



自然科学基金项目进展专栏

评述

化学生物学专刊

金纳米粒子与蛋白质的相互作用及其应用

叶春洁^{①②}, 赵玉云^{②③}, 陈嵘^{①*}, 蒋兴宇^{②*}

① 武汉工程大学化工与制药学院, 武汉 430073

② 国家纳米科学中心, 北京 100190

③ 清华大学化学系, 北京 100084

*通讯作者, E-mail: rchenhku@hotmail.com; xingyujiang@nanoctr.cn

收稿日期: 2012-07-25; 接受日期: 2012-08-20; 网络版发表日期: 2012-11-09

doi: 10.1360/032012-393

摘要 金纳米粒子与蛋白质间存在多种作用方式, 包括物理吸附、化学共价结合以及非共价特异性吸附等. 金纳米粒子表面等离子体共振效应引起可见光区的特征吸收及表面增强拉曼散射, 常用来研究金纳米粒子与蛋白质间的相互作用. 金纳米粒子与蛋白质间的作用与纳米粒子的尺寸、表面化学及蛋白质的大小、电荷、氨基酸残基有关. 利用金纳米粒子与蛋白质的相互作用及纳米金的谱学性质, 可以对疾病或环境污染进行简单、高效、低成本检测, 也可用于疾病治疗.

关键词金纳米粒子
蛋白质
相互作用
检测
疾病治疗

1 引言

蛋白质是生命的物质基础, 在体内执行多种生物学功能, 如酶的催化、能量运载和储存、免疫保护等. 某些蛋白质的高表达与疾病的发生有关, 常作为疾病检测的信号, 调节蛋白质的表达则可实现疾病治疗^[1]. 纳米技术的发展极大地提高了疾病检测的灵敏度和药物的疗效, 其中金纳米粒子因其特殊的物理化学性质而得到广泛应用. 金纳米粒子的一个重要的光学特征是局域表面等离子体共振效应(local surface plasma resonance, LSPR), 入射光与纳米金表面等离子体发生共振, 纳米金会吸收与共振频率相同的光波, 形成其特征吸收光谱. 直径为 5~20 nm 的纳米金的特征吸收波长在 520 nm 左右, 溶液呈现鲜亮的酒红色, 随着尺寸增大或纳米颗粒间距变小, 吸收波长红移, 溶液颜色呈紫色、蓝色或灰色, 甚至发生聚沉^[2]. 利用纳米金的这种颜色变化, 可对蛋白质、小分子、金属离子等进行可视化检测, 实现疾病、环境相关问题的简单、实时、快速、低成本监测^[3-6].

目前已有各种基于金纳米粒子的免疫试纸商品, 如早孕试纸和 HIV 试纸条. 金纳米粒子本身的 LSPR 效应引起的光热效应可用于医疗^[7]. 其他特点, 如对巯基、氨基、磷等具有高亲和性而容易进行表面修饰, 较大的比表面积使所负载的药物呈现局部高浓度, 纳米粒子易于被细胞吞噬, 低细胞毒性等, 使其作为优良的药物载体而用于疾病治疗^[8]. 研究金纳米粒子与蛋白质的相互作用为其生物医学应用奠定了基础. 本文从金纳米粒子与蛋白质的相互作用出发, 介绍了利用金纳米粒子光学性质进行蛋白质、分子、重金属离子的检测, 以及金纳米粒子在疾病治疗方面的应用.

2 金纳米粒子与蛋白质的相互作用

2.1 金纳米粒子与蛋白质间的作用方式

金纳米粒子与蛋白质之间的相互作用方式有物理吸附、化学共价结合和非共价特异性吸附等.

金纳米粒子与蛋白质间的物理吸附主要来源之

一是纳米粒子表面配体与带电荷的蛋白质间发生静电吸附. 金纳米粒子表面的配体可带正电荷、负电荷或不带电荷, 决定了与之发生相互作用的蛋白质的种类及相互作用强度. 柠檬酸、酒石酸、硫辛酸等含羧基的化合物稳定的金纳米粒子易吸附带正电荷的蛋白质. 免疫球蛋白 G(IgG)的等电点为 7, 在 pH 值为 5.5 的溶液中, 正电性的 IgG 可通过静电作用固定在上述金纳米粒子的表面^[9, 10]. 蛋白质的正电性越强, 与负电性的纳米粒子间的静电相互作用也就越强^[11]. 此外, 金纳米粒子还以范德华力、亲疏水作用和蛋白质相互作用.

化学共价结合包括含有巯基的蛋白质与金纳米粒子表面形成 Au-S 键而发生化学吸附作用, 或蛋白质的 N 端与金纳米粒子表面修饰的羧基分子通过碳二亚胺盐酸盐/N-羟基琥珀酰亚胺(EDC/NHS)进行酰胺键偶联. 金纳米粒子与半胱氨酸的巯基可形成 Au-S 键, 含有四半胱氨酸基序(tetracysteine motif, C-C-P-G-C-C)的蛋白质可牢固地吸附于金纳米粒子表面, 不能被二硫苏糖醇(DTT)置换^[12]. 这种方法可提高蛋白质与金纳米粒子的亲和性, 同时保留蛋白质的活性部位, 减少其他分子与金纳米粒子间的非特异性吸附. 但是该方法需要对目标蛋白进行半胱氨酸基序修饰, 增加了应用成本. 相比而言, EDC/NHS 活化金纳米粒子表面羧基来偶联蛋白质的方法更为简单和普遍^[13].

金纳米粒子与蛋白质的非共价特异性吸附主要是指金纳米粒子表面分子可特异性地结合蛋白质, 如抗原-抗体、生物素-亲和素^[14]、适体(aptamer)/配体(ligand)-受体(receptor)^[15]、分子-分子结合蛋白^[16]等系统. 硫辛酸小分子修饰的金纳米粒子通过偶联钴化合物而特异性地连接组氨酸标记的蛋白质^[17]. 这种作用方式可以减少蛋白质与金纳米粒子间的非特异性吸附, 提高纳米粒子与蛋白质的利用效率.

2.2 金纳米粒子与蛋白质相互作用分析方法

金纳米粒子与蛋白质相互作用的分析方法, 除了常用作蛋白质分析的傅立叶变换红外光谱(FTIR)、圆二色谱(CD)、荧光光谱、凝胶电泳以及质谱等方法外^[18], 基于金纳米粒子 LSPR 效应的表面等离子体共振光谱、表面增强拉曼光谱(SERS)及紫外-可见吸收光谱(UV-vis)等技术的应用更广泛.

当蛋白质吸附在或结合于金纳米粒子上后, 将

改变纳米粒子表面等离子体共振性质, 一方面使金纳米粒子尺寸发生变化或改变其聚集状态, 其可见光吸收光谱发生红移, 溶液颜色变成紫色或蓝色^[19]; 另一方面改变金纳米粒子表面电荷, 从而引起界面介电常数的变化, 导致入射光共振角或共振波长的变化, 通过共振参数的变化可以测定体系中的目标蛋白^[2, 20]. 金纳米粒子与具有特殊拉曼信号的物质如孔雀绿异硫氰酸盐、蛋白质等结合后, 可以增强分子的拉曼散射信号^[21], 获得表面增强拉曼散射信号, 从而探测金纳米粒子与蛋白质发生相互作用. 直接利用金纳米粒子在分散和团聚时显现不同的颜色的比色测定法, 即分散时酒红色, 团聚时蓝紫色, 为可视化检测金纳米粒子与蛋白质的相互作用提供了一种极为便捷的方法, 具有良好的应用前景.

