

分类号: O65

单位代码: 10363

密 级: 公开

学 号: 2220620126

题 目 MOF 基共反应加速剂的设计及其在(电)化学发光领域的应用研究

题 目 Design of MOF-based co-reaction accelerators and applications in (electro)chemiluminescence

学生姓名: 王晶
指导教师: 李传平(副教授)
专 业: 化学
研究方向: (电)化学发光

论文答辩日期: 2025 年 5 月 10 日

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学位论文作者 王晶

日期：2025 年 5 月 10 日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密 ☐，在 _____ 年解密后适用本版权书。

本学位论文属于

不保密 ☒。

学位论文作者签名：王晶

指导教师签名：李传平

日期：2025 年 5 月 10 日

日期：2025 年 5 月 10 日

MOF 基共反应加速剂的设计及其在(电)化学发光领域的应用研究

摘 要

化学发光(CL)与电化学发光(ECL)是两种相似的分析技术, 在分析传感、环境监测、临床医学等领域得到了广泛应用。然而, CL/ECL 发光分子往往发光强度较低, 通常需要加入共反应剂以及相应的共反应加速剂来实现信号强度的放大, 从而提高检测的灵敏度。金属有机框架(MOFs)是一种高比表面积的新兴的多孔晶体纳米材料, 其高度受限的孔隙率以及其受限的纳米级孔道可以为体系提供最佳的反应微环境并且增加了中间体自由基和共反应物的积累, 这使得 MOFs 在作为 CL/ECL 高性能的共反应加速剂方面存在巨大的潜力。本论文设计 MOFs 作为 CL/ECL 的共反应加速剂开展了以下研究:

(1) 我们设计了 ZIF-67@MXene 纳米片复合材料, 其具有高导电性的面内结构和受限稳定的孔/通道, 作为高效的共反应加速剂, 使 ECL 体系实现了显著的信号增强。机理研究表明, 由于羟基自由基($\cdot\text{OH}$)和单线态氧($^1\text{O}_2$)可以稳定高效的吸附在 ZIF-67@MXene 上, 体系可以选择性优先生成 $\cdot\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$, 使鲁米诺的 ECL 效率显著提高(830%)。最后, 通过设计等离子体 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 纳米酶, 构建了用于前列腺特异性抗原(PSA)检测的“开-关”免疫传感器。本研究为高效共反应加速剂的制备提供了一种有效的方法, 为肿瘤标志物的灵敏检测提供了一种新的策略。

(2) 我们通过将聚集诱导发光(AIE)分子四苯乙烯原位封装到金属有机框架($\text{NH}_2\text{-MIL-88}$)中, 开发了一个高效的 ECL 传感平台。该框架富含原子分散的活性位点, 作为纳米限域的共反应物加速器, 能够原位将共反应物 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 催化为反应活性中间体(RS), 并直接与空间限域的复合系统中的 AIE 分子反应。原位电子顺磁共振和密度泛函理论计算表明, ECL 的增强是由局域放大引起的, 其中配位自组装形

成的纳米限域空间改变了活化能垒，表现出更好的催化和吸附能力。最后，我们开发了一种智能手机适配的自报告 AIECL 成像系统，以实现心肌肌钙蛋白 I(cTnI)的超灵敏分析。同时，利用深度学习算法，开发了卷积神经网络模型来辅助 cTnI 的准确分析。本研究提出了一种通过纳米限域催化提高局部 RS 浓度的先进策略，为 AIECL 成像系统监测 cTnI 浓度提供了一种先进的筛查方法和思路。

(3) 我们通过原子铁(III)锚定的 PCN-224 纳米酶(PCN-224/Fe(III))来模拟过氧化物酶，设计构建了化学发光(CL)-荧光(FL)双模分析成像系统，实现了尿酸(UA)的超灵敏检测。多功能的 PCN-224/Fe(III)在 CL 和 FL 系统中作为高效的协同反应促进剂生成活性氧(ROS)，同时也显示出作为荧光纳米探针的特殊能力。最终开发了一款基于智能手机的 CL 成像装置，通过设计便携式纸基芯片实现了 CL 的视觉检测。本研究所提出的 CL-FL 双模检测系统不仅为 UA 的检测提供了一种便携、灵敏的方法，而且对共反应促进剂增强 CL 和 FL 的分析机理也提供了有价值的见解。

关键词：化学发光, 电化学发光, 金属有机框架, 共反应加速剂, 传感检测

DESIGN OF MOF-BASED CO-REACTION ACCELERATORS AND APPLICATIONS IN (ELECTRO) CHEMILUMINESCENCE

ABSTRACT

Chemiluminescence (CL) and electrochemiluminescence (ECL) are two closely related analytical techniques that have found extensive applications in areas such as analytical sensing, environmental monitoring, clinical medicine, and beyond. However, CL/ECL luminous molecules tend to have low luminous intensity, and it is usually necessary to add co-reactants and corresponding co-reaction accelerators to achieve signal intensity amplification, so as to improve the sensitivity of detection. Metal-organic frameworks (MOFs), an emerging class of porous crystalline nanomaterials characterized by their high specific surface area, offer unique advantages. The highly confined porosity and nanoscale pores of MOFs provide an optimal microenvironment for reactions, facilitating the accumulation of intermediate free radicals and co-reactants. Consequently, MOFs exhibit significant potential as high-performance co-reaction accelerators for CL/ECL. In this paper, we design MOFs as co-reaction accelerators for CL/ECL and conduct the following studies:

(1) We designed ZIF-67@MXene nanosheet composites with highly conductive in-plane structure and constrained stable pore/channel, which act as efficient co-reaction accelerators to achieve significant signal enhancement in an ECL system. The mechanism study shows that because hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) and $^1\text{O}_2$ can be stably and efficiently adsorbed at ZIF-67@MXene, the system can selectively and preferentially generate $\cdot\text{OH}$ and $^1\text{O}_2$, which significantly improves the ECL efficiency of Luminol (830%). Finally, a "switch" immune sensor for prostate-specific antigen (PSA) detection was constructed by designing plasma $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ nanase. This study provides an effective method for the preparation of highly efficient co-reaction accelerators and a new strategy for the sensitive detection of tumor markers.

(2) We developed an efficient ECL sensing platform by in-situ encapsulating the AIE molecule tetraphene into a metal-organic framework (NH₂-MIL-88), which is rich in atomically dispersed active sites and acts as a nanoconfined co-reactant accelerator capable of in-situ catalyzing co-reactants K₂S₂O₈ to reactive intermediates (RS) and react directly with AIE molecules in a spatially constrained composite system. In situ electron paramagnetic resonance and density functional theory calculations show that the enhancement of ECL is caused by local amplification, in which the nano-confined space formed by the coordination self-assembly changes the activation energy barrier and exhibits better catalytic absorption capacity. Finally, a smartphone-enabled self-reporting AIECL imaging system was developed to enable ultrasensitive analysis of cardiac troponin I (cTnI). At the same time, the enhanced ECL images are used to train the deep learning algorithm, and the convolutional neural network model is developed to assist the accurate analysis of cTnI. In this study, we propose an advanced strategy to improve local RS concentration by nano-limiting catalysis, which provides an advanced screening method and idea for AIECL imaging system to monitor cTnI concentration.

(3) We constructed a chemiluminescence (CL)-fluorescence (FL) dual-modal analytical imaging system by simulating nanozymes using atomic Fe(III)-anchored PCN-224 peroxidase (PCN-224/Fe(III)), achieving ultrasensitive detection of uric acid (UA). The multifunctional PCN-224/Fe (III) acts as a highly efficient synergistic promoter for the generation of reactive oxygen species (ROS) in CL and FL systems, while also showing special capabilities as fluorescent nanoprobe. Finally, a smart phone using CL imaging device is developed, and the visual detection of CL is realized by designing a portable paper chip. The CL-FL dual-mode detection system proposed in this study not only provides a portable and sensitive method for UA detection, but also provides valuable insights into the mechanism of co-reaction accelerator enhanced CL and FL analysis.

KEY WORDS: chemiluminescence, electrochemiluminescence, metal-organic framework, co-reaction accelerators, sensing and detection

目 录

摘 要	I
第一章 绪论	1
1.1 引言	1
1.1.1 化学发光概述	1
1.1.2 电化学发光概述	2
1.2 CL/ECL 机理	3
1.3.1 湮灭型	3
1.3.2 共反应剂型	6
1.3 CL/ECL 共反应加速剂材料	8
1.4.1 金属纳米团簇	8
1.4.2 金属氧化物	9
1.3.3 碳基纳米材料	11
1.4.4 单原子催化	12
1.4 MOF 基共反应加速剂	14
1.5 本论文的研究意义与内容	16
第二章 基于高效共反应加速器 ZIF-67@MXene 与等离子纳米酶探针的超灵敏电 化学发光生物传感器	17
2.1 引言	17
2.2 实验部分	18
2.2.1 实验试剂	18
2.2.2 实验仪器	19
2.2.3 ZIF-67@MXene 异质结构的合成	20
2.2.4 NH ₂ -MIL-88@Pd-Ab ₂ 生物探针的制备	20
2.2.5 构建 ECL 传感系统	20
2.2.6 电化学发光性能测试	21
2.3 结果与讨论	21
2.3.1 ZIF-67@MXene 共反应加速剂合成与表征	21
2.3.2 等离子体 NH ₂ -MIL-88@Pd 纳米酶探针的合成及表征	23
2.3.3 ZIF-67@MXene 作为共反应促进剂对鲁米诺 ECL 性能的影响 ...	25
2.3.4 PSA 检测的性能分析	27
2.4 本章小结	28

第三章 纳米限域增强聚集诱导电化学发光技术用于智能手机成像的 cTnI 分析	29
3.1 引言	29
3.2.1 实验试剂	30
3.2.2 实验仪器	31
3.2.3 NH ₂ -MIL-88@TPE 的合成	32
3.2.4 Au NPs 的合成	32
3.2.5 Au NPs 包封脂质体的合成	32
3.2.6 Ab ₂ - Au NPs 包封脂质体的合成	32
3.2.7 ECL 传感系统的组装	32
3.3 结果与讨论	33
3.3.1 NH ₂ -MIL-88@TPE 的合成和表征	33
3.3.2 NH ₂ -MIL-88@TPE 的 ECL 行为研究	35
3.3.3 脂质体介导 ECL 生物传感器的构建	37
3.3.4 建造基于智能手机的自报告 ECL 成像系统和 CNN 辅助深度学习	39
3.4 本章小结	41
第四章 原子级 Fe(III) 锚定的金属有机框架荧光纳米	42
酶用于智能手机 CL-FL 双模式尿酸分析检测	42
4.1 引言	42
4.2 实验部分	43
4.2.1 实验试剂	43
4.2.2 实验仪器	44
4.2.3 PCN-224 纳米立方体(NC)的合成	45
4.2.4 PCN-224/Fe(III)的合成	45
4.2.5 智能手机采用的 CL 成像设备的构造	45
4.2.6 UA 的化学发光检测	45
4.2.7 UA 的荧光检测	45
4.3 结果与讨论	46
4.3.1 PCN-224/Fe(III)纳米酶材料的合成与表征	46
4.3.2 PCN-224/Fe(III)多功能性表征	48
4.3.3 智能手机 CL 成像和荧光双模式检测尿酸	49
4.4 本章小结	51
第五章 总结与展望	53

5.1 总结	53
5.2 展望	54
参考文献	55

第一章 绪论

1.1 引言

1.1.1 化学发光概述

化学发光(CL)^[1]是当两种或两种以上的物质混合反应时,中间体或反应物等某些物质可以被氧化激活,形成高能中间体,该中间体可以分解或将其能量转移到荧光团,然后返回基态,并伴有自发光发射现象。简单地说,是依靠化学反应过程中形成物质激发态产生的发光现象。

第一个 CL 的例子可以追溯到 1928 年,它是基于 H_2O_2 氧化发光氨^[2,3]。鲁米诺氧化后,通过反向系统间交叉(Risc)记录到 $\lambda_{\text{max}}=425\text{ nm}$ 的强蓝色发射^[4-6],持续时间从一秒到几个小时。随后,在合成技术的迅速发展下,大量的 CL 现象(如光泽精、过氧化草酸酯等)被报道出来^[7,8],直到后来,光电倍增管(Photomultiplier tube, PMT)的发明让 CL 技术迅速崛起,使其在众多领域得到了应用。

化学发光通常有直接发光和间接发光两种形式^[9-11]。直接发光是由两个物质(A 和 B)反应生成物质 C,反应过程中所释放的能量被物质 C 吸收,形成 C^* (发光体), C^* 在回到基态时产生发光。相较于直接发光,间接发光所形成的激发态中间体 C^* 并不会直接回到基态,而是作为一个能量供体,将能量转移到另一能量受体 E,使 E 被激发形成 E^* ,在 E^* 回基态时,能量以光辐射形式释放出来。

通常,一个化学反应能够产生高强度 CL 需要提供足够激发能、高激发态发光量子效率^[12]。而在某个确定的反应中,CL 强度与反应物中某些物质的浓度呈线性关系。鉴于这种线性关系的存在,CL 分析可以作为一种灵敏、强大的分析检测技术^[13]而应用于各个领域。同时,作为一种无需外加光源的低背景的检测方式,CL 具有许多优点:

- 1、高灵敏度: CL 具有与 ECL 相同的高灵敏度的特点,在进行微量物质检测时也非常有效^[14]。
- 2、背景干扰低: 在使用 CL 进行检测时,不需要外加光源,背景干扰较小^[15]。
- 3、分析速度快: CL 反应操作简单,反应速度快,能够快速得到分析结果^[16]。

1.1.2 电化学发光概述

电化学发光(ECL)是指物质在施加电压后发生电化学氧化还原反应而产生的发光现象。在这个过程中, 电化学活性物质在电极表面进行高能电子转移反应, 促使发光分子从基态跃迁到激发态, 形成的激发态发光分子在返回基态的过程中, 能量以光的形式释放出来^[17-21]。ECL 同时结合了光谱学和电化学的优点^[22], 通过改变电极电压来启动和调节发光, 是一种有效且准确的分析技术^[23, 24]。

ECL 现象首次发现于 20 世纪 20 年代^[25]。继 1929 年研究者发现了鲁米诺的电化学发光现象后^[26], 直到 20 世纪 60 年代, 人们才对多芳烃在有机溶剂中的 ECL 机理和性质进行了详细的研究^[27-29]。随后, 在世界范围内, 由于纳米技术、光电、电化学和光谱学的发展, ECL 相关研究大幅度增长^[30, 31]。

通常, 将 ECL 机理分为湮灭机理和共反应物机理。共反应物参与的检测过程中通常涉及三个重要部分: 电极、发光体以及共反应剂^[32]。使用三电极体系对发光体的 ECL 性能进行检测, 检测结果分为电化学以及化学发光两个部分。发光体是 ECL 反应的核心, 根据发光体种类的不同, 传统的发光体可以分为有机发光体^[33]、无机发光体^[34]以及纳米材料发光体^[35]。然而, 传统的发光体通常面临着信号弱的问题, 相应的共反应剂的使用可以提高体系中的 ECL 信号。因此, 在大多数 ECL 系统中, 发光体通常与共反应剂联合使用。

ECL 作为一种强大的分析检测技术, 其本身具有很多突出的特点及优势:

1、高灵敏度: ECL 通过施加电压来控制, 不需要外来光源, 能够极大限度降低检测背景的干扰, 即使待测物的浓度极低, 也具有很高的灵敏度^[36]。

2、线性范围宽: ECL 技术可以同时高浓度和低浓度的待测物进行检测, 无需进行大量预处理, 具有较好的线性检测范围^[37]。

3、时间、空间可控性: 通过控制 ECL 信号的开关, 能够即时的调控反应的开始与停止, 并且可以通过调控电极与反应条件, 实现区域选择性激活发光^[38]。

4、低成本: ECL 技术使用耗材少, 设备成本低、性价比高^[39]。

1.2 CL/ECL 机理

CL 是 ECL 更广义的版本,CL 的检测技术享有许多与 ECL 相同的分析优势,两者在发光材料以及机理方面都有类似。因此,CL 与 ECL 在某种程度上均可分为湮灭型和共反应物型。

1.3.1 湮灭型

湮灭是指在光学中,物质在与其对应的反物质相遇时发生的能量转换过程,其核心机制在于两个激发态(如三重态-三重态或单线态-三重态)碰撞,发生能量转移,形成更高级的激发态或弛豫至基态^[40]。在湮灭型化学发光(Annihilation-induced Chemiluminescence)当中,通常指的是两种高能中间体(比如两种自由基)在溶液中相遇,发生电子转移反应,生成激发态的分子,当这些激发态的分子回到基态时释放光子^[41]。

1.3.1.1 湮灭型 CL

湮灭 CL 当中产生的强烈发光效果,通常由两种自由基之间辐射电子-空穴湮灭引起。例如, Li 等人通过使用亚硫酸盐和碳量子点体系的 CL 湮灭反应来测定溴酸盐^[42](图 1-1)。

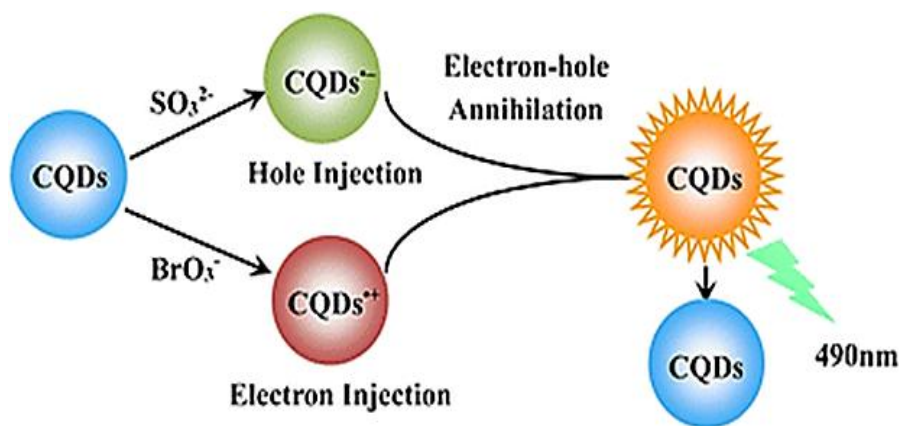


图 1-1 SO_3^{2-} -CQDs 体系的辐射电子-空穴 CL 湮灭反应^[42]。

Figure 1-1 Radiation electron-hole CL annihilation reaction in SO_3^{2-} -CQDs system^[42].

在酸性条件下,碳量子点(CQDs)可以与亚硫酸盐和溴酸盐反应,分别转化为空穴注入的碳量子点($\text{CQDs}^{\bullet-}$)和电子注入的碳量子点($\text{CQDs}^{\bullet+}$)。此后, $\text{CQDs}^{\bullet-}$ 和 $\text{CQDs}^{\bullet+}$ 之间的辐射电子-空穴湮灭(EHA)引起强烈的化学发光(490 nm)。通过湮灭反应增强的 CL 信号,溴酸盐的检测限能达到 $\mu\text{g/L}$ 级别,该方法可用于环境水样中溴酸盐的快速检测。

此外, Wang 等人^[43]同样使用电子-空穴湮灭增强了体系的 CL。通过将 Co-MOF 引入到 $\text{NaIO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 体系中,CL 信号显著增强。这种增强归结于化学发

光共振能量转移(CRET)和电子空穴湮灭(EHA)协同增强的结果,在此基础上建立了邻苯三酚(PG)检测的高灵敏度 CL 分析方法(图 1-2)。

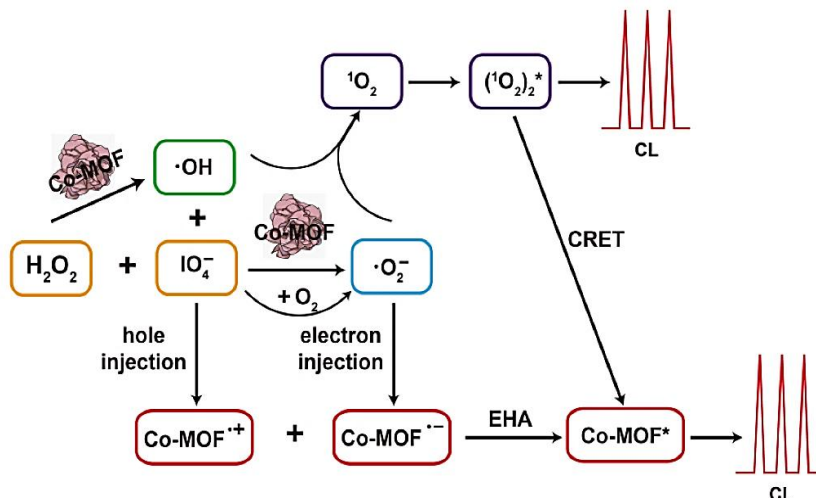


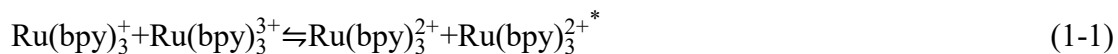
图 1-2 共振能量转移和电子-空穴湮灭协同增强化学发光^[43]。

Figure 1-2 Chemiluminescent resonance energy transfer and electron-hole annihilation synergistically enhance chemiluminescence^[43].

1.3.1.2 湮灭型 ECL

ECL 湮灭则是通过施加电压产生的两种自由基(阴离子与阳离子)碰撞实现发光。阳极氧化与阴极还原所产生的两种自由基在电场驱动下扩散至溶液,通过布朗运动相遇后发生电子转移,形成激发态物质,激发态物质在退回到基态时释放光子。

ECL 湮灭通常分为对称性湮灭、非对称性湮灭以及脉冲驱动湮灭^[44]。对称性湮灭和非对称性湮灭分别是一种物质和两种物质在阴阳极的氧化和还原,而脉冲驱动湮灭则通过采用交替脉冲电位,周期性生成自由基离子。1973 年, Bard 团队首次报到了 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的对称湮灭机制,建立氧化态(Ru^{3+})与还原态(Ru^+)碰撞生成激发态的理论模型^[45](公式 1-1)。



而后为降低发光体浓度并提升生物兼容性,形成异种自由基对。Leland 和 Powell 提出异质湮灭反应的可能性,尝试将 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 与其他还原性物质(如芳香胺)配对^[46]。因此, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 作为最早期的发光团常用于评价新发光团在湮灭机制中的性能。

在此研究基础上,涌现出了多种材料与机理创新。Wei 等人^[47]发了一种湮灭型 ECL 系统用于检测黄曲霉毒素 B1(AFB1)。其中,制备的高度对称的金属有机框架充当新的发射器,核酸内切酶驱动的 DNA walker 充当信号放大器。

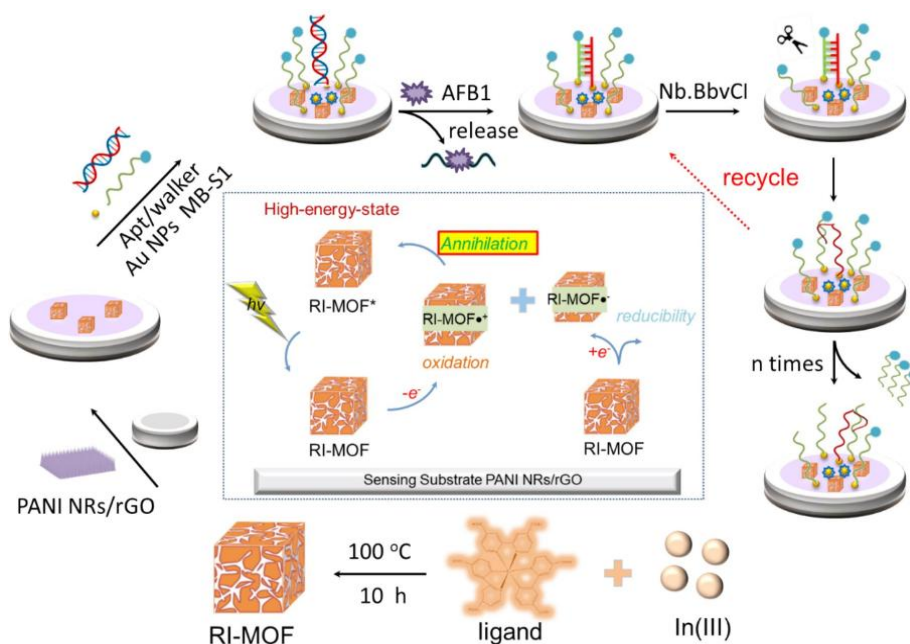


图 1-3 湮灭型 ECL 系统用于检测黄曲霉毒素 B1 (AFB1)^[47]。

Figure 1-3 Annihilation ECL system for detection of Aflatoxin B1 (AFB1)^[47].

羧化钌联吡啶配体与铟(III)阳离子的配位构建了稳定且自发光的框架(RI-MOF)。在这种情况下, In^{3+} 到 $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{dcbpy})_3] \text{Cl}_2$ 配体极大地提高了RI-MOF在无外源共反应物条件下的ECL。通过差分脉冲伏安法(DPV)和密度泛函理论(DFT)计算研究了可能的湮灭机制(图 1-3)。

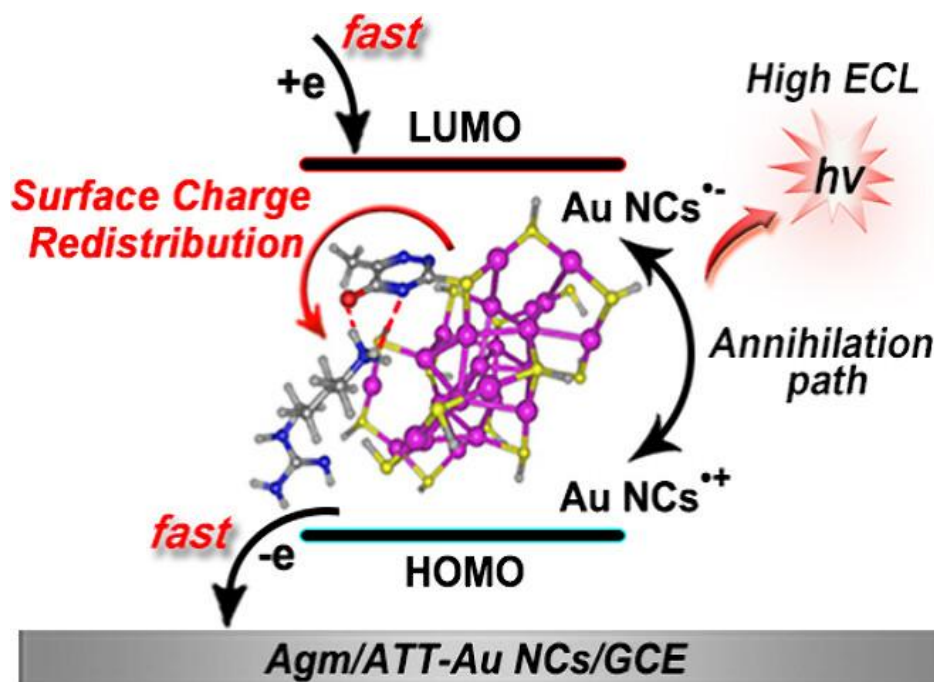


图 1-4 表面电荷重分配诱导的 ECL 增强机制^[48]。

Figure 1-4 Mechanism of ECL enhancement induced by Surface Charge Redistribution^[48].

