
基于表面等离子共振显微镜的无标记单分子光学成像

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/11175.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

基于表面等离子共振显微镜的无标记单分子光学成像。单分子光学成像可以分析单个分子的形态和功能，因此其不但可以提供多个分子的统计平均信息，还可以提供传统生物传感器无法提供的单分子个体差异信息，让我们可以更细致地观测和了解分子的性质和功能。

2020年9月21日，亚利桑那州立大学生物设计研究院生物电子与生物传感研究中心的陶农建（Nongjian NJ Tao）和王少鹏（Shaopeng Wang）教授的研究小组在Nature Method发表了一种可以无标记检测单个蛋白分子的新型光学显微成像系统。论文的第一作者是张鹏飞（Pengfei Zhang）博士后研究员。

表面等离子共振（Surface Plasmon Resonance, SPR）是一种已被广泛应用于无标记分子相互作用动力学测量的光学检测技术。近年来发展起来的SPR显微镜提高了SPR检测的空间分辨率，实现了单个外泌体和病毒的成像分析。但是单分子精度的SPR显微成像的实现仍然具有很大的挑战。

虽然陶教授和王教授在二十年前就已经预测如果入射光足够强，SPR是可以检测到单个蛋白分子的，但是由于传统SPR显微镜探测的是反射光，背景光比较强，而目前的高速相机即使在百瓦每平方厘米强度级别的入射光照射条件下也已经过曝。另一方面，由于蛋白分子的一般尺度在10纳米级别，其散射截面很小，因此检测信号极易被环境噪声湮没。

该研究小组通过在传统的SPR显微镜上使用第二个物镜来收集探测等离子共振散射光的实验设计克服了上述技术难题。该技术被命名为等离子共振散射显微镜（Plasmonic Scattering Microscopy, PSM），技术示意图如图1a所示。

PSM显微镜避免了对反射光的收集，由此可以使用千瓦每平方厘米级别强度的入射光进行检测，这是传统SPR显微镜所用入射光强度的数千倍。这为高速成像提供了足够强度的散色光信号，在保证时间分辨率的前提下容许对多幅图像数据进行平均降噪和差分成像处理，可以将环境噪声影响降低到可接受的程度。

此外，在减去金膜表面粗糙颗粒造成的背景散射后，可以看出PSM图像中，没有出现传统SPR显微图像中由于表面等离子共振平面非局域性干涉导致的抛物线形尾巴，这提高了图像的对比度并极大降低了数据处理难度。

