



微纳米复合免疫探针设计及其在肿瘤标志物电化学检测中的应用

张泽[†], 张淑丽[†], 熊其琛, 马占芳^{*}

首都师范大学化学系, 北京 100048

[†]同等贡献

^{*}通讯作者, E-mail: mazhanfang@cnu.edu.cn

收稿日期: 2023-01-01; 接受日期: 2023-02-07; 网络版发表日期: 2023-05-22

国家自然科学基金(编号: 22172104)和北京市教委-北京市自然科学基金联合(编号: KZ202110028042)资助项目

摘要 灵敏检测肿瘤标志物对癌症的早期诊断和预后监测至关重要。电化学免疫传感器因具有灵敏度高、响应快、操作方便、仪器小型化等特点, 被广泛用于检测肿瘤标志物。通过微纳米复合免疫探针的载体材料富集信号物质或触发反应(如催化反应或级联反应), 提升复合免疫探针的功能, 是提高电化学检测性能的有效手段。本文基于微纳米载体材料的特点, 对微纳米复合探针的设计及其在肿瘤标志物电化学免疫检测中的应用取得的进展进行了综述, 并对有待解决的问题进行了展望。

关键词 微纳米载体材料, 复合免疫探针, 电化学传感界面, 肿瘤标志物

1 引言

癌症是一种致死率高的疾病^[1,2], 癌症的及早诊断有利于制定有效的治疗方案, 提高治愈率和生存率^[3]。癌症发生的早期阶段, 其周围组织细胞会分泌少量特异性物质(如细胞代谢产物、DNA、RNA、蛋白质等), 这些物质被称为肿瘤标志物, 它们是癌症早期诊断的重要指标之一^[4,5]。肿瘤标志物通常以痕量水平存在于血清中, 其含量的微小变化与肿瘤的发生与发展密切相关^[6-8]。因此, 肿瘤标志物的灵敏检测对癌症的早期诊断、预后监测和病理研究具有重要意义^[9-11]。

电化学传感器具有灵敏度高、响应快、操作方便、仪器小型化等优点, 因此被广泛用于检测肿瘤标

志物^[12-14]。标记型电化学免疫传感器作为电化学检测的一种常见模式, 可通过合理设计多功能微纳米复合免疫探针改善传感器的检测性能^[15-17]。微纳米复合免疫探针通常由微纳米材料载体和抗体构成。微纳米材料作为复合免疫探针的载体材料通常起三方面作用: 富集信号物质、提供信号来源或具备一定的催化能力。

微纳米复合免疫探针通过与电化学传感基底协同作用, 放大检测电流信号的变化, 改善电化学传感器的性能。常见的信号变化放大策略: (1) 触发催化反应。利用酶或纳米酶催化信号物质快速反应, 增强单位时间内的信号响应; (2) 引发级联反应。基于多个连续反应将信号响应逐级放大; (3) 富集信号物质。提高分析物

引用格式: Zhang Z, Zhang S, Xiong Q, Ma Z. Design of micro-nanocomposite immunoprobes and its application in electrochemical detection of tumor markers. *Sci Sin Chim*, 2023, 53: 1196–1204, doi: 10.1360/SSC-2023-0001

引起信号响应的变化值。

基于上述放大信号变化的策略,可设计出电流信号增强型和衰减型两种检测模式,提升电化学免疫传感器的检测性能。本综述主要从以下5种常见的微纳米载体材料对微纳米复合免疫探针的设计及其在肿瘤标志物电化学免疫检测中的应用进行介绍:碳基微纳米载体材料、聚合物微纳米载体材料、贵金属微纳米载体材料、金属氧化物微纳米载体材料和金属有机框架(MOFs)微纳米载体材料。

2 微纳米复合免疫探针的设计与应用

标记型电化学免疫传感器通常包括电流信号增强型和电流信号衰减型。电流信号增强型传感器是基于微纳米复合探针富集信号物质或触发反应(如级联反应或催化反应)引起信号物质循环利用或生成信号物质,实现电化学传感界面信号响应的增强^[18]。例如,Zhang等^[19]设计了含有苯硼酸的复合免疫探针,消耗一定量的核糖,通过将剩余的核糖转移至氧化铟锡电极(ITO)表面,与银氨溶液反应原位生成信号物质纳米银颗粒(AgNPs)。生成的AgNPs具有强的电流信号响应,实现了对血清样品中小细胞肺癌标志物促胃泌素释放肽前体(proGRP)的超灵敏检测,检出限达到了0.51 zeptomoles/mL。电流信号衰减型传感器是基于微纳米复合探针触发级联反应或催化反应引起信号物质的降解或生成不导电物质,导致信号响应降低^[20]。例如,Zhang等^[21]利用该模式设计了具有Fenton反应能力的 Fe^{3+} -聚多巴胺壳层复合物连接抗体作为复合免疫探针,用于小细胞肺癌标志物神经元特异性烯醇化酶(NSE)的灵敏检测。在 H_2O_2 和苯胺存在下,复合免疫探针触发Fenton反应产生羟基自由基,可降解信号物质亚甲基蓝(MB)分子降低电流,同时引发苯胺聚合生成导电性差的聚苯胺,使电流信号进一步减弱,构建了信号双重衰减型电化学免疫传感器。

除以上两种模式外,通过微纳米复合免疫探针的合理设计,使之具有不同氧化还原特性,可在一个工作窗口同时检测多个肿瘤标志物^[22,23],提高检测效率和准确性;同时也可以采用多个检测模式检测一种标志物,提高检测结果的精确度。下面依据主要的微纳米载体材料的特点介绍微纳米复合免疫探针的设计及其在肿瘤标志物电化学检测中的应用(图1)。

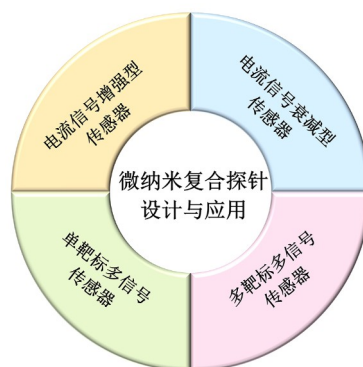


Figure 1 Design and application of micro-nanocomposite immunoproboscopes (color online).

