

拉曼探针成像的研究进展

牟雪凝, 李鹤, 李思瞳, 孙雅杰, 谢康, 彭永进*

锦州医科大学健康管理现代产业学院, 辽宁 锦州

收稿日期: 2025年6月10日; 录用日期: 2025年6月30日; 发布日期: 2025年7月8日

摘要

拉曼探针检测系统通常是由激光器、将激光聚焦到样品上的透镜系统和测量散射光的检测器组成。拉曼检测是一种通过测量样品分子的散射光来分析样品成分的技术。目前表面增强拉曼光谱技术在基底材料设计、光学检测系统开发等方面都取得了长足进展, 对拉曼信号起到了明显的增强作用, 但在其研发过程中存在增强基底均匀性和重复性难以保证的问题。另外在生物监测应用中生物样本中的自发荧光(如蛋白质、核酸、代谢物)或探针自身荧光会掩盖微弱的拉曼信号, 尤其在近紫外-可见光激发下更为显著, 限制了拉曼探针在复杂生物体系中的应用。本文系统综述了拉曼探针成像的研究进展, 重点分析表面增强拉曼光谱(SERS)探针、有机聚合物拉曼探针、DNA自组装拉曼探针等类型的原理、性能及应用场景, 讨论当前技术在基底均匀性、荧光干扰等方面的局限性, 并展望新型材料设计、多模态成像等未来发展方向。

关键词

拉曼光谱, 激光, 生物分子, 医学检测

The Research Progress of Raman Probe Imaging

Xuening Mou, He Li, Sitong Li, Yajie Sun, Kang Xie, Yongjin Peng*

Modern Industrial College of Health Management, Jinzhou Medical University, Jinzhou Liaoning

Received: Jun. 10th, 2025; accepted: Jun. 30th, 2025; published: Jul. 8th, 2025

Abstract

Raman probe detection systems typically consist of a laser, a lens system for focusing the laser onto the sample, and a detector for measuring the scattered light. Raman detection is a technique that analyzes the composition of a sample by measuring the scattered light of sample molecules. At present,

*通讯作者。

文章引用: 牟雪凝, 李鹤, 李思瞳, 孙雅杰, 谢康, 彭永进. 拉曼探针成像的研究进展[J]. 自然科学, 2025, 13(4): 732-737. DOI: 10.12677/ojns.2025.134077

significant progress has been made in the design of substrate materials and the development of optical detection systems for surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS), which has significantly enhanced Raman signals. However, during its research and development, there have been problems such as the difficulty of ensuring the uniformity and reproducibility of enhanced substrates. Additionally, in biological monitoring applications, autofluorescence from biological samples (such as proteins, nucleic acids, and metabolites) or fluorescence from the probes themselves can obscure weak Raman signals, particularly under near-ultraviolet to visible light excitation, limiting the application of Raman probes in complex biological systems. Raman detection technology still has significant room for development in aspects such as the analysis of disease markers and the precision of surgical guidance, making further development and exploration in these areas worthwhile. This article systematically reviews the research progress of Raman probe imaging, focusing on the principles, performance, and application scenarios of surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) probes, organic polymer Raman probes, DNA self-assembled Raman probes, and other types. It discusses the current technical limitations in substrate uniformity, fluorescence interference, and other aspects, as well as prospects for future development directions such as new material design and multimodal imaging.

Keywords

Raman Spectroscopy, Laser, Biomolecules, Medical Detection

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

拉曼光谱分析技术是以拉曼效应为基础建立起来的分子结构表征技术，其信号来源于分子的振动和转动。不同的物质具有不同的特征光谱，因此可以通过拉曼光谱作定性分析，同时根据物质光谱拉曼散射强弱的特点，可以对物质作定量分析。正因如此，激光拉曼光谱技术在物质鉴定、分子结构研究、化工过程、医学医药、生物化学、考古及宝石鉴定、化学样品分析、反恐技术、食品安全、地质及环境科学等各个领域都得到了广泛的应用，越来越受研究者的重视[1]-[5]。特别是激光拉曼光谱分析技术无需样品制备过程、无损探测技术、适合水溶液分析、速度快稳定性高，已在反恐禁毒领域逐步开始应用，奥运会、世博会等都采用了激光拉曼光谱仪来现场判别爆炸物等危险物品。而如今的生活中方方面面越来越需要探针，其广泛应用促进探针技术的应运而生和蓬勃发展。

