

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200711001

张凌燕,黄沛力.毛细管电泳技术在纳米材料毒性研究领域的应用进展[J].生态毒理学报,2021,16(4):72-79

Zhang L Y, Huang P L. Capillary electrophoresis: Application and progress for toxicity research of nanomaterials [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(4): 72-79 (in Chinese)

毛细管电泳技术在纳米材料毒性研究领域的应用进展

张凌燕1.2,黄沛力1,*

1. 首都医科大学公共卫生学院,北京 100069
 2. 包头医学院公共卫生学院,包头 014040
 收稿日期:2020-07-11 录用日期:2021-01-24

摘要:纳米材料(nanomaterials, NMs)在各个领域的广泛应用导致其不可避免地通过环境暴露、职业暴露和医源性暴露进入人体。当NMs进入人体后,生理环境中复杂的生物分子都可能与NMs发生相互作用,不仅使NMs获得全新的生物学特性而影响其潜在毒性,还可能改变生物分子的结构和生物学功能而引发疾病。随着对NMs毒性效应研究的不断深入,能够详细描述NMs、生物分子以及NMs和生物分子相互作用形成的复合物的分析技术受到广泛关注。毛细管电泳技术(capillary electrophoresis, CE)以其高灵敏、高分辨、高通量、条件温和以及低消耗的优势在NMs与生物分子相互作用研究领域展现出巨大潜力。本文阐述了2010—2019年间 CE技术研究 NMs与蛋白质相互作用的动态行为表征、结合平衡分析、蛋白冠的形成和转换监测,以及NMs与其他生物分子相互作用的新进展。 关键词:纳米材料;生物分子;相互作用;毛细管电泳

文章编号:1673-5897(2021)4-072-08 中图分类号:X171.5 文献标识码:A

Capillary Electrophoresis: Application and Progress for Toxicity Research of Nanomaterials

Zhang Lingyan^{1,2}, Huang Peili^{1,*}
1. School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China
2. School of Public Health, Baotou Medical College, Baotou 014040, China
Received 11 July 2020 accepted 24 January 2021

Abstract: Nanomaterials (NMs) would enter human body through environmental, occupational and iatrogenic exposures due to their wide application. NMs would interact with the biomolecules in physiological environment after internalization. Consequently, NMs acquire novel biological characters that would affect their potential toxicity, and the structure and biological function of biomolecules might also be altered that would cause disease. With the study on the toxic effects of NMs going on deeply, the analysis techniques that can describe NMs, biomolecules and the complexes formed by their interaction are given more concern. Capillary electrophoresis (CE), with its advantages of high sensitivity, high resolution, high throughput, mild conditions and low consumption, has shown great potential in the research field of interaction between NMs and biomolecules. This review focuses on the application and

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81573201,81872667)

第一作者:张凌燕(1986—),女,博士研究生,研究方向为分析毒理学,E-mail: zhanglingyan680@139.com

^{*} 通讯作者(Corresponding author), E-mail: huangpl@ccmu.edu.cn

progress of CE in exploring the interaction between NMs and proteins from 2010 to 2019, including characterizing the dynamic behavior, analyzing the binding balance, monitoring the formation and transformation of protein corona, as well as the interaction of NMs with other biomolecules.

Keywords: nanomaterial; biomolecules; interaction; capillary electrophoresis

纳米材料(nanomaterials, NMs)因其独特的物理 化学性质和良好的生物相容性在电子、催化、农业、 纺织、包装、化妆品、食品和生物医学等各个领域的 应用非常广泛^[1-8]。然而,这也导致了 NMs 不可避 免地释放到环境中,并通过接触、吸入、口服给药甚 至注射等途径造成直接或间接人体暴露。当 NMs 进入人体的生理环境后,血液、组织液和细胞质中复 杂的生物分子混合物都可能与 NMs 相互作用,形成 被称为"蛋白冠"或"小分子冠"的 NMs 和生物分子 的复合物。这些复合物的形成不仅改变了 NMs 的 组成和聚集状态,影响其生物分布、细胞摄取和细胞 毒性,而且还可能改变生物分子的结构和生物学功 能而导致疾病的产生[9-12]。此外,不同组成、尺寸、 形状和表面修饰官能团的 NMs 与生物分子的相互 作用也存在很大差异[13-14]。因此,发展能够详细描 述 NMs、生物分子以及 NMs 和生物分子相互作用 形成的复合物的分析技术不仅可以更好地理解它们 在体内的生物学行为和最终命运,而且对 NMs 的安 全性评价、优化 NMs 设计合成和减轻 NMs 毒性至 关重要。

