

蛋白酪氨酸磷酸酶1B活性的光电化学-石英晶体微天平双模式检测

张青青^{1,2}, 刘素英¹, 杜翠翠¹, 张小华¹, 陈金华^{1*}

(1. 湖南大学 化学化工学院 化学生物传感全国重点实验室, 湖南 长沙 410082; 2. 宁波大学 材料科学与化学工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 该文构建了一种光电化学(PEC)-石英晶体微天平(QCM)双模式传感平台, 实现了蛋白酪氨酸磷酸酶1B(PTP1B)活性的高灵敏检测。该传感平台以多孔锐钛矿/金红石TiO₂异质结负载磷酸(A/R-TiO₂@HPW)为光电流响应材料, 通过TiO₂与磷酸基的特异性结合将PTP1B靶向磷酸化多肽固定于QCM镀金石英晶体(Au电极, AuE), 并引入二氧化硅(SiO₂)纳米球增强空间位阻, 抑制光电流。当PTP1B催化多肽去磷酸化后, 多肽与SiO₂纳米球从AuE上释放, 光电流恢复, 同时QCM谐振频率发生显著变化, 从而实现PTP1B活性的PEC-QCM双模式灵敏检测。该策略融合PEC与QCM两种模式, 通过双模式自校准有效避免了假阳性干扰, 且可通过更换底物拓展为蛋白磷酸酶的通用检测平台。鉴于PTP1B在胰岛素信号转导及代谢疾病中的关键作用, 该研究为相关病理研究、药物筛选及临床诊断提供了潜在的可靠工具。

关键词: 蛋白酪氨酸磷酸酶; 酶活性; 光电化学; 石英晶体微天平; 双模式检测

中图分类号: O657.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)08-0001-09

Photoelectrochemical-Quartz Crystal Microbalance Dual-mode Assay of Protein Tyrosine Phosphatase 1B Activity

ZHANG Qing-qing^{1,2}, LIU Su-ying¹, DU Cui-cui¹, ZHANG Xiao-hua¹, CHEN Jin-hua^{1*}

(1. State Key Laboratory of Chemo and Biosensing, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. School of Materials Science and Chemical Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: In this study, a dual-mode sensing platform combining photoelectrochemical (PEC) and quartz crystal microbalance (QCM) techniques was developed for highly sensitive assay of protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) activity. The sensing platform employed a porous anatase/rutile TiO₂ heterojunction loaded with phosphotungstic acid (A/R-TiO₂@HPW) as the photocurrent-responsive material. The PTP1B-targeted phosphorylated-peptide was immobilized on the QCM gold-coated quartz crystal (Au electrode) through the specific binding between TiO₂ and phosphate groups, and silicon dioxide (SiO₂) nanospheres were introduced to enhance spatial hindrance, thereby suppressing the initial photocurrent. Upon PTP1B-catalyzed dephosphorylation of the peptide, both the peptide and SiO₂ nanospheres were released from the Au electrode, leading to photocurrent recovery along with a significant change in the QCM resonant frequency, thus enabling sensitive PEC-QCM dual-mode detection of PTP1B activity. This strategy integrates PEC and QCM modes and effectively avoids false-positive interference through dual-mode self-calibration. Moreover, by replacing the substrate, the developed sensing platform can be extended into a universal detection platform for protein phosphatases. Given the critical role of PTP1B in insulin signaling and metabolic diseases, this study provides a potentially reliable tool for related pathological research, drug screening, and clinical diagnosis.

Key words: protein tyrosine phosphatase; enzyme activity; photoelectrochemistry; quartz crystal microbalance; dual-mode detection

收稿日期: 2026-04-25; 修回日期: 2026-07-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(22074033)

* 通讯作者: 陈金华, 博士, 教授, 研究方向: 分析化学, E-mail: chenjinhua@hnu.edu.cn

蛋白酪氨酸磷酸酶 1B(PTP1B)于 1988 年由 Tonks 研究组首次从人胚胎细胞中分离获得,是首个被发现的蛋白酪氨酸磷酸酶^[1]。作为蛋白酪氨酸磷酸酶家族的重要成员,PTP1B 在肌肉、肝脏、脂肪等组织中广泛表达,参与多种信号通路的调控。近年来,大量研究表明 PTP1B 催化的异常去磷酸化过程与 2 型糖尿病、多种恶性肿瘤等疾病的发生及进展存在密切关联^[2-3]。针对 PTP1B 活性分析,现有技术主要为基于荧光^[4-5]、比色^[6]、光电化学^[7]等原理的单信号输出策略。近年来,双模式传感策略引起了人们很大兴趣,相比单一模式的检测手段,双模式检测在提升分析结果的准确性与可靠性方面展现出显著优势^[8-10]。针对 PTP1B 活性的双模式检测也有少量报道,例如基于光电化学(PEC)低背景信号、高灵敏度等优势^[7]与石英晶体微天平(QCM)灵敏质量响应等特点^[11-12]的 PEC-QCM 双模式 PTP1B 活性检测方案^[13-14]。但目前已报道的 PEC-QCM 双模式传感平台均采用分立式结构,PEC 与 QCM 检测分别在不同传感电极上进行,这在一定程度上增加了操作复杂性和耗时,进而影响检测结果的重现性和可靠性。

二氧化钛(TiO_2)因光催化活性高、资源丰富、毒性低及稳定性好等优点,在光催化领域备受关注^[15-16]。然而,该材料存在电子迁移率低、带隙较宽等固有缺陷,导致光生载流子易发生复合,同时其作为光阳极时界面空穴转移效率也较低,这些因素共同限制了光电化学性能的进一步提升^[17-19]。构筑 TiO_2 基异质结构是抑制光生载流子复合的有效途径之一。相较于单一晶相的 TiO_2 ,由锐钛矿与金红石组成的混相 TiO_2 异质结展现出更为优异的光电化学活性^[20-21]。磷钨酸(HPW)作为典型的 Keggin 型多金属氧酸盐,具有良好的光生电子捕获与传输能力,但其易发生自聚集、在水溶液中稳定性较差等不足限制了实际应用^[22]。已有研究通过将 TiO_2 与多金属氧酸盐复合,不仅提升了 TiO_2 的 PEC 性能,也改善了多金属氧酸盐的分散性与稳定性^[23-27]。

