

Progress in surface-enhanced Raman scattering (SERS) imaging of cellular functional molecules and related applications

杨媛娇, 陈云龙 and 鞠焜先

Citation: [中国科学 : 化学](#) **52**, 1601 (2022); doi: 10.1360/SSC-2022-0087

View online: <https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSC-2022-0087>

View Table of Contents: <https://engine.scichina.com/publisher/scp/journal/SSC/52/9>

Published by the [《中国科学》杂志社](#)

Articles you may be interested in

[Laser irradiation induced spectral evolution of the surface-enhanced Raman scattering \(SERS\) of 4-tert-butylbenzylmercaptan on gold nanoparticles assembly](#)

Science in China Series B-Chemistry **50**, 520 (2007);

[Industrial Applications of the Surface-Enhanced Raman Spectroscopy](#)

Oil & Gas Science and Technology - Revue d'IFPEN **48**, 261 (1993);

[Progress of the applications of surface-enhanced Raman spectroscopy in illicit drug detection](#)

SCIENTIA SINICA Chimica **51**, 294 (2021);

[Nanopillar-forest based surface-enhanced Raman scattering substrates](#)

SCIENCE CHINA Information Sciences **57**, 082407 (2014);

[Synthesis of gold nanostars with fractal structure: application in surface-enhanced Raman scattering](#)

European Physical Journal B **90**, 216 (2017);



细胞功能分子的表面增强拉曼成像及其应用研究进展

杨媛娇, 陈云龙, 鞠焜先*

南京大学生命分析化学国家重点实验室, 化学化工学院, 南京 210023

*通讯作者, E-mail: hxju@nju.edu.cn

收稿日期: 2022-04-21; 接受日期: 2022-05-23; 网络版发表日期: 2022-06-10

国家自然科学基金(编号: 21827812, 21890741, 21974063)资助项目

摘要 表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)具有高灵敏、高通量的特性. 基于SERS的拉曼成像技术是一种无损的生物成像技术, 已被广泛应用于细胞表面与细胞内生物分子的检测和成像, 如对聚糖、microRNA、蛋白质等分子的定量、结构分析与功能追踪等. 这一技术也已用于细菌的快速检测、细胞或细菌间的信号通讯研究、细胞pH检测, 并可通过活体肿瘤组织的边缘描绘指导手术切除. SERS成像可以规避生命体系中强的分子自荧光以及荧光成像中的光漂白现象, 并可以利用不同拉曼信标的指纹光谱实现高灵敏、高通量的生物成像. 通过与其他成像技术(如核磁共振成像、光声成像)的结合, SERS成像有望用于更复杂生命体系中生物分子的研究. 本文综述了近年来细胞功能分子的表面增强拉曼成像及其应用方面的研究进展.

关键词 表面增强拉曼光谱, 成像, 功能生物分子, 细胞分析

1 引言

表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)作为分子的指纹光谱, 具有高灵敏、高通量等优势, 已被广泛应用于化学、生物、材料、制药、环境、食品等领域的分析检测. 近年来, 用于分析物可视化检测的SERS成像技术广受关注. 在复杂生物体系中, SERS成像可以避免生命体系中的分子自荧光以及荧光成像中明显的光漂白和光降解现象^[1], 并可利用不同拉曼信标的指纹光谱进行高通量分析, 因此被广泛用于细胞相关生物功能分子的研究. 生命体系中SERS成像方法主要有标记法和非标记法两大

类. 非标记法是基于目标分子本身SERS信号的直接检测法, 在不引入额外拉曼信标分子时, 直接展现待测分子固有的拉曼特征以及吸附时的构象和取向等重要信息. 然而, 在复杂的生命体系中, 目标分子的SERS信号易被其他分子的SERS信号干扰甚至淹没, 因此常用标记法检测. 标记法是基于额外标记的拉曼信标分子的SERS信号来反映目标分子信号的间接检测方法, 此时SERS成像中标记的拉曼信标分子与荧光成像中的荧光分子类似. 相比于荧光标记成像, SERS成像具有信号稳定(无光漂白)、窄的拉曼峰宽利于多分析物的高通量分析、低的生物自荧光干扰(近红外激发)等优势^[1].

引用格式: Yang Y, Chen Y, Ju H. Progress in surface-enhanced Raman scattering (SERS) imaging of cellular functional molecules and related applications. *Sci Sin Chim*, 2022, 52: 1601–1608, doi: 10.1360/SSC-2022-0087

细胞相关功能分子种类繁多, 与细胞各种生命进程息息相关. 根据不同分子结构和特性, 可以设计个性化的SERS标记或非标记成像方法, 实现对聚糖、microRNA、蛋白质等分子的定量、结构分析与功能追踪, 细胞pH检测, 细菌快速检测和细胞或细菌间的信号通讯分析, 并可通过活体肿瘤组织的边缘描绘指导病灶部位的手术精准切除. 由于SERS成像的高灵敏、高通量优势, 这一技术已与其他生物成像技术如核磁共振成像(MRI)、光声成像等结合, 建立了部分的多模态成像方法, 有望用于更复杂生命体系中生物分子的检测.

