Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng

Research
Green Chemical Engineering—Article

受生物表面工程启发结合印迹后修饰和双共价受体策略精准构筑辨识吸附剂并选择性分离5′-单磷酸腺苷

王盼，程涛，韦庄鑫，刘璐，王越，田小花*，潘建明*

School of Chemistry and Chemical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

ARTICLE INFO

Article history:
Received 14 August 2023
Revised 4 February 2024
Accepted 25 November 2024
Available online 28 November 2024

关键词
生物表面工程
双共价受体
精准印迹后修饰策略
辨识分离5′-单磷酸腺苷

摘要

高比表面积和印迹识别位点的精准构筑是提高分子印迹聚合物（MIPs）辨识分离效果的重要策略。受生物表面工程的启发，本工作以介孔二氧化硅纳米片（$mSiO_2$-NS）作为基质材料，结合表面印迹后修饰（PIMs）和双共价作用策略，制备双受体表面印迹后修饰复合吸附剂（D-PMIPs），并用于选择性辨识分离5′-单磷酸腺苷（AMP）。$mSiO_2$-NS纳米片的高比表面积（498.73 $m^2 \cdot g^{-1}$），显著增加高活性识别位点的数量。通过双共价功能单体分别与AMP进行有序组装，固定AMP分子的空间取向和排列，再结合PIMs在印迹识别位点内修饰亲和性更强的嘧啶官能团，精细调节印迹识别位点，强化识别位点的辨识效果。D-PMIPs的高亲和力结合位点数（N_{max}）为39.99 $\mu mol \cdot g^{-1}$，显著高于单一受体的印迹吸附剂（S-BMIPs和S-PMIPs）。利用准二级动力学模型拟合，证明印迹识别位点主要是通过硼亲和共价作用和嘧啶碱的碱基互补配对的协同作用进行辨识分离。因此，使用双共价受体和PIMs是制备具有高辨识活性的印迹吸附剂的有效策略，可实现印迹识别位点的精准构筑。

© 2024 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. 引言

具有“人工抗体”之称的分子印迹聚合物（MIPs）被广泛用于辨识分离、传感、催化和药物设计等领域[1–3]。MIPs形成的识别位点与模板分子具有类似于“锁孔-钥匙”的特异匹配关系[4–5]。目前，已有多种合成方法用于制备MIPs，如表面印迹[6]、本体聚合[7]和沉淀聚合法[8]等。在这些方法中，表面印迹策略可以解决传统MIPs面临的印迹空穴包埋过深、模板分子不易洗脱、结合作用力弱和传质慢的问题，增加有效识别位点数，具有更高的模板清除率，能有效提高模板分子的吸附量[9]。表面印迹常用的基质材料有纳米颗粒[10]、纳米管[11]和纳米片[12]等纳米材料。其中，纳米片由于其高纵横比、大比表面积和高机械性能的优点而备受关注。同时，利用多种功能单体进行多步自组装，以精确调控印迹过程，进而提高MIPs的辨识效率是非常重要的。然而，由于同时使用多种单体也会互相干扰，无法实现模板分子和功能单体的精确组装，因此关于以纳米片作为基底材料的精准调控印迹识别位点的报道还比较少。为了解决这个难题，已有研究者受生物启发在双受体和翻译后修饰（PM）方面做出了巨大努力[5]。

* Corresponding authors.
E-mail addresses: tianxiaohua@ujs.edu.cn (X. Tian), pjm@ujs.edu.cn (J. Pan).

2095-8099/© 2024 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).
英文原文：Engineering 2025, 45(2): 143–154
引用本文：Pan Wang, Tao Cheng, Zhuangxin Wei, Lu Liu, Yue Wang, Xiaohua Tian, Jianming Pan. Bioinspired Surface Engineering with Dual Covalent Receptors Incorporated via Precise Post-Imprinting Modification to Enhance the Specific Identification of Adenosine 5′-Monophosphate. *Engineering*, https://doi.org/10.1016/j.eng.2024.11.015

双受体是一种生理或药理机制，通常被用作增强特异性结合的双重位点。例如，多种氨基酸可同时作用于同一种神经递质、激素、药物或毒素[13–16]。最近，在分子印迹过程中模拟并应用了双受体的概念，以显著增强MIPs的亲和力和选择性[17]。Koide等[18]通过共聚具有补充肝素和血管内皮生长因子受体（VEGFR）-2结合域功能的单体，开发出一种非生物蛋白质亲和试剂。Shinde等[17]合成了印迹聚合物宿主，能够通过多个非共价键选择性地结合可切换阴离子。目前，基于双受体的自组装过程多是由非共价/非共价或非共价/共价单体组成[19–21]。与共价键相比，非共价相互作用（如氢键和静电作用）在聚合过程中很容易受到溶剂极性、离子干扰、溶液pH值和温度的影响。这些因素都会对印迹效率产生副作用。然而，利用多个高匹配性的双共价受体以精确固定模板分子空间取向却少有报道，这主要是因为通过共价键断裂-洗脱仍具有较大的挑战。

PM是生物合成过程中的组蛋白在不同组织中自发改变结合基团来适应基体反应需求的现象[22]。Davis [23]和Takeuchi教授团队[24]模拟PMs过程，先后以小分子、蛋白质为模板分子发展了印迹后修饰（PIMs）的新思路。该方法在印迹识别空穴内引入特异性更强的亲和基团，进而精细调节识别位点[25–27]。也有研究者利用PIMs策略进行了相关研究，以提高印迹位点的辨识效果。例如，Wang小组[28]在单步点击反应中利用PIMs开发了一种蛋白质印迹聚合物（protein-IP），对糖蛋白具有高特异性的同时也可作为荧光检测生物传感器。Liu等[29]将MIPs与PIMs策略结合制备了一种印迹整体吸附剂（IMER），作为固定化胰蛋白酶反应器，以增强对*N*-肉豆蔻酰化肽的检测。设计的双硫键功能单体与模板分子共价组装，固定模板分子的取向和排列。引发印迹聚合后，双硫键在三（2-羧乙基）膦（TCEP）作用下被还原，模板分子随共价键合链断裂一起脱除，再通过巯基-双硫键化合物的交换反应，利用空穴内残留巯基引入特异性更强的亲和基团，进而精细调节识别位点[30]。在这种情况下，通过PIMs结合双共价受体在印迹空穴内进行位点特异性修饰，赋予MIPs位点分子取向识别更为精确和分子辨识作用更为专一的优点，是一种对印迹位点进行量身定制的重要方法。

5′-单磷酸腺苷（AMP）是一种典型的核苷化合物，也是生化药物和基因工程的重要原料，是一种重要的抗肿瘤和抗病毒药物的中间体[9,31]。AMP包含一个腺嘌呤环和一个核糖单元，这些官能团可发生硼亲和性相互作用和嘌呤-嘧啶碱基互补配对。但在无序的组装过程中，多种单体之间同时使用也会产生互相干扰，如分子间的竞争可能会导致模板分子只与一种或者多种单体组装，或单体与单体之间发生作用，从而破坏有效识别位点的完整性[31]。因此，AMP无法通过多点相互作用在单体周围形成稳定而精确的取向排列。通过精准设计印迹方法和调控印迹位点方法，实现AMP分子的高辨识分离是研究的重要目的。

本工作受生物表面工程启发，在介孔二氧化硅纳米片（$mSiO_2$-NS）表面结合表面印迹和双共价作用的PIMs策略制备具有双受体表面印迹后修饰复合吸附剂（D-PMIPs），并用于选择性辨识分离AMP。首先合成3-（甲基丙烯酰氧基乙基二硫）丙酸磺基-*N*-羟基琥珀酰亚胺酯的双硫键功能单体（DS-FM1），通过S-FM1与模板分子AMP腺嘌呤环上的氨基发生酯胺解共价预组装固定模板分子，酯的反应与AMP上腺嘌呤环的胺基发生共价作用。再通过生理活性硼酸单体[4-（（2-丙烯酰胺基乙基）-3-氟苯基）硼酸（PBA-FM2），其pK_a值低至7.2]，与核糖的顺式二醇单元发生硼亲和共价作用，进一步固定AMP形成稳定的预组装复合物。其中双共价功能单体有效固定AMP的分子取向和排列，有序的组装抑制了AMP上腺嘌呤环和核糖部分之间的非特异性相互作用，增强AMP分子的特异性识别效果。然后利用$mSiO_2$-NS表面的氯元素作为引发剂，通过原子转移自由基聚合（ARGET ATRP）技术在纳米片表面修饰具有双受体的表面印迹聚合物。随后，利用TCEP [32]将双硫键还原，并在酸性条件下破坏硼酸和AMP之间的共价作用后，模板分子被完全去除后得到印迹位点带有硼酸和硫醇官能团的双受体表面印迹聚合物（D-FMIPs）。此外，还合成了一种双硫键的嘧啶单体，即1-[2-（2-吡啶基二硫）乙基]嘧啶-2,4-二酮（DS-FM3），利用空穴内残留巯基引入特异性更强的非共价亲和基团，进而精细调节印迹识别位点，制备具有双受体表面印迹后修饰复合吸附剂（D-PMIPs）。最后，采用静态吸附实验研究单受体和双受体表面印迹后修饰纳米片吸附剂对AMP的吸附平衡、动力学、选择性、实际样品应用和再生性能分析，探讨选择性辨识能力和相对应的机制。