常用于直接测量 NMs 和生物分子相互作用的 技术包括荧光光谱、表面等离子体共振、等温滴定量 热法等[15-17]。荧光光谱能够根据 NMs 和生物分子 相互作用后荧光强度、峰位移和荧光寿命等的改变 获得结合参数信息,但是要求分析物必须有自发荧 光或荧光标签,并需要在实验过程中排除生物分子 自身荧光的干扰和严格控制影响荧光稳定性的条 件。表面等离子体共振技术可提供 NMs 和生物分 子结合的反应动力学和亲和力参数,但需要通过复 杂的步骤将 NMs 或生物分子固定在芯片表面,芯片 价格昂贵且不可重复利用,对相对分子质量小的生 物分子的检出限也较高。等温滴定量热法能够给出 NMs 和生物分子相互作用的热力学参数,但测定一 个样品所需的滴定时间较长(1.5~4 h),无法实现高 通量检测。因此,这些方法都难以快速、简便和灵敏 地研究具有广泛物理化学性质的 NMs 和生物分子 的相互作用,更无法实时监测 NMs 和生物分子相互 作用的动态变化过程^[18]。

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)技术是 以高压直流电场为驱动力,毛细管为分离通道,依据 待测样品中各组分在毛细管内电泳、电渗淌度或分 配行为的不同而实现分离的一种新型液相分离技 术。作为一种高灵敏、高分辨、高通量、条件温和以 及低消耗的分析技术,CE 在表征和分析原始 NMs、 生物或环境中存在的 NMs 以及 NMs 从生物或环境 基质中获得的冠状物成分方面具有很大潜力[19-22]。 随着近年来高灵敏度检测器、高性能毛细管柱的研 发和仪器联用技术的应用,CE成为研究 NMs 与生 物分子相互作用的一种重要手段,不仅可以在线监 测 NMs 与生物分子相互作用的动态行为变化,而且 能够收集结合参数信息并评估 NMs 对生物分子的 反应性和亲和力^[23-25]。本文主要从 NMs 与蛋白质 的相互作用(包括动态行为表征、结合平衡分析、蛋 白冠的形成和转换监测)、NMs 与其他生物分子的 相互作用这2个方面综述了近10年来有代表性的 CE 技术在 NMs 毒性研究领域的应用及取得的新进 展,为了解 NMs 进入体内后的生物学行为和评价 NMs 的生物安全性提供新思路。

1 纳米材料与蛋白质的相互作用(Interaction between nanomaterials and proteins)

当 NMs 暴露在复杂的生理环境时,多种生物分子可结合到其表面而形成蛋白冠。蛋白冠决定了 NMs 在生物体内被细胞识别的方式,并能够调节 NMs 的摄入、清除以及在体内的转运过程^[26-27]。CE 技术作为描述 NMs 与蛋白质相互作用过程的有力 手段,得到很多研究者的青睐。

1.1 动态行为表征(Characterization of dynamic behavior)

CE 技术可以有效考察 NMs 与蛋白质之间相互 作用的动态行为,通过记录相当长一段时间(24 h 或 更长)内的迁移时间和峰面积来评估 NMs、蛋白质以 及 NMs 和蛋白质形成的复合物的变化。

Li 等^[28]采用毛细管区带电泳(capillary zone electrophoresis, CZE)和亲和毛细管电泳(affinity capillary electrophoresis, ACE)这2种分离模式分别研究了牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)与超顺

磁 Fe₃O₄ 纳米颗粒(nanoparticles, NPs)和 Au NPs 的 相互作用。该研究发现,BSA 与 Fe₃O₄ NPs 的相互 作用表现为慢速结合动力学,二者需混合孵育过夜 后复合物的峰才不再变化,即相互作用达到平衡。 随着 BSA 浓度的增加, Fe₃O₄ NPs 的峰高逐渐降低 至最终消失,且在峰左侧出现的 Fe₃O₄ NPs-BSA 复 合物峰向左轻微移动,说明每个 Fe₃O₄ NPs 中 BSA 分子的数量随着蛋白浓度的增加而增加,直至由于 空间位阻而无法容纳更多 BSA。而 BSA 与 Au NPs 的相互作用表现为快速结合动力学,电泳缓冲液中 的 BSA 与样品中的 Au NPs 相遇后即发生相互作 用,但该相互作用仅使迁移率发生变化,而未使复合 物和游离 Au NPs 的峰分离。随着 BSA 浓度的增 加,Au NPs 的迁移时间缩短,表明 Au NPs 粒径增 大,且该变化随着 BSA 浓度的增加越来越小,直到 BSA达到一定高浓度时迁移率几乎不再变化。 Matczuk 等^[29]采用毛细管电泳-电感耦合等离子体质 谱(capillary electrophoresis coupled inductively coupled plasma mass spectrometry, CE-ICP-MS)研究了柠 檬酸盐修饰的 Au NPs 与白蛋白(albumin, ALB)、转 铁蛋白(transferrin, TRF)2 种血清蛋白之间的相互作 用。该研究发现,在37 ℃条件下,10~50 nm 的 Au NPs与ALB 孵育5 min 后游离 Au NPs 的峰已消 失, 而 5 nm 的 Au NPs 与 ALB 孵育 24 h 后仍有 5% 的游离 Au NPs 存在。然而, Au NPs 与 TRF 结合达 到平衡大约需要5 min,且形成的结合物随 Au NPs 粒径增大而增多,但总量不超过10%,即平衡时主 要以未结合的 Au NPs 为主。

