



纳米酶: 新一代人工酶

高利增^{1,2}, 陈雷¹, 张若飞¹, 阎锡蕴^{1,2,3*}

1. 中国科学院纳米酶工程实验室, 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101
 2. 郑州大学医学院纳米酶医学研究中心, 郑州 450001
 3. 深圳合成生物学创新研究院, 中国科学院深圳先进技术研究院, 深圳 518055
- *通讯作者, E-mail: yanxy@ibp.ac.cn

收稿日期: 2022-04-21; 接受日期: 2022-05-23; 网络版发表日期: 2022-09-05

国家重点研发计划(编号: 2019YFA0709200)和国家自然科学基金(编号: 22121003, 81930050)资助项目

摘要 纳米酶是中国科学家提出的新概念, 已经被纳入教科书和百科全书. 汪尔康院士团队最先将纳米酶用于分析检测, 并在国际权威期刊发表长篇综述“纳米酶: 新一代人工酶”. 该文不仅提升了纳米酶的国际影响力, 而且推动了纳米酶的应用研究, 使纳米酶新品种、新技术和新产品不断涌现, 形成了纳米酶新型交叉学科. 在此基础上, 本文概述了纳米酶的定义、分类和催化机制, 介绍了其应用研究的最新进展, 并对其未来的研究方向和发展趋势进行了展望.

关键词 纳米酶, 天然酶, 理性设计, 催化机理, 转化应用

1 引言

纳米酶的发现, 源于我国2000年以来学科交叉的积极推动. 这不仅使纳米生物学与世界同步发展, 还为纳米酶的问世提供了肥沃的土壤. 2007年, 阎锡蕴团队^[1]报道了Fe₃O₄纳米粒子蕴含一种不可预见的生物效应, 即具有辣根过氧化物酶的催化活性, 能够在温和的生理条件下, 催化酶的底物并遵循酶促反应动力学将其转化为产物, 并且可以作为酶的替代物用于生命科学与医学领域. 他们在证实这类蕴含催化活性纳米材料的普遍规律之后, 将其命名为纳米酶.

2008年, 汪尔康院士团队^[2]将纳米酶用于检测葡萄糖; 2013年发表了题为“Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes”的长篇综述^[3], 该文已经被引用2000多

次, 为提升纳米酶的国际影响力做出了重要贡献. 随后, 汪尔康及董绍俊团队连续发表纳米酶文章40余篇, 这些创新研究成果为纳米酶的发展起到了引领作用. 此外, 汪尔康院士作为主持人之一, 组织了第606次“香山会议”——“纳米酶催化机制与应用”; 2019年作为荣誉会长, 成立了“中国生物物理学会”纳米酶分会, 培养了一大批活跃在纳米酶研究前沿的青年科学家.

纳米酶是一种新材料. 它的出现突破了以往人们视纳米材料为惰性物质的传统认知, 使“纳米效应”从过去的光、声、电, 拓展到“类酶催化”的生物效应. 纳米酶作为一类新型人工酶, 丰富了模拟酶领域的内涵, 使其从以往的有机分子拓展到无机纳米材料. 与传统模拟酶相比, 纳米酶具有催化活性高、反应条件温和、稳定性好、成本低、易于大规模生产等优点. 作为一种全新的研究范式, 纳米酶的出现不仅推动了

引用格式: Gao L, Chen L, Zhang R, Yan X. Nanozymes: next-generation artificial enzymes. *Sci Sin Chim*, 2022, 52: 1649–1663, doi: [10.1360/SSC-2022-0088](https://doi.org/10.1360/SSC-2022-0088)

多学科交叉, 在纳米材料、化学催化和酶学之间架起了一座桥梁, 而且有望突破天然酶不稳定的瓶颈, 推动酶工程技术产业化, 服务于人类健康。

纳米酶研究在经过十余年的平静期之后, 近几年进入了高速发展时期, 论文数量逐年攀升(图1)。目前, 全球已有30多个国家的400多个实验室从事纳米酶研究, 其应用研究也涉及生物医学、农业、工业生产、环境治理等多个领域, 逐渐形成了纳米酶研究新领域。

我国科学家无论是在纳米酶的基础研究, 还是在应用研究一直都发挥着引领作用。例如, 提出纳米酶新概念、建立研究方法、制定纳米酶术语和标准化; 融合化学催化与酶催化的原理, 创造单原子纳米酶使其催化活性接近或超越天然酶; 2018年第一个纳米酶产品获批中华人民共和国医疗器械注册证, 并进行了产业转化。所有这些里程碑式的研究成果都得益于我国科技部门对“原创性”工作的呵护、包容和支持, 得益于科学家对未知的好奇与探索, 以及多学科之间的跨界合作。

本文概述了纳米酶的定义、分类和催化机制, 介绍了其应用研究的最新进展, 并对其未来的研究方向和发展趋势进行了展望。

2 纳米酶的定义、类型和标准化

纳米酶, 是一类能够在温和或极端条件下催化酶的底物并遵循酶动力学(如米氏方程)将其转化为产物的纳米材料^[3,4]。纳米酶是一类独特的催化剂, 它即不

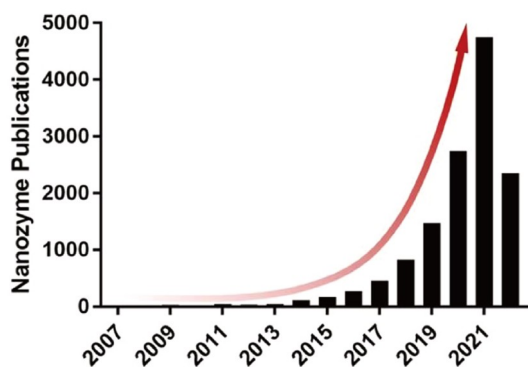


图1 纳米酶研究经过十年平静期之后, 进入了高速发展时期, 论文数量逐年攀升(网络版彩图)

Figure 1 The field of nanozymes comes into a high-speed developing period with rising publications every year after 10 years still (color online).

同于天然酶, 也不同于化学催化剂和传统的有机小分子模拟酶。它与天然酶的区别在于, 天然酶是生物催化剂, 蛋白质的精细结构赋予酶催化活性高和选择性强的特点。然而, 也正是由于酶的属性主要是蛋白质, 因此稳定性差、工业化生产成本低, 从而限制了其应用范围。纳米酶作为一类新型催化剂, 其催化活性来源于纳米材料的纳米效应, 催化效率远高于金属离子或有机小分子催化剂, 某些纳米酶的催化能力接近或超越天然酶。此外, 纳米酶结构比较稳定, 不仅能够温和的生理条件下催化, 也能够极端环境中催化。例如, 铁基纳米酶能够在极端pH (1~12)和温度(-20~80℃)条件下催化过氧化物酶的底物。

迄今为止, 已报道的纳米酶有1100多种。我们按照国际生物化学和分子生物学协会(IUBMB)的分类方式, 把纳米酶与七类天然酶(氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂合酶、异构酶、连接酶和转位酶)一一对应, 发现纳米酶的催化类型已经从最初单一的过氧化物酶拓展到了目前的四大类, 包括氧化还原酶、水解酶、裂合酶和异构酶(图2)。其中, 过氧化物和超氧化物歧化纳米酶的催化活性已接近或超越相应的天然酶。

纳米酶标准化是随着纳米酶快速发展而产生的。2020年, 中国科学院生物物理研究所和中国医学科学院基础医学研究所等多个研究单位参与制定了纳米酶标准术语^[5], 第一次从酶学角度系统地对纳米酶定义、酶学催化特征、酶促反应动力学、比活力等多个方面进行了统一描述, 并使其成为国家标准。此外, 参考天然酶活力的概念, 定义了纳米酶的催化活力单位(nanozyme unit, U), 即在最适反应条件下, 每分钟内催化1 μmol底物转化为产物所需的纳米酶量为1 U。纳米酶的比活力(specific activity, U/mg)定义为每单位质量的纳米酶单位数^[6]。有关纳米酶的书写方式也规范为“纳米材料-催化类型”。例如, Fe₃O₄-过氧化物纳米酶。2019年8月30日中华人民共和国国家市场监督管理总局和我国国家标准化管理委员会发布了东南大学和中国医学科学院基础医学研究所等单位建立的《氧化铁纳米颗粒类过氧化物酶活性测量方法》, 并在此基础上申报ISO标准。此外, 电化学方法也可侧面评估纳米酶, 尤其是氧化还原类纳米酶催化主要是电子转移过程^[7], 施剑林院士团队^[8]提出用归一化平均电流密度评估氧化纳米酶活性。

有关如何计算纳米酶的催化效率, 一直是本领域

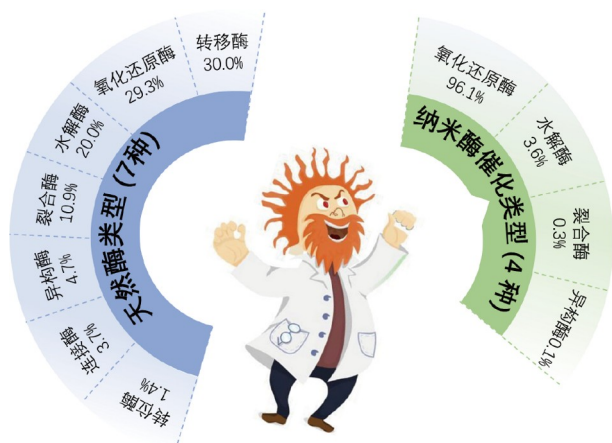


图2 目前已经报道的天然酶七种类型(数据来自ExplorEnz数据库)和纳米酶四种类型(数据来自Web of Science)(网络版彩图)

Figure 2 Severn types of natural enzymes (from ExplorEnz database) and four types of nanozymes (from web of science) (color online).