基于上述思路,本研究选用源自金属有机框架、兼具多孔结构与大比表面积的双晶相 TiO_2 异质结,将其与 HPW 复合构建新型光电材料。基于锐钛矿/金红石相 TiO_2 封装磷钨酸(A/R- TiO_2 @HPW)复合材料与二氧化硅(SiO_2)纳米球,将 PEC 与 QCM 技术整合于同一传感平台,用于 PTP1B 活性的双模式分析。如图 1 所示,通过煅烧钛基金属有机框架(NH_2 -MIL-125)制得多孔 A/R- TiO_2 异质结,并将 HPW 封装其中,获得大比表面积、粒径均一的光电活性材料 A/R- TiO_2 @HPW。将该材料修饰于 QCM 镀金石英晶体(Au 电极, AuE)表面,利用 TiO_2 与 PTP1B 特异性磷酸肽(P-peptide)磷酸基团间的特异性结合,将 P-peptide 固定于修饰电极上。随后,通过戊二醛交联,将氨基功能化的 SiO_2 纳米球结合于电极表面的 P-peptide 上。由于 P-peptide 及 SiO_2 纳米球的电子导电性较差且产生明显的空间位阻, AuE/A/R- TiO_2 @HPW 电极的光电流信号受到明显抑制。当体系中存在 PTP1B 时,该酶可特异性识别 P-peptide 并催化其去磷酸化反应,致使肽段与 SiO_2 纳米球脱离电极表面,光电流恢复,同时电极的 QCM 谐振频率明显增大,从而实现 PTP1B 活性的双模式分析。该双模式生物传感策略可便捷拓展至其他蛋白磷酸酶的检测,在相关药物研发领域具有良好应用前景。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂 PTP1B 特异性磷酸肽(P-peptide, 序列为 GQQPILY(p)DADE)购于吉尔生化(上海)有限公司。蛋白酪氨酸磷酸酶 1B(PTP1B)、免疫球蛋白 G(IgG)、蛋白磷酸酶 2A(PP2A)、多核苷酸激酶(PNK)、2-氨基对苯二甲酸和钛酸四异丙酯均购于西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司。磷钨酸(HPW)购于阿拉丁试剂(上海)有限公司。蛋白激酶 A(PKA)购于纽英伦生物技术(苏州)有限公司。3-氨丙基三乙氧基硅烷、正硅酸四乙酯(TEOS)、氨水(28 wt%)、N, N-二甲基甲酰胺(DMF)、甲醇、乙醇、盐酸(HCl)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、亚铁氰化钾($[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6]$)、铁氰化钾($[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$)、氯化钾(KCl)和戊二醛(25%)均购于国药集团化学试剂有限公司。其余试剂均为市售分析纯,使用前未经进一步纯化。实验所用超纯水由武汉优普超纯水设备有限公司的超纯水系统制得。

1.1.2 仪器 样品的形貌与结构通过扫描电子显微镜(SEM, JSM-7610F Plus, 日本)及透射电子显微镜(TEM, Tecnai G2 F20 S-TWIN, 美国)进行观察。晶体结构由 X 射线衍射仪(XRD, D/MAX-RA, 日本)表征,元素组成与化学状态采用 X 射线光电子能谱(XPS, Thermo Scientific K-Alpha, 美国)进行分析。紫外-可见吸收光谱(UV-vis)使用 UV-2100 型分光光度计(北京莱伯泰科, 中国)记录。PEC 和

电化学测试在配备三电极系统(QCM的一面 AuE 为 PEC 和电化学测试的工作电极, 铂丝为辅助电极, 饱和甘汞电极为参比电极)的电化学工作站(CHI 660D, 中国)上进行。PEC 实验采用 300 W 氙灯作为光源(北京泊菲莱)。QCM 实验在配备 AT 切型 8 MHz 晶体的 CHI 430C 电化学工作站上进行。镀金石英晶体(AuE, AT 切型 8 MHz)购自深圳市仁路科技有限公司, 其有效表面积为 0.204 cm^2 。

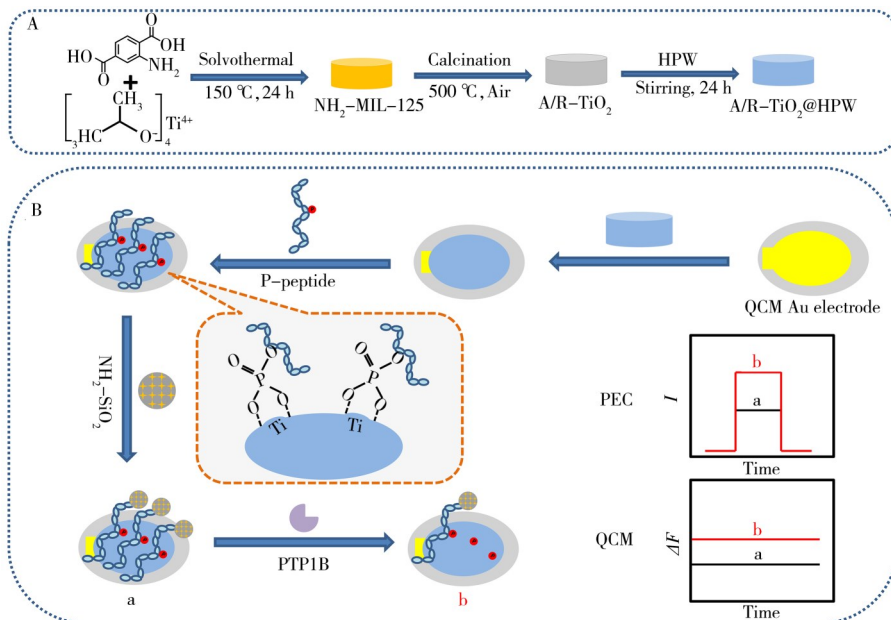


图1 制备 A/R-TiO₂@HPW 复合材料(A)和构建 PTP1B 活性检测 PEC-QCM 双模式生物传感平台(B)示意图

Fig. 1 Schematic diagrams of the preparation of A/R-TiO₂@HPW composite(A), and the construction of the PEC-QCM dual-mode biosensing platform for PTP1B activity assay(B)

1.2 A/R-TiO₂@HPW 的制备

首先, 按照以下方法合成 A/R-TiO₂ 异质结的前驱体 NH₂-MIL-125^[28]: 将 2-氨基对苯二甲酸(6.8 mmol)和钛酸四异丙酯(3 mmol)溶解于甲醇(25 mL)与 DMF(25 mL)的混合溶液中, 室温下快速搅拌 30 min。随后将混合液转移至聚四氟乙烯内衬反应釜中, 加热至 150 °C 反应 24 h。冷却后, 通过反复离心收集黄色沉淀物(NH₂-MIL-125), 并用 DMF 和甲醇洗涤, 于 60 °C 下干燥。之后, 将 NH₂-MIL-125 在空气气氛中以 10 °C/min 加热至 500 °C, 煅烧 4 h, 制得 A/R-TiO₂ 异质结^[29]。