Matczuk 等^[30]还使用 CE-ICP-MS 方法观察了 CdSeS/ZnS 量子点(quantum dots, QDs)与 ALB、TRF 这 2 种血清蛋白结合的两步动力学机制。在第一阶 段,只有一小部分 QDs(约 4%)转化为蛋白质结合形 式,但 1 h 后在电泳图中就只观察到一个单独的与 ALB 结合物相对应的 Cd 或 Zn 的信号,即 CdSeS/ ZnS QDs 已全部转化为 QDs-ALB 结合物形式。而 QDs-TRF 结合物的形成要快得多(约 5 min),并显著 导致 ZnS 壳层从 CdSeS 核上解体。Wang 等^[31]利用 毛细管电泳-荧光(capillary electrophoresis coupled fluorescence, CE-FL)检测法研究了 CdSe/ZnS QDs 与多巯基变性 BSA(denatured BSA, dBSA)在不同 pH 和离子强度下相互作用的机理和动力学,发现 QDs 与 dBSA 的相互作用动力学表现为两相动力 学,即初始阶段为线性,随后为饱和平衡阶段。此 外,该研究还发现 QDs 表面的结合位点有不同的优 先级,可以分层组装配体,且会导致 QDs 表面多价 巯基的低程度取代。当 dBSA 和 QDs 混合后,由于 形成了多种 QDs-dBSA 预饱和中间体,在电泳图中 可以分离出从游离 QDs 到结合 QDs 的不同形式, 且形成的 QDs-dBSA 配合物的量与混合的物质的量 比例和混合时间相关。

1.2 结合平衡分析(Analysis of binding equilibrium)

当 NMs 表面结合蛋白质的浓度随时间延长而 不再改变时,即达到动态平衡状态。收集达到平衡 时的结合数据对研究 NMs 与蛋白的相互作用非常 重要,它可以为预测细胞系统对不同 NMs 的吸收所 作出的反应提供依据。结合平衡常数(K)以及其他 附加亲和参数可以用 CE 内外相互作用模式来测 定,如生物分子与每个粒子的结合数、结合协同性以 及表观速率常数等(表 1)。当发生快速反应(thinding 《 tcm)时,最常用的方法是动态平衡法,即一方在样品 中,另一方在电泳缓冲液中,可使用 ACE 和毛细管 电泳前沿分析(capillary electrophoresis-frontal analysis, CE-FA)等方法根据电泳迁移率或峰高的变化来 确定结合参数。当发生慢速反应时 $(t_{\text{binding}} \gg t_{\text{CE}})$,需 要将反应混合物孵育一段时间后再进行分析,并分 别使用 CZE 或 FACE 监测电泳迁移率或峰高的变 化来获得结合参数。Matczuk 等^[32]利用 CE-ICP-MS 同时检测 NMs 中的金属元素和蛋白质中的硫元素 来确定蛋白冠的化学计量组成。通过计算发现不同 粒径的 Au NPs 与 ALB 或人血清相互作用后的蛋白 质结合个数非常一致,这可能是由于 ALB 在血清中 占主导地位。Boulos 等^[33]还利用 ACE 对具有不同 表面电荷的 Au 纳米棒(nanorods, NRs)与 BSA 的结 合进行了定量。通过测量随着电泳缓冲液中蛋白浓 度的增加 Au NRs 迁移率的改变来测定 BSA 吸附 到每个带负电和不带电的 Au NRs 上的结合平衡常 数,发现无论 Au NRs 表面电荷多少,BSA 与所有测 试的 Au NRs 均具有类似的结合亲和力。

当研究毛细管内相对快速达到结合平衡的相互 作用时,可采用电泳介导的微分析(electrophoretically mediated microanalysis, EMMA)方法。例如, Wang 等^[34]采用 EMMA 法研究 QDs 和 dBSA 在毛细管内 的自组装动力学,将 QDs 和 dBSA 连续注入毛细 管,在恒定电场作用下,由于 QDs 的迁移速度比 dB-SA 慢(dBSA 第 2 位置注入),二者会发生局部微混 合。通过该方式将不同物质的量比例的 QDs 和 dB- SA 在毛细管内混合后观察其相互作用。此过程中QDs-dBSA 结合物的峰随着 dBSA 浓度的增加而增加,而 QDs 的峰逐渐减小,直到 dBSA :QDs 的物质的量比为 32:1 时达到平衡状态。通过 Hill 方程可

