

荧光传感器阵列*

刘 渊 丁立平** 曹 源 房 喻

(应用表面与胶体化学教育部重点实验室 陕西师范大学化学化工学院 西安 710062)

摘 要 传感器阵列是基于对动物嗅觉系统的认识发展起来的一种有力的分子识别手段,其由一系列传感单元组成,通过各传感单元对样品响应后产生的特征图谱实现对特定物质的识别检测,尤其对混合样品的鉴定具有突出优势。其中,荧光传感器阵列由于具有灵敏度高、无需参照体系、输出信号丰富、能够成像等优点,已成为近年来传感器阵列发展的重点。本综述根据荧光传感单元形式的不同,分别介绍了溶液型、颗粒型、薄膜型荧光传感器阵列的发展情况,并重点阐述了荧光传感器阵列的设计方法、传感机理及其在对金属离子、有机化合物和生物分子识别中的应用。

关键词 荧光 传感器阵列 图谱识别 颗粒 薄膜

中图分类号: O647.11; TQ617.3; TP212.2 文献标识码: A 文章编号: 1005-281X(2012)10-4915-13

Fluorescent Sensor Arrays

Liu Yuan Ding Liping** Cao Yuan Fang Yu

(Key Laboratory of Applied Surface and Colloid Chemistry of Ministry of Education, School of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract Sensor arrays are developed based on the knowledge of olfactory systems and have become a powerful tool in the field of molecular recognition. Sensor arrays are comprised of a series of sensor elements which generate a specific recognition pattern for each analyte. This advantage provides sensor arrays discriminatory power to identify chemically or structurally similar analytes and even complex mixed samples. Due to the high sensitivity, no need of reference systems, multiple signals, and ability to be visualized, fluorescent sensor arrays have obtained increasing attention in the field of sensor arrays. The present review introduces the advances in the fluorescent sensor arrays which can be classified into solution-based arrays, particle-based arrays and film-based arrays according to the type of the sensor elements utilized. The design strategy and sensing mechanism of fluorescent sensor arrays and their applications in the field of recognition of metal ions, organic chemicals and biomolecules are highlighted.

Key words fluorescence; sensor array; pattern recognition; particles; films

Contents

1 Introduction	element
2 Solution-based fluorescent sensor arrays	3 Particle-based fluorescent sensor arrays
2.1 Small fluorophores as sensor element	3.1 Imprinted fluorescent mesoporous silica as sensor element
2.2 Fluorescent conjugated polymer as sensor	3.2 Fluorescent gold nanoparticles as sensor element
	3.3 Polyfluorophore DNA-modified PEG-PS beads as

收稿: 2012 年 2 月, 收修改稿: 2012 年 5 月

* 国家自然科学基金项目(No. 20803046 21173142) 和陕西省科技新星项目(No. 2011KJXX48) 资助

** Corresponding author e-mail: dinglp33@snnu.edu.cn

sensor element

4 Film-based fluorescent sensor arrays

4.1 Physisorbed film as sensor element

4.2 Chemically-assembled film as sensor element

5 Conclusion and outlook

1 引言

当今世界,恐怖主义、环境污染、疾病传播严重威胁着人们的生命和生产安全。因此,对化学武器、生物武器、环境质量和病毒细菌的高灵敏高效率检测技术的需求日益增加,化学/生物传感器的研究也因此受到人们的广泛关注^[1]。然而,这些传感器的独立使用严重限制了复杂信息的获取和对复杂分析检测对象的深度剖析。因此,在发展新的化学/生物传感器的同时,将已有的化学/生物传感器组合使用,就有可能获取多维的复合信息,从而更好地满足人类经济社会发展对分析检测技术日益增长的需要。事实上,传感器阵列(sensor array)就是将单个传感器组合使用的一种方式。

众所周知,动物的嗅觉系统通过嗅觉器官上分布的上千种不同类型的受体细胞与特定气味分子的交叉相互作用而实现对上万种分子的选择性识别。基于对动物嗅觉系统的工作原理研究,美国科学家 Richard Axel 和 Linda B. Buck 获得了 2004 年度诺贝尔医学奖。而对动物嗅觉系统工作原理的认识也大大刺激了人们对传感器阵列的研究^[2]。

传感器阵列由多个传感单元(sensor element)组成,具有广谱响应和交叉响应(cross-reactive)的特点,即阵列中每一个传感单元对不同物质会有不同程度的响应,而各个传感单元对于同一物质也会有不同程度的响应^[3]。传感器阵列通过各传感单元对样品响应后产生的特征图谱实现对特定物质的识别检测。这一方法的优点是避免了单一传感器对特异接受体的依赖性^[4],大大拓展了可检测物质的范围,甚至能够实现对结构非常相似的一些物质的区分^[5]。理想的传感器阵列既可用于单一物质的准确识别,也可用于混合样品的鉴定^[4,6]。例如,张新荣小组利用同一有机分析物在不同纳米材料表面的化学发光信号不同以及不同有机分析物在同一纳米材料表面的化学发光信号不同,实现了对乙醇、硫化氢、三乙胺的识别和区分^[7]。利用同样的纳米材料辅助化学发光方法,该小组还实现了对 11 种香料^[8]以及对蛋白质和细胞的识别和区分^[9]。

根据传感单元输出信号的不同,传感器阵列可

分为光学传感器、电化学传感器和声波型传感器阵列等。其中,光学传感器阵列尤其是荧光传感器阵列具有灵敏度高、无需参照体系、输出信号丰富(荧光强度、最大发射波长、光谱形状、荧光寿命等)以及能够成像等优点,备受人们青睐^[3]。与其他类型的传感器阵列一样,传感单元的选择和组合是构建荧光传感器阵列的关键,而传感单元的类型和性质决定着传感器阵列可检测物质的种类和范围。根据荧光传感单元的类型,可分为小分子型荧光传感单元和高分子型荧光传感单元;根据阵列中传感单元的存在形式,可分为溶液型荧光传感器阵列、颗粒型荧光传感器阵列和薄膜型荧光传感器阵列。本综述拟按上述分类,将近十年的荧光传感器阵列的发展情况特别是荧光传感器阵列的设计方法、传感机理及其在金属离子、有机化合物和生物分子识别中的应用进行介绍,以促进国内相关领域的快速发展。虽然数据分析方法也是传感器阵列传感信息提取的关键,但相关评述已有发表^[3,10],不再赘述。

2 溶液型荧光传感器阵列

溶液型荧光传感器阵列主要指所采用的荧光传感单元是以溶液形式存在,以多孔板为担载基质,将不同的荧光传感单元溶液按一定顺序放置于多孔板各孔中。此类传感器阵列制备简单,只需精心选取各种荧光传感单元,配制成相应溶液,放置于多孔板内即可。因此,此类传感器阵列研究也最为广泛。溶液型荧光传感器阵列所采用的传感单元可以是荧光小分子,也可以是荧光高分子。

2.1 荧光小分子为传感单元

与传统的荧光传感器相似,荧光小分子作为传感单元时,体系中既要包含可与待测物相结合的受体单元(receptor),又要包含能够报告结合过程发生的指示基团(indicator)。传感器阵列传感对象的种类通常由受体的结构和本性所决定,而传感性能和传感范围则是由指示剂的荧光活性及其与受体单元的通讯能力所决定。因此,传感单元的设计和组合在溶液型传感器阵列的研究中至关重要。然而,不同于传统荧光传感器的 receptor-spacer-indicator 结构^[11],传感器阵列的传感单元则常常将 receptor 与 indicator 以物理弱相互作用(如氢键、静电、疏水等相互作用)结合在一起,这样大大降低了合成的繁琐程度,增加了传感器阵列设计的多样性。目前所报道的荧光小分子溶液型传感器阵列的设计,一种方法是保持指示剂不变,变换受体基元,

来调节传感单元; 另一种方法则是保持接受体基元不变, 变换指示剂基元, 以实现传感单元的变化。另外, 还可采用组合化学方法 (combinatorial chemistry) 同时变换接受体基元和指示剂基元, 形成各种接受体-指示剂对 (receptor-indicator pair) 实现对传感单元的调节。