Zhu 等人^[48]近期开发了 Agm/ATT-Au NCs 作为一种新型电化学发光(ECL)材料, 由于带正电荷的 Agm 触发的 ATT-Au NCs 的表面电荷重分布, 提高了材料的电子转移动力学, Agm/ATT-Au NCs 的 ECL 信号比 ATT-Au NCs 的 ECL 信号高 110 倍, 因此 ATT-Au NCs 的电化学氧化还原反应得到了增强。通过新定义的表面电荷重分配诱导的 ECL 增强(SCRIE), 在湮灭路径上表现出高 ECL 性能, 深入研究了湮灭机理的电生成过程, 指导了高效 ECL 材料的合理设计(图 1-4)。

湮灭型(电)化学发光的能量转化路径明确、无共反应剂依赖的优势使其在环境检测、光电器件、生物医学等领域展现出巨大潜力, 其未来前景广阔, 有望成为未来智能传感与绿色科技的关键技术之一。

1.3.2 共反应剂型

共反应剂(Co-reactant)是指在化学反应中易被氧化还原成活性中间体, 从而促进发光体激发态形成的物质。共反应剂型(电)化学发光的核心均是发光物质与共反应剂的协同作用。

1.3.2.1 共反应剂型 CL

共反应剂型 CL 最典型的是 luminol-H₂O₂ 体系。其中, 共反应剂 H₂O₂ 被共反应加速剂(CRA)催化形成活性氧中间体(ROS), 活性氧中间体(ROS)在碱性条件下氧化 luminol 生成激发态 3-氨基邻苯二甲酸(3-APA*), 3-APA* 返回基态, 释放光子($\lambda \approx 425 \text{ nm}$)^[49]。具体过程如公式(1-2)-(1-5):



此外, 光泽精(lucigenin)-H₂O₂^[50]、过氧草酸(Peroxyoxalate)-H₂O₂^[51]、吡啶酯(lucigenin)-H₂O₂^[52]等都是以 H₂O₂ 作为共反应剂的化学发光, 其化学发光机制与 luminol-H₂O₂ 体系类似。

1.3.2.2 共反应剂型 ECL

CL 主要依赖化学反应产生激发态发光分子, 而 ECL 则是在施加电压的条件下, 共反应剂与发光分子在电极上的氧化还原反应, 形成激发态发光分子从而实现发光。

共反应剂型 ECL 机制的核心主要有四个步骤: 电化学氧化、活性中间体生成、电子转移与激发态生成、发光过程。由于共反应剂种类繁多, 接下来将按照

发光体划分体系以及反应机理研究。

鲁米诺发光体与 H_2O_2 的 ECL 同样也是在碱性条件下进行。1982 年, Keijo 等人提出了 luminol 在碱性条件下的发光机制^[52]。其中, luminol 在电极表面被氧化生成 Luminol^- , H_2O_2 则在电极表面被催化分解, 生成活性氧 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$, luminol 自由基与活性氧自由基反应, 生成 3-邻苯二甲酸激发态(3-AP^{2-*}), 激发态 3-AP^{2-*} 返回基态时释放光子^[53]。具体反应过程如公式(1-6)-(1-9)。



$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 系统的 ECL 是研究最早且最为广泛的共反应剂型 ECL。在 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 体系中, 一种常用的氧化还原共反应物是三丙胺(TPA), 它在电极上被氧化后在溶液中进行氢提取, 成为一种强还原剂($\text{TPA}\cdot$), 与电化学氧化后的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ 形成激发态 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$, 激发态 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ 返回基态时释放光子, 波长约 620 nm, 橙红色光^[54]。具体反应过程如公式(1-10)-(1-13):



这里有必要指出的是, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 体系的共反应剂不止一种, 其中还有草酸盐($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$)、过硫酸盐($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$)等, 其反应机制大致与 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -TPA 相同。

量子点(QDs)是除 luminol 与 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的最常用的发光体, 其共反应剂通常为 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ^[55]。在此基础上, 研究者们不断深入。其中, Russell 的团队通过 QDs 与共反应物的相对能级分布以及所施加的电位范围来尝试使用其他共反应剂代替 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, 通过共反应物选择优化量子点的 ECL, 强调了共反应物途径对于优化 ECL 在生物分析中的应用的的重要性^[56]。此外, 有机发光体系^[33]、聚集诱导效应发光体系^[57]等均作为共反应剂型 ECL 得到了广泛应用。

共反应剂型 CL/ECL 依赖于活性中间体的生成, 从而形成更多的激发态发光体物质使发光强度提升。然而中间体的形成缓慢, 并且面临着体系电子转移效率低、发光强度低的问题。而为了维持足够的发光信号, 常需高浓度共反应剂, 这样会导致背景噪声增加, 生物毒性高, 干扰生物分子活性, 并且体系还会存在稳定性差、副反应多等问题。为克服上述缺点, 共反应加速剂被引入(电)化学发光体系, 以提高发光的量子产率, 从而产生强而持久的发光。

1.3 CL/ECL 共反应加速剂材料

共反应加速剂(Coreaction accelerator, CRA)是一种能够促进更多的反应中间体产生,导致 CL/ECL 信号显著放大的物质^[58]。通过降低反应活化能,促进共反应剂分解或自由基生成。一些具有良好导电性能的共反应加速剂还能作为电子传输桥梁,缩短发光体与共反应剂之间的电子转移路径。共反应加速剂的引入,降低了 CL/ECL 反应的背景噪声,提高体系的灵敏度、稳定性和适用性。基于以上优势,使得共反应加速剂在生物医学^[59]、环境监测^[60]、食品安全^[61]领域等得到了广泛应用。

催化共反应剂活化的加速剂材料大致有以下几种:金属纳米团簇、金属氧化物、碳基纳米材料、单原子催化、金属有机框架。以下将对这些共反应加速剂材料以及其应用进行详细介绍。

1.4.1 金属纳米团簇

金属纳米团簇共反应加速剂通常是由几个到几百个金属原子组成的纳米聚集体^[62, 63],其直径与金属中电子的费米波长相当,导致连续密度的状态分裂成离散的能级,从而使金属纳米团簇具有吸引人的特性,包括独特的光学、电学、电化学、磁性和化学性质在特定的反应体系中^[64]。

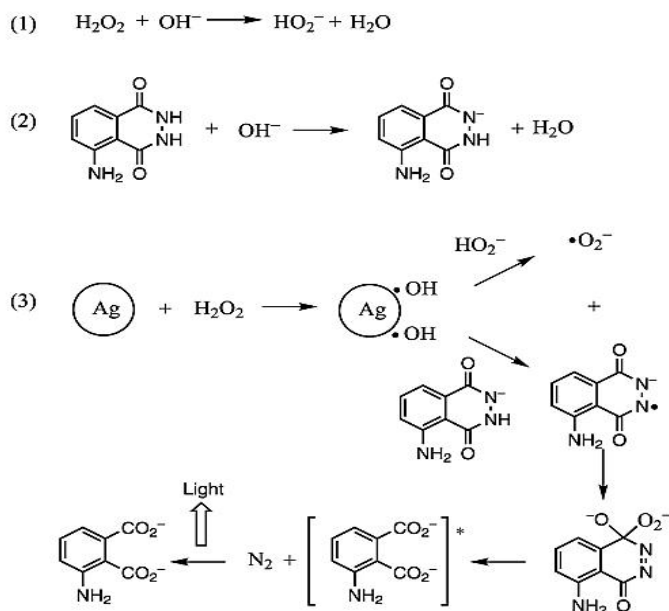


图 1-5 Ag NPs 增强 luminol- H_2O_2 体系的 CL^[65]。

Figure 1-5 Ag NPs enhanced CL in luminol- H_2O_2 system^[65].

金属纳米团簇可以通过加速反应物与共反应剂之间的电荷转移和能量传递,降低反应的活化能,使反应更容易进行。Chen 等人^[65]发现 Ag NPs 的存在可以增

强 luminol-H₂O₂ 体系的 CL 强度，与没有 Ag NPs 的情况相比，证明了该共反应加速剂可以提高 CL 强度（图 1-5）。

金属纳米团簇作为共反应加速剂，在 ECL 系统中同样应用广泛。Li 等人^[66]设计了一种新型的 AuPt 纳米环，即 SnS₂ 量子点(QDs)/Cys-AuPt 异相纳米环(NRs)，既可以作为高效的协同反应加速器，又可以作为无标签 ECL 感应传感器中的发光团。将 SnS₂ QDs 修饰在 AuPt NRs 表面上形成新型的 AuPt 纳米甜甜圈，这将促进 SnS₂ QDs /K₂S₂O₈ 体系中更多的反应物中间体的产生。因此，使 ECL 性能得到了很大的提高。所设计的纳米甜甜圈可作为加载大量林可霉素(lincomycin, Lin)适体的基质。在最佳条件下，ECL 感应传感器实现对林可霉素的检出限为 0.7 fg/mL（图 1-6）。

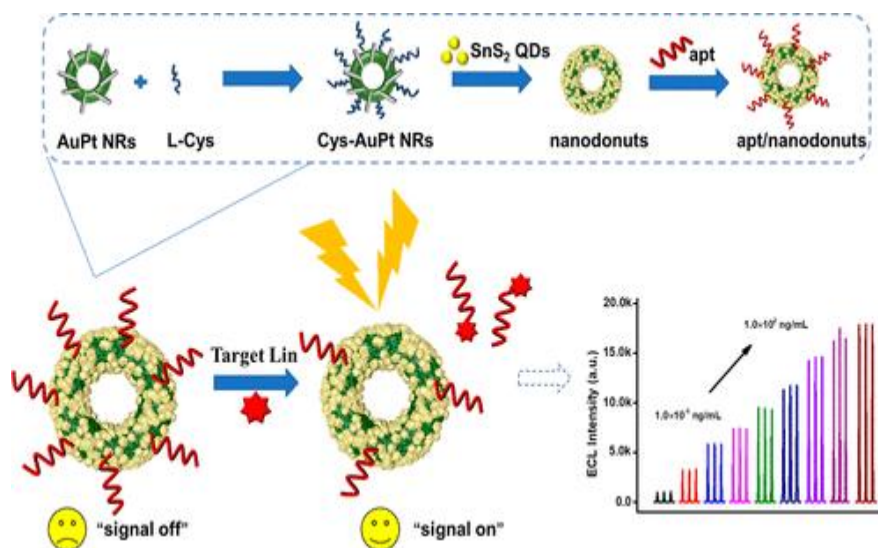


图 1-6 SnS₂/Cys-AuPt 作为共反应加速剂增强体系电化学发光^[66]。

Figure 1-6 Electrochemiluminescence diagram of SnS₂ /Cys-AuPt as co-reaction accelerators^[66].

1.4.2 金属氧化物

金属氧化物具有丰富的表面活性位点，能有效吸附和活化 CL/ECL 体系中的共反应物，并且部分金属氧化物具有独特的晶体结构，具有良好的电子传输能力。此外，其在多种电解质溶液下具有较好的化学稳定性和电化学稳定性，不易发生溶解或结构破坏，是较为可靠的共反应加速剂。Li 等人^[67]研究了 ZnO 纳米颗粒对 luminol-H₂O₂ 系统的 CL 的影响。发现尺寸范围为 6-21 nm 的 ZnO 纳米颗粒可以增强 luminol-H₂O₂ 的 CL，ZnO 纳米粒子的平均直径为 6 nm 时，获得最强的 CL 信号。ZnO 纳米粒子对 Luminol-H₂O₂ 体系的 CL 增强源自 ZnO 纳米粒子的催化作用，而氨基酸、抗坏血酸和多巴胺等含有 -OH、-NH₂ 和 -SH 基团的有机化合物可以抑制 luminol-H₂O₂-ZnO 系统的 CL 信号。



Figure 1-7 Mechanism for the Luminol-H₂O₂-ZnO Colloids CL System^[67].

Zeng 等人^[68]利用 $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ 作为共反应加速剂, 使用 MOF 衍生的 ZrO_2 纳米材料作为发光体, 在共反应物三丙胺(TPA)存在的情况下产生稳定的阳极 ECL 信号, 开发了一种信号增强免疫传感器。

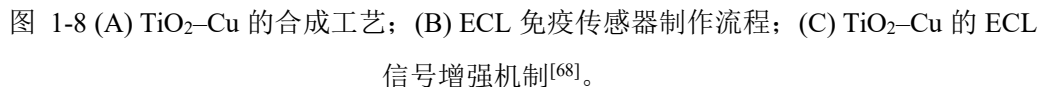


Figure 1-8 (A) Synthetic Process of $\text{TiO}_2\text{-Cu}$; (B) Fabrication Procedure of ECL Immunosensor; (C) ECL Signal-Enhanced Mechanism of $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ ^[68].

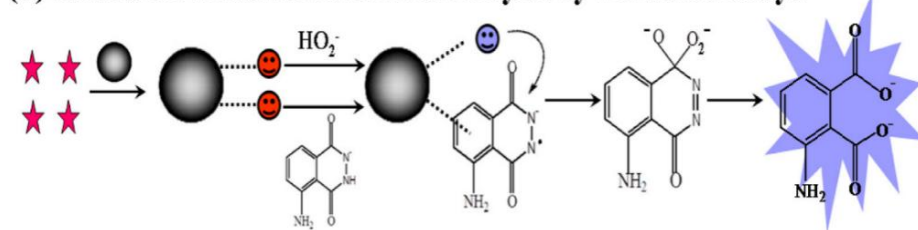
该研究结合了共反应加速剂 TiO_2 掺铜($\text{TiO}_2\text{-Cu}$)来分析 D-二聚体。通过煅烧 UiO-67 合成的 ZrO_2 表现出无毒性 and 生物相容性,在 TPA 溶液中表现出高效且稳定的 ECL 发射。在免疫传感器中加入 $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ 作为共反应促进剂从而形成 $\text{ZrO}_2/\text{TiO}_2\text{-Cu}/\text{TPA}$ 三元体系。 Cu 的掺杂有效地缩小了 TiO_2 的带隙并增强了其电导率。 $\text{TiO}_2\text{-Cu}$ 作为底物与更多的 TPA 反应,产生足够的自由基,有效增强 ZrO_2 的 ECL 信号。开发的免疫传感器将用于准确检测 D-二聚体,其具有宽线性范围和低检测限(图 1-8)。

1.3.3 碳基纳米材料

碳基纳米材料包括石墨烯、碳纳米管、MXene、碳量子点等。因为其具有较高的比表面积,使得大量的反应物和共反应剂能够在其表面吸附,增加反应几率。其表面存在大量的缺陷、边缘位点等都是高活性部位,可为反应提供丰富的活性中心,加速反应进行。

许多碳基材料还具有良好的电学性能,能够快速传递电子,有效降低反应的电阻,提高电子传递效率,使体系中的氧化还原过程更加快速地进行,从而加快整体反应速率。

(A) General CL mechanism of luminol catalyzed by traditional catalyst



(B) Present CL mechanism of luminol catalyzed by GO

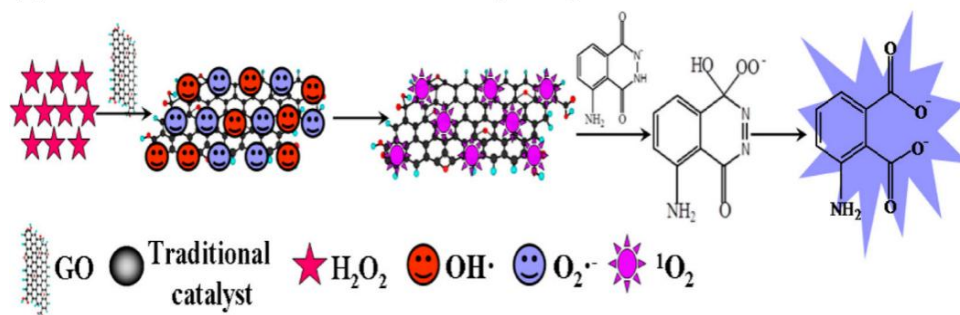


图 1-9 传统催化剂(A)和氧化石墨烯(B)催化鲁米诺 CL 反应机理比较^[69]。

Figure 1-9 Comparison of the CL Mechanism of Luminol Catalyzed by Traditional Catalyst (A) and GO (B)^[69].

Hao 等人^[69]首先发现氧化石墨烯(GO)是一种高效的 luminol- H_2O_2 体系的 CL 催化剂,它具有明确的蜂窝结构,优异的催化活性、导电性和巨大的比表面积。并且 Hao 等人首次发现 H_2O_2 在弱碱性介质中主要通过 $^1\text{O}_2$ 作为中间体增强

luminol-H₂O₂ 体系的 CL，这与传统催化剂在强碱性介质中通过超氧阴离子自由基(O₂^{•-})和羟基自由基(•OH)等中间体增强 CL 有很大的不同。通过 CL 光谱、紫外-可见吸收光谱和电子自旋共振(ESR)光谱测量以及各种自由基清除剂对氧化石墨烯增强发光氨的 CL 的影响，发现氧化石墨烯在电子转移过程中起到加速作用，这种氧化石墨烯诱导的鲁米诺 CL 比没有氧化石墨烯时增强了 6 倍，进一步扩展到使用氧化石墨烯作为共反应剂来测定 H₂O₂ 和葡萄糖的 CL (图 1-9)。

Momeni 等人^[59]使用溴酚蓝(BPB)分层的多层 Ti₃C₂ MXene 形成 BPB@Ti₃C₂ 作为共反应加速剂，以促进鲁米诺和 H₂O₂ 的 ECL 反应速率。为生物传感器领域开发基于 MXene 的高灵敏度的 ECL 传感器开辟了新的视野 (图 1-10)。

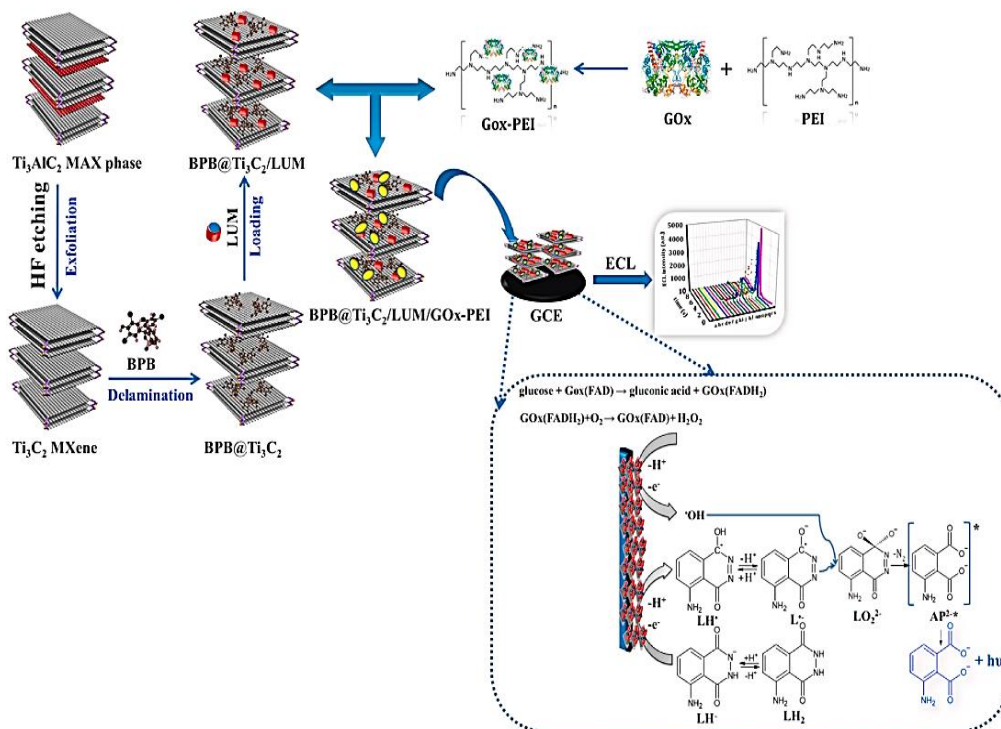


图 1-10 BPB@Ti₃C₂ 作为 ECL 共反应加速剂用于检测葡萄糖^[59]。

Figure 1-10 BPB@Ti₃C₂ as an ECL co-reaction accelerator for the detection of glucose^[59].

1.4.4 单原子催化

单原子催化(SACs)是一种前沿的催化技术，其核心在于将金属以单个原子的形式分散在载体材料上，形成孤立活性位点，从而显著提升催化性能^[70, 71]。为了保持单个金属原子的原子分散，防止团聚成粒子，单个金属原子与固体载体的配位物质之间存在着强烈的相互作用或相当大的电荷转移，这使得 SACs 的单个金属原子具有独特的电子结构，携带着与传统金属纳米粒子不同的一些电荷。SACs 具有优异的催化活性，其最大的原子利用率接近 100%。由于其独特的结构性质和充分暴露的活性位点，与纳米催化剂相比，SACs 在多种反应中表现出显著的

催化活性增强^[72, 73]。在过去的十年中, 已经在光催化^[74]、电催化^[75]、有机污染物降解^[76]、生物传感^[77]等领域显示出显著的应用潜力。

在支撑物和原子之间没有力作用的情况下, 单分散的原子倾向于聚集。因此, 锚定单分散原子的载体, 如金属氧化物和碳材料, 对于制备稳定的 SACs 至关重要^[78]。高温煅烧是将单分散原子锚定在载体上并防止原子聚集的常用途径。然而, 这种策略不可避免地导致 SACs 的水分散性差和标签组的丢失。Fu 课题组^[79]采用溶剂热法合成了 Co SACs, 采用通过杂化 MOFs $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{MIL-100}(\text{Fe})$ 负载钴原子, 提高反应系统的 CL 强度, 用于测定法中草药中的多菌灵。与原始 MOFs $\text{MIL-100}(\text{Fe})$ 相比, 该载体具有优越的负载能力, 钴元素的负载量高达 4.69 wt%。在杂化的 MOFs $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{MIL-100}(\text{Fe})$ 中植入 Co SACs 可以催化 H_2O_2 产生许多活性氧, 并极大地提高 luminol- H_2O_2 系统的 CL (图 1-11)。

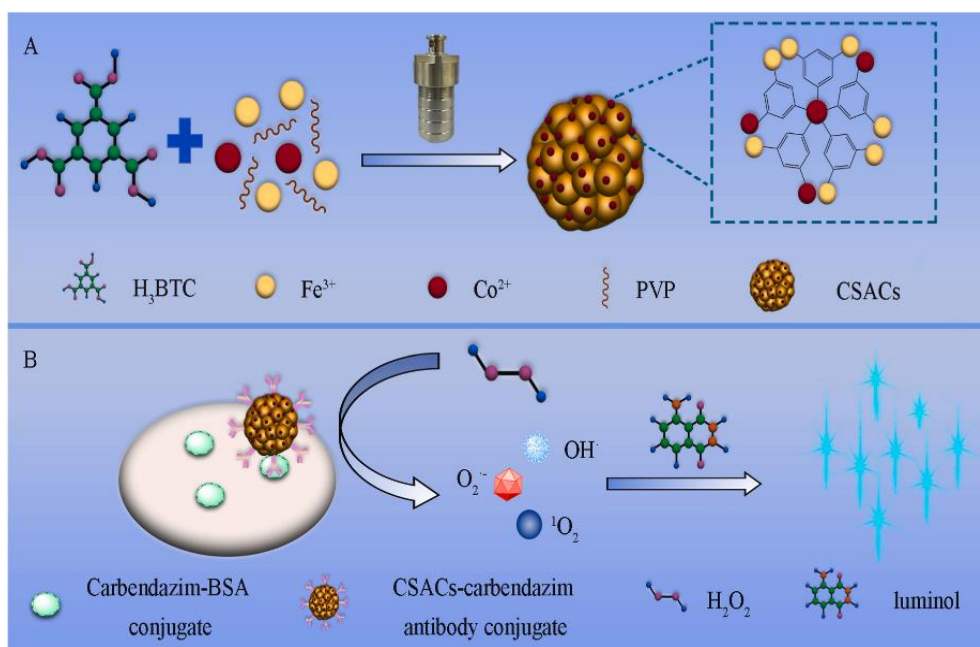


图 1-11 MOFs $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{MIL-100}(\text{Fe})$ 负载 Co SACs 作为 CL 探针用于测定多菌灵^[79]。

Figure 1-11 MOFs $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{MIL-100}(\text{Fe})$ supported cobalt atom as CL probe for determination of carbendazim^[79].

Luo 等人^[80]采用 Fe SACs 催化剂增强 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ - $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 的阴极 ECL。该系统使用铁-氮-碳单原子催化剂(Fe-N-C SAC)作为先进的加速剂。Fe-N-C SAC 可以在较低电压下有效地将 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 激活成更多的活性自由基, 从而显着增强 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的阴极 ECL 发射。在此基础上建立了一种高灵敏度检测碱性磷酸酶活性的 ECL 生物传感器 (图 1-12)。

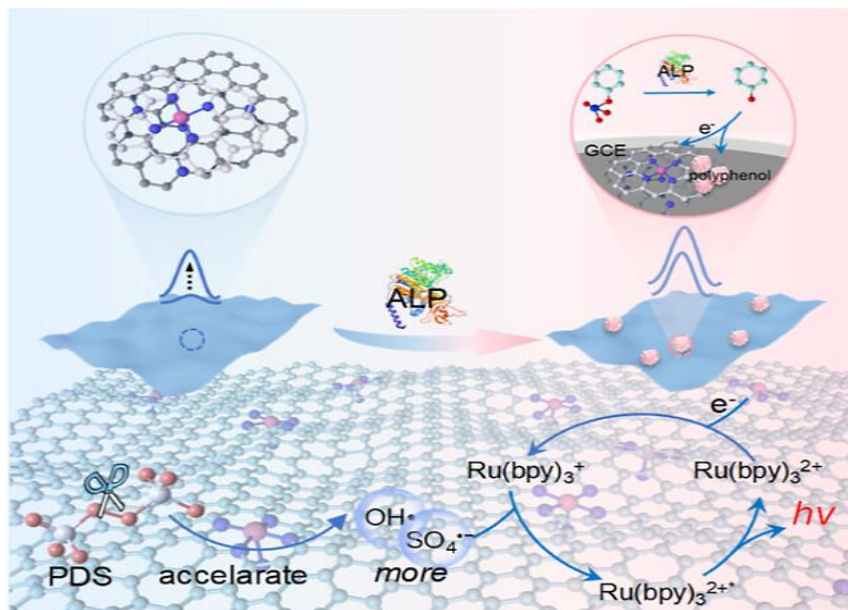


图 1-12 铁单原子催化剂增强 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}\text{-S}_2\text{O}_8^{2-}$ 的阴极 ECL^[80]。

Figure 1-12 Cathode ECL enhancement of $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}\text{-S}_2\text{O}_8^{2-}$ by Fe monatomic catalyst^[80]

1.4 MOF 基共反应加速剂

金属有机框架(MOFs)是具有一维、二维和三维结构的多孔材料,一般来说,是一种新兴的多孔晶体纳米材料^[81]。它们是由具有强金属配位键的有机配体将金属离子或簇相互连接而成的由于其具有比表面积大、孔道可调、多孔结构和多金属位点等优异的特性而受到了广泛的关注^[82,83]。

MOF 纳米结构中金属位点的存在在催化反应中起着至关重要的作用^[84],其多孔性允许进入所有活性位点,而开放的通道便于底物和产物的扩散^[85],这些优点使得 MOF 比传统材料更有希望成为理想的催化剂。此外,有些 MOF 还具有类过氧化物酶的特点,能够模拟天然酶的催化功能^[86]。MOF 的类酶活性主要来源于两个方面:一是 MOF 本身的类酶活性,来源于构成骨架的金属离子或有机配体^[87,88];另一种是掺入材料的催化性质,赋予类似酶的活性。MOF 这些独特的优势使得其在作为共反应加速剂时更容易产生更多的活性中间体,是提升 CL/ECL 强度不可忽视的关键因素。

Peng 等人^[89]通过 $\text{Fe}^{3+}/\text{Co}^{2+}$ 和对苯二甲酸在室温下的协同自组装反应合成了二维(2D)铁/钴金属有机骨架纳米片(Fe/Co-MOF NSs)。所制备的 2D Fe/Co-MOF NSs 在催化鲁米诺和 H_2O_2 之间的 CL 反应中表现出优异的性能。并证明了 Fe/Co-MOF NSs 出色的类过氧化物酶活性,可以催化 H_2O_2 产生 $^1\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot\text{OH}$, 这些物质可以与鲁米诺阴离子自由基快速反应并产生强 CL, 在此基础上开发了一种用于检测多巴胺(DA)的灵敏传感器(图 1-13)。



图 1-13 (A) Fe/Co-MOF NSs 的制备工艺。(B) 基于 Fe/Co-MOF NSs 的 CL 检测 DA^[89]。

Figure 1-13 (A) Preparation Process of Fe/Co-MOF NSs. (B) CL Detection of DA Based on Fe/Co-MOF NSs^[89].

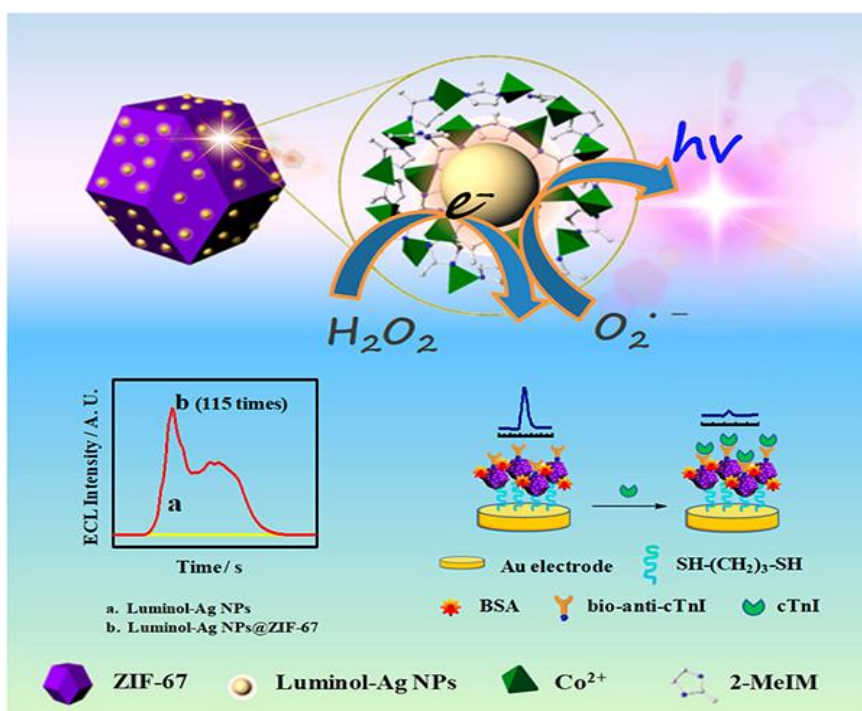


图 1-14 钴基 MOF 和 AgNPs 集成增强鲁米诺 ECL 对 cTnI 的检测^[90]。

Figure 1-14 Cobalt-based MOF and AgNPs integrated enhance the detection of cTnI by Luminol ECL^[90].