存在争议的问题. 这主要是源于纳米酶的独特性, 它既不同于天然酶(分子结构和活性位点明确), 也不同于离子或小分子催化剂(结构单一), 每个离子或分子都参与催化, 它是原子或分子形成特定的纳米结构, 催化过程主要是在材料表面进行, 具有多个活性位点. 最近, 刘珏文团队^[9,10]对不同科学研究和应用研究体系下纳米酶的酶活定义进行了深入探讨. 他们认为, 利用纳米酶表面每个原子数量(活性位点)计算催化效率比利用纳米酶颗粒数量(或全部原子数量作为活性位点)更加合理. 然而在纳米酶应用研究中, 把整个纳米酶分子作为一个催化单元, 评价其催化效率(与天然酶可比)也具有合理性. 鉴于纳米酶结构与催化的独特性, 目前还缺乏统一的认知, 科学家可根据纳米酶的类型和应用需求, 灵活选择计算其催化活性的方法.

3 纳米酶催化活性和选择性

纳米酶研究已经从早期的随机合成, 逐渐发展为理性设计, 其催化活性和选择性也与天然酶可比, 甚至超越. 催化类型也从最初单一的氧化还原, 发展为如今的四类. 这些进步主要通过以下两方面技术实现. 第一, 通过调控纳米酶的构效关系提升其催化活性, 如纳米酶的尺寸、组分、晶面、掺杂、形貌、表面修饰等, 这也是目前大多数纳米酶理性设计的经典方式

(图3)^[11]. 鉴于这方面已经有许多综述, 本文不再赘述. 第二, 通过模拟天然酶的催化活性中心的结构, 及其周边氨基酸残基、辅酶、辅基和辅因子等来提升催化活性^[4]. 例如, 单原子纳米酶^[12-19]具有明确的催化活性中心位点以及高原子利用率, 其催化活性已经接近甚至超越天然酶. 本文重点介绍这方面的研究进展.

3.1 纳米酶催化活性接近或超越天然酶

自从单原子合成引入纳米酶的设计之后, 仿照天然酶活性中心结构, 理性设计纳米酶成为近几年的研究热点. 尤其是模拟天然金属酶, 因为这类酶的活性中心含有金属配位, 如天然过氧化物酶的活性中心含有铁卟啉, 使其成为纳米酶设计可参考的理想模型. 2019年, 刘惠玉和范克龙^[18]合作设计了锌卟啉单原子纳米酶, 模拟过氧化物酶铁卟啉催化活性中心. 同年董绍俊院士团队^[20]设计了能够模拟铁卟啉的单原子纳米酶, 模拟细胞色素P450五氮配位铁核心结构, 结合单原子设计方法合成了氧化纳米酶, 其催化活性是商业化催化剂的70倍(图4a). 2021年, 李亚栋、阎锡蕴与梁敏敏^[13]合作, 在仿天然过氧化物酶活性中心(铁卟啉Fe-N₄配位)的基础上又引入磷和氮, 设计了一种以FeN₃P为活性中心的单原子过氧化物纳米酶(FeN₃P-SAzyme) (图4b). 这种设计使催化活性中心的Fe原子和P原子协同作用, 降低了OH和O形成的自由能, 催化效率比天然酶高10倍, 活力与天然酶相当. 这项工作也是在单原子纳米酶中, 首次证明纳米酶表面单一活性位点(而非整个纳米酶分子)的催化效率也可以超越天

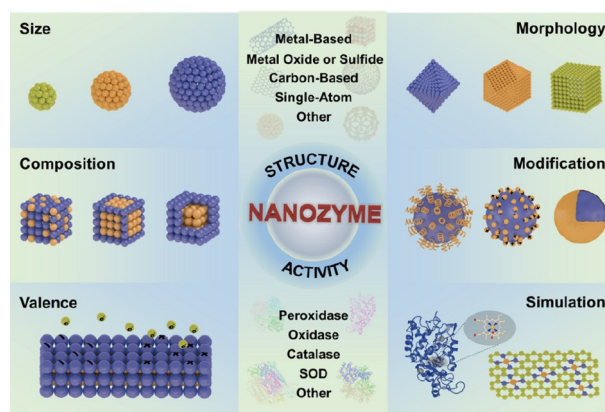


图3 纳米酶构效关系示意图^[11] (网络版彩图)

Figure 3 Schematic for structure-activity relationship of nanozymes [11] (color online).

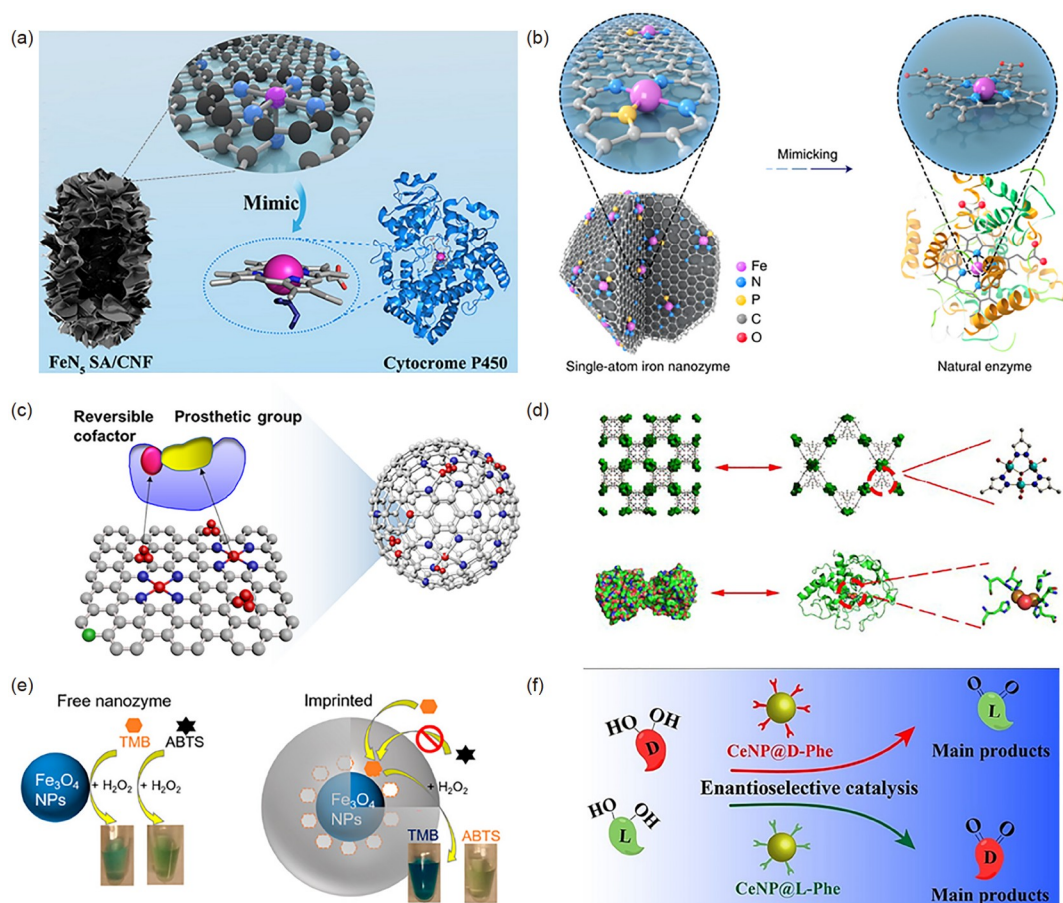


图 4 提升纳米酶催化活性、底物亲和力及选择性的新策略。(a) 模拟天然酶铁卟啉活性中心的铁氮配位结构, 设计铁氮配位单原子纳米酶^[20]; (b) 构建铁磷配位优化单原子纳米酶催化活性中心^[13]; (c) 利用铁氮配位和铁原子簇模拟天然酶辅因子, 设计纳米酶^[17]; (d) 利用MOF-818模拟天然氧化酶活性中心, 构建具有氧化酶活性纳米酶^[12]; (e) 分子印迹构建底物结合口袋提升纳米酶选择性^[15]; (f) 手性修饰提升纳米酶选择性^[16] (网络版彩图)

Figure 4 The strategies for improving activity, affinity and selectivity of nanozymes. (a) Designing single-atom nanozymes by mimicking Fe-N coordination in the heme in natural enzymes [20]; (b) optimizing activity of active site in single-atom nanozymes by designing Fe-P/N coordination [13]; (c) designing nanozymes with high SOD activity by using Fe-N coordination and Fe clusters to mimic co-factors of natural enzymes [17]; (d) designing oxidase-like nanozymes using MOF-818 to mimic active center of natural enzyme [12]; (e) improving substrate selectivity of nanozymes using molecular imprinting [15]; (f) improving selectivity of nanozymes with chiral modification [16] (color online).