2.3 影响金纳米粒子与蛋白质相互作用的因素

金纳米粒子与蛋白质的相互作用方式及其作用强度, 取决于金纳米粒子的表面化学、尺寸及蛋白质的种类. 含巯基、氨基、磷等的化合物及表面活性剂等可构成金纳米粒子的表面化学, 纳米粒子的尺寸则可通过改变实验条件如还原剂、反应温度、稳定剂等控制.

在 pH 7.4 的溶液中, 柠檬酸钠稳定的金纳米粒子与等电点大于 7 的蛋白质具有强烈的相互作用, 使溶液出现颜色变化或聚沉等凝絮现象(图 1(a))^[22]. 吐温 80、聚乙二醇为端基的十一烷基硫醇(PEG-thiol)、聚(L-赖氨酸)-接枝-聚(乙二醇)(PLL-g-PEG)修饰的金纳米粒子与蛋白质的相互作用减弱, 溶液凝絮值减小(图 1(b, c, f)). PLL-PEG、PEG-thiol 修饰的金纳米粒子表面再修饰吐温可进一步减少纳米金与蛋白质的相互作用(图 1(d, g)), 而在修饰 PLL-PEG 或 PEG-thiol 之前先修饰吐温得到的纳米金, 与蛋白质作用最弱(图 1(e, h)).

金纳米粒子表面具有相同密度的聚乙二醇硫醇分子(PEG-thiol, 分子量 5 KD)时, 所吸附的血清蛋白随着纳米粒子的尺寸增加而减少(图 2)^[23]. 金纳米粒子表面 PEG 密度较低时, 巨噬细胞对金纳米粒子的吞噬作用主要依赖于所吸附的血清蛋白, 蛋白量越高, 吞噬量越小. 金纳米粒子表面 PEG 密度较高时, 巨噬细胞对纳米粒子的吞噬不依赖于血清蛋白, 而对纳米粒子的尺寸具有选择性, 较小的纳米粒子的吞噬量较低, 因而小尺寸的纳米粒子具有较长的血

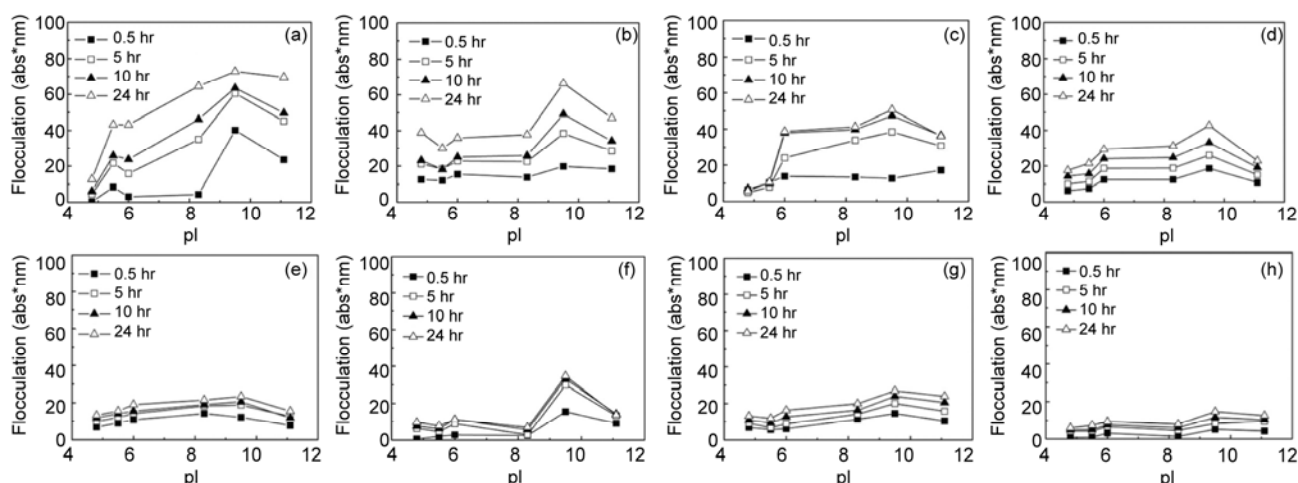


图 1 不同稳定剂稳定的金纳米粒子在不同等电点蛋白质溶液中的絮凝程度(引自文献[22]). 图中金纳米粒子表面分子分别为 (a) 柠檬酸盐; (b) Tween 80; (c) PLL-PEG; (d) PLL-PEG 与 Tween 80 共吸附; (e) 先吸附 Tween 80 再吸附 PLL-PEG; (f) PEG-thiol; (g) PEG-thiol 与 Tween 80 共吸附; (h) 先吸附 Tween 80 再吸附 PEG-thiol

