奶粉中的牛凝乳酶乳清粉。结果显示,该方法测定牛奶的检出限可达到 0.17% (V/V)。

牛奶的营养集中体现在其主要成分酪蛋白的含量。Muller-Renaud等[20]利用 Biacore 3000对牛奶和奶酪中的 β酪蛋白进行定量分析,采用两种不同的多抗分别与 β酪蛋白两端的位点结合来进行捕捉。通过这种方法定量分析完整的 β酪蛋白,而非其降解的产物,其检出限可以达到 85 μg/L。也有研究采用同样方法将研究对象进一步扩展到牛奶中 3种主要的酪蛋白(α_{s1}, β, κ)。结果显示,该技术检测迅速而且灵敏度高,三者的检出限分别为 870, 85和 470 μg/L[21]。

出于对控制牛奶饮料品质以及热加工系统的需要,食品工业对于分辨经热加工处理的牛奶尤为感兴趣。由于原料奶中蛋白质的含量波动大,因此仅检测天然蛋白质加热后的含量而不知道其热加工前的浓度是极为不准确的。Dupont等[22]通过定量天然 α乳清蛋白和热加工变性后的含量来检测其变性指数。该指标与在原料牛奶中乳清蛋白的含量无关,因此能较好地分辨经热加工的牛奶。Indyk等[23]利用 Biacore Q SPR对牛奶中的免疫球蛋白 G(IgG)、叶酸结合蛋白[24]、铁乳蛋白[25]以及过氧化氢酶含量进行检测。同时还将该方法应用于消费奶、乳、奶制品、婴儿配方样品的检测,以及它们随着时间的变化。

3.1.2 毒素蛋白 金黄色葡萄球菌肠毒素 B(Staphylococcal enterotixn B, SEB)是金黄色葡萄球菌分泌的一种可溶性蛋白质。Homola等[26]利用波导调制型 SPR免疫传感器检测牛奶中的 SEB蛋白。研究中采用了双通道的 SPR传感器装置,同时利用直接和夹心检测法来捕捉抗原。其中,直接法的检出限为 5 μg/L;采用夹心法在缓冲体系和牛奶中检出限均可达到 0.5 μg/L,明显低于常规免疫学检测方法,如 ELISA和 Western印迹法。Naimushin等[27]利用双通道的 Spreeta™小型 SPR设备来检测不同样品中的 SEB毒素蛋白,直接法检测海水样本检出限可达 28 μg/L,而利用夹心法放大信号检测缓冲液中分析物

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

检出限为 0.6 μg/L。也有报道利用小型的光纤 SPR传感器检测 SEB毒素蛋白,该方法可在 10 min内快速检测浓度为 μg/L数量级的分析物[28]。可见利用 SPR免疫传感器检测 SEB毒素蛋白的结果优越,采用夹心法时检出限较低。

3.1.3 食品过敏原 食品过敏原是指那些能对特定人群产生免疫反应或过敏反应的食品中的蛋白质。其中,花生是最普遍的一种食品过敏原,能引起严重的过敏反应,在美国每年可导致超过 100人死亡。Mohammed等[29]利用 Spreeta™设备在缓冲体系中检测此种花生过敏原蛋白,检出限为 700 μg/L,证实 SPR免疫技术在在线快速检测方面的潜力。Yman等[30]利用 Biacore Q SPR以及亲和纯化后的抗体通过夹心法检测鸡蛋白、伴清蛋白、芝麻种子蛋白、花生蛋白、榛仁球蛋白及蟹肉。其中,巧克力中花生蛋白经稀释 10倍后可检出 1 μg/g,伴清蛋白检出限为 0.3 μg/g,芝麻种子蛋白则为 12.5 μg/g。另外,海产品也是一种比较常见的食品过敏原。Lu等[31]将沙丁鱼和鲣鱼干的提取物稀释液为样本,SPR免疫传感器对白蛋白的检出限为 0.11和 0.39 mg/kg。Bremer等[32]利用 Biacore 3000 SPR设备,研究证实此项 SPR免疫技术可追溯级别特异性和定量检测食品过敏原蛋白,其中橄榄油中榛子蛋白的检出限可低至 0.08 μg/g,该结果可与最为灵敏的 ELISA方法相比较或者更优。此技术由于具备适合在线分析的高度自动化,检测迅速,耗费少,在今后的食品安全领域将发挥重要作用。

