硅酸钙/海藻酸钙复合膜载体蛋白质分子印迹聚硅氧烷

刘东^{1,2}, 齐梦², 赵孔银^{1,2*}, 许国庆², 吴梦迪², 魏梦梦¹, 魏俊富¹

1. 天津工业大学省部共建分离膜与膜过程国家重点实验室, 天津 300387;

2. 天津工业大学材料科学与工程学院, 天津 300387

* E-mail: zhaokongyin@tjpu.edu.cn

收稿日期: 2018-01-14; 接受日期: 2018-02-07; 网络版发表日期: 2018-03-27

国家自然科学基金(批准号: 51103102, 21304037, 51708407)和天津市应用基础与前沿技术计划(16JCZDJC37500)资助项目

摘要 首先将海藻酸钠与硅酸钙共混, 经过钙离子交联制备了硅酸钙/海藻酸钙(CaSiO₃/CaAlg)复合水凝胶膜. 然后, 以CaSiO₃/CaAlg复合膜为载体, 吸附牛血红蛋白(Hb)后, 加入 γ -氨丙基三乙氧基硅烷(KH550)和 γ -甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷(KH570), 硅烷缩聚洗脱模板得到Hb分子印迹聚硅氧烷(MIP). 采用扫描电子显微镜(SEM)、热重(TG)对MIP膜的形貌和热性能进行表征. 研究不同硅烷种类制备的MIP的表面接触角和溶胀. 研究了Hb印迹膜和非印迹膜(NIP)对Hb的吸附性能. 结果表明, MIP膜对Hb的吸附量明显优于非印迹膜, 且具有一定的识别性能. MIP和NIP膜对Hb的吸附均符合Langmuir吸附模型. 本文制备的蛋白质印迹膜吸附速率快, 吸附量大, 使用方便, 在蛋白质分离分析、蛋白质控制释放及生物工程等领域有广泛的应用前景.

关键词 硅酸钙/海藻酸钙, 分子印迹, 牛血红蛋白(Hb), 聚硅氧烷, 吸附

1 引言

分子印迹技术是制备与目标分子(也称模板分子)有特殊识别结合位点的聚合物(分子印迹聚合物, molecularly imprinted polysiloxane, MIP)的技术^[1]. MIP具有预定性、识别性和实用性的特点, 近几十年内广泛应用于固相萃取^[2]、仿生传感器^[3]、色谱分离和药物控释等领域^[4]. 尽管分子印迹技术得到了快速发展, 其模板多为小分子, 而对大分子模板如蛋白质分子印迹的研究则相对滞后^[5]. 主要原因在于^[6,7]: (1) 蛋白质庞大的体积难以使其从印迹聚合物中完全洗脱; (2) 蛋白

质构象容易改变甚至变性, 会引起识别位点不稳定, 温度、pH、有机溶剂等变化均会改变蛋白质构象; (3) 生命体中蛋白质的识别完全在温和的水相中完成, 但是水相中分子印迹目前还存在很大挑战.

水凝胶含水量高, 生物相容性好^[8,9], 对蛋白质构象的维持有很大优势, 因此, 水凝胶可用于蛋白质分子印迹的研究^[10]. Zhao等人^[11]以牛血清白蛋白(BSA)为模板分子, 以丙烯酰胺为功能单体, 制备了聚丙烯无纺布接枝的BSA分子印迹聚丙烯酰胺水凝胶. 但制备水凝胶聚合过程产生的聚合热或引发条件易导致蛋白质构象改变甚至变性. Zhang等人^[12]利用海藻酸盐水

引用格式: 刘东, 齐梦, 赵孔银, 等. 硅酸钙/海藻酸钙复合膜载体蛋白质分子印迹聚硅氧烷. 中国科学: 技术科学, 2018, 48: 791–798

Liu D, Qi M, Zhao K Y, et al. Protein molecularly imprinted polysiloxane prepared using calcium silicate/calcium alginate composite membrane as the matrix (in Chinese). Sci Sin Tech, 2018, 48: 791–798, doi: 10.1360/N092018-00010

