

多肽修饰的金纳米粒子在生物分析和生物医学中的应用

胡真真¹ 李晓桐^{2,3} 李晓东¹ 张姍² 刘桂锋^{*1} 王振新^{*2,3}

¹(吉林大学中日联谊医院放射科, 长春 130033)

²(中国科学院长春应用化学研究所, 电分析化学国家重点实验室, 长春 130022)

³(中国科学技术大学应用化学与工程学院, 合肥 230026)

摘要 采用特定配体对金纳米粒子(Gold nanoparticles, GNPs)表面进行功能化,有助于提升 GNPs 的生物分析能力和实现 GNPs 在生物医学中的特定应用。由于易于将包括特定生物识别和治疗功能在内的多种功能整合到同一个序列中,多肽已成为一种常用的 GNPs 修饰配体。大量研究表明,采用多肽修饰的 GNPs (GNP@peptides)可用于构建高灵敏度、高选择性、可检测不同分析物(如重金属离子和生物标志物等)的纳米生物传感平台和具有优异抗菌、抗肿瘤能力的新型治疗/药物递送纳米系统。本文总结了近年来 GNP@peptides 在生物分析和生物医学领域中的应用,概述了 GNP@peptides 对疾病精准诊断和治疗的作用,并讨论了 GNP@peptides 在实际应用中所面临的挑战以及未来的发展趋势。

关键词 多肽配体; 金纳米粒子; 纳米生物传感平台; 纳米药物; 评述

自 1996 年 Mirkin 等^[1]采用自组装法合成单链 DNA 修饰的金纳米粒子(Gold nanoparticles, GNPs)用于疾病相关 DNA 的高灵敏检测以来,GNPs 因其具有大比表面积、易于功能化和优异的光学性能等优点被广泛用于构建高性能纳米生物传感平台和纳米药物^[1-6]。例如,GNPs 具有与粒径、形状和分散状态密切相关的局部表面等离子体共振(Local surface plasmon resonance, LSPR)吸收和表面共振光散射(Surface resonance light scattering, SRLS),是一类优良的比色探针^[4]。具有大的斯托克斯位移和尺寸相关的激发和发射光谱的金纳米团簇(Gold nanoclusters, GNCs,即直径小于 2 nm 的 GNPs)是一类优良的荧光探针^[2,3]。非球形 GNPs(如金纳米棒(Gold nanorods, GNRs)、金纳米立方体(Gold nanocubes)等)具有良好的生物相容性和高光热转换效率,是一类优良的光热治疗剂(Photothermal therapy agents, PTTAs)^[5-6]。另外,GNPs 可通过尺寸依赖性增强渗透性和滞留(Enhanced permeability and retention effect, EPR)机制在肿瘤部位积聚,在不同抗癌药物的递送过程中具有重要应用^[4,6]。

通过形成化学稳定性好的 Au—S 共价键,将不同配体键合到 GNPs 表面有助于赋予 GNPs 对目标物的特异性识别以及疾病靶向治疗等特殊功能^[4,6]。在这些配体中,多肽因具有酶底物、抗原、治疗和药物载体等多种功能而备受关注^[4,7]。与蛋白质相比,多肽具有易于大规模自动化合成、稳定性好、与靶分子结合位点和机制明确以及生物功能(与受体的亲和性、跨膜能力等)易通过序列调控等优点,因此多肽修饰 GNPs(GNP@peptides)的制备成本、与靶分子的亲和能力以及传输效率等均优于相应的蛋白质同类物修饰的 GNPs。目前,具有靶向、诊断和治疗等功能的 GNP@peptides 已被广泛应用于生物分析和生物医学领域^[4,8-12]。例如, Li 等^[9]以五肽 CALNN 修饰的 GNPs 为比色探针,利用 CALNN 与 Al³⁺的配位反应,实现了细胞中 Al³⁺的高灵敏度和高选择性检测。含环状 RGD 序列(Cyclic Arg-Gly-Asp)多肽修饰的 GNPs 可通过环状 RGD 基因特异性识别肿瘤细胞表面的整合素 $\alpha_v\beta_3$ 等,从而实现肿瘤靶向诊疗。Innocenti 等^[10]证明环状 RGD 修饰的星型 GNPs 可通过与细胞表面整合素 $\alpha_v\beta_3$ 结合而高效抑制肿瘤细胞粘附。由于 TAT(Trans-activating transcriptional activator derived from HIV)肽等细胞穿透肽(Cell penetrating peptide, CPP)具有较强的穿膜能力,因此 CPP 修饰的 GNPs 可作为高效跨膜载体将化疗药物

2022-12-21 收稿; 2023-02-14 接受

吉林省科技厅科技发展计划项目(No. 20220203113SF)、国家自然科学基金项目(Nos. 52275006, 21974133)和吴阶平医学基金会项目(No. 320.6750.19089-40)资助。

* Email: gfliu@jlu.edu.cn; wangzx@ciac.ac.cn

(Chemical therapy agents, CTAs)等输送至特定细胞器^[11-12]。Morshed 等^[12]发现 TAT 蛋白衍生肽 (YGRKKRRQRRR)修饰的 GNPs 可显著增强 CTA 阿霉素 (Doxorubicin, DOX)的跨膜能力,从而提升 DOX 的化疗疗效。本文综述了不同功能 GNP@peptides 的制备方法及其在生物传感、生物成像、药物递送、抗菌和多模态治疗等生物分析和生物医学领域中的应用(见图 1),讨论了 GNP@peptides 作为一种有潜力的纳米探针/纳米药物在实际样品检测和靶向治疗等方面的应用前景和技术挑战。

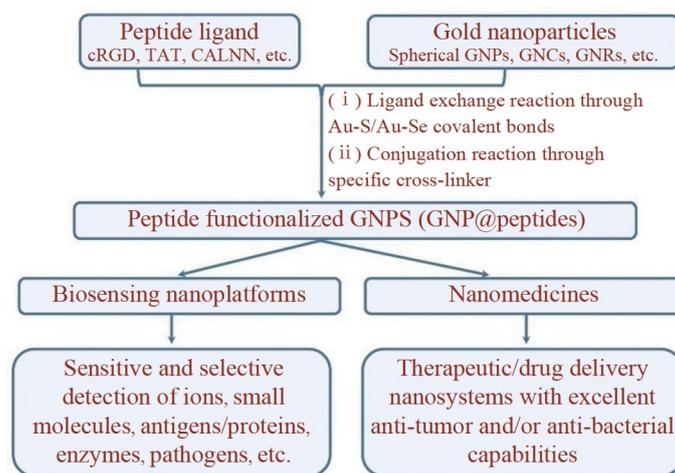


图1 多肽修饰的金纳米粒子(GNP@peptides)的制备方法及其在生物分析和生物医学领域的应用

Fig.1 Preparing strategies of peptide functionalized gold nanoparticles (GNP@peptides) and their applications in bioanalytical and biomedical fields

1 多肽修饰的GNPs的合成

粒径大于 3 nm 的 GNP@peptides 通常采用先制备 GNPs、后修饰多肽的合成方法。在这种合成方法中, GNPs 的制备和多肽修饰是两个独立的步骤,易于将具有不同理化性质的 GNPs 与特定功能的多肽组合以满足实际应用需求。在 4 °C 的反应温度下,以氯金酸为前体、硼氢化钠为还原剂,可合成粒径小于 10 nm 的准单分散 GNPs^[13]。采用传统的 Turkevich-Frens 方法,使用柠檬酸钠还原氯金酸可获得粒径大于 10 nm 且小于 60 nm、分散性较好的柠檬酸根保护的 GNPs^[14-15]。以粒径为 3.5 nm 柠檬酸根保护的 GNPs 为晶种、溴化十六烷基三甲基铵(Cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)为保护剂、抗坏血酸为还原剂,采用种子生长法可合成不同长径比的 GNRs^[16]。采用配体交换或化学偶联法可将不同多肽配体修饰到所制备的 GNPs 表面获得具有不同功能的 GNP@peptides,从而实现 GNPs 在生物分析和生物医学领域中的特定应用。

1.1 配体交换法

配体交换法通常使用含半胱氨酸(Cysteine, Cys)的特定多肽配体或多肽配体混合物,通过 Cys 的巯基与 Au 形成较稳定的 Au—S 配位键而置换 GNPs 原始配体或保护剂(柠檬酸根等),实现 GNP@peptides 的制备^[17-21]。自 2004 年 Lévy 等^[17]证明五肽 CALNN 可将柠檬酸根保护的 GNPs 转化为非常稳定且具有类蛋白质性质的水溶性 GNPs 以来,研究者合成了系列具有不同功能的含 Cys 多肽修饰的 GNPs^[17-20]。例如,将细胞核定位信号肽(Nuclear localization signal (NLS) peptide)修饰于 GNPs 表面,实现细胞核靶向输送^[18];将 Hg²⁺捕获肽修饰于 GNPs 表面,实现 Hg²⁺的高灵敏检测^[19];将酶底物肽修饰在 GNRs 表面构建生物条码传感器阵列,实现了疾病生物标志物的高灵敏度、高选择性检测^[20]。然而,在细胞和活体等生命系统中,Au—S 配位键易被高浓度生物硫醇(如谷胱甘肽(Glutathione, GSH)和蛋白质的 Cys 残基等)替代,导致多肽配体从 GNPs 表面解离。为了提高 GNP@peptides 在生命体系中的稳定性,Tang 研究组^[22-24]以 Au—Se 键替代 Au—S 配位键,建立了一种基于 Se 取代 Cys 从而制备 GNP@peptides 的方法。Au—Se 键可在高达 5 mmol/L 的 GSH 溶液中保持良好的稳定性。尽管配体交换法相对简单,但是其仅适用于含

Cys 或 Se 取代 Cys 的特定多肽配体 GNP@peptides 的合成; 此外, 多肽的荷电性对 GNP@peptides 的合成有较大影响, 即荷负电的多肽比荷正电的多肽更容易修饰到 GNPs 表面。因此, 采用配体交换法合成 GNP@peptides 具有一定的局限性。

