

纳米酶的发现与应用

高利增 阎锡蕴*

(中国科学院生物物理研究所蛋白质与多肽药物重点实验室, 北京 100101)

摘要 自 2007 年发现四氧化三铁纳米材料具有类似辣根过氧化物酶的催化特性以来, 纳米酶研究领域迅速崛起. 不同形貌、尺度和材料各异的纳米酶相继出现, 同时其催化机制逐渐被认识. 由于纳米酶具有催化效率高、稳定、经济和规模化制备的特点, 它在医学、化工、食品、农业和环境等领域的应用研究便应运而生. 纳米酶的发现, 不仅推动了纳米科技的基础研究, 还拓展了纳米材料的应用. 本文将介绍纳米酶研究领域的最新研究进展.

关键词 纳米酶, 纳米材料, 模拟酶, 催化, 肿瘤诊断, 污水治理

学科分类号 Q811, Q814

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00409

自然界一切生命现象都与酶有关. 天然酶以蛋白质为主, 是一类具有催化功能的生物分子, 其催化特点是效率高、底物专一. 然而, 由于大多数天然酶都是蛋白质, 遇到热、酸、碱等非生理条件, 容易发生结构变化而失去催化活性. 另外, 天然酶在生物体内的含量很低, 很难大量获得, 故价格昂贵. 为了提高酶的稳定性并降低成本, 生物化学家一直在寻求通过全化学合成或半合成方法制备人工模拟酶, 通常采用有机复合物, 如环糊精、冠醚、卟啉等, 并取得了一系列的研究进展. 在纳米酶出现之前, 模拟酶一般是指上述的化学酶.

随着纳米科学的高速发展, 我国科学家发现无机纳米材料 Fe_3O_4 本身具有内在类似辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)的催化活性, 其催化效率和作用机制与天然酶相似^[1]. 辣根过氧化物酶是一种非常重要的金属蛋白酶, 广泛应用于化工、食品、医学、环境等多个领域. HRP 纳米酶的出现, 引起物理、材料、化学、生物和医学等多个领域科学家的高度重视, 越来越多的科学家开始研究和应用纳米酶. 纳米酶(nanozyme), 作为一类新的模拟酶, 已经成为多学科交叉的研究热点, 并逐渐形成了新的研究领域^[2].

催化功能的模拟酶. 纳米酶的发现是基于材料在纳米尺度(1~100 nm)展现出与其宏观尺度不同的新特性. 一般情况下, 纳米材料被认为是化学惰性的物质, 自身不具备生物效应. 例如, Fe_3O_4 纳米材料通常被认为是一种无机的惰性物质, 其磁性特征被广泛应用于蛋白质与核酸的分离纯化、细胞标记、肿瘤治疗以及核磁共振成像. 如果想赋予磁纳米材料更多的功能, 如催化活性, 人们常常采用“加法”, 在其表面修饰一些酶或其他催化基团, 从而使其获得催化功能. 例如, Scrimin 等^[3]将氮杂冠醚(azacrown)修饰在金纳米颗粒表面, 经锌离子螯合后, 使其获得剪切磷酸二酯键的催化活性, 以模拟 RNase 的功能. 尽管这种被修饰的金纳米颗粒也被称为纳米酶, 但其催化活性来自于其表面修饰的酶, 而不是来自于纳米材料本身的特性.

直到 2007 年, 科学家发现 Fe_3O_4 纳米颗粒本身具有内在类似辣根过氧化物酶的催化活性, 无需在其表面修饰任何催化基团. 正如图 1 所示, 磁纳米颗粒在过氧化氢存在时, 可催化 HRP 的多种底物发生氧化反应, 并产生与 HRP 催化完全相同的

1 纳米酶的发现

纳米酶是一类既有纳米材料的独特性能, 又有

* 通讯联系人.

Tel: 010-64888583, Fax: 010-64888584, E-mail: yanxy@ibp.ac.cn

收稿日期: 2013-09-14, 接受日期: 2013-09-24

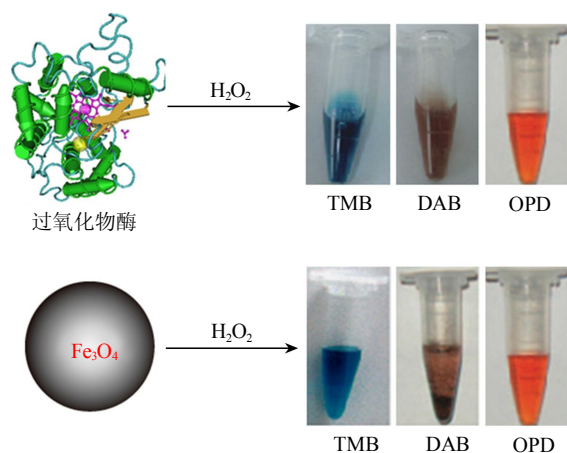


Fig. 1 Fe_3O_4 nanozyme demonstrates peroxidase-like activity by catalyzing H_2O_2 and substrates with color reaction

图 1 Fe_3O_4 纳米酶类似天然蛋白酶(Peroxidase)能够催化底物被 H_2O_2 氧化并产生相应的颜色

TMB: 四甲基联苯胺, DAB: 2,2'-二氨基偶氮苯, OPD: 邻苯二胺。

颜色。当研究者第一次看到这种特殊的纳米效应时, 既兴奋又怀疑。如此高效的催化活性会不会是由于某种污染所致呢? 为了证明事实真相, 他们设计了非常严格的对照, 经过反复实验, 逐一排除了有可能造成假象的各种因素, 最终确认不是污染,

的确是磁纳米颗粒本身与 HRP 底物反应并产生颜色信号。随后, 又系统研究了纳米酶的催化效率、反应动力学参数和催化机制, 均与天然 HRP 酶相似。据此, 研究者提出 Fe_3O_4 纳米粒是一类过氧化物模拟酶^[1]。更有趣的是, 纳米酶的催化活性是可调节的, 相同质量的纳米酶, 粒径越小催化效率越高, 这种尺度效应正是纳米科学研究的核心问题。

纳米酶的问世, 改变了以往人们认为无机纳米材料是一种生物惰性物质的传统观念, 揭示了纳米材料内在的生物效应及新特性, 丰富了模拟酶的研究, 使其从有机复合物拓展到无机纳米材料, 拓展了纳米材料的应用范围。鉴于纳米酶既有天然酶的高催化活性, 又有模拟酶稳定而经济的特点, 因此自 2007 年 HRP 纳米酶报道以来, 纳米酶的研究迅速崛起, 研究的涉及面也逐渐广泛, 目前已经包括材料科学、物理、化学、生物、医学和环境等不同领域。图 2 示近五年纳米酶相关论文及其施引文献的发表情况。从中可以看出, 不论是相关论文还是施引文献, 数量均是呈逐年上升的趋势。概括起来, 目前纳米酶的研究主要集中在以下三个方面: a. 发现新的蕴含催化活性的纳米材料; b. 揭示纳米酶的催化机理, 优化其催化效率和底物专一性; c. 继续发掘和拓展纳米酶在生物、医学、环境、化工等领域的应用。

