

非标记型检测基质金属蛋白酶-14 电化学 发光生物传感器的研究

段宇宏,徐璐,马芬

(西北大学 化学与材料科学学院,陕西 西安 710127)

摘 要 基质金属蛋白酶-14(Matrix metalloproteinase-14, MMP-14)是癌症和炎症的重要生物标志物。以聚多巴胺功能化的钴钼碳纳米纤维修饰的玻碳电极作为传感平台,以钌复合物和多肽抑制剂分别作为信号探针和捕获探针,制备了电化学发光(ECL)生物传感器用于检测 MMP-14。结果表明,在最佳实验条件下,该电化学发光生物传感器具有较高的灵敏度,其线性范围为 $1\sim 10\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,检测限为 $0.55\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。利用功能化纳米纤维制备的无标记 ECL 生物传感器为研究 MMPs 和抑制剂的作用机制提供了前景。

关键词 电化学发光生物传感器;基质金属蛋白酶-14;多肽抑制剂

中图分类号 O657

文献标识码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Label-Free Electrochemiluminescence Biosensor for Quantization of Matrix Metalloproteinase-14

DUAN Yuhong, XU Lu, MA Fen

(School of Chemistry and Materials Science, Northwest University, Xi'an 710127, China)

Abstract Matrix metalloproteinase-14 (MMP-14) is an important biomarker of cancer and inflammation. In the work, polydopamine functionalized cobalt-molybdenum carbon nanofiber was used as the sensing platform, and ruthenium bipyridine derivative and peptide inhibitor were used as signal probes and capture probes to prepare electrochemiluminescence (ECL) biosensors for detecting MMP-14, respectively. The results show that the electrochemiluminescence biosensor has high sensitivity under optimal experimental conditions with a linear range of $1\sim 10\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ and a detection limit of $0.55\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$. The use of label-free ECL biosensors prepared from functionalized nanofibers provides promise for investigating the action mechanism of MMPs and inhibitors.

Key words electrochemiluminescence biosensor; matrix metalloproteinase-14; polypeptide inhibitor

1 引言

基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)是一种负责细胞迁移、侵袭、增殖和凋亡的酶^[1]。研究发现,基质金属蛋白酶可作为一些癌症的标志物,例如结肠直肠癌、甲状腺癌、膀胱癌和乳腺癌等^[2]。根

收稿日期:2022-09-20

基金项目:国家自然科学基金项目(21605120)资助

通讯作者:马芬,女,汉,博士,副教授,研究方向:生物电分析,E-mail:mafen@nwu.edu.cn。

据其结构特点,MMPs 可以分为分泌型 MMPs 和膜型 MMPs,而膜型 MMPs 在正常细胞的病理过程中作用更为明显^[3,4],因此在分析检测和临床医学病理研究中有更重要的意义。MMP-14 是首次发现的膜型 MMPs,也被称为膜型-1-MMP(MT1-MMP),它能够调节细胞间粘附和细胞的流动性。据报道,只有 MMP-14 能促进上皮细胞和成纤维细胞对 I 型胶原基质的侵袭^[5],它被认为是癌症和炎症的重要生物标志物^[6,7]。因此,MMP-14 传感技术的发展与早期癌症的诊断及药物筛选密切相关。最近的一些研究报道了检测 MMPs 的方法,例如表面等离子共振传感器^[8]、荧光共振能量转移传感器^[9]、质谱法^[10]等。然而,这些方法存在线性范围窄、灵敏度低、操作繁琐、探针合成复杂等缺点,因此,进一步探索构建简单、灵敏、准确的检测方法是研究者面临的主要挑战。

电化学发光(Electrochemiluminescence,ECL)生物传感方法是一种基于生物分子识别的方法,它以生物活性分子为分子识别元件,以 ECL 试剂/材料为信号物质,将生物分子间的特异性识别作用转化为可量化的 ECL 信号来检测目标物质的浓度^[11]。利用纳米材料或生物材料负载信号物质是提高 ECL 生物传感器灵敏度的一个有效策略^[11]。静电纺丝技术合成的纳米纤维具有高孔隙率、高比表面积等结构优势,能够负载生物活性物质。基于这些结构优势,负载于静电纺丝纤维上的生物活性分子具有较强的稳定性和生物相容性^[12]。碳纳米纤维(carbon nanofibers,CNFs)由于具有良好的导电性、较高的比表面积、生物相容性等优点,被广泛用于电化学生物传感器的开发^[13]。将 Co 和 Mo₂C 封装到 CNF 中不仅可以抑制纳米颗粒的团聚,提供更多的活性位点,还能够促进电子的快速转移。