1.2 化学偶联法

采用化学偶联法将特定的多肽配体连接到 GNPs 表面, 通常需要两步反应: (1) 通过配体交换或物理相互作用(如静电相互作用和氢键等)将带有活性基团的稳定剂(如聚乙二醇(Polyethylene glycol, PEG)衍生物等)修饰到 GNPs 表面; (2) 通过与稳定剂活性基团的反应将多肽偶联到 GNPs 表面^[24-28]。Ruff 等^[26]以 PEG 为交联剂将多肽 CLPFFD 偶联到中空金纳米球和 GNRs 表面, 实现了对 A β 多肽(Amyloid- β peptide)聚集的选择性抑制。Limón 等^[27]以尾端带羟基和羧基的 PEG 混合物为稳定剂和交联剂, 将环状多肽(BPC734)偶联到 2.5 nm GNPs 表面(如图 2 所示)。该 BPC734 修饰的 GNPs 具有良好的水溶性、较高的胶体稳定性和较强的肿瘤细胞杀伤能力。采用化学偶联法合成 GNP@peptides 时, 多肽配体序列和自身的理化性质对合成过程影响较小, 因此有助于实现 GNP@peptides 生物功能的多样性。

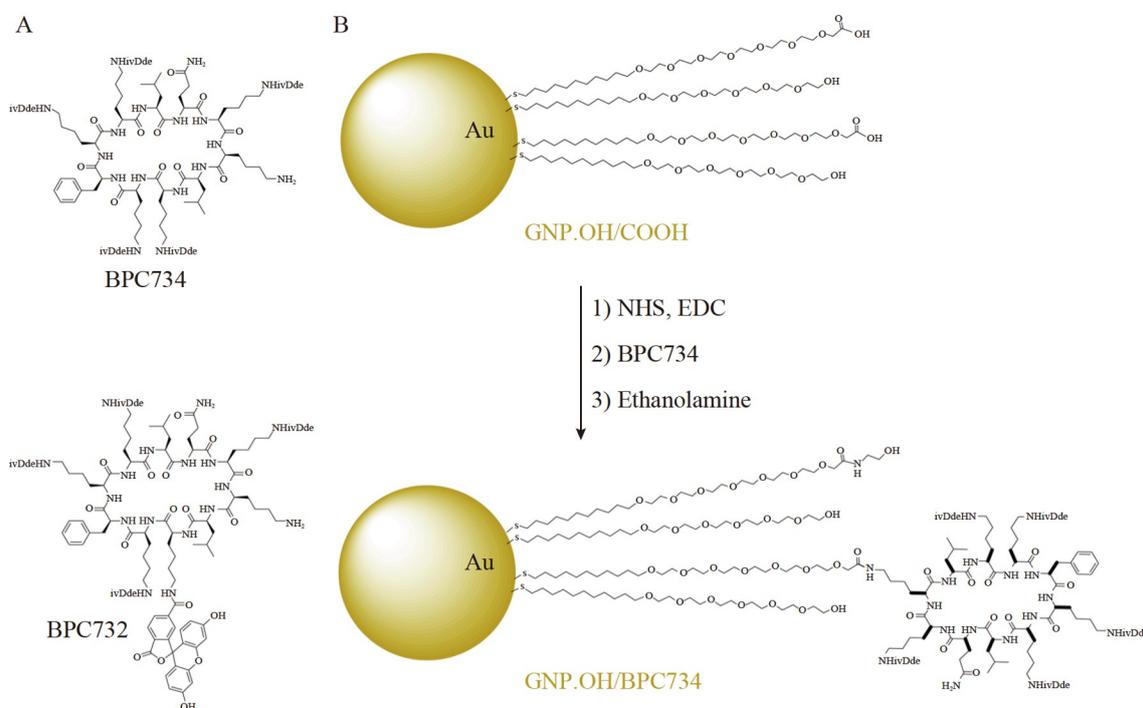


图2 以聚乙二醇(PEG)衍生物为交联剂合成环状多肽(BPC734)修饰的 2.5 nm GNPs。BPC734 序列: c(K(ivDde)KLK(ivDde)K(ivDde)FK(ivDde)K(ivDde)LQ)^[27]

Fig.2 Synthetic approach for the functionalization of GNP with cyclopeptide BPC734 by using polyethylene glycol (PEG) derivative as crosslinker. The sequence of BPC734 is c(K(ivDde)KLK(ivDde)K(ivDde)FK(ivDde)K(ivDde)LQ)^[27]

2 直接合成多肽修饰的GNCs

GNCs 的荧光等光学特性和类酶活性与表面配体密切相关, 因此通常采用一步法直接合成多肽修饰的 GNCs(GNC@peptides)。将 Au(III)前体和含有巯基的氨基酸(Cys 和同型 Cys (Homocysteine, Hcy)等)的多肽在反应溶液中预混合, 以多肽所含有的还原性氨基酸残基(如酪氨酸(Tyr, Y)、脯氨酸(Pro, P)和色氨酸(Trp, W)等)为还原剂, 或在少量还原剂(硼氢化钠等)存在条件下, 将 Au(III)还原为 Au⁰, 直接合成 GNC@peptides^[29-31]。此外, 通过改变反应时间、pH 值、多肽序列和 Au(III)前体与多肽的比例等反应条件, 可调节所合成的 GNC@peptides 的形貌和单分散性。该合成方法具有简单和快捷的优点, 在温和反应条件下即可合成水溶性良好的 GNC@peptides。Xie 研究组^[29-30]在 25 °C 下将 GSH 和 HAuCl₄(GSH 与 Au 的

摩尔比为 2:1)的水溶液混合,在中性 pH 条件下合成了 GSH 修饰的 GNCs(GNC@GSHs)。所合成的 GNC@GSHs 具有良好的生物相容性和肿瘤靶向性,可作为一种优异的增敏剂用于提高放射治疗的安全性和疗效。

3 多肽修饰的GNPs在生物分析中的应用

由于 GNPs 具有优异的光学性质,因此被广泛用于构建检测不同分析物的光学(比色、荧光和表面增强拉曼(Surface-enhanced Raman scattering, SERS)等)传感体系(见电子版文后支持信息表 S1)^[32-84]。

3.1 基于GNP@peptides的比色分析方法

GNPs 的 LSPR 与其分散状态密切相关。当 GNPs 从单分散状态变为聚集状态时,GNPs 的 LSPR 逐渐红移,其颜色从红色逐渐变为蓝色^[4]。待测物与多肽配体相互作用可诱导 GNP@peptides 发生聚集,从而导致其颜色发生变化。因此,GNP@peptides 可作为一种高灵敏和高特异性的比色探针用于不同体系中离子^[9,32-36]、小分子^[37-40]、抗原/蛋白质^[41-42]、酶^[43-52]和病原体^[53-56]等与生命/疾病相关物质的检测。

以与金属离子或阴离子特异性相互作用的 GNP@peptides 为探针,可构建用于检测不同离子的高性能比色传感器^[9,32-36]。Li 等^[33]建立了一种基于 CCPGCAR 修饰的 GNPs 的比色方法,实现了不同样品(尿样、自来水和地表水)中低至 0.12 $\mu\text{mol/L}$ Zn^{2+} 的快速(20 s)、高选择性检测。Bartl 等^[34]以阴离子亲和环状多肽和 PEG 混合配体修饰的 GNPs 为比色探针,实现了对水样中 SO_4^{2-} 的选择性检测。Korkmaz 等^[35]以 HGFANVACCC 修饰的 GNPs 为探针,实现了 Cu^{2+} 的高灵敏比色检测(检出限为 91.15 nmol/L)。将具有不同功能的多肽同时修饰于 GNPs,有助于改善基于 GNP@peptides 的比色方法的性能。Li 等^[36]以 DGPFRH 为 Hg^{2+} 识别配体、CALNN 为稳定剂,分别通过 Au—N 和 Au—S 相互作用合成了一种混合多肽修饰的 GNPs(D/C-GNPs),构建了用于检测 Hg^{2+} 的比色传感器。由于 CALNN 可显著提高 D/C-GNPs 的胶体稳定性,采用基于 D/C-GNPs 的比色法成功实现了湖水样中 Hg^{2+} 的高灵敏度(检出限低至 28 nmol/L)和高选择性检测。

食品、生物样本和临床样本等实际样品中具有特定功能的生物活性分子的检测对食品安全、公共卫生和临床诊断均具有重要意义,而基于 GNP@peptides 的比色法可实现生物活性分子的快速、简单和高灵敏检测^[37-42]。Wu 等^[40]建立了基于 GNC@GSHs 的比色-荧光双信号法测定抗坏血酸(Ascorbic acid, AA)。氧化型 3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺(Oxidized 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine, oxTMB)可淬灭 GNC@GSHs 的荧光发射,而 TMB 无淬灭作用。当添加 AA 时,蓝色 oxTMB 被还原为无色 TMB,同时 GNC@GSHs 的荧光恢复,吸光度的降低和荧光信号的增加与 AA 的浓度相关。该方法检测 AA 的线性范围为 0.5~200 $\mu\text{mol/L}$, 检出限为 0.15 $\mu\text{mol/L}$ (荧光法)和 0.22 $\mu\text{mol/L}$ (比色法),并成功用于活细胞和饮料中的 AA 检测。该双信号检测方法具有较宽的应用范围,并有助于提高检测的准确性。如图 3 所示, Kakkar 等^[42]将肌钙蛋白 I(Cardiac troponin I, cTnI)亲和多肽和 cTnI 适配体分别修饰于 GNPs 表面,研发了一种检测复杂样品中 cTnI 的双探针(GNP-P 和 GNP-A)比色方法。在 cTnI 存在时,GNP-P、GNP-A 和 cTnI 形成纳米三明治结构,导致溶液由红色变为蓝色。该方法的检出限为 0.084 ng/mL,在 0.1~500 ng/mL 的浓度范围内具有 100%的特异性和 90%的敏感性,并成功用于急性心肌梗死(Acute myocardial infarction, AMI)患者临床血清样本中 cTnI 的检测。

