

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Molekulově imprintované polymery pro analýzu proteinových biomarkerů
pomocí biosenzorů

Markéta Brázdová

Bakalářská práce

2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Markéta Brázdová**
Osobní číslo: **C16222**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Molekulově imprintované polymery pro analýzu proteinových biomarkerů pomocí biosenzorů**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

S využitím dostupných odborných literárních zdrojů vypracujte teoretickou rešerši zabývající se využitím molekulově imprintovaných polymerů v oblasti biosenzorů. V první části popište, co jsou to molekulově imprintované polymery a jak se připravují. Následně uveďte příklady jejich konkrétních aplikací se zaměřením na oblast biosenzorů. V poslední části se zaměřte na využití takových biosenzorů pro analýzu proteinových biomarkerů asociovaných s některými onemocněními.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Odborná literatura týkající se dané problematiky, z většiny ne starší než 7 let.
Vědecké články dostupné v databázích Scopus, Web of science, PubMed,
Scienedirect.**

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlášení

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30.6.2020

.....
Markéta Brázdová

Poděkování

Ráda bych poděkovala RNDr. Lucii Korecké, Ph.D. za její ochotný přístup a poskytnuté odborné rady. Dále bych také chtěla poděkovat mojí rodině, která mi byla po celou dobu studia velkou oporou.

Anotace

V této bakalářské práci jsou v první části shrnuty obecné informace o molekulově imprintovaných polymerech, o jejich přípravě a využití. Dále se zabývá popisem možného spojení těchto imprintovaných polymerů s biosenzory, kde slouží jako receptory, dokáží rozpoznat stanovovaný analyt, a mají proto potenciál v lékařské diagnostice. Poslední část je věnována konkrétním příkladům aplikací těchto biosenzorů pro stanovování proteinových biomarkerů. Jsou zmíněny biosenzory pro stanovení proteinů jako je albumin, lysozym, cytochrom c, kreatinkináza či oxytocin.

Klíčová slova

molekulově imprintované polymery, funkční monomer, templát, polymerizace, biosenzory, proteiny

Title

Molecularly imprinted polymers for the analysis of protein biomarkers using biosensors

Annotation

The first part of this bachelor's thesis summarizes general information about molecularly imprinted polymers, their preparation, and use. It further describes the possibility of connecting these imprinted polymers with biosensors, where they can serve as receptors, recognize the analyte to be determined, and therefore have potential in medical diagnostics. The last part is devoted to concrete examples of applications of these biosensors for the determination of protein biomarkers. Biosensors for the determination of proteins such as albumin, lysozyme, cytochrome c, creatine kinase, and oxytocin are mentioned.

Keywords

molecularly imprinted polymers, functional monomer, template, polymerization, biosensors, proteins

Obsah

0	Úvod.....	12
1	Molekulově imprintované polymery	13
1.1	Složky pro přípravu MIP	15
1.2	Templát	16
1.3	Monomer	18
1.4	Síťovací činidlo	20
1.5	Rozpouštědlo	21
1.6	Přístupy molekulového imprintování	22
1.6.1	Kovalentní imprintování	22
1.6.2	Nekovalentní imprintování	23
1.6.3	Semi-kovalentní imprintování	24
1.7	Metody polymerizace	24
1.7.1	Precipitační polymerizace	25
1.7.2	Suspenzní polymerizace	25
1.7.3	Emulzní polymerizace	26
1.7.4	Bloková polymerizace	27
1.8	Využití MIP	28
1.8.1	Extrakce na pevné fázi	28
1.8.2	Chromatografie	29
1.8.3	Terapeutické aplikace	31
1.8.4	MIP nanočástice	31
1.8.5	MIP jako katalyzátory	33
1.8.6	MIP jako senzory	33
2	Biosenzor	34
2.1	Biosenzory spojené s MIP	35
2.2	Využití MIP biosenzorů pro analýzu biomarkerů	37
2.2.1	Využití MIP biosenzorů pro analýzu proteinových biomarkerů	38
2.2.1.1	Povrchové imprintování	39

2.2.1.2	Epitopové imprintování.....	40
2.2.1.3	Konkrétní aplikace	42
3	Závěr.....	46
4	Zdroje	47

Seznam ilustrací

Obrázek 1 Schéma principu přípravy molekulově imprintovaných polymerů .	14
Obrázek 2 Příklad kovového iontu fungujícího jako konvexní templát	17
Obrázek 3 Příklad enzymu jako konkávního templátu (označen písmenem T)	17
Obrázek 4 Zobrazení lineárního templátu (označen písmenem T)	18
Obrázek 5 Struktura nejběžněji používaných monomerů používaných pro molekulové imprintování	20
Obrázek 6 Struktura nejběžněji používaných síťovacích činidel používaných pro molekulové imprintování	21
Obrázek 7 Schéma blokové polymerizace	28
Obrázek 8 Čtyři kroky metody SPE	30
Obrázek 9 Znázornění různých bioreceptorů	35
Obrázek 10 Biosenzor s MIP	37
Obrázek 11 Schéma epitopového imprintování	42

Seznam zkratk a značek

ADP- adenosindifosfát

APBA- m-aminophenylborová kyselina

ATP- adenosintrifosfát

BSA- hovězí sérový albumin

BSA-MIP- molekulově imprintované polymery potištěné hovězím sérovým albuminem

CK- kreatinkináza

CK-BB- mozkový izoenzym

CK-MB- myokardiální izoenzym

CK-MM- svalový izoenzym

DBP- dibutylftalát

DNA- deoxyribonukleová kyselina

EGDMA- ethylenglykoldimethakrylát

EIS- elektrochemická impedanční spektroskopie

F_{ab}- fragmenty vázající antigen

FDA- Správa potravin a léčiv

Fe₃O₄- magnetit

Gp41- membránový protein viru HIV

HAPLN1- protein 1 vázaný na hyaluronan

HPLC- kapalinová chromatografie

in vivo- za živa

Lys-MIP- molekulově imprintované polymery potištěné lysozymem

MAA- metakrylová kyselina

Mag-MIP- magnetický molekulově imprintovaný polymer

MAH- N-methakryloyl-(1)-histidinemethylester

MIP- molekulově imprintované polymery

MIP-SPE- molekulově imprintované polymery ve spojení s extrakcí na pevné fázi

NIP- neimprintovaný polymer

NNAL- 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-Pyridin)-1-Butanol

PEG400DMA- polyethylen glykol dimethylakrylát

QCM- čip z křemenných krystalů

Qs- konečná rovnovážná absorpční kapacita

PAH- polycyklické aromatické uhlovodíky

RNA- ribonukleová kyselina

SiO₂- oxid křemičitý

SPE- extrakce na pevné fázi

SPR- povrchové plazmonové rezonanční senzory

TRIM- trimethylolpropan trimethylakrylát

TSA- analog přechodného stavu

0 Úvod

Schopnost molekul rozpoznávat jedna druhou a vytvářet přesně definované komplexy tvoří základ řady biologických procesů. Příklady molekulového rozpoznávání v přírodě inspirovaly vědce k tomu, aby navrhli syntetické receptory, které jsou schopné rozpoznávat a vázat požadovanou cílovou molekulu s vysokou afinitou a selektivitou. Takové syntetické materiály jsou snadněji vyrobitelné a zpracovatelné, méně nákladné a stabilnější než biomakromolekuly v nativní formě.