Singaram 等^[12] 选用阴离子型的 8-羟基芘-1,3,6-三磺酸钠 (HPTS) 为荧光指示剂, 以阳离子型的二联吡啶双硼酸系列衍生物 (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B) 为接受体, 将 HPTS 与每一种接受体混合形成 6 个含有相同指示剂不同接受体的荧光传感单元。众所周知, 有机硼酸衍生物能够与糖分子 1-和 2-位的羟基有效结合, 是很好的糖分子受体^[13]。该工作通过改变苯环上两个羟基的相对位置, 调节苯硼酸受体对糖的结合能力, 实现接受体分子与糖的交互反应性。当体系中没有糖分子时, 阴离子型的指示剂 HPTS 与含有甲基紫精结构的阳离子型硼酸受体 (BBV) 由于静电作用结合在一起, 二者的电子转移作用导致 HPTS 的荧光很弱。当糖引入到体系中时, 其取代 HPTS 与接受体相结合, 使得 HPTS 游离出来, 荧光得以恢复 (图 1), 实现对糖的传感。这种基于待识别物质取代指示剂, 与接受体发生更强的结合作用, 导致指示剂的荧光信号发生改变, 用于报告识别过程的方法, 称为指示剂取代分析法 (indicator displacement assay (IDA)), 已被广泛地应用于各种传感器阵列的设计中 (图 2)^[14,15]。据此, 该小组考察了由 1A—3B 与 HPTS 混合构成的 6 单元阵列在生理 pH 值环境下对糖的识别能力。研究发现, 该阵列可以很好地区分 12 种浓度为 2 mM 的糖。

基于 IDA 方法, Severin 小组^[16] 以过渡态金属复合物为接受体单元, 以荧光染料为指示剂, 将二者进行各种化学组合, 设计、制备了可用于识别多种二元肽的传感器阵列。该工作选用与肽结合常数高、交换动力学较快的 4d 过渡金属铑、钌和钯的复合物为接受体单元, 即 $[\text{RhCl}_2\text{Cp}^*]_2$ 、 $[\text{RuCl}_2(p\text{-cymene})]_2$ 和 $[\text{PdCl}_2(\text{en})]$, 选用 6 个可与过渡金属复合的荧光染料为指示剂, 组合形成了 14 单元传感器阵列。当金属复合物与荧光染料混合时, 过渡金属通过快速配体交换与荧光染料形成复合物, 并在一定程度上猝灭荧光染料的荧光发射; 当肽引入体系时, 其与过渡金属的强络合作用使得金属中心与染料分离, 进而恢复染料的荧光发射。基于肽的引入引起各单元荧光变化程度的不同, 综合各单元的

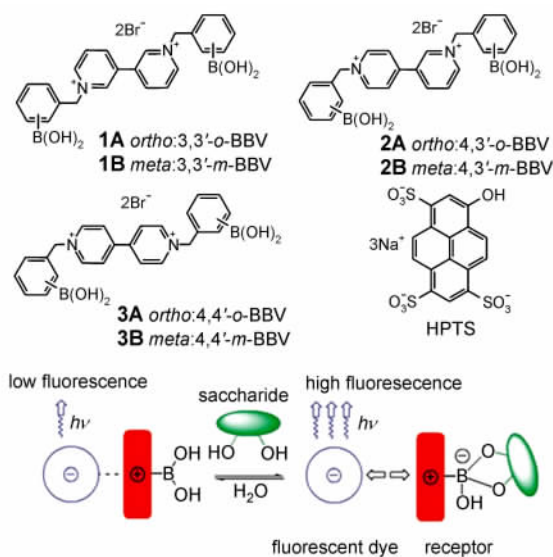


图 1 基于 BBV 型接受体和阴离子 HPTS 指示剂的传感器对糖的识别过程示意图^[12]

Fig. 1 Proposed saccharide-sensing mechanism based on a BBV receptor and the anionic fluorescent dye HPTS^[12]

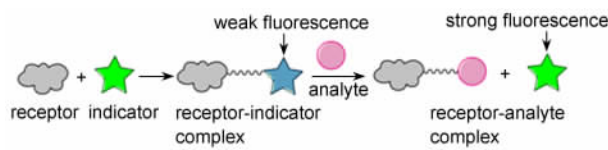


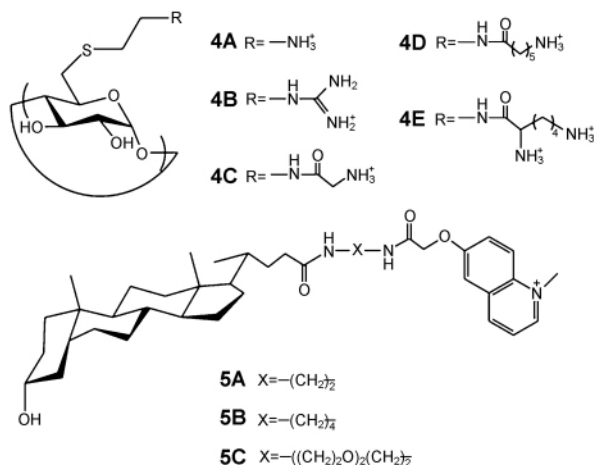
图 2 基于 IDA 分析方法的荧光传感示意图

Fig. 2 Schematic representation of fluorescence sensing mechanism based on IDA method

荧光响应信号, 该阵列可以形成针对不同二元肽的特征响应谱图, 实现了对 10 种二元肽的识别, 且测定过程中只需很低的分析浓度 (50 μM)。

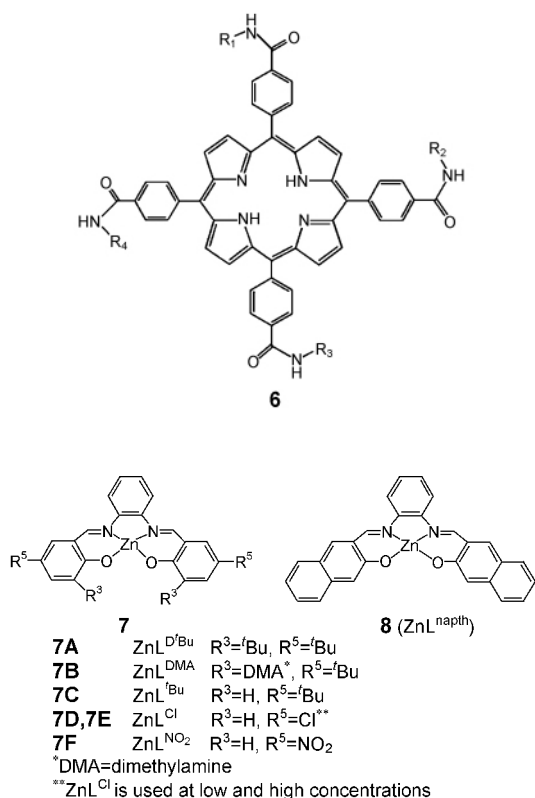
Nitz 等^[17] 发展了一种类似于 IDA、基于主客体作用的新方法用于传感器阵列的识别。该方法依靠接受体与指示剂的主客体作用构建荧光传感单元, 然后通过分析物与接受体的主客体作用改变接受体与荧光指示剂的作用进而调节指示剂的荧光发射, 实现传感。他们选用带有伯胺基的 β -环糊精化合物 (β -CD 4A) 为接受体基元, 然后利用氨基进一步衍生成 4 个含有酰胺基团或胍基的阳离子型受体化合物 (4B—4E); 同时选用喹啉为荧光指示剂, 将其经由 3 种不同的连接臂修饰于石胆酸分子上 (5A—5C)。该工作以不同组合的接受体-指示剂构成的主客体复合物为传感单元, 制成阵列, 考察其对阴离子型生物高分子的识别。当接受体 β -CD 与指示剂石胆酸衍生物混合时, 由于石胆酸与 β -CD 具有强的主客体作用, 从而将与其相连的喹啉指示剂

置于接受体化合物的识别位点即离子化的氨基附近。当阴离子型生物高分子肝素(用于抗血治疗的药物)及其常见的污染物加入阵列体系时,其可与各阳离子化的接受体发生静电相互作用,导致附近的喹啉荧光信号发生改变,从而形成图谱识别信号。该阵列可以很好地区分肝素与 7 种常见的肝素污染物(低分子量肝素、硫酸乙酰肝素、硫酸皮肤素、硫酸软骨素、过氧化硫酸软骨素、多聚谷氨酸、聚丙烯酸),从而有效地监控抗血治疗的安全性。



