评述

基于石英晶体微天平的信号放大技术在肿瘤标志物检测中的应用

刘丽赏, 姜耀, 李雪梅*, 张书圣*

临沂大学化学化工学院, 山东省肿瘤标志物检测技术重点实验室, 临沂 276005

*通讯作者, E-mail: xuemei_li@yeah.net; shushzhang@126.com

收稿日期: 2018-04-23; 接受日期: 2018-07-12; 网络版发表日期: 2018-10-31

国家自然科学基金(编号: 21675076, 81502585, 21535002, 21775063)资助项目

摘要 石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)是一种质量敏感型传感器, 近年来被广泛应用于多个领域的分析检测. 为了进一步提高检测灵敏度, 开发了多种QCM信号放大方法. 本文综合介绍了各种QCM信号放大方法, 主要聚焦于肿瘤标志物检测中的应用, 涉及对核酸序列、蛋白以及肿瘤细胞的检测. QCM的信号放大方法主要是基于质量放大的原理, 主要放大技术包括: 生物分子偶联、纳米颗粒偶联、生物催化产生不溶物沉淀、金属还原沉积、DNA复制/杂交、晶体原位生长. 质量放大子的设计和应用大大增强了QCM的检测能力, 提高了其检测灵敏度, 拓宽了QCM的应用范围.

关键词 石英晶体微天平, 肿瘤标志物, 信号放大, 质量放大, 原位结晶

1 引言

石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)是一种质量敏感的传感器, 由AT方向剪切的石英晶片和金电极构成. 石英晶体微天平利用了石英晶体的压电性质, 工作时, 由一定的交流电加载在石英晶体两侧的金电极上, 石英电极则以一定的频率振动. 石英电极的谐振频率变化与电极表面的质量变化成正比, 石英晶体微天平则通过实时记录晶体的谐振频率来反映待测物的质量变化, 可以检测到纳克级别的质量变化. 由于其具有结构简单、免标记、实时检测、操作简便等优点, 近年来石英晶体微天平得到了广泛应用. 基于石英晶体微天平的新型传感器在多个领域

发展迅速, 如环境污染检测^[1]、手性识别^[2]、动力学过程分析^[3]、构象研究^[4]、适配体/药物筛选^[5,6]、生物标志物检测^[7].

世界卫生组织报道, 癌症是全球第二大杀手, 每六个死亡病例中就有一个是因为患癌, 仅2015年就有880万人死于各种癌症, 其中大部分被确诊时已经是晚期^[8]. 肿瘤标志物是标志着肿瘤存在的物质, 对肿瘤标志物的检测可用于肿瘤的早期诊断、预后, 能及时采取措施、有效防止肿瘤的复发, 从而大大降低死亡率. 近年来石英晶体微天平被广泛用于肿瘤标志物的检测, 包括DNA/RNA序列、蛋白以及肿瘤细胞. 肿瘤的早期诊断要求对于极小浓度的靶标进行检测, 于是各种信号放大技术被开发出来. Cooper等^[9~11]综述了

引用格式: Liu L, Jiang Y, Li X, Zhang S. The application of signal amplification strategies based on QCM in the detection of tumor marker. *Sci Sin Chim*, 2019, 49: 276–284, doi: 10.1360/N032018-00101

QCM在分析各种分子间相互作用方面的应用, He等^[12]根据不同的QCM检测对象总结了不同的定量关系. 本文介绍了基于QCM技术的各种肿瘤标志物的检测方法, 主要对各种以提高检测灵敏度为目的而设计的信号增强方法做了归纳. 其中有基于金属纳米颗粒偶联、生物分子偶联、金属还原沉积、生物催化沉淀、DNA杂交/扩增、原位结晶等技术的信号放大方法.

