

四氧化三铁纳米颗粒过氧化物酶样活性的应用

罗成^①, 李艳^①, 龙建纲^{②*}

① 宜春学院医学院, 宜春 336000;

② 西安交通大学生命科学与技术学院, 线粒体生物医学研究所, 教育部生物医学与信息工程重点实验室, 西安 710049

* 联系人, E-mail: jglong@mail.xjtu.edu.cn

2015-07-08 收稿, 2015-08-18 接受, 2015-10-16 网络版发表

中央高校基本科研业务费专项(08143008, 08143101)和国家重点基础研究发展计划(2015CB856302)资助

摘要 除具有独特的超顺磁性外, 四氧化三铁纳米颗粒(IONPs)还具有过氧化物酶样活性, 能催化过氧化氢(H_2O_2)氧化底物(如邻苯二胺、鲁米诺、有机染料等)产生化学发光、颜色或荧光性质变化等. IONPs具有和天然过氧化物酶类似的最适反应条件, 但是其能够在较宽的酸碱环境、温度范围以及抑制剂存在条件下保持较高的催化效率, 且催化活性可以通过颗粒大小、结构、组成以及表面修饰等进行调节. 本文首先简要介绍IONPs过氧化物酶样活性的影响因素, 然后根据作用机制分类介绍其在各个领域的应用研究进展, 包括: (1) 替代过氧化物酶用于免疫印迹分析; (2) IONPs体内分布示踪; (3) H_2O_2 浓度测定, 涵盖消耗 H_2O_2 的物质和能够转化为 H_2O_2 的物质测定; (4) 催化反应抑制剂或保护剂的测定; (5) 催化 H_2O_2 产生强氧化性羟自由基, 应用在包括有机污染物降解、病原微生物防治以及肿瘤治疗等领域. 鉴于IONPs在生物医学领域的广泛应用, 本文最后对如何深入开发IONPs过氧化物酶样活性在生物体内的应用, 并且防范相应风险进行了探讨和展望.

关键词

四氧化三铁
过氧化物酶
免疫检测
葡萄糖
过氧化氢
有机污染物

四氧化三铁纳米颗粒(IONPs)具有独特的超顺磁性, 被广泛应用于污水处理、分析检测、生物大分子及细胞分离、药物靶向运输及可控释放、肿瘤磁热治疗、磁共振成像等领域^[1-5]. 2007年中国科学院生物物理研究所阎锡蕴教授课题组^[6]发现IONPs能够模拟辣根过氧化物酶(HRP)活性, 催化过氧化氢(H_2O_2)氧化底物(3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、二氨基联苯胺(DAB)、邻苯二胺(OPD))产生颜色变化. 其催化活性与HRP类似, 依赖于 H_2O_2 浓度、pH和反应温度, 催化过程符合米氏动力学以及乒乓反应机制, 因此能够替代HRP应用在酶联免疫吸附分析(ELISA). 随后, 针对IONPs催化活性的研究如雨后春笋般涌现, 涵盖了包括环境保护、食品安全、生物医学等多个领域^[7-21].

1 特征及优化

表面未经修饰的IONPs催化TMB- H_2O_2 反应具有

以下特征: 最适反应条件为pH 3.5, 40℃; 低浓度 H_2O_2 促进酶样活性, 高浓度 H_2O_2 抑制酶样活性; 催化过程符合米氏动力学以及乒乓反应机制; IONPs催化活性源于纳米颗粒表面的 Fe^{2+} ; 颗粒越小, 比表面积越大, 单位质量纳米颗粒催化活性位点越多, 催化活性更高; 表面修饰基团的包被厚度会影响IONPs与底物的相互作用^[6].

IONPs在较宽pH(1~12)或者温度(4~90℃)的环境中孵育2 h后仍然保持良好的催化活性, 而HRP在pH低于5或者温度高于40℃的环境中孵育2 h后完全丧失了催化活性^[6]. 叠氮钠是生物样品防腐抑菌的重要添加剂. 0.02%叠氮钠的存在抑制了HRP 99%催化活性, 而IONPs在该环境下能够保持93%催化活性. 即使叠氮钠浓度增加4倍, IONPs催化活性仍能维持在54%~82%水平^[22]. IONPs催化活性对环境的强耐受性有望拓展其在分析领域特别是HRP使用受限环境中

引用格式: 罗成, 李艳, 龙建纲. 四氧化三铁纳米颗粒过氧化物酶样活性的应用. 科学通报, 2015, 60: 3478-3488

Luo C, Li Y, Long J G. Applications of iron oxide nanoparticles as peroxidase mimetics (in Chinese). Chin Sci Bull, 2015, 60: 3478-3488, doi: 10.1360/N972015-00777

的应用。

过氧化物酶催化反应遵循米氏动力学, 米氏常数 K_m 值大小表征酶与底物之间亲和力的大小, K_m 值高则酶对底物的亲和力低。IONPs具有类似HRP的催化功能, 但是其对底物 H_2O_2 的 K_m 值却远高于HRP, 表明其对 H_2O_2 的亲和力较低^[6], 催化反应需要较高浓度的 H_2O_2 。提高IONPs对 H_2O_2 及其他底物的亲和力, 可以增强IONPs的催化活性, 促进其过氧化物酶样活性的应用。通过对IONPs纳米颗粒表面进行修饰, 改变表面电荷类型及大小, 有望增强IONPs与底物之间的静电相互作用, 进而增强IONPs的催化活性。

喻发全等人^[22]考察了表面电荷以及表面包被厚度等因素对IONPs酶样活性的影响。2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)含有2个磺酸基, 而TMB含有2个氨基。由于静电相互作用, 纳米颗粒表面电荷会影响对这2种底物的亲和力, 进而影响催化效率。肝素修饰的IONPs表面负电荷最强, 催化TMB效率也最高; 聚乙烯胺修饰的IONPs表面正电荷最强, 催化ABTS效率也最高。刘艳萍和喻发全^[23]发现氨基修饰增强了IONPs对ABTS的亲和力, 而巯基修饰增强了IONPs对 H_2O_2 的亲和力。在IONPs表面共同修饰氨基与巯基, 将同时增强IONPs对ABTS和 H_2O_2 的亲和力, 提高IONPs的催化活性, 有利于分析测定极微量 H_2O_2 以及其他能够转换为 H_2O_2 的物质。卟啉能够加速电子在IONPs和底物之间传递而促进底物氧化, 故卟啉功能化能够增强IONPs过氧化物酶样活性^[24]。

不同形状的IONPs具有不同的比表面积和裸露晶面, 导致表面催化活性铁原子的数量不同, 因而会导致不同的催化活性。Nath等人^[25]制备了右旋糖酐修饰的IONPs, 其对底物TMB的亲和力比未经修饰的IONPs强300倍。Liu等人^[26]考察了不同形状IONPs的过氧化物酶样活性, 发现催化活性强弱顺序依次为团簇>三角片>八面体。

除IONPs外, 大量纳米材料也具有过氧化物酶样活性, 将这些材料与IONPs组合制备复合材料, 可能会起到协同增强模拟酶活性的作用^[27-31]。

2 应用

IONPs过氧化物酶样活性催化机理可能是: H_2O_2 以及底物(如TMB, ABTS等)吸附在IONPs表面;

