

基于柱形结构二氧化硅覆盖层保护的银纳米岛：实现荧光和拉曼光谱的长距离增强

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/31984.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！

基于柱形结构二氧化硅覆盖层保护的银纳米岛：实现荧光和拉曼光谱的长距离增强。 导读

荧光和拉曼光谱是生物学和医学中不可或缺的分析工具。荧光光谱使用各种探针来研究细胞内代谢和信号传导机制。拉曼光谱则通过分析目标分子的分子振动，提供无标记的分子分析，用于生物学和临床应用。然而，在荧光光谱中，荧光染料的使用会破坏自然细胞代谢。降低使用剂量又会使外部环境的影响更明显；在拉曼光谱中，由于其本身的散射信号较弱，需要强烈且持续的激光照射来获取更强信号，但这同时会对样本造成光损伤。

等离子体增强的荧光和拉曼光谱提高了生物传感和生物分子分析的灵敏度，为具有固有弱光学信号的分析物提供了有效的解决方案。表面增强拉曼散射（SERS）和表面增强荧光在生物传感和生物分子分析中有许多重要应用。然而，纳米结构金属表面需要与分析物分子紧密接触，导致分析物分子和金属纳米结构的相互降解，限制了局部表面等离子共振。目前的研究中，通过修改等离子体纳米结构，得以扩展SERS和表面增强荧光的有效增强范围但实现足够长距离的增强仍然是一个挑战。

近日，大阪大学的Takeo Minamikawa等人通过厚度超过100 nm的介电纳米结构实现长距离荧光和拉曼散射增强，即远程等离子体增强（RPE）。实现RPE的关键元素是柱状结构二氧化硅层（CSS），避免密集随机排列的银纳米岛（AgNIs）和分析物分子之间相互的不利影响。此外，本研究还成功展示了RPE在增强活细胞荧光生物传感和生物组织拉曼成像方面的实际应用。

该成果发表在国际顶级学术期刊《Light: Science Applications》，题为Long-range enhancement for fluorescence and Raman spectroscopy using Ag nanoislands protected with column-structured silica overlayer。Takeo Minamikawa为论文第一作者和论文通讯作者。

创新研究

1. RPE器件的关键结构及性能

图 1a 显示了 RPE 基底的示意图。RPE 基底的关键结构元素是载玻片基板上的 AgNIs 密集随机阵列和 CSS 覆盖层。采用溅射工艺来构建 AgNIs 和 CSS 覆盖层，可大规模且高效生产 RPE 基底。为了评估 RPE 基底的增强能力，研究人员分析了经过金(I)/卤化物处理的 RPE 基底上碱性品红 (FUC) 和罗丹明 6G (R6G) 分子的发射光谱。与普通的玻璃基底相比，RPE

基底的FUC拉曼和荧光信号显著增强，如图1g所示。在RPE基底的拉曼光谱中，增强因子(EF)高达 2×10^7 ，在FUC荧光光谱中EF高达170，两次测量均采用532 nm的激发波长。该结果表明RPE基底对荧光和拉曼光谱具有足够的增强作用。