3.2 医疗检测

SPR免疫传感器在临床诊断及药物筛选领域已成功用于多种癌症标记蛋白、病毒抗体蛋白、药物性抗体、药物蛋白以及分子生物标记物的检测[8]。其中,人体 IgG蛋白的研究开始最早,发展也最为成熟。有报道显示,人体 IgG蛋白可在 0.005～10 mg/L的范围内被检测到[33]。

3.2.1 标记蛋白 临床诊断领域中不少蛋白可用来判断和标记特殊的疾病,因此发展快速高特异性的标记蛋白检测技术成为趋势。C反应蛋白是炎症过程时人血清重要的制造者,目前最多的是利用高灵敏度的 ELISA装置检测。但是 ELISA方法容易受到基质及组成颜色的影响,Keusgen等[34]研究建立了基于 SPR免疫传感器的 C反应蛋白检测方法,采用生物素 链亲和素的夹心法装置,对于样品颜色、来源以及基质无限制。心肌肌钙蛋白 T(TnT)是心肌损伤的高特异性和高灵敏度的标志物。Dutra等[35]利用 SPR免疫传感器来实时快速检测人体的该种蛋白。SPR免疫传感器采用链亲和素自组装膜的方法偶联修饰有亲和素的抗肌钙蛋白 T的抗体,随后通过直接法在连续样本溶液中检测该蛋白,其检出限可达到 0.01 μg/L。α甲胎蛋白 (AFP)是最为主要的肝癌标志物,正常人血浆中 AFP蛋白含量仅为 20 μg/L,但是疾病爆发时可达到 700 μg/L。Teramura等[36]利用自制的 SPR免疫设备来检测人体血浆中的 AFP蛋白,采用了自组装膜修饰抗体,利用夹心法来进一步放大信号,检测具有高信噪比,检出限可达到 μg/L水平。

Sun等[37]在 SPR免疫传感器中将抗体和微米磁珠的偶联物固定到金膜上,将磁珠用作固体支持物来检测热休克蛋白 70(Hsp 70)。热休克蛋白也称为应激蛋白,在生物医学领域具有重要作用。此研究相比于传统方法,抗体和金膜间并没有共价连接,有利于芯片的再生和重复使用。在临床上,铁蛋白对缺铁性贫血、多种肿瘤的诊断以及自源性输血具有重要作用。崔小强等[38]应用表面等离子体共振技术在传质控制下对铁蛋白进行了检测,采用结合速率分析法对不同浓度的铁蛋白进行了灵敏检测,其线性范围为 20～800 g/L,显著宽于"三明治"分析法,检出限为 20 μg/L。变异的朊蛋白具有传染性,能引起中枢神经系统变性疾病。Wan等[39]利用 Biacore 3000检测不同基质中发生结构变异的朊蛋白,仅需 1 h,在血清和缓冲体系中的检出限分别为 31.7和 13.1 μg/L。

3.2.2 抗体蛋白 抗体是许多人体感染疾病或健康失调的重要标志,如病毒抗体、药物性抗体等。SPR免疫传感器已被用来检测多种抗病毒病原体的特异性抗体,其中包括肝炎病毒 (hHBV)抗体、EB病毒核抗原 (EBNA)抗体、病毒 S蛋白抗体、疱疹病毒 (HSV)抗体、呼吸道合胞病毒 (RSV)抗体等[8]。此外,Kim等[40]利用结合有蛋白质阵列技术的光谱 SPR实现了人体血清中抗腮腺炎病毒特异性抗体的高通量分析。该项技术不仅简单快速、无标记,也是首次将基于阵列的 SPR传感器应用于病毒感染疾病的诊断。