IONPs表面的 Fe^{2+}/Fe^{3+} 催化 H_2O_2 分解为羟自由基; IONPs通过部分电子交换作用稳定羟自由基; 羟自由基氧化底物发生颜色变化, 生成荧光产物, 或者化学发光等^[12,24,32,33]。充分利用催化机理及反应条件的可调节性, IONPs在环境保护、食品安全、生物研究、临床诊断治疗等领域具有广泛应用, 如免疫测定^[6,10,27,34-40]、分析物浓度检测^[8,11,13-19,21-24,28,29,31,41-50]、清除污染物^[7,9,12,30,32,33,51-56]、抑制细菌^[57,58]以及肿瘤治疗^[57]等。

2.1 免疫检测中作为HRP的替代物

HRP能够催化显色反应, 表面的赖氨酸残基可以与多种分子进行交联, 因此被广泛应用于免疫化学领域如蛋白质免疫印迹(western blot)、ELISA、免疫组化(IHC)等。然而HRP的应用存在一定限制, 如长期储存容易失活, HRP-分子交联物的生产和纯化费用较高等。IONPs具有过氧化物酶活性, 且和天然HRP相比具有以下优点: 生产方法简便, 成本低廉, 对恶劣环境抵抗力强易于保存, 具有磁性, 容易回收重复使用以及单分子催化活性更高等。因此, IONPs可以作为HRP的替代物应用在免疫化学领域, 有望降低分析成本, 提高分析系统稳定性。

多种表面修饰方法被用于拓展IONPs在免疫检测中的应用^[10,34-36]。右旋糖酐修饰改善了IONPs生物相容性, 促进其替代HRP应用在ELISA中, 实现了对乙肝病毒表面抗原以及心肌梗死标志物心肌肌钙蛋白I的检测^[6]。壳聚糖修饰使IONPs具有如下优点: 在水溶液中易于分散; 表面大量氨基基团易于交联抗体; 高饱和磁化强度有利于捕获、分离以及富集抗原, 外源磁场去除后团聚体可以重新分散在溶液中, 因而成功应用于抗原的捕获及免疫检测^[34]。Wu等人^[35]在IONPs表面修饰二巯基丁二酸并将其应用于IHC检测。

IONPs催化活性源于并限于颗粒表面的铁原子(Fe^{2+} , Fe^{3+}), 如果与其他具有过氧化物酶样活性的材料结合制备复合纳米材料, 将拓展催化活性的来源, 提高单纯IONPs催化效率, 扩展其在免疫检测中的应用^[27,37-39]。转铁蛋白受体1(TfR1)在肿瘤组织广泛表达, 并与肿瘤恶化程度成正相关性, 是肿瘤治疗诊断的常用定位标记物。类似于TfR1抗体以及天然铁蛋白, 铁蛋白重链(HFn)能够通过配体/受体作用识别并结合TfR1。如果预先将显色物质与HFn交联, 利用

HFn靶向TfR1的特点能够可视化识别肿瘤组织. HFn内部具有空腔结构, 利用该空腔作为微型反应器可以原位生成IONPs, 得到外直径为12~16 nm的核/壳结构(M-HFn纳米颗粒). 和天然铁蛋白及去铁铁蛋白相比, M-HFn纳米颗粒表现出增强的过氧化物酶活性. M-HFn纳米颗粒的肿瘤靶向性以及过氧化物酶样活性使其能够用于肿瘤组织切片染色^[40]. 研究表明, 227例正常组织样本中只有11例有轻微染色, 而274例肿瘤样本(包括肝癌、肺癌、结肠癌、宫颈癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、胸腺癌、食管癌)全部显示深度染色, 且肿瘤细胞与周边正常细胞的分界区能够清晰辨别. 与异硫氰酸荧光素(FITC)标记HFn荧光染色和基于TfR1抗体的传统免疫组化染色相比, M-HFn纳米颗粒染色方法具有诸多优点: (1) 不受荧光漂白和自发荧光的干扰; (2) 与苏木精/伊红染色兼容, 可以提供更详细的组织病理学信息; (3) 精确性、灵敏度以及特异性高, 能够清晰区分肿瘤组织与周边正常组织; (4) 操作简单, 耗时短且重复性高; (5) M-HFn纳米颗粒制备简单, 成本低. 因此M-HFn纳米颗粒染色方法在快速及低成本诊断细胞癌变方面具有极大潜力.

2.2 IONPs体内分布检测

定量分析IONPs体内分布及代谢有助于了解其体内行为, 加速IONPs作为诊断、治疗以及诊疗一体化试剂在生物医学领域的应用, 因此简便、灵敏、特异及准确的IONPs含量分析方法非常重要. 普鲁士蓝染色法是检测组织器官内IONPs含量的常用方法, 但是该方法存在2个缺陷: (1) 灵敏度不高, 难以检测微量IONPs的存在; (2) 内源性含铁蛋白以及 Fe^{3+} 会对检测结果造成干扰. 在IONPs表面交联成像物质(如放射性元素), 能够用于IONPs体内示踪, 但是这些成像物质可能会干扰IONPs体内分布和代谢, 并且这些物质还可能会从IONPs表面脱离, 造成错误检测结果. Zhuang等人^[20]利用IONPs催化 H_2O_2 氧化DAB在IONPs原位生成不溶性棕色沉积物的特点, 开发了检测IONPs在组织器官内分布的方法(图1). 血清、乙醇、甲醇、二甲苯等组织样本处理常用试剂都不会影响IONPs酶样活性. 当组织器官内IONPs含量过低以至于无法被普鲁士蓝染色法检出时, IONPs染色法仍然有效. 因此IONPs染色法能够有效检测组织器官中IONPs含量. 该方法还可以扩展用于其他具有过氧化物

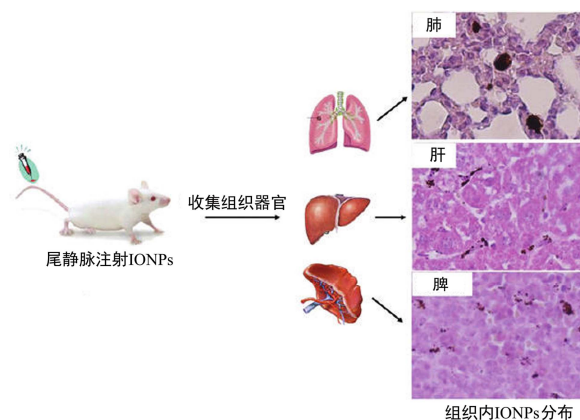


图1 (网络版彩色)利用过氧化物酶样活性检测 IONPs 在组织内分布, 改自文献[20] (Copyright © 2012, American Chemical Society)

Figure 1 (Color online) Tissue distribution detection of IONPs using the intrinsic peroxidase-mimicking activity, adapted with permission from ref. [20] (Copyright © 2012, American Chemical Society)

物酶活性的纳米颗粒的体内分布研究.

2.3 H_2O_2 含量变化介导的物质测定

H_2O_2 在生命活动(如信号传递、组织细胞损伤、底物氧化), 环境变化(如酸雨), 食品加工, 医疗卫生等领域都发挥着重要作用, 开发低成本、高特异性、操作简单、高稳定性的测定方法意义重大. IONPs的过氧化物酶样活性依赖于 H_2O_2 浓度, 因此催化反应可以用于 H_2O_2 含量测定^[8,29,41~44]. Wei等人^[8]以ABTS为显色底物, 对 H_2O_2 的检测限为3 $\mu\text{mol/L}$, 线性范围为5~100 $\mu\text{mol/L}$; Zhuang等人^[41]以TMB为显色底物, 对 H_2O_2 的检测限为0.175 $\mu\text{mol/L}$, 线性范围为0~70 $\mu\text{mol/L}$; 利用IONPs催化 H_2O_2 生成的羟自由基会氧化CdTe量子点从而造成量子点荧光淬灭的特点, 以CdTe量子点荧光强度作为检测指标, Gao等人^[43]将 H_2O_2 检测限降低至0.018 $\mu\text{mol/L}$, 线性范围为0.18~900 $\mu\text{mol/L}$.