2. 研究进展

拉曼成像是一种基于分子振动产生的散射光谱的光学成像技术。拉曼成像在活体生物成像中具有很大的前景，主要是因为拉曼成像的指纹特征有助于避免成像对生物体背景信号的干扰。此外，拉曼成像能够抵抗光漂白和光降解，适用于生物组织的多次和长期成像。目前用于活体生物成像的拉曼探头主要基于表面增强拉曼光谱(SERS)的原理。SERS 探头采用无机金属材料(Au、Ag 等)作为基体，产生表面等离子体共振效应，使其表面吸附拉曼比的分子信号强度显著提高。表面增强拉曼光谱(SERS)探针的发展 SERS 探针通过金属纳米结构(如 Au、Ag)的表面等离子体共振效应，将拉曼信号增强 $10^6\sim 10^{14}$ 倍，是目前应用最广泛的拉曼探针类型。基底材料设计已从早期的粗糙金属表面发展到有序纳米阵列(如纳米棒、纳米碗)及复合结构(如 Au@SiO₂ 核壳结构)，显著提升了信号增强效率。例如，AgNPs/SiO₂ 纳米碗基底在多环芳烃检测中展

现出优异的灵敏度与重复性。然而, SERS 基底的均匀性与批次重复性仍是主要挑战, 电化学沉积、原子层沉积等技术虽可优化基底形貌, 但规模化生产难度较大。在生物医学应用中, SERS 探针通过修饰抗体、适配体等靶向分子, 实现了肿瘤标志物的原位检测。但金属纳米材料的生物相容性与代谢问题限制了其临床转化——Au 纳米颗粒在体内的长期滞留可能引发免疫反应, 而 Ag 的氧化降解会影响信号稳定性[6] [7]。

有机聚合物具有良好的生物相容性, 已被广泛用作活体成像的荧光成像探针。但由于这些有机高分子材料的荧光干涉高, 难以产生高灵敏度的拉曼信号, 有机高分子材料的拉曼成像探头很少见报道。为了解决这一难题, 研究人员着手调控聚合物的分子结构, 并选择在吸收波长和近红外激发波长之间具有合理相对位置的聚合物探针。这类探头的激发波长选择用于与吸收波长不一致的非共振激发光, 这确保了探头的拉曼信号不会受到其自身产生的荧光的干扰; 同时, 该探头在吸收波长和激发波长之间具有最佳距离, 这使得这类探头能够产生强烈的预谐振拉曼信号。该探针克服了常规有机高分子材料由于荧光干扰而难以产生高灵敏度拉曼信号的瓶颈, 在小鼠结肠癌模型中对微观转移性肿瘤进行体内成像, 实现了与 SERS 探针相当的空间分辨率能力; 还对微观血管进行了无创成像。该研究打破了目前拉曼探头对金属基底的依赖, 为开发高灵敏度、生物相容性和可代谢的聚合物拉曼探头提出了新思路[8]-[10]。

上海交通大学肖泽宇团队设计的聚合物探针, 通过调节吸收波长与近红外激发光的非共振激发, 消除了自身荧光干扰, 并利用“堆叠诱导电荷转移增强拉曼散射(SICTERS)”机理, 在小鼠结肠癌模型中实现了与 SERS 探针相当的微肿瘤成像分辨率。该类探针无需金属基底, 避免了生物毒性问题, 且可通过分子设计实现代谢降解, 为临床应用提供了新思路。

青岛科技大学祁新迪提出并设计了基于纳米技术和 DNA 自组装的新型拉曼探针的方法, 通过设计 3 种具有不同碱基序列的茎环 DNA, 并通过金硫键修饰金纳米颗粒表面的茎环 DNA, 以产生生物金纳米条形码。链在 DNA 存在下触发, 互补碱基对的原理与 DNA 链的 DNA 链和 DNA 棒, 端杆的裸 DNA 棒与另一个互补 DNA 分子的杆圈打开配对和裸露的 DNA 链, 从而触发一系列 DNA 的自组装棒, 得到具有分支结构的终极纳米球, 即对于新型拉曼探针所需的, 通过棒和环的 DNA 分子的自组装, 可以将大量的拉曼信号分子和纳米金结合起来, 从而对拉曼信号进行放大。这种基于核酸纳米技术的探针设计, 为生物标志物的超灵敏检测提供了平台化策略。