临床诊断过程中药物性抗体的检测也具有重要意义,如胰岛素抗体会导致胰岛素抗性或糖尿病患

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

者低血糖,而人体生长激素(HGH)抗体会抵消循环的 HGH,抑制 HGH的治疗效果。Kausaite-Minkstimiene等[41]通过自组装膜将 HGH固定在芯片表面,利用双通道 SPR分析仪"Autolab ESPR IT"来检测 HGH抗体,其检出限为 2.47 nmol/L。

3.2.3 药物蛋白 药物筛选过程中可以利用 SPR免疫技术进行药物蛋白的测定。槲寄生凝集素 I(ML-I)蛋白被认为是槲寄生提取物中最有价值的物质,目前广泛应用于癌症的治疗。Tao等[42]利用 Plasmonic SPR设备来检测缓冲液、血清以及注射药品中的 ML-Ⅰ。研究采用了夹心装置,选择连接有烷基矽烷的芯片,结果在血清样本中 ML-Ⅰ的检出限为 1.5 mg/L。这种新型技术不需要任何实验室样本预处理过程,耗费的时间较少,可用于制药领域中药品的质量控制。Wang等[43]利用 Biacore 3000和 CM5芯片对 CTLA-4融合蛋白进行免疫测试,检出限可达 125 μg/L,该技术被证实可用于药物蛋白的生物学定量检测以及质量控制。

4 SPR研究热点与展望

4.1 芯片反应界面设计

SPR免疫传感器的成功依赖于生物材料界面的数量和质量,因为它决定了传感器的性能如特异性、灵敏度、重复性、稳定性以及对非特异性吸附的抑制。该技术有可能发展成为复杂、独立和高通量的免疫检测方法[44]。大量针对不同分析物的固定技术在免疫传感器中使用,但是并没有一种适用于所有情况的最佳固定方法。目前最为常见的固定方法是共价结合,包括羧甲基葡聚糖、自组装、链霉素-亲和素和蛋白 A或 G等固定技术[45]。近年来研究重点包括固定方法的优化,抑制非特异性吸附或是发展更高效的固定方式。如针对谷氨酸脱羧酶(GAD)抗体,Choi等[46]研究了不同的羟基和羧基末端的自组装膜方法中,链亲和素及生物素偶联的 GAD的固定率和免疫反应灵敏度;也有研究在 SPR免疫传感器的构建过程中采用定向固定的自组装膜来检测 SEB毒素蛋白,与传统随机的固定方法相比,抗原的结合效率提高了 50%[47]。另外,通过化学、电化学或光聚合方式将偶联有理想官能团的聚合体膜沉积在底物表面对研究者具有吸引力。Hu等[48]应用吡咯-吡咯丙酸的聚合体膜来直接固定蛋白质,SPR技术被用来在线监测电聚合过程以及控制聚合体膜的厚度,山羊的免疫球蛋白作为建模所用的蛋白,该种固定方法的最大固定能力比传统自组装方法提高了 60%。研究表明,额外物质连接到已经吸附的分析物上可以很大程度地放大折射率的变化值,主要是一些纳米颗粒如金属胶体颗粒、胶乳、染色聚合体颗粒或者是催化物。而近年来很多 SPR免疫传感器的研究采用了金纳米颗粒[49~51],还有金属半导体复合物[52]等来提高检测灵敏度。但此种方法本质上将 SPR免标记的优点转化成需要标记的技术,另外标记物可能会影响动力反应速率以及平衡结合事件。因此,纳米技术在 SPR免疫传感器中的应用趋势是发展能嵌入纳米颗粒的传感基质和表面。

