

基于分子印记技术和荧光、磷光检测的 仿生分子识别方法

许金钧, 朱庆枝

(厦门大学化学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 介绍了分子印记技术的原理、方法及其在仿生分子识别中的应用, 对基于荧光和磷光检测有仿生分子识别的发展前景进行了展望。

关键词: 分子印记高分子; 分子识别; 荧光; 磷光

中图分类号: O657.3

文献标识码: A

1 生物分子识别的局限性

生物分子识别是生命科学的重要研究内容之一, 它主要包括抗体对抗原、酶对底物以及激素对受体的识别等, 其特点是专一性高、干扰少。目前生物分子识别及其相关技术, 如免疫分析、酶技术等, 以其分析的高特异性和高灵敏度, 已广泛地应用于临床检验、药物分析、环境评价、食品检验以及基因诊断等领域。但是, 生物分子识别系统是建立在一些脆弱的生物活性物质识别单元基础上(如抗体、酶等), 这些生物活性物质易失活, 缺乏保存和操作的稳定性, 并且在制备和纯化等方面条件苛刻, 操作繁琐, 费时费力。这在很大程度上限制了生物分子识别的进一步应用。

2 基于分子印记技术的仿生分子识别

近年来出现的分子印记高分子(molecular imprinting polymer, MIP)为克服上述生物抗体和酶的局限性提供了强有力的工具。MIP的制备是建立在简单的分子印记技术基础之上: 首先将模板分子(待测物)和一些功能型配体混合, 使功能型配体通过弱的分子间作用力(如氢键、静电作用、疏水作用)或可逆共价结合方式和模板分子配合, 进行分子自组装。然后加入高分子单体和交联剂, 通过自由基聚合反应将自组装的功能型配体在空间上加以固定, 将高分子粉碎后, 利用洗脱或萃取方式除去高分子基质中的模板分子。这样, 在高分子基质中就形成了在三维空间大小、形状以及功能配体都与模板分子互补的分子印记微腔, 所制成的MIP被称为“塑料抗体”或“人工抗体”, 可实现对模板分子的特异性识别。这种特异性可以和多克隆抗体相媲美。

和天然抗体相比, MIP具有以下优点: ①耐热、耐酸、耐碱、抗有机溶剂以及金属离子, 稳定性好, 室温下可以长期保存; ②制备简单, 操作方便, 可以进行批量生产; ③不必免疫动物, 且可获得免疫动物所不能得到的“抗体”; ④可以反复使用; ⑤价格低廉。

收稿日期: 1999-06-17

作者简介: 许金钧(1937-), 男, 教授, 博士生导师。

因此，设计、合成既具有类似生物抗体的高亲合性和高专一性，又具有耐热、耐酸、耐碱且又可以长期稳定的人工抗体，在部分领域替代生物抗体以进行仿生分子识别，或者完成一些生物抗体所不能完成的工作，具有重要的科学意义，在化学、生命科学和环境科学等方面具有广阔的应用前景。

3 基于分子印记技术和荧光、磷光检测的仿生分子识别方法的发展前景

分子印记技术的原理虽已提出多年，但直到1993年Mosbach等在Nature上发表分子印记的“塑料抗体”和仿生免疫分析后，这一技术才迅速发展起来，国外有关MIP分子识别的报道一直呈指数上升趋势。MIP前期工作主要集中在制备手性物质的分离材料方面。MIP人工抗体及仿生分子识别是当前国外MIP研究的热点之一，已用于环境污染物、药物、氨基酸、手性分子、核苷酸等多种物质的测定。迄今，虽然有关基于MIP的仿生荧光分子识别的报道还很少，所建立的方法和体系十分有限，且大都局限于荧光物质的直接分子识别。磷光法分子识别则尚未见报道。采用仿生免疫分析方法的报道不多，且都局限于小分子物质（抗原）的测定，虽已报道了有关大分子抗原（如蛋白）的MIP人工抗体的制备，但还没有建立其仿生免疫分析体系。在已建立的小分子仿生免疫分析方法中，绝大部分仍然是采用放射同位素标记，直到最近才见到以香豆素衍生物为荧光探针的仿生荧光免疫分析的报道。