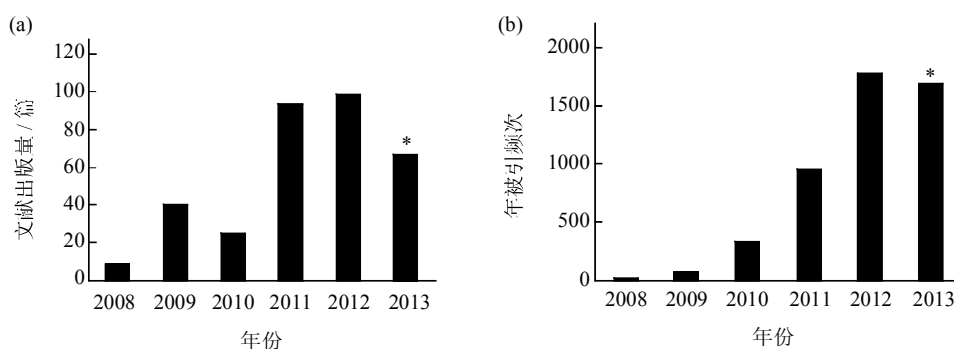


Fig. 2 Progress in publications (a) and citations (b) in the field of nanozyme
(Data from Web of knowledge, *As of July 2013)

图 2 纳米酶研究领域的进展

(a) 纳米酶相关论文的发表情况; (b) 纳米酶施引文献逐年递增。*截止到 2013 年 7 月。数据来自 Web of knowledge。

2 纳米酶的特征

纳米酶兼具酶和纳米材料的“双重身份”, 区

别于天然酶和传统模拟酶, 其最大的特征是除了具有催化功能之外, 还具有纳米材料独特的物理和化学特性。例如, Fe_3O_4 纳米酶不仅具有过氧化物酶

的催化功能, 还具有超顺磁活性, CdS 纳米颗粒不仅有催化活性, 还可产生荧光. 因此, 纳米酶也被视为双功能或多功能分子. 如何把纳米酶的催化活性与其物理和化学特性巧妙地结合起来, 创造出更多奇特的新功能, 将是有待研究的新课题.

纳米酶是一类新型的模拟酶, 其特点是催化活性高, 这是之前许多传统模拟酶所不及的. 传统模拟酶多是在有机复合物的基础上, 利用聚合物胶束或分子印迹技术等模拟酶催化中心的分子结构及微环境. 这些模拟酶存在的普遍问题是催化活性和选择性均较低, 而且制备成本较高, 至今无法满足实际需求. 然而, 纳米酶具有与天然酶相似的催化活性. 以辣根过氧化物酶为例, 酶的活性中心存在一个含铁的卟啉环, 酶的高效催化正是通过铁原子的氧化还原而实现的. Fe_3O_4 纳米酶的表面含有大量的铁原子, 尽管其催化活性受诸多因素的影响, 但其中纳米酶表面 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 之间的转换是保证纳米酶高效催化的关键, 而且相同单位质量的纳米酶, 粒径越小催化活性越高, 这种尺度效应是纳米酶催化活性可调节的主要因素.

纳米酶的催化反应, 如同天然酶一样, 依赖于 pH、温度和底物浓度. 以 Fe_3O_4 纳米酶为例, 它的最适反应温度为 40°C , 最适反应 pH 为 3.5. 如同 HRP 天然酶, 其催化活性也受底物浓度的调节. 低浓度 H_2O_2 促进 Fe_3O_4 纳米酶的催化反应, 而随着 H_2O_2 浓度的升高, 催化活性受到抑制. 然而, 与 HRP 天然酶不同的是, Fe_3O_4 纳米酶更稳定, 能适应较大范围的 pH 和温度变化, 即使在 pH 10 或温度 80°C 的条件下, 仍然保持 80% 的催化活性.

纳米酶催化底物反应的动力学曲线, 如同天然酶一样, 符合米氏方程. 以 Fe_3O_4 纳米酶催化双底物(H_2O_2 与 TMB)的颜色反应为例, 纳米酶对于底物 TMB(四甲基联苯胺)的米氏常数 K_m 值比 HRP 天然酶小, 说明 Fe_3O_4 纳米酶对底物 TMB 的亲合力高于 HRP. 但对于另一底物 H_2O_2 而言, Fe_3O_4 纳米酶的 K_m 值比 HRP 高, 这一结果与 Fe_3O_4 纳米酶催化反应所需最适 H_2O_2 浓度高于 HRP 所需浓度是一致的. 除了 Fe_3O_4 纳米酶外, 其他多种纳米酶也表现出相似的特性, 即对 TMB 具有较高的亲合力, 对 H_2O_2 则相对较低. 这种现象可能与纳米材料表面的物理和化学性质有关, 纳米材料具有较大的比表面积, 表面电荷丰富, 形貌复杂, 容易吸附带正电的 TMB, 造成较高的亲合力.

Fe_3O_4 纳米酶的催化机理, 如同 HRP 天然酶, 符合乒乓机制^[1], 即 Fe_3O_4 纳米酶首先催化 H_2O_2 产生羟基自由基, 生成 Fe_3O_4 纳米粒-自由基复合物, 后者再催化底物 TMB 或 OPD(邻苯二胺)或 DAB(2,2'-二氨基偶氮苯)产生颜色反应. 利用电子自旋共振(ESR)的方法, 可以检测到在 Fe_3O_4 纳米酶的催化反应体系中有典型的羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的信号, 而没有 Fe_3O_4 纳米粒的溶液中未检测到羟基自由基的信号.

纳米酶的催化反应还受溶液 pH 调控. 如在酸性 pH 时(pH=3.6), Fe_3O_4 纳米酶表现过氧化物酶的催化活性, 即催化过氧化氢产生羟基自由基, 后者能够与底物 TMB、OPD、DAB 等反应产生颜色信号. 然而, 当 pH 在中性或者更高时, Fe_3O_4 纳米酶表现出过氧化氢酶的催化活性, 催化过氧化氢产生氧气和水, 而不再是产生羟基自由基诱发颜色反应, 这是 Fe_3O_4 纳米酶与 HRP 酶的主要区别.

3 纳米酶的优化

纳米酶的催化功能与其本身的纳米效应, 如尺寸效应和表面效应等有关, 同时这些效应也为模拟酶的优化提供了可操作的途径, 即研究者可以通过控制这些纳米效应调控纳米酶的催化活性和底物选择性. 例如, Fe_3O_4 纳米酶的催化活性与其尺度效应相关. 有研究表明, 相同单位质量的纳米酶, 粒径越小, 催化效率越高. 然而, 对于单个纳米颗粒而言, 其规律是颗粒越小, 表面积越小, 催化能力越小. 一个直径为 300 nm 的单颗粒的表面积是 150 nm 颗粒表面积的 4 倍, 其催化活性(K_{cat})也是 150 nm 颗粒的 4 倍^[1]. 因此, 可以通过控制纳米酶的尺度调节其催化活性.

