

基于局域表面等离子体共振的诊疗一体化光纤生物传感器研究

孔新毓¹, 罗泽伟^{*2}, 申纪伟^{*1}, 段忆翔²

(1.西北大学 化学与材料科学学院 合成与天然功能分子化学教育部重点实验室, 陕西西安 710069; 2.四川大学 机械工程学院 分析仪器研究中心, 四川 成都 610000)

摘要: 循环肿瘤细胞 (CTCs) 是一类特殊的癌细胞亚群, 其在血液系统中的浓度与肿瘤的发生和发展密切相关, 被视为新兴的癌症标志物。目前常见的 ctc 细胞的监测方法主要存在的问题有检测过程的复杂性, 检测过程耗时等, 而基于光纤的 LSPR (局域表面等离子体共振) 传感器通常可以进行无标记检测, LSPR 传感器也可以进行定量分析, 通过测量信号强度预估目标物质浓度。基于此我们提出了将聚多巴胺, 纳米金和课题组独创的 Ω 型光纤结合的工作来提高光纤传感器的灵敏度。多巴胺(DA)受到贻贝作用, 可以直接在各种材料表面自聚合, 形成黏附聚多巴胺(PDA)涂层, 可作为二次表面介导反应的化学活性功能层, 因为 PDA 的氨基和亚氨基与带负电荷的金纳米颗粒之间的静电相互作用, 金纳米可以均匀快速的吸附在 PDA 表面。通过 PDA 与金纳米的作用, 实现吸收峰的位移, 良好的折光度灵敏度, 除此之外, 将 dna 加载到多巴胺表面, 通过与癌细胞膜表面受体的作用捕捉细胞, 实现传感功能和光热治疗功能。

关键字: 光纤, LSPR, 光热治疗, 聚多巴胺, 纳米金

The localized surface plasmonic resonance-based fiber optic biosensor for integration with diagnosis and treatment

Xinyu Kong¹, Zewei Luo^{*2}, Jiwei Shen^{*2}, Yixiang Duan¹

(1 Research Center of Analytical Instrumentation, Key Laboratory of Synthetic and Natural Functional Molecule Chemistry of Ministry of Education, College of Chemistry & Materials Science, Northwest University, Xi'an, 710069 Shaanxi, P.R.China; 2 Research Center of Analytical Instrumentation, School of Mechanical Engineering, Sichuan University, Chengdu, 610064 Sichuan, P.R.China.)

Abstract : Circulating tumor cells (CTCs) are a special subgroup of cancer cells, whose concentration in the blood system is closely related to the occurrence and development of tumors, and are regarded as emerging cancer markers. At present, common ctc cell monitoring methods mainly have problems such as the complexity of the detection process, the time-consuming

detection process, and the fiber-based LSPR (localized surface plasmon resonance) sensor can usually carry out unmarked detection, and the LSPR sensor can also carry out quantitative analysis and estimate the concentration of the target substance by measuring the signal strength. Based on this, we propose the combination of polydopamine, nano-gold and the original Ω optical fiber of our research group to improve the sensitivity of optical fiber sensor. Dopamine (DA) can be self-polymerized directly on the surface of various materials under the action of mussels to form adhesive polydopamine (PDA) coating, which can be used as the chemically active functional layer of secondary surface-mediated reaction. Due to the electrostatic interaction between the amino and imino groups of the PDA and negatively charged gold nanoparticles, the gold nanoparticles can be uniformly and rapidly adsorbed on the surface of the PDA. Through the action of PDA and gold nanoparticles, the absorption peak is shifted and the refractive sensitivity is good. In addition, the dna is loaded to the surface of dopamine, and the cells are captured through the interaction with the receptor on the surface of the cancer cell membrane to realize the sensing function and photothermal therapy function.

Keywords: optical fiber, localized surface plasmon resonance, PDT, gold nanoparticles, polydopamine

1 研究背景

循环肿瘤细胞 (circulating tumor cells, CTC) 是肿瘤发生远处转移的关键环节, 也是肿瘤液体活检的主要材料之一, 在肿瘤患者的预后判断、疗效预测、疗效评价以及复发转移和耐药机制的研究中都具有重要的临床意义。然而, 由于 CTC 的稀有性、异质性以及转移过程的复杂性等原因, CTC 检测[1]的临床应用仍然面临诸多挑战, 需要采取行之有效的应对策略予以解决。常见的 ctc 细胞的监测方法主要是微流控法、微过滤器法、磁珠法等技术, 存在的问题有检测过程的复杂性, 检测过程耗时等, 而基于光纤的 LSPR [2] (局域表面等离子体共振) 传感器通常可以进行无标记检测, LSPR 传感器也可以进行定量分析, 通过测量信号强度预估目标物质浓度。多巴胺(DA)受到贻贝作用, 可以直接在各种材料表面自聚合[3], 形成黏附聚多巴胺(PDA)涂层, 可作为二次表面介导反应的化学活性功能层, 因为 PDA 的氨基和亚氨基与带负电荷的金纳米颗粒之间的静电相互作用, 金纳米可以均匀快速的吸附在 PDA 表面。为了与 808 激光实现更好的共振耦合, 我们提出了多巴

胺-纳米金-多巴胺的三层结构，随着反应进行，当最后一层多巴胺修饰时，由于材料之间的相互作用，出现了 750-800 处明显的吸收峰。通过 PDA 与金纳米的作用，实现吸收峰的位移，良好的折光度灵敏度，除此之外，将 dna 加载到多巴胺表面，通过与癌细胞膜表面受体的作用捕捉细胞[4]，实现传感功能和光热治疗功能。