MOFs 在 ECL 传感中的应用表现出高度的多样性。它可以用来丰富或产生高稳定的 ECL 信号。Wang 等人^[90]开发了一种有效的策略，通过集成基于 Co^{2+} 的 MOF、ZIF-67 和 luminol-Ag NPs 来提高 luminol- H_2O_2 体系的 ECL 效率。由于

ZIF-67 的有序晶体结构、孔隙度和原子分散的 Co^{2+} , ZIF-67 可以促进 H_2O_2 的还原, 生成更多的活性氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$), 从而导致明显的 ECL 增强。ZIF-67 的高表面积为 luminol-Ag NPs 提供了良好的支撑平台, 避免了 Ag NPs 的团聚。ZIF-67 和 Ag NPs 的联合使用导致鲁米诺 ECL 的显著增强(约 115 倍)。以 luminol-Ag NPs@ZIF-67 为传感平台, 对 ECL 免疫传感器实现了对急性心肌梗死标志物心肌钙蛋白 I(cTnI)的超灵敏检测, 检测限低至 0.58 fg mL^{-1} ($\text{S/N}=3$) (图 1-14)。

1.5 本论文的研究意义与内容

CL/ECL 的高灵敏度和稳定性在分析传感、环境监测、临床医学等领域得到了广泛应用。通常, 通过提高 CL/ECL 信号来保证检测具有较高的灵敏度和较低的检测限。然而, 仅仅依靠 CL/ECL 系统中发光分子自身的发光强度是远远不够的。因此, 在 CL/ECL 中引入共反应加速剂来形成更多的活性中间体, 从而实现获得较高的 CL/ECL 信号。MOF 由于其本身具有的高比表面积以及多孔结构的优势, 在 CL/ECL 系统中表现出更多的催化活性位点, 且其高度受限的孔隙率以及其受限的纳米级孔道可以为体系提供最佳的反应微环境并且增加了中间体自由基和共反应物的积累, 这使得 MOFs 在作为 CL/ECL 高性能的共反应加速剂方面存在巨大的潜力。因此, 我们基于 MOFs 的独特优势, 设计了一系列 CL/ECL 检测系统, 并研究了其在传感检测领域的应用。

(1)我们设计了 ZIF-67@MXene 纳米片复合材料, 其具有高导电性的面内结构和受限稳定的孔/通道, 作为高效的共反应加速剂, 在含有 luminol- H_2O_2 的 ECL 体系中实现了显著的信号增强。构建了用于前列腺特异性抗原(PSA)检测的“开关”免疫传感器。

(2)我们通过将 AIE 分子四苯乙烯原位封装到金属有机框架(NH_2 -MIL-88)中, 开发了一个高效的 ECL 传感平台。基于此开发了一种采用智能手机的自报告 AIECL 成像系统, 以实现心肌钙蛋白 I(cTnI)的超灵敏分析。同时, 利用深度学习算法, 开发了卷积神经网络模型来辅助 cTnI 的准确分析。

(3)我们通过构建原子铁(III)锚定的 PCN-224 过氧化物酶模拟纳米酶(PCN-224/Fe(III)), 设计了化学发光(CL)-荧光(FL)双模分析成像系统, 实现了尿酸(UA)的超灵敏检测。基于智能手机开发了一款采用 CL 成像的装置, 通过设计便携式纸基芯片实现 CL 的视觉检测。

第二章 基于高效共反应加速器 ZIF-67@MXene 与等离子纳米酶探针的超灵敏电化学发光生物传感器

2.1 引言

电化学发光(ECL)集电化学和化学发光的优点于一身,具有灵敏度高、效率高、背景信号小等优势,被认为是一种非常有前途的临床应用检测技术^[91-96]。其中,电化学发光显微镜(ECLM)更是能实现在单分子水平上进行分析和检测^[97,98]。ECL 的性能受发光体的影响很大,因为发光体的氧化或还原会产生激发态的自由基,而这些激发态的自由基则决定了整个体系的发光强度。作为一种经典的 ECL 发射体,鲁米诺及其衍生物由于它们的高量子产率、微调光学特性和无毒性^[99]等特点,被视为优异的 ECL 发射体。尽管鲁米诺的 ECL 效率已经很高,但经典的 luminol-H₂O₂ 体系的强 ECL 信号在很大程度上仍然取决于共反应加速器。共反应加速器能加快共反应物形成更多活性自由基,促进 luminol 的氧化,从而实现 ECL 信号的放大。一般来说,共反应加速器是催化共反应物解离的特定材料^[100,101]。因此,迄今为止,在实际应用中仍迫切需要开发先进的共反应加速器和信号传导途径,以便对目标物进行痕量分析^[102-105]。

近年来,金属有机框架(MOF)以其受限稳定的孔/通道结构和高比表面积的优势,在 ECL 的应用中引起了广泛关注^[106,107]。由于 MOF 高度受限的孔隙率以及其受限的纳米级孔道可以为体系提供最佳的反应微环境,因此整个体系的 ECL 强度得以提升。具体而言,受限且一致的多孔结构增加了中间体自由基和共反应剂的积累,从而促进了电子/质子的转移^[108,109]。然而,由于本征 MOF 的导电性受限和金属活性位点有限,严重阻碍了它们作为共反应加速器的性能^[110,111]。此外,MOF 基共反应加速器上活性氧(ROS)产生的机制仍有待探究。因此,寻找具有优异催化活性的 MOF 基共反应加速器以及探究其反应机制迫在眉睫。

MXene 是通过刻蚀掉 Ti₃AlC₂ 上的 Al 后分层得到的一种新型的二维导电功能材料。自 2011 年首次报道以来,其应用范围迅速扩大^[112]。得益于其独特的平面内各向异性结构和费米能级的高态密度, MXene 表现出优异的金属导电性和催化活性。此外, Ti₃C₂ MXene 具有许多官能团(-OH、-COOH、-F 等),可与其他材料发生强相互作用,从而促进 MOFs/MXenes 杂化物的开发^[113]。通过原位杂化将 MXene 与 MOFs 整合在一起,所得的 MOFs/MXene 复合材料有望增加更多可用的金属活性位点以及显示出更强的电导率,最终通过协同催化的方法提高 ECL 的效率^[114]。然而,目前尚未有报道在 ECL 系统中使用 MOFs/MXene 杂化物作为 luminol-H₂O₂ 的共反应加速器来实现信号放大。此外,各种材料界面的热力学行为尚不清楚,迫切需要进一步探究。

我们采用原位衍生法制备了一种新型的 ZIF-67@MXene 纳米片作为共反应加速器。与本征的 ZIF-67 催化剂相比,原位嵌入的 MXene 纳米片提供了丰富的导电网络以增强体系材料的电导率。ZIF-67@MXene 独特的面内各向异性结构和受限稳定的孔道结构为体系提供了最佳的反应微环境和短扩散途径,从而有利于离子、电子和共反应物的扩散,这反过来又促进了更多接枝鲁米诺分子的电化学活化。由于 MXene 和 ZIF-67 的协同催化所产生的 $\bullet\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$ 具有更好的稳定性和更低吸附能,ZIF-67@MXene 上优先选择生成 $\bullet\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$,从而显著增强鲁米诺的 ECL 活性,进而使 ECL 效率显著提高,最高可达 830%。此外,通过设计智能等离子体纳米酶探针($\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$),本文构建了一种“开-关”型 ECL 免疫测定体系。以前列腺特异性抗原(PSA)为典型靶抗原,线性检测范围扩大了三个数量级。由 ZIF-67@MXene 共反应加速器和等离子体 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 纳米酶协同作用实现的“开-关”型 ECL 系统被证明是一种高效的超灵敏免疫测定方法。

2.2 实验部分

2.2.1 实验试剂

表 2-1 主要的实验药品和试剂

药品名称	纯度	生产厂家
硝酸钴	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
碳钛化铝	AR	国药集团化学试剂有限公司
氟化锂	AR	国药集团化学试剂有限公司
聚乙烯吡咯烷酮	Mw 58000	阿拉丁试剂(上海)有限公司
2-甲基咪唑	AR	国药集团化学试剂有限公司
三氯化铁·六水	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
2-氨基对苯二甲酸	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
醋酸钨	AR	国药集团化学试剂有限公司
鲁米诺	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
磷酸氢二钠·十二水	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司

续表 2-1 主要的实验药品和试剂

药品名称	纯度	生产厂家
磷酸二氢钠·二水	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
牛血清白蛋白(BSA)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
前列腺癌(PSA)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
癌胚抗原(CEA)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
甲胎蛋白(AFP)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
小鼠免疫单克隆抗体 (Anti-KLK3)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
小鼠免疫多克隆抗体 (Anti-KLK3)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
超纯水(H ₂ O)	——	实验室自制

2.2.2 实验仪器

表 2-2 主要的实验仪器

仪器名称	仪器型号	生产厂家
恒温鼓风干燥器	DHG-9036A	上海精宏实验设备有限公司
智能磁力搅拌器	ZNCL-BS	巩义市予华仪器有限责任公司
电子天平	BSA124S	赛多利斯科学仪器有限公司
超纯水机	Smart-S15	上海和泰仪器有限公司
扫描电子显微镜	S-4800	日本 Hitachi 公司
透射电子显微镜	TalosF200x	美国 Thermo Fisher Scientific
X-射线衍射仪	D8 ADVANCE	德国布鲁克林
X-射线光电子能谱仪	ESCALAB	美国 Thermo Fisher Scientific
电子顺磁共振波谱仪	Bruker EMXplus	德国布鲁克公司

2.2.3 ZIF-67@MXene 异质结构的合成

将 Ti_3AlC_2 刻蚀后分层获得 MXene。具体的，将 Ti_3AlC_2 (1 g) 滴入含有 LiF (2 g) 的盐酸 (HCl) 溶液 (20 mL) 中，然后在 45 °C 下搅拌 40 小时。之后，分别用盐酸和超纯水洗涤所得悬浮液。将收集的多层 Ti_3C_2 在氩气中超声 2 小时，收集上层 MXene 胶体，然后冷冻干燥以形成粉末。

ZIF-67@MXene 是通过在 MXene 纳米片上原位生长 MOF 纳米粒子制备的。通常，将获得的 MXene (10 mL, 5 mg mL⁻¹) 和 PVP 的甲醇溶液 (20 mL, 4 mg mL⁻¹) 超声混合 10 分钟。接下来，将 20 mL $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1 g) 的甲醇溶液和 20 mL 2-甲基咪唑 (0.23 g) 的甲醇溶液混合并搅拌 1 小时。最后，用甲醇洗涤沉淀并用冷冻干燥法收集。

2.2.4 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd-Ab}_2$ 生物探针的制备

根据已有的报道并进行了一些修改^[115]。通常，将 $\text{NH}_2\text{-BDC}$ (0.2507 g) 和 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.3740 g) 加入 30 mL DMF 中，搅拌 2 h。然后将混合物在高压反应釜中 120 °C 下加热 20 h。冷却至室温后，离心洗涤。将醋酸钯 (0.0084 g) 加入甲醇 (75 mL) 中，在油浴 (30 °C) 中搅拌 15 min。然后将制备好的 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 分散到溶液中，继续搅拌 30 min 后离心收集 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 。最后，将 10 mg 的 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 和 250 μL 戊二醛 (5%) 加入 10 mL 的 PBS (pH=7.4, 10 mM) 中，4 °C 下混合 1 h，离心后将沉淀分散于 2 mL 含有 Ab_2 (10⁻⁵ g mL⁻¹) 的 PBS (pH=7.4, 10 mM) 中离心，最后将所得 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd-Ab}_2$ 分散于 PBS 溶液中。

2.2.5 构建 ECL 传感系统

将 ZIF-67@MXene (20 mg) 和 APTMS (0.5 mL) 加入 20 mL 乙醇中，在 75 °C 下反应 12 h，以获得氨基功能化的 ZIF-67@MXene。然后，将氨基功能化的 ZIF-67@MXene (8 μL) 覆盖在清洁的 ITO 玻璃上并干燥。随后，将戊二醛 (5%, 8 μL) 和 Ab_1 (8 μL , 10⁻⁵ g mL⁻¹) 分别加入到修饰电极中，并在 4 °C 下孵育 1 h。用 PBS 溶液 (pH=7.4, 10 mM) 洗涤后，将牛血清白蛋白 (BSA, 1%, 8 μL) 加入电极并孵育 30 min 以封闭非特异性位点。用 PBS 溶液 (pH=7.4, 10 mM) 清洗后，将不同浓度的 PSA 滴加到电极上，室温下干燥 1 h，用 PBS 溶液清洗去除未结合的 PSA。最后将修饰电极与 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd-Ab}_2$ (8 μL) 反应 1 h，再用 PBS 溶液冲洗。

2.2.6 电化学发光性能测试

ECL 实验均在含有鲁米诺(100 μM)和 H_2O_2 (10 mM)的 PBS(pH=9.0, 0.1 M)中进行。电压范围设定为 0--1.2V。考虑到实验结果的准确性和可重复性,检测过程中以第 3 个循环的 ECL 强度为标准。整个研究工作的误差线来自 5 组实验的结果。

2.3 结果与讨论

2.3.1 ZIF-67@MXene 共反应加速剂合成与表征

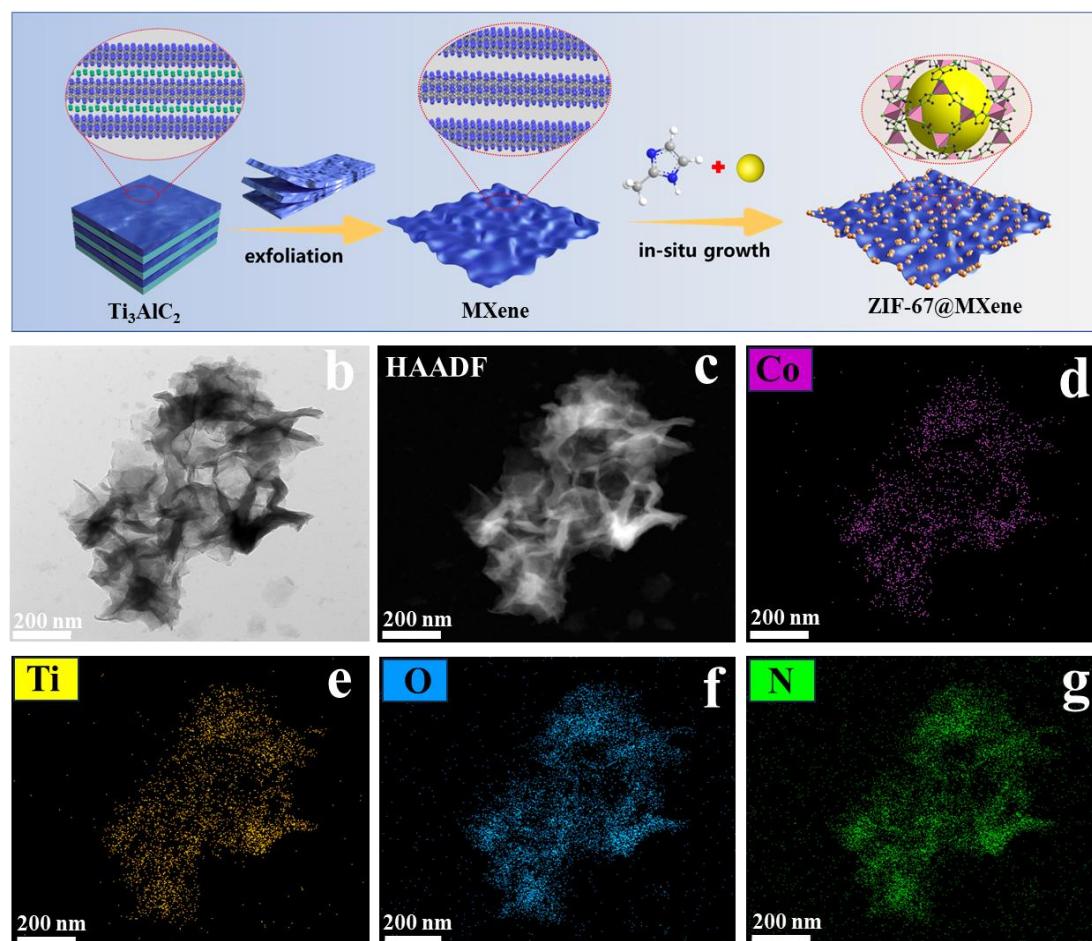


图 2-1 (a)合成 ZIF-67@MXene 的示意图。(b) TEM, (c) HAADF, (d-g) ZIF-67@MXene 的元素映射图。

Figure 2-1 (a) Schematic diagram for synthesizing ZIF-67@MXene. (b) TEM, (c) HAADF, (d-g) Elemental mapping of ZIF-67@MXene.

我们通过使用 LiF/HCl 去除 Ti_3AlC_2 MAX 相中的 Al 层,然后在氩气的保护下剥离多层 Ti_3C_2 ,制备出高质量的 Ti_3C_2 MXene 纳米片。考虑到 MXene 上

存在带负电荷的表面,金属阳离子可以通过静电相互作用灵活地吸附到这些位置上。因此,只需混合前驱体溶液即可在 MXene 纳米片上原位生长 ZIF-67(图 2-1a)。由于 ZIF-67 的成核和 Co^{2+} 的醇解, ZIF-67 在 MXene 表面均匀生长并融合^[116]。TEM 图像和相应的元素映射证实了 Co、N、O 和 Ti 的存在和均匀分布,这证明了 ZIF-67 在 MXene 上均匀的分布(图 2-1 b-g)。

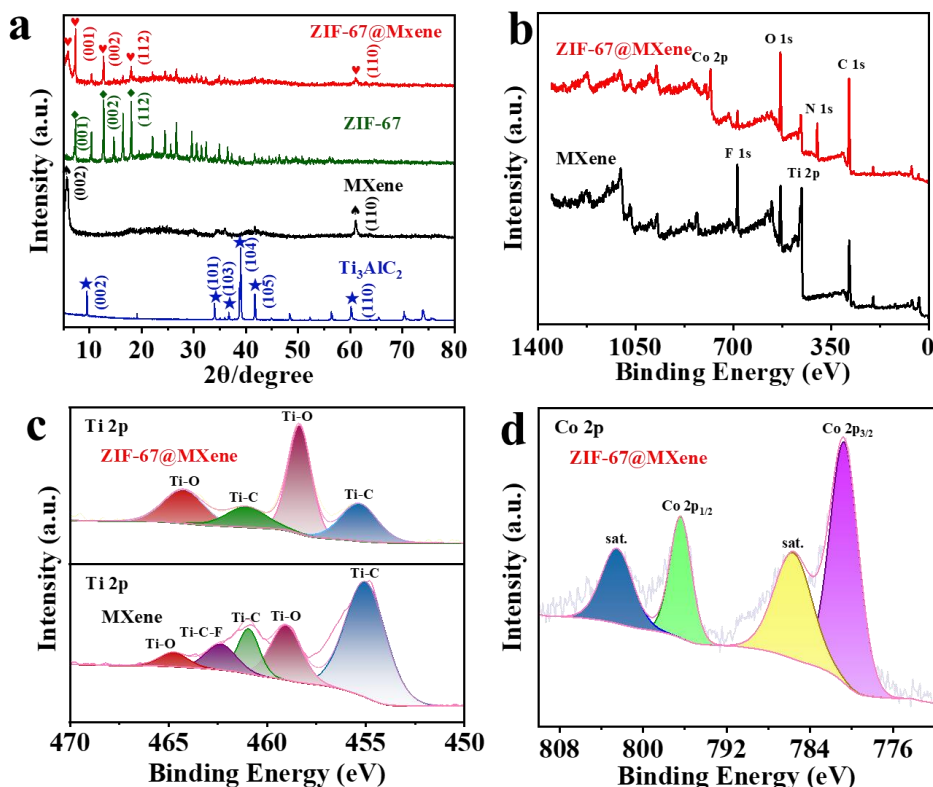


图 2-2 (a) MXene、ZIF-67 和 ZIF-67@MXene 的 XRD 图。(b)样品的全扫描 XPS 光谱、(c) Ti 、(d) Co 的高分辨率 XPS 光谱。

Figure 2-2 (a) XRD patterns of MXene, ZIF-67, and ZIF-67@MXene. (b) Full XPS spectra, high-resolution XPS spectra of (c)Ti, (d) Co of the samples.

随后,我们进一步用 XRD 测定了 ZIF-67、MXene 和 ZIF-67@MXene 的结构和成分(图 2-2a)。经过插层处理后, $\text{Ti}_3\text{AlC}_2(2\theta \sim 38^\circ)$ 的(104)晶面消失,这表明形成了层状 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$, ZIF-67@MXene, ZIF-67 和 MXene 的主要衍射峰得以保留,表明 ZIF-67@MXene 制备成功^[117]。最后,我们用 X 射线光电能谱(XPS)表征了样品的化学状态和表面成分。ZIF-67@MXene 的全扫描光谱显示了 Co、Ti 和 N 元素,表明 MXene 和 ZIF-67 中的各种元素共存(图 2-2b)。在 Co 2p 光谱中(图 2-2c),以 796.4 和 780.8 eV 为中心的峰分别归属于 Co 2p_{1/2} 和 Co 2p_{3/2}。以 802.5 和 785.6 eV 为中心的卫星峰归属 Co 2p 的两个轨道。这些峰的结合能的一致性表明 Co 的化学状态在反应后保持不变^[118]。ZIF-67@MXene 中 Ti 2p 的高分辨率 XPS 光谱显示四个峰,结合能中心分别为 455.4、458.4、461.1 和 464.3 eV,

分别对应于 Ti-C $2p_{3/2}$ 、Ti-O $2p_{3/2}$ 、Ti-C $2p_{1/2}$ 和 Ti-O $2p_{1/2}$ (图 2-2d), 以上结果均表明 ZIF-67@MXene 已成功制备^[119]。

2.3.2 等离子体 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 纳米酶探针的合成及表征

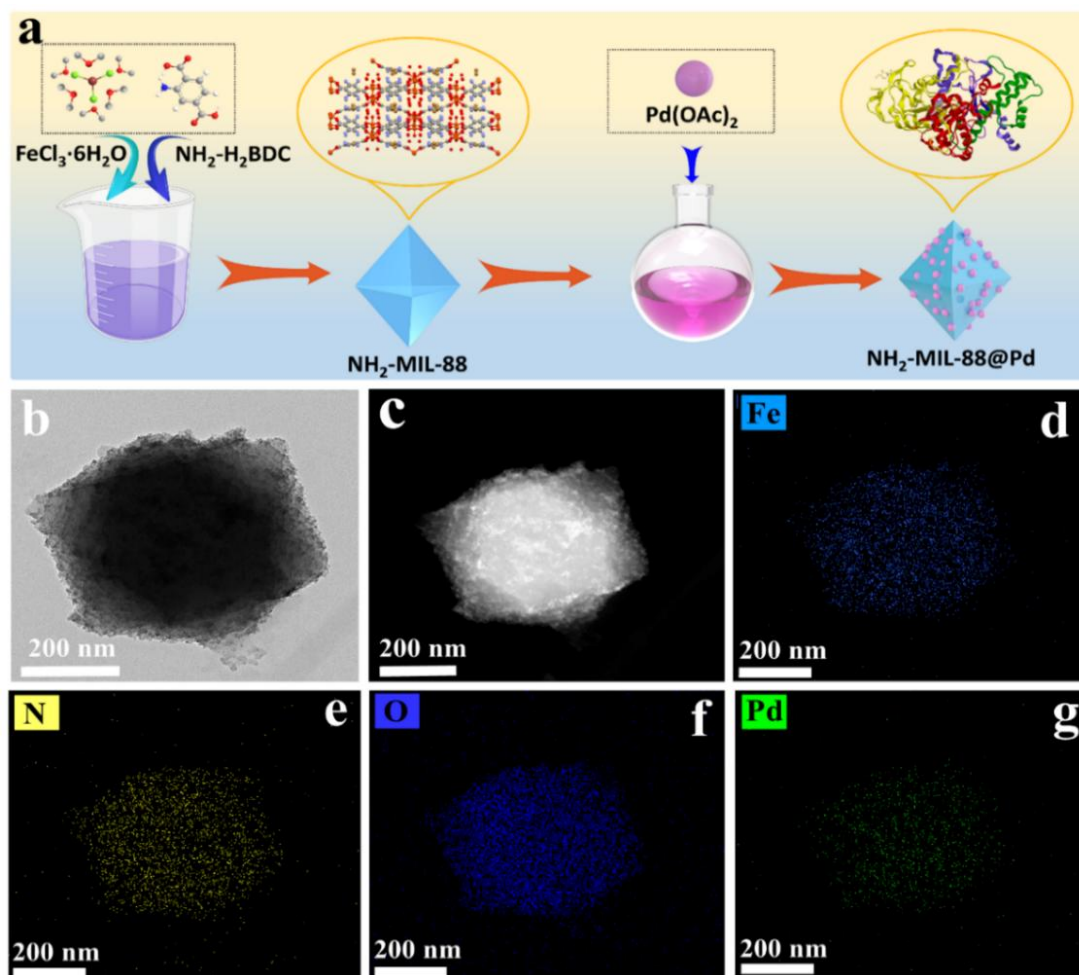


图 2-3 (a) $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 纳米酶探针制备过程示意图。(b) TEM, (c) HAADF, (d-g) $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 的元素映射图。

Figure 2-3 (a) Scheme of the preparation procedure of $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ nanozyme probe. (b) TEM, (c) HAADF, (d-g) Elemental mapping of $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$.