除了尺度效应之外, 纳米酶的形貌也影响其催化活性. 研究人员对比了不同结构过氧化物纳米酶的催化活性, 包括 Fe_3O_4 纳米颗粒结构体、三角片状纳米结构体、八面体纳米结构, 发现在相似纳米尺度下, 这三类纳米结构表现出不同的催化能力, 其中颗粒结构的催化活性最大, 八面体结构的催化活性最小. 这种差别可能是由于不同的纳米结构其表面铁原子晶格排列方式的不同所致^[4]. 纳米酶的催化活性还受到其表面微环境的影响, 包括表面电荷、亲水、疏水及其他弱相互作用等. 酶反应动力学分析表明, 纳米酶表面经过一些修饰后将改变对底物的亲合力. 例如, 氧化铁纳米酶表面引入氨基

后, 提高了对底物 2,2'- 联氮 - 双 -(3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸)(ABTS)的亲合力, 而引入巯基则提高了对 H_2O_2 的亲合力. Yu 等^[9]比较了柠檬酸、甘氨酸、聚赖氨酸、聚乙烯亚胺、羧甲基葡聚糖、肝素等修饰氧化铁纳米粒后, 其对两种底物 TMB 和 ABTS 的催化活性. 他们发现, 用柠檬酸、羧甲基葡聚糖和肝素修饰后其表面电势为负的纳米酶催化底物 TMB 的活性较高. 相反, 用甘氨酸、聚赖氨酸和聚乙烯亚胺修饰后其表面电势为正的纳米酶催化底物 ABTS 活性较高. 此外, 在氧化铁纳米酶表面引入普鲁士蓝分子, 可极大地提高其催化活性, 与未修饰的氧化铁纳米酶相比, 其单位面积的催化能力提高了近三个数量级^[9]. 高利增等^[10]发现, 用葡聚糖和聚乙二醇修饰的纳米酶其催化活性高于氨基和二氧化硅修饰的纳米酶, 但均低于无修饰的 Fe_3O_4 纳米酶.

以上这些研究表明, 纳米酶作为一种新型的模拟酶, 具有许多不同于传统模拟酶的特征, 人们可以对此加以利用, 并通过控制其尺寸、结构和表面修饰等来调节纳米酶的活性和功能. 因此, 纳米酶的研究和应用蕴含着巨大的潜能.

4 纳米酶的种类

自从过氧化物纳米酶被报道以来, 越来越多的纳米酶相继涌现. 分析这些具有催化功能的纳米材料的特点, 可归纳为三类(图 3): a. 铁基纳米酶. 最初的研究多集中在铁磁纳米材料的过氧化物酶催化活性, 研究 Fe_3O_4 和 Fe_2O_3 纳米材料的尺度大小、形貌(如纳米颗粒、纳米线、纳米片、纳米棒等)以及表面修饰等因素对其催化活性的影响. 随后, 发现铁与其他纳米材料形成的氧化物也具有类似过氧化物酶的催化活性, 比如铁钨氧化物纳米粒^[7]、铁钴氧化物纳米粒^[8]和铁锰氧化物纳米粒^[9]. 除了铁氧化物纳米颗粒外, 硫化铁^[10]或者硒化铁^[11-12]纳米材料也具有过氧化物酶催化活性. b. 非铁金属纳米酶. 除了铁基纳米酶外, 还发现许多其他非铁金属纳米酶. 比如, 二氧化铈纳米粒^[13]、二氧化锰纳米颗粒^[14-15]、氧化铜纳米粒^[16]、四氧化三钴纳米颗粒^[17-18]、五氧化二钒纳米线^[19]等都具有过氧化物酶催化活性, 硫化铜纳米粒^[20]和硫化镉^[21]纳米粒也具有类似的催化活性. 这表明金属氧化物等纳米材料的催化活性具有普遍性. 贵金属(noble metal)纳米材料同样具有过氧化物酶催化活性, 包括金纳米颗

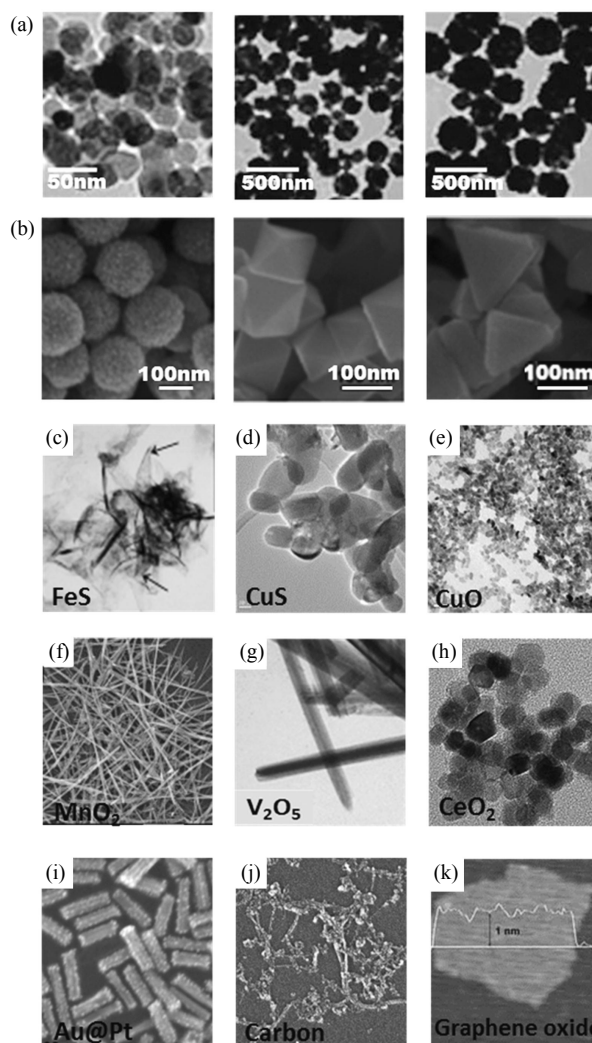


Fig. 3 Material type of nanozyme

图 3 纳米酶种类

(a, b) 不同尺度(a)^[9]与结构(b)^[9]的 Fe_3O_4 纳米酶. (c) FeS 纳米片^[10]. (d) CuS 纳米粒^[20]. (e) CuO 纳米粒^[16]. (f) MnO_2 纳米线^[14]. (g) V_2O_5 纳米线^[19]. (h) CeO_2 纳米粒^[13]. (i) $Au@Pt$ 纳米棒^[22]. (j) 碳纳米管^[23]. (k) 氧化石墨烯(graphene oxide)^[24].

粒和纳米棒^[25]、铂纳米颗粒^[26]以及多金属形成的复合纳米材料, 如金铂纳米棒^[22, 27]、银(铂、金、钯)纳米颗粒^[28-29]等. c. 非金属纳米酶. 许多非金属材料也具有过氧化物酶活性, 尤其是碳基纳米材料, 如碳纳米管^[23, 30]、氧化石墨烯^[24]、碳纳米点^[31]等. 此外, 多孔聚合物纳米材料也具有模拟酶活性^[32]. 这些新型纳米酶的发现具有重要意义, 进一步表明许多纳米材料具有潜在的过氧化物酶催化活性, 并在此基础上拓展它们的应用范围. 通过组装不同材料的纳米酶, 可以提高其催化活性或者使其具备多

种催化活性, 形成复杂高效的纳米催化体系. 比如将氧化铁纳米颗粒与碳纳米管整合于一体, 由于二者都具有过氧化物酶催化活性, 新的复合体系具有更好的催化活性, 同时赋予材料新的性能^[33]; 将金

纳米颗粒组装于氧化石墨烯表现出更高的过氧化物酶催化活性^[34].

