

AuNRs-PDMS 微柱结构的制备及 对被调控活细胞的无标记 SERS 检测

吴晓宇, 朱峰, 况源桁, 刘伯华, 孙崇玲, 王艳艳

(精密测试技术及仪器全国重点实验室, 天津大学精密仪器与光电子工程学院, 天津 300072)

摘要 设计制备了金纳米棒-聚二甲硅氧烷(AuNRs-PDMS)微柱结构, 利用微柱结构的地形特征作为机械线索进行细胞调控, 同时在微柱结构上组装 AuNRs 作为表面增强拉曼散射(SERS)基底, 用于被调控细胞的无标记 SERS 检测. 首先对比分析了利用溶剂蒸发法、吸附转移法和压印转移法 3 种 AuNRs 组装及修饰方法获得的 AuNRs-PDMS 微柱结构的 SERS 增强性能和结构均一性. 通过比较不同测试点处 4-巯基苯甲酸(4-MBA)的拉曼光谱信号变化发现, 由压印转移法获得的 AuNRs-PDMS 微柱结构具有较高的 SERS 增强性能, 同时也可保证基底的良好均一性, 相对标准偏差(RSD)为 7.3%, 表明该结构可以作为细胞无标记 SERS 检测的基底. 以间充质干细胞(MSCs)作为调控与检测对象, 将其分别培养于由压印转移法获得的 AuNRs-PDMS 微柱结构以及 AuNRs-PDMS 平面结构上, 发现受到微柱调控作用的细胞呈现出沿地形特征生长的特点, 并且细胞形貌发生了改变. 同时, 对细胞的无标记 SERS 检测结果表明, 被调控细胞的脂质含量增多, 蛋白质含量和分子键的拉伸振动模式也发生了改变, 这暗示了被调控细胞的接触导向和形貌变化与其脂质和蛋白质含量变化相关, 进一步揭示了细胞-基底的相互作用关系.

关键词 金纳米棒; 表面增强拉曼光谱; 细胞检测; 细胞调控

中图分类号 O657.37 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20240364

Fabrication of AuNRs-PDMS Micropillar Structure and Its Label-free SERS Detection for Regulated Living Cells

WU Xiaoyu, ZHU Feng, KUANG Yuanheng, LIU Bohua, SUN Chongling*, WANG Yanyan*

(State Key Laboratory of Precision Measurement Technology and Instruments, College of Precision Instruments and Optoelectronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract In this work, gold nanorods-polydimethylsiloxane (AuNRs-PDMS) micropillar was proposed, of which topographic feature could serve as mechanical cues for cell regulation, as well as AuNRs assembly on the micropillar could serve as surface-enhanced Raman scattering (SERS) substrates for regulated cell detection. Three fabrication routes, including solvent evaporation, absorption transferring and stamp transferring, were compared and optimized towards the construction of AuNRs-PDMS micropillar with high SERS enhancement and homogeneity. The SERS performance was determined by comparing the spectra changes of 4-mercaptobenzoic acid (4-MBA) at different test points on AuNRs-PDMS micropillar. Results demonstrate that AuNRs-PDMS micropillar by stamp transferring possesses acceptable SERS enhancement with the highest homogeneity, and the relative standard deviation (RSD) of SERS intensity is 7.3%, indicating the structure is a feasible SERS substrate for label-free cell detection. Mesenchymal stem cells (MSCs), the object for cell regulation and SERS detection, were cultured on the AuNRs-PDMS

收稿日期: 2024-07-26. 网络首发日期: 2024-11-05.

联系人简介: 王艳艳, 女, 博士, 副教授, 主要从事微纳传感器、微流控芯片和器官芯片等方面的研究. E-mail: yanyanwang@tju.edu.cn

孙崇玲, 女, 硕士, 工程师, 主要从事微纳传感器等方面的研究. E-mail: chlsun@tju.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 32371471)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.32371471).

micropillar by stamp transferring and AuNRs-PDMS flat control. Compared to their counterparts, MSCs regulated by the AuNRs-PDMS micropillar show growth direction along the topographic feature and morphology changes. Meanwhile, the variation of SERS spectra illustrates the increase of lipids and the changes of protein components as well as bond stretching vibrations during cell regulation, implying that the contact guidance and morphology changes of regulated cells are associated with cell component variations. The strategy builds a bridge between cell regulation and label-free SERS detection of the regulated cells, providing deeper insight into cell-substrate interactions.

Keywords Gold nanorod; Surface-enhanced Raman scattering; Cell detection; Cell regulation

表面增强拉曼散射(SERS)是一种不断发展的检测技术^[1-5], 由于其光谱中包含丰富的分子振动信息, 通过直接分析待测物产生的拉曼光谱信号即可进行成分的定性及定量检测, 这种方法被称为无标记SERS检测. 无标记SERS检测具有对样品损伤小、检测灵敏度和空间分辨率高及可多路复用性等优点, 但是细胞样品的成分复杂并且待测物的含量低会导致信号易被淹没于背景噪声中, 因此在细胞检测中设计合理的SERS基底以提高光谱的信噪比至关重要.

为了实现对细胞的无标记SERS检测, 通常有两种方式, 一种是分散于溶液中的SERS探针, 主要由纳米粒子或团簇构成, 通过与细胞共孵育的方式结合到细胞表面或被细胞内吞进入细胞内部, 从而实现对细胞的检测^[1,6]. SERS探针的灵活性好, 可适用于多种检测条件, 但易发生聚沉, 导致检测的稳定性和均一性较差. 另一种方式是将纳米粒子组装为固体的SERS基底, 通过设计纳米粒子的组装方式以增强电磁场耦合从而提高SERS增强效果, 并通过改进制备方法提高组装的均匀性, 进而提高检测的稳定性和均一性^[4,7]. 目前, 可实现纳米粒子组装的方法包括基于热力学过程的自组装、基于化学配体(如DNA链)辅助的组装以及基于外力(如磁场、电场)介导的组装^[8]. 利用化学配体或外力场的组装过程复杂且成本高昂, 而粒子自组装的过程由于实验简单、成本低廉受到了广泛关注. 粒子自组装方法主要包括溶剂蒸发自组装^[9,10]和水-油界面组装^[11,12]等, 通过调控实验参数(如溶剂蒸发时的环境温度、有机相试剂成分等)可获得不同纳米粒子组装结构^[13], 从而实现对待测物的高灵敏度、无标记SERS检测.