随后, 将 100 mg A/R-TiO₂ 和 1 mg HPW 分散于 40 mL 超纯水中, 于室温下磁力搅拌 24 h(无需避光, HPW 在可见光下稳定)。所得混合物用超纯水反复洗涤 3 次, 于 60 °C 下真空干燥 12 h, 最终得到封装 HPW 的 A/R-TiO₂ 异质结(记为 A/R-TiO₂@HPW)。

1.3 氨基功能化 SiO₂ 纳米球的制备

采用 Li 等^[30]改进的 Stöber 法制备 SiO₂ 纳米球。将正硅酸四乙酯(3.8 mL)与超纯水(18 mL)、氨水(7.5 mL)和乙醇(120 mL)混合, 于 25 °C 剧烈搅拌 24 h。所得 SiO₂ 纳米球经反复离心, 分别用乙醇和超纯水洗涤, 于 60 °C 真空干燥箱中干燥。

随后, 将 200 mg SiO₂ 纳米球分散于乙醇(40 mL)中, 向该悬浮液中加入 1 mL 3-氨丙基三乙氧基硅烷和 0.5 mL 氨水, 搅拌状态下超声处理 30 min, 随后加热至 70 °C 反应 4 h^[31]。反应结束后, 将悬浮液离心, 分别用乙醇和超纯水洗涤, 于 60 °C 下干燥, 得到氨基功能化的 SiO₂ 纳米球(NH₂-SiO₂)。最后, 将 2 mg NH₂-SiO₂ 重新分散于 2 mL Tris-HCl 缓冲液(10 mmol/L, pH 7.4)中, 备用。

1.4 PEC-QCM 双模式生物传感平台的构建

修饰前, 将 QCM AuE 浸泡于洗液(98% H₂SO₄: 30% H₂O₂=7:3, 体积比)中 10 min, 随后用超纯水超声清洗, 氮气吹干。然后, 将 A/R-TiO₂@HPW 悬浮液(25 μL, 1 mg/mL)滴涂于 QCM 的其中一面 AuE 表面, 室温干燥, 制得 AuE/A/R-TiO₂@HPW 电极。随后, 将 20 μL P-peptide 溶液(200 μmol/L)滴加于 AuE/A/R-TiO₂@HPW 电极上, 室温放置 1 h, 利用 TiO₂ 与 P-peptide 磷酸基团之间的特异性相互作用将 P-peptide 固定于电极表面。用 Tris-HCl 缓冲液(10 mmol/L, pH 7.4)洗涤后, 得到 AuE/A/R-

TiO₂@HPW/P-peptide 电极。之后,依次将 20 μ L 戊二醛溶液(2.5%, 体积分数)和 NH₂-SiO₂ 悬浮液(1 mg/mL)分别滴加于 AuE/A/R-TiO₂@HPW/P-peptide 电极上,于室温下孵育 2 h。最后,用 Tris-HCl 缓冲液(10 mmol/L, pH 7.4)洗去未结合的 NH₂-SiO₂ 纳米球,得到 AuE/A/R-TiO₂@HPW/P-peptide/SiO₂ 电极。

1.5 PTP1B 活性的双模式检测

将 AuE/A/R-TiO₂@HPW/P-peptide/SiO₂ 电极与不同浓度的 PTP1B 溶液于 37 $^{\circ}$ C 下孵育 60 min,孵育结束后润洗电极。PEC 测试于三电极体系下完成,电解液为 Tris-HCl 缓冲液(100 mmol/L, pH 7.4),施加电压为 0 V,其中修饰后的 AuE 作为工作电极,铂丝与饱和甘汞电极(SCE)分别作为对电极和参比电极。QCM 测试时,将修饰的 AuE 置于 QCM 电解池底部并连接振荡器,随后向池中加入 1.5 mL Tris-HCl 缓冲液(10 mmol/L, pH 7.4),待基线稳定后记录频率偏移 ΔF 。

2 结果与讨论

2.1 材料表征

采用 SEM 对 NH₂-MIL-125 的形貌进行了表征。如图 2A 所示,所制备的 NH₂-MIL-125 呈现轮廓清晰的方块状形貌,平均边长约为 456 nm,厚度约为 200 nm。图 2B 为其 XRD 图谱,图中呈现尖锐的衍射峰,表明该材料具有高结晶度,与文献报道一致,证实了 NH₂-MIL-125 的成功合成^[28]。选择 500 $^{\circ}$ C 作为煅烧温度以制备 A/R-TiO₂^[29],制得 A/R-TiO₂ 异质结保留了前驱体的形貌,其平均边长减小至约 270 nm,厚度减小至约 115 nm(图 2C)。图 2D 显示, A/R-TiO₂ 异质结的 XRD 图谱与金红石型 TiO₂ (R-TiO₂) 标准卡片(JCPDS No. 03-1122)及锐钛矿型 TiO₂ (A-TiO₂) 标准卡片(JCPDS No. 86-1157)高度吻合,证实了双晶相 TiO₂ 的成功合成。此外,采用 XPS 对 A/R-TiO₂ 异质结的价态进行了分析(图 2E)。其高分辨 Ti 2p 谱图(图 2F)显示, 458.8 eV 和 464.4 eV 处分别对应 Ti 2p_{3/2} 和 Ti 2p_{1/2} 的特征峰,表明 Ti 以 +4 价存在^[32-33]。