4.2 联用技术

SPR也可通过与其它技术联用的方式来扩展分析和应用的范围。如与电化学方法的联用即 EC-SPR,与质谱的联用(BIA/MS)[53]。其中,EC-SPR技术近年来发展迅速,目前已有商业化的产品。Kurita等[54]开发了一种电化学表面等离子体共振流动池用来同时测量具有双功能的生物分子的结合亲和性以及催化活性。有研究利用 EC-SPR方法来在线监测聚合体膜形成,探针固定,抗原抗体结合反应以及蛋白质免疫一系列的过程。这种 EC-SPR方法在临床诊断和药物方面具有应用潜力[55]。

4.3 高分辨率/高通量检测

SPR传感器目前很重要的研究趋势是发展高分辨率、高通量的检测。改进传感器的光学分辨率主要是发展长程表面等离子体(Long-range surface plasmon)。目前,最佳的 SPR传感器设备一般配备多个检测通道,反射指数分辨率在 10^{-7} RIU左右,但是有报道利用基于长程等离子体波的波导光谱 SPR传感器的分辨率可以达到 2.5×10^{-8} RIU[56]。然而该技术一般只能用于大分子分析物目标或者是将生物识别元件固定在扩展的偶联基质中。目前拥有大量传感通道可实现高通量检测的 SPR传感器一般都是利用表面等离子体成像(SPRI)技术。该技术利用 CCD摄像机采集样品表面图像信息,根据入射光和表面等离子体间的反射光强度值与金属膜表面折射系数相联系的原理进行检测。通过传感芯片表面

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

极细的流动通道, SPR i技术可以高通量、集成、无标记检测蛋白质[57],此外还具有灵敏度高、成本低、可便携式等优点[58]。

4.4 局域表面等离子体共振技术

Ag, Au, Cu等金属的纳米颗粒具有非同寻常的光学特性,近年来被广泛用于激发局域表面等离子体共振 (Localized surface plasmon resonance, LSPR),即电子与电磁波作用发生共振后可在紫外-可见光波段产生特征吸收带[59]。该特征光谱除了可以用来表征不同类型材料外,同时也能进一步反应纳米结构的尺寸、分布和形状信息。经研究基于 LSPR与 SPR的生物传感器具有相似的灵敏度,但 LSRP光谱的采集在便携式仪器的开发方面更具前景,此外 LSPR光谱系统的成本仅为商业化 SPR设备的 1/30[59]。由此, LSPR技术的研究为解决 SPR技术设备成本高问题提供了可能。目前相关报道既有关于纳米结构界面及装置的研究[60],也有基于 LSPR生物传感器在检测领域的应用,如用于牛奶酪蛋白[61]、金属 Pb[62]、SEB蛋白[59]、抗原抗体反应[63]等检测。同时随着纳米技术的发展,研究者们开始研究纳米颗粒结构形状依赖效应对于偏振和吸收特性的影响,这有可能用来开发可同时检测多种分析物的 SPR方法[12]。

4.5 展望

由于无需标记、可实时快速检测的优点, SPR光学免疫传感器在蛋白质检测领域具有广泛的应用前景,特别是在小型化、便携式仪器的开发上具有优势。但是与常规 SPR技术相比, SPR免疫传感技术在降低检测成本,提高生物样本检测性能及实现高通量复合型检测等方面仍具有很大的改进空间。因此今后将继续在硬件开发、生物特异性结合以及 SPRi、LSPR等新型技术方面深入研究。此外,今后的发展也将进一步开发基于新型特异性结合表面,能有效抑制非特异性吸附的先进的光学传感平台,提高免疫传感器工作性能,实现目标蛋白质大分子在复杂样品中的高灵敏度、高特异性快速检测。

