

生命分析化学实验室

主任：陈 义 副主任：毛兰群

本年度共承担各类国家项目 31 项：主持国家杰出青年基金 2 项、海外杰出青年基金 1 项、国家自然科学基金重点项目 1 项、重大研究计划 4 项、重大国际合作研究项目 1 项、面上基金 5 项；主持国家科技部“科技支撑计划”1 项、“863”项目 2 项、“973”子课题 1 项，参加“973”项目 4 项、“863”项目 1 项；主持中科院方向性项目 1 项，参加 2 项，实施院“百人计划”2 项；承担分子科学中心创新性项目 3 项。另获新批准国家自然科学基金面上项目 5 项。

一、主要研究工作进展

1. 生物识别及其高通量分析方法

(1) 设计合成了 N-丁二酰亚胺-4-叠氮四氟苯甲酸酯(NHS-PFPA)型光敏桥联试剂，基此构建了通用的生物分子点阵芯片制备方法，成功制备出了 PFPA-蛋白质及其组装芯片、糖分子功能化金膜传感芯片，进而建立了糖传感芯片与凝集素特定识别的水汽成像方法；构建了微量糖蛋白与凝集素相互作用的 SPRi 研究方法和筛选方案，发现识别信号是糖蛋白浓度的函数，最低识别量达 nmol/L 水平，有望成为蛋白质组学研究的新工具。

(2) 继续研制控温范围达到 5-95℃的高清晰度表面等离子共振成像仪 (SPRi) 样机，在实验模型机的基础上优化设计，研制出了两套结构不同的商品样机。

(3) 合成了 6 种 Iressa 衍生物荧光探针，制备了其中 4 种化合物的单晶并解析了晶体结构；以获得的 Iressa 衍生物为单齿或双齿配体，合成并表征了 18 种钌、铂基配合物，配体和配合物的荧光发射强度随溶剂极性的降低而增强，可望作为酪氨酸蛋白激酶特异性的荧光探针，用于活细胞成像分析。

(4) 合成了一种磷酸酶 PTP1B 的模型化合物—巯基苯甲酸苯胺 (CPN)，研究了钌抗肿瘤化合物 $[(\eta^6\text{-cym})\text{RuCl}(\text{en})]\text{PF}_6$ (1) 与 CPN 的分子识别相互作用。不同 pH 条件下，化合物 1 与 CPN 反应生成单核或双核配合物，阻止模型化合物中巯基的氧化反应，有可能导致 PTP1B 磷酸酶催化活性的钝化，影响 PTP1B 在胰岛素信号转导过程中的调控作用。

(5) 建立了适用于小分子的核酸适体筛选平台，以此平台筛选出多种生物活性分子的核酸适体。包括链亲和素 (Streptavidin) 核酸适体和植物激素系统素 (Systemin) 核酸适体，有望成为生物分离与构建分子探针的重要工具，为下

一步建立系统素的高灵敏度分析方法奠定了基础。植物激素吲哚乙酸、色氨酸以及具催化活性核酸适体的筛选工作正在进行中。

(6) 建立了基于寡核苷酸、阳离子表面活性剂和苾分子组成的超分子复合物的荧光传感器体系,用于核酸配体与靶分子间相互作用分析。方法简便、快速、成本低,无需标记,适合于大量筛选核酸配基以及潜在靶分子的相互作用研究。

(7) 通过对乙醇胺适体分子进行优化和改造,发现特定的 G-四链体结构可与乙醇胺、二乙醇胺结合,与乙醇胺的结合位点位于连接 G 联体的 T 碱基所形成的弯曲处。该发现为 DNA 分子探针的设计以及特定 G-四链体相关基因的抑制剂研究提供了依据。

(8) 以药物结合蛋白—人血清白蛋白(HSA)为研究对象,采用 FIA-QCM 构建了 HSA 生物传感器,研究了胆红素介导的药物与蛋白质的相互作用,通过药物与 HSA 的动态相互作用曲线,确定药物在白蛋白上的作用位点。此方法具有简便、高效、免标记的特点,可用于药物位点简便、快速的分析与测定。