酶在一些生理和病理过程中起关键作用,因此酶活性检测和抑制剂筛选在疾病诊断和新药研发等领域具有重要意义。基于酶多肽底物修饰 GNPs 的比色方法可用于检测酶活性和筛选酶抑制剂^[43-52]。Wang 等^[43]证明生物素化多肽底物修饰的 GNPs 和亲和素修饰的 GNPs 之间的相互作用可用于激酶活性比色测定。Mao 等^[44]将多肽(NH_2 -FGGFELL Ac)修饰的 GNPs 与 Cucurbit[8]uril 相互作用形成蓝色超分子结构(pep-AuNPs/CB[8])用于比色检测氨基肽酶 N(Aminopeptidase N, APN)的活性。当多肽底物被 APN 水解时, pep AuNPs/CB[8]超分子结构解体,溶液颜色由蓝色逐渐转变为红色。在优化的条件下,该比色方法检测 APN 的线性范围为 5~15 $\mu\text{g/mL}$,检出限为 0.42 $\mu\text{g/mL}$,可用于血清样品中 APN 的检测。基于 pep-AuNPs/CB[8]的比色方法为复杂体系中酶活性快速检测提供了一种新思路。Li 等^[47]发展了一种以混合多肽修饰的 GNPs(biotin-peptide-AuNPs)为比色探针的侧向流免疫分析方法(Lateral flow immuno-

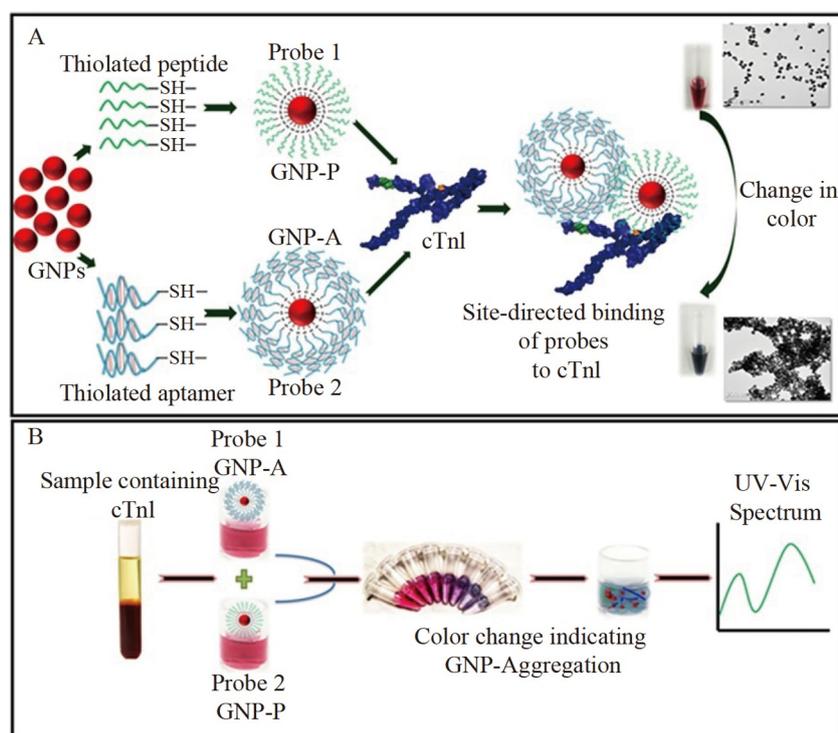


图3 (A) 以 cTnI 亲和多肽(CFYSHSFHENWPS)修饰的 GNPs(GNP-P)和 cTnI 适配体修饰的 GNPs(GNP-A)双探针夹心比色方法检测 cTnI 示意图; (B)cTnI 诱导 GNP-P 和 GNP-A 聚集导致溶液颜色和 UV-vis 吸收光谱变化^[42]

Fig.3 (A) Schematic illustration of the cTnI affinity peptide (CFYSHSFHENWPS) modified GNPs (GNP-P) and cTnI aptamer modified GNPs (GNP-A) based sandwich colorimetric assay; (B) Single-step process of dual nanobioprobe GNP-A and GNP-P-based aggregation^[42]

assay, LFIA)用于蛋白酪氨酸磷酸酶 1B(Protein tyrosine phosphatase 1B, PTP1B)活性的检测。在优化的条件下, biotin-_ppeptide-AuNPs 标记的 LFIA 对 PTP1B 具有较宽的线性范围(50 ng/mL~10 μg/mL)、较低的检出限(44 ng/mL)和良好的特异性,并成功用于评估 4 种细胞裂解液中 PTP1B 的活性水平。将 LFIA 和具有酶反应活性的 GNP@peptides 相结合,可为重大疾病相关酶活性的半定量检测提供一种简单且低成本的可可视化检测方法。

病毒和细菌等病原体的检测对保证公共安全和公共健康均具有重要意义。GNP@peptides 可作为比色探针用于快速、高灵敏和高特异性检测病毒^[53-56]。在常温条件下, Xiong 等^[54]利用静电相互作用使带负电荷的多肽(CDEDE)修饰的 GNPs 与带正电荷多肽(RRKGGRK)形成蓝色的 GNPs 聚集体。病毒触发的脂质体酶封装单元破裂,形成酶催化风暴,促进多肽水解,从而使交联的 GNPs 聚集体分解,导致溶液颜色从蓝色变为红色。该比色方法具有较低的检出限(16 copies/μL),优于单酶锚定免疫分析系统,临床检测准确率为 100%。以 PEG 为交联剂, Lee 等^[55]将黑曲霉孢子结合肽(Aspergillus niger spore-binding peptide, ASBP, FTPHPVGRPHM)偶联到 GNPs 表面。ASBP 修饰的 GNPs 与黑曲霉孢子快速(<10 min)结合导致溶液由红色逐渐变为蓝紫色。该方法可检测低至 50 个黑曲霉孢子。最近, Zhu 等^[56]将 SARS-CoV-2 棘突蛋白受体结合域(Spike protein receptor binding domain, S-RBD)特异性结合多肽(MYGGG-QAKTFLDKFNHEAEDLFYGGKGFRI)衍生肽修饰到 GNPs 表面,开发了一种夹心式比色检测方法,该方法可快速(<30 min)、简单、灵敏地检测地表水和废水等环境介质中的 SARS-CoV-2 病毒。

此外, GNC@peptides 可作为人工酶(纳米酶, Nanozyme)用于构建比色方法^[39,57-58]。相对于天然酶, GNC@peptides 具有成本低、化学稳定性好等优点。Feng 等^[58]基于 GSH 对 GNC@GSHs 类过氧化物酶活性的抑制作用,建立了一种检测细胞中 GSH 水平的比色方法。由于 GSH 可有效抑制 GNC@GSHs 对 TMB 的催化氧化,在 2~25 mmol/L 范围内,随着 GSH 浓度增加,体系 652 nm 处的吸光度线性降低。由于

癌细胞中总 GSH 水平远高于正常细胞中 GSH 水平,因此该方法为鉴定癌细胞提供了有力的工具。以环状肽(cyclo[—CNDNHCRDND—])为葡萄糖传感的识别元件、GNPs 为催化剂,Wu 等^[39]发展了一种基于环肽(cyclo[—CNDNHCRDND—])修饰的 GNPs 的新型葡萄糖比色传感方法。在无葡萄糖的情况下,GNPs 表面的环状肽单层吸附 4-硝基苯酚,在 NaBH₄ 存在下,GNPs 将黄色 4-硝基苯酚催化还原为无色 4-氨基苯酚。当体系中存在葡萄糖时,葡萄糖优先与环状肽结合,阻碍了环肽修饰的 GNPs 对 4-硝基苯酚的吸附,从而使催化反应无法发生。该方法响应时间短(约 10 min)、灵敏度高(检出限为 0.04 mmol/L),在 0.1~20 mmol/L 的葡萄糖浓度范围内呈线性响应。该方法成功用于加标食品样品(大白菜、梨和面粉)和加标兔血液中葡萄糖的检测,回收率分别为 88.04%~103.28%和 94.27%~101.53%。

3.2 基于多肽修饰的GNPs的荧光分析

由于 GNCs 具有荧光性能可调、物理化学性质稳定和易功能化等特点,因此 GNC@GSHs 可作为一类优良的荧光探针用于构建不同的荧光传感器^[60-70]。例如,Wu 等^[62]通过整合 GNC@GSHs 过氧化物酶样催化和荧光双功能特性,开发了一种具有良好选择性和灵敏度的比率型荧光纳米传感器用于测定 H₂O₂ 和葡萄糖。在 GNC@GSHs 催化下,H₂O₂ 加速分解为羟基自由基。所产生的羟基自由基将对苯二甲酸氧化为高荧光产物羟基对苯二甲酸乙二醇酯。在 315 nm 光激发下,该体系在 430 和 600 nm 处产生双荧光发射峰,其中对苯二甲酸乙二醇酯在 430 nm 处的荧光信号随着 H₂O₂ 浓度增加而增强,而 GNC@GSHs 在 600 nm 处的荧光信号保持不变。通过葡萄糖氧化酶将葡萄糖转化为 H₂O₂,实现对葡萄糖的测定。该传感器具有良好的抗干扰能力和检测准确性,对 H₂O₂ 和葡萄糖的检出限分别为 10 和 20 nmol/L,并成功用于人血清样品中葡萄糖的测定。Bhamore 等^[66]采用一锅法制备了一种组氨酸(His)和 GSH 保护的 GNCs(GSH-GNCs@His)。在 420 nm 光激发下,GSH-GNCs@His 在 502 nm 处发射强绿色荧光(量子产率为 7.5%)。由于 Pb²⁺对 GSH-GNCs@His 具有较强的荧光淬灭效应,因此 GSH-GNCs@His 可用于高灵敏检测 Pb²⁺(检出限为 1.0 nmol/L)。此外,GSH-GNCs@His 测定加标血浆样品中的 Pb²⁺具有良好的准确度,证明其具有良好的应用前景。Qi 等^[67]以 GNC@GSHs 为探针,利用 Fe³⁺对 GNCs 荧光的淬灭效应,建立了一种可高选择性测定复杂样品中转铁蛋白的荧光传感体系(GSH-GNCs-Fe³⁺)。转铁蛋白与 Fe³⁺的协同作用可使 GNC@GSHs 荧光恢复,GSH-GNCs-Fe³⁺对转铁蛋白检测线性范围为 0.2~1.0 μmol/L,检出限为 0.06 μmol/L,并成功用于大鼠血清样品中的转铁蛋白的测定(相对回收率为 94.6%~110.3%,批间和批内相对标准偏差(Relative standard deviation, RSD)均低于 2.9%)。Qu 等^[68]通过带正电荷的 Arg₉-GSH-GNC 与带负电荷聚尿酸(polyU)之间的静电相互吸引构建了一种聚集诱导发射增强(Aggregation-induced emission enhancement, AEE)体系。由于肽键 Arg 残基的羧基末端可被胰蛋白酶识别和裂解,因此 polyU 对 GNC@GSHs 的 AEE 变弱。该 AEE 传感体系检测胰蛋白酶的线性范围为 1~50 ng/mL,检出限为 0.31 ng/mL,为复杂体系中胰蛋白酶活性测定和抑制剂筛选提供了一种新方法。