References

1 Homola J. *Surface Plasmon Resonance Based Sensors*. Berlin Heidelberg: Springer, **2006**: 3～44
2 Nylander C, Liedberg B, Lind T. *Sensors and Actuators B*, **1982**, 3: 79～88
3 Liedberg B, Nylander C, Lundstrom I. *Sensors and Actuators B*, **1983**, 4: 299～304
4 Leca-Bouvier B, Blum L J. *Anal Lett*, **2005**, 38(10): 1491～1517
5 YU Ping (于 萍), CUI Xiao-Qiang (崔小强), YANG Fan (杨 帆), LI Ju-Nan (黎拒难), YANG Xiu-Rong (杨秀荣). *Chinese J. Anal Chem.* (分析化学), **2005**, 33(4): 575～579
6 Schubert-Ullrich P; Rudolf J, Ansari P; Galler B, Fuhrer M, Molinelli A, Baumgartner S. *Anal Bioanal Chem.*, **2009**, 395(1): 69～81
7 Shankaran D R, Gobi K V, Miura N. *Sensors and Actuators B*, **2007**, 121(1): 158～177
8 Homola J. *Chem. Rev.*, **2008**, 108(2): 462～493
9 Homola J. *Anal Bioanal Chem.*, **2003**, 377(3): 528～539
10 Petz M. *Monatshefte Fur Chemie*, **2009**, 140(8): 953-964
11 Homola J, Yee S S, Gauglitz G. *Sensors and Actuators B*, **1999**, 54(1～2): 3～5
12 Hoa X D, Kirk A G, Tabrizian M. *Biosens Bioelectron.*, **2007**, 23(2): 151～160
13 Mullett W M, Lai E P C, Yeung J M. *Methods*, **2000**, 22(1): 77～91
14 WWW URL for Biacore, http://www.biacore.com/lifesciences/index.html
15 WWW URL for Texas Instruments, http://www.ti.com
16 WWW URL for IBIS Technologies, http://www.ibis-spr.nl/index.html
17 WWW URL for Biosensing Instrument, http://www.biosensingusa.com/index.html
18 Haasnoot W, Olieman K, Cazemier G, Verheijen R. *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49(11): 5201～5206
19 Haasnoot W, Marchesini G R, Koopal K. *J. AOAC Int*, **2006**, 89(3): 849～855
20 Muller-Renaud S, Dupont D, Dulieu P. *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52(4): 659～664
21 Dupont D, Muller-Renaud S. *J. AOAC Int*, **2006**, 89(3): 843～848
22 Dupont D, Dulieu P. *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52(4): 659～664
23 Indyk H E, Filonzi E L, Gapper L W. *J. AOAC Int*, **2006**, 89(3): 898～902

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

24 Indyk H E, Filonzi E L. *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52(11): 3253～3258

25 Indyk H E, Filonzi E L. *International Dairy Journal*, **2005**, 15(5): 429～438

26 Homola J, Dostalek J, Chen S, Rasooly A, Jiang S, Yee S S. *Int. J. Food Microbiol.*, **2002**, 75(1～2): 61～69

27 Naimushin A N, Soelberg S D, Nguyen D K, Dunlap L, Bartholomew D, Elkind J, Melendez J, Furlong C E. *Biosens. Bioelectron.*, **2002**, 17(6～7): 573～584

28 Slavik R, Homola J, Brynda E. *Biosens. Bioelectron.*, **2002**, 17(6～7): 591～595

29 Mohammed I, Mullett W M, Lai E P C, Yeung J M. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 444(1): 97～102

30 Yman I M, Eriksson A, Johansson M A, Hellenas K E. *J. AOAC Int.*, **2006**, 89(3): 856～861

31 Lu Y, Oshima, T. Ushio H. *J. Food Sci.*, **2004**, 69(8): C652～C658

32 Bremer M, Smits N G E, Haasnoot W. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2009**, 395(1): 119～126

33 Pei R J, Yang X R, Wang E K. *Analyst*, **2001**, 126(1): 4～6

34 Keusgen M, Meyer M H F, Hartmann M. *Biosens. Bioelectron.*, **2006**, 21(10): 1987～1990

35 Dutra R F, Kubota L T. *Clin. Chim. Acta*, **2007**, 376(1～2): 114～120

36 Teramura Y, Iwata H. *Anal. Biochem.*, **2007**, 365(2): 201～207

37 Sun Y, Bai Y P, Song D Q, Li X Z, Wang U, Zhang H Q. *Biosens. Bioelectron.*, **2007**, 23(4): 473～478

38 CUI Xiao-Qiang(崔小强), SHA Yu-Fang(沙宇芳), YANG Fan(杨 帆). YU Ping(于 萍), LI Ju-Nan(黎拒难), Yang Xiu-Rong(杨秀荣). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2005**, 33(11): 1639～1642