2. 生物分离分析方法

(1) 毛细管电泳(CE)新方法发展:设计建立离子手性配体交换 CE(LIEC-CE)新方法,以 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 等为中心离子,以 L-酒石酸为手性络合配体,实现了天然芳香氨基酸和组氨酸对映异构体的基线分离;建立了胺类分子大体积(μL 级)聚焦浓缩进样新方法,富集效率超过 200 倍,可用于食品及食品包装中有害组分分析;建立了基于特殊树状分子标记的自由溶液 CE 尺寸分离方法;发展了针对赤霉素(GA)的毛细管电泳和高效液相色谱质谱联用(HPLC-MS)分析方法。

(2) 构建了微流控芯片制作平台,发明了多种快速、简便、低成本的微流控芯片制作方法,成功制备出微流体分流芯片。

(3) 探索了界面不对称性对氨基酸结晶过程及其不对称产物的影响,利用平衬底界面和微纳结构的不对称诱导作用,实现了外消旋氨基酸的不对称结晶和手性富集。

(4) 应用 LC-MS 研究了两种钆抗癌化合物和血清白蛋白的相互作用。钆化合物都能与 HSA 表面的组氨酸(His128, 247, 510)、蛋氨酸(Met298)残基共价结合。甲基异丙基化合物还能与 HSA 中 Cys34 的巯基配位,并诱导巯基氧化生成亚磺酸基,但联苯配合物中的钆受有机配体的位阻影响不能与洞穴中的 Cys34 结合。

(5) 应用 HPLC 测定了细胞毒性有机钆化合物和两个互补的单链寡聚核苷酸共价结合的平衡解离常数(K_D),应用 LC-MS 确定了钆与寡聚核苷酸的结合位点。

CD 光谱研究表明, 有机钕的共价结合使 DNA 的双螺旋结构趋向解开, 碱基堆积也受到影响, 而且, 对 DNA 双螺旋结构的影响随有机配体体积增大而增强。

(6) 应用氢/氘交换质谱研究了小分子化合物十二烷基磺酸钠和 L- β 乳球蛋白的疏水性相互作用, 确定了位于 L- β 乳球蛋白第 33 至 41 号氨基酸残基和第 120—135 号残基上的两个疏水作用位点。

(7) 应用 TiO_2 或 ZrO_2 纳米颗粒沉积毛细管色谱柱, 以 α -casein 为对象, 建立了磷酸化肽段分离富集-MS (/MS) 质谱分析方法。基于 TiO_2 柱对磷酸化肽的分离富集, 初步建立了蛋白激酶抑制剂 MALDI-TOF-MS 快速筛选方法。

(8) 基于核酸碱基 T 与二价汞离子间的特异性相互作用, 合成了碱基 T 修饰的两种高分子微球, 该微球可特异性吸附汞离子而不受其他二价金属离子干扰, 吸附容量达 200mg/g, 并可用稀酸溶液再生。可用于复杂体系中汞离子选择性分离、富集与去除。

(9) 针对 Baylis-Hillman 反应, 研究了一种分析反应产物与原料的 MEKC 新方法, 考察了三种不同催化剂的催化效率, 发展了 Baylis-Hillman 反应动力学的研究方法; 采用 RAFT 方法合成了一种嵌段聚合物, 并将这种聚合物应用在毛细管涂层研究上, 应用该嵌段聚合物涂层对邻苯二胺、对苯二胺等八种胺类化合物进行了成功分离, 为实现 CE-MS 联用在线检测 Baylis-Hillman 中的反应物和产物提供了依据; 建立了酶涂层的手性氨基酸离子配体 CE 分析新方法, 以锌离子为中心离子, 以鸟氨酸为配体, 进一步开展了酶反应动力学研究, 并成功获得了酶反应动力学常数。