2 SERS成像

2.1 细胞表面聚糖的SERS成像

糖基化是真核细胞中一种重要的蛋白质转录后修饰过程, 影响大量的细胞生理过程, 如细胞黏附、细胞迁移等. 细胞表面聚糖的原位检测近10多年来已得到广泛关注, 不同检测技术如电化学、化学发光、荧光、SERS、质谱等已被用于促进细胞表面聚糖分析方法的发展. 鞠焜先研究组^[2-4]发展了一系列基于拉曼信标分子标记的SERS成像策略, 实现了细胞表面聚糖的原位定量和成像. 该研究组首先构建了负载有聚糖包裹金纳米星(AuNSs)的二氧化硅浮球, 以及不同凝集素和拉曼信标修饰的金纳米粒子(AuNPs)探针. 通过凝集素与对应聚糖的识别作用实现细胞表面聚糖和浮球表面聚糖对不同AuNPs探针的竞争结合, 而后用SERS技术测定浮球表面结合的金探针量来精确反映细胞表面聚糖的量, 发展了细胞表面多组分聚糖的同时定量分析方法, 体现了SERS技术高通量和高灵敏的优势^[2]. 利用距离依赖性的SERS效应, 该研究组用两种不同粒径的AuNPs构建信号开关, 其一是用核酸适配体修饰较大粒径AuNPs识别目标蛋白质, 另一种是用环辛炔和拉曼信标共修饰较小粒径的AuNPs, 通过点击化学连接识别经过代谢标记的目标聚糖. 在小粒径的探针足够靠近大粒径探针时, 拉曼信标会以较大粒径AuNPs为拉曼基底产生的区域控制的SERS信号, 实现细胞表面特定蛋白上的聚糖成像及糖蛋白空间距离的原位检测, 克服了基于荧光共振能量转移(FRET)的分析策略中不能提供目标蛋白质上完整聚糖信息的问题(图1a)^[3]. 此外, 他们还构建了拉曼信标和苯硼酸

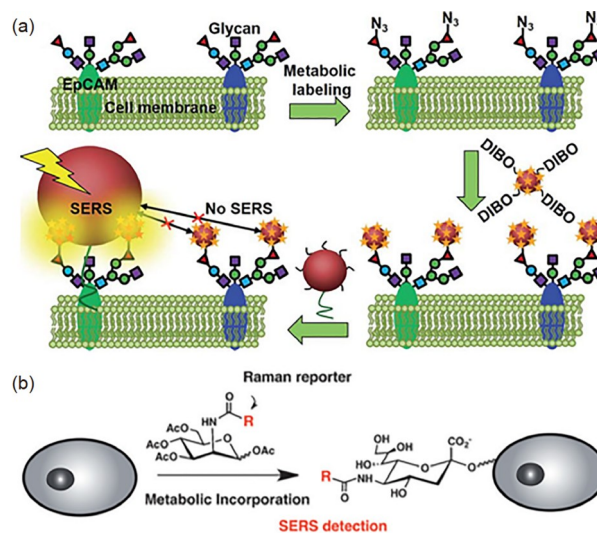


图1 细胞表面聚糖SERS成像. (a) 特定蛋白上的聚糖标记成像^[3]; (b) 特定聚糖的非标记成像^[6] (网络版彩图)

Figure 1 SERS imaging of glycans on the cell surface. (a) Labeled SERS imaging of protein-specific glycans ^[3]. (b) Label-free SERS imaging of glycans ^[6] (color online).

共修饰的金纳米花探针以及拉曼信标和聚唾液酸共修饰的AuNPs探针, 利用苯硼酸与唾液酸的识别作用, 在细胞表面唾液酸形成的核-卫星纳米结构通过金纳米花的多枝结构产生更多SERS热点, 实现细胞表面唾液酸的SERS成像^[4]. 朱俊杰研究组^[5]同样采用标记法, 利用石墨烯量子点包裹的AuNPs对拉曼信标分子SERS信号极大的增强作用, 实现了细胞表面唾液酸成像. 与此同时, 陈兴研究组^[6]发展了几种细胞表面聚糖的非标记SERS成像方法. 他们直接用含拉曼信标的糖类类似物处理细胞, 产生带信标的唾液酸, 通过唾液酸与苯硼酸的识别作用连接AuNPs, 产生处于细胞沉默区的SERS信标峰, 实现细胞表面唾液酸的一步法直接成像. 该SERS成像方法还可拓展至对细胞膜蛋白以及细胞表面受体的研究(图1b). 该研究组还合成出可用于细胞培养的SERS基底, 分别对细胞表面糖、蛋白质、脂质进行新陈代谢标记, 连接特异的细胞沉默区拉曼信标, 产生特异性的SERS信号, 拓展出一种细胞表面不同分子SERS检测的通用方法^[7].