2 QCM对生物标志物及肿瘤细胞的检测

通过对QCM电极的表面进行捕获分子的修饰, 如互补探针、抗体、适配体, QCM可以对在电极表面捕获到的待测物进行直接检测. 甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)是一种糖蛋白, 它在成人血清中高表达, 被认为是早期肝癌的指征. Chou等^[13]使用单克隆抗体修饰的QCM电极直接检测了血清中的甲胎蛋白, QCM的频率下降与浓度在0.1~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内的AFP呈线性关系. 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在包括非小细胞肺癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌在内的多种肿瘤细胞中高表达, 是一种重要的诊断标志物. Chen等^[14]基于G蛋白特异位点固定方法把EGFR抗体固定在QCM电极表面, 可以控制EGFR抗体的方向, 直接使用抗体捕获EGFR后, 没有经过信号放大, 可以检测到EGFR, 线性检测范围为0.01~10 $\mu\text{g/mL}$.

叶酸受体是一种细胞表面受体, 在正常组织中表达量很少, 但是在乳腺癌、肺癌、子宫癌的细胞中过量表达. Zhang等^[15]在QCM电极表面修饰壳聚糖-叶酸分子, 通过表面的叶酸受体, 乳腺癌MCF-7细胞可以被电极表面的叶酸捕获而得到检测. 使用药物刺激MCF-7细胞, 叶酸受体的表达量有所变化, 通过QCM检测, 可以筛选有效抑制叶酸受体表达的抗癌药物.

与抗体相比, 核酸适配体制备时不需要免疫动物, 具有可化学合成、稳定性好等优势. Tiwari等^[16]在QCM电极表面修饰-COOH, 利用共价键方式将-NH₂标记的HepG2细胞适配体TLS11a修饰到QCM电极表面, 用于特异捕获肝癌HepG2细胞. 通过与其他多种细胞对比发现, 得到的电极对HepG2细胞有较高的特异性, 并且检测限达到2 cells/mL, 线性检测范围为 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^6$ cells/mL.

3 基于QCM的各种信号放大方法对生物标志物的检测

通过适配体、抗体等修饰, QCM可以对捕获到的待测物进行直接检测, 但是未经放大的信号强度相对较弱, 检测灵敏度有待提高. 通过设计信号放大过程, 使得电极表面捕获的质量增大, 频率变化幅度增强, 从而实现高灵敏检测.

3.1 抗原-抗体、生物素-亲和素、脂质体等生物分子偶联放大系统

DNA序列的变化与多种癌症的发病密切相关, 对DNA基因突变的检测可用于临床诊断. Bardea等^[17]检测了家族黑蒙性白痴相关的基因突变, 首先把识别序列修饰到晶片的金表面, 再进行靶标序列的捕获. 0.6 $\mu\text{g/mL}$ 的序列只能引起约2 Hz的频率变化, 达到了仪器的检测极限, 使用特异抗体结合双链DNA引发进一步的频率下降约14 Hz, 成功地对DNA序列进行了信号放大.

链酶亲和素有4个位点结合生物素, 解离常数约为 10^{-14} M, 且稳定性好, 使得链酶亲和素-生物素系统被广泛应用于生物检测中^[18]. 通过调节叶酸的代谢, 亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因的多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与多种肿瘤的发生相关^[19]. Wang等^[20]检测MTHFR基因C677T位点的突变时, 使用链酶亲和素-生物素偶联子作为质量放大器修饰识别序列, 识别序列与固定在晶片表面的捕获探针杂交. 利用链置换反应, 引入突变序列后与识别序列的杂交导致二者与质量放大器同时从晶片表面脱落, 导致频率上升. 此方法有很好的再生性质, 成功检测到了1~75 nM浓度范围内的SNP, 检测限为0.8 nM. Zhao等^[21]通过碱基互补配对的原则, 把使用亲和素修饰的核酸序列层层组装成了DNA-亲和素树枝状大分子, 作为QCM的质量放大器检测到了23 pM的P53基因.

Patolsky等^[22]使用脂质体对探针序列进行修饰, 对DNA序列引起的响应进行放大, 如图1所示. 5 μM 浓度的靶标序列导致17 Hz的频率下降. 进一步杂交了修饰有脂质体的探针序列, 导致120 Hz的频率下降. 当DNA序列浓度降低到5 nM时, 不足以引起有效的信号响应, 但脂质体对靶标序列的放大使检测浓度降低了1000倍(5 pM). 脂质体放大方法进一步结合了生物素/

图1 基于生物素-亲和素、脂质体偶联信号放大的QCM检测示意图^[22] (网络版彩图)

Figure 1 QCM detection based on conjugation of biomolecules ^[22] (color online).