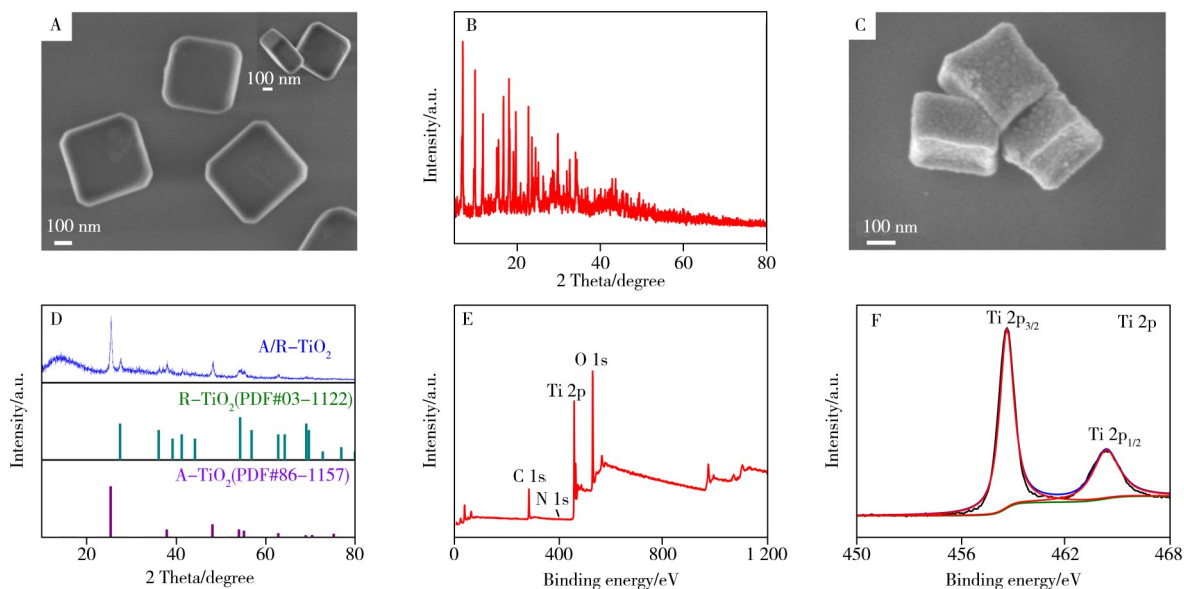


图 2 NH₂-MIL-125 的 SEM 图(A)和 XRD 图(B), A/R-TiO₂ 的 SEM 图(C)、XRD 图(D)、XPS 全谱图(E)和 Ti 2p 的高分辨谱图(F)

Fig. 2 SEM image(A) and XRD pattern(B) of NH₂-MIL-125, SEM image(C), XRD pattern(D), XPS survey spectrum(E) and high-resolution Ti 2p spectrum(F) of A/R-TiO₂

利用 SEM 和 TEM 对 A/R-TiO₂@HPW 的形貌进行了观察。如图 3A 和图 3B 所示, HPW 的封装未改变 A/R-TiO₂ 的形貌,该结果得到了高分辨 TEM(HRTEM)研究的进一步证实。HRTEM(图 3C)显示出清晰的晶格条纹,其面间距为 0.352 nm 和 0.325 nm,分别对应 A-TiO₂ 的(101)晶面以及 R-TiO₂ 的(110)晶面。这一结果证实了锐钛矿与金红石两相之间异质界面的形成,异质结中两种材料之间的良好相互作用有助于增强电荷传输,提升材料的光电性能^[20]。图 3D 的 EDS 元素分布图像显示, Ti、C、O、P、W

五种元素在 A/R-TiO₂@HPW 中均匀分布, 其中 P 和 W 元素来自封装于 A/R-TiO₂ 中的 HPW, 表明 HPW 分子已成功封装于 A/R-TiO₂ 中。此外, 采用 UV-Vis 对 A/R-TiO₂ 和 A/R-TiO₂@HPW 进行了分析。如图 3E 所示, A/R-TiO₂ 在 488 nm 呈现显著的吸收峰。当 HPW 封装于 A/R-TiO₂ 后, A/R-TiO₂@HPW 的吸收峰从约 488 nm 蓝移至 451 nm, 且吸收峰强度明显增强。这进一步证实了 A/R-TiO₂@HPW 的成功合成, 且 HPW 的封装能够增强 A/R-TiO₂ 异质结的光吸收能力。

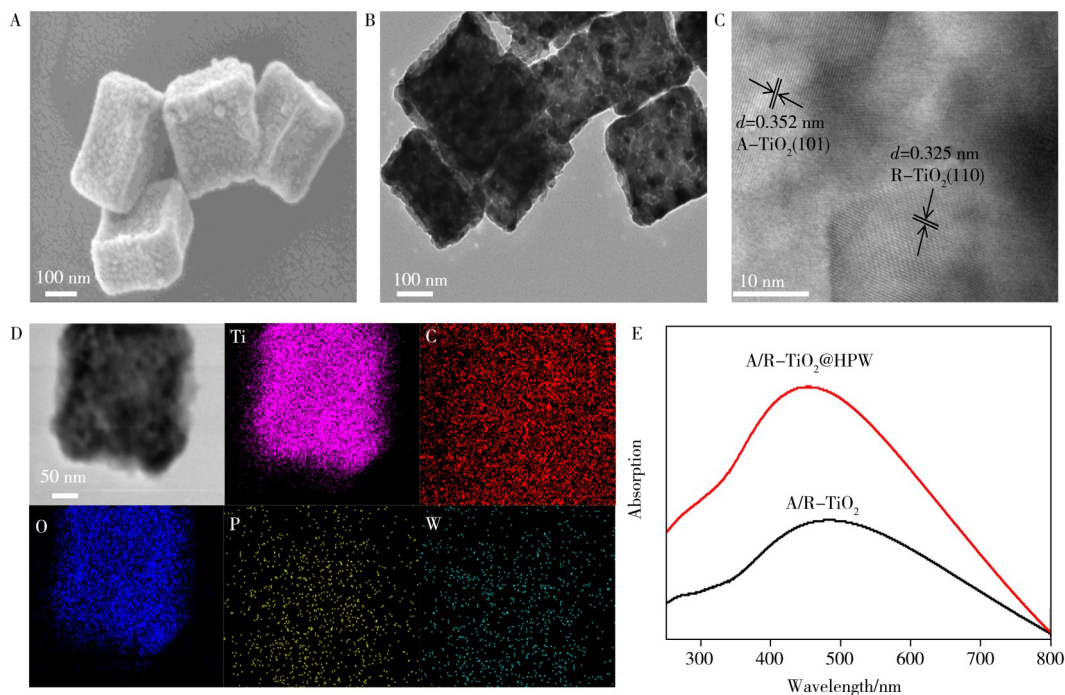


图3 A/R-TiO₂@HPW 的 SEM 图像(A)、TEM 图像(B)、HRTEM 图像(C)和元素分布图(D), A/R-TiO₂ 和 A/R-TiO₂@HPW 的 UV-Vis 谱图(E)

Fig. 3 SEM image(A), TEM image(B), HRTEM image(C), and elemental mapping images(D) of A/R-TiO₂@HPW, UV-Vis absorption spectra of A/R-TiO₂ and A/R-TiO₂@HPW(E)