2.2 细胞内microRNA的SERS成像

MicroRNAs (miRs)是一类长度约为19~23个的非编码RNA, 常被用作疾病状态和治疗进程判断的生物

标志物。MiRs的SERS检测方法通常基于miRs与纳米探针上核酸序列杂交,引起纳米基底和拉曼信号距离改变,进而产生拉曼信号变化。基于这一信号开关,胥传来与匡华研究组^[8]首先将羧基荧光素(FAM)标记的DNA链组装在氧化石墨烯-AuNPs上制得检测探针,在探针转染至细胞内后,DNA链与细胞内miR-21杂交引起AuNPs脱离氧化石墨烯,导致拉曼信号降低,从而对细胞内miR-21进行SERS成像检测,该方法的检测限(LOD)为 $0.03 \text{ amol ng}^{-1}$,对临床疾病的准确诊断有重要意义。次年,该课题组又利用细胞内miR-21与两种金棒上不同的单链DNA杂交,引发金纳米棒(AuNR)的聚集产生强的SERS信号,用于细胞内miR-21的成像和半定量检测,这种细胞内纳米二聚体的形成还可用于研究生物分子之间的相互作用^[9]。田阳研究组^[10]设计了两种富G链修饰的DNA发夹(G-DNA),在富G链嵌入Cu(II)酞菁后将发卡吸附在六方氮化硼纳米片(h-BNNS)表面,构建了一种多功能探针。在发卡与miR-21杂交后,产生与h-BNNS作用力更弱的双链DNA,导致G-DNA从h-BNNS脱落,使Cu(II)酞菁的拉曼信号降低。该方法对细胞内miR-21检测的LOD达到 0.70 fM ,另外此探针还可用于疾病的早期监测、指导早期治疗,实现肿瘤的消除。杨黄浩与宋继彬研究组^[11]设计了一系列双面核-壳纳米间隙二聚AuNPs,在纳米间隙中装载2-萘硫酚(2-NAT)作为内标拉曼信标分子,在二聚AuNPs间修饰4-巯基苯甲腈(4-MBN)用于miR-21的SERS传感,二聚AuNPs间杂交的分子信标在响应细胞内miR-21后,引发二聚AuNPs的分离及4-MBN信号的下降,最终可以利用4-MBN和2-NAT拉曼信号的比值来定量和成像细胞与活体肿瘤内的miR-21。该不对称二聚组装体结构已用于各种刺激响应连接体体系(如抗原抗体、适配体)的检测(图2)。

2.3 细胞pH的SERS成像

pH是细胞生理活动最重要的调节因子之一,即使微弱的pH变化都会影响蛋白酶的活性,进而影响众多生命过程。任斌研究组^[12]在玻片上锚定AuNPs后,修饰pH敏感的拉曼信标分子4-巯基吡啶(4-MPy),在细胞黏附后进行细胞外pH的实时成像,并监测了由转化生长因子- β 引发的细胞凋亡过程中pH的变化,有助于理解更多细胞外pH相关的生物和病理问题。该研究组进一步开发了细胞内pH的SERS成像方法。通过在AuNPs表

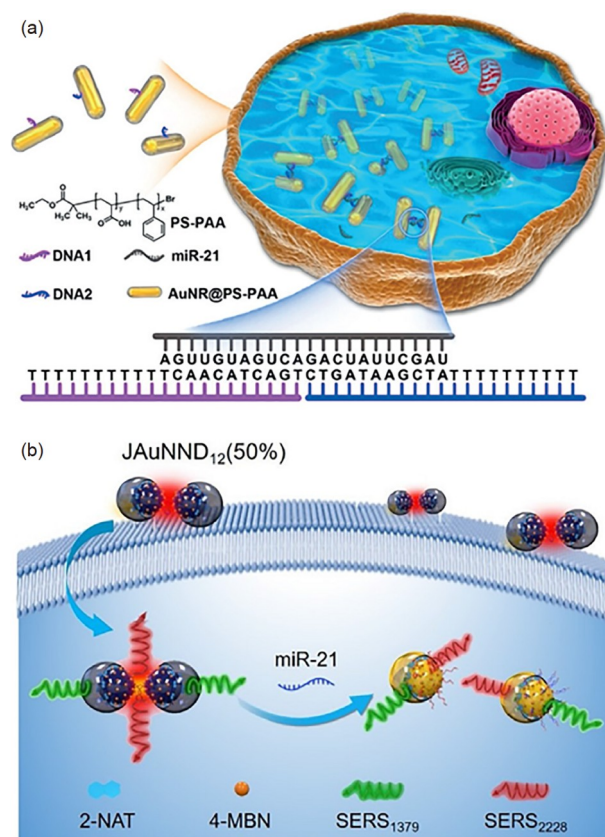


图2 (a) AuNR手性并联二聚体^[9]; (b) 双面核-壳纳米间隙二聚AuNPs^[11]用于MicroRNA-21的SERS成像(网络版彩图)

Figure 2 The formation of (a) AuNR chiral side-by-side dimers^[9] and (b) Janus core-shell nanogapped gold nanoparticles^[11] for SERS imaging of miRNA-21 (color online).