然酶。这为调控单原子纳米酶的几何结构和电子配位, 在原子水平上模拟天然酶的金属活性中心, 获得能够替代天然酶、催化活性高的纳米酶开辟了新途径。

此外, 高利增课题组模拟天然酶辅基和辅因子特点, 开发了具有过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、氧化酶(oxidase, OXD)以及尿酸氧化酶(urate oxidase, UOD)多种酶活性的铁氮掺杂碳球-纳米酶体, 其中SOD酶活力高达1200 U/mg, 达到天然SOD酶水平^[17]。在该纳米酶体中, 单独的Fe簇和Fe-N₄配位都具有多酶活性, 而两者结合时以类似于天然酶

辅基和辅因子的形式发挥作用, 二者协同提升纳米酶的催化活性, 多酶活性综合最优(图4c)。程冲课题组^[19]通过在水溶液中构筑具有精确结构的杂原子配位聚合物纳米前驱体, 成功制备出20种具有类似尺寸、相同形貌但金属中心不同的单原子纳米酶, 模拟天然酶中的M-N₄结构, 发现Fe掺杂纳米酶表现出最高的氧化酶和卤素过氧化物酶活性, 而铜掺杂表现出最好的过氧化物酶活性。

3.2 纳米酶的底物亲和力与选择性

纳米酶催化位点与底物的亲和力, 也是影响其催

化效率的关键因素. 2017年, 本研究团队^[21]模拟过氧化物酶活性中心(铁卟啉)与其周边组氨酸的配位结构, 在 Fe_3O_4 -过氧化物纳米酶表面修饰组氨酸, 这一改变使其对底物双氧水的亲和力提高了10倍. 随后, 通过模拟辅因子, 在 FeS_2 -过氧化物纳米酶结构中形成铁硫簇活性位点, 对底物双氧水的亲和力提升了252倍, 其催化效率也比天然过氧化物酶提高3086倍. 理论计算分析表明, 底物双氧水在 $\text{FeS}_2(100)$ 表面形成的 Fe-O 键具有较低的吸附能, 是亲和力提升的主要原因. 类似的, 张袁健团队^[22]发现在过渡金属-氮配位的过氧化物纳米酶中, 特定金属-氮配位决定了其对双氧水的选择性, 形成结合态氧(M=O)原子转移及相应的底物氧化, Fe-N-C 和 Co-N-C 分别选择性催化TMB和鲁米诺. 当然, 依据Sabatier原则, 纳米酶的催化活性并不会随其对底物亲和力的增强而提高. 因此, 在纳米酶的设计中, 要根据具体材料和催化反应类型而定^[23].

2020年, 董绍俊院士团队^[12]利用金属有机框架材料MOF-818模拟儿茶酚氧化酶活性位点(三核铜中心位点), 不仅提高了氧化纳米酶的催化活性, 还提高了选择性(图4d). 这种金属有机框架化合物-氧化物纳米酶对邻苯二酚底物有选择性, 表现出专一的氧化酶活性, 而不具有过氧化物酶活性. 2017年, 刘珏文团队^[15]利用分子印迹聚合物构建底物结合口袋, 设计了三种具有底物选择性的纳米酶(图4e). 其中印迹修饰的 Fe_3O_4 -过氧化物纳米酶较裸 Fe_3O_4 -过氧化物纳米酶的特异性提高了近100倍. 张袁健团队^[24]在微流控装置中构建纳米酶催化级联反应体系, 将具有氧化酶活性的碳氮纳米粒和具有过氧化物酶活性的普鲁士蓝纳米酶联合, 发现其能够选择催化抗坏血酸, 与干扰物反应相比选择性高达2000倍.

最近, 纳米酶选择性也有从手性的角度入手, 曲晓刚团队^[16]通过模拟天然酶手性氨基酸对底物的选择性, 将手性氨基酸(如丙氨酸, 苯丙氨酸, 色氨酸, 组氨酸等)引入纳米酶的设计中(图4f). 结果表明, 以手性苯丙氨酸修饰的 CeO_2 -氧化物纳米酶对手性多巴胺底物具有选择性. 这种选择性源于手性多巴胺底物与作为手性识别位点的苯丙氨酸具有不同的亲和力. 天然的手性分子除氨基酸外, 还有组成DNA的核糖. 因此也可以DNA为配体修饰纳米酶, 以实现纳米酶的对映体选择性^[25]. 以随机螺旋如单链DNA等不规则折叠的DNA链包裹的金-葡萄糖氧化纳米酶倾向于氧化L型

葡萄糖, 而规则DNA如双链DNA, G-四联体等包裹的金-葡萄糖氧化纳米酶倾向于氧化D型葡萄糖. 这种选择性可能来自DNA碱基的堆叠与排列以及DNA螺旋结构的沟槽, 并受DNA的序列、长度、浓度及环境温度与pH等多种因素的影响. 以手性配体修饰实现手性选择性是较容易操控的方式, 然而对其他类型底物的选择性依旧难以实现.

3.3 纳米酶催化类型

模拟天然酶的活性中心, 不仅能提高纳米酶的催化活性, 还能增加新的催化类型. 董绍俊团队^[12,26,27]通过模拟酶催化活性中心, 相继开发出具有碳酸酐酶活性、儿茶酚氧化酶活性、细胞色素C氧化酶活性的纳米酶. 这些结果证实了模拟天然酶活性中心, 不仅可加深纳米酶催化机制的理解, 还可增加纳米酶的催化类型. 例如, 天冬氨酸蛋白酶利用一对天冬氨酸残基的羧基激活水分子进行亲核攻击实现水解作用. 2021年, Bose等^[28]通过模拟天冬氨酸酶的催化基序, 合成一种能够高效水解乙酸对硝基苯酯(PNPA)的纳米酶. 董绍俊院士团队^[29]以聚乙烯亚胺包裹沸石咪唑啉框架(PEI/ZIF)为基架并修饰黄素单核苷酸(FMN), 构建了一种以细胞色素C为辅酶的NADH氧化纳米酶. 该纳米酶能够与NADH结合并将电子传递到细胞色素C上, 实现对NADH的氧化.

综上所述, 目前只有极少纳米酶活性实现了对天然酶的超越, 并且纳米酶的选择性大多数也只停留在通过配体修饰实现手性选择性, 对其他类型的底物选择性仅有很少的报道. 高活性、新活性纳米酶的理性设计仍存在很大的开发空间.

4 纳米酶的催化机制

在2007年纳米酶发现之后的几年时间里, 纳米酶的研究一直都是以实验研究手段为主, 通过大量的实验揭示纳米酶催化活性的普遍规律, 及其材料组成、结构和化学修饰间的定量构效关系, 以提升纳米酶的催化效率及选择性. 然而, 纳米酶的理论计算研究明显滞后, 这主要是受量子计算软件不够完善以及计算服务器的运算速度慢等条件的限制. 2010年后, 随着量子计算软件的不断发展和计算机计算能力的大幅提高, 纳米酶催化分子机制的理论计算研究被陆续报道,

尤其是在最近几年, 采用理论计算方法研究纳米酶的催化机制有了长足的进步, 应用第一性原理计算方法系统地、分类地研究纳米酶催化机制的报道不断涌现出来. 例如, 高兴发团队自2014年以来通过理论计算方法探究了碳材料纳米酶^[30~32]、贵金属纳米酶^[33~35]和金属氧化物纳米酶^[23,36~38]的催化机制, 发表了一系列具有国际影响力的研究成果, 推动了对纳米酶构效关系的理解和认识. 理论计算研究在揭示和预测纳米酶催化反应机制方面正在发挥着越来越重要的指导作用, 同时也丰富了纳米酶的研究手段.

分子模拟通常采用两种计算方法: 第一性原理方法和分子力场方法, 前者可以描述电子的运动状态, 因此可以计算跟电子运动密切相关的物理、化学过程, 如化学反应、电子传递等; 而分子力场方法除静电作用外, 不考虑其他跟电子运动相关的理化过程. 纳米酶分子机理研究涉及大量化学反应的模拟, 因此适合使用第一性原理方法. 目前对纳米酶催化机制的理论计算一般采用两种结构模型, 即团簇(cluster)模型和周期性平板(slab)模型. 目前发现的碳材料纳米酶和单原子纳米酶都是基于 sp^2 杂化碳元素的二维平面结构, 碳材料纳米酶结构中的羰基/羧基/羟基等含有非碳元素的集团是类酶活性的催化中心, 单原子纳米酶结构中过渡金属元素Fe/Co/Ni/Mn/Cu等通过N/O/P/S等非金属元素与碳材料框架形成的配位结构是类酶活性的催化中心. 对于以上两种材料的纳米酶, 考虑到 sp^2 杂化碳元素的二维平面结构的特点, 构建模型的边缘结构可以使用H饱和的方法处理, 因此可以作为孤立体系用团簇模型进行非周期性的模拟计算, 这类计算可以采用量子化学程序进行几何优化、找过渡态、计算各种谱以及波函数分析等, 此类计算软件开发比较成熟. 2015年曲晓刚团队^[39]通过选择性的滴定去除羰基、羧基和羟基, 发现石墨烯量子点过氧化物纳米酶中羰基是催化活性中心位点, 羧基是底物结合位点, 羟基则抑制催化活性, 这些基团共同调控纳米酶催化活性, 理论模拟计算分析显示出与实验一致的结果.

具有三维晶体结构的贵金属纳米酶和金属氧化物/硫化物纳米酶由于难以构建具有边缘结构的团簇模型, 因而适合用周期性的平板结构模型进行研究(图5). 此类计算采用基于平面波基组的固体量子化学程序, 计算的准确性与体系K点、磁矩以及布里渊区等参数紧密相关, 相较于孤立体系比较繁琐, 但可以与

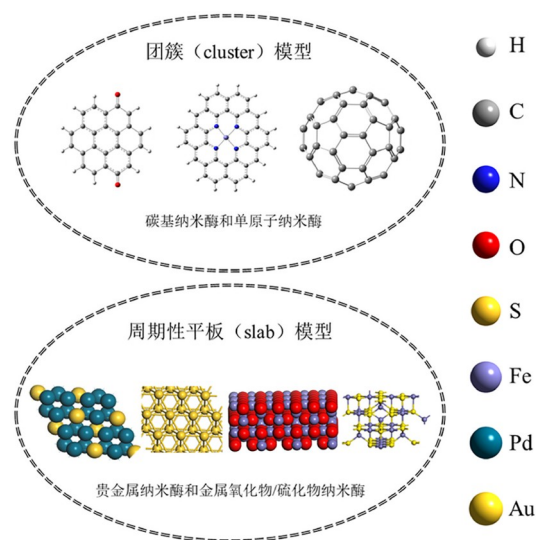


图5 纳米酶催化机制理论计算常用的两种模型团簇(cluster)模型和周期性平板(slab)模型示意图(网络版彩图)

Figure 5 Schematics for cluster model and periodical slab model used in the theoretical calculations for catalytic mechanism of nanozymes (color online).

