

特约专栏

# 金属有机骨架材料固定生物大分子的研究进展

谷娜, 李恒, 赵远

(河北科技大学理学院, 河北 石家庄 050018)

**摘要:** 金属有机骨架(MOFs)具有超高的比表面积、可调的孔径、多样的结构组成、开放的金属位点和化学可修饰等性能。近年来, MOFs材料作为稳定的、高效的、可重复使用的和廉价的生物大分子固定化载体越来越引起人们的研究兴趣。生物大分子-MOFs体系在改进生物催化剂的效率及可回收性、分子传感、药物输送和基因治疗等方面具有广阔的应用前景。讨论了生物大分子在MOFs载体材料上固定的方法和方式, 生物大分子可以通过物理吸附或共价键作用固定在MOFs表面, 或通过配位基团发生亲水或疏水作用扩散进入MOFs孔道, 或通过共价键或配位键包埋在其晶体结构中, 介绍了相关研究进展及应用。设计具有大孔径的高介孔MOFs材料、设计不同的功能化MOFs材料及以环境友好的方式合成所需的生物大分子-MOFs体系等, 可进一步扩大MOFs材料在生物大分子固定领域的应用范围。

**关键词:** 金属有机骨架(MOFs); 蛋白质; 酶; 核酸; 生物大分子; 固定化

**中图分类号:** TB34 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2017)11-0833-07

## Recent Advances in Biomacromolecules Immobilization by Metal Organic Frameworks

GU Na, LI Heng, ZHAO Yuan

(School of Science, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

**Abstract:** Metal organic frameworks (MOFs) with properties of high specific surface area, tunable porosity, controllable structure, open metal sites and desirable functionality, have been demonstrated as stable, robust, reusable, efficient, and low-cost substrates for biomacromolecule immobilization, which have motivated increasing research interest. Biomacromolecule-MOFs composites have extensive application in improvement of biocatalyst efficiency and promising recyclability, molecular sensing, drug delivery and gene therapy. This review focuses on the progress in the application of MOFs as biomacromolecule immobilization matrix and the methods and modes for biomacromolecule immobilization to MOFs substrates. The biomacromolecule can be immobilized on the surface of MOFs by physical absorption or covalent bond, diffuse into the pore of MOFs by functional interactions with the MOF ligand moieties or be encapsulated within framework structure by covalent bond or coordination bond during mineralization of MOFs. The design of highly mesoporous and various functional MOFs and the eco-friendly synthesis processes of biomacromolecule-MOFs composites will enlarge the application range of MOFs as substrates for biomacromolecule immobilization.

**Key words:** metal organic frameworks (MOFs); protein; enzyme; nucleic acid; biomacromolecule; immobilization

### 1 前言

金属有机骨架(Metal-Organic Framework, MOFs)材料又称作多孔配体聚合物(Porous Coordination Polymers, PCPs), 是一类由无机金属离子或金属簇与可调控的聚

合有机配体共同构筑的多孔杂化无机-有机晶体材料<sup>[1-2]</sup>。1995年美国化学家Yaghi等<sup>[3]</sup>报道了使用过渡金属钴离子( $\text{Co}^{2+}$ )和有机配体均苯三甲酸( $\text{H}_3\text{BTC}$ )反应获得了具有二维结构的 $\text{CoC}_6\text{H}_3(\text{COOH}_{1/3})_3(\text{NC}_5\text{H}_5)_2 \cdot 2/3\text{NC}_5\text{H}_5$  MOF化合物。在MOFs分子中通过配位键可以组装成多功能的三维拓扑结构, 并且可以根据特定的需要调整MOFs材料的形态和功能<sup>[4]</sup>。MOFs材料具有孔隙率高、孔径可调、比表面积大、金属含量可调、晶体结构可调和有机配体多样的特点<sup>[5]</sup>, 适用于各种应用情况。在MOFs发展早期, 基于其规则的多孔结构, MOFs主要应

收稿日期: 2017-09-22

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(B2016208054)

第一作者: 谷娜, 女, 1981年生, 副教授, Email:

gunagao@qq.com

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.2017.11.04

用于气体存储<sup>[6]</sup>和流体分离<sup>[7]</sup>。随着对 MOFs 材料的深入研究, MOFs 的应用已经扩展到储能、传感器、磁性和电子器件、非均相催化和生物医学领域。MOFs 大的比表面积、良好的孔隙率、多变的结构和丰富的可调节的官能团,使得客体分子很容易扩散到其有序的框架结构中,从而促进主体和客体化合物的相互作用<sup>[8]</sup>, MOFs 作为对客体敏感的生物分子的固定化基质越来越引起人们的研究兴趣<sup>[9]</sup>。不同的生物分子如 DNA、酶和其他蛋白质已被固定在 MOFs 材料中并且得到了广泛的应用。本文主要对采用 MOFs 固定生物大分子的应用进展进行综述。