2. 实验部分

2.1. 试剂及仪器

十六烷基三甲基溴化铵（CTAB）、正硅酸四乙酯（TEOS）、3-氯丙基三乙氧基硅烷（CPTES）、2′-脱氧鸟苷（dG）、2′-脱氧胞苷（dC）、2′-脱氧腺苷（dA）、5′-单磷酸腺苷（AMP）、二甲基亚砜（DMSO）、*N*,*N*,*N*′,

N″,*N*‴-五甲基二乙烯三胺（PMDETA）、三（2-羧乙基）膦（TCEP）、抗坏血酸（VC）、*N*,*N*′-亚甲基双丙烯酰胺（MBAA）和茜素红S（ARS）购自阿拉丁（中国）。三磷酸腺苷（ATP）、盐酸（HCl）、乙腈、氯化铜（$CuCl_2$）、氯化亚铜（CuCl）、乙醇、四氢呋喃（THF）、去蛋白小牛血清注射液、磷酸二氢钾（KH_2PO_4）和磷酸氢二钠（Na_2HPO_4）购自国药集团化学试剂有限公司。生理活性硼酸单体PBA-FM2购自上海麦克林生化科技有限公司。实验用水为去离子水，所有的试剂在使用前都未经过纯化。本研究中所使用仪器的相关细节见附录A。

2.2. 制备D-FMIPs

在已有文献报道基础上[33−34]，合成$mSiO_2$-NS和三种功能单体，合成方法详见附录A中的图S1。其结构经核磁共振氢谱（^{1}H NMR）确认，结果如附录A中的图S2和图S3所示。D-FMIPs的制备方法如下：0.0347 g AMP溶解在10 mL DMSO和10 mL磷酸盐缓冲液（PBS）（pH=7.4、50 mmol·L^{-1}）的混合溶液中，加入0.0351 g DS-FM1，通30 min N_2后在35 ℃下避光静置12 h，完成第一次共价预组装。接着，向混合物中加入0.028 g PBA-FM2，通30 min N_2后，在35 ℃下避光12 h，完成第二次共价预组装。随后，加入0.123 g MBAA作为交联剂、0.05 g $mSiO_2$-NS作为基质材料。通30 min N_2后，再加入0.006 g CuCl、0.008 g $CuCl_2$和0.025 mL PMDETA。继续通15 min N_2后，加入0.012 g VC，再通30 min N_2，混合物在35 ℃避光搅拌反应12 h。反应后离心收集的产物用甲醇洗涤三次，用10 mL TCEP水溶液（20 mmol·L^{-1}）与产物在室温下反应12 h。反应两次后，再用HCl水溶液（pH=3.3）作为洗脱液，去除残留的TCEP和AMP分子，直到洗脱液中未检测到AMP，制得介孔纳米片表面印迹吸附剂（D-FMIPs）。同时，参照上述方法，但在聚合过程中不加入模板分子AMP，制备介孔纳米片表面非印迹吸附剂（D-FNIPs），只加入硼酸单体PBA-FM2进行组装，制备单受体表面印迹吸附剂（S-BMIPs），同时，只加入双硫键单体DS-FM1进行组装，制备单受体表面印迹吸附剂（S-FMIPs）。

2.3. 制备D-PMIPs

将0.028 g DS-FM3溶解在2.0 mL DMSO和10 mL PBS缓冲溶液（pH=7.4、50 mmol·L^{-1}）的混合溶液中，并将上一步制备的D-FMIPs分散于混合溶液中，于35 ℃下搅拌5.0 h后离心收集产物，产物D-PMIPs用甲醇洗涤三次后，在45 ℃下真空干燥12 h。同时，参照上述方法用D-FNIPs替代D-FMIPs制得双受体表面非印迹后修饰复合吸附剂（D-PNIPs），用S-FMIPs替代D-FMIPs制备单受体表面印迹后修饰复合吸附剂（S-PMIPs）。

2.4. D-PMIPs的静态吸附实验

对D-PMIPs、D-PNIPs、S-PMIPs、S-BMIPs和$mSiO_2$-NS进行了静态吸附实验，以研究它们的吸附动力学、平衡和再生。用结构类似物（dA和ATP）和其他典型核苷化合物（dC和dG）评估了D-PMIPs的选择性。吸附实验的详细过程见附录A。

2.5. 实际样品（血清）分析

取三名男性志愿者的血清，在6000 r·min^{-1}下离心15 min去除杂质，并用微孔硝酸纤维素膜（孔径为0.22 μm）过滤[35]。同时，选择含有AMP活性成分的去蛋白小牛血清注射液作为实际样品[33]。将2.0 mL血清溶液或去蛋白小牛血清注射液分散到16 mL的PBS溶液（pH=7.4、50 mmol·L^{-1}）中作为血清或去蛋白小牛血清样品。在上述血清样品中加入适量的AMP，固定加标含量为70 μmol·L^{-1}。将10 mg D-PMIPs、D-PNIPs、S-PMIPs、S-BMIPs和$mSiO_2$-NS加入离心管中作为吸附剂，每个离心管中加入2.0 mL加标样品。在25℃下静态吸附4.0 h后，用微孔硝酸纤维素膜（孔径为0.22 μm）过滤。滤液中AMP通过高压液相色谱法（HPLC）进行分析，流动相由PBS溶液（pH=7.4、50 mmol·L^{-1}）和甲醇组成，体积比为85∶15，流动相的流速为0.8 mL·min^{-1}，柱温为45 ℃，检测波长为259 nm，进样量为10 μL。

3. 结果与讨论

3.1. D-PMIPs的设计与制备

针对模板分子AMP结构，本工作设计合成了三种功能单体，结构见图S1。功能性单体1（DS-FM1）具有与模板分子AMP的氨基发生酯胺解反应的酯基，同时具有双硫键，以便随后引入嘧啶基团[图1（a）] [26]。功能性单体2（PBA-FM2）带有硼酸官能团，用于固定AMP的邻二羟基，在该单体的苯环上引入了吸电子基团F，可使硼酸单体在生理活性条件下（pH=7.4）与邻二醇结构的化合物具有较好的pH结合和释放响应性[图1（a）] [34]。功能性单体3（DS-FM3）含有吡啶双硫键，可与识别位点内的硫醇基团发生双硫键-巯基交换反应，使其在识别位点内引入与AMP分子中腺嘌呤基团发生碱基互补配对的嘧啶基团[图1（b）] [35]。