孤立体系一样可以行几何优化、找过渡态、计算各种谱以及波函数分析等. 用理论计算方法开展纳米材料类酶活性的研究要综合考量催化模型的构建, 理论计算方法的选择以及对服务器计算能力的要求等因素. 在众多种类的纳米酶材料中, 较早开展理论计算研究的是碳材料纳米酶^[30~32,40]和贵金属纳米酶^[33~35], 近几年有关金属氧化物纳米酶的理论计算研究也有了很大的进展^[23,36~38]. 此外, 机器学习或大数据分析也有助于挖掘纳米酶的催化规律. 最近黄兴禄团队^[41]利用机器学习模型以过渡金属作为催化活性中心的纳米酶为研究对象, 分析了纳米酶的各个特性对其类酶活性的影响程度, 为高活性过氧化物纳米酶和氧化纳米酶的理性设计提供指导.

鉴于纳米酶结构和催化过程的复杂性, 目前开展的理论计算研究对全面认知、预测以及筛选纳米酶类酶活性而言远远不够. 例如, 使用周期性平板模型计算时通常难以考虑溶剂和熵对反应能量的贡献, 而纳米酶的活性和这些因素紧密相关; 对于包括金属和金属氧化物在内的多数纳米酶, 其尺寸和表面形貌并不单一, 而是多种晶面以及表面缺陷的复合体; 纳米酶类酶活性和催化反应体系中的pH以及其他有关的离子浓度都存在一定的相关性. 以上众多因素, 在目前的理论计算研究中考虑的较少甚至没有考虑进去, 这

些因素都是将来构建纳米酶的理论研究体系中不可忽略的。

5 纳米酶, 新一代人工酶

纳米酶的应用研究是最引人注目、最活跃的研究方向。早在2007年高利增等报道纳米酶现象时, 就已经将其用于心肌肌钙蛋白检测^[1]和污水处理^[42]。2008年汪尔康团队^[2]将纳米酶应用于 H_2O_2 和葡萄糖的检测。近年来, 纳米酶的应用研究也从体外检测逐渐拓展到了疾病治疗, 包括抗氧化、抗肿瘤、抗菌等^[43]; 从生物医学应用拓展到环境监测和治理、食品与农业、工业生产等领域。

纳米酶之所以备受关注, 是因为其为自身蕴含双功能的新材料。其中, 纳米材料的理化特性(如光、电、磁等)与催化功能之间还能够相互调节。例如, 铁氮碳基过氧化物纳米酶兼具“光热”和“过氧化酶”的性能, 有趣的是, 它在红外光照射下, 能够增加过氧化物酶的催化活性。又如, 铁基过氧化物纳米酶兼具磁性和催化双功能, 其中磁性的变化也能影响其催化活性。因此, 科学家可以根据纳米酶的这种神奇的双功能特性, 巧妙地设计各种探针分子, 将其应用于环境检测、抗菌或抗肿瘤等。本节将按照纳米酶的四种催化类型, 介绍其应用前景。

5.1 氧化还原纳米酶

在纳米酶的四种催化类型中, 氧化还原类型占90%以上, 主要包括氧化酶活性、过氧化物酶活性, 超氧化物歧化酶活性和过氧化氢酶活性。前两种能够在

酸性条件下将氧气或双氧水转变成自由基, 后两种能够将氧自由基或双氧水转变为氧气和水。因此氧化还原纳米酶的主要功能是调控活性氧(ROS)的产生或清除, 用于氧化还原失衡相关的多种疾病的催化治疗(图6)。此外, 氧化还原纳米酶还在传感检测、免疫诊断、环境处理、食品处理、工业生产等领域展现出了巨大的应用前景。下面简要介绍氧化还原纳米酶应用研究的最新进展。

5.1.1 氧化纳米酶

自从2009年Perez团队^[44]发现纳米氧化铈具有类氧化酶(oxidase, OXD)活性以来, 目前已经报道了140余种氧化纳米酶^[45]。这类纳米酶能够在没有氧化剂的情况下, 介导电子传递和催化底物的快速氧化。氧化酶能够作用于不同底物, 包括胺类、葡萄糖、多酚类等^[45], 其本质是以氧气为电子受体发生还原反应生成 H_2O_2 ^[46], 因此能够通过促进ROS的产生发挥作用。在即时检验(POCT)、疾病治疗等领域均具有广泛的应用前景^[47-51]。陈卓团队^[52]基于ROS的抗菌活性开发了一种石墨烯-氧化纳米酶, 发现其在胃酸环境中发挥OXD活性并选择性地杀伤幽门螺杆菌, 而对肠道菌群几乎无毒副作用。氧化纳米酶不同于传统抗生素, 新的抗菌机制使纳米酶能够杀死耐药菌^[53]。这有望解决幽门螺杆菌感染的临床治疗中的关键问题^[52]。

此外, 氧化纳米酶分解氧气产生 H_2O_2 的能力, 还为其他纳米酶提供 H_2O_2 底物, 这为构建级联反应平台提供了核心元件。高利增和奚菊群两个团队^[54]合成了氮掺杂碳纳米酶, 其兼具过氧化物和氧化酶活性, 能够级联催化氧气产生ROS杀伤肿瘤细胞, 经铁蛋白修

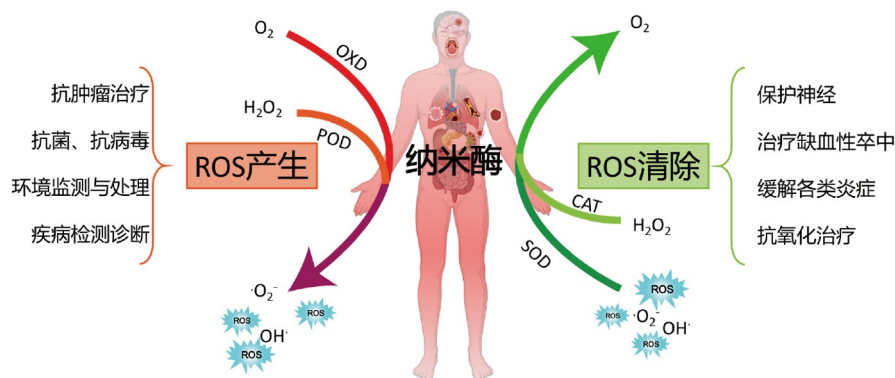


图6 氧化还原纳米酶调控ROS及其生物医学应用(网络版彩图)

Figure 6 Schematics of ROS regulation and biomedical applications of nanozymes (color online).

饰后能够靶向清除体内肿瘤, 该工作也为体内靶向递送纳米酶发挥特定功能提供了一种新的策略, 有效避免纳米酶催化治疗的副作用. 氧化纳米酶也能直接催化氧气生产 H_2O_2 . 张袁健团队^[55]发现低温碳化的Fe-N-C纳米酶具有氧化酶活性能够模拟类P450酶介导的催化过程, 用于筛选对二氢吡啶降压药(1,4-DHP)代谢干扰药物, 在一定程度上可替代昂贵的P450酶, 在药物代谢体外初筛、用药剂量指导等药物-药物相互作用研究中具有广阔的应用前景.

5.1.2 过氧化物纳米酶

自2007年发现氧化铁纳米粒子具有过氧化物酶(peroxidase, POD)以来^[1], 目前已有超过700余种不同材料的过氧化物纳米酶被发现, 占有氧化还原纳米酶的63%, 涵盖贵金属、金属氧化物、碳基材料等多种材料. 过氧化物纳米酶能够将 H_2O_2 催化分解产生 $\cdot OH$, 根据这一特性, 过氧化物纳米酶一方面可通过产生毒性 $\cdot OH$ 介导的损伤作用杀伤对机体有害的细胞如肿瘤细胞以及侵袭的病原微生物, 另一方面可通过催化显色反应替代稳定性较差的天然酶(如辣根过氧化物酶)用于检测诊断.

肿瘤微环境具有 H_2O_2 浓度偏高及酸性的特点. 高利增团队^[21]利用该特点, 制备了硫铁矿-过氧化物纳米酶, 其具有对 H_2O_2 高亲和力和高催化活性的特点, 能够将肿瘤微环境中催化分解 H_2O_2 产生毒性 $\cdot OH$, 同时消耗谷胱甘肽(GSH), 引发肿瘤细胞凋亡与铁死亡, 实现肿瘤的催化治疗. 此外, 过氧化物纳米酶和前药的组合也是一种有效的抗肿瘤策略, 我们设计了一种N、P双掺杂碳的过氧化物纳米酶, 能够激活前药吡啶-3-乙酸, 引发活性氧风暴, 最终通过线粒体凋亡途径导致肿瘤细胞死亡^[56]. 黄兴禄团队^[57]将Pd纳米酶和化疗前药羟基喜树碱(HCPT)共同递送, 利用纳米酶的过氧化物酶活性不仅可以激活HCPT, 还可以产生ROS诱导溶酶体膜渗漏, 有利于药物扩散到靶分子, 实现高效抗肿瘤性能.

抗菌是过氧化物纳米酶的另一重要功能. 例如, Fe_3O_4 -过氧化物纳米酶可以催化 H_2O_2 原位生成ROS降解口腔龋齿变异链球菌(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*)生物膜, 并杀死内部细菌^[58]. 临床研究也表明, 经美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于治疗铁缺乏症的氧化铁纳米颗粒(FerIONP)与天然葡萄糖氧化酶

耦联构建的纳米平台, 能够利用*S. mutans*微环境高糖、低pH的特点, 将葡萄糖原位分解并产生 H_2O_2 , 并进一步将 H_2O_2 催化生成 $\cdot OH$, 实现口腔生物膜内*S. mutans*的靶向清除, 对龋齿的治疗具有良好的效果^[59]. 与抗菌类似, 过氧化物纳米酶同样可利用ROS对抗病毒的侵袭. 除了细菌外, 过氧化物纳米酶还能灭活新冠病毒(SARS-CoV2). 例如, 王大吉和聂国辉等^[60]发现, 负载银单原子的二氧化钛-过氧化物纳米酶($Ag-TiO_2$ SAN)能够与SARS-CoV2的spike 1蛋白受体结合, 被巨噬细胞吞噬进入到溶酶体后, 在其过氧化物酶活性作用下催化产生ROS杀灭病毒. 这项工作展示了纳米酶在新冠病毒的防治也具有一定的潜力.