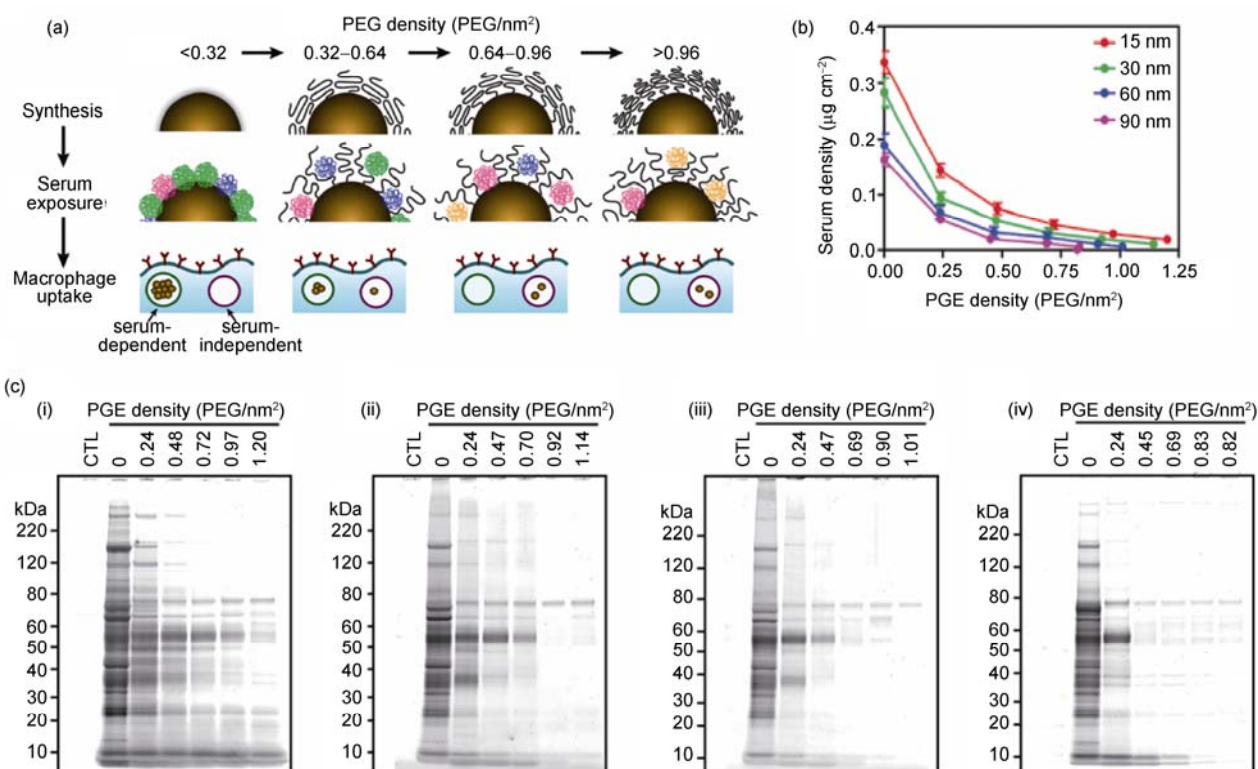


图 2 金纳米粒子的尺寸和表面 PEG 的密度决定血清蛋白的吸附量(引自参考文献[23]). (a) 金纳米粒子表面的 PEG 密度对血清蛋白的吸附的影响及巨噬细胞对纳米粒子的吞噬; (b) 四种尺寸的纳米粒子表面修饰不同密度的 PEG 时的血清密度; (c) 定性分析修饰有不同密度 PEG 的金纳米粒子吸附的血清蛋白. 纳米粒子直径分别为 (i) 15 nm; (ii) 30 nm; (iii) 60 nm; (iv) 90 nm

液循环时间. 金纳米粒子尺寸还会影响它与蛋白质的结合位点. 直径分别为 1.5、2.0 和 2.9 nm 的金纳米

粒子与人血清蛋白结合后, 对人血清蛋白色氨酸的光致发光淬灭效率依次增加, 这是因为较大尺寸的

金纳米粒子表面与色氨酸残基间的距离更近^[24].

3 金纳米粒子与蛋白质相互作用在检测与诊疗方面的应用

3.1 金纳米粒子在检测方面的应用

尽管目前已有多种蛋白质检测系统,但是在选择性、灵敏度、成本等方面仍存在一定的局限性,特别是近年来食品中蛋白质含量的现场快速检测需求日益增多,所以迫切需要发展简单、快捷、低成本的检测方法.基于金纳米粒子与蛋白质相互作用的检测方法,在疾病、食品安全和环境监测等方面有着极大的应用价值.

3.1.1 在蛋白质及分子检测方面的应用

通过物理吸附、化学共价结合、非共价特异性吸附等方法可以有效地将蛋白质固定在金纳米粒子的表面,进而特异性地与目标分子结合.检测方式有3种,一是金纳米粒子与目标分子作用后,引起金纳米粒子聚集使得溶液颜色发生变化^[25],荧光淬灭^[26]或增强^[27];二是金纳米粒子先与分子A结合后聚集引起溶液颜色变化,当加入与分子A具有很强亲和力的分子B时,纳米粒子间的聚集消除,溶液颜色恢复^[28, 29];三是目标蛋白发生化学反应后的产物引起金纳米粒子光学性质的变化来进行检测.

可根据体系中蛋白质如蛋白酶或分子的功能来特异性的检测目标分子.一种是利用金纳米粒子与蛋白间的间接作用来检测目标分子.当罗丹明B静电吸附于金表面时,罗丹明B的荧光淬灭,同时罗丹明B可以保持金纳米粒子稳定地分散在水溶液中,溶液呈红色^[30](图3).乙酰胆碱酶可水解硫代乙酰胆碱生成硫代胆碱,从而与金纳米粒子形成Au-S键,而置换纳米粒子表面的罗丹明B,使得罗丹明B恢复荧光,同时因为罗丹明B不再保持纳米粒子在溶液中的分散而产生聚集,溶液颜色由红色变为蓝色.该方法对乙酰胆碱酶的检测限可达到 0.1 mU mL^{-1} .因为乙酰胆碱酶的浓度可以预示阿尔茨海默病,这个方法可以高灵敏度检测小鼠模型脑脊液中乙酰胆碱酶水平而有望形成早期检测阿尔茨海默病的新方法.在同一体系中,当溶液中含有有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂等乙酰胆碱酶抑制剂时,会抑制乙酰胆碱酶

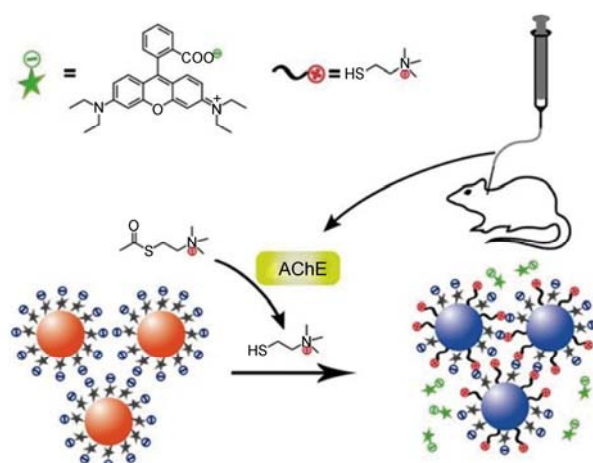


图3 金纳米粒子用于检测阿尔茨海默病模型小鼠脑脊液中的乙酰胆碱酶(引自参考文献[30])

的活性而减少硫代胆碱的产生,因而金纳米粒子溶液不会变蓝,同时罗丹明B也不会恢复荧光^[31].该方法对胺甲萘、二嗪农、马拉息昂、甲磷的检测限可分别为 $0.1, 0.1, 0.3$ 和 1 ug L^{-1} .该方法可实现这些物质的快速现场检测,有望在保障食品安全方面发挥作用.另一种思路则是利用蛋白质修饰的金纳米粒子直接与目标分子发生作用来达到检测的目的.过氧化氢酶修饰的荧光金纳米粒子可特异性的催化过氧化氢与纳米粒子间的反应而使得纳米粒子的荧光淬灭,过氧化氢浓度在 $100 \text{ nmol L}^{-1} \sim 100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ 的范围内时,荧光强度的淬灭呈现较好的线性关系,从而实现过氧化氢的定量检测,该方法可潜在地应用于生物体内活性氧(ROS)的检测(图4(a))^[32].

目标分子与金纳米粒子表面蛋白质间的亲和性可以改变体系原有的荧光或其他光学性质.目标分子可抑制发光物质(如荧光金量子点等)与金纳米粒子表面受体间的结合,影响发光物的荧光淬灭效率,达到检测生物分子或小分子的目的^[33, 34].金膜表面修饰的可卡因抗原载体蛋白可以与金纳米粒子表面的单克隆抗可卡因抗体特异性的结合,而可卡因与抗体间具有更强的相互作用,从而阻碍了抗体与抗原的结合,SPR信号强度发生改变(图4(b))^[35].金纳米粒子表面的可卡因适配体,在可卡因的存在下,可与可卡因结合,从而释放之前与其相结合的化学发光物质,金纳米粒子还可增强发光物质的化学发光信号,从而放大可卡因的检测信号^[36].