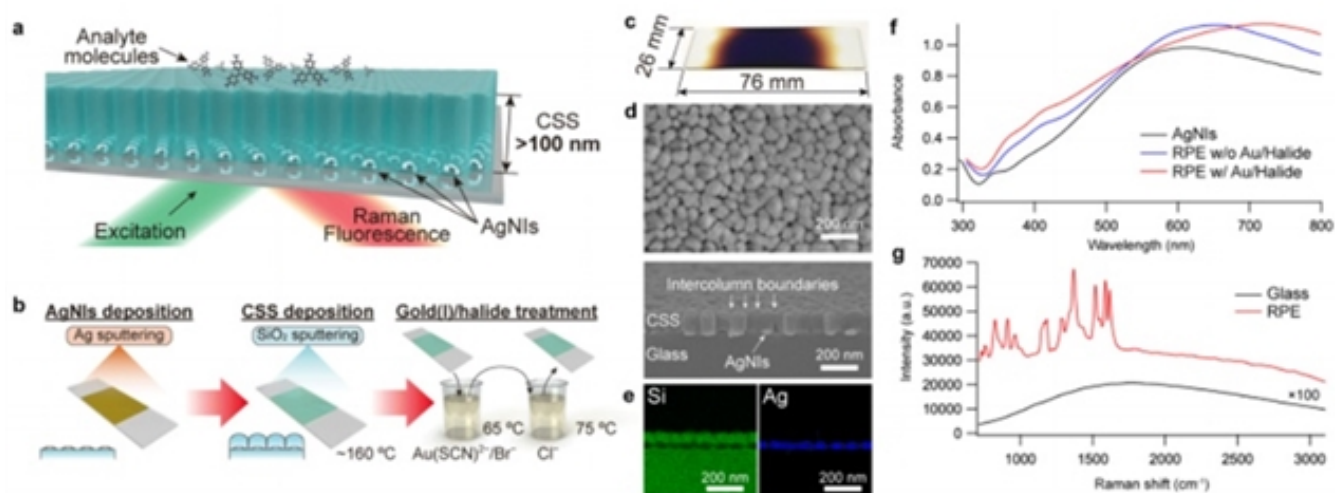


图1. RPE器件的关键结构及性能。

2. 分析物分子与RPE中的AgNI分离的实验证明

首先，通过用乙醇冲洗RPE基底上的R6G分子并观察其增强发射光谱的消失，初步确认了分析物与CSS层的隔离。进一步的验证包括胶带测试，其中将嵌入PVA中的FUC分子附着在胶带粘合剂面上，并检查其拉曼信号的增强情况。结果显示，FUC的信号在胶带贴在CSS表面时增强，而在玻璃基底上则没有信号，表明分析物分子附着在CSS的顶部。接下来，研究人员通过分析R6G与等离子体的相互作用，确认了R6G分子与AgNI基底上的近场耦合现象，这导致了消光光谱的显著变化，而RPE基底上则没有这种变化。进一步的实验表明，PVA的拉曼光谱在AgNI基底上得到增强，但在RPE基底上没有增强。这表明PVA与AgNI之间存在紧密接触，而RPE基底上的R6G分子增强则显示了不同的增强机制，即使R6G与AgNI没有直接接触，RPE基底上依然可以观察到显著的增强现象。这些结果表明RPE基底中存在一种不同于AgNI的独特增强机制，同时R6G分子与AgNI之间存在一定的距离。