除了催化治疗外, 过氧化物纳米酶还在传感检测方面具有广泛的应用前景. 现有的检测技术, 如酶联免疫标记检测、即时检测等技术, 都以天然酶为关键催化剂. 但天然酶具有稳定性差、成本高、易受环境影响等局限性. 因此, 作为新一代人工酶的纳米酶凭借其优异稳定性可作为天然酶的替代品用于构建新型检测技术平台, 应用于疾病^[61-63]、食品^[64-66]以及环境工业^[67]中的检测. 例如, 汪尔康团队^[2]基于氧化铁过氧化物酶活性实现了对 H_2O_2 和葡萄糖的检测, 展示了纳米酶在生物传感器中的巨大应用潜力. 这一开创性设计使得研究人员开始关注纳米酶在生化检测方面的应用. 再如, 阎锡蕴团队^[68]早期利用四氧化三铁-过氧化物纳米酶的磁性和催化活性, 设计了集捕获-富集-信号放大功能于一体的多功能探针分子, 建立了试纸条检测技术, 通过纳米酶催化显色底物产生颜色或发光信号, 可以快速检测埃博拉病毒. 最近该团队^[69]利用Co-Fe@hemin-过氧化物纳米酶又成功开发出了一种利用化学发光检测新冠病毒抗原的纳米酶试纸条, 与传统的胶体金试纸条相比检测灵敏度提高10~100倍.

5.1.3 超氧化物歧化纳米酶

目前已发现70余种纳米酶具有SOD活性, 这些材料以 CeO_2 和一些碳材料如富勒烯为主, 还包括Pt、Au、Cu、Mn、Ni、Co、Mo、Rh、Fe和V等金属及其氧化物、碳化物、氮化物和硫化物等^[70]. 与过氧化物纳米酶相反, 超氧化物歧化纳米酶参与的主要功能是催化 $O_2^{\cdot -}$ 产生 O_2 和 H_2O_2 , 因此其可应用于ROS的清除和抗氧化治疗(图6). 大多数超氧化物歧化纳米酶也同时具有过氧化氢酶活性, 两者协同可以更加彻底地

清除ROS, 因此比天然SOD酶或其他抗氧化小分子更具优势.

ROS的累积会导致多种氧化损伤, 如在脑卒中缺血再灌注过程中产生大量ROS, 延缓病情恢复, 但临床缺乏有效的抗氧化治疗药物. ROS累积还会导致炎症介质和细胞因子的表达增加, 进而引发炎症; 炎症进一步刺激ROS的产生从而加剧氧化应激, 以此恶性循环^[71]. 由于超氧化物歧化酶活性仅能将 $O_2^{\cdot-}$ 转化为 H_2O_2 而不能彻底清除 H_2O_2 , 因此常被用来与过氧化氢酶活性级联清除ROS、减轻氧化应激, 从而进行各类抗氧化治疗. Mugesh团队^[72]发现, $CeVO_4$ -超氧化物歧化纳米酶可以完全替代SOD酶在神经细胞内工作, 并通过恢复神经元细胞中的线粒体功能和完整性来调节ATP水平. 其他抗氧化治疗还包括细胞保护^[73]、肠炎^[74]、耳炎^[75]、胰腺炎^[76]、肝/肾损伤^[77]、肺损伤^[78]、口腔溃疡^[79]、脓毒症^[80]等炎症性疾病的治疗; 改善动脉粥样硬化^[81]、缺血再灌注^[82]等心脑血管疾病治疗以及缓解阿尔兹海默症^[83]等.

此外, 超氧化物歧化纳米酶还在新冠治疗^[84]、器官移植^[82]、改善脱发^[85]、皮肤重建^[86]、延缓衰老^[87]等领域有着较好的应用前景. 由于SOD酶活性主要是清除 $O_2^{\cdot-}$, 因此其未来主要应用方向仍聚焦于生物领域, 如参与人工细胞器甚至人工细胞的构建, 以及调控整个生物体内元素循环^[88]等.

5.1.4 过氧化氢纳米酶

自2012年顾宁团队^[89]发现氧化铁纳米粒子具有类过氧化氢酶活性以来, 至今已发现超过100种过氧化氢纳米酶, 主要包括Au、Pt、Ag、Pd、Ir等材料以及Ce、Fe、Mn、Ru、Cu、Mo的氧化物、硫化物、碳化物等. 纳米酶的过氧化氢酶活性主要是催化过氧化氢分解产生氧气和水, 因此该活性主要应用于两方面, 一方面通过清除 H_2O_2 来减轻氧化应激从而治疗炎症, 另一方面通过产生氧气来改善肿瘤缺氧环境从而促进肿瘤治疗.

过氧化氢纳米酶可以通过清除 H_2O_2 发挥抗氧化作用, 减轻细胞和组织氧化应激引起的炎症和损伤. 樊春海团队^[90]发现 Fe_3O_4 -过氧化氢纳米酶可用于保护细胞免受 H_2O_2 诱导的氧化应激和细胞凋亡, 延缓衰老. 此外, 这些纳米酶在帕金森细胞模型中也发挥神经保护作用预防神经退行性疾病. 黄兴禄团队^[91]开发了

MnO_2 -超氧化物歧化酶/过氧化氢纳米酶来治疗心脏缺血再灌注引发的自由基损伤, 同时该纳米酶可以靶向线粒体. 该纳米酶可以清除自由基, 避免由高细胞毒性 $OH\cdot$ 和 $O_2^{\cdot-}$ 的产生引起的二次损伤, 减轻线粒体氧化损伤并增强心脏功能的恢复. 此外该活性还被用来缓解白内障^[92]、保护成骨细胞^[93]、调节炎症血栓微环境^[94]等.

纳米酶的过氧化氢酶活性也可用来改善肿瘤缺氧环境. 大多数实体瘤的缺氧环境会导致多药抗性和放射抗性, 因此会严重限制各种癌症疗法(如化学疗法、放射疗法、光动力疗法和声动力疗法)的功效. 阎锡蕴团队^[37]发现水铁矿-过氧化氢纳米酶可以安全有效地将肿瘤微环境中 H_2O_2 原位产生 O_2 , 通过加速肿瘤部位原位产生 O_2 来提高放疗对抗缺氧肿瘤的效率. 此外, 该方法也可以用来增强光动力治疗^[95]、声动力治疗^[96]等. 纳米酶的过氧化氢酶活性还可用于过氧化氢检测^[97]、葡萄糖检测^[98]以及生物物质工业生产^[99]等领域. 未来过氧化氢纳米酶或将用于更多的工业应用, 如与天然酶级联以减轻 H_2O_2 对天然酶的毒性^[100].

5.2 水解纳米酶

自2012年Avinash J. Patil等报道氧化铈纳米颗粒具有类碱性磷酸酶活性以来, 至今已经发展了40余种水解纳米酶. 水解酶是催化各种底物发生水解反应的一类酶, 基于底物的不同化学键(如酯键、糖苷键、肽键等), 天然水解酶的活性又可以细分为酯酶、糖基酶、肽酶等13种类型. 目前, 纳米酶所能够模拟的水解酶活性主要分为以下类型: 类酯酶活性(包括类磷酸酶活性^[101~103]、类核酸酶活性^[104~106]以及类脂肪酶活性^[107])、类蛋白酶(肽酶)活性^[108]、类脲酶活性^[109]、类葡萄糖醛酸苷酶活性^[110]、类纤维素酶活性^[111]. 其中, 类磷酸酶活性和类核酸酶活性已有应用于生物医学领域的研究. 例如, 李方圆、魏继福、凌代舜团队^[103]发现氧化铈-磷酸水解纳米酶能够通过调节肥大细胞的胞内磷酸化信号级联以抑制过敏相关的病理反应启动, 在小鼠模型中对过敏反应产生显著的预防作用. 曲晓刚团队^[104]合成了一种MOF/Ce-核酸水解纳米酶, 能够降解细菌用于维持生物膜结构稳定的胞外DNA成分, 从而发挥抗菌效果. Zelikin团队^[110,112]先后报道了氧化铈-磷酸纳米酶和铜-葡萄糖醛酸苷酶纳米酶, 分别能够水解含有相应化学键的前药分子, 有望用

于临床前药转化。最近, 魏辉课题组^[113]通过大数据归纳与分析以往水解纳米酶的研究数据, 实现了对MOF-水解纳米酶催化活性位点的筛选和理论预测, 进而从金属离子种类、有机配体种类、投料比等方面对合成条件进行优化, 制备了一种新型MOF-水解纳米酶(命名为Ce-FMA-FA-20-RT)。该纳米酶对磷酸键、酰胺键、糖苷键均具有水解作用, 能够同时用于清除细菌生物膜中的核酸、蛋白质以及多糖组分。此外, 其他类型的类水解酶活性则主要应用于毒气降解^[101]、废水处理^[109]、有机合成催化^[107,110]、生物燃料生产^[111]等领域。

总体而言, 水解酶纳米酶的研究进一步拓展了纳米酶的催化类型, 相信未来还会有更多类型的材料于纳米酶催化被归纳并分析, 具有类水解酶活性的纳米酶在生物医学领域的应用前景也将更加广阔。