IONPs过氧化物酶样活性除了直接分析 H_2O_2 含量外, 还能够外延用于检测其他影响 H_2O_2 含量的物质: (1) 消耗 H_2O_2 的物质, 如三聚氰胺、GSH、对硝基苯酚等; (2) 间接转变为 H_2O_2 的物质, 如葡萄糖、半乳糖、胆固醇、胆碱等.

2.3.1 消耗 H_2O_2 的物质检测

由于氮含量高, 三聚氰胺被非法用于奶制品加工, 虚假提高奶制品中蛋白质含量. 婴幼儿无法正常代谢三聚氰胺, 容易生成肾结石, 引起肾衰甚至死亡发生. 严格限制奶制品中非法添加三聚氰胺, 防止毒

奶粉再次危害国民健康, 开发简便、快速、经济、高灵敏性的三聚氰胺检测技术刻不容缓. 利用三聚氰胺与 H_2O_2 反应生成一种对热高稳定性的加合物, 导致溶液中 H_2O_2 含量降低的特点, Ding等人^[11]将IONPs-ABTS- H_2O_2 体系用于原料奶以及奶粉中三聚氰胺含量鉴定, 检测限为2 $\mu\text{mol/L}$, 低于美国食品与药品管理局(FDA)以及中国规定的三聚氰胺安全限制(美国20 $\mu\text{mol/L}$, 中国8 $\mu\text{mol/L}$).

GSH具有维持细胞内抗氧化环境, 抵御氧化损伤, 调节细胞信号转导等功能. GSH含量下降常常预示细胞内发生了严重氧化损伤, 并与多种疾病如癌症、肝损伤等相关. Ma等人^[17]利用GSH会与 H_2O_2 反应从而降低溶液中 H_2O_2 含量的特点, 将IONPs-ABTS- H_2O_2 体系用于生物样品中GSH含量鉴定, 检测限为3 $\mu\text{mol/L}$, 线性范围为3~30 $\mu\text{mol/L}$.

对硝基苯酚是一种毒性污染物, 具有潜在致癌性, 能够与 H_2O_2 反应从而消耗检测体系中的 H_2O_2 含量. Shi等人^[45]利用IONPs-ABTS- H_2O_2 体系对对硝基苯酚进行检测, 检测限为0.05 $\mu\text{mol/L}$, 线性范围为0.1~30 $\mu\text{mol/L}$.

2.3.2 生成 H_2O_2 的物质检测

氧化酶可以催化溶解氧化相应底物并生成 H_2O_2 , 测定 H_2O_2 浓度可以反推氧化底物的浓度. 因此偶联氧化酶和IONPs可以用于葡萄糖^[8,22~24,28,31,43,45~49]、半乳糖^[48]、乙醇^[19]、胆固醇^[47]、胆碱^[13,48]及乙酰胆碱^[50]等含量分析.

结合葡萄糖氧化酶(GOx)催化葡萄糖氧化并生成 H_2O_2 的特点, Wei等^[8]采用GOx-IONPs-ABTS体系建立了葡萄糖检测平台, 检测限为30 $\mu\text{mol/L}$, 线性范围为50~1000 $\mu\text{mol/L}$. Yu等人^[22]发现表面修饰能增强IONPs催化效率, 甘氨酸修饰IONPs能将GOx-IONPs-ABTS体系测定葡萄糖的检测限降低至8.5 $\mu\text{mol/L}$. Liu等人^[23]在IONPs表面同时修饰氨基与巯基, GOx-IONPs-ABTS体系测定葡萄糖的检测限更低至0.5 $\mu\text{mol/L}$. IONPs结合其他过氧化物模拟酶, 可以扩展底物接触面积以及提高电子传递效率, 协同增强催化活性: 卟啉-IONPs复合纳米材料^[24], 介孔碳-IONPs复合纳米材料^[28]以及氧化石墨烯-IONPs复合纳米材料^[31], 测定葡萄糖的检测限分别为2.21, 2和0.74 $\mu\text{mol/L}$.

Kim等人^[47]在介孔二氧化硅孔道内原位生成IONPs并共价交联GOx, 该偶联酶检测体系的初始催

化活性比游离酶检测体系高3.5倍, 且热稳定性增加, 对葡萄糖的检测限为3 $\mu\text{mol/L}$; 共价交联胆固醇氧化酶可以对胆固醇进行检测, 检测限为5 $\mu\text{mol/L}$. Liu等人^[59]将GOx与酪蛋白修饰的IONPs混合制备纳米复合材料, 对葡萄糖的检测限为1 $\mu\text{mol/L}$. 荧光检测灵敏度高于比色法, 以苯甲酸为荧光底物, IONPs偶联GOx体系测定葡萄糖的检测限低至25 nmol/L ^[45]. Liu和Tseng^[48]用amplex ultrared替代ABTS或者TMB, GOx-IONPs体系测定葡萄糖的检测限为3 $\mu\text{mol/L}$, 半乳糖氧化酶-IONPs以及胆碱氧化酶-IONPs体系对半乳糖和胆碱的检测限分别为2和20 $\mu\text{mol/L}$. Gao等人^[43]利用IONPs催化 H_2O_2 生成的羟自由基会淬灭CdTe量子点荧光的特点, 对葡萄糖的检测限为1 $\mu\text{mol/L}$. He等人^[49]在IONPs表面原位生成金纳米颗粒, 并对复合体包裹介孔二氧化硅壳层, 结合金纳米颗粒的GOx样活性, 构建了酶促级联放大反应体系. 金纳米颗粒催化葡萄糖氧化并生成 H_2O_2 , 二氧化硅壳层的存在限制了 H_2O_2 的扩散, 提高了局部底物浓度, 对葡萄糖的检测限为0.5 $\mu\text{mol/L}$. 类似于葡萄糖检测原理, 将IONPs和乙醇氧化酶共同组装在介孔二氧化硅内部能够用于乙醇含量测定(检测限: 25 $\mu\text{mol/L}$; 线性范围: 100~500 $\mu\text{mol/L}$).

利用戊二醛将壳聚糖修饰的IONPs和胆碱氧化酶共同交联在半胱胺修饰的金电极上, 该体系的稳定性以及对胆碱的特异性和灵敏度非常高(检测限0.1 nmol/L), 且具有很宽的线性范围(1×10^{-3} ~ 1×10^4 $\mu\text{mol/L}$)^[13]. 乙酰胆碱酯酶能够催化乙酰胆碱生成胆碱, 偶联IONPs-胆碱氧化酶体系可以用于乙酰胆碱的检测. IONPs-还原性氧化石墨烯纳米复合材料增强了IONPs的稳定性, 结合乙酰胆碱酯酶和胆碱氧化酶用于乙酰胆碱检测, 具有较低的检测限(0.039 $\mu\text{mol/L}$)和较宽的线性范围(0.1 ~ 1×10^4 $\mu\text{mol/L}$)^[50]. 有机磷神经毒素与乙酰胆碱酯酶孵育会抑制乙酰胆碱酯酶活性, 导致乙酰胆碱酯酶/胆碱氧化酶催化乙酰胆碱生成 H_2O_2 含量下降, 进而降低IONPs催化活性, 利用该原理可以检测痕量有机磷神经毒素(图2), 甲基对氧磷和沙林的检测限分别为10和1 nmol/L ^[60].