## 2 金属有机骨架材料

MOFs 是多孔的结晶有机-无机杂化材料,由金属离子和有机物配体两部分组成。许多种类金属离子已被开发利用,主要包括过渡金属、p 区元素、碱土金属和镧系元素<sup>[10]</sup>。金属的配位数决定了可能形成的分子几何构型,如线性、T/Y 形、平面方型、平面锥型、八面体、三角双锥、三角棱柱和五边形双锥<sup>[11]</sup>,如图 1 所示。使用不同大小和结构的多齿有机配体,能够控制合成的框架的结构和性能<sup>[12]</sup>。最常用的有机配体包括羧酸、胺、硝酸盐、磷酸盐和磺酸盐,其中,阴离子羧酸盐与金属离子有更高的结合性。

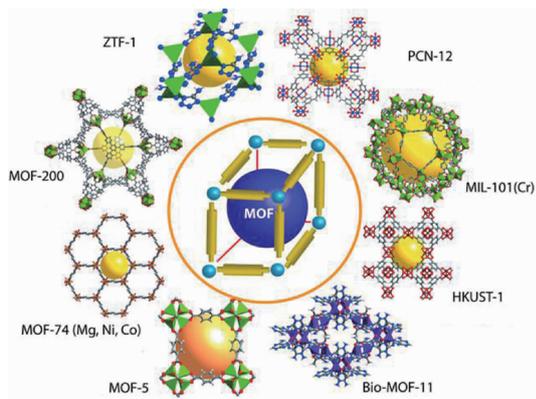


图 1 重要代表性 MOFs<sup>[11]</sup>

Fig. 1 Schematic representation of important reported MOFs<sup>[11]</sup>

大多数 MOFs 都是通过液相法合成的,混合金属盐和配体溶液或者将溶剂加入到固态金属盐和配体中。合成 MOFs 的方法有缓慢蒸发法/直接沉淀法、溶剂热法、微波辅助法、电化学法、机械化学法和超声波方法。缓慢蒸发法是合成 MOFs 传统的路线,大多数反应不需要任何外部能量<sup>[10]</sup>,一般在室温即可进行,但这种方法的主要缺点是所需时间较长<sup>[13]</sup>。溶剂热法也是一种广泛使用的合成 MOFs 的方法。微波辅助法是一种快速合成 MOFs 的方法,大大降低了合成时间<sup>[14]</sup>。电化学法,不

需要金属盐,利用有机配体和电极的混合物中阳极的溶解产生金属离子,可以连续合成 MOFs 晶体<sup>[15]</sup>。机械法在机械力作用下使用少量溶剂即可快速合成 MOFs,调节溶剂的加入量可以获得不同结构的配位物<sup>[16]</sup>。超声波产生的空化作用会导致温度或压力条件突然上升或下降,形成热点促进 MOFs 快速均匀晶化<sup>[17]</sup>。此外,还可以通过自组装(或逐层组装)的路线来合成 MOFs 材料,更好地控制和构建 MOFs 的形貌<sup>[18]</sup>。

MOFs 材料所拥有天然的结构、电学、光学、催化及磁性等性能,且易于功能化,分子中存在可调节的亲水或疏水基团,可与生物分子之间存在强烈的相互作用,使其成为有用的生物分子固定载体,在传感、工业催化和生物医学等方面得以应用。

## 3 MOFs 固定蛋白质

固体载体和蛋白质之间可以通过不同类型的化学键连接,这种相互作用分为 5 类:物理吸附、共价键结合、交联、基体包埋和微胶囊化<sup>[19]</sup>。相互作用的形式取决于被固定化的蛋白质的性质、固体载体的性质及所需的应用领域<sup>[20]</sup>。酶是一种具有催化活性的蛋白质,MOFs 固定蛋白质的研究大多集中在 MOFs 作为酶分子固定化载体的研究,其在生物催化领域有重要应用。

大多数 MOF-酶体系主要是通过 3 种不同的方法来构建:表面固定、孔隙扩散和在 MOF 自身合成过程中进行原位包埋等。

### 3.1 表面固定化

具有较大比表面积的 MOFs 材料经表面修饰后很容易负载大量的酶。MOF 表面功能化可以促进酶和 MOF 之间形成稳定的化学键。酶在 MOF 表面固定化可以采用两种方式进行<sup>[21]</sup>。一是通过表面修饰来活化或预先合用于有机连接的官能团,酶可以在随后的化学反应过程中与功能化的 MOF 以共价形式连接(图 2a)。另外,酶分子可以先与其它一些可以进入 MOFs 材料孔道内的小分子(例如染料)共轭结合,小分子染料进入 MOFs 的微孔,酶分子仍然在 MOFs 材料的表面(图 2b)。MOF 中的有机配体和小分子染料可以通过氢键或  $\pi$ - $\pi$  键相互作用结合,有助于形成稳定的主-客体络合作用。

Jung 和 Park 等<sup>[22]</sup>分别采用 EDC 活化 In-基 1D MOF、DCC 活化 2D( $[Zn(bpydc)(H_2O)(H_2O)]_n$ ; bpydc = 2,2-bipyridine 5,5-dicarboxylate) MOF 和 3D (IRMOF-3) MOFs 暴露在外面的羧基。活化的 MOFs 可与绿色荧光蛋白(EGFP)分子的氨基以共价键结合或通过酯化和酯交换反应将南极假丝酵母脂肪酶 B(CAL-B)固定在 MOF 上。一维、二维和三维 MOF 负载 EGFP 能力分别为 0.048,