细胞调控是在体外实验中利用多种手段模拟真实体内环境, 进而研究并调控细胞生命活动的过程, 在组织工程领域具有重要的应用价值^[14]. 由于生长在真实体内的细胞会受到细胞外基质的地形特征、基质刚度及生化因子等多种因素的调控作用, 因此通常选择地形特征、基质刚度等易于调节的生物相容性材料, 如聚二甲基硅氧烷(PDMS)^[15,16]、水凝胶^[17]等作为细胞调控的基底, 用于模拟体内的细胞生长环境, 目前已实现了对细胞的接触导向、分化趋势、定向迁移等方面的研究^[18,19]. 但是这些生物相容性的细胞调控基底没有拉曼增强效应, 只依靠细胞本身产生的微弱拉曼信号无法提取出有效的生物成分信息, 因此难以实现对被调控活细胞的SERS检测. 此外, 对于活细胞的SERS检测, 受限于SERS基底或探针的结构, 被测对象通常为悬浮在培养液中的球状细胞或培养于平面上的细胞, 少有研究者关注受到机械线索调控后的活细胞变化.

为此, 本文设计了一种可直接对被调控活细胞进行SERS检测的金纳米棒(AuNRs)微柱结构, 通过将等离子体纳米粒子AuNRs修饰到PDMS微柱上的方式, 结合了AuNRs产生的SERS增强效应与PDMS微柱的地形特征, 实现了在细胞调控的同时对被调控活细胞进行无标记的SERS检测. 通过比较溶剂蒸发、吸附转移以及压印转移3种方法, 优化了AuNRs在PDMS微柱上的修饰效果. 将间充质干细胞(MSCs)分别培养于AuNRs-PDMS微柱及AuNRs-PDMS平面结构上, 利用地形特征调控细胞后, 比较了被调控细胞的SERS光谱差异, 并且分析了对应的成分变化.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

无水乙醇, 分析纯, 天津市元立化工有限公司; 正己烷, 分析纯, 天津市杰尔正化工贸易有限公司; 4-巯基苯甲酸(4-MBA)和1H, 1H, 2H, 2H-全氟癸硫醇(PFT), 纯度97%, 上海迈瑞尔生化科技有限

公司; 聚二甲基硅氧烷(PDMS)及固化剂, 陶氏化学(上海)有限公司; 超纯水(电阻率 $>18.20 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$); 间充质干细胞(MSCs)及其完全培养基, 武汉普诺赛生命科技有限公司.

Sorvall ST16型高速离心机、FEI FP 2031/12 Inspect F50型扫描电子显微镜(SEM)和Varioscan Lux型光谱扫描仪均购自美国Thermo Scientific公司; FD-1A-80型冷冻干燥机, 中国北京博医康实验仪器有限公司; LEXT OLS5000型3D测量激光共聚焦显微镜和BX53型正置显微镜均购自日本Olympus公司.

1.2 PDMS结构的制备

首先, 通过标准的MEMS工艺在硅片上刻蚀得到硅孔模板^[20,21]; 将10 g PDMS预聚物与1 g固化剂充分搅拌, 混合均匀后倒在硅孔模板上, 再放入冷冻干燥机中进行抽真空操作; 等待PDMS内部的气泡全部消除后, 将硅孔模板放置于80 °C烘箱中加热30 min使PDMS固化; 最后将PDMS从硅孔模板上撕下切成小块即可得到PDMS微柱结构. 利用平整的硅片倒模获得PDMS平面结构, 其制备过程及实验参数与PDMS微柱结构相同. PDMS结构的尺寸由3D测量激光共聚焦显微镜测得.

1.3 AuNRs-PDMS微柱结构的制备

AuNRs-PDMS微柱结构是通过将AuNRs修饰于PDMS微柱结构上获得的, 包括溶剂蒸发法、吸附转移法及压印转移法(图1).

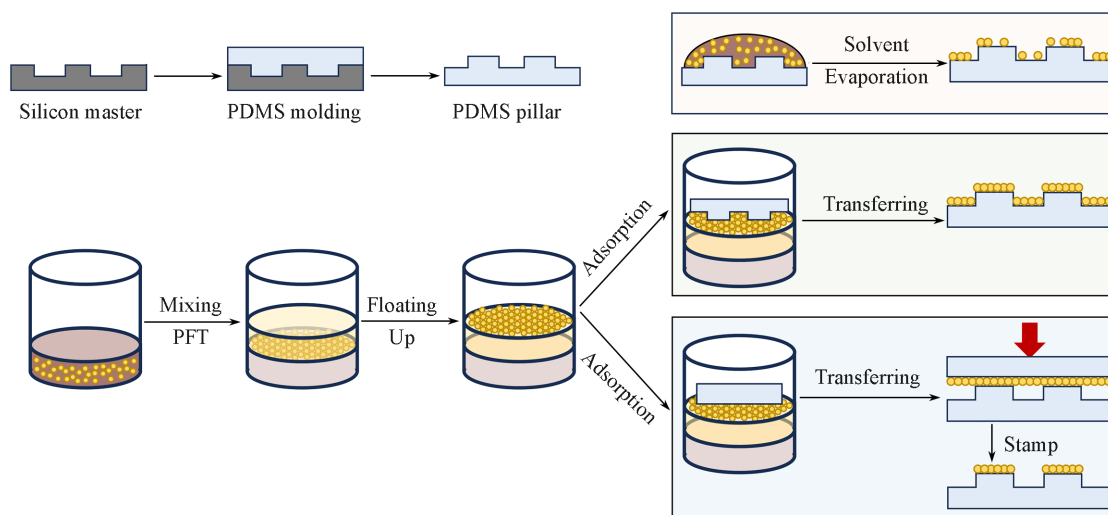


Fig. 1 Fabrication process of the AuNRs-PDMS micropillar by solvent evaporation, adsorption transferring and stamp transferring

1.3.1 AuNRs的合成 采用双表面活性剂辅助的种子生长法制得AuNRs^[22,23], 通过离心除去生长溶液后, 将AuNRs分散于超纯水中以便于长期保存. 利用扫描电子显微镜表征了AuNRs的形貌, 利用光谱扫描仪测定了AuNRs的吸收光谱.