本文构建了一个改进的 DNA 逻辑门分子机器用于癌细胞分类，如图 1 所示。包含 LCHA 和 APE 1 辅助回路的四个受限 DNA 回路通过生物素-链霉亲和素反应组装于链霉亲和素 (SA) 蛋白上，用于 DNA 逻辑门分子机器。引入错配抑制 APE 1 辅助电路中的泄漏，并系统研究了初始和渐近泄漏的相应机理。DNA 逻辑门分子机器对 AND 逻辑门的 miRNA-21 (miR-21) 和 APE 1 双输入具有高度灵敏的响应。miR-21 触发 LCHA 加速 DNA 分子中 H1 和 H2 杂交，此时 FAM 远离淬灭基团，而 TAMRA 在 H2 中仍接近淬灭基团，这导致了 FAM 荧光 (FLFAM) 是的唯一输出信号。然后，APE 1 从包含 AP 位点的双链结构切割，其中 TAMRA 标记的片段远离淬灭基团，输出另一个 TAMRA 荧光 (FLTAMRA) 信号。由于高局部浓度，miRNA-21 和 APE 1 都可以继续与 SA 中的其他受限 DNA 电路反应，以产生双输出的高荧光信号。我们还将 DNA 逻辑门分子机器用于七种癌细胞的荧光共聚焦成像。从大量细胞中收集多维数据，通过 PCA 和随机森林多变量统计分析进行处理，从而对七种癌细胞进行准确分类。该平台的成功构建将显著提升肿瘤精准诊断和个性化医疗能力。

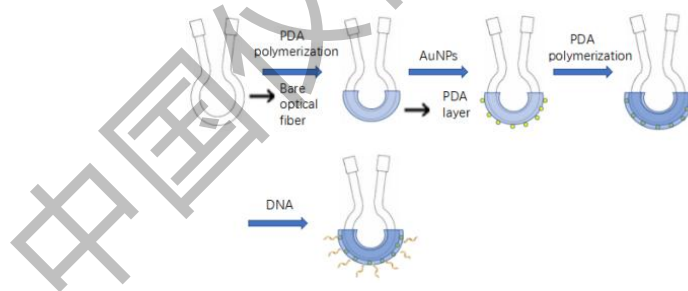


图 1 实验原理图

2 研究内容

1) 材料表征 通过 SEM 确定聚多巴胺-纳米金-聚多巴胺三层纳米结构

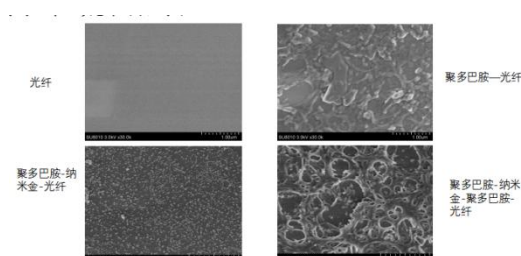


图2 光纤表面材料标准

2) 光热效应和折射率灵敏度。如图3所示, 通过将制备好的光纤浸入到不同浓度蔗糖溶液中, 测量最大吸收峰来确定折射率灵敏度。将制备好的光纤与808激光连接, 通过红外成像确定光热温度。如图3所示, 光纤具有很强的光热效应和很高的折射率灵敏度。

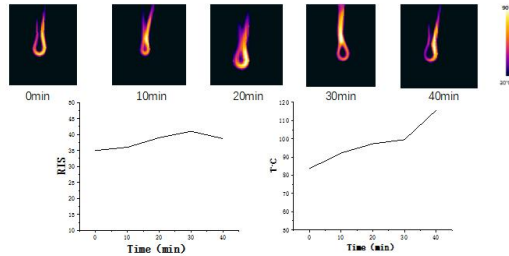


图3 光纤光热效应和折射率灵敏。

3) CTCs 传感。表面修饰有 DNA 识别分子 aptamer 的光纤探针信号有升高, 而未修饰 DNA 的光纤信号没有变化。说明光纤探针能特异性捕获细胞, 可用于开发细胞传感器。

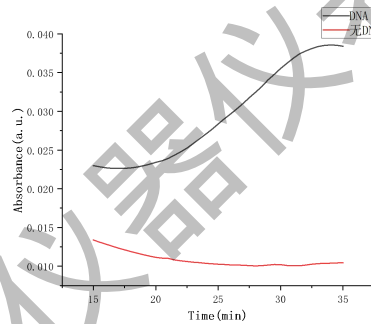


图4 光纤捕获细胞。

参考文献

- [1] Ye Q.,Ling S.,Zheng S., et al. Liquid biopsy in hepatocellular carcinoma: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 114
- [2] Xiao P.,Lv X.,Wang S., et al. An aptamer-based trypsin reactor for on-line protein digestion with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Anal Biochem, 2013, 441(2): 123-32
- [3] Ryu J. H.,Messersmith P. B.,Lee H. Polydopamine Surface Chemistry: A Decade of Discovery[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2018, 10(9): 7523-7540
- [4] Zhou Y.,Zhou J.,Wang F., et al. Polydopamine-based functional composite particles for tumor

cell targeting and dual-mode cellular imaging[J]. Talanta, 2018, 181: 248-257

中国仪器仪表表学会