面修饰可响应pH变化的4-MPy、牛血清白蛋白(用于稳定AuNPs)和半胱氨酸封端的穿膜肽(Tat, 提高探针的细胞内化效率),构建了一种pH响应的SERS探针,用于细胞内pH成像和细胞周期中pH变化的连续监测,有助于揭示细胞内pH相关的生物和病理问题(图3)^[13]。

2.4 蛋白质的SERS成像

不同蛋白质在细胞中的结构、功能和分布都有很大差异。因此,蛋白质相关SERS成像策略的设计也大不相同。刘震研究组^[14]发展了一种体内微萃取(用于富集特定蛋白)和等离子体增强拉曼散射技术(PERS)联合的单细胞等离子体免疫三明治阵列,用于定量测定单细胞内低丰度蛋白,对深入理解生物过程和疾病具有重要意义。端粒是一种特殊的DNA-蛋白质复合物,其长度与癌症和动脉硬化密切相关,因此对端粒长度

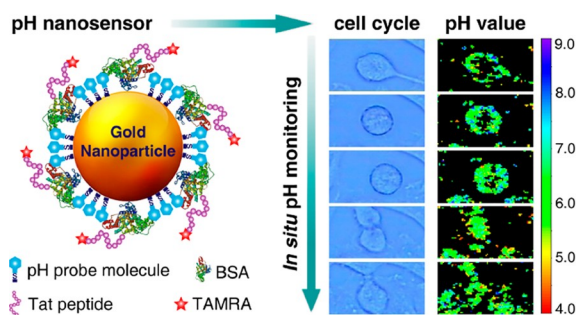


图3 细胞内pH的SERS成像^[13] (网络版彩图)
Figure 3 SERS imaging of pH in cells [13] (color online).

进行评估在生物医学中具有重要意义。崔一平研究组^[15]设计了两种分别由1,4-苯二硫醇(BDT)和端粒特异性DNA共修饰, 以及5,5'-二硫双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)和着丝粒特异性DNA共修饰的银壳包裹AuNPs探针。两种探针分别与端粒和着丝粒原位杂交, 端粒越长, 杂交的AuNPs探针越多, 对应BDT的拉曼信号越强。着丝粒的长度在细胞增殖中是稳定的, 其杂交的AuNPs探针上DTNB的拉曼信号可以作为内标信号。因此, 端粒的长度可以用端粒和着丝粒上杂交的AuNPs数量比值进行评估, 为端粒或端粒酶相关疾病的研究、诊断、治疗提供了新方法。Pinaud研究组^[16]将全长的绿色荧光蛋白(GFP)分裂成两个互补片段: 大的GFP1-10域和小的M3肽段域。将两个片段分别修饰到两个AuNPs上, 当两个GFP片段互补折叠成GFP时, 可诱导两个AuNPs组装形成AuNPs之间热点, 且互补产生的GFP生色团正好处于热点中且被激活, 产生强的SERS信号。该策略解决了控制形成的纳米结构的热点以及在复杂生物环境中纳米探针的位点特异性SERS激活问题。

生物膜孔广泛存在于细胞表面, 膜孔修复过程的监测对于其机理研究十分必要。基于SERS的高灵敏特性, 鞠焜先研究组^[17]用环辛炔修饰成孔蛋白(SLO-DBCO), 在细胞膜上聚集产生膜孔, 再通过点击化学反应连接拉曼信标和叠氮聚乙二醇(PEG-N₃)修饰的AuNPs。AuNPs聚集产生强SERS信号。在细胞修复过程中, 膜孔瓦解导致拉曼信号降低, 直至膜孔完全修复。通过拉曼信号的变化实现了整个修复过程的动态追踪, 为膜孔相关疾病的诊断和治疗提供了理论基础(图4a)。细胞SERS成像中拉曼信标分子的拉曼位移多处于指纹区, 易与细胞中处于指纹区的生物分子的拉