Molekulové imprintování je technika pro navrhování umělých receptorů s předem stanovenou selektivitou a specificitou pro daný analyt. Molekulově imprintované polymery jsou polymerní matrice získané pomocí technologie molekulového imprintování neboli otisku. Jedná se o prvky schopné napodobit přirozené rozpoznávací složky jako jsou protilátky a biologické receptory. Molekulově imprintované polymery se dají využít pro separaci a analýzu komplikovaných vzorků z biologického materiálu, mají své široké využití v klinické analýze, lékařské diagnostice, monitorování životního prostředí a v systémech dodávání léčiv.

V současné době se dostává stále větší pozornosti využití molekulově imprintovaných polymerů za účelem lékařské diagnostiky. Včasná a správná diagnostika nemoci je jedním z klíčových faktorů, jak ovlivnit průběh nemoci nebo terapii. Biologicky citlivé materiály používané v biosenzorech, jako jsou enzymy a hormony, vyžadují správné podmínky prostředí, aby si zachovaly své biologické účinky, což omezuje jejich aplikaci a vývoj. Proto se molekulově imprintované polymery, vzhledem k jejich vysoké specifitě, vysoké odolnosti a nízkým nákladům na výrobu, stávají vhodnými alternativami k běžně používaným složkám biosenzorů (protilátky, enzymy). Tato práce shrnuje informace o biosenzorech založených na molekulově imprintovaných polymerech pro analýzu proteinových biomarkerů.

1 Molekulově imprintované polymery

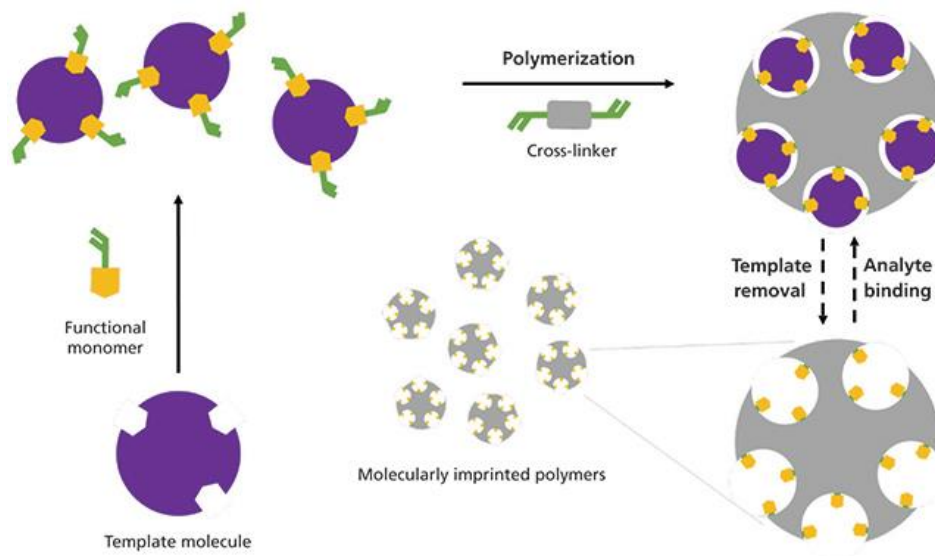
Molekulové imprintování je metoda pro vytvoření selektivních rozpoznávacích míst v syntetických polymerech [1]. Molekulové imprintování je metoda tvorby ligandových selektivních rozpoznávacích míst v syntetických polymerech, kde je použita šablona neboli templát (např. atom, ion, molekula nebo makromolekula). Tato technika zahrnuje polymeraci funkčních monomerů, kdy v přítomnosti templátu při probíhající polymerizaci jsou chemické skupiny funkčních monomerů vtisknuty (imprintovány) do molekuly templátu. Následné odstranění molekul templátu zanechává v molekule navržená místa, která jsou vhodná pro rozpoznávání malých molekul, díky čemuž je materiál ideálně vhodný pro aplikace, jako jsou separace, chemické snímání a katalýza. Vzniklý produkt se nazývá molekulově imprintovaný polymer (MIP), princip přípravy je znázorněn na obrázku 1 [2, 3].

Molekulově imprintované polymery jsou uměle vytvořené receptory vyrobené otiskováním molekul templátu v polymerní matici, následně odstranění templátových molekul důkladným promytím, čímž vznikají tzv. kavity neboli rozpoznávací a vazná místa v molekulově imprintovaných polymerech. Tyto vazná místa vykazují vysokou afinitu k různým typům molekul nebo makromolekul, ale i bakteriím. Struktura MIP závisí na množství a chemických vlastnostech monomeru (aniontový, kationtový, neutrální, amfifilní). MIP jsou chemicky stabilní a pevné, mohou být použité k různým účelům, jako je chromatografie, předpříprava vzorku, jako je čištění, využití jako katalyzátory, senzory aj. [3, 4].

Imunochemické metody, které využívají specifických interakcí mezi protilátkami a antigeny, se běžně používají pro stanovení různých proteinů v biologických vzorcích [5]. Ačkoli protilátky splňují požadavky na specifitu, selektivitu, mají tyto molekuly i některé nedostatky, mohou podléhat chemickým a fyzikálním změnám nebo rozkladu, MIP mohou být vhodnou alternativou. Právě i kvůli tomu roste v posledních letech zájem o tuto metodu a přibývá článků na toto téma, nejvíce se však MIP využívají v bioanalytických oborech [6]. Využívají se také v detekci biologicky aktivních látek tělních tekutin, kvantifikace makromolekulárních sloučenin nebo biomarkerů, asociovaných s určitým onemocněním [7]. Dále mohou být MIP použity jako nástroje pro zlepšení systémů cílené distribuce léčiv. V této oblasti se uplatňují jako spouštěče pro řízené uvolňování terapeutické dávky [8]. Cirillo et al. [9] a Puoci et al. [10] ve svých studiích testovali MIP na selektivní a řízené uvolňování terapeutické látky-antioxidantů α -tokoferolu a kyseliny fytové. MIP vázaly mnohem více α -

tokoferolu a kyseliny fytové a vykazovaly regulovanou/prodlouženou schopnost uvolňování léčiva v simulační gastrointestinální tekutině.