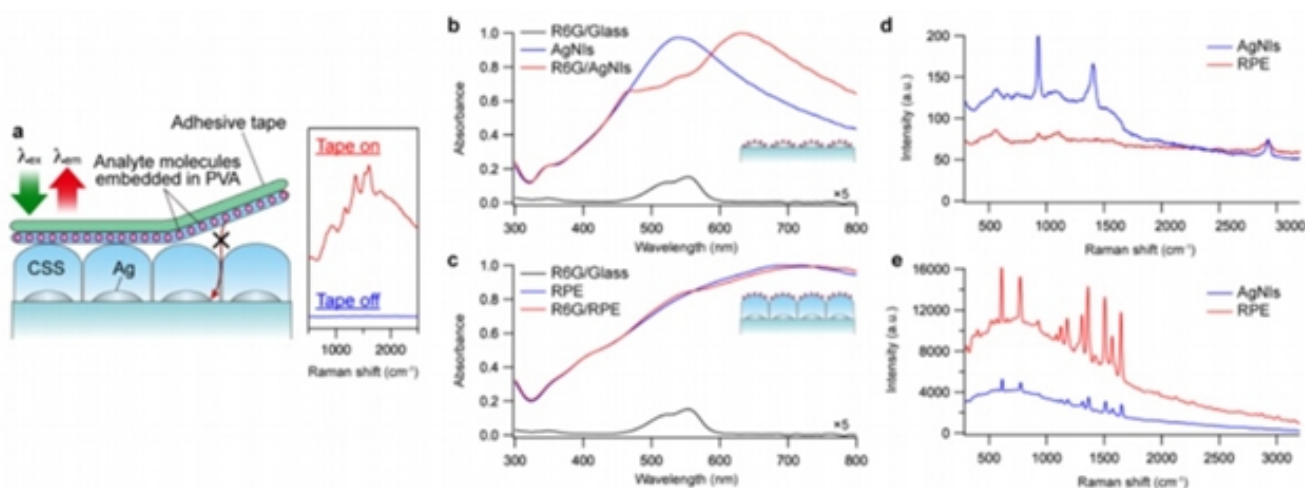


图2. 使用 RPE

基底进行远程增强的实验验证，无需分析物分子和金属纳米结构之间的紧密接触。

3. RPE 增强光谱中的独特增强特性

为了研究RPE的增强效果，研究人员检查了拉曼散射和荧光信号的EF。结果显示，拉曼散射的EF明显高于荧光，表明两者的增强机制不同。荧光EF受分子光谱特性的影响，例如R6G的荧光EF最大值约为4，而FUC的荧光EF比R6G高约20倍，虽然FUC的荧光量子产率低于R6G。这表明RPE中的增强不仅仅是电场增强的结果。研究还发现，光学配置（正面或背面激发）对发射光谱的影响不同，在低浓度下，信号增强明显。拉曼光谱的光谱形状特征与自发拉曼光谱总体一致，但在多巴胺等分子中有显著偏差，显示RPE增强与分子状态有关。激发波长对RPE的依赖性表明，当波长与分子电子共振一致时，拉曼和荧光增强显著。另外，在0-500 nm的CSS厚度范围内拉曼光谱显著增强，尤其在120 nm厚度时表现出峰值，这可能与干涉效应有关。