计算 QDs 和 dBSA 相互作用的解离常数($K_{\rm D}$)和结合 协同性(binding cooperativity, BC)。而当 QDs 作为 背景电解质组分时,还可以监测其与 2 个不同生物 分子的结合顺序^[35-36]。

表1 毛细管电泳技术(CE)研究纳米	材料和蛋白质相互作用的结合信息
--------------------	-----------------

Table 1Binding information of the interactions between nanomaterials and proteinsobtained by capillary electrophoresis (CE)

纳米材料 Nanomaterials	蛋白质 Proteins	结合信息 Binding information	参考文献 References
Au NPs	ALB	n=15 (与 5 nm Au NPs 结合) n=15 (binding to 5 nm Au NPs) n=42 (与 10 nm Au NPs 结合) n=42 (binding to 10 nm Au NPs) n=108 (与 20 nm Au NPs 结合) n=108 (binding to 20 nm Au NPs) n=285 (与 50 nm Au NPs 结合) n=285 (binding to 50 nm Au NPs)	[32]
PAA-Au NRs PEG-Au NRs	BSA	$K = (7.93 \pm 0.49) \times 10^4 \pmod{(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1}}, \text{BC} = 2.29 \pm 0.31$ $K = (1.53 \pm 0.09) \times 10^4 \pmod{(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1}}, \text{BC} = 2.19 \pm 0.27$	[33]
GSH-CdSe/ZnS QDs	dBSA	$K=3.6\times10^5 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}$,BC=2.8 (毛细管外结合模式) $K=3.6\times10^5 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}$,BC=2.8 (Binding mode outside the capillary) $K=1.1\times10^5 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}$,BC=2.6 (毛细管内结合模式) $K=1.1\times10^5 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}$,BC=2.6 (Binding mode inside the capillary)	[34]
GSH-CdSe/ZnS QDs	His ₆ -mCherry protein	$K=9.5\times10^4 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}$,BC=2.63 (毛细管外结合模式) $K=9.5\times10^4 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}$,BC=2.63 (Binding mode outside the capillary) $K=4.3\times10^4 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}$,BC=2.86 (毛细管内结合模式) $K=4.3\times10^4 \text{ (mol}\cdot\text{L}^{-1})^{-1}$,BC=2.86 (Binding mode inside the capillary)	[39]
MPA-CdSe/ZnS QDs	apo-TRF holo-TRF	$k=2.3 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ $k=2.8 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$	[30]
ZGO-PEG NPs	BSA	(1) 30 mmol·L ⁻¹ BGE $K=(5.06\pm0.64)\times10^{6} \text{ (mol·L}^{-1})^{-1}, n=5.21\pm0.27$ (2) 60 mmol·L ⁻¹ BGE $K=(3.98\pm0.38)\times10^{6} \text{ (mol·L}^{-1})^{-1}, n=3.71\pm0.13$ (3) 100 mmol·L ⁻¹ BGE $K=(2.33\pm0.23)\times10^{6} \text{ (mol·L}^{-1})^{-1}, n=2.06\pm0.22$ (4) 150 mmol·L ⁻¹ BGE $K=(9.53\pm0.18)\times10^{5} \text{ (mol·L}^{-1})^{-1}, n=0.74\pm0.15$	[37]

注:K表示结合平衡常数,k表示表观速率常数,BC表示结合协同性,n表示与每个粒子结合的蛋白质数目;NPs表示纳米颗粒,NRs表示纳米棒,PAA表示聚丙烯酸,PEG表示聚乙二醇,GSH表示谷胱甘肽,QDs表示量子点,MPA表示巯基丙酸,ZGO-PEG NPs表示聚乙二醇修饰的ZnGa₁₉₉₅Cr₀₀₀₅O₄纳米颗粒。

Note: K for binding equilibrium constant, k for apparent rate constant, BC for binding cooperativity, n for number of proteins bound to each particle; NPs for nanoparticles, NRs for nanorods, PAA for poly(acrylic acid), PEG for polyethylene glycol, GSH for glutathione, QDs for quantum dots, MPA for mercaptopropionic acid, ZGO-PEG NPs for polyethylene glycol-functionalized ZnGa_{1.995}Cr_{0.005}O₄ nanoparticles . 当研究的 NPs 和蛋白质之间的相互作用相对 较弱时,可以采用毛细管电泳电动力学 Hummel-Dreyer 方法(CE-HD)。例如, Ramírez-García 等^[37]在 研究 PEG 功能化的 ZnGa₁₉₉₅Cr_{0.005}O₄ NPs(ZGO-PEG NPs)与 BSA 之间的非特异性相互作用时,首次尝试 使用该方法测定了不同离子强度下的结合常数和结 合位点数。该方法对结合参数的微小变化非常敏 感,能够反映带相反电荷的离子在 NPs 表面的凝 结,表明 ZGO-PEG NPs 与 BSA 之间存在静电相互 作用。