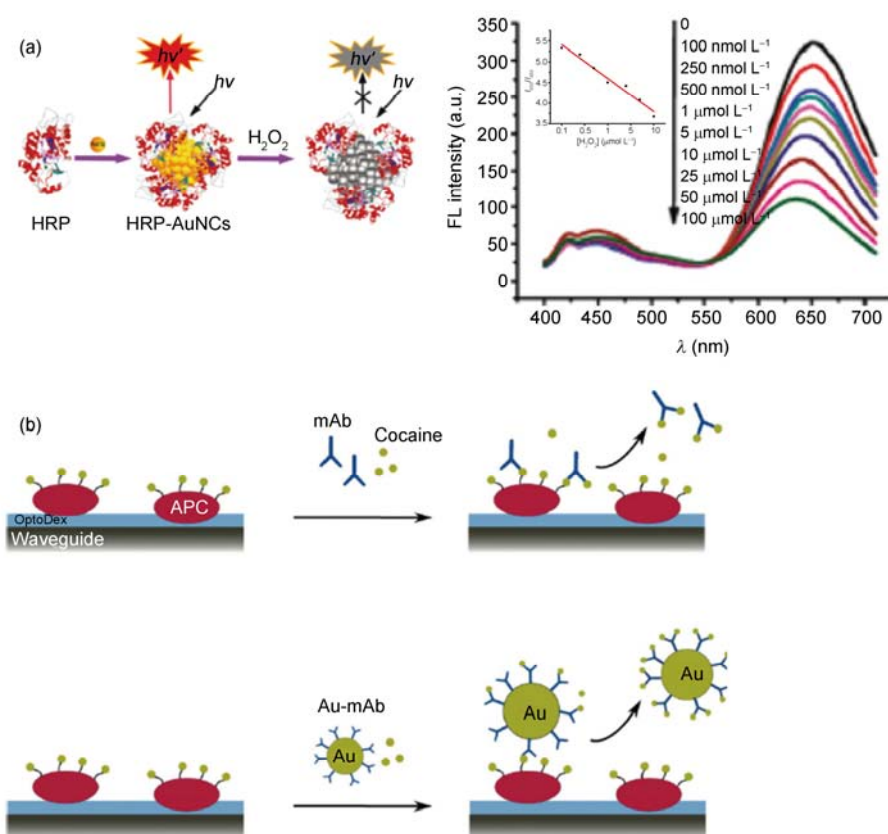


图 4 (a) 过氧化氢酶修饰的荧光金纳米粒子测定过氧化氢(引自参考文献[32]); (b) 金纳米粒子增强 SPR 信号以检测可卡因(引自参考文献[35])

点击化学(click chemistry)可共价连接金纳米粒子与蛋白质,或催化纳米粒子间的反应,获得可肉眼读出的反应结果^[37, 38].具体反应是,叠氮和炔基可在室温下的水溶液中,在Cu(I)的催化下高效、特异性地发生交联反应^[39],分别修饰了叠氮和炔基的金纳米粒子可形成稳定分散的溶液.在Cu离子存在下,纳米粒子发生团聚,溶液颜色从酒红色变为蓝紫色甚至无色(完全沉淀);如果没有Cu,溶液则维持本来的酒红色.因为Cu(II)可以在水溶液中很容易地被定量还原成Cu(I),所以该纳米粒子体系便可以很容易地检测Cu.因为Cu是催化剂,而且金纳米粒子在浓度很低的时候都可以用肉眼看到其颜色变化,所以该检测方法具有较高的灵敏度(达到亚微摩级);因为只有Cu(I)可以催化该反应,高浓度的其他金属离子和其他物质都不会干扰该检测,所以该检测体系的选择性高.此外,因为体系中的功能基团,如叠氮和炔基,和生命中的化学分子都不会反应,这个检测方

法特别适用于生物检测领域.例如,利用CuO纳米粒子标记的抗体,可成功地把Cu检测体系用于免疫检测,并且可以用肉眼进行高灵敏度和高选择性的艾滋病病毒HIV检测^[40, 41](图5(a)).该系统是通过抗原-抗体反应,将二抗修饰的CuO颗粒富集于孔板,抗坏血酸将盐酸所释放的Cu(II)还原为Cu(I),Cu(I)催化修饰在金纳米粒子表面的炔基和叠氮分子发生点击反应而使纳米粒子聚集,溶液由红色变成紫色或蓝色,从而实现HIV病毒的可视化检测.这种方法对HIV抗体检测比现有商用试剂盒可以提高数倍,而且完全不依赖于大型仪器.用蛋白质作为还原剂将Cu(II)还原为Cu(I),催化金纳米粒子表面的炔基和叠氮分子进行点击反应而使金纳米粒子聚集,根据溶液颜色的变化还可定量检测蛋白含量^[42](图5(b)).此方法可用于牛奶产品中蛋白质含量测定,为蛋白质食品质量监测提供了一种简便的方法.

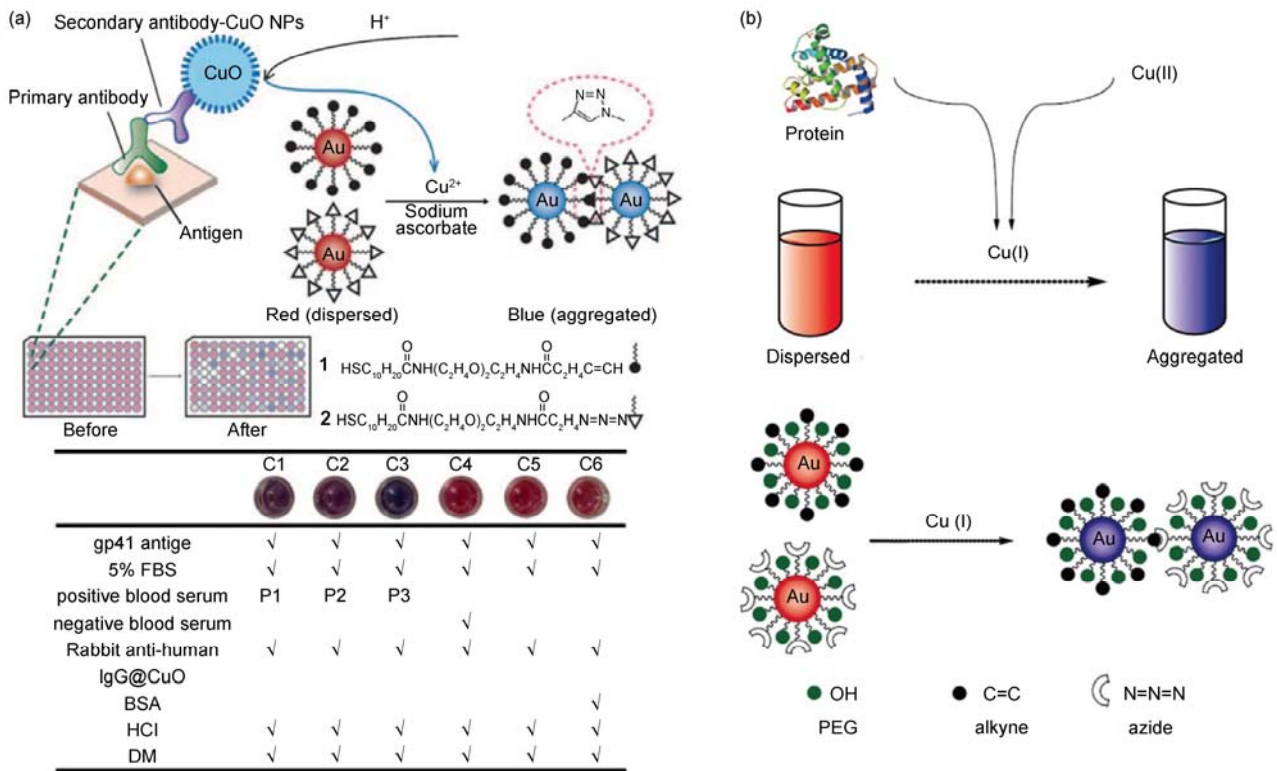


图5 (a) 金纳米粒子肉眼检测 HIV 病毒感染的血清样品(引自参考文献[41]); (b) 金纳米粒子定量检测蛋白质(引自参考文献[42])