另外, 分析已知纳米酶的催化类型, 主要包括过氧化物酶, 过氧化氢酶和氧化酶(表 1).

Table 1 Catalysis types of nanozyme

表 1 纳米酶的催化类型

催化类型	催化反应	纳米材料及参考文献
过氧化物酶	催化过氧化氢产生自由基	氧化铁纳米颗粒 ^[1] , Ferritin-Pt 纳米颗粒 ^[35] , 氧化石墨烯 ^[24] , MnO ₂ 纳米颗粒 ^[15] , Au 纳米颗粒 ^[36] , 氧化铈纳米颗粒 ^[13]
过氧化氢酶	分解过氧化氢产生氧气和水	氧化铁纳米颗粒 ^[37] , Ferritin-Pt 纳米颗粒 ^[35] , Co ₃ O ₄ 纳米颗粒 ^[17] , 氧化钆纳米颗粒 ^[38] , 碳纳米点 ^[31] , Au 纳米颗粒 ^[36]
氧化酶	在氧气存在时直接氧化底物	氧化铈纳米颗粒 ^[39] , Au@Pt 纳米棒 ^[22] , MnO ₂ 纳米颗粒 ^[15] , CoFe ₂ O ₄ 纳米颗粒 ^[8]
超氧化物歧化酶	催化氧阴离子产生过氧化氢和氧气	Ce 纳米颗粒和 Pt 纳米颗粒 ^[40] , Au 纳米颗粒 ^[36]
硝酸还原酶	还原硝酸盐为亚硝酸盐	CdS 与 CdSe-Pt 纳米颗粒 ^[41]

有趣的是, 同一种纳米酶在不同条件下, 可以表现出不同的催化活性. 例如, Fe₃O₄ 纳米酶在酸性环境中具有过氧化物酶活性, 而在中性时则呈现过氧化氢酶的催化活性^[17]. 这种现象通过分析其催化反应动力学可以得到解释, 即在 pH 3~5 酸性反应条件下, 纳米酶催化过氧化氢产生羟基自由基, 后者与辣根过氧化物酶的底物反应并产生颜色信号. 然而, 在 pH 7 的中性反应条件下, Fe₃O₄ 纳米酶分解过氧化氢产生氧气和水, 表现出过氧化氢酶的催化特征.

另外, 不同的表面修饰也可以使模拟酶展现出不同的催化活性. 例如, 金纳米酶经过半胱氨酸修饰后表现出过氧化物酶活性^[25], 而用柠檬酸修饰后则表现出葡萄糖氧化酶的催化活性, 可以催化葡萄糖, 产生葡萄糖酸和过氧化氢^[42]. 这表明控制不同的反应条件可以调节纳米材料的催化活性, 使其表现出不同的模拟酶活性. 钯铂纳米点掺杂的金纳米棒具有氧化酶活性^[43], 在氧气存在时可直接氧化 TMB 产生颜色反应, 而不需要过氧化氢的参与. 此外, CdS 和 CdS-Pt 纳米颗粒具有硝酸还原模拟酶的催化活性, 可以将硝酸盐还原为亚硝酸盐^[41].

5 纳米酶的应用

与传统的模拟酶相比, 纳米酶的催化效率较高, 同时还具备对热、酸和碱稳定, 可规模化制备

及价格较低的特点. 因此, 纳米酶具有潜在的广泛应用价值, 与其相关的应用研究也日渐增多. 下面主要以目前研究比较多的过氧化物纳米酶为例, 介绍其在肿瘤诊断与治疗、血糖和尿酸的检测、免疫检测、体内无标记示踪、抗菌、环境检测和污水处理、农药和神经毒剂监测等领域的应用研究.

5.1 肿瘤诊断与治疗

纳米酶的出现, 为肿瘤诊断提供了新的思路. 例如, 研究人员在磁纳米粒的表面偶联抗体分子, 使其成为既识别肿瘤, 又显色肿瘤的纳米探针^[44], 获得了与传统的 HRP 酶标抗体的免疫组化方法相类似的结果, 具有潜在的应用前景.

更有趣的是, 最近研究人员用仿生法合成了一种磁铁蛋白纳米粒. 这种纳米粒由蛋白外壳和铁内核两部分构成, 即由 24 聚体人铁蛋白 H 亚基自组装形成直径为 12 nm 的笼状蛋白外壳, 其中包裹磁铁内核(直径 8 nm). 这是一种双功能纳米粒子, 其外壳人铁蛋白 H 亚基能特异识别肿瘤细胞, 而内核具有的过氧化物酶活性, 能催化底物发生颜色反应, 使与其结合的肿瘤细胞显现颜色, 从而区别肿瘤细胞与正常细胞.

这种纳米探针具有独特的物理、化学和生物特性. 例如, 耐高温. 在 80°C 高温条件下仍然结构稳定, 这种特性也被用于其分离纯化. 在 75°C 时孵育 10 min, 大部分蛋白质都已经变性沉淀, 唯独

人铁蛋白 H 仍然保持正常状态, 悬浮在溶液上清中, 所以通过简单的离心即可使其与其他蛋白分离. 另一个特性是对 pH 敏感. 在中性(pH 7.4)条件下, 人铁蛋白 H 自组装形成 24 聚体的蛋白外壳^[45]. 然而它在 pH 2 的条件下发生解聚, 如果把 pH 调至中性, 还可以再自组装形成 24 聚体的蛋白外壳. 研究人员利用这种特性, 通过调节 pH 而使其包裹不同的内核成分(如包裹荧光分子), 构建不同功能的纳米粒. 最近, 人铁蛋白的两个重要生物功能被发现, 证明了其受体是转铁蛋白受体 1 (transferrin receptor 1, TfR1), TfR1 是已知的肿瘤标志分子. 另外, 发现磁铁蛋白的内核也同样具有过氧化物酶的催化活性. 这两个新的发现为其在肿瘤诊断方面的应用提供了新思路.

人铁蛋白纳米粒作为一种新的肿瘤诊断试剂, 能够同时实现对肿瘤的定位和显色, 即人铁蛋白 H 外壳, 无需标记任何抗体, 即可直接靶向过度表达在肿瘤细胞表面的标志分子 TfR1, 氧化铁内核以其过氧化物酶的活性催化底物, 发生显色反应^[46]. 研究人员利用这种双功能特性建立一种新的肿瘤诊断方法, 通过对临床常见肿瘤标本的筛查, 发现它能够与 9 种常见肿瘤特异结合, 包括肝癌、肺癌、结肠癌、宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌以及胸腺癌. 这种新型铁蛋白纳米粒肿瘤诊断的灵敏度为 98%, 特异性为 95%, 检测结果与临床常用的基于抗体的免疫组化方法一致. 然而, 相对于传统的抗体免疫组化方法, 这种新型的纳米肿瘤诊断技术另辟蹊径, 具有操作简便、快速和经济的优点. 该技术将对肿瘤的认识与显色一步完成, 简化了常规免疫组化的一抗、二抗及酶底物反应等多步操作, 使临床常用免疫组化诊断时间从 4 h 缩短为 1 h, 提高了病理诊断效率, 为癌症病人的治疗赢得时间. 其次, 常规免疫组化中使用的抗体试剂大多为国外进口, 价格高昂且容易变性, 而这种新型纳米探针耐高温, 方便运输和存放. 另外可以大批量制备, 成本低. 因此, 这种双功能纳米分子探针的出现, 将为肿瘤诊断带来革命性的变化.