1.3 蛋白冠的形成和转换监测(Monitoring of formation and transformation of protein corona)

在生理环境如血清中,NMs 会遇到复杂的蛋白 质组,因而会形成随时间动态变化的蛋白冠。蛋白 冠的形成和组成受多种参数控制,如 NMs 的大小、 形状和修饰官能团,蛋白质的丰度、与 NMs 的结合 亲和力,血清基质成分等。采用 CE-ICP-MS 技术可 以在复杂的基质中对含有可检测元素的 NMs 及其 蛋白冠的形成和转换过程进行定性和定量监测。

Matczuk 等^[29]利用 CE-ICP-MS 检测 Au、Fe 和 S 元素,发现血清中的全铁转铁蛋白(holo-transferrin, holo-TRF)、脱铁转铁蛋白(apo-transferrin, apo-TRF) 和 ALB 与 Au NPs 的结合状态会随时间延长而发生 改变。在与血清相互作用 2 min 后, Au NPs 就会转 化为 ALB 和 TRF 结合物的形式。然而,当 Au NPs 在血液中的循环时间延长至4h后,2种形式的TRF 峰均消失,即 ALB 完全取代了 2 种形式的 TRF,成 为蛋白冠中唯一的平衡成分。此外,Au NPs 的尺寸 影响蛋白冠的形成,不同大小的 Au NPs 表面形成 蛋白冠的相对含量和吸附平衡时间存在差异,如5 nm 和 50 nm 的 Au NPs 分别在 20 min 和 24 h 达到 吸附平衡。而当 NMs 表面化学性质不同时,其结合 行为也存在差异。例如,将人血清和 Au NRs 混合 后,Au NRs-PEG-COOH 和 apo-TRF 立刻形成吸附 层,成为主要的蛋白冠,该过程大约40 min 完成;而 Au NRs-PEG-NH,则首先形成 ALB 结合物,但这种 软冠中的 ALB 会逐渐被其他不太丰富的蛋白取代, 说明这些蛋白对胺化表面具有更高的亲和力[38]。

此外,研究发现,ALB 与 CdSeS/ZnS QDs 表面的结合在1h后完成,且没有明显破坏 QDs 的核壳结构;而 TRF 与之结合后则会导致 ZnS 外壳的解离^[30]。该研究还发现,CdSeS/ZnS QDs 在真实血清环境中同样也会失去外壳,但并不是因为与主要转

运蛋白结合,而是与 ALB 和 TRF 以外的血浆蛋白 相互作用,表明一些较小的血浆蛋白可能对 QDs 表 面有更高的亲和力。该结果有助于阐明 QDs 向机 体目标区域传递的机制,但不能明确 CdSeS/ZnS QDs 失去外壳是否会产生特定类型的 NMs 毒性。

2 纳米材料与其他生物分子的相互作用(Interaction between nanomaterials and other biomolecules)

CE评价 NMs与生物分子之间的相互作用并不局限于蛋白质,在生物基质中存在的其他小分子如 寡核苷酸、病毒、DNA、适配体和多肽等也可能和 NMs相互作用形成冠。

Alsudir 和 Lai^[40]利用毛细管电泳-紫外(capillary electrophoresis coupled ultraviolet, CE-UV)检测法分 析了 TiO, NPs 与单链 DNA 和双链 DNA 的相互作 用,发现 TiO, NPs 与单链 DNA 结合后涂上 PEG 涂 层可精确测定分散 TiO₂ NPs 的浓度,分析灵敏度提 高 10 倍~16 倍。该研究发现单链 DNA 是一种比 双链 DNA 更有效的吸附剂,可以通过其糖-磷酸骨 架与 TiO, NPs 发生更强的相互作用。Stanisavljevic 等^[41]采用 CE-UV 和毛细管电泳-激光诱导荧光(capillary electrophoresis coupled laser-induced fluorescence, CE-LIF)方法证实了链霉亲和素(streptavidin, strep)修饰的 MPA-CdTe QDs 与所选寡核苷酸之间 存在相互作用,可用于标记检测生物素化寡核苷酸 癌序列 BCL-2 和乙型肝炎病毒癌序列,该检测可能 有助于此类疾病的快速诊断。该研究团队还利用 CE-LIF 和凝胶电泳发现 CdTe QDs 与鸡基因组 DNA 和 500 bp DNA 片段之间的相互作用依赖于 CdTe QDs 尺寸与 DNA 之间的匹配度^[42]。