除了运用变化接受体或指示剂的方法调节传感单元外,也可选用具有指示剂功能的接受体为核心传感基元,对其进行各种衍生就可实现对传感单元的调节。Hamilton 小组^[18]以既能够发射荧光又能够结合蛋白质的四苯基卟啉为中心接受体基元,并将其 4 个边基修饰上相同或不同的氨基酸衍生物,合成了一系列卟啉荧光衍生物(6),用作传感单元以制备蛋白质传感器阵列。由于蛋白质表面具有各自特征的氨基酸分布(各种疏水性的、中性的和电荷化的氨基酸),导致其与卟啉疏水中心的亲和力不同,而其不同的分子形状和尺寸也进一步影响其与接受体卟啉的相互作用。因此,修饰有不同疏水性和电荷化程度氨基酸的各四苯基卟啉衍生物,与待测蛋白的亲合性不同,实现不同接受体对蛋白传感的交互响应性,从而形成阵列传感。

Knapp 等^[19]则是选用能够发射荧光的金属有机配合物 $\text{Zn}(\text{salicylaldimine})$ (ZnL , 7A—7E, 8) 的系列衍生物的溶液为传感单元,在微孔板内构建了一个 7 单元的传感器阵列(其中 7D 化合物配置了低、高两种浓度作为两个单元)。根据不同硝基芳烃类化合物对不同 ZnL 衍生物猝灭效率的不同,以猝灭百分数为输出信号,实现了对 9 种硝基芳烃类化合物的指纹图谱识别,甚至可以对仅有一个甲基



之别硝基苯和对甲基硝基苯进行准确区分。

与 IDA 方法相近,但分析物不是与接受体结合取代指示剂,而是与信号调节剂(modulator)结合,导致输出信号的变化,实现传感。基于这种方法,Anslyn 小组^[20]选用含有一个四元环缺电子中心和两个电子给体基团的化合物 squaraine(SQ)既作为接受体又作为指示剂,然后将其与信号调节剂硫醇或金属离子混合构成不同的传感单元,形成阵列。当接受体-指示剂化合物 SQ 与硫醇混合时,硫醇分子与接受体化合物经可逆共价键结合,使其荧光信号消失。当加入金属离子后,金属离子与硫醇可逆结合,阻断硫醇对主体化合物荧光的干扰,使得荧光恢复,从而实现对金属离子的识别(图 3)。同样地,如果将接受体-指示剂化合物与金属离子先混合,则可以基于相同原理实现对不同硫醇分子的识别。此传感器阵列利用单一接受体-指示剂,通过变换信号调节试剂,实现了对 5 种硫醇和 5 种金属离子的识别^[20]。

除了选用在结构上具有相关性的传感单元外,也可以选用结构上不相关但光物理性质或微环境相关的荧光物质为传感单元。Anslyn 小组^[21]选用低浓度芘、高浓度芘、芘-花混合物以及二苯基蒽(DPA)等不同多环芳烃溶液作为传感单元,提供 4 种不同的荧光信号,即芘单体发射、芘 excimer 发

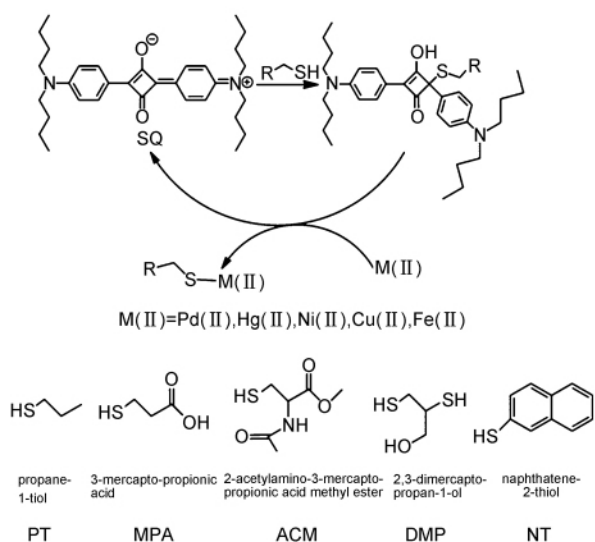


图 3 接受体-指示剂与硫醇和金属离子的相互作用机理以及阵列中所用的金属离子和硫醇化合物^[20]

Fig. 3 Squaraine/thiol/metal interaction and metals and thiols used in the array design^[20]

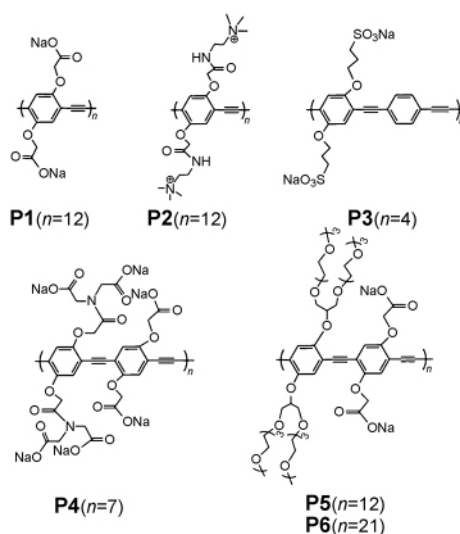
射、芘-芘的 FRET 发射和 DPA 的荧光发射,用于识别鉴定硝基芳烃类爆炸物。为了增加疏水性的硝基爆炸物与多环芳烃的接触以增加灵敏度,该工作特将各芳烃化合物溶于高分子型表面活性剂吐温 (Tween) 80 中,使得疏水性的荧光传感单元完全溶于胶束内部,同时避免了 O_2 对多环芳烃荧光的猝灭,从而有效地保持荧光。由于不同疏水程度的爆炸物在胶束内富集的程度不同,导致其对胶束内部荧光物质的猝灭程度不同,从而使得阵列对不同爆炸物的响应不同,得以区分。该阵列通过考察在不同硝基爆炸物存在时,前 3 个含有芘的单元在单体和 excimer 处的两个波长下的荧光发射和第 4 个单元 DPA 在最大发射波长下的荧光发射变化,针对不同爆炸物采集 7 个荧光信号,利用线性识别分析方法 (LDA) 实现了对 TNT, tetryl, RDX, HMX, 硝基苯以及乙腈等的识别和区分。

2.2 共轭聚合物为传感单元

与荧光小分子不同,荧光共轭聚合物 (conjugated polymers, CPs) 具有“一点接触、多点响应”的荧光信号放大功能,灵敏度大大提高^[22]。另外,CPs 的光物理性质与主链结构、侧链结构、聚合物分子量等密切相关,可以根据需要进行有效调节。同时,CPs 的光物理性质对环境和自身构象非常敏感,因此 CPs 可用作良好的分析传感平台,已被广泛地用于制备各种荧光传感器^[23]。更为重要的是,将 CPs 侧链离子化制成的共轭聚电解质 (conjugated

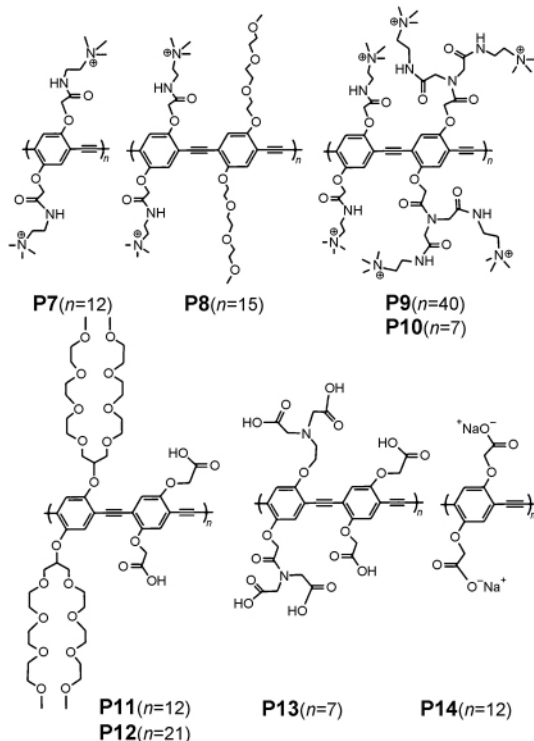
polyelectrolytes, CPEs) 除了具有共轭聚合物所特有的优点外,还具有良好的水溶性,可与多种生物分子相互作用,从而实现对生物分子的识别^[24, 25]。基于共轭聚电解质的这些优点,近几年人们常用 CPEs 制备传感器阵列,用以识别生物分子。