2.4 IONPs酶样活性抑制剂或者保护剂测定

除了表面修饰能够调节IONPs催化活性外, 某些物质能够吸附到IONPs表面, 阻碍IONPs与底物的接触, 抑制催化活性; 部分物质可以保护IONPs催化活

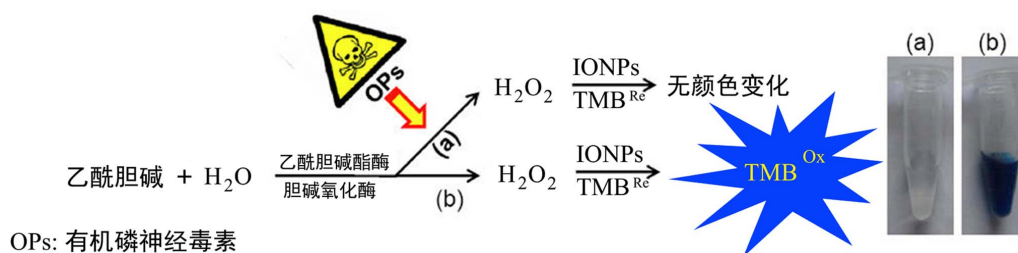


图 2 (网络版彩色) IONPs 用于有机磷神经毒素检测, 改自文献[60] (Copyright © 2013, American Chemical Society)

Figure 2 (Color online) Detection of organophosphorus nerve agent with IONPs, adapted with permission from ref. [60] (Copyright © 2013, American Chemical Society)

性不受抑制剂影响. 通过测定 IONPs 催化活性的变化, 可以推算出待测物质的含量.

蛋白质分子的氨基酸组成差异使其等电点(pI)存在差异, 因此在反应溶液中所带电荷不同, 导致与 IONPs 的静电相互作用力也不同. 如在乙酸钠缓冲液中(pH 5.0), 脂肪酶(pI 5.6)会大量吸附在正电性 IONPs 表面形成蛋白质-纳米颗粒团聚体, 基本屏蔽了 IONPs 催化中心; 而溶菌酶(pI 11.0)只有极少量吸附在 IONPs 表面, 基本不影响 IONPs 催化效率. 总体而言, 蛋白质 pI 值高低与 IONPs 催化效率的抑制程度成反向关系. 除 pI 值外, 蛋白质大小和表面疏水性以及 IONPs 表面修饰也会影响蛋白质与 IONPs 相互作用, 进而影响 IONPs 催化活性. 因此利用蛋白质分子和 IONPs 的相互作用引起的催化活性变化能够敏感、快速、高效的鉴定不同蛋白质^[15](图3).

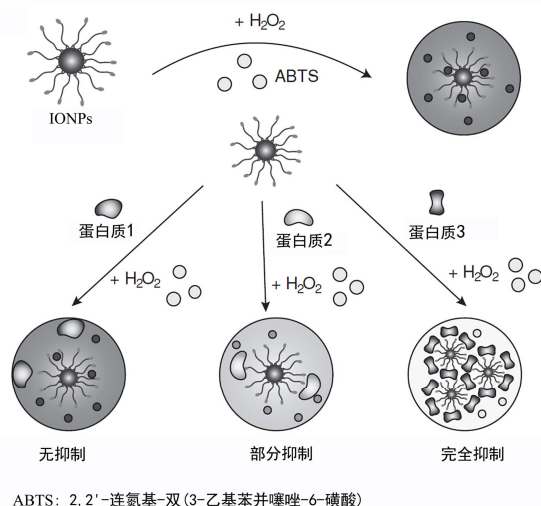


图 3 IONPs 用于蛋白质鉴定, 改自文献[15] (Copyright © 2012, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim)

Figure 3 Protein sensing with IONPs, adapted with permission from ref. [15] (Copyright © 2012, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim)

儿茶酚胺类物质(如多巴胺、肾上腺素、去甲肾上腺素、左旋多巴胺)参与多种大脑活动功能, 其含量异常与帕金森氏症、脑部创伤等密切相关. 电化学检测、高效液相色谱(HPLC)和毛细管/微芯片电泳等方法能够检测儿茶酚胺含量, 但是存在干扰因素多、成本高、耗时长等缺陷. Fe^{3+} 与儿茶酚基团的配位作用会促进儿茶酚胺吸附在 IONPs 表面, 降低 IONPs 催化效率, 因此 IONPs 能够用于病理样品中儿茶酚胺类物质含量检测. 恶性黑色素瘤细胞内酪氨酸酶含量增加, 酪氨酸酶能够催化酪氨酸生成左旋多巴胺, 因此 IONPs 能够延伸用于检测恶性黑色素瘤的发生及恶性进展情况^[16].

核酸带负电荷的磷酸骨架与带正电荷的 IONPs 间静电作用促进核酸分子吸附到 IONPs 表面, 屏蔽了 IONPs 部分催化活性中心, 同时游离的核酸还能够与带正电荷的底物 OPD 结合, 减少与 IONPs 催化中心结合的 OPD 含量, 2 种因素共同降低了 IONPs 催化效率. 利用 IONPs-OPD- H_2O_2 与 DNA-IONPs-OPD- H_2O_2 体系的颜色差异可以实现对 DNA 的无标记检测^[14].

核酸分子与 IONPs 间静电吸附作用特性可以进一步延伸用于金属离子检测^[21]. ssDNA 通过静电作用吸附至 IONPs 表面, 屏蔽了 IONPs 部分催化中心, 因此抑制了 IONPs 催化效率. 胸腺嘧啶(T)能够与 Hg^{2+} 配位形成 T- Hg^{2+} -T, 因此富含 T 的 ssDNA 会紧密结合 Hg^{2+} , 由原先的伸展状态变为折叠结构. 同时 Hg^{2+} 与 IONPs 表面正电荷相互排斥等因素共同影响 ssDNA 与 IONPs 的静电吸附作用, 使 IONPs 催化中心重新暴露, 催化效率得到恢复. 因此 IONPs 催化活性恢复程度与靶目标金属离子含量之间成正相关性, 可以用于特定金属离子的检测.

过氧化物酶常用于增强化学发光效率, 加速化学能转换成光能. IONPs 具有高的比表面积, 能够有

效吸附并催化溶解氧产生超氧阴离子, 大大增强鲁米诺化学发光亮度. 乙醇会清除超氧阴离子, 进而抑制鲁米诺氧化产生化学发光. Guan等人^[18]发现某些非氧化还原型杀虫剂, 特别是含磷-硫键(P-S)的有机磷酯如灭线磷, 能够通过 Fe^{2+} 配位作用结合在IONPs表面, 并通过支链将IONPs表面的超氧阴离子围绕在一起, 有效抑制乙醇对超氧阴离子的清除作用, 因此通过氨基与 Fe^{2+} 的配位作用结合在IONPs表面的鲁米诺能够被超氧阴离子氧化发光. 不同类型有机磷酯对不同表面修饰IONPs催化鲁米诺化学发光的增强效果不同, 比如灭线磷、甲基对硫磷、烟啶磺隆、硫丹4种有机磷酯杀虫剂分别特异性增强未经修饰、 β -环糊精修饰、(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷修饰以及柠檬酸修饰的IONPs的催化活性. 借助IONPs超顺磁性能能够对待检测样品中有机磷酯进行富集, 有利于提高检测灵敏性.

2.5 中间产物羟自由基的应用

IONPs- H_2O_2 体系生成的羟自由基具有强氧化性, 除可以氧化底物用于检测分析外, 还可以用于降解有机污染物、抑制病原微生物和肿瘤的生长等.