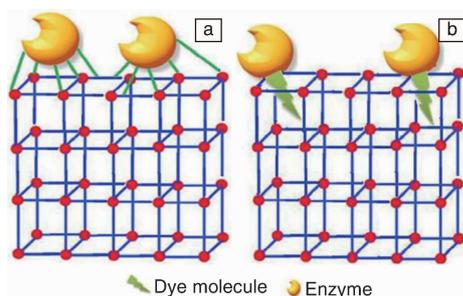


图 2 酶表面固定化形式: (a) 共价键结合; (b) 染料标记的表面固定酶<sup>[21]</sup>

Fig. 2 Covalent attachment (a) and dye tagging (b) based surface anchoring of enzyme on the surface of MOF<sup>[21]</sup>

0.052 和 0.064 mg/g, 而负载 CAL-B 的能力分别为 0.12, 0.17 和 0.18 mg/g。与游离酶相比, 固定化 CAL-B 酶活性增加了 3 倍并且可以循环利用。其中, CAL-B-IRMOF-3MOF 复合物与游离酶相比显示出更好的催化活性, 同时提高了 IRMOF-3MOF 的防水性, 并且保持了其多孔性能。

Shih 等<sup>[23]</sup> 同样采用 DCC 交联剂活化法将胰蛋白酶 (trypsin) 固定在 MIL-101 (Cr)、MIL-88B (Cr) 和 MIL-88B-NH<sub>2</sub> 上。在 trypsin-MOF 复合物中, 胰蛋白酶中的氨基通过亲核反应与活化的羧基之间形成肽键。MOF 中的胺基基团和 DCC 耦联剂的使用促进形成 MOF-酶复合物。胰蛋白酶的分子大小大于 MOF 的孔径阻碍了胰蛋白酶向 MOF 孔道的扩散, 因此保持了 MOF 的吸附能力。胰蛋白酶-MIL-88B-NH<sub>2</sub> 复合物的催化活性在 4 个循环使用周期内比游离胰蛋白酶催化活性高 69%。Trypsin-MIL-88B 复合物可以通过离心法从生物成品回收, 更利于产品的回收。然而, Shih 等发现 50% 的乙腈水溶液洗涤液可能会使 MOF-酶复合物中的羧基失活, 导致酶从 MOF 表面流失而与载体分离。

Yu<sup>[24]</sup> 及其合作者通过层层组装的方法在羧基功能化的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米棒外包裹具有分级孔结构的 3DMOF-100 (Fe), 制备了磁性 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MIL-100 (Fe) 复合微球。将 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MIL-100 (Fe) 采用 EDC/NHS 或 Zn<sup>2+</sup> 活化后与 *Candida rugosa* 脂肪酶分子中的氨基以共价键或配位键相连, 将酶固定在 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MIL-100 (Fe) 上, 固定酶后, 明显改善酶的循环使用性和稳定性, 保持了酶的活性。

Qin 和 Liu 等<sup>[25]</sup> 在含有氨基的 MOF (MIL-101 (Al)-NH<sub>2</sub>) 材料上, 通过浸渍法吸附氯化高铁血红素蛋白, 获得酶-MOF 复合物。该酶-MOF 复合物可以作为葡萄糖传感器使用, 其上固定的氯化血红素蛋白质中的过氧化物酶可以用于比色法检测葡萄糖。

Ma 等<sup>[26]</sup> 报道了通过在 ZIF-7、ZIF-8、ZIF-67、ZIF-

68 和 ZIF-70 上通过吸附法固定电催化剂甲基绿 (MG) 和葡萄糖脱氢酶 (GDH)。由于疏水性作用、供-受体键和氢键的综合影响, ZIF-70 表面吸附能力最强。在玻璃碳电极上通过滴落涂布 MG-ZIF-70 复合物, 然后在 MG-ZIF-70 复合物上涂覆 GDH 制成葡萄糖生物传感器, 其选择性检测葡萄糖的线性检测范围为 0.1 ~ 2 mM。

Liu 和 Lin 等<sup>[27]</sup> 采用微波辅助方法先制备了携带异硫氰酸荧光素 (FITC) 的荧光素-胰蛋白酶共轭物, 该共轭物中的 FITC 分子 (分子大小 0.9 nm×1.2 nm×1.4 nm) 在涡旋离心作用力下, 可以通过包埋方式进入铝基微孔 MOF [Al(OH)(SDC)] (CYCU-4) 材料孔道内, 从而获得 MOF-酶复合体系, 胰蛋白酶的负载量达到 55.2 μg/mg。该生物催化体系具有良好的催化活性, 蛋白水解效率达到 47%, 比游离的 FITC-胰蛋白酶的消化效率 43% 高, 并且水解时间由几个小时缩短至几分钟, 该体系可重复使用至少 5 个周期。

Liu 和 Huang 等<sup>[28]</sup> 以小分子荧光染料 4-氯-7-硝基苯并-2-氧杂-1,3-二唑 (NBD) 与胰蛋白酶结合得到胰蛋白酶-NBD, NBD 与 MOFs (MIL-101、DUT-4 (Al) 和 UIO-66) 之间有多数结合位点, 因此对酶的负载能力增加。其中, UIO-66 负载胰蛋白酶-NBD 的量达到 80 μg/mg。