近年来, 激光拉曼光谱研究了多种生物聚合物的结构及在水溶液中的结构和 pH 值, 用于研究离子强度与极化温度的关系。在生物系统的研究中, 表面增强拉曼散射不仅可以直接分析含水生物分子的结构状态, 而且样品量少, 与其他方法相比具有明显优势。研究人员利用表面增强拉曼技术进行氨基酸、羧基、特定分子群的生化、生物物理学、解决了分子生物学方面的诸多课题, 使用在线拉曼光谱对阿司匹林合成反应过程的实验跟踪, 可以直接观察反应过程中系统拉曼光谱的时间变化, 利用小波变换去除光谱背景后, 采用多波长线性回归的方法实时地对实验数据进行实验跟踪, 得到实验中各分量的时间相关相对浓度。半胱胺小分子在银基表面的吸附模式和机理利用表面增强拉曼散射光谱进行了详细的探索和研究。利用分子光谱探索了含硒酶活性的机理, 为进一步提高酶活性奠定了基础。Vergote 使用傅里叶变换拉曼光谱(与光纤探针结合)检测了药物的合成过程。实验结果表明傅里叶变换拉曼光谱是一种成功的检测方法[11] [12]。

拉曼光谱不被红外光谱吸收, 但可以确认无机原子团的结构, 在拉曼光谱中表现出强烈的偏振光。例如, 使用拉曼光谱可以检测水溶液中的汞离子, 文献中也有使用拉曼光谱检测晶体结构的报道, 冯敏等人研究了用拉曼散射方法改进的 Lely 方法生长的 SiC 单晶的质量, 他们的样品结构为 6H-SiC, 样品中包括 4H-SiC 晶体形态。首次提供 SiC 100~400 cm^{-1} 范围的拉曼光谱。Nakashima 还使用拉曼散射来研究 SiC 晶体内部结构中的缺陷。SiC 晶体内部结构中的缺陷也有 X 射线绕射、电子扫描、可以使用离子柱分析和响应磁场的光谱进行检测。程红燕用拉曼光谱研究了 C60 衍生物。C60 衍生物的拉曼光谱显示有机

官能团的存在导致了 C60 分子结构的变化,表现出明显的差异。Prabaker 使用 Cd_{0.6}Zn_{0.4}Te 多晶薄膜的拉曼光谱分析其结构。拉曼散射实验表明薄膜表面被 Te 腐蚀和氧化,测试结果与 XPS 测试结果一致[13]-[15]。

随着 CCD 探头和光纤在傅里叶变换拉曼光谱中的应用,噪声、光谱范围和精度都有了很大的提高。具有色谱仪和多通道探测器的广义二维 FT 拉曼相关光谱和近红外 FT 拉曼光谱的快速发展;而多元分析方法的应用,将拉曼光谱应用于过程监测和定量分析,拉曼技术在聚合物科学中的重要性日益增加,一般使用红外光谱来研究氢键聚合物的相容性,振动光谱对无氢聚合物混合物中特殊的相互作用研究报道较少。最近开发出的广义二维 FT-Raman 相关光谱可以通过选择相关关系来确定各种分子之间的相互作用和混合物中的特殊相互作用及其相容性之间的关系,包括无水混合物的组成及其结构,不仅提供了特殊相互作用和相容性的信息,还研究了相容性和氢键的关系[16] [17]。

拉曼光谱用于胃癌鉴别与诊断的研究 10 年有余,从机理探讨到临床应用可谓包罗万象,其中研究对象包括离体胃癌组织、胃癌细胞和胃癌活体的研究手段。包括傅立叶变换拉曼光谱,显微拉曼光谱和光纤拉曼光谱等。尽管上述研究结果都在一定程度上证实了拉曼光谱能够鉴别胃癌,但没有文献报道同时采用光纤拉曼和显微拉曼光谱研究胃癌组织。