1.3.2 基于溶剂蒸发法的AuNRs-PDMS微柱结构 通过控制AuNRs水溶液的溶剂蒸发过程, 使AuNRs修饰于PDMS微柱结构上的过程被称为溶剂蒸发法^[24]. 将10 μL 5 nmol/L AuNRs溶液直接滴加于PDMS微柱结构上, 在相对湿度85%的室温环境中静置10 h等待溶剂蒸发, 液滴蒸干后AuNRs形成自组装, 完成了PDMS微柱结构上的AuNRs修饰.

1.3.3 基于吸附转移法的AuNRs-PDMS微柱结构 通过水-油界面组装AuNRs^[12], 并利用吸附作用将AuNRs组装膜转移到PDMS微柱结构上的过程被称为吸附转移法. 将114.5 μL PFT、5 mL乙醇和5 mL正己烷混合制得有机相混合溶液. 取900 μL 浓度为5 nmol/L的AuNRs水溶液加入到12孔板中, 再向其中注入2 mL有机相混合溶液, 剧烈搅拌30 s使PFT与AuNRs充分接触, 再静置2 min可观察到AuNRs逐渐组装于水-正己烷界面处. 由于PFT不溶于正己烷, 利用移液枪轻吹AuNRs组装膜可将其从水-正己烷界面处转移到正己烷上层并与空气接触. 将PDMS结构面向AuNRs组装膜, 从上向下缓慢靠近并接触AuNRs, 通过吸附作用将AuNRs组装膜转移至PDMS结构上, 即可完成AuNRs-PDMS结构

的制备.

1.3.4 基于压印转移法的 AuNRs-PDMS 微柱结构 通过水-油界面组装 AuNRs, 再利用吸附转移法将 AuNRs 组装膜修饰于 PDMS 平面结构上, 以此作为 AuNRs 印章, 利用压印过程将 AuNRs 印章上的组装膜转移到 PDMS 微柱结构顶端的过程被称为压印转移法^[12,25]. 通过等离子体处理清洗 PDMS 微柱结构, 随后将 AuNRs 印章与 PDMS 微柱结构贴合并按压. 取下 AuNRs 印章后, AuNRs 组装膜即被转移于 PDMS 微柱顶端, 从而制得 AuNRs-PDMS 微柱结构.

1.4 SERS 光谱检测

将 AuNRs-PDMS 微柱 (或无 AuNRs 修饰的 PDMS 微柱) 置于 10 mmol/L 4-MBA 乙醇溶液中浸泡 30 min, 随后分别用无水乙醇和超纯水依次冲洗样品表面, 除去未结合的 4-MBA, 用氮气吹干后用于 SERS 光谱的检测. SERS 光谱由雷尼绍拉曼显微系统采集得到, 选用 50 倍长焦物镜, 激光波长为 785 nm, 激光功率为 3.2 mW. 每个光谱的采集时间为 1 s, 累积采集 3 次. 利用 Wire 4.1 软件减去光谱的基线后, 再利用 Origin 软件进行平滑处理和平均光谱的计算.

1.5 细胞培养及实验过程

将间充质干细胞 (MSCs) 培养于含 10% 胎牛血清的完全培养基中, 在 37 °C, 含 5% CO₂ 的湿润培养箱中生长. 将浓度为 2×10⁴ 个/mL 的 MSCs 播种于已紫外消毒的 AuNRs-PDMS 微柱或 AuNRs-PDMS 平面结构上, 培养 2 d 后进行无标记的 SERS 光谱采集. 完成 SERS 检测后立即对细胞进行固定、脱水、冻干和喷金处理用于细胞的 SEM 成像^[26,27].

2 结果与讨论

2.1 AuNRs-PDMS 微柱结构的制备

基于溶剂蒸发法在 PDMS 微柱结构上修饰 AuNRs 组装的过程如图 2(A) 所示. 溶剂蒸发自组装的操作过程简单、成本低, 是实验室中常用的自下而上的微纳加工方法, 通过控制蒸发环境的温度、湿度和基底的润湿性等条件即可在玻璃、柔性聚合物薄膜等材料表面实现均匀的组装效果^[8]. 本研究为了实现对被调控细胞的无标记 SERS 检测, 所用的 PDMS 微柱结构具有与细胞相近的特征尺寸, 其直径为 6.4 μm, 柱间距为 11.3 μm, 高度为 6.4 μm [图 2(B)], 并且 SEM 照片 [图 2(C)], 明场显微镜照片 (图 S1, 见本文支持信息) 和激光共聚焦显微镜测量结果 (图 S2, 见本文支持信息) 均证实了 PDMS 微柱

