

活体分析化学实验室 2012 年度工作总结

主任：陈 义 副主任：毛兰群 主任助理：汪福意

本年度共承担各类国家项目 46 项：主持国家基金委重大研究计划 2 项、重大国际合作 1 项、重点项目 2 项、仪器专项 2 项、面上基金 14 项、外国青年科学家基金 1 项，参加重大项目 1 项，仪器专项 1 项；主持科技部创新方法工作专项 1 项、“863”项目 1 项，参加创新方法工作专项 1 项、“973”课题 4 项；主持中科院创新交叉团队 1 项、科研装备项目 1 项、方向性项目课题 1 项、实施中科院“百人计划”1 项、“技术百人”1 项，参加方向性项目课题 1 项、仪器项目 1 项；实施化学所“百人计划”1 项，其他项目 7 项。

一、主要研究工作进展

1. 仪器研制

构建了一套常压离子阱颗粒质谱新系统，该系统使用空气动力学进样方法，可以在大气压下直接分析各种颗粒样品，如溶液中的细菌、固体颗粒，准确测定了健康和贫血红细胞的质量（30.4pg 和 24.7pg）和水中的大肠杆菌细菌团簇质量为 423fg，进而获得单颗大肠杆菌的质量为 84fg；使用 Poincare-Lighthill-Kuo (PLK) 微扰方法，求解了 Paul 离子阱中 r - z 方向耦合运动的非线性离子 Mathieu 方程，揭示了离子非线性共振的本质，获得了不同参数下离子阱稳定岛的形成过程以及离子运动特性。

研制出新型石英晶体微天平传感系统 (QCM)，该传感系统主要由内置石英芯片的传感单元、传感工作台、温控单元、振荡器、信号采集与传输系统、电源等模块组成。传感器工作台置放 QCM 芯片部分具有耐高温、高电绝缘性、优异的化学稳定性以及良好的机械强度和尺寸稳定性。采用了有源和恒温晶体振荡器，可产生稳定的振荡频率，并具有优异的抗干扰能力。

2. 生物识别与选择分析

(1) 信号转导与抗癌药物

① 在保留分子靶向抗肿瘤药物 Iressa 药效骨架基础上，将两类荧光基团（中性红和荧光素）分别共价结合在其喹唑啉环上，设计构建了两类不同性质的荧光探针。该类探针不仅是一种很好的 EGFR 抑制剂，还能作为一种高灵敏的光学探针应用于肿瘤细胞的成像和生物标志物 EGFR 的定量检测。

② 以 EGFR 抑制剂吉非替尼类似物为配体，设计、合成和表征了一系列钆/铂基金属配合物。体外实验表明，这一系列配合物均具有较高的 EGFR 抑制活性，其中 6 种配合物对高表达 EGFR 的肿瘤细胞的 EGF 诱导增殖表现出选择性抑制活性。

③ 比较研究了三种钆配合物和顺铂与转铁蛋白 (Tf) 的相互作用及其对金属配合物细胞摄入和生物利用度的影响。结果表明，顺铂和钆配合物与 Tf 表面残基的结合不影响 Tf 与其受体的特异性识别。但是，与 Tf 结合显著降低顺铂的细胞摄入量和生物利用度，而对有机金属钆化合物的细胞摄入量几乎没有影响，对其生物利用度还有一定的增强作用。

④ 比较研究了有机金属钆抗肿瘤化合物及顺铂与谷胱甘肽转移酶(GSTs)的相互作用和作用位点。结果表明三种钆基配合物均能与两种 GST 相互作用，但结合位点不尽相同。进一步的研究表明，正是不同的作用位点导致三种钆基配合物对两种 GST 表现出不同程度的活性抑制。

⑤ 构建了一种顺铂损伤 DNA 纳米探针，捕获肿瘤细胞裂解液中与损伤 DNA 相互识别的蛋白质，进而应用质谱分析方法鉴定了捕获的蛋白质复合物，建立了金属抗肿瘤药物细胞应答机制的研究平台。

