细胞表面分子修饰与组装及生化分析应用

曾余静¹, 高涛^{2*}, 李根喜^{1*}

1. 南京大学生命科学学院, 医药生物技术国家重点实验室, 南京 210023;

2. 南京师范大学生命科学学院, 江苏省分子医学生物技术重点实验室, 南京 210023

* 联系人, E-mail: taogao@nju.edu.cn; genxili@nju.edu.cn

收稿日期: 2021-05-20; 接受日期: 2021-08-10; 网络版发表日期: 2021-10-08

摘要 生命演化进程中, 从单细胞生物到具有多细胞系统的高等生物, 自然界呈现了多尺度、多层次、多功能的结构体系. 在生理和疾病进程中, 细胞通过质膜界面上一系列的分子事件, 建立细胞间交流, 并促进细胞增殖、分化和迁移等活动. 这些不同类型的细胞经“互作”与“集合”共同构成了具备完整功能的生命结构体系. 由此, 发展细胞表面分子修饰与组装技术, 并尝试从分子水平探究细胞的界面行为, 了解细胞表面分子事件与生化反应, 是探究生命体功能和实现生物学应用的关键, 可极大推动多个研究和应用领域的发展, 包括生物传感、疾病诊断、转化医学、组织工程等. 因此, 本综述将结合近几年研究组和国内外最新研究进展, 对细胞表面的分子修饰与组装进行系统阐述, 重点介绍DNA和多肽等在细胞表面的修饰和组装及生化应用.

关键词 细胞表面工程, 分子识别, 自组装, 分子工程, 生化分析

细胞是构成生命体的基本单元, 是个体生长与发育的基础, 是物质、能量和信息精巧结合的多层次综合体, 对细胞的认识和理解是生命科学研究的基础. 同时, 越来越多研究表明, 细胞通过其表面的一系列分子事件完成正常的生理功能, 进行细胞间的交流, 以构建复杂多样的生命体系^[1,2].

细胞表面的分子事件在决定细胞命运方面起着关键性的作用, 包括激活胞内信号通路, 调节细胞间相互作用, 介导细胞与微环境的交流等^[3]. 同时, 细胞膜作为细胞重要的功能结构, 不仅可以维持细胞内环境稳定, 而且直接参与细胞与胞外环境的物质交换和信息传递. 比如, 细胞生长因子与细胞膜上受体分子特异性结合后, 能引发该受体胞内结构域活性(如酪氨酸受

体激酶), 并激活下游信号通路, 从而促进细胞的增殖、生长和迁移等^[4]; 又如, 神经系统化学信号的传递依赖于神经元胞膜间形成的突触结构, 突触前膜释放的信号分子与突触后膜表面蛋白结合后, 能引起突触后膜通透性的改变, 从而传递兴奋或抑制性变化^[5,6]; 再如, 细胞表面整联蛋白参与细胞骨架形成, 并通过一系列组装与解组装过程辅助细胞感知微环境应力变化, 调节细胞多种生理行为^[7,8]. 因此, 实现对细胞表面的分子修饰, 不仅能够感知并捕捉细胞表面的分子事件, 为探究细胞活动提供研究方法, 而且还能够为研究细胞界面分子功能和调控机制提供更有效的技术支撑. 由此, 在过去的十几年中, 相关技术为细胞生物学、分子医学及生化分析的发展创造了条件^[9~11]. 同

引用格式: 曾余静, 高涛, 李根喜. 细胞表面分子修饰与组装及生化分析应用. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 373–386
Zeng Y J, Gao T, Li G X. Molecular modification and assembly at cell surface for biochemical analysis (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 373–386,
doi: 10.1360/SSV-2021-0153

时, 各领域的研究者们引入合成生物学、分子生物学和材料科学等交叉学科知识和工具对细胞表面的修饰进行了深入的探索^[12], 细胞界面工程技术正朝着高度精确、可控的方向发展, 并已在生物传感、细胞功能操纵、分子诊断和疾病治疗领域取得了诸多进展^[13-16]。本文将围绕细胞表面分子修饰, 重点介绍细胞膜表面的生化特性、细胞表面分子修饰与组装方法, 及其在生化分析领域应用的最新研究进展, 以期呈现细胞表面分子工程技术在生物传感、细胞生物学及分子医学中的应用与发展。

1 细胞膜结构与表面生化性质

细胞表面含有成千上万种生物分子, 包含脂质、蛋白质、多糖等分子, 这些生物分子以复杂且动态的方式在多个尺度上进行空间排布。同时, 细胞表面的拓扑结构、亲疏水平衡、自由能、电荷、化学基团和生物特异性识别与相互作用等对细胞表面修饰也具有较大影响^[17]。

细胞膜是由两亲性脂质分子(磷酸甘油、鞘氨醇、糖脂、胆固醇等)组成的双分子层, 并嵌有跨膜蛋白, 可防止可溶性物质的自由进出。这种结构一方面为细胞提供了相对稳定的环境; 另一方面, 细胞膜上的特定分子(如膜蛋白)通过控制细胞间的相互作用、选择性黏附和物质运输等活动响应外界生化微环境。例如, 细胞通过表面受体识别外源信号分子实现细胞信号转导并触发胞内的级联反应, 该级联反应可以刺激或抑制细胞的特定活动, 调节基因表达和决定细胞命运^[18,19]。

细胞表面的各类分子为分子的修饰和组装提供了便捷和可能^[20]。例如, 经典的RGD肽和整合素的“配体-受体对”已经得到了广泛的研究和应用^[21-23], 一些人工合成肽可以结合细胞膜上的多糖类物质(右旋聚糖等)^[24]; 而细胞膜上的黏附分子(如凝集素)则会识别某些碳水化合物^[25]。这些结合方式为开辟表面功能化修饰新方法提供了可能性^[2]。此外, 细胞表面上存在的不同官能团(包括氨基、巯基和羧基等各种反应性官能团)也为外源性修饰提供了广阔的空间^[26]。

但是, 细胞表面分子修饰和组装仍然具有挑战性。一方面, 细胞表面是高度异质的环境, 在不同类型的蛋白质、聚糖和脂质分子环境中, 选择合适的靶标分子

和对应的修饰方法对细胞分析的准确性和有效性至关重要; 另一方面, 细胞表面组成是动态的, 这使得持续稳固的修饰变得相当困难。因此, 为适应细胞膜结构和表面生化特性, 目前已发展了多种类型的细胞表面分子修饰与组装技术。

2 细胞表面的分子修饰与组装技术

基于上述细胞表面的生化特性, 重点介绍细胞表面分子修饰与组装方法研究的最新进展。如图1所示, 这些方法可概括为非特异性(疏水作用、极性插入、静电作用和共价作用等)和特异性(通过遗传、酶修饰、代谢工程等方法进行的位点特异性生物正交方法)两类, 其源于分子生物学、有机化学和材料学等学科, 具备各自的优势和特点^[27,28]。表1对这些方法各自的优势和不足进行了汇总。