亲和素生物放大系统后, 检测限被进一步降低到了100 fM. 另外, 该课题组^[23]还使用脂质体作为质量放大子对霍乱毒素进行了检测.

3.2 基于金属纳米颗粒偶联的信号放大

金属纳米颗粒被应用于表面增强拉曼散射(surface enhanced Raman scattering, SERS)、上转换、药物递送系统等多个领域. 基于其较大的分子质量, 金属纳米颗粒作为一种质量放大子被用于QCM检测方法的信号放大^[24-26]. 金属纳米颗粒可以方便地通过金硫键标记核酸序列, 进而与蛋白、细胞等偶联. 金属纳米颗粒标记得多寡, 信号放大程度又可以通过其偶联序列的比例来调整, 如生物条码.

He等^[27]结合滚环扩增技术和生物条形码修饰的金纳米颗粒, 设计同时含有适配体序列和滚环扩增引物的序列与环状探针杂交, 加入聚合酶之后得到大量产物序列, 作为质量放大子来灵敏检测凝血酶. 凝血酶是肿瘤转移过程中静脉血栓形成的标志物^[28,29], 凝血酶被修饰在晶片金表面的适配体捕获后, 与滚环产物一端的适配体序列结合, 把包含大量重复序列的滚环产物固定到晶片表面. 制备的生物条形码修饰的金纳米颗粒上有与重复单元互补的识别序列, 大量金纳米颗粒可以被捕获到晶片表面, 如图2所示. 这两种放大方法相结合实现了对凝血酶的灵敏检测, 检测范围达到1 aM~0.1 pM, 检测限达到0.8 aM.

乳腺癌基因(BRCA1)是肿瘤抑制基因, 有助于修复受损的DNA, BRCA1基因变异的检测被用于乳腺癌

的诊断. Abdul Rasheed等^[30]使用三明治结构, 将纳米金颗粒标记探针序列, 与捕获到QCM电极上的靶标杂交之后, 成功检测到100 aM的序列, 线性检测范围为100 aM~1 nM. Mo课题组^[31]为了避免序列在晶片表面杂交过程中的空间位阻、耗时长等弊端, 事先在溶液中将巯基修饰的捕获序列和纳米颗粒修饰的探针序列与目标序列杂交, 然后再利用金硫键将复合物捕获到QCM晶片表面. 这样耗时短, 且避免了QCM仪器的不稳定因素, 检测到了0.1~100 fM的DNA, 并且将检测限降低到了74 aM.

肿瘤组织的细胞外ATP浓度比正常组织高1000倍以上^[32], Zhang等^[33]开发了基于QCM检测ATP的方法. 利用聚合酶和剪切酶的作用, 使得在ATP存在的条件下大量寡核苷酸链被释放, 从而使得纳米金标记的探针从磁珠上脱离, 通过磁分离作用, 脱离下来的纳米金标记探针与修饰在电极上的捕获序列杂交, 大量纳米金颗粒结合在QCM电极表面, 使得频率响应显著, 对ATP的检测限达到1.3 nM.

凝血调节蛋白(thrombomodulin)是一种与内皮细胞损伤相关的蛋白, Luo等^[34]通过牛血清蛋白-金纳米颗粒-抗抗体纳米复合体实现对凝血调节蛋白的质量放大. 纳米复合体与电极表面所修饰的凝血调节蛋白抗体结合使得频率下降, 但复合体与抗体之间的结合, 由于凝血调节蛋白的存在, 频率下降的幅度降低. 二者之间的相对频率下降幅度与凝血调节蛋白的浓度相关, 检测限达到ng/mL级别.

前列腺特异抗原(PSA)是前列腺分泌的一种糖蛋

图2 基于DNA滚环扩增和金属纳米颗粒偶联信号放大的QCM检测方法示意图^[27] (网络版彩图)

Figure 2 QCM detection based on conjugation of RCA and conjugation of NPs [27] (color online).