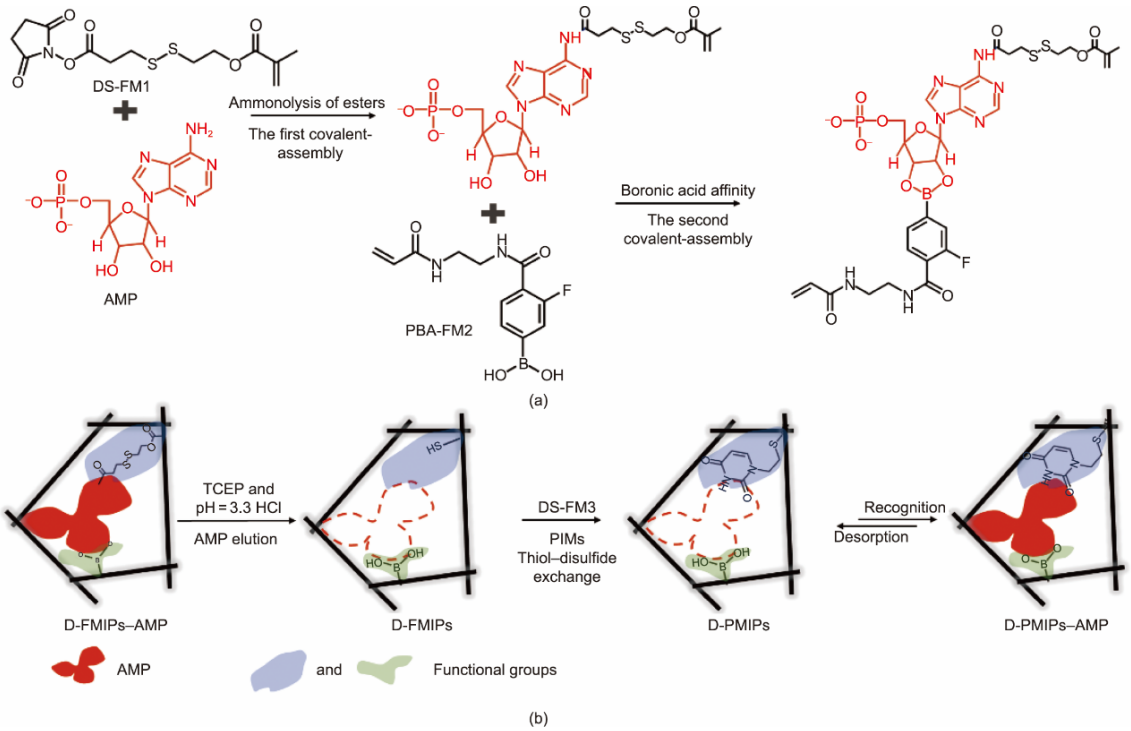

图1. （a）功能单体（DS-FM1和PBA-FM2）和AMP有序组装；（b）印迹后修饰过程示意图。

D-PMIPs的合成过程如图2所示。首先，通过硅烷偶联剂TEOS和CPTES在PS微球表面发生溶胶-凝胶过程制备PS/SiO_2复合微球。根据扫描电子显微镜（SEM）结果，PS微球的直径为(2.3 ± 0.1) μm [图3（a）]，PS/SiO_2复合微球的直径为(2.4 ± 0.1) μm [图3（b）]，PS/SiO_2呈核壳型结构。用THF溶解PS核心，并用HCl除去致孔剂CTAB。超声破碎处理后，产物为不规则片状结构、表面光滑的介孔二氧化硅纳米片（mSiO_2-NS）[图3（c）、（d）]。为了研究硅烷偶联剂用量对mSiO_2-NS物化性质的影响，分析了不同量CPTES（0.1 mL、0.15 mL、0.2 mL、0.25 mL、0.3 mL和0.56 mL）合成的mSiO_2-NS物化性能。随着CPTES增加，mSiO_2-NS光滑表面逐渐变得粗糙，且出现了较多的纳米颗粒（附录A中的图S4）。利用氮气吸附-脱附等温线分析了纳米片的孔径及比表面积（附录A中的图S5），结果发现，随着CPTES增加，纳米片孔径从23.89 Å增加到46.56 Å，比表面积S_{BET}从766.03 $m^2 \cdot g^{-1}$逐渐降低到68.71 $m^2 \cdot g^{-1}$，这主要是由于CTAB在大量的CPTES存在下更容易形成胶束（表1）[36]。同时，利用能量色散X射线谱（EDS）和水接触角分析了纳米片的氯元素含量和表面润湿性（附录A中的图S6）。随着CPTES增加，纳米片的疏水性和氯含量逐渐增加。但考虑到纳米片表面氯元素既是印迹聚合的引发剂，同时也要为水溶液中AMP的吸附提供亲水的环境，故选择0.15 mL CPTES和0.3 mL TEOS为最佳用量组合。

D-PMIPs的合成路线如图1和图2所示。首先，利用酯胺解反应，共价组装功能单体DS-FM1和模板分子AMP，随后，加入第二种功能单体PBA-FM2发生硼亲和共价组装，进一步固定AMP分子[26,34]。随后，MBAA作为交联剂，mSiO_2-NS的氯元素作为SI-ATRP的引发剂，引发聚合制备双受体表面印迹纳米片吸附剂（D-FMIPs）。通过SEM可以发现，D-FMIPs的表面与mSiO_2-NS相比变得更加粗糙[图3（e）、（f）]，说明MIPs接枝到了纳米片表面。利用AFM进一步分析纳米片吸附剂形貌和印迹聚合物前后的厚度，结果如图3（g）、（h）所示，从图中可以发现，mSiO_2-NS纳米片表面平整，厚度为82 nm，D-FMIPs纳米片表面变得粗糙，厚度增加到93 nm，可以推断，约11 nm的印迹聚合物被接枝到了mSiO_2-NS表面。利用TCEP还原DS-FM1官能团中的双硫键，以去除固定的模板分子AMP，同时，在酸性条件下打开硼亲和作用形成的五元环，使其在印迹识别空腔中只留下硼酸和硫醇基团[25]。最后，通过巯基-双硫键交换反应将嘧啶官能团修饰到识别位点，构建D-PMIPs的特异性识别位点。

3.2. D-PMIPs的表征

为了研究mSiO_2-NS和功能性吸附剂（D-FMIPs和D-PMIPs）吸附前后的理化性质，本工作利用傅里叶变换红外光谱（FT-IR）、X射线衍射（XRD）、X射线光电子能谱（XPS）和荧光显微镜对样品进行了表征分析。FT-IR

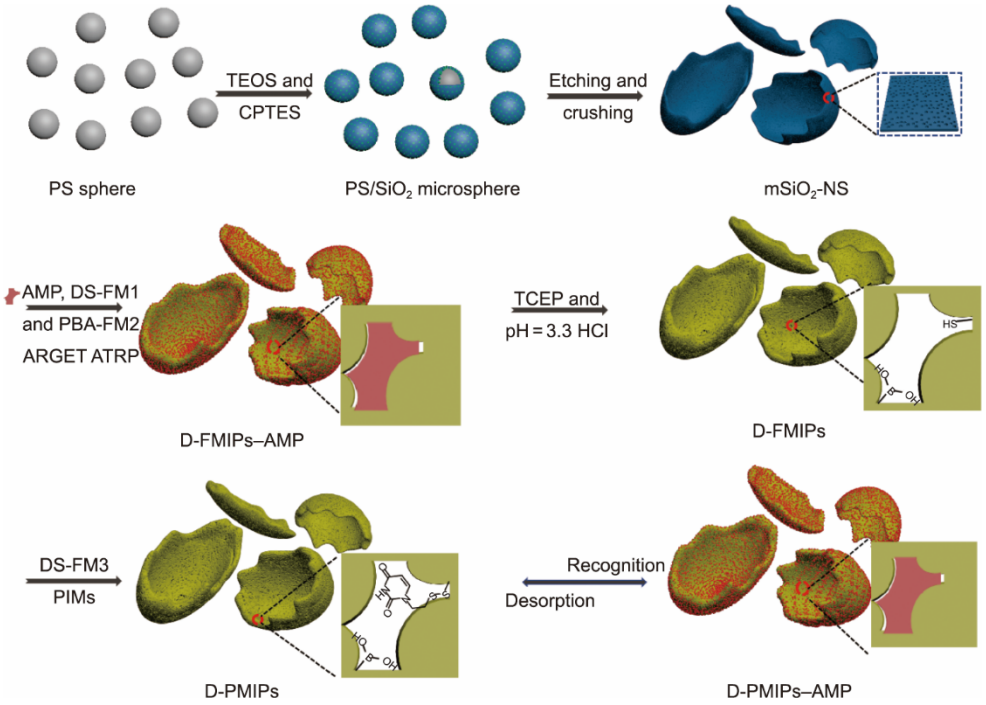

图2. D-PMIPs的合成路线。PS：聚苯乙烯。

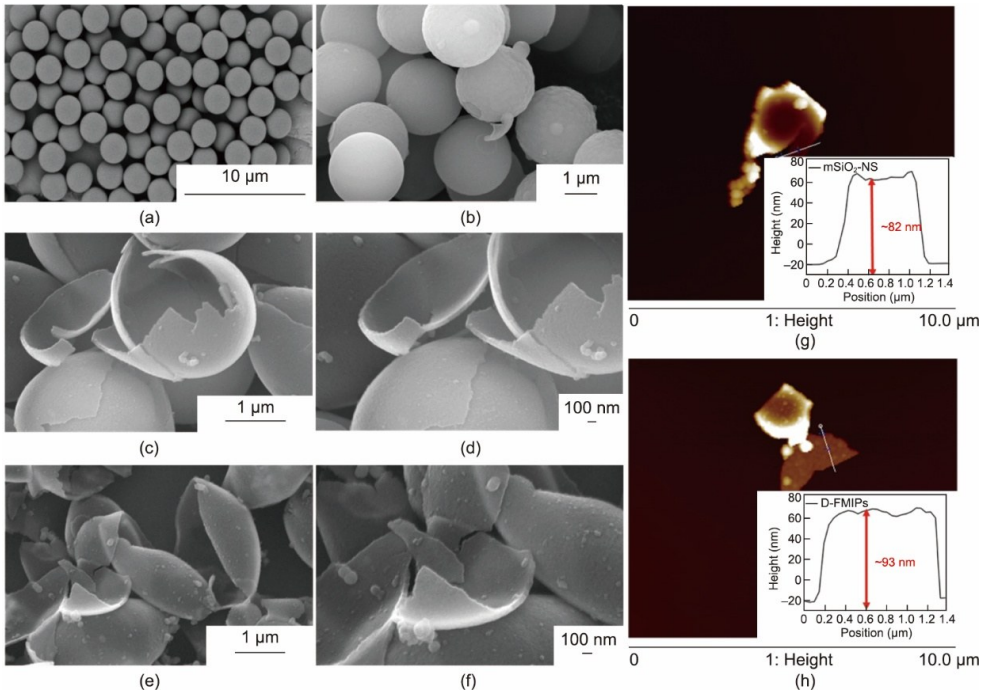

图3. （a）~（f）PS微球（a）、PS/SiO_2微球（b）、$mSiO_2$-NS [（c）、（d）]和D-FMIPs [（e）、（f）]的SEM图片；（g）、（h）$mSiO_2$-NS（g）和D-FMIPs（h）的AFM图及其厚度分布。

分析如附录A中的图S7所示，1072 cm^{-1}和700 cm^{-1}处两个吸收峰可归因于$mSiO_2$-NS的Si–O–Si和C–Cl键伸缩振动，2957 cm^{-1}的特征峰来源于CPTES的C–H伸缩振动[37]。在$mSiO_2$-NS上接枝印迹聚合物后，在3440 cm^{-1}处出现了–OH和N–H伸缩振动的宽峰，1670 cm^{-1}处的特征峰是C=O伸缩振动引起的。同时，2957 cm^{-1}为聚合物上–CH_2和–CH_3的C–H的伸缩振动，表明D-FMIPs在纳米片基质表面接枝了印迹聚合物。

此外，D-FMIPs和D-PMIPs在1380 cm^{-1}处出现修饰的–B（OH）$_2$特征峰，表明硼酸基团被成功修饰[38]。理论上，D-FMIPs应在2600~2500 cm^{-1}处有巯基新吸收峰，同时D-PMIPs应在550~430 cm^{-1}处有双硫键的新峰。但是，

表1 不同体积（0.1~0.56 mL）的CPTES制备的$mSiO_2$-NS的性质

V_{TEOS}:V_{CPTES}[a]	BET surface area ($m^2 \cdot g^{-1}$)	Average pore diameter (Å)	Pore volume ($cm^3 \cdot g^{-1}$)	Cl mass (%)	Water contact angle (°)
0.3:0.1	766.0	23.89	0.150	0.12	110
0.3:0.15	498.7	26.92	0.140	0.13	111
0.3:0.2	362.8	26.92	0.102	0.27	123
0.3:0.25	184.7	33.52	0.052	0.29	126
0.3:0.3	182.6	37.13	0.055	0.58	125
0.3:0.56	68.71	46.56	0.018	0.64	128

[a] V_{TEOS} and V_{CPTES} are the volume of TEOS and CPTES with unit of mL, respectively.