3.1.2 在重金属离子检测方面的应用

环境中重金属离子(如 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 等)严重地污染环境并危害人类健康. 金纳米粒子对重金属离子的检测主要基于两种机理: 一是金纳米粒子的 Au 原子直接与重金属离子作用形成 $M^{2+}-Au^+$ 引起金纳米粒子的聚集而使纳米粒子荧光淬灭^[43]; 二是金纳米粒子表面修饰的分子^[44]、DNA^[45]或蛋白质^[46]与重金属离子结合引起金纳米粒子聚集产生颜色变化或荧光淬灭.

利用金纳米粒子与蛋白质间的物理吸附, 可以将蛋白质修饰到金纳米粒子上, 通过蛋白质对金属离子的选择性来检测溶液中的重金属离子. 吸附有木瓜蛋白酶的金纳米粒子在 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 和/或 Cu^{2+} 存在下发生聚集, 溶液由红色变成蓝色而实现环境污染重金属离子的可视化检测(图 6), 主要是由于木瓜蛋白酶的七个半胱氨酸残基可以选择性结合 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Cu^{2+} ^[47]. 此检测体系的灵敏度受金纳米粒子尺寸的影响. 13 nm 的金纳米粒子对 Hg^{2+} 的检测限为 $2 \mu mol L^{-1}$, 33 nm 的金纳米粒子检测限为 $400 nmol L^{-1}$,

而 42 nm 金纳米粒子的检测限降低到 $200 nmol L^{-1}$. 牛血清白蛋白(BSA)、溶菌酶等蛋白质修饰的荧光金纳米粒子对 Hg^{2+} 具有高选择性、高灵敏度^[48, 49]. 利用 BSA 在等电点下易自组装成膜的特性, BSA-Au 荧光金纳米粒子可以形成一个具有较强荧光的金纳米粒子薄膜^[50]. 该薄膜的荧光可以被 Cu^{2+} 和 Hg^{2+} 淬灭, Cu^{2+} 与 Hg^{2+} 的区别是加入组氨酸后, 被 Cu^{2+} 淬灭的荧光可以恢复, 而 Hg^{2+} 所引起的荧光淬灭是不可逆的. 硝化纤维膜(NCM)捕获 BSA 修饰的金纳米粒子形成 BSA-Au NPs/NCM, 铅离子(Pb^{2+})和 2-巯基乙醇作为浸蚀剂可以使金浸出而使红色纤维膜变为无色, 从而显著的降低膜的 SPR 吸光率^[51]. 铜离子可以有效地抑制 Pb^{2+} 和 2-巯基乙醇的对金的浸出而保持纳米金纤维膜的 SPR 吸光率, 该系统可高选择性的检测铜离子且检测限可达到纳摩尔每升.

3.2 金纳米粒子在疾病治疗方面的应用

3.2.1 用于细菌感染治疗

纳米材料在抗菌方面的应用已有诸多报道, 其

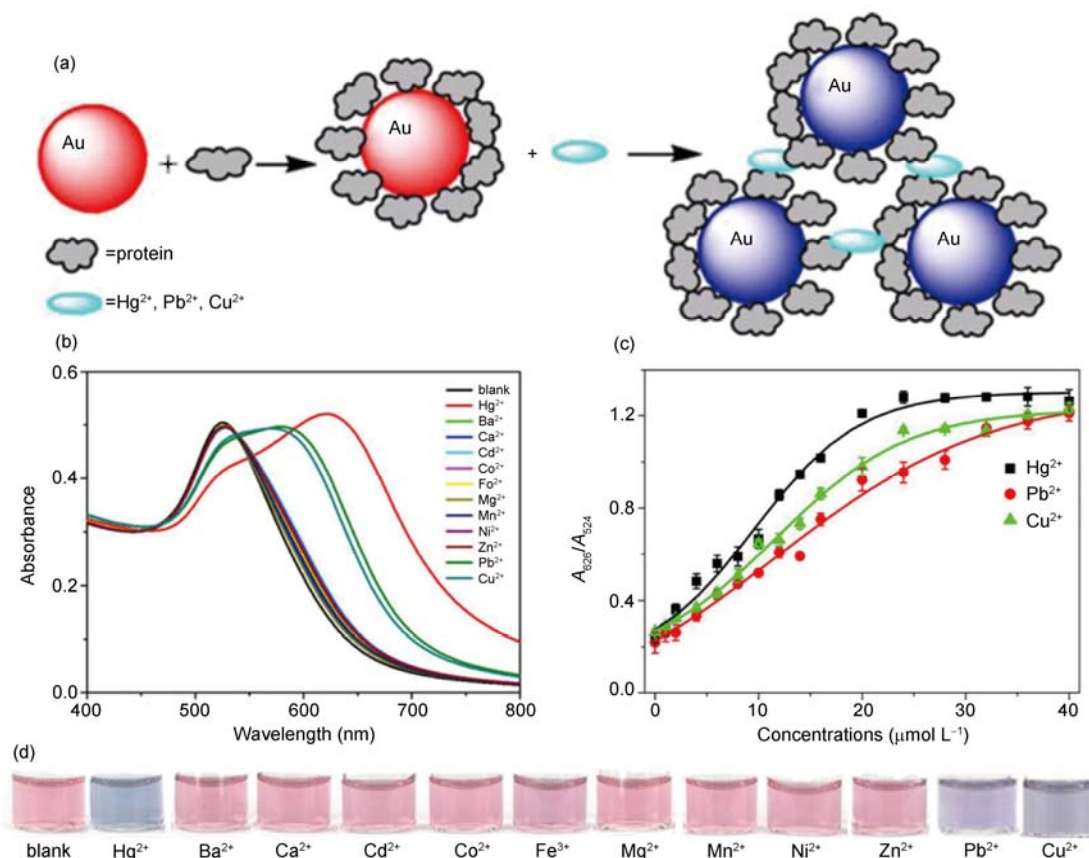


图 6 木瓜蛋白酶修饰的金纳米粒子同时检测 Hg^{2+} , Pb^{2+} 和 Cu^{2+} (引自参考文献[51]). (a) 木瓜蛋白酶修饰的金纳米粒子(P-Au NPs)与 Hg^{2+} , Pb^{2+} 和 Cu^{2+} 相互作用的示意图; (b) 金纳米粒子在不同金属离子存在下的紫外-可见吸收光谱; (c) 吸收光谱变化的定量计算; (d) 自然光下的照片