MMP-14 的血红素结构域(PEX)被认为是参与分子串扰的调节区域。两个 PEXs 之间的相互作用称为 MMP-14 同源二聚,而 PEX 与细胞表面粘附分子 CD44 的相互作用称为异源二聚。PEX 结构域通过同源二聚和异源二聚进行细胞迁移^[14]。由 Zucker 选择的抑制肽(IVS4 和 IS4)能够与 PEX 特异性结合,从而通过抑制 MMP-14 的同源二聚和异源二聚来抑制 MMP-14 介导的癌症传播^[14,15]。本文基于 MMP-14 的血红素结构域(PEX-14)与功能化 IS4 的相互作用,设计了一种非标记型电化学发光生物传感器,用于定量检测 MMP-14。如图 1 所示,以 Co,Mo₂C-CNF@PDA 修饰的玻璃碳电极作为传感平台,双(2,2'-联吡啶)-4'-甲基-4-羧基联吡啶-钌-N-琥珀酰亚胺酯-双(六氟磷酸盐)(Ru(bpy)₂(mcbpy-O-Su-ester)(PF₆)₂),文中简称为 Ru)为信号探针,IS4 功能化的多肽抑制剂 VC-10 (Val-Met-Asp-Gly-Tyr-Pro-Met-Pro-(CH₂)₆-Cys-COOH)作为分子识别探针捕获 MMP-14。传感器未与 MMP-14 结合时,ECL 信号最强,而将 MMP-14 捕获在传感器界面时,ECL 信号随 MMP-14 浓度的增大不断减小,从而实现对 MMP-14 的定量检测。

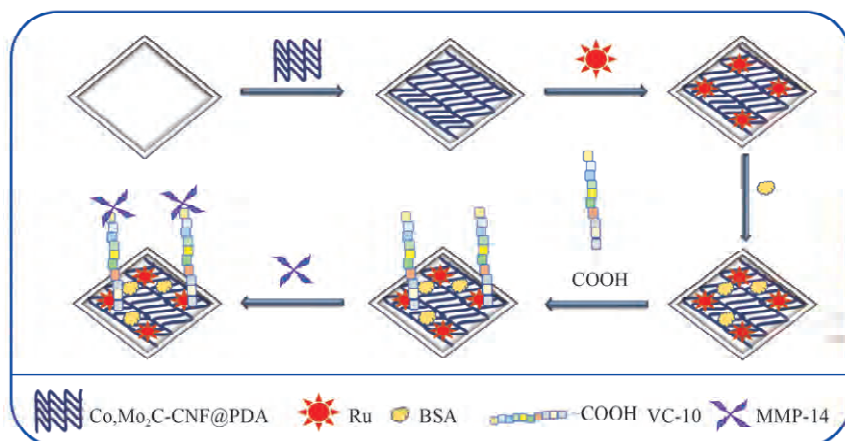


图1 以 Co, Mo₂C-CNF@PDA 为基底的 ECL 生物传感器构建示意图

2 实验

2.1 试剂与仪器

实验所用试剂:基质金属蛋白酶-14(美国 Abcam 公司);多肽抑制剂 VC-10 (上海楚肽生物科技有限公司);三正丙胺(TPA)、牛血清白蛋白(BSA)(上海麦克林生化科技有限公司);N-羟基丁二酰亚胺(NHS)、1-

(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)、双(2,2'-联吡啶)-4'-甲基-4-羧基联吡啶-钉-N-琥珀酰亚胺酯-双(六氟磷酸盐)(美国 Sigma-Aldrich 有限公司);MMP-2、凝血酶(Thrombin)(美国 Protech 公司);MMP-7(美国 Adamas 试剂公司);Nafion(上海河森电气有限公司)。所用化学试剂均为分析纯级,实验用水均为 Millipore Milli Q(18.2 M Ω ·cm)超纯水。

实验所用缓冲溶液:配制 VC-10 的缓冲溶液为 10 mM 磷酸盐缓冲溶液(PBS)(pH=7.4);溶解 MMP-14 的缓冲溶液为 PBS-丙三醇溶液[V(PBS):V(丙三醇)=1:1]。

实验所用仪器:电化学发光检测仪(MP I-E II,西安瑞迈分析仪器有限公司);电化学工作站(CHI660E,上海辰华仪器有限公司);pH 计(Mettler-Toledo 公司)。

2.2 Co,Mo₂C-CNF@PDA 的制备

首先,将 3 mmol·L⁻¹醋酸钴、0.75 mmol·L⁻¹乙酰丙酮钼和 1.7 g 聚丙烯腈加入 15 mL 二甲基甲酰胺中,搅拌至溶液透明;用注射器吸取少量溶液,将其固定在静电纺丝机的蠕动泵上,纺丝条件设置为:高压 18 KV,针头与接收器间的距离为 20 cm,灌注量为 5~6 mL,进样速率为 1.8 mL·h⁻¹。泰勒锥在电场力的作用下被拉伸,形成射流并迅速凝固在接收器上,从而形成前驱体纤维。然后,将前驱体纤维依次在 240 °C 空气气流中氧化 1.5 h、750 °C 氩气流中碳化 2 h,最终得到 Co,Mo₂C-CNF 样品。接着将 20 mg Co,Mo₂C-CNF 分散于 50 mL 三(羟甲基)氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)中,搅拌 30 min 后加入 5 mg PDA,依次经过涡旋、离心、洗涤、真空干燥,然后在 130 °C 下煅烧 5 h 得到修饰材料 Co,Mo₂C-CNF@PDA。