2.2 PEC-QCM 双模式生物传感平台的表征

由图 4A 可知, SiO₂ 呈球形形貌, 平均粒径约为 280 nm。采用电化学阻抗谱(EIS)对 AuE 的逐步修饰过程进行表征(图 4B), 在含 0.1 mol/L KCl 和 5 mmol/L [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 的溶液中进行测试, 开路电位, 频率范围为 0.1~10⁵ Hz。Nyquist 图中半圆直径对应电极界面电荷转移电阻(R_{ct})^[34], 直径越小表明电子转移阻力越低。未修饰的 AuE(曲线 a)半圆相对较小, 说明裸 AuE 表面电子转移迅速。当 AuE 依次修饰 A/R-TiO₂@HPW 纳米材料和 P-peptide 后(曲线 b 和 c), 由于二者的导电性较差, R_{ct} 值增大。随后, 通过戊二醛与 P-peptide 上氨基的交联反应将 NH₂-SiO₂ 纳米球锚定于电极界面, 导致 R_{ct} 值进一步升高(曲线 d)。当电极与 PTP1B 共同孵育后, R_{ct} 值明显降低(曲线 e), 这归因于 PTP1B 对 P-peptide 的特异性识别与脱磷酸化催化作用, 使得肽段及 SiO₂ 纳米球从电极表面解离。

利用 PEC 方法也考察了 AuE 表面的逐步修饰过程。如图 4C 所示, 裸 AuE(曲线 a)未出现明显光电流响应。修饰 A/R-TiO₂@HPW 后(曲线 b), 得益于该材料优异的光电性能, 产生较强光电流。随后依次固定 P-peptide(曲线 c)与 SiO₂ 纳米球(曲线 d), 光电流逐渐下降, 归因于二者导电性有限及空间位阻效应。经 1 nmol/L PTP1B 处理后, 脱磷酸化的多肽及 SiO₂ 纳米球自电极表面释放, 界面空间位阻随之降低, 光电流信号因此恢复(曲线 e)。

图 4D 显示了不同修饰 AuE 的 QCM 响应(频率偏移 ΔF 通过 $\Delta F = \Delta F_n - \Delta F_0$ 计算, ΔF_n 和 ΔF_0 分别为修饰 AuE 与裸 AuE 的实测频率偏移)。随 A/R-TiO₂@HPW、P-peptide 及 SiO₂ 依次修饰, 电极表面物质载量增加, 频率偏移值(ΔF)逐步负移(曲线 b~d)。与 1 nmol/L PTP1B 孵育后, 去磷酸化肽段与 SiO₂ 从电极表面解离, 电极表面的物质载量减少, ΔF 值正移(曲线 e)。该结果与 EIS 及 PEC 测试结果一致。上述结果表明, 成功构建了 PEC-QCM 双模式传感平台, 并可应用于 PTP1B 活性的 PEC 和 QCM 双模式检

测。值得指出的是,图 4C 与 4D 中的 PEC 和 QCM 响应呈现出高度一致的逐层变化趋势: 每一步修饰均同步导致光电流下降和频率负移,而 PTP1B 处理则使两者同步恢复。这种一致性表明,两种模式对同一界面事件的响应具有内在关联,为后续双模式自校准奠定了基础。

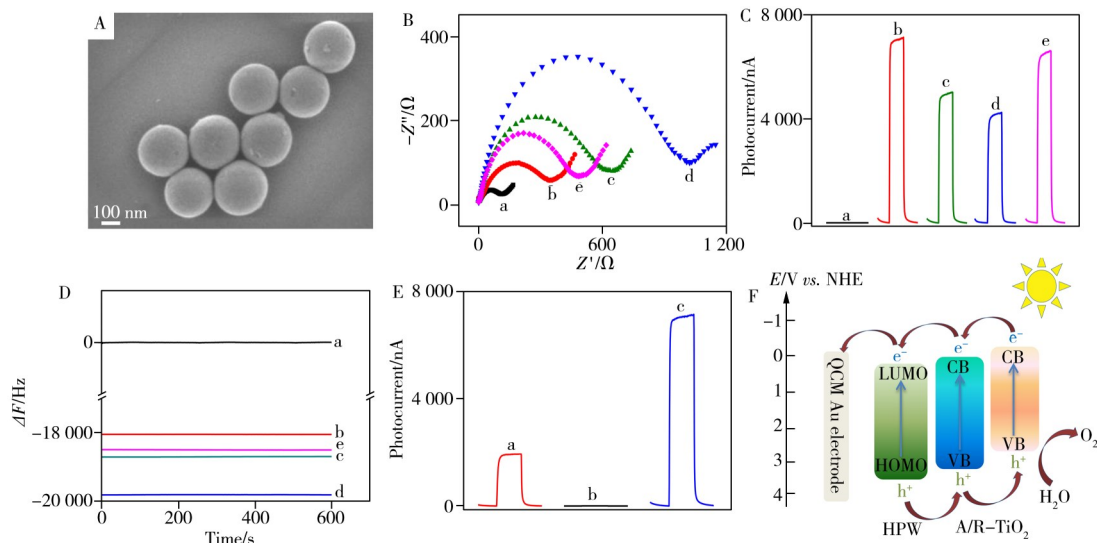


图 4 SiO_2 的 SEM 图像(A); 不同修饰电极的 EIS 响应图(B)、PEC 响应图(C)和压电频移响应图(D); AuE/A/R- TiO_2 (a)、AuE/HPW(b)和 AuE/A/R- TiO_2 @HPW(c)的 PEC 响应图(E); AuE/A/R- TiO_2 @HPW 电极的光生电子转移机理示意图(F)
Fig. 4 SEM image of SiO_2 (A); EIS plots(B), PEC responses(C), and piezoelectric frequency shifts(D) of different modified electrodes; PEC responses(E) of AuE/A/R- TiO_2 (a), AuE/HPW(b), and AuE/A/R- TiO_2 @HPW(c); schematic diagram of the possible photoelectron transfer mechanism at the AuE/A/R- TiO_2 @HPW electrode(F)

B-D: a. bare AuE, b. AuE/A/R- TiO_2 @HPW, c. AuE/A/R- TiO_2 @HPW/P-peptide, d. AuE/A/R- TiO_2 @HPW/P-peptide/ NH_2 - SiO_2 , e. AuE/A/R- TiO_2 @HPW/P-peptide/ NH_2 - SiO_2 electrode after incubated with PTP1B