2007 年, Rotello 小组^[26]选用 6 个带有不同侧链的 poly(*p*-phenyleneethynylene)s (PPEs) 型共轭聚电解质 (P1—P6) 作为传感单元,制备了用于蛋白传感的高分子溶液型阵列。有效的蛋白传感通常需要有良好的蛋白受体以及有效的信号输出。水溶性 CPEs 的离子化侧链和疏水性侧链与蛋白具有多重相互作用,且该作用通常会改变 CPEs 的构象进而影响其荧光行为。这表明 CPEs 既可用作蛋白的接受体,自身又是良好的信号输出单元,因此可以用作蛋白分析平台。该阵列所选用的 PPE 传感单元由于侧链结构和所带电荷数目不同,与分析蛋白相互作用时具有结合多样性。因此,具有不同结构特点的待分析蛋白引起聚合物构象以及微环境不同程度的改变,进而产生不同的荧光响应,实现对蛋白的有效检测和识别。该阵列实现了对 17 种不同蛋白质的准确识别。



2010 年,该小组^[27]又报道了利用 PPE 型荧光共轭聚电解质组成的高分子溶液阵列对细胞种类的区分,实现了对非癌变细胞和癌变细胞的鉴别。该传感器阵列由 8 个 PPE 型荧光共轭聚电解质 (P7—P14) 溶液传感单元组成。这些 PPE 同时具有水溶性、荧光活性、结构多样性以及不同聚合度和不同电荷度等特征,使得这些 PPE 与不同细胞表面有着不同的相互作用。这些作用主要基于共轭聚电解质离子型侧链与细胞表面不同的功能组分如磷脂、蛋白、

多糖等之间的静电、疏水等相互作用,导致聚合物在细胞表面有着不同的聚集行为,从而改变聚合物的荧光发射进而识别不同种类和状态的细胞。研究发现,此传感器阵列不仅可以区分多种癌变细胞,而且可以区分基于相同基因的正常细胞、癌变细胞和癌变细胞的转移性细胞。此方法的优点是不需要特定的配体或者接受体化合物。该小组还将共轭聚电解质进一步固定于纳米颗粒表面,制备颗粒型荧光传感器阵列,实现了对细菌、蛋白、细胞的识别和鉴定(参见 3.2 部分)。



3 颗粒型荧光传感器阵列

3.1 分子印迹介孔硅为传感单元

分子印迹聚合物 (molecularly imprinted polymer, MIP) 又称可塑性抗体,是一种在模板分子存在下制得的高度交联聚合物。与自然抗体相比, MIP 具有高的化学和热稳定性,可重复使用,并具有环境耐用性。另外, MIP 制备简单、快速、廉价,使得 MIP 型阵列易于操作。从多个 MIP 传感器中得到对于某分析物的多个信号,可以形成针对该分析物的特征指纹响应,从而实现对待测分析物的识别(图 4)^[28]。尽管从理论上讲,印迹材料是具有很大潜力的传感器阵列的制备材料,但是直到目前,应用 MIP 设计、制备传感器阵列的报道并不多,而且已有的印迹型光学阵列主要以 UV 吸收为传感信号,通常只

能实现对有光学活性分析物的检测^[29,30]。

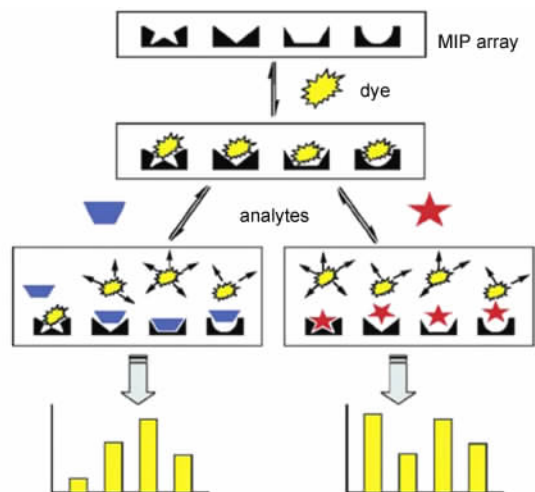
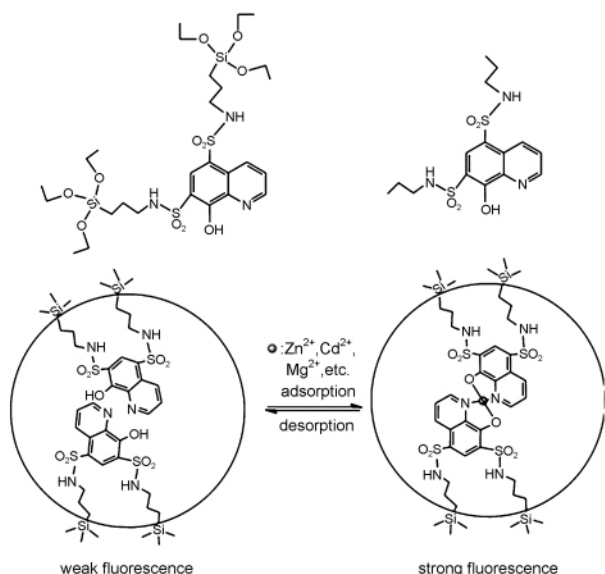


图 4 分子印迹聚合物光学传感器阵列 IDA 识别原理示意图^[28]

Fig. 4 General scheme for a MIP sensor array using a colorimetric IDA^[28]

为解决印迹型传感器阵列发展中所遇到的问题,充分发挥印迹材料的传感优势,严秀平小组^[31]将分子印迹材料化学修饰上既是接受体又是指示剂的荧光基团 8-HQ,以监控印迹材料与待测物的结合过程,并以其为传感单元制备印迹型荧光传感器阵列,实现对分析物的检测和分析。由于介孔硅具有高孔性、大的比表面积、光学惰性、表面易于修饰等特点,特别适合作为光学传感器的载体^[32,33],以介孔硅型荧光传感器为传感单元的传感器阵列也得到了迅速发展^[34]。因此,严秀平小组选用多孔硅作为印迹材料。首先,将 8-HQ 化学修饰至氨基末端的硅烷化试剂单体 (APTES) 上,然后以 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 为印迹模板,利用“一锅煮 (one-pot)”制备方法,将 8-HQ 修饰的 APTES 与交联剂 TEOS 反应,制成多孔型荧光印迹材料,同时还合成了非印迹材料作空白对照。以非印迹材料 (NIM)、 Zn^{2+} 印迹材料 (ZnIM)、 Cd^{2+} 印迹材料 (CdIM) 为传感单元,并分别选用两个不同浓度,制备了 6 单元传感器阵列。无金属离子存在时,结合在印迹材料空腔内的 8-HQ 的荧光很弱,但与金属离子结合后发出较强的荧光,表现为 turn-on 型荧光信号(图式 1)。由于 8-HQ 可以与多种金属离子结合,并发射不同的荧光,因此修饰有 8-HQ 的印迹材料具有高的交互响应性。本工作利用荧光接受体提供的荧光传感体系并结合印迹材料的优点,使得此传感器阵列实现对两个模板金属离子 (Zn^{2+} 和 Cd^{2+}) 和三个非模板离子 (Mg^{2+} 、

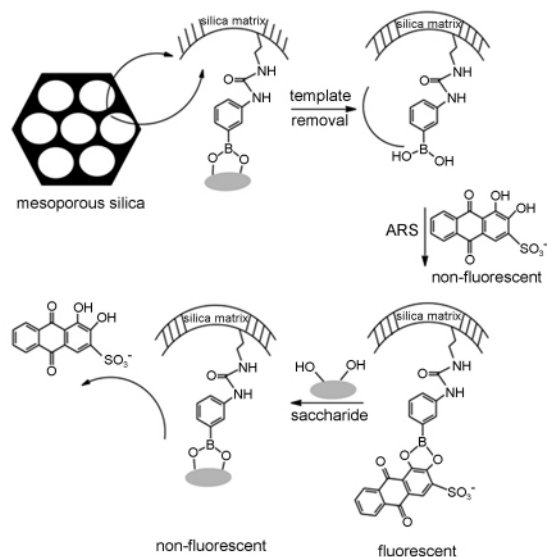
Ca^{2+} 和 Al^{3+}) 的识别。另外,此类阵列还可通过 EDTA 溶液洗涤的方法去除测试离子,实现重复使用。