随后, 我们构建了一种新型高效等离子体纳米酶探针($\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$)作为 ECL 信号猝灭器 (图 2-3a), 并对其进行形貌和结构的表征。如图 2-3b 所示, 所合成的 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 等离子体纳米酶探针呈八面体结构, 粒径约为 350 nm。得益 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 良好限制的孔隙率和纳米限域效应, 醋酸钯前体可以保留在限制的孔隙内, 并通过“瓶中船”途径还原^[120]。最终, $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 成为 Pd 纳米粒子原位生长高分散的最佳载体, 这是提高纳米酶催化性能的关键因素。如图 2-3c 所示, 高角度环形暗场扫描透射电子显微镜(HAADF-STM)图像和元素映射 (图

2-3d-g) 显示 Pd 元素在 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 中均匀分布, 表明等离子体纳米酶探针 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 制备成功。最后, 我们通过 XRD 确认了 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 和 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 的晶体结构。如图 2-4a 所示, 主要衍射峰与 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 的模拟图很好地匹配。负载 Pd 纳米粒子后, 出现明显的(220)晶面, 这归属于 Pd 的专属峰, XRD 结果证实了 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 制备成功。然后, 我们利用氮气吸附-解吸等温线表征 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 的比表面积, 计算出 Brunauer-Emmett-Teller(BET)表面积为 $115 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$, 孔径约为 3–4 nm, 类属于微孔结构。为了研究 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 的类过氧化物酶特性, 我们用显色剂 TMB 研究了酶的催化活性和反应动力学。在底物浓度依赖下, 纳米酶符合典型的 Michaelis-Menten 方程, 表明 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 具有过氧化物酶样活性(图 2-4c)。此外, 空间分辨电磁(EM)场分布图 2-4d 所示, $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 表现出强烈 EM 场增强, 这源于 Pd 纳米粒子的局部表面等离子体共振(LSPR)。在 ECL 条件下, 这种增强的等离子体 EM 场预计会增强纳米酶的过氧化物酶活性并加速 H_2O_2 的消耗^[121,122]。

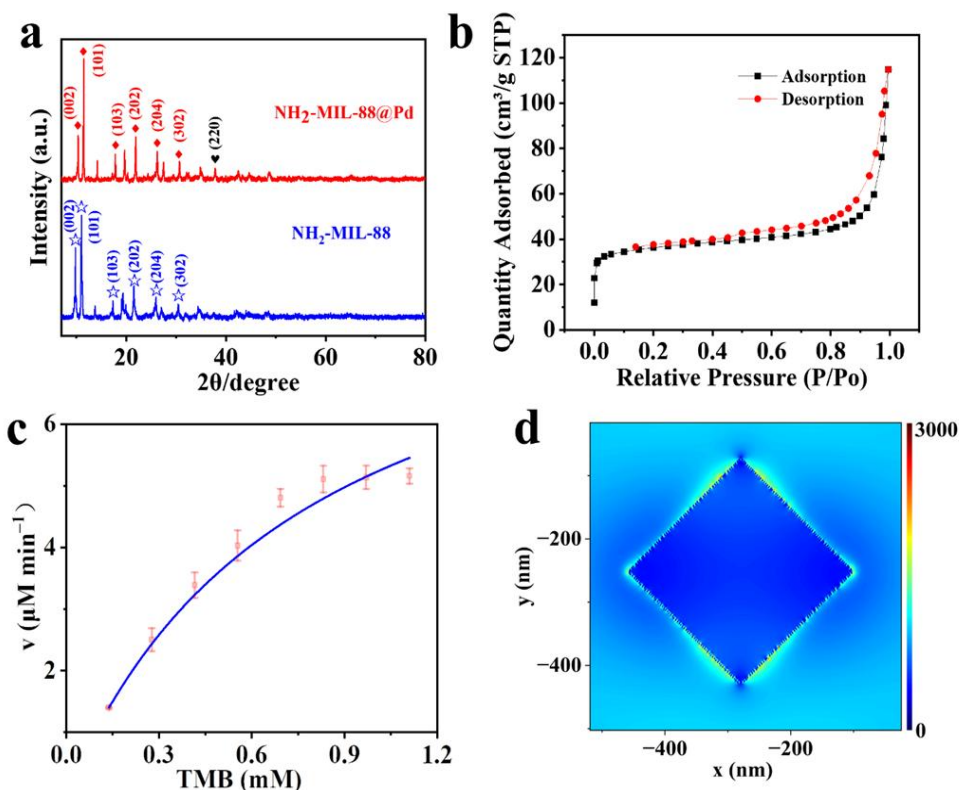


图 2-4 (a)样品的 XRD 图。(b) $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 的 BET 吸附曲线。(c)反应速率对 TMB 浓度的依赖性。(d) $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 的空间分辨电磁场分布。

Figure 2-4 (a) XRD spectra of the samples. (b) BET sorption curve of $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$. (c) The dependence of the reaction rate on the concentration of TMB. (d) The spatially resolved EM field distribution of $\text{NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$

2.3.3 ZIF-67@MXene 作为共反应促进剂对鲁米诺 ECL 性能的影响

为了研究 ZIF-67@MXene 的 ECL 放大机理, 在 0 – -1.2V 的电位范围内研究了不同电极上鲁米诺的 ECL 光谱和响应。如图 2-5b-c 所示, 由于 H_2O_2 分解产生的 ROS 数量有限, ITO 在鲁米诺中的 ECL 强度仅为 2090。相反, MXene、ZIF-67 和 ZIF-67@MXene 的 ECL 强度分别为 4313、5146 和 8609。图 2-5c 中出现两个峰, 子峰归因于阴极电位下 O_2 还原产生的 H_2O_2 或 $\text{ROS}^{[123]}$ 。在 5 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 中研究了 ZIF-67@MXene 的电化学性质。图 2-5a 显示了 ZIF-67 和 ZIF-67@MXene 的氧化电流与扫描速率平方根($v^{1/2}$)的关系图。基于 Randle-Sevcik 方程: $I = 2.69 \times 10^5 \times n^{3/2} \times A \times D^{1/2} \times c \times v^{1/2}$, 其中 n 是电子转移($n=1$), D 为扩散系数($7.6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), c 为 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液(5 mM)浓度, 计算得出 ZIF-67@MXene 的有效电化学面积为 7.8 mm^2 , 大于裸 ITO(6.2 mm^2)和 ZIF-67(3.5 mm^2)。这些结果表明, 平面内各向异性 MXene 的加入可以有效提高 ZIF-67 的电导率并加速电子转移, 从而为实现信号放大提供了较大的有效电化学面积。为了确定发射光子与注入电子的比率, 随后根据循环伏安曲线和 ECL 强度测量了的 ECL 量子效率(Φ_{ECL}), 如图 2-5b, 以 ZIF-67@MXene 为共反应加速剂, 鲁米诺的最高 ECL 效率提升了 830%。这一发现表明 MXene 和 ZIF-67 均可显著加速 H_2O_2 的分解, 从而产生大量的 ROS, 进而放大 ECL 信号。

为了探索信号放大机制, 我们利用不同自由基清除剂来探索 ECL 性能研究。通常, 异丙醇(IPA)、色氨酸(Trp)和对苯醌(PBQ) 常分别用作 $\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除剂。为了深入了解 ZIF-67 与 MXene 催化行为的差异, 基于 DFT 计算获得了 ROS 在 ZIF-67 和 MXene 模型上的几何结构和吸附能。如图 2-5d 所示, $\cdot\text{OH}$ 自由基在 ZIF-67 上的吸附能为 $-36.49 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, 与 $^1\text{O}_2$ ($-31.83 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ ($-27.34 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) 相比, 是所有材料中最低的。这些数据表明 $\cdot\text{OH}$ 自由基在活性中心 Co^{2+} 上更稳定, 进一步证实了 $\cdot\text{OH}$ 在 ZIF-67 上更容易转化和更容易生成。相反, 由于 $^1\text{O}_2$ 的吸收能量 ($-36.49 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) 远低于 $\text{O}_2^{\cdot-}$ ($-57.45 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) 和 $\cdot\text{OH}$ ($-66.86 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), 因此, 在 MXene 上更容易形成 $^1\text{O}_2$ (图 2-5e)。值得注意的是, 在 ZIF-67 和 MXene 的协同作用下, 鲁米诺在 ZIF-67@MXene 上的 ECL 强度显著增强, 在 IPA 和 PBQ 存在下显著降低 (图 2-5f), 表明 $\cdot\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$ 迅速优先生成, 从而与鲁米诺先进行反应。EPR 实验结果 (图 2-5g-i) 进一步证实了这一发现。在 ZIF-67@MXene- H_2O_2 体系中, 可以清晰检测到与活性中间体 (包括羟基自由基和超氧化物自由基) 相关的独特峰。相反, $\text{DMPO-O}_2^{\cdot-}$ 的峰强度明显较弱, 这归因于其在 ZIF-67 和 MXene 上的高吸附能。这些发现为 MXene 和 ZIF-67 在促进羟基自由基和单线态氧自由基高效生产方面的协同作用提供了有

力证据。此外，平面内各向异性 MXene 和 ZIF-67 受限稳定的孔/通道结构的结合可能同时产生优越的导电网络和理想的反应微环境，从而促进离子、电子和共反应物的扩散，而这反过来又提高了更多接枝鲁米诺的电化学活化能力。

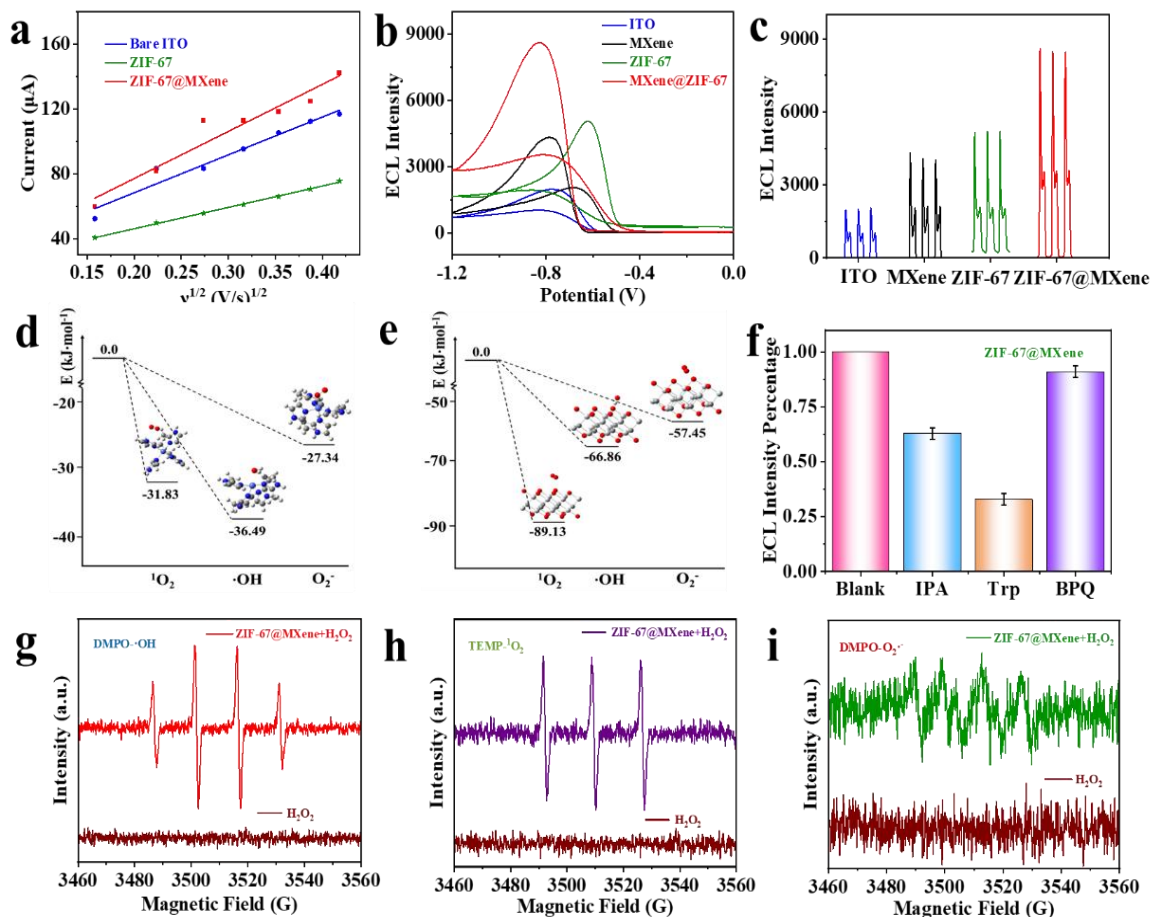
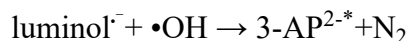
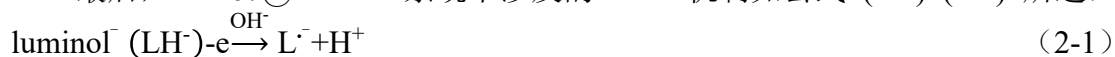


图 2-5 (a)峰电流与扫描速率平方根($v^{1/2}$)的关系图。(b)使用 ZIF-67、MXene 和 ZIF-67@MXene 作为共反应加速剂时鲁米诺的 ECL 强度与电位曲线。(c)使用 ZIF-67、MXene 和 ZIF-67@MXene 作为共反应加速剂时鲁米诺的 ECL-时间曲线。ZIF-67(d)和(e)MXene 上吸附 ROS 的能量变化。(f)添加各种自由基清除剂后鲁米诺的 ECL 强度。使用不同共反应加速剂时(g)•OH、(h) $^1\text{O}_2$ 和(i) $\text{O}_2^{\bullet-}$ 的 EPR 光谱。

Figure 2-5 (a) Plots of peak current vs. square root of scan rate ($v^{1/2}$). (b) The ECL intensity vs. potential curves of luminol by using ZIF-67, MXene, and ZIF-67@MXene as the coreaction accelerators. (c) ECL-time curves of luminol with ZIF-67, MXene and ZIF-67@MXene as co-reaction accelerators. Energy variations of the adsorbed ROS on ZIF-67 (d) and (e) MXene. (f) The ECL intensities of luminol with the addition of various radical scavengers. EPR spectra of (g) $\bullet\text{OH}$, (h) $^1\text{O}_2$, and (i) $\text{O}_2^{\bullet-}$ with different co-reaction accelerators.

最后, ZIF-67@MXene 系统中涉及的 ECL 机制如公式 (2-1)–(2-4) 所述:



2.3.4 PSA 检测的性能分析

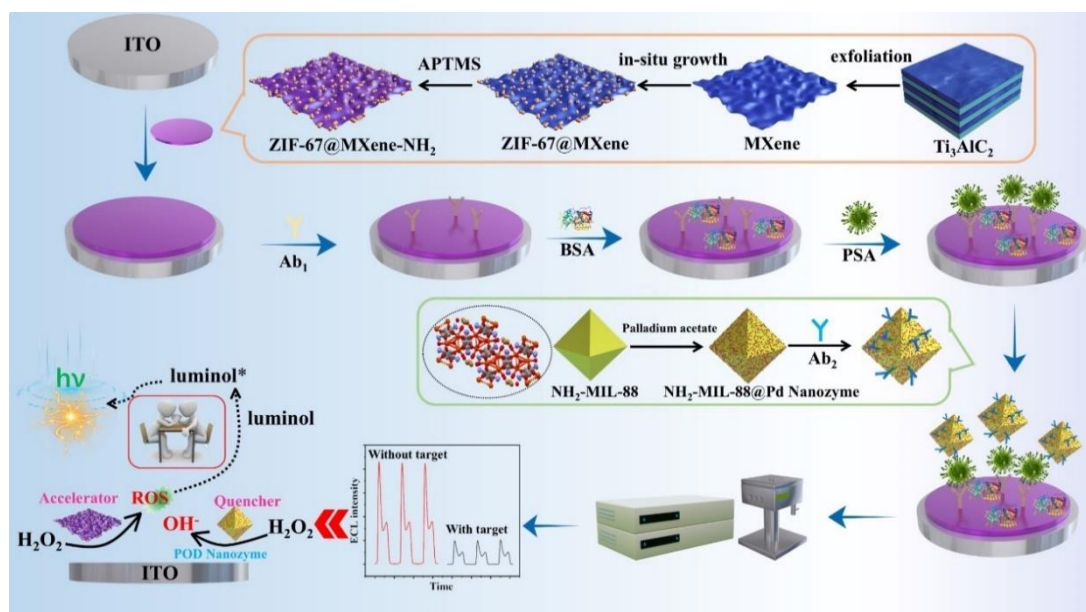


图 2-6 高效共反应加速器与纳米酶猝灭传感器协同作用 ECL 免疫分析示意图。

Figure 2-6 Schematic illustration of the ECL immunoassay assisted with the synergy of highly efficient co-reaction accelerator and nanzyme-based quenching transducer.

前列腺癌是男性多发性恶性肿瘤, 其中 PSA 是检测前列腺癌的敏感指标。为了建立准确、灵敏的 PSA 超灵敏检测方法, 构建了一种“开-关”免疫传感器, 如图 2-6 所示, 采用电化学阻抗谱(EIS)监测免疫传感器的组装过程。随着抗原和抗体的修饰, 由于蛋白质的绝缘特性, 电极的电荷转移电阻逐渐增加, 当 $\text{Ab}_2\text{-NH}_2\text{-MIL-88@Pd}$ 识别后, 由于等离子体纳米探针的良好导电性, 电阻降低 (图 2-7a)。在最佳实验条件下, 研究了 ECL 免疫分析性能。如图 2-7b 所示, ECL 强度随 PSA 的增加而降低。ECL 强度与 PSA 浓度 (10^{-12} – 10^{-6} g mL $^{-1}$) 的对数呈现出良好的关系 (图 2-7c)。线性方程为 $I = -1022.16 \log C - 6140.62$ ($R^2 = 0.998$), 检测限(LOD)为 9.1×10^{-13} g mL $^{-1}$ ($S/N = 3$)。由于健康男性血清中 PSA 的浓度在 0–4 ng mL $^{-1}$ 之间, 因此对于超灵敏的 PSA 检测, 校准曲线范围是合理的。此外, 所使用的五个独立电极表现出稳定的 ECL 信号, 相对标准偏差(RSD)为 2.7%,

表明免疫测定具有良好的重现性（图 2-7d）。此外，每个生物传感器都显示出稳定的 ECL 强度，表明构建的免疫传感器具有良好的稳定性（图 2-7f）。如图 2-7e 所示，在 AFP(10^{-8} g mL $^{-1}$)、BSA(10^{-8} g mL $^{-1}$)和 CEA(10^{-8} g mL $^{-1}$)存在下，PSA(10^{-9} g mL $^{-1}$)的 ECL 信号没有显著变化，表明免疫传感器具有良好的特异性和抗干扰能力。

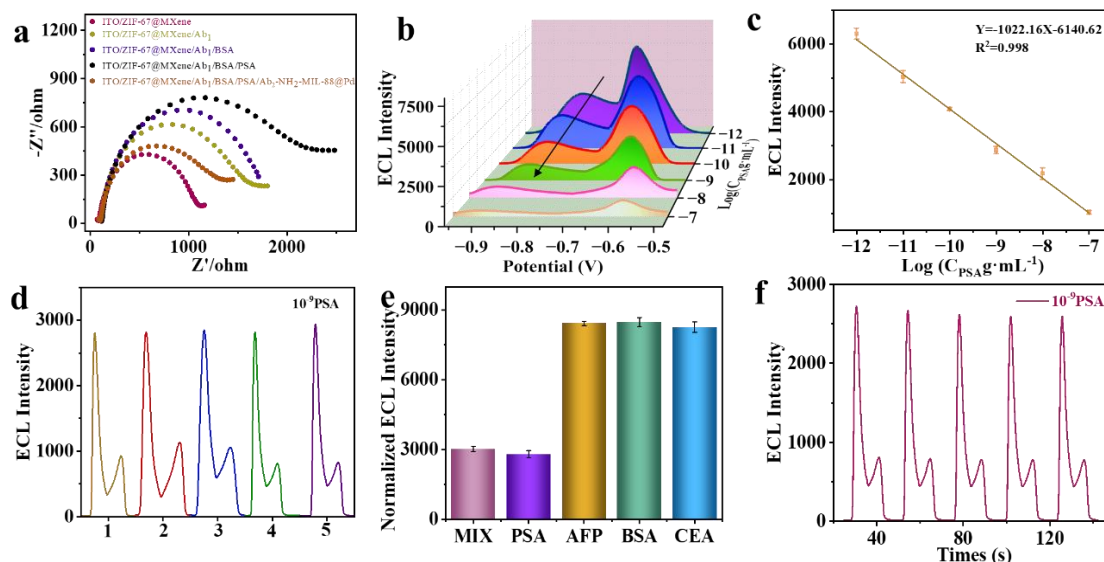


图 2-7 (a)逐步修饰电极的电化学阻抗。不同浓度 PSA 的 ECL 强度(b)和相应的线性关系曲线(c), (d)免疫传感器的重现性, (e)特异性, (f)稳定性。

Figure 2-7 (a) EIS of the progressively modified electrodes. ECL Intensity (b) and corresponding linearity curve (c) of immunosensor PSA detection, (d) reproducibilities of the immunosensor, (e) specificities, (f) stabilities.

2.4 本章小结

本研究首次合成了 ZIF-67@MXene 作为高效共反应加速器，实现了 luminol-H₂O₂ 体系的阴极 ECL 显著增强。由于高导电面内结构和多个金属活性位点，ZIF-67@MXene 对 H₂O₂ 表现出很强的电催化活性，导致大量 ROS 的快速同时产生，从而增强了基于鲁米诺的 ECL 信号。此外，深入研究了增强机理，发现由于 $\cdot\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$ 的稳定高效吸收，ZIF-67@MXene 可以选择性地优先生成 $\cdot\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$ ，从而显著提高鲁米诺的 ECL 效率。最后，构建了一种“开-关”开关免疫传感器，并成功实现了对 PSA 的超灵敏检测。该工作为高效共反应加速器的制备提供了新途径，为超灵敏检测平台的设计提供了理论指导。

第三章 纳米限域增强聚集诱导电化学发光技术用于智能手机成像的 cTnI 分析

3.1 引言

电化学发光(ECL)是通过电化学激发在电极表面诱导的光发射现象^[44, 124]。由于其独特的优势,例如出色的可控性、低背景和高灵敏度,因此在免疫测定中被广泛使用于生物标志物检测^[125, 126]。近年来,聚集诱导电化学发光(AIECL)引起了广泛的关注。AIECL 材料的加入有效地解决了传统发光材料中观察到的聚集诱导猝灭(ACQ)问题^[57, 127, 128]。通常,当聚集诱导的发射(AIE)材料在较差的溶剂中自发聚集或它们的分子运动受到限制,表现出明显的 AIE 信号。此外, AIE 材料具有优异的化学稳定性、良好的生物相容性,有利于快速现场分析、长期储存和生物过程追踪等^[129-131]。

为了提高 AIECL 的发光效率, AIECL 通常被设计成共反应剂型,其中共反应物被共反应加速器催化成活性中间体,并与 AIE 发光团反应产生激发态,从而提高发射效率和量级^[132, 133]。然而,由于在 AIECL 系统中, AIE 与共反应加速器的结合面临一些挑战,传统的 AIE 发光团通常在空间上与共反应加速器分离,甚至没有共反应促进剂的作用。由于有限的 ECL 反应界面和共反应自由基的短寿命, AIECL 体系仍然存在传质限制和传感接口界面巨大的能量损失等问题,导致发光强度较低^[134]。因此,解决共反应物的利用不足是提高 AIECL 系统发光效率的关键。

MOFs 是典型的晶体多孔材料,具有高度有序的拓扑结构以及空间纳米限域的孔结构、原子分散的金属活性位点和灵活的配位组装特性,为 AIE 分子提供了一个通用的、可修饰的组装基质,从而提高了 AIE 分子的利用率和发光效率^[135, 136]。受限且稳定的孔/通道结构通过空间约束促进了电解液和共反应物在临界面的快速扩散和全面渗透^[137, 138]。纳米限域效应可以改变客体离子/分子与反应表面之间的相互作用,从而改变各种氧化还原反应的动力学,重新解释了表面/界面化学反应和过程^[139, 140]。此外, MOFs 中的中心金属离子提供了丰富的原子分散活性位点,从而通过自催化过程增强共反应物的活性。AIE 聚集嵌入原子分散的共反应加速器形成的 AIE-MOF 系统,加上在纳米密闭空间内局部放大共反应物,为 ECL 信号增强提供了一种潜在且有效的增强策略。到目前为止,大多数研究主要集中在 AIE 活性配体的设计和 AIE 功能化 MOF 发光基团的开发上^[141, 142]。这种研究方法经常遇到挑战,包括复杂的合成程序、严格的合成条件和低收率。此外,用于 MOF 构建的配位金属节点的可用性有限,可能导致共反应

物催化活性低,从而导致 AIE 材料的发光效率降低^[143,144]。迄今为止,还没有文献研究关于 AIE 发光团与自催化 MOF 相结合。在形成的 AIE-MOF 复合物内的协同催化机制和途径仍然知之甚少。此外,尚未报告基于 AIECL 的高级成像和分析系统(POCT)应用程序。

因此,我们制备了一种集成的 AIECL 纳米复合材料: $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 。它是由四苯基乙烯(TPE)原位包封 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 中合成的。在这个的结构中, $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 纳米复合材料被认为是一个有效的纳米限域反应器,其中原子分散的 Fe 活性位点原位催化 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 成 RS 并且直接在其各个内部纳米通道内与 TPE 反应。这种结构设计大大缩短了迁移距离,并提高了 RS 在 ECL 反应中的利用效率。与体相的行为和反应途径相比, $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 良好的孔/通道结构也改变了客体离子/分子与反应表面的相互作用,从而具有较高的传质能力和较低的反应活化障碍,加快了氧化还原反应的活性和动力学。最后,采用脂质体介导的信号放大策略构建三明治型 AIECL 免疫传感器。在三明治免疫识别后,通过用 Triton X-100 裂解释放了包裹在脂质体内的金纳米颗粒(Au NPs)。该释放启动了 AIE 材料和 Au NPs 之间的能量共振转移,从而导致 ECL 信号的淬灭。此外,通过采用 3D 打印技术和便携式电化学工作站,开发了新型的智能手机适配的 AIECL 成像系统。该系统利用微控制器与基于 Matlab 的图像增强技术,实现了 cTnI 的高灵敏检测。在深度学习的帮助下,本文开发了一种卷积神经网络(CNN)算法,以对 cTnI 水平进行精准分析。据我们所知,这是关于智能手机适配的 AIECL 成像系统的首次报道。这一研究在 POCT 生物传感器发展和 cTnI 便携筛查上存在巨大潜力。

3.2.1 实验试剂

表 3-1 主要的实验药品和试剂

药品名称	纯度	生产厂家
四苯乙烯	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
三氯化铁·六水	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
2-氨基对苯二甲酸	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
聚乙烯吡咯烷酮	Mw 58000	阿拉丁试剂(上海)有限公司
DPPC	AR	艾伟拓(上海)医药科技有限公司
DPPE	AR	艾伟拓(上海)医药科技有限公司

续表 3-1 主要的实验药品和试剂

药品名称	纯度	生产厂家
DPPG	AR	艾伟拓(上海)医药科技有限公司
过硫酸钾	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
磷酸氢二钠·十二水	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
磷酸二氢钠·二水	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
牛血清白蛋白(BSA)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
前列腺癌(PSA)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
癌胚抗原(CEA)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
甲胎蛋白(AFP)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
小鼠免疫单克隆抗体 (Anti-KLK3)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
小鼠免疫多克隆抗体 (Anti-KLK3)	——	上海生工生物工程技术服务有 限公司
超纯水(H ₂ O)	——	实验室自制

3.2.2 实验仪器

表 3-2 主要的实验仪器

仪器名称	仪器型号	生产厂家
恒温鼓风干燥器	DHG-9036A	上海精宏实验设备有限公司
智能磁力搅拌器	ZNCL-BS	巩义市予华仪器有限责 任公司
电子天平	BSA124S	赛多利斯科学仪器有限 公司
超纯水机	Smart-S15	上海和泰仪器有限公司
扫描电子显微镜	S-4800	日本 Hitachi 公司
透射电子显微镜	TalosF200x	美国 Thermo Fisher Scientific
X-射线衍射仪	D8 ADVANCE	德国布鲁克林
X-射线光电子能谱仪	ESCALAB	美国 Thermo Fisher Scientific
电子顺磁共振波谱仪	Bruker EMXplus	德国布鲁克公司

3.2.3 NH₂-MIL-88@TPE 的合成

将 0.125 g 的 NH₂-BDC 和 0.187 g 的 FeCl₃·6H₂O 溶解在 15 mL 的 DMF 中，其中含有 0.15 mM 的 TPE，并剧烈搅拌 2 h。

然后，将混合溶液转移到铁氟衬里的高压反应釜中，并在 120 °C 中加热 20 小时。冷却至室温后，通过离心将所得的棕色沉淀物与反应混合物分离，用 DMF 洗涤，然后溶解在 20 mL 的去离子水中。

3.2.4 Au NPs 的合成

首先，将 1 mL 的 HAuCl₄·3H₂O(1 %)添加到 100 mL 去离子水中，并强烈搅拌 1 分钟。然后将 1 mL 柠檬酸钠(1 %)与 HAuCl₄·3H₂O 溶液混合，并 1 分钟。最后，将 1 mL 的 NaBH₄(1 %)添加到上述溶液中并搅拌 5 分钟。将所得的 Au NP 储存在 4 °C 以供进一步使用。

3.2.5 Au NPs 包封脂质体的合成

将 7 mg 胆固醇、5 mg DPPE、14.7 mg DPPC 和 15 mg DPPG 分别溶于 12.8 mL 氯仿和 3.2 mL 甲醇中，超声溶解 10 min，45 °C 真空浓缩有机相制得脂质薄膜。

将 10 mL Au NPs 加入到水合物脂膜中过夜，然后将混合溶液分别用涡流和超声作用 10 min。最后，用聚碳酸酯过滤器对 Au NPs 包封脂质体(ANL)溶液进行过滤。

3.2.6 Ab₂- Au NPs 包封脂质体的合成

通过戊二醛耦合方法制备 Ab₂- Au NPs 封装的脂质体(AB₂-ANL)。具体来说，在 4 °C 时在 PBS(0.01 M, pH=7.4)中添加 500 μL ANL 溶液(5 %)，在 PBS(0.01 M, pH=7.4)中透析 12 小时以去除多余的戊二醛。最后，用戊二醛修饰的 AB₂(400 μL, 10⁻⁴ g·mL⁻¹)和 ANL 都在 4 °C 下储存在 0.01 M PBS(pH=7.4)中，以进一步使用。

3.2.7 ECL 传感系统的组装

简而言之，将上述 NH₂-MIL-88@TPE 溶液(2 mL)和戊二醛(1 mL, 5%)在 4 °C 下孵育 2 小时，然后将产物溶解为 2 mL 的 PBS(0.01 M, pH=7.4)中。然后在清洁的 GCE 上滴上醛基化的 NH₂-MIL-88@TPE(5 μL)并干燥。随后，将 Ab₁(5 μL, 10⁻⁵ g·mL⁻¹)修饰到电极中，并在 4 °C 下孵育 1 小时。用 PBS(0.01 M, pH=7.4)洗涤后，将牛血清白蛋白(BSA, 1%, 5 μL)在电极上滴在 4 °C 时，以阻断非特异性

位点。用 PBS 溶液洗涤后, 将不同浓度的 cTnI ($5 \mu\text{L}$) 滴加到电极上并在 4°C 下孵育 1 小时。用 PBS 溶液洗涤后, 将 $\text{Ab}_2\text{-ANL}$ 滴在电极上 1 h 时 4 h。

3.3 结果与讨论

3.3.1 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的合成和表征

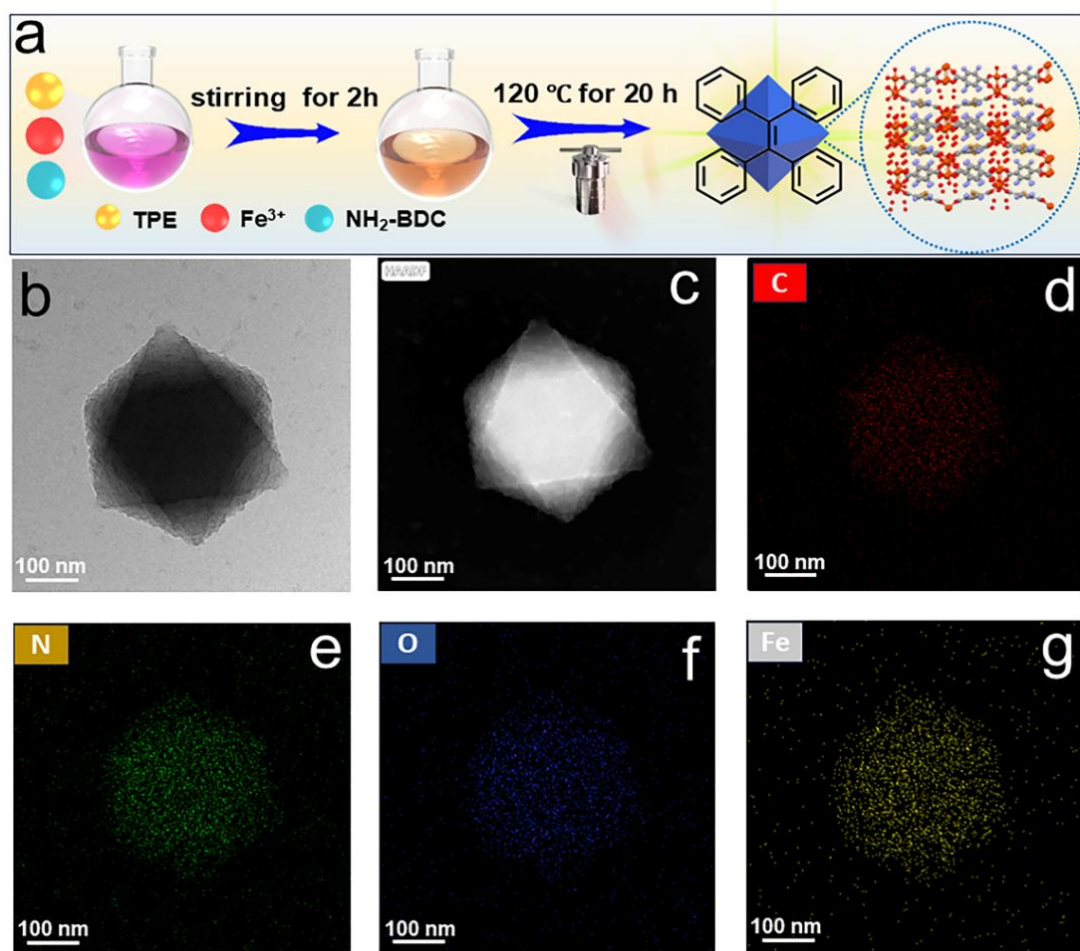


图 3-1 (a) $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的合成过程的方案图。(b)TEM, (c)HAADF, (d-g) $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的元素映射。

Figure 3-1. (a) Scheme diagram of the synthesis process of $\text{NH}_2\text{-MIL-88/TPE}$. (b) TEM, (c) HAADF, (d-g) elemental mapping of $\text{NH}_2\text{-MIL-88/TPE}$.