在肿瘤治疗方面, 有趣的发现是氧化铁纳米粒在过氧化氢存在的条件下, 可以通过其过氧化物模拟酶的性质直接杀死肿瘤细胞. 还有研究发现, 当铁磁纳米粒作为药物载体或造影剂成像在体内与活体细胞接触时, 如果存在过氧化氢, 将会引发催化反应产生自由基, 即使微量磁纳米粒也能杀死 80% 的 HeLa 细胞^[47]. 这个现象一方面为肿瘤的治

疗提供了新的思路. 另一方面, 也提示在体内应用磁纳米粒时, 必须慎重考虑其催化活性的影响, 即生物安全性.

5.2 检测血糖和尿酸

比色法是目前检测葡萄糖浓度的常规方法, 其原理是通过双酶联用体系——辣根过氧化物酶和葡萄糖氧化酶——所产生颜色反应而实现的, 即首先是葡萄糖氧化酶催化葡萄糖产生过氧化氢, 然后辣根过氧化物酶催化过氧化氢产生羟基自由基, 后者与底物 TMB 或 ABTS 反应并产生颜色. 葡萄糖的含量是根据颜色信号的强弱而定.

由于四氧化三铁纳米酶具有过氧化物酶的催化功能, 它不仅能够取代比色法中的辣根过氧化物酶, 而且还可以把葡萄糖氧化酶直接固定到纳米粒的表面, 在葡萄糖氧化酶催化葡萄糖产生过氧化氢的同时, 纳米酶便可以发挥其过氧化物酶的催化活性, 继而与底物 TMB 或者 ABTS 产生颜色反应. 这种方法不仅简单方便, 而且能够较为迅速地检测葡萄糖的含量^[48]. 此外, 还可以利用电化学的方法检测葡萄糖浓度, 即将纳米酶催化过氧化氢产生的电子转移到电极上, 通过电流信号判断葡萄糖的浓度^[49].

这种双酶连续反应体系还可用于半乳糖和尿酸检测. 将半乳糖氧化酶组装到铁磁纳米酶上, 半乳糖氧化酶氧化半乳糖产生过氧化氢, 后者被过氧化物酶催化产生颜色信号^[50]. 如果将尿酸氧化酶组装到 NaYF₄: Yb, Er 纳米酶上即可实现尿酸的定量检测, 因为 NaYF₄: Yb, Er 纳米粒具有过氧化物酶的性质^[51]. 在尿酸氧化酶催化尿酸产生 H₂O₂ 时, NaYF₄: Yb, Er 纳米酶可以代替天然酶 HRP 催化 TMB 反应, 通过间接比色法检测尿酸的含量. 这种方法的成本更低、稳定性较高, 具有很好的应用前景.

5.3 免疫检测

双抗夹心法是最常用的免疫检测方法, 其基本原理是: 待测样品中的抗原首先与固相抗体结合形成复合物, 再与酶标抗体结合, 在酶底物存在的条件下即会产生颜色反应, 通过比色法就可以测得抗原的含量. 其中辣根过氧化物酶是免疫检测中常用的重要工具酶. 但是辣根过氧化物酶作为一种天然酶, 容易变性、不易储存、造价高昂, 同时这种传统的双抗夹心法不能使样品中的待测抗原富集, 因此, 限制了对痕微量样品的检测. 而基于纳米酶的双抗夹心法, 不仅能够取代辣根过氧化物酶, 更重

要的是纳米酶本身还具有纳米材料的特征，能够富集抗原，对提高检测灵敏度和痕迹量的检测具有巨大的优势。比如 Fe₃O₄ 纳米酶，既具有过氧化物酶活性，又具有超顺磁性，在外加磁场作用下能够定向移动。因此，将 Fe₃O₄ 纳米材料粒磁性与催化活性相结合，可以建立一个集分离、富集和检测三功能于一体的新型酶联免疫检测方法 (图 4)。该方法将抗体偶联在纳米粒的表面形成免疫磁珠，它既可捕获待测样品中的抗原分子，又可在外加磁场时迅速分离抗原并富集抗原 / 抗体复合物，然后将这一复合物与固定在 96 孔板表面的另一抗体共同孵育形成夹心三明治结构。当加入底物时，Fe₃O₄ 纳米酶催化显色反应并产生信号，从而实现痕迹量抗原的检测^[52]，解决现阶段免疫检测技术灵敏度不够高以及痕量抗原检测困难的问题。

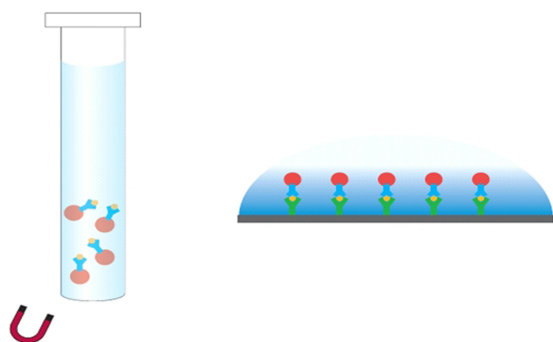


Fig. 4 Novel immunoassay based on magnetic nanozyme^[53]
图 4 基于纳米酶的免疫检测新技术^[53]

利用纳米酶建立的免疫检测方法，可对很多抗原实现快速检测，这其中包括蛋白质、核酸、小分子抗原、病毒、细菌和细胞，表 2 总结了纳米酶在免疫检测方面的应用。这些利用纳米酶建立的酶联免疫检测方法，提高了检测的速度和灵敏度，在临床诊断方面具有巨大的应用前景。

5.4 体内无标记示踪

目前纳米材料已被作为药物载体和造影剂广泛地应用于体内影像和疾病治疗。Fe₃O₄ 磁纳米粒是第一个应用于体内影像的纳米材料。在研究纳米材料对疾病诊断和治疗作用的同时，对于其生物安全性的讨论同样引起了极大的关注。在纳米酶出现之前，为了研究磁纳米粒子在体内的分布、代谢以及清除规律，人们通常是标记普鲁士蓝以示踪纳米材料在体内的分布与代谢。