IONPs催化 H_2O_2 降解有机污染物的反应也被称为异质Fenton样反应, 产生的羟自由基可以用于废水中苯酚的处理. Zhang等人^[7]发现: 与HRP相比, IONPs能够耐受更高浓度的苯酚和 H_2O_2 , 并在较宽 H_2O_2 /苯酚比率范围内(2~160)都具有较高的催化活性, 表明IONPs在处理大量污染物时是更好的选择; IONPs/ H_2O_2 催化苯酚降解主要依赖于pH(最适pH为3), 在较宽温度范围内16~95℃都能有效催化苯酚降解; IONPs还具有制备简单、温度稳定性高、可循环利用、易于从反应体系中回收等优点. Wang等人^[54]利用共沉淀法制备IONPs, 并考察了氮气氛热处理对IONPs催化活性的影响. 结果表明, 热处理(180~240℃)提高了IONPs对苯酚的催化效率, 且IONPs在较宽pH范围内(2~9)均表现出良好的催化活性. 多壁碳纳米管以及石墨烯量子点具有较大比表面积, 可以作为IONPs支持物且可以吸附/浓缩底物, 因而能够增强IONPs过氧化物酶样活性, 提高苯酚清除效率^[30,51].

除苯酚外, 其他有机污染物如苯胺类物质^[9]、磺胺噻唑^[32]、有机染料^[12,33,52,56]、双酚A^[55]等都能被IONPs- H_2O_2 体系催化降解. 由于 Fe^{2+} 的再生速度低

于消耗速度, Fenton样反应速率会逐渐降低. 腐殖酸(HA)含有羧基、酚基、羰基等多种功能基团, 能与IONPs形成复合物. HA-Fe^{3+} 复合物以及 HA-Fe^{2+} 复合物内部的电子转移提高了 Fe^{2+} 再生速率和羟自由基生成速率, 从而提高催化反应速率, IONPs/ $\text{HA-H}_2\text{O}_2$ 催化磺胺噻唑的速率是IONPs- H_2O_2 体系的3.4倍^[32]. 超声辐照产生的空化作用可以产生局部高温高压, 减少IONPs的聚集, 并增加传质速率, 加速羟自由基生成, 同时IONPs还可以为空泡形成提供更多的成核位点, 增加空化强度. 超声辐照和IONPs的协同作用可以加快IONPs对染料的催化降解速率^[12]. 在外加交变磁场下IONPs能够产生热量, 提高局部溶液温度, 从而加速染料降解^[56]. 氧化石墨烯疏水表面能促进双酚A吸附到氧化石墨烯-IONPs杂合纳米颗粒表面, 进而加速氧化石墨烯-IONPs- H_2O_2 体系对双酚A的降解速率^[55].

与 H_2O_2 类似, 过硫酸盐($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$)具有O—O键结构, 在外界环境如紫外辐射、高温、过渡态金属等活化下会生成强氧化性硫酸根自由基, 并且溶解性更高及可操作pH范围更广. Yan等人^[53]利用IONPs- $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 体系降解磺胺间甲氧嘧啶: 当 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 与IONPs浓度比为1:2时, 该体系降解速率最快; IONPs表面钝化, 硫酸根自由基淬灭等因素会降低降解反应效率, 分批次加入IONPs能改善这些不利因素; 当pH<7时, IONPs催化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 主要生成硫酸根自由基, 能够有效降解磺胺间甲氧嘧啶; 当pH>8时, IONPs催化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 主要生成硫酸根自由基和羟自由基, 仍有至少78.3%的磺胺间甲氧嘧啶被降解, 表明该体系使用pH范围非常宽, 在实际应用中无需预先调节pH; 通过液相色谱-质谱方法检测分析发现, 磺胺间甲氧嘧啶降解过程中没有产生有害中间产物.

活性氧是清除细菌感染/破坏菌膜^[61-63]或诱导肿瘤细胞死亡^[64,65]的主要手段. H_2O_2 是抑制细菌/肿瘤最常用的活性氧形式, 其稳定性较强但氧化能力较低, 无法快速达到损伤效果, 长期使用会诱导细菌/肿瘤产生抵抗, 影响预防和治疗效果, 如菌膜形成会引发医疗护理相关感染, 肿瘤治疗手段失效造成病情恶化等. IONPs催化 H_2O_2 产生的羟自由基氧化性极强, 能快速氧化致病因子, 可以用于抑制微生物生长和损伤肿瘤细胞. Zhang等人^[57]发现IONPs- H_2O_2 体系能够100%抑制细菌生长, 而单独IONPs或 H_2O_2 处理则基本没有影响. 进一步以HeLa细胞为肿瘤模型,

通过细胞学实验和动物学实验证实, IONPs- H_2O_2 体系能显著抑制HeLa肿瘤细胞生长, 而单独IONPs或 H_2O_2 处理基本没有效果(图4). 高利增等人^[58]发现IONPs- H_2O_2 体系不仅能够杀死细菌并降解细菌死后释放的大分子物质如核酸、蛋白质以及多糖等, 阻止菌膜的形成, 还能够穿透已形成的菌膜, 破坏菌膜以及内部的细菌.

3 总结与展望

和天然酶相比, IONPs模拟酶具有生产成本低廉、性质稳定、对外界环境耐受能力强、酶样催化活性易于调节、独特超顺磁性便于富集底物以及回收IONPs循环使用等优点, 在环境保护、食品安全、生物医学等领域具有广阔的应用前景, 主要包括免疫印迹、分析检测、污染物降解、病原微生物防治、肿瘤治疗等方向(图5). 随着其他纳米材料的过氧化物酶样活性逐渐被发现, IONPs的应用研究可以为其他纳米酶在生产生活实践中的应用研究提供借鉴.

IONPs在生物医学领域具有广泛的应用, 如核磁共振成像、药物靶向运输及可控释放、肿瘤磁热治疗等^[66,67]. 内吞途径是IONPs进入细胞的主要途径, 包含IONPs的内体由初级内体(pH 6.0左右), 历经次级内体(pH 5.5左右), 最终成熟为溶酶体(pH 4.5左右)^[68]. 由于溶酶体pH环境与IONPs过氧化物酶样活性的最佳反应pH比较接近, 当细胞内 H_2O_2 水平比较高时, 可能会激发IONPs的催化活性, 生成大量羟自由基, 该特性有望用于肿瘤治疗. 利用表面特异性修饰(如叶酸、透明质酸、转铁蛋白、整合素等)以及外加磁场作用能够增强IONPs肿瘤靶向性, 提高肿瘤内

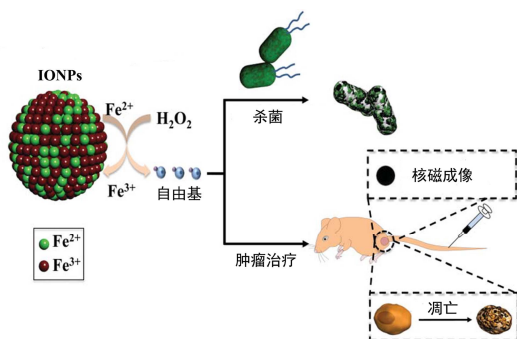


图 4 (网络版彩色)IONPs 用于杀菌和肿瘤治疗, 改自文献^[57] (Copyright © 2013, Royal Society of Chemistry)

Figure 4 (Color online) IONPs for anti-bacterial and *in vivo* tumor treatments, adapted with permission from ref. [57] (Copyright © 2013, Royal Society of Chemistry)