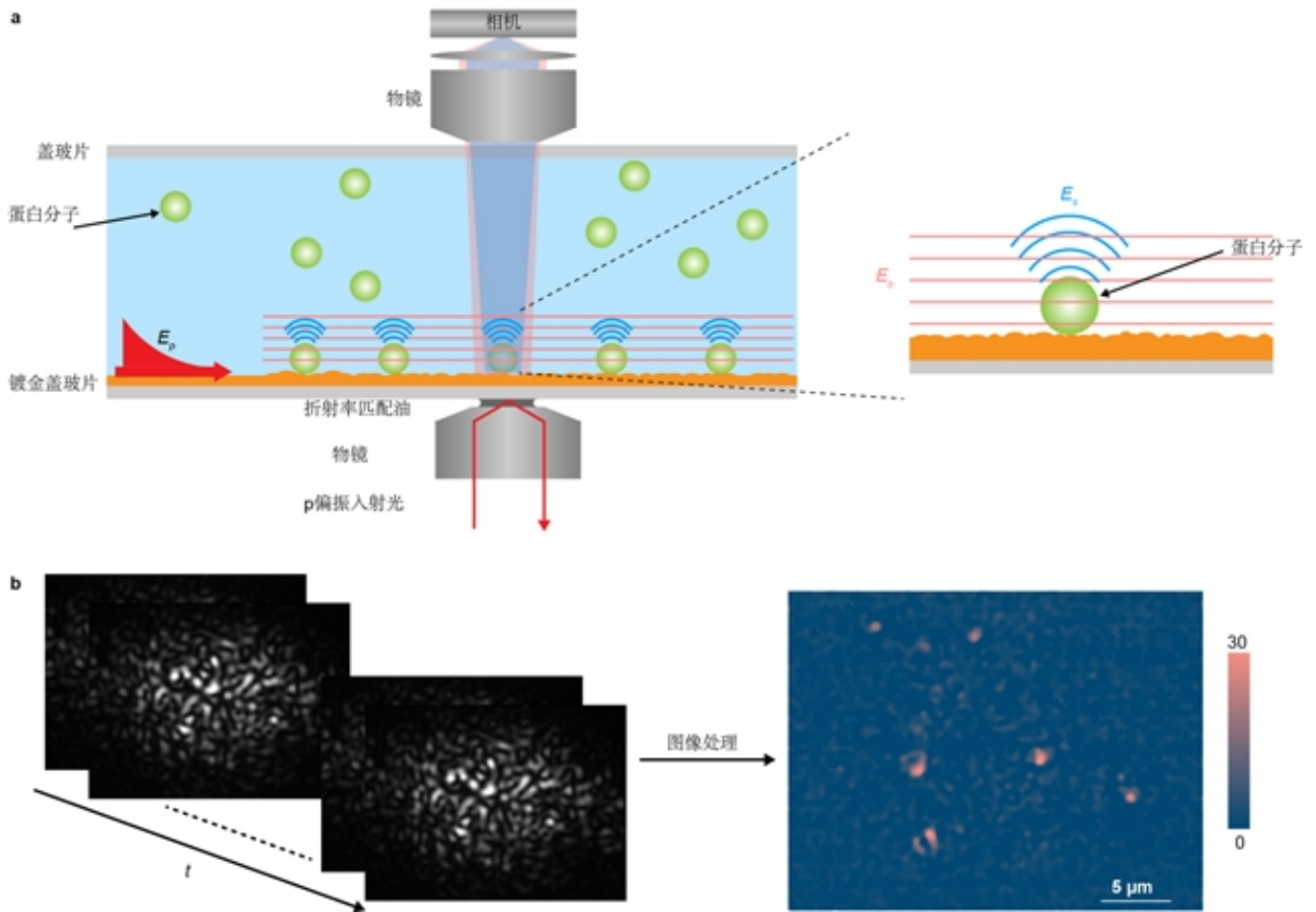


图1 (a) 等离子散射显微镜技术原理图。(b) 左：原始PSM图像。右：去除背景后在抗体修饰的金膜上检测到的IgA蛋白分子。

在利用PSM显微镜进行成像时，信号强度变化趋势如图2所示可以分为两种，一种为在检测尺度100纳米以上尺度的物体时，信号强度随着物体直径的六次方改变。这是由于这类物体的散射强度远大于金膜表面粗糙颗粒的背景散射，信号由散射主导。第二种为当检测尺度100纳米以下的物体时，金膜表面粗糙颗粒背景散射已经远大于分析物的散射，由此呈现出明显的干涉效应，信号强度随直径的三次方改变。

由于蛋白分子的尺寸普遍小于30纳米，因此当PSM显微镜用于蛋白检测时，其信号强度变化为典型的干涉信号。表面粗糙颗粒散射这一在多数成像应用中被视作难以消除的噪声源，在PSM显微镜中被成功用于放大检测物信号的干涉参考光。