Girardot 等^[43]利用微芯片毛细管电泳模式(microchip capillary electrophoresis format, FACMCE)评 估了不同性质和组成的电泳缓冲溶液中适配子 (aptamer)标记的 Fe_2O_3 NPs 与溶菌酶(aptamer 靶标) 之间的关联强度。该技术能够测定溶菌酶上的结合 位点数和二者解离常数,从而证明溶菌酶 aptamer 与 NPs 结合后仍然保留靶向功能。

Grela 等^[44]研究了在毛细管电色谱中聚合物 NPs 作为伪固定相与多种生物活性肽的相互作用, 发现聚合物 NPs 与黄体生成素释放激素和缓激肽 有很强的相互作用,并通过改变颗粒的大小研究其 对肽电色谱行为的影响。Wang 和 Xia^[45]利用 CE-FL 检测配体与 QDs 之间的荧光共振能量转移,并 结合荧光峰迁移时间的改变,共同证明了在复杂的 结合溶液(细胞裂解液)中多组氨酸肽聚合物与 QDs 的相互作用。Brambilla 等^[46-47]通过 CE-LIF 和辅助 技术研究了聚氰基丙烯酸烷酯 NPs 和聚乳酸 NPs 对浓度接近生理条件的单体和可溶性低聚物形式的 Aβ₁₋₄,肽的动电学行为的影响。

3 展望(Prospect)

NMs 凭借其优越性能成为众多领域最具吸引 力和发展最迅速的革命性材料,其种类和产量的迅 速增加使其不可避免地在环境中累积,并最终进入 人体。因此,深入研究 NMs 与生物分子的相互作用 有助于揭示 NMs 可能的毒性效应和内在机制。在 众多研究 NMs 和生物分子相互作用的方法中,毛细 管电泳技术不仅可以与各种检测器联用监测 NMs 与生物分子相互作用的动态变化,还可以收集结合 参数信息并评估 NMs 对蛋白质及生物小分子的反 应性和亲和力。然而,由于复杂的生物系统中存在 众多蛋白质和生物小分子,利用常规 CE 技术对多 种生物分子进行精确定性和定量仍然存在很大挑 战。近年来,随着 CE 和分子质谱的蛋白质组学技 术及电喷雾电离质谱(electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)的联用^[48]、金属稳定同位素标 记生物分子技术的发展[49]、集成芯片形式的转变[43] 以及毛细管涂层和电极修饰技术的改善^[50-51].CE 技 术可能成为深入了解 NMs 和生物分子相互作用机 制和预测 NMs 在生物系统中分布和传递的一项前 沿技术。

通讯作者简介:黄沛力(1963—),女,硕士,教授,博士生导师, 主要研究方向为分析毒理学与快速检测技术。

参考文献(References):

- Zaccariello G, Back M, Zanello M, et al. Formation and controlled growth of bismuth titanate phases into mesoporous silica nanoparticles: An efficient self-sealing nanosystem for UV filtering in cosmetic formulation [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(2): 1913-1921
- [2] Vera P, Echegoyen Y, Canellas E, et al. Nano selenium as antioxidant agent in a multilayer food packaging material
 [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2016, 408 (24): 6659-6670
- [3] Lowry G V, Avellan A, Gilbertson L M. Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution [J]. Nature Nanotechnology, 2019, 14(6): 517-522

- [4] Arumugam V, Sriram P, Yen T J, et al. Nano-material as an excellent catalyst for reducing a series of nitroanilines and dyes: Triphosphonated ionic liquid- CuFe₂O₄-modified boron nitride [J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2018, 222: 99-114
- [5] Marrez D A, Abdelhamid A E, Darwesh O M. Ecofriendly cellulose acetate green synthesized silver nanocomposite as antibacterial packaging system for food safety [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2019, 20: 100302
- [6] Zhang S Y, Xu X Y, Lin T S, et al. Recent advances in nano-materials for packaging of electronic devices [J]. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 2019, 30(15): 13855-13868
- [7] Ibrahim M M, Mezni A, El-Sheshtawy H S, et al. Direct Z-scheme of Cu₂O/TiO₂ enhanced self-cleaning, antibacterial activity, and UV protection of cotton fiber under sunlight [J]. Applied Surface Science, 2019, 479: 953-962
- [8] Jiao M X, Zhang P S, Meng J L, et al. Recent advancements in biocompatible inorganic nanoparticles towards biomedical applications [J]. Biomaterials Science, 2018, 6 (4): 726-745
- [9] Nierenberg D, Khaled A R, Flores O. Formation of a protein corona influences the biological identity of nanomaterials [J]. Reports of Practical Oncology & Radiotherapy, 2018, 23(4): 300-308
- [10] Ho Y T, Azman N, Loh F W Y, et al. Protein corona formed from different blood plasma proteins affects the colloidal stability of nanoparticles differently [J]. Bioconjugate Chemistry, 2018, 29(11): 3923-3934
- [11] Pareek V, Bhargava A, Bhanot V, et al. Formation and characterization of protein corona around nanoparticles: A review [J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2018, 18(10): 6653-6670
- [12] Carrillo-Carrion C, Bocanegra A I, Arnaiz B, et al. Triplelabeling of polymer-coated quantum dots and adsorbed proteins for tracing their fate in cell cultures [J]. ACS Nano, 2019, 13(4): 4631-4639
- [13] Zhang H J, Wu T M, Yu W Q, et al. Ligand size and conformation affect the behavior of nanoparticles coated with *in vitro* and *in vivo* protein corona [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(10): 9094-9103
- [14] Nienhaus K, Nienhaus G U. Towards a molecular-level understanding of the protein corona around nanoparticles—Recent advances and persisting challenges [J]. Current Opinion in Biomedical Engineering, 2019, 10: 11-22
- [15] Vaishanav S K, Korram J, Nagwanshi R, et al. Adsorption kinetics and binding studies of protein quantum dots interaction: A spectroscopic approach [J]. Journal of Fluores-