### 3.2 MOFs 孔道的扩散

MOFs 材料具有多孔结构, 分子可以直接扩散到其孔道内, 但是, 由于大部分 MOFs 孔径小于 2 nm, 只有小于这个尺寸的化合物才可以扩散到其孔道内 (图 3)。

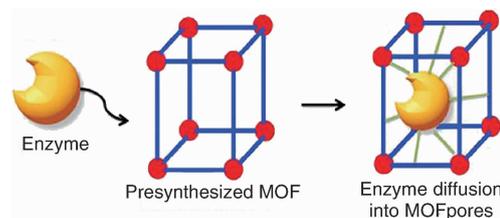


图 3 蛋白质向 MOF 孔道的扩散示意图<sup>[21]</sup>

Fig. 3 Schematic diagram of protein diffusion into the pores of MOF<sup>[21]</sup>

2006 年, Pisklak 等<sup>[29]</sup> 将过氧化物酶 (MP-11) 固定到多孔的纳米晶体 Cu-MOF 上。该 Cu-MOF 晶格中铜离子通过与 4,4'-二苯基二羧酸连接形成铜二聚体, 然后通过金属桥接配体形成平均孔径是 1.78 nm 的孔道。MP-11 的大小为 1.75 nm×3.3 nm, 大于 MOF 孔道的大小, 通过连续搅拌 MOF-酶溶液, 导致部分蛋白质链伸展, 获得特定的取向, 促进了 MP-11 向 MOF 孔道的扩散, 负载量可以达到 30 μmol/g。MP-11 进入孔道后, 在连续搅拌长达 72 h 的条件下, 酶并没有表现出任何浸出现象。这可能是由于进入 MOF 框架内的酶不容易进行足够的展

开, 因此限制了其浸出。

Lykourinou 等<sup>[30]</sup>在介孔 TB-TATB MOF(孔径 3.9 nm×4.7 nm)上固定 MP-11。通过 MOF 颜色的变化及单晶体的吸收光谱证实了在室温条件下通过简单扩散的方式 MP-11 可以进入 MOF 孔道内, 负载量达到 19.1 μmol/g。与酶在二氧化硅上固定相比, 这种 MOF-酶载体具有更好的生物催化活性。由于酶进入 MOF 的孔道内, 并且通过疏水作用与 TB-TATB MOF 相互作用, 因此循环使用性较好, 7 次循环使用后, 保留了约 47% 的催化活性。Lykourinou 研究组<sup>[31]</sup>还研究了肌红蛋白(Mb)在 Tb-TATB MOF 孔道中的扩散, 最大负载量可达到 9.1 μmol/g。采用两种不同底物 2, 2-联氮-二(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)和 1, 2, 3-三羟基苯(THB), 研究了 MOF 的尺寸选择性。相对于 MOF 的孔径来说, ABTS 是一种大分子, THB 是小的分子, 由于大分子底物不能到达 Tb-meso MOF 内部的 Mb-活性位点, 因此包埋在内部的酶对 ABTS 没有显示出过氧化氢酶的活性。与此相反, THB 能够扩散到孔内, 接近包埋的肌红蛋白酶, 因此 Mb-TB-TATB 复合物对 THB 显示出催化活性。由于扩散缓慢, Mb@ TB-TATB 催化活性仅为自由酶的一半, 但这个生物催化体系可以循环使用 15 次。

Chen 和 Lykourinou 等<sup>[32]</sup>还报道了亚铁血红蛋白 Cyt c 酶向纳米 Tb-meso MOF 孔道的扩散过程。如图 4 所示, 尽管 MOF 的孔径小于 Cyt c, 蛋白质在 MOF 表面的物理吸附导致其部分展开从而发生构象的变化, 使其最终迁移到 MOF 内部的孔隙。

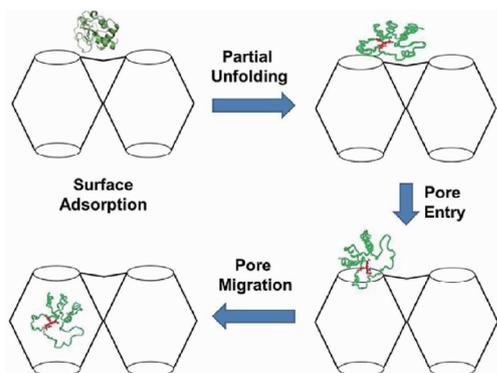


图 4 Cyt c 酶在 Tb-meso MOF 孔道中的扩散机制示意图<sup>[32]</sup>

Fig. 4 Mechanism for the diffusion of Cyt c into the pores of Tb-meso MOF<sup>[32]</sup>

Rambabu 等<sup>[33]</sup>将 Cyt c 酶扩散到基于 2, 6-萘二羧酸的 Mn-MOF 孔道内。该酶-MOF 体系可用于检测导致水硬度的无机污染物硫酸根离子。