非特异性的细胞表面功能化修饰通常借助于细胞表面天然的基团或固有的理化特性。一方面, 由于细胞

图1 细胞表面修饰与分子组装策略示意图。左侧: 非特异性的细胞表面修饰方法, 包括共价作用、静电作用和疏水作用; 右侧: 特异性的细胞表面修饰方法, 包括酶修饰、代谢工程和基于分子识别的修饰

Figure 1 Illustration of cell surface modification and molecular assembly strategies. Left: Nonspecific strategies, including covalent modification, electrostatic and hydrophobic interaction. Right: Specific strategies, including enzyme-mediated modification, metabolic engineering and molecular recognition-based approach

表 1 细胞表面修饰与分子组装方法

Table 1 Methods for cell surface modification and molecular assembly

修饰策略		方法	优势	不足
非特异性	共价连接	利用NHS, Mal等化学偶联剂	通用的细胞表面功能化方法; 无需预处理; 偶联试剂已商业化	外源性底物必须预先激活; 副产物的积累可能会引起细胞毒性; 可能会引起细胞表面交联, 导致蛋白质功能的不可逆损伤
	静电作用	利用阳离子聚合物, 如PLL, PSS, PEI等	能自发与细胞表面结合, 且结合稳定; 依赖静电相互作用, 细胞表面无需预活化	聚合物可能会产生细胞毒性
	疏水作用	利用脂质体锚定物或疏水链段	相比于共价修饰, 对细胞损伤较小; 修饰过程简单快速	可能引起细胞膜结构改变, 影响正常生理功能; 细胞培养基中血清蛋白的存在会限制插入效率
特异性	遗传	利用mRNA转染	对膜蛋白的时空调控性; 可实现对膜蛋白表达的上调或下调	受限于细胞类型; 仅限于修饰蛋白; 基因操作可能导致不受控制的诱变; 表达出的蛋白可能没有活性; 操作复杂且耗时长
	酶修饰	利用分选酶A, Halotag蛋白等	小肽标签不会影响底物功能; 生理条件下转化率高	部分酶需融合蛋白/标签; 由分选酶A介导的连接存在可逆性
	代谢工程	利用叠氮化糖和炔类物进行点击标记	可实现无需基因改造的位点特异性修饰; 点击反应快速, 无副产物产生	在细胞表面引入非自然叠氮化物/炔基等需遗传或化学预处理; 仅限于对细胞外基质糖结构的修饰; 局限于对真核细胞的修饰
	受体-配体识别	利用核酸适配体或功能化抗体与表面蛋白特异性结合	无需复杂的预处理过程; 受体-配体高亲和力, 剪异性强	核酸适配体种类有限; 抗体修饰成本较高

表面的蛋白质氨基酸残基中含有丰富的氨基、巯基、羧基等基团, 因此可利用琥珀酰亚胺酯(NHS)或马来酰亚胺(Mal)等偶联剂实现共价修饰^[29]. 这类方法由于技术成熟、相关试剂已商业化而且反应条件温和被广泛应用于细胞表面修饰. 比如, NHS功能化的聚乙二醇(PEG)修饰到胰岛细胞表面可减少移植后宿主的免疫应答^[30]; 将Mal修饰的寡核酸探针与细胞膜蛋白的巯基进行结合, 利用核酸探针-银簇复合物可实现对肿瘤细胞的高灵敏识别与检测^[31]. 另一方面, 通过静电相互作用则可以将带正电的功能材料(如多聚赖氨酸(PLL)、聚苯乙烯磺酸(PSS)、聚乙烯亚胺(PEI)等)组装到带负电的细胞膜表面. 其中, 基于聚电解质的层层自组装(LBL)修饰技术通过利用各层分子间相互作用在细胞表面自发组装形成完整、稳定、具有特定生理功能的薄膜结构, 目前已广泛应用于细胞功能调控与组织工程^[32]. 另外, 由于细胞膜天然的磷脂双分子层结构, 可以将含有疏水链段(如胆固醇、生育酚、C18等)的分子直接锚定到细胞膜上. 这种方式与共价修饰相比, 对细胞正常生理功能的影响更小^[33], 因此通过在功能DNA分子末端修饰胆固醇分子, 将其成功嵌入

生物膜内, 可用来分析膜界面的分子事件^[27].

利用细胞膜表面的天然特性进行的直接修饰往往缺乏特异性, 并可能会引起细胞膜或膜蛋白结构的改变. 近年来, 基于位点特异性的生物正交反应^[34]在活细胞成像^[35]、细胞分选^[36]和基于细胞的生物传感^[37]等领域表现出极大的应用潜力. 特异性的细胞表面功能化修饰通常依赖于被修饰的分子与细胞原有的或外源刺激诱导产生的表面特征分子或基团之间的特异性识别. 其中, 遗传学手段是通过基因工程等技术将基因载体导入细胞, 从而实现对细胞表面蛋白的特异性修饰. 目前, 该方法已应用于细胞生物学、合成生物学、药物递送等研究^[17], 比如, Shurer等人^[38]发现将HEK细胞表面MUC1蛋白人为上调后, 细胞黏附力降低, 从而揭示了MUC1糖蛋白在肿瘤侵袭与转移进程中的重要作用. 值得注意的是, 这类修饰策略受限于细胞类型, 且存在突变的可能. 与遗传学手段相比, 由酶介导的细胞表面修饰技术则提供了更为有力的工具, 这类酶能通过对特定底物序列的识别, 将目标分子定点定位地修饰到膜表面. 例如, 细菌分选酶A(SrtA)是一种钙依赖转肽酶, 能够识别并催化保守序列

LPXTG和多聚甘氨酸间的连接, 利用SrtA构建的邻位细胞标记技术可成功实现对细胞间相互作用的检测^[39]; 通过细菌脱卤素酶改造的蛋白标签Halotag可以与氯代烷烃配基共价结合, Pulsipher等人^[40]利用Halotag将特定多糖聚合物修饰到胚胎干细胞表面, 引导干细胞定向分化为神经细胞. 除了利用酶的催化作用, 代谢工程也可以在细胞膜上引入功能基团. 例如, Dube和Bertozzi^[41]创新性地利用细胞自身的代谢反应, 将特定的功能分子(如叠氮化物)标记到细胞表面, 之后利用点击化学反应实现特异性修饰. 除此之外, 基于配体-受体的分子识别有助于进一步提升表面分子工程方法的多样性与可用性. 除了具有高亲和力的抗体外, 经指数富集的配体系统进化技术(SELEX)体外筛选出的核酸适配体同样能够实现对目标蛋白的特异性识别, 可提供更多的修饰工具. 通过利用核酸适配体或功能化抗体, 构建了一系列生物传感新方法用于肿瘤细胞的检测与分析^[42~45].