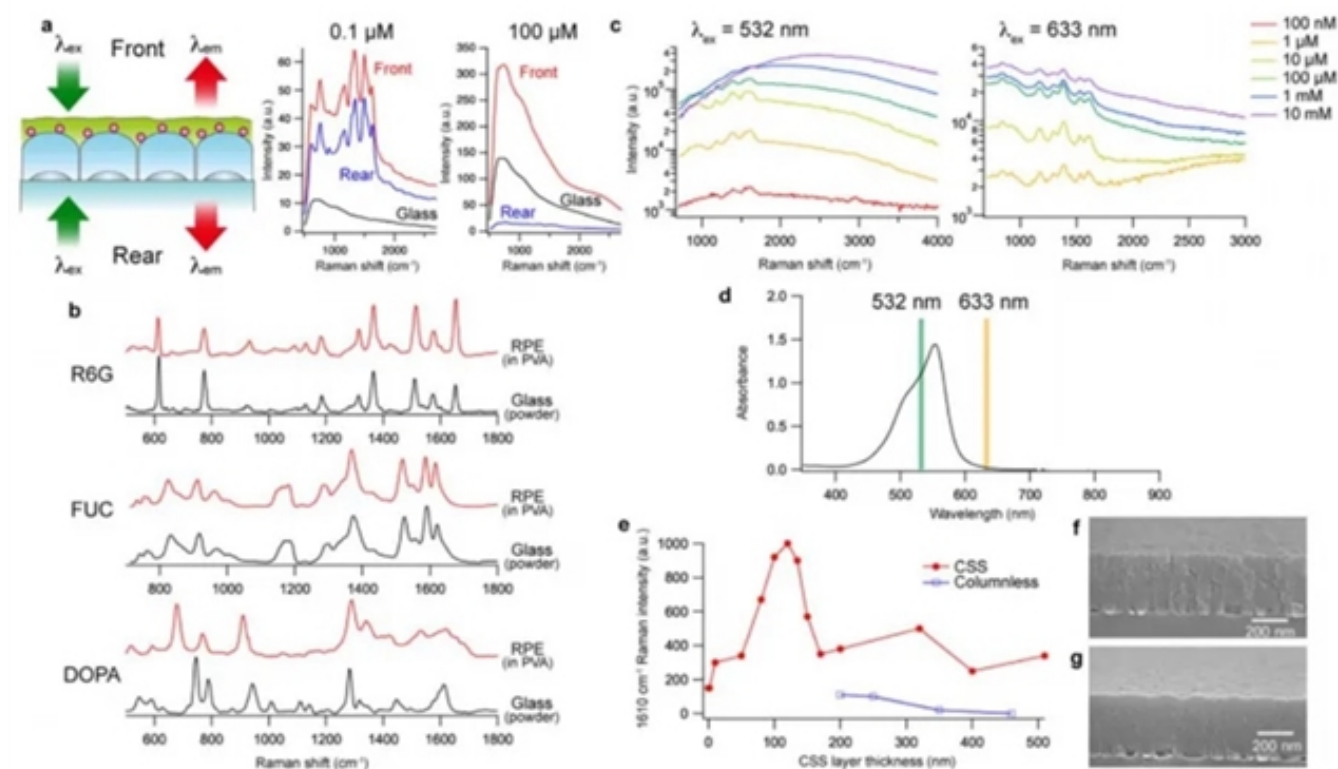


图3. RPE 增强光谱中的独特增强特性。

4. RPE 增强光谱的实用优势

使用开发的 RPE 基底进行拉曼和荧光光谱分析展示了多种优势。首先，RPE 增强光谱提供了高信噪比和线性度，尤其在分子浓度下表现出优异的稳定性。与 AgNI 基底相比，RPE 基底的信号一致性更高，无需精确控制分子位置。其次，RPE 基底在生产和储存过程中展现了良好的稳定性，包括可重复性、空间均匀性和长期稳定性。与 AgNI 基底不同，RPE 基底的拉曼信号在长达 30 天内保持稳定，而 AgNI 基底则快速减弱。最后，RPE 基底在化学和物理耐久性方面也优于 AgNI 基底，表现出更高的抗