图 3-1a 显示了 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的合成过程。如图 3-1b 所示, TPE 的掺杂不会影响 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 八面体结构。高角度环形暗场(HAADF)图像(图 3-1c)和元素映射(图 3-1d-g)显示了元素 N、C、O 和 Fe 的均匀分布。

在晶体结构分析方面, 采用 X 射线衍射(XRD)分析了样品的晶体特征。如图 3-2a 所示, $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 的 XRD 图谱与标准 PDF 卡一致, 在 TPE 掺杂后, 并未影响 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 的八面体结构。同时, 使用 XPS 分析了对 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$

表面化学状态 (图 3-2b-d)。如图 3-2b 所示, $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的全扫描谱图确定了 Fe、O、N、C 元素的存在。与 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ (Fe 2p 为 711.5 eV, O 1s 为 532.3 eV) 相比, 在 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ (Fe 2p 为 711.9 eV, O 1s 为 532.5 eV) 中, Fe 2p 的结合能 (图 3-2c) 和 O 1s (图 3-2d) 有轻微的正偏移。表明由于 TPE 的掺杂, $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 与 TPE 之间发生了高能相互作用, 电子密度发生了变化。如图 3-2e 所示, 对 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 比表面积进行了表征, 计算结果为 $767.8516 \text{ m}^2/\text{g}$, 孔径为 2~3 nm。大的表面积和均匀的孔分布有利于反应物的扩散和提供纳米反应器。此外, 对材料进行了傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 分析。如图 3-2f, $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的 FT-IR 显示 TPE 和 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 的典型特征峰, 表明 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的成功合成^[145]。

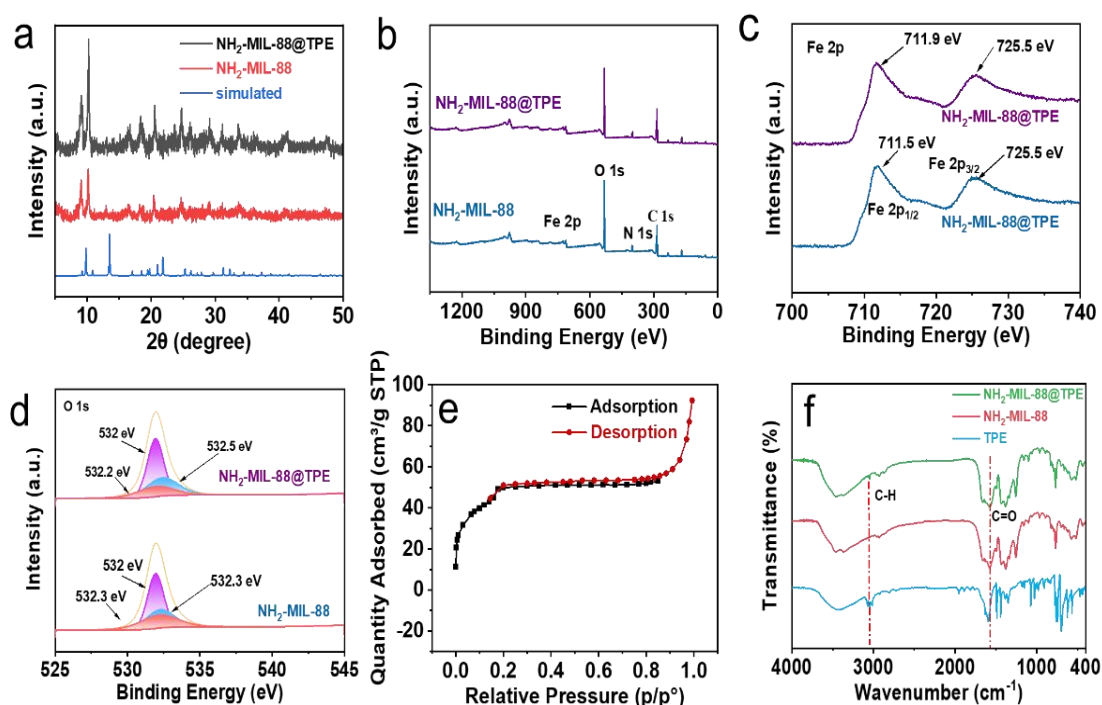


图 3-2 (a)XRD, (b) $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 和 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的全谱。(c)Fe 2p 和(d)O 1s 的高分辨率 XPS 光谱。(e) $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的 N_2 吸附-解吸等温线。插图: 孔径分布。(f)TPE, $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 和 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的傅立叶变换红外光谱。

Figure 3-2. (a) XRD, (b) the full scan spectra of $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ and $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$. The high-resolution XPS survey spectra of (c) Fe 2p and (d) O 1s. (e) the N_2 adsorption-desorption isotherms of $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$. Inset: pore size distributions. (f) Fourier transform infrared spectra of TPE, $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ and $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$.

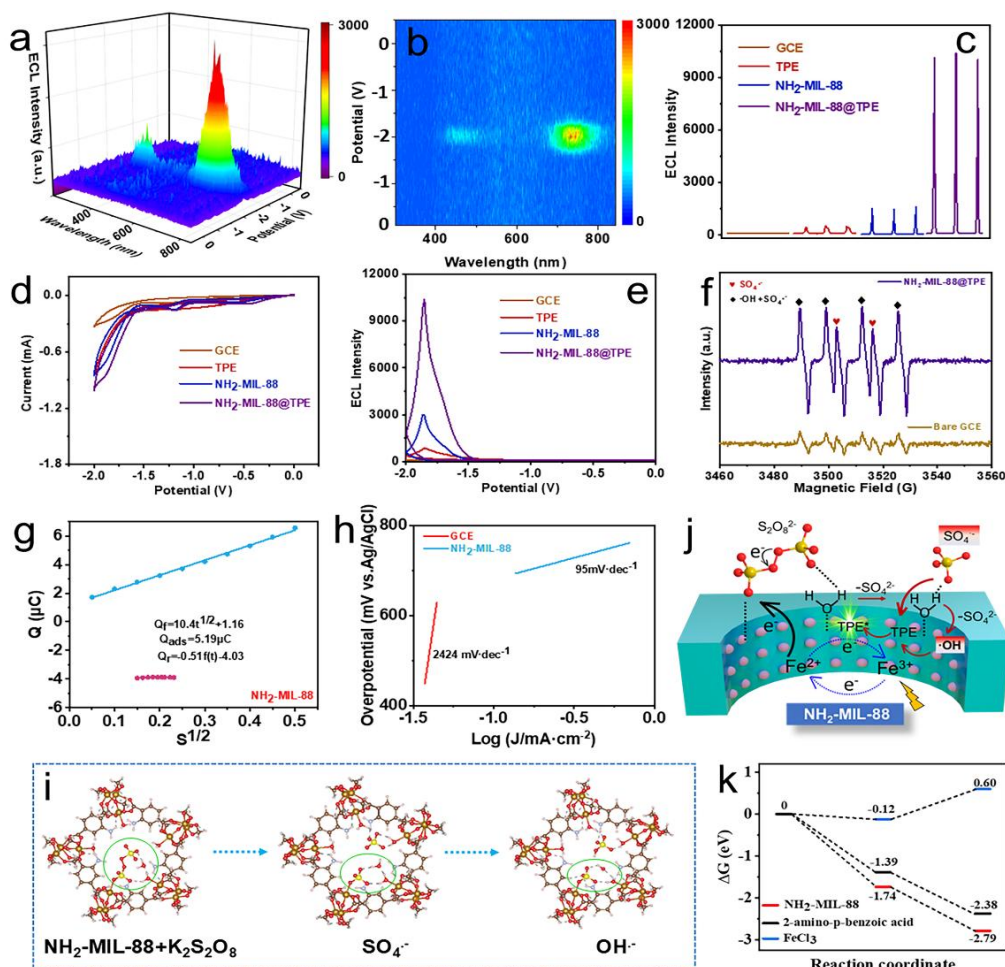
3.3.2 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的 ECL 行为研究

图 3-3 (a) $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 的三维 ECL 光谱图像。(b) $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 三维热图图像。(c) $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 存在时 GCE、裸 TPE、 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 和 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的 ECL。(d)不同材料修饰的电化学界面的 CV 曲线。(e)GCE、TPE、 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 和 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 的 ECL 强度曲线。(f)在 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 和二甲基-1-吡咯烷-N-氧化物(DMPO)存在下, GCE 和 $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ 作为工作电极的原位电 EPR 谱。(g) $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 在不同电极上的双电位阶跃计时测温曲线: $Q_f-t^{1/2}$ 和 $|Q_r|-f(t)$ 图, 脉冲宽度: 0.25s。(h)GCE 和 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 改性 GCE 在 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 溶液中的 Tafel 曲线。(i) 纳米受限 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 中的 AIECL 机制。(j-k)纳米受限 $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ 及其前驱体对 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 自由基的吸附模型和能垒。

Figure 3-3. (a) The 3D ECL spectral image of $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$. (b) 3D heat map image of $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$. (c) the ECL of GCE, bare TPE, $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ and $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ in the presence of $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$. (d) the CV curves of the electrochemical interfaces modified with various materials. (e) the potential-dependent ECL signal of GCE, bare TPE, $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ and $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$. (f) the in-situ electrical EPR spectra in the presence of $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ and Dimethyl-1-Pyrrolidine-N-oxide (DMPO) with GCE and $\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE}$ as work electrodes. (g) Double potential step chronocoulometry curves of $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ on different electrodes: $Q_f-t^{1/2}$ and $|Q_r|-f(t)$ plots, pulse width: Adsorption model and energy barrier in the catalysis of $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ into free radicals on the nanoconfined $\text{NH}_2\text{-MIL-88}$ and the corresponding precursors.

如 3D ECL 光谱图像所示（图 3-3a-b），我们检测了集成的 AIECL 复合材料(NH₂-MIL-88@TPE)的 ECL 行为。可以观察到 NH₂-MIL-88@TPE 有两个以 735 nm 和 465 nm 为中心的峰，这两个峰分别是 TPE 和 NH₂-MIL-88 的发射峰。在 K₂S₂O₈ 存在下，TPE 修饰的玻璃碳电极(GCE)显示出较弱的 ECL 强度(440 a.u.)，NH₂-MIL-88@TPE 修饰的 GCE 显示出的 ECL 信号(10407 a.u.)比单独的 TPE 强 23.7 倍，表明 ECL 效率大幅提高（图 3-3c）。为了探究增强机理，检测了不同 ECL 体系的循环伏安(CV)和 ECL 电位曲线（图 3-3d-e）。从图 3-3d 可以看出，GCE 在 -1.25 V 附近出现弱还原峰，NH₂-MIL-88 或 NH₂-MIL-88@TPE 装饰后，K₂S₂O₈ 的还原峰明显升高。此外，与 TPE 修饰的 GCE 相比，NH₂-MIL-88@TPE 的 ECL 起始电位正移至 -1.45 V (-1.61 V)，说明 NH₂-MIL-88 可以看作是高效的共反应促进剂（图 3-3e）和共反应物 S₂O₈²⁻在 PBS 溶液中容易电化学还原形成强氧化中间体 SO₄•⁻和 OH•自由基。

为了证实这一猜想，我们以 DMPO 为捕集剂，在 -2.0 V 恒定电位下进行了 1 min 的原位电子顺磁共振波谱分析，检测含有 K₂S₂O₈ 的 PBS 溶液中存在的自由基。如图 3-3f，GCE 作为工作电极时，EPR 光谱表现出 DMPO-OH• 和 DMPO-SO₄•⁻ 的极弱峰。NH₂-MIL-88@TPE 修饰电极中含有 DMPO-OH• 和 DMPO-SO₄•⁻ 的峰值更高，表明在 NH₂-MIL-88@TPE 系统中具有高效的 RS 生成，最终导致 ECL 信号增强。这些结果表明，在多孔 NH₂-MIL-88 MOF 中，空间受限的 TPE 比大块 TPE 聚集体具有更高的 ECL 效率。从动力学的角度来看，在本征 MOF 内部的单个纳米通道可以被认为是一个与周围环境不同的隔离空间，因此可以作为一个高效的固体纳米反应器进行有限的化学反应。对于纳米限域下的电解质溶液，限制空间内表面的双电层可能会重叠，导致电荷环境的实质性改变，从而影响反应动力学^[140]。对于通过范德华力与内表面相互作用的分子，通过改变催化活性位点/分子与反应表面的相互作用，可以降低氧化还原反应的吸附能和激活势垒。为了验证这一点，我们首先用双电位阶跃计时库仑法研究了 NH₂-MIL-88@TPE 的电化学吸附行为^[146]。在含 K₂S₂O₈ 的 0.1 M PBS 溶液(pH=7.4)中，从 0 到 0.50 V 进行正阶跃充电(Q)-时间(t)曲线。在前进过程中，电荷时间行为可以由下式计算： $Q_f = 2nFAC_0 * D^{\frac{1}{2}} \pi^{\frac{1}{2}} t^{\frac{1}{2}} + Q_{dl} + Q_{ads}$ (3-1)。而对于相反的步骤， $Q_r = 2nFAC_0 * D^{\frac{1}{2}} \pi^{\frac{1}{2}} f(t) + Q_{dl}$ (3-2)， $f(t) = \tau^{\frac{1}{2}} + (t - \tau)^{\frac{1}{2}} - t^{\frac{1}{2}}$ (3-3)。式中 Q_{ads} 为吸附 K₂S₂O₈ 的法拉第电荷， Q_{dl} 为双层电荷，A 为电活性表面积，n 为电子转移值，F 为法拉第常数，D 为反应物扩散系数，C 为反应物浓度， τ 为阶跃时间。正反阶跃的线性 Q-t 曲线可以定义为 Q-t^{1/2} 和 Q-f(t)。根据 Cottrell 的理论，正反两阶跃脉冲截止处的法拉第电荷的绝对差值表示活性物质的吸附量^[147]。如图 3-3g 所示，计算出来的 NH₂-MIL-88 和裸 GCE 对 K₂S₂O₈ 的 Q_{ads} 分别为 5.19 μ C 和 2.44 μ C。由于

NH₂-MIL-88 内的纳米限制通道对 K₂S₂O₈ 的有效吸附能力，K₂S₂O₈ 在多孔 NH₂-MIL-88 上的吸附能力显著增强。众所周知，Tafel 测试可以反映电化学反应动力学，较小的 Tafel 斜率表示电极动力学快，电流增加较大。如图 3-3h 所示，当 NH₂-MIL-88 作为共反应促进剂时，Tafel 斜率从 2424 mV·dec⁻¹ 显著降低至 95 mV·dec⁻¹，表明纳米限域 NH₂-MIL-88 的反应动力学得到了显著增强。除此之外，利用密度泛函理论(DFT)对 NH₂-MIL-88 模型和相应的前驱体进行了模拟，进一步阐明了反应的热力学机制。首先，对吸附模型进行了优化，最稳定的构型是吸附的桥状 K₂S₂O₈，它与密闭孔隙内的配位不饱和金属位点配合，同时通过氢键相互作用与附近的 H₂O 分子结合（图 3-3i）。根据 RS 的生成过程（图 3-3j），计算了 K₂S₂O₈ 在 NH₂-MIL-88 上的多种反应中间体的吉布斯自由能，并与使用无纳米限制结构的共反应促进剂前驱体作为共反应促进剂的产物进行了比较（图 3-3k）。显然，第一种 (S₂O₈²⁻ → SO₄^{•-}) 的吉布斯自由能变化值和第二步 (H₂O + SO₄^{•-} → OH[•] + SO₄²⁻) 分别为 -1.74 eV 和 -1.05 eV，远高于 FeCl₃ (-0.12 eV 和 0.72 eV) 和 2-氨基对苯二甲酸 (-1.39 eV 和 -0.99 eV)；证实 NH₂-MIL-88 可以降低 K₂S₂O₈ 所需的能垒，加速反应动力学，从而提高 TPE 的 ECL 效率。最后，NH₂-MIL-88@TPE 的 ECL 机制如式(3-4)-(3-9)所示：



3.3.3 脂质体介导 ECL 生物传感器的构建

采用高效的信号放大策略来提高检测信号对于高效 ECL 传感系统的构建和发展非常重要。近年来，脂质体辅助生物分析在放大生物分析信号方面表现出良好的可操作性和可设计性。由于其高负载能力和良好的生物相容性，脂质体能够封装和运输各种信号示踪剂和客体物质，包括酶、染料、药物、荧光染料、基因、量子点和电活性化合物，从而通过瞬时释放信号分子来增强检测信号^[148]。在此，我们通过使用 NH₂-MIL-88@TPE 作为 ECL 发光团，设计了脂质体辅助 ECL 系

统用于 cTnI 的检测 (图 3-4)。通过在 $\text{Ab}_1/\text{NH}_2\text{-MIL-88@TPE/ITO}$ 生物传感器上孵育不同浓度的 cTnI, 考察脂质体辅助 AIE 生物传感器的检测性能。在识别到 $\text{Ab}_2\text{-Au NPs}$ 包封脂质体后, 以 Triton X-100 为溶出剂, 将 Au NPs 从脂质体中可控释放。最后, Au NPs 介导的共振能量转移 (RET) 导致 TPE 猝灭。在最佳实验条件下, 随着 cTnI 的增加, ECL 信号逐渐降低 (图 3-5a)。ECL 强度与 cTnI 浓度的对数在 $10^{-12}\sim 10^{-7} \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系 (图 3-5b)。对应的线性回归方程为 $I=-964.54\log C-3576.41$ ($R^2=0.9984$), 检出限为 $1.66\times 10^{-14} \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($s/n=3$)。结果表明所构建的生物传感器具有较好的检测范围和灵敏度, 在临床监测 cTnI 中具有良好的应用前景。

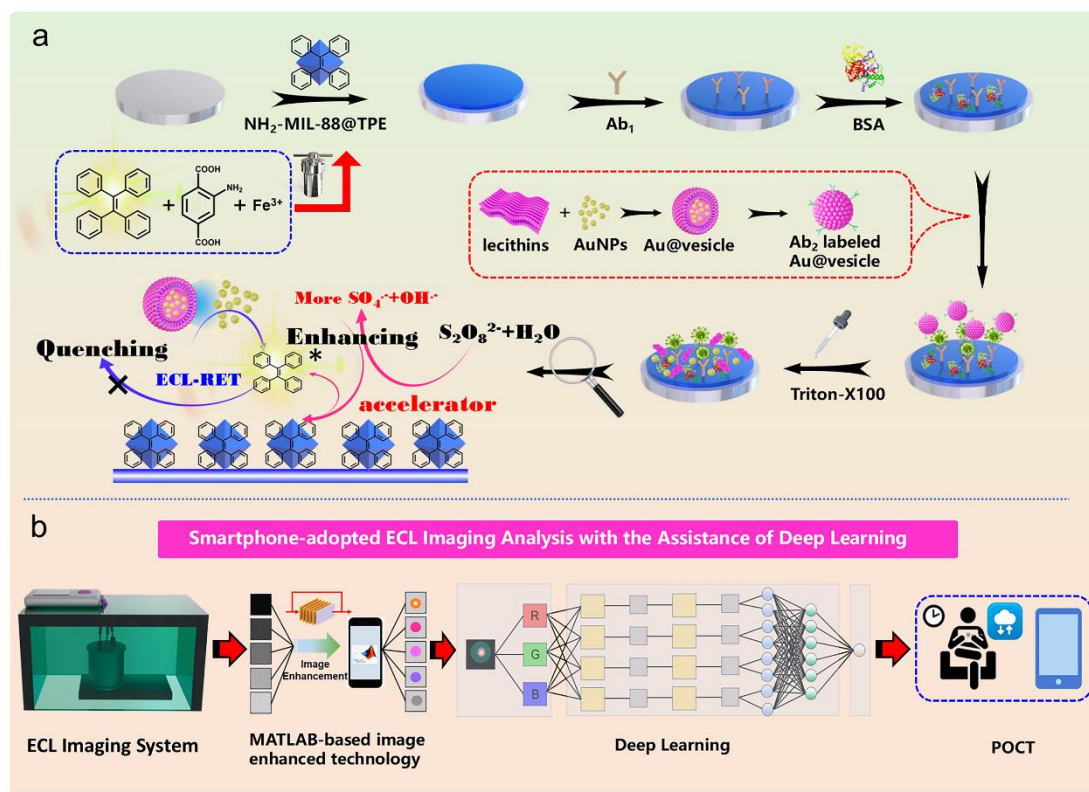


图 3-4 (a)脂质体介导的 AIECL 免疫传感器的构建和(b)借助 Matlab 介导的图像增强和深度学习的智能手机采用的 ECL 成像系统示意图。

Figure 3-4 Schematic Illustration of (a) the construction of the liposome-mediated AIECL immunosensor and (b) smartphone-adopted ECL imaging system with the assistance of Matlab-mediated image enhancement and deep learning.

如图 3-5c 所示, 研究了脂质体辅助生物传感器的选择性。利用前列腺特异性抗原 (PSA), 癌症抗原 (CEA), α -甲胎蛋白 (AFP) 和牛血清白蛋白 (BSA) 作为干扰物。由图 3-5c 中可以看出 AFP、CEA、PSA 或 BSA 并未引起明显的 ECL 信号变化, 而 cTnI 或由 cTnI 和其他干扰物种组成的混合物导致了明显的 ECL 信号变化, 这说明生物传感器对 cTnI 的出色选择性。

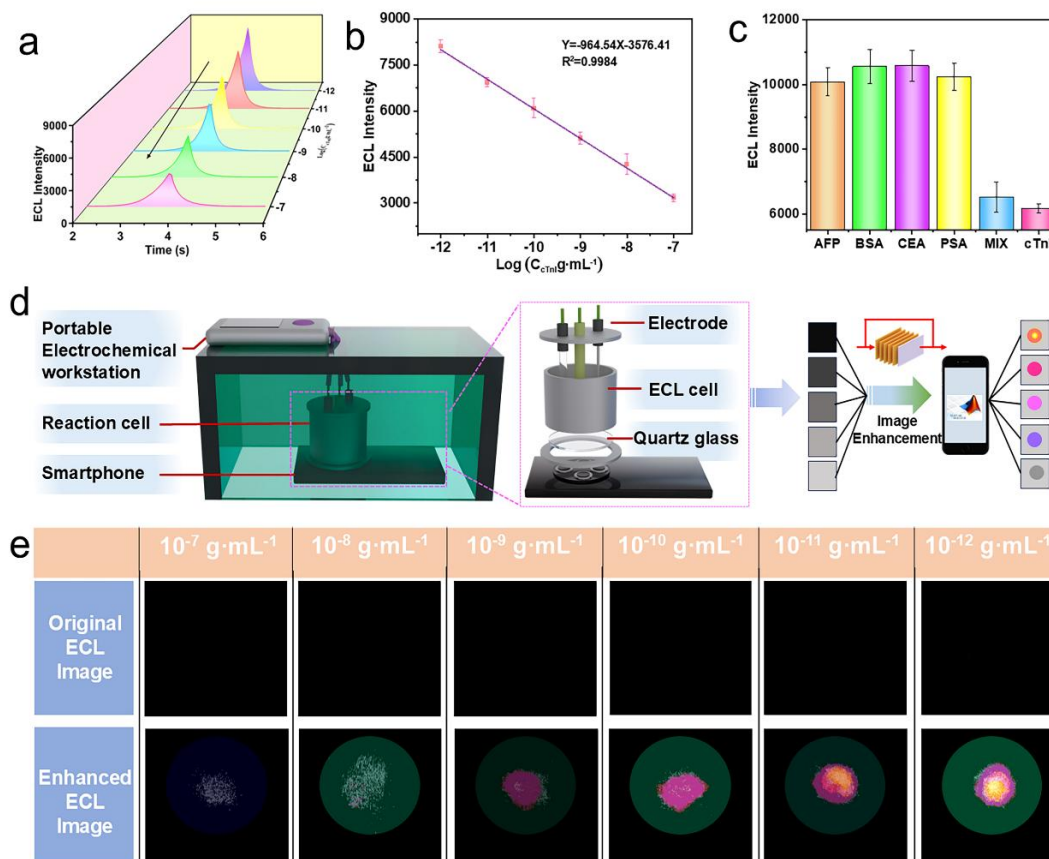
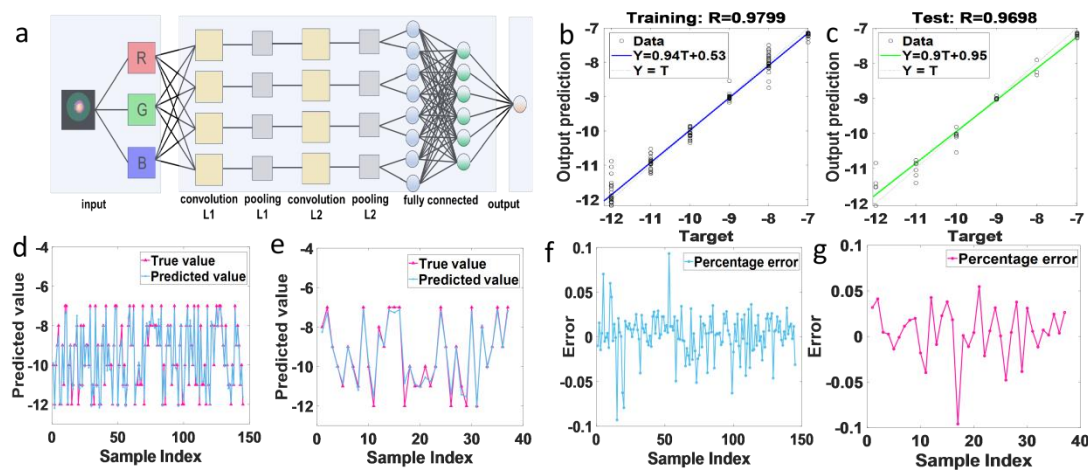


图 3-5 不同浓度 cTnI 的 ECL 强度(a)及相应的线性曲线(b)。(c)ECL 免疫测定的选择性。(d)采用 Matlab 介导图像增强技术的智能手机 ECL 成像系统示意图。(e)检测不同浓度 cTnI 的原始和增强 ECL 图像。

Figure 3-5 The ECL intensity (a) and the corresponding linear curve (b) towards different concentrations of cTnI. (c) the selectivity of the ECL immunoassays. (d) the schematic diagram of the smartphone-adopted ECL imaging system with Matlab-mediated image enhancement technology. (e) The original and enhanced ECL images in the detection of different concentrations of cTnI.

3.3.4 建造基于智能手机的自报告 ECL 成像系统和 CNN 辅助深度学习

随着科学技术的显著进步, POCT 已成为一种方便且快速检测方法, 被认为是加强疾病早期诊断的强有力工具^[149,150]。鉴于 AMI 的快速发病和高死亡率, 迫切需要开发便携式原位检测设备来快速和可视化地分析 cTnI。然而, 传统的 ECL 检测设备往往体积庞大, 结果不能显示为视觉图像。利用集成智能手机的便携式电化学工作站和 Matlab 辅助图像增强方法, 开发并实施了一种创新的便携式自报告 ECL 检测设备, 用于 cTnI 的视觉诊断 (图 3-5d)。最初, 制作了一个 3d 打印的样品, 作为便携式 ECL 成像的暗室。便携式电化学工作站为 ECL 成像提供了必要的扫描电压。使用智能手机来捕捉 ECL 图像, 并通过蓝牙控制电化学



工作站。如图 3-5e（顶部原始图像）所示，智能手机捕获的 ECL 图像在不同浓度的 cTnI 中没有明显的差异。值得注意的是，Matlab 介导的图像增强技术被开发并用于放大 ECL 图像之间的区别，并实现如图 4-5e 所示的简单的视觉分析。增强的 ECL 图像以高浓度的 cTnI(10^{-7} 至 $10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)显示灰点。随着 cTnI 浓度降低，玫瑰色(10^{-9} 至 $10^{-10} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)和黄色区域(10^{-11} 至 $10^{-12} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)顺序出现，促进了 cTnI 的视觉识别方法。鉴于健康人体中 cTnI 的浓度通常小于 $10^{-10} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，并且当心肌略微受损时超过 $10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，增强的 ECL 成像提供了一种直接和自我报告的方法来识别 cTnI 水平。如果 ECL 图像显示黄点，则表明经过测试的个体是健康的。相反，ECL 图像中的玫瑰色外观表明个人有 AMI 的风险。此外，如果 ECL 图像仅表现出灰色点，则表示危急状况，需要立即进行医疗干预。

图 3-6 (a)CNN 整体结构示意图。(b)训练中 cTnI 的实际值与预测值之间的线性关系(c)验证集。(d)训练集和(e)验证集中真实值与 CNN 预测水平的波动。(f)训练集和(g)验证集的百分比误差图。

Figure 3-6 (a) Schematic diagram of the overall structure of CNN. Linear relationship between actual values and predictions of cTnI in the (b) training and (c) validation set. Fluctuations of true values vs CNN prediction levels in the (d) training and (e) validation set. Percentage error charts of (f) the training and (g) validation set.