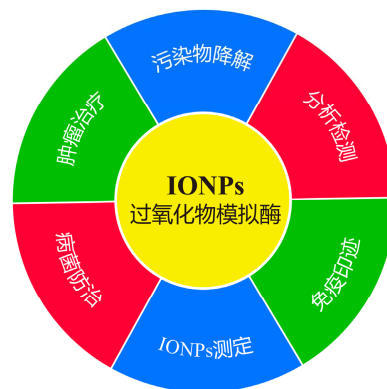


图 5 (网络版彩色)IONPs 过氧化物酶样活性的潜在应用

Figure 5 (Color online) Potential applications of IONPs as peroxidase mimetics

IONPs含量^[69], 然而正常组织器官如肝脏、脾脏等仍积累了大量IONPs^[70], 因此在利用该特性时如何降低对非瘤组织的损伤是一个必须考虑的现实问题. 利用外加交变磁场靶向增强肿瘤部位IONPs催化活性^[56], 以及肿瘤区域靶向引入 H_2O_2 或者诱导细胞产生 H_2O_2 的药物等^[57], 有望避免激活正常组织器官内IONPs过氧化物酶样活性, 从而减少对正常组织的损伤.

羟自由基活性极高, 会氧化包括核酸、蛋白质、多糖等在内的周边所有分子, 造成严重氧化损伤. 多种疾病, 如心血管疾病、神经退行性疾病、代谢综合征等, 与高水平氧化应激发生密切相关^[71], 因此在病理条件下应用IONPs可能会产生严重副作用. 丙烯醛是一种脂质过氧化产物, 同时也是多种环境污染物物的主要成分. 丙烯醛吸入或者熏灼会导致肺脏、心脏、肝脏、大脑以及视网膜等组织器官的氧化损伤, 可以作为相关临床疾病模型的诱导剂. 本课题组^[72]用100 $\mu\text{g/mL}$ IONPs处理大鼠心肌细胞H9c2(模型细胞)24 h, 接着用20 $\mu\text{mol/L}$ 丙烯醛(疾病模型)处理3 h, 结果显示IONPs或丙烯醛单处理组对细胞活力基本没有影响, 而IONPs-丙烯醛双处理组则诱导了严重细胞氧化损伤和活力下降, 预示IONPs使用可能会加重氧化损伤相关疾病进展. 此外, IONPs还可以通过脂质过氧化产物引发磷脂中多不饱和脂肪酸的脂质过氧化链式反应, 造成生物膜脂质过氧化, 可能是IONPs诱导细胞氧化损伤的其他机制^[73]. 因此体内应用IONPs时, 需要将IONPs的过氧化物酶样活性考虑在内, 谨慎选择应用的条件和对象, 避免产生副作用. Chen等人^[74]发现IONPs酶样活性是pH依赖的: 在酸性溶酶体模拟环境中具有过氧化物酶样活性, 催

化 H_2O_2 生成羟自由基;在中性细胞质模拟环境中具有过氧化氢酶样活性,催化 H_2O_2 生成水和 O_2 。对于非肿瘤研究而言,设计IONPs逃离溶酶体策略有助于抑制IONPs过氧化物酶样活性,降低其潜在毒性,甚至可以激活过氧化氢酶样活性,降低病理条件下细胞内活性氧水平,提高细胞存活能力。

当前我国面临严重的水质污染问题,各大河流湖泊水质均有不同程度的恶化,严重影响人畜饮水以及农业灌溉用水。抗生素、有机污染物、重金属等污染物不仅直接(如苯酚类有机污染物)或者间接(如汞等重金属通过食物链富集)危害人体健康,还可能促进病菌的耐药性,导致超级细菌的出现,降低目前药物的效价。IONPs的过氧化物酶样活性可以用于污染物的检测和降解处理,独特的超顺磁性使其可以通过外部磁场方便地进行回收和重复利用,结合简便的生产方法、低廉的制备成本、良好的运输及储

存稳定性、较低的反应条件要求等优势,将有效降低污染水质的处理成本,在环境监测(如酸雨、汞离子等)和治理(如苯酚类、染料类、抗生素类等)领域获得广泛的应用。

尽管IONPs作为过氧化物模拟酶具有诸多优势,但是与天然酶相比,IONPs对底物的特异性和选择性较差,反应灵敏度不够高,催化效率较低,因此阐明反应机制及影响因素,并通过恰当的表面修饰,构建杂合纳米材料,以及与其他纳米酶或天然酶组成复合反应体系等提高酶促反应催化效率,增加对底物的灵敏性及特异性,将有望加快IONPs过氧化物酶样活性的商业化应用。

总之,深入开发IONPs的过氧化物酶样催化活性并结合其独特的超顺磁性,将拓展IONPs在分析检测,环境保护以及生物医学等领域的应用,为创造良好的生活环境以及促进身体健康做出贡献。

参考文献

- 1 Tai Y L, Wang L, Yan G Q, et al. Recent research progress on the preparation and application of magnetic nanospheres. *Polym Int*, 2011, 60: 976–994
- 2 Lu L W, Wang X Y, Xiong C X, et al. Recent advances in biological detection with magnetic nanoparticles as a useful tool. *Sci China Chem*, 2015, 58: 793–809
- 3 Schleich N, Danhier F, Preat V. Iron oxide-loaded nanotheranostics: Major obstacles to in vivo studies and clinical translation. *J Control Release*, 2015, 198: 35–54
- 4 Borlido L, Azevedo A M, Roque A C A, et al. Magnetic separations in biotechnology. *Biotechnol Adv*, 2013, 31: 1374–1385
- 5 Xu P, Zeng G M, Huang D L, et al. Use of iron oxide nanomaterials in wastewater treatment: A review. *Sci Total Environ*, 2012, 424: 1–10
- 6 Gao L Z, Zhuang J, Nie L, et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nat Nanotechnol*, 2007, 2: 577–583
- 7 Zhang J B, Zhuang J, Gao L Z, et al. Decomposing phenol by the hidden talent of ferromagnetic nanoparticles. *Chemosphere*, 2008, 73: 1524–1528
- 8 Wei H, Wang E K. Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics and their applications in H_2O_2 and glucose detection. *Anal Chem*, 2008, 80: 2250–2254
- 9 Zhang S X, Zhao X L, Niu H Y, et al. Superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles as catalysts for the catalytic oxidation of phenolic and aniline compounds. *J Hazard Mater*, 2009, 167: 560–566
- 10 Zhang Z X, Wang Z J, Wang X L, et al. Magnetic nanoparticle-linked colorimetric aptasensor for the detection of thrombin. *Sensor Actuat B Chem*, 2010, 147: 428–433
- 11 Ding N, Yan N, Ren C L, et al. Colorimetric determination of melamine in dairy products by Fe_3O_4 magnetic nanoparticles- H_2O_2 -ABTS detection system. *Anal Chem*, 2010, 82: 5897–5899
- 12 Wang N, Zhu L H, Wang M Q, et al. Sono-enhanced degradation of dye pollutants with the use of H_2O_2 activated by Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as peroxidase mimetic. *Ultrason Sonochem*, 2010, 17: 78–83
- 13 Zhang Z X, Wang X L, Yang X R. A sensitive choline biosensor using Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as peroxidase mimics. *Analyst*, 2011, 136: 4960–4965
- 14 Park K S, Kim M II, Cho D Y, et al. Label-free colorimetric detection of nucleic acids based on target-induced shielding against the peroxidase-mimicking activity of magnetic nanoparticles. *Small*, 2011, 7: 1521–1525
- 15 Li X N, Wen F, Cramer B, et al. Colorimetric protein sensing using catalytically amplified sensor arrays. *Small*, 2012, 8: 3589–3592