中纳米银(AgNPs)、纳米氧化锌(ZnO)、纳米二氧化铈、富勒烯等碳纳米材料其自身可表现出一定的抗菌活性. 纳米银的抗菌机制主要是银纳米粒子破坏细胞膜, 结合细菌蛋白质, 并抑制 DNA 的复制等^[52, 53]. 氧化锌、二氧化铈可诱导细菌产生 ROS, 并破坏细胞外膜^[54, 55]. 富勒烯、石墨烯可作为一种氧化剂进入细菌内, 诱导细菌产生氧化性损伤, 或者对细菌产生机械损伤而具有抗菌活性^[56, 57]. 金纳米粒子易与带巯基或氨基的分子结合, 可以有效地穿过细胞膜而常用作药物载体. 金纳米粒子和氨基嘧啶硫醇本身都没有任何抗菌活性, 而金纳米粒子表面修饰了氨基嘧啶硫醇分子后具有抗菌活性^[58]. 金纳米粒子的电荷因嘧啶分子所带基团的不同而不同, 并表现出不同的抗菌活性. 金纳米粒子可与 DNA 结合, 阻止蛋白质的合成, 且正电性最高的金纳米粒子对蛋白质

的合成抑制率最高, 表现出最好的抗菌活性. 金纳米粒子的抗菌机制主要是通过与细菌细胞膜相互作用, 引起膜通透性的改变和裂解, 也可能会干扰细胞内多种成分的生物学功能, 而抑制细菌的生长^[59]. 转录组学和蛋白组学结果表明, 金纳米粒子会降低细菌的膜电位, 抑制 ATPase 的活性而降低 ATP 水平, 也会抑制核糖体中具有与 tRNA 结合功能的亚基的合成, 从而干扰核糖体蛋白的形成^[60]. 抗生素和金属氧化物纳米颗粒会产生活性氧来破坏细胞膜的膜蛋白、磷脂分子等, 并诱导细胞死亡. 而生命体都有一定的自身保护机制即耐药机制. 研究发现, 嘧啶小分子修饰的金纳米粒子并未引起细菌产生过多的活性氧(图 7), 而其多效靶向作用一定程度上降低了细菌对金纳米粒子耐药性的发展. 因而嘧啶小分子修饰的金纳米粒子可作为一种潜在的抗生素, 来对抗日益增多的耐药菌.

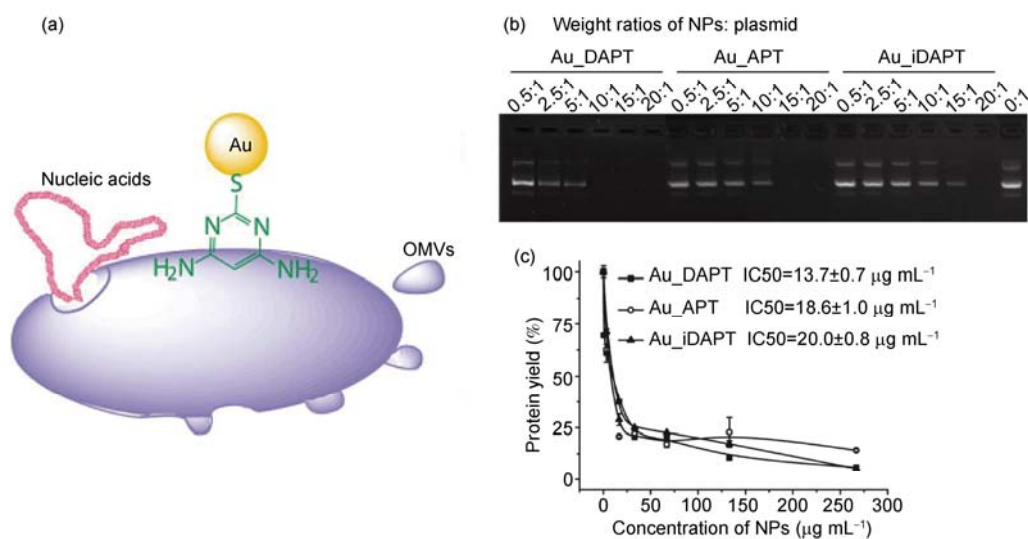


图7 噻唑分子修饰的金纳米粒子抑制细菌蛋白质的合成(引自参考文献[58]). (a) 金纳米粒子作用于细菌的示意图; (b) 金纳米粒子存在下 pGFP 质粒的凝胶电泳图; (c) 金纳米粒子对无细菌的转录/翻译系统中蛋白质产率的影响

3.2.2 其他疾病治疗

阿尔茨海默症(AD)患者体内的淀粉酶 β 蛋白(A β)会发生折叠并自组装成淀粉小纤维, 缩氨酸 Leu-Pro-Phe-Phe-AspNH₂ (PEP)可以选择性的粘附在 A β 聚集体上. 将 Cys-PEP 修饰于金纳米粒子上, 可将金纳米粒子聚集于 A β 淀粉小纤维上, 在高频声场的作用下, 金纳米粒子吸收辐射能后发生能量再分散, 引起淀粉酶聚集物的分解^[7]. 金纳米粒子表面修饰具有疗效性和靶向性的分子如多肽, 可形成更加复杂、稳定的结构, 影响癌细胞膜蛋白的代谢^[61]. 在生理学的 pH 值下, 金纳米粒子可解开部分表面折叠的蛋白质, 为由蛋白质错误折叠引起的疾病提供潜在的治疗策略^[62].

4 结论与展望

金纳米粒子与蛋白质的物理吸附、化学共价吸

附、非共价特异性吸附等相互作用, 主要取决于金纳米粒子的尺寸及其表面化学. 利用金纳米粒子的表面等离子共振效应所产生的特征光吸收及表面增强拉曼散射光谱等可分析纳米粒子与蛋白质的相互作用. 比色测定法和荧光检测法是目前广泛研究的两种方法, 而比色测定法凭借其方便、快捷、不需借助仪器的优势, 在重金属离子、小分子和蛋白质的检测方面有极大的应用前景. 待测环境中的盐或一些未知的分子可能会干扰金纳米粒子的检测, 因而迫切需要稳定、可信和精确的检测方法来检测实际样品. 通过调节金纳米粒子的尺寸及其表面化学, 可以调节纳米粒子与细胞或动物体内蛋白质的相互作用, 达到治疗疾病的目的. 但是金纳米粒子进入生物体内与蛋白质的作用过程和方式还不清楚, 需要进一步研究. 深入了解纳米粒子与蛋白质间的相互作用, 是纳米粒子用于环境、生物医学诊断和治疗的关键.

致谢 感谢国家自然科学基金(51073045, 21025520, 90813032, 20890023, 21105018), 国家重点基础研究发展计划(973 计划, 2009CB930001, 2011CB933201, 2012AA030608), 中国科学院方向性项目(KJ CX2-YW-M15), 中国博士后面上项目(023260191)的资助.