此外,还比较了不同修饰 AuE 的光电化学性能(图 4E)。值得注意的是, AuE/HPW 电极未呈现明显的光电流。AuE/A/R- TiO_2 电极的光电流较小,约为 $1.94 \mu\text{A}$ 。而 AuE/A/R- TiO_2 @HPW 电极呈现显著增强的光电流,强度达 $7.13 \mu\text{A}$,是 AuE/A/R- TiO_2 电极光电流的 3.68 倍。由此推断,光生电子主要来源于 A/R- TiO_2 ,而 HPW 在促进电子传输过程中可能起到关键作用。结合 A- TiO_2 与 R- TiO_2 的导带、价带能级位置^[16],以及 HPW 的最低未占分子轨道(LUMO)与最高占据分子轨道(HOMO)能级^[35],可对 HPW 敏化 A/R- TiO_2 异质结体系的光生电子转移路径进行推断(图 4F): 在光照条件下, A- TiO_2 与 R- TiO_2 价带中的电子被激发跃迁至各自导带,同时 HPW 的 HOMO 能级上的电子也向 LUMO 能级发生跃迁。得益于三者能级位置的良好匹配, A- TiO_2 导带中的光生电子可依次迁移至 R- TiO_2 导带、HPW 的 LUMO 能级,最终传导至 AuE。同时,光生空穴则从 HPW 的 HOMO 能级逐步转移至 R- TiO_2 及 A- TiO_2 的价带,并最终参与水的氧化反应生成氧气。A- TiO_2 、R- TiO_2 与 HPW 三者之间形成的合适能级排布,有利于抑制光生载流子的复合,从而实现光电流响应的增强。

2.3 实验条件优化

为进一步优化所构建传感平台对 PTP1B 活性的检测性能,分别探究了 A/R- TiO_2 @HPW 制备时 HPW 与 A/R- TiO_2 的质量分数和 A/R- TiO_2 @HPW 浓度的影响。结果显示,随着 HPW 与 A/R- TiO_2 的质量分数升高,HPW 在 A/R- TiO_2 中的负载量升高,因而光电流增大。当 HPW 与 A/R- TiO_2 的质量分数达到 1% 时,光电流达到最大值;超过 1% 后光电流逐渐下降。原因在于: 适量 HPW 可作为 TiO_2 的电子介体,促进电子转移并抑制电子-空穴对复合;而过高的 HPW 含量则可能引入过多的电子陷阱,反而抑制电子传输,削弱光电化学性能。因此,确定 HPW 与 A/R- TiO_2 的最佳质量分数为 1%。A/R- TiO_2 @HPW 纳米材料的浓度是另一关键因素。优化实验结果显示,光电流随其浓度增加显著增强,但当浓度超过 1.0 mg/mL 后增幅趋缓,可能是过量纳米材料降低电极表面导电性所致。故选择 1.0 mg/mL 为最佳浓度。

2.4 PTP1B 活性的 PEC-QCM 双模式检测

在优化条件下,将所构建的 PEC-QCM 双模式传感平台用于 PTP1B 活性检测。PEC 检测结果(图

5A)显示, 阳极光电流随PTP1B浓度升高而增强。图5B表明, 光电流变化 ΔI ($\Delta I = I - I_0$, 其中 I_0 和 I 分别为空白及含PTP1B样品的光电流)与PTP1B浓度对数在10 fmol/L~10 nmol/L范围内呈良好线性关系。线性回归方程为 $\Delta I(\text{nA}) = 412.0 \lg c_{\text{PTP1B}}(\text{pmol/L}) + 1095$ ($r^2 = 0.9973$), 检出限($S/N=3$)为7.5 fmol/L。QCM检测结果(图5C)显示, 频率偏移 ΔF_2 值随PTP1B浓度增加而持续正移。图5D给出频率偏移变化值($\Delta F_2 - \Delta F_1$) (ΔF_2 和 ΔF_1 分别为传感器在含PTP1B溶液和空白溶液中的频率偏移)与PTP1B浓度对数在10 fmol/L~10 nmol/L范围内的线性关系, 线性回归方程为 $\Delta F_2 - \Delta F_1(\text{Hz}) = 198.7 \lg c_{\text{PTP1B}}(\text{pmol/L}) + 603.1$ ($r^2 = 0.9974$), 检出限($S/N=3$)为6.8 fmol/L。对比图5B与5D可见, PEC模式的线性斜率(412.0 nA/lg(pmol/L))明显高于QCM(198.7 Hz/lg(pmol/L)), 说明PEC对去磷酸化诱导的界面变化具有更高的响应灵敏度。尽管如此, 两种模式的检出限处于同一数量级(7.5 fmol/L vs 6.8 fmol/L), 且浓度响应范围完全一致(10 fmol/L~10 nmol/L), 表明两者均可独立用于PTP1B定量分析, 并可互为验证。

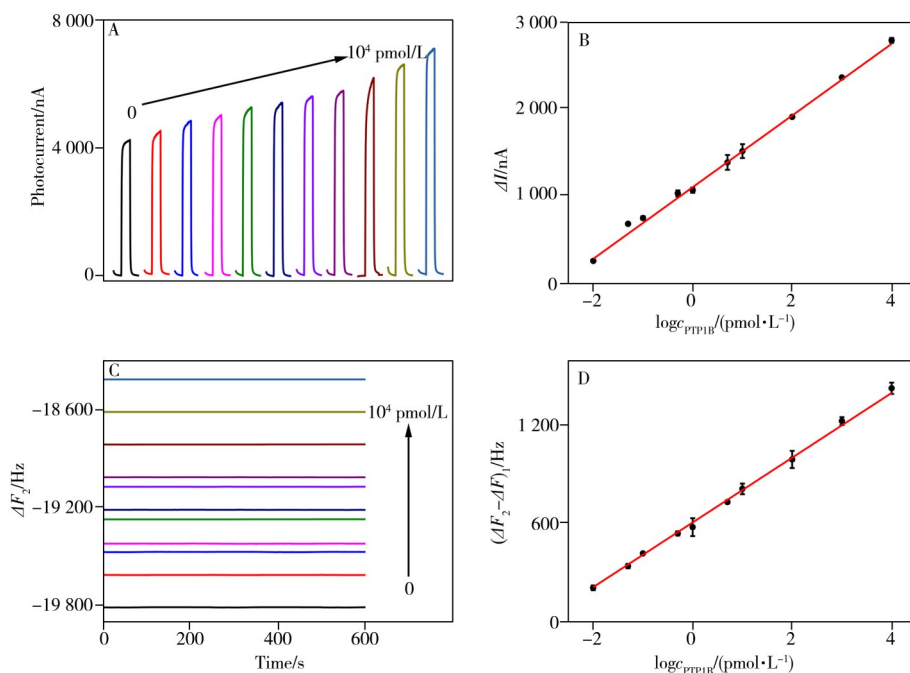


图5 PEC-QCM双模式传感平台对不同浓度PTP1B的光电流响应曲线(A); 去磷酸化前后光电流变化(ΔI)与PTP1B浓度对数的关系(B); 传感器对不同浓度PTP1B的压电频移响应曲线(C); 去磷酸化前后压电频移变化($\Delta F_2 - \Delta F_1$)与PTP1B浓度对数的关系(D)