华中农业大学理学院《光纤和显微拉曼光谱结合化学计量学鉴别胃癌组织》一文从病理学研究角度认为生物组分的拉曼光谱解析十分重要,但拉曼光谱应用于临床诊断研究,其数据的化学计量学处理与诊断模型的建立显得更为重要。为了将胃癌组织与正常组织区分开来,仅仅凭借经验方法(如单个或几个谱峰、峰面积、强度和形状)作为判断依据,有失偏颇。胃癌组织生物成分复杂、结构多样,应该采用拉曼光谱指纹波段的全光谱信息进行鉴别。已有文献报道采用多元统计分析拉曼光谱,其诊断效果优于经验分析方法。上述研究采用近红外光纤拉曼光谱和显微拉曼光谱对离体胃癌组织和正常组织进行鉴别诊断研究。前者从宏观层次偏重临床应用后者从微观层次偏重谱图解析和病理学机理探讨。对于获取的拉曼光谱,结合化学计量学方法,将整个指纹波段的全谱信息作为变量,对正常和肿瘤组织光谱进行分类,并比较两种拉曼光谱系统实验结果的异同,分析拉曼光谱诊断胃癌从原理到临床应用的一致性。

3. 研究不足及发展方向

尽管拉曼探针都得到了很大的进展,其性能有了很大程度的提高,但在实际应用中仍然有以下不足:

(1) FT-Raman 有温度漂移,试样移动对光谱影响大;(2) SERS: 基衬重线性与稳定性难以控制;(3) RRS: 荧光干扰,热效应,要求光源可调;(4) 共聚焦拉曼的荧光干扰;(5) 高温拉曼: 热辐射影响光谱稳定性。各类拉曼探针的机制、性能及使用范围总结于表 1。

Table 1. The mechanisms, performances, and application scopes of various Raman probes

表 1. 各类拉曼探针的机制、性能及使用范围

探针类型	增强机制	典型材料	生物相容性	主要应用场景
SERS	表面等离子体共振	Au/Ag 纳米颗粒	中(金属毒性)	体外高灵敏检测、单细胞分析
有机聚合物探针	分子堆叠与非共振激发	共轭聚合物	高	高活体生物成像、术中诊断
DNA 自组装探针	纳米结构有序组装	DNA-金纳米颗粒	高	生物标志物多重检测、分子诊断
RRS 探针	电子共振增强	发色团分子	中(荧光干扰)	生物大分子结构分析、药物相互作用
二维材料基探针	电子-声子耦合与缺陷效应	石墨烯、MoS ₂	高	细胞内成像、纳米界面研究
MOF 基探针	多孔吸附与框架协同效应	ZIF、HKUST-1	中(水溶性限制)	环境监测、气体传感、药物控释

发展方向：探索新的拉曼活性材料和增强机制，如开发具有更高拉曼散射截面的分子或纳米材料，研究非贵金属或生物相容性好的材料作为基底[18][19]。像上海交通大学医学院肖泽宇教授团队发现的不依赖基底、仅通过自身堆叠实现高灵敏活体拉曼成像的小分子，提出的“堆叠诱导电荷转移增强拉曼散射(SICTERS)”机理，为设计生物安全的高灵敏拉曼影像探针提供了新思路。提高生物安全性：设计和开发生物可降解、无毒的拉曼探针，降低其在生物体内的潜在风险。例如，利用生物相容性好的高分子材料或天然生物分子来包裹或修饰探针，或者寻找本身就具有良好生物安全性的材料来制备探针。改善信号稳定性与重复性：优化探针的制备工艺和实验条件，提高信号的稳定性和重复性。同时，发展更先进的信号处理和校准技术，减少外界因素对信号的影响，提高定量分析的准确性。超高空间分辨率成像：结合超分辨成像技术，如受激发射损耗(STED)显微术、结构光照明显微术(SIM)等，进一步提高拉曼探针的空间分辨率，实现对细胞和生物分子更精细的成像和定位分析。多模态成像与联用技术：将拉曼探针与其他成像技术(如荧光成像、磁共振成像、电子显微镜等)相结合，形成多模态成像方法，充分发挥各种技术的优势，提供更全面的样品信息。此外，还可以与微流控技术、芯片技术等联用，实现样品的快速处理和高通量检测。智能化与自动化：利用人工智能、机器学习等技术，开发智能化的拉曼光谱分析软件，能够自动识别和解析光谱特征，实现对复杂样品的快速、准确分析。同时，推动拉曼探针仪器的自动化发展，提高操作的便捷性和效率。