⑥ 建立 Bottom-up 和 Top-down 相结合的质谱方法，鉴定了有机金属钆化合物与单链 DNA 的结合位点。研究发现，DNA 链上的 T 碱基能与 G 碱基竞争与钆的结合，并且 T 对 G 的钆化有促进作用。同时发现有机金属钆化合物对于 DNA 链中部的 T 表现出较高的亲和力。

⑦ 使用磁性二氧化钛微球对人血清中内生性磷酸化肽段进行分离富集，在此基础上建立了适用于生物样品中磷酸化肽质谱定量分析方法，并用于正常人与癌症病人血清中内生性磷酸化肽段的差异分析。

⑧ 以新肝癌标志蛋白 LAPTM4B 为模型，模拟体内氧化环境，研究了其胞外区多肽 EL2 的氧化修饰/去修饰状态。利用 HPLC、Q-TOF MS 对修饰反应产物进行分析检测，表明 EL2 多肽中的甲硫氨酸极易被体内的氧自由基氧化。该位点的修饰状态可能在 LAPTM4B 蛋白介导的癌细胞信号转导通路中发挥作用，从而与病变状态下细胞的存活、繁殖以及迁移相关。还发展了一种还原甲硫氨酸亚砷的新方法，显示出极高的还原效率，以及绿色、生物相容性好的优点。

⑨ 以肿瘤细胞信号转导通路的关键分子 STAT3 蛋白为靶点，构建了以 STAT3 蛋白为识别元件的石英晶体微天平生物传感器，在流动注射的模式下研究了具有相同母核的小分子化合物与 STAT3 蛋白相互作用的实时动态传感行为。根据结合动力学、热力学常数的比对筛选，得到一个与 STAT3 蛋白快速结合的小分子化合物，为肿瘤细胞信号通路靶向的抗癌药物研发提供了支持。

(2) 生物分子相互作用及其分析应用

① 针对 SPRi 信号放大，建立了纳米银-还原石墨烯复合物 (AgNP-rGO) 的光化学制备新方法。所建方法可得到银粒均匀分散、表面密度在 7.2%-81.6% 间可调的 AgNP-rGO，有望用于 SPRi 信号增强新方法的开发。

② 研究了 12 种不同的 DNA G-四链体序列与肿瘤细胞的结合情况。发现平行结构 G-四链体可与多种肿瘤细胞特异性结合。蛋白酶水解实验证实 G-四链体的靶分子为膜蛋白。内化研究发现 G-四链体可以选择性进入细胞并具有普遍的抗细胞增殖活性，其中 G-四链体 EAD 对某些肿瘤细胞的抑制活性明显高于抗肿瘤核酸药物 AS1411。这些发现拓展了对 G-四链体分子识别的认识，为 G-四链体的分子调控机制的研究提供了线索，并有望进一步发现新的抗肿瘤药物。

③ 筛选出能特异性识别前列腺癌的核酸适配体。完善和优化了系统素、对硝基苯基苯磺酰保护的氨基化合物的核酸适配体，构建了系统素和间接识别烷基胺类化合物的荧光探针。系统考察了 5 种肿瘤细胞特异性的核酸适配体 sgc3b, sgc4e, sgc8c, TLS9a, TLS11a 以及 5 种 G-四链体序列 EAD, VEGF, c-MYC, AS1411c-kit2 与 20 种不同肿瘤细胞以及正常血液细胞的结合谱。为下一步相关肿瘤标志物分子的分离鉴别，以及肿瘤分子探针的构建打下了基础。

④ 建立了 miRNA 的高灵敏度、简单、快速的检测方法，该方法基于 RT-PCR 技术，通过引物的设计，使得反转录和 PCR 放大两个过程在同一个 PCR 管中于实时定量 PCR 仪上自动完成，整个检测过程只需一次加样操作。对 miRNA 的检测灵敏度检测限达 12.6zmol。可用于高通量的 miRNA 分析。