2.1 碳基微纳米载体材料

碳基微纳米材料(如碳球和多壁碳纳米管(MWCNTs)等)具有制备简单和大的比表面积等特点,常被作为设计微纳米复合免疫探针的载体材料^[24-27]。其大的比表面积和强的吸附能力有利于对信号物质的富集或对催化剂的负载,实现对电流信号变化的放大。Wei等^[28]利用碳纳米颗粒(CNPs)负载钯纳米颗粒(PdNPs)实现了金属基质蛋白酶-7(MMP-7)的灵敏检测。以CNPs为载体,在其表面通过微波法原位合成PdNPs,再与抗体结合构成复合免疫探针。PdNPs催化 H_2O_2 引发4-氯-1-萘酚在传感基底上沉积,增加了电极的界面电阻,导致电流信号降低。该方法通过沉积电阻型物质引起传感基底检测电流的显著变化,进而提升了传感器的检测性能。Wang等^[29]利用光诱导电子转移-原子转移自由基聚合反应在修饰有聚多巴胺的MWCNTs表面聚合生成聚甲基丙烯酸缩水甘油酯(PGMA)。PGMA的环氧基团通过开环反应与乙二胺(EDA)反应,其中聚合物链中的氨基和羟基分别为固定信号物质(葱醌-2-羧酸和羧酸二茂铁)和捕获抗体提供了大量结合位点来制备复合免疫探针。以还原氧化石墨烯(rGO)/金纳米颗粒(AuNPs)修饰玻碳电极(GCE)作为工作电极,实现了对癌胚抗原(CEA,检测范围163 fg/mL~163 ng/mL,检出限为56.1 fg/mL)和甲胎蛋白(AFP,检测范围100 fg/mL~100 ng/mL,检出限为32.8 fg/mL)的同时灵敏检测。

基于CNPs和MWCNTs等碳基微纳米材料作为复合免疫探针构建的电化学免疫传感器,在一定程度上

可以通过负载催化剂和富集信号物质来有效提升检测灵敏度和扩大检测范围。但碳基微纳米材料不具备电化学信号响应, 往往需要繁琐的步骤来固定信号物质, 从而影响了传感器的重现性。因此, 需要开发具有氧化还原活性的碳基微纳米复合材料或通过一步法复合碳基材料和信号物质, 为设计高性能的微纳米复合免疫探针提供思路。

2.2 聚合物微纳米载体材料

聚合物微纳米材料(如壳聚糖水凝胶(CHIT)、海藻酸钠水凝胶(SA)、聚多巴胺(PDA)微纳米颗粒以及聚苯胺和聚苯胺衍生物等)具有强包覆能力、大的比表面积和丰富的可修饰官能团, 因此常被用作设计和制备微纳米复合免疫探针的载体材料^[30-33]。Chen等^[34]将CHIT-AuNPs作为载体材料, 用于制备复合免疫探针。其中CHIT富含氨基可共价连接羧基二茂铁(Fc-COOH)和原位沉积普鲁士蓝(PB); AuNPs分别用于连接甲胎蛋白(AFP)抗体(Ab1)和癌胚抗原(CEA)抗体(Ab2), 得到CHIT-PB-AuNPs/Ab1和CHIT-Fc-AuNPs/Ab2两种复合免疫探针, 并用于构建电流信号增强型电化学传感器, 实现了对AFP和CEA的同时检测。

PDA纳米颗粒可由多巴胺单体在碱性条件下自发氧化聚合形成, 因富含氨基, 因此可与金属阳离子配位络合。部分金属阳离子可触发催化反应, 进而增强电化学传感器检测性能^[35-37]。利用PDA具备的这些性质, Zhang等^[38]设计了一种电流信号衰减型电化学传感器用于卵巢癌标志物人附睾蛋白4 (HE4)的灵敏检测。PDA纳米颗粒通过配位作用富集 Cu^{2+} , 并与抗体连接制备复合免疫探针, 进而在试管中进行免疫识别形成免疫三明治结构, 其中的复合免疫探针在酸性条件下, 通过质子与 Cu^{2+} 间的配位竞争反应破坏PDA- Cu^{2+} 配位结构, 导致 Cu^{2+} 被释放。将 Cu^{2+} 加入到二苯丙氨酸与戊二醛交联形成的纳米球悬浮液中。纳米球中的羰基氧和氮原子与 Cu^{2+} 通过配位作用生成具有类漆酶催化活性的纳米链。以聚对苯二酚-氧化石墨烯复合材料作为电极传感基底, 将类漆酶纳米链悬浮液转移至电极表面, 催化降解信号物质聚对苯二酚, 导致电流信号降低, 在1 pg/mL~100 ng/mL范围内实现了对HE4的灵敏检测(检出限为0.302 pg/mL)。