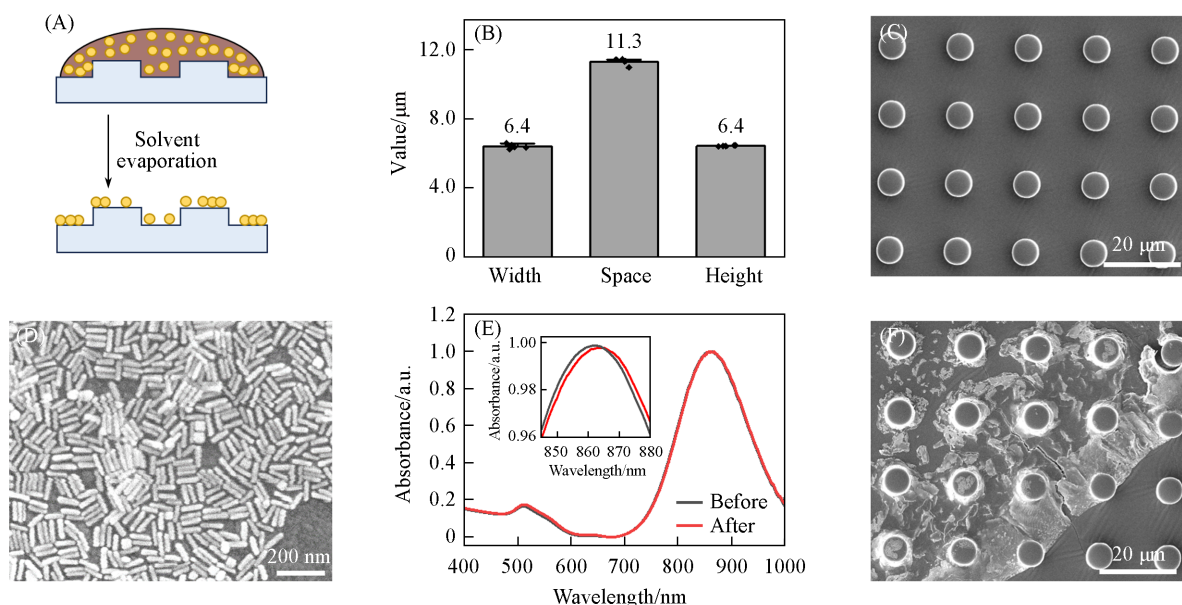


Fig. 2 Schematic of the AuNRs - PDMS micropillar by solvent evaporation(A), the dimension(B) and SEM image(C) of the PDMS micropillar without AuNRs modification, SEM image(D) and UV-Vis absorption spectrum(E) of the AuNRs, and SEM image of the AuNRs-PDMS micropillar by solvent evaporation(F)

结构的形貌和尺寸均一性. 为了获得较好的SERS增强效果, 用于构建SERS基底的AuNRs的均一性至关重要^[1, 24]. 图2(D)所示SEM照片证实了基于双表面活性剂种子生长法可制得AuNRs, 并且纳米棒的形貌和尺寸较均一. 在AuNRs的紫外-可见光吸收光谱中, 出现了位于520和862 nm的2个吸收峰[图2(E)], 分别对应沿AuNRs径向和轴向的两种偶极子振动模式, 也说明合成的纳米粒子具有棒状形貌^[28, 29]. 通过离心除去AuNRs的生长溶液后, AuNRs的吸收峰从862 nm红移至864 nm[图2(E)], 说明AuNRs表面的部分CTAB层被除去, 这有利于获得更均匀的AuNRs组装^[24]. 但是在PDMS微柱结构上, 该方法获得的AuNRs组装具有明显的咖啡环效应, 修饰效果不均匀[图2(F)和图S3(A), 见本文支持信息]. 分析其原因为三维结构上气-液-固界面变得极为复杂, 难以通过简单地调节实验条件消除咖啡环效应^[30].

基于吸附转移法的AuNRs-PDMS微柱结构的制备过程如图3(A)所示, 即先在气-液界面上获得一层均匀的AuNRs组装膜, 再通过吸附作用将AuNRs组装膜转移到PDMS微柱上, 以此实现对PDMS微柱的均匀修饰. 在加入PFT有机相溶液之前, 孔板中的AuNRs溶液由于对近红外波段具有强吸收能力而导致溶液呈现红褐色[图3(B)], 并且颜色深浅与AuNRs浓度有关^[12]. 加入PFT溶液后, AuNRs在水-油界面形成一层致密的组装膜[图3(C)], 利用吸附转移法将AuNRs组装膜转移到PDMS表面后, 孔板中剩余的AuNRs溶液颜色变浅, 吸收峰的峰值降低了99.25%, 说明该组装方法具有较高的AuNRs利用率, 可使绝大部分纳米粒子得以组装并通过吸附作用转移至PDMS上[图3(C)]. 与溶剂蒸发法相比, 利用吸附转移法将均匀的AuNRs组装膜转移至PDMS微柱结构上, 有效避免了咖啡环效应, 提升了组装的均一性[图3(D)和图S3(B)]. 但是, AuNRs的共聚焦反射图像显示, 在PDMS微柱区域以外, 即PDMS微柱的间隙处也存在着AuNRs的反射光[图3(E)], 表明在微柱间隙处也存在着大量的AuNRs组装. 该结果说明利用吸附转移法难以实现精准修饰AuNRs于PDMS微柱顶端.

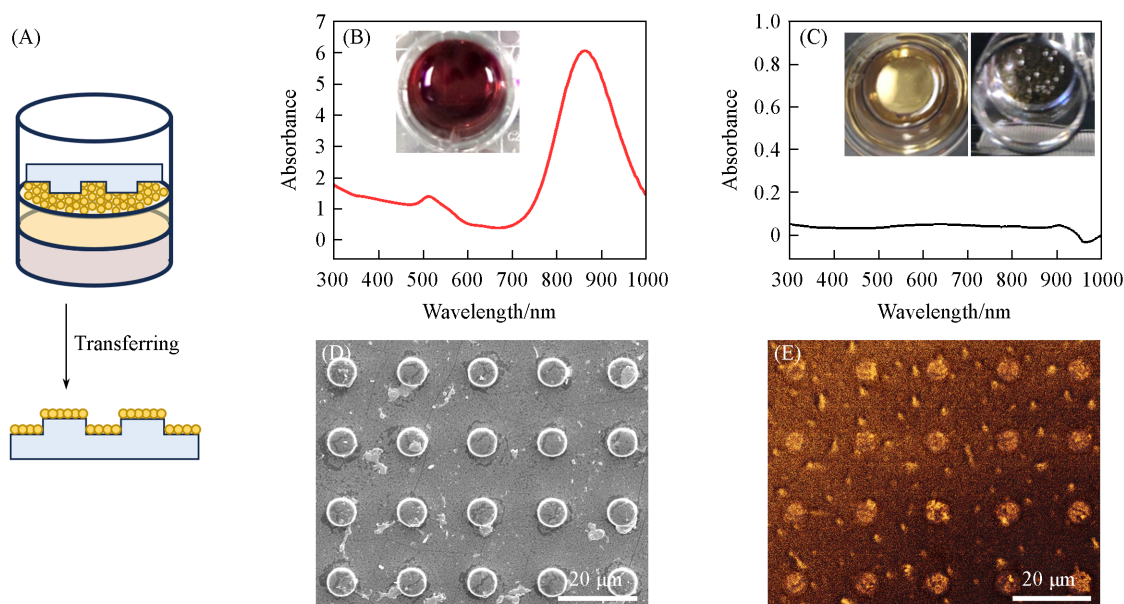


Fig. 3 Schematic of the AuNRs-PDMS micropillar by absorption transferring(A), UV-Vis absorption spectrum and images of AuNRs solution in a 12-well plate before(B) and after(C) interfacial assembly and absorption transferring, SEM(D) and confocal reflection(E) images of the AuNRs-PDMS micropillar by absorption transferring