⑤ 以链霉亲和素核酸适配体建立了链霉亲和素配体的筛选方法。通过该筛选方法发现腺苷可特异性地与链霉亲和素以及亲和素结合，其平衡解离常数在 0.1-0.2mM 之间，其他腺苷类似的分子如 ATP，鸟苷、胸苷、胞苷、腺嘌呤等都不与链霉亲和素以及亲和素结合，该发现为亲和素以及腺苷的功能研究提供了线

索。

3. 生物分离分析方法

(1) 毛细管/芯片电泳 (CE/MCE)

① 以三聚氯氰为桥接试剂, 实现了青霉胺的“一锅”快速衍生, 并以廉价易得的电中性 β -环糊精为手性选择剂, 在宽 pH 范围内 (pH 2.0 - 10), 实现了青霉胺对映异构体的基线分离。所建方法在酸性、中性及碱性条件下均可用于青霉胺片剂中有效成分 D 型异构体及杂质 L 型异构体含量的测定。

② 合成了新型阴离子型及阳离子型 AAILs, 建立了以其为手性配体的 CLE-CE 新体系, 实现了数十对氨基酸对映体的良好分离; 还进一步将所建新体系用于酶抑制剂筛选研究中。研究表明: 所合成的阴离子型和阳离子型 AAILs 均可作为 CLE-CE 体系的有效配体; 所建立的 CLE-CE 新体系在生命分析中具有良好的应用前景。

③ 建立了氨基酸的 MCE-LIF 分析新方法, 开展了与肝炎密切相关的谷丙转氨酶 (ALT) 的双向酶促反应动力学研究, 该研究能为肝病的治疗和 ALT 的分析提供新的思路。

④ 以 ATRP 法制备得到了新型双亲嵌段共聚物, 建立了降血压药物的 CEC 分析新方法, 考察了聚合物涂层的嵌段比、pH、有机溶剂种类、缓冲盐种类及浓度对分离的影响, 还研究了嵌段聚合物在溶液中的组装形态和 CEC 分离效率之间的关系, 结果表明: 该涂层可实现自组装。

⑤ 构建了基于尼龙薄膜的新型纸芯片, 并用于体液中葡萄糖的显色反应研究中。利用流体二次流的性质, 设计构建了具有连续同方向流动的环形结构的双层微混合器, 这种 3D 混合器能克服类似结构中混合程度先升高后可逆降低的缺陷; 还考察了液体流速及混合器环形结构数目对混合效率的影响, 并同时从实验结果和机理上验证了这种连续同方向流动的环形结构对流体的高效混合作用。

⑥ 借助热空气加速溶剂挥发, 发展了一步法在微流控芯片通道中快速组装光子晶体的新方法, 同时实现了光子晶体柱的组装和固定。所得光子晶体柱结构规整、无裂痕且耐高电压。进而利用制作的光子晶体柱发展了生物分子的高速、高效分离方法, 可实现 4 秒内分离四种氨基酸、12 秒内分离三种多肽。所建方法在微色谱/电色谱分离分析中的进一步应用值得期待。

(2) 质谱新方法

① 通过 355nm 脉冲激光轰击蒸镀在光子晶体表面的一层金膜，建立了系列金簇正离子和金簇负离子的简单产生方法。所得金簇离子可用作质谱校标物质，以寡糖分析为例，内标校正后样品的质量偏差可以降低到 5ppm 以下，和混合标准肽的校标结果一致。

② 使用八羟基噻吩为基质，实现了 MALDI-TOF 对胺类物质的选择性质谱分析，在成人尿液中，获得了肌酐的高选择质谱分析；使用同位素标记的方法，进行了肌酐的定量分析。

③ 使用硝酸萘乙二胺为基质，在 MALDI-TOF 负离子模式下实现了对糖类小分子的高灵敏分析，检出限在 500fM 量级，并对多糖结构进行了解析；同时使用盐酸萘肼为基质，对血浆中的葡萄糖进行了定量分析。