Hlavní výhodou MIP je, že jsou selektivní pro určité molekuly, stejně jako např. protilátky v imunoanalytických metodách. Dále jsou robustní, odolné vůči vysokým teplotám a tlaku, inertní ke kyselinám, zásadám a organickým rozpouštědlům, mají nízké výrobní náklady a jejich příprava je snadná [11].



Obrázek 1 Schéma principu přípravy molekulově imprintovaných polymerů [12].

Historie molekulového imprintování začíná v roce 1931, kdy se poprvé objevily techniky ve spojení s maticemi oxidu křemičitého na silicagelu. V roce 1931 Polyakov [13] zaznamenal neobvyklé adsorpční vlastnosti v částicích oxidu křemičitého. Křemičitan sodný byl polymerizován ve vodě za použití různých rozpouštědel (benzenu, toluenu a xylenu). Tyto rozpouštědla měly vliv na strukturu pórů oxidu křemičitého během sušení nově připraveného oxidu křemičitého. Později Dickey [14] uvedl polymerizaci křemičitanu sodného v přítomnosti čtyř různých barviv (methyl, etyl, n-propyl a n-butyl oranž). Barviva byla následně odstraněna a při pokusech o zpětné navázání bylo zjištěno, že oxid křemičitý takto připravený váže molekulu použitých barviv přednostně než jiných (nových) molekul barviv. V roce 1940 Pauling [15] navrhl proces tvorby přírodních protilátek, který probíhá v přítomnosti specifických antigenů, které fungují jako templatové modely.

Patrikeev et al. [16], poprvé inkubovali bakterie v silikagelu a přišli na to, že výsledný imprintovaný oxid křemičitý umožňuje bakteriální růst podstatně více ve srovnání s kontrolním oxidem křemičitým. V jiné studii vykazuje imprintovaný oxid křemičitý významné zvýšení reakční rychlosti polykondenzační reakce aminokyselin.

Až do časných sedmdesátých let, bylo molekulové imprintování studováno hlavně v anorganických materiálech. Na začátku 70. let byla tato technika poprvé aplikována na organické polymery. Rok 1972 znamenal začátek technologie molekulového imprintování jak ho známe dnes, když laboratoře Wulffa a Klotze nezávisle na sobě objevili přípravu organických polymerů s předem stanovenou selektivitou ligandů. Molekuly templátu, které byly přítomny během polymerizace, nebo jejich deriváty, byly rozpoznávány výsledným molekulárně imprintovaným polymerem (MIP) [17]. Wulff et al. [18] založili použití MIP jako biomimetických katalyzátorů. Syntetizovali velké množství katalyzátorů navržených metodou molekulového imprintování a použili je při různých chemických reakcích. Technologie byla poté zdokonalena Mosbachem et al. [19] v 90. letech 20.století, rozdělili syntetické imprintované polymery do tří skupin; kovalentní, nekovalentní a semi-kovalentní v závislosti na povaze interakce mezi templátem a funkčním monomerem. Kovalentní přístup vede k pozoruhodně dobře definované a homogenní distribuci vazebných míst, zatímco nekovalentní přístup poskytuje heterogenní vazebná místa.

Velký přínos v metodice MIP přinesl také Shea et al.[20], kteří dospěli k rozpoznávání větších proteinových struktur (cytochrom c, hovězí sérový albumin a alkoholdehydrogenáza) pomocí imprintování nonapeptidové sekvence izolované z C-konce proteinů. Nedávno také prokázali použití molekulově imprintovaných polymerů v systému *in vivo*. Imprintované polymery s melitinem (z včelího jedu) vykazovaly afinity v pikomolárním rozmezí a srovnatelné s těmi, kterých bylo dosaženo u protilátek.

1.1 Složky pro přípravu MIP

Jak bylo popsáno výše, základní komponenty pro přípravu MIP jsou templátová molekula, jeden nebo více funkčních monomerů, síťovací činidlo, které napomáhá polymerizaci a rozpouštědlo.

1.2 Templát

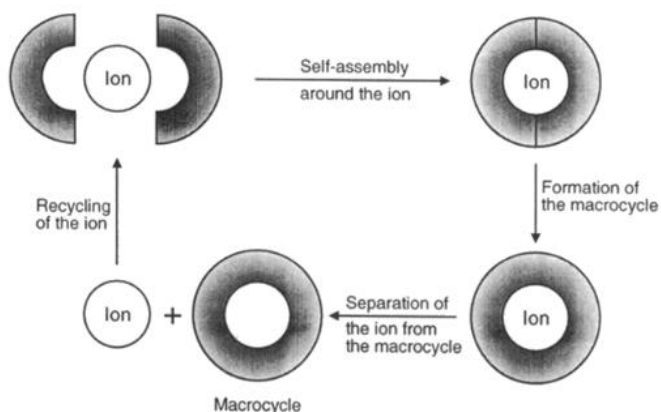
Templát je tzv. stavební šablona neboli molekula pro tvorbu vazebných míst v MIP. Templát určuje vazebná místa pro reaktanty, templát je odpovědný za tvorbu specifického produktu, ale není součástí finálního produktu. Ve většině případů templát není katalyzátorem a musí být přítomen jen v určitém množství, aby docházelo k formování výsledného produktu. Jelikož mezi templátem a substrátem existuje dočasná vazebná interakce, může být templát následně z produktu odstraněn. Tyto dočasné interakce jsou často koordinační vazby, ale také to mohou být vodíkové vazby, van der Waalsovy interakce nebo snadno štěpitelné kovalentní vazby [21]. Jako první templátové molekuly byly využity kationty kovů, které jsou využívány i nyní a slouží ke vzniku míst se speciální architekturou jako jsou rotaxany, katenany a uzly [22–24].