500 cm^{-1}为指纹峰区，且巯基的强度也很弱，所以在FT-IR上的峰并不清晰。因此，本工作结合$mSiO_2$-NS、D-FMIPs和D-PMIPs的有机元素分析进一步分析印迹过程（表2）。在$mSiO_2$-NS接枝印迹聚合物形成D-FMIPs后，N元素含量从0增加到1.433%，这主要是由于在印迹过程中功能单体PBA-FM2和交联剂MBAA中均含有N元素。经印迹后修饰，D-PMIPs的N元素增加到5.956%，也进一步证明PIM过程中DS-FM3嘧啶官能团的引入。同时，S含量的变化也表明印迹空腔内巯基和双硫键的存在[39]。

表2 $mSiO_2$-NS、D-FMIPs和D-PMIPs的有机元素分析

Sorbents	*m* (mg)	Element content (%)			
		N	C	H	S
$mSiO_2$-NS	2.376	0	20.85	3.658	0
D-FMIPs	2.487	1.433	19.67	3.474	0.318
D-PMIPs	2.393	5.956	17.98	3.294	0.258

m: the mass of the sample taken for organic element analysis.

$mSiO_2$-NS、D-FMIPs-AMP（未洗脱AMP的D-FMIPs）、D-FMIPs和D-PMIPs的XPS谱图如附录A中的图S8（a）所示。从图中可以发现，接枝MIPs后的材料具有C 1s、N 1s、O 1s、B 1s和S 2p的特征峰。D-PMIPs的C 1s XPS高分辨率谱图中[图S8（b）]，存在C–S（284.04 eV）、C–C（285.79 eV）、C–B（284. 66 eV）、C–N（285.45 eV）、C–O（286.65 eV）、C–H（287.01 eV）和C=O（288.05 eV）峰，分别对应于功能单体和交联剂的化学键。同时，拟合D-PMIPs的N 1s高分辨率谱图[图S8（c）]，可以发现功能单体DS-FM3和PBA-FM2的特征峰，即–N–C=O（401.37 eV）、N–C_3（400.41 eV）、C–N–C（399.53 eV）和B–O–C（530.80 eV），这也表明印迹聚合物中硼酸官能团的存在[图S8（d）]。

为了进一步研究去除AMP前后D-PMIPs表面的化学变化，分析了D-FMIPs-AMP和D-PMIPs的B 1s和S 2p高分辨率谱图。当洗脱去除AMP后，由于电负性的增加，洗脱前的B–O–C（198.02 eV）的特征峰迁移到199.79 eV（B–O–H）[图S8（e）、（f）]。利用TCEP还原双硫键，双硫键官能团转变为巯基，D-FMIPs-AMP的S–S（161.73 eV）峰位移低于D-FMIPs的S–H（174.35 eV）[图S8（g）]。当功能单体DS-FM3通过双硫键交换反应接枝到识别位点上时，D-PMIPs的S 2p特征峰被氧化为S–S（162.07 eV）[图S8（h）、（i）]。此外，从XPS的原子百分比得到了N、S和B的含量（表3）。D-FMIPs-AMP的S含量为1.73%，去除模板分子后，辨别位点中双硫键和巯基发生交换，D-FMIPs的S含量下降到0.9%。印迹后修饰过程中修饰了双硫键[9,40]，D-PMIPs的S含量增加到1.4% [41]。这一结论与有机元素分析一致，进一步说明成功制备了具有丰富硼酸官能团和巯基的D-FMIPs，以及具有双硫键和嘧啶官能团的D-PMIPs。

表3 XPS分析得到的$mSiO_2$-NS、D-FMIPs-AMP、D-FMIPs和D-PMIPs的主要元素含量

Sorbents	Atomic percent (%)					
	C 1s	N 1s	O 1s	Cl 2p	S 2p	B 1s
$mSiO_2$-NS	44.76	1.10	47.32	6.83	0	0
D-FMIPs-AMP	43.95	4.33	42.71	4.51	1.73	2.77
D-FMIPs	48.72	5.17	40.76	3.58	0.90	0.86
D-PMIPs	51.83	6.09	35.27	4.00	1.40	1.41

为了确定硼酸官能团被成功修饰，本工作在不同pH条件下，利用含有顺式邻二羟基的染料茜素红S对D-PMIPs进行染色，利用荧光显微镜进行了表征分析，结果如图4所示。当茜素红S标记的D-PMIPs在碱性环境[图4（a）]和中性环境[图4（b）]下，视野中可以发现其为斑点状的绿色荧光，但在酸性条件下几乎没有检测到荧光[图4（c）]。再利用酸性溶液（pH=3.3）洗涤碱性和中性条件下茜素红S标记的D-PMIPs后，荧光强度明显减弱[图4（d）~（f）]。表明含硼酸的功能单体PBA-FM2在D-PMIPs表面成功修饰，并表现出了典型pH响应性的硼亲和作用，可实现目标分子AMP可逆的吸附和脱附过程。此外，PBA-FM2的pK_a值为7.2，所以吸附剂D-PMIPs在生理活性环境下对AMP具有良好的亲和力[42–43]。

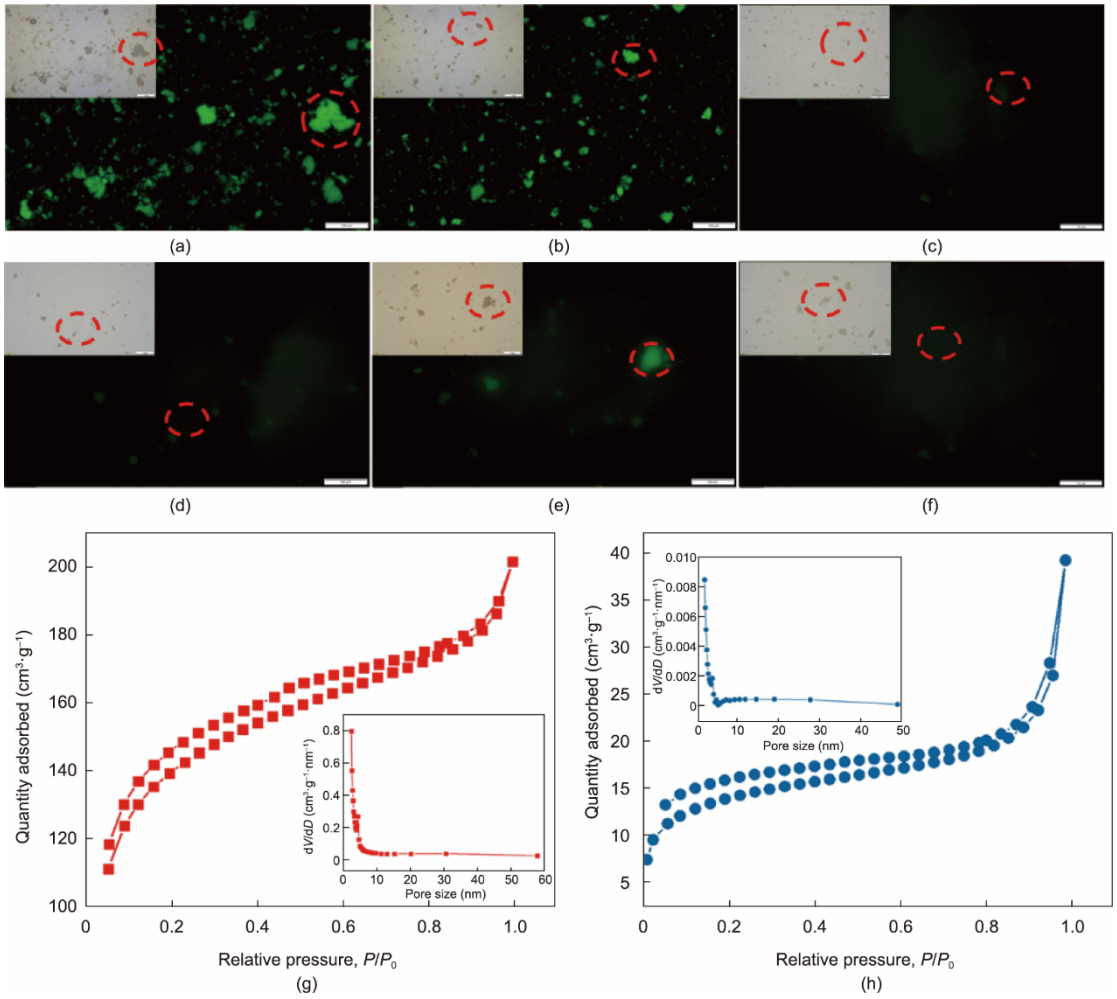

图4. （a）~（f）不同pH值溶液处理经ARS标识的D-PMIPs：pH=9.0（a）、pH=7.4（b）、pH=3.3（c）的明场和荧光显微镜图，（d）~（f）三种pH值下处理的D-PMIPs再次用pH=3.3的溶液洗涤，比例尺为200 μm。（g）、（h）mSiO2-NS（g）和D-PMIPs（h）的BET分析，P/P_0是BET测试期间的相对压力值。