近年，国内已开始从事仿生聚合物的制备及分子识别的研究，但目前的工作主要集中在手性物质分离的固定相的制备、制备金属离子为模板分子的聚合物用以进行某些金属离子的选择性吸附、以及药物模板聚合物分子识别特性的初步研究，尚未涉及荧光和磷光仿生分子识别、仿生免疫分析以及分子印记模拟酶等方面的研究工作。

上述情况表明，基于分子印记技术和荧光、磷光检测的仿生分子识别方法，有着十分宽阔的研究空间和良好的发展前景。例如，可利用分子印记技术，开展以下几方面的研究工作：小分子尤其是手性分子的荧光法仿生分子识别，或采用能量转移或其它手段的间接荧光法进行非荧光物质的分子识别；制备生物大分子抗原的MIP人工抗体并采用荧光标记后进行仿生荧光免疫分析；探索产生室温磷光的新途径并用于仿生分子识别等等。我们课题组已利用卵清白蛋白为模板分子，制备出了它的MIP人工抗体。该人工抗体只选择性地结合卵清白蛋白和荧光素标记的卵清白蛋白，对人血清白蛋白和牛血清白蛋白则没有响应，表现出了良好的“抗体”对抗原的特异性识别。

参考文献：

- [1] Vlatakis G, Andersson L I, Muller R, et al. Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting [J]. Nature, 1993, 361, 645~647.
- [2] Flam F. Molecular imprints make a mark [J]. Science, 1994, 263, 1221~1222.
- [3] Mosbach K, Remstrom O. The emerging technique of molecular imprinting and its future impact on biotechnology [J]. Bio Technology, 1996, 14, 163.
- [4] Kriz D, Ramstrom O, Mosbach K. Molecular imprinting—New possibilities for sensor technology [J]. Anal Chem, 1997, 69, A345~A349.
- [5] Turkewitsch P, Wandelt B, Darling G D, et al. Fluorescent functional recognition sites through molecular imprinting. A polymer-based fluorescent chemosensor for aqueous cAMP [J]. Anal Chem, 1998, 70, 2025~2030.

- [6] Haupt K, Dzgoev A, Mosbach K. Assay system for the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid using a molecularly imprinted polymer as an artificial [J]. *Anal Chem*, 1998, 70: 628 ~ 631.
- [7] Haupt K, mayes A G, Mosbach K. Herbicide assay using an imprinted polymer based on system analogous to competitive fluoroimmunoassay [J]. *Anal Chem*, 1998, 70: 3936 ~ 3939.
- [8] Spivak D A, Shea K J. Binding of nucleotide bases by imprinted polymer [J]. *Macromolecules*, 1998, 31: 2160 ~ 2165.
- [9] Ansell R J, Ramstrom O, Mosbach K. Towards artificial antibodies prepared by molecular imprinting [J]. *Clin Chem*, 1996, 42: 1506 ~ 1512.
- [10] Yano K, Tanabe K, Takeuchi T, et al. Molecularly imprinted polymers which mimic multiple hydrogen bonds between nucleotides bases [J]. *Anal Chim Acta*, 1998, 363: 111 ~ 117.
- [11] Hierten S, Liao J L, Nakazato K, et al. Gel mimicking antibodies in their selective recognition of proteins [J]. *Chromatographia*, 1997, 44: 227 ~ 234.
- [12] 黄文强, 韩丽君, 郭贤权, 等. 仿生聚合物制备及其分子识别作用 [J]. *离子交换与吸附*, 1996, 12 (6): 563 ~ 570.
- [13] 孟子晖, 王清海, 朱道乾, 等. 分子烙印法在手性分离中的应用 [J]. *分析化学*, 1997, 25 (3): 349 ~ 354.
- [14] ZHU Qing-zhi, XU Jin-gou. *Chem J of Chinese Univ* [J], 1999, 20 (Supplement), 411.

Molecular Imprinting—Based Biomimetic Molecular Recognition with Fluorescence or Phosphorescence Detection

XU Jin-gou, ZHU Qing-zhi

(Department of Chemistry, Xiamen University, Fujian Xiamen 361005, China)

Abstract: The basic principle of molecular imprinting—based biomimetic molecular recognition was concisely introduced. Also, the advances of molecular imprinting—based biomimetic molecular recognition methods with fluorescence or phosphorescence detection were briefly reviewed and its prospect was discussed.

Keywords: molecular imprinting; molecular recognition; fluorescence; phosphorescence