Deng 等<sup>[34]</sup>在合成 MOF 过程中使用多个含有苯环的有机配体, 通过调节有机配体的数量, 获得大孔径

MOFs-74 材料, 最大孔径达到 9.8 nm。MOFs-74 极高的孔隙率使得大分子蛋白质如 Mb 和绿色荧光蛋白(GFP)等可以在其中扩散。

Li 和 Farha<sup>[35]</sup>等将角质酶固定在具有分级孔结构的 Zr 基 NU-1000, NU-1000 具有直径为 3.1 nm 的六角形孔道和边缘长度为 1.5 nm 的三角型孔道, 因此轴长为 3.0 nm 椭圆形的角质酶可以进入其孔道。固定化的酶可以用来水解 p-硝基苯基丁酸盐(PNPB), 与自由酶活性相当, 因为反应物和产物可以通过孔道扩散而与固定化的酶接触。

田运齐等<sup>[36]</sup>使用物理吸附的方法以大小为 40~60 nm 的 HKUST-1 纳米粒子组成的 PD-meso MOF-3 多级孔材料为载体对辣根过氧化物酶(HRP)进行了固定化。HRP 分子尺寸大约为 7.0 nm×4.4 nm×6.8 nm, 可以进入 HKUST-1 纳米粒子构筑的 PD-meso MOF-3 的孔隙内, 最大吸附量达到 28.1 mg/g。在同样反应条件下, HRP 固定化酶和原酶相比, 催化过氧化氢和邻苯二胺生成 2, 3-二氨基酚活性相当, 且酶稳定性增强。

Huo 等<sup>[37]</sup>先在油/水界面形成 UIO-66/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米复合物, 而后采用琼脂凝胶法以磁性颗粒作为模板在 UIO 周围沉积 ZIF-8 层形成稳定的介孔微囊, 可以封装 CAL-B 脂肪酶。

### 3.3 在 MOF 中酶的原位封装

大多数的 MOFs 孔隙直径小于酶的大小, 因此需要另外一种 MOF-酶体系扩大其应用范围。最近, 研究者通过原位封装的方法在 MOFs 材料的框架内进行酶的包埋<sup>[31]</sup>, 如图 5 所示。采用这个方法的关键是在室温条件下合成 MOF, 以便在完成该过程后可以保持酶的活性和稳定性。

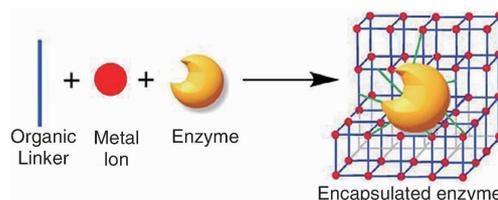


图 5 酶在 MOF 中进行原位封装<sup>[31]</sup>

Fig. 5 Schematic diagram of in-situ enzyme encapsulation within MOF<sup>[31]</sup>

Lyu 等人<sup>[38]</sup>首先研究了这种方法。他们选择了一个化学和热稳定性好的 MOF“ZIF-8”作为载体, 并进一步提出了基于 MOF-酶杂化体的自聚配位键。室温下在甲醇介质中慢速搅拌硝酸锌、2-甲基咪唑、Cyt c(酶)和聚乙烯吡咯烷酮(PVP)混合物 24 h 获得 ZIF-8。PVP 可以防止有机溶剂中的蛋白质聚集。获得的 Cyt c@ZIF-8 为菱形十二

面体晶体, 如图 6 所示。获得的 Cyt c@ZIF-8 和底物的结合力增加, 由于酶上金属离子的激活作用, 体系的催化活性比游离酶增加了 10 倍, 这种生物催化载体被用于爆炸物的快速灵敏光学检测。使用上述方法还合成了 HRP@ZIF-8、Cyt c@ZIF-10 和 lipase@ZIF-8 等酶-MOF 复合物。

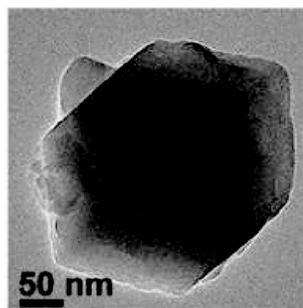


图 6 Cyt c@ZIF-8 的 TEM 照片<sup>[38]</sup>

Fig. 6 TEM image of Cyt c@ZIF-8 crystal<sup>[38]</sup>

Shieh 等人<sup>[39]</sup> 室温下在水相中混合硝酸锌、咪唑、过氧化氢酶(CAT)和封端剂 ICA 10 min, 实现在 2  $\mu\text{m}$  的 ZIF-90 单晶框架内固定 CAT。固定化酶的催化活性低于天然形式, 然而 MOF 的遮蔽效应可以提高酶的稳定性, 从而有助于降低成本。

Liang 等<sup>[40]</sup> 研究了 MOF 晶体在酶上的生长机制。采用核磁共振光谱、原位同步小角 X 射线散射和 ICP 研究了在 MOFs 材料内不同蛋白质的仿生矿化过程。卵清蛋白(OV)、溶菌酶、HRP、血红蛋白、胰蛋白酶、脂肪酶、胰岛素、脲酶、核糖核酸酶、人血清白蛋白(HSA)和 DNA 都可以在 MOFs 材料(例如 ZIF-8、HKUST-1、Eu-BDC、Tb-BDC 和 MIL-88A)的中心被矿化。这种生物矿化过程在保持酶的活性和稳定性的同时, 有助于控制晶体生长。还可通过改变 pH 条件控制蛋白质的释放, 在药物输送方面有潜在的应用。