图式 1 荧光离子印迹多孔硅材料识别金属离子的示意图^[31]

Scheme 1 Schematic representation of fluorescent ion imprinted mesoporous silica^[31]

该小组又将分子印迹技术与 IDA 方法相结合,报道了一种以苯硼酸功能化多孔硅材料为传感单元的印迹型荧光传感器阵列^[35]。该工作首先将作为



图式 2 基于 IDA 分析法的荧光分子印迹对糖的识别过程示意图^[35]

Scheme 2 Schematic representation of molecularly imprinted mesoporous silica as indicator-displacement sensor for saccharides^[35]

糖接受体的苯硼酸化学结合至异氰酸酯末端的硅烷化试剂单体上,然后,以 D-果糖或 D-木糖为模板,并加入交联剂 TEOS,利用 one-pot 方法制成多孔硅印迹材料,并以这些合成的 D-果糖印迹材料(FruIM)、D-木糖印迹材料(XylIM)和非印迹空白材料(NIM)与指示剂 alizarin red S(ARS)染料混合,形成传感单元,制成印迹型荧光传感器阵列。ARS 与苯硼酸结合使其荧光增强,当待测物糖引入后,与苯硼酸结合而取代 ARS,导致其荧光改变(图式 2)。由于作为印迹模板的 D-果糖和 D-木糖分子尺寸不同,和苯硼酸的亲和力也不同,导致所制得印迹材料对不同的糖分子具有不同的响应,因此印迹传感器阵列可以实现对糖的指纹识别,甚至可以区分各种含糖的橙汁饮料。

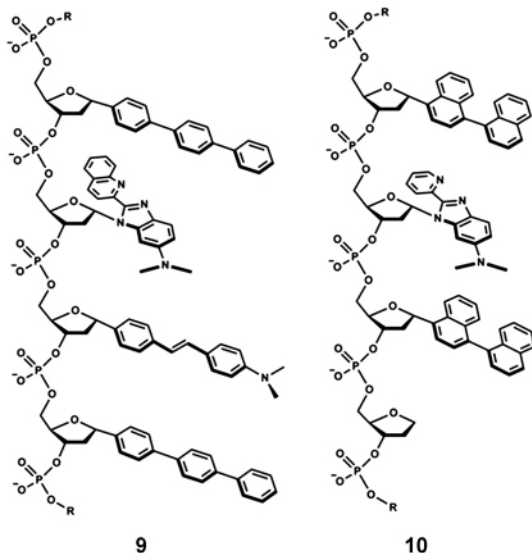
3.2 荧光金纳米粒子为传感单元

随着纳米技术的发展,众多具有荧光性质的纳米材料在荧光传感器阵列的发展中起到了举足轻重的作用^[36]。首先,纳米粒子的特征尺寸在 1—100 nm,并具有大的比表面积,使得其有效表面积大大增加,同时一些特殊纳米粒子(如 Au、 SiO_2)表面可以通过自组装单层膜(self-assembled monolayers, SAMs)手段进行化学修饰,从而有效调节其表面性质,甚至可以在其表面有效快速地修饰各种接受体。另外,纳米粒子的尺寸与生物分子相匹配,使得其特别适合应用于生物检测和医学诊断过程。

2007 年, Rotello 小组^[37]报道了用于鉴别蛋白的荧光金纳米粒子构成的传感器阵列。该工作首先通过 SAM 技术将 6 个结构相关且带有正电荷的硫醇化合物修饰于金纳米粒子表面,制成 6 个硫醇修饰的阳离子型金纳米粒子(NP1—NP6)。然后,将这些阳离子型金纳米粒子与阴离子型共轭聚电解质 PPE- CO_2 相混合,二者由于静电作用相互结合,形成 PPE- CO_2 物理包覆的金纳米粒子。此时,作为信号输出基团的 PPE- CO_2 的荧光被金纳米粒子所猝灭。硫醇修饰的金纳米粒子除了作为 PPE 的荧光猝灭剂外,还充当了蛋白的识别受体。当加入蛋白后,蛋白取代了部分荧光高分子而结合于金纳米粒子表面,使得 PPE- CO_2 荧光信号恢复(图 5a)。该工作以 6 个 PPE- CO_2 包覆的不同硫醇修饰的金纳米粒子为传感单元构成传感器阵列,基于各单元与不同蛋白之间相互作用(静电作用、疏水作用)的差异性,得到针对不同蛋白的特征荧光响应图谱(图 5b),实现了对 7 种不同蛋白的有效检测和识别。

针对食品安全问题中细菌和病原体检测的重要

针对目前荧光传感单元对分析物荧光响应信号过于单一(或荧光猝灭或荧光增强)的问题,Kool 小组提出了一种新的分子设计理念,即将多个荧光基团和受体基团取代 DNA 中的部分碱基,形成类 DNA 寡聚物(oligodeoxyfluorosides,ODF)。这种设计既可以提供针对分析物的多种荧光响应信号(荧光猝灭、荧光增强、光谱红移、光谱蓝移等),又使得受体基团和报告基团就像 DNA 的碱基对一样通过 $\pi-\pi$ 堆积而靠近并相互作用^[41]。例如,为实现对多种猝灭型金属离子的识别和区分,Kool 小组将多个荧光基团和荧光性金属离子受体基团按不同顺序通过 DNA 合成器同时引入到类 DNA 寡聚物上^[42],并将寡聚物固定于 PEG-PS 微球上,制成多个具有多重荧光的 PEG-PS 微球荧光传感器。研究发现,此种类型的荧光传感器与不同金属离子相互作用时,可提供多种荧光信号,如荧光猝灭导致的微球颜色变暗,荧光增强导致的微球颜色变亮,以及光谱红移或蓝移导致的微球颜色变化。因此,仅由 9 和 10 两个荧光传感器修饰的微球就能实现对 8 种猝灭型金属离子(Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+})的识别和区分,显示了此类荧光传感器作为传感单元的优势。依据同样的方法,该小组又合成了一系列多荧光基团修饰的类 DNA 寡聚物,并将其固定于 PEG-PS 微球上^[43]。首先,考察了 19 种此类荧光微球对 10 种有机气体的荧光响应信号,研究发现,所制得的多重荧光修饰的 PS 微球,对不同的分析物能够呈现多种荧光响应,如荧光猝灭、荧光增强、荧光波长移动所致的颜色变化等。然后,运用数据分析方法选择出其中的 4 个荧光传感微球所构成的阵列可以实现对 10 种有机气体的识别和区分,其



中包含分子结构非常相近的丙烯醛和丙烯腈,进一步证实了此类荧光传感器作为传感单元构建传感器阵列在分子识别和区分中的优势。该小组利用相似的多重荧光 DNA 修饰的荧光微球构成的阵列还实现了多种有毒气体^[44]和细菌^[45]的识别。

4 薄膜型荧光传感器阵列

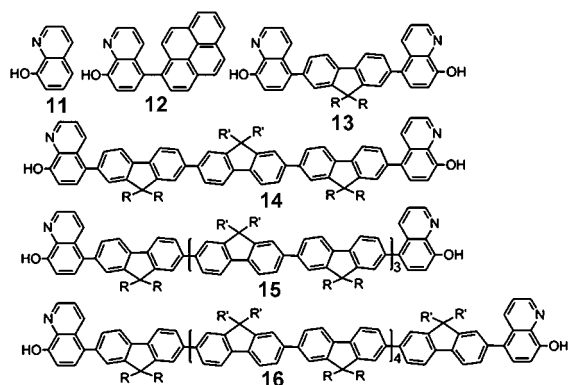
相比于溶液型和颗粒型传感单元,薄膜型荧光传感单元实现了荧光元素在阵列基质表面的固定化,操作简便,可实现测定的重复性,并易于器件化。因此,使用薄膜型荧光传感器作为传感单元制备传感器阵列已成为传感器阵列发展的一个重要方向。根据荧光元素在基质上的结合状态不同,可分为物理包埋膜和化学组装膜。