(10) 以 SARS 病毒为靶病毒, 以 SARS 病毒 S 蛋白穿膜区的疏水肽为靶点, 建立了以该疏水肽为配基的高效亲和色谱体系, 设计、合成并筛选到了穿膜疏水肽的高亲和力反义肽, 以此作为新的筛选平台, 建立了逐位扩展肽库, 通过五轮合成、筛选与鉴定, 得到了优选十二肽, 该亲和肽有望作为检测 SARS 病毒的探针并具有潜在的抗 SARS 病毒的能力。

(11) 针对多肽合成多组分、多步骤、循环反应、溶剂条件苛刻的特点, 设计、制作了全玻璃结构的微流控反应芯片, 采用栅栏结构将树脂束缚于反应腔体中, 通过注射泵与真空负压装置输送和控制各反应试剂, 初步实现了多肽的原位合成与裂解, 质谱分析验证了所合成序列的正确性。

(12) 采用幂函数作为流动相浓度变化函数, 考察了苯同系物样品和四种喹啉类 $\alpha 1$ 受体阻滞剂药物在幂函数梯度洗脱条件下的保留性质。在确保分离度

的前提下，采用幂函数梯度能够很好的调节出峰时间，并能够优化分离效率。

3. 整体柱新方法发展

(1) 采用嵌段聚合物引导超浓乳液自组装聚合的方法，制备了一种具有纳米线网络骨架结构和高孔隙率的多孔整体介质，该材料具有良好的通透性能、机械性能、传质性能和亲水性。以此材料作为分离介质，四种蛋白在一分钟之内能达到良好的分离。

(2) 以聚苯乙烯类为基质，采用原位原子转移自由基聚合表面引发法制备了具有温度和盐浓度响应的整体分离介质。应用该介质的热敏响应性实现了类固醇药物混合物的分离，并采用盐梯度的方法成功地分离了六种模型蛋白混合物。

(3) 用乙二胺和氯乙酸在线修饰 GMA-EDMA 整体柱，将所制备的弱阳离子交换整体柱作为在线固相萃取的吸附剂，通过改变缓冲盐的 pH，去除了人血中的四种高丰度蛋白（HAS、IgG、IgA、转铁蛋白）。应用自建 SPE-HPLC 在线联用系统测定了血液中二氢吡啶类药物的含量，为血液中的药物分析提供了一种快速、简便的方法。

4. 脑神经电分析化学的研究

(1) 继续完善全脑缺血和局灶性缺血的动物模型，在此基础上，发展活体在线以及活体原位技术，为脑神经过程的电分析化学方法学的研究提供了基础。

(2) 利用所建立的抗坏血酸活体在线电化学分析方法，建立了 2-V0 全脑缺血/再灌注模型和左侧大脑中动脉栓塞的局灶性脑缺血/再灌注模型，研究了大鼠纹状体脑区抗坏血酸浓度在不同脑缺血/再灌注过程中的变化差异，并发现了该脑区中抗坏血酸的浓度在不同缺血/再灌注模型中不同的变化规律。本研究对于脑缺血过程中的生化机制的研究具有重要的意义。

5. 纳米及生物电化学和电分析化学

(1) 利用碳纳米管表面丰富的 π 电子与蒽环之间的相互作用和环蕃化合物与 3, 4-二羟基苯乙酸 (DOPAC) 间的独特相互作用，研制了基于环蕃和碳纳米管的非氧化型的 DOPAC 电化学传感器。该传感器对 DOPAC 的响应具有很好的选择性，可望应用于 DOPAC 的活体原位电化学分析。

(2) 采用 ATP 核酸适体的互补链作为信标分子，研制了 ATP 的电化学传感器。在 ATP 分子的存在下，核酸适体优先与靶分子结合而从固定在电极表面的互补链上解离到溶液中。在 Mg^{2+} 存在时，电极表面剩余的互补链单链 DNA 寡核苷酸的构象会变为发卡结构，标记在 3' 端的电活性基团与电极表面的距离减小，电