参考文献

- 1 Gary Walsh(著), 谭天维, 苏国富(译). 蛋白质生物化学与生物技术. 北京: 化学工业出版社. 2006
- 2 Mayer KM, Hafner JH. Localized surface plasmon resonance sensors. *Chem Rev*, 2011, 111: 3828–3857

- 3 Xue WX, Zhang GX, Zhang DQ. A sensitive colorimetric label-free assay for trypsin and inhibitor screening with gold nanoparticles. *Analyst*, 2011, 136: 3136–3141
- 4 He S, Liu DB, Wang Z, Cai KY, Jiang XY. Utilization of unmodified gold nanoparticles in colorimetric detection. *Sci China: Phys Mech Astron*, 2011, 54: 1757–1765
- 5 Chai F, Wang TT, Li L, Liu HY, Zhang LY, Su ZM, Wang CG. Fluorescent gold nanoprobe for the sensitive and selective detection for Hg²⁺. *Nanoscale Res Lett*, 2010, 5: 1856–1860
- 6 Liu DB, Wang Z, Jiang XY. Gold nanoparticles for the colorimetric and fluorescent detection of ions and small organic molecules. *Nanoscale*, 2011, 3: 1421–1433
- 7 Kogan MJ, Bastus NG, Amigo R, Dolores GB, Araya E, Turiel A, Labarta A, Giralt E, Puntès VF. Nanoparticle-mediated local and remote manipulation of protein aggregation. *Nano Lett*, 2006, 6: 110–115
- 8 Li JJ, Hartono D, Ong CN, Bay BH, Yung LY. Autophagy and oxidative stress associated with gold nanoparticles. *Biomaterials*, 2010, 31: 5996–6003
- 9 Pham TH, Cao C, Sim SJ. Application of citrate-stabilized gold-coated ferric oxide composite nanoparticles for biological separations. *J Magn Magn Mater*, 2008, 320: 2049–2055
- 10 Nel AE, Madler L, Velegol D. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat Mater*, 2009, 8: 543–557
- 11 Gagner JE, Lopez MD, Dordick JS, Siegel RW. Effect of gold nanoparticle morphology on adsorbed protein structure and function. *Biomaterials*, 2011, 32: 7241–7252
- 12 Reed AMW, Metallo SJ. Oriented protein adsorption to gold nanoparticles through a genetically encodable binding motif. *Langmuir*, 2010, 26: 18945–18950
- 13 Shi HY, Yuan L, Wu YF, Liu SQ. Colorimetric immunosensing via protein functionalized gold nanoparticle probe combined with atom transfer radical polymerization. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26: 3788–3793
- 14 Oh E, Hong MY, Lee D, Nam SH, Yoon HC, Kim HS. Inhibition assay of biomolecules based on fluorescence resonance energy transfer (FRET) between quantum dots and gold nanoparticles. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 3270–3271
- 15 Huang CC, Huang YF, Cao ZH, Tan WH, Chang HT. Aptamer-modified gold nanoparticles for colorimetric determination of platelet-derived growth factors and their receptors. *Anal Chem*, 2005, 77: 5735–5741
- 16 Henne WA, Doorneweerd DD, Lee J, Low PS, Savran C. Detection of folate binding protein with enhanced sensitivity using a functionalized quartz crystal microbalance sensor. *Anal Chem*, 2006, 78: 4880–4884
- 17 Abad JM, Mertens SF, Pita M, Fernandez VM, Schiffrin DJ. Functionalization of thioctic acid-capped gold nanoparticles for specific immobilization of histidine-tagged proteins. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 5689–5694
- 18 Lynch I, Dawson KA. Protein-nanoparticle interactions. *Nanotoday*, 2008, 3: 40–47
- 19 Deka J, Paul A, Chattopadhyay A. Sensitive protein assay with distinction of conformations based on visible absorption changes of citrate-stabilized gold nanoparticles. *J Phys Chem C*, 2009, 113: 6936–6947
- 20 Lioubashevski O, Chegel VI, Patolsky F, Katz E, Willner I. Enzyme-catalyzed bio-pumping of electrons into Au-nanoparticles: A surface plasmon resonance and electrochemical study. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 7133–7143
- 21 Zhou X, Xu WL, Wang Y, Kuang Q, Shi YF, Zhong LB, Zhang QQ. Fabrication of cluster/shell Fe₃O₄/Au nanoparticles and application in protein detection via a SERS method. *J Phys Chem C*, 2010, 114: 19607–19613
- 22 Zhao YY, Wang Z, Zhang W, Jiang XY. Adsorbed tween 80 is unique in its ability to improve the stability of gold nanoparticles in solutions of biomolecules. *Nanoscale*, 2010, 2: 2114–2119
- 23 Walkey CD, Olsen JB, Guo HB, Emili A, Chan WC. Nanoparticle size and surface chemistry determine serum protein adsorption and macrophage uptake. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 2139–2147
- 24 Sen T, Mandal S, Haldar S, Chattopadhyay K, Patra A. Interaction of gold nanoparticle with human serum albumin (HSA) protein using surface energy transfer. *J Phys Chem C*, 2011, 115: 24037–24044
- 25 Pavlov V, Xiao Y, Shlyahovsky B, Willner I. Aptamer-functionalized Au nanoparticles for the amplified optical detection of thrombin. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 11768–11769
- 26 Li LL, Liu HY, Shen YY, Zhang JR, Zhu JJ. Electrogenerated chemiluminescence of Au nanoclusters for the detection of dopamine. *Anal Chem*, 2011, 83: 661–665
- 27 Shiang YC, Lin CA, Huang CC, Chang HT. Protein A-conjugated luminescent gold nanodots as a label-free assay for immunoglobulin G in plasma. *Analyst*, 2011, 136: 1177–1182
- 28 Liu JW, Lu Y. Fast colorimetric sensing of adenosine and cocaine based on a general sensor design involving aptamers and nanoparticles.