白,也是一种丝氨酸蛋白酶,在血液中以自由形式或与蛋白酶抑制剂 α -1-antichymotrypsin一起作为复合物的形式存在,PSA在血液中的浓度超过4 ng/mL则被认为是前列腺肿瘤的指征^[35]。Uludag等^[7]用抗体修饰的电极检测了血清中的前列腺特异抗原。利用偶联的金纳米颗粒作为信号放大手段,使用表面等离子共振(SPR)和QCM同时检测了血液中的总PSA含量,检测限达到8.5 pM (0.29 ng/mL)。

3.3 基于金属还原沉积的信号放大

液态的金属离子在遇到还原剂之后，可以在电极表面还原成金属单质，而金属相对较大的分子质量使其可以作为质量放大器对OCM的检测信号进行放大。

DNA骨架对金属离子有很强的亲和力, 可作为模板引发金属纳米颗粒生长, 此特性被用于导电纳米管的制备和功能性线圈的构建^[36]. Zhou等^[37]利用 Ag^+ 与 Na^+ 的置换作用把 Ag^+ 附着在靶标DNA链的骨架上, 靶标序列被QCM电极捕获后, 在对苯二酚的作用下, 探针上的 Ag^+ 被还原成Ag纳米簇, 如图3所示. Ag纳米簇的沉积使得QCM频率下降幅度增强了87倍, DNA检测线性范围为0.6~130 nM, 检测限达0.1 nM. 此外, DNA引发的银沉积还被用于基于电化学信号和拉曼信号的信号放大检测技术^[38,39].

一种质量放大方法起到的信号增强作用往往是有

限的,多种信号放大方法相结合才可以达到信号增强多倍的效果. Willner等^[40,41]在使用金纳米颗粒偶联放大的基础上,又使用了纳米金催化的金沉积,使检测灵敏度进一步提高,对DNA序列的检测限达到fM级别.与单独使用金纳米颗粒偶合的方法相比,检测灵敏度显著提高.

3.4 基于生物催化生成不溶性沉淀的信号放大

利用生物酶的催化反应已被应用于分析化学领域的各种显色反应和电子转移系统。产生不溶性沉淀的生物催化反应可以作为质量放大手段来对QCM检测信号进行放大。Patolsky等^[42]使用酶催化的放大方法检测单碱基突变, 当序列含突变碱基时, 才能与生物素修饰的CTP互补, 利用亲和素引入碱性磷酸酶, 进而催化磷酸盐氧化水解生成不溶的沉淀。不溶物沉积到电极表面可以对基于质量检测的QCM起到信号放大的作用, 如图4所示。3 nM的突变序列结合了生物素标记的CTP以及亲和素标记的碱性磷酸酶之后, 只引发了47 Hz的频率下降, 而进一步的酶催化产生不溶性沉淀引发了70 Hz的频率下降, 对信号进行了放大。端粒酶是一种蛋白逆转录酶, 能增强细胞的增殖能力, 一旦端粒酶活性被激活, 则会激发细胞的无线分裂甚至引发癌症。Pavlov等^[43]对HeLa细胞提取物中的端粒酶进行了检测, 将生物素修饰的端粒重复序列与端粒酶反应

图3 基于银沉积信号放大的QCM检测示意图^[37] (网络版彩图)

Figure 3 QCM detection based on silver reduction ^[37] (color online).

图4 基于生物催化生成沉淀信号放大的QCM检测示意图^[42] (网络版彩图)

Figure 4 QCM detection based on enzymatic deposition ^[42] (color online).

产物杂交, 然后结合亲和素标记的探针序列修饰碱性磷酸酶, 催化磷酸盐的氧化水解, 得到的不溶产物引发QCM频率下降, 对端粒酶的活性进行了定量, 可以检测到1000个HeLa细胞提取物中的端粒酶活性。

Patolsky等^[44]还开发了一种过氧化氢酶催化产生沉淀的信号放大方法, 用于检测DNA。首先在金电极表面修饰捕获DNA, 在靶标序列的存在下, 阿霉素能

特异插入到捕获了靶标序列后形成的双链中。阿霉素的电化学还原使得O₂还原成H₂O₂, 在过氧化氢酶的催化下, H₂O₂还原氯萘酚生成不溶物, 沉淀到电极上起到质量放大的作用。