一些染料分子和苯胺衍生物自身具备良好的氧化还原活性可作为信号分子^[39-41]。这些信号分子可通过

氧化聚合反应生成聚合物, 实现信号分子的富集, 因此聚染料以及聚苯胺衍生物也是设计和制备复合免疫探针的热门载体材料之一^[42-45]。Shan等^[46]利用染料和苯胺衍生物单体与氯金酸发生氧化聚合制备出聚亮绿-AuNPs (PBG-AuNPs)、聚*N*-苯基对苯二胺-AuNPs (PPP-AuNPs)、聚甲苯胺蓝-AuNPs (PTBO-AuNPs)和聚间甲酚紫-AuNPs (PMCP-AuNPs)四种信号物质, 并与Cd纳米立方块-AuNPs (CdNCs-AuNPs)联用, 设计出癌胚抗原(CEA)、鳞状细胞癌抗原(SCCA)、细胞角蛋白19片段21-1 (CYFRA21-1)、糖类抗原125 (CA125)和神经元特异性烯醇化酶(NSE) 5种肺癌标志物同时检测的电化学平台(图2)。5种信号物质分别在0.4、0.15、-0.14、-0.5和-0.75 V处出现氧化还原峰, 并在1.0~-1.0 V工作窗口内的电流响应互不干扰。该策略通过同时检测多种标志物(CEA检出限为0.2 ng/mL; NSE检出限为0.9 ng/mL; CYFRA21-1检出限为0.4 ng/mL; CA125检出限为0.9 U/mL; SCCA检出限为30 pg/mL), 有效提高了检测效率和检测的准确性。

此外, 多种信号检测一种标志物, 可以实现不同检测信号相互印证, 因此也是提高检测准确度的有效办法之一。Liu等^[47]利用 Cu^{2+} 的电化学信号、CuS的温敏

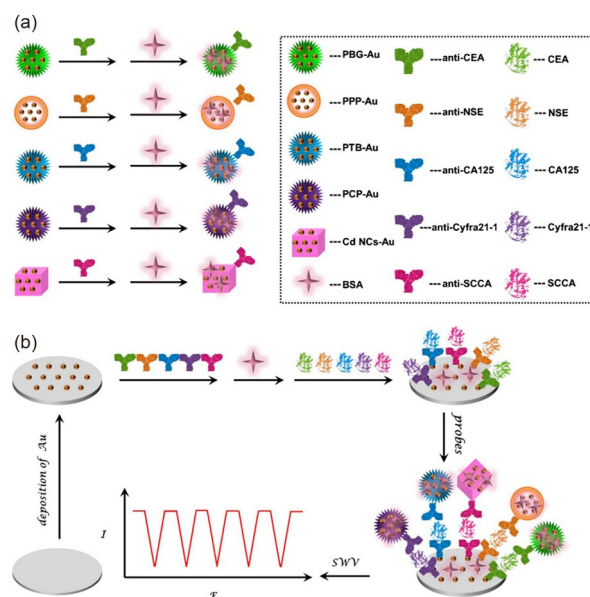


图2 (a) 5种复合免疫探针的制备过程; (b) 多靶标电化学检测平台的构建(网络版彩图)

Figure 2 (a) Preparation of five composite immunoprobes; (b) construction of a multi-target electrochemical detection platform (color online).

信号和稀土上转换颗粒的荧光信号设计了一种电化学、温度和荧光三通道测定急性胰腺炎标志物硫化氢(H_2S)的传感器。在电极表面原位制备负载稀土上转换颗粒($\text{NaYbF}_4\text{:Er@NaLuF}_4$)的Cu-海藻酸钠水凝胶。在 H_2S 存在的情况下, 其与凝胶中的 Cu^{2+} 形成硫化铜(CuS), 降低 Cu^{2+} 的电化学氧化信号; CuS 具有优异的吸收近红外光的温敏性能, $\text{NaYbF}_4\text{:Er@NaLuF}_4$ 具有优异的荧光信号, 因此借助 Cu^{2+} 的电化学信号、 $\text{NaYbF}_4\text{:Er@NaLuF}_4$ 的荧光信号和 CuS 的温敏信号, 实现了 H_2S 的三种信号的同时检测。对急性胰腺炎的检测精度提高到~99.0%, 显著高于单信号(79.5%~94.0%)和双信号(90.5%~94.1%)的检测精度。

基于聚合物微纳米载体材料制备的复合免疫探针, 可以通过自身丰富的官能团固定信号物质、抗体或催化剂, 还可以通过氧化聚合的方式富集自身的信号, 可较大程度地放大检测信号的变化。然而, 聚合反应常伴随副反应, 一定程度上会影响检测的稳定性和重现性, 因此如何在微反应体系下, 精确控制单体、引发剂或氧化剂的量, 减少副反应, 是设计高性能聚合物复合免疫探针有待解决的问题。

2.3 贵金属微纳米载体材料

贵金属微纳米材料(如Pt、Pd、Ag、Au等)具有高导电性、催化性能和大的表面积, 且易通过化学作用或静电作用固定抗体或酶, 同时这些材料通常在较高的电位下才会被氧化或还原, 不会干扰常用信号物质的读出, 因此也是设计和制备微纳米复合免疫探针合适的载体材料^[48-50]。基于AgNPs出色的导电性和强的电流信号, Zhang等^[51]在PDA纳米颗粒表面原位制备AgNPs并连接抗体得到复合免疫探针。以具有强还原性的氧化石墨烯-三聚氰胺复合物修饰电极作为传感基底, 通过免疫识别反应在电极表面构建免疫三明治结构。外加的 H_2O_2 氧化复合免疫探针上的AgNPs生成 Ag^+ , 随后生成的 Ag^+ 被传感基底吸附并被还原成具有强电流信号的AgNPs。AgNPs从免疫探针转移至传感基底加速了界面电子的转移, 显著提升了传感器对胰腺癌标志物糖类抗原19-9 (CA19-9)的检测灵敏度(0.0001~100 U/mL), 检出限为0.032 mU/mL。