同时，氮气吸附-脱附等温线分析[图4（g）、（h）]。发现了典型的IV型曲线，并伴有H3型滞后环，$mSiO_2$-NS和D-PMIPs具有介孔结构，比表面积S_{BET}分别为498.73 $m^2·g^{-1}$和46.12 $m^2·g^{-1}$，孔径为26.92 Å和95.09 Å，表明MIPs在$mSiO_2$-NS表面成功修饰，且由于在$mSiO_2$-NS表面印迹聚合物形成粗糙的微结构，相邻颗粒之间的分布使D-PMIPs孔径增加。综上，证明本工作成功制备D-PMIPs吸附剂[44–45]。

3.3. D-PMIPs对AMP的吸附动力学性能

如图5（a）所示，五种吸附剂对AMP的吸附速率在2.0 h前相对较快，然后逐渐接近平衡。其中，D-PMIPs对AMP的吸附效果相较于其他四种吸附剂最高，证明印迹识别位点内的双共价受体具有很强的亲和力。D-PMIPs对AMP的总吸附量为14.57 $\mu mol·g^{-1}$（大于S-BMIPs的5.658 $\mu mol·g^{-1}$和S-PMIPs的6.845 $\mu mol·g^{-1}$），这表明硼亲和作用及嘧啶碱作用对AMP的辨识具有协同效应。

同时，$mSiO_2$-NS、D-PMIPs、D-PNIPs、S-BMIPs和S-PMIPs的吸附动力学数据利用准一级和准二级动力学模型、Elovich模型、粒子内扩散模型和Boyd模型（附录A中的表S1）进行拟合[124]，结果如图5所示，相关的速率常数和线性回归值列于表4和表5。对于D-PMIPs、D-PNIPs、S-BMIPs和S-PMIPs，准二级动力学模型拟合的R^2值均高于其他几种模型，计算得到的平衡吸附量Q_e（$\mu mol·g^{-1}$）更接近实验所测值，证明准二级动力学模型可以更好地描述动力学吸附过程[图5（a）和表4]，与上述结论一致。然而，$mSiO_2$-NS准一级动力学方程拟合的R^2值更高，且计算出的Q_e（$\mu mol·g^{-1}$）更接近实验所测值，表明准一级模型可以更好地描述$mSiO_2$-NS的动力学吸附过程[图5（a）和表4]，因此，$mSiO_2$-NS的吸附机制为物理吸附，而硼亲和作用和印迹后修饰嘧啶官能团的化学吸附是D-PMIPs、D-PNIPs、S-BMIPs和S-PMIPs对AMP的主要吸附作用。

Elovich模型的拟合数据总结在表5和图5（b）中，可以发现几种吸附剂拟合的R^2均大于0.95，表明吸附剂具

表4 两个速率方程的吸附速率常数和线性回归值

Sorbents	$Q_{e,e}$ (μmol·g^{-1})	Pseudo-first-order kinetic model			Pseudo-second-order kinetic model				
		$Q_{e,c}$ (μmol·g^{-1})	k_1 (h^{-1})	R^2	$Q_{e,c}$ (μmol·g^{-1})	k_2 (g·μmol^{-1}·h^{-1})	R^2	h (μmol·g^{-1}·h^{-1})	$t_{1/2}$ (h)
mSiO$_2$-NS	4.386	4.143	1.483	0.976	3.826	4.301	0.823	62.960	0.061
D-PNIPs	5.319	4.997	0.940	0.991	5.561	0.213	0.999	6.587	0.844
D-PMIPs	14.57	13.270	0.829	0.990	15.740	0.058	0.992	14.370	1.095
S-BMIPs	5.658	5.209	1.148	0.968	6.119	0.218	0.983	8.162	0.750
S-PMIPs	6.845	6.548	0.842	0.955	7.184	0.145	0.991	7.483	0.960

The definitions of k_1, k_2, h, and $t_{1/2}$ are shown in Appendix A.

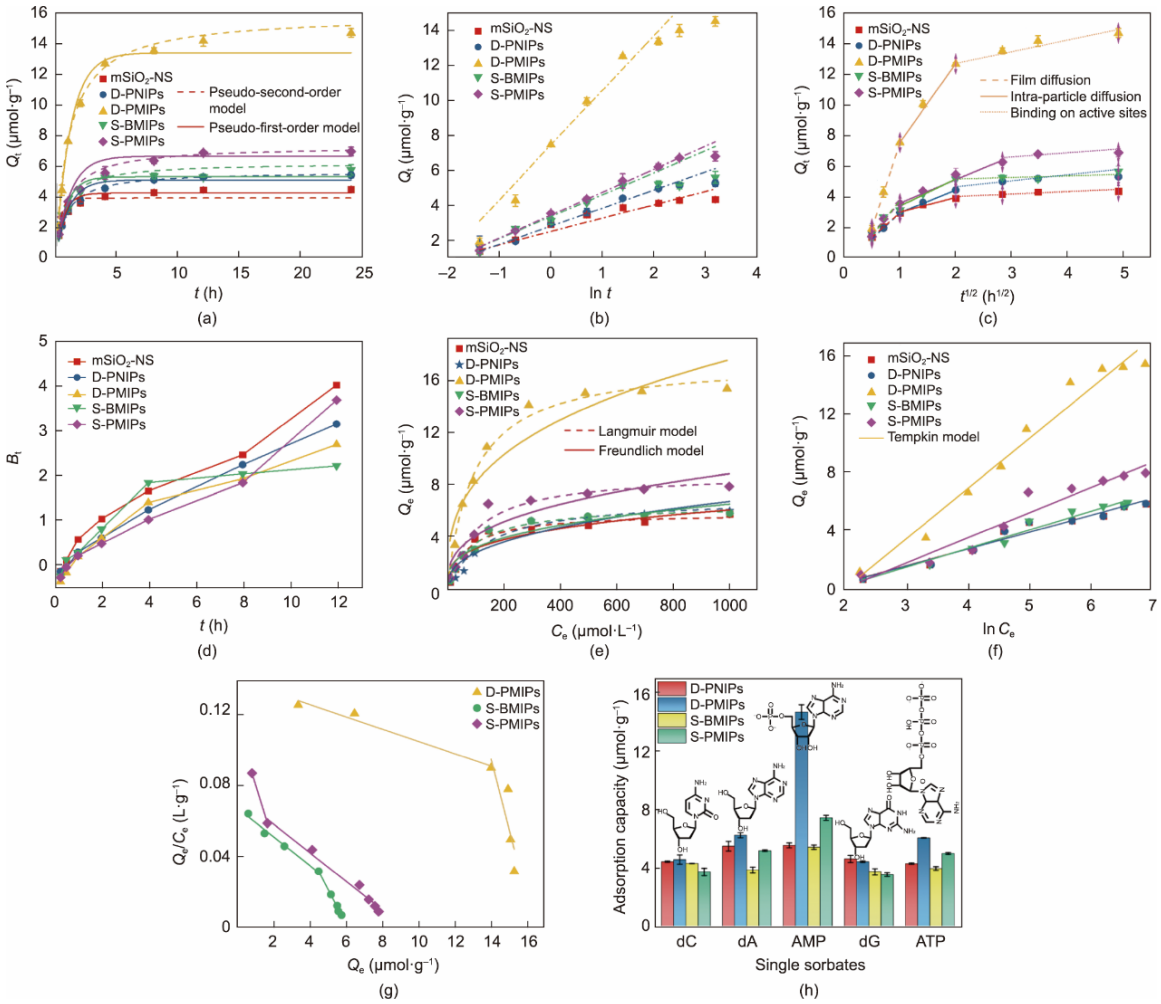

图5. （a）AMP的非线性动力学模型拟合曲线；（b）Elovich方程拟合的曲线；（c）AMP在五种吸附剂上的颗粒内扩散；（d）AMP在五种吸附剂上的Boyd分析；（e）、（f）Langmuir和Freundlich模型（e）和Tempkin模型（f）对mSiO$_2$-NS、D-FMIPs、D-PNIPs、D-FMIPs和D-PMIPs吸附AMP等温线数据拟合结果；（g）Scatchard分析；（h）mSiO$_2$-NS、D-FMIPs、D-PNIPs、D-FMIPs和D-PMIPs对dC、dG、AMP、dA和ATP的选择性分析。Q_t、t、B_t、$t^{1/2}$、Q_e和C_e的定义见附录A。