2.3 ECL 生物传感器的构建

首先,将 Co,Mo₂C-CNF@PDA 超声分散在异丙醇中,并用 Tris-HCl 稀释至 0.1 mg·mL⁻¹。为防止 Co,Mo₂C-CNF@PDA 从电极表面脱落,向上述溶液中加入 0.25% Nafion 后将其滴加在处理好的玻碳电极表面,在室温下干燥后得到 Co,Mo₂C-CNF@PDA/GCE。然后,将修饰电极浸泡在 30 μ L、7 μ mol/L 的 Ru 复合物溶液中,1.5 h 后用 Tris-HCl 冲洗电极。接着将 12 μ L 质量分数为 0.5% 的 BSA 溶液滴加在电极表面以防止非特异性吸附。最后,将 12 μ L 含有 15 μ mol·L⁻¹ VC-10、10 mmol·L⁻¹ EDC、0.1 mol·L⁻¹ NHS 的混合溶液滴加在修饰电极表面,在室温下反应 2 h,基于羧基与氨基之间稳定的酰胺化反应,使得捕获探针 VC-10 紧密结合在电极表面。用 Tris-HCl 冲洗后 ECL 生物传感器制备成功,在 4 °C 的黑暗条件下储存备用。

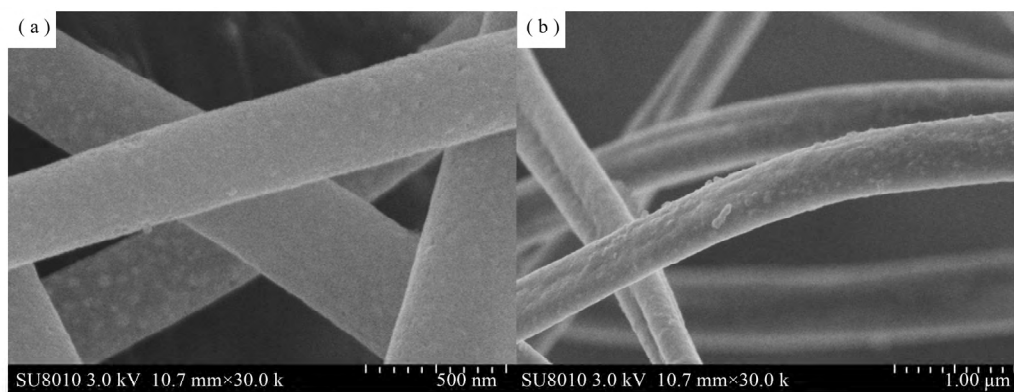
2.4 ECL 电化学发光传感器测量方法

将制备好的 ECL 生物传感器浸入不同浓度 MMP-14 溶液中,在室温下反应 50 min,然后用缓冲液冲洗以除去非特异性吸附的物质。以结合了 MMP-14 的 ECL 生物传感器为工作电极,Ag/AgCl 电极为参比电极,铂丝为辅助电极,在 MPI-EII 型电化学发光检测仪上进行 ECL 测试。电位范围为 0.2~1.35 V,扫描速率为 100 mV·s⁻¹,光电倍增管高压为 800 V。测试底液为 5 mmol·L⁻¹ TPA 溶液。通过记录 ECL 传感器检测 MMP-14 前后 ECL 信号强度的变化量(ΔI)实现对 MMP-14 的定量分析。

3 结果与讨论

3.1 Co,Mo₂C-CNF 与 Co,Mo₂C-CNF@PDA 的表征

通过扫描电镜对 Co,Mo₂C-CNF 与 Co,Mo₂C-CNF@PDA 的形貌进行了表征。如图 2(a)所示,Co,Mo₂C-CNF 的直径约为 350 nm,其表面存在许多纳米孔,这可能是由于 CNF 和三氧化钼之间的氧化还原反应产生的。纳米孔使得 Co,Mo₂C-CNF 有良好的孔隙率。图 2(b)为 Co,Mo₂C-CNF@PDA 的 SEM 图像,PDA 的引入没有改变 Co,Mo₂C-CNF 的基本形态,只是在其表面覆盖了一层聚多巴胺薄膜。这层薄膜在很大程度上减小了 Co,Mo₂C-CNF 的表面积和孔隙率,但提高了其亲水性,这有利于加快电解液进出玻碳电极的速率,从而提高了 Co,Mo₂C-CNF 的电化学性能^[16]。在我们之前的工作中,通过 XRD 和 XPS 对 Co,Mo₂C-CNF@PDA 进行了表征^[17],结果表明成功制备了 Co,Mo₂C-CNF@PDA。