④ 开发了一种基于辉光放电等离子体离子源，将该离子源与热解离方法相结合，成功用于均聚和共聚高分子材料单体成分进行快速质谱分析。

⑤ 建立 MALDI-TOF MS 定量方法分析血液中溶血磷脂酰胆碱。使用 CHIP-1000 打印系统（岛津），将 Picoliter 体积的溶液打印到极微小区域内（ $r < 50\mu\text{m}$ ），样品与基质的结晶均一性大幅提高，激光照射可以囊括所有结晶区域，从而克服人为点样的不均与甜点现象，提高了 MALDI-TOF MS 定量分析的能力。利用该方法，系统考察了结肠直肠癌病人与健康人血液中的溶血磷脂酰胆碱。

⑥ 建立 UPLC-ESI-QTOF MS^E 方法分析血液中脂质组分。基于 Waters CSH(表面带电杂化颗粒)技术 UPLC 色谱柱与高准确度的 QTOF MS，分离并定性定量分析血液中复杂的脂质组分。该方法将用于结肠直肠癌与心血管等疾病的生物标志物研究。

(3) 分离新介质

① 基于原子转移自由基聚合 (ATRP) 高的反应活性以及在极性溶剂中可引发聚合的特性，以甲醇和水混合溶剂取代 MIP 制备中常用的惰性和低极性有机溶剂作为反应介质，制备了水溶性甲磺酸培氟沙星分子印迹核壳 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIP}$ 纳米微球。在水相环境中对模板分子表现出高的吸附容量，快速的结合能力，良好的特异识别能力，以及快速的磁响应性。以所制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIP}$ 纳米微球，并结合反相 HPLC，进行了食品中甲磺酸培氟沙星的快速分析检测。

② 以 ATRP 法制备了一系列不同分子量的 PGMA 聚合物链作为相分离剂, 实现了对 p(EDMA-GMA) 整体柱的柱体调控。考察了不良溶剂和良溶剂比例对柱体结构的影响, 还对功能性单体 GMA 的比例进行了调控, 制备得到了一种渗透性良好且具有 3D 骨架结构的整体柱; 进一步在反相模式下实现了激素类药物和苯衍生物的良好分离, 在疏水模式下实现了蛋白的良好分离。

(4) 细胞成像

① 以 ATRP 法制备了 PGMA 聚合物链, 将所合成的荧光聚合物修饰到 SiO_2 包裹的超顺磁性纳米颗粒表面, 再修饰上特异性识别蛋白并开展了细胞成像研究。结果表明: 所合成的多功能磁性纳米复合体具有良好的磁性和荧光特性; 对比未修饰转铁蛋白的磁性纳米复合体, 已修饰转铁蛋白的磁性纳米复合体能成功实现对 HeLa 细胞的特异性识别。所制备的磁性纳米颗粒可作为一个多功能平台与不同的分子反应, 并有望用于酶固定、生物传感及细胞分离等研究领域。

② 采用 RAFT 法, 合成制备了一种具有温敏性质的荧光嵌段聚合物。研究表明: 所合成的嵌段聚合物具有良好的水溶性、生物相容性、量子产率及接近生理条件的 LCST, 可在溶液中自组装形成胶束, 溶液的荧光强度会随温度的变化而变化。MDCK 细胞成像研究表明: 所制备的聚合物可作为微纳尺度温度计进行微小范围内的温度变化研究, 可为探索细胞内复杂的生化过程及寻找新的癌症诊断方法提供重要的依据。

4. 生物电化学传感器的研究

(1) 纳米及生物电化学和电分析化学

① 漆酶的折叠/解折叠过程研究: 漆酶是自然界中一种重要的蓝铜族氧化酶, 其在电极表面的构象往往决定着其生物电化学催化活性。本年度中, 我们利用半胱氨酸自组装金电极, 构建了高灵敏度的 Cu^{2+} 电化学传感器。基于此, 开展了盐酸胍诱导漆酶变性的电化学研究, 并建立和发展了漆酶折叠/解折叠的电分析化学研究新方法。研究表明, 电化学和光谱研究得到的变型动力学结果一致, 并证明了酶的“柔性假说”。