39 Wan J Y, Wang X, Li J P, Liu W S, Xu M, Liu L N, Xu J, Wang H Y, Gao H W. *Arch. Virol.*, **2009**, 154(12): 1901～1908

40 Kim H S, Jung S H, Kim S H, Suh I B, Kim W J, Jung J W, Yuk J S, Kim Y M, Ha K S. *Proteomics*, **2006**, 6(24): 6426～6432

41 Kausaite-Minkstimiene A, Ramanaviciene A, Ramanavicius A. *Analyst*, **2009**, 134(10): 2051～2057

42 Tao L, Barlen B, Mazumdar S D, Zhao F S, Keusgen M. *Sensors and Actuators B*, **2009**, 141(1): 192～199

43 Wang H, Shi J, Wang Y C, Cai K, Wang Q, Hou X J, Guo W, Zhang F. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2009**, 50(5): 1026～1029

44 Gutierrez-Gallego R, Bosch J, Such-Sanmartin G, Segura J. *Growth Hormone & IGF Res.*, **2009**, 19(4): 388～398

45 Shankaran D R, Miura N. *J. Phys. D*, **2007**, 40(23): 7187～7200

46 Choi S H, Lee J W, Sim S J. *Biosens. Bioelectron.*, **2005**, 21(2): 378～383

47 Tsai W C, Pai P J R. *Microchim. Acta*, **2009**, 166(1～2): 115～122

48 Hu W, Li C M, Dong H. *Anal. Chim. Acta*, **2008**, 630(1): 67～74

49 Yuan J, Oliver R, Li J, Lee J, Aguilar M, Wu Y. *Biosens. Bioelectron.*, **2007**, 23(1): 144～148

50 Choi J W, Kang D Y, Jang Y H, Kim H H, Min J, Oh B K. *Colloids Surf. A*, **2008**, 313～314: 655～659

51 Ko S, Park T J, Kim H S, Kim J H, Cho Y J. *Biosens. Bioelectron.*, **2009**, 24(8): 2592～2597

52 Wang L, Wang J, Zhang S, Sun Y, Zhu X, Cao Y, Wang X, Zhang H, Song D. *Anal. Chim. Acta*, **2009**, 653(1): 109～115

53 Nedelkov D, Nelson R W. *Appl. Environ. Microbiol.*, **2003**, 69(9): 5212～5215

54 Kurita R, Yokota Y, Ueda A, Niwa O. *Anal. Chem.*, **2007**, 79(24): 9572～9576

55 Dong H, Cao X D, Li C M, Hu W H. *Biosens. Bioelectron.*, **2008**, 23: 1055～1062

56 Slavik R, Homola J. *Sensors and Actuators B*, **2007**, 123(1): 10～12

57 Ly N, Foley K, Tao N J. *Anal. Chem.*, **2007**, 79(6): 2546～2551

58 Paul S, Vadgama P, Ray A K. *IET Nanobiotechnol.*, **2009**, 3(3): 71～80

59 Zhu S L, Du C L, Fu Y Q. *Opt. Mater.*, **2009**, 31(11): 1608～1613

60 Galopin E, Noual A, Niedziolka-Jonsson J, Jonsson-Nedziolka M, Akjouj A, Pennec Y, Djafari-Rouhani B, Boukherroub R, Szunerits S. *J. Phys. Chem.*, C **2009**, 113(36): 15921～15927