Wu 等<sup>[41]</sup> 在 25  $^{\circ}\text{C}$  水相溶液中直接混合葡萄糖氧化酶( $\text{GO}_x$ )、辣根过氧化物酶(HRP)、锌盐和 2-甲基咪唑进行反应, 在 ZIF-8 内同时进行  $\text{GO}_x$  和 HRP 的原位包埋固定化, 如图 7 所示。 $\text{GO}_x$ /HRP/ZIF-8 复合物可用于高效、灵敏、稳定地检测葡萄糖。酶包埋后 MOF 晶体结构完整, 如图 8 a 和图 8 b 所示。HRP 和  $\text{GO}_x$  分别用荧光探针异硫氰酸罗丹明 B (RhB, 红光) 和异硫氰酸荧光素 (FITC, 绿光) 标记, 图 8 c 的激光扫描共聚焦显微镜照片说明了酶在金属有机骨架内的位置。

Wu 等<sup>[42]</sup> 利用聚多巴胺(PDA)作为生物粘合剂, 通过共价键或非共价键作用来束缚葡萄糖氧化酶-ZIF-8 复合物, 使其大小可以达到微米级。室温下, 在 PDA 溶液

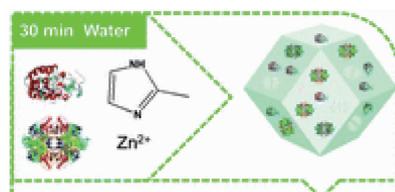


图 7  $\text{GO}_x$ /HRP/ZIF-8 复合物形成过程<sup>[41]</sup>

Fig. 7 Schematic diagram of  $\text{GO}_x$  and HRP in-situ encapsulation within ZIF-8<sup>[41]</sup>

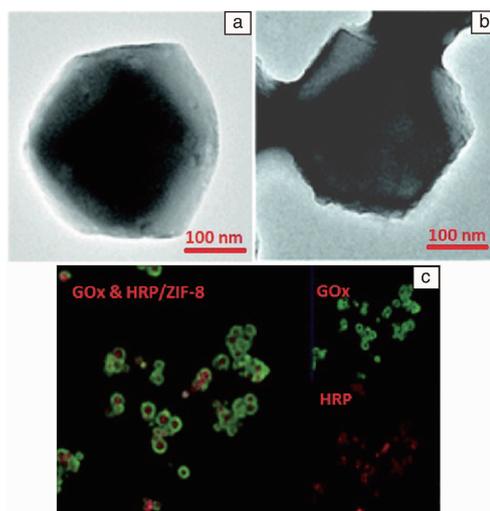


图 8 ZIF-8 晶体的 TEM 照片(a),  $\text{GO}_x$ /HRP/ZIF-8 复合物的 TEM 照片(b), 复合物的激光扫描共聚焦显微镜照片(c)<sup>[41]</sup>

Fig. 8 TEM image of ZIF-8 crystal (a), TEM image of  $\text{GO}_x$ /HRP/ZIF-8 composite (b), Confocal microscopic image of composite legend(c)<sup>[41]</sup>

中培养葡萄糖氧化酶/ZIF-8 粉末 24 h 可以发生聚合反应, 形成交联复合物。与游离形式葡萄糖氧化酶的相比, 葡萄糖氧化酶/ZIF-8/PDA 系统只表现出 50% 的催化活性。然而, 固定形式的酶的活性可以保持更长的时间。上述体系在甲醇、乙醇和丙酮溶剂中, 还表现出更好的稳定性, 在 10000 rpm 的转速下离心可以回收利用复合材料。

Nadar 等<sup>[43]</sup> 以 2-甲基咪唑、葡萄糖淀粉酶和醋酸锌为原料, 采用自组装的一步法在室温合成了葡萄糖淀粉酶-ZIF-8 复合物。包埋在 ZIF-8 内部的葡萄糖淀粉酶比自由酶的活性提高 6 倍, 并且稳定性提高, 6 次循环使用时, 活性还可达到 57%, 存储 25 d 活性仍为原来的 91%。包埋在 ZIF-8 内部的酶二级结构发生改变, 改进了催化活性。

表面固定法将酶通过物理吸附或共价连接附着在 MOF 表面, 因其对酶的大小没有限制是最吸引人的方法。活性位点暴露在载体外可以增强酶的催化活性, 降

低蛋白质催化时间,从而减少酶的随机性,并使活性位点更容易到达底物<sup>[27]</sup>。使用简单的步骤将酶通过物理吸附固定在 MOFs 材料上,然而,如果酶与 MOF 载体的结合键相对较弱,这种酶很可能被洗掉。共价连接是解决这个问题的很好的选择,可以通过化学修饰的载体或通过小分子染料标记酶来增强结合键。