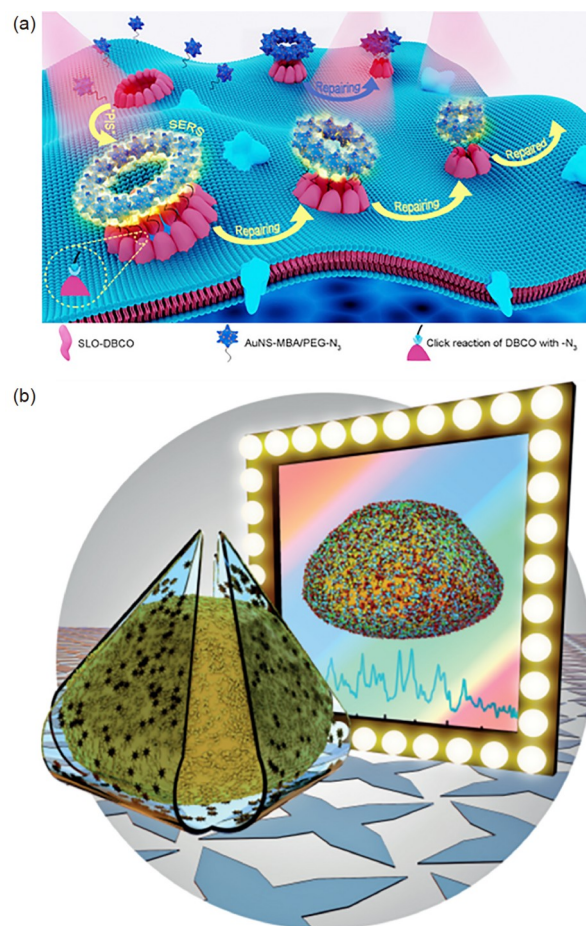


图4 细胞表面蛋白SERS成像。(a) 成孔蛋白诱导的SERS策略用于动态监测细胞膜的修复过程^[17]; (b) 机械捕获SERS用于单细胞的三维表面分子成像^[19] (网络版彩图)
Figure 4 SERS imaging of protein on the cell surface. (a) Pore-forming protein-induced SERS strategy for dynamic monitoring of cell membrane repair [17]; (b) mechanical trap SERS for three-dimensional surface molecular imaging of single live cells [19] (color online).

曼位移重叠, 影响信号的准确性。因此, 需开发处于细胞静默区(1800~2600 cm⁻¹)的拉曼信标分子。胡继明研究组^[18]分别在两种AuNPs上修饰炔基和叠氮报告分子, 通过两种探针之间的点击化学反应引发探针聚集产生强SERS信号, 称为“click SERS”, 实现了多种标志物的同时检测以及细胞中生物分子(如表皮生长因子受体(EGFR))的准确SERS成像, 证明拉曼散射可作为生物医学中可靠的光学分析方法。Gracias研究组^[19]设计出一种机械捕获SERS, 用于单细胞表面分子的三维成像。机械捕获利用双分子层的应力差异使机械透明臂折叠弯曲捕获单细胞, 机械臂内侧修饰的金纳米

星在臂弯曲包裹住细胞时接触细胞, 可实现对细胞表面多种生物分子的原位SERS成像. 细胞被捕获后48 h内仍有活性, 可以通过SERS监测细胞长时间的生命过程, 为活细胞群提供生物学可解释的动态定量分子图谱(图4b).

2.5 活体组织SERS成像

肿瘤组织由肿瘤细胞组成, 基于AuNPs的SERS成像已广泛用于活体组织中重要分子的检测. Kircher研究组^[20]用二氧化硅包裹拉曼信标修饰的AuNPs, 制得高稳定性和生物安全性的SERS NPs, 开发了多种基于SERS NPs的方法, 用于脑胶质瘤、肝脏肿瘤、乳腺癌、卵巢癌等不同肿瘤的SERS成像. 他们用手持式拉曼仪激发, 使聚集在脑胶质瘤的SERS NPs产生强的SERS信号, 与白光成像结合, 实现近实时脑瘤成像, 并引导脑瘤切除. 通过静脉注射, SERS NPs只在正常肝脏组织中聚集, 不在肝脏肿瘤内聚集, 保证对肿瘤轮廓高对比度、高准确度和高分辨率的成像, 且肿瘤的SERS成像比ICG染色的荧光成像更精确且不受光漂白影响^[21]. 在SERS NPs上修饰黏蛋白1 (MUC1)适配体, 可特异性识别乳腺癌细胞表面过表达的MUC1, 将探针靶向到乳腺癌, 用于肿瘤SERS成像, 有望成为替代基于抗体的靶向策略^[22]. 该研究组还提出一种比率SERS成像方法, 分别用叶酸受体抗体与PEG修饰SERS NPs, 前者靶向卵巢癌上过表达的叶酸受体, 而PEG修饰的SERS NPs由于不具备靶向功能而将组织全染, 由此可利用两种探针的SERS成像信号的比值用于卵巢癌成像(图5)^[23]. 叶坚和肖泽宇研究组^[24]设计了一种新型SERS探针-间隙增强拉曼标签(GERT), 即硅壳包裹的间隙嵌入拉曼染料分子的金核壳粒子, 可以防止染料分子接触复杂环境而导致的信号漂移. 将GERT导入活体内可实现肿瘤切除过程中肿瘤残余的SERS成像检测, 指导手术进行, 还可利用GERT的光热特性消除残余肿瘤部位, 在精准医疗领域具有应用前景. 叶坚研究组^[25]接着利用叶酸修饰GERT和GERT的SERS成像信号比值来检测转移性淋巴结, 该方法在诊断淋巴结转移方面可能优于现有的组织病理学评估, 有望指导未来的外科手术.