由于 GNPs 具有较强的荧光淬灭能力,因此 GNPs 可作为淬灭剂构建‘off-on’荧光传感器^[23,71-72]。Wang 等^[71]基于 GNP@peptides 与聚乙烯亚胺保护的铜纳米簇(PEI-CuNCs)之间的荧光内滤效应(Fluorescence inner-filter effect, IFE)开发了一种用于检测蛋白激酶 A(Protein kinase A, PKA)的新型生物传感器。在三磷酸腺苷和 PKA 存在下,GNPs 表面的多肽被磷酸化并与 Zr⁴⁺配位而触发 GNPs 选择性聚集。与单分散 GNP@peptides 相比,聚集的 GNP@peptides 对 PEI-CuNCs 的荧光淬灭效应减小。该 IFE 传感体系对 PKA 活性检测的线性范围为 0.1~6.0 U/mL,检出限为 0.038 U/mL。此外,该方法还被用于 PKA 抑制剂筛选和研究药物诱导下 HepG-2 细胞中的 PKA 活化,为激酶相关活性检测和抑制剂筛选提供了一种新工具。Guo 等^[23]利用 Au-Se 键将不同荧光分子(荧光素异硫氰酸盐(Fluorescein isothiocyanate, FITC)、5-羧基四甲基罗丹明(5-Carboxytetramethylrhodamine, 5-TAMRA)和花青素 5(Cyanine 5, Cy5)标记的 3 种基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)多肽底物修饰到 GNPs 表面,构建了一种三色荧光纳米探针(图 4)。该纳米探针可特异性地响应 MMP-2/7/9,从而恢复 FITC/5-TAMRA/Cy5 因荧光共振能量转移(Fluorescence resonance energy transfer, FRET)而预先淬灭的荧光,实现 MMP-2/7/9 在生物系统中的可视化。使用该三色荧光纳米探针成功证实了脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)可刺激 SMMC-7721 细胞高表达 MMP-2/7/9。基于三色荧光纳米探针的 FRET 分析方法为多种蛋白酶同时检测和抑制剂筛选提供了

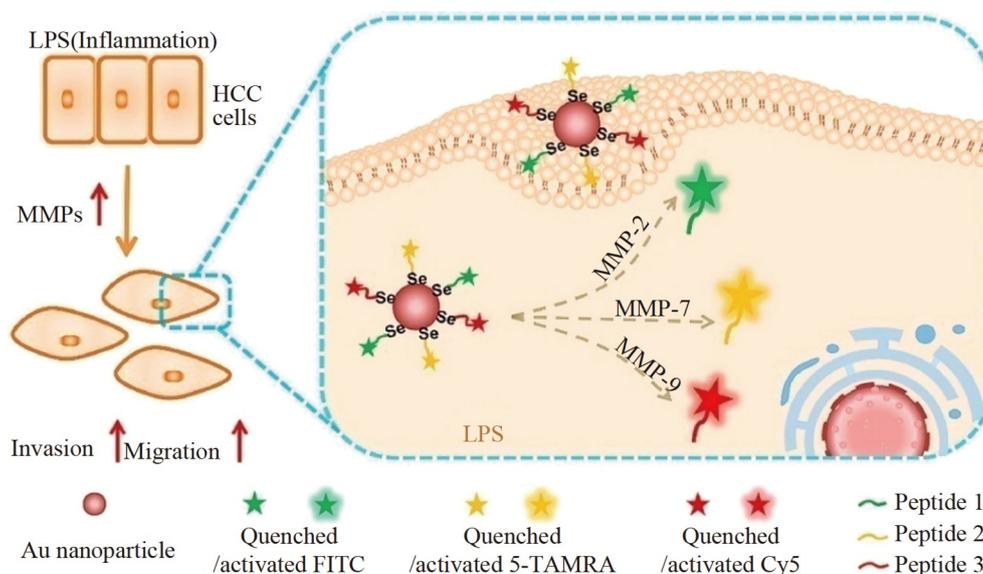


图4 以 Au—Se 共价键将 FITC/5-TAMRA/Cy5 标记 MMP-2/7/9 多肽底物修饰于 GBPs 表面构建用于同时检测细胞中 MMP-2/7/9 活性的三色纳米探针示意图^[23]

Fig.4 Schematic illustration of tricolor nanoprobe for detection of cellular MMP-2/7/9 through bioconjugation of FITC/5-TAMRA/Cy5 labeled MMP-2/7/9 peptide substrates on GNPs surface via Au—Se covalent bond^[23]

一种新方法。

3.3 基于多肽修饰的GNPs的SERS分析

由于 GNPs 具有较强的 LSPR, 因此 GNP@peptides 是一类优良的 SERS 探针/基底, 被广泛应用于蛋白酶等的检测^[73-83]。Sloan-Dennison 等^[75]将环状多肽(RGDFC)和 4-巯基苯甲腈(4-Mercaptobenzonitrile, MBN)同时修饰到 GNPs 表面, 构建了一种新型 SERS 探针。该探针可特异性识别细胞表面的 $\alpha_v\beta_3$ 整合素, 为原位监测细胞表面的配体受体相互作用提供了一种新思路。Zhao 等^[76]以 CALNN/CCALNN-KYDDVED 或 CALNN/CCALNNPFFDVED 混合多肽修饰的 GNPs 为基底, 发展了一种可用于 Caspase-3 活性检测的 SERS 分析方法。当 DVED 序列被 Caspase-3 切割后, 暴露出 PFF 或 KYD, 进而通过疏水及静电相互作用诱导 GNPs 聚集产生 SERS 效应。SERS 信号增强程度与 Caspase-3 浓度呈正相关。该方法对 Caspase-3 的检出限为 1.5 ng/mL。Zhu 等^[79]利用“点击化学”(Click chemistry)将 polyA DNA 和含有 DEVD 序列的多肽(NH₂-DGDGADEVDLLCR)修饰到炔和腈编码(Alkyne and nitrile-coded)的 GNPs 表面, 构建了一种双增强 SERS 探针。在细胞凋亡过程中, 凋亡细胞所产生的 Caspase-3 水解 DEVD, 去除 GNPs 表面多肽中的负电荷部分, 从而将两个不同的三键标记的 GNPs 通过 DNA 杂交连接在一起, 形成 SERS “热点”, 同时放大炔和腈三键拉曼信号, 所产生的 SERS 强度与 Caspase-3 浓度呈正相关。该方法检测 Caspase-3 的线性范围为 0.1 ng/mL~10 μ g/mL, 检出限为 7.18×10^{-2} ng/mL。采用该方法成功实现了细胞内 Caspase-3 的精准 SERS 成像, 为原位监测细胞凋亡提供了一种新方法。Zhong 等^[82]以 2-萘乙二醇(2-Naphthalenethiol, 2-NT)为内标、罗丹明 B(Rhodamine B, Rh B)标记的底物肽为特异性 MMP-2 识别剂、GNPs 为 SERS 增强基元构建了一种比率型 SERS 纳米探针用于不同癌细胞中 MMP-2 的 SERS 成像。MMP-2 水解底物肽导致纳米探针表面 Rh B 的 SERS 信号减少甚至消失, 而 2-NT 的 SERS 信号不发生变化。基于 Rh B 和 2-NT 的 SERS 信号的比率可实现对 MMP-2 活性的准确定量分析。SERS 细胞成像实验结果表明, 该 MMP 响应型 SERS 纳米探针可区分正常乳腺细胞和具有不同恶性程度的两种乳腺癌细胞亚型, 为肿瘤生物学研究和精准诊断提供了一种新技术。

4 多肽修饰的GNPs在生物医学中的应用

多肽容易通过固相合成技术实现大规模自动化合成, 具有良好的生物相容性、序列依赖性生物活

性/功能以及可通过末端或侧链的氨基($-\text{NH}_2$)和羧基($-\text{COOH}$)基团结合其它功能分子(如药物、载体等)等优点,GNPs 具有与粒径、形貌等相关的特殊理化性质和 EPR 效应,因此,GNP@peptides 作为靶向纳米药物或纳米载体在抗菌、肿瘤治疗等领域显示了良好的应用前景^[5,84-113]。

4.1 在肿瘤治疗中的应用

4.1.1 光热治疗

将含有环状 RGD 序列多肽和人表皮生长因子受体-2(Human epidermal growth factor receptor-2, HER2)多肽配体等具有高肿瘤细胞亲和性的多肽修饰到具有良好光热转换效率的 GNPs 表面可构建具有肿瘤靶向的 PTTAs^[5,84-87]。例如, Wang 等^[84]证明多肽 AYQRFDDVASRF 修饰的 GNR 可显著增强 HER2 高表达的肿瘤细胞的 PTT 疗效。Zhao 等^[85]以 MMPs 特异性多肽底物($\text{H}_2\text{N-GPLGVRGC-SH}$)为交联剂、不对称花菁染料为荧光标记物,合成了一种 MMPs 和 pH 双刺激响应、可逆激活和糖基靶向的纳米探针,实现了对鳞状细胞癌(SCC-7)荧光引导下的肿瘤靶向精准 PTT。该研究为设计用于肿瘤精准治疗的高效、低毒性纳米药物提供了一种新思路。Ali 等^[86]以环状多肽 RGD 修饰的 GNRs 为 PTTAs,建立了一种靶向整合素的 PTT 策略。研究表明,GNRs 靶向癌细胞整合素的能力和 PTT 的引入可广泛调节细胞骨架的信号传导,从而抑制肿瘤转移。Ha 等^[87]将电响应水凝胶、高导电银纳米线(Silver nanowires, AgNWs)和环状多肽 RGD 修饰的 GNRs 整合为一种基于电响应的脑肿瘤靶向 PTT 平台,该平台在脑肿瘤精准治疗方面表现出良好的应用前景。