Fig. 5 Photocurrent responses of the PEC-QCM dual-mode biosensor toward different concentrations of PTP1B(A); relationship between the change in photocurrent(ΔI) of the electrode before and after dephosphorylation and the logarithm of PTP1B concentration(B); piezoelectric frequency shift responses of the PEC-QCM dual-mode biosensor toward different concentrations of PTP1B(C); relationship between the change in piezoelectric frequency shift($\Delta F_2 - \Delta F_1$) before and after dephosphorylation and the logarithm of PTP1B concentration(D)

A: from left to right: 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 pmol/L; C: from bottom to top: 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 pmol/L

此外, 由表1可见, 本方法在PEC和QCM两种模式下均获得了宽线性范围(10 fmol/L~10 nmol/L)和低检出限(PEC: 7.5 fmol/L、QCM: 6.8 fmol/L), 与已报道的PTP1B活性检测方法(包括单模式和双模式)性能相当或略有优势。特别指出的是, 已报道的PEC-QCM双模式工作^[13-14]虽也实现了灵敏检测, 但均采用分立式电极(PEC与QCM在不同电极上分别完成)。而本研究首次将两种模式集成于同一AuE电极上, 在保持优异检测性能的同时, 为后续双模式自校准和一体化操作奠定了基础。

2.5 PEC-QCM双模式传感平台的选择性与重现性

为确保所构建的生物传感平台在实际应用中具有可靠性, 对其选择性和重现性进行了考察。如图6所示, 相同条件下4种干扰物(PKA、PP2A、PNK和IgG)引起的光电流及频率偏移变化均远小于PTP1B, 表明该传感器对PTP1B检测具有高选择性。

表1 对 PTP1B 不同分析方法的比较

Table 1 Comparison of the analytical performance of different methods for PTP1B detection

Method	Linear range	Detection limit	Reference
FL	0.541~4.324 nmol/L	0.541 nmol/L	[4]
FL	0.534~267 pmol/L	0.267 pmol/L	[5]
CL	1.36~272.7 nmol/L	1.2 nmol/L	[6]
PEC	0.1 pmol/L~10 nmol/L	32 fmol/L	[7]
QCM	10 fmol/L~100 pmol/L	8 fmol/L	[11]
PEC-QCM	40 fmol/L~10 nmol/L	14 fmol/L (PEC)	[13]
	10 fmol/L~10 nmol/L	3 fmol/L (QCM)	
PEC-QCM	0.1 pmol/L~100 nmol/L	40 fmol/L (PEC)	[14]
	10 fmol/L~100 nmol/L	9 fmol/L (QCM)	
PEC-QCM	10 fmol/L~10 nmol/L	7.5 fmol/L (PEC)	This work
	10 fmol/L~10 nmol/L	6.8 fmol/L (QCM)	

重现性评估中,在相同条件下制备 10 支电极用于检测 1 nmol/L PTP1B。结果显示,10 支电极的光电流响应与频率偏移响应几乎一致,PEC 法与 QCM 法的相对标准偏差(RSD)均为 1.1%,表明方法重现性良好。图 6A 的结果再次体现了双模式的一致性:两种模式均对 PTP1B 表现出高选择性,对于干扰物的响应可忽略;同时在 10 支独立电极上,PEC 和 QCM 的 RSD 均为 1.1%,表明一体化设计有效消除了电极间差异。两种模式的相互印证显著提升了检测结果的可靠性。综上,本研究开发的 PEC-QCM 双模式传感平台兼具优异的选择性与重现性。

2.6 HeLa 细胞裂解液中 PTP1B 的加标回收实验

向 HeLa 细胞裂解液中添加 0.1、1、10 nmol/L PTP1B 进行加标回收实验,以评估该传感平台在复杂生物基质中的适用性。由表 2 可知,PEC 模式下 3 次加标回收率分别为 101%、97.6% 和 100%,QCM 模式下则分别为 97.9%、101% 和 101%。上述数据证实,该双模式传感平台在实际样品 PTP1B 含量分析中可获得准确可靠的测定结果,在复杂基质样品的检测中展现出良好的应用前景。值得注意的是,表 2 中两种模式测得的未加标本底 PTP1B 浓度高度一致(0.208 7 nmol/L vs 0.208 1 nmol/L,相对偏差<0.3%),与文献相当^[13],加标回收率也均在 97.6%~101% 范围内。这一结果直接证明了双模式自校准策略在实际生物样品分析中的可靠性,有效避免了单一模式可能存在的假阳性或假阴性风险。

表2 HeLa 细胞裂解液中 PTP1B 的检测

Table 2 Detection of PTP1B in HeLa cell lysates

Mode	Sample	Added/(nmol·L ⁻¹)	Found/(nmol·L ⁻¹)	Recovery/%	RSD/%
PEC	1	0	0.208 7	—	0.90
	2	0.100 0	0.318 0	101	0.93
	3	1.000	1.185	97.6	3.0
	4	10.00	10.22	100	2.6
QCM	1	0	0.208 1	—	3.3
	2	0.100 0	0.306 0	97.9	1.9
	3	1.000	1.221	101	3.3
	4	10.00	10.33	101	2.0

3 结 论

综上所述,本研究成功构建了一种集成 PEC 与 QCM 技术的双模式生物传感平台,实现了 PTP1B 活

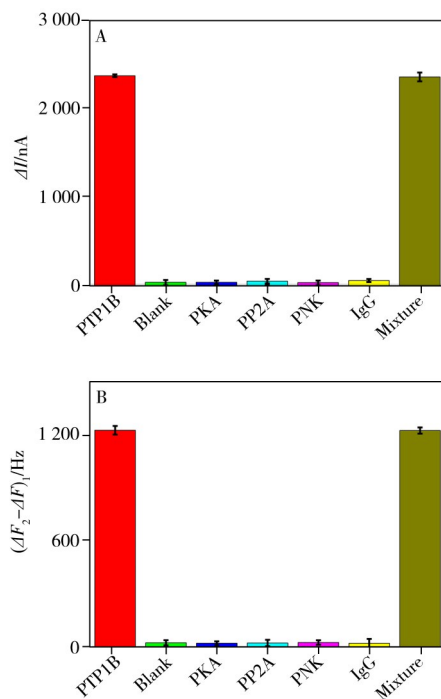


图6 传感平台的选择性

Fig. 6 Selectivity of the sensing platform
A: PEC response; B: QCM response; concentration: PTP1B, 1 nmol/L; PKA, 100 nmol/L; PP2A, 100 nmol/L; PNK, 100 nmol/L; IgG, 100 nmol/L; mixture denotes the mixture of all interferents with PTP1B