3 细胞表面分子修饰与组装的生化分析应用

细胞表面分子事件主要是通过膜蛋白的动态和特异性调节来协调的, 从而促进细胞相互交流以响应其微环境的变化, 这种能力构成了多细胞生物的生命基础. 因此, 近些年来基于细胞表面的分子修饰与组装, 通过细胞表面定量和成像技术, 对细胞的这些分子事件进行了研究, 了解其含量、分布及功能, 并尝试将新方法研究的成果用于医学诊断和生物传感. 以下将主要结合本团队近期的研究成果, 介绍细胞表面分子修饰与组装的生化分析应用.

3.1 细胞表面DNA组装及生化分析应用

DNA分子基于其碱基互补配对的可编程性和可预测性, 在细胞表面的修饰与组装为细胞表面分析提供了有效的工具^[16,46~54]. DNA用于细胞表面分析具备如下优势: (i) DNA化学合成简单、制备纯度高, 可以在内部或末端进一步修饰功能基团; (ii) DNA遵循的Watson-Crick碱基互补配对原则使得基于DNA的功能材料具有可预测性、可编程性和高保真性; (iii) DNA结构稳定, 具有良好的生物相容性和生物可降解性, 构建出的一维、二维、三维材料具备一定的刚度和柔韧性; (iv) 由SELEX技术筛选出的DNA适配体与

多种生物分子的亲和力强、特异性高, 进一步丰富和发展了DNA在细胞表面的识别与组装. DNA操作技术与分子生物学技术、化学修饰技术的进一步融合为细胞表面修饰提供了广阔的空间. 以DNA在细胞表面的标记与组装为例, 介绍其在细胞膜蛋白分析、细胞通讯监测、肿瘤细胞检测中的应用.

(1) 细胞膜蛋白分析. 作为一类生物功能分子, 细胞膜蛋白在物质运输、细胞通讯、能量代谢、胞内信号转导等生理过程中扮演着重要的角色, 对膜蛋白的定量分析在疾病诊断与治疗、药物筛选等方面具有重要意义. 然而, 膜蛋白结构复杂且处于动态的界面环境之中, 传统的定量分析方法往往需要预处理, 操作繁琐耗时. 此外, 对于低丰度的膜蛋白定量分析, 常用的检测方法在灵敏度等方面仍然不能满足要求. 利用简单的基于核酸扩增的原位分析方法实现了对膜蛋白的精准定量, 提出了一种细胞原位DNA分子级联信号放大技术(isRTA). 如图2所示, isRTA以原位标记-滚环扩增-循环再放大的方式进行, 第一轮扩增的产物为第二轮信号放大提供模板, 实现了级联的核酸原位等温扩增反应, 标记的膜蛋白定量信号得到显著增强^[42]. 由此, 对多种肿瘤细胞膜标志蛋白进行了定量分析, 获得了细胞水平上不同疾病标志蛋白的表达量信息, 为肿瘤细胞的分子分型提供了有效的技术手段. 同时, 通过在细胞表面引入DNA核酶, 还实现了对肿瘤相关膜蛋白的同时成像和定量分析^[43,55]. 此外, 随着DNA分子标记和等温扩增技术的不断发展, 有望实现单细胞水平的蛋白生化分析, 为基于分子医学的精准诊疗提供技术支撑^[56,57].

(2) 细胞通讯监测. 细胞间的信息交流离不开生物信号分子, 为了深入理解这种信息交流, 通常做法是收集细胞培养基进行检测. 然而, 这种传统策略无法实现对细胞信号传递的实时监测. 利用DNA探针对细胞表面进行分子工程化处理的方式, 则提供了一种有价值的替代方法. 因此, 研究者在细胞界面上设计出具有独特结构的DNA探针. 比如, 陆艺团队^[58]、谭蔚泓团队^[59]分别把Mg²⁺激活的DNA核酶修饰到细胞表面, 细胞表面的Mg²⁺能切割荧光标记的核酸探针, 产生的荧光信号可用于Mg²⁺的信号监测. Zhao等人^[60]将识别血小板生长因子-BB(PDGF-BB)的适配体修饰在间充质干细胞(MSCs)的表面, PDGF-BB与适配体结合引起的构象变化可以产生荧光信号, 这种经过工程改造的

图2 *isRTA*策略用于膜蛋白标记与原位高灵敏成像和定量分析. 分析过程包括: 核酸探针及引物(*aptamer probe*, *AP*)的原位标记, *DNA*滚环扩增(*RCA*), 以及基于*RCA*的二次信号放大(*RTA*)^[42]

Figure 2 *isRTA* strategy for the label and ultra-sensitive quantification and imaging of membrane proteins, including *in situ* labeling to selectively assign an *aptamer-primer probe* (*AP*) to target *PMP*, the first (*RCA*) and second (*RTA*) rounds of isothermal amplification reactions, initiated by *AP*, to give enhanced quantitative signals^[42]

*MSC*实现了*PDGF-BB*的高时间和空间分辨率检测.

(3) 循环肿瘤细胞(*CTC*)分析. *CTC*由原发部位脱落进入血液循环系统, 是近年来液体活检中备受关注的生物标志物之一^[61]. 本团队发展了新型基于*DNA*分子识别与扩增的新技术用于*CTC*膜标志蛋白的定量分析, 从而实现了转移型*CTC*的精准检测和鉴定, 为临床肿瘤转移的早期发现和患者的个体化治疗提供有价值的信息^[42]. 同时, 结合*DNA*分子技术和电化学分析技术, 提出了基于*DNA*扩增与修饰的电化学分析方法, 为推进*CTC*的临床诊断应用提供了新思路. 利用基于核酸适配体的识别与标记, 结合细胞原位*DNA*滚环扩增放大(*isRCA*)技术, 将生物素标签引入*DNA*, 构建了以“生物素-*DNA*”为分子信标的肿瘤细胞电化学分析平台, 因此, *isRCA*可以把生物素标记的脱氧腺苷三磷酸(*biotin-14-dATP*)引入到叶酸受体高表达的*CTC*上并引发核酸扩增反应, 利用链霉亲和素修饰的氧化铟锡(*ITO*)电极可以有效地捕获*CTC*并用于随后的电化学定量测试^[62]. 此外, 还设计了一种新型的基于*DNA*编织与编码的原位细胞包裹方法, 实现了表面特性的调控和对细胞组装的操控. 如图3所示, 采用以*DNA*为导

向的分子聚合反应(*isDOP*), 在细胞表面原位聚合并编织形成“茧”状的*DNA*网络分子结构. 得益于高度可控的*DNA*聚合反应以及*DNA*碱基精准配对的特性, 该方法实现了对细菌、酵母、哺乳动物细胞等多种类型的生命体包裹, 为细胞的精准操作提供了基础, 可应用于生物传感构建、细胞作用网络的调控、干细胞功能调控、组织再生工程等领域^[63]. 如今, 基于*DNA*分子修饰与组装的细胞表面工程^[64-66]已被用于细胞表面生物传感^[46,67,68], 并显示出潜在的临床应用价值^[69,70].