3.5 基于DNA杂交/复制的信号放大

DNA在聚合酶的作用下可以实现大量复制, 从而达到尺寸和质量的放大, 并可以通过结晶的方法实现几百纳米尺寸的纳米花的制备^[45-47]。大量杂交/复制的DNA本身就可以作为质量放大对QCM的检测信号进行放大。杂交链式反应(hybridization chain reaction, HCR)中两个自身稳定的核酸茎环探针在特定序列的存在下杂交, 自组装形成DNA纳米线, 过程中不需要酶的参与, 被用于多种检测手段的信号放大。

Tang等^[48]设计了一条特殊的捕获探针, 靶标序列打开茎环结构后仍有空余位点进行后续杂交反应。在电极表面捕获靶标序列后, 进行杂交链式反应, 如图5所示。以被认为与肿瘤抑制相关的p53基因片段为例, 在捕获p53基因片段后, 捕获序列上设计的空余段被裸露出来, 为后续的杂交链式反应提供了结合位点, 随后两个发卡结构的探针交替杂交在电极表面, 使得QCM的检测信号大幅增强。未使用放大技术之前, 最低只能检测到20 nM的p53基因片段, 使用杂交链式反应进行信号放大之后, 检测灵敏度增强了200倍。检测

图 5 基于DNA杂交信号放大的QCM检测方法示意图^[48]
(网络版彩图)

Figure 5 QCM detection based on DNA hybridization [48] (color online).

限达0.1 nM, 线性检测范围为0.5~25 nM.

滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)使用环状DNA模板进行复制, 是一种恒温、粗旷的DNA扩增技术, 得到的扩增产物包含上千个重复单元可以作为质量放大器来增强信号. 血小板源生长因子(PDFG)调节细胞的生长和分化, 在血管的形成过程中起重要作用, 与多种肿瘤的预后相关. Zhou等^[49]利用RCA和银沉积检测到了10 fM的PDFG. Zhang等^[50]和Sun等^[51]利用过氧化氢酶催化产生不溶物与滚环扩增技术结合的方法检测了溶菌酶和DNA, 检测限达aM级别.

肿瘤抑制基因启动子区域的CpG岛的甲基化作用于肿瘤基因的激活, DNA的甲基化可以调节肿瘤发展过程中基因的表达、分化, 基于甲基化的标志物被用于肿瘤的早期检测^[52,53]. Wang等^[54]使用甲基化位点敏感的限制性内切酶HpaII来降解基因组DNA, 未被甲基化的序列被剪切, 而甲基化的序列被保留作为模板加入聚合酶链式反应进行扩增, 大量复制产物与晶片表面修饰的探针杂交引起QCM信号响应, 能检测到20 nM~1 μM范围内的甲基化DNA序列, 成功检测到了细胞中p16和GALR2基因的甲基化

MicroRNA是真核生物中广泛存在的一种长约21~23个核苷酸的RNA分子,可调节其他基因的表达,

用于癌症预测。Guo等^[55]发展了一种综合DNA复制和纳米金放大的RNA检测方法,检测限达到1 pM,线性检测范围为10 pM~1 nM,并成功检测到了MCF-7细胞中的miroRNA-203。检测结果与商业化的实时定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)方法一致。

3.6 晶体的原位生长实现质量放大

结晶过程被工业领域用于纯化, 涉及物质从液相到固相的转变. 利用官能团不同的性质, 结晶过程也被用于表面修饰, 实现选择性结晶, 从而进一步得到不同性质的表面.

Liu等在对药物的结晶纯化进行研究时发现, 电极表面的原位结晶过程可以引发较强的质量响应, 引发QCM明显的频率下降^[56-58]。Liu等^[59]将结晶这种显著的质量响应效果应用到了QCM的信号放大方案中。利用CaCO₃晶体在不同官能团表面不同的生长习性, 使用三甲胺官能团对电极表面进行钝化, 抑制了电极表面非特异的晶体生长。钝化的QCM晶片捕获靶标序列后, 引入-COOH修饰的探针序列引发CaCO₃晶体在靶标位点原位结晶, 如图6所示。-COOH可以吸附Ca²⁺在靶标位点聚集从而为后续的晶体生长提供位点, 保证了检测信号的特异性。该放大方法有效增强了QCM对DNA的信号响应, 检测限降低到2 aM, 引入适配体后该方法实现了对细胞的检测。成功检测到5个Ramos

图 6 基于选择性原位结晶信号放大的QCM检测示意图^[59]
(网络版彩图)

Figure 6 QCM detection based on *in-situ* selective crystallization [59] (color online).