多金属纳米颗粒或纳米团簇比单金属微纳米材料具有更高的催化活性^[52-54], 已被广泛用于免疫传感器, 为生物分子的高灵敏度检测开辟了新的视野。基于这

一性质, Zhang等^[55]制备了具有高催化活性的PtCu双金属纳米颗粒, 作为载体修饰抗体得到复合免疫探针(图3)。该复合免疫探针的PtCu触发碘响应发生级联反应催化 I^- 生成 I_2 , 剩余的 I^- 作为催化剂进一步催化电极传感基底上固定的巯基DNA和6-巯基己醇氧化生成二硫化物, 进而从电极表面脱落。由于巯基DNA和封闭剂6-巯基己醇的导电性较差, 它们的脱落改善了电化学传感基底的导电性, 有利于电解液中信号物质 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 与传感界面的之间的电子转移, 进而增强了电流信号。该方案通过PtCu催化剂与碘离子响应的电化学传感基底协同作用, 成功用于灵敏检测小细胞肺癌的肿瘤标志物神经元特异性烯醇化酶(NSE), 检测范围为0.0001~100 ng/mL, 检出限为52.14 fg/mL。

贵金属微纳米材料无论是作为载体还是类酶催化材料在电化学免疫传感中都有着广泛的应用, 其出色的导电性和催化性能可改善传感界面信号变化的敏感性, 有效地提升免疫检测的灵敏度。但贵金属微纳米材料通常成本较高, 因此开发具有良好催化性能的非贵金属的微纳米材料是设计高性能复合免疫探针的有效路径。

2.4 金属氧化物微纳米载体材料

金属氧化物微纳米颗粒具有较大的比表面积、良好的稳定性和催化性能, 因此常被用作载体材料制备微纳米复合免疫探针^[56,57]。Ma等^[58]制备了中空的

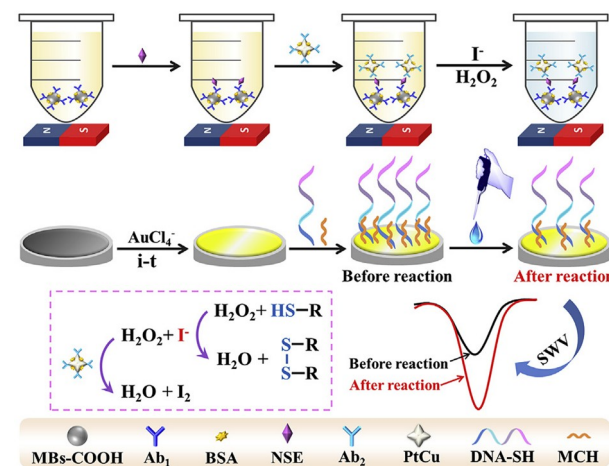


图3 基于PtCu微纳米复合免疫探针的催化性和传感界面的碘离子响应构建电化学免疫传感器(网络版彩图)

Figure 3 Constructing electrochemical immunosensors based on the catalytic properties of PtCu micro-nanocomposite immunoprobes and the iodine ion response of the sensing interface (color online).

Cu_2O 纳米颗粒, 利用其大比表面积富集信号物质和其催化活性触发催化反应, 实现双重信号放大, 提高传感器对前列腺抗原(PSA)的检测性能. 具有中空结构的 Cu_2O 微纳米材料通过结合硅氧烷试剂偶联信号物质羧酸二茂铁(Fc-COOH); 同时 Cu_2O 对 Fc-COOH 的氧化和 H_2O_2 的还原具有良好的催化活性, 在 H_2O_2 存在下 Cu_2O 催化 Fc-COOH 氧化为 Fc^+-COOH , 而 Fc^+-COOH 又从施加了还原电位的电极界面上得电子被还原成 Fc-COOH , 实现了信号物质 Fc-COOH 的循环利用和检测信号的放大.

此外, 一些金属氧化物还具备磁性和光热转化等特性, 有利于设计多种性能协同响应的复合免疫探针^[59,60]. Wei等^[61]以表面负载聚多巴胺(PDA)壳层的四氧化三铁纳米材料(Fe_3O_4)为载体材料, 设计制备了多功能微纳米复合免疫探针($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}/\text{Ab}$). 该复合免疫探针具有类过氧化物酶催化活性和光热转化双重功能, 即复合免疫探针催化 H_2O_2 分解产生羟基自由基降解传感基底(亚甲基蓝-金-还原氧化石墨烯)上的信号物质亚甲基蓝, 导致电流信号降低; 同时 Fe_3O_4 吸收近红外光转化为热量, 使复合免疫探针周围的温度升高, 提升催化反应效率(图4). 该工作基于 Fe_3O_4 微纳米材料光热性能和催化性能的协同作用, 用于灵敏检测肿瘤标志物鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA), 检测范围为 $0.1 \text{ pg/mL} \sim 1 \text{ } \mu\text{g/mL}$, 检出限为 120.2 fg/mL .