3.2 细胞仿生组装及生化分析应用

细胞表面离子通道是一类重要的膜蛋白, 能够控制胞内外分子运输以维持细胞的正常生命活动. 例如, 视网膜感光细胞中光电信号的转导依赖于视紫红质的调控^[71]. 视紫红质是一种光敏视色素, 由视蛋白和视黄醛组成. 光引发视黄醛分子构象的变化, 导致细胞膜电位改变而产生感应电流. 利用氧化石墨烯与偶氮苯修饰的*DNA*(*Azo-DNA*)间的相互作用, 在阳极氧化铝薄膜电极表面构建了一种仿细胞表面视紫红质的离子门控^[72]. 如图4所示, 光响应的偶氮苯分子使得*Azo-*

图 3 A: 基于原位DNA导向分子聚合反应(*isDOP*)的细胞包裹和操作. B和C: DNA聚合反应的原子力显微镜图片. D: DNA聚合包裹不同类型细胞后的激光共聚焦图片. E: 细胞包裹效率及活性的流式细胞分析^[63]

Figure 3 A: Schematic illustration of the *in situ* DNA-oriented polymerization reaction (*isDOP*) for cell encapsulation and manipulation. B and C: AFM images showing the polymerization reactions. D: Confocal microscope images showing that typical cell types are encapsulated in the DNA polymers. E: Flow cytometry analysis of the cell viability and encapsulation efficiency^[63]

DNA能够在不同波长光照下形成单链或双链结构, 又由于单、双链DNA与氧化石墨烯的结合能力不同, 从而实现了离子门控的可逆开关. 此外, 通过在纳米孔道上组装仿细胞外基质的结构, 为肿瘤细胞侵袭性分析提供了一种高灵敏和可持续监测的电化学分析策略^[73].

细胞凋亡是保守且不可逆的程序性细胞死亡, 在生物体内受到严格的调控. 细胞凋亡的激活涉及错综复杂的信号网络, 目前, 通过经典的分子生物学技术已经揭示了部分凋亡信号通路. 然而, 细胞凋亡相关研究仍然迫切需要研发具有操作性强、效率高的技术和方法. 同时, 近年来纳米材料的发展日新月异, 其与多个学科的交叉融合为生化分析新方法研究提供了契机^[74-76]. 以金纳米材料为代表的贵金属纳米材料, 以及磁性纳米材料、聚合物纳米材料、碳纳米材料等因

图 4 基于氧化石墨烯与嵌入偶氮苯的DNA相互作用构建的离子门控通道示意图^[72]

Figure 4 Schematic illustration of the construction and working mechanism of the ionic gate based on the interaction between GO and Azo-DNA-modified PAA membrane^[72]

具有独特的物理化学性质, 因而在减少背景干扰的同时能增强对靶分子信息的获取, 从而提高检测灵敏

度^[77,78]. 同时, 通过对纳米材料的可控功能化修饰使其具有靶向性、可降解性、良好的生物相容性等, 进一步拓宽了纳米材料在生化分析领域的应用^[79-81]. 为此, 设计了一种双响应型的DNA纳米器件, 以寡核苷酸作为凋亡信号分子的识别元件, 将其修饰到金纳米颗粒上, 集成并模拟凋亡信号分子的受体系统, 实现了对活细胞中凋亡信号通路的高效成像^[82]. 如图5所示, DNA纳米器件可通过由叶酸受体介导的途径进入细胞, 当上游锰超氧化物歧化酶(MnSOD)mRNA和下游细胞色素c(Cyt c)两种凋亡信号同时存在时, 纳米器件上的Y型DNA解组装从而产生可测得的荧光信号, 这种“与”逻辑门操作实现了对细胞凋亡信号通路的直接原位分析. 在这项工作中, 对信号网络中单个信号分子的独立研究转化为上下游信号分子的网络式研究, 构建了一个通用的、高度整合的活细胞分析策略, 有望为细胞凋亡动态监测、细胞分析模型研究提供新颖的

工具.

肿瘤分型与分期的鉴定对确定治疗方案和判断病人的预后意义重大^[83]. 目前临床上常用的分析方法是组织学病理检测, 但是基于少量瘤组织切片进行的分级通常难以准确反映整个肿瘤的分化程度, 而且容易受到分析人员主观因素的干扰. 如图6所示, 利用氧化石墨烯(GO)与DNA修饰的金纳米颗粒(DNA-AuNPs)构建了一种比色传感阵列, 由于GO和DNA-AuNPs表面丰富的化学基团能够与分析物发生各种特异性或非特异性的识别作用, 因此利用金纳米颗粒独特的光学性质, 实现了对两种常见的非小细胞肺癌亚型——肺腺癌与肺鳞癌的快速准确鉴定及分期, 整个检测过程操作简单, 无需额外的仪器即可完成可视化检测^[84]. 在此基础上, 将多种DNA-AuNPs组装在肿瘤细胞表面, 为肿瘤细胞灵敏、特异的定量分析及分期鉴定创造了条件.

图5 DNA纳米器件的构建原理图(A)和信号通路成像示意图(B)^[82]

Figure 5 Schematic illustration of fabrication of a dual-responsive DNA nanodevice (A) and its application for the available imaging of apoptotic signaling pathway on cells (B)^[82]

图 6 基于ssDNA-GNPs-GO体系的比色阵列的细胞分析用于肺癌的分型与分期^[84]

Figure 6 ssDNA-GNPs-GO based colorimetric array to determine different subtypes and differentiation of non-small cell lung cancer cells^[84]

3.3 细胞传感界面的分子组装及电化学分析

细胞中的各种生理活动大多伴随着电荷的定向传递或转移, 借助电化学技术简单、便捷、灵敏等优势, 细胞电分析化学逐渐发展成非常活跃的研究领域, 为细胞活性分析、疾病诊治以及药物筛选等研究提供了丰富的理论基础和技术支持^[85,86]。特别是近年来, 分子组装技术在电化学传感领域的广泛应用为发展基于电化学技术的细胞分析新方法提供了强有力的工具^[87~89]。因此, 将具有生物识别能力的分子引到传感界面, 模拟细胞表面分子结构, 实现纳米尺度的生物分子识别和协同作用引起了越来越多国内外同行的关注^[90~92]。本团队在模拟细胞传感界面构建膜结构并探究膜界面的分子事件也开展了一些工作, 包括β-淀粉样肽、药物(姜黄素)与细胞膜的相互作用^[93,94], 基于细胞膜外排蛋白的耐药性研究^[95], 细胞膜传感界面的设计等^[96], 为细胞膜传感界面的构建, 膜界面分子事件的探究, 以及细胞电分析奠定了基础^[97~99]。对细胞的电化学分析新方法研究也进行了探索^[85]。近期, 则围绕DNA纳米结构的修饰与组装, 在细胞表面