细胞.

3.7 其他信号放大方法

在外加磁场的条件下, 由于磁力的作用, 磁性颗粒可以起到信号放大的作用. 在无磁场存在的条件下, 具有超顺磁性的纳米颗粒不会因为磁性相互作用而发生团聚, 因此磁性纳米颗粒被广泛应用于靶标分离、药物递送等方面. Pan等利用修饰有sgc8c适配体的磁珠对复杂体系中的白血病CEM肿瘤细胞进行选择性的分离捕获, 并在垂直的QCM检测池后方施加磁场, 使得捕获到的肿瘤细胞作用于QCM晶片表面, 防止了其他细胞的非特异重力沉降作用^[60]. 检测限为 8×10^3 cell/mL, 线性细胞浓度范围为 $1 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^5$ cell/mL.

Liu等^[61]也使用了酶催化的放大方法检测蛋白, 但反应产物是气体, 而不是固体. 催化酶修饰的免疫颗粒作为二级配体与IgG和晶片表面的抗体形成三明治结构, 加入 H_2O_2 后, 在催化酶的作用下产生氧气. 基于晶体表面液体的黏弹性增加的原理, 气体的产生同样增强了晶片频率的下降幅度.

4 总结与展望

本文总结了近年来QCM在检测肿瘤标志物中的定量应用, 包括DNA/RNA、蛋白、细胞等. 直接检测的方法受限于仪器的灵敏度. 本文介绍了各种通过质量放大来增强检测信号的QCM信号放大方法, 大大提高了检测的灵敏度, 降低了检测限, 拓展了QCM的应用范围. QCM信号放大方法基于生物分子偶合、DNA杂交/复制、纳米颗粒耦合、金属还原、生物催化沉淀、晶体原位生长等技术.

基于QCM的检测方法具有操作简单、灵敏度高、在线检测等优点, 不仅在肿瘤标志物的定量检测中应用广泛, 而且对分子间相互作用、结构变化、黏弹性、动力学分析等领域也表现出很大潜力. 在定量检测方面除了发展更多新的靶标外, 趋向开发新的适合在QCM电极表面发生的界面反应进行质量放大方法的设计, 发展原理更简单、检测限更低的信号放大技术. QCM技术还可以与多种平台联用, 如电化学工作站、电镜, 同时提供多通道的检测信息. 随着信号放大方法的开发和联用技术的发展, QCM检测技术将会在多种领域获得更广泛的应用.

参考文献

- 1 Snyder EG, Watkins TH, Solomon PA, Thoma ED, Williams RW, Hagler GSW, Shelow D, Hindin DA, Kilaru VJ, Preuss PW. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 11369–11377
- 2 Guo HS, Kim JM, Pham XH, Chang SM, Kim WS. *Cryst Growth Des*, 2011, 11: 53–58
- 3 Kearney LT, Howarter JA. *Langmuir*, 2014, 30: 8923–8930
- 4 Oस्पova A, Thakar D, Dejeu J, Bonnet H, van der Heyden A, Dubacheva GV, Richter RP, Defrancq E, Spinelli N, Coche-Guérrente L, Labbé P. *Anal Chem*, 2015, 87: 7566–7574
- 5 Wang L, Wang R, Chen F, Jiang T, Wang H, Slavik M, Wei H, Li Y. *Food Chem*, 2017, 221: 776–782
- 6 Liu Y, Tang X, Liu F, Li K. *Anal Chem*, 2005, 77: 4248–4256
- 7 Uludag Y, Tothill IE. *Anal Chem*, 2012, 84: 5898–5904
- 8 Fuang HG. *Adv Mod Oncol Res*, 2017, 3: 41–43
- 9 Cooper MA, Singleton VT. *J Mol Recognit*, 2007, 20: 154–184
- 10 Becker B, Cooper MA. *J Mol Recognit*, 2011, 24: 754–787
- 11 Speight RE, Cooper MA. *J Mol Recognit*, 2012, 25: 451–473
- 12 He JA, Fu L, Huang M, Lu YD, Lv BE, Zhu ZQ, Fang JJ, Ma HW. *Sci Sin Chim*, 2011, 41: 1679–1698 (in Chinese) [何建安, 付龙, 黄沫, 卢煜东, 吕贝尔, 朱志强, 方佳节, 马宏伟. 中国科学: 化学, 2011, 41: 1679–1698]
- 13 Chou SF, Hsu WL, Hwang JM, Chen CY. *Clin Chem*, 2002, 48: 913–918
- 14 Chen JC, Sadhasivam S, Lin FH. *Process Biochem*, 2011, 46: 543–550
- 15 Zhang S, Bai H, Pi J, Yang P, Cai J. *Anal Chem*, 2015, 87: 4797–4805
- 16 Kashefi-Kheyrabadi L, Mehrgardi MA, Wiechec E, Turner APF, Tiwari A. *Anal Chem*, 2014, 86: 4956–4960