5.3 裂合纳米酶

具有类裂合酶活性的纳米酶研究相对较少, 首个裂合纳米酶于2019年由董绍俊院士课题组报道。裂合酶是一类通过非水解以及氧化还原的方法裂解C-C、C-O、C-N等化学键而残留双键, 或通过逆反应将某个基团加到双键之上的酶, 在生物体内与多种分子的合成与转化息息相关。其中, 光裂合酶能够使DNA链上由于紫外线照射产生的环丁烷嘧啶二聚体解聚, 从而修复DNA损伤。例如, 瞿永泉课题组^[114]发现, CeO₂-光裂合纳米酶作为一种半导体, 可以通过光催化原理发挥类光裂合酶活性, 在小鼠模型中对皮肤起到良好的抗紫外线损伤效果。此外, 裂合酶纳米酶还被应用于小分子转化合成^[26,115]以及废水处理^[116]等领域。其中, 董绍俊院士课题组^[26]发现Zn基MOF材料ZIF-8具有与人碳酸酐酶II的活性中心Zn(His)₃O相似的化学结构, 因而表现出相似的催化活性, 可促进CO₂水合生成HCO₃⁻。另外, 组氨酸残基的咪唑基部分同时赋予ZIF-8类酯酶活性。该发现不但表明一种纳米酶可以同时模拟裂合酶与水解酶两种类别的活性, 还对纳米酶仿生设计具有启发意义。相较于其他活性类型, 裂合纳米酶的生物医学应用仍然十分有限, 未来值得研究者更多关注。

5.4 拓扑异构纳米酶

具有类异构酶活性的纳米酶较少。异构酶是一类

将分子从一种异构体转化为另一种异构体的酶, 从而促进氨基酸、糖类生物分子的重排。若想模拟天然异构酶的活性, 需要保证催化剂对底物有合适的手性选择性, 因而对于纳米酶领域具有挑战性。2020年, 仰大勇团队^[117]成功合成了具有类拓扑异构酶I活性的手性碳点——拓扑异构纳米酶, 能够选择性地介导超螺旋DNA的拓扑重排, 该研究在纳米酶模拟异构酶的领域中实现了首次突破, 有望应用于基因操控与蛋白质工程。相信未来还会有模拟更多类型异构酶活性的纳米酶被设计与合成, 并在生物医学开拓相应的应用途径。

尽管已经发现了大量的纳米酶, 但其所模拟的活性类型与天然酶相比仍有较大差距。一方面, 目前纳米酶材料仍主要是在原有的类氧化还原酶活性纳米酶材料基础上进一步衍生而来, 专门针对某一新型活性进行系统分析与理性设计的案例仍然较少。另一方面, 转移酶、连接酶、转位酶这三种活性类型仍是纳米酶领域的研究空白, 要想填补这些活性, 可能需要发掘更为新颖的材料, 或更为精巧的设计合成策略。未来若能解决以上难题, 将进一步拓展纳米酶的应用前景。

5.5 纳米酶的多酶活性

近年来, 越来越多的纳米酶被发现具有多种酶活性, 因而多酶活性也成为了纳米酶区别于天然酶的重要特征之一。多酶活性一方面体现在纳米酶在不同条件下分别表现出不同的类酶活性(例如, Fe₃O₄纳米酶在酸性pH条件下表现出类POD活性, 在中性至碱性条件下表现出类过氧化氢酶活性^[89]); 另一方面体现在纳米酶在相同条件下同时表现出两种或两种以上的类酶活性(例如, Mn₃O₄纳米花能够在pH 7.4的生理条件下同时发挥类超氧化物歧化酶、类过氧化氢酶活性和类谷胱甘肽过氧化物酶活性^[118])。多酶活性这一特点使一种纳米酶能够完成一些通常需要多种天然酶的组合才能实现的反应, 这也使纳米酶在应用上更具优势。

结合纳米酶以上两方面多酶活性的特征, 其应用也以两种形式为主, 一是在不同条件下选择性调控酶活性的发挥; 二是在同一条件同时发挥多种酶活性以形成级联反应。选择性调控纳米酶的活性通常是利用不同环境来控制活性类型, 以满足不同的功能需求。例如, Fe₃O₄纳米酶在中性的细胞质环境中可发挥类过

氧化氢酶活性, 在酸性的溶酶体中可发挥类过氧化物酶活性, 可调控细胞产生ROS, 进而激活AMPK途径, 刺激细胞对葡萄糖的摄取, 缓解II型糖尿病^[119].

级联反应则是在相同环境中, 纳米酶同时发挥出多种酶活性. 近年来已有多种纳米酶在级联反应中被开发, 并用于肿瘤治疗^[21,54]、炎症清除^[17]、细菌杀伤^[120]、医学检测^[61]等多个领域. 高利增团队^[17]在2021年开发出有五种类酶活性的铁氮掺杂的碳球纳米酶, 模拟人工过氧化物酶实现炎症清除. 此纳米酶除了具有常见的四大类氧化还原酶活性(过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、氧化酶)外, 还具有类尿酸酶(UOD)活性, 可实现尿酸酶-过氧化氢酶和超氧化物歧化酶-过氧化氢酶的级联反应, 更全面地模拟人工过氧化物酶体, 高效地清除ROS, 以治疗高尿酸血症和缓解缺血脑卒中. 这一工作表明纳米酶多酶活性的特征可用于开发需要多种反应的复杂催化体系, 如人工细胞器或纳米机器人, 该方向也有可能成为纳米酶未来发展的一个重要趋势.

6 展望

纳米酶作为一个全新的概念和研究范式, 吸引了化学、生物、物理、医学等多领域参与, 进入高速发展期. 然而, 很多重要问题也随着研究的深入不断浮现出来, 并成为了纳米酶下一阶段研究中的重要课题. 在此, 我们对纳米酶在下一个十年中可能取得重大进展的研究方向加以展望.

(1) 推进纳米酶的产业转化应用. 纳米酶独特的优势是其高稳定性和多功能性. 相比天然酶苛刻的环境要求, 纳米酶可在更宽泛的环境条件下(低温、高盐、强酸、强碱)高效稳定地执行催化功能. 另外, 许多纳米酶催化性能已经可媲美甚至超越天然酶, 并且在多

酶活级联、酶活调控等多方面表现出独特的优势. 然而, 尽管纳米酶在多个领域的应用研究中已有许多文章发表, 其实际应用尚未取得实质性突破. 如何面向国家重大需求, 利用纳米酶的独特优势, 找到其用武之地, 实现产业化应用, 解决实际问题, 将是纳米酶下一阶段研究中的重要核心问题.

(2) 完善纳米酶标准化体系. 纳米酶的应用研究和产业化推广的首要任务是建立健全纳米酶的行业标准. 当前, 纳米酶已经初步建立了标准术语与分类方法以及过氧化物纳米酶测活方法. 然而, 当前对于纳米酶的活性测定、定义与计算方法仍尚未形成统一共识. 由于缺乏公认的标准化方法, 不同研究之间所测活性相差较大, 难以相互比较. 为此, 有必要继续完善纳米酶的科学和行业标准, 进一步规范纳米酶的定义、分类、术语和测活方法, 促进纳米酶研究体系的有序化和可比性.

(3) 揭示纳米酶的天然属性及作用. 天然纳米酶有望成为纳米酶领域未来研究的重要热点. 虽然目前绝大多数纳米酶是经人工合成, 但无机纳米材料具有酶学性质这一普遍规律已经得到充分证实. 在自然界中存在着数不清的天然无机纳米材料, 它们广泛地分布在世界的每个角落, 以及生物体中. 一些生物合成的天然纳米酶, 如铁蛋白内核水铁矿、磁小体等已被报道具有类酶催化活性. 天然纳米酶的存在表明, 生物体系内除了蛋白酶、核酸酶之外, 还存在更多形式的生物催化剂. 我们猜想, 生物体内的纳米酶或许远不止这少数几种. 究竟在生物体内存在多少种纳米酶以及其如何参与到重要的生命活动中, 将有望随着细胞内无机颗粒表征等技术的进步而得以揭示. 此外, 天然纳米酶是否是酶的最早期的一种形式, 其与酶之前是否存在进化上的相关性, 也是未来值得关注的重要且有趣的问题.

致谢 国家纳米科学中心高兴发研究员对纳米酶催化机制部分给予指导, 张帅、王前、谢佳颖、赵菡卿、张紫霞、汤国恒、洪超仪、周彩玉、曹浩林、吴雪彤等查阅和整理相关资料, 在此一并致谢. 作者通过拜读有关“纳米酶”的论文而与汪尔康院士结缘, 并有幸得到汪先生长期的指导和鼓励. 在庆祝汪先生90寿辰之际, 我们怀着感恩之情奉上此文, 以表达对先生的敬仰与感激.