Table 2 Immunoassay based on nanozyme
表 2 基于纳米酶的免疫检测

待测抗原	纳米酶及参考文献
HBV preS1, TnI	Fe ₃ O ₄ 纳米颗粒 ^[1]
CEA	Fe ₃ O ₄ 纳米颗粒 ^[52]
Her2, 轮状病毒	Fe ₃ O ₄ 纳米颗粒 ^[54]
除草剂, Bensulfuron-methyl	Pd@Au 双金属纳米结构 ^[28]
Nitrated human ceruloplasmin	铁蛋白纳米颗粒 ^[55]
Sticholysin	磁铁蛋白纳米颗粒 ^[9]
霍乱弧菌 (<i>Vibrio cholera</i>)	磁性聚合物纳米颗粒 ^[56]
人凝血酶	金纳米颗粒 ^[57]
硫酸盐还原细菌	氧化锰纳米线 ^[4]
EpCAM	氧化铈纳米颗粒 ^[58]
表皮生长因子受体 (EGFR)	氧化铁纳米颗粒 ^[44]

由于纳米酶的出现，使得磁纳米材料的体内示踪变得容易操作，无需在纳米材料的表面标记任何基因。研究人员借助其纳米酶的催化性质，探索了一种无标记技术示踪纳米粒在体内的代谢情况。该方法仅需在小鼠体内注射入无标记的磁纳米粒，由其过氧化物酶的活性催化底物显色，从而直接显示出纳米颗粒在各个脏器和组织中的分布及清除情况 (图 5)^[59]。与传统的普鲁士蓝显色方法相比，这种新方法的灵敏度要更高。并且，这种新方法避免了因普鲁士蓝修饰而影响纳米材料的体内代谢，也为具有过氧化物酶活性的纳米材料的示踪提供了新的思路。

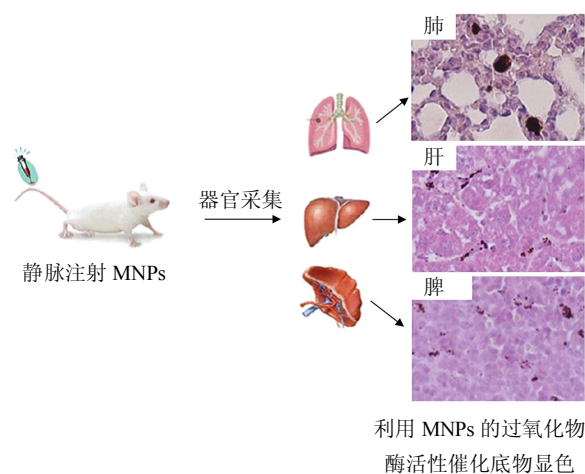


Fig. 5 Nanozyme for ex vivo tracking without labeling
图 5 纳米酶无标记体内示踪新方法

5.5 抗菌作用

纳米酶的抗菌作用是最近发现的。我们知道, 过氧化氢是常用的杀菌消毒剂, 这是由于过氧化氢能分解产生自由基, 从而破坏细菌的活性组分, 如细胞膜、蛋白质、核酸等。但这种产生自由基的效率较低, 加入催化剂则会加速反应的产生。具有过氧化物模拟酶活性的纳米材料可以作为这样的催化剂, 来提高过氧化氢产生自由基的效率, 增强杀菌消毒的效果。研究人员发现, 在低浓度过氧化氢存在时, 微量的纳米酶即可杀灭 100% 大肠杆菌, 而单独使用过氧化氢杀菌效率低于 15%^[47]。研究还发现, 具有钒卤代过氧化物酶 (vanadium haloperoxidase) 活性的五氧化二钒纳米线也可以有效抑制生物膜 (biofilm) 的形成^[60]。在过氧化氢存在时, 它可以将溴离子氧化产生次溴酸 (HOBr) 和单线态氧 (1O_2), 后者具有很强的抗菌活性。将五氧化二钒纳米线涂于不锈钢表面, 可以抑制微生物黏附, 有效防止生物膜的形成, 在轮船外壳防污方面具有潜在的应用价值。

5.6 环境监测与污水治理

环境监测的重要内容之一是监控过氧化物的含量。纳米酶可以取代天然酶而用于对环境的监测。例如, 雨水中的含氮化合物、含硫化合物会被过氧化氢氧化, 从而使其酸度升高, 形成酸雨。科学家利用过氧化物纳米酶的催化活性, 可以快速检测出雨水中过氧化氢的含量, 实现对酸雨的监测^[61]。另外, 还可以利用磁氧化铁纳米酶检测环境中的汞离子, 即先将单链 DNA 通过静电吸附作用包覆到纳米酶的表面, 由于 DNA 的存在, 会降低其纳米酶催化活性, 但是当汞离子存在时, 汞会与 DNA 结合, 从而将 DNA 从纳米颗粒表面置换下来, 恢复过氧化物纳米酶的催化活性, 通过这种加样前后催化活性的变化即达到检测的目的^[62]。

纳米酶的催化功能还可以用于污水处理。我们知道, 苯酚是存在于污水中最有害的致癌物质之一, 如何去除污水中的苯酚是污水治理的重要内容。研究人员发现过氧化物纳米酶可以催化过氧化氢产生大量自由基, 后者可以降解污水中的苯酚^[63], 生成二氧化碳、水和小分子有机酸。相对于天然酶对反应条件要求苛刻、容易变性失活的局限性, 纳米酶稳定性好、成本低、而且可以循环使用、对环境友好无害, 并且对多种污染物都具有降解作用。因此, 纳米酶在污水治理方面具有广泛的应用价值。

5.7 农药和神经毒剂监测

最近, 有报道用纳米酶检测有机磷杀虫剂及高毒性神经毒剂。这种检测系统是由纳米酶、乙酰胆碱酶和胆碱氧化酶组成的。乙酰胆碱酶和胆碱氧化酶在底物乙酰胆碱存在的条件下, 催化底物分解产生 H_2O_2 , 后者在过氧化物纳米酶的催化作用下, 产生自由基并进一步催化 HRP 底物产生颜色。当有机磷神经毒剂存在时, 乙酰胆碱酶的活性被抑制, 从而降低过氧化物酶底物 H_2O_2 的产生, 使催化显色变弱, 这些颜色变化反映了有机磷神经毒剂的多少。

科学家基于这种纳米酶的新型检测方法, 对三种有机磷化合物进行了检测, 分别是有机磷农药乙酰甲胺磷、甲基对氧磷和神经毒剂沙林。这种新的检测方法表现出明显的浓度依赖性的颜色变化。检测结果与传统的基于酶活性的分析方法一致, 可以灵敏地检测出 1 nmol/L 的沙林, 10 nmol/L 的甲基对氧磷及 5 nmol/L 的乙酰甲胺磷。更重要的是, 这种纳米酶的检测方法适应在多种条件下操作、并且简单价廉。因此, 可以很容易地被应用到多种有机磷化合物的神经毒性的筛查及国防安全中^[64]。

6 展 望

纳米酶的出现, 不仅改变了纳米材料被认为是生物惰性物质的传统观念, 还为研究纳米材料的生物效应提供了一个新的视角; 不仅丰富了模拟酶的研究内容, 使其从有机复合物拓展到无机纳米材料, 还拓展了纳米材料的应用。鉴于纳米酶是一类既有纳米材料的独特性能, 又有催化功能的模拟酶, 如何把纳米酶的这种双功能特性巧妙地结合起来, 创造出更多奇特功能的纳米酶, 揭示其作用机制并将其应用于人类健康、环境保护和生物能源, 是今后有待研究的新课题。