② 细胞乳酸的电化学分析: 心肌细胞胞外乳酸的变化可以揭示心肌细胞的缺氧程度。本年度中, 我们提出并建立了一种基于乳酸脱氢酶的可适用于心肌细胞缺氧过程中乳酸测定的电化学分析新方法。与已有的方法相比, 该方法避免了

氧气和 pH 变化对检测的影响。同时，由于传感的工作电位低，本方法避免了一些电化学活性物质，如抗坏血酸、尿酸、肾上腺素、去甲肾上腺素等的干扰。本研究为认识和了解心肌细胞缺氧过程中的能量代谢提供了新的研究方法。

③ 细胞通透性变化研究：利用电化学阻抗法（EIS）研究了细胞缺氧过程中膜通透性的变化。选用犬肾细胞（MDCK）作为模型细胞，将其用凝胶固定到玻碳电极上，以 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 作为电化学探针，通过电化学阻抗法，研究了 MDCK 细胞在缺氧试剂 FCCP 诱导下膜通透性的变化规律。结果表明，FCCP 的存在降低了 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 探针在 MDCK/凝胶修饰玻碳电极的电荷转移阻抗，并且阻抗的降低随着在含有 FCCP 的细胞培养液中浸泡时间的延长而增加。这一结果表明 EIS 方法能够用于 FCCP 诱导的细胞缺氧条件下细胞膜通透性变化的监测。

（2）活体分析化学

① 活体电化学分析的基础研究：酶型生物传感器一直是活体在线电化学分析中的主要方法之一，然而，由于大多数酶不能在电极表面实现其直接电子转移，因此，电子转移媒介体已经成为此类传感器的不可缺少的重要组成部分。在本年度中，我们针对酶介体在活体传感器研究中的关键问题（如固定和氧化电位等），设计合成了聚咪唑阳离子聚合物，利用其对于铁氰化钾媒介体氧化态和还原态的不同吸附能力，发展了低电位的酶型电化学传感器。该传感器具有良好的稳定性、重现性和选择性，能够用于脑透析液中葡萄糖等生理活性物质的活体分析。

② 半胱氨酸的可视化分析：利用金纳米结构丰富的表面化学，并基于半胱氨酸和天冬氨酸的离子对相互作用，发展了半胱氨酸的可视化分析新方法。该方法对半胱氨酸具有很好的选择性：其它的 19 种氨基酸、半胱氨酸结构类似物、脑中常见物质均不产生干扰。利用本方法对于鼠脑中半胱氨酸进行了测定，测的结果与文献报道基本一致。

③ 耳鸣模型中抗坏血酸的活体分析：利用碳纳米管修饰的碳纤维电极作为工作电极，Ag/AgCl 微电极作为参比，铂丝作为对电极，实现了在豚鼠耳蜗内抗坏血酸水平变化的原位实时监测。该三电极集成于一毛细管上，从而制成了可以植入豚鼠耳蜗内的毛细管微电极。将该集成化的毛细管电极植入豚鼠耳蜗内，并通过水杨酸钠刺激，实时监测了抗坏血酸的变化。实验结果表明，耳蜗内抗坏血酸的基础水平为 $45.0 \pm 5.1 \mu\text{M}$ ，在 10 mM 的水杨酸钠诱导下 ($1 \mu\text{L}/\text{min}$, 5

min), 抗坏血酸的水平降至基础水平的 $28 \pm 10\%$ 。本研究表明, 抗坏血酸在水杨酸钠诱导的耳鸣过程中发挥着重要作用。该研究可望为耳鸣分子机制的研究提供基础。

(3) 生物燃料电池的研究

① 新型氧还原催化剂研究: 利用金属有机骨架 (MOFs) 材料的多孔性、孔道可修饰性、比表面积大等特点, 率先开展了基于 MOF 材料的电化学催化研究。本研究以 Cu-BTC (BTC: 均苯三甲酸) 为例, 研究了其对氧气的电化学催化还原性能, 但由于 Cu-BTC 在水中结构不稳定, 我们将 4,4'-联吡啶 (bipy) 引入到 Cu-BTC 中, 形成 Cu-bipy-BTC 的 MOF 材料。研究表明, 该 MOF 材料能够实现对氧气的四电子还原。本研究为非铂催化剂的研究提供了新的思路。