Schopnost MIP rozpoznávat nejen templát, ale také jiné cílové sloučeniny nebo skupiny strukturně příbuzné molekule templátu, je klíčovou aktivitou při vývoji MIP. Existuje několik důvodů pro výběr cílového analogu jako šablony. Pro vývoj MIP by templát měl vykazovat následující charakteristiky: měl by být snadno dostupný ve velkém množství za nízkou cenu, měl by vykazovat rozpustnost odpovídající podmínkám imprintování, a měl by vykazovat vysokou reaktivitu s cílovým analytem (analyty). Výběr templátu je jeden ze stěžejních kroků při přípravě MIP, v analytické chemii se nejvíce využívají různé druhy templátů ze třídy 1,2-aminoalkoholů [25].

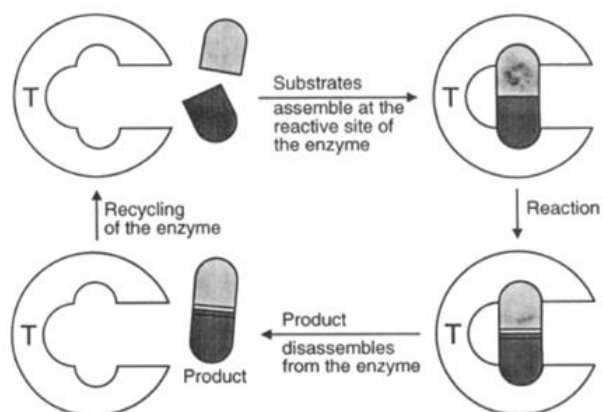
Tvar templátu je důležitý pro prostorovou komplementaritu, a tím pro účinné rozlišení mezi dvěma molekulami [26]. Tento jev byl prokázán ve studii Lepistoa a Sellergrena z roku 1988 [27] metodou molekulového imprintování na základě nekovalentních interakcí, kdy byly získány polymery, které byly schopny selektivně rozlišit amidy karboxylových kyselin, lišící se pouze v jedné methylové skupině, stejně tak i enantiomery. Selektivní rozpoznávání je připisováno rozdílné konformaci templátu, což vede ke vzniku rozpoznávacích míst s různým tvarem. Místa jsou schopna rozpoznat amidovou konformaci původní imprintované molekuly [28]. Templáty, které obsahují více vazebných míst pro monomer poskytují vazebná místa, které udávají vyšší afinitu a specifičnost MIP pro cílovou molekulu [29].

Existují studie zabývající se rozdělením druhů templátů. Percec et al. [30] rozlišuje templáty na endo-templáty a exo-templáty. Dále templáty mohou být rozdělené dle tvaru a velikosti. Tvary mohou být konvexní, konkávní a lineární. Dle velikosti jsou templáty definovány jako sloučenina nebo ion s nízkou molekulovou hmotností, oligomer nebo polymer. Použití

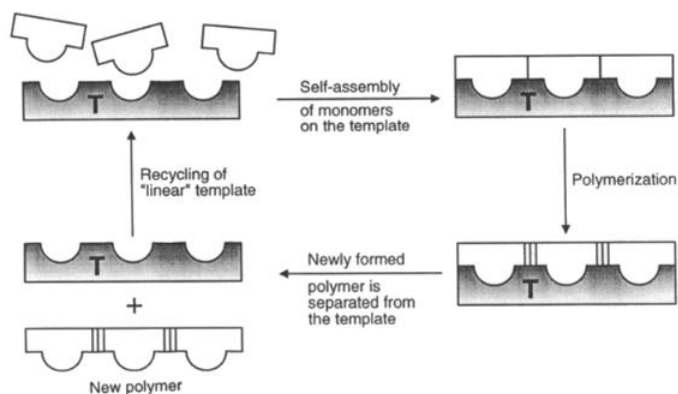
kovového iontu jako templátu je příkladem konvexního templátu (obrázek 2), příkladem konkávního templátu je enzym (obrázek 3), lineární templát je charakterizován použitím syntetické makromolekuly, např. polymerace kyseliny methakrylové vázané na poly4-vinylpyridin (obrázek 4). Templáty mohou být rozděleny také na reaktivní neboli katalytické nebo nereaktivní neboli nekatalytické, aby se rozlišily situace, kdy přítomnost templátu urychluje rychlost probíhajícího chemického procesu a situace, kdy rychlost reakce není ovlivněna [31].



Obrázek 2 Příklad kovového iontu fungujícího jako konvexní templát [31].



Obrázek 3 Příklad enzymu jako konkávního templátu (označen písmenem T) [31].



Obrázek 4 Zobrazení lineárního templátu (označen písmenem T) [31].

Templáty reagují odlišně v různých mobilních fázích. Pro volbu optimálního média je třeba vzít v úvahu faktory související se strukturou templátu, polymerní strukturou a morfologií. Templáty lze rozdělit do tří kategorií: templáty s nízko až středně polární skupinou, templáty obsahující protolytickou funkční skupinu a templáty s hydrofobní skupinou. U nízko až středně polárních templátů se jejich účinek zvyšuje použitím organických rozpouštědel jako vazebných médií, kde templát interaguje hlavně elektrostaticky s vazebnými místy. Templáty s proteolytickými funkčními skupinami obsahují např. Broěnstedovy kyselé nebo zásadité skupiny. Pokud je funkční monomer kyselý, např. metakrylová kyselina (MAA) nebo bazický, (např. vinylpyridin-VPY), konečné MIP vykazují dobré vlastnosti pro chromatografii a mají výbornou selektivitu při použití ve vodných mobilních fázích [26].

1.3 Monomer

Monomer je většinou organická molekula, která je schopna reagovat s jinými molekulami, což vede ke vzniku polymerů. Základním rysem monomeru je polyfunkčnost a schopnost vytvářet chemické vazby s nejméně dalšími dvěma molekulami monomeru. Bifunkční monomery tvoří pouze lineární polymery, monomery polyfunkční poskytují síťované polymerní produkty [32].

Funkční monomer poskytuje funkční skupiny, které jsou zodpovědné za vazebné interakce s cílovou molekulou. Silnější interakce mezi templátem a funkčním monomerem během imprintování tedy vedou ke vzniku MIP s vyšší vazebnou kapacitou a selektivitou. V některých případech může být reaktivita monomeru ovlivněna tvorbou komplexu s templátovou molekulou [26]. Po začlenění monomeru do templátu dojde k zesílení do formy polymerní matrice a následnému odstranění a vzniku vazebných míst [33].