凝胶温和的凝胶环境和良好的生物相容性制备了蛋白质分子印迹海藻酸钙水凝胶微球。Zhao等人^[13]以 CaCl_2 交联海藻酸钠和磷酸氢二铵,制备了蛋白质印迹磷酸/海藻酸钙凝胶微球。Peppas等人^[14]用延流法制备了BSA印迹海藻酸钙膜。宋欢语等人^[15]制备了厚度可控的蛋白质印迹海藻酸钙水凝胶膜,研究了不同洗脱液、不同厚度的膜对模板蛋白的吸附性能。但海藻酸钙水凝胶稳定性差,在生理环境下易溶胀失去强度。

溶胶-凝胶过程操作简便,反应条件温和,官能化硅烷单体能与蛋白质发生相互作用,生成的聚硅氧烷具有优良的耐热、耐水、抗氧化性,关于分子印迹聚硅氧烷的研究已有一些报道。Lee等人^[16]以四乙氧基硅烷为交联剂, γ -氨丙基三乙氧基硅烷为功能单体,印迹了溶菌酶和核糖核酸酶。刘秋叶等人^[17]以壳聚糖包裹的硅胶为载体,首先利用壳聚糖表面氨基与戊二醛结合引入醛基,固定牛血红蛋白(Hb)后,采用硅烷的溶胶-凝胶过程制备了具有选择性识别的Hb分子印迹聚合物。郭敏杰等人^[18]以乙烯基三甲氧基硅烷修饰的硅胶为载体,丙烯酸酯为功能单体,将改性聚乙烯醇作为辅助识别聚合物链引入聚合体系中,制备了Hb分子印迹聚合物。Zhu等人^[19]以海藻酸钙水凝胶膜为载体,以Hb为模板, γ -氨丙基三乙氧基硅烷(KH550)和 γ -甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷(KH570)为功能单体,制备了Hb分子印迹聚硅氧烷,研究了其吸附和缓释性能。然而单纯的海藻酸钙水凝胶稳定性差,不抗溶胀,力学性能也较差。刘东等人^[20]将海藻酸钠与硅酸钙共混,经过钙离子交联制备了硅酸钙/海藻酸钙($\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$)复合水凝胶膜。 CaSiO_3 的加入改善了CaAlg的热性能,提高了CaAlg的抗溶胀性能及其机械强度。

本文以 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜为载体,以Hb为模板,以KH550和KH570硅烷为功能单体,制备Hb分子印迹聚硅氧烷(MIP)。研究不同条件下制备的Hb分子印迹膜和非印迹膜对Hb的吸附性能。结果表明,MIP膜对Hb的吸附量明显优于非印迹膜,且具有一定的识别性能。

2 实验

2.1 试剂与仪器

海藻酸钠(NaAlg,化学纯,国药集团化学试剂有限

公司);氯化钠和氯化钙(分析纯,上海申翔化学试剂有限公司);草酸(天津市化学试剂二厂);KH550和KH570硅烷(天津市圣滨化工有限公司);牛血红蛋白(Hb,色谱纯,联星生物科技有限公司);牛血清蛋白(BSA,色谱纯,联星生物科技有限公司);蛋白卵清蛋白(Ova)和过氧化氢酶(Cat)(色谱纯,天津市血液研究所提供),所有试剂使用前均未纯化。

紫外分光光度计(TU-1901,北京普析通用仪器有限责任公司);扫描电子显微镜(SEM, S-4800, HITACHI, 日本);接触角测试仪(OCA20, Dataphysics Instruments with GmbH, 德国)。

2.2 Hb印迹和非印迹膜的制备

首先,参考文献^[20]制备不同硅酸钙含量的 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合水凝胶膜, CaSiO_3 占海藻酸钠的质量百分比分别为10%, 30%, 50%, 70%和90%。在玻璃瓶中加入2片直径为20 mm的 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合水凝胶膜,倒入10 mL浓度为1.34 mg/mL的Hb溶液。吸附12 h后,分别加入0.050 mL的KH550硅烷和KH570硅烷。在室温下放置36 h使硅烷水解缩聚。用10 mL 0.5 mol/L的草酸溶液洗脱去除模板Hb,用去离子水清洗后去除草酸,制备得到了Hb分子印迹聚硅氧烷(MIP)。