化学腐蚀能力和物理耐久性。总体而言，RPE基底在实际应用中展现了显著的稳定性和耐用性。

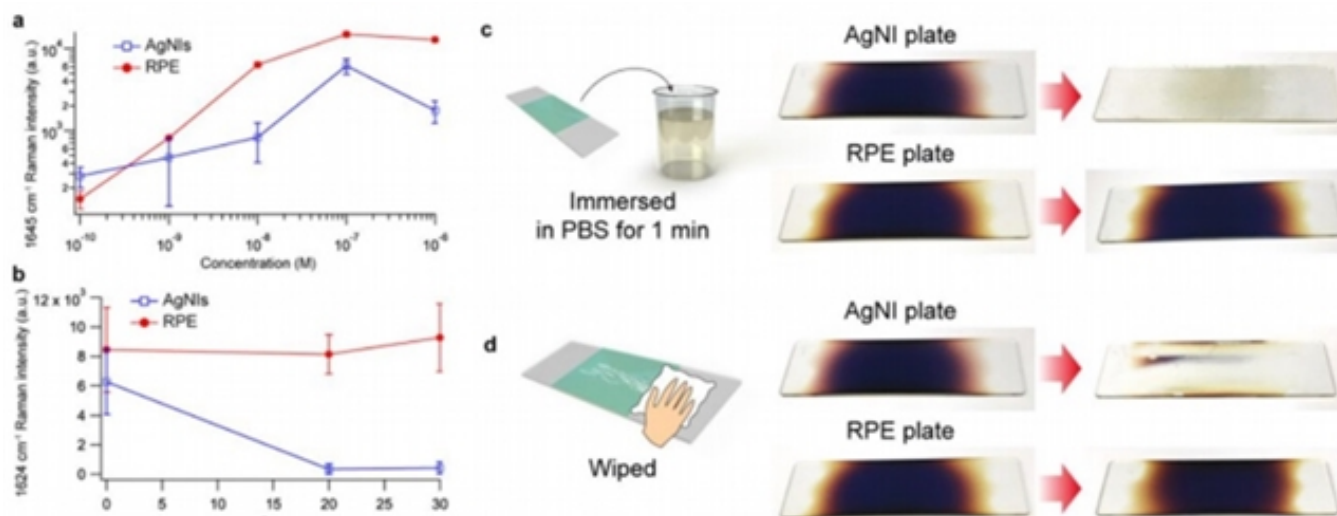


图4. RPE增强光谱的实用优势。

5. RPE增强活细胞荧光光谱

作者评估了RPE在荧光生物传感应用中的增强荧光检测能力。具体而言，作者研究了RPE增强的活HeLa细胞中 Ca^{2+} 振荡的荧光检测。为了促进细胞更健康的生长，作者预先用Matrigel涂覆了RPE基底。通过比较HeLa细胞在RPE基底与标准Matrigel涂层玻璃基底上的生长，确认了Matrigel涂层的有效性。 Ca^{2+} 的产生和代谢的振荡动力学通过fluo3-AM染料的荧光强度评估（图5a）。对于fluo3-AM的荧光激发，使用了激发波长为480 nm的宽场荧光显微镜。多个细胞在 $0.1 \mu\text{M}$ 组胺刺激下的 Ca^{2+} 水平时间响应曲线如图5b所示。值得注意的是，培养在RPE基底上的HeLa细胞的荧光信号相比于玻璃基底显著增强，这种增强有助于清晰可视化组胺诱导的 Ca^{2+} 振荡。为了进一步阐明RPE的增强效果，作者采用了来自时间响应曲线的两个定量指标：由组胺刺激引发的初始荧光峰值强度（ I_s ）和 Ca^{2+} 信号振荡的数量（ N_{osc} ）。 I_s 代表每个细胞中fluo3-AM与 Ca^{2+} 之间复合物浓度的初始瞬时上升，而 N_{osc} 提供了 Ca^{2+} 内在信号动力学的统计测量。值得注意的是，随着RPE增强 I_s 的荧光强度， N_{osc} 也趋于增加。这些结果证明了RPE在活细胞荧光生物传感中的可行性和有效性，并为其在该领域的应用提供了原理证明。