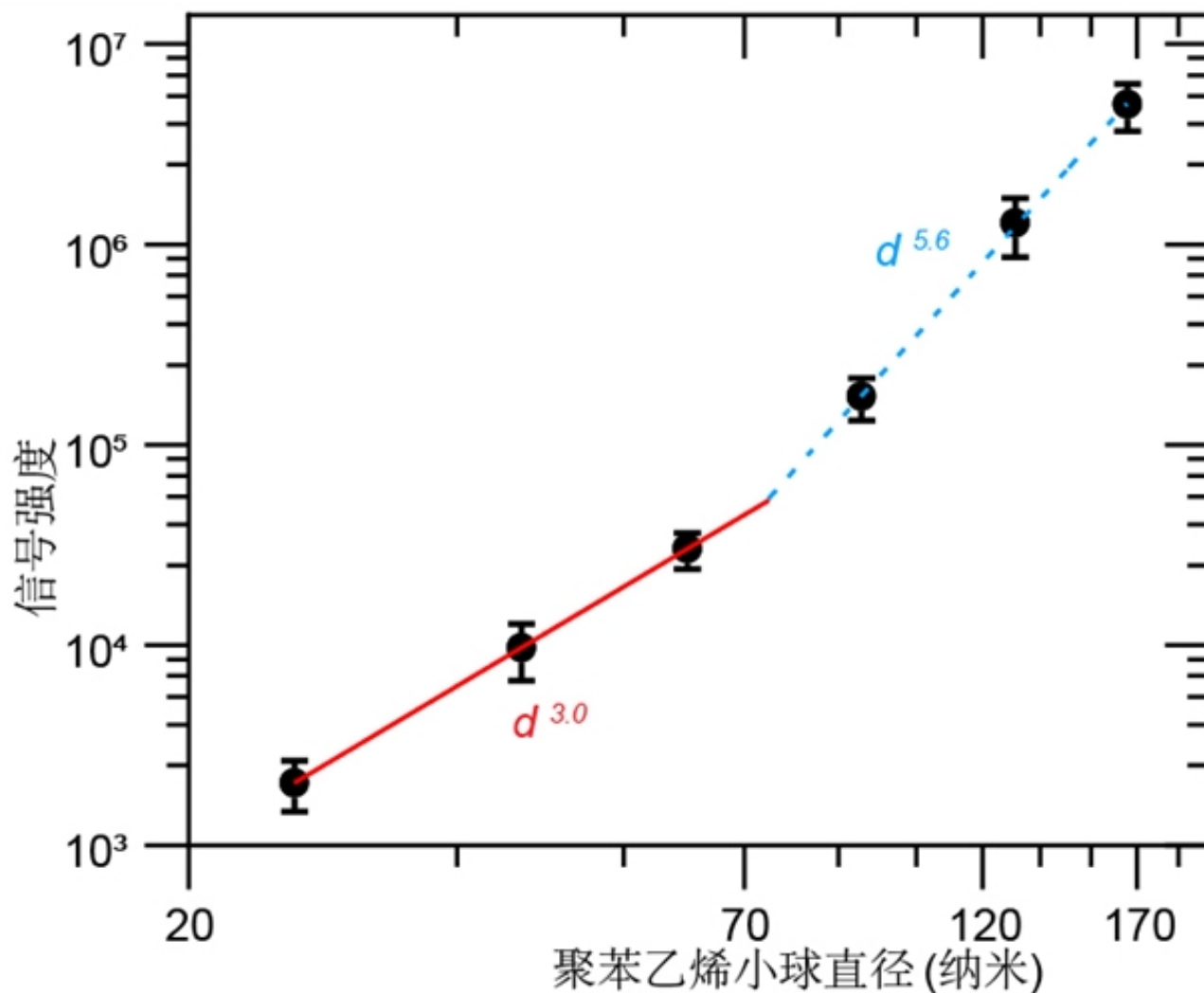


图2 聚苯乙烯纳米球成像强度随直径的变化。

利用PSM显微镜的单分子光学成像能力，不但可以如图3a所示通过分子计数方法获得类似于传统SPR检测获得的分子动力学曲线，还可以如图3b-d所示检测单个蛋白分子与抗体修饰金膜表面作用过程的异质性，从而为分子动力学分析提供更丰富的细节信息。此外，由于PSM显微镜是在SPR显微镜上构建的，所以PSM显微镜仍然保留了进行表面电化学监测、离子检测和生化反应监测等SPR常见应用研究的能力。