- Angew Chem*, 2006, 118: 96–100
- 29 Tsai CS, Yu TB, Chen CT. Gold nanoparticle-based competitive colorimetric assay for detection of protein-protein interactions. *Chem Commun*, 2005, 34: 4273–4275
- 30 Liu DB, Wang Z, Jiang XY. A highly sensitive gold-nanoparticle-based assay for acetylcholinesterase in cerebrospinal fluid of transgenic mice with Alzheimer's disease. *Adv Healthcare Mater*, 2012, 1: 90–95
- 31 Liu DB, Chen WW, Wei JH, Li XB, Wang Z, Jiang XY. A highly sensitive, dual-readout assay based on gold nanoparticles for organophosphorus and carbamate pesticides. *Anal Chem*, 2012, 84: 4185–4191
- 32 Wen F, Dong YH, Feng L, Wang S, Zhang SC, Zhang XR. Horseradish peroxidase functionalized fluorescent gold nanoclusters for hydrogen peroxide sensing. *Anal Chem*, 2011, 83: 1193–1196
- 33 Huang CC, Chiang CK, Lin ZH, Lee KH, Chang HT. Bioconjugated gold nanodots and nanoparticles for protein assays based on photoluminescence quenching. *Anal Chem*, 2008, 80: 1497–1504
- 34 Tan WM, Huang Y, Nan TG, Xue CG, Li ZH, Zhang QC, Wang BM. Development of protein A functionalized microcantilever immunosensors for the analyses of small molecules at parts per trillion levels. *Anal Chem*, 2010, 82: 615–620
- 35 Wengera B, Kugelbrey K, Gao H, Sigrist H, Voirina G. Au-labeled antibodies to enhance the sensitivity of a refractometric immunoassay: detection of cocaine. *Biosens Bioelectron*, 2012, 34: 94–99
- 36 Li Y, Ji XT, Liu BW. Chemiluminescence aptasensor for cocaine based on double-functionalized gold nanoprobe and functionalized magnetic microbeads. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 401: 213–219
- 37 Gole A, Murphy CJ. Azide-derivatized gold nanorods: functional materials for “click” chemistry. *Langmuir*, 2008, 24: 266–272
- 38 Brennan JL, Hatzakis NS, Tshikhudo TR, Dirvianskyte N, Razumas V, Patkar S, Vind J, Svendsen A, Nolte RJ, Rowan AE, Brust M. Bionanoconjugation via click chemistry: The creation of functional hybrids of lipases and gold nanoparticles. *Bioconjugate Chem*, 2006, 17: 1373–1375
- 39 Rostovtsev VV, Green LG, Fokin VV, Sharpless KB. A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes. *Angew Chem*, 2002, 114: 2708–2711
- 40 Zhou Y, Wang SX, Zhang K, Jiang XY. Visual detection of copper(II) by azide- and alkyne-functionalized gold nanoparticles using click chemistry. *Angew Chem Int Ed*, 2008, 47: 7454–7456
- 41 Qu WS, Liu YY, Liu DB, Wang Z, Jiang XY. Copper-mediated amplification allows readout of immunoassays by the naked eye. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 3442–3445
- 42 Zhu K, Zhang Y, He S, Chen WW, Shen JZ, Wang Z, Jiang XY. Quantification of proteins by functionalized gold nanoparticles using click chemistry. *Anal Chem*, 2012, 84: 4267–4270
- 43 Xie JP, Zheng YG, Ying JY. Highly selective and ultrasensitive detection of Hg^{2+} based on fluorescence quenching of Au nanoclusters by Hg^{2+} - Au^+ interactions. *Chem Commun*, 2010, 46: 961–963
- 44 Guo YM, Wang Z, Shao HW, Jiang XY. Stable fluorescent gold nanoparticles for detection of Cu^{2+} with good sensitivity and selectivity. *Analyst*, 2012, 137: 301–304
- 45 Lin YW, Huang CC, Chang HT. Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions. *Analyst*, 2011, 136: 863–871
- 46 Hu DH, Sheng ZH, Gong P, Zhang PF, Cai LT. Highly selective fluorescent sensors for Hg^{2+} based on bovine serum albumin-capped gold nanoclusters. *Analyst*, 2010, 135: 1411–1416
- 47 Guo YM, Wang Z, Qu WS, Shao HW, Jiang XY. Colorimetric detection of mercury, lead and copper ions simultaneously using protein-functionalized gold nanoparticles. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26: 4064–4069
- 48 Chai F, Wang TT, Li L, Liu HY, Zhang LY, Su ZM, Wang CG. Fluorescent gold nanoprobe for the sensitive and selective detection for Hg^{2+} . *Nanoscale Res Lett*, 2010, 5: 1856–1860
- 49 Wei H, Wang ZD, Yang LM, Tian SL, Hou CJ, Lu Y. Lysozyme-stabilized gold fluorescent cluster: Synthesis and application as Hg^{2+} sensor. *Analyst*, 2010, 135: 1406–1410
- 50 Lin ZJ, Luo FQ, Dong TQ, Zheng LY, Wang YX, Chi YW, Chen GN. Recyclable fluorescent gold nanocluster membrane for visual sensing of copper(II) ion in aqueous solution. *Analyst*, 2012, 137: 2394–2399
- 51 Lee YF, Deng TW, Chiu WJ, Wei TY, Roy P, Huang CC. Visual detection of copper(II) ions in blood samples by controlling the leaching of protein-capped gold nanoparticles. *Analyst*, 2012, 137: 1800–1806
- 52 Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol*, 2010, 28: 580–588
- 53 Xu HY, Qu F, Xu H, Lai WH, Wang YA, Aguilar ZP, Wei H. Role of reactive oxygen species in the antibacterial mechanism of silver

- nanoparticles on *Escherichia coli* O157:H7. *Biometals*, 2012, 25: 45–53
- 54 Raghupathi KR, Koodali RT, Manna AC. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir*, 2011, 27: 4020–4028
- 55 He X, Kuang YS, Li YY, Zhang HF, Ma YH, Bai W, Zhang ZY, Wu ZQ, Zhao YL, Chai ZF. Changing exposure media can reverse the cytotoxicity of ceria nanoparticles for *Escherichia coli*. *Nanotoxicology*, 2012, 6: 233–240
- 56 Lyon DY, Brunet L, Hinkal GW, Wiesner MR, Alvarez PJ. Antibacterial activity of fullerene water suspensions (nC₆₀) is not due to ROS-mediated damage. *Nano Lett*, 2008, 8: 1539–1543
- 57 Liu SB, Zeng TH, Hofmann M, Burcombe E, Wei J, Jiang RG, Kong J, Chen Y. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress. *ACSnano*, 2011, 5: 6971–6980
- 58 Zhao YY, Tian Y, Cui Y, Liu W, Ma WS, Jiang XY. Small molecule-capped gold nanoparticles as potent antibacterial agents that target Gram-negative bacteria. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 12349–12356
- 59 马万顺, 崔燕, 赵玉云, 郑文富, 张伟, 蒋兴宇, 张文杰. 纳米颗粒抗菌机理的研究进展. *生物物理学报*, 2010, 26: 638–648
- 60 Cui Y, Zhao YY, Tian Y, Zhang W, Lü XY, Jiang XY. The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*. *Biomaterials*, 2012, 33: 2327–2333
- 61 Kumar A, Ma HL, Zhang X, Huang KY, Jin SB, Liu J, Wei T, Cao WP, Zou GZ, Liang XJ. Gold nanoparticles functionalized with therapeutic and targeted peptides for cancer treatment. *Biomaterials*, 2012, 33: 1180–1189
- 62 Zhang DM, Neumann O, Wang H, Yuwono VM, Barhouni A, Perham M, Hartgerink JD, Pernilla WS, Halas NJ. Gold nanoparticles can induce the formation of protein-based aggregates at physiological pH. *Nano Lett*, 2009, 9: 666–671

Interactions and applications of gold nanoparticles-protein

YE ChunJie^{1, 2}, ZHAO YuYun^{2, 3}, CHEN Rong^{1*}, JIANG XingYu^{2*}

1 School of Chemical Engineering & Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430073, China

2 National Center for NanoScience and Technology, Beijing 100190, China

3 Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084

*Corresponding authors (email: rchenhku@hotmail.com; xingyujiang@nanoctr.cn)

Abstract: Gold nanoparticles and proteins can interact via physical adsorption, chemically covalent conjugation, affinity adsorption and so on. The surface plasma resonance and surface-enhanced Raman scattering of gold nanoparticles are usually used to investigate the interaction between nanoparticles and protein. Factors such as the size and surface chemistry of gold nanoparticles, property of proteins and environment of the solution can influence these interactions. Gold nanoparticles are widely applied in the fields of highly effective and low-cost detections for disease and environmental pollutants, and play an important role in the disease therapy via the special physic-chemical properties of gold nanoparticles and the interactions between nanoparticles and proteins.

Keywords: gold nanoparticles, protein, interaction, detection, therapy