- 16 Liu C H, Yu C J, Tseng W L. Fluorescence assay of catecholamines based on the inhibition of peroxidase-like activity of magnetite nanoparticles. *Anal Chim Acta*, 2012, 745: 143–148
- 17 Ma Y H, Zhang Z Y, Ren C L, et al. A novel colorimetric determination of reduced glutathione in A549 cells based on Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics. *Analyst*, 2012, 137: 485–489
- 18 Guan G J, Yang L, Mei Q S, et al. Chemiluminescence switching on peroxidase-like Fe_3O_4 nanoparticles for selective detection and simultaneous determination of various pesticides. *Anal Chem*, 2012, 84: 9492–9497
- 19 Kim M II, Shim J M, Parab H J, et al. A convenient alcohol sensor using one-pot nanocomposite entrapping alcohol oxidase and magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics. *J Nanosci Nanotechnol*, 2012, 12: 5914–5919
- 20 Zhuang J, Fan K L, Gao L Z, et al. *Ex vivo* detection of iron oxide magnetic nanoparticles in mice using their intrinsic peroxidase-mimicking activity. *Mol Pharm*, 2012, 9: 1983–1989
- 21 Kim Y S, Jurng J. A simple colorimetric assay for the detection of metal ions based on the peroxidase-like activity of magnetic nanoparticles. *Sensor Actuat B Chem*, 2013, 176: 253–257
- 22 Yu F Q, Huang Y Z, Cole A J, et al. The artificial peroxidase activity of magnetic iron oxide nanoparticles and its application to glucose detection. *Biomaterials*, 2009, 30: 4716–4722
- 23 Liu Y P, Yu F Q. Substrate-specific modifications on magnetic iron oxide nanoparticles as an artificial peroxidase for improving sensitivity in glucose detection. *Nanotechnology*, 2011, 22: 145704
- 24 Liu Q Y, Li H, Zhao Q R, et al. Glucose-sensitive colorimetric sensor based on peroxidase mimics activity of porphyrin- Fe_3O_4 nanocomposites. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2014, 41: 142–151
- 25 Nath S, Kaittanis C, Ramachandran V, et al. Synthesis, magnetic characterization and sensing applications of novel dextran-coated iron oxide nanorods. *Chem Mater*, 2009, 21: 1761–1767
- 26 Liu S H, Lu F, Xing R M, et al. Structural effects of Fe_3O_4 nanocrystals on peroxidase-like activity. *Chem Eur J*, 2011, 17: 620–625
- 27 Kim M II, Ye Y G, Woo M A, et al. A highly efficient colorimetric immunoassay using a nanocomposite entrapping magnetic and platinum nanoparticles in ordered mesoporous carbon. *Adv Healthc Mater*, 2014, 3: 36–41
- 28 Li Q, Tang G, Xiong X W, et al. Carbon coated magnetite nanoparticles with improved water-dispersion and peroxidase-like activity for colorimetric sensing of glucose. *Sensor Actuat B Chem*, 2015, 215: 86–92
- 29 Sun X L, Guo S J, Chung C S, et al. A sensitive H_2O_2 assay based on dumbbell-like PtPd- Fe_3O_4 nanoparticles. *Adv Mater*, 2013, 25: 132–136
- 30 Wu X C, Zhang Y, Han T, et al. Composite of graphene quantum dots and Fe_3O_4 nanoparticles: Peroxidase activity and application in phenolic compound removal. *RSC Adv*, 2014, 4: 3299–3305
- 31 Dong Y L, Zhang H G, Rahman Z U, et al. Graphene oxide- Fe_3O_4 magnetic nanocomposites with peroxidase-like activity for colorimetric detection of glucose. *Nanoscale*, 2012, 4: 3969–3976
- 32 Niu H Y, Zhang D, Zhang S X, et al. Humic acid coated Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as highly efficient fenton-like catalyst for complete mineralization of sulfathiazole. *J Hazard Mater*, 2011, 190: 559–565
- 33 Wang N, Zhu L H, Wang D L, et al. Sono-assisted preparation of highly-efficient peroxidase-like Fe_3O_4 magnetic nanoparticles for catalytic removal of organic pollutants with H_2O_2 . *Ultrason Sonochem*, 2010, 17: 526–533
- 34 Gao L Z, Wu J M, Lyle S, et al. Magnetite nanoparticle-linked immunosorbent assay. *J Phys Chem C*, 2008, 112: 17357–17361
- 35 Wu Y H, Song M J, Xin Z, et al. Ultra-small particles of iron oxide as peroxidase for immunohistochemical detection. *Nanotechnology*, 2011, 22: 225703
- 36 Yang M Z, Guan Y P, Yang Y, et al. Peroxidase-like activity of amino-functionalized magnetic nanoparticles and their applications in immunoassay. *J Colloid Interface Sci*, 2013, 405: 291–295
- 37 Yang Z H, Chai Y Q, Yuan R, et al. Hollow platinum decorated Fe_3O_4 nanoparticles as peroxidase mimetic couple with glucose oxidase for pseudobienzyme electrochemical immunosensor. *Sensor Actuat B Chem*, 2014, 193: 461–466
- 38 Liang L L, Ge S G, Li L, et al. Microfluidic paper-based multiplex colorimetric immunodevice based on the catalytic effect of Pd/ Fe_3O_4 @C peroxidase mimetics on multiple chromogenic reactions. *Anal Chim Acta*, 2015, 862: 70–76
- 39 Jing P, Xu W J, Yi H Y, et al. An amplified electrochemical aptasensor for thrombin detection based on pseudobienzymic Fe_3O_4 -Au nanocomposites and electroactive hemin/G-quadruplex as signal enhancers. *Analyst*, 2014, 139: 1756–1761
- 40 Fan K L, Cao C Q, Pan Y X, et al. Magnetoferritin nanoparticles for targeting and visualizing tumour tissues. *Nat Nanotechnol*, 2012, 7: 459–464
- 41 Zhuang J, Zhang J B, Gao L Z, et al. A novel application of iron oxide nanoparticles for detection of hydrogen peroxide in acid rain. *Mater Lett*, 2008, 62: 3972–3974