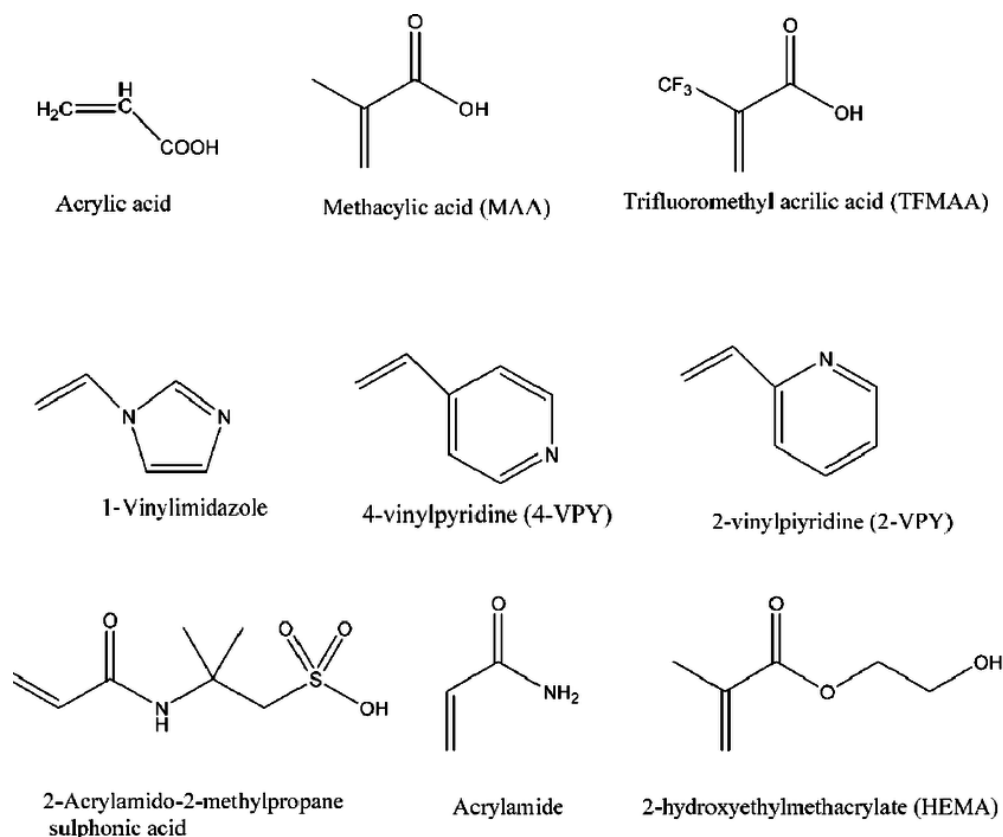
Výběr vhodného funkčního monomeru je důležitý pro vazbu templát-monomer a je základem pro úspěšné imprintování [34]. K dispozici je široká škála funkčních monomerů s různými funkcemi. Alternativně monomery lze syntetizovat za účelem cílení specifických funkcí v molekule templátu. Výběr nepoužívanějších funkčních monomerů a jejich struktura použitých při imprintování je uvedena na obrázku 5.

Mezi nejběžnější monomery patří kyselé monomery, jako jsou karboxylové kyseliny (kyselina akrylová, kyselina methakrylová, kyselina vinylbenzoová), sulfonové kyseliny (kyselina 2-akrylamido-2-methylpropansulfonová), bazické monomery, jako např. heterocyklické báze (vinylpyridin, vinylimidazol) a amfifilní monomery. Kyselina methakrylová, která se hojně používá jako monomer, má amfifilní charakter, dokáže být současně donorem protonů a dokáže tvořit vodíkové vazby, které jsou akceptorem [35]. Kyselina methakrylová se používá jako funkční monomer pro řadu druhů templátů, mezi které patří peptidy, nukleotidy, sacharidy, léčiva, herbicidy a anorganické ionty [36].

Alternativně mohou být pro tvorbu MIP také použity kombinace dvou nebo více funkčních monomerů. Některé studie poukazují na lepší rozpoznávací schopnost a selektivitu MIP při použití více monomerů, než MIP připravené s jediným funkčním monomerem [37].

Urraca et al. [38] v roce 2006 použili skupiny funkčních monomerů založených na polymerizovatelných amidinech a močovíně, které byly vyrobeny pro receptor beta laktamových antibiotik. Tyto receptory vykazují minimální nesespecifickou adsorpci.

Obecně může být proces molekulového imprintování klasifikován do dvou skupin v závislosti na typu interakcí, které existují mezi molekulou templátu a monomerem, a to kovalentní vazba a nekovalentní vazba [1], které jsou popsány v kapitole 1.6.



Obrázek 5 Struktura nejběžněji používaných monomerů používaných pro molekulové imprintování [34].

1.4 Síťovací činidlo

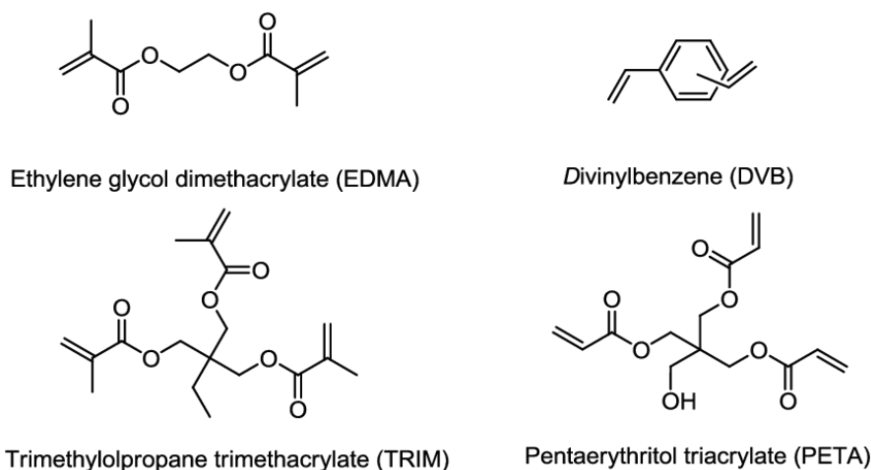
Síťovací činidlo má výrazný vliv na fyzikální vlastnosti polymeru a na specifické interakce mezi monomerem a templátem [26]. Síťovací činidlo má v procesu molekulového imprintování důležitou roli. Jeho povaha a také množství představují důležité faktory pro dosažení vysoké afinity výsledných MIP [36]. Síťovací činidlo kontroluje morfologii polymerní matrice, stabilizuje imprintovaná vazebná místa, stabilizuje vazby mezi monomerem a templátem a dodává mechanickou stabilitu polymerní matici, aby si ponechala svoji schopnost pro rozpoznávání analytu [39]. Vysoký poměr síťovacího činidla k funkčnímu monomeru vede k pevnějším materiálům s nižšími bobtnavými schopnostmi, protože síť se nemůže rozšiřovat. Rozsah těchto účinků závisí nejen na množství síťovacího činidla, ale také na jeho velikosti a flexibilitě. Nejčastěji používaná síťovací činidla jsou uvedena na obrázku 6.