图2 (a)Co, Mo₂C-CNF; (b)Co, Mo₂C-CNF@PDA 的 SEM 图

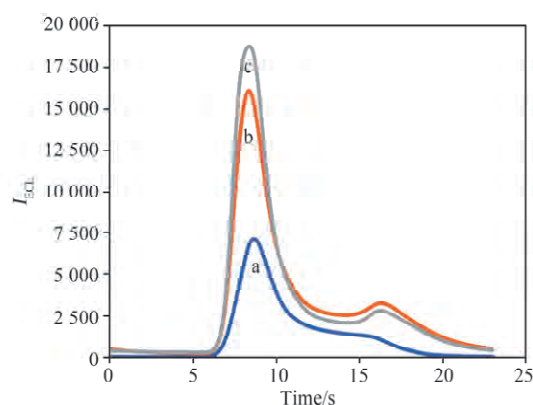
3.2 GCE/Co, Mo₂C-CNF@PDA/Ru 电化学发光行为的研究

3.2.1 GCE/Co, Mo₂C-CNF@PDA/Ru 电化学发光行为。

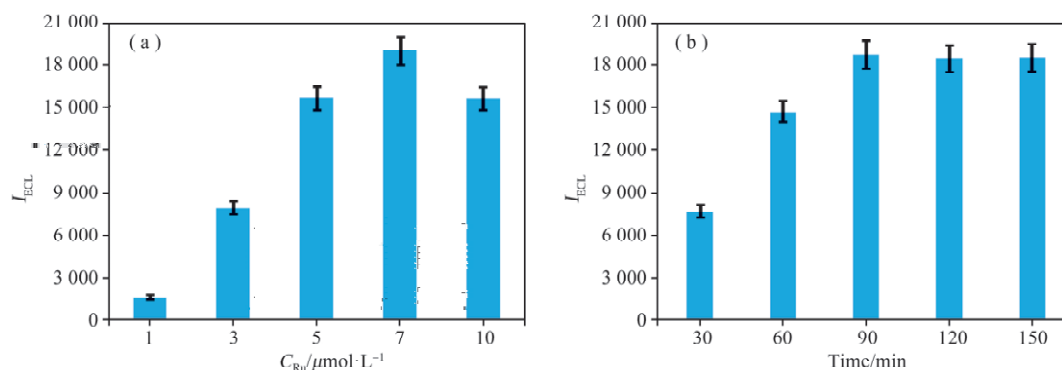
Ru(bpy)₃²⁺-TPA 体系是最为常见的电化学发光共反应体系。为了研究 GCE/Co, Mo₂C-CNF@PDA/Ru 的电化学发光行为,我们首先在不同浓度 TPA 溶液中进行 ECL 测量。如图 3 所示为 GCE/Co, Mo₂C-CNF@PDA/Ru 与不同浓度 TPA 共反应后的 ECL 信号变化情况。GCE/Co, Mo₂C-CNF@PDA/Ru 与 5 mmol·L⁻¹ TPA 共反应得到的 ECL 信号与 300 μmol·L⁻¹ TPA 共反应得到的 ECL 信号相比明显升高,说明 ECL 生物传感器的 ECL 信号强度与 TPA 浓度有关。

3.2.2 实验条件优化。信号探针 Ru 的表面覆盖密度会直接

影响传感器的 ECL 信号强度,表面覆盖密度过低,产生 ECL 信号的 Ru 数量较少,检测到的 ECL 信号强度较低;表面覆盖密度过高则会产生较大的空间位阻从而影响 ECL 信号强度。而 Ru 的表面覆盖密度直接取决于 Ru 的浓度,因此首先对 Ru 浓度进行了优化。如图 4(a)所示,当 Ru 浓度为 7 μmol·L⁻¹ 时, ECL 信号最强。因此选用 7 μmol·L⁻¹ 作为后续研究中 Ru 的结合浓度。图 4(b)显示了 ECL 信号强度与 Ru 结合时间的关系图。当结合时间为 90 min 时, ECL 信号有最大值并逐步趋于稳定。因此我们选用 90 min 为后续研究中 Ru 的结合时间。

图3 ECL 生物传感器在 a: 300 μmol·L⁻¹ TPA;b: 5 mmol·L⁻¹ TPA; c: 20 mmol·L⁻¹ TPA

浓度中的 ECL 响应曲线

图4 ECL 生物传感器的 ECL 强度与 (a) Ru 浓度, (b) Ru 结合时间之间的关系图。测试底液为 5 mmol·L⁻¹ TPA 溶液。误差棒表示以图中平均值为中心的测量标准差 ($n=3$) 的两倍的长度

3.2.3 GCE/Co, Mo₂C-CNF@PDA/Ru 检测 TPA 的性能。在最佳实验条件下测试了 GCE/Co, Mo₂C-CNF@PDA/Ru 与不同浓度的 TPA 共反应后的 ECL 信号,结果如图 5 所示,插图表示 TPA 浓度与 ECL 信号的线性关系。根据插图可知,当 TPA 浓度在 0.01~10 mmol·L⁻¹ 之间时, ECL 信号随 TPA 浓度的增大而增大,线性回归方程为 $I = 2\,931.1 \times C - 2\,967.3$, $R^2 = 0.995\,1$ 。

