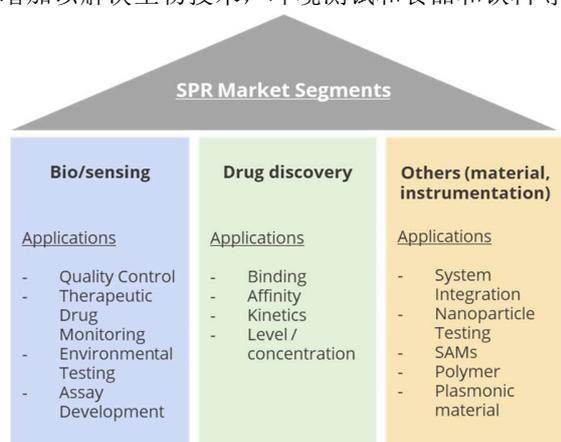


表面等离子共振的四个关键概念：

Affinité Instruments P4SPR 简介

表面等离子体共振（SPR）是一种生物分析技术，可以实时研究生物和化学相互作用，而无需对分析物进行标记。该技术允许对分子之间的结合速率和结合水平进行观察，从而可以确定相互作用的特异性，动力学和亲和力。

除了药物发现中主要的应用，SPR 市场还有另外两个快速发展的细分市场：生物/传感和其他应用（图一）。这些发展领域获得于对 SPR 仪器的需求增加以解决生物技术，环境测试和食品和饮料等



图一 SPR 市场细分

行业中出现的问题。一些关键的已建立和新兴应用包括：

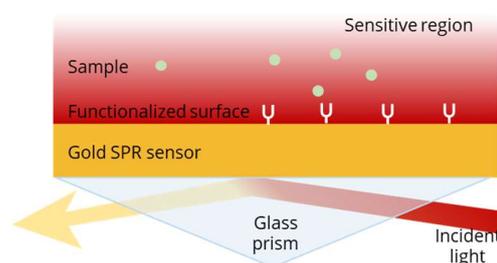
- 筛选和开发新药物和新的生物疗法
- 基础研究，如发现和表征蛋白质功能和疾病机制
- 开发新的诊断分析
- 食品安全和环境应用的分子和化学目标感应
- 生物过程监测中的质量控制
- 测量新的表面化学，以降低生物传感中的非特异性结合
- 测试等离子体材料以增强传感特性

本技术说明的目的是为新用户和现有用户提供对 SPR 作为更广泛的 SPR 市场分析工具的基本了解。我们把重点放在四个关键概念以更好解释 Affinité Instruments SPR 创新如何加速各个领域的研究人员的新发现。

四个关键概念是：

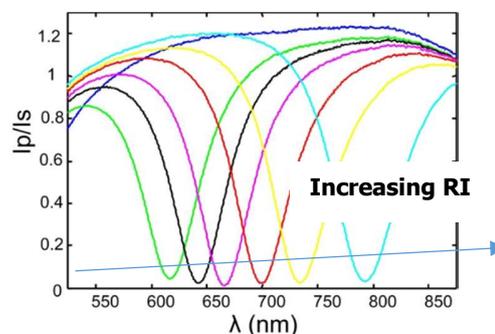
1. SPR 效果原理
2. SPR 仪器的配置和影响
3. SPR 传感器的类别和考虑因素
4. SPR 传感器功能化选择性

一 SPR 效果原理



图二 SPR 传感器的示意图。由反射的入射光产生的 SPR 效应产生响应于折射率变化的敏感区域

通常是涂覆在玻璃棱镜上的金（Au）或银（Ag）的金属薄膜传感器是个典型的 SPR，其中光被反射以产生 SPR 效应（图二）。含有生物分子或化学物质等目标的样品溶液位于 SPR 传感器的顶部。SPR 传感器的敏感区域由 SPR 效应产生，该效应是由玻璃棱镜中的入射光和金属传感器的自由电子之间的耦合效应引起的。自由电子的振荡（称为消逝波）穿透约 200nm 进入样品溶液，并沿传感器平面传播几微米。该探测区域对由分子引起的折射率（RI）变化高度响应，例如对于结合事件，化学浓度梯度，聚合物改变构象等。



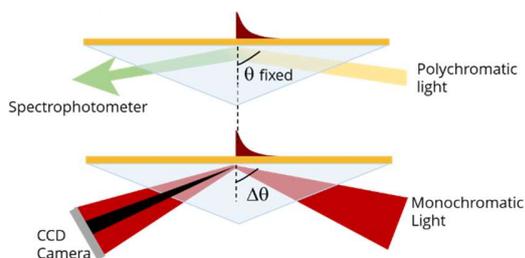
图三 在波长询问模式下 Au SPR 传感器上具有不同 RI 的溶液的反射光谱（光偏振比）

技术说明

SPR 效应指的是通过在玻璃与 Au 薄膜界面处反射的光里取得的反射光谱。根据询问的模式，SPR 信号的特点在于当波长扫描或角度扫描达到一个特定值时，反射率会急剧下降 (图三)。在最常见的 SPR 传感器中，SPR 效应发生在光谱的可见部分。