金属氧化物微纳米材料具有良好的催化性和稳定性, 对复合免疫探针的制备和电化学免疫传感器的构建具有重要意义. 同时, 一些金属氧化物材料自身的

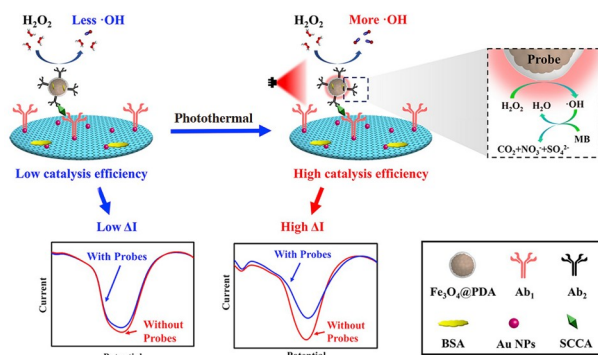


图4 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}/\text{Ab}$ 复合免疫探针提高免疫传感界面催化效率示意图(网络版彩图)

Figure 4 Schematic illustration of the $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}/\text{Ab}$ composite immunoprobe to improve the catalytic efficiency of the immunosensing interface (color online).

特性也丰富了信号放大策略的多样性. 然而, 金属氧化物往往导电性较差, 并且金属元素通常存在多种价态, 会产生多个峰位置相近的电化学信号, 存在互相干扰从而影响检测结果的可能性, 因此需要筛选适宜的金属氧化物微纳米材料作为载体材料.

2.5 金属有机框架微纳米载体材料

金属有机框架材料(MOFs)作为一种新型的多孔材料, 具有高结晶度和高孔隙度的三维网状结构^[62,63]. 丰富的金属阳离子或团簇和各种结构的有机配体的选择, 赋予了MOFs更丰富的可设计性和多样性. MOFs一般分为类沸石咪唑骨架材料(ZIFs)、孔-通道式骨架材料(PCNs)、莱瓦希尔骨架材料(MILs)以及网状金属有机骨架材料(IRMOFs)等. 基于其结构的可设计性、多样性、大的比表面积和高孔隙率等优点, MOFs被广泛作为复合免疫探针载体材料用于电化学免疫传感器^[64,65].

MOFs的多孔结构有利于包覆生物酶, 并利用其自身的刚性结构为生物酶提供保护作用^[66-68]. 基于该思路, Zheng等^[69]通过一步法制备了包覆葡萄糖氧化酶(GOx)和信号物质亚甲基蓝(MB)的ZIF-8纳米复合材料(MB-GOx-ZIF-8), 并通过静电作用将其与Au-rGO纳米片结合作为免疫探针载体材料, 然后与抗体结合制备复合免疫探针(图5). 以聚氨基苯硼酸(PABA)/Au-rGO复合材料修饰电极, 利用PABA含有的苯硼酸(PBA)基团与聚乙烯醇(PVA)链中1,2-或1,3-二醇络合固定PVA, 形成PABA-PVA/Au-rGO电极传感基底. 在电极表面上构建免疫三明治结构. 复合免疫探针中的GOx催化外加的葡萄糖氧化生成 H_2O_2 诱导基底上的PABA/PVA薄膜分解, 使得导电性较差的PVA脱离电极表面, 增强传感界面导电性, 进而增强电化学信号. 该工作基于酶催化反应有效放大了电极表面的信号变化, 实现了对结肠癌标志物糖类抗原(CA 242)的灵敏检测, 检测范围为 $0.001 \sim 1000 \text{ U/mL}$, 检出限为 $69.34 \text{ } \mu\text{U/mL}$.

MOFs在使用过程中存在这样的问题: MOFs制备使用的有机配体通常具有疏水性, 使MOFs也具有一定的疏水性, 这种疏水性会影响亲水的反应底物向MOFs内部扩散与包裹的催化剂^[70]或者生物酶^[71]接触, 降低催化效率^[72,73], 从而影响MOFs在电化学免疫传感中的应用. 为解决这一问题, 基于多金属氧酸盐(POM)出色的亲水性和催化能力^[74], Xu等^[75]提出了一种简单

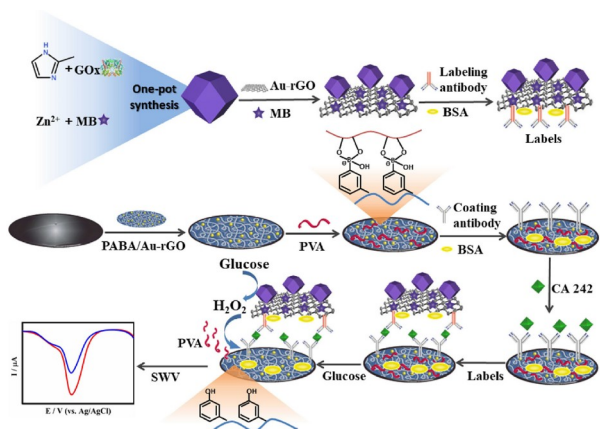


图5 基于多功能化ZIFs纳米复合免疫探针灵敏检测CA 242 (网络版彩图)

Figure 5 Sensitive detection of CA 242 based on a multifunctional ZIFs nanocomposite immunoprobe (color online).

的改善MOFs亲水性的方法(图6), 并用于制备复合免疫探针^[76]. 包裹黄嘌呤氧化酶(XOD)和信号物质硫堇的ZIF-8材料通过空间限域作用固定POM, 使得ZIF-8孔道具有亲水性(图7), 有利于底物次黄嘌呤分子在ZIF-8孔道内扩散, 提高催化效率. 利用该方法设计出的ZIF-8作为载体的高亲水复合免疫探针, 可用于肿瘤标志物细胞角蛋白19片段21-1 (CYFRA21-1)的电化学检测. 在底物次黄嘌呤存在下, ZIF-8包裹的XOD催化其生成 H_2O_2 , POM介导 H_2O_2 级联放大信号物质硫堇的电化学信号, 实现了电化学信号的多重级联放大. 该工作作为设计基于MOFs的超亲水复合免疫探针提供了一种简便的方法.