MIP připravené s nízkomolekulárním bifunkčním síťovacím činidlem vykazují vyšší tuhost a jsou více odolné než MIP připravené s vysokomolekulárním síťovacím činidlem obsahujícím dvě nebo více polymerovatelných skupin, což vede k polymerům s lepší selektivitou, afinitou a vazebnou kapacitou [40, 41]. Nejčastěji používaným síťovacím činidlem

je ethylenglykol-dimethakrylát (EGDMA) a trimethylolpropan trimethylakrylát (TRIM). TRIM tvoří polymery s větší tuhostí, strukturou a využitelnějšími vazebnými místy než EGDMA [26]. Při použití divinyl benzenu jako síťovacího činidla jsou získány polydisperzní částice MIP v menším množství, kdežto při použití TRIM je výtěžek větší a částice rovnoměrnější [29].

Souvislost mezi síťovacím činidlem a velikostí MIP ve své studii potvrdil Yoshimatsu et al. [42], zjistili také, že malé částice MIP jsou vhodné ve vazebných testech s ligandy, větší částice MIP jsou zase vhodné jako stacionární fáze v chromatografii.

Ve většině případů jsou MIP připraveny s vysokým poměrem síťovacího činidla (přibližně 80 %), tj. poměrem síťujícího činidla k celkovému počtu molů funkčního monomeru, což vede ke získání mechanicky robustní makroretikulární sítě s porézní strukturou a velkou povrchovou plochou. Použití nízkého poměru síťovacího činidla (méně než 5 %) má za následek vznik MIP s gelovitou strukturou [43].



Obrázek 6 Struktura nejběžněji používaných síťovacích činidel používaných pro molekulové imprintování [34].

1.5 Rozpouštědlo

Rozpouštědlo také hraje důležitou roli v procesu imprintování. Rozpouštědlo slouží k převedení všech složek polymerace (templátu, monomeru, síťovacího činidla) do jedné fáze a má významný vliv na strukturu (velikost pórů) a fyzikální vlastnosti finálního syntetizovaného materiálu. Rozpouštědla, která vytváří póry, jsou označované jako porogeny a aplikují se během imprintování s cílem získat polymerní makrosítě, aby se usnadnil přenos hmoty a umožnil snadný přístup analytu k vazebnému místu.

Při nekovalentním imprintování porogen silně ovlivňuje stabilitu komplexu templát-monomer v prepolymerační směsi. Některé vlastnosti organických rozpouštědel, jako je polarita, dielektrická konstanta nebo protonace, mají velký vliv na proces imprintování. V tomto ohledu aprotická a nepolární organická rozpouštědla, například toluen a chloroform, podporují tvorbu monomer-templátových komplexů s nekovalentními interakcemi, jako jsou např. vodíkové můstky, zatímco vysoce polární aprotická rozpouštědla, jako je metanol nebo voda, tuto interakci narušují a proces imprintování je významně snížen. Naopak, pokud by se spoléhala na hydrofobní síly, byly by pro polymeraci správnou volbou polární rozpouštědla [40, 44].

MIP připravené v organických rozpouštědlech vykazují nízkou účinnost ve vodném prostředí a v zásadě je výkon MIP obvykle lepší ve stejných rozpouštědlech, která se používala pro polymerizaci (paměťový efekt) [45].

1.6 Přístupy molekulového imprintování

Technika molekulového imprintování může být rozdělena do tří skupin, a to kovalentní imprintování, nekovalentní imprintování a semi-kovalentní imprintování. Tyto tři skupiny jsou charakterizované na základě typu vazby mezi molekulou templátu a funkční skupinou monomeru. To jaké bude mít výsledný MIP vazebné vlastnosti je mimo jiné právě tím, jaké vznikají interakce mezi templátem a funkčními skupinami [38, 46].

1.6.1 Kovalentní imprintování

Kovalentní vazebný systém využívá komplex templát-monomer, který je vytvořen kovalentní, ale reverzibilní vazbou. První příklad MIP popsany Wulffem et al.[47]. využívali reverzibilní tvorbu esterových vazeb mezi cukrem a fenylboronovou kyselinou, která byla derivatizována vinylovou skupinou. Kovalentní vazba zahrnující Schiffovy báze a ketaly byla následně použita při kovalentním imprintování derivátů aminokyselin a ketonů [36].

Při kovalentním imprintování dochází k tvorbě stabilní kovalentní vazby mezi templátem a funkčním monomerem. Kovalentní vazba je po polymeraci štěpena a následně je templát extrahován z polymerní matrice. Templát může být znovu do polymerní matrice zaveden a vzniknou opět kovalentní vazby. Kinetika při vazbě může způsobit vznik nebo rozpad vazby

a templát může být uvolněn z dutiny. Tento způsob byl využit pro různé typy molekul jako cukry [48], ketony [49], aldehydy [50] a glycerové kyseliny [10].

Jednou z výhod kovalentního imprintování je, že přesná stechiometrie komplexu templát-monomer umožňuje přípravu polymerů s vazebnými skupinami umístěnými v imprintovaných dutinách (kavitech), což snižuje pravděpodobnost nespecifických interakcí. Kromě toho, díky vysoké stabilitě komplexů během polymerace, výsledné MIP vykazují homogenní distribuci vazebného místa a vyšší selektivitu než MIP připravené pomocí nekovalentního imprintování. Použití tohoto přístupu je však omezeno úzkým výběrem funkčních monomerů a templátů [51]. Pevnost a odolnost kovalentní vazby je v porovnání s nekovalentní mnohem vyšší, ovšem vazba mezi monomerem a templátem může být tak silná, že se odstranění posledních zbytků templátu nemusí podařit i po několikanásobném promytí [52]. Mezi další nevýhody patří potřeba syntetizovat komplex templát-monomer před polymerizací, obvykle vyšší úsilí, které je zapotřebí pro štěpení templátu po syntéze MIP a pomalá kinetika zpětného navázání v důsledku potřeby obnovit kovalentní vazbu pro rozpoznání cíle [53]. Polymery připravené kovalentním imprintováním jsou vhodné pro katalýzu [54].