酶向 MOFs 孔道内扩散法中,酶包埋在 MOFs 材料孔道内,同时和 MOF 的配位基团发生亲水性或疏水性相互作用,有助于提高催化剂的稳定性<sup>[44]</sup>,增加了材料的可重复使用性。但是因为大多数 MOFs 的孔道尺寸小于一些重要的酶,所以这种方法的使用范围有限,开发合成大孔径 MOFs 材料是应用这种方法的关键。

酶在骨架内的原位包埋可以通过共价键或配位键来实现。由于酶的完全包埋,这种固定化方法可以获得最大限度的稳定性,防止酶的浸出,可重复使用性较高,减少过程成本。另一个显著的优势是,这种方法对固定化酶的大小没有限制。那些尺寸大于 MOF 孔径的酶也可以通过这种方法来合成 MOF-酶复合物。然而,由于底物向 MOF 的微孔内扩散的速度较慢或者底物分子大小大于 MOF 的孔径,使得底物不容易接触包埋在孔道内部的酶,因此,这种方法在某些情况下催化活性可能会比游离形式酶的低。能否采用这种方法取决于 MOF 和酶的结构参数,同时也需要考虑 MOF-酶复合物的应用目标。在 MOF 中进行酶的原位封装时,要求 MOF 必需在室温条件下合成以便保持酶的结构和活性<sup>[38]</sup>。

#### 4 MOFs 固定核酸

使用 MOF 纳米载体还可以固定多聚核苷酸如 DNA 和 RNA,可以保护其不被降解,便于其被细胞摄取。

Mirkin 等<sup>[45]</sup>研究了基于新型 UiO-66-N<sub>3</sub> (Zr<sub>6</sub>O<sub>4</sub>OH<sub>4</sub> (C<sub>8</sub>H<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-N<sub>3</sub>)<sub>6</sub>)的核酸-MOF 纳米配合物,采用二苯基环辛炔修饰的多聚核苷酸与叠氮化 UiO-66 反应,将 DNA 连接在纳米 MOF 表面,如图 9 所示。核酸-MOF 纳米配合物空间和静电稳定性增加,对人类宫颈癌细胞渗透性增强,可用于基因治疗。

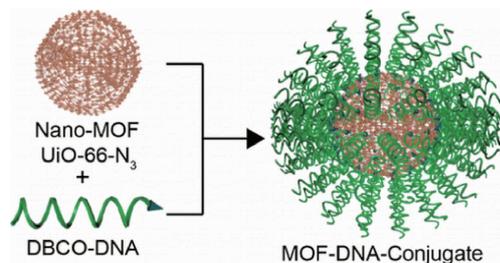


图 9 MOF-DNA 配合物形成过程<sup>[45]</sup>

Fig. 9 Schematic diagram of MOF-DNA conjugate<sup>[45]</sup>

He 等<sup>[46]</sup>通过和金属位点配位的方式,将小干扰 RNA 负载在 UiO 型纳米 MOF (铝-氨基三苯基二羧酸) 表面,负载量 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,可以保护 siRNA 不被核酸酶降解,增加其被细胞摄取率。

#### 5 结 语

MOFs 材料可以作为稳定的、高效的、可重复使用且廉价的生物大分子的固定化载体。以 MOFs 为基础的生物大分子固定化系统已应用到生物催化、分子传感、治疗和诊断等领域。但是,MOF-生物大分子固定化体系的实际应用还处于初期阶段,近一步扩大 MOFs 材料的应用范围还有很多关键的问题需要解决,例如设计具有大孔径的高介孔 MOFs 材料、设计不同的功能化 MOFs 材料及以研发环境友好的方式合成所需的生物分子-MOFs 体系等,不断提高 MOFs-生物大分子固定化体系的商业化接受度。

#### 参考文献 References

- [1] Rowsell J L C, Yaghi O M. *Microporous and Mesoporous Materials* [J], 2004, 73(1-2): 3-14.
- [2] Zhou H C J, Kitagawa S. *Chemical Society Reviews* [J], 2014, 43(16): 5415-5418.
- [3] Yaghi O M, Li G, Li H. *Nature* [J], 1995, 378(6558): 703-706.
- [4] Cheetham A K, Rao C, Feller R K. *Chemical Communications (Camb.)* [J], 2006 (46): 4780-4795.
- [5] Férey G, Mellot-Draznieks C, Serre C, et al. *Science* [J], 2005, 309(5743): 2040-2042.
- [6] Loiseau T, Lecroq L, Volkringer C, et al. *Journal of the American Chemical Society* [J], 2006, 128(31): 10223-10230.
- [7] Britt D, Tranchemontagne D, Yaghi O M. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* [J], 2008, 105(33): 11623-11627.
- [8] Farha O K, Hupp J T. *Accounts of Chemical Research* [J], 2010, 43(8): 1166-1175.
- [9] Meek S T, Greathouse J A, Allendorf M D. *Advanced Material* [J], 2011, 23(2): 249-267.
- [10] Dey C, Kundu T, Biswal B P, et al. *Acta Crystallographica Section B* [J], 2014, 70(1): 3-10.
- [11] Burnett B J, Barron P M, Choe W. *CrystEngComm* [J], 2012, 14(11): 3839-3846.
- [12] Kumar P, Bansal V, Deep A, et al. *Journal of Porous Materials* [J], 2015, 22(2): 413-424.
- [13] Horcajada P, Chalati T, Serre C, et al. *Nature Materials* [J], 2010, 9(2): 172-178.
- [14] Bux H, Liang F, Li Y, et al. *Journal of the American Chemical Society* [J], 2009, 131(44): 16000-16001.
- [15] Martinez Joaristi A, Juan-Alcañiz J, Serra-Crespo P, et al. *Crystal*