4.1 物理包埋膜为传感单元

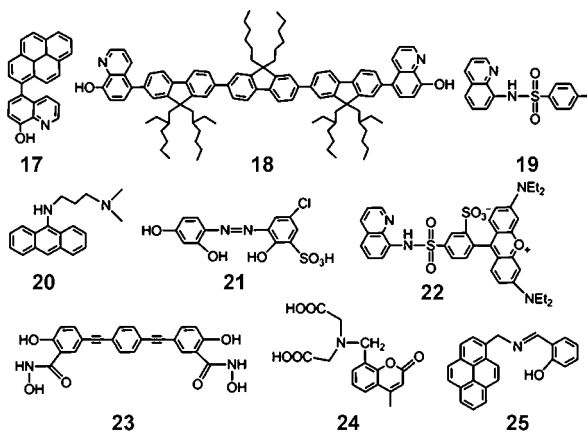
物理包埋膜通常选用高分子膜为基质,将荧光传感单元以简单物理混合的形式掺杂于高分子溶液中,然后经流延固化于多孔板基质的各孔腔中形成物理包埋膜。这种方法制备简单,几乎任何荧光分子都可以包埋于高分子膜内形成物理包埋膜。因此,此类传感器阵列在传感单元的选择上和溶液型传感器阵列非常相似。

Anzenbacher 小组^[46]以 8-HQ 为基本识别受体,为增强其荧光信号的输出,以多环芳烃苊和荧光共轭寡聚物对 8-HQ 进行修饰,得到 6 个结构不同的传感单元(11—16),将其分别溶解分散至亲水性高分子聚氨酯溶液中,然后将其流延至微孔板各孔腔中形成荧光性高分子膜,制成薄膜型传感器阵列。亲水性高分子膜的使用,主要是为了增加膜内亲脂性传感器与水溶液中亲水性阳离子之间的接触,很好地形成金属离子-喹啉复合物。该小组考察了以上述 6 个单元构成的薄膜型传感器阵列对 Al^{3+} 、 Cd^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 等金属离子的荧光响应情况,并将各单元发出的荧光信号解卷积成 RGB(red-green-blue)信号。由于 8-HQ 与不同金属离子的螯合作用不同,导致二者作用引起的 8-HQ 不同衍生物的 RGB 信号输出不同,形成针对不同金属离子的特征指纹图谱,从而实现对各种金属离子的识别和区分,同时实现了对金属离子在 $10\text{ }\mu\text{M}$ — 10 mM 的定量测定^[46]。基于该阵列,该小组还通过对软饮料中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 离子含量的分析,实现了对数种品牌软饮料的鉴定^[6]。

除了选用相同受体不同信号输出单元的方法选择传感单元外,Anzenbacher 小组^[47]还选用同时

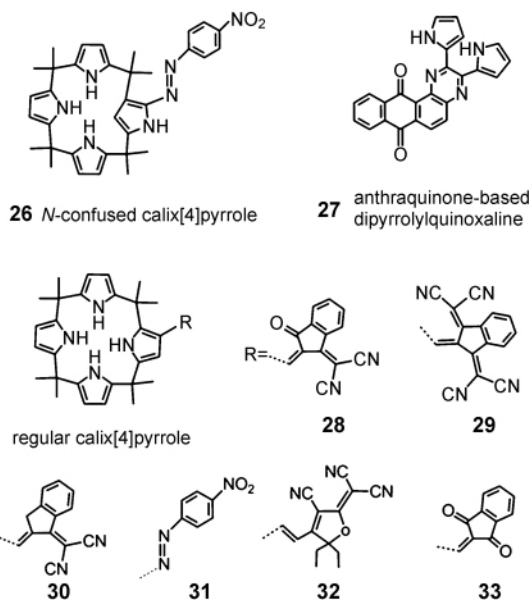


含有不同受体和不同信号输出基团的化合物作为传感单元(17—25),并将其包埋于聚氨酯膜内,制备了一个九单元交互响应性的薄膜型荧光传感器阵列。各单元与金属离子作用时具有不同的配位能力和不同种类的信号转换机理(例如:荧光增强、荧光猝灭和波长比值变化)。于是,在选择性和交互响应性的相互作用下,实现了阵列的高交互性。该阵列实现了在不同 pH 值和不同离子浓度范围内对 10 种金属离子(Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Co^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Al^{3+} 、 Ga^{3+})的识别。此阵列通过对水中电解质组成和 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Zn^{2+} 水平的分析,实现了对 9 种不同品牌的矿泉水的鉴定^[47]。

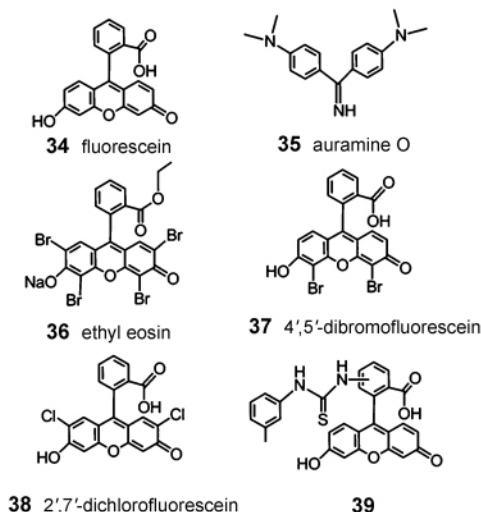


由于阴离子半径比等电荷的阳离子半径大,所以其电荷半径比小于阳离子,使得其与受体间的静电作用小;另外,阴离子还具有高的溶解自由能,这就导致对阴离子的检测特别困难。2007 年 Anzenbacher 小组^[4]基于超分子化学概念,以具有氢键供体结构的吡咯衍生物为传感单元(26—33),将其掺杂于聚氨酯水凝胶中构建了八单元薄膜荧光传感器阵列。该传感器阵列基于不同阴离子与不同吡咯衍生物氢键结合作用力的不同,引起各吡咯衍生物荧光变化的不同,形成针对不同阴离子的特定图

谱响应,实现对 10 种不同阴离子(AcO^- 、 B_2O_3^- 、 Br^- 、 Cl^- 、 F^- 、 NO_3^- 、 H_2PO_4^- 、 $\text{HP}_2\text{O}_7^{3-}$ 、 HSO_4^- 、 HS^-)的识别。另外,由于在水凝胶薄膜中的固定,克服了吡咯衍生物不能溶于水的局限,实现了吡咯衍生物对水溶液中多种阴离子的检测^[4]。同样,基于超分子氢键作用,Anzenbacher 小组还制备了可以实现在复杂环境如血清中对重要的生理阴离子磷酸根离子进行有效检测的薄膜型荧光传感器阵列^[48]。



针对阳离子或者阴离子的传感器阵列的报道很多,而利用同一阵列同时实现对阴、阳离子以及离子对的检测报道却很少。Anzenbacher 小组^[49]于 2010 年首次报道了一个六单元薄膜传感器阵列对阴离子、阳离子和阴阳离子对的识别。该传感器阵列选用同时含有乙二醇基团(金属阳离子结合基团)和酰胺基团(阴离子结合基团)的聚(乙醚-尿烷)为膜基质,选用 6 个市售荧光 pH 指示剂(34—39, pH 指示范围为 5—9)为传感单元并掺杂于聚合物膜基质中。聚(乙醚-尿烷)膜对不同离子表现出不同的亲合性,使得离子载体聚合物能够结合不同的离子,具有高度的交叉反应性。在水溶液中,高分子膜发生溶胀,水溶液中的阴阳离子不同程度地吸附于高分子膜,使得高分子膜表面的 pH 平衡发生改变,从而引起膜内 pH 指示剂的不同响应,实现了在不同 pH 值下对 5 种阳离子、7 种阴离子和 35 个阴阳离子对的识别。尽管此传感器阵列对离子的识别仅停留在定性阶段,但由于各种聚合物基质和 pH 指示剂的价格低廉、应用范围宽,且识别能力高,有望在离子对的定量测定得到进一步的应用^[49]。