构建了DNA网络结构, 并引入一些识别分子或功能元件, 实现了对肿瘤细胞检测和细胞的可控捕获与释放; 与此同时, 考虑到肿瘤异质性的客观存在, 通过在细胞膜表面构建基于DNA的分子逻辑门运算, 实现了对乳腺癌标志物的联合检测^[100~104]。此外, 由于具有生物学活性和优异自组装性能的多肽可提供功能更为强大的界面材料^[99], 因此通过将各种蛋白酶、转肽酶的活性变化转化为卷曲螺旋多肽间互补配对、解离等明显的构象变化, 并进而用这种构象变化控制多肽与金属离子的配位作用, 最终将酶活性变化转化为过渡金属离子催化的化学级联放大反应, 从而产生灵敏的生物传感信号^[105,106]。上述这些传感方法能够为细胞表面的多维度和特定功能分析提供广泛的技术选择和参考。例如, 我们基于上述方法对多种肿瘤相关蛋白进行分析, 为肿瘤诊断和预后提供了新的技术手段^[107~109]。最近, 本团队发展了基于多肽的细胞表面自组装并实现了对特定细胞的识别, 其中多位点修饰的纳米颗粒极大地增强了检测信号, 从而提升了细胞分析的灵敏度^[110]。

4 结论与展望

细胞膜表面存在的诸多生物活性分子为细胞功能研究提供了便利, 也为生化分析新方法提供了重要物质基础, 而细胞表面分子修饰与组装使得人为操纵细胞活动成为可能, 为后续探究细胞界面分子事件提供技术手段, 并且为生物传感和生物成像、细胞治疗、组织工程、再生医学、药物输送等领域的研究提供了工具^[111~113]. 细胞表面分子修饰与组装方法的进一步改进将促进细胞表面功能的特定化修饰, 在生物工程和临床医学领域具有广阔的前景. 此外, 现阶段的研究越来越清楚地表明, 细胞可以在膜平面之外的三维空间感知信号, 由此通过系统地设计分子长度、配体价态和多尺度构型, 可以持续推进相关学科的研究发展, 有助于人们更加清楚地理解细胞表面的分子空间

构成和分子活动机制^[17,114].

细胞表面分子修饰与组装的另外一个重要发展方向是寻求结合方式的多样性和互补性. 从目前的研究现状来看, 广泛使用的以黏附分子(如整联蛋白、凝集素、多聚糖)为基础的修饰仅是一个开端, 挖掘其他可修饰的配体可以为细胞特异性表面设计提供更广阔的可能性, 而利用一些多肽材料则可以产生更好的修饰效果. 可以预想到, 未来细胞表面分子修饰与组装技术将会发展出一系列多分子类别的组合, 也会实现更多分子构象、生化性质方面的研究, 从而为包括生化分析新方法研究外的领域发展创造条件, 同时也将会进一步打破化学、生物学、医学、材料学等多学科的界限, 实现多领域研究成果的交叉融合, 进而产生更多、更好的生化分析新方法.

参考文献

- 1 Torres G E, Gainetdinov R R, Caron M G. Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4: 13–25
- 2 Laude A J, Prior I A. Plasma membrane microdomains: organization, function and trafficking (review). *Mol Membr Biol*, 2004, 21: 193–205
- 3 Karp G, Iwasa J, Marshall W. Karp's Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. Hoboken: John Wiley & Sons, 2015. 832
- 4 Lemmon M A, Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*, 2010, 141: 1117–1134
- 5 Fan B Q, He Y J, Yu Y G. 1/f characteristic in natural signals and sensory neural response properties (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2016, 46: 374–384 [范博强, 何裕嘉, 于玉国. 自然界信号的1/f特征和感觉神经系统响应特性. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 374–384]
- 6 Yamada S, Nelson W J. Synapses: sites of cell recognition, adhesion, and functional specification. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76: 267–294
- 7 Wickström S A, Fässler R. Regulation of membrane traffic by integrin signaling. *Trends Cell Biol*, 2011, 21: 266–273
- 8 Horton E R, Byron A, Askari J A, et al. Definition of a consensus integrin adhesome and its dynamics during adhesion complex assembly and disassembly. *Nat Cell Biol*, 2015, 17: 1577–1587
- 9 Wang H, Feng Z, Xu B. Bioinspired assembly of small molecules in cell milieu. *Chem Soc Rev*, 2017, 46: 2421–2436
- 10 Zhu H, Wang H, Shi B, et al. Supramolecular peptide constructed by molecular Lego allowing programmable self-assembly for photodynamic therapy. *Nat Commun*, 2019, 10: 2412
- 11 Gartner Z J, Bertozzi C R. Programmed assembly of 3-dimensional microtissues with defined cellular connectivity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 4606–4610
- 12 Okumoto S, Looger L L, Micheva K D, et al. Detection of glutamate release from neurons by genetically encoded surface-displayed fret nanosensors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 8740–8745
- 13 Laughlin S T, Baskin J M, Amacher S L, et al. *In vivo* imaging of membrane-associated glycans in developing zebrafish. *Science*, 2008, 320: 664–667
- 14 Wang Y, Zhang P, Wei Y, et al. Cell-membrane-display nanotechnology. *Adv Healthc Mater*, 2021, 10: 2001014
- 15 Thomsen T, Klok H A. Chemical cell surface modification and analysis of nanoparticle-modified living cells. *ACS Appl Bio Mater*, 2021, 4: 2293–2306
- 16 Xiong M D, Liu Q, Tang D C, et al. “Apollo Program” in nanoscale: landing and exploring cell-surface with DNA nanotechnology. *ACS Appl Bio Mater*, 2020, 3: 2723–2742
- 17 Mager M D, LaPointe V, Stevens M M. Exploring and exploiting chemistry at the cell surface. *Nat Chem*, 2011, 3: 582–589