1.6.2 Nekovalentní imprintování

Nekovalentní vazby zahrnují vodíkové vazby, elektrostatické interakce, hydrofobní vazby, iontové vazby a van der Waalsovy síly. U nekovalentního imprintování je vazba monomer-templát založena na spojení těchto dvou složek pomocí výše zmíněných typů nekovalentních vazeb [36, 55]. Typickým funkčním monomerem pro nekovalentní imprintování je kyselina methakrylová, která byla poprvé použita Mosbachem et al. [1]. Rozšířené použití MAA jako funkčního monomeru je dáno její schopností interakcí s různými funkčními skupinami, jako jsou estery, kyseliny, amidy a aminy [27]. Ačkoli nekovalentní systém je jednoduchý, interakce mezi monomerem a molekulou templátu je slabá, takže musí být použito velkého množství funkčního monomeru [36].

Mezi výhody nekovalentního přístupu v porovnání s kovalentním imprintováním patří jednoduchost syntetického postupu, který nevyžaduje chemickou derivatizaci molekuly templátu před polymerací. Za použití komerčně dostupných monomerů lze zacílit na širokou škálu funkčních skupin a reverzibilní interakce se substrátem jsou obvykle rychlé, což umožňuje výměnu molekuly v rozpoznávacích místech [56].

U nekovalentního imprintování vzniká vazebné místo se slabší afinitou. Nekovalentní imprintování je ale užíváno častěji, a to z důvodu snadného provedení, lehkého odstranění templátu a také rychlé kinetiky při navázání analytu [57].

1.6.3 Semi-kovalentní imprintování

Tento postup zahrnuje kombinaci obou předchozích metod. Ještě před polymerací vznikají kovalentní vazby. Z polymerní částice je templát odstraněn a stanovovaný analyt se navazuje na částici vazbou nekovalentní, což je stejné jako u nekovalentního postupu [21]. Whitcombe et al. [58] použili ve své studii tento přístup, cholesterol byl esterifikován 4 vinyl-fenolem, čímž byl získán kovalentní monomerní komplex funkčního templátu, a to cholesteryl (4vinyl) fenyl-karbonát ester. Po polymerizaci se síťovacím činidlem byla výsledná síť hydrolyzována za uvolnění templátové molekuly, cholesterolu, spolu s kyselinou uhličitou. Rozpoznávací mechanismus byl založen na tvorbě hydratačních vazeb mezi hydroxylovou skupinou cholesterolu a fenolickou hydroxylovou skupinou generovanou na vazebných místech. Kromě karbonylové skupiny se používá také salicylát pro imprintování peptidů [59], nebo dimethyl silylová skupina silyletherů pro otisk aromatických heterocyklických bází [60].

1.7 Metody polymerizace

Donedávna byly MIP nejčastěji připravovány blokovou polymerizací. Blokovaná polymerizace je definována jako polymerizace samotného monomeru, tj. během reakce není přítomno žádné rozpouštědlo. Při této metodě však dochází k velké ztrátě materiálu. Tato metoda je blíže popsána v kapitole 1.7.4. Proto se v posledních několika letech mnoho laboratoří zajímá o vývoj polymerizačních metod, které by produkovaly pravidelně tvarované a monodispergované částice. Mezi nejvíce používané polymerizační metody patří precipitační, emulzní, bloková, suspenzní a disperzní polymerizace, ale existuje také vícekroková (dvoukroková) polymerizace, která vyžaduje nabobtnání předem připravených částic polymeru nebo tzv. polymerizace v roztoku, kdy je monomer, iniciátor a výsledný polymer rozpustný v rozpouštědle nebo směsi rozpouštědel [61, 62].

1.7.1 Precipitační polymerizace

Metoda precipitační polymerizace je jednoduchý způsob molekulového imprintování. Při tradiční precipitační polymerizaci se zesíťování provádí v rozpouštědle, a to buď v reaktoru nebo při mírném míchání v rotační lahvi [63]. V tomto přístupu je klíčovým bodem použití rozpouštědla, kde jsou monomery rozpustné, ale výsledný polymer není. To znamená, že v průběhu polymerizace se rostoucí polymer segreguje z roztoku, zatímco nepřetržitě zachycuje a spotřebovává monomery a oligomery, případně vytváří kuličky ve velikosti mikro- nebo submikro - metrech [51]. Proto je nutná optimalizace systému na začátku, a to hlavně ve výběru vhodného typu monomeru a jeho koncentraci [64]. Bylo zjištěno, že nižší koncentrace monomeru při precipitační polymerizaci vede ke vzniku více stejnoměrných částic [65].

Jednoduchost této metodiky, možnost ji provést bez použití stabilizátorů nebo jiných aditiv, její kompatibilita s mnoha druhy síťovacích činidel a skutečnost, že nejčastěji používanými rozpouštědly jsou dipolární aprotická rozpouštědla, která zachovávají vodíkové vazby, učinily tento přístup velmi oblíbeným. Precipitační polymerizace se stala nejčastěji používanou technikou přípravy MIP [61]. Vznikají částice menšího rozměru, které jsou vhodné pro použití jako MIP v kapilární elektrochromatografii [62].

Ačkoliv má precipitační polymerizace značné výhody, neobejde se bez problémů. Jedním problémem je, že během této polymerizace je nutný velký objem porogenu (495 % hmotnosti), což zvyšuje náklady a vede ke znečištění životního prostředí. Jin et al. [66] navrhli nový způsob přípravy úzce dispergovaných MIP modifikovanou metodou precipitační polymerizace s použitím menšího množství porogenu (asi 50 % hmotnosti). V této metodě je pro zahájení procesu použito ultrafialové záření a jako porogen použita směs minerálního oleje a toluenu. Připravené MIP mají podobnou vazebnou selektivitu a vyšší vazebnou kapacitu ve srovnání s MIP syntetizovanými tradiční precipitační polymerizací. Dalším problémem spojeným s precipitační polymerizací je dlouhá doba polymerace.

1.7.2 Suspenzní polymerizace

Suspenzní polymerizace je pravděpodobně nejjednodušší a nejpoužívanější metodou přípravy MIP. Monomer je rozptýlen v kapalině společně s iniciátorem, s kapalinou se však nemísí [67]. Při tomto způsobu polymerizace probíhá uvnitř kapiček monomeru. Kapičky monomeru vzniknou třepáním nebo mícháním a jsou rozptýleny v disperzním rozpouštědle,

kteřé je nemísitelné s monomerem. Stabilita kapičkové disperze se často zvyšuje přidáním vhodných stabilizátorů. Stabilizátor má vliv také na velikost kapiček [68].