参考文献

- 1 Gao L, Zhuang J, Nie L, Zhang J, Zhang Y, Gu N, Wang T, Feng J, Yang D, Perrett S, Yan X. *Nat Nanotech*, 2007, 2: 577–583

- 2 Wei H, Wang E. *Anal Chem*, 2008, 80: 2250–2254
- 3 Wei H, Wang E. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 6060–6093
- 4 Wei H, Gao L, Fan K, Liu J, He J, Qu X, Dong S, Wang E, Yan X. *Nano Today*, 2021, 40: 101269
- 5 Gao L, Liang M, Wen T, Wei H, Zhang Y, Fan K, Jiang B, Wu X, Gu N, Pang D, Xu H, Yan X. *China Terminol*, 2020, 22: 21–24 (in Chinese)
[高利增, 梁敏敏, 温涛, 魏辉, 张宇, 范克龙, 江冰, 曲晓刚, 顾宁, 庞代文, 许海燕, 阎锡蕴. 中国科技术语, 2020, 22: 21–24]
- 6 Jiang B, Duan D, Gao L, Zhou M, Fan K, Tang Y, Xi J, Bi Y, Tong Z, Gao GF, Xie N, Tang A, Nie G, Liang M, Yan X. *Nat Protoc*, 2018, 13: 1506–1520
- 7 Chen X, Zhu C, Xu Y, Wang K, Cao X, Shen Y, Liu S, Zhang Y. *Catal Sci Technol*, 2021, 11: 7255–7259
- 8 Lu X, Gao S, Lin H, Tian H, Xu D, Shi J. *Natl Sci Rev*, 2022, : doi: 10.1093/nsr/nwac022
- 9 Zandieh M, Liu J. *Langmuir*, 2022, 38: 3617–3622
- 10 Zandieh M, Liu J. *ACS Nano*, 2021, 15: 15645–15655
- 11 Wang Z, Zhang R, Yan X, Fan K. *Mater Today*, 2020, 41: 81–119
- 12 Li M, Chen J, Wu W, Fang Y, Dong S. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 15569–15574
- 13 Ji S, Jiang B, Hao H, Chen Y, Dong J, Mao Y, Zhang Z, Gao R, Chen W, Zhang R, Liang Q, Li H, Liu S, Wang Y, Zhang Q, Gu L, Duan D, Liang M, Wang D, Yan X, Li Y. *Nat Catal*, 2021, 4: 407–417
- 14 Benedetti TM, Andronesco C, Cheong S, Wilde P, Wordsworth J, Kientz M, Tilley RD, Schuhmann W, Gooding JJ. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 13449–13455
- 15 Zhang Z, Zhang X, Liu B, Liu J. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 5412–5419
- 16 Sun Y, Zhao C, Gao N, Ren J, Qu X. *Chem Eur J*, 2017, 23: 18146–18150
- 17 Xi J, Zhang R, Wang L, Xu W, Liang Q, Li J, Jiang J, Yang Y, Yan X, Fan K, Gao L. *Adv Funct Mater*, 2021, 31: 2007130
- 18 Xu B, Wang H, Wang W, Gao L, Li S, Pan X, Wang H, Yang H, Meng X, Wu Q, Zheng L, Chen S, Shi X, Fan K, Yan X, Liu H. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 4911–4916
- 19 Cao S, Zhao Z, Zheng Y, Wu Z, Ma T, Zhu B, Yang C, Xiang X, Ma L, Han X, Wang Y, Guo Q, Qiu L, Cheng C. *Adv Mater*, 2022, 34: 2200255
- 20 Huang L, Chen J, Gan L, Wang J, Dong S. *Sci Adv*, 2019, 5: eaav5490
- 21 Meng X, Li D, Chen L, He H, Wang Q, Hong C, He J, Gao X, Yang Y, Jiang B, Nie G, Yan X, Gao L, Fan K. *ACS Nano*, 2021, 15: 5735–5751
- 22 Chen X, Zhao L, Wu K, Yang H, Zhou Q, Xu Y, Zheng Y, Shen Y, Liu S, Zhang Y. *Chem Sci*, 2021, 12: 8865–8871
- 23 Wang X, Gao XJ, Qin L, Wang C, Song L, Zhou YN, Zhu G, Cao W, Lin S, Zhou L, Wang K, Zhang H, Jin Z, Wang P, Gao X, Wei H. *Nat Commun*, 2019, 10: 704
- 24 Zhou Q, Yang H, Chen X, Xu Y, Han D, Zhou S, Liu S, Shen Y, Zhang Y. *Angew Chem Intl Ed*, 2022, 61: doi: 10.1002/anie.202112453
- 25 Zhan P, Wang ZG, Li N, Ding B. *ACS Catal*, 2015, 5: 1489–1498
- 26 Chen J, Huang L, Wang Q, Wu W, Zhang H, Fang Y, Dong S. *Nanoscale*, 2019, 11: 5960–5966
- 27 Zhang H, Huang L, Chen J, Liu L, Zhu X, Wu W, Dong S. *Nano Energy*, 2021, 83: 105798
- 28 Bose I, Zhao Y. *ACS Catal*, 2021, 11: 3938–3942
- 29 Chen J, Ma Q, Li M, Wu W, Huang L, Liu L, Fang Y, Dong S. *Nanoscale*, 2020, 12: 23578–23585
- 30 Zhao R, Zhao X, Gao X. *Chem Eur J*, 2015, 21: 960–964
- 31 Hu Y, Gao XJ, Zhu Y, Muhammad F, Tan S, Cao W, Lin S, Jin Z, Gao X, Wei H. *Chem Mater*, 2018, 30: 6431–6439
- 32 Wang D, Song X, Li P, Gao XJ, Gao X. *J Mater Chem B*, 2020, 8: 9028–9034
- 33 Shen X, Liu W, Gao X, Lu Z, Wu X, Gao X. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 15882–15891
- 34 Li J, Liu W, Wu X, Gao X. *Biomaterials*, 2015, 48: 37–44
- 35 Fang G, Li W, Shen X, Perez-Aguilar JM, Chong Y, Gao X, Chai Z, Chen C, Ge C, Zhou R. *Nat Commun*, 2018, 9: 129
- 36 Shen X, Wang Z, Gao X, Zhao Y. *ACS Catal*, 2020, 10: 12657–12665
- 37 Zhang R, Chen L, Liang Q, Xi J, Zhao H, Jin Y, Gao X, Yan X, Gao L, Fan K. *Nano Today*, 2021, 41: 101317
- 38 Wang Z, Shen X, Gao X, Zhao Y. *Nanoscale*, 2019, 11: 13289–13299
- 39 Sun H, Zhao A, Gao N, Li K, Ren J, Qu X. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 7176–7180
- 40 Osuna S, Swart M, Solà M. *Chem Eur J*, 2010, 16: 3207–3214
- 41 Wei Y, Wu J, Wu Y, Liu H, Meng F, Liu Q, Midgley AC, Zhang X, Qi T, Kang H, Chen R, Kong D, Zhuang J, Yan X, Huang X. *Adv Mater*,

- 2022, 34: 2201736
- 42 Perez JM. *Nat Nanotech*, 2007, 2: 535–536
- 43 Tao Y, Ju E, Ren J, Qu X. *Adv Mater*, 2015, 27: 1097–1104
- 44 Asati A, Santra S, Kaittanis C, Nath S, Perez JM. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 2308–2312
- 45 Chong Y, Liu Q, Ge C. *Nano Today*, 2021, 37: 101076
- 46 Giorgio M, Trinei M, Migliaccio E, Pelicci PG. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 722–728
- 47 Zhuo S, Fang J, Li M, Wang J, Zhu C, Du J. *Microchim Acta*, 2019, 186: 1–8
- 48 Hu FX, Hu T, Chen S, Wang D, Rao Q, Liu Y, Dai F, Guo C, Yang HB, Li CM. *Nano-Micro Lett*, 2021, 13: 7
- 49 Zhang H, Liang X, Han L, Li F. *Small*, 2018, 14: 1803256
- 50 Liu X, Wang Q, Zhao H, Zhang L, Su Y, Lv Y. *Analyst*, 2012, 137: 4552–4558
- 51 Kim HY, Park KS, Park HG. *Theranostics*, 2020, 10: 4507–4514
- 52 Zhang L, Zhang L, Deng H, Li H, Tang W, Guan L, Qiu Y, Donovan MJ, Chen Z, Tan W. *Nat Commun*, 2021, 12: 2002
- 53 Zhou C, Wang Q, Jiang J, Gao L. *Antibiotics*, 2022, 11: 390
- 54 Fan K, Xi J, Fan L, Wang P, Zhu C, Tang Y, Xu X, Liang M, Jiang B, Yan X, Gao L. *Nat Commun*, 2018, 9: 1440
- 55 Xu Y, Xue J, Zhou Q, Zheng Y, Chen X, Liu S, Shen Y, Zhang Y. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 14498–14503
- 56 Liang Q, Xi J, Gao XJ, Zhang R, Yang Y, Gao X, Yan X, Gao L, Fan K. *Nano Today*, 2020, 35: 100935
- 57 Sun Z, Liu Q, Wang X, Wu J, Hu X, Liu M, Zhang X, Wei Y, Liu Z, Liu H, Chen R, Wang F, Midgley AC, Li A, Yan X, Wang Y, Zhuang J, Huang X. *Theranostics*, 2022, 12: 1132–1147
- 58 Gao L, Liu Y, Kim D, Li Y, Hwang G, Naha PC, Cormode DP, Koo H. *Biomaterials*, 2016, 101: 272–284
- 59 Liu Y, Huang Y, Kim D, Ren Z, Oh MJ, Cormode DP, Hara AT, Zero DT, Koo H. *Nano Lett*, 2021, 21: 9442–9449
- 60 Wang D, Zhang B, Ding H, Liu D, Xiang J, Gao XJ, Chen X, Li Z, Yang L, Duan H, Zheng J, Liu Z, Jiang B, Liu Y, Xie N, Zhang H, Yan X, Fan K, Nie G. *Nano Today*, 2021, 40: 101243
- 61 Han L, Zhang H, Chen D, Li F. *Adv Funct Mater*, 2018, 28: 1800018
- 62 Hong C, Zhang X, Wu C, Chen Q, Yang H, Yang D, Huang Z, Cai R, Tan W. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 54426–54432
- 63 Baker SJ, Payne DJ, Rappuoli R, De Gregorio E. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 12887–12895
- 64 Borah N, Tamuly C. *Talanta*, 2022, 238: 123000
- 65 He D, Wu Z, Cui B, Xu E, Jin Z. *Food Chem*, 2019, 289: 708–713
- 66 Ma Y, Zhao Y, Xu X, Ding S, Li Y. *Talanta*, 2021, 235: 122798
- 67 Zhi L, Zhang S, Li M, Tu J, Lu X. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14: 9442–9453
- 68 Duan D, Fan K, Zhang D, Tan S, Liang M, Liu Y, Zhang J, Zhang P, Liu W, Qiu X, Kobinger GP, Fu Gao G, Yan X. *Biosens Bioelectron*, 2015, 74: 134–141
- 69 Liu D, Ju C, Han C, Shi R, Chen X, Duan D, Yan J, Yan X. *Biosens Bioelectron*, 2021, 173: 112817
- 70 Zhao H, Zhang R, Yan X, Fan K. *J Mater Chem B*, 2021, 9: 6939–6957
- 71 Yadav UCS. Oxidative Stress-induced lipid peroxidation: role in inflammation. In: Rani V, Yadav U, Eds. *Free Radicals in Human Health and Disease*. New Delhi: Springer, 2015. 119–129
- 72 Singh N, NaveenKumar SK, Geethika M, Mugesh G. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 3121–3130
- 73 Bhushan B, Gopinath P. *J Mater Chem B*, 2015, 3: 4843–4852
- 74 Cheng Y, Cheng C, Yao J, Yu Y, Liu Y, Zhang H, Miao L, Wei H. *Adv Therap*, 2021, 4: 2100081
- 75 Chen Y, Tan J, Zhang Q, Xin T, Yu Y, Nie Y, Zhang S. *Nano Lett*, 2020, 20: 6548–6555
- 76 Khurana A, Anchi P, Allawadhi P, Kumar V, Sayed N, Packirisamy G, Godugu C. *Nanomedicine*, 2019, 14: 1805–1825
- 77 Liu T, Xiao B, Xiang F, Tan J, Chen Z, Zhang X, Wu C, Mao Z, Luo G, Chen X, Deng J. *Nat Commun*, 2020, 11: 2788
- 78 Lin S, Cheng Y, Zhang H, Wang X, Zhang Y, Zhang Y, Miao L, Zhao X, Wei H. *Small*, 2020, 16: 1902123
- 79 Gu Y, Huang Y, Qiu Z, Xu Z, Li D, Chen L, Jiang J, Gao L. *Sci China Life Sci*, 2020, 63: 68–79
- 80 Cao F, Zhang L, You Y, Zheng L, Ren J, Qu X. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 5108–5115
- 81 Zheng W, Jiang B, Hao Y, Zhao Y, Zhang W, Jiang X. *Biofabrication*, 2014, 6: 045004
- 82 Sahu A, Jeon J, Lee MS, Yang HS, Tae G. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 25649–25662