MOFs材料除了作为载体包覆信号物质^[77,78]或生物酶^[79]实现信号变化的放大, 还可以通过合理设计使其自身具备催化性能^[80,81], 通过触发催化反应提升传感器性能. 基于此, Feng等^[82]设计制备了具有类过氧化物酶活性的Fe-MIL-88B-NH₂ (Fe-MOF)作为载体材料, 通过原位还原氯金酸生成AuNPs用于固定抗体制备复合免疫探针(Ab/AuNPs/Fe-MOF). 滴涂有信号物质亚甲基蓝(MB)的电极被覆盖一层还原氧化石墨烯-金复合材料(Au-rGO)作为传感基底. 在 H_2O_2 参与下, Fe-MOF诱导发生芬顿反应生成羟基自由基降解基底上的信号物质MB, 导致电流信号降低. 基于Fe-MOF的催化性能有效实现了对前列腺癌标志物PSA的灵敏检测(检出限为0.13 pg/mL).

基于MOFs制备复合免疫探针构建的电化学免疫

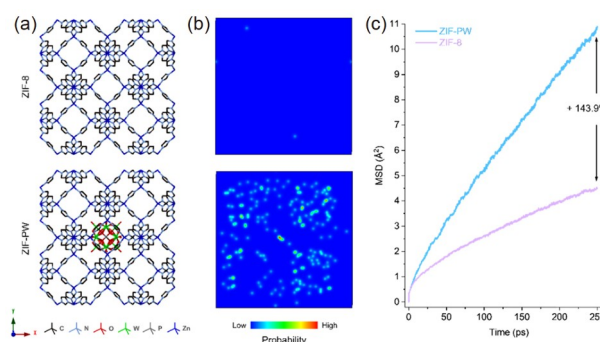


图6 ZIF-8 (上)和ZIF-PW (下)的晶体结构(a)和水分子分布的概率(b). (c) ZIF-8和ZIF-PW内部水分子的模拟均方位移(MSD). 磷钨酸盐(PW)是典型的POM之一, 并与ZIF-8孔道大小相匹配(网络版彩图)

Figure 6 Crystal structure (a) and the probability of water distribution (b) in ZIF-8 (top) and ZIF-PW (bottom). (c) Simulated mean square displacement (MSD) of water intrusion in ZIF-8 and ZIF-PW. Phosphotungstate (PW) is one of the most typical polymetallic oxygenates and is highly matched to the ZIF-8 pore size (color online).

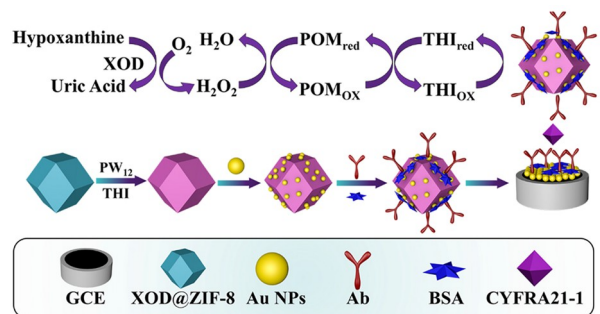


图7 POM修饰的MOFs亲水复合免疫探针触发级联反应应用于CYFRA21-1的灵敏检测(网络版彩图)

Figure 7 POM-modified hydrophilic composite immunoprobes of MOFs trigger cascade reactions for the sensitive detection of CYFRA21-1 (color online).

传感器, 可通过MOFs的多孔结构和大比表面积包覆生物酶或富集信号物质, 还可通过设计制备自身具备催化性能的MOFs引发级联或催化反应放大信号变化, 提升传感器的性能. 然而, MOFs具有的性能较为单一, 通常需要繁琐的步骤来改善. 因此, 如何设计具有多种功能的MOFs材料, 如利用亲水的有机配体一步法制备亲水MOFs, 并通过引入缺陷位点使其具备催化活性, 是设计高性能微纳米复合免疫探针的有效途径.

3 总结与展望

癌症的早期筛查和诊断对降低癌症死亡率起着关

键作用。以复合免疫探针和电化学传感基底协同使用的标记型电化学免疫传感器由于其出色的性能、简便的操作和低廉的成本而成为肿瘤标志物检测平台,并在临床研究乃至更广泛的研究领域中具有良好应用潜能。

尽管许多微纳米材料已经用于制备多功能复合免疫探针来检测肿瘤标志物,但仍然存在一些问题有待解决: (1) 通常提供电化学信号的染料分子、重金属或重金属离子对环境不够友好,因此需要设计环境友好的新型信号物质用于制备高性能复合免疫探针; (2)

生物检测通常需在血清等复杂样品中进行,如何降低非特异性吸附造成的干扰,提高检测的准确性是设计微纳米复合免疫探针亟待解决的问题; (3) 复合免疫探针中的抗体活性易受环境变化的影响,进而影响电化学检测的稳定性,因此需要设计简便且快速的方案制备复合免疫探针和构建电化学免疫传感器来减少对抗体活性的影响。未来,复合免疫探针的设计需要不断完善,满足临床对肿瘤标志物的快速、特异和灵敏检测尤其对于更便捷、响应更快速的即时检测(point-of-care, POC)的需求。