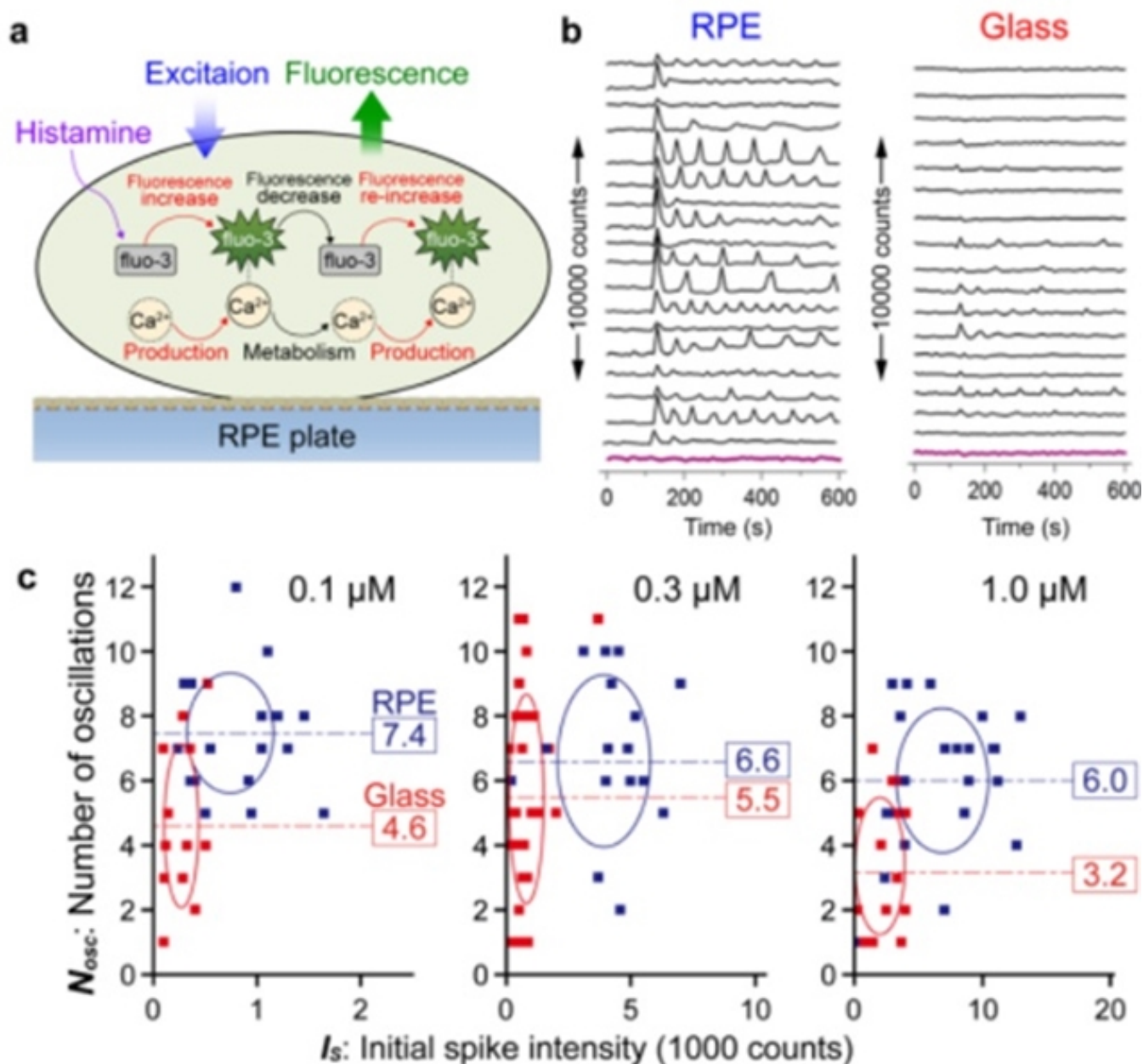


图5. RPE 增强荧光光谱法检测 HeLa 细胞中组胺诱导的 Ca^{2+} 振荡。

6. 用于组织成像的 RPE 增强拉曼光谱

作者展示了RPE在组织学拉曼成像中的工作原理。作者使用了一台在532 nm激发波长下工作的线性照明共聚焦拉曼显微镜，对附着在RPE基底上的来自Wistar大鼠的食管组织切片，从不同组织域获得的拉曼光谱，如图6a所示。通过利用组织切片的白光图像进行拉曼检测（图6b）以及连续切片的苏木精-伊红染色图像（图6c），作者识别了这些组织域。利用RPE基底（红色光谱）作者明显观察到了不同组分的拉曼光谱，如迷走神经、脂肪组织、血管和平滑肌。相比之下，当使用玻璃载玻片（黑色光谱）时，大多数组织的拉曼光谱不可观察，仅从脂肪组织和血管上获得了可辨别的拉曼信号，这主要是由于脂肪组织中脂肪酸的高浓度和在血液中检测血红蛋白时发生的共振拉曼效应。此外，作者还评估了RPE的组织成像能力，如图6d所示。RPE增强的拉曼图像揭示了不同组织域的明显模式，突出显示了这些区域。相比之下，使用玻璃板没有观察到明显的拉曼

图像，除了表现出共振拉曼散射的血液和具有高分子密度的脂肪。值得注意的是在1431 cm^{-1} 和1450 cm^{-1} 的拉曼位移下，尽管拉曼位移差异较小，但迷走神经和脂肪组织之间的对比显示出明显的转变。这一发现表明，RPE增强的拉曼成像对迷走神经与脂肪组织域之间的 (CH) 相关的拉曼位移的细微差异表现出高灵敏度。