为了评估实用性并提高 ECL 成像系统的准确性，本研究开发了卷积神经网络(CNN)模型，用于对心脏肌钙蛋白 I(cTnI)的定量分析（图 3-6a）。该模型利用图像的红、绿、蓝(RGB)值作为输入层，cTnI 浓度作为输出层。在迭代训练过程中，评估了训练和测试损失，并使用反向传播算法对模型参数进行了细化，这个过程最终得到了一个优化的 CNN 模型。如图 4-6a 所示，使用智能手机 ECL 成像系统对数据集共采集 182 条数据。数据集被随机分为训练子集(80%)和验证子集(20%)。这些结果表明，开发的卷积神经网络(CNN)模型具有强大的预测能力。

图 3-6b 和图 3-6c 揭示了 CNN 模型的预测值与实际值之间的线性相关性。训练集和验证集的预测值和实测值的线性方程分别为 $Y=0.94T+0.53(R^2=0.9799)$

和 $Y=0.9T+0.95(R^2=0.9698)$ 。这些结果表明，CNN 模型在确定 cTnI 水平方面具有很高的精度。此外，如图 3-6d-e 所示，训练和验证集的预测值均近似于实际值，错误仍低于 10%（图 3-6f-g）。这进一步强调了 CNN 模型在 cTnI 的痕量检测中的出色预测能力。

3.4 本章小结

本章提出了一种纳米限域 AIECL 策略，旨在将短寿命 RS 封装在纳米尺度上，以提高其在 ECL 反应中的利用率。该 AIECL 体系是通过将 TPE 原位掺入 NH₂-MIL-88 来构建的，从而形成了一个集成的 AIE 纳米限域反应器。在这个反应过程中，共反应物加速器和 TPE 在空间上被限制在一个复合结构中。NH₂-MIL-88 作为 TPE 负载的高效基质，提供了丰富的原子分散的共反应物促进剂，有利于原位自催化和 RS 生成。此外，NH₂-MIL-88 内受限的纳米通道改变了 K₂S₂O₈ 与活性表面的相互作用，从而改变了氧化还原反应的动力学和吸收能力，从而实现了限域的催化增强和 AIECL 的改善。最后，我们首次开发了一种新型的智能手机 AIECL 成像和分析系统。借助 Matlab 介导的图像增强，该系统展示了 cTnI 水平的视觉自报告能力，并通过应用深度学习技术实现了准确的 cTnI 分析。本研究不仅提出了一种通过纳米限域催化提高 AIECL 系统中局部 RS 浓度的新策略，而且为设计用于 cTnI 监测的快速筛选方法铺平了道路。

第四章 原子级 Fe(III) 锚定的金属有机框架荧光纳米酶用于智能手机 CL-FL 双模式尿酸分析检测

4.1 引言

化学发光(CL)是指物质在化学反应中发射光的过程^[151-154]。由于化学发光操作简单、成本低、灵敏度高等优点,该方法在食品安全、临床诊断和环境监测等领域受到持续关注^[155-159]。然而,由于发光分子的闪光特性,单一化学发光检测模式的稳定性和重现性往往存在问题,导致实际应用中容易出现假阳性或假阴性结果^[160,161]。双模式检测是一种先进的传感方法,可以通过独立的输出信号识别分析物。这种方法能够绕过单个传感模式的固有限制,同时整合各自的优势,从而在检测系统中产生协同增强效果^[162-164]。其中,化学发光-荧光(CL-FL)双模分析是一种很有前途的准确可靠的即时检测方法,因为该系统不仅可以提供数字检测信号,还可以提供视觉成像能力。然而,目前开发双光信号发射系统并且结合多功能材料,对研究者们来说仍然是一个巨大的挑战^[165-167]。

近年来,金属有机框架(MOFs)因其结构独特、比表面积大、功能多样和活性位点多等众多优点,在催化^[168-170]、传感^[120,171]、环境^[172,173]和纳米医学^[174,175]等各种应用中引起了学者们的广泛关注。首先,多功能MOF的原子级分散的金属位点和多孔纳米结构不仅可以提供丰富的活性位点,而且可以促进催化过程中的质子/电子转移^[176]。同时,MOF优异的光调控性能和电子传输能力使其成为荧光传感应用中的最有希望的候选材料^[177-179]。通过采用配体/金属节点修饰,可以系统地设计出多种荧光探针,从而获得具有优异荧光性能的MOF,包括高发射强度、大的斯托克斯位移和长的发光寿命^[177]。由于具有上述多重优势,MOF被视为CL-FL双模分析的潜在候选材料。迄今为止,关于使用MOF作为共反应促进剂和荧光纳米探针的高CL-FL双模分析系统的报道很少。此外,利用多功能MOF的便携式CL成像和分析设备的研究仍处于起步阶段。

尿酸(UA)是健康评估和疾病诊断的重要生物标志物。UA水平升高通常与各种疾病有关,例如神经系统疾病、心血管、关节炎和其他肾脏疾病^[180-182]。因此,通过便携式设备及时准确地检测UA对于减轻和避免相关并发症至关重要。在此,我们通过设计原子级Fe(III)锚定的PCN-224过氧化物酶模拟纳米酶(PCN-224/Fe(III))从而构建了一个基于CL-FL的双模分析和成像系统(图4-1)。多功能PCN-224/Fe(III)既可

作为高效的共反应促进剂，在 CL 和 FL 系统中生成活性氧(ROS)，同时还展现出作为其荧光纳米探针的独特性能。由 PCN-224/Fe(III)具有丰富的活性位点和纳米酶活性，使鲁米诺的化学发光强度提高了约 1600 倍。机理研究表明，由于 PCN-224/Fe(III)上能稳定、高效的吸附 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\bullet OH$ ，使 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\bullet OH$ 能够优先生成，从而显著提高鲁米诺的化学发光强度。最终，我们开发了适用于智能手机的化学发光成像装置和荧光分析检测系统，并通过便携式纸基芯片的设计成功实现了化学发光模式可视化检测。

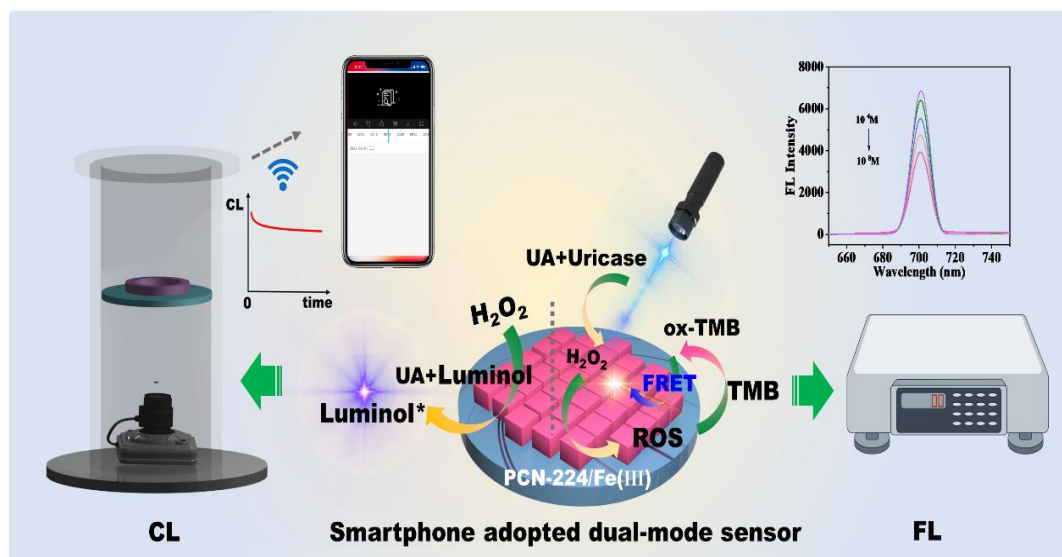


图 4-1 CL-FL 尿酸检测成像分析系统示意图。

Figure 4-1 Schematic diagram of the CL-FL imaging and analysis system for UA detection.

4.2 实验部分

4.2.1 实验试剂

表 4-1 主要的实验药品和试剂

药品名称	纯度	生产厂家
氯化锆·八水	AR	国药集团化学试剂有限公司
中-四(4-羧基苯基)卟吩	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
乙酸	36%	国药集团化学试剂有限公司
鲁米诺	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
磷酸氢二钠·十二水	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
磷酸二氢钠·二水	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
尿酸	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
尿酸酶	——	上海麦克林生化科技股份有限公司
抗坏血酸	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
D-葡萄糖	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
D-半胱氨酸	AR	阿拉丁试剂(上海)有限公司
尿素	AR	上海生工生物工程技术服务有限公司

4.2.2 实验仪器

表 4-2 主要的实验仪器

仪器名称	仪器型号	生产厂家
恒温鼓风干燥器	DHG-9036A	上海精宏实验设备有限公司
智能磁力搅拌器	ZNCL-BS	巩义市予华仪器有限责任公司
电子天平	BSA124S	赛多利斯科学仪器有限公司
超纯水机	Smart-S15	上海和泰仪器有限公司

续表 4-2 主要的实验仪器

仪器名称	仪器型号	生产厂家
扫描电子显微镜	S-4800	日本 Hitachi 公司
透射电子显微镜	TalosF200x	美国 Thermo Fisher Scientific

X-射线衍射仪	D8 ADVANCE	德国布鲁克林
X-射线光电电子能谱仪	ESCALAB	美国 Thermo Fisher Scientific
电子顺磁共振波谱仪	Bruker EMXplus	德国布鲁克公司

4.2.3 PCN-224 纳米立方体(NC)的合成

将 TCPP(25 mg)和 $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (125 mg)分别溶解于 50 mL DMF 溶剂中, 室温下搅拌 10 min, 然后迅速将 12.5 mL 乙酸加入到混合溶液中, 最后将溶液转移至聚四氟乙烯内衬的高压釜中, 在 120 °C 下保温 12 h, 得到的紫色产物用乙醇洗涤, 在 80 °C 下干燥。

4.2.4 PCN-224/Fe(III)的合成

将 PCN-224 NCs(60 mg)和 FeCl_3 (120 mg)加入 30 mL DMF 中, 搅拌直至固体完全溶解。然后将溶液在 120 °C 的油浴中搅拌 1 小时。

4.2.5 智能手机采用的 CL 成像设备的构造

首先, 利用 3D 打印机设计 CL 成像装置。利用智能手机控制的微型相机获取 CL 成像。利用 App Market 中的“简易取色器”App 辅助分析 CL 图像。

4.2.6 UA 的化学发光检测

将 30 μL PCN-224/Fe(III) (10 mg/mL)和 30 μL H_2O_2 (5 mM)溶液注入含有 3 mL PBS 缓冲液和 100 μM 鲁米诺的反应池中, 反应 10 s 后, 分别向反应池中加入 30 μL 不同浓度的 UA, 利用 MPI-A 仪器获取化学发光信号。

4.2.7 UA 的荧光检测

首先将 1 mg 尿酸酶溶解 2 mL 含有不同浓 UA 的 Britton-Robinson(pH=8.5)缓冲溶液中, 取 300 μL UA-尿酸酶混合溶液室温放置 20 min; 最后加入 3 mL 的 HAc-NaAc 缓冲溶液(pH=4)、100 μL PCN-224/Fe(III) (10 mg/mL)和 100 μL TMB(10 mg/mL), 室温放置 90 s

后,用荧光分光光度计测定 PCN-224/Fe(III)的荧光,激发波长为 346 nm。

4.3 结果与讨论

4.3.1 PCN-224/Fe(III)纳米酶材料的合成与表征

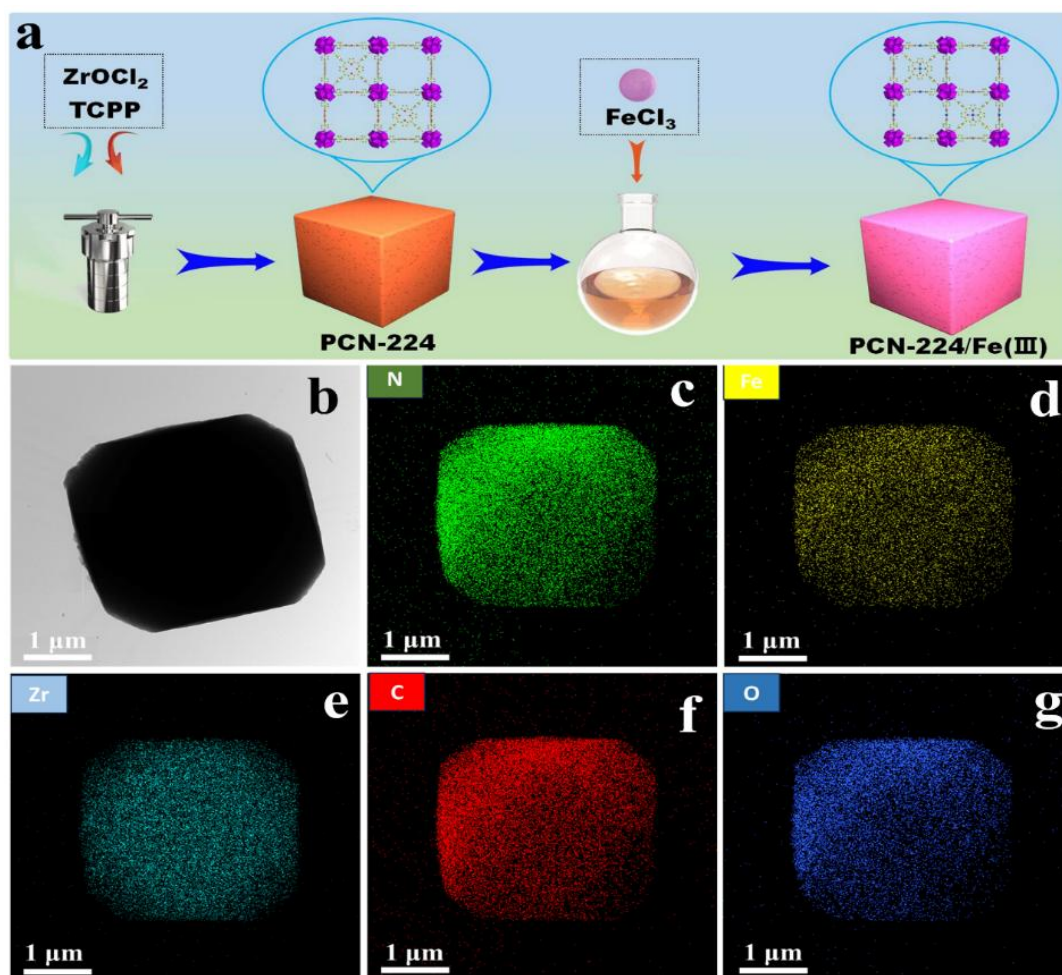


图 4-2 (a)合成 PCN-224/Fe(III)的示意图。(b) TEM, (c-g) PCN-224/Fe(III)的元素映射图。

Figure 4-2 (a) Schematising PCN-224/Fe(III). (b) TEM, (c-g) Elemental mapping of PCN-224/Fe(III).

如图 4-2a 所示, PCN-224/Fe(III)纳米酶采用湿化学法合成。首先, 采用简单的水热法合成高质量 PCN-224 纳米立方体。然后, 用溶剂热法获得原子级 Fe(III)锚定的 PCN-224 纳米酶。元素映射图像(图 4-2c-g)所示, N、Fe、Zr、C 和 O 元素分布均匀, 表明 PCN-224/Fe(III)制备成功。利用 X 射线光电子能谱(XPS)研究了 PCN-224/Fe(III)的化学组成和表面电子态。如图 4-3a 所示, N、C、O 和 Zr 元素在 XPS 全谱图中共存, 证实了 PCN-224 的成功制备。Fe(III)嵌入后, PCN-224/Fe(III)中出现了 Fe 2p 峰(图 4-3b), 表明 Fe(III)的成功嵌入。Fe(III)后, N 1s 的峰发生明显变化(图 4-3c), 这是由于 Fe(III)和 N 之间产生的强烈的配位作用所致, 从而再次证实了 PCN-224/Fe(III)合成成功^[183]。傅里叶变换红外(FTIR)分析出现了 Fe-N 峰(997 cm^{-1}), 表明 Fe(III)通过 Fe-N 键与 PCN-224 原子锚定(图 4-3d)^[184]。以上结果表明, 原子级 Fe(III)锚定的 PCN-224(PCN-224/Fe(III))已成功制备。

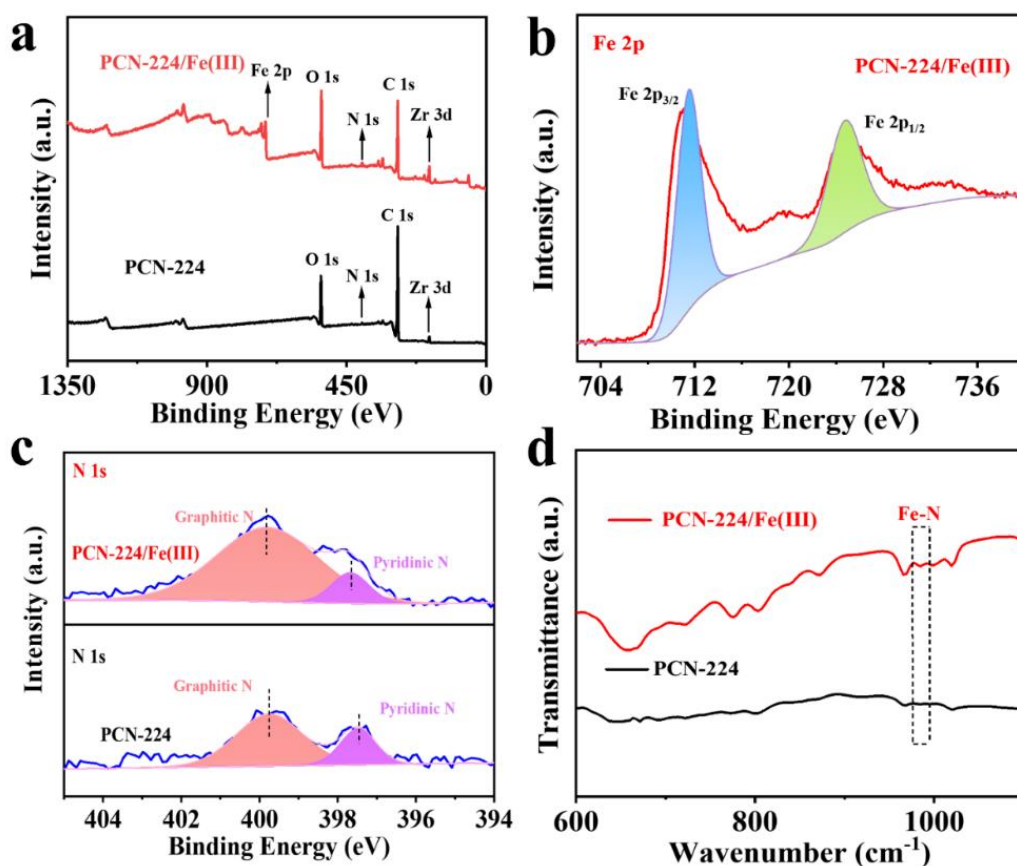


图 4-3 (a) PCN-224 和 PCN-224/Fe(III)的 XPS 全谱, (b) Fe、(c) N 的高分辨率 XPS 光谱和 (d) 样品的 FTIR 图。

图 4-3 (a) Full XPS spectra of PCN-224 and PCN-224/Fe(III), high-resolution XPS spectra of (b) Fe, (c) N and (d) FTIR of the samples.

4.3.2 PCN-224/Fe(III)多功能性表征

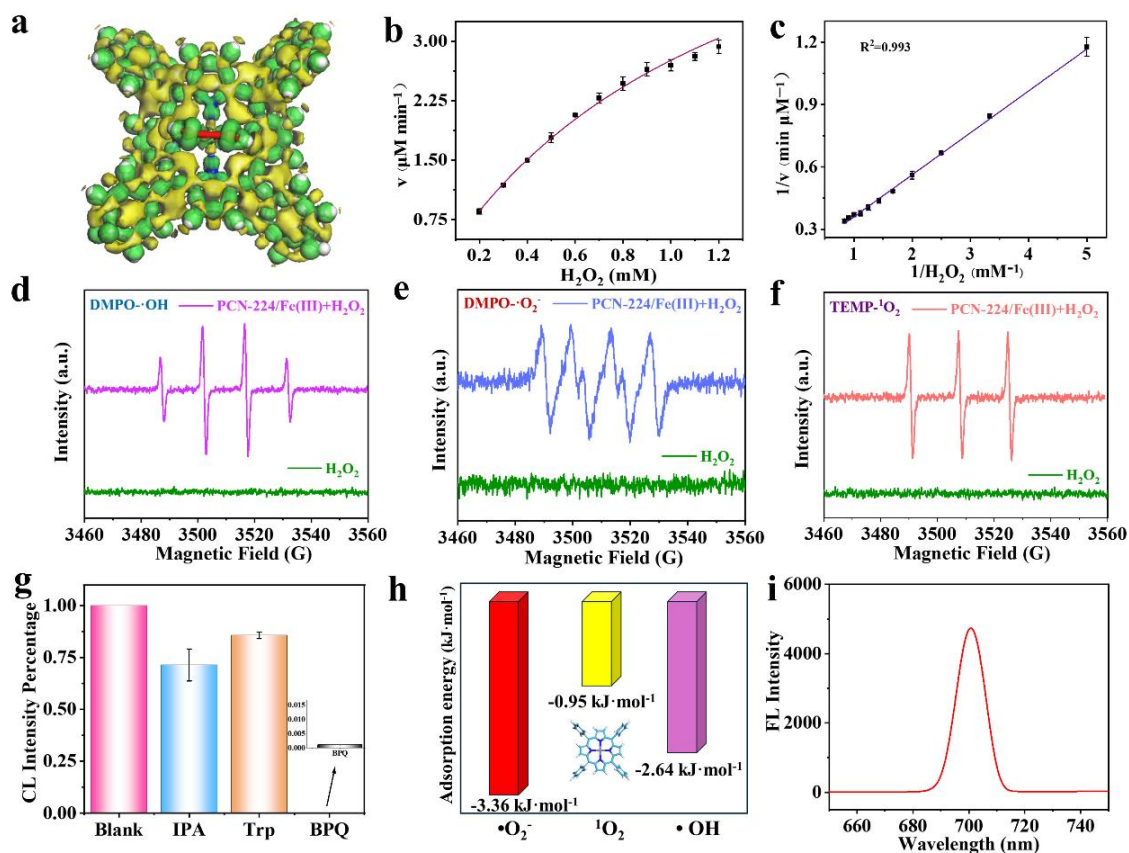


图 4-4 (a)PCN-224/Fe(III)吸收 H_2O_2 后的微分电荷密度。(b)PCN-224/Fe(III)的反应速率对 H_2O_2 浓度的依赖性以及(c)过氧化物酶模拟活性的双倒数图(重现性数为3)。以 PCN-224/Fe(III)为共反应加速剂的(d) $\cdot\text{OH}$ 、(e) $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和(f) $^1\text{O}_2$ 的 EPR 光谱。(g)加入各种自由基清除剂后鲁米诺的 CL 强度。(h) $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $^1\text{O}_2$ 的吸收能以及(i)PCN-224/Fe(III)的 FL 性能。

Figure 4-4 (a) The differential charge density of PCN-224/Fe(III) after the absorption of H_2O_2 . (b) The dependence of the reaction rate on the concentration of H_2O_2 of PCN-224/Fe(III) and (c) Double-reciprocal plots for the peroxidase-mimic activity (the number of reproducibility is 3). EPR spectra of (d) $\cdot\text{OH}$, (e) $\text{O}_2^{\cdot-}$ and (f) $^1\text{O}_2$ with PCN-224/Fe(III) as coreaction accelerators. (g) The CL intensities of luminol with the addition of various radical scavengers. (h) Adsorption energy of $\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, $^1\text{O}_2$ and (i) The FL performance of PCN-224/Fe(III).

为研究 PCN-224/Fe(III)的过氧化物(POD)酶特性, 我们首先计算了 PCN-224/Fe(III)- H_2O_2 的差分电荷密度分布图。如图 4-4a 显示, PCN-224/Fe(III)在吸收 H_2O_2 后显示出了清晰的电子转移, 黄色和绿色区域分别表示电子减少和增强。这表明 PCN-224/Fe(III)和 H_2O_2 之间存在强的电子相互作用和耦合。为了深入了解 PCN-224/Fe(III)作为纳米酶的

催化反应动力学，我们进行了稳态动力学系统的实验。根据米氏动力学和相关的双倒数曲线图（图 4-4b-c），计算出 PCN-224/Fe(III)的 K_m 和 V_{max} 别为 1.26 mM 和 1.04 $\mu\text{M/s}$ 。较低的 K_m 值和较大的 V_{max} 值表明 PCN-224/Fe(III)对 H_2O_2 具有良好的亲和力和较快的反应速率。该结果与密度泛函理论(DFT)计算得出的差分电荷密度分布图一致。

此外，我们使用电子顺磁共振(EPR)阐明反应过程中的所产生的活性中间体，如图 4-4d-f 所示。值得注意的是，检测到明显的 TEMP- $^1\text{O}_2$ 、DMPO- $\cdot\text{OH}$ 和 DMPO- $\text{O}_2^{\cdot-}$ 信号，验证了在 ROS 生成中过氧化物酶的高活性。通过使用异丙醇(IPA)、色氨酸(Trp)和对苯醌(PBQ)作为 $\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的自由基清除剂，PBQ 的加入导致 CL 信号显著猝灭^[185]。相反，IPA 和 Trp 对 CL 猝灭的影响较弱（图 4-4g）。这表明 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 是参与催化过程中的产生的主要中间体 ROS。为了更好地理解 H_2O_2 在 PCN-224/Fe(III)上优先生成 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的原因，计算了不同 ROS 在 PCN-224/Fe(III)上的吸附能，从化学反应热力学的角度给出新的见解。如图 4-4h 所示， $\text{O}_2^{\cdot-}$ 在 PCN-224/Fe(III)上的吸附能为 $-3.36 \text{ kJ mol}^{-1}$ ，与 $\cdot\text{OH}$ ($-2.64 \text{ kJ mol}^{-1}$) 和 $^1\text{O}_2$ ($-0.95 \text{ kJ mol}^{-1}$) 相比，是所有物种中最低的。这些数据表明 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 在 PCN-224/Fe(III)上更稳定，进一步证实了 PCN-224/Fe(III)上 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 更容易生成和转化。此外，如图 4-4i 所示，由于 TCPP 的共轭配体较大且三维空间结构受限，PCN-224/Fe(III)表现出优异的荧光特性。在 365 nm 激光激发下，PCN-224/Fe(III)发出波长中心为 700 nm 的红色荧光。这一特性使 PCN-224/Fe(III)成为荧光传感的极佳探针。因此，PCN-224/Fe(III)的多功能性使其成为实际应用中多模传感的有希望的候选者。

4.3.3 智能手机 CL 成像和荧光双模式检测尿酸

如图 4-5a 所示，CL 强度随 UA 浓度的增加而降低，在 10^{-8} 至 10^{-4} M 范围内与 UA 的对数呈现良好的线性关系。检测限(LOD)经计算低至 $2.45 \times 10^{-10} \text{ M}$ 。在葡萄糖(Glu)、尿素、抗坏血酸(AA)、半胱氨酸(Cys)、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 Na^+ 和 CO_3^{2-} 在下，CL 强度没有显著变化，表明具有良好的特异性和抗干扰能力（图 4-5b）。为了实现可视的 CL 成像分析，构建了智能手机式 CL 成像装置（图 4-5c）。图 4-5e 所示，随着 UA 的增加，设计的纸基芯片的蓝色 CL 逐渐褪去，这与 CL 强度的结果一致。智能手机自带的 RGB 分 App 显示，在 10^{-8} M 至 10^{-4} M 范围内，灰度值与 UA 的增加呈线性关系（图 4-5d）。结果表明，CL 系统对 UA 分析具有良好的检测能力。

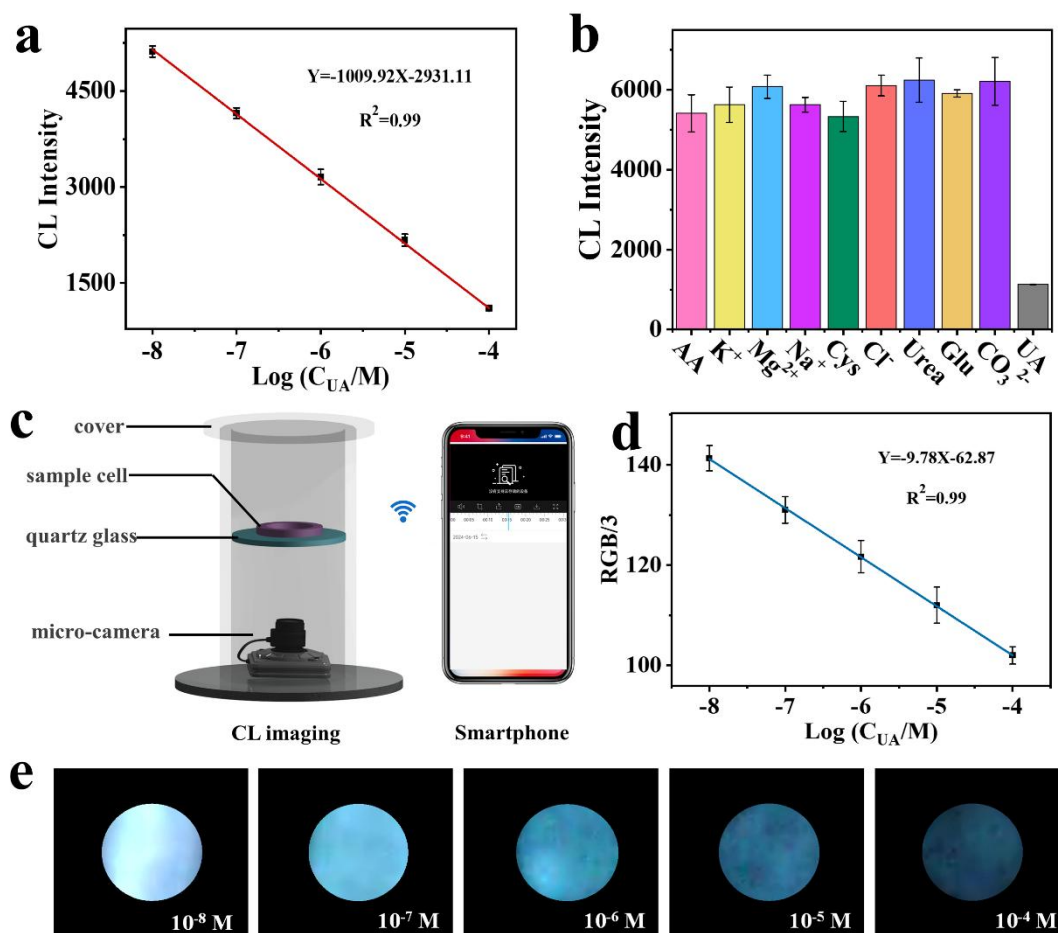


图 4-5 (a)化学发光强度与 UA 浓度的线性关系曲线。(b)化学发光体系对 UA 检测的选择性(UA 和干扰物的浓度设定为 10^{-4} M)。(c)基于智能手机的化学发光成像装置示意图。(d)化学发光成像照片灰度值与 UA 浓度的线性关系曲线。(e)不同浓度 UA 检测对应的化学发光成像图片。

Figure 4-5. (a) The linear relationship curve between the CL intensity and the concentrations of UA. (b) The selectivity of the CL system for UA detection. (The concentrations of UA and interferents were set as 10^{-4} M) (c) The schematic diagram of the smartphone-adopted CL imaging device. (d) The linear relationship curve between the gray value of the CL imaging photographs and the concentrations of UA. (e) The corresponding CL imaging pictures for the detection of UA at different concentrations.