- Growth & Design*[J], 2012, 12(7): 3489–3498.
- [16] Friščić T, Halasz I, Beldon P J, *et al.* *Nature Chemistry*[J], 2013, 5 (1): 66–73.
- [17] Jung D W, Yang D A, Kim J, *et al.* *Dalton Transactions*[J], 2010, 39(11): 2883–2887.
- [18] Lee D J, Li Q, Kim H, *et al.* *Microporous and Mesoporous Materials* [J], 2012, 163: 169–177.
- [19] Wu X, Hou M, Ge J. *Catalysis Science & Technology*[J] 2015, 5 (12): 5077–5085.
- [20] Cao L, Langen L V, Sheldon R A. *Current Opinion in Biotechnology* [J]. 2003, 14 (4): 387–394.
- [21] Mehta J, Bhardwaj N, Bhardwaj S K, *et al.* *Coordination Chemistry Reviews*[J], 2016, 322 : 30–40.
- [22] Jung S, Kim Y, Kim S J, *et al.* *Chemical Communications (Camb.)* [J], 2011, 47 (10): 2904–2906.
- [23] Shih Y H, Lo S H, Yang N S, *et al.* *Chempluschem* [J], 2012, 77 (11): 982–986.
- [24] Wang J Z, Zhao G H, Yu F Q. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*[J], 2016, 69 : 139–145.
- [25] Qin F X, Jia S Y, Wang F F, *et al.* *Catalysis Science & Technology* [J], 2013, 3(10): 2761–2768.
- [26] Ma W, Jiang Q, Yu P, *et al.* *Analytical Chemistry*[J], 2013, 85 (15): 7550–7557.
- [27] Liu W L, Lo S H, Singco B, *et al.* *Journal of Materials Chemistry B* [J], 2013, 1(7): 928–932.
- [28] Liu W L, Wu C Y, Chen C Y, *et al.* *Chemistry– A European Journal* [J], 2014, 20(29): 8923–8928.
- [29] Pisklak T J, Macias M, Coutinho D H, *et al.* *Topics in Catalysis*[J], 2006, 38(4): 269–278.
- [30] Lykourinou V, Chen Y, Wang X S, *et al.* *Journal of the American Chemical Society*[J], 2011, 133 (27): 10382–10385.
- [31] Chen Y, Lykourinou V, Hoang T, *et al.* *Inorganic Chemistry*[J], 2012, 51(17): 9156–9158.
- [32] Chen Y, Lykourinou V, Vetromile C, *et al.* *Journal of the American Chemical Society*[J], 2012, 134 (32): 13188–13191.
- [33] Rambabu D, Pradeep C P, Dhir A. *Journal of Material Chemistry A* [J], 2014, 2: 8628–8631.
- [34] Deng H, Grunder S, Cordova K E, *et al.* *Science* [J], 2012, 336 (6084): 1018–1023.
- [35] Li P, Modica J A, Howarth A J, *et al.* *Chem*[J], 2016, 1(1): 154–169.
- [36] Tian Yunqi (田运齐), Wu Xiaofang (吴小芳), Hou Wenying (侯文颖), *et al.* *Journal of Liaoning Normal University(Natural Science Edition)* 辽宁师范大学学报(自然科学版)[J], 2016, 39(3): 373–376.
- [37] Huo J, Marcello M, Garai A, *et al.* *Advanced Material*[J], 2013, 25 (19): 2717–2722.
- [38] Lyu F, Zhang Y, Zare R N, *et al.* *Nano Letters*[J], 2014, 14 (10): 5761–5765.
- [39] Shieh F K, Wang S C, Yen C I, *et al.* *Journal of the American Chemical Society* [J], 2015, 137(13): 4276–4279.
- [40] Liang K, Ricco R, Doherty C M, *et al.* *Nature Communication* [J], 2015, 6: 7240.
- [41] Wu X, Ge J, Yang C, *et al.* *Chemical Communications (Camb.)* [J], 2015, 51(69): 13408–13411.
- [42] Wu X, Yang C, Ge J, *et al.* *Nanoscale*[J], 2015, 7(45): 18883–18886.
- [43] Nadar S S, Rathod V K. *International Journal of Biological Macromolecules*[J], 2017, 95: 511–519.
- [44] Pisklak T J, Macias M, Coutinho D H, *et al.* *Topics in Catalysis*[J], 2006, 38 (4): 269–278.
- [45] Morris W, Briley W E, Auyeung E, *et al.* *Journal of the American Chemical Society*[J], 2014, 136 (20): 7261–7264.
- [46] He C, Lu K, Liu D, *et al.* *Journal of the American Chemical Society* [J], 2014, 136 (14): 5181–5184.

(编辑 惠 琼)