SPR 效应不仅在薄膜传感器中观察到，而且在纳米粒子，纳米孔阵列和其他更奇特的 SPR 传感器设计中也有类似的效应。尽管其他设计可能比薄膜具有更高的灵敏度，薄膜仍然是商用 SPR 开发的基准，受益于它的低成本制造可扩展性，高分析性能可重复性和仪器灵活性。与其他方法相比更易于小型化和集成。

二 SPR 仪器配置和影响



图四 波长 (上) 和角度 (下) 扫描

简而言之，SPR 仪器是指用于扫描 SPR 传感器的光源和探测器类型。不同类型的 SPR 传感器将需要特定类型的仪器，这将在概念三下进一步讨论。重点是仪器扫描设计及其对薄膜 SPR 传感器的影响。

最流行的 SPR 传感器模式是 Kretschmann 配置，其中金属薄膜直接位于玻璃棱镜的表面上 (如前所述)。在这种形式中，在玻璃棱镜中进行以扫描 SPR 传感器的光可以以两种方式执行：通过角度扫描 (图四上) 或波长扫描 (图四下)。

对于波长询问 SPR (也称为固定角度 SPR; 图 4 上)，入射光源是固定的并且是多色的，例如钨灯或宽带 LED。当光探测 SPR 传感器时，获取反射光的光谱以识别 SPR 波段的波长。通过跟踪

表二 薄膜 SPR 和纳米粒子 LSPR 的关键区别概述

SPR 带的波长位置随时间的变化来监测样品溶液的 RI 变化 - 例如，当发生结合时。

对于角度 SPR (图四下)，光源是单色的，通常是 633nm 的 HeNe 激光器，并且光入射角以各种角度扫描以找到传感器的 SPR 带。该方法需要高水平的角度精度并且在移动光源和检测器之间对准以跟踪最佳 SPR 带的位置。通常，入射角设置在 SPR 带的低强度点附近并在实验期间维持固定。随着 SPR 带的偏移，反射强度将相关联样品中的 RI 变化。

表一 SPR 波长与角度询问比较表

参数	波长	角度
鲁棒性	✓	
小型化可行性	✓	
灵敏度		✓
通量	低	高
设备成本	< \$100,000	> \$100,000
维护 / 修理费	\$	\$\$\$
使用简易	✓	

从表一中我们可看到基于波长询问的 SPR 仪器降低了之前使用角度 SPR 技术的 SPR 光谱成本障碍。波长 SPR 系统的设备成本甚至有时会比某些角度系统的年维护成本更加便宜。此外，波长 SPR 器件的小型化可行性和稳健性提供了实验室外的新解决方案，例如便携式现场测试设备，即时检测和用于过程监控的系统集成。

三 SPR 传感器的类别和考虑因素

50nm 薄膜厚度的 SPR 传感器是两大类传感器之一，第二种是纳米颗粒 (即小于 100nm 的颗粒)。纳米粒子中的 SPR 通常被称为局部 SPR (LSPR) 由于自由电子振荡被限制在纳米粒子边界内。反过来说，薄 SPR 膜传感器上的自由电子沿膜轴传播几微米。每类 SPR 传感器都有自带的 SPR 激励模式，SPR 消逝波特性和制造工艺和分析性能 (表二)。

表二 薄膜 SPR 和纳米粒子 LSPR 的关键区别概述

参数	薄膜	纳米颗粒	技术比较
激励模式	全内反射 (TIR)	透射 (Transmission)	TIR: 光线永远不会与样品交叉。可以在复杂介质中直接检测。几乎没有样品制备。 Transmission: 光必须与样品交叉。限于清除样品。需要样品制备。
传感器配置	玻璃基板上的薄膜	纳米颗粒悬浮液在溶液中或固定在玻璃基板上	基于薄膜传感器: 易于大规模制备。高度可重复的制造工艺。通过旋涂或电聚合易于功能化。 溶液中的纳米颗粒: 沉淀导致高风险。与复杂媒体的兼容性差。更利于与生物分子相互作用 (更多的活动自由度)。 纳米粒子固定化: 多步骤过程增加可变性。由于固定而脆弱。
消逝波穿透深度	200-300 nm	20-30 nm	更深的穿透深度: 对 RI 变化的敏感性很高; 使用如纳米颗粒偶联, 更厚的聚合物膜或复杂的夹心测定等技术, 更灵活地检测生物分子。 更短的穿透深度: 对传感器附近的 RI 变化具有更高的灵敏度, 有限的传感策略。
消逝波传播	微米级	纳米级 (局部)	微米传播: 均匀 SPR 信号是来自几微米平方区域的多个事件的平均值。 局部传播: 来自多个纳米粒子的可变 SPR 信号, 每个纳米粒子具有基于大小, 形状和特殊分布的不同 SPR 响应。
折射率变化的敏感性 (nm/RIU)	2000-3000	500-600	高灵敏度: 更好的检测限。对生物分子有很强的反应。 灵敏度较低: 检测限较差。对体积 RI 变化的敏感度较低 (例如, 缓冲液)。
扩散模式	平面	径向	平面: 文献中绝大多数的 SPR 动力学都是基于平面扩散。 径向: 与平面不同的动力学曲线, 在文献中缺少参考。