基于压印转移法的AuNRs-PDMS微柱结构的制备过程如图4(A)所示, 即通过在PDMS微柱上压印AuNRs印章实现对PDMS微柱顶端的AuNRs修饰. 通过将AuNRs组装膜吸附转移到PDMS平面结构上获得AuNRs印章[图S3(C), 见本文支持信息], 将AuNRs印章与PDMS微柱结构贴合并按压获得AuNRs-PDMS微柱结构的效果如图4(B)和图S3(D)所示. 图4(B)中SEM照片显示AuNRs只修饰在

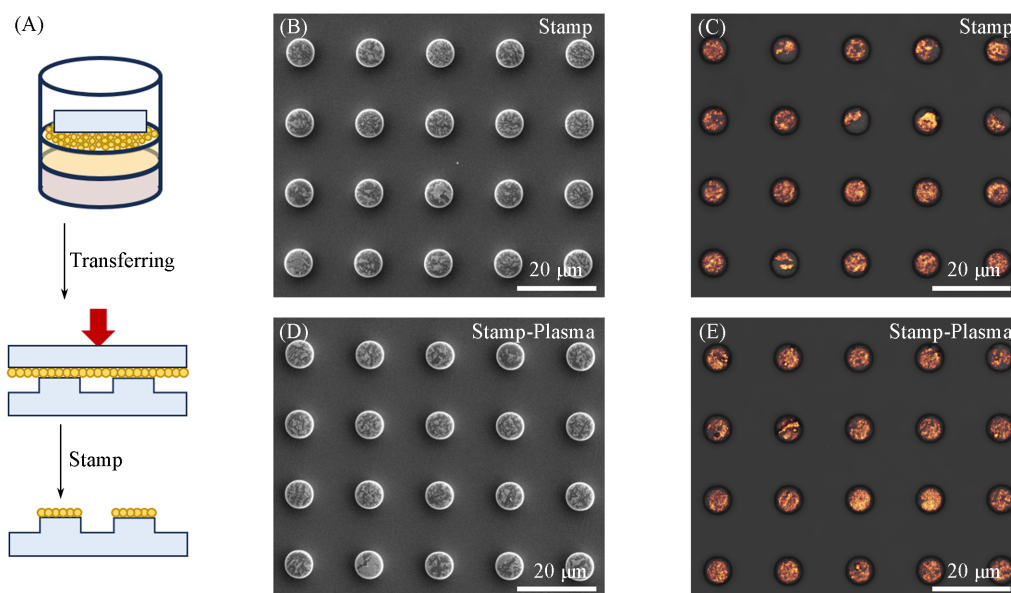


Fig. 4 Schematic of the AuNRs-PDMS micropillar by stamp transferring(A), SEM(B) and confocal reflection(C) images of the AuNRs - PDMS micropillar by stamp transferring, SEM(D) and confocal reflection(E) images of the AuNRs-PDMS micropillar by stamp transferring with plasma treatment

PDMS 微柱顶端，微柱间隙处没有 AuNRs 存在。同时，共聚焦反射图像[图 4(C)]显示只在 PDMS 微柱顶端产生了 AuNRs 的反射光，进一步证实了压印转移法可实现仅对 PDMS 微柱顶端的 AuNRs 修饰。然而，可能由于 PDMS 微柱结构与 AuNRs 印章贴合不紧密，导致 PDMS 微柱顶端修饰的 AuNRs 组装存在缺陷。为了解决这一问题，选择在压印之前先对 PDMS 微柱表面进行等离子体处理，以此减少贴合不紧密的问题。最终利用改进的压印转移法获得的 AuNRs-PDMS 微柱如图 4(D)和(E)所示，PDMS 微柱顶端的 AuNRs 覆盖率得到了有效的提高，使 AuNRs-PDMS 微柱的产率从 90.2% 提升到了 95.8% [图 S3(E)和(F)]。

2.2 AuNRs-PDMS 微柱结构的 SERS 检测性能

为了比较溶剂蒸发法、吸附转移法和压印转移法 3 种方法制备的微柱结构的 SERS 性能，将拉曼信号报告分子 4-MBA 分别修饰于上述 3 种 AuNRs-PDMS 微柱结构以及未经 AuNRs 修饰的 PDMS 微柱结构上，采集的 SERS 平均光谱如图 5(A)所示，阴影处表示标准差。这 3 种方法制备的 AuNRs-PDMS 微柱结构均在 1079 和 1587 cm^{-1} 处显示出尖锐的拉曼特征峰，分别归属于 4-MBA 的 C—S 和 C—C 化学键振动^[31]，而未修饰 AuNRs 的 PDMS 微柱上几乎看不到 4-MBA 的拉曼信号，证实了 AuNRs 组装对 SERS 信号的增强作用。在不同制备方法获得的 AuNRs-PDMS 微柱上随机选取多个测试点进行了 SERS 光谱检

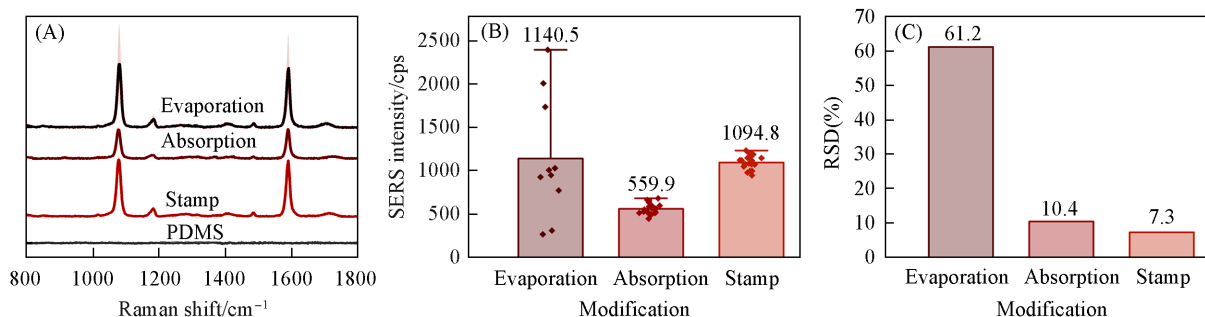


Fig. 5 SERS spectra of 4-MBA on the AuNRs-PDMS micropillar by different methods or unmodified PDMS micropillar(A), peak intensity(B) and relative standard deviation(RSD)(C) at 1079 cm^{-1} of 4-MBA on the AuNRs-PDMS micropillar from different test points