参 考 文 献

- [1] Gao L Z, Zhuang J, Nie L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nat Nanotechnol*, 2007, **2**(9): 577-583
- [2] Wei H, Wang E K. Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chem Soc Rev*, 2013, **42**(14): 6060-6093
- [3] Manea F, Houillon F B, Pasquato L, *et al.* Nanozymes: Gold-nanoparticle-based transphosphorylation catalysts. *Angew Chem Int Edit*, 2004, **43**(45): 6165-6169
- [4] 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**(2): 620-625

- [5] 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**(27): 4716–4722
- [6] Zhang X Q, Gong S W, Zhang Y, *et al.* Prussian blue modified iron oxide magnetic nanoparticles and their high peroxidase-like activity. *J Mater Chem*, 2010, **20**(24): 5110–5116
- [7] Luo W, Zhu L H, Wang N, *et al.* Efficient removal of organic pollutants with magnetic nanoscaled BiFeO₃ as a reusable heterogeneous fenton-like catalyst. *Environ Sci Technol*, 2010, **44**(5): 1786–1791
- [8] Zhang X D, He S H, Chen Z H, *et al.* CoFe₂O₄ Nanoparticles as oxidase mimic-mediated chemiluminescence of aqueous luminol for sulfite in white wines. *J Agr Food Chem*, 2013, **61**(4): 840–847
- [9] Figueroa-Espi V, Alvarez-Paneque A, Torrens M, *et al.* Conjugation of manganese ferrite nanoparticles to an anti Sticholysin monoclonal antibody and conjugate applications. *Colloid Surface A*, 2011, **387**(1-3): 118–124
- [10] Dai Z H, Liu S H, Bao J C, *et al.* Nanostructured FeS as a mimic peroxidase for biocatalysis and biosensing. *Chem-Eur J*, 2009, **15**(17): 4321–4326
- [11] Dutta A K, Maji S K, Srivastava D N, *et al.* Synthesis of FeS and FeSe nanoparticles from a single source precursor: A study of their photocatalytic activity, peroxidase-Like behavior, and electrochemical sensing of H₂O₂. *Acs Appl Mater Inter*, 2012, **4**(4): 1919–1927
- [12] Dutta A K, Maji S K, Mondal A, *et al.* Iron selenide thin film: Peroxidase-like behavior, glucose detection and amperometric sensing of hydrogen peroxide. *Sensor Actuat B-Chem*, 2012, **173**: 724–731
- [13] Jiao X, Song H J, Zhao H H, *et al.* Well-redispersed ceria nanoparticles: Promising peroxidase mimetics for H₂O₂ and glucose detection. *Anal Methods-Uk*, 2012, **4**(10): 3261–3267
- [14] Wan Y, Qi P, Zhang D, *et al.* Manganese oxide nanowire-mediated enzyme-linked immunosorbent assay. *Biosens Bioelectron*, 2012, **33**(1): 69–74
- [15] Liu X, Wang Q, Zhao H H, *et al.* BSA-templated MnO₂ nanoparticles as both peroxidase and oxidase mimics. *Analyst*, 2012, **137**(19): 4552–4558
- [16] Chen W, Chen J, Feng Y B, *et al.* Peroxidase-like activity of water-soluble cupric oxide nanoparticles and its analytical application for detection of hydrogen peroxide and glucose. *Analyst*, 2012, **137**(7): 1706–1712
- [17] Mu J S, Wang Y, Zhao M, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity and catalase-like activity of Co₃O₄ nanoparticles. *Chem Commun*, 2012, **48**(19): 2540–2542
- [18] Yin J F, Cao H Q, Lu Y X. Self-assembly into magnetic Co₃O₄ complex nanostructures as peroxidase. *J Mater Chem*, 2012, **22**(2): 527–534
- [19] Andre R, Natalio F, Humanes M, *et al.* V₂O₅ Nanowires with an intrinsic peroxidase-like activity. *Adv Funct Mater*, 2011, **21**(3): 501–509
- [20] Dutta A K, Das S, Samanta S, *et al.* CuS nanoparticles as a mimic peroxidase for colorimetric estimation of human blood glucose level. *Talanta*, 2013, **107**: 361–367
- [21] Maji S K, Dutta A K, Dutta S, *et al.* Single-source precursor approach for the preparation of CdS nanoparticles and their photocatalytic and intrinsic peroxidase like activity. *Appl Catal B-Environ*, 2012, **126**: 265–274
- [22] He W W, Liu Y, Yuan J S, *et al.* Au@Pt nanostructures as oxidase and peroxidase mimetics for use in immunoassays. *Biomaterials*, 2011, **32**(4): 1139–1147
- [23] Song Y J, Wang X H, Zhao C, *et al.* Label-free colorimetric detection of single nucleotide polymorphism by using single-walled carbon nanotube intrinsic peroxidase-like activity. *Chem-Eur J*, 2010, **16**(12): 3617–3621
- [24] Song Y J, Qu K G, Zhao C, *et al.* Graphene oxide: intrinsic peroxidase catalytic activity and its application to glucose detection. *Adv Mater*, 2010, **22**(19): 2206–2210
- [25] Jv Y, Li B X, Cao R. Positively-charged gold nanoparticles as peroxidase mimic and their application in hydrogen peroxide and glucose detection. *Chem Commun*, 2010, **46**(42): 8017–8019
- [26] Ma M, Zhang Y, Cu N. Peroxidase-like catalytic activity of cubic Pt nanocrystals. *Colloid Surface A*, 2011, **373**(1–3): 6–10
- [27] Hu X N, Saran A, Hou S, *et al.* Au@PtAg core/shell nanorods: tailoring enzyme-like activities *via* alloying. *Rsc Adv*, 2013, **3**(17): 6095–6105
- [28] Nangia Y, Kumar B, Kaushal J, *et al.* Palladium@gold bimetallic nanostructures as peroxidase mimic for development of sensitive fluoroimmunoassay. *Anal Chim Acta*, 2012, **751**: 140–145
- [29] He W W, Wu X C, Liu J B, *et al.* Design of AgM bimetallic alloy nanostructures (M = Au, Pd, Pt) with tunable morphology and peroxidase-like activity. *Chem Mater*, 2010, **22**(9): 2988–2994
- [30] Cui R J, Han Z D, Zhu J J. Helical carbon nanotubes: intrinsic peroxidase catalytic activity and its application for biocatalysis and biosensing. *Chem-Eur J*, 2011, **17**(34): 9377–9384
- [31] Shi W B, Wang Q L, Long Y J, *et al.* Carbon nanodots as peroxidase mimetics and their applications to glucose detection. *Chem Commun*, 2011, **47**(23): 6695–6697
- [32] Liu S, Wang L, Zhai J F, *et al.* Carboxyl functionalized mesoporous polymer: A novel peroxidase-like catalyst for H₂O₂ detection. *Anal Methods-Uk*, 2011, **3**(7): 1475–1477
- [33] 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**(8): 617–623
- [34] Tao Y, Lin Y H, Huang Z Z, *et al.* Incorporating graphene oxide and gold nanoclusters: A synergistic catalyst with surprisingly high peroxidase-like activity over a broad pH range and its application for cancer cell detection. *Adv Mater*, 2013, **25**(18): 2594–2599
- [35] Fan J, Yin J J, Ning B, *et al.* Direct evidence for catalase and peroxidase activities of ferritin-platinum nanoparticles. *Biomaterials*, 2011, **32**(6): 1611–1618
- [36] He W W, Zhou Y T, Warner W G, *et al.* Intrinsic catalytic activity of Au nanoparticles with respect to hydrogen peroxide