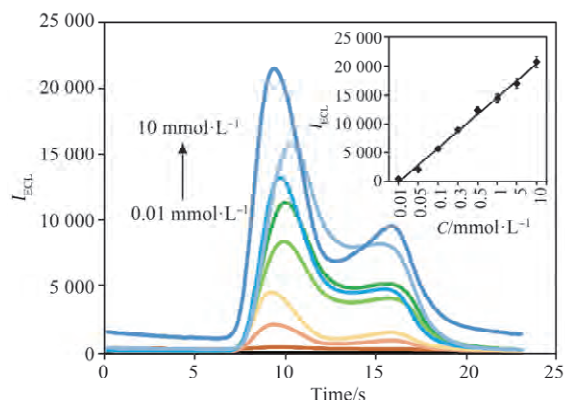


图5 传感器在不同浓度 TPA 溶液中的 ECL 信号变化, TPA 浓度分别为 0.01、0.05、0.1、0.3、0.5、1、5、10 mmol/L。插图为 ECL 信号与 TPA 浓度的对应关系。误差棒表示以图中平均值为中心的测量标准差 ($n=3$) 的两倍的长度

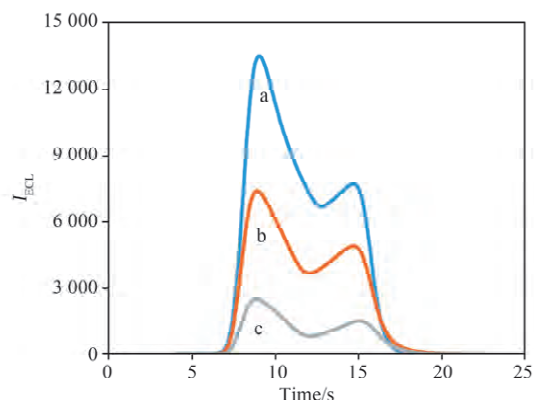


图6 ECL 生物传感器结合 a: 0, b: 2, c: 10 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ MMP-14 后在 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ TPA 溶液中的 ECL 响应曲线。电位范围为 0.2~1.35 V, 扫描速率为 100 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$

3.3 ECL 生物传感器检测 MMP-14

3.3.1 电化学发光传感器的可行性研究。为了证明所构建的 MMP-14 ECL 生物传感器是可行的,我们对 ECL 生物传感器在结合 MMP-14 前后的 ECL 信号变化情况进行了考察,结果如图 6 所示。传感器在结合 MMP-14 前 ECL 信号最强(曲线 a, 13 300),当 MMP-14 浓度由 2 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 增加至 10 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, ECL 信号由 7 152(曲线 b)进一步降低至 2 310(曲线 c)。实验结果表明, ECL 信号随着 MMP-14 浓度的增大在不断下降,这表明基于 VC-10 和 MMP-14 特异性结合检测 MMP-14 的方法是可行的,同时也表明所构建的传感器呈“signal off”型响应。ECL 信号呈现下降趋势是由于将目标物 MMP-14 捕获在电极表面进一步阻碍了 Ru 的电子转移。

3.3.2 实验条件优化。为了提高 MMP-14 ECL 生物传感器的检测性能,我们对 VC-10 的结合浓度及 MMP-14 的反应时间进行了优化。图 7(a)为 ECL 信号与捕获探针 VC-10 浓度之间的关系。VC-10 浓度在 5~15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, ECL 信号强度随着 VC-10 浓度的增大逐渐增大;而当 VC-10 浓度大于 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, ECL 信号强度逐渐减小(红色曲线);当 ECL 生物传感器与 MMP-14 结合后(蓝色曲线), ECL 信号强度随着 VC-10 浓度的增大而增大,当 VC-10 浓度为 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,信号强度达到了最大值。VC-10 浓度大于 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,由于空间位阻效应,信号强度逐渐减小,因此 VC-10 的最佳浓度为 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。图 7(b)为 ECL 信号强度与 MMP-14 的特异性结合时间之间的关系。从图中可以看出,当 MMP-14 的特异性结合时间低于 50 min 时, ECL 信号强度随着结合时间的增大而增大,而当结合时间高于 50 min 时, ECL 信号强度随着结合时间的增大而不断减小并趋于平缓,因此选用 50 min 作为 MMP-14 的最佳结合时间。