有较多的AMP辨识位点[46]。从Q_t和$t^{1/2}$之间的斜率计算AMP在五种吸附剂上的颗粒内扩散系数[图5（c）]，可以观察到主要有三个线性区域，斜率值表明粒子内扩散不是速率控制步骤，膜扩散控制了初始吸附速率。D-PMIPs的k_{id1}为11.05 g·μmol^{-1}·h$^{-1/2}$），因此，膜扩散过程达到了约65%的饱和度[47]。同时，为了进一步确定速率控制步骤是膜扩散还是颗粒内扩散，本工作进行了Boyd拟合，在图5（d）中，可以发现B_t对t的拟合结果是线性的，且没有经过原点，证明膜扩散是速率控制步骤[48]。

3.4. D-PMIPs对AMP的吸附平衡研究

如图5（e）总结了mSiO$_2$-NS、D-PNIPs、D-PMIPs、S-BMIPs和S-PMIPs在25 ℃（pH=7.4）条件下的吸附等温线，吸附量随着初始AMP浓度的增加而增加，直至达到

表5 用Elovich模型和颗粒内扩散模型拟合的相关参数及系数

Sorbents	Elovich model				Intra-particle diffusion model				
	a (μmol·g^{-1}·h^{-1})	b (μmol·g^{-1})	R^2	k_{id1} (g·μmo^{-1}·h$^{-1/2}$)	k_{id2} (g·μmol^{-1}·h$^{-1/2}$)	k_{id3} (g·μmol^{-1}·h$^{-1/2}$)	R^2_{id1}	R^2_{id2}	R^2_{id3}
mSiO$_2$-NS	21.31	1.302	0.969	3.162	0.962	0.160	0.999	0.927	0.741
D-PNIPs	16.20	0.962	0.990	3.382	1.470	0.387	0.997	0.999	0.715
D-PMIPs	34.35	0.319	0.952	11.05	5.090	0.753	0.999	0.998	0.941
S-BMIPs	18.76	0.794	0.957	4.539	1.737	0.102	0.847	0.980	0.664
S-PMIPs	18.68	0.760	0.993	4.015	1.508	0.271	0.953	0.979	0.448

The definitions of all the symbols are shown in Appendix A.

吸附平衡。由图可知，虽然D-PMIPs平衡时间不是最短的，但对AMP的吸附性能很强，这可能与印迹位点的化学吸附有关。

同时，本工作通过吸附等温线模型分析吸附平衡数据和吸附特性研究，AMP和吸附剂的相互作用机制[49]。利用Langmuir、Freundlich和Temkin等温吸附模型进行了拟合（附录A中的表S2）[50–51]。由图5（e）、（f）可以发现，相较于Freundlich模型（R^2=0.845、0.843、0.875、0.873和0.843）和Temkin模型（R^2=0.951、0.951、0.966、0.964和0.920），Langmuir模型更适合描述吸附等温线（R^2=0.967、0.944、0.989、0.982和0.955），可以认为AMP在五种吸附剂上为单层吸附。根据表6可知，D-PMIPs的最大吸附量Q_m为17.47 μmol·g^{-1}，高于mSiO$_2$-NS（5.806 μmol·g^{-1}）、D-PNIPs（6.972 μmol·g^{-1}）、S-BMIPs（6.402 μmol·g^{-1}）和S-PMIPs（8.844 μmol·g^{-1}），证明硼亲和作用和印迹后修饰的嘧啶碱基的协同作用是印迹位点对AMP的主要结合机制。

S-BMIPs和S-PMIPs具有硼亲和或嘧啶碱的单一吸附作用力，所以吸附量相对较低。D-PNIPs缺乏模板分子，没有形成印迹识别位点，吸附量较低。同时，mSiO$_2$-NS没有被功能化修饰，只能通过物理作用（如静电效应）进行吸附，吸附量最低。因此，基质表面印迹后修饰的双受体作用具有强化目标分子AMP选择性辨别的效果。此外，根据Langmuir模型计算五种吸附剂的分离因子R_L（表S2），其值均在0~1之间（R_L=0.100、0.125、0.083、0.077、0.091），证明该吸附体系有利于对目标分子AMP的选择性吸附。此外，有序印迹后修饰吸附剂的R_L小于非印迹或基质材料吸附剂的R_L，进一步证明印迹吸附剂具有强亲和作用。

本工作根据Scatchard方程（表S2）对吸附平衡的数据进行了分析，相关结论如图5（g）和表7所示，五种吸附剂均得到了两条直线，具有两类结合位点（即高亲和辨识位点及非特异的低亲和位点）[52]。其中，D-PMIPs的高亲和力辨识位点N_{max}为39.99 μmol·g^{-1}，约为总位点的70.9%。D-PMIPs的总位点N_{max}值（56.40 μmol·g^{-1}）是S-BMIPs（14.27 μmol·g^{-1}）的3.953倍、S-PMIPs（13.25 μmol·g^{-1}）的4.258倍，这与Langmuir拟合结果一致。同时，D-PMIPs对高亲和力结合位点的K_a值为284.9 μmol·L^{-1}，明显高于S-BMIPs和S-PMIPs。上述结果表明在基质表面进行双受体印迹后修饰作用可以显著提高结合位点的作用力，增强D-PMIPs对AMP的辨别效果。

3.5. D-PMIPs的选择性吸附和再生性能

选择性吸附性能是衡量吸附剂可用性的关键指标，本研究选取了目标分子AMP的四种结构类似物（即ATP、dA、dG和dC）作为选择性吸附分子。如图5（h）所示，吸附量遵循D-PMIPs>S-PMIPs>D-PNIPs>S-BMIPs的顺序。对不同核苷酸分子的分析结果可归纳如下。

（1）D-PMIPs对AMP的吸附量（14.76 μmol·g^{-1}）显著高于dC（4.628 μmol·g^{-1}）、dG（4.486 μmol·g^{-1}）、dA（6.308 μmol·g^{-1}）和ATP（6.121 μmol·g^{-1}）。这主要归因于D-PMIPs既无法与四种结构类似物形成互补嘧啶碱基配对，

表6 五种吸附剂对AMP的吸附等温线参数和相关系数

Sorbents	Langmuir isotherm equations				Freundlich isotherm equations			Tempkin		
	Q_m (μmol·g^{-1})	K_L (L·μg^{-1})	R_L	R^2	K_F (μmol·g^{-1})(L·μmol^{-1})$^{1/n}$	$1/n$	R^2	K_T(L·g^{-1})	f	R^2
mSiO$_2$-NS	5.806	0.009	0.100	0.967	0.794	0.294	0.845	1.146	0.180	0.951
D-PNIPs	6.972	0.007	0.125	0.944	0.461	0.387	0.843	1.150	0.177	0.951
D-PMIPs	17.47	0.011	0.083	0.989	1.743	0.335	0.875	3.412	0.136	0.966
S-BMIPs	6.402	0.012	0.077	0.982	0.730	0.316	0.873	1.266	0.149	0.964
S-PMIPs	8.844	0.010	0.091	0.955	0.857	0.337	0.843	1.711	0.133	0.920

The definitions of K_L, K_F, K_T, n, and f are shown in Appendix A.

表7 印迹吸附剂的Scatchard分析

Sorbents	High-affinity binding sites		Low-affinity binding sites	
	K_a (μmol·L^{-1})	N_{max} (μmol·g^{-1})	K_a (μmol·L^{-1})	N_{max} (μmol·g^{-1})
D-PMIPs	284.9	39.990	24.86	16.410
S-BMIPs	122.7	8.212	50.08	6.055
S-PMIPs	123.3	9.134	29.97	4.112

也无法与其产生硼酸盐亲和作用。由于dC和dG的功能碱基分别是胞嘧啶和鸟嘌呤[53]；尽管dA和ATP都具有与AMP相同的腺嘌呤官能团，但其相对大小和形状与印迹识别位点不匹配[19]。S-PMIPs对AMP（7.499 μmol·g^{-1}）、dA（5.241 μmol·g^{-1}）和ATP（5.047 μmol·g^{-1}）的吸附量高于dC（3.770 μmol·g^{-1}）和dG（3.589 μmol·g^{-1}），这是由于印迹识别位点中的PIMs可形成尿嘧啶碱基。而S-BMIPs因缺乏顺式二羟基结构，对dA、dC和dG均呈现较低吸附量。

（2）D-PMIPs对dC、dG、AMP、dA和ATP的印迹因子（IF）分别为1.031、0.959、2.634、1.136和1.408（表8），附录A中的表S4总结了现有研究关于核苷类化合物印迹吸附剂中的IF结果，根据对比可以看出，本研究中AMP的IF明显高于先前报道的研究结果，表明D-PMIPs对AMP具有很好的选择性。

表8 D-PMIPs和D-PNIPs的选择性吸附常数

Comparative compound	IF	D-PMIPs		D-PNIPs		k'
		$k_d \times 10^{-3}$ (L·g^{-1})	$\alpha_{AMP/X}$	$k_d \times 10^{-3}$ (L·g^{-1})	$\alpha_{AMP/X}$	
dC	1.031	6.655	3.238	6.452	1.251	2.587
dG	0.959	6.450	3.340	6.727	1.200	2.783
AMP	2.634	21.550	—	8.073	—	—
dA	1.136	9.093	2.369	7.996	1.010	2.347
ATP	1.408	8.821	2.442	6.248	1.292	1.890

$\alpha_{AMP/X}$ is defined in Appendix A.