4. 结论

拉曼探针成像技术在基底材料、信号增强机制及生物医学应用中取得了显著进展，尤其是有机聚合物探针与 DNA 自组装技术的突破，为解决传统 SERS 探针的生物相容性问题提供了新路径。未来研究需聚焦新型材料设计、多模态成像技术融合及智能化分析系统开发，推动拉曼探针在精准医疗、活体动态监测等领域的临床转化。发展兼具高灵敏度、生物安全性与成本效益的综合探针体系，仍是该领域的核心研究目标。

基金项目

2023年大学生创新创业训练计划项目 X202310160068; 2024年辽宁省自然科学基金项目 2024-MSLH-147。

参考文献

- [1] 黄雅雯, 闫冰冰, 董佳宁, 等. 古代文物血残留物分析测试方法研究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2025, 45(6): 1508-1513.
- [2] 陈翊, 姚梦竹, 李志鹏, 等. 水产品中微塑料的检测及其研究进展[J/OL]. 浙江农业科学: 1-11. <https://doi.org/10.16178/j.issn.0528-9017.20240652>, 2025-06-16.
- [3] 曾敏静, 马玮玮, 唐浴尘, 等. 拉曼光谱在细胞成像中的研究进展[J]. 分析测试学报, 2024, 43(1): 95-106.
- [4] 盖涛, 王少飞, 姜交来, 等. 表面增强拉曼散射(SERS)技术在铀酰离子检测方面的研究进展[J]. 材料导报, 2023, 37(S2): 115-122.
- [5] 李雨健, 沈微微, 殷金环, 等. 多炔彩虹探针在生物学研究中的应用与展望[J]. 中国细胞生物学学报, 2022, 44(12): 2375-2385.
- [6] 陈慧敏, 郇凤, 陈梦如, 等. 基于有机小分子的铜离子荧光探针[J]. 化工设计通讯, 2023, 49(8): 58-60.
- [7] 王小燕, 刘峥, 郭容婷, 等. 荧光可视化技术在食品分析中的应用进展[J]. 理化检验-化学分册, 2023, 59(11): 1357-1364.
- [8] 张晓淳, 江晓君, 霍志铭. 基于氮硫掺杂碳点黄色荧光增强效应选择性检测环境水体中的 Cu^{2+} [J]. 分析实验室, 2024, 43(6): 906-913.
- [9] 曾碧涛, 钟学芳, 赵志刚, 等. 基于黄酮醇的新型荧光探针的合成及应用研究[J]. 现代化工, 2023, 43(10): 251-

256.

- [10] 车秋燕, 周云雷. 碳量子点荧光探针的制备与应用[J]. 化工管理, 2023(24): 129-132.
- [11] 刘平, 齐晓彬, 刘毅恒, 等. 拉曼光谱技术在深空探测中的应用评述[J]. 科学通报, 2023, 68(27): 3634-3653.
- [12] 叶昕宇, 陈捷, 杨虹贤. 拉曼光谱在毒品检测中的应用[J/OL]. 刑事技术, 1-7.
<https://doi.org/10.16467/j.1008-3650.2025.0060>, 2025-07-03.
- [13] 周贯旭, 姜红, 胡晓光, 等. 基于差分拉曼光谱法和化学计量学的纸质快递文件袋的分类研究[J]. 理化检验-化学分册, 2024, 60(4): 418-422.
- [14] 赵迎, 沈学静, 李小佳. 基于消荧光差分拉曼光谱技术预测食用油复热时长[J]. 核农学报, 2023, 37(10): 2034-2041.
- [15] 王世强, 金艳, 姜慧芸, 等. AgNPs/SiO₂ 纳米碗表面增强拉曼光谱基底的制备及多环芳烃检测[J]. 分析试验室, 2024, 43(6): 805-813.
- [16] 黄璇莹, 罗锦霞, 李维嘉, 等. 新技术在食品微生物检验检测中的应用分析[J]. 食品安全导刊, 2023(24): 181-184.
- [17] 谢佳宁, 胡晓光, 姜红, 等. 差分拉曼光谱结合化学计量学对白色购物纸袋的检验研究[J]. 包装工程, 2024, 45(1): 215-222.
- [18] 程洪泽, 刁航, 张召凯, 等. 介电衬底上利用常压 CVD 直接生长石墨烯复合纳米银表面增强拉曼研究[J]. 表面技术, 2023, 52(8): 387-396
- [19] 常玉玺, 朱鹏帅, 李亨. 基于原子层沉积基底的液体分子表面增强拉曼作用距离分析[J]. 实验室检测, 2024, 2(2): 32-35.