将 TAT 肽、NLS 肽等跨膜多肽修饰到 GNPs 表面,可显著提高细胞对 GNPs 的内吞效应,从而提高 PTT 疗效^[88-91]。Tan 等^[88]合成了一种蜘蛛毒肽(Lycosin-I)修饰的 GNRs(GNRs@Lycosin-I)用于肿瘤的靶向治疗。由于 GNRs@Lycosin-I 仅对癌细胞表现出高效的细胞内化效率,所以其在近红外光(NIR, 808 nm)照射下可选择性地杀死癌细胞而对正常细胞具有较低的细胞毒性,从而实现了肿瘤的靶向 PTT。Wu 等^[89]合成了一种包含 TAT 序列、MMP-9 可裂解序列和两性离子防污序列的多功能多肽修饰的 GNRs。该 MMP-9 敏感的多功能肽可显著增加 GNRs 全身循环时间和肿瘤细胞摄取量,从而显著增强荷瘤小鼠模型的 PTT 疗效。Ha 等^[91]合成了一种富含亮氨酸(Leu, L)和赖氨酸(Lys, K)的 CPP(LK 肽)修饰的金三角纳米棱镜(Bumpy gold triangular nanoprisms, BATrisms)。由于凹凸不平的 BATrisms 具有极高的光热转换效率(约 86%),LK 肽可显著提高 BATrisms 的细胞摄取效率,因此 LK 肽修饰的 BATrisms(LK BATrisms)具有显著的 PTT 疗效。活体实验结果表明,小剂量(2.5 $\mu\text{g gold}$)LK BATrism 在低功率(0.25 W/cm^2)的 808 nm NIR 激光照射下即可发挥抗肿瘤功效,可完全抑制荷三阴性乳腺癌异种移植小鼠模型的肿瘤生长,并降低正常组织的损伤。

含有 PSP/SP 序列多肽、抗 Flt1 pep 肽(CGNQWFI, AF)和巢蛋白肽(AQYLNP, Nes)等肿瘤组织亲和肽也可用于制备具有肿瘤靶向能力的 GNPs 类 PTTA^[75,92-93]。例如, Huang 等^[75]构建了一种基于肿瘤归巢肽 LyP-1(CGNKRTRGC)、金纳米棱柱(Gold nanoprisms, GNPs)和 NIR 染料 IR780 的纳米药物 GNPs/IR780-LyP-1。其中, LyP-1 有助于提高 GNPs/IR780-LyP-1 对肿瘤细胞的亲和力; IR780 的引入不仅使基于 GNP 的纳米系统具有 SERS 特性,而且可利用 660 nm 激光增强 GNP 的等离子体光热特性。因此, GNPs/IR780-LyP-1 表现出显著的肿瘤靶向 PTT 疗效,有望用于 SERS 成像指导下的肿瘤精准 PTT 治疗。Sankari 等^[93]证明神经肽(ANGIOPEP-2, TFFYGGSRGKRNNFKTEEYC)可显著增强胶质瘤细胞对 GNRs 内吞能力。在 808 nm NIR 激光照射下,ANGIOPEP-2 修饰的 GNRs 可提高活性氧(Reactive oxygen species, ROS)水平,并激活 Caspase 途径,从而导致脑胶质瘤细胞凋亡并抑制肿瘤生长。综上所述,对肿瘤生物标志物高亲和性的 GNP@peptides 是一类低毒性、疗效显著的纳米药物,在肿瘤 PTT 靶向治疗中展现出良好的应用前景。

4.1.2 药物输送和联合治疗

研究表明,GNP@peptides 可作为一种靶向载体负载抗肿瘤药物,增强相应药物疗效^[94-98]。Jabir 等^[94]证明五肽 CALNN 修饰的 GNPs(GNP@CALNN)是肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)的高效载体,GNP@CALNN 所负载的 TNF- α 可选择性诱导肿瘤细胞 MCF-7 凋亡。Bian 等^[95]合成了一种混合肽(D-对映体肽(TAWYANFEALLR, DPA)、PLL(Polylysine)和受体靶向肽(CRGDKRGDSP))修饰的 GNPs

并用于肿瘤靶向治疗。得益于 EPR 效应和 RGD 的靶向作用,该混合肽修饰的 GNPs 成功地将 DPA 输送到癌细胞中,并实现了在肿瘤部位的特异性积累。体外和体内实验均证明该混合肽修饰的 GNPs 具有优异的生物安全性、肿瘤细胞靶向性和高效的抗肿瘤活性。

以基于 GNP@peptides 的 PTTA 为载体负载光动力治疗药物(Photodynamic therapy agents, PDTAs)、CTA、基因治疗药物(Gene therapy agents, GTAs)或免疫治疗药物(Immunotherapy agents, ITAs)有助于实现肿瘤靶向 PTT-PDT^[99-100]、PTT-CT^[101-103]、PTT-GT^[104-108]或 PTT-IT^[109]联合治疗,从而克服单一治疗方式的不足,进一步提高疗效。例如, Liu 等^[99]以人类程序性死亡配体-1 肽(PD-L1, YASYHCWCWRDGRS)为靶向配体、金纳米棱镜(Gold nanoprisms, GNPs)为 PTTA、Ce6 为 PDTA,合成了一种多功能纳米探针(GNPs@PEG/Ce6-P),可通过 PD-L1 的靶向效应实现荧光和光声(Photoacoustic, PA)双模成像引导的 PTT-PDT 联合治疗。对人肺癌细胞(HCC827)衍生肿瘤的治疗结果证明,GNPs@PEG/Ce6-P 具有显著的肿瘤靶向双模成像能力和增强的 PDT 和 PTT 疗效,可通过 PTT-PDT 联合治疗显著抑制肿瘤生长。Hou 等^[101]合成了一种叶酸共轭聚(乙二醇)-b-聚(*L*- γ -谷氨酰肼)(FEGGH)修饰的 GNR,并通过 pH 敏感的脲键负载 DOX,从而制备了具有 PTT-CT 联合治疗能力的纳米药物 FEGGHDOX-GNR。该纳米药物显示出优异的光稳定性和还原/pH 双响应 DOX 释放行为。细胞学研究表明, FEGGHDOX-GNR 可通过叶酸介导的内吞作用内化到 MCF-7 细胞中,从而增强 PTT-CT 联合治疗的疗效。如图 5 所示, Huang 等^[102]合成了一种两亲性多肽(Thiol terminated poly(Bz-*L*-Glu-co-*Z*-Lys) (SH-PBGZL), Thiol terminated poly(*L*-Glu-co-Lys acid) (SH-PGLA))修饰的 GNRs,并通过脲键负载 DOX。在微酸性肿瘤环境下,该纳米药物(GNRs-PGLA/PGLA-DOX)的表面电荷从负向正转变,促进肿瘤细胞摄取,进而通过脲键解离释放 DOX,增强 CT 疗效,并减少 DOX 的副作用。活体荷 HeLa 肿瘤小鼠实验结果表明, GNRs-PGLA/PGLA-DOX 的 PTT-CT 联合治疗具有显著增强的肿瘤抑制效果。

Ye 等^[104]将可调节结肠癌细胞的增殖和凋亡的治疗基因 FAM172A 负载于环肽 GX1 肽(CGNSNPKSC)修饰的 GNRs 上,构建了一种 PTT-GT 双模治疗纳米药物(GNR@PAMAM-GX1/FAM172A),其对鼠荷结肠 HCT-8 肿瘤具有增强的 PTT-GT 疗效。Peng 等^[105]将肿瘤抑制基因 MicroRNA-320a-3p 负载于环状多肽 RGD 修饰的 GNRs,合成了一种 PTT-GT 双模纳米药物(Au-RGD-miR-320a)。细胞和活体实验结果证明, Au-RGD-miR-320a 在 808 nm NIR 激光照射下可显著增强肺癌的细胞凋亡,进而抑制肺癌的增殖和转移。Zhang 等^[107]将转录因子 EB(Transcription factor EB, TFEB)靶向 siRNA 负载于 pH 敏感的 CPP(AGYLLGHINLHHLAHL (Aib) HHILCys)修饰的 GNR,合成了一种 PTT-GT 双模纳米药物(GNR@siRNA/ CPP)。细胞和活体研究结果表明, GNR@siRNA/ CPP 可实现对骨肉瘤(OS)的 PTT-GT 协同治疗,具有抗 OS 肺转移功能,为提高 OS 的临床疗效提供了新途径。

4.2 在抗菌中的应用

将细菌亲和肽或抗菌肽(Antimicrobial peptides, AMPs)修饰到 GNPs 表面,可有效保护多肽生物活性构象,避免受多肽酶、蛋白酶等水解而失活,因此与 GNPs 结合后,细菌亲和肽或 AMP 在生理环境中具有更高的稳定性、更长的寿命和更高的细菌亲和能力或更好的抗菌活性^[53,112-115]。例如, Chen 等^[53]将细菌结合肽 P937(WGLHTSATNLYLHGCG)修饰到 GNRs 表面,构建了一种用于细菌检测和光热消融细菌的多功能纳米探针(GNR@P937)。GNR@P937 具有良好的生物相容性、细菌浓度依赖的 LSPR 吸收和较高的光热转换效率,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的检出限分别为 46 和 89 cfu/mL。在 808 nm NIR 激光照射下, GNR@P937 可在 10 min 内实现对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的完全消融。该研究提供了一种简单、方便和有效的细菌检测方法和消杀策略。Zheng 等^[111]以 2-巯基-4,6-二氨基嘧啶(4, 6-Diamino-2-mercaptopyrimidine, DAMP)为交联剂将环脂肽类抗生素达托霉素(Daptomycin, Dap)和 GNCs 共价结合,合成了一种新型纳米抗菌药物 Dap-AuDAMP。Dap-AuDAMP 不仅保留了 Dap 和 DAMP 修饰的 GNCs(AuDAMP)固有的性质,也具有增强的协同效应。Dap 诱导细菌膜产生更多且更大的孔,从而破坏膜结构,进一步使大量 Dap-AuDAMP 进入细菌细胞。AuDAMP 在细菌内聚集而产生局部高浓度 ROS,诱导严重的 DNA 断裂,降低细菌产生耐药性的能力。与物理混合的 AuDAMP 和 Dap (Dap+AuDAMP)相比, Dap-AuDAMP 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有更强的杀菌作用。Sheng 等^[113]