测, 溶剂蒸发法(图S4, 见本文支持信息)、吸附转移法(图S5, 见本文支持信息)和压印转移法(图S6, 见本文支持信息)的SERS光谱和特征峰峰值结果显示, 溶剂蒸发法修饰的 AuNRs 组装能获得最高的 SERS 增强[图 5(B)], 但是信号的相对标准偏差(RSD)为 61.2%[图 5(C)], 基底的均一性差, 分析其原因因为咖啡环区域的 AuNRs 组装过于致密, 导致 SERS 增强较高, 而其它区域 AuNRs 组装稀疏, SERS 信号较弱. 压印转移法具有仅次于溶剂蒸发法的较高 SERS 增强性能, 并且 SERS 信号的 RSD 最低, 说明基底具有较好的均一性.

为了分析这 3 种 AuNRs-PDMS 微柱结构的热点分布情况, 对每个结构均选取 $85.4\ \mu\text{m} \times 68.6\ \mu\text{m}$ 的矩形区域, 以 $1.4\ \mu\text{m}$ 为步进采集了该区域内 62×50 个点的拉曼光谱, 以 $1079\ \text{cm}^{-1}$ 处拉曼特征峰强度绘制的热图如图 6 所示. 可见, 基于溶剂蒸发法获得的 AuNRs-PDMS 微柱结构在咖啡环处具有较高的 SERS 信号, 其它区域 SERS 信号明显降低, 热点的分布不均匀[图 6(A)]; 基于吸附转移法制备的 AuNRs-PDMS 微柱结构在整个矩形局域内均能测得 SERS 信号, 说明 AuNRs 在 PDMS 微柱顶端和间隙处均有修饰, 但未能形成规律的热点分布[图 6(B)]; 而基于压印转移法获得的 AuNRs-PDMS 微柱结构在微柱顶端形成了规律分布的 SERS 增强热点[图 6(C)]. 综合考虑 SERS 增强性能、基底均一性与热点分布情况, 最终选取基于压印转移法的 AuNRs-PDMS 微柱结构作为 SERS 基底进行后续实验.

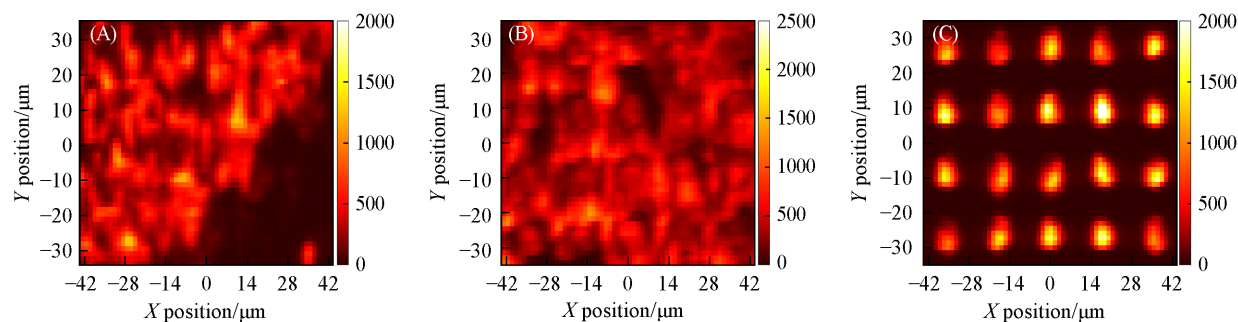


Fig. 6 SERS intensity mapping at $1079\ \text{cm}^{-1}$ of 4-MBA on the AuNRs-PDMS micropillar by solvent evaporation(A), absorption transferring(B) and stamp transferring(C)

Step is $1.4\ \mu\text{m}$.

2.3 被调控活细胞的无标记 SERS 检测

AuNRs-PDMS 微柱结构除了具有 AuNRs 组装可用作 SERS 增强基底以外, 规则排列的微柱结构作为地形特征还可调控细胞的生长过程, 用于研究细胞-基底相互作用. 利用 AuNRs-PDMS 微柱结构将 SERS 检测与细胞调控结合起来, 通过检测被调控的活细胞, 可深入研究细胞-基底相互作用时细胞发生的成分变化. 以 AuNRs-PDMS 平面结构作为平面对照组, 将间充质干细胞(MSCs)分别培养于 AuNRs-PDMS 微柱和 AuNRs-PDMS 平面结构上, 待细胞生长 2 d 后无标记检测活细胞的 SERS 光谱, 如图 7(A)所示. 由于 AuNRs-PDMS 微柱的直径和柱间距较小, MSCs 主要生长于微柱顶端, 受到微柱结构的调控作用呈现出沿微柱结构生长的特点[图 7(B)], 并且相比于生长在 AuNRs-PDMS 平面上的细胞[图 7(C)], 被微柱调控的细胞具有更长的突起, 细胞形貌也发生了改变. 对生长在两种基底上的细胞进行了无标记的 SERS 检测, 每个细胞的 SERS 光谱如图 S7 所示(见本文支持信息), 平均光谱如图 7(D)所示, 图中阴影部分表示标准差. 被调控的活细胞在 $623, 668, 700$ 和 $741\ \text{cm}^{-1}$ 处表现出拉曼特征峰, 分别归属于苯丙氨酸、鸟嘌呤、胆固醇和胸腺嘧啶等成分, 其余的拉曼特征峰及对应关系见表 S1(见本文支持信息)^[6,32,33]. 与生长在 AuNRs-PDMS 平面结构上的细胞相比, 被微柱结构调控的细胞对应着脂质酰基骨架($1126\ \text{cm}^{-1}$)、脂质($1302\ \text{cm}^{-1}$)和磷脂($1446\ \text{cm}^{-1}$)的拉曼特征峰强度有所增强[图 7(E)], 与文献[34]报道的微柱结构的机械刺激促进细胞脂肪酸代谢一致, 这一特征可能与被调控细胞的迁移性增强有关. 受到微柱结构调控的细胞通常表现出肌动蛋白在弯曲区域处的募集和细胞骨架网络的形成^[35], 对应着 SERS 光谱中蛋白质($1608\ \text{cm}^{-1}$)拉曼特征峰强度的升高[图 7(F)], 但苯丙氨酸($1006\ \text{cm}^{-1}$)和蛋白质 C—C、C—N 键拉伸($1161\ \text{cm}^{-1}$)特征峰强度的降低可能意味着细胞表面的蛋白