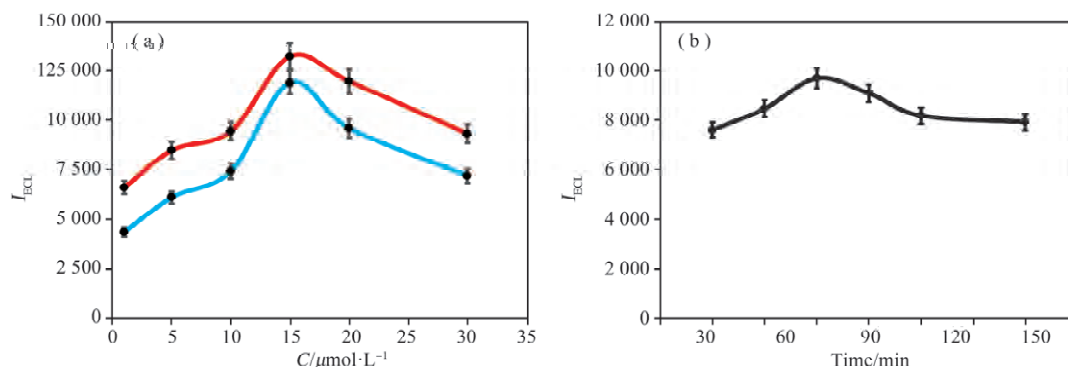


图7 (a) ECL 传感器与肽链 VC-10 结合浓度优化图:红色曲线为传感器未与 MMP-14 结合时的 ECL 信号变化,蓝色曲线为传感器与 MMP-14 相互作用后的 ECL 信号变化; (b) VC-10 与 MMP-14 结合时间优化图。测试所用 MMP-14 浓度为 2 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。误差棒表示以图中平均值为中心的测量标准差 ($n=3$) 的两倍的长度

3.3.3 电化学发光传感器检测 MMP-14 的性能。

为了考察所制备的 ECL 生物传感器的检测性能,在最佳实验条件下对不同浓度 MMP-14 进行定量检测。图 8 显示了传感器与不同浓度 MMP-14 相互作用后的 ECL 响应,插图表示 MMP-14 浓度与 ECL 信号强度之间的线性关系。从图 8 中的插图可以看出,当 MMP-14 浓度在 $1 \sim 10 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内时,随着 MMP-14 浓度的增大 ECL 信号强度不断减小,线性回归方程为 $I = -730.58C + 11\,993$ ($R^2 = 0.994\,1$),检测限为 $0.55 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

与其他检测 MMPs 的方法相比,我们所制备的 ECL 生物传感器具有更宽的线性范围和更高的灵敏度,对比情况如表 1 所示^[15,18-20]。例如,电化学发光生物传感器检测 MMP-2,其检测限为 $5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[18];电化学交流阻抗法检测 MMP-14 的检测限为 $0.19 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[15];利用一种基于 $\text{A}\beta$ 1-42 固定化多层二硫化钼场效应晶体管检测 MMP-9,其检测限为 $0.92 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[19]。

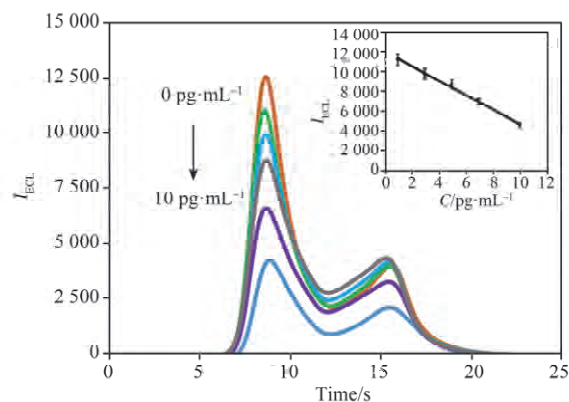


图 8 传感器与不同浓度 MMP-14 相互作用后的 ECL 信号变化。

MMP-14 的浓度分别为 0、1、3、5、7、10 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。插图为 ECL 信号与 MMP-14 浓度的对应关系。误差棒表示以图中平均值为中心的测量标准差 ($n=3$) 两倍的长度

表 1 电化学发光生物传感器与其他检测方法对比

参考文献	MMP 类型	方法	线性范围($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	检测限($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
[15]	MMP-14	电化学阻抗谱	1~10	0.19
[18]	MMP-2	电化学发光	10~300	5
[19]	MMP-9	场效应晶体管	0.92~92 000	0.92
[20]	MMP-2	电化学	0.05~200	5×10^{-4}
[20]	MMP-7	电化学	$5 \times 10^{-4} \sim 50$	5×10^{-4}
本工作	MMP-14	电化学发光	$1 \times 10^{-3} \sim 0.01$	5.5×10^{-4}

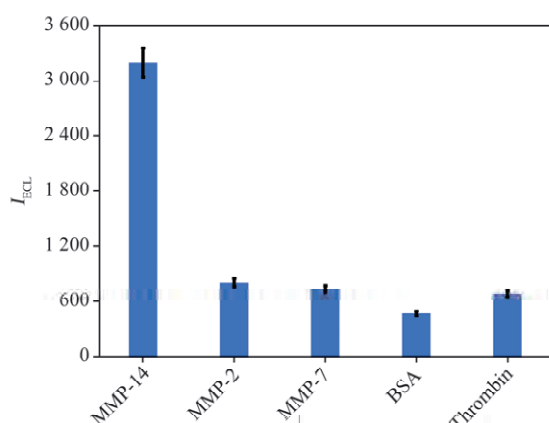


图 9 传感器分别与 $5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ MMP-14 和 $100 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ MMP-2、MMP-7、BSA 及 Thrombin 相互作用后 ECL 信号变化情况。误差棒表示以图中平均值为中心的测量标准差 ($n=3$) 的两倍的长度