- 42 Zhang Z X, Zhu H, Wang X L, et al. Sensitive electrochemical sensor for hydrogen peroxide using Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as a mimic for peroxidase. *Microchim Acta*, 2011, 174: 183–189
- 43 Gao Y, Wang G N, Huang H, et al. Fluorometric method for the determination of hydrogen peroxide and glucose with Fe_3O_4 as catalyst. *Talanta*, 2011, 85: 1075–1080
- 44 You X Q, Kim J J, Pak Y K, et al. Preparation and application of graphene-poly (diallyldimethylammoniumchloride)-iron oxide nanoparticles buckypaper for hydrogen peroxide detection. *J Nanosci Nanotechnol*, 2013, 13: 7349–7357
- 45 Shi Y, Su P, Wang Y Y, et al. Fe_3O_4 peroxidase mimetics as a general strategy for the fluorescent detection of H_2O_2 -involved systems. *Talanta*, 2014, 130: 259–264
- 46 Yu C J, Lin C Y, Liu C H, et al. Synthesis of poly(diallyldimethylammonium chloride)-coated Fe_3O_4 nanoparticles for colorimetric sensing of glucose and selective extraction of thiol. *Biosens Bioelectron*, 2010, 26: 913–917
- 47 Kim M II, Shim J M, Li T H, et al. Fabrication of nanoporous nanocomposites entrapping Fe_3O_4 magnetic nanoparticles and oxidases for colorimetric biosensing. *Chem Eur J*, 2011, 17: 10700–10707
- 48 Liu C H, Tseng W L. Oxidase-functionalized Fe_3O_4 nanoparticles for fluorescence sensing of specific substrate. *Anal Chim Acta*, 2011, 703: 87–93
- 49 He X L, Tan L F, Chen D, et al. Fe_3O_4 -Au@mesoporous SiO_2 microspheres: An ideal artificial enzymatic cascade system. *Chem Commun*, 2013, 49: 4643–4645
- 50 Qian J, Yang X W, Jiang L, et al. Facile preparation of Fe_3O_4 nanospheres/reduced graphene oxide nanocomposites with high peroxidase-like activity for sensitive and selective colorimetric detection of acetylcholine. *Sensor Actuat B Chem*, 2014, 201: 160–166
- 51 Zuo X L, Peng C, Huang Q, et al. Design of a carbon nanotube/magnetic nanoparticle-based peroxidase-like nanocomplex and its application for highly efficient catalytic oxidation of phenols. *Nano Res*, 2009, 2: 617–623
- 52 Jiang J Z, Zou J, Zhu L H, et al. Degradation of methylene blue with H_2O_2 activated by peroxidase-like Fe_3O_4 magnetic nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol*, 2011, 11: 4793–4799
- 53 Yan J C, Lei M, Zhu L H, et al. Degradation of sulfamonomethoxine with Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as heterogeneous activator of persulfate. *J Hazard Mater*, 2011, 186: 1398–1404
- 54 Wang W, Mao Q, He H H, et al. Fe_3O_4 nanoparticles as an efficient heterogeneous fenton catalyst for phenol removal at relatively wide pH values. *Water Sci Technol*, 2013, 68: 2367–2373
- 55 Hua Z L, Ma W Q, Bai X, et al. Heterogeneous fenton degradation of bisphenol A catalyzed by efficient adsorptive $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ nanocomposites. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2014, 21: 7737–7745
- 56 Wydra R J, Oliver C E, Anderson K W, et al. Accelerated generation of free radicals by iron oxide nanoparticles in the presence of an alternating magnetic field. *RSC Adv*, 2015, 5: 18888–18893
- 57 Zhang D, Zhao Y X, Gao Y J, et al. Anti-bacterial and *in vivo* tumor treatment by reactive oxygen species generated by magnetic nanoparticles. *J Mater Chem B*, 2013, 1: 5100–5107
- 58 Gao L Z, Giglio K M, Nelson J L, et al. Ferromagnetic nanoparticles with peroxidase-like activity enhance the cleavage of biological macromolecules for biofilm elimination. *Nanoscale*, 2014, 6: 2588–2593
- 59 Liu Y, Yuan M, Qiao L J, et al. An efficient colorimetric biosensor for glucose based on peroxidase-like protein- Fe_3O_4 and glucose oxidase nanocomposites. *Biosens Bioelectron*, 2014, 52: 391–396
- 60 Liang M M, Fan K L, Pan Y, et al. Fe_3O_4 magnetic nanoparticle peroxidase mimetic-based colorimetric assay for the rapid detection of organophosphorus pesticide and nerve agent. *Anal Chem*, 2013, 85: 308–312
- 61 Delattin N, Cammue B P A, Thevissen K. Reactive oxygen species-inducing antifungal agents and their activity against fungal biofilms. *Future Med Chem*, 2013, 6: 77–90
- 62 Kovács I, Horváth M, Lányi Á, et al. Reactive oxygen species-mediated bacterial killing by B lymphocytes. *J Leukoc Biol*, 2015, 97: 1133–1137
- 63 Slauch J M. How does the oxidative burst of macrophages kill bacteria? Still an open question. *Mol Microbiol*, 2011, 80: 580–583
- 64 Trachootham D, Alexandre J, Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8: 579–591
- 65 Raj L, Ide T, Gurkar A U, et al. Selective killing of cancer cells by a small molecule targeting the stress response to ROS. *Nature*, 2011, 475: 231–234
- 66 Wu A G, Ou P, Zeng L Y. Biomedical applications of magnetic nanoparticles. *Nano*, 2010, 5: 245–270
- 67 Schleich N, Danhier F, Pr  at V. Iron oxide-loaded nanotheranostics: Major obstacles to *in vivo* studies and clinical translation. *J Control Release*, 2015, 198: 35–54

- 68 Soenen S J H, Himmelreich U, Nuytten N, et al. Intracellular nanoparticle coating stability determines nanoparticle diagnostics efficacy and cell functionality. *Small*, 2010, 6: 2136–2145
- 69 Rosen J E, Chan L, Shieh D B, et al. Iron oxide nanoparticles for targeted cancer imaging and diagnostics. *Nanomedicine*, 2012, 8: 275–290
- 70 Lin T R, Zhong L S, Wang J, et al. Graphite-like carbon nitrides as peroxidase mimetics and their applications to glucose detection. *Biosens Bioelectron*, 2014, 59: 89–93
- 71 Dalleau S, Baradat M, Guéraud F, et al. Cell death and diseases related to oxidative stress: 4-Hydroxynonenal (HNE) in the balance. *Cell Death Differ*, 2013, 20: 1615–1630
- 72 Luo C, Li Y, Yang L, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles exacerbate the risks of reactive oxygen species-mediated external stresses. *Arch Toxicol*, 2015, 89: 357–369
- 73 Wang L J, Min Y, Xu D D, et al. Membrane lipid peroxidation by the peroxidase-like activity of magnetite nanoparticles. *Chem Commun*, 2014, 50: 11147–11150
- 74 Chen Z W, Yin J J, Zhou Y T, et al. Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. *ACS Nano*, 2012, 6: 4001–4012

Applications of iron oxide nanoparticles as peroxidase mimetics

LUO Cheng¹, LI Yan¹ & LONG JianGang²

¹ School of Medicine, Yichun University, Yichun 336000, China;

² Center for Mitochondrial Biology and Medicine, Key Laboratory of Biomedical Information Engineering of Ministry of Education, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

In addition to the unique superparamagnetic property, iron oxide nanoparticles (IONPs) possess intrinsic peroxidase-like activities, which can catalyze substrates (o-phenylenediamine, luminol, organic dyes, etc.) to be oxidized by hydrogen peroxide accompanied with chemiluminescence, colour or fluorescence changes. Though the optimum conditions for IONPs and natural peroxidases are similar, IONPs are more robust against wide ranges of pH, temperature and inhibitors. The peroxidase-like activities of IONPs could be adjusted through size, structure, composition and surface modification. This review introduces the factors affecting the peroxidase-like activities of IONPs. Application progresses are summarized and introduced according to corresponding mechanisms, including: (1) substitute for peroxidases in immunoassay; (2) *in vivo* distribution of IONPs; (3) determination of H₂O₂ concentration, including detection for substances consuming or generating H₂O₂; (4) determination of catalytic inhibitors or protective agents; (5) applications of hydroxyl radicals generated during catalytic reaction, including organic pollutant degradation, inhibition of pathogenic microorganisms and cancer cells, etc. Considering the wide applications of IONPs in biomedical fields, how to develop the peroxidase-like activity of IONPs for *in vivo* applications and safety issues potentially involved are also discussed.

iron oxide, peroxidase, immunoassay, glucose, hydrogen peroxide, organic pollutants

doi: 10.1360/N972015-00777