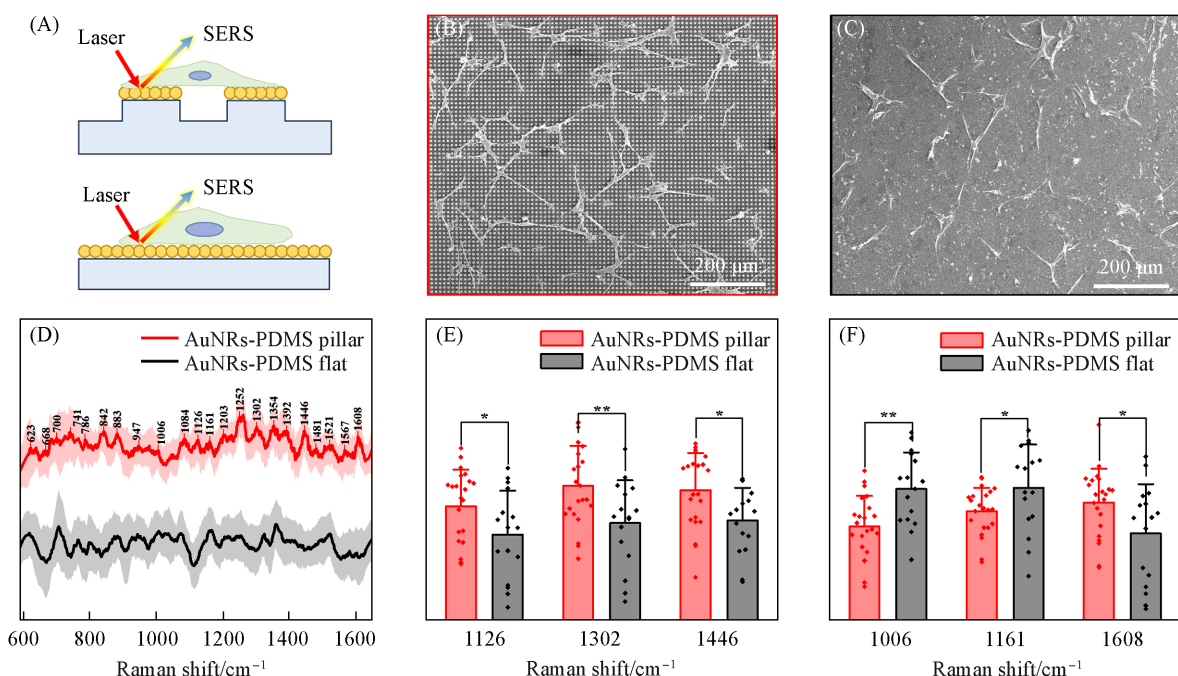


Fig. 7 Schematic of label-free SERS measurement of regulated cells(A), SEM images(B, C), normalized label-free SERS spectra(D) and normalized SERS intensity(E, F) of regulated MSCs cultured on the AuNRs-PDMS pillar or AuNRs-PDMS flat control

质种类及构型发生了变化^[36]. 该结果表明, AuNRs-PDMS 微柱结构可实现基于地形特征的细胞调控, 并且在调控过程中可实时检测被调控活细胞的脂质和蛋白质等成分的含量变化, 揭示了细胞-基底相互作用与细胞成分变化的相关性.

3 结 论

通过溶剂蒸发法、吸附转移法和压印转移法分别在 PDMS 微柱上修饰 AuNRs 组装, 构建了 AuNRs-PDMS 微柱阵列. 溶剂蒸发法的制备过程简单但无法获得均匀的修饰效果; 吸附转移法能获得大面积的均匀组装但产生的 SERS 增强性能较弱, 并且无法控制 AuNRs 的修饰位置; 而压印转移法可在实现大面积均匀修饰的同时保证较强的 SERS 增强效果, 并且可以控制 AuNRs 只修饰在 PDMS 微柱顶端, 能将 PDMS 微柱结构的地形特征与 AuNRs 组装的 SERS 效应更好地结合. 利用 AuNRs-PDMS 微柱结构的地形特征调控了间充质干细胞的生长过程, 并基于无标记的 SERS 检测分析了被调控细胞的脂质、蛋白质等成分的变化. 这种可实时检测被调控活细胞的无标记 SERS 基底, 有利于深入揭示细胞-基底相互作用机理, 在组织工程和临床治疗中具有应用前景.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20240364>.

感谢天津大学分析测试中心薛涛老师提供的技术支持, 感谢李全宁、陈雪娇、郭文岚、孙晨老师在微纳结构加工和平台维护方面提供的帮助.