4.2 化学组装膜为传感单元

与高分子膜物理掺杂染料不同,基质表面形成的自组装单层膜 SAM 可以实现荧光物种在基质表面的化学结合。SAM 是特定有机分子在特定表面自发化学吸附并形成单层膜的一种表面修饰技术^[50]。当 SAM 膜末端带有反应性功能基团时,可以通过表面化学反应将荧光小分子或高分子化学结合至基质表面^[51, 52]。利用这一技术,人们制备了各式各样的荧光传感薄膜材料,用于检测金属离子、阴离子以及各种有机化合物^[53]。将这种技术与组合化学结合,将不同的荧光小分子-接受体基团对修饰于功能 SAM 膜表面,可以用来制备各种各样的小分子修饰的荧光 SAM 膜(图 6)^[54]。

Reinhoudt 小组^[54]以 NH_2 -末端 SAM 膜为制备平台,选用 TAMRA 和 lissamine 两种荧光小分子作为荧光元素,选用 NH_2 -、aryl-urea、alkyl-urea、aryl-amide、alkyl-amide 作为阳离子结合基团,并将荧光小分子与结合基团进行组合修饰于 SAM 膜表面,制备了 10 种荧光薄膜(图 7a),并考察了这 10 种薄膜对不同金属离子的响应情况。研究发现,不同荧光小分子-接受体基团对修饰的 SAM 膜对同一种金属离子的响应情况有所不同,同时同一表面对不同金属离子的响应情况也有所差异。因此,将各表面对金属离子的荧光响应组合,形成了类似阵列识别的特征指纹图谱,可以很好地区分 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ca^{2+} 等金属离子(图 7b)。

基于相同原理,选用两种相同的荧光元素和另外 5 种不同的阴离子结合基团(amine, amide, sulfonamide, urea, thiourea)进行组合,制成另外 10 种不同的荧光 SAM 膜表面,并考察了这 10 种表面

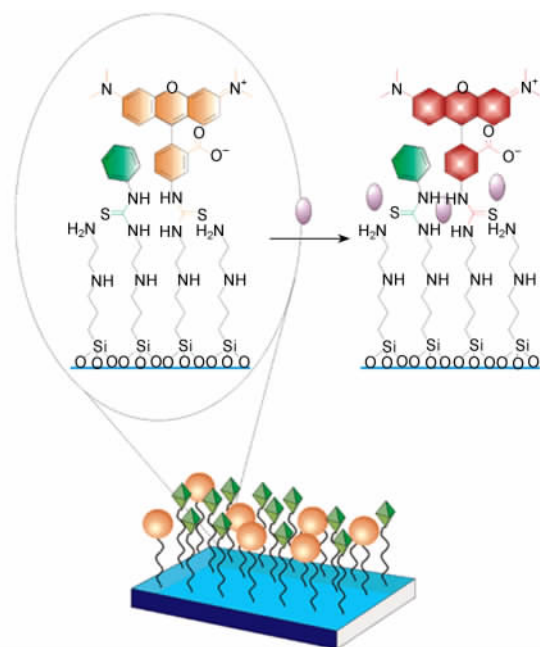


图 6 基于组合化学的荧光 SAM 膜的结构示意图^[54]

Fig. 6 Schematic fluorescent SAM film based on combinatorial chemistry^[54]

对 4 种阴离子的响应情况^[54]。同样地,不同表面针对同一阴离子给出不同的荧光响应信号,同一表面针对不同阴离子响应信号亦不同,因此收集 10 种表面的响应信号,可以形成针对特定离子的指纹图谱,实现对 AcO^- 、 H_2PO_4^- 、 NO_3^- 、 HSO_4^- 等阴离子的识别^[54]。

将这种荧光 SAM 膜组合化学与微接触印刷术(microcontact printing, μCP)相结合,则可以实现荧光小分子和结合基团在基质表面的图案化固定,实现对金属离子的可视化识别^[55]。为了将这一技术真正应用于微阵列的制备,Reinhoudt 小组^[56]选用 3 种荧光报告基团和 7 种结合基团,运用组合化学方法,制备了 21 种荧光 SAM 膜,按一定序列固定于商用微量滴定板(microtiter plate)各孔中,形成了 21 单元阵列。利用荧光共聚焦显微镜考察了该阵列对 5 种金属阳离子的响应情况,研究发现,针对每一种金属离子,该阵列给出不同的荧光显微成像,从而实现了 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 的识别。

该小组还将这一技术应用于微流控芯片中,制成新模式的荧光 SAM 膜阵列^[57]。首先选用一个五通道微流控芯片,然后在每一个通道内修饰含有不同荧光基团和不同结合基团组合的荧光 SAM 膜,形成一个五通道阵列。检测时,将某种金属离子溶液分别通入 5 个通道,并检查各个通道的荧光光谱情

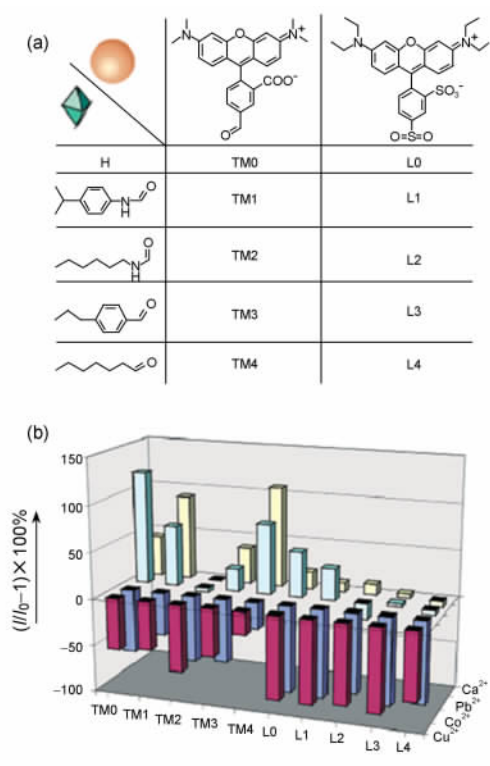


图 7 (a) 阳离子传感 SAM 膜阵列; (b) 修饰有不同荧光基团和化学结合基团的荧光 SAM 膜对 Pb^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} 的指纹图谱识别^[54]

Fig. 7 (a) Schematic representation for the monolayers of the cation sensing library; (b) Relative fluorescence intensity of surfaces modified with different fluorophores and chemical functionalities in the presence of Pb^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , and Cu^{2+} as perchlorate salts in acetonitrile^[54]

况。该微流控芯片阵列可以给出针对特定金属离子的指纹图谱响应,实现了对 5 种金属离子的识别。这一方法将有助于阵列实现真正的微型化和器件化发展。

5 结论

传感器阵列以其特有的指纹图谱识别能力尤其对混合样品强的分析能力,近年来已成为传感领域新的研究重点。荧光传感器阵列以其灵敏度高、输出信号丰富等优点受到人们的广泛关注。本综述主要介绍了近年来荧光传感器阵列的发展情况和发展趋势。荧光传感器阵列按照传感单元的存在形式可分为溶液型、颗粒型和薄膜型。溶液型阵列由于制备简单,研究最为广泛,但无法重复使用,也很难适应于样品的在线、即时检测;颗粒型阵列由于与各种生物活性分子尺寸相匹配,可广泛应用于生物分子识别以及医疗诊断等方面,其虽可以重复使用,但同

样存在难于即时、在线检测的问题;薄膜型阵列尤其是化学组装膜阵列由于可重复使用,易于微型化和器件化,可用于样品的即时、在线检测,必将成为传感器阵列发展的重要趋势,但其在制备程序上较为复杂。由此可见,荧光传感单元的选择对于传感器阵列的性能具有决定性作用。相比较而言,溶液型传感器阵列对传感单元的分子设计的依赖性更大一些。溶液型传感单元的分子设计主要分为两种形式,一种是将指示基团(indicator)和受体基团(receptor)经连接臂(spacer)化学结合;另一种则是将指示基团和受体基团以物理作用方式结合在一起,然后以固定指示基团变化受体基团、固定受体基团变化指示基团、同时变化受体基团和指示基团等方式进行传感单元的变化和阵列组合。前者主要通过受体基团与待测物的相互作用引起指示基团荧光信号的改变以实现对待测物的检测和识别,而后者则可以通过待测物取代指示剂与受体单元发生相互作用而引起指示剂荧光信号的改变(即 IDA 方法)实现对待测物的检测和识别。由于后者对化学合成的依赖性小,因而广泛应用于目前的传感器阵列的分子设计中。颗粒型和薄膜型传感器阵列可以实现指示基团和受体基团的分体固定,因此对分子设计的依赖性较小,其传感器阵列的制备主要是选择好指示基团和受体基团,并将其进行化学组合。另外,传感单元的数目也在某种程度上影响着传感器阵列的性能,数目过多将导致阵列数据采集和分析难度增大。因此,选用尽量少的传感单元以实现阵列的高通量检测^[6]以及发展新的类阵列检测方法^[58]将成为阵列识别的新趋势。