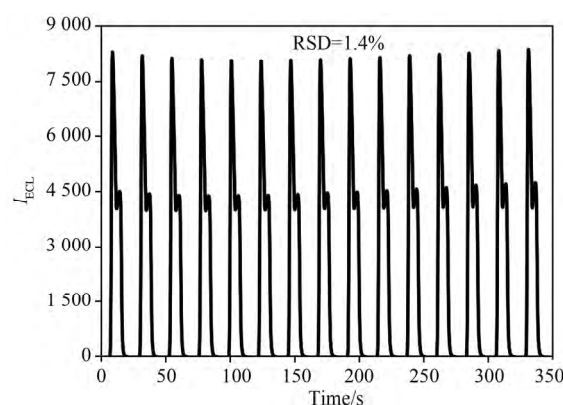


图 10 ECL 传感器的稳定性扫描图谱。
传感器结合 MMP-14 的浓度为 $5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 扫描圈数为 15 圈

传感器的选择性和稳定性是评价传感器的重要指标。我们选用 MMP-2、MMP-7、BSA 及 Thrombin 四种典型的蛋白作为干扰,对传感器的特异性进行了考察。从图 9 中可以观察到,传感器与 $5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ MMP-14 相互作用后的 ECL 信号变化值远大于传感器与 $100 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 干扰蛋白相互作用后的 ECL 信号

变化值。结果表明,所制备的 ECL 生物传感器对 MMP-14 的检测具有良好的特异性。接着对传感器的稳定性进行了考察,图 10 显示了传感器与 $5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ MMP-14 结合后扫描 15 圈的 ECL 图谱,结果显示得到的 ECL 信号的相对标准偏差(RSD)低于 1.5%,表明该 ECL 生物传感器具有较高的稳定性。

3.3.4 加标回收实验。为了评估 ECL 生物传感器的实用性,将不同浓度的 MMP-14 加入健康人体血清中进行加标回收实验(血清来自西北大学校医院)。实验结果如表 2 所示,不同浓度的 MMP-14 的加标回收率为 95% ~ 103.3%,RSD 为 2.1% ~ 3.0%。上述结果表明该 ECL 生物传感器可用于人体血清中 MMP-14 的定量检测。

表 2 ECL 生物传感器检测血清中 MMP-14 的加标回收实验

样品	加标量/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收量/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD(%, $n=5$)	加标回收率(%, $n=5$)
1	2.0	1.9	2.5	95.0
2	4.0	4.1	2.1	102.5
3	6.0	6.2	3.0	103.3

4 结论

基于 MMP-14 的血红素结构域(PEX-14)和 VC-10 之间的相互作用设计的非标记型 ECL 生物传感器实现了对 MMP-14 的定量检测。在最佳实验条件下,该 ECL 生物传感器具有较高的灵敏度(其线性范围为 $1 \sim 10 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$,检测限为 $0.55 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$),较强的特异性及良好的稳定性。该工作为临床检测癌症标志物 MMP-14 提供了一个新平台。

参 考 文 献

- [1] VERMA R P, HANSCH C. Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical-biological functions and (Q) SARs[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007, 15(6): 2223-2268.
- [2] DOLLERY C M, MCEWAN J R, HENNEY A M. Matrix Metalloproteinases and cardiovascular disease[J]. *Circulation Research*, 1995, 77(5): 863-868.
- [3] SABEH F, LI X Y, SAUNDERS T L. Secreted versus membrane-anchored collagenases relative roles in fibroblast-dependent collagenolysis and invasion[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(34): 23001-23011.
- [4] AMARA N, THOLEN M, BOGYO M. Chemical tools for selective activity profiling of endogenously expressed MMP-14 in multicellular models[J]. *ACS Chemical Biology*, 2018, 13(9): 2645-2654.
- [5] ITOH Y, SEIKI M. MTI-MMP: a potent modifier of pericellular microenvironment[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2006, 206(1): 1-8.
- [6] LOWERY A, ONISHKO H, HALLAHAN D E, et al. Tumor-targeted delivery of liposome-encapsulated doxorubicin by use of a peptide that selectively binds to irradiated tumors[J]. *Journal of Controlled Release*, 2011, 150(1): 117-124.
- [7] MANJAPPA A S, CHAUDHARI K R, VENKATARAJU M P, et al. Antibody derivatization and conjugation strategies: Application in preparation of stealth immunoliposome to target chemotherapeutics to tumor[J]. *Journal of Controlled Release*, 2011, 150(1): 2-22.
- [8] BOLDUC O R, PELLETIER J N, MASSON J F. SPR biosensing in crude serum using ultralow fouling binary patterned peptide SAM[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(9): 3699-3706.
- [9] WANG Y H, SHEN P, LI C Y, et al. Upconversion fluorescence resonance energy transfer based biosensor for ultrasensitive detection of matrix metalloproteinase-2 in blood[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(3): 1466-1473.
- [10] KIM Y P, LEE B S, KIM E, et al. Activity-based assay of matrix metalloproteinase on nonbiofouling surfaces using time-of-flight secondary ion mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(13): 5094-5102.
- [11] QI H, ZHANG C. Electrogenated chemiluminescence biosensing[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(1): 524-534.
- [12] WEN P, ZONG M H, LINHARDT R J, et al. Electrospinning: A novel nanoencapsulation approach for bioactive compounds[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 70: 56-68.
- [13] HUANG J, LIU Y, YOU T. Carbon nanofiber based electrochemical biosensors: a review[J]. *Analytical Methods*, 2010, 2: 202-211.