参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71: 7–33
- 2 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71: 209–249
- 3 Tran TT, Gunathilake M, Lee J, Kim J. *Cancer*, 2021, 128: 1230–1241
- 4 Wang D, Chai Y, Yuan Y, Yuan R. *Anal Chem*, 2017, 89: 8951–8956
- 5 Li Y, Chang Y, Yuan R, Chai Y. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 25213–25218
- 6 Tavallaie R, McCarroll J, Le Grand M, Ariotti N, Schuhmann W, Bakker E, Tilley RD, Hibbert DB, Kavallaris M, Gooding JJ. *Nat Nanotech*, 2018, 13: 1066–1071
- 7 Tang Z, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2017, 98: 100–112
- 8 Meng X, Xu Y, Zhang N, Ma B, Ma Z, Han H. *Sens Actuat B-Chem*, 2021, 338: 129840
- 9 Yu S, Zou G, Wei Q. *Talanta*, 2016, 156–157: 11–17
- 10 Kou B, Chai Y, Yuan Y, Yuan R. *Anal Chem*, 2018, 90: 10701–10706
- 11 Wang D, Chai Y, Yuan Y, Yuan R. *Anal Chem*, 2020, 92: 14197–14202
- 12 Tang Z, Fu Y, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2017, 91: 299–305
- 13 Li Y, Khan MS, Tian L, Liu L, Hu L, Fan D, Cao W, Wei Q. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409: 3245–3251
- 14 Mu Z, Jiao L, Wei Q, Li H. *RSC Adv*, 2016, 6: 42994–42999
- 15 Ma N, Zhang T, Fan D, Kuang X, Ali A, Wu D, Wei Q. *Sens Actuat B-Chem*, 2019, 297: 126821
- 16 Liang X, Zhao J, Ma Z. *Sens Actuat B-Chem*, 2020, 304: 127278
- 17 Wang F, Xu Y, Han H, Ma Z. *Microchim Acta*, 2021, 188: 389
- 18 Zhang D, Li W, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2018, 109: 171–176
- 19 Zhang Z, Yao T, Han H, Ma Z. *Anal Chem*, 2022, 94: 16231–16236
- 20 Zhao L, Yin S, Ma Z. *ACS Sens*, 2019, 4: 450–455
- 21 Zhang C, Zhang N, Xu Y, Feng J, Yao T, Wang F, Ma Z, Han H. *Biosens Bioelectron*, 2021, 178: 113009
- 22 Ma Z, Liu N. *Expert Rev Mol Diagnostics*, 2015, 15: 1075–1083
- 23 Liu N, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2014, 51: 184–190
- 24 Liu N, Liu Z, Han H, Ma Z. *J Mater Chem B*, 2014, 2: 3292
- 25 Xu T, Ma J, Ma Z. *New J Chem*, 2015, 39: 1006–1012
- 26 Zhang D, Li W, Wang H, Ma Z. *Sens Actuat B-Chem*, 2018, 258: 141–147
- 27 Chen X, Jia X, Han J, Ma J, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2013, 50: 356–361
- 28 Wei Z, Wang H, Ma Z, Han H. *Nanoscale Res Lett*, 2018, 13: 375
- 29 Wang N, Zhao X, Chen H, Bai L, Xu H, Wang W, Yang H, Wei D, Yang L. *React Funct Polym*, 2020, 154: 104632
- 30 Tang Z, Fu Y, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2017, 94: 394–399
- 31 Yin S, Ma Z. *Expert Rev Mol Diag*, 2018, 18: 457–465