在活体组织成像中, 单一的成像模式通常无法同时满足复杂生物系统对于成像时间分辨率、空间分辨率、灵敏度等多项要求, 多模态成像已被广泛应用于

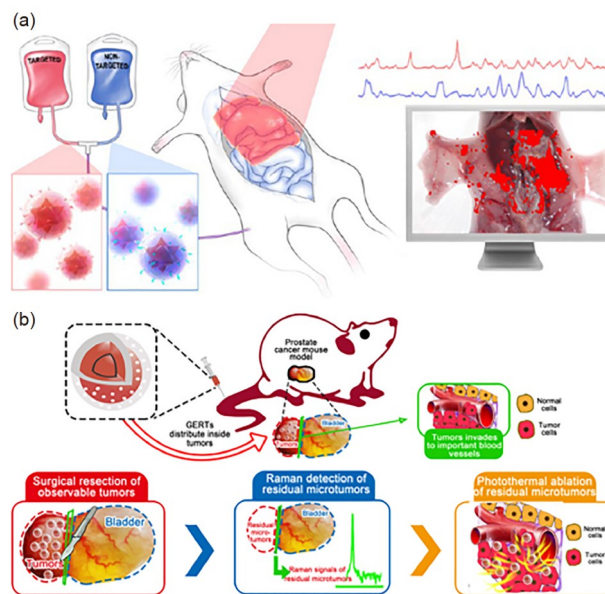


图5 组织SERS成像. (a) 叶酸靶向的SERS比率探针用于卵巢癌成像^[23], (b) 间隙增强拉曼标签用于肿瘤成像和治疗^[24] (网络版彩图)

Figure 5 SERS imaging of tissue. (a) Folate-targeted SERS nanoprobe ratio-metry for imaging of microscopic ovarian cancer ^[23]; (b) gap-enhanced Raman tags (GERTs) for imaging of cancer imaging and therapy ^[24] (color online).

复杂组织和活体分子成像. Gambhir研究组^[26]将MRI、光声成像、拉曼成像结合起来, 设计合成了一种多模态Gd³⁺修饰的SERS NPs, 利用MRI在术前和术中对全脑肿瘤轮廓进行定位, 通过光声成像进行肿瘤高空间分辨和三维成像、拉曼成像实现肿瘤边缘的高灵敏度、高特异性和高分辨率表面成像, 这种新的三模态纳米颗粒方法有望实现更精确的脑肿瘤成像和切除.

2.6 细菌SERS成像

细菌属于细胞的一种. 细菌检测往往需要耗时的培养, 步骤繁琐复杂、灵敏度低. 因此开发无需长时间细菌培养即可及时测出细菌的分析方法将有利于快速判断和临床早期诊断. 夏志平研究组^[27]在金黄色葡萄球菌表面连接特异的核酸适配体, 以适配体为模板用于银纳米粒子(AgNPs)在细菌表面生长, 实现了SERS信号的原位放大和细菌的免标、灵敏、快速、低成本SERS检测. 该策略为创建基于SERS的生物芯片, 用于混合样本中快速原位细菌检测迈出了关键一步. 段忆翔研究组^[28]在AuNPs修饰的磁性纳米颗粒上

设计DNA机器人,用于磁性分离体外SERS检测鼠伤寒沙门氏菌.这种将SERS标签从生物基质中分离的策略使SERS光谱具有较高的稳定性和良好的重复性,为生物材料的SERS检测提供了新手段. Wang研究组^[29]在阳极氧化铝上生长AgNPs和万古霉素,设计了一种灵敏的SERS芯片.它可从复杂体系中抓捕细菌、免标记原位检测细菌、区分不同细菌以及监测细菌对抗生素的响应,在建立基于SERS的多功能生物芯片踏出了关键一步.何耀研究组^[30]在硅片上修饰AgNPs和4-巯基苯硼酸(4-MPBA),开发了一种多功能SERS芯片. AgNPs既可作为灵敏的SERS基底又可释放出Ag⁺直接杀死细菌;4-MPBA用于细菌的抓捕,且不会干扰细菌指纹峰区的谱峰.该工作为开发临床或环境样本中致病菌的抓捕、SERS成像以及灭活的多功能平台提供了良好的机会.