(下转第 84 页)

- catalytic hydrogen production efficiency and degradation ability [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, 641: 128577.
- [52] XIE Y, RAHMAN M, KAREEM S, et al. Facile synthesis of CuS/MXene nanocomposites for efficient photocatalytic hydrogen generation [J]. *CrystEngComm*, 2020, 22: 2060-2066.
- [53] DONG P, WANG Y, ZHANG A, et al. Platinum single atoms anchored on a covalent organic framework: boosting active sites for photocatalytic hydrogen evolution [J]. *ACS Catalysis*, 2021, 11(21): 13266-13279.
- [54] ZANG Y, WANG R, SHAO P, et al. Prefabricated covalent organic framework nanosheets with double vacancies: anchoring Cu for highly efficient photocatalytic H₂ evolution [J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2020, 8: 25094-25100.
- [55] LUO M, YANG Q, YANG W, et al. Defects engineering leads to enhanced photocatalytic H₂ evolution on graphitic carbon nitride-covalent organic framework nanosheet composite [J]. *Small*, 2020, 16(20): 2001100.
- [56] HUANG J, TAO J, LIU G, et al. In situ construction of 1D CdS/2D Nb₂CT_x MXene Schottky heterojunction for enhanced photocatalytic hydrogen production activity [J]. *Applied Surface Science*, 2022, 573: 151491.
- [57] DING M, XIAO R, ZHAO C, et al. Evidencing interfacial charge transfer in 2D CdS/2D MXene Schottky heterojunctions toward high-efficiency photocatalytic hydrogen production [J]. *Solar RRL*, 2021, 5(2): 2000414.
- [58] PENG C, WEI P, LI X, et al. High efficiency photocatalytic hydrogen production over ternary Cu/TiO₂@Ti₃C₂T_x enabled by low-work-function 2D titanium carbide [J]. *Nano Energy*, 2018, 53: 97-107.
- [59] XU Q, MA D, YANG S, et al. Novel g-C₃N₄/g-C₃N₄ S-scheme isotype heterojunction for improved photocatalytic hydrogen generation [J]. *Applied Surface Science*, 2019, 495(30): 143555.
- [60] YOU Y, WANG S, XIAO K, et al. Z-Scheme g-C₃N₄/Bi₄NbO₈Cl heterojunction for enhanced photocatalytic hydrogen production [J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(12): 16219-16227.
- [61] JIA J, SUN W, ZHANG Q, et al. Inter-plane heterojunctions within 2D/2D FeSe₂/g-C₃N₄ nanosheet semiconductors for photocatalytic hydrogen generation [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2020, 261: 118249.
- [62] SU P, LIU H, JIN Z. Hierarchical Co₃(PO₄)₂/CuI/g-C₃N₄ S-scheme heterojunction for efficient photocatalytic hydrogen evolution [J]. *Inorganic Chemistry*, 2021, 60(24): 19402-19413.
- [63] JIN Z, WANG X, HAO X, et al. Graphdiyne based GDY/CuI/NiO parallel double S-scheme heterojunction for efficient photocatalytic hydrogen evolution [J]. *2D Materials*, 2022, 9: 025014.

(责任编辑:蒲锡鹏)

(上接第 72 页)

- [14] ZARRABI K, DUFOUR A, LI J, KUSCU C, et al. Inhibition of matrix metalloproteinase 14 (MMP-14)-mediated cancer cell migration [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(38): 33167-33177.
- [15] MA F, YAN J, SUN L, et al. Electrochemical impedance spectroscopy for quantization of matrix Metalloproteinase-14 based on peptides inhibiting its homodimerization and heterodimerization [J]. *Talanta*, 2019, 205: 120142.
- [16] ZHANG Z J, CHEN X Y. Carbon nanofibers derived from bacterial cellulose: surface modification by polydopamine and the use of ferrous ion as electrolyte additive for collaboratively increasing the supercapacitor performance [J]. *Applied Surface Science*, 2020, 519: 146252.
- [17] DUAN Y H, XU L, SONG W Y, et al. Label-free electrogenerated chemiluminescence biosensor for quantization of CD44 on basis of its heterodimerization with matrix metalloproteinase-14 [J]. *Microchemical Journal*, 2022, 182: 107872.
- [18] GAO H, DANG Q, XIA S, et al. Highly selective electrogenerated chemiluminescence biosensor for simultaneous detection of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-7 in cell secretions [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 253: 69-76.
- [19] PARK H, LEE H, JEONG S H, et al. MoS₂ field-effect transistor-amyloid-β1-42 hybrid device for signal amplified detection of MMP-9 [J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(13): 8252-8258.
- [20] HWANG S Y, SEO I J, LEE S Y, et al. Microfluidic multiplex biochip based on a point-of-care electrochemical detection system for matrix metalloproteinases [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2015, 756: 118-123.

(责任编辑:蒲锡鹏)