由于 PCN-224/Fe(III) 具有优异的荧光性能, 我们基于 PCN-224/Fe(III) 与 TMB 之间的荧光共振能量转移, 开发了荧光检测系统 (图 4-6a)。通常, 在 UA 存在下, 尿酸酶可催化 UA 生成 H_2O_2 。PCN-224/Fe(III) 作为一种高效的 POD 类纳米酶, 能够将 H_2O_2 分解为 ROS, ROS 将 TMB 氧化为 ox-TMB, 并在激发下伴随以 $\sim 470 \text{ nm}$ 为中心的荧光发射。

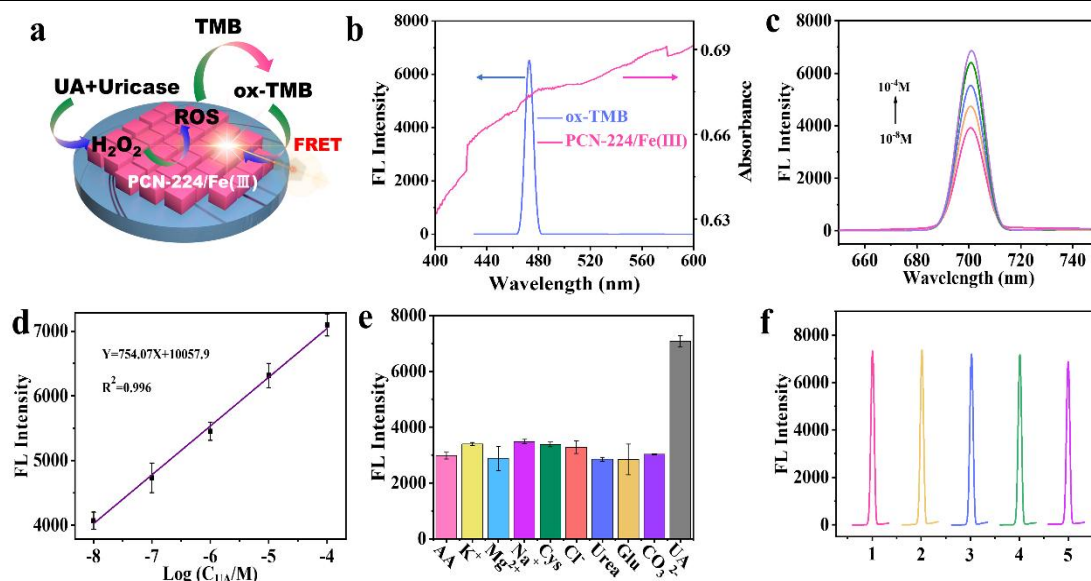


图 4-6 (a)FL 模式检测 UA 的机理示意图。(b)ox-TMB 的 FL 发射(蓝色)和 PCN-224/Fe(III)的吸收光谱(粉色)。(c)PCN-224/Fe(III)对不同浓度 UA 的 FL 强度。(d)FL 与 UA 浓度之间的线性关系。(e)传感器对 UA($10^{-4} M$)的选择性和抗干扰能力。(f)传感器检测 UA($10^{-4} M$)的稳定性。

Figure 4-6 (a) The schematic diagram of the mechanism of the FL mode for UA detection. (b) The FL emission of ox-TMB (blue) and absorption spectrum of PCN-224/Fe(III) (pink). (c) The FL intensity of PCN-224/Fe(III) to different concentrations of UA. (d) The linear relationship between the FL and UA concentrations. (e) The selectivity and anti-interference ability of the sensors toward UA ($10^{-4} M$). (f) The stability of the sensors for the detection of UA($10^{-4} M$).

由于 ox-TMB 的荧光发射光谱与 PCN-224/Fe(III)的吸收光谱重叠(图 4-6b), 激发态的 ox-TMB 的能量可以转移到 PCN-224/Fe(III), 最终增加 PCN-224/Fe(III)的荧光强度。如图 4-6c 所示, 随着 UA 浓度的增加, PCN-224/Fe(III)的荧光强度逐渐增强。在 10^{-8} 至 $10^{-4} M$ 范围内, PCN-224/Fe(III)的荧光呈现线性关系(图 4-6d), LOD 低至 $1.99 \times 10^{-9} M$ 。此外, 如图 4-6e-f 所示, FL 体系表现出良好的选择性和重现性, 证明了 FL 检测体系对 UA 具有优异的检测能力。

4.4 本章小结

综上所述, 通过设计多功能的 PCN-224/Fe(III)纳米酶, 开发了一套智能手机 CL-FL 成像分析系统。由于优异的 POD 活性和荧光特性, 该分析体系对 UA 具有良好的检测能力在 CL 和 FL 双模传感和成像装置。CL 和 FL 的 LOD 分别可低至 $2.45 \times 10^{-10} M$ 和 $1.99 \times 10^{-9} M$ 。为 UA 分析

提供了一种灵敏度高、准确度高的检测方法。

第五章 总结与展望

5.1 总结

本论文采用金属有机框架(MOFs)作为 CL/ECL 的共反应加速剂,提高 CL/ECL 生物传感器的灵敏度与准确性。深入研究了 MOF 基共反应加速剂在不同体系的作用机理,并基于 MOF 基材料开发出智能手机适配的便携式检测以及多模式检测策略,总结如下:

(1) 我们设计了 ZIF-67@MXene 纳米片复合材料,其具有高导电性的面内结构和受限稳定的孔/通道,作为高效的共反应加速剂,在含有 luminol-H₂O₂ 的 ECL 体系中实现了显著的信号增强,并且仔细研究了其作用机理。最后,通过设计等离子体 NH₂-MIL-88@Pd 纳米酶,构建了用于前列腺特异性抗原(PSA)检测的“开-关”免疫传感器。本研究为高效共反应加速剂的制备提供了一种有效的方法,为肿瘤标志物的灵敏检测提供了一种新的策略。

(2) 我们通过将 AIE 分子四苯乙烯原位封装到金属有机框架(NH₂-MIL-88)中,开发了一个高效的 ECL 传感平台,该框架富含原子分散的活性位点,作为纳米限域的共反应物加速器,能够原位将共反应物催化为反应性物种(RS),并直接与空间限域的复合系统中的 AIE 分子反应。最后,开发了一种智能手机适配的 AIECL 成像系统,实现了心肌肌钙蛋白 I(cTnI)的超灵敏分析。同时,利用深度学习算法,开发了卷积神经网络模型来辅助 cTnI 的准确分析。本研究提出了一种通过纳米限域催化提高局部 RS 浓度的先进策略,为 AIECL 成像系统监测 cTnI 浓度提供了一种先进的筛查方法和思路。

(3) 我们通过构建原子铁(III)锚定的 PCN-224 纳米酶(PCN-224/Fe(III))模拟过氧化物酶,设计了化学发光(CL)-荧光(FL)双模分析成像系统,实现了尿酸(UA)的超灵敏检测。多功能的 PCN-224/Fe(III)在 CL 和 FL 系统中作为高效的协同反应促进剂生成活性氧(ROS),同时也显示出作为荧光纳米探针的特殊能力。最终开发了一款采用 CL 成像装置的智能手机,通过设计便携式纸基芯片实现 CL 的视觉检测。本研究所提出的 CL-FL 双模检测系统不仅为 UA 检测提供了一种便携、灵敏的方法,而且对共反应促进剂增强 CL 和 FL 分析的机理也提供了有价值的见解。

5.2 展望

目前，CL/ECL 技术已经广泛应用于各个领域，包括传感检测、医学诊断、环境监测等领域。CL/ECL 在检测的灵敏度和准确性是非常必要的。然而，基于 MOF 作为共反应加速剂在 CL/ECL 中信号放大的研究还较少，这就要求我们寻找更加新型且高效的 MOF 基共反应加速剂材料来实现检测信号的放大以及提高检测体系的灵敏度。同时，传统 CL/ECL 技术存在着仪器较大，不能及时检测的问题。因此，设计小型便携的检测仪器对于 CL/ECL 的检测是非常有必要的。未来，随着材料科学、纳米技术、人工智能的快速发展，CL/ECL 技术有望在以下方面实现突破与进展：

- 1、设计新型的 MOF 基共反应加速剂材料，实现高效率的信号放大功能，提升 CL/ECL 检测的灵敏度与稳定性。
- 2、使用人工智能技术与 CL/ECL 技术相结合，确保 CL/ECL 检测技术的准确性。
- 3、开发低功耗、便携式的 CL/ECL 检测设备，结合智能手机等移动终端，实现即时快速检测。

参考文献

- [1] Yang, Y, Liu, Z Chemiluminescent Nanosystems for Imaging Cancer Chemodynamic Therapy [J]. Chem. 2020, 6(9): 2127-2129.
- [2] Vaughan, W R The Chemistry of the Phthalazines [J]. Chemical Reviews. 1948, 43(3): 447-508.
- [3] White, E H, Zafriou, O, Kagi, H H et al. Chemiluminescence of Luminol: The Chemical Reaction [J]. Journal of the American Chemical Society. 1964, 86(5): 940-941.
- [4] Yu, Y, Mallick, S, Wang, M et al. Barrier-free reverse-intersystem crossing in organic molecules by strong light-matter coupling [J]. Nature Communications. 2021, 12(1): 3255.
- [5] Cui, L-S, Gillett, A J, Zhang, S-F et al. Fast spin-flip enables efficient and stable organic electroluminescence from charge-transfer states [J]. Nature Photonics. 2020, 14(10): 636-642.
- [6] Wada, Y, Nakagawa, H, Matsumoto, S et al. Organic light emitters exhibiting very fast reverse intersystem crossing [J]. Nature Photonics. 2020, 14(10): 643-649.
- [7] Gleu, K, Petsch, W Die Chemilumineszenz der Dimethyl-diacridyliumsalze [J]. Angewandte Chemie. 1935, 48(3): 57-59.
- [8] Catherall, C L R, Palmer, T F, Cundall, R B Chemiluminescence from reactions of bis(pentachlorophenyl)oxalate, hydrogen peroxide and fluorescent compounds. Kinetics and mechanism [J]. J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2. 1984, 89(25): 6515-6522.
- [9] Deshpande, K, Kanungo, L Chemiluminescence and fluorescence biosensors for food application: A review [J]. Sensors and Actuators Reports. 2023, 5: 100137.
- [10] Liu, M, Lin, Z, Lin, J-M A review on applications of chemiluminescence detection in food analysis [J]. Analytica Chimica Acta. 2010, 670(1): 1-10.
- [11] Lara, F J, García-Campaña, A M, Aaron, J-J Analytical applications of photoinduced chemiluminescence in flow systems—A review [J]. Analytica Chimica Acta. 2010, 679(1): 17-30.
- [12] Qin, X, Jahanghiri, S, Zhan, Z et al. Quantification strategy of absolute chemiluminescence efficiency for systems of luminol with hydrogen peroxide [J]. Analytica Chimica Acta. 2024, 1285: 342023.
- [13] Zhao, L, Xu, J, Xiong, L et al. Recent development of chemiluminescence for bioanalysis [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2023, 166: 117213.
- [14] Pu, S, Pan, Y, Zhang, L et al. Recent advances in chemiluminescence and cataluminescence for the detection of volatile sulfur compounds [J]. Applied Spectroscopy Reviews. 2023, 58(6): 401-427.
- [15] Li, X, Zhang, H, Tang, Y et al. A Both-End Blocked Peroxidase-Mimicking DNzyme for Low-Background Chemiluminescent Sensing of miRNA [J]. ACS Sensors. 2017, 2(6): 810-816.
- [16] Slezak, T, Smith, Z M, Adcock, J L et al. Kinetics and selectivity of permanganate chemiluminescence: A study of hydroxyl and amino disubstituted benzene positional isomers [J]. Analytica Chimica Acta. 2011, 707(1): 121-127.
- [17] Zhang, B-T, Liu, H, Liu, Y et al. Application trends of nanofibers in analytical chemistry [J]. Trends in Analytical Chemistry. 2020, 169: 117376.
- [18] Chen, X, Liu, Y, Wang, B et al. Understanding role of microstructures of nanomaterials in electrochemiluminescence properties and their applications [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2023, 162: 117030.

- [19] Song, K, Zhao, W, Zhou, Y et al. Innovative strategies in metal-organic frameworks for enhanced electrochemiluminescence biosensors [J]. *Coordination Chemistry Reviews*. 2024, 520: 216161.
- [20] Zhao, Y, Bouffier, L, Xu, G et al. Electrochemiluminescence with semiconductor (nano)materials [J]. *Chemical Science*. 2022, 13(9): 2528-2550.
- [21] Farka, Z, Juřík, T, Kovář, D et al. Nanoparticle-Based Immunochemical Biosensors and Assays: Recent Advances and Challenges [J]. *Chemical Reviews*. 2017, 117(15): 9973-10042.
- [22] Sartin, M M, Boydston, A J, Pagenkopf, B L et al. Electrochemistry, Spectroscopy, and Electrogenerated Chemiluminescence of Silole-Based Chromophores [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, 128(31): 10163-10170.
- [23] Liu, Y, Zhang, H, Li, B et al. Single Biomolecule Imaging by Electrochemiluminescence [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2021, 143(43): 17910-17914.
- [24] Jeong, J-Y, Baek, S-D, Myoung, J-M Efficient catalytic-activity-driven extremely low-voltage operable multicolor electrochemiluminescence displays using Pt nanoparticles anchored on CuO nanorod electrodes [J]. *Applied Surface Science*. 2022, 605: 154835.
- [25] Dufford, R T, Nightingale, D, Gaddum, L W Luminescence of grignard compounds in electric and magnetic fields and related electrical phenomena [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 1927, 49(8): 1858-1864.
- [26] Harvey, N Luminescence during Electrolysis [J]. *The Journal of Physical Chemistry*. 1929, 33(10): 1456-1459.
- [27] Rassaei, L, Xu, G, Ding, Z et al. Electrochemiluminescence: Fundamentals to Applications [J]. *ChemElectroChem*. 2017, 4(7): 1571-1571.
- [28] Hercules, D M Chemiluminescence Resulting from Electrochemically Generated Species [J]. *Science (New York, N.Y.)*. 1964, 145(3634): 808-9.
- [29] Visco, R E, Chandross, E A Electroluminescence in Solutions of Aromatic Hydrocarbons [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 1964, 86(23): 5350-5351.
- [30] Abdussalam, A, Xu, G Recent advances in electrochemiluminescence luminophores [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2021, 44(10): 3117-3142.
- [31] Hesari, M, Ding, Z Review—Electrogenerated Chemiluminescence: Light Years Ahead [J]. *Journal of The Electrochemical Society*. 2015, 163(4): H3116-H3131.
- [32] Ma, C, Cao, Y, Gou, X et al. Recent Progress in Electrochemiluminescence Sensing and Imaging [J]. *Analytical Chemistry*. 2020, 92(1): 431-454.
- [33] Fiorani, A, Difonzo, M, Rizzo, F et al. Versatile electrochemiluminescent organic emitters [J]. *Current Opinion in Electrochemistry*. 2022, 34: 100998.
- [34] Villani, E, Sakanoue, K, Einaga, Y et al. Photophysics and electrochemistry of ruthenium complexes for electrogenerated chemiluminescence [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2022, 921: 116677.
- [35] Wang, C, Liu, S, Ju, H Electrochemiluminescence nanoemitters for immunoassay of protein biomarkers [J]. *Bioelectrochemistry*. 2023, 149: 108281.
- [36] Muzyka, K, Saqib, M, Liu, Z et al. Progress and challenges in electrochemiluminescent aptasensors [J]. *Biosensors and Bioelectronics*. 2017, 92: 241-258.
- [37] Huo, X-L, Zhang, N, Xu, J-J et al. Ultrasensitive electrochemiluminescence immunosensor with wide linear range based on a multiple amplification approach [J]. *Electrochemistry Communications*

- munications. 2019, 98: 33-37.
- [38] Jing, Y, Dalibor, S, Jasmina, V et al. Recent advances in electrochemiluminescence immunosensing [J]. *Sensors & Diagnostics*. 2024, 3: 1887-1898.
- [39] Gao, W, Muzyka, K, Ma, X et al. A single-electrode electrochemical system for multiplex electrochemiluminescence analysis based on a resistance induced potential difference† [J]. *Chemical Science*. 2018, 9: 3911-3916.
- [40] Photochemistry and Light Energy Conversion [J]. *ACS Energy Letters*. 2017, 2(9): 2157-2158.
- [41] Hercules, D M Photoluminescence of solutions with applications to photochemistry and analytical chemistry (Parker, C. A.) [J]. *Journal of Chemical Education*. 1969, 46(6): A449.
- [42] Li, L, Lai, X, Xu, X et al. Determination of bromate via the chemiluminescence generated in the sulfite and carbon quantum dot system [J]. *Microchimica Acta*. 2018, 185: 136.
- [43] Wang, Y, Wang, Z, Liu, Y et al. Pyrogallol Detection Based on the Cobalt Metal–Organic Framework of Nanomaterial-Enhanced Chemiluminescence [J]. *Chemosensors*. 2023, 11(7): 395.
- [44] Richter, M M Electrochemiluminescence (ECL) [J]. *Chemical Reviews*. 2004, 104(6): 3003-3036.
- [45] Hemingway, R E, Park, S-M, Bard, A J Electrogenenerated chemiluminescence. XXI. Energy transfer from an exciplex to a rare earth chelate [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 1975, 97(1): 200-201.
- [46] Leland, J K, Powell, M J Electrogenenerated Chemiluminescence: An Oxidative-Reduction Type ECL Reaction Sequence Using Tripropyl Amine [J]. *Journal of The Electrochemical Society*. 1990, 137(10): 3127.
- [47] Tian, T, Jia, H, Zhang, X et al. Ruthenium based metal–organic frameworks as annihilation electrochemiluminescence emitters coupled with DNA walker mediated signal amplification for sensitive detection of aflatoxin B1 [J]. *Chemical Engineering Journal*. 2025, 506: 159601.
- [48] Zhu, X, Shi, X, Wang, X et al. Surface Charge Redistribution-Induced Electrochemiluminescence Enhancement of Gold Nanoclusters: The Novel Generation of Efficient Illuminants [J]. *Nano Letters*. 2025, 25(6): 2118–2124.
- [49] Yang, X J, Li, R S, Li, C M et al. Cobalt oxyhydroxide nanoflakes with oxidase-mimicking activity induced chemiluminescence of luminol for glutathione detection [J]. *Talanta*. 2020, 215: 120928.
- [50] Karasawa, K, Haraya, S, Okubo, S et al. Novel assay of antibacterial components in manuka honey using lucigenin-chemiluminescence-HPLC [J]. *Analytica Chimica Acta*. 2017, 954: 151-158.
- [51] Katayama, M, Taniguchi, H, Matsuda, Y et al. Liquid chromatographic determination of cyclosporin A using aryl oxalate chemiluminescence detection [J]. *Analytica Chimica Acta*. 1995, 303(2): 333-340.
- [52] Nakazono, M, Hamase, K Strong chemiluminescence intensities of bis-acridinium esters under neutral and alkaline conditions [J]. *Dyes and Pigments*. 2023, 213: 111175.
- [53] Wang, J, Hong, R, Yang, Z et al. Ultrasensitive Electrochemiluminescence Biosensor with ZIF-67@MXene as an Efficient Co-Reaction Accelerator and Plasmonic Nanozyme as a Smart Signal Amplification Probe [J]. *Small*. 2024, 20(50): e2404330.

- [54] Danis, A S, Potts, K P, Perry, S C et al. Combined Spectroelectrochemical and Simulated Insights into the Electrogenerated Chemiluminescence Coreactant Mechanism [J]. *Analytical Chemistry*. 2018, 90(12): 7377-7382.
- [55] Yang, E, Zhang, Y, Shen, Y Quantum dots for electrochemiluminescence bioanalysis - A review [J]. *Analytica Chimica Acta*. 2022, 1209: 339140.
- [56] Russell, R, Stewart, A J, Dennany, L Optimising electrogenerated chemiluminescence of quantum dots via co-reactant selection [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2016, 408(25): 7129-7136.
- [57] Carrara, S, Aliprandi, A, Hogan, C F et al. Aggregation-Induced Electrochemiluminescence of Platinum(II) Complexes [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2017, 139(41): 14605-14610.
- [58] Wang, H Advances in electrochemiluminescence co-reaction accelerator and its analytical applications [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2021, 413(16): 4119-4135.
- [59] Momeni, F, Khoshfetrat, S M, Bagheri, H et al. Ti_3C_2 MXene-based nanozyme as coreaction accelerator for enhancing electrochemiluminescence of glucose biosensing [J]. *Biosensors and Bioelectronics*. 2024, 250: 116078.
- [60] Hussain, A, Bushira, F A, Dong, Z et al. Metal–Organic Framework-Derived High-Entropy Oxides as Coreaction Accelerators for an Efficient Luminol/Dissolved Oxygen Electrochemiluminescence System for Ultrasensitive Mercury Detection [J]. *Analytical Chemistry*. 2024, 96(33): 13504-13511.
- [61] Li, Y, Zhao, Z, Liu, Y et al. CRISPR/Cas System: The Accelerator for the Development of Non-nucleic Acid Target Detection in Food Safety [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2023, 71(37): 13577-13594.
- [62] Shang, L, Dong, S, Nienhaus, G U Ultra-small fluorescent metal nanoclusters: Synthesis and biological applications [J]. *Nano Today*. 2011, 6(4): 401-418.
- [63] Sun, J, Yang, F, Zhao, D et al. Integrated Logic Gate for Fluorescence Turn-on Detection of Histidine and Cysteine Based on Ag/Au Bimetallic Nanoclusters– Cu^{2+} Ensemble [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2015, 7(12): 6860-6866.
- [64] Hu, Y, Guo, W, Wei, H Protein- and Peptide-directed Approaches to Fluorescent Metal Nanoclusters [J]. *Israel Journal of Chemistry*. 2015, 55(6): 682-697.
- [65] Chen, H, Gao, F, He, R et al. Chemiluminescence of luminol catalyzed by silver nanoparticles [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2007, 315(1): 158-163.
- [66] Li, J, Luo, M, Yang, H et al. AuPt Nanodonuts as a Novel Coreaction Accelerator and Lumiphore for a Label-free Electrochemiluminescence Aptasensor [J]. *Analytical Chemistry*. 2023, 95(37): 13838-13843.
- [67] Li, S-F, Zhang, X-M, Du, W-X et al. Chemiluminescence Reactions of a Luminol System Catalyzed by ZnO Nanoparticles [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2009, 113(3): 1046-1051.
- [68] Zeng, Q, Dong, X, Ren, X et al. Signal-Enhanced Immunosensor-Based MOF-Derived ZrO_2 Nanomaterials as Electrochemiluminescence Emitter for D-Dimer Detection [J]. *Analytical Chemistry*. 2023, 95(36): 13596-13604.
- [69] Wang, D M, Zhang, Y, Zheng, L L et al. Singlet Oxygen Involved Luminol Chemiluminescence Catalyzed by Graphene Oxide [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2012, 116(40):

- 21622-21628.
- [70] Li, Z, Ji, S, Liu, Y et al. Well-Defined Materials for Heterogeneous Catalysis: From Nanoparticles to Isolated Single-Atom Sites [J]. *Chemical Reviews*. 2020, 120(2): 623-682.
- [71] Wu, Y, Wang, D, Li, Y Understanding of the major reactions in solution synthesis of functional nanomaterials [J]. *Science China Materials*. 2016, 59(11): 938-996.
- [72] Pei-Feng, H, Kai-Ming, C Size-controlled synthesis of Pd nanoparticles from β -diketonato complexes of palladium [J]. *Nanotechnology*. 2004, 15(8): 1059.
- [73] Wang, Y, He, J, Liu, C et al. Thermodynamics versus Kinetics in Nanosynthesis [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2014, 57(7): 2022-2051.
- [74] Zhang, H, An, P, Zhou, W et al. Dynamic traction of lattice-confined platinum atoms into mesoporous carbon matrix for hydrogen evolution reaction [J]. *Science Advances*. 4(1): eaao6657.
- [75] Trofimovaite, R, Parlett, C M A, Kumar, S et al. Single atom Cu(I) promoted mesoporous titanias for photocatalytic Methyl Orange depollution and H₂ production [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2018, 232: 501-511.
- [76] Xu, H, Jiang, N, Wang, D et al. Improving PMS oxidation of organic pollutants by single cobalt atom catalyst through hybrid radical and non-radical pathways [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2020, 263: 118350.
- [77] Jiao, L, Xu, W, Yan, H et al. Fe–N–C Single-Atom Nanozymes for the Intracellular Hydrogen Peroxide Detection [J]. *Analytical Chemistry*. 2019, 91(18): 11994-11999.
- [78] Ji, S, Chen, Y, Wang, X et al. Chemical Synthesis of Single Atomic Site Catalysts [J]. *Chemical Reviews*. 2020, 120(21): 11900-11955.
- [79] Luo, S, Gao, J, Chen, Y et al. Water dispersible cobalt single-atom catalysts with efficient chemiluminescence enhancement for sensitive bioassay [J]. *Talanta*. 2022, 250: 123732.
- [80] Luo, Z, Xu, W, Wu, Z et al. Iron Single-Atom Catalyst-Enabled Peroxydisulfate Activation Enhances Cathodic Electrochemiluminescence of Tris(bipyridine)ruthenium(II) [J]. *Analytical Chemistry*. 2023, 95(28): 10762-10768.
- [81] Yang, H, Liu, J, Wang, L et al. Metal-organic framework as a mimetic enzyme with excellent adaptability for sensitive chemiluminescence detection of glutathione in cell lysate [J]. *Talanta*. 2022, 238: 123041.
- [82] Wei, Z, Zhu, W, Li, Y et al. Conductive Leaflike Cobalt Metal–Organic Framework Nanoarray on Carbon Cloth as a Flexible and Versatile Anode toward Both Electrocatalytic Glucose and Water Oxidation [J]. *Inorganic Chemistry*. 2018, 57(14): 8422-8428.
- [83] Zhu, G, Wen, H, Ma, M et al. A self-supported hierarchical Co-MOF as a supercapacitor electrode with ultrahigh areal capacitance and excellent rate performance [J]. *Chemical Communications*. 2018, 54(74): 10499-10502.
- [84] Gao, Y, Li, M, Zeng, Y et al. Tunable Competitive Absorption-Induced Signal-On Photoelectrochemical Immunoassay for Cardiac Troponin I Based on Z-Scheme Metal–Organic Framework Heterojunctions [J]. *Analytical Chemistry*. 2022, 94(39): 13582-13589.
- [85] Du, D, Shu, J, Guo, M et al. Potential-Resolved Differential Electrochemiluminescence Immunosensor for Cardiac Troponin I Based on MOF-5-Wrapped CdS Quantum Dot Nanoluminophores [J]. *Analytical Chemistry*. 2020, 92(20): 14113-14121.
- [86] Chai, H, Yu, K, Zhao, Y et al. MOF-On-MOF Dual Enzyme-Mimic Nanozyme with Enhanced