性的高灵敏、高选择性检测。该传感平台基于A/R-TiO₂@HPW复合材料与SiO₂纳米球,实现了在10 fmol/L~10 nmol/L范围内的线性检测,检出限分别达到7.5 fmol/L(PEC)和6.8 fmol/L(QCM)。该生物传感平台具有良好的重现性、稳定性及分析适用性。此外,其通用性设计使其可拓展应用于其他蛋白磷酸酶的检测,为蛋白磷酸酶相关疾病的靶向治疗研究等提供了广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Tonks N K, Diltz C D, Fischer E H. *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263: 6722-6730.
- [2] Delibegović M, Dall'Angelo S, Dekeryte R. *Nat. Rev. Endocrinol.*, **2024**, 20: 366-378.
- [3] Cho H, Lai C C, Bonnavion R, Alnouri M W, Wang S, Roquid K A, Kawase H, Campos D, Chen M, Weinstein L S, Martínez A, Looso M, Sanda M, Offermanns S. *Science*, **2025**, 387: 674-682.
- [4] Jin L, Yang J, Zhang W, Liu H, Mou S, Hui Q. *Talanta*, **2023**, 259: 124527.
- [5] Feng T, Yan S, Hou S, Fan X. *Spectrochim. Acta A*, **2022**, 280: 121548.
- [6] Li X, Zhu Q, Xu F, Jian M, Yao C, Zhang H, Wang Z. *Anal. Biochem.*, **2022**, 648: 114671.
- [7] Xiao K, Zhu R, Du C, Zheng H, Zhang X, Chen J. *Anal. Chem.*, **2022**, 94: 9844-9850.
- [8] Li X, Pan X, Lu J, Zhou Y, Gong J. *Biosens. Bioelectron.*, **2020**, 158: 112158-112166.
- [9] Dong Y, Wang W, Ye C, Song Y. *Nano Res.*, **2024**, 17: 5512-5528.
- [10] Yuan Z, Chai H, Huang Y, Zhang Z, Tan W, Sun Y, Ma J, Zhang G. *Coord. Chem. Rev.*, **2025**, 527: 216385.
- [11] Liu S, Zhang Q, Zhang X, Du C, Chen J, Si S. *Talanta*, **2024**, 277: 126399.
- [12] Yao S Z. *Piezoelectric Chemistry and Biosensing*. Changsha: Hunan Normal University Press(姚守拙. 压电化学与生物传感. 长沙: 湖南师范大学出版社), **1997**.
- [13] Zhang Q, Yang H, Du C, Liu S, Zhang X, Chen J. *Anal. Chem.*, **2022**, 94: 13342-13349.
- [14] Xiao K, Fu Y, Zhu R, Zhang X, Du C, Chen J. *Sens. Actuators B*, **2022**, 353: 131179-131187.
- [15] Özdemir P, Yıldırım R. *J. Energy Chem.*, **2026**, 116: 914-932.
- [16] Zhou T, Chen S, Li L, Wang J, Zhang Y, Li J, Bai J, Xia L, Xu Q, Rahim M, Zhou B. *Appl. Catal. B*, **2020**, 269: 118776.
- [17] Wang T, Xu J, Zhang Z, Bian H, Xiao H, Sun T. *J. Mater. Sci.: Mater. Electron.*, **2021**, 32: 1178-1186.
- [18] Yu D, Yu D, Dai J, Zhang Y, Wang F. *Mater. Lett.*, **2020**, 263: 127225.
- [19] Zhou S, Liu S, Su K, Jia K. *J. Electroanal. Chem.*, **2020**, 862: 114008.
- [20] Gu Y, Cheng K, Wu Y, Wang Y, Morlay C, Li F. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2016**, 4: 6744-6753.
- [21] Kampouri S, Ireland C P, Valizadeh B, Oveisi E, Schouwink P A, Mensi M, Stylianou K C. *ACS Appl. Energy Mater.*, **2018**, 1: 6541-6548.
- [22] Li Q, Li S, Sha J, Li X, Cai Y, Yang J, Wang J. *ACS Appl. Nano Mater.*, **2021**, 4: 12197-12203.
- [23] Ayati A, Tanhaei B, Bamoharram F, Ahmadpour A, Maydannik P, Sillanpää M. *Sep. Purif. Technol.*, **2016**, 171: 62-68.
- [24] Carriazo D, Addamo M, Marcì G, Martín C, Palmisano L, Rives V. *Appl. Catal. A*, **2009**, 356: 172-179.
- [25] Rengifo-Herrera J A, Blanco M, Wist J, Florian P, Pizzio L R. *Appl. Catal. B*, **2016**, 189: 99-109.
- [26] Yuan X, Peng Y, Zhu X, Song Z, Wang Y, Si W, Li J. *ACS Catal.*, **2025**, 15: 7470-7481.
- [27] Xi L, Jin Z, Sun Z, Liu R, Xu L. *Appl. Catal. A*, **2017**, 536: 67-74.
- [28] Gómez-Avilés A, Peñas-Garzón M, Bedia J, Dionysiou D, Rodríguez J, Belver C. *Appl. Catal. B*, **2019**, 253: 253-262.
- [29] Shi L, Benetti D, Li F, Wei Q, Rosei F. *Appl. Catal. B*, **2020**, 263: 118317.
- [30] Li L, Chen X, Xiong X, Wu X, Xie Z, Liu Z. *Ceram. Int.*, **2021**, 47: 2678-2685.
- [31] Otitoju T A, Ooi B S, Ahmad A L. *React. Funct. Polym.*, **2019**, 136: 107-121.
- [32] Szatmáry L, Bakardjieva S, Šubr J, Bezdička P, Jirkovský J, Bastl Z, Brezová V, Korenko M. *Catal. Today*, **2011**, 161: 23-28.
- [33] Quyen V T, Jitae K, Huong P T, Ha L T, Thanh D M, Viet N M, Thang P Q. *Sol. Energy*, **2021**, 218: 150-156.
- [34] Song Z, Fan G, Li Z, Gao F, Luo X. *Anal. Chem.*, **2018**, 90: 10681-10687.
- [35] Li J, Sang X, Chen W, Zhang L, Zhu Z, Ma T, Su Z, Wang E. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2015**, 7: 13714-13721.

(责任编辑: 丁 岩)