流信号因此而增强。通过测定响应信号的增强可以检测 ATP，为脑内 ATP 的电化学测定提供了新的思路。

(3) 通过合理设计纳米金的表面化学，利用纳米金分散和聚集状态时所呈现的不同颜色，实现了脑微透析液中葡萄糖的选择性可视化分析，为脑内葡萄糖的分析提供了新的简便易行的方法。

6. 生物燃料电池的研究

利用有机小分子染料 poly(brilliant creyssl blue) 对 NADH 氧化的优良电化学催化性能，研制了一种抗坏血酸不干扰的微型葡萄糖/氧气生物燃料电池，此电池在正常人血清中的最大输出功率比未固定抗坏血酸氧化酶的生物燃料电池提高了 50%。

7. 光学探针及生物分子局域结构分析

(1) 设计合成了新的极性敏感的长波长荧光探针 3-(4-氯-6-对甲酰甲醛基苯氧基-1, 3, 5-三嗪氨基)-7-二甲胺基-2-甲基吩嗪 (CGTDP)，其最大荧光发射峰对环境极性十分敏感，并且不受环境温度和 pH 的影响。通过该探针与活性位点精氨酸的选择性反应，对肌酸激酶活性位点的极性进行了检测，同时研究了在热和酸变性下活性位点的构象变化。该探针可望广泛用于以精氨酸残基为活性位点的酶的研究中。

(2) 设计合成了一种新型适于巯基标记的极性敏感荧光探针 3-(4-氯-6-对马来酰亚胺苯氧基-1, 3, 5-三嗪氨基)-7-二甲氨基-2-甲基吩嗪 (CMTDP)。将 CMTDP 标记在 β -乳球蛋白的 Cys121 上，定量测定了 Cys121 区域的极性，研究了热变性对 Cys121 区域极性及其结构的影响。Cys121 的修饰不仅提高 β -乳球蛋白的热可逆性，而且影响到内部疏水杯腔的结合行为。

(3) 根据次氯酸根与二苯甲酰基胍之间的选择性切断反应，合成了一种新的罗丹明衍生物—N-苯甲酰基罗丹明 B 胍，建立了次氯酸根离子的高选择性和高灵敏度荧光分析法，在次氯酸根选择性分析测定方面具有很好的应用价值。

(4) 设计合成了罗丹明 B 内硫酯，利用重金属汞离子与硫原子之间强烈的相互作用，使内硫酯键断裂水解，从而恢复了罗丹明 B 的荧光信号，实现了汞的目视光学分析。该反应在中性条件下，1 分钟之内即可完成，有望制备汞的快速检测试纸。

二、发表论著、专利情况

本年度发表 SCI 论文 35 篇。申请专利 2 项，获得专利授权 1 项。

三、人才引进和培养

本年度引入副研 1 人，助研 2 人（本所博士）。现有博士后 2 人，在读博士生 40 人，硕士生 14 人。毕业博士研究生 12 人，出站博士后 1 人。接纳本科毕业生实习生 1 人，合作指导硕士研究生 1 人。

四、获奖情况

本年度 1 名助理研究员获得“化学所青年科学奖优秀奖”，2 名博士生获得“化学所青年科学奖特优奖”，5 名博士生获得“化学所青年科学奖优秀奖”，1 名博士生获得 2007-2008 年度中国科学院研究生院“三好学生标兵”，6 名研究生获得 2007-2008 年度中国科学院研究生院“三好学生”，2 名博士生获得中国科学院研究生院“优秀学生干部”，1 名博士生获得 2008 年度中国科学院“优秀毕业生”。

五、国际、国内合作与交流

本年度与美国和德国专家开展合作研究各 1 项，邀请国外专家来访和学术交流 8 人次，出访交流 7 人次。全室共参加国际学术会议 18 人次，作邀请和大会报告 11 人次；参加国内学术会议 41 人次，做邀请和大会报告 26 人次。主办全国学术会议 1 次。