cence, 2016, 26(3): 855-865

- [16] Canoa P, Simón-Vázquez R, Popplewell J, et al. A quantitative binding study of fibrinogen and human serum albumin to metal oxide nanoparticles by surface plasmon resonance [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2015, 74: 376-383
- [17] Klapper Y, Maffre P, Shang L, et al. Low affinity binding of plasma proteins to lipid-coated quantum dots as observed by *in situ* fluorescence correlation spectroscopy [J]. Nanoscale, 2015, 7(22): 9980-9984
- [18] Lacerda S H, Park J J, Meuse C, et al. Interaction of gold nanoparticles with common human blood proteins [J]. ACS Nano, 2010, 4(1): 365-379
- [19] Aleksenko S S, Matczuk M, Timerbaev A R. Characterization of interactions of metal-containing nanoparticles with biomolecules by CE: An update (2012-2016) [J]. Electrophoresis, 2017, 38(13-14): 1661-1668
- [20] Chetwynd A J, Guggenheim E J, Briffa S M, et al. Current application of capillary electrophoresis in nanomaterial characterisation and its potential to characterise the protein and small molecule corona [J]. Nanomaterials, 2018, 8(2): E99
- [21] Adam V, Vaculovicova M. Capillary electrophoresis and nanomaterials—Part I: Capillary electrophoresis of nanomaterials [J]. Electrophoresis, 2017, 38(19): 2389-2404
- [22] Legat J, Matczuk M, Timerbaev A, et al. CE separation and ICP-MS detection of gold nanoparticles and their protein conjugates [J]. Chromatographia, 2017, 80(11): 1695-1700
- [23] Gomes F P, Yates J R 3rd. Recent trends of capillary electrophoresis-mass spectrometry in proteomics research [J]. Mass Spectrometry Reviews, 2019, 38(6): 445-460
- [24] Faserl K, Chetwynd A J, Lynch I, et al. Corona isolation method matters: Capillary electrophoresis mass spectrometry based comparison of protein corona compositions following on-particle versus in-solution or in-gel digestion [J]. Nanomaterials, 2019, 9(6): 898
- [25] Lin Y J, Yang J Y, Shu T Y, et al. Detection of C-reactive protein based on magnetic nanoparticles and capillary zone electrophoresis with laser-induced fluorescence detection [J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1315: 188-194
- [26] Hadjidemetriou M, Kostarelos K. Nanomedicine: Evolution of the nanoparticle corona [J]. Nature Nanotechnology, 2017, 12(4): 288-290
- [27] Fleischer C C, Payne C K. Nanoparticle-cell interactions: Molecular structure of the protein corona and cellular outcomes [J]. Accounts of Chemical Research, 2014, 47(8): 2651-2659