参 考 文 献

- [1] Ma H., Pan S. Q., Wang W. L., Yue X., Xi X. H., Yan S., Wu D. Y., Wang X., Liu G., Ren B., *ACS Nano*, **2024**, *18*(22), 14000—14019
- [2] Itoh T., Prochazka M., Dong Z. C., Ji W., Yamamoto Y. S., Zhang Y., Ozaki Y., *Chem. Rev.*, **2023**, *123*(4), 1552—1634
- [3] Liebel M., Pazos-Perez N., van Hulst N. F., Alvarez-Puebla R. A., *Nat. Nanotechnol.*, **2020**, *15*(12), 1005—1011
- [4] He X., Wei W., Duan X., *Nanotechnol. Precis. Eng.*, **2023**, *6*(4), 045002

- [5] Chen S. Y., Zhang X. Y., Liu B., Tian D., Li Q., Chen F., Hu C. L., Chen J., *Chem. J. Chinese Universities*, **2021**, 42(8), 2381—2392(陈韶云, 张行颖, 刘奔, 田杜, 李奇, 陈芳, 胡成龙, 陈建. 高等学校化学学报, **2021**, 42(8), 2381—2392)
- [6] Haldavnekar R., Vijayakumar S. C., Venkatakrishnan K., Tan B., *ACS Nano*, **2020**, 14(11), 15468—15491
- [7] Xia D. C., Zhou R., Tu B., Cai Z. W., Gao N., Ji X. X., Chang G., Ren X. M., He Y. B., *Chem. J. Chinese Universities*, **2022**, 43(3), 67—77(夏大成, 周瑞, 涂博, 蔡志伟, 高难, 姬晓旭, 常钢, 任小明, 何云斌. 高等学校化学学报, **2022**, 43(3), 67—77)
- [8] Deng K., Luo Z., Tan L., Quan Z., *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, 49(16), 6002—6038
- [9] Wei W. B., Bai F., Fan H. Y., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58(35), 11956—11966
- [10] Xu L., Li X. Y., Wang X., Zou Z. M., *Nanotechnology*, **2021**, 32(13), 135601
- [11] Chen X. Y., Cui A. R., He M. Y., Yan M., Zhang X. C., Ruan J., Yang S. K., *Nano Lett.*, **2023**, 23(14), 6736—6743
- [12] Song L., Xu B. B., Cheng Q., Wang X., Luo X., Chen X., Chen T., Huang Y., *Sci. Adv.*, **2021**, 7(52), eabk2852
- [13] Liu Y., Kim M., Cho S. H., Jung Y. S., *Nano Today*, **2021**, 37, 101063
- [14] Kim M., Panagiotakopoulou M., Chen C., Ruiz S. B., Ganesh K., Tammela T., Heller D. A., *Nature Rev. Cancer*, **2023**, 23(9), 581—599
- [15] Cheng Y., Pang S. W., *Microsystems & Nanoengineering*, **2023**, 9(1), 6
- [16] Zhang R. Y., Duan X. X., Zhang S. H., Guo W. L., Sun C., Han Z. Y., *Nanotechnol. Precis. Eng.*, **2023**, 6(2), 023003
- [17] Kang S., Wu X., Qi H., Yang K., Feng R., Guo W., Sun C., Duan X., Wang Y., *Small Structures*, **2024**, 5(5), 2300432
- [18] Nemeč S., Kilian K. A., *Nat. Rev. Mater.*, **2021**, 6(1), 69—83
- [19] Yang L. T., Conley B. M., Rathnam C., Cho H. Y., Pongkulapa T., Conklin B., Lee K. B., *ACS Nano*, **2022**, 16(4), 5577—5586
- [20] He S., Pang W., Wu X. Y., Yang Y., Li W. J., Qi H., Sun C. L., Duan X. X., Wang Y. Y., *Nanoscale*, **2022**, 14(41), 15281—15290
- [21] Zhu F., Liu Z., Wu X., Xu D., Li Q., Chen X., Pang W., Duan X., Wang Y., *Ultrasonics Sonochemistry*, **2023**, 100, 106618
- [22] Guo Q., Wu X., Duan X., He S., Pang W., Wang Y., *J. Colloid Interface Sci.*, **2021**, 586, 67—74
- [23] Yang K., Kang S., Wu X., Liu B., Sun C., Wang Y., *Appl. Phys. Lett.*, **2023**, 123(14), 143505
- [24] Wang S., Wang Z., Tang N., Liu C., He S., Liu B., Qu H., Duan X., Pang W., Wang Y., *Nanotechnology*, **2019**, 30(17), 175302
- [25] Meitl M. A., Zhu Z. T., Kumar V., Lee K. J., Feng X., Huang Y. Y., Adesida I., Nuzzo R. G., Rogers J. A., *Nature Materials*, **2006**, 5(1), 33—38
- [26] He S., Pang W., Wu X. Y., Yang Y., Li W. J., Qi H., Yang K., Duan X. X., Wang Y. Y., *ACS Nano*, **2022**, 16(5), 8427—8439
- [27] Wu X., Yang K., He S., Zhu F., Kang S., Liu B., Sun C., Pang W., Wang Y., *J. Colloid Interface Sci.*, **2023**, 647, 429—437
- [28] Kesharwani P., Ma R., Sang L., Fatima M., Sheikh A., Abourehab M. A. S., Gupta N., Chen Z. S., Zhou Y., *Molecular Cancer*, **2023**, 22(1), 98
- [29] Cao J., Sun T., Grattan K. T. V., *Sensor. Actuat. B: Chem.*, **2014**, 195, 332—351
- [30] Wang T., Liang G., *Appl. Therm. Eng.*, **2023**, 226, 120310
- [31] Wang S., Wang Y., *Chinese J. Anal. Lab.*, **2019**, 38(8), 891—896(王爽, 王艳艳. 分析试验室, **2019**, 38(8), 891—896)
- [32] Zhang C., Qi G., Kong J., Diao X., Ju X., Wang J., Dong S., Jin Y., *Anal. Chem.*, **2023**, 95(48), 17716—17725
- [33] Wang W., Vikesland P. J., *Anal. Chem.*, **2023**, 95(49), 18055—18064
- [34] Lee G., Cho Y., Kim E. H., Choi J. M., Chae S. S., Lee M. G., Kim J., Choi W. J., Kwon J., Han E. H., Kim S. H., Park S., Chung Y. H., Chi S. G., Jung B. H., Shin J. H., Lee J. O., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2022**, 14(1), 20—31
- [35] Higgins S. G., Becce M., Belessiotis-Richards A., Seong H., Sero J. E., Stevens M. M., *Adv. Mater.*, **2020**, 32(9), e1903862
- [36] Xie W., Wei X., Kang H., Jiang H., Chu Z., Lin Y., Hou Y., Wei Q., *Adv. Sci.*, **2023**, 10(9), 2204594

(Ed.: N, K)