细菌在自然界中常以生物膜形式存在,细菌之间的通讯机制,如群体效应(QS),对于细菌对菌群密度和环境变化的响应至关重要,因此有必要开发无损且灵敏的成像方法用于细菌间的通讯研究. Liz-Marzán研究组^[31]基于细菌分泌物设计了3种检测基底:微孔聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)水凝胶包裹的金纳米棒、亚单分子层金球上覆盖TiO₂薄膜、SiO₂包裹的金纳米棒的超晶阵列,分别用于生长期的铜绿假单胞菌生物膜、细菌QS代谢产物(如绿脓菌素(pyro))的原位无标SERS检测,为以分泌分子为信号的细胞间通讯研究提供了有力工具. 鞠焜先研究组^[32]也设计了一种SERS贴片,用于细菌行为的SERS成像.通过在两片h-BNNS中间夹杂两种尺寸的AuNSs,在其上培养细菌,可实时监测细菌生长过程中pyro的分泌.在贴片上负载抗菌药

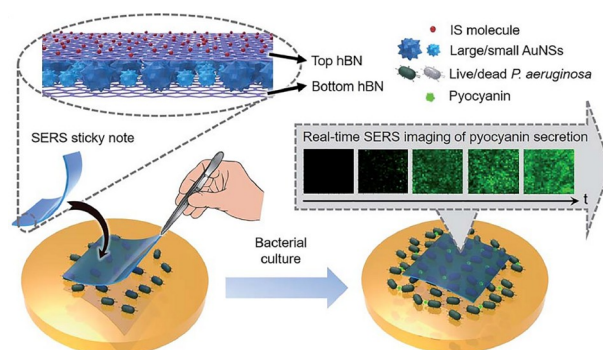


图6 细菌SERS成像.多功能SERS贴片用于实时群体效应追踪和细菌生物膜灭活^[32](网络版彩图)

Figure 6 SERS imaging of bacteria. A multifunctional SERS sticky note for real-time quorum sensing tracing and inactivation of bacterial biofilms^[32] (color online).

物还可对药物抗菌效果进行评估,因而为研究细菌行为和开发抗菌疗法提供了一个通用平台(图6).

3 总结与展望

SERS成像可实现生物功能分子可视化、定量、功能研究、活体组织的边缘描绘、细菌的早期检测和通讯机制分析,对生物医学影像、临床诊断和手术治疗等领域都有重要意义.但SERS成像应用于生物分析时仍存在一些未知问题.比如,将大的外来纳米探针引入生物体系测定时,是否会扰乱原本的生物平衡系统?高灵敏的SERS成像优势是否会引起测得的信号的假阳性?如何保证测得成像信号的真实性和稳定性?因此,SERS成像在生命体系中的应用还有极大的发展空间,将是SERS成像方法研究的重点方向之一.

参考文献

- 1 Zong C, Xu M, Xu LJ, Wei T, Ma X, Zheng XS, Hu R, Ren B. *Chem Rev*, 2018, 118: 4946–4980
- 2 Chen Y, Ding L, Xu J, Song W, Yang M, Hu J, Ju H. *Chem Sci*, 2015, 6: 3769–3774
- 3 Chen Y, Ding L, Song W, Yang M, Ju H. *Chem Sci*, 2016, 7: 569–574
- 4 Song W, Ding L, Chen Y, Ju H. *Chem Commun*, 2016, 52: 10640–10643
- 5 Miao X, Wen S, Su Y, Fu J, Luo X, Wu P, Cai C, Jelinek R, Jiang LP, Zhu JJ. *Anal Chem*, 2019, 91: 7295–7303
- 6 Lin L, Tian X, Hong S, Dai P, You Q, Wang R, Feng L, Xie C, Tian ZQ, Chen X. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 7266–7271
- 7 Xiao M, Lin L, Li Z, Liu J, Hong S, Li Y, Zheng M, Duan X, Chen X. *Chem Asian J*, 2014, 9: 2040–2044
- 8 Ma W, Sun M, Fu P, Li S, Xu L, Kuang H, Xu C. *Adv Mater*, 2017, 29: 1703410
- 9 Xu L, Gao Y, Kuang H, Liz-Marzán LM, Xu C. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 10544–10548
- 10 Liu J, Zheng T, Tian Y. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 7757–7761