- 18 Kelly M J, Levin E R. Rapid actions of plasma membrane estrogen receptors. [Trends Endocrinol Metab](#), 2001, 12: 152–156
- 19 Vauquelin G, Packeu A. Ligands, their receptors and plasma membranes. [Mol Cellular Endocrinol](#), 2009, 311: 1–10
- 20 Fang R H, Kroll A V, Gao W, et al. Cell membrane coating nanotechnology. [Adv Mater](#), 2018, 30: 1706759
- 21 Polo E, Nitka T T, Neubert E, et al. Control of integrin affinity by confining RGD peptides on fluorescent carbon nanotubes. [ACS Appl Mater Interface](#), 2018, 10: 17693–17703
- 22 Pina A, Kadri M, Arosio D, et al. Multimeric presentation of RGD peptidomimetics enhances integrin binding and tumor cell uptake. [Chem Eur J](#), 2020, 26: 7492–7496
- 23 Wong S H D, Yin B, Yang B, et al. Anisotropic nanoscale presentation of cell adhesion ligand enhances the recruitment of diverse integrins in adhesion structures and mechanosensing-dependent differentiation of stem cells. [Adv Funct Mater](#), 2019, 29: 1806822
- 24 Di Somma A, Moretta A, Canè C, et al. Antimicrobial and antibiofilm peptides. [Biomolecules](#), 2020, 10: 652
- 25 Bhat R, García I, Aznar E, et al. Lectin-gated and glycan functionalized mesoporous silica nanocontainers for targeting cancer cells overexpressing Lewis X antigen. [Nanoscale](#), 2017, 10: 239–249
- 26 Stevens M M, George J H. Exploring and engineering the cell surface interface. [Science](#), 2005, 310: 1135–1138
- 27 Ding H, Li J, Chen N, et al. DNA nanostructure-programmed like-charge attraction at the cell-membrane interface. [ACS Cent Sci](#), 2018, 4: 1344–1351
- 28 Teramura Y, Iwata H. Cell surface modification with polymers for biomedical studies. [Soft Matter](#), 2010, 6: 1081–1091
- 29 Liu L, He H, Liu J. Advances on non-genetic cell membrane engineering for biomedical applications. [Polymers](#), 2019, 11: 2017
- 30 Kizilel S, Scavone A, Liu X, et al. Encapsulation of pancreatic islets within nano-thin functional polyethylene glycol coatings for enhanced insulin secretion. [Tissue Eng Part A](#), 2010, 16: 2217–2228
- 31 Li L, Han B, Wang Y, et al. Simple and universal signal labeling of cell surface for amplified detection of cancer cells via mild reduction. [Biosens Bioelectron](#), 2019, 145: 111714
- 32 Gribova V, Auzely-Velty R, Picart C. Polyelectrolyte multilayer assemblies on materials surfaces: from cell adhesion to tissue engineering. [Chem Mater](#), 2012, 24: 854–869
- 33 Jeong J H, Schmidt J J, Kohman R E, et al. Leukocyte-mimicking stem cell delivery via *in situ* coating of cells with a bioactive hyperbranched polyglycerol. [J Am Chem Soc](#), 2013, 135: 8770–8773
- 34 Zheng X, Li Z, Gao W, et al. Condensation of 2-((alkylthio)(aryl)methylene)malononitrile with 1,2-aminothiol as a novel bioorthogonal reaction for site-specific protein modification and peptide cyclization. [J Am Chem Soc](#), 2020, 142: 5097–5103
- 35 Lo K K W. Molecular design of bioorthogonal probes and imaging reagents derived from photofunctional transition metal complexes. [Acc Chem Res](#), 2020, 53: 32–44
- 36 Xue Z, Zhang E, Liu J, et al. Bioorthogonal conjugation directed by a sugar-sorting pathway for continual tracking of stressed organelles. [Angew Chem Int Ed](#), 2018, 57: 10096–10101
- 37 Meng Y, Liu P, Zhou W, et al. Bioorthogonal DNA adsorption on polydopamine nanoparticles mediated by metal coordination for highly robust sensing in serum and living cells. [ACS Nano](#), 2018, 12: 9070–9080
- 38 Shurer C R, Kuo J C H, Roberts L D M, et al. Physical principles of membrane shape regulation by the glycocalyx. [Cell](#), 2019, 177: 1757–1770. e21
- 39 Ge Y, Chen L, Liu S, et al. Enzyme-mediated intercellular proximity labeling for detecting cell-cell interactions. [J Am Chem Soc](#), 2019, 141: 1833–1837
- 40 Pulsipher A, Griffin M E, Stone S E, et al. Long-lived engineering of glycans to direct stem cell fate. [Angew Chem Int Ed](#), 2015, 54: 1466–1470
- 41 Dube D H, Bertozzi C R. Metabolic oligosaccharide engineering as a tool for glycobiology. [Curr Opin Chem Biol](#), 2003, 7: 616–625
- 42 Gao T, Wang B, Shi L, et al. Ultrasensitive quantitation of plasma membrane proteins via *is*RTA. [Anal Chem](#), 2017, 89: 10776–10782
- 43 Liu X, Mao D, Deng G, et al. Nondestructive analysis of tumor-associated membrane protein muc1 in living cells based on dual-terminal amplification of a DNA ternary complex. [Theranostics](#), 2020, 10: 4410–4421
- 44 Li L, Chen X, Cui C, et al. Aptamer displacement reaction from live-cell surfaces and its applications. [J Am Chem Soc](#), 2019, 141: 17174–17179
- 45 Robinson P V, de Almeida-Escobedo G, de Groot A E, et al. Live-cell labeling of specific protein glycoforms by proximity-enhanced bioorthogonal ligation. [J Am Chem Soc](#), 2015, 137: 10452–10455