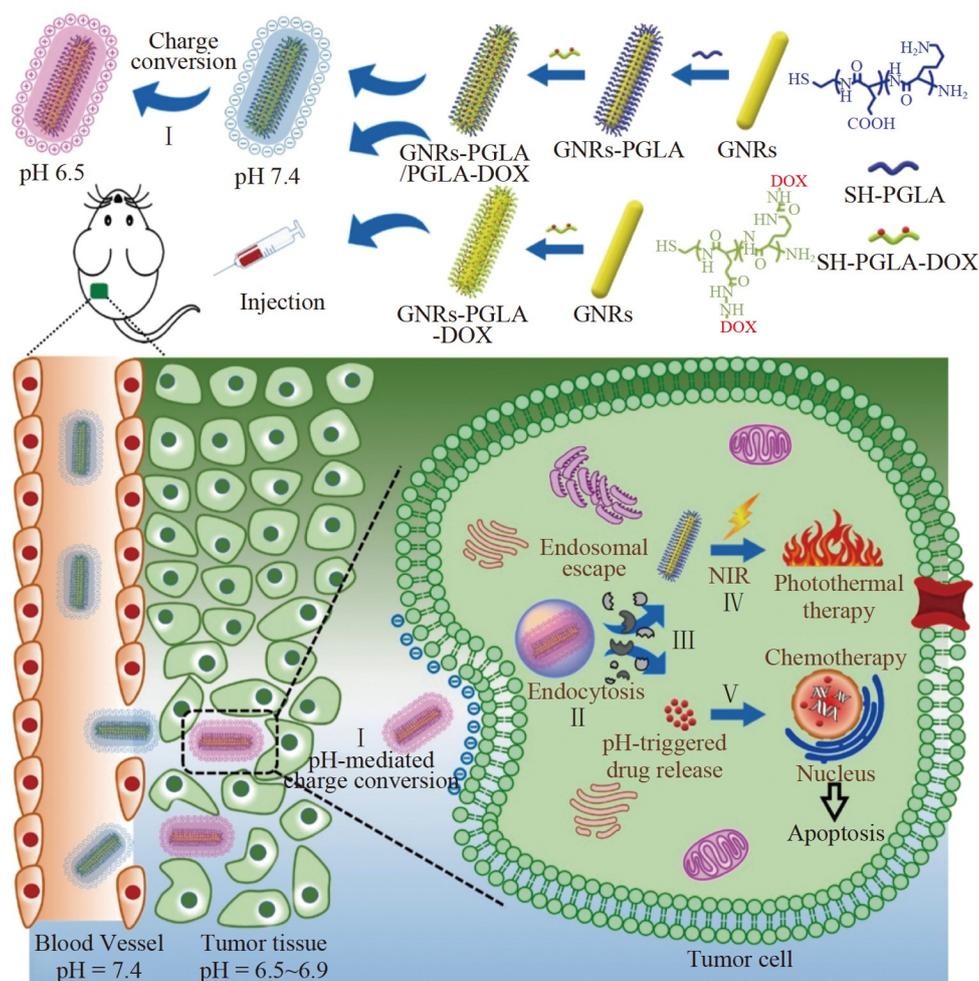


图5 GNRs-PGLA/PGLA-DOX 制备过程示意图, GNRs-PGLA/PGLA-DOX 具有 pH 敏感电荷转换和 PTT-CT 联合治疗能力: (I) 在酸性肿瘤微环境中, GNRs-PGLA/PGLA-DOX 的表面电荷由负变为正; (II) GNRs-PGLA/PGLA-DOX 在癌细胞中的内吞作用; (III) GNRs-PGLA/PGLA-DOX 内涵体逃逸, (IV) 808 nm NIR 激光照射下的 PTT; (V) pH 引发 DOX 释放实现 CT^[103]

Fig.5 Schematic illustration for the preparation process of the GNRs conjugates with pH sensitive charge conversion and combined chemo-photothermal therapy: (I) The surface charge of GNRs-PGLA/PGLA-DOX converts from negative into positive in acidic extracellular tumor microenvironment; (II) The endocytosis of GNRs-PGLA/PGLA-DOX in cancer cell; (III) The endosomal escape; (IV) Photothermal therapy induced under 808 nm NIR laser irradiation; (V) Chemotherapy induced by pH-triggered DOX release^[103]

以 AMP BF2b 明胶酶 B 底物和两性离子防污肽段为功能单元,设计了一种多功能肽 BrEK (H₂N-CCRAGLQFPVGRLLRLLRLLR-GPLGV-EKEKEKEK)。将 BrEK 通过多肽序列一端的 Cys 与 GNRs 结合,获得了具有生物相容性好、长血液循环、感染微环境响应靶向能力和独特抗菌性能的 GNR@BrEK。体外和体内实验证明,在 808 nm NIR 激光照射下,GNR@BrEK 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)具有优异的消融能力。以上研究表明,GNP@AMPs 具有优异的抗菌性能,为新型抗生素的设计提供了一种新方法。

5 结论和展望

基于 GNP@peptides 的纳米传感体系和纳米药物在生物分析和生物医学领域得到了广泛的应用。GNP@peptides 兼具 GNPs 的优点(高比表面积、独特的 LSPR 光学特性、强 EPR 效应和较高光热转换能力等)和多肽的与序列相关的特殊功能,通过合理地选择合成方法(配体交换、化学偶联和化学还原等)

可将具有不同生物功能、不同结构和不同理化性质的多肽修饰到 GNP 表面。因此,基于 GNP@peptides 的纳米传感体系对与疾病发生和发展密切相关的离子、小分子、蛋白质、酶和病原体等待测物具有较低的检出限,基于 GNP@peptides 的纳米药物在肿瘤靶向治疗和抗菌领域呈现出良好的应用前景。尽管近二十余年研究者开发了诸多性能优异或疗效显著的 GNP@peptides 纳米传感体系和纳米药物,然而 GNP@peptides 在临床诊断和诊疗等实际应用过程中仍有一些问题亟需解决。(1)由于细胞、活体内存在 GSH 等高浓度含硫醇以及双硫键生物分子和多种蛋白水解酶,因此 GNP@peptides 在细胞、活体内的稳定性需进一步提高。使用含 Se 氨基酸衍生物替代 Cys 形成更稳定的 Se—Au 共价键、以 D 型氨基酸取代特定位置的 L 型氨基酸降低蛋白酶对多肽水解能力等策略均有助于提高 GNP@peptides 在生命体系中的稳定性。(2)GNP@peptides 与待测物、细胞和活体的作用机制/过程需进一步研究。结合理论模拟,将不同功能模块整合到同一序列中精确调控多肽功能,进一步阐明 GNP 表面的分子识别机制和反应动力学过程,确定 GNP@peptides 特异性识别能力和在活体内循环以及细胞内化机制,从而提高 GNP@peptides 的纳米传感体系的特异性和灵敏度,改善 GNP@peptides 纳米药物的治疗效果。(3)水合粒径大于 10 nm 的 GNP@peptides 仅通过肝胆缓慢排泄,具有潜在的体内毒性。为了解决该问题,需要来自不同领域(化学、材料、医学、生物信息学、毒理学和药剂学等)的研究者深入合作,对 GNP@peptides 的生物毒性进行系统的研究,建立 GNP@peptides 生物毒性精准预测模型。(4)GNP@peptides 的规模化制备及质量控制需加强研究,建立自动化、标准化的合成路线将可实现高质量 GNP@peptides 的规模化合成。尽管为解决 GNP@peptides 在实际应用中面临的问题,研究者仍需要做出大量努力,但该领域所取得的进展将有助于提升对疾病的诊疗能力。