- decomposition and superoxide scavenging. *Biomaterials*, 2013, **34**(3): 765–773
- [37] 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**(5): 4001–4012
- [38] Deng H M, Shen W, Peng Y F, *et al.* Nanoparticulate peroxidase/catalase mimetic and its application. *Chem-Eur J*, 2012, **18**(29): 8906–8911
- [39] Asati A, Santra S, Kaittanis C, *et al.* Oxidase-like activity of polymer-coated cerium oxide nanoparticles. *Angew Chem Int Edit*, 2009, **48**(13): 2308–2312
- [40] Clark A, Zhu A P, Sun K, *et al.* Cerium oxide and platinum nanoparticles protect cells from oxidant-mediated apoptosis. *J Nanopart Res*, 2011, **13**(10): 5547–5555
- [41] Slocik J M, Govorov A O, Naik R R. Photoactivated biotemplated nanoparticles as an enzyme mimic. *Angew Chem Int Edit*, 2008, **47**(29): 5335–5339
- [42] Luo W J, Zhu C F, Su S, *et al.* Self-catalyzed, self-limiting growth of glucose oxidase-mimicking gold nanoparticles. *Acs Nano*, 2010, **4**(12): 7451–7458
- [43] Zhang K, Hu X N, Liu J B, *et al.* Formation of PdPt alloy nanodots on gold nanorods: tuning oxidase-like activities *via* composition. *Langmuir*, 2011, **27**(6): 2796–2803
- [44] Wu Y H, Song M J, Xin Z A, *et al.* Ultra-small particles of iron oxide as peroxidase for immunohistochemical detection. *Nanotechnology*, 2011, **22**(22): 225703
- [45] Fan K L, Gao L Z, Yan X Y. Human ferritin for tumor detection and therapy. *Wires Nanomed Nanobi*, 2013, **5**(4): 287–298
- [46] Fan K, Cao C, Pan Y, *et al.* Magnetoferritin nanoparticles for targeting and visualizing tumour tissues. *Nat Nanotechnol*, 2012, **7**(12): 833–833
- [47] 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**(38): 5100–5107
- [48] Wei H, Wang E. Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics and their applications in H₂O₂ and glucose detection. *Anal Chem*, 2008, **80**(6): 2250–2254
- [49] Yang L Q, Ren X L, Tang F Q, *et al.* A practical glucose biosensor based on Fe₃O₄ nanoparticles and chitosan/nafion composite film. *Biosens Bioelectron*, 2009, **25**(4): 889–895
- [50] Kim M I, Shim J, Li T, *et al.* Colorimetric quantification of galactose using a nanostructured multi-catalyst system entrapping galactose oxidase and magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics. *Analyst*, 2012, **137**(5): 1137–1143
- [51] Tang Y R, Zhang Y, Liu R, *et al.* Application of NaYF₄: Yb, Er nanoparticles as peroxidase mimetics in uric acid detection. *Chinese J Anal Chem*, 2013, **41**(3): 330–336
- [52] Gao L Z, Wu J M, Lyle S, *et al.* Magnetite nanoparticle-linked immunosorbent assay. *J Phys Chem C*, 2008, **112** (44): 17357–17361
- [53] Perez J M. Iron oxide nanoparticles-Hidden talent. *Nat Nanotechnol*, 2007, **2**(9): 535–536
- [54] Woo M A, Kim M I, Jung J H, *et al.* A novel colorimetric immunoassay utilizing the peroxidase mimicking activity of magnetic nanoparticles. *Int J Mol Sci*, 2013, **14**(5): 9999–10014
- [55] Tang Z W, Wu H, Zhang Y Y, *et al.* Enzyme-mimic activity of ferric nano-core residing in ferritin and its biosensing applications. *Anal Chem*, 2011, **83**(22): 8611–8616
- [56] Thiramanas R, Jangpatarapongsa K, Tangboriboonrat P, *et al.* Detection of vibrio cholerae using the intrinsic catalytic activity of a magnetic polymeric nanoparticle. *Anal Chem*, 2013, **85** (12): 5996–6002
- [57] Li W, Li J, Qiang W B, *et al.* Enzyme-free colorimetric bioassay based on gold nanoparticle-catalyzed dye decolorization. *Analyst*, 2013, **138**(3): 760–766
- [58] Asati A, Kaittanis C, Santra S, *et al.* pH-tunable oxidase-like activity of cerium oxide nanoparticles achieving sensitive fluorogenic detection of cancer biomarkers at neutral pH. *Anal Chem*, 2011, **83**(7): 2547–2553
- [59] 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 Pharmaceut*, 2012, **9** (7): 1983–1989
- [60] Natalio F, Andre R, Hartog A F, *et al.* Vanadium pentoxide nanoparticles mimic vanadium haloperoxidases and thwart biofilm formation. *Nat Nanotechnol*, 2012, **7**(8): 530–535
- [61] 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**(24): 3972–3974
- [62] Kim Y S, Jung 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
- [63] Zhang J B, Zhuang J, Gao L Z, *et al.* Decomposing phenol by the hidden talent of ferromagnetic nanoparticles. *Chemosphere*, 2008, **73**(9): 1524–1528
- [64] Liang M M, Fan K L, Pan Y, *et al.* Fe₃O₄ magnetic nanoparticle peroxidase mimetic-based colorimetric assay for the rapid detection of organophosphorus pesticide and nerve agent. *Anal Chem*, 2013, **85**(1): 308–312

Discovery and Current Application of Nanozyme

GAO Li-Zeng, YAN Xi-Yun*

(Key Laboratory of Protein and Peptide Pharmaceuticals, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract The research on nanozyme which is a novel enzyme mimic based on nanomaterial, is becoming a rapidly emerging field since ferromagnetic nanoparticles with intrinsic peroxidase-like activity was first reported in 2007. Many nanozymes with different morphologies, sizes and components are found to have intrinsic enzyme-like activities and their catalytic mechanisms are systematically investigated. Nanozyme demonstrates high efficient activity, stability and low cost by preparation at large scale. Therefore, nanozymes have promising and multiple applications in many important fields, such as biomedicine, chemical industry, food, agriculture and environment. The discovery of nanozyme not only promotes the basic research in nanotechnology, but also expands the applications of nanomaterials. This review will introduce the latest research progresses in the field of nanozyme.

Key words nanozyme, nanomaterial, enzyme mimics, catalysis, tumor detection, wastewater treatment

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00409

*Corresponding author.

Tel: 86-10-64888583, Fax: 86-10-64888584, E-mail: yanxy@ibp.ac.cn

Received: September 14, 2013 Accepted: September 24, 2013