（3）D-PMIPs对AMP的k_d值为2.155×10^{-2} L·g^{-1}，较其他分子（dC、dG、dA和ATP）高一个数量级，且D-PMIPs对四种结构类似物的k'值均大于1.8。其选择性识别遵循AMP > dA > ATP > dC > dG的顺序。值得注意的是，四种吸附剂对AMP的k_d×10^{-3}值遵循D-PMIPs > S-PMIPs > D-PNIPs > S-BMIPs的顺序，进一步证明双受体印迹后修饰策略构建的印迹后修饰识别位点对AMP的选择性辨识具有重要作用。

为了测试D-PMIPs的再生性能，本工作使用盐酸溶液（pH=3.3）作为洗脱液进行了D-PMIPs的再生实验，以破坏硼酸盐亲和力及印迹识别位点与AMP之间的嘧啶碱基相互作用。本工作开展了6次连续的吸附-脱附循环实验[54]。再生循环中AMP的吸附量如附录A中的图S9（a）所示。经过6次再生循环后，D-PMIPs的表面仍然粗糙，与第一次合成的D-PMIPs的形貌相同，且经过6次再生循环后，D-PMIPs对AMP的吸附量为第一个循环的80%[图S9（b）]，轻微的损失可能是由于6个再生循环后少量的印迹位点损坏或AMP分子没有从位点上彻底洗脱。

3.6. D-PMIPs对实际样品（核苷类药物和血清）的吸附性能

为了验证D-PMIPs在实际应用中的可行性，本工作采用采用加标法进行实际样品分析[55]。AMP是小牛血清去蛋白注射液中的活性成分之一，从HPLC [附录A中的图S10（a）]分析中可以发现，在小牛血清去蛋白注射液样品中检测到少量的AMP，峰面积约为77 mA.U.，出现在4.0 min，吸附AMP前后HPLC结果的峰面积符合加标样品>mSiO$_2$-NS吸附后的样品>D-PNIPs吸附后的样品>S-BMIPs吸附后的样品>S-PMIPs吸附后的样品>D-PMIPs吸附后的样品>小牛血清去蛋白注射液样品的顺序。通过计算，加标的小牛血清去蛋白注射液样品中，至少有52.70%的AMP可以被D-PMIPs选择性地分离。同时，由于血清中存在核苷类化合物，本工作中使用了几种吸附剂对加标血清进行吸附，由HPLC结果（图S10）可知，峰面积变化的顺序与加标的小牛血清去蛋白注射液样品相同。综上，D-PMIPs是选择性捕获AMP的一种极为有效的解决方案，为从核苷类药物或复杂生物样品中富集核苷化合物提供了一种有效的方法。所提出的PIMs和双共价受体是开发具有高选择性的印迹吸附剂的可靠策略，可实现印迹位点的精准构筑。

4. 结论

本工作在介孔mSiO$_2$-NS纳米片表面结合双共价受体和PIMs制备了一种新型吸附材料D-PMIPs，用于特异性识别分离AMP。D-PMIPs具有三个显著优点：首先，mSiO$_2$-NS的表面印迹可进行有效洗脱，显著增加高活性识别位点的数量；其次，通过带有双硫键的DS-FM1和生理活性硼酸功能单体PBA-FM2，共价组装固定模板分子AMP的空间取向和排列；再次，PIMs利用双硫键-巯基的交换反应，在印迹识别位点修饰亲和性更强的嘧啶官能团，增强识别位点的有效性。通过该策略制备的mSiO$_2$-NS纳米片具有高比表面积（498.73 m^2·g^{-1}），得到的D-PMIPs具有丰富的识别活性位点，其吸附量达17.47 μmol·g^{-1}，对AMP具有较好的辨识活性，为高选择性吸附分离生物中的AMP提供了新思路。因此，基于可控工程化的思路，本工作为开发高辨识印迹吸附剂提供了新的想法。

致谢

本研究得到国家自然科学基金项目（22078132、22108103和U22A20413）、国家生物化工重点实验室开放基金项目（2021KF-02）、中国博士后科学基金（2021M691301）、江苏省重点研发计划（BE2022356）、中国博士后科学基金（CPSF）博士后资助项目（GZ20230989）以及江苏省农业自主创新基金项目[CX（21）3079]的支持。

Compliance with ethics guidelines

Pan Wang, Tao Cheng, Zhuangxin Wei, Lu Liu, Yue Wang, Xiaohua Tian, and Jianming Pan declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.eng.2024.11.015.

References

[1] Mintz Hemed N, Leal-Ortiz S, Zhao ET, Melosh NA. On-demand, reversible, ultrasensitive polymer membrane based on molecular imprinting polymer. ACS Nano 2023;17(6):5632–43.
[2] Gong X, Tang B, Liu JJ, You XY, Gu J, Deng JY, et al. Synthesis of adenosineimprinted microspheres for the recognition of ADP-ribosylated proteins. Biosens Bioelectron 2017;87:858–64.
[3] Mier A, Maffucci I, Merlier F, Prost E, Montagna V, Ruiz-Esparza GU, et al. Molecularly imprinted polymer nanogels for protein recognition: direct proof of specific binding sites by solution STD and WaterLOGSY NMR spectroscopies. Angew Chem 2021;60(38):20849–57.
[4] Zhang GY, Jiang LY, Zhou JT, Hu LH, Feng SH. Epitope-imprinted mesoporous silica nanoparticles for specific recognition of tyrosine phosphorylation. Chem Commun 2019;55(67):9927–30.
[5] Pan JM, Chen W, Ma Y, Pan GQ. Molecularly imprinted polymers as receptor mimics for selective cell recognition. Chem Soc Rev 2018;47(15):5574–87.
[6] Chen LX, Wang XY, Lu WH, Wu XQ, Li JH. Molecular imprinting: perspectives and applications. Chem Soc Rev 2016;45(8):2137–211.
[7] Jiang WT, Liu L, Chen Y. Simultaneous detection of human C-terminal p53 isoforms by single template molecularly imprinted polymers (MIPs) coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) -based targeted proteomics. Anal Chem 2018;90(5):3058–66.
[8] Zhang Y, Xie Y, Shi HZ, Wu ZJ, Zhang CG, Feng S. Facile way to prepare a porous molecular imprinting lock for specifically recognizing oxytetracyclin based on coordination. Anal Chem 2021;93(10):4536–41.
[9] Wang P, Liu JX, Ma Y, Tian XH, Li YZ, Niu XH, et al. Sequential assembly enabled surface precise imprinting on Janus nanosheets for highly specific separation of adenosine 5 -monophosphate. Chem Eng J 2022;432:134349.
[10] Wang YF, Wang YG, Ouyang XK, Yang LY. Surface-imprinted magnetic carboxylated cellulose nanocrystals for the highly selective extraction of six fluoroquinolones from egg samples. ACS Appl Mater Interfaces 2017;9(2):1759–69.
[11] Chen Y, Li XL, Yin D, Li D, Bie Z, Liu Z. Dual-template docking oriented molecular imprinting: a facile strategy for highly efficient imprinting within mesoporous materials. Chem Commun 2015;51(54):10929–32.
[12] Yuan QB, Zhang DN, Yu PF, Sun RN, Javed H, Wu G, et al. Selective adsorption and photocatalytic degradation of extracellular antibiotic resistance genes by molecularly-imprinted graphitic carbon nitride. Environ Sci Technol 2020;54(7):4621–30.
[13] Ogunshola F, Anmole G, Miller RL, Goering E, Nkosi T, Muema D, et al. Dual HLA B*42 and B*81-reactive T cell receptors recognize more diverse HIV-1 Gag escape variants. Nat Commun 2018;9(1):5023.
[14] Slavkovic S, Zhu Y, Churcher ZR, Shoara AA, Johnson AE, Johnson PE. Thermodynamic analysis of cooperative ligand binding by the ATP-binding DNA aptamer indicates a population-shift binding mechanism. Sci Rep 2020;10(1):18944.
[15] Zhang D, Gao ZG, Zhang K, Kiselev E, Crane S, Wang J, et al. Two disparate ligand-binding sites in the human P_2Y_1 receptor. Nature 2015;520(7547):317–21.
[16] Pfreundschuh M, Alsteens D, Wieneke R, Zhang C, Coughlin SR, Tampé R, et al. Identifying and quantifying two ligand-binding sites while imaging native human membrane receptors by AFM. Nat Commun 2015;6(1):8857.
[17] Shinde S, Incel A, Mansour M, Olsson GD, Nicholls IA, Esen C, et al. Urea-based imprinted polymer hosts with switchable anion preference. J Am Chem Soc 2020;142(26):11404–16.
[18] Koide H, Yoshimatsu K, Hoshino Y, Lee SH, Okajima A, Ariizumi S, et al. A polymer nanoparticle with engineered affinity for a vascular endothelial growth factor (VEGF165). Nat Chem 2017;9(7):715–22.
[19] Li YQ, Zhang ZJ, Liu BW, Liu JW. Incorporation of boronic acid into aptamerbased molecularly imprinted hydrogels for highly specific recognition of adenosine. ACS Appl Bio Mater 2020;3(5):2568–76.
[20] Deng Z, Fang C, Ma X, Li X, Zeng YJ, Peng X. One stone two birds: Zr-Fc metal-organic framework nanosheet for synergistic photothermal and chemodynamic cancer therapy. ACS Appl Mater Interfaces 2020;12(18):20321–30.
[21] Yang XS, Liu TH, Li RM, Yang XX, Lyu M, Fang L, et al. Host-guest molecular interaction enabled separation of large-diameter semiconducting singlewalled carbon nanotubes. J Am Chem Soc 2021;143(27):10120–30.
[22] Albert SK, Lee S, Durai P, Hu X, Jeong B, Park K, et al. Janus nanosheets with face-selective molecular recognition properties from DNA-peptide conjugates. Small 2021;17(12):2006110.
[23] Davis BG. Mimicking posttranslational modifications of proteins. Science 2004; 303(5657):480–2.
[24] Takeuchi T, Mori T, Kuwahara A, Ohta T, Oshita A, Sunayama H, et al. Conjugated-protein mimics with molecularly imprinted reconstructible and transformable regions that are assembled using space-filling prosthetic groups. Angew Chem 2014;126(47):12979–84.
[25] Mori K, Hirase M, Morishige T, Takano E, Sunayama H, Kitayama Y, et al. Polymer-based platform prepared by molecular imprinting and postimprinting modifications for sensing intact exosomes. Angew Chem 2019;131(6):1626-9.
[26] Horikawa R, Sunayama H, Kitayama Y, Takano E, Takeuchi T. A programmable signaling molecular recognition nanocavity prepared by molecular imprinting and post-imprinting modifications. Angew Chem 2016;128(42):13217–21.
[27] Hiratani H, Alvarez-Lorenzo C, Chuang J, Guney O, Grosberg AY, Tanaka T. Effect of reversible cross-linker, *N*,*N*′-bis(acryloyl)cystamine, on calcium ion adsorption by imprinted gels. Langmuir 2001;17(14):4431–6.
[28] Zhao T, Wang JP, He JL, Deng QL, Wang S. One-step post-imprint modification achieve dual-function of glycoprotein fluorescent sensor by “Click Chemistry”. Biosens Bioelectron 2017;91:756–61.
[29] Hao WJ, Chen WJ, Chai MH, Yuan FF, Huang LM, Wei ZH, et al. Microfluidic platform based on site-specific post-imprinting modification of molecularly imprinted monolith with Connizzaro reaction to improve identification of Nmyristoylated peptides. Sens Actuators B 2022;356:131338.
[30] Sunayama H, Ooya T, Takeuchi T. Fluorescent protein-imprinted polymers capable of signal transduction of specific binding events prepared by a sitedirected two-step post-imprinting modification. Chem Commun 2014;50(11):1347–9.
[31] Luo ZC, Liang XQ, He T, Qin X, Li XC, Li YS, et al. Lanthanide-nucleotide coordination nanoparticles for STING activation. J Am Chem Soc 2022; 144(36):16366–77.
[32] Ma X, Li M, Tong P, Zhao C, Li J, Xu G. A strategy for construction of highly sensitive glycosyl imprinted electrochemical sensor based on sandwich-like multiple signal enhancement and determination of neural cell adhesion molecule. Biosens Bioelectron 2020;156:112150.
[33] Yan S, Zou H, Chen S, Xue N, Yang HQ. Janus mesoporous silica nanosheets with perpendicular mesochannels: affording highly accessible reaction interfaces for enhanced biphasic catalysis. Chem Commun 2018;54(74):10455–8.
[34] Liu SC, Liu JX, Pan JM, Luo JQ, Niu XH, Zhang T, et al. Two are better than one: halloysite nanotubes-supported surface imprinted nanoparticles using synergy of metal chelating and low p*K*a boronic acid monomers for highly specific luteolin binding under neutral condition. ACS Appl Mater Interfaces 2017;9(38):33191–202.