- 32 Rong Q, Feng F, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2016, 75: 148–154
- 33 Wang Z, Chen X, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2014, 61: 562–568
- 34 Chen X, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2014, 55: 343–349
- 35 Zheng Y, Zhao L, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2018, 115: 30–36
- 36 Ju KY, Lee Y, Lee S, Park SB, Lee JK. *Biomacromolecules*, 2011, 12: 625–632
- 37 Yin S, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2019, 140: 111355
- 38 Zhang Z, Xu Y, Ma B, Ma Z, Han H. *Talanta*, 2021, 235: 122736
- 39 Shan J, Wang L, Ma Z. *Sens Actuat B-Chem*, 2016, 237: 666–671
- 40 Wang L, Liu N, Ma Z. *J Mater Chem B*, 2015, 3: 2867–2872
- 41 Wang L, Shan J, Feng F, Ma Z. *Anal Chim Acta*, 2016, 911: 108–113
- 42 Zhao L, Han H, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2018, 101: 304–310
- 43 Shan J, Ma Z. *Microchim Acta*, 2017, 184: 969–979
- 44 Liu Z, Rong Q, Ma Z, Han H. *Biosens Bioelectron*, 2015, 65: 307–313
- 45 Wang L, Feng F, Ma Z. *Sci Rep*, 2015, 5: 16855
- 46 Shan J, Ma Z. *Microchim Acta*, 2016, 183: 2889–2897
- 47 Liu Y, Wei Z, Zhou J, Ma Z. *Nat Commun*, 2019, 10: 5361
- 48 Shi YC, Wang AJ, Yuan PX, Zhang L, Luo X, Feng JJ. *Biosens Bioelectron*, 2018, 111: 47–51
- 49 Cui R, Liu C, Shen J, Gao D, Zhu JJ, Chen HY. *Adv Funct Mater*, 2008, 18: 2197–2204
- 50 John A, Benny L, Cherian AR, Narahari SY, Varghese A, Hegde G. *J Nanostruct Chem*, 2021, 11: 1–31
- 51 Zhang N, Zhang D, Chu C, Ma Z. *Anal Chim Acta*, 2020, 1093: 43–51
- 52 Pietrzak M, Ivanova P. *Sens Actuat B-Chem*, 2021, 336: 129736
- 53 Gholinejad M, Khosravi F, Afrasi M, Sansano JM, Nájera C. *Catal Sci Technol*, 2021, 11: 2652–2702
- 54 Chen Y, Wang AJ, Yuan PX, Luo X, Xue Y, Feng JJ. *Biosens Bioelectron*, 2019, 132: 294–301
- 55 Zhang C, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2019, 143: 111612
- 56 Li W, Yang Y, Ma C, Song Y, Hong C, Qiao X. *J Mater Sci*, 2020, 55: 13980–13994
- 57 Ma C, Zhao C, Zhang L, Li W, Song Y, Chen S, Hong C, Qi Y. *ACS Sustain Chem Eng*, 2021, 9: 13788–13797
- 58 Ma H, Li Y, Wang Y, Hu L, Zhang Y, Fan D, Yan T, Wei Q. *Biosens Bioelectron*, 2016, 78: 167–173
- 59 Yin S, Ma Z. *Sens Actuat B-Chem*, 2019, 281: 857–863
- 60 Fabiani L, Saroglia M, Galatà G, De Santis R, Fillo S, Luca V, Faggioni G, D'Amore N, Regalbuto E, Salvatori P, Terova G, Moscone D, Lista F, Arduini F. *Biosens Bioelectron*, 2021, 171: 112686
- 61 Wei Z, Liu Y, Ma Z, Han H. *Biosens Bioelectron*, 2020, 150: 111951
- 62 He T, Kong XJ, Li JR. *Acc Chem Res*, 2021, 54: 3083–3094
- 63 Hu ML, Masoomi MY, Morsali A. *Coord Chem Rev*, 2019, 387: 415–435
- 64 Feng J, Yao T, Chu C, Ma Z, Han H. *J Colloid Interface Sci*, 2022, 608: 2050–2057
- 65 Xu Y, Zheng Y, Ma Z. *Sens Actuat B-Chem*, 2020, 307: 127647
- 66 Zheng Y, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2019, 129: 42–49
- 67 Liang K, Ricco R, Doherty CM, Styles MJ, Bell S, Kirby N, Mudie S, Haylock D, Hill AJ, Doonan CJ, Falcaro P. *Nat Commun*, 2015, 6: 7240
- 68 Hu Y, Dai L, Liu D, Du W, Wang Y. *Renew Sustain Energy Rev*, 2018, 91: 793–801
- 69 Zhang C, Zhang D, Ma Z, Han H. *Biosens Bioelectron*, 2019, 137: 1–7
- 70 Wang H, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2020, 169: 112644
- 71 Zhang Z, Xu Y, Zhang Y, Ma B, Ma Z, Han H. *Sens Actuat B-Chem*, 2022, 364: 131844
- 72 Liang W, Xu H, Carraro F, Maddigan NK, Li Q, Bell SG, Huang DM, Tarzia A, Solomon MB, Amenitsch H, Vaccari L, Sumby CJ, Falcaro P, Doonan CJ. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 2348–2355
- 73 Li YM, Yuan J, Ren H, Ji CY, Tao Y, Wu Y, Chou LY, Zhang YB, Cheng L. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 15378–15390
- 74 Samaniyan M, Mirzaei M, Khajavian R, Eshtiagh-Hosseini H, Streb C. *ACS Catal*, 2019, 9: 10174–10191
- 75 Xu Y, Liu Y, Han H, Ma Z. *Chem Mater*, 2022, 34: 4242–4247

- 76 Xu Y, Wang F, Zheng Y, Feng J, Zhang Z, Han H, Ma Z. *Sens Actuat B-Chem*, 2022, 372: 132625
- 77 Feng J, Chu C, Dang K, Yao T, Ma Z, Han H. *Anal Chim Acta*, 2021, 1187: 339170
- 78 Feng J, Liang X, Ma Z. *Biosens Bioelectron*, 2021, 175: 112853
- 79 Yao T, Feng J, Chu C, Ma Z, Han H. *Sens Actuat B-Chem*, 2021, 348: 130701
- 80 Ma B, Yao T, Meng X, Xu Y, Ma Z, Han H. *ACS Sustain Chem Eng*, 2022, 10: 12041–12047
- 81 Liang H, Chen C, Zeng J, Zhou M, Wang L, Ning G, Duan Q, Han R, Liu H, Zhao H, Li CP. *ACS Appl Nano Mater*, 2022, 5: 16774–16783
- 82 Feng J, Wang H, Ma Z. *Microchim Acta*, 2020, 187: 95

Design of micro-nanocomposite immunoprobes and its application in electrochemical detection of tumor markers

Ze Zhang[†], Shuli Zhang[†], Qichen Xiong, Zhanfang Ma^{*}

Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100048, China

[†]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author (e-mail: mazhanfang@cnu.edu.cn)

Abstract: Sensitive detection of tumor markers is essential for the early diagnosis and prognostic monitoring of cancer. Electrochemical immunosensors are widely used for the detection of tumor markers due to their high sensitivity, rapid response, ease of operation and miniaturization of the instrument. The carrier material of micro-nanocomposite immunoprobe enhances its function by enriching signal substance or triggering reaction (*e.g.*, catalytic reaction or cascade reaction), which is effective means to improve the performance of electrochemical detection. Based on the characteristics of micro-nanocarrier materials, this article reviews the progress made in the design of micro-nanocomposite immunoprobes and their application in the electrochemical immunoassay for tumor markers, and provides an outlook on the problems to be solved.

Keywords: micro-nanocarrier materials, composite immunoprobes, electrochemical sensing interfaces, tumor marker

doi: [10.1360/SSC-2023-0001](https://doi.org/10.1360/SSC-2023-0001)