- 17 Bardea A, Dagan A, Ben-Dov I, Willner I, Bardea A, Ben-Dov I, Amit B. *Chem Commun*, 1998: 839–840
- 18 Dundas CM, Demonte D, Park S. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97: 9343–9353
- 19 Le Marchand L, Wilkens LR, Kolonel LN, Henderson BE. *Cancer Epidemiology Biomarkers amp Prevention*, 2005, 14: 1198–1203
- 20 Wang D, Chen G, Wang H, Tang W, Pan W, Li N, Liu F. *Biosens Bioelectron*, 2013, 48: 276–280
- 21 Zhao Y, Wang H, Tang W, Hu S, Li N, Liu F. *Chem Commun*, 2015, 51: 10660–10663
- 22 Patolsky F, Lichtenstein A, Willner I. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 418–419
- 23 Alfonta L, Willner I, Throckmorton DJ, Singh AK. *Anal Chem*, 2001, 73: 5287–5295
- 24 Patolsky F, Ranjit KT, Lichtenstein A, Willner I. *Chem Commun*, 2000, 1025–1026
- 25 Zhou XC, O'Shea SJ, Li SFY. *Chem Commun*, 2000, 953–954
- 26 Pang LL, Li JS, Jiang JH, Le Y, Shen GL, Yu RQ. *Sensor Actuator B-Chem*, 2007, 127: 311–316
- 27 He P, Liu L, Qiao W, Zhang S. *Chem Commun*, 2014, 50: 1481–1484
- 28 Falanga A, Marchetti M, Verzeroli C, Giaccherini C, Masci G, Santoro A, De Braud F, Celio L, Labianca R, Mandalà M, Merelli B, Tondini C, Gasparini G, Sarmiento R, Tartari CJ, Piras F, Gamba S, Rio F, Milesi V, Tessarolo S, Vignoli A, Russo L. *Blood*, 2015, 126: 654
- 29 Hao T, Wu X, Xu L, Liu L, Ma W, Kuang H, Xu C. *Small*, 2017, 13: 1603944
- 30 Abdul Rasheed P, Sandhyarani N. *Biosens Bioelectron*, 2015, 65: 333–340
- 31 Mo Z, Wang H, Liang Y, Liu F, Xue Y. *Analyst*, 2005, 130: 1589–1594
- 32 Qian Y, Wang X, Li Y, Cao Y, Chen X. *Mol Cancer Res*, 2016, 14: 1087–1096
- 33 Song W, Zhu Z, Mao Y, Zhang S. *Biosens Bioelectron*, 2014, 53: 288–294
- 34 Luo Y, Liu T, Zhu J, Kong L, Wang W, Tan L. *Anal Chem*, 2015, 87: 11277–11284
- 35 Chatterjee SK, Zetter BR. *Future Oncol*, 2005, 1: 37–50
- 36 Yan H, Park SH, Finkelstein G, Reif JH, LaBean TH. *Science*, 2003, 301: 1882–1884
- 37 Zhou L, Lu P, Zhu M, Li B, Yang P, Cai J. *Microchim Acta*, 2016, 183: 881–887
- 38 Gao F, Lei J, Ju H. *Anal Chem*, 2013, 85: 11788–11793
- 39 Wu L, Wang J, Ren J, Qu X. *Adv Funct Mater*, 2014, 24: 2727–2733
- 40 Weizmann Y, Patolsky F, Willner I. *Analyst*, 2001, 126: 1502–1504
- 41 Willner I. *Talanta*, 2002, 56: 847–856
- 42 Patolsky F, Lichtenstein A, Willner I. *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 253–257
- 43 Pavlov V, Willner I, Dishon A, Kotler M. *Biosens Bioelectron*, 2004, 20: 1011–1021
- 44 Patolsky F, Katz E, Willner I. *Angew Chem Int Ed*, 2002, 41: 3398–3402