References

- [1] MIRKIN C A, LETSINGER R L, MUCIC R C, STORHOFF J J. *Nature*, 1996, 382(6592): 607-609.
- [2] ZHANG Y, ZHANG C, XU C, WANG X, LIU C, WATERHOUSE G I N, WANG Y, YIN H. *Talanta*, 2019, 200: 432-442.
- [3] SUN Ya-Fang, ZHOU Zi-Ping, SHU Tong, QIAN Li-Sheng, SU Lei, ZHANG Xue-Ji. *Prog. Chem.*, 2021, 33(2): 179-187. 孙亚芳, 周子平, 舒桐, 钱立生, 苏磊, 张学记, 化学进展, 2021, 33(2): 179-187.
- [4] LIU X, ZHANG Q, KNOLL W, LIEDBERG B, WANG Y. *Adv. Mater.*, 2020, 32(37): 2000866.
- [5] LIU Y, BHATTARAI P, DAI Z, CHEN X. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, 48(7): 2053-2108.
- [6] ZHOU R, ZHANG M, XI J, LI J, MA R, REN L, BAI Z, QI K, LI X. *Nanoscale Res. Lett.*, 2022, 17(1): 68.
- [7] ZHANG P, CUI Y, ANDERSON C F, ZHANG C, LI Y, WANG R, CUI H. *Chem. Soc. Rev.*, 2018, 47(10): 3490-3529.
- [8] DESALE K, KUCHE K, JAIN S. *Biomater. Sci.*, 2021, 9(4): 1153-1188.
- [9] LI X, WANG J, SUN L, WANG Z. *Chem. Commun.*, 2010, 46(6): 988-990.
- [10] INNOCENTI R, DALLARI C, LENCIE, PAVONE F S, BIANCHINI F, CREDI C, TRABOCCHI A. *Bioorg. Chem.*, 2022, 126: 105873.
- [11] HU J, YUAN X, WANG F, GAO H, LIU X, ZHANG W. *Chin. Chem. Lett.*, 2021, 32(4): 1341-1347.
- [12] MORSHED R A, MUROSKI M E, DAI Q, WEGSCHEID M L, AUFFINGER B, YU D, HAN Y, ZHANG L, WU M, CHENG Y, LESNIAK M S. *Mol. Pharm.*, 2016, 13(6): 1843-1854.
- [13] DERAEDT C, SALMON L, GATARD S, CIGANDA R, HERNANDEZ R, RUIZ J, ASTRUC D. *Chem. Commun.*, 2014, 50(91): 14194-14196.
- [14] TURKEVICH J, STEVENSON P C, HILLIER J. *Discuss. Faraday Soc.*, 1951, 11: 55-75.
- [15] FRENS G. *Nat. Phys. Sci.*, 1973, 241(105): 20-22.
- [16] JANA N R, GEARHEART L, MURPHY C J. *J. Phys. Chem. B*, 2001, 105(19): 4065-4067.
- [17] LÉVY R, THANH N T K, DOTY R C, HUSSAIN I, NICHOLS R J, SCHIFFRIN D J, BRUST M, FERNIG D G. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126(32): 10076-10084.
- [18] OZCELIK S, PRATX G. *Nanotechnology*, 2020, 31(41): 415102.
- [19] CHIANG T H, HSIAO H H. *Talanta*, 2023, 253: 123913.
- [20] BEIDERMAN M, ASHKENAZY A, SEGAL E, BARNOY E A, MOTIEI M, SADAN T, SALOMON A, RAHIMPOUR S, FIXLER D, POPOVTZER R. *ACS Appl. Nano Mater.*, 2020, 3(8): 8414-8423.
- [21] LUO J, CHENG Y, GONG Z W, WU K, ZHOU Y, CHEN H X, GAUTHIER M, CHENG Y Z, LIANG J, ZOU T. *Langmuir*, 2020, 36(2): 600-608.
- [22] HU B, KONG F, GAO X, JIANG L, LI X, GAO W, XU K, TANG B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018, 57(19): 5306-5309.

- [23] GUO W, GAO X, ZHAN R, ZHAO Z, XU K, TANG B. *Talanta*, 2021, 222: 121525.
- [24] LIU B, LI J, ZHOU P, PAN W, LI N, TANG B. *Anal. Chem.*, 2021, 93(50): 16880-16886.
- [25] BARTCZAK D, KANARAS A G. *Langmuir*, 2011, 27(16): 10119-10123.
- [26] RUFF J, HASSAN N, MORALES-ZAVALA F, STEITZ J, ARAYA E, KOGAN M J, SIMON U. *J. Mater. Chem. B*, 2018, 6(16): 2432-2443.
- [27] LIMON D, VILA S, HERRERA-OLIVAS A, VERA R, BADIA J, BALDOMA L, PLANAS M, FELIU L, PEREZ-GARCIA L. *Colloids Surf., B*, 2021, 197: 111384.
- [28] LEMOINE P, DOOLEY C, MORELLI A, HARRISON E, DIXON D. *Appl. Surf. Sci.*, 2022, 574: 151386.
- [29] YU Y, LUO Z, YU Y, LEE J Y, XIE J. *ACS Nano*, 2012, 6(9): 7920-7927.
- [30] ZHANG X D, CHEN J, LUO Z, WU D, SHEN X, SONG S S, SUN Y M, LIU P X, ZHAO J, HUO S, FAN S, FAN F, LIANG X J, XIE J. *Adv. Healthcare Mater.*, 2014, 3(1): 133-141.
- [31] ZHANG C, GAO X, CHEN W, HE M, YU Y, GAO G, SUN T. *iScience*, 2022, 25(10): 105022.
- [32] SI S, KOTAL A, MANDAL T K. *J. Phys. Chem. C*, 2007, 111(3): 1248-1255.
- [33] LI W, NIE Z, HE K, XU X, LI Y, HUANG Y, YAO S. *Chem. Commun.*, 2011, 47(15): 4412-4414.
- [34] BARTL J, REINKE L, KOCH M, KUBIK S. *Chem. Commun.*, 2020, 56(72): 10457-10460.
- [35] KORKMAZ N, HWANG C, KESSLER K K, SILINA Y E, MÜLLER L, PARK J. *Talanta*, 2021, 232: 122439.
- [36] LI X Y, ZHANG M M, ZHOU X D, HU J M. *Anal. Biochem.*, 2021, 631: 114369.
- [37] ZHANG W, XI J, ZHANG Y, SU Z, WEI G. *Arabian J. Chem.*, 2020, 13(1): 1406-1414.
- [38] FENG S, SHI R, XU P, BHAMORE J R, BAL J, BAEK S H, PARK C Y, PARK J P, PARK T J. *New J. Chem.*, 2020, 44(37): 15828-15835.
- [39] WU X, YIN J, LIU J, GU Y, WANG S, WANG J. *Analyst*, 2020, 145(22): 7234-7241.
- [40] WU A, DING H, ZHANG W, RAO H, WANG L, CHEN Y, LU C, WANG X. *Food Chem.*, 2021, 363: 130325.
- [41] FENG T, GAO S, WANG K. *Acta Chim. Sin.*, 2019, 77(5): 422-426.
- [42] KAKKAR S, CHAUHAN S, BALA R, BHARTI R, KUMAR V, ROHIT M, BHALLA V. *Microchim. Acta*, 2022, 189(10): 366.
- [43] WANG Z, LÉVY R, FERNIG D G, BRUST M. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128(7): 2214-2215.
- [44] MAO X X, LI Y F, HAN P, WANG X H, YANG S Q, ZHANG F, GONG X Q, CAO Y. *Sens. Actuators, B*, 2018, 267: 336-341.
- [45] LOYNACHAN C N, SOLEIMANY A P, DUDANI J S, LIN Y, NAJER A, BEKDEMIR A, CHEN Q, BHATIA S N, STEVENS M M. *Nat. Nanotechnol.*, 2019, 14(9): 883-890.
- [46] HE M Q, CHEN S, YAO K, MENG J, WANG K, YU Y L, WANG J H. *Anal. Chem.*, 2020, 92(1): 1395-1401.
- [47] LI X, ZHU Q, XU F, JIAN M, YAO C, ZHANG H, WANG Z. *Anal. Biochem.*, 2022, 648: 114671.
- [48] CREYER M N, JIN Z, MOORE C, YIM W, ZHOU J, JOKERST J V. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2021, 13(38): 45236-45243.
- [49] JIN Z C, MANTRI Y, RETOUT M, CHENG Y, ZHOU J J, JORNS A, FAJTOVA P, YIM W, MOORE C, XU M, CREYER M N, BORUM R M, ZHOU J C, WU Z H, HE T Y, PENNY W F, O'DONOGHUE A J, JOKERST J V. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61(9): e202112995.
- [50] JIN Z, YEUNG J, ZHOU J, CHENG Y, LI Y, MANTRI Y, HE T, YIM W, XU M, WU Z, FAJTOVA P, CREYER M N, MOORE C, FU L, PENNY W F, O'DONOGHUE A J, JOKERST J V. *Chem. Mater.*, 2022, 34(3): 1259-1268.
- [51] JIN Z, LING C, LI Y, ZHOU J, LI K, YIM W, YEUNG J, CHANG Y C, HE T, CHENG Y, FAJTOVÁ P, RETOUT M, O'DONOGHUE A J, JOKERST J V. *Nano Lett.*, 2022, 22(22): 8932-8940.
- [52] GARLAND G D, HARVEY R F, MULRONEY T E, MONTI M, FULLER S, HAIGH R, GERBER P P, BARER M R, MATHESON N J, WILLIS A E. *Biochem. J.*, 2022, 479(8): 901-920.
- [53] CHEN Q, ZHANG L, FENG Y, SHI F, WANG Y, WANG P, LIU L. *J. Mater. Chem. B*, 2018, 6(46): 7643-7651.
- [54] XIONG L H, HUANG S, HUANG Y, YIN F, YANG F, ZHANG Q, CHENG J, ZHANG R, HE X. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2020, 12(11): 12525-12532.
- [55] LEE J I, JANG S C, CHUNG J, CHOI W K, HONG C, AHN G R, KIM S H, LEE B Y, CHUNG W J. *Sens. Actuators, B*, 2021, 327: 128894.
- [56] ZHU Q, ZHOU X. *J. Hazard. Mater.*, 2022, 425: 127923.
- [57] GAO L, LIU M, MA G, WANG Y, ZHAO L, YUAN Q, GAO F, LIU R, ZHAI J, CHAI Z, ZHAO Y, GAO X. *ACS Nano*, 2015, 9(11): 10979-10990.
- [58] FENG J, HUANG P, SHI S, DENG K Y, WU F Y. *Anal. Chim. Acta*, 2017, 967: 64-69.
- [59] FU M, LI L, YANG D, TU Y, YAN J. *Spectrochim. Acta, Part A*, 2022, 279: 121450.
- [60] LI Y, DENG Y, ZHOU X, HU J. *Talanta*, 2018, 179: 742-752.