② 纤维素生物燃料电池研究: 纤维素是自然界广泛存在的生物质, 以其做为原材料进行发电一直是人们的梦想。在本年度中, 我们利用酶型生物燃料电池技术, 建立了以羧甲基纤维素 (CMC) 生物质为原料的发电技术。利用纤维素酶降解纤维素产生葡萄糖, 利用葡萄糖/氧气生物燃料电池技术, 实现以羧甲基纤维素为原料的发电。所构筑的生物燃料电池的开路电压为 0.75 V, 最大输出功率为 128 W cm^{-2} 。本研究为生物燃料电池在生物质转化中的研究提供了宝贵的借鉴。

5. 光学探针与生化分析

(1) 氧化石墨烯光学传感器的设计及其在前列腺特异性抗原分析中的应用研究

前列腺特异性抗原 (PSA) 是一种重要的前列腺癌标志物。我们利用氧化石墨烯的荧光淬灭性质以及酶对其底物肽的特异性切割作用, 设计了一种氧化石墨烯-肽复合物荧光探针, 并据此发展了一种简单有效的检测 PSA 的方法。由于 GO 与肽段传感器的组装简单, 因此该方法非常简便快速。我们还利用该方法对尿液中添加的 PSA 做了测定, 结果满意。

(2) 可快速检测过氧化苯甲酰的新型光学探针及其应用

过氧化苯甲酰是一种强氧化剂, 也是当前面粉中使用的主要增白剂。适量的添加可使面粉增白, 但过量使用则会降低面粉的品质, 并且对人体健康产生不利影响。因此, 发展一种简便快速检测过氧化苯甲酰的方法非常重要。我们结合过

氧化苯甲酰能使芳基硼酸酯经氧化、水解后形成苯酚的原理，以 resorufin 为荧光母体设计合成了一种含芳基硼酸酯的新型荧光探针来检测过氧化苯甲酰，并发明了过氧化苯甲酰快速检测试剂盒。该探针对过氧化苯甲酰的检测限达 23nM，且已成功用于面粉中过氧化苯甲酰的快速检测。

(3) 巯基化合物荧光探针的设计及应用

以羟基尼罗红为母体，引入具有吸电子效应的 2, 4-二硝基苯磺酰基团，合成了一种对巯基物质有特异性响应的小分子探针，并研究了这种探针在巯基物质细胞成像中的应用研究。我们将该探针用于 HeLa 细胞中谷胱甘肽的荧光成像。结果表明，细胞中的谷胱甘肽主要集中于细胞质内。我们还同时比较了经巯基阻断剂（N-乙酰马来酰亚胺）和谷胱甘肽合成前体（N-乙酰半胱氨酸）处理的细胞的成像结果。同未经任何处理的 HeLa 细胞相比较，前者荧光变弱，而后者荧光增强，显示了该探针对细胞内谷胱甘肽的浓度变化有良好的响应性。

(4) 羧酸酯酶荧光探针的设计制备及其对细胞中羧酸酯酶的荧光成像分析

羧酸酯酶是一种重要的细胞内酯酶。我们利用羧酸酯酶对底物结构的特异性切断及 resorufin 的荧光“开关”响应，合成了一种对羧酸酯酶具有专一响应的荧光探针。该探针在 pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲液中能与羧酸酯酶发生快速的反应，并伴有强烈的颜色和荧光响应。这种光学响应信号随酶浓度的增加而增强，且在羧酸酯酶的浓度为 0.04-0.30U/mL 的范围内，荧光强度的变化与酶的浓度成良好的线性关系，检测限达到 8.6×10^{-5} U/mL。将探针用于 HeLa 细胞中羧酸酯酶的荧光成像，结果表明细胞中的羧酸酯酶主要集中于细胞质内。我们还比较了经抑制剂处理的细胞的成像结果。同未经任何处理的 HeLa 细胞相比较，经抑制剂处理的细胞荧光变弱，显示了该探针对细胞内羧酸酯酶的浓度变化有良好的响应性。