- [28] Li N, Zeng S, He L, et al. Probing nanoparticle—Protein interaction by capillary electrophoresis [J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(17): 7460-7466
- [29] Matczuk M, Anecka K, Scaletti F, et al. Speciation of metal-based nanomaterials in human serum characterized by capillary electrophoresis coupled to ICP-MS: A case study of gold nanoparticles [J]. Metallomics: Integrated Biometal Science, 2015, 7(9): 1364-1370
- [30] Matczuk M, Legat J, Timerbaev A R, et al. A sensitive and versatile method for characterization of protein-mediated transformations of quantum dots [J]. The Analyst, 2016, 141(8): 2574-2580
- [31] Wang J H, Li J Y, Teng Y W, et al. Studies on multivalent interactions of quantum dots-protein self-assemble using fluorescence coupled capillary electrophoresis [J]. Journal of Nanoparticle Research, 2014, 16(7): 1-7
- [32] Matczuk M, Legat J, Shtykov S N, et al. Characterization of the protein corona of gold nanoparticles by an advanced treatment of CE-ICP-MS data [J]. Electrophoresis, 2016, 37(15-16): 2257-2259
- [33] Boulos S P, Davis T A, Yang J A, et al. Nanoparticle-protein interactions: A thermodynamic and kinetic study of the adsorption of bovine serum albumin to gold nanoparticle surfaces [J]. Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids, 2013, 29(48): 14984-14996
- [34] Wang J H, Li J Y, Li J C, et al. In-capillary self-assembly study of quantum dots and protein using fluorescence coupled capillary electrophoresis [J]. Electrophoresis, 2015, 36(14): 1523-1528
- [35] Wang J H, Li J Y, Li J C, et al. In-capillary self-assembly and proteolytic cleavage of polyhistidine peptide capped quantum dots [J]. Analytica Chimica Acta, 2015, 895: 112-117
- [36] Wang J H, Yang L, Liu L, et al. Investigation of multivalent interactions between conjugate of quantum dots with c-Myc peptide tag and the anti-c-Myc antibody by capillary electrophoresis with fluorescence detection [J]. Journal of Separation Science, 2016, 39(23): 4653-4659
- [37] Ramírez-García G, d' Orlyé F, Gutiérrez-Granados S, et al. Electrokinetic Hummel-Dreyer characterization of nanoparticle-plasma protein corona: The non-specific interactions between PEG-modified persistent luminescence nanoparticles and albumin [J]. Colloids and Surfaces B, Biointerfaces, 2017, 159: 437-444
- [38] Matczuk M, Legat J, Scaletti F, et al. The fate of differently functionalized gold nanorods in human serum: A response from capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography

A, 2017, 1499: 222-225

- [39] Wang J H, Fan J, Li J C, et al. In-capillary probing of quantum dots and fluorescent protein self-assembly and displacement using Förster resonance energy transfer [J]. Journal of Separation Science, 2017, 40(4): 933-939
- [40] Alsudir S, Lai E P C. Electrosteric stabilization of colloidal TiO₂ nanoparticles with DNA and polyethylene glycol for selective enhancement of UV detection sensitivity in capillary electrophoresis analysis [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2017, 409(7): 1857-1868
- [41] Stanisavljevic M, Janu L, Smerkova K, et al. Study of streptavidin-modified quantum dots by capillary electrophoresis [J]. Chromatographia, 2013, 76(7-8): 335-343
- [42] Stanisavljevic M, Chomoucka J, Dostalova S, et al. Interactions between CdTe quantum dots and DNA revealed by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection [J]. Electrophoresis, 2014, 35(18): 2587-2592
- [43] Girardot M, d' Orlyé F, Descroix S, et al. Aptamer-conjugated nanoparticles: Preservation of targeting functionality demonstrated by microchip electrophoresis in frontal mode [J]. Analytical Biochemistry, 2013, 435(2): 150-152
- [44] Grela D A, Zannoni V, Vizioli N M. Studying the interaction between peptides and polymeric nanoparticles used as pseudostationary phase in capillary electrochromatography
 [J]. Microchemical Journal, 2017, 130: 153-156
- [45] Wang J H, Xia J. Preferential binding of a novel polyhistidine peptide dendrimer ligand on quantum dots probed by

capillary electrophoresis [J]. Analytical Chemistry, 2011, 83(16): 6323-6329

- [46] Brambilla D, Verpillot R, Le Droumaguet B, et al. PEGylated nanoparticles bind to and alter amyloid-beta peptide conformation: Toward engineering of functional nanomedicines for Alzheimer's disease [J]. ACS Nano, 2012, 6(7): 5897-5908
- [47] Brambilla D, Verpillot R, Taverna M, et al. New method based on capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection (CE-LIF) to monitor interaction between nanoparticles and the amyloid-β peptide [J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(24): 10083-10089
- [48] Týčová A, Ledvina V, Klepárník K. Recent advances in CE-MS coupling: Instrumentation, methodology, and applications [J]. Electrophoresis, 2017, 38(1): 115-134
- [49] Liu R, Zhang S X, Wei C, et al. Metal stable isotope tagging: Renaissance of radioimmunoassay for multiplex and absolute quantification of biomolecules [J]. Accounts of Chemical Research, 2016, 49(5): 775-783
- [50] Wang X L, Li L J, Li Z Y, et al. Determination of ascorbic acid in individual liver cancer cells by capillary electrophoresis with a platinum nanoparticles modified electrode [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2014, 712: 139-145
- [51] You J, Zhao L G, Wang G W, et al. Quaternized cellulose-supported gold nanoparticles as capillary coatings to enhance protein separation by capillary electrophoresis [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1343: 160-166