- [61] XUE F, QU F, HAN W, XIA L, YOU J. *Anal. Chim. Acta*, 2019, 1046: 170-178.
- [62] WU Y, GAO Y, DU J. *Talanta*, 2019, 197: 599-604.
- [63] WANG M K, LIU Y, SU D D, CHEN J Y, SU X G. *Sens. Actuators, B*, 2019, 290: 512-519.
- [64] WANG H, DA L, YANG L, CHU S, YANG F, YU S, JIANG C. *J. Hazard. Mater.*, 2020, 392: 122506.
- [65] XIE M, WANG Y, LIU L, WANG X, JIANG H. *J. Colloid Interface Sci.*, 2022, 614: 502-510.
- [66] BHAMORE J R, GUL A R, CHAE W S, KIM K W, LEE J S, PARK H, KAILASA S K, PARK T J. *Sens. Actuators, B*, 2020, 322: 128603.
- [67] QI S, SAAD AL-MASHRIQI H, SALAH A, ZHAI H. *Microchem. J.*, 2022, 175: 107163.
- [68] QU F, WANG Z, LI C, JIANG D F, ZHAO X E. *Sens. Actuators, B*, 2022, 359: 131610.
- [69] QIAN D, WANG Z, XIAO Z, FANG C J. *Inorg. Chem. Commun.*, 2021, 126: 108471.
- [70] YU F, CAO Z, HE S, XIANG H, ZHAO G, YANG L, LIU H. *Chem. Commun.*, 2022, 58(6): 811-814.
- [71] WANG M K, WANG L, LIU Q, SU X G. *Sens. Actuators, B*, 2018, 256: 691-698.
- [72] ZHANG D, MENG Y, ZHANG C. *Chem. Commun.*, 2020, 56(2): 213-216.
- [73] HE S, KYAW Y M E, TAN E K M, BEKALE L, KANG M W C, KIM S S Y, TAN I, LAM K P, KAH J C Y. *Anal. Chem.*, 2018, 90(10): 6071-6080.
- [74] HUANG X, YIN Y, WU M, ZAN W, YANG Q. *Chin. Chem. Lett.*, 2019, 30(6): 1335-1340.
- [75] SLOAN-DENNISON S, BEVINS M K R, SCARPITTI B T, SAUVÉ V K, SCHULTZ Z D. *Analyst*, 2019, 144(18): 5538-5546.
- [76] ZHAO C, QIU L, LV P, HAN A, FANG G, LIU J, WANG S. *Analyst*, 2019, 144(4): 1275-1281.
- [77] JIANG Q Y, CUI X, SUN Y, MAO Z, WANG J, CHEN F, WANG J, CAO Y. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, 192: 113539.
- [78] SUN Y, WANG Y, LU W, LIU C, GE S, ZHOU X, BI C, CAO X. *J. Mater. Chem. B*, 2021, 9(2): 381-391.
- [79] ZHU W, WANG C Y, HU J M, SHEN A G. *Anal. Chem.*, 2021, 93(11): 4876-4883.
- [80] YE Y, GE Y, ZHANG Q, YUAN M, CAI Y, LI K, LI Y, XIE R, XU C, JIANG D, QU J, LIU X, WANG Y. *Adv. Sci.*, 2022, 9(12): 2104738.
- [81] LIU L, CHU H, YANG J, SUN Y, MA P, SONG D. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 212: 114389.
- [82] ZHONG Q, ZHANG K, HUANG X, LU Y, ZHAO J, HE Y, LIU B. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 207: 114194.
- [83] XING T, QIAN Q, YE H, WANG Z, JIN Y, ZHANG N, WANG M, ZHOU Y, GAO X, WU L. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 212: 114430.
- [84] WANG J, DONG B, CHEN B, JIANG Z, SONG H. *Dalton Trans.*, 2012, 41(36): 11134-11144.
- [85] ZHAO X, YANG C X, CHEN L G, YAN X P. *Nat. Commun.*, 2017, 8(1): 14998.
- [86] ALI M R K, WU Y, TANG Y, XIAO H P, CHEN K C, HAN T G, FANG N, WU R H, EL-SAYED M A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2017, 114(28): E5655-E5663.
- [87] HA J H, SHIN H H, CHOI H W, LIM J H, MO S J, AHRBERG C D, LEE J M, CHUNG B G. *Lab Chip*, 2020, 20(18): 3354-3364.
- [88] TAN H, HUANG Y, XU J, CHEN B, ZHANG P, YE Z, LIANG S, XIAO L, LIU Z. *Theranostics*, 2017, 7(12): 3168-3178.
- [89] WU L, LIN B, YANG H, CHEN J, MAO Z, WANG W, GAO C. *Acta Biomater.*, 2019, 86: 363-372.
- [90] JIN X, YANG H, MAO Z, WANG B. *J. Colloid Interface Sci.*, 2021, 601: 714-726.
- [91] HA M, NAM S H, SIM K, CHONG S E, KIM J, KIM Y, LEE Y, NAM J M. *Nano Lett.*, 2021, 21(1): 731-739.
- [92] GONCALVES D P N, PARK D M, SCHMIDT T L, WERNER C. *Biomater. Sci.*, 2018, 6(5): 1140-1146.
- [93] SANKARI S S, URADE R, CHIU C C, WANG L F. *Pharmaceutics*, 2022, 14(9): 1939.
- [94] JABIR M S, ABOOD N A, JAWAD M H, ÖZTÜRK K, KADHIM H, ALBUKHATY S, AL-SHAMMARI A, ALMALKI F A, ALBAQAMI J, SULAIMAN G M. *Mater. Tech.*, 2022, 37(14): 3152-3166.
- [95] BIAN Z, YAN J, WANG S, LI Y, GUO Y, MA B, GUO H, LEI Z, YIN C, ZHOU Y, LIU M, TAO K, HOU P, HE W. *Theranostics*, 2018, 8(19): 5320-5335.
- [96] YIN X, YANG B, CHEN B, HE M, HU B. *Anal. Chem.*, 2019, 91(16): 10596-10603.
- [97] HE K, ZHU J, GONG L, TAN Y, CHEN H, LIANG H, HUANG B, LIU J. *Nano Res.*, 2021, 14(4): 1087-1094.
- [98] FARHANGI S, KARIMI E, KHAJEH K, HOSSEINKHANI S, JAVAN M. *Nanomed.-Nanotechnol. Biol. Med.*, 2023, 47: 102609.
- [99] LIU B, QIAO G, HAN Y, SHEN E, ALFRANCA G, TAN H, WANG L, PAN S, MA L, XIONG W, LIU Y, CUI D. *Acta Biomater.*, 2020, 117: 361-373.
- [100] LIU Z, XIE F, XIE J, CHEN J, LI Y, LIN Q, LUO F, YAN J. *Drug Delivery*, 2021, 28(1): 1769-1784.
- [101] HOU G H, QIAN J M, XU W J, SUN T T, WANG J L, WANG Y P, SUO A L. *Colloids Surf., B*, 2019, 181: 602-611.
- [102] HUANG S H, PENG S, WANG Q Y, HU Q H, ZHANG R Q, LIU L, LIU Q, LIN J, ZHOU Q H. *Colloids Surf., B*, 2021, 207: 112014.

- [103] LIU X, LIU J, XU S, LI X, WANG Z, GAO X, TANG B, XU K. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2023, 15(2): 2529-2537.
- [104] YE L, CHEN Y, MAO J, LEI X, YANG Q, CUI C. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2021, 40(1): 303.
- [105] PENG J, WANG R, SUN W, HUANG M, WANG R, LI Y, WANG P, SUN G, XIE S. *Biomater. Sci.*, 2021, 9(19): 6528-6541.
- [106] TANG W, HAN L, LU X, WANG Z, LIU F, LI Y, LIU S, LIU S, TIAN R, LIU J, DING B. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2021, 13(18): 20974-20981.
- [107] ZHANG M, LIN J, JIN J, YU W, QI Y, TAO H. *Front. Pharmacol.*, 2021, 12: 799588.
- [108] CHAKABORTY K, BISWAS A, MISHRA S, MALLICK A M, TRIPATHI A, JAN S, ROY R S. *ACS Appl. Bio Mater.*, 2023, 6(2): 458-472.
- [109] TIAN D, QIN F, ZHAO H, ZHANG C, WANG H, LIU N, AI Y. *Colloids Surf., B*, 2021, 202: 111681.
- [110] VUKOMANOVIC M, CENDRA M D, BAELO A, TORRENTS E. *Colloids Surf., B*, 2021, 208: 112083.
- [111] ZHENG Y K, LIU W W, CHEN Y, LI C M, JIANG H, WANG X M. *J. Colloid Interface Sci.*, 2019, 546: 1-10.
- [112] SANKARI S S, DAHMS H U, TSAI M F, LO Y L, WANG L F. *Colloids Surf., B*, 2021, 208: 112117.
- [113] SHENG G, NI J, XING K, FAN L, DAI T, YU J, DAI X, CHEN R, WU J, LI N, CHEN J, MAO Z, LI L. *Colloid Interface Sci. Commun.*, 2021, 41: 100379.
- [114] XU X Y, DING Y J, HADIANAMREI R, LV S W, YOU R R, PAN F, ZHANG P, WANG N, ZHAO X B. *Colloids Surf., B*, 2022, 220: 112887.
- [115] DONG X, YE J, CHEN Y, TANZIELA T, JIANG H, WANG X. *Chem. Eng. J.*, 2022, 432: 134061.

Applications of Peptide Functionalized Gold Nanoparticles in Bioanalysis and Biomedicine

HU Zhen-Zhen¹, LI Xiao-Tong^{2,3}, LI Xiao-Dong¹, ZHANG Hua², LIU Gui-Feng^{*1},
WANG Zhen-Xin^{*2,3}

¹(Department of Radiology, China-Japan Union Hospital of Jilin University, Changchun 130033, China)

²(State Key Laboratory of Electroanalytical Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry,
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

³(School of Applied Chemistry and Engineering, University of Science and Technology of China,
Hefei 230026, China)

Abstract The functionalization of gold nanoparticle (GNP) surface with specific ligand is helpful to improve the bioanalysis performance of GNP and realize special application of GNP in biomedicine. Because it is easy to integrate various functions including specific biorecognition and therapeutic function into one sequence, peptides become one of the most common ligands for functionalization of GNP. The peptide functionalized GNPs (GNP@peptides) have been extensively used to build biosensing nanoplatfoms with high sensitivity and selectivity for detecting various analytes (such as heavy metal ions, biomarkers, etc.) and novel therapeutic/drug delivery nanosystems with excellent anti-tumor and/or antibacterial capabilities. This review provided an overview of the effect of GNP@peptides on the precision diagnostics and therapy of diseases, and discussed the current challenges and future prospects of GNP@peptide-based biosensing nanoplatfoms and nanomedicines in practical applications.

Keywords Peptide ligand; Gold nanoparticles; Biosensing nanoplatfoms; Nanomedicines; Review

(Received 2022-12-21; accepted 2023-02-14)

Supported by the Jilin Provincial Science and Technology Department (No. 20220203113SF), the National Natural Science Foundation of China (Nos. 52275006, 21974133) and the Wu Jieping Medical Foundation (No. 320.6750.19089-40).