[35] Mourão CA, Bokeloh F, Xu J, Prost E, Duma L, Merlier F, et al. Dual-oriented solid-phase molecular imprinting: toward selective artificial receptors for recognition of nucleotides in water. Macromolecules 2017;50(19):7484–90.
[36] Huh S, Wiench JW, Yoo JC, Pruski M, Lin VSY. Organic functionalization and morphology control of mesoporous silicas via a co-condensation synthesis method. Chem Mater 2003;15(22):4247–56.
[37] Liu JX, Wang P, Zhou MD, Ma Y, Niu XH, Pan GQ, et al. Tailored Janus silica nanosheets integrating bispecific artificial receptors for simultaneous adsorption of 2,6-dichlorophenol and Pb(II). J Mater Chem A 2019;7(27):16161–75.
[38] Liu SC, Pan JM, Liu JX, Ma Y, Qiu FX, Mei L, et al. Dynamically PEGylated and borate-coordination-polymer-coated polydopamine nanoparticles for synergetic tumor-targeted, chemo-photothermal combination therapy. Small 2018; 14(13): 1703968.
[39] Wang P, Dai JD, Ma Y, Chen LX, Pan JM. Fabrication and evaluation of aminoethyl benzo-12-crown-4 functionalized polymer brushes adsorbents formed by surface-initiated ATRP based on macroporous polyHIPEs and postsynthetic modification. Chem Eng J 2020;380:122495.
[40] Xu HY, Wang JQ, Yang XH, Ning LP. Magnetically recyclable graphene oxide demulsifier adapting wide pH conditions on detachment of oil in the crude oilin-water emulsion. ACS Appl Mater Interfaces 2021;13(5):6748–57.
[41] Yuan K, Li Y, Huang X, Liang Y, Liu Q, Jiang GB. Templated synthesis of a bifunctional Janus graphene for enhanced enrichment of both organic and inorganic targets. Chem Commun 2019;55(34):4957-60.
[42] Yesilyurt V, Webber MJ, Appel EA, Godwin C, Langer R, Anderson DG. Injectable self-healing glucose-responsive hydrogels with pH-regulated mechanical properties. Adv Mater 2016;28(1):86–91.
[43] Yang WQ, Gao XM, Wang BH. Boronic acid compounds as potential pharmaceutical agents. Med Res Rev 2003;23(3):346–68.
[44] Yang YY, Qiu ZH, Weng GY, Wang HB, Li YS, Fan BH, et al. Synthesis of amphiphilic silica with high exposure of surface groups and its utilization in efficient removal of organic dyes from aqueous solution. Adv Funct Mater 2022;32(2):2106828.
[45] Nguyen HL, Gropp C, Ma Y, Zhu C, Yaghi OM. 3D covalent organic frameworks selectively crystallized through conformational design. J Am Chem Soc 2020;142(48):20335–9.
[46] Dotto GL, de Moura JM, Cadaval TRS, Pinto LAA. Application of chitosan films for the removal of food dyes from aqueous solutions by adsorption. Chem Eng J 2013;214:8–16.
[47] Ahmad MA, Rahman NK. Equilibrium, kinetics and thermodynamic of Remazol Brilliant Orange 3R dye adsorption on coffee husk-based activated carbon. Chem Eng J 2011;170(1):154–61.
[48] Albadarin AB, Mangwandi C, Al-Muhtaseb AH, Walker GM, Allen SJ, Ahmad MNM. Kinetic and thermodynamics of chromium ions adsorption onto lowcost dolomite adsorbent. Chem Eng J 2012;179:193–202.
[49] Al-Ghouti MA, Da'ana DA. Guidelines for the use and interpretation of adsorption isotherm models: a review. J Hazard Mater 2020;393:122383.
[50] Song QQ, Liang JL, Fang Y, Cao CC, Liu ZY, Li LL, et al. Selective adsorption behavior/mechanism of antibiotic contaminants on novel boron nitride bundles. J Hazard Mater 2019;364:654–62.
[51] Gérente C, Andres Y, McKay G, Le Cloirec P. Removal of arsenic(V) onto chitosan: from sorption mechanism explanation to dynamic water treatment process. Chem Eng J 2010;158(3):593–8.
[52] Zhao J, He H, Guo Z, Liu Z. Molecularly imprinted and cladded nanoparticles providebetter phosphorylation recognition. Anal Chem2021;93(48):16194–202.
[53] Zhang ZJ, Liu JW. Molecularly imprinted polymers with DNA aptamer fragments as macromonomers. ACS Appl Mater Interfaces 2016;8(10):6371–8.
[54] Yang XZ, Zhou TZ, Ren BZ, Hursthouse A, Zhang YZ. Removal of Mn(II) by sodium alginate/graphene oxide composite double-network hydrogel beads from aqueous solutions. Sci Rep 2018;8(1):10717.
[55] Guo C, Hu YQ, Cao XJ, Wang YS. HILIC-MS/MS for the determination of methylated adenine nucleosides in human urine. Anal Chem 2021; 93(51): 17060–8.