四 SPR 传感器功能化选择性

从本质上讲, SPR 效应对任何 RI 变化都会有反应, 并且不区别变化的来源。然而, 大多数应用需要对靶标的特异性响应, 例如生物分子或化合物。有两种策略可以使 SPR 传感器具体化: 增加特异性并降低非特异性。增加的特异性涉及使用识别元件, 例如抗体或 DNA 探针, 并利用它们对特定靶标的高亲和力。降低非特异性意味着减少与靶标以外的分子的相互作用。为了优化这种平衡, 研究人员使用各种表面化学 (例如, 聚合物, SAM, 水凝胶), 生物功能化元件 (例如, 抗体, DNA, 酶) 和缓冲条件。



图五 表面功能化素描

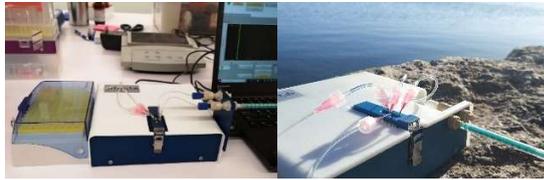
SPR 的生物传感应用已被充分证明, 特别是在免疫测定形式中 (图五)。与酶联免疫吸附测定 (ELISA) 类似, SPR 传感器可以用抗体功能化以检测和测量特定配体的水平。然而, 由于实时监测和无标记传感能力, SPR 可更快取得结果: 最低几分钟。相比 ELISA 需数小时。此外, SPR 还可同时取得额外的信息, 如动力学和亲和力。

在分子传感和化学测试中功能化通常是关键的步骤, 特别在开发新的测试或测定。低成本传感器有利于该开发阶段, 供应大量传感器的需求来测试不同的表面化学, 条件或化合物以及感测策略, 例如直接检测, 夹心测定或竞争性测定。

技术说明

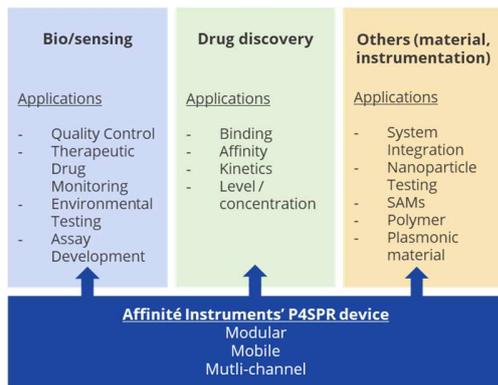


Affinité Instruments 的 P4SPR 薄膜 SPR 仪器



图六 P4SPR 便携式 4 通道表面等离子体共振仪器在实验室(左)和在户外(右)

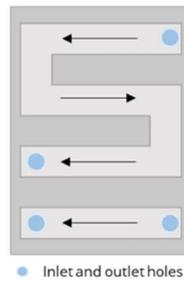
P4SPR 是一种独特的模块化，便携和多通道设备，合宜在在药物发现，生物/传感和系统集成。多功能 P4SPR 简单易用，可在实验室或户外快速连结基于薄膜的 SPR(图六)。此外，P4SPR 开放式流体设计和 LabVIEW 软件可与其他分析方法（如光谱学，电化学和色谱法）相结合，提供无与伦比的灵活性，以满足各个 SPR 应用的需求(图七)。



图七 P4SPR 应用领域

P4SPR 技术的核心是基准薄膜 SPR 传感器，可提供高质量的 SPR 数据。Kretschmann 配置 SPR 装置能够在复杂介质中直接检测。它几乎不需要样品制备，节省了用户在纯化试剂盒和试剂上的成本。此外，P4SPR 利用薄膜 SPR 的高灵敏度和更深的穿透深度，从而拓宽了该技术的应用范围。

Microfluidic channel patterns



图八 P4SPR 微流体通道设计

多通道微流体设计通过同时采集三次测量以及每个芯片的参考（图八，左）。4 通道微流体系统通过微量移液管在直接注射模式下需要 50 微升的最小样品量。除了低量注射之外，在微流体室中可以实现缓慢动力学的长接触时间，而没有由于蒸发引起的任何变化。参考通道可实时测量由于温度和体积折射率引起的变化，用于后处理分析中的样品校正。

这一独特功能可在每次测试和分析时提高数据质量和易于分析的可靠信息。

公司简介

Affinité Instruments 成立于 2015 年，是一个从蒙特利尔大学衍生的企业。Affinité Instruments 的创始人在 SPR 领域积累了十多年丰富的研究结果的知识，并通过多元化的商业，科学和工程领域经验将创新的 SPR 技术商业化。