- 46 Shi P, Wang Y. Synthetic DNA for cell-surface engineering. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 11580–11591
- 47 Xiao M, Lai W, Man T, et al. Rationally engineered nucleic acid architectures for biosensing applications. *Chem Rev*, 2019, 119: 11631–11717
- 48 Bujold K E, Lacroix A, Sleiman H F. DNA nanostructures at the interface with biology. *Chem*, 2018, 4: 495–521
- 49 Wang W, Yu S, Huang S, et al. Bioapplications of DNA nanotechnology at the solid-liquid interface. *Chem Soc Rev*, 2019, 48: 4892–4920
- 50 Li J, Xun K, Pei K, et al. Cell-membrane-anchored DNA nanoplatfor for programming cellular interactions. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 18013–18020
- 51 Xia F, Wu J, Wu X, et al. Modular design of peptide- or DNA-modified aiegen probes for biosensing applications. *Acc Chem Res*, 2019, 52: 3064–3074
- 52 Bae W, Kocabay S, Liedl T. DNA nanostructures *in vitro*, *in vivo* and on membranes. *Nano Today*, 2019, 26: 98–107
- 53 Sun P, Leidner A, Weigel S, et al. Biopebble containers: DNA-directed surface assembly of mesoporous silica nanoparticles for cell studies. *Small*, 2019, 15: 1900083
- 54 Fan J, Wang H H, Xie S, et al. Engineering cell-surface receptors with DNA nanotechnology for cell manipulation. *ChemBioChem*, 2020, 21: 282–293
- 55 Cao Y, Dai Y, Chen H, et al. Integration of fluorescence imaging and electrochemical biosensing for both qualitative location and quantitative detection of cancer cells. *Biosens Bioelectron*, 2019, 130: 132–138
- 56 Feng C, Mao D, Lu C, et al. Single-cell analysis of highly metastatic circulating tumor cells by combining a self-folding induced release reaction with a cell capture microchip. *Anal Chem*, 2021, 93: 1110–1119
- 57 Ouyang C, Zhang S, Xue C, et al. Precision-guided missile-like DNA nanostructure containing warhead and guidance control for aptamer-based targeted drug delivery into cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 1265–1277
- 58 Qian R C, Zhou Z R, Guo W, et al. Cell surface engineering using dnazymes: metal ion mediated control of cell-cell interactions. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 5737–5744
- 59 Qiu L, Zhang T, Jiang J, et al. Cell membrane-anchored biosensors for real-time monitoring of the cellular microenvironment. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 13090–13093
- 60 Zhao W, Schafer S, Choi J, et al. Cell-surface sensors for real-time probing of cellular environments. *Nat Nanotech*, 2011, 6: 524–531
- 61 Danila D C, Pantel K, Fleisher M, et al. Circulating tumors cells as biomarkers. *Cancer J*, 2011, 17: 438–450
- 62 Gao T, Li L, Chen T, et al. DNA-oriented shaping of cell features for the detection of rare disseminated tumor cells. *Anal Chem*, 2019, 91: 1126–1132
- 63 Gao T, Chen T, Feng C, et al. Design and fabrication of flexible DNA polymer cocoons to encapsulate live cells. *Nat Commun*, 2019, 10: 2946
- 64 Dong Y, Yao C, Zhu Y, et al. DNA functional materials assembled from branched DNA: design, synthesis, and applications. *Chem Rev*, 2020, 120: 9420–9481
- 65 Zhang L, Wang S, Yang Z, et al. An aptamer-nanotrain assembled from six-letter DNA delivers doxorubicin selectively to liver cancer cells. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 663–668
- 66 Zhang J, Lin B, Wu L, et al. DNA nanolithography enables a highly ordered recognition interface in a microfluidic chip for the efficient capture and release of circulating tumor cells. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 14115–14119
- 67 Ding T, Yang J, Pan V, et al. DNA nanotechnology assisted nanopore-based analysis. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48: 2791–2806
- 68 Li C, Luo M, Wang J, et al. Rigidified DNA triangle-protected molecular beacon from endogenous nuclease digestion for monitoring microrna expression in living cells. *ACS Sens*, 2020, 5: 2378–2387
- 69 Huang Z, Qiu L, Zhang T, et al. Integrating DNA nanotechnology with aptamers for biological and biomedical applications. *Matter*, 2021, 4: 461–489
- 70 Keller A, Linko V. Challenges and perspectives of DNA nanostructures in biomedicine. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 15818–15833
- 71 Inoue K, Del Carmen Marín M, Tomida S, et al. Red-shifting mutation of light-driven sodium-pump rhodopsin. *Nat Commun*, 2019, 10: 1993
- 72 Shi L, Mu C, Gao T, et al. Rhodopsin-like ionic gate fabricated with graphene oxide and isomeric DNA switch for efficient photocontrol of ion transport. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 8239–8243
- 73 Shi L, Wang L, Ma X, et al. Electrochemical trans-channel assay for efficient evaluation of tumor cell invasiveness. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 17268–17275
- 74 Baig N, Sajid M, Saleh T A. Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. *TrAC Trends Anal Chem*,

- 2019, 111: 47–61
- 75 Yao S, Ren P, Song R, et al. Nanomaterial-enabled flexible and stretchable sensing systems: processing, integration, and applications. *Adv Mater*, 2020, 32: 1902343
- 76 Kwon O S, Song H S, Park T H, et al. Conducting nanomaterial sensor using natural receptors. *Chem Rev*, 2019, 119: 36–93
- 77 Qian L, Durairaj S, Prins S, et al. Nanomaterial-based electrochemical sensors and biosensors for the detection of pharmaceutical compounds. *Biosens Bioelectron*, 2021, 175: 112836
- 78 Liu X, Yao Y, Ying Y, et al. Recent advances in nanomaterial-enabled screen-printed electrochemical sensors for heavy metal detection. *TrAC Trends Anal Chem*, 2019, 115: 187–202
- 79 Wei T, Du D, Wang Z, et al. Rapid and sensitive detection of microrna via the capture of fluorescent dyes-loaded albumin nanoparticles around functionalized magnetic beads. *Biosens Bioelectron*, 2017, 94: 56–62
- 80 Jackman J A, Yoon B K, Ouyang L, et al. Biomimetic nanomaterial strategies for virus targeting: antiviral therapies and vaccines. *Adv Funct Mater*, 2021, 31: 2008352
- 81 Guan Q, Zhou L L, Zhou L N, et al. A carbon nanomaterial derived from a nanoscale covalent organic framework for photothermal therapy in the NIR-II biowindow. *Chem Commun*, 2020, 56: 7793–7796
- 82 Shi H, Wang Y, Zheng J, et al. Dual-responsive DNA nanodevice for the available imaging of an apoptotic signaling pathway *in situ*. *ACS Nano*, 2019, 13: 12840–12850
- 83 Phallen J, Sausen M, Adleff V, et al. Direct detection of early-stage cancers using circulating tumor DNA. *Sci Transl Med*, 2017, 9: ean2415
- 84 Li C, Yang Y, Wei L, et al. An array-based approach to determine different subtype and differentiation of non-small cell lung cancer. *Theranostics*, 2015, 5: 62–70
- 85 Zhao J, Zhu X L, Li G X. Research progress in electroanalysis of cells (in Chinese). *Chin J Anal Chem*, 2012, 40: 823–829 [赵婧, 朱小立, 李根喜. 细胞电化学分析的研究进展. *分析化学*, 2012, 40: 823–829]
- 86 Lu F, Yang L, Hou T, et al. Label-free and “signal-on” homogeneous photoelectrochemical cytosensing strategy for ultrasensitive cancer cell detection. *Chem Commun*, 2020, 56: 11126–11129
- 87 Li R, Tu W, Wang H, et al. Near-infrared light excited and localized surface plasmon resonance-enhanced photoelectrochemical biosensing platform for cell analysis. *Anal Chem*, 2018, 90: 9403–9409
- 88 Zhang J, Zhu T, Lang J, et al. Recent advances of scanning electrochemical microscopy and scanning ion conductance microscopy for single-cell analysis. *Curr Opin Electrochem*, 2020, 22: 178–185
- 89 Sun D, Lu J, Luo Z, et al. Competitive electrochemical platform for ultrasensitive cytosensing of liver cancer cells by using nanotetrahedra structure with rolling circle amplification. *Biosens Bioelectron*, 2018, 120: 8–14
- 90 Wei T, Dong T, Xing H, et al. Cucurbituril and azide cofunctionalized graphene oxide for ultrasensitive electro-click biosensing. *Anal Chem*, 2017, 89: 12237–12243
- 91 Zhao Y, Zhai Q, Dong D, et al. Highly stretchable and strain-insensitive fiber-based wearable electrochemical biosensor to monitor glucose in the sweat. *Anal Chem*, 2019, 91: 6569–6576
- 92 Wang H, Li H, Huang Y, et al. A label-free electrochemical biosensor for highly sensitive detection of gliotoxin based on DNA nanostructure/mxene nanocomplexes. *Biosens Bioelectron*, 2019, 142: 111531
- 93 Zhao J, Gao T, Yan Y, et al. Probing into the interaction of β -amyloid peptides with bilayer lipid membrane by electrochemical techniques. *Electrochem Commun*, 2013, 30: 26–28
- 94 Chen G F, Chen Y Y, Yang N N, et al. Study of the interaction between curcumin and mimetic biomembrane (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2012, 42: 413–418 [陈桂芳, 陈阳阳, 杨娜娜, 等. 姜黄素与模拟生物膜相互作用的电化学研究. *中国科学: 生命科学*, 2012, 42: 413–418]
- 95 Lu S, Ning L, Gao T, et al. Electrochemical method to characterize multidrug resistance. *Chem Res Chin Univ*, 2014, 30: 437–440
- 96 Gao T, Liu F, Yang D, et al. Assembly of selective biomimetic surface on an electrode surface: a design of nano-bio interface for biosensing. *Anal Chem*, 2015, 87: 5683–5689
- 97 Pavan S, Berti F. Short peptides as biosensor transducers. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 402: 3055–3070
- 98 Puiu M, Bala C. Peptide-based biosensors: from self-assembled interfaces to molecular probes in electrochemical assays. *Bioelectrochemistry*, 2018, 120: 66–75
- 99 Moccia M, Caratelli V, Cinti S, et al. Paper-based electrochemical peptide nucleic acid (PNA) biosensor for detection of miRNA-492: a