为了研究不同硅烷制备的MIP的性能,选择 CaSiO_3 占海藻酸钠的质量百分比为50%的复合膜为载体,分别在上述体系中只加入0.10 mL的KH550和KH570硅烷,得到的Hb分子印迹聚合物分别表示为MIP-KH550和MIP-KH570。除用去离子水代替Hb溶液外,根据上述步骤制备非印迹聚硅氧烷膜,记为NIP。不同种硅烷制备的NIP分别记为NIP-KH550, NIP-KH570和NIP-KH550+KH570。

除非特殊注明,MIP和NIP都加两种硅烷制备。

2.3 形貌表征

采用数码相机拍摄洗脱蛋白质后湿态下MIP的表面形貌。用扫描电子显微镜(SEM)观察洗脱后冷冻干燥的MIP膜的表面形貌,测试前先喷金。

用接触角测试仪测定不同种类硅烷制备的干燥后的MIP膜及 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜的表面水接触角^[19]。

2.4 不同硅烷制备的MIP膜的溶胀率

将不同硅烷制备的MIP膜及 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合水

凝胶膜(CaSiO_3 占海藻酸钠的质量百分比为50%)用滤纸吸干表面的水, 然后放入质量分数浓度0.9%的NaCl溶液中, 每隔一段时间取出, 再次用滤纸吸干表面的水, 用精确电子天平称不同时间内膜的湿重. 膜的溶胀率 R_s (%)的计算公式如下:

$$R_s = (W_s - W_0) / W_0 \times 100\%, \quad (1)$$

式中, W_0 和 W_s 分别为MIP膜初始和不同溶胀状态的质量.

$\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合水凝胶膜和不同硅烷制备的MIP膜的溶胀测试同上.

2.5 Hb吸附性能测试

分别将1片Hb印迹和非印迹膜放入10 mL浓度为1.34 mg/mL的Hb水溶液中^[21], 每隔一段时间取上清液用紫外分光光度计测定其在278 nm波长处的吸光度, 根据标准曲线计算Hb浓度的变化, 参考文献^[15]计算平衡吸附量 Q_e (mg/g), 画吸附动力学曲线.

印迹效率(IE)定义为印迹膜对Hb平衡吸附量与非印迹膜对Hb的平衡吸附量的比值^[19,22].

配制浓度分别为0.5, 0.1, 0.15, 2.0, 3.0 mg/mL的Hb水溶液, 研究MIP和NIP膜对Hb的热力学吸附性能, 参考文献^[22]采用Langmuir吸附模型和Freundlich吸附模型对数据进行拟合.

2.6 Hb印迹膜的吸附选择性测试

分别配制BSA, Ova, Cat和Hb的水溶液, 浓度均为1.34 mg/mL. 分别将Hb印迹和非印迹膜放入10 mL的上述蛋白质溶液中, 12 h后测试各蛋白质溶液的紫外吸光度, 计算其平衡吸附量(mg/g).

3 结果与讨论

3.1 Hb印迹海藻酸钙水凝胶膜的形貌

图1为MIP的数码照片和SEM照片. 复合水凝胶膜载体中 CaSiO_3 占海藻酸钠的质量百分比为50%, 根据文献^[20]来看该含量的复合水凝胶膜具有较好的力学性能和抗溶胀性能. MIP膜为白色, 厚度为0.369 mm. 因MIP膜表面经过硅烷缩聚生成一层聚硅氧烷, 厚度比 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜显著增加. 从其表面SEM图中可看出表面有一层聚硅氧烷膜.

3.2 MIP的溶胀性能

图2为 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜及不同硅烷种类制备的MIP膜在生理盐水中的溶胀曲线. 可以看出, 所有的样品溶胀率都是先快速上升然后达到溶胀平衡. MIP-KH550膜的溶胀率最大, 达到87.7%, 这跟KH550硅烷含有较多亲水性的氨基有关. MIP-KH570膜的溶胀率最小, 因为KH570硅烷含疏水官能团, 因此用它制备得到的分子印迹聚硅氧烷比较耐溶胀, 其平衡溶胀率只有28.9%. $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜和利用两种硅烷制备的分子印迹膜的溶胀性能差不多. $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜比CaAlg膜具有更好的抗溶胀性能^[20], 因此用复合膜作为载体制备的分子印迹聚硅氧烷膜比用CaAlg膜载体具有更好的抗溶胀性能^[19].

3.3 不同硅烷种类制备的MIP膜的水接触角

图3为干燥后 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜及用不同硅烷制备的MIP的水接触角. $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合凝胶膜的接触角为42.3°, 表明其具有一定的亲水性. 只用硅烷

图1 (网络版彩图)MIP膜的数码照片(a)和SEM照片(b)

图2 (网络版彩图)不同硅烷种类制备的MIP膜和 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜在生理盐水中的溶胀曲线

图3 CaSiO₃/CaAlg复合膜和不同硅烷种类制备的MIP膜的表面水接触角

KH550制备的MIP膜水接触角为16.3°, 其亲水性良好。而MIP-KH570的水接触角达到110°, 其表面具有较强的疏水性。两种硅烷制备的MIP膜即MIP-KH550+KH570的接触角为64.2°。这些结果与文献报道的一致^[19]。水接触角的大小反映了材料表面的亲疏水性, 可以用来解释材料的溶胀性能。

3.4 CaSiO₃/CaAlg膜和MIP的TG分析

图4为CaSiO₃/CaAlg膜和MIP膜的TG曲线, 从图中可以看出, CaSiO₃/CaAlg膜在77.35℃左右有一吸热峰, 同时伴有12.88%的失重, 这是由于凝胶表面吸附的自由水挥发所引起的。在166~218℃之间有一个以188℃为峰值的放热峰, 在218~347℃之间有一个以273℃为峰值的放热峰, 同时伴有40.42%的失重, 这是凝胶膜中海藻酸盐以及硅酸盐的分解所致。在347~550℃之间有一个以473℃为峰值的放热峰, 同时伴有9.08%的失重, 说明凝胶膜中的羟基和羧基脱除, 海藻酸盐发生炭化。MIP膜的失重率比CaSiO₃/CaAlg复合膜低, 表明其具有更好的热稳定性。这是因为硅烷缩聚生成的聚硅氧烷具有更好的热稳定性^[19]。

3.5 不同硅酸钙含量制备的MIP膜对Hb的吸附

图5为不同硅酸钙含量的CaSiO₃/CaAlg复合膜制备的MIP和NIP对Hb吸附曲线及其印迹效率。从图中可以看出在开始吸附的120 min内, 所有MIP膜样品对Hb的吸附量均快速上升, 之后达到吸附平衡。随着CaSiO₃/CaAlg复合膜中硅酸钙含量的升高, 得到的MIP膜对Hb的吸附量越大。这是因为硅酸钙比海藻酸钙对蛋白质具有更好的吸附性能。在制备MIP的过程中, 载体

图4 (网络版彩图)CaSiO₃/CaAlg复合水凝胶膜以及MIP的TG(a)和DTG(b)曲线

中硅酸钙含量越大, 吸附负载的Hb越多, 因此洗脱模板后形成的印迹孔穴也越多, 因此得到的MIP膜对Hb的吸附量越大。CaSiO₃占海藻酸钠的质量百分比为90%的膜制备的MIP膜对Hb的平衡吸附量达到75.6 mg/g。从图5(b)看出, NIP膜对Hb的吸附量明显小于MIP膜, 但达到吸附平衡的时间较快, 60 min后吸附量基本不发生变化。NIP膜达到吸附平衡的时间短、吸附量低是因为NIP膜表面没有形成印迹位点和印迹孔穴, 其吸附主要是物理吸附, 而MIP膜中含有分子印迹孔穴和位点, 其吸附量明显增加, 且Hb进入印迹孔穴和位点的传质过程需要时间, 因此达到平衡吸附的时间长些。

以CaSiO₃/CaAlg复合膜为载体制备的MIP膜对模板Hb的吸附量略高于以CaAlg膜为载体制备的MIP膜。但从图5(c)中看, 以CaSiO₃/CaAlg复合膜为载体制备的MIP膜的印迹效率仅为1.5~1.8, 略低于以CaAlg膜载体制备的MIP。这可能主要是因为复合载体制备的NIP对

图5 (网络版彩图)不同硅酸钙含量的载体制备的MIP(a)和NIP(b)膜对Hb的吸附动力学曲线及印迹效率(c)

图6 (网络版彩图)不同硅烷种类制备的(a)MIP和(b)NIP膜对Hb的吸附动力学曲线及印迹效率(c)

Hb的吸附量较高导致. 另一方面, 在洗脱Hb时使用的草酸会与硅酸钙反应, 在其表面生成介孔硅胶结构, 增加了对Hb的吸附, 这些非特异性吸附导致印迹效率较低^[21,23].

3.6 不同硅烷种类制备的MIP膜对Hb的吸附动力学

图6为以硅酸钙含量50%的 $\text{CaSiO}_3/\text{CaAlg}$ 复合膜

为载体, 加入不同种类硅烷所制备的MIP和NIP膜对Hb的吸附量, 以及MIP的印迹效率. 加入KH550和KH570两种硅烷制备的MIP膜和NIP膜对Hb的吸附量大于只加一种硅烷制备的膜, 这与文献报道一致^[24,25]. KH550和KH570两种硅烷在水溶液中水解分别生成含亲水性氨基和疏水性烷基基团的硅醇基. 文献^[25]报道亲水和疏水两种相互作用对蛋白质的印迹都是必不

可少的, 因为蛋白质本身含有亲水氨基酸残基和疏水氨基酸残基. 由于本文采用了表面印迹的方法, 利于蛋白质的传质, 得到的MIP膜对模板Hb的吸附速率较快, 在120 min即可达到吸附平衡, 而水凝胶制备的MIP材料往往需要更长时间达到平衡吸附^[13]. 目前遇到的挑战是如何提高MIP对蛋白质的印迹效率, 因为蛋白质体积庞大、构象灵活、表面官能团众多, 容易造成非特异性吸附.

3.7 MIP膜和NIP膜对Hb的吸附热力学

图7为以硅酸钙含量50%的CaSiO₃/CaAlg复合膜为载体, 加入两种硅烷制备的MIP和NIP膜对Hb的吸附热力学曲线. 可以看出, 在各种浓度下MIP膜对Hb的平衡吸附量均大于NIP膜. 这是因为MIP存在对Hb有特异性结合的位点和互补的印迹孔穴, 而NIP只是物理吸附, 这一现象在较低Hb浓度时更为显著. 当Hb浓度较高时, 由于蛋白质在较高浓度下发生聚集, 生成多聚体, 大大干扰了膜对Hb的吸附量. 当MIP膜的特异性结合位点结合Hb饱和后, MIP的吸附量不再随蛋白质浓度提高而增加. 本文参考文献[22]对吸附热力学数据进行了Langmuir吸附模型和Freundlich吸附模型的拟合, 可以看出, MIP和NIP膜对Hb的吸附均更符合Langmuir吸附模型.

3.8 MIP膜的吸附选择性

图8为以硅酸钙含量50%的CaSiO₃/CaAlg复合膜为载体, 加两种硅烷制备的MIP和NIP膜对单一的模板蛋白Hb及对比蛋白过氧化氢酶(Cat)、卵清蛋白(Ova)和牛血清白蛋白(BSA)的平衡吸附量. 可看出MIP膜对

图7 (网络版彩图)MIP与NIP膜对Hb的吸附热力学曲线

图8 CaAlg MIP和NIP膜对Hb及对比蛋白的吸附量

模板Hb的吸附量是NIP膜的1.8倍, 且MIP膜对Hb的吸附量均大于对比蛋白质的吸附量, MIP膜对于Hb的吸附量分别为MIP对Cat, Ova和BSA吸附量的3.0倍, 2.4倍和2.1倍, 而NIP对Hb和其他蛋白质的吸附量相差不大. 这表明MIP膜具有一定的吸附选择性, 而NIP膜则没有.

目前本文工作还存在着印迹效率较低的问题, 因此没有做MIP对混合蛋白质的吸附选择性, 下一步计划参考文献[25]将蛋白质醛基固定, 然后再加入硅烷缩聚, 洗脱模板蛋白质后可望得到更好印迹效率的MIP膜.

4 结论

本文以硅酸钙/海藻酸钙(CaSiO₃/CaAlg)复合水凝胶膜为载体, 吸附牛血红蛋白(Hb)后, 加入 γ -氨基丙基三乙氧基硅烷(KH550)和 γ -甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷(KH570)硅烷, 硅烷缩聚在CaSiO₃/CaAlg复合水凝胶膜表面生成Hb分子印迹聚硅氧烷(MIP). 相比CaAlg凝胶膜, CaSiO₃/CaAlg复合水凝胶膜具有更好的机械强度及抗溶胀性, 因此以其为载体制备的MIP膜更耐溶胀. MIP膜比CaSiO₃/CaAlg复合膜具有更好的热稳定性. 随着CaSiO₃/CaAlg复合膜中硅酸钙含量的升高, 得到的MIP膜对Hb的吸附量越大. 复合膜载体制备的MIP膜对Hb的吸附量略高于以CaAlg膜为载体制备的MIP膜. 但由于非特异性吸附的影响, 印迹效率反而略低. MIP膜对模板Hb的吸附速率较快, 在120 min达到吸附平衡. MIP膜对Hb的吸附量均大于对

比蛋白质的吸附量, 而NIP对Hb和其他蛋白质的吸附量相差不大, 表明MIP膜具有一定吸附选择性. MIP和NIP膜对Hb的吸附均符合Langmuir吸附模型. 本文制

备的蛋白质印迹膜吸附速率快, 吸附量大, 在蛋白质分离分析、蛋白质控制释放及生物医学工程等领域有广泛的应用前景.

参考文献

- Huynh T P, Sharma P S, Sosnowska M, et al. Functionalized polythiophenes: Recognition materials for chemosensors and biosensors of superior sensitivity, selectivity, and detectability. *Prog Polymer Sci*, 2015, 47: 1–25
- Schirhagl R, 任康宁, Zare R N. 表面印迹聚合物及其在微流控器件中的应用. *中国科学: 化学*, 2012, 42: 937–953
- Ahmad R, Griffete N, Lamouri A, et al. Nanocomposites of gold nanoparticles@molecularly imprinted polymers: Chemistry, processing, and applications in sensors. *Chem Mater*, 2015, 27: 5464–5478
- Griffete N, Fresnais J, Espinosa A, et al. Design of magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles for controlled release of doxorubicin under an alternative magnetic field in athermal conditions. *Nanoscale*, 2015, 7: 18891–18896
- 赵焱, 李龙, 秦伟. 基于SCI的分子印迹技术文献计量学研究. *材料导报*, 2015, 5: 105–109
- 张现峰, 杜学忠. 蛋白表面分子印迹技术. *化学进展*, 2016, 1: 149–162
- Li S, Cao S, Whitcombe M J, et al. Size matters: Challenges in imprinting macromolecules. *Prog Polymer Sci*, 2014, 39: 145–163
- 王红飞, 杨浩, 张黎明. 具酯酶活性的温敏型分子印迹微凝胶. *中国科学: 化学*, 2011, 41: 524–530
- Wang Q, Zhang Y Y, Dai X Y, et al. A high strength pH responsive supramolecular copolymer hydrogel. *Sci China Tech Sci*, 2017, 60: 78–83
- Verheyen E, Schillemans J P, van Wijk M, et al. Challenges for the effective molecular imprinting of proteins. *Biomaterials*, 2011, 32: 3008–3020
- Zhao K, Lin B, Cui W, et al. Preparation and adsorption of bovine serum albumin-imprinted polyacrylamide hydrogel membrane grafted on non-woven polypropylene. *Talanta*, 2014, 121: 256–262
- Zhang F J, Cheng G X, Ying X G. Emulsion and macromolecules templated alginate based polymer microspheres. *React Funct Polym*, 2006, 66: 712–719
- Zhao K, Cheng G, Huang J, et al. Rebinding and recognition properties of protein-macromolecularly imprinted calcium phosphate/alginate hybrid polymer microspheres. *React Funct Polym*, 2008, 68: 732–741
- Bayer C L, Herrero E P, Peppas N A. Alginate films as macromolecular imprinted matrices. *J Biomater Sci Polymer Ed*, 2011, 22: 1523–1534
- 宋欢语, 赵孔银, 李思迪, 等. 厚度可控蛋白质印迹海藻酸钙水凝胶膜的制备和表征. *中国科学: 技术科学*, 2016, 46: 931–939
- Lee K, Itharaju R R, Puleo D A. Protein-imprinted polysiloxane scaffolds. *Acta Biomater*, 2007, 3: 515–522
- 刘秋叶, 何锡文, 李文友, 等. 壳聚糖包裹硅胶载体印迹牛血红蛋白的研究. *高等学校化学学报*, 2009, 30: 691–696
- 郭敏杰, 宋艾芳, 樊志, 等. 在硅胶表面制备牛血红蛋白分子印迹聚合物. *化学学报*, 2011, 69: 2877–2881
- Zhu D, Chen Z, Zhao K, et al. Adsorption and sustained release of haemoglobin imprinted polysiloxane using a calcium alginate film as a matrix. *RSC Adv*, 2015, 5: 26977–26984
- 刘东, 赵孔银, 宋欢语, 等. 硅酸钙-海藻酸钙复合水凝胶膜的制备及表征. *复合材料学报*, 2017, 34: 142–147
- Kan B, Feng L, Zhao K, et al. Preparation and rebinding properties of protein-imprinted polysiloxane using mesoporous calcium silicate grafted non-woven polypropylene as matrix. *J Mol Recognit*, 2016, 29: 115–122
- Zhao K, Chen T, Lin B, et al. Adsorption and recognition of protein molecular imprinted calcium alginate/polyacrylamide hydrogel film with good regeneration performance and high toughness. *React Funct Polym*, 2015, 87: 7–14
- Wang X, Zhao K, Yang B, et al. Adsorption of dibutyl phthalate in aqueous solution by mesoporous calcium silicate grafted non-woven polypropylene. *Chem Eng J*, 2016, 306: 452–459
- Feng L, Kan B, Zhao K, et al. Preparation and characterization of protein molecularly imprinted polysiloxane using mesoporous calcium silicate as matrix by sol-gel technology. *J Sol-Gel Sci Technol*, 2014, 71: 428–436
- Shiomi T, Matsui M, Mizukami F, et al. A method for the molecular imprinting of hemoglobin on silica surfaces using silanes. *Biomaterials*, 2005, 26: 5564–5571

Protein molecularly imprinted polysiloxane prepared using calcium silicate/calcium alginate composite membrane as the matrix

LIU Dong^{1,2}, QI Meng², ZHAO KongYin^{1,2}, XU GuoQing², WU MengDi²,
WEI MengMeng¹ & WEI JunFu¹

¹ State Key Laboratory of Separation Membranes and Membrane Processes, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, China;

² School of Material Science and Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, China

Calcium silicate/calcium alginate composite hydrogel membrane (CaSiO₃/CaAlg) was prepared by cross-linking the mixture of calcium silicate and sodium alginate with CaCl₂ solution. Then the Haemoglobin (Hb) molecularly imprinted polysiloxane (MIP) was synthesized using CaSiO₃/CaAlg composite hydrogel membrane as the matrix to adsorb Hb (the template), using Ethylenetri(β-methoxy)ethoxysilane (KH-570) and γ-amidopropyltriethoxysilane (KH-550) as functional monomers. The surface morphology and the thermal performance of the MIP membrane were characterized by scanning electron microscope (SEM) and thermogravimetric (TG) analysis. The surface contact angle and the swelling properties of the MIPs prepared with different silanes were studied. The adsorption properties of MIP and non-imprinted polysiloxane (NIP) were evaluated and the results showed that MIP membrane exhibited a significant improvement in terms of rebinding capacity for Hb compared with NIP. The MIP membrane could selectively recognize the template protein. The curves of Hb adsorption for Both MIP and NIP membrane are more in line with the Langmuir adsorption model. The adsorption rate of the MIP prepared in this paper was fast, the adsorption quantity was big and the MIP membrane was easy to be used. The MIP membrane could be widely used in protein separation and analysis, protein control release and biomedical engineering.

calcium silicate/calcium alginate, molecular imprinting, bovine hemoglobin (Hb), polysiloxane, adsorption

doi: [10.1360/N092018-00010](https://doi.org/10.1360/N092018-00010)