- 45 Hu R, Zhang X, Zhao Z, Zhu G, Chen T, Fu T, Tan W. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 5821–5826
- 46 Mei L, Zhu G, Qiu L, Wu C, Chen H, Liang H, Cansiz S, Lv Y, Zhang X, Tan W. *Nano Res*, 2015, 8: 3447–3460
- 47 Lv Y, Hu R, Zhu G, Zhang X, Mei L, Liu Q, Qiu L, Wu C, Tan W. *Nat Protoc*, 2015, 10: 1508–1524
- 48 Tang W, Wang D, Xu Y, Li N, Liu F. *Chem Commun*, 2012, 48: 6678–6680
- 49 Zhou L, Ou LJ, Chu X, Shen GL, Yu RQ. *Anal Chem*, 2007, 79: 7492–7500
- 50 Zhang X, Chen J, Liu H, Zhang S. *Biosens Bioelectron*, 2015, 65: 341–345
- 51 Sun W, Song W, Guo X, Wang Z. *Anal Chim Acta*, 2017, 978: 42–47
- 52 Shivapurkar N, Gazdar A. *Curr Mol Med*, 2010, 10: 123–132
- 53 Mikeska T, Craig JM. *Genes*, 2014, 5: 821–864
- 54 Wang J, Zhu Z, Ma H. *Anal Chem*, 2013, 85: 2096–2101
- 55 Guo Y, Wang Y, Yang G, Xu JJ, Chen HY. *Biosens Bioelectron*, 2016, 85: 897–902
- 56 Liu LS, Kim JM, Chang SM, Choi GJ, Kim WS. *Anal Chem*, 2013, 85: 4790–4796
- 57 Liu LS, Kim JM, Kim WS. *Anal Chem*, 2015, 87: 3329–3335
- 58 Liu LS, Kim JM, Kim WS. *Anal Chem*, 2016, 88: 5718–5724
- 59 Liu LS, Wu C, Zhang S. *Anal Chem*, 2017, 89: 4309–4313
- 60 Pan Y, Guo M, Nie Z, Huang Y, Pan C, Zeng K, Zhang Y, Yao S. *Biosens Bioelectron*, 2010, 25: 1609–1614
- 61 Liu W, Huang R, Qi W, Wang M, Su R, He Z. *Analyst*, 2015, 140: 1174–1181

The application of signal amplification strategies based on QCM in the detection of tumor marker

Lishang Liu, Yao Jiang, Xuemei Li^{*}, Shusheng Zhang^{*}

Shangdong Province Key Laboratory of Detection Technology of Tumor Markers, College of Chemistry and Chemical Engineering, Linyi University, Linyi 276005, China

**Corresponding authors (email: xuemei_li@yeah.net; shushzhang@126.com)*

Abstract: Quartz crystal microbalance (QCM) is a mass sensitive transducer and has been widely applied in various fields recently. In order to improve its detection sensitivity, QCM amplification methods have been developed. This review discussed the QCM based detection techniques of cancer biomarkers, such as DNA sequences, proteins and tumor cells. Techniques based on mass amplification include biomolecule conjugation, DNA polymerization/hybridization, nanoparticle conjugation, enzymatic catalyzed insoluble deposition, metal reduction and *in-situ* crystallization. The design and utilization of mass amplification enhanced the detection capability of QCM and improved the sensitivity.

Keywords: quartz crystal microbalance (QCM), tumor marker, singal amplification, mass amplifier, *in-situ* crystallization

doi: [10.1360/N032018-00101](https://doi.org/10.1360/N032018-00101)