Pozitivní vlastnosti této metody spočívají v tom, že lze tuto metodu snadno aplikovat na přípravu vysoce zesíťovaných porézních polymerů. Další výhodou je, že pro monomerní směs nejsou potřeba žádná rozpouštědla. Vzniklé MIP mají vysokou selektivitu a kulovitý tvar. Velikost výsledných částic je možné ovlivnit použitím stabilizátoru [62, 69].

Tento přístup má značné výhody, ale také dvě důležitá omezení. Omezení vyplývají ze skutečnosti, že nejčastěji používanou fází nemísitelnou s monomerem je voda, která je kvůli své polaritě a vysoké schopnosti vodíkové vazby většinou nevhodná pro molekulové imprintování, protože ovlivňuje stabilitu komplexu templát-monomer, proto se často používá jako alternativa rozpouštědlo obsahující tekuté fluorované uhlovodíky [70], minerální oleje [71] nebo silikonové oleje [72]. Za druhé, suspenzní polymeraci jsou produkovány pouze poměrně velké polymery s velikostí v řádu desítek mikrometrů až po milimetry, což může být limitující v jejich dalším použití [69]. Dále tato metoda není vhodná pro monomery a síťovací činidla s vysokou viskozitou, protože vysoká viskozita ovlivňuje disperzi kapiček monomeru a výsledné formování MIP [73].

1.7.3 Emulzní polymerizace

Emulzní polymerace v zásadě souvisí s výše uvedenými metodologiemi v tom, že je to další způsob využití rozdělení monomerní směsi nebo rostoucích polymerních řetězců. Stejně jako v případě suspenzní polymerizace je monomerní fáze dispergována uvnitř kontinuální fáze vyrobené z monomeru nemísitelného s rozpouštědlem. V tomto případě je však výsledná disperze stabilizována povrchově aktivní látkou, která vytváří micely kolem kapiček monomeru [74]. Přítomnost povrchově aktivní látky umožňuje dosáhnout mnohem menších velikostí částic, v rozmezí desítek až stovek nanometrů. Kromě toho se pomocí techniky známé jako „mini-emulzní polymerace“, velikost výsledné polymerní částice přesně shoduje s velikostí kapiček ve výchozí emulzi, což umožňuje předem stanovit velikost částice polymeru [75]. Tato metoda trpí stejnou obecnou nevýhodou uvedenou výše pro suspenzní polymerizaci, a to potřebu vody jako kontinuální fáze, která obecně narušuje postup imprintování. Kromě toho může povrchově aktivní látka rovněž narušit proces imprintování, protože se může podílet

na interakcích s monomerem a/nebo templátem. Povrchově aktivní látka může být také obtížně odstranitelná z výsledného MIP [69].

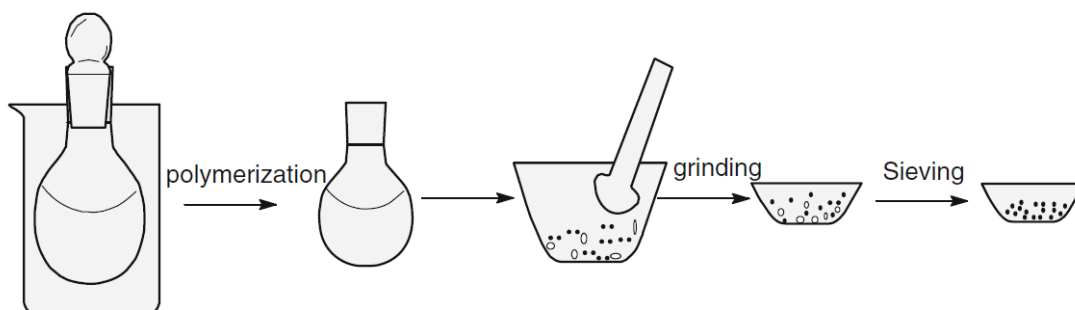
Do roku 2004 se pouze několik skupin vědců zabývalo syntézou MIP pomocí emulzní polymerizace. První skupinou vědců byl Whitcombe et al. [76], kteří popsali využití emulzní polymerizace pro přípravu core-shell částic s vysoce hydrofobní molekulou cholesterolu jako templátu pro povrchové imprintování. V této metodě hrají důležitou roli tvarově specifické, hydrofobní interakce a vazby a je proto nezbytná přítomnost organického rozpouštědla k solubilizaci templátu. Tovar et al. [77] použili mini-emulzní polymerizaci pro imprintování L-fenylalaninu. Takagi et al. imprintovali polymerní koloidní částice kovem ve vodném prostředí. Metoda zahrnovala jednostupňovou syntézu, která využívala povrchově aktivní povahu komplexu monomer-templát, který umožňoval, aby imprintování probíhalo na povrchu zesíťené polystyrenové latexové částice [78, 79]. Pomocí emulzní polymerizace byly také připraveny core-shell MIP, za použití rozpustných molekul templátu [80].

1.7.4 Bloková polymerizace

Bloková polymerizace je nejobecnější metoda, která je využívána k přípravě MIP [61]. V procesu blokové polymerizace se složky polymerizační směsi, tj templát, monomer, síťovací činidlo a iniciátor smíchají a radikálovou polymerizací, nejčastěji při zvýšené teplotě, vznikne polymer. Předpokládá se, že v počáteční fázi polymerizace vytvářejí molekuly templátu s monomerem příčnou vazbou a jsou kopolymerizované do pevného bloku polymeru, vzniká tzv. blokový kopolymer [62]. Blokový kopolymer je definován jako polymer obsahující molekuly, ve kterých existuje lineární uspořádání bloků, přičemž blok je definován jako část molekuly polymeru, ve které monomerní jednotky mají alespoň jeden konstituční nebo konfigurační znak nepřítomný v sousedních částech [81]. Proces blokové polymerizace je uveden na obrázku 7.

Bloková polymerizace má řadu výhod, mezi které patří rychlost a jednoduchost přípravy. Také není nezbytné sofistikované nebo drahé vybavení. Výsledné MIP mají vysoký stupeň čistoty. Ale konečná úprava MIP je časově náročná a vede k velmi malému výtěžku, okolo 30 % původní hmoty). Výsledkem je monolytický polymer, který se rozbije, rozemele a prosévá na vhodnou velikost. Při konečném broušení vznikají částice nepravidelného tvaru a velikosti a vazebná místa s vysokou afinitou jