

等离子体聚合物作为生物传感器敏感膜的研究^{*}

张治红 豆 君 闫福丰

(河南省表界面重点实验室, 郑州轻工业学院材料与化工学院, 郑州 450002)

摘要 对等离子体聚合物作为生物传感器敏感膜的最近研究进展进行了讨论。重点综述了蛋白质和抗体在各种等离子体聚合物上的吸附, 以及 DNA 在等离子体聚合物薄膜上的固定, 并对未来等离子体聚合物作为生物材料的应用前景进行了展望。

关键词 等离子体聚合物 生物传感器 DNA 蛋白质 抗体

聚合物薄膜因其在力学、电学、光学等领域具有广泛的用途, 引起了人们的极大兴趣。它们能够用于化学、物理及生物传感器, 微电子器件及非线性光学和分子器件上。当前, 研究设计和生产聚合物薄膜的技术方法层出不穷, 所有这些技术之中, 等离子体技术由于所制备的聚合物具有化学性质及力学稳定性好、结合紧密和表面结构平整等优点, 因而被更多地考虑用于构建聚合物薄膜。基于等离子体技术的生物传感器在短短的几年间就有了很快的发展。等离子体聚合物膜具有在几乎所有基板上都能很好地粘附, 化学、力学和热学性能稳定, 以及高的栅栏效应等优点。而且, 当表面膜层的化学结构被显著改变时, 基板的主体性能仍保持不变。另外, 通过不同条件下的低压等离子体技术可以实现宽范围的聚合物表面修饰。因此, 等离子聚合或等离子表面改性技术被用于许多领域, 如润滑油表面、生物可吸收的聚合物、增强材料的生物相容性、骨内固定装置、生物诊断传感器等^[1-6]。

最近, 等离子聚合物作为生物材料的应用引起了许多研究者的兴趣。生物医学领域需要的聚合物除了要满足物理性能要求外, 还要具有“生物相容性”, 即需要材料表面的化学反应环境和生物环境相一致, 表面改性技术为这一难题的解决提供了很大的帮助, 同时又避免了昂贵材料性能的改变。在这些表面改性技术中, 低温等离子体技术由于其独特的优点而占据一个重要角色^[7-8]。例如, 在许多应用领域, 低分子量乙二醇类单体在以氧气为载体的射频等离子体中会在基板表面产生防污性的聚环氧乙烷类似物膜^[9], 其在血红蛋白(纤维蛋白、血清白蛋白)、抗体、细胞和细菌上的防污性能测试也获得了成功^[10]。据了解, 肝素和肝素样分子、胶原蛋白、血清蛋白和其它生物分子能被固定在具有抗血栓性能的聚合物表面^[11-13]。另外, 常用的接枝基团如氨基、羟基和羧基是将辉光放电作用于非沉积气体如氨气、O₂、水蒸气等而获得的, 这样处理的目的是增强传统聚合物较低的浸润性, 以提高细胞在聚合物表面的吸附和生长^[14-15]。实际上, 在过去的十年内, 等离子聚合和等离子表面改性在生物医学或生物传感器领域的应用已经被证实是一场革命。

1 等离子体表面改性技术

等离子体表面改性技术应用于各类聚合物的表面接枝,

利用非聚合性无机气体(Ar、N₂、H₂、O₂等)的等离子体进行表面反应, 形成交联结构层或生成表面自由基, 从而进一步反应产生特定官能团。较为普遍的是在聚合物材料表面引入含氧官能团, 如羟基、羧基等, 或是在材料表面引入氨基^[16]。之后, 就可与其它聚合物单体进行接枝或聚合反应, 或直接在材料表面固定生物活性分子。由于等离子体反应过程中, 电子的高能量足以使反应物活化, 而反应体系又能保持相对较低的温度, 甚至接近室温, 从而使得非热平衡等离子体在等离子体刻蚀、等离子体聚合和等离子体表面处理及改性、生物医药、消毒灭菌、环境保护等领域都具有广泛的应用前景。

等离子体改性技术能改变聚合物及其表面的特性, 如生物相容性、力学或化学性质。等离子沉积在生物材料工程中有着很重要的应用领域, 由于它只有很薄的一层, 它的性质显然不同于常用的厚膜材料。

2 蛋白质在等离子体聚合物上的吸附

蛋白质吸附在许多材料的应用上是非常重要的, 如胶状食品、泡沫材料、生物技术产品等。怎样处理材料使蛋白质在其表面可以吸附或不吸附, 这是一个关键性的技术问题。等离子体聚合技术能够形成各种基团密度可控的功能性基团, 从而很容易地控制等离子体聚合物表面的化学结构。等离子体聚合物膜上能产生可与蛋白质作用的基团, 如环氧基、氨基、羧基、硅氧基等。

2.1 蛋白质在含环氧基聚合物表面的吸附

通常, 分子中含有环氧基的聚合物表面能够使蛋白质在其上的吸附量减少。在聚合物表面分子中接入环氧基的方法有简单的物理吸附方法^[17]、辐射和化学交联方法^[18]、单层膜自组装技术^[19]和等离子体聚合技术^[9, 20-21]。其中等离子体聚合技术因其独有的特点得到快速发展。G. P. Lopez等^[9]首次证实了四乙二醇二甲醚的等离子体聚合物膜具有很强的抗蛋白特性。D. Beyer等^[20]的研究表明了三乙二醇单烯丙基醚的脉冲等离子体聚合物膜具有很有效的防污表面。Y. J. Wu等^[21]用radio标记的血清白蛋白和纤维蛋白原对含

^{*} 国家自然科学基金项目(20704039)

收稿日期: 2010-05-13

环氧基聚合物表面进行测试时发现,在较低射频等离子条件下,单体分子中含有两个环氧乙烷基团时就能取得显著的防污效果。然而,含环氧基聚合物膜的化学结构和性能取决于制备过程中产生等离子体的条件,因此有一些蛋白质反而能够在含环氧基聚合物膜表面上吸附。此外,膜的光学性质和厚度也影响蛋白质的吸附能力。

为了控制蛋白质在表层的固定,使用了大量的微细加工技术,包括电子或离子束曝光、微接触印刷、纳米压印光刻技术。扫描探针显微技术(SPM)包括扫描探针纳米接枝(SPG)、扫描探针纳米光刻(SPN)、蘸笔纳米光刻术(DPN)等,能够在极其高的空间分辨率和潮湿环境下制备图案化材料。所有这些蛋白图案化技术最困难的一个方面是阻止蛋白质在所选基板上的非特异性吸附,由于含环氧基聚合物的化学特性,此类薄膜受到极大关注。

2.2 蛋白质在等离子体聚六甲基二硅氧烷(PPHMSO)膜上的吸附

由于具有高沉积率和通过改变沉积条件对结构和性能进行控制的能力,有机硅常被用于制备等离子体聚合物的单体。六甲基二硅氧烷(HMSO)与硅烷化合物相比是一种处理时简单安全的单体。最近,等离子聚合 HMSO 膜作为生物分子吸附材料受到相当大的重视。例如, T. Hayakawa 等^[22]报道了等离子体改性聚合物 PPHMSO 的钛表面可以应用于牙科植入材料。PPHMSO 也可用于蛋白质芯片。S. Yeo 等^[23]制备的 PPHMSO 图案基板显示了蛋白质选择性地吸附在 O_2 等离子体处理过的表面上。

2.3 蛋白质在含氨基和羧基单体的等离子体涂层上的吸附

一般而言,氨基功能化的等离子体涂层具有亲水性,羧基功能化的等离子体涂层具有疏水性,这一性质就决定了蛋白质在这两种功能化涂层上的吸附情况。S. Yeo 等^[24]构建了等离子体聚乙二醇(PPEDA)和聚环己烷(PPCHex)的图案化基板,其上有能够连接蛋白质的氨基和亲水性表面,同时又有 PPCHex 的疏水表面,从而减少了非特异性蛋白的吸附。比较 PPEDA/PPCHex 图案化基板和仅有 PPEDA 的基板可知,PPEDA/PPCHex 图案化基板的平均信噪比较高,说明在 PPCHex 表面的非特异性吸附减少。而疏水程度和表面粗糙度并不能显著影响蛋白质在 PPCHex 上的吸附,由此可见表面上的氨基基团对蛋白质吸附非常重要。

S. Kurosawa 等^[25]以丙烯酸、丙烯酸、丙烯醛和丙烯腈为单体,在平整的玻璃基板或聚合物基板上制备等离子体聚合物膜。用¹²⁵I 的标记蛋白[如免疫球蛋白 IgG 及其 F(ab')₂ 和 Fc 片段、人血清白蛋白 HSA]来测定这些等离子体聚合物膜的蛋白吸附情况,发现通常阳离子表面比阴离子表面更具有亲蛋白吸附性。经过测定可知,等离子体聚丙烯胺(PPAA)膜表面对 F(ab')₂ 片段有最大的吸附量;等离子体聚丙烯酸表面对 F(ab')₂ 片段有最小的吸附量,同时对其它三种蛋白的吸附量也是最小的。这些结果说明等离子体聚丙烯酸膜能够用于构建防污性材料。从这个实验中可知等离子体聚合

技术有望用于构建一种智能的纳米生物界面,它能够用一种合适的单体来控制蛋白质在固相基体上的吸附,需要较多的蛋白质吸附时就用丙烯酸,较少时用丙烯酸。

2.4 抗体在等离子体聚合物上的固定

抗体作为一种特殊的蛋白质,在生物学和医学上有着不可替代的作用。近年来,疾病的多样化和高发病率一直是重要的民生问题。如何对疾病做出快速而准确的判断,能否创造一种用于检测的蛋白质微阵列或蛋白质芯片,一直是研究者致力克服的难题。因此选择能固定各种抗体的芯片基板则显得非常重要。K. Kojima 等^[26]研究了三电极系统在单一芯片上的电化学分析。抗体可以固定在双层等离子体聚合物膜(PPF)上,这种膜能保留所捕获抗体的活性。虽然 PPF 非常薄,但是它可以牢牢固定抗体,同时控制过氧化氢的扩散。这种蛋白芯片开发的一个共同问题是设计具体的捕获分子,能与想要检测的靶蛋白结合。随着一套临床医学或生物学重要蛋白的捕获分子的建立,这一发现将在临床诊断中发挥关键作用。

3 DNA 在等离子体聚合物基体上的固定

DNA 基础的生物传感器在过去几年里已受到重视。在分子遗传学研究中,它促使许多尝试开发新的生物传感器和以微阵列为基础的设备,用于特定基因序列分析和核酸配体相互作用的研究^[27]。

用于连接 DNA 探针的基板有很多,如链霉亲和素、单克隆抗体和阳离子脂质膜。在这些系统中,杂交方向很容易被控制。DNA 在二维基板上的杂交已经被广泛研究,研究显示它作为生物传感器具有广泛的商业应用价值。与二维基板相比, DNA 在三维基板上有更多的固定位点,具有更高的灵敏度。

由于等离子体聚合物在缓冲溶液中具有三维结构,这为传感器技术提供了许多优点,例如材料的成本相对较低、其制造技术简单、基板的类型多、分子结构的选择范围宽和构建侧链和电荷或中子微粒之间连接的潜力。聚赖氨酸广泛应用于 DNA 的固定和杂交,这是因为其具有阳离子氨基酸^[28]。目前,PPAA 也开始作为三维基板用于 DNA 的固定和杂交,这是因为其制备简便,并具有和聚赖氨酸一样的功能基团。DNA 探针固定于功能性聚合物表面的发展对于 DNA 传感器的成功设计至关重要。L. Q. Chu 等^[29]采用脉冲等离子体技术将甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)聚合生成环氧基功能化薄膜(ppGMA)。发现 ppGMA 能阻止 DNA 链的非特异性吸附,而裸露的基团能与氨基标定的 DNA 探针在温和的环境下不经活化直接反应,并且制成的 DNA 传感器能成功区分各种不匹配的 DNA 序列。结果表明,ppGMA 薄膜表面改性很有希望用于制造多样的 DNA 传感器。

4 结语

综上所述,用等离子体技术处理后的聚合物,无论在蛋白质吸附还是 DNA 的固定上都有很大的优势,这种等离子体聚合物膜或等离子体表面改性膜在生物传感器上的应用

将越来越广泛, 特别为 DNA 芯片和蛋白质芯片基体的选择提供了更为广阔的空间。

参考文献

- [1] Chan C M, et al. Surf Sci Rep, 1996, 24: 1 – 54.
- [2] Harsch A, et al. J Neurosci Meth, 2000, 98: 135 – 144.
- [3] Harsch A, et al. Biomed Mater Res, 1998, 42: 597 – 603.
- [4] Jenkins A T A, et al. Langmuir, 2000, 16: 6 381 – 6 384.
- [5] Schiller S, et al. Chem Mater, 2002, 14: 235 – 242.
- [6] Zhang Z, et al. Langmuir, 2003, 19: 4 765 – 4 770.
- [7] Egitto F D, et al. IBM J Res Develop, 1994, 38: 423 – 439.
- [8] Chen H, et al. Progress in Polymer Science, 2008, 33: 1 059 – 1 087.
- [9] Lopez G P, et al. J Biomed Res, 1992, 26: 415 – 439.
- [10] Merrill E W, et al. Asaio J, 1983, 6: 93 – 102.
- [11] Danilich M J, et al. J Biomat Sci Polym Ed, 1992, 3: 195 – 216.
- [12] Terlingen J G A, et al. J Biomat Sci Polym Ed, 1993, 4: 165 – 181.
- [13] Anilich J, et al. Ann Biomed Eng, 1993, 21: 655 – 668.
- [14] Gegenbach T R, et al. J Adh Sci Technol, 1994, 8: 305 – 328.

- [15] Ertel S I, et al. Biomaterials, 1996, 17: 841 – 847.
- [16] Dai L M, et al. Surf Interfac Anal, 2000, 29: 46 – 55.
- [17] Cole M A, et al. SmartMater Struct, 2007, 16: 2 222 – 2 228.
- [18] Strobel M, et al. Plasma Surface Modification of Polymers: Relevance to Adhesion[M]. Utrecht: VSP, 1994: 197 – 208.
- [19] Prime K L, et al. J Am Chem Soc, 1993, 115: 10 714 – 10 721.
- [20] Beyer D, et al. J Biomed Mater Res, 1997, 36: 181 – 189.
- [21] Wu Y J, et al. Coll Surf B, 2000, 18: 235 – 248.
- [22] Hayakawa T, et al. Biomaterials, 2004, 25: 119 – 127.
- [23] Yeo S, et al. Current Applied Physics, 2006, 6: 267 – 270.
- [24] Yeo S, et al. Journal of the Korean Physical Society, 2007, 51: 1 000 – 1 006.
- [25] Kurosawa S, et al. Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22: 2 598 – 2 603.
- [26] Kojima K, et al. Anal Chem, 2003, 75: 1 116 – 1 122.
- [27] Yand M, et al. Anal Chim Acta, 1997, 346: 259 – 275.
- [28] Niwa M, et al. Internat J Bio Macromole, 2002, 30: 47 – 54.
- [29] Chu L Q, et al. Biosensors and Bioelectronics, 2008, 24: 118 – 122.

RESEARCH OF PLASMA POLYMER APPLIED AS SENSITIVE LAYERS OF BIOSENSORS

Zhang Zhihong, Dou Jun, Yan Fufeng

(Henan Provincial Key Laboratory of Surface & Interface Science, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT The newest developments in the research of plasma polymer applied as sensitive layers of biosensors were discussed. The adsorption of proteins and antibodies and the immobilization of DNA on the plasma polymers were summarized emphasisly. The future developments of plasma polymers applied as the biomaterials were prospected.

KEYWORDS plasma polymer, biosensor, DNA, protein, antibody

山东东辰工程塑料有限公司长年供应各种长碳链 尼龙树脂及改性尼龙等各类改性塑料产品

山东东辰工程塑料有限公司是淄矿集团公司的第一个高新技术化工企业, 是国内首家专业从事长碳链尼龙(PA) 1212、612、610 合成、改性开发及销售的企业。公司始建于 2000 年 1 月, 现年生产长碳链 PA 树脂 2000 t、各种 PA 改性产品 3000 t 及聚丙烯(PP)、聚碳酸酯(PC)、(丙烯腈/丁二烯/苯乙烯)共聚物(ABS)、聚对苯二甲酸丁二酯(PBT)等改性产品 8000 t。公司引进国内一流的先进设备和工艺技术, 现拥有员工 138 人, 固定资产 1.2 亿元。

公司愿与国内外广大客户及同仁真诚合作, 携手共谋发展。

公司主要产品:

- PA1212 树脂切片(挤出级、注塑级)
- PA612 树脂切片(挤出级、注塑级)
- PA610 树脂切片(挤出级、注塑级)
- PA1010 树脂切片(挤出级、注塑级)
- PA1212 改性产品(增塑、增强、填充、阻燃、增强阻燃)
- PA1010 改性产品(增强、阻燃、填充、增强阻燃)
- PA612 改性产品(增强、阻燃、填充、增强阻燃)
- PA610 改性产品(增强、阻燃、填充、增强阻燃)

- PA6 改性产品(增强、阻燃、填充、增强阻燃)
- PA66 改性产品(增强、阻燃、填充、增强阻燃)
- PP 改性产品(增强、阻燃、填充、增强阻燃、合金)
- PBT 改性产品(增强、阻燃、填充、增强阻燃、合金)

特色推荐产品:

- PA1212 油管、刹车管专用料(可完全替代进口 PA11、PA12 管材料)
- PA1212 羽毛球专用料
- PA1212 线缆涂覆专用料
- PA 波纹管专用料(HB 级、阻燃级、环保阻燃级)
- 增强 PA612(可完全替代杜邦 77G33L)
- PA66 汽车水室专用料
- 光缆护套专用料
- 超高粘度尼龙系列
- 高温尼龙系列
- 透明尼龙系列

地址: 山东省章丘市圣井镇 邮编: 250220

电话: 0531 – 83686688 83696666

传真: 0531 – 83686788

E – mail: dcam@dongchenchem.com

网址: www.dongchenchem.com