- ed Cascade Catalysis for Colorimetric/Chemiluminescent Dual-Mode Aptasensing [J]. *Analytical Chemistry*. 2023, 95(28): 10785-10794.
- [87] Wu, Z, Wang, C, Luo, Z et al. Peroxymonosulfate Activation on Synergistically Enhanced Single-Atom Co/Co@C for Boosted Chemiluminescence of Tris(bipyridine) Ruthenium(II) Derivative [J]. *Analytical Chemistry*. 2022, 94(18): 6866-6873.
- [88] Dang, P, Liu, X, Ju, H et al. Intensive and Persistent Chemiluminescence System Based on Nano-/Bioenzymes with Local Tandem Catalysis and Surface Diffusion [J]. *Analytical Chemistry*. 2020, 92(7): 5517-5523.
- [89] Peng, Y, Yu, L, Sheng, M et al. Room-Temperature Synthesized Iron/Cobalt Metal–Organic Framework Nanosheets with Highly Efficient Catalytic Activity toward Luminol Chemiluminescence Reaction [J]. *Analytical Chemistry*. 2023, 95(50): 18436-18442.
- [90] Wang, S, Zhao, Y, Wang, M et al. Enhancing Luminol Electrochemiluminescence by Combined Use of Cobalt-Based Metal Organic Frameworks and Silver Nanoparticles and Its Application in Ultrasensitive Detection of Cardiac Troponin I [J]. *Analytical Chemistry*. 2019, 91(4): 3048-3054.
- [91] Jiao, L, Xu, W, Wu, Y et al. Single-atom catalysts boost signal amplification for biosensing [J]. *Chem. Soc. Rev.* 2021, 50(2): 750-765.
- [92] Wang, Y, Zhao, G, Chi, H et al. Self-Luminescent Lanthanide Metal-Organic Frameworks as Signal Probes in Electrochemiluminescence Immunoassay [J]. *J. Am. Chem. Soc.* 2021, 143(1): 504-512.
- [93] Liu, Z, Qi, W, Xu, G Recent advances in electrochemiluminescence [J]. *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44(10): 3117-3142.
- [94] Jia, Y, Du, Y, Ru, Z et al. Aggregation-Induced Electrochemiluminescence Frame of Silica-Confined Tetraphenylethylene Derivative Matrixes for CD44 Detection via Peptide Recognition [J]. *Anal. Chem.* 2023, 95(16): 6725-6731.
- [95] Jia, Y, Ren, X, Zhang, X et al. Encapsulation of Tetraphenylethylene Derivative in Liposome Vesicles as Promising Aggregation-Induced Electrochemiluminescence Emitter for Detection of Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 [J]. *Anal. Chem.* 2023, 95(24): 9139-9144.
- [96] Yang, Z-H, Yin, J, Xin, L et al. Research advancement of DNA-based intelligent hydrogels: Manufacture, characteristics, application of disease diagnosis and treatment [J]. *Chinese Chemical Letters*. 2024, 35(10): 109558.
- [97] Xue, J-W, Xu, C-H, Zhao, W et al. Photoinduced Electrogenenerated Chemiluminescence Imaging of Plasmonic Photoelectrochemistry at Single Nanocatalysts [J]. *Nano Lett.* 2023, 23(10): 4572-4578.
- [98] Xue, J-W, Xu, C-H, Zhao, W et al. Unveiling the Dynamic Electrocatalytic Activity of Online Synthesized Bimetallic Nanocatalysts via Electrochemiluminescence Microscopy [J]. *Nano Lett.* 2024, 24(15): 4665-4671.
- [99] Liang, W, Wang, M, Ma, C et al. NiCo-LDH Hollow Nanocage Oxygen Evolution Reaction Promotes Luminol Electrochemiluminescence [J]. *Small*. 2023, 20(11): 2306473.
- [100] Shang, L, Shi, B-J, Zhang, W et al. Ratiometric Electrochemiluminescence Sensing of Carcinoembryonic Antigen Based on Luminol [J]. *Anal. Chem.* 2022, 94(37): 12845-12851.
- [101] Liu, G, Ling, J, Li, J Extremely Sensitive Molecularly Imprinted ECL Sensor with Multiple Probes Released from Liposomes Immobilized by a Light-Triggered Click Reaction [J]. *ACS S*

- sensors. 2021, 6(11): 4185-4192.
- [102] Gu, W, Wang, H, Jiao, L et al. Single-Atom Iron Boosts Electrochemiluminescence [J]. *Angewandte Chemie-International Edition*. 2020, 59(9): 3534-3538.
- [103] Pan, C, Wu, F, Mao, J et al. Highly Stable and Selective Sensing of Hydrogen Sulfide in Living Mouse Brain with NiN₄ Single-Atom Catalyst-Based Galvanic Redox Potentiometry [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2022, 144(32): 14678-14686.
- [104] Ren, X, Shao, M, Xie, Z et al. A Co-Reactive Immunosensor Based on Ti₃C₂T_x MXene@TiO₂-MoS₂ Hybrids Promoting luminol@Au@Ni-Co NCs Electrochemiluminescence for CYFRA 21-1 Detection [J]. *ACS Sensors*. 2024, 9(4): 1992-1999
- [105] Lei, Y-M, Wu, D, Pan, M-C et al. Dynamic surface reconstruction of individual gold nanoclusters by using a co-reactant enables color-tunable electrochemiluminescence [J]. *Chemical Science*. 2024, 15(9): 3255-3261
- [106] Yuan, K, Tao, K, Song, T et al. Large-Area Conductive MOF Ultrathin Film Controllably Integrating Dinuclear-Metal Sites and Photosensitizers to Boost Photocatalytic CO₂ Reduction with H₂O as an Electron Donor [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2024, 146(10): 6893-6904.
- [107] Yaghi, O M, Li, G, Li, H Selective binding and removal of guests in a microporous metal-organic framework [J]. *Nature*. 1995, 378(6558): 703-6.
- [108] Cui, L, Yang, Y, Jiang, S et al. Exogenous Co-Reactant-Free Electrochemiluminescent Biosensor for Ratiometric Measurement of α -Glucosidase Based on a ZIF-67-Regulated Hydrogen-Bonded Organic Framework [J]. *ACS Sensors*. 2024, 9(2): 1023-1030
- [109] Gao, H, Wei, X, Li, M et al. Co-Quenching Effect between Lanthanum Metal-Organic Frameworks Luminophore and Crystal Violet for Enhanced Electrochemiluminescence Gene Detection [J]. *Small*. 2021, 17(45): 2103424.
- [110] Lu, Y, Huang, X, Wang, S et al. Nanoconfinement-Enhanced Electrochemiluminescence for in Situ Imaging of Single Biomolecules [J]. *ACS Nano*. 2023, 17(4): 3809-3817.
- [111] Huang, X, Li, B, Lu, Y et al. Direct Visualization of Nanoconfinement Effect on Nanoreactor via Electrochemiluminescence Microscopy [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2022, 62(6): 15078.
- [112] Feng, A, Yu, Y, Wang, Y et al. Two-dimensional MXene Ti₃C₂ produced by exfoliation of Ti₃AlC₂ [J]. *Materials & Design*. 2017, 23(37): 4248-4253.
- [113] Lu, Y, Fan, D, Chen, Z et al. Anchoring Co₃O₄ nanoparticles on MXene for efficient electrocatalytic oxygen evolution [J]. *Science Bulletin*. 2020, 65(6): 460-466.
- [114] Pang, J, Mendes, R G, Bachmatiuk, A et al. Applications of 2D MXenes in energy conversion and storage systems [J]. *Chemical Society Reviews*. 2019, 48(1): 72-133.
- [115] Xie, D, Ma, Y, Gu, Y et al. Bifunctional NH₂-MIL-88(Fe) metal-organic framework nanooctahedra for highly sensitive detection and efficient removal of arsenate in aqueous media [J]. *Journal of Materials Chemistry A*. 2017, 5(45): 23794-23804.
- [116] Jang, J-S, Koo, W-T, Kim, D-H et al. In Situ Coupling of Multidimensional MOFs for Heterogeneous Metal-Oxide Architectures: Toward Sensitive Chemiresistors [J]. *Acs Central Science*. 2018, 4(7): 929-937.
- [117] Liu, C, Feng, W, Bai, Y et al. Compositing MXenes with hierarchical ZIF-67/cobalt hydroxide via controllable in situ etching for a high-performance supercapacitor [J]. *Inorganic Chem*

- istry Frontiers. 2022, 9(21): 5463-5468.
- [118] Chen, Q, Zhang, X, Li, S et al. MOF-derived $\text{Co}_3\text{O}_4@\text{Co-Fe}$ oxide double-shelled nanocages as multi- functional specific peroxidase-like nanozyme catalysts for chemo/biosensing and dye degradation [J]. Chemical Engineering Journal. 2020, 395: 125130.
- [119] Lv, Z, Ma, W, Wang, M et al. Co-Constructing Interfaces of Multiheterostructure on MXene ($\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$)-Modified 3D Self-Supporting Electrode for Ultraefficient Electrocatalytic HER in Alkaline Media [J]. Advanced Functional Materials. 2021, 31(29): 2102576.
- [120] Meng, X, Wang, J, Diao, L et al. Construction of Multi-Mode Photoelectrochemical Immunoassays for Accurate Detection of Cancer Markers: Assisted with MOF-Confined Plasmonic Nanozyme [J]. Analytical Chemistry. 2024, 96(3): 1336-1344.
- [121] Bai, Q, Liang, M, Wu, W et al. Plasmonic Nanozyme of Graphdiyne Nanowalls Wrapped Hollow Copper Sulfide Nanocubes for Rapid Bacteria-Killing [J]. Advanced Functional Materials. 2022, 32(20): 2112683.
- [122] Liao, X, Xu, Q, Sun, H et al. Plasmonic Nanozymes: Localized Surface Plasmonic Resonance Regulates Reaction Kinetics and Antibacterial Performance [J]. The Journal of Physical Chemistry Letters. 2022, 32(20): 2112683.
- [123] Li, C, Hang, T, Jin, Y Atomically Fe-anchored MOF-on-MOF nanozyme with differential signal amplification for ultrasensitive cathodic electrochemiluminescence immunoassay [J]. Exploration (Beijing, China). 2023, 3(4): 20220151-20220151.
- [124] Dong, J, Lu, Y, Xu, Y et al. Direct imaging of single-molecule electrochemical reactions in solution [J]. Nature. 2021, 596(7871): 244-249.
- [125] Binxiao, L, Yanwei, L, Xuedong, H et al. Stimuli-Responsive DNA Nanomachines for Intracellular Targeted Electrochemiluminescence Imaging in Single Cells [J]. Angewandte Chemie International Edition. 2024, 64(6): e202421658.
- [126] Chen, X, Su, C, Yang, Y et al. Clinical Evaluation of the HER2 Extracellular Domain in Breast Cancer Patients by Herceptin-Encapsulated Gold Nanocluster Probe-Based Electrochemiluminescence Immunoassay [J]. Analytical Chemistry. 2025, 97(1): 872-879.
- [127] Zhu, Z T, Zeng, C Q, Zhao, Y Q et al. Precise Modulation of Intramolecular Aggregation-induced Electrochemiluminescence by Tetraphenylethylene-based Supramolecular Architectures [J]. Angewandte Chemie-International Edition. 2023, 62(46): e202312692.
- [128] Yu, S Q, Du, Y, Niu, X H et al. Arginine-modified black phosphorus quantum dots with dual excited states for enhanced electrochemiluminescence in bioanalysis [J]. Nature Communications. 2022, 13(1): 7302.
- [129] Sun, Q, Ning, Z Q, Yang, E R et al. Ligand-induced Assembly of Copper Nanoclusters with Enhanced Electrochemical Excitation and Radiative Transition for Electrochemiluminescence [J]. Angewandte Chemie-International Edition. 2023, 62(44): e202312053.
- [130] Ying, W, Ding, J, Yuqing, B et al. Self-Photocatalysis Boosted Electrochemiluminescence System of Pyrene Based Hydrogen-Bonded Organic Framework: Oxygen-Vacancy Mediated Adsorption and Peroxydisulfate Radical Activation [J]. Advanced Functional Materials. 2024, 34: 2417733.
- [131] Chen, J-J, Pan, M-Q, Cao, W-W et al. Solvent Regulation Induced Cathode Aggregation-Induced Electrochemiluminescence of Tetraphenylethylene Nanoaggregates for Ultrasensitive Zearalenone Analysis [J]. Analytical Chemistry. 2024, 96(22): 9043-9050.

- [132] Han, T T, Cao, Y, Wang, J et al. Crystallization-Induced Enhanced Electrochemiluminescence from a New Tris(bipyridine)ruthenium(II) Derivative [J]. *Advanced Functional Materials*. 2023, 33(12): 2212394.
- [133] Wei, X, Zhu, M J, Cheng, Z et al. Aggregation-Induced Electrochemiluminescence of Carboranyl Carbazoles in Aqueous Media [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2019, 58(10): 2907-3226.
- [134] Xing, H, Tian, S, Zhou, Z et al. Rapid Preparation of a Self-Luminous Cd-Based Metal–Organic Framework Using AIEgen Ligands for High-Performance Electrochemiluminescence [J]. *Analytical Chemistry*. 2024, 96(47): 18781-18789.
- [135] Yaghi, O M, Li, G, Li, H Selective binding and removal of guests in a microporous metal–organic framework [J]. *Nature*. 1995, 378(6558): 703-706.
- [136] He, B, Zhang, Q, Pan, Z et al. Freestanding Metal–Organic Frameworks and Their Derivatives: An Emerging Platform for Electrochemical Energy Storage and Conversion [J]. *Chemical Reviews*. 2022, 122(11): 10087-10125.
- [137] He, B, Zhang, Q, Pan, Z et al. Freestanding Metal–Organic Frameworks and Their Derivatives: An Emerging Platform for Electrochemical Energy Storage and Conversion [J]. *Chemical Reviews*. 2022, 62(6): e202215078.
- [138] Li, B, Huang, X, Lu, Y et al. High Electrochemiluminescence from Ru(bpy)₃²⁺ Embedded Metal–Organic Frameworks to Visualize Single Molecule Movement at the Cellular Membrane [J]. *Advanced Science*. 2022, 9(35): 2204715.
- [139] Xu, H, Shi, Z-X, Tong, Y-X et al. Porous Microrod Arrays Constructed by Carbon-Confined NiCo@NiCoO₂ Core@Shell Nanoparticles as Efficient Electrocatalysts for Oxygen Evolution [J]. *Advanced Materials*. 2018, 30(21): 1705442.
- [140] Liu, T, Xiao, S, Li, N et al. Water decontamination via nonradical process by nanoconfined Fenton-like catalysts [J]. *Nature Communications*. 2023, 14(1): 2881.
- [141] Han, Z, Sang, Y, Zhao, Y et al. Rigid Enhanced Electrochemiluminescence of 1,2,3-Triaryl Indenes as an Ultrasensitive Sensor for D₂O in H₂O [J]. *Analytical Chemistry*. 2022, 94(39): 13607-13615.
- [142] Fu, H, Xu, Z, Liu, T et al. In situ coordination interactions between metal-organic framework nanoemitters and coreactants for enhanced electrochemiluminescence in biosensing [J]. *Biosensors and Bioelectronics*. 2023, 222: 114920.
- [143] Zhang, Y, Chen, Y, Nie, Y et al. Highly Efficient Aggregation-Induced Electrochemiluminescence of Al(III)-Cbatpy Metal–Organic Gels Obtained by Ultrarapid Self-Assembly for a Biosensing Application [J]. *Analytical Chemistry*. 2022, 94(35): 12196-12203.
- [144] Wang, Z-J, Li, Q, Tan, L-L et al. Metal–Organic Frameworks-Mediated Assembly of Gold Nanoclusters for Sensing Applications [J]. *Journal of Analysis and Testing*. 2022, 6(2): 163-177.
- [145] Jia, Y, Zhu, M, Zhang, X et al. Nanobody-Based Microfluidic Immunosensor Chip Using Tetraphenylethylene-Derived Covalent Organic Frameworks as Aggregation-Induced Electrochemiluminescence Emitters for the Detection of Thymic Stromal Lymphopoietin [J]. *Analytical Chemistry*. 2024, 96(25): 10116-10120.
- [146] Anson, F C Innovations in the Study of Adsorbed Reactants by Chronocoulometry [J]. *Analytical Chemistry*. 1966, 38(1): 54-57.

- [147] Anson, F C. Innovations in the Study of Adsorbed Reactants by Chronocoulometry [J]. *Analytical Chemistry*. 1966, 38(1): 54-57.
- [148] Hu, H, Wang, Z, Cao, L et al. Metal-organic frameworks embedded in a liposome facilitate overall photocatalytic water splitting [J]. *Nature Chemistry*. 2021, 13(4): 358-366.
- [149] Wang, Q, Ai, Z, Guo, Q et al. Photo-Enhanced Chemo-Transistor Platform for Ultrasensitive Assay of Small Molecules [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2023, 145(18): 10035-10044.
- [150] Moro, G, Fratte, C D, Normanno, N et al. Point-of-Care Testing for the Detection of Micro RNAs: Towards Liquid Biopsy on a Chip [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2023, 62(51): 1433-7851.
- [151] Li, S, Jiang, Y, Huang, R et al. DNA-mediated chemiluminescence bioassays [J]. *Trends in Analytical Chemistry*. 2024, 119(43): 117720.
- [152] Zheng, T, Nie, W, Yu, L et al. A chemical timer approach to delayed chemiluminescence [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2022, 119(43): e2207693119.
- [153] Abdussalam, A, Liu, H, Mostafa, I M et al. VS₄ Nanodendrites with Narrow Bandgaps in Activating Dissolved Oxygen for Boosted Chemiluminescence and Hemin Detection by Unexpected Quenching [J]. *Analytical Chemistry*. 2024, 96(27): 10920-10926.
- [154] Liu, J, Huang, J, Wei, X et al. Near-Infrared Chemiluminescence Imaging of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy [J]. *Advanced Materials*. 2023, 36(11): 2310605.
- [155] Ji, K, Xia, S, Sang, X et al. Enhanced Luminol Chemiluminescence with Oxidase-like Properties of FeOOH Nanorods for the Sensitive Detection of Uric Acid [J]. *Analytical Chemistry*. 2023, 95(6): 3267-3273.
- [156] Zhao, L, Xu, J, Xiong, L et al. Recent development of chemiluminescence for bioanalysis [J]. *Trends in Analytical Chemistry*. 2023, 166: 117213.
- [157] Liu, H, Liu, F, Ji, K et al. Much Stronger Chemiluminescence of 9-Mesityl-10-methylacridinium Ion than Lucigenin at Neutral Conditions for Co²⁺ Detection [J]. *Analytical Chemistry*. 2023, 95(36): 13614-13619.
- [158] Wei, X, Huang, J, Zhang, C et al. Highly Bright Near-Infrared Chemiluminescent Probes for Cancer Imaging and Laparotomy [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2022, 62(8): e202213791.
- [159] Mao, Q, Fang, J, Wang, A et al. Aggregation of Gold Nanoparticles Triggered by Hydrogen Peroxide-Initiated Chemiluminescence for Activated Tumor Theranostics [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2021, 60(44): 23805-23811.
- [160] Sun, R, Li, Y, Du, T et al. Recent advances in integrated dual-mode optical sensors for food safety detection [J]. *Trends in Food Science & Technology*. 2023, 135: 14-31.
- [161] Xu, E, Yang, H, Li, P et al. Dual-mode detection of PARP-1 by fluorescence and chemiluminescence [J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*. 2021, 330: 129288.
- [162] Li, H, Cai, Q, Xue, Y et al. HOF-101-based dual-mode biosensor for photoelectrochemical/electrochemiluminescence detection and imaging of oxytetracycline [J]. *Biosensors & Bioelectronics*. 2024, 245: 343286.
- [163] Wang, Y, Li, J, Liu, H et al. Single-Probe-Based Colorimetric and Photothermal Dual-Mode Identification of Multiple Bacteria [J]. *Analytical Chemistry*. 2023, 95(5): 3037-3044.

- [164] Chen, H-Y, Xin, P-L, Xu, H-B et al. Self-Assembled Plasmonic Nanojunctions Mediated by Host-Guest Interaction for Ultrasensitive Dual-Mode Detection of Cholesterol [J]. *ACS Sensors*. 2023, 8(1): 388–396.
- [165] Han, Q, Zhao, X, Na, N et al. Integrating Near-Infrared Visual Fluorescence with a Photoelectrochemical Sensing System for Dual Readout Detection of Biomolecules [J]. *Analytical Chemistry*. 2021, 93(7): 3486–3492.
- [166] Yi, Z, Xiao, S, Kang, X et al. Bifunctional MOF-Encapsulated Cobalt-Doped Carbon Dots Nanozyme-Powered Chemiluminescence/Fluorescence Dual-Mode Detection of Aflatoxin B1 [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2024, 16(13): 16494–16504.
- [167] Han, T, Ma, C, Wang, L et al. A Novel Electrochemiluminescence Janus Emitter for Dual-Mode Biosensing [J]. *Advanced Functional Materials*. 2022, 32(24): 2200863.
- [168] Yuan, K, Tao, K, Song, T et al. Large-Area Conductive MOF Ultrathin Film Controllably Integrating Dinuclear-Metal Sites and Photosensitizers to Boost Photocatalytic CO₂ Reduction with H₂O as an Electron Donor [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2024, 146(10): 6893–6904.
- [169] He, B, Zhang, Q, Pan, Z et al. Freestanding Metal-Organic Frameworks and Their Derivatives: An Emerging Platform for Electrochemical Energy Storage and Conversion [J]. *Chemical Reviews*. 2022, 122(11): 10087–10125.
- [170] Wei, L, Deng, W, Li, S et al. Sandwich-like chitosan porous carbon Spheres/MXene composite with high specific capacitance and rate performance for supercapacitors [J]. *Journal of Bioresources and Bioproducts*. 2022, 7(1): 63-72.
- [171] Zhao, X, Yang, Z, Niu, R et al. MIL-101(CuFe) Nanozymes with Excellent Peroxidase-like Activity for Simple, Accurate, and Visual Naked-Eye Detection of SARS-CoV-2 [J]. *Analytical Chemistry*. 2022, 95(2): 1731-1738.
- [172] Xie, F, Yu, L, Wang, H et al. Metal-Organic Frameworks for C₆ Alkane Separation [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2023, 62(20): e202300722.
- [173] Guo, J, Zhang, Y, Zhu, Y et al. Ultrathin Chiral Metal-Organic-Framework Nanosheets for Efficient Enantioselective Separation [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2018, 57(23): 6873-6877.
- [174] Huang, J, Hong, X, Chen, S et al. Biomimetic Metal-Organic Framework Gated Nanoplatfor m for Sonodynamic Therapy against Extensively Drug Resistant Bacterial Lung Infection [J]. *Advanced Science*. 2024, 11(33): 2402473.
- [175] Bao, J, Wang, J, Chen, S et al. Coordination Self-Assembled AuTPyP-Cu Metal-Organic Framework Nanosheets with pH/Ultrasound Dual-Responsiveness for Synergistically Triggering Cuproptosis-Augmented Chemotherapy [J]. *ACS Nano*. 2024, 18(12): 9100-9113.
- [176] Zhang, C, Xie, C, Gao, Y et al. Charge Separation by Creating Band Bending in Metal-Organic Frameworks for Improved Photocatalytic Hydrogen Evolution [J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2022, 61(28): e202204108.
- [177] Lustig, W P, Mukherjee, S, Rudd, N D et al. Metal-organic frameworks: functional luminescent and photonic materials for sensing applications [J]. *Chemical Society Reviews*. 2017, 46(11): 3242-3285.
- [178] Lv, S, Tang, Y, Zhang, K et al. Wet NH₃-Triggered NH₂-MIL-125(Ti) Structural Switch for Visible Fluorescence Immunoassay Impregnated on Paper [J]. *Analytical Chemistry*. 2018, 90

- (24): 14121-14125.
- [179] Li, S, Jiang, Y, Huang, R et al. DNA-mediated chemiluminescence bioassays [J]. Trends in Analytical Chemistry. 2024, 62: 117720.
- [180] Liu, M, He, Y, Zhou, J et al. A "naked-eye" colorimetric and ratiometric fluorescence probe for uric acid based on Ti_3C_2 MXene quantum dots [J]. Analytica Chimica Acta. 2020, 1103: 134-142.
- [181] Liu, H, Chen, Q, Cheng, X et al. Sustainable and scalable in-situ fabrication of Au nanoparticles and Fe_3O_4 hybrids as highly efficient electrocatalysts for the enzyme-free sensing of H_2O_2 in neutral and basic solutions [J]. Sensors and Actuators B: Chemical. 2020, 314: 128067.
- [182] Mohapatro, U, Mishra, L, Mishra, M et al. Zn-CD@Eu Ratiometric Fluorescent Probe for the Detection of Dipicolinic Acid, Uric Acid, and Ex Vivo Uric Acid Imaging [J]. Analytical Chemistry. 2024, 96(21): 8630-8640.
- [183] Zhang, N, Gao, Y, Sheng, K et al. Ferric iron loaded porphyrinic zirconium MOFs on corn cob for the enhancement of diuretics extraction [J]. Chemosphere. 2022, 301: 134694.
- [184] Li, C, Hang, T, Jin, Y Atomically Fe-anchored MOF-on-MOF nanozyme with differential signal amplification for ultrasensitive cathodic electrochemiluminescence immunoassay [J]. Exploration. 2023, 3(4): 20220151.
- [185] Bushira, F A, Kitte, S A, Xu, C et al. Two-Dimensional-Plasmon-Boosted Iron Single-Atom Electrochemiluminescence for the Ultrasensitive Detection of Dopamine, Hemin, and Mercury [J]. Analytical Chemistry. 2021, 93(28): 9949-9957.

攻读学位期间发表的学术论文目录

1. **Wang, J.**; Hong, R.; Yang, Z.; Meng, X. X.; Wu, R.; Liu, Z. Z.; Li, C. P*.
Ultrasensitive Electrochemiluminescence Biosensor with ZIF-67@MXene as an
Efficient Co-reaction Accelerator and Plasmonic Nanozyme as a Smart Signal
Amplification Probe, **Small**. 2024, 2404330.
2. **Wang, J.**; He, S, J.; Zhang, H, Y.; Yang, Z.; Liu, Z, G.; Yu, H, X.; Li, C. P*.
Atomically Fe(III) Anchored Metal-Organic Frameworks-based Fluorescent
Nanozyme for Smartphone-Adopted Chemiluminescence- Fluorescence
Dual-Mode Analysis of Uric Acid, **Analytica. Chimica. Acta**. 2024, 343286.
3. Li, C. P.; Yang, Z.; **Wang, J.**; Cheng, H.; Liu, J. X.; Ding ,Y. J.; Zhu, J. J*.
Nanoconfinement-Enhanced Aggregation-Induced Electrochemiluminescence
for Smartphone-Adopted Imaging Analysis of cTnI, **Advanced Functional
Materials**. 2025,1616-3028.
4. 李传平, 王晶, 杨震, 刘志国. 一种高活性 CoNi 层状双氢氧化物纳米
材料的制备及其在化学发光检测领域的应用。
5. Meng, X. X.; **Wang, J.**; Diao, L. L.; Chuanping Li*. Construction of Multi-Mode
Immunoassays for Accurate Detection of Cancer Markers: Assisted with
MOFs-Confined Plasmonic Nanozyme, **Analytical Chemistry**. 2024,
1336–1344.
6. Meng, X. X.; **Wang, J.**; Yang, Z.; Liu, Z. G.; Chuanping Li*. Construction of smart
phone-adapted signal visualization platform for dual-mode detection of H₂S
based on an integrated metal-organic framework nanoprobe, **Talanta**. 2024,
125517.

致谢

硕士三年，感谢父母的支持；感谢李传平老师的指导；感谢好姐妹冯林梦、春美洁、宋艳芳、男朋友张四业的鼓励；感谢室友陈思齐、王聪、王江花的陪伴；还有实验室师弟师妹杨震、刘金鑫、程浩、刘志国时不时的投喂和鼓励。最后感谢努力的自己，顺利毕业！