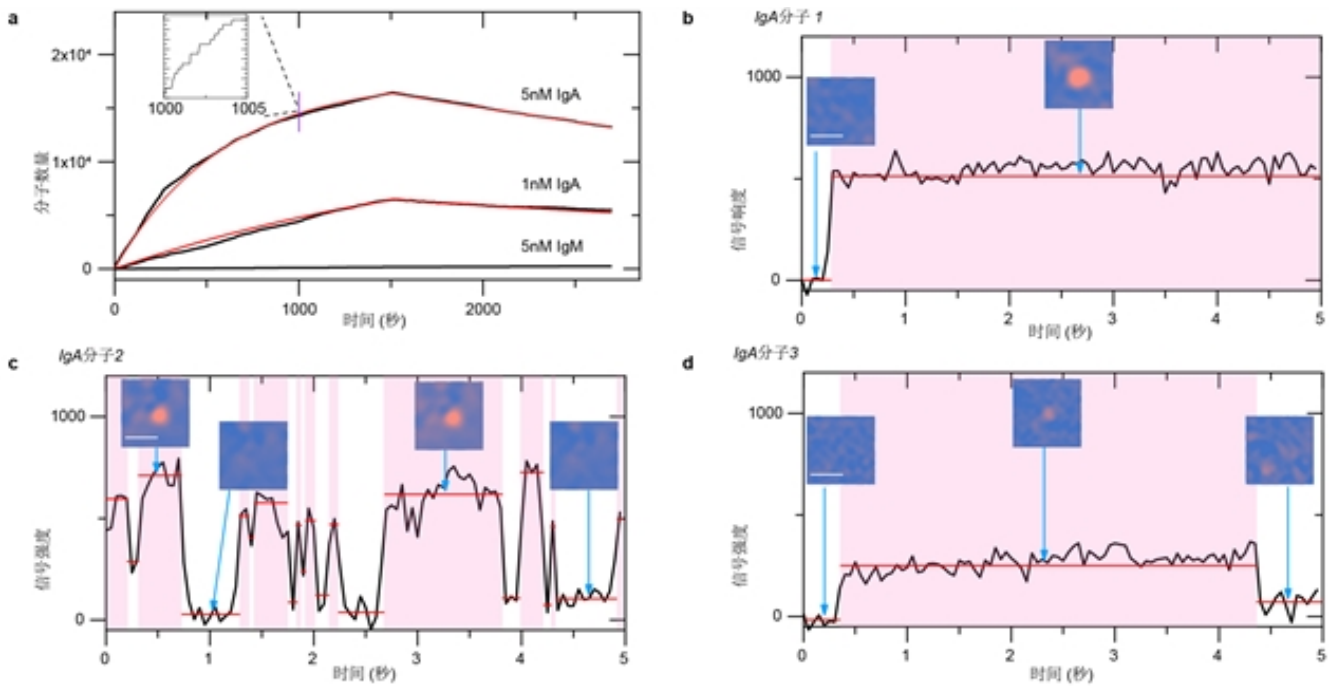


图3 (a) 基于吸附分子计数获得的分子动力学曲线。(b-d) 单个IgA分子吸附行为的异质性。

该论文验证了基于SPR显微镜构建的PSM显微镜进行单分子光学成像的能力，并验证了PSM显微镜在非标记蛋白分子相互作用动力学测量中的应用可行性。PSM显微镜作为SPR传感器家族的新成员，与其相关的表面粗糙颗粒散射与分析物散射之间相互作用具体过程以及表面等离激元平面非局域性的影响细节等的原理研究，以及单分子光学成像能力与SPR各个应用领域的深度结合的应用研究，都将成为SPR成像检测领域的新课题，具有广阔的研究和发展前景。

本项目的发起人陶农建教授是一位杰出的华裔科学家，在分子电子学、纳米尺度光学成像，化学以及生物传感器等研究领域做出了重要贡献（H-index 92: <https://scholar.google.com/citations?user=T7GTq-QAAAAJhl=en>）。陶教授在文章投稿后的2020年3月不幸离世。陶农建教授的纪念网站为：<http://www.njtaoasu.org>。（来源：科学网）

相关论文信息：DOI：10.1038/s41592-020-0947-0

作者：王少鹏等 来源：《自然-方法学》

更多科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发