- 83 Ren C, Li D, Zhou Q, Hu X. *Biomaterials*, 2020, 232: 119752
- 84 Allawadhi P, Khurana A, Allawadhi S, Joshi K, Packirisamy G, Bharani KK. *Nano Today*, 2020, 35: 100982
- 85 Yuan A, Xia F, Bian Q, Wu H, Gu Y, Wang T, Wang R, Huang L, Huang Q, Rao Y, Ling D, Li F, Gao J. *ACS Nano*, 2021, 15: 13759–13769
- 86 Li Y, Fu R, Duan Z, Zhu C, Fan D. *Adv Healthc Mater*, 2022, 11: 2101849
- 87 Kim J, Takahashi M, Shimizu T, Shirasawa T, Kajita M, Kanayama A, Miyamoto Y. *Mech Ageing Dev*, 2008, 129: 322–331
- 88 Chi ZL, Yu GH. *Sci China Earth Sci*, 2021, 64: 1015–1025
- 89 Chen Z, Yin JJ, Zhou YT, Zhang Y, Song L, Song M, Hu S, Gu N. *ACS Nano*, 2012, 6: 4001–4012
- 90 Zhang Y, Wang Z, Li X, Wang L, Yin M, Wang L, Chen N, Fan C, Song H. *Adv Mater*, 2016, 28: 1387–1393
- 91 Zhang Y, Khalique A, Du X, Gao Z, Wu J, Zhang X, Zhang R, Sun Z, Liu Q, Xu Z, Midgley AC, Wang L, Yan X, Zhuang J, Kong D, Huang X. *Adv Mater*, 2021, 33: 2006570
- 92 Hanafy BI, Cave GWV, Barnett Y, Pierscionek BK. *Nanomaterials*, 2021, 11: 1473
- 93 Liu S, Li K, Hu T, Shao D, Huang S, Xie Y, Zheng X. *Colloids Surfs B-Biointerfaces*, 2021, 202: 111666
- 94 Zhang H, Qu H, He Q, Gao L, Zhang H, Wang Y, Zhang Z, Hou L. *J Control Release*, 2021, 339: 195–207
- 95 Cao C, Zou H, Yang N, Li H, Cai Y, Song X, Shao J, Chen P, Mou X, Wang W, Dong X. *Adv Mater*, 2021, 33: 2106996
- 96 Chen J, Bao Y, Song Y, Zhang C, Qiu F, Sun Y, Xin L, Cao J, Jiang Y, Luo J, Zhang C, Wang G, Li Q, Liu Y, Tong W, Huang P. *Cancer Lett*, 2021, 520: 100–108
- 97 Pratsinis A, Kelesidis GA, Zuercher S, Krumeich F, Bolisetty S, Mezzenga R, Leroux JC, Sotiriou GA. *ACS Nano*, 2017, 11: 12210–12218
- 98 Han Q, Wang H, Wu D, Wei Q. *Biosens Bioelectron*, 2021, 173: 112803
- 99 Chen S, Shi N, Huang M, Tan X, Yan X, Wang A, Huang Y, Ji R, Zhou D, Zhu YG, Keller AA, Gardea-Torresdey JL, White JC, Zhao L. *ACS Nano*, 2021, 15: 16344–16356
- 100 Wang Z, Liu Y, Dong X, Sun Y. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 49974–49981
- 101 Xia M, Zhuo C, Ma X, Zhang X, Sun H, Zhai Q, Zhang Y. *Chem Commun*, 2017, 53: 11302–11305
- 102 Hu X, Huang T, Liao H, Hu L, Wang M. *J Mater Chem B*, 2020, 8: 4428–4433
- 103 Lin P, Cao M, Xia F, Liao H, Sun H, Wang Q, Lee J, Zhou Y, Guan Y, Zhang C, Xu Z, Li F, Wei JF, Ling D. *Adv Sci*, 2021, 8: 2004115
- 104 Liu Z, Wang F, Ren J, Qu X. *Biomaterials*, 2019, 208: 21–31
- 105 Xu F, Lu Q, Huang PJJ, Liu J. *Chem Commun*, 2019, 55: 13215–13218
- 106 Zhang J, Wu S, Ma L, Wu P, Liu J. *Nano Res*, 2020, 13: 455–460
- 107 Liu X, Qi W, Wang Y, Su R, He Z. *Eur J Inorg Chem*, 2018, 2018: 4579–4585
- 108 Moons J, de Azambuja F, Mihailovic J, Kozma K, Smiljanic K, Amiri M, Cirkovic Velickovic T, Nyman M, Parac-Vogt TN. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 9094–9101
- 109 Korschelt K, Schwidetzky R, Pfitzner F, Strugatchi J, Schilling C, von der Au M, Kirchhoff K, Panthöfer M, Lieberwirth I, Tahir MN, Hess C, Meermann B, Tremel W. *Nanoscale*, 2018, 10: 13074–13082
- 110 Walther R, van den Akker W, Fruergaard AS, Zelikin AN. *Small*, 2020, 16: 2004280
- 111 Singhvi MS, Deshmukh AR, Kim BS. *Green Chem*, 2021, 23: 5064–5081
- 112 Walther R, Huynh TH, Monge P, Fruergaard AS, Mamakhel A, Zelikin AN. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 25685–25693
- 113 Li S, Zhou Z, Tie Z, Wang B, Ye M, Du L, Cui R, Liu W, Wan C, Liu Q, Zhao S, Wang Q, Zhang Y, Zhang S, Zhang H, Du Y, Wei H. *Nat Commun*, 2022, 13: 827
- 114 Tian Z, Yao T, Qu C, Zhang S, Li X, Qu Y. *Nano Lett*, 2019, 19: 8270–8277
- 115 Chen Y, Yang Y, Orr AA, Makam P, Redko B, Haimov E, Wang Y, Shimon LJW, Rencus-Lazar S, Ju M, Tamamis P, Dong H, Gazit E. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 17164–17170
- 116 Khairy M, Mahmoud AH, Khalil KMS. *RSC Adv*, 2021, 11: 17746–17754
- 117 Li F, Li S, Guo X, Dong Y, Yao C, Liu Y, Song Y, Tan X, Gao L, Yang D. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 11087–11092
- 118 Singh N, Savanur MA, Srivastava S, D'Silva P, Mughesh G. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 14267–14271
- 119 Zhou Y, Liu C, Yu Y, Yin M, Sun J, Huang J, Chen N, Wang H, Fan C, Song H. *Adv Mater*, 2020, 32: 2003708
- 120 Shan J, Yang K, Xiu W, Qiu Q, Dai S, Yuwen L, Weng L, Teng Z, Wang L. *Small*, 2020, 16: 2001099

Nanozymes: next-generation artificial enzymes

Lizeng Gao^{1,2}, Lei Chen¹, Ruofei Zhang¹, Xiyun Yan^{1,2,3*}

¹ CAS Engineering Laboratory for Nanozyme, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

² Nanozyme Medical Center, School of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

³ Shenzhen Institute of Synthetic Biology, Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China

*Corresponding author (email: yanxy@ibp.ac.cn)

Abstract: Nanozymes are a new concept created by Chinese scientists and have been recorded in textbooks and encyclopedia. Prof. Erkang Wang pioneered to utilize nanozymes for analytical detection and then published a review entitled “Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes”. These contributions not only expand the impact of nanozymes, but also facilitate the translational applications of nanozymes, leading to an interdisciplinary hot spot with emerging new materials, technologies and products of nanozymes. In this paper, the definition, classification and catalytic mechanism of nanozymes are introduced, and the recent progress of their application is summarized. The future research directions and development trends are also proposed.

Keywords: nanozymes, natural enzymes, rational design, catalytic mechanism, translational applications

doi: [10.1360/SSC-2022-0088](https://doi.org/10.1360/SSC-2022-0088)