参 考 文 献

- [1] Potyrailo R A, Mirsky V M. Chem. Rev., 2008, 108: 770—813
- [2] Shabbir S H, Joyce L A, Cruz G M D, Lynch V M, Sorey S, Anslyn E V. J. Am. Chem. Soc., 2009, 131: 13125—13131
- [3] Anzenbacher P Jr, Lubal P, Bucek P, Palacios M A, Kozelkova M E. Chem. Soc. Rev., 2010, 39: 3954—3979
- [4] Palacios M A, Nishiyabu R, Marquez M, Anzenbacher P. J. Am. Chem. Soc., 2007, 129: 7538—7544
- [5] Folmer-Andersen J F, Kitamura M, Anslyn E V. J. Am. Chem. Soc., 2006, 128: 5652—5653
- [6] Palacios M A, Wang Z, Montes V A, Zyryanov G V, Anzenbacher P Jr. J. Am. Chem. Soc., 2008, 130: 10307—10314
- [7] Na N, Zhang S, Wang S, Zhang X. J. Am. Chem. Soc., 2006, 128: 14420—14421
- [8] Wu Y, Na N, Zhang S, Wang X, Liu D, Zhang X. Anal. Chem., 2009, 81: 961—966

- [9] Kong H, Liu D, Zhang S, Zhang X. *Anal. Chem.*, 2011, 83: 1867—1870
- [10] 陈四海 (Chen S H), 周敬良 (Zhou J L). *化学传感器 (Chemical Sensors)*, 2008, 28(4): 22—26
- [11] Sankaran N B, Mandal P K, Bhattacharya B, Samanta A. *J. Mater. Chem.*, 2005, 15: 2854—2859
- [12] Schiller A, Wessling R A, Singaram B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, 46: 6457—6459
- [13] Norrild J C, Egged H. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117: 1479—1484
- [14] Buryak A, Zaubitzer F, Pozdnoukhov A, Severin K. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130: 11260—11261
- [15] Buryak A, Pozdnoukhov A, Severin K. *Chem. Commun.*, 2007, 2366—2368
- [16] Rochat S, Gao J, Qian X, Zaubitzer F, Severin K. *Chem. Eur. J.*, 2010, 16: 104—113
- [17] Jagt R B C, Gómez-Biagi R F, Nitz M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, 48: 1995—1997
- [18] Zhou H, Baldini L, Hong J, Wilson A J, Hamilton A D. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128: 2421—2425
- [19] Germain M E, Knapp M J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130: 5422—5423
- [20] Hewage H S, Anslyn E V. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131: 13099—13106
- [21] Hughes A D, Glenn I C, Patrick A D, Ellington A, Anslyn E V. *Chem. Eur. J.*, 2008, 14: 1822—1827
- [22] Zhou Q, Swager T M. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117: 12593—12602
- [23] Thomas S W, Joly G D, Swager T M. *Chem. Rev.*, 2007, 107: 1339—1386
- [24] Chen L, McBranch D W, Wang H L, Helgeson R, Wudl F, Whitten D G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96: 12287—12292
- [25] Achyuthan K E, Bergstedt T S, Chen L, Jones R M, Kumaraswamy S, Kushon S A, Ley K D, Lu L, McBranch D, Mukundan H, Riniinsland F, Shi X, Xia W, Whitten D G. *J. Mater. Chem.*, 2005, 15: 2648—2656
- [26] Miranda O R, You C C, Phillips R, Kim I B, Ghosh P S, Bunz U H F, Rotello V M. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129: 9856—9857
- [27] Bajaj A, Miranda O R, Phillips R, Kim I B, Jerry D J, Bunz U H F, Rotello V M. *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132: 1018—1022
- [28] Wright A T, Anslyn E V. *Chem. Soc. Rev.*, 2006, 35: 14—28
- [29] Greene N T, Morgan S L, Shimizu K D. *Chem. Commun.*, 2004, 1172—1173
- [30] Greene N T, Shimizu K D. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127: 5695—5700
- [31] Tan J, Wang H F, Yan X P. *Biosen. Bioelect.*, 2009, 24: 3316—3321
- [32] Nicole L, Boissière C, Grosso D, Hesemann P, Moreaub J, Sanchez C. *Chem. Commun.*, 2004, 2312—2313
- [33] Descalzo A B, Marcos M D, Monte C, Martínez-Máñez R, Rurack K. *J. Mater. Chem.*, 2007, 17: 4716—4723
- [34] Comes M, Aznar E, Moragues M, Marcos M D, Martínez-Máñez R, Sancenón F, Soto J, Villaescusa L A, Gil L, Amorós P. *Chem. Eur. J.*, 2009, 15: 9024—9033
- [35] Tan J, Wang H F, Yan X P. *Anal. Chem.*, 2009, 81: 5273—5280
- [36] Tisch U, Haick H. *MRS Bulletin*, 2010, 35: 797—803
- [37] You C C, Miranda O R, Gider B, Ghosh P S, Kim I B, Erdogan B, Krovi S A, Bunz U H F, Rotello V M. *Nature Nanotech.*, 2007, 2: 318—323
- [38] Phillips R L, Miranda O R, You C C, Rotello V M, Bunz U H F. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, 47: 2590—2594
- [39] Bajaj A, Miranda O R, Kim I B, Phillips R L, Jerry D J, Bunz U H F, Rotello V M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, 106: 10912—10916
- [40] Miranda O R, Chen H T, You C C, Mortenson D E, Yang X C, Bunz U H F, Rotello V M. *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132: 5285—5289
- [41] Teo Y N, Wilson J N, Kool E T. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131: 3923—3933
- [42] Tan S S, Kim S J, Kool E T. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133: 2664—2671
- [43] Samain F, Dai N, Kool E T. *Chem. Eur. J.*, 2011, 17: 174—183
- [44] Koo C K, Samain F, Dai N, Kool E T. *Chem. Sci.*, 2011, 2: 1910—1917
- [45] Koo C K, Wang S, Gaur R L, Samain F, Banaei N, Kool E T. *Chem. Commun.*, 2011, 11435—11437
- [46] Palacios M A, Wang Z, Montes V A, Zyryanov G V, Hausch B J, Jursiková K, Anzenbacher P Jr. *Chem. Commun.*, 2007, 3708—3710
- [47] Wang Z, Palacios M A, Anzenbacher P Jr. *Anal. Chem.*, 2008, 80: 7451—7459
- [48] Zyryanov G V, Palacios M A, Anzenbacher P Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, 46: 7849—7852
- [49] Liu Y L, Palacios M A, Anzenbacher P Jr. *Chem. Commun.*, 2010, 1860—1862
- [50] Ulman A. *Chem. Rev.*, 1996, 96: 1533—1554
- [51] Flink S, van Veggel F C J M, Reinhoudt D N. *J. Phys. Org. Chem.*, 2001, 14: 407—415
- [52] He G, Zhang G, Lu F, Fang Y. *Chem. Mater.*, 2009, 21: 1494—1499
- [53] Ding L, Fang Y. *Chem. Soc. Rev.*, 2010, 39: 4258—4273
- [54] Basabe-Desmonts L, Beld J, Zimmerman R S, Hernando J, Mela P, Parajó M F G, van Hulst N F, van den Berg A, Reinhoudt D N, Crego-Calama M. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126: 7293—7299
- [55] Basabe-Desmonts L, Reinhoudt D N, Crego-Calama M. *Adv. Mater.*, 2006, 18: 1028—1032
- [56] Basabe-Desmonts L, van der Baan F, Zimmerman R S, Reinhoudt D N, Crego-Calama M. *Sensors*, 2007, 7: 1731—1746
- [57] Basabe-Desmonts L, Benito-López F, Gardeniens H J G E, Duwel R, van den Berg A, Reinhoudt D N, Crego-Calama M. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2008, 390: 307—315
- [58] Nelson T L, O'Sullivan C, Greene N T, Maynor M S, Lavigne J J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128: 5640—5641