- 11 Zhu R, Feng H, Li Q, Su L, Fu Q, Li J, Song J, Yang H. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 12560–12568
- 12 Xu M, Ma X, Wei T, Lu ZX, Ren B. *Anal Chem*, 2018, 90: 13922–13928
- 13 Zheng XS, Zong C, Wang X, Ren B. *Anal Chem*, 2019, 91: 8383–8389
- 14 Liu J, He H, Xie D, Wen Y, Liu Z. *Nat Protoc*, 2021, 16: 3522–3546
- 15 Zong S, Chen C, Wang Z, Zhang Y, Cui Y. *ACS Nano*, 2016, 10: 2950–2959
- 16 Köker T, Tang N, Tian C, Zhang W, Wang X, Martel R, Pinaud F. *Nat Commun*, 2018, 9: 9607
- 17 Yang Y, Chen Y, Guo J, Liu H, Ju H. *iScience*, 2021, 24: 102980
- 18 Zeng Y, Ren JQ, Shen AG, Hu JM. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 10649–10652
- 19 Jin Q, Li M, Polat B, Paidi SK, Dai A, Zhang A, Pagaduan JV, Barman I, Gracias DH. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 3822–3826
- 20 Karabeber H, Huang R, Iacono P, Samii JM, Pitter K, Holland EC, Kircher MF. *ACS Nano*, 2014, 8: 9755–9766
- 21 Andreou C, Neuschmelting V, Tschaharganeh DF, Huang CH, Oseledchik A, Iacono P, Karabeber H, Colen RR, Mannelli L, Lowe SW, Kircher MF. *ACS Nano*, 2016, 10: 5015–5026
- 22 Pal S, Harmsen S, Oseledchik A, Hsu HT, Kircher MF. *Adv Funct Mater*, 2017, 27: 1606632
- 23 Oseledchik A, Andreou C, Wall MA, Kircher MF. *ACS Nano*, 2017, 11: 1488–1497
- 24 Qiu Y, Zhang Y, Li M, Chen G, Fan C, Cui K, Wan JB, Han A, Ye J, Xiao Z. *ACS Nano*, 2018, 12: 7974–7985
- 25 Bao Z, Deng B, Zhang Y, Li X, Tan Z, Gu Z, Gu B, Shao Z, Di W, Ye J. *Biomaterials*, 2021, 276: 121070
- 26 Kircher MF, de la Zerda A, Jokerst JV, Zavaleta CL, Kempen PJ, Mitra E, Pitter K, Huang R, Campos C, Habte F, Sinclair R, Brennan CW, Mellinghoff IK, Holland EC, Gambhir SS. *Nat Med*, 2012, 18: 829–834
- 27 Gao W, Li B, Yao R, Li Z, Wang X, Dong X, Qu H, Li Q, Li N, Chi H, Zhou B, Xia Z. *Anal Chem*, 2017, 89: 9836–9842
- 28 Yang E, Li D, Yin P, Xie Q, Li Y, Lin Q, Duan Y. *Biosens Bioelectron*, 2021, 172: 112758
- 29 Liu TY, Tsai KT, Wang HH, Chen Y, Chen YH, Chao YC, Chang HH, Lin CH, Wang JK, Wang YL. *Nat Commun*, 2011, 2: 538
- 30 Wang H, Zhou Y, Jiang X, Sun B, Zhu Y, Wang H, Su Y, He Y. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 5132–5136
- 31 Bodelón G, Montes-García V, López-Puente V, Hill EH, Hamon C, Sanz-Ortiz MN, Rodal-Cedeira S, Costas C, Celiksoy S, Pérez-Juste I, Scarabelli L, La Porta A, Pérez-Juste J, Pastoriza-Santos I, Liz-Marzán LM. *Nat Mater*, 2016, 15: 1203–1211
- 32 Guo J, Liu Y, Chen Y, Li J, Ju H. *Chem Sci*, 2018, 9: 5906–5911

Progress in surface-enhanced Raman scattering (SERS) imaging of cellular functional molecules and related applications

Yuanjiao Yang, Yunlong Chen, Huangxian Ju*

State Key Laboratory of Analytical Chemistry for Life Science, School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, China

**Corresponding author (email: hxju@nju.edu.cn)*

Abstract: Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) has the characteristics of high sensitivity and high throughput. As a non-destructive biological imaging technology, SERS imaging has been widely used in biological analysis and imaging, such as quantification, structural analysis and functional tracking of glycan on cell surface, microRNA and protein in cells, analysis of cellular pH, describing the edges of tumor tissues to guide surgical resection, and quick detection of bacteria and bacteria communications. SERS imaging can avoid the strong molecular self-fluorescence in living systems and the photobleaching phenomenon in fluorescence imaging, and achieve highly sensitive and highly throughput bioimaging with fingerprint spectra of different Raman beacons. Combined with other imaging technologies (such as magnetic resonance imaging and photoacoustic imaging), SERS imaging is expected to be applied in the research of more complex living systems. This article reviews the recent research progress in surface enhanced Raman imaging of cellular functional molecules and its applications.

Keywords: SERS, imaging, cellular functional molecules, cell analysis

doi: [10.1360/SSC-2022-0087](https://doi.org/10.1360/SSC-2022-0087)