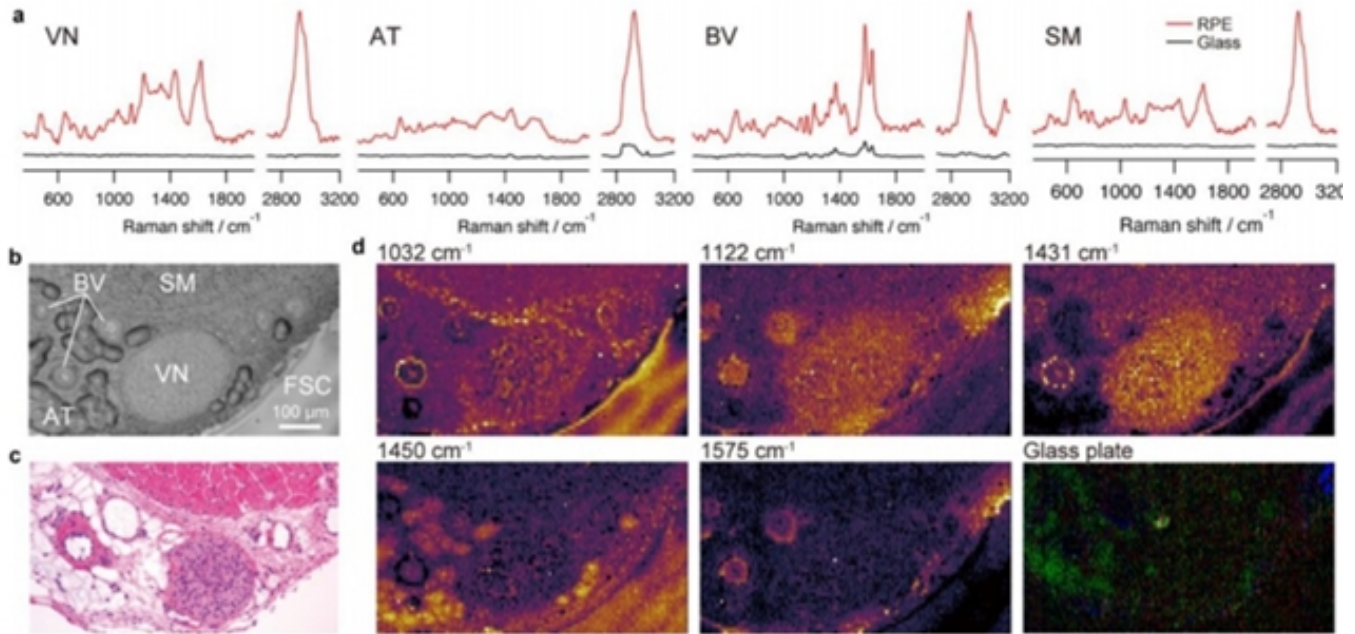


图6. Wistar大鼠食道及食道外膜的RPE增强拉曼光谱分析。

总结展望

作者展示了一种涂有厚度超过100 nm的柱状结构二氧化硅覆盖层的密切随机阵列Ag纳米岛，实现了长距离荧光和拉曼散射增强。本研究提出的RPE基底为生物传感和生物分子分析提供了实用优势。RPE基底的制造涉及溅射和化学浸渍工艺，能够高效生产大面积RPE基底。RPE的生物相容性结构，结合了CSS层，为分子检测创造了更为适合的环境，能够最大限度的减少分析物分子与金属纳米结构之间的相互影响。这一特性无需特定一起操作或样本处理，有望实现高分析灵敏度和更短的采集时间。RPE 将成为化学、生物学和医学领域的一种多功能分析工具。（来源：Light ScienceApplications微信公众号）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1038/s41377-024-01655-3>

特别声明：本文转载仅仅是出于传播信息的需要，并不意味着代表本网站观点或证实其内容的真实性；如其他媒体、网站或个人从本网站转载使用，须保留本网站注明的“来源”，并自负版权等法律责任；作者如果不希望被转载或者联系转载稿费等事宜，请与我们接洽。

作者：Takeo Minamikawa 来源：《光：科学与应用》

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

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