- pancreatic ductal adenocarcinoma biomarker. *Biosens Bioelectron*, 2020, 165: 112371
- 100 Gao T, Li L, Wang B, et al. Dynamic electrochemical control of cell capture-and-release based on redox-controlled host-guest interactions. *Anal Chem*, 2016, 88: 9996–10001
- 101 Zhao J, Zhu L, Guo C, et al. A new electrochemical method for the detection of cancer cells based on small molecule-linked DNA. *Biosens Bioelectron*, 2013, 49: 329–333
- 102 Zheng J, Shi H, Wang M, et al. Homogenous electrochemical method for ultrasensitive detection of tumor cells designed by introduction of poly (A) tails onto cell membranes. *Anal Chem*, 2020, 92: 2194–2200
- 103 Peng Y, Pan Y, Han Y, et al. Direct analysis of rare circulating tumor cells in whole blood based on their controlled capture and release on electrode surface. *Anal Chem*, 2020, 92: 13478–13484
- 104 Han B, Sha L, Yu X, et al. Identification of dual therapeutic targets assisted by in situ automatic DNA assembly for combined therapy in breast cancer. *Biosens Bioelectron*, 2021, 176: 112913
- 105 Li H, Huang Y, Yu Y, et al. Self-catalyzed assembly of peptide scaffolded nanozyme as a dynamic biosensing system. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 2833–2839
- 106 Yu Y, Li H, Zhang B, et al. Peptide network for detection of tissue-remodeling enzyme in the prognosis of hepatocellular carcinoma. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 4401–4405
- 107 Li H, Huang Y, Yu Y, et al. Enzymatically regulated peptide pairing and catalysis for the bioanalysis of extracellular prometastatic activities of functionally linked enzymes. *Sci Rep*, 2016, 6: 25362
- 108 Yu Y, Li H, Wei L, et al. Electrochemical detection and distribution analysis of β -catenin for the evaluation of invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma. *Anal Chem*, 2016, 88: 3879–3884
- 109 Li H, Huang Y, Yu Y, et al. Peptide-based method for detection of metastatic transformation in primary tumors of breast cancer. *Anal Chem*, 2015, 87: 9251–9256
- 110 Tang Y, Dai Y, Huang X, et al. Self-assembling peptide-based multifunctional nanofibers for electrochemical identification of breast cancer stem-like cells. *Anal Chem*, 2019, 91: 7531–7537
- 111 Chen L, Yan C, Zheng Z. Functional polymer surfaces for controlling cell behaviors. *Mater Today*, 2018, 21: 38–59
- 112 Abbina S, Siren E M J, Moon H, et al. Surface engineering for cell-based therapies: techniques for manipulating mammalian cell surfaces. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4: 3658–3677
- 113 Bu J, Nair A, Kubiawicz L J, et al. Surface engineering for efficient capture of circulating tumor cells in renal cell carcinoma: from nanoscale analysis to clinical application. *Biosens Bioelectron*, 2020, 162: 112250
- 114 Flynn R A, Pedram K, Malaker S A, et al. Small RNAs are modified with N-glycans and displayed on the surface of living cells. *Cell*, 2021, 184: 3109–3124.e22

Molecular modification and assembly at cell surface for biochemical analysis

ZENG YuJing¹, GAO Tao² & LI GenXi¹

¹ *State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210023, China;*

² *Jiangsu Key Laboratory for Molecular and Medical Biotechnology, College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China*

Nature has presented multi-scale, multi-level, and multi-functionally assembled systems during evolution, from single-cell to the higher organisms of multi-cell systems. In the course of both physiological and disease processes, cells carry out a series of molecular events at their surface to promote intracellular communication, thus driving cell proliferation, differentiation and migration. A collection of these interacted cells of different types can help to construct a living system with complete functions. Therefore, the development of molecular modification and assembly technologies at cell surface is the key to explore cell interfacial behavior at the molecular level, which may help to understand interfacial molecular events and biochemical reactions. Meanwhile, molecular modification and assembly technologies can greatly promote the advance of many research and application fields, including biosensing, disease diagnosis, translational medicine, and tissue engineering. Therefore, this review will present the latest research progress, so as to systematically describe the use of molecular probes and assembled materials at the cell surface, such as DNA and peptides, and thus give an outlook on their prospects for analytical applications.

cell surface engineering, molecular recognition, self-assembly, molecular engineering, biochemical analysis

doi: [10.1360/SSV-2021-0153](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0153)