(5) 叶酸受体用于碳纳米粒子的表面修饰及其在癌细胞靶向定位分析中的应用

利用微波裂解方法，制备了碳纳米粒子材料，然后利用共价修饰技术（EDC/NHS 反应）成功在其表面修饰上叶酸分子，该复合材料 C-dots-FA 在水溶液中具有良好的分散性。我们将此材料应用于细胞中叶酸受体的荧光成像研究。荧光共聚焦实验结果表明，C-dots-FA 可成功用于癌细胞的靶向定位分析，并可

区分正常细胞和癌细胞。这对于癌症的监测与治疗都具有重要的意义。

(6) BODIPY-二茂铁衍生物用于水的检测及其反应机理研究

制备了两种带有富勒烯基团的 BODIPY 衍生物。这两种化合物都几乎不发荧光，而当其在自然光照射下与水反应之后，发生了意外的分解反应，即释放出了环戊二烯和 Fe(II)，并生成了带有另一个环戊二烯基团的 BODIPY 衍生物，同时导致了荧光信号的很大增强 (>100 倍)。此外，荧光的增强与水的浓度成线性关系，并且水在该反应中必不可少。因此，该反应可用作水的荧光检测探针。该反应的温和解离条件也为研究富勒烯及其衍生物提供了新的视野。

(7) 比例型 pH 荧光探针的制备及其在细胞内 pH 测定中的应用

制备了一种响应范围可调的比例型 pH 荧光探针，并将其应用于细胞内 pH 的定量测定。该荧光探针是将水热法制备的碳纳米粒子标记上荧光素及罗丹明两种染料，在分离纯化而得。其中荧光素的荧光信号随 pH 的改变而变化较大；而罗丹明的荧光信号随 pH 的改变而变化较小。因此，该探针的荧光素荧光信号与罗丹明荧光信号的比例随 pH 的改变而改变，获得了良好的比例型荧光响应。该探针被应用到 HeLa 细胞内的 pH 测定。

(8) 比例型 pH 探针的设计合成

设计合成了带 16 烷基侧链的并杂环萘酰亚胺化合物，其吸收光谱和荧光光谱在 pH5.5-7.5 的范围内均对 pH 成比例型响应。且在酸性和碱性条件下均具有高的荧光量子产率。该化合物定位于细胞的外膜以及内部的膜性结构中，可分别对细胞内外的 pH 产生响应。已成功用于同时对细胞内外 pH 的差异的成像分析，有望用于肿瘤微环境 pH 变化的荧光分析。

(9) 铜离子可视化测定

利用铜离子催化银纳米颗粒的形成，建立了一种简单、灵敏和高选择性的铜离子可视化测定新方法。所建方法用于自来水、河水、血清中铜的检测，得到结果与 ICP-MS 结果接近。

二、发表论著、专利情况

本年度发表 SCI 论文 61 篇。申请专利 19 项，授权专利 2 项。

三、人才引进和培养

本年度引进化学所“百人计划”1 人；现有在站博士后 5 人，在读博士生 46

人，硕士生 15 人；毕业博士生 19 人，出站博士后 2 人；接纳本科毕业实习生 5 人，合作指导研究生 11 人，联合培养博士后 1 人；“西部之光”访问学者 1 人。

四、获奖情况

本年度获中国分析测试协会 (CAIA) 一等奖 1 项，有 1 人获研究生院“三好学生标兵”，9 人获研究生院“三好学生”，1 人获研究生院“优秀学生干部”，3 人获化学所青年科学奖特别优秀奖，10 人获化学所青年科学奖优秀奖。

五、国际、国内合作与交流

本年度邀请国外专家来访和学术交流 16 人次；参加国际学术会议 16 人次，作邀请和大会报告 10 人次；参加国内学术会议 41 人次，做邀请和大会报告 14 人次。