61 Ha Minh H, Endo T, Kerman K, Chikae M, kim D K, Yamamura S, Takamura Y, Tamiya E. *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **2007**, 8(4): 331～338

62 Gao S Y, Koshizaki N, Koyama E, Tokuhisa H, Sasaki T, Kim J K, Cho Y S, Kim D S, Shimizu Y. *Anal. Chem.*, **2009**, 81(18): 7703～7712

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

63 Huang C J, Bonroy, K, Reekman G, Verstreken K, Lagae L, Borghs G. *Microelectron. Eng.*, **2009**, 86(12): 2437～2441

Application and Research Development of Surface Plasmon Resonance-based Immunosensors for Protein Detection

XU Xia, YE Zun-Zhong, WU Jian, YING Yi-Bin*

(*College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou* 310029)

Abstract Surface plasmon resonance (SPR) technology, which was initially developed as a novel detection strategy in the 1990s, can be applied for monitoring of interaction between ligand and analyte on a sensor chip. Thus it has been largely demanded in the field of life science, medical testing, drug screening, food and environmental monitoring and so on. As well known, the determination of protein concentration is of particular interest. Combination of SPR technology and immunoassay has been used for protein detection, with specific reaction of antigen and antibody. Applications of protein SPR immunosensors were summarized in this review, including food analysis and clinical diagnosis. Meanwhile the authors also tried to review recent popular studies and their progress in this field.

Keywords Surface plasmon resonance; Immunosensor; Optical biosensor; Protein; Review

(Received 17 December 2009; accepted 12 March 2010)

第四届上海国际分析化学研讨会(征文通知)

4th Shanghai International Symposium on Analytical Chemistry (AnalyticaChina 2008)

2010年 9月 15 - 17日 ·上海浦东

由中国化学会和德国慕尼黑国际博览集团联合主办的第四届上海国际分析化学研讨会定于 2010年 9月 15 - 17日在上海浦东新国际展览中心与慕尼黑上海分析生化展同时举行。会议设 6个分组:

Session 1 Analytical Quality Assurance and Certification;
Session 2 Environmental Analysis;
Session 3 Proteomics/Metabonomics Lab Strategy and Organization;
Session 4 Seperation Sciences/Mass Spectrometry;
Session 5 Electroanalysis/Sensors;
Session 6 Analysis of Food/Pharmaceuticals and TCM.

会议主席为中国化学会分析化学学科委员会主任汪尔康院士;中国化学会色谱专业委员会主任张玉奎院士。德国 Technische Universitat Munchen的 Antonius Kettrup教授。

会议将设邀请报告、分组报告、墙报展讲等形式。欢迎全国各地分析化学工作者递交论文。论文将出版摘要集,不妨碍在其他正式刊物上发表。

征文要求:凡应征论文应提供报名回执、本单位允许发表的推荐信、报告英文(或中文)摘要一份,不超过 A4纸 2页。摘要的版芯规格为 245 ×165 mm。凡提供中文摘要者请加英文文题、作者、单位、地址及提要,图、表和照片的题目及说明请用英文。应征者必须直接通过中国化学会网站(http://www.ccs.ac.cn)报名并上传论文摘要,并同时用 E-mail的附件发到秘书处。文章应为未正式发表的稿件。

论文截止日期为 7月 31日,无论文报名截止日期为 8月 20日。正式代表注册费 900元;中国化学会会员代表注册费 800元。论文截止日期为 7月 31日,无论文报名截止日期为 8月 20日。正式代表注册费 900元;中国化学会会员代表注册费 800元。请在报名同时寄交中国化学会秘书处:北京 2709信箱(100190)。或从银行汇至:北京银行中关村支行中国化学会收,账号:900120105010704,请务必注明 AnalyticaChina 2010及单位、姓名。有关会议的信息请注意会议网页: http://www.ccs.ac.cn

会议联系人:张 灿 E-mail: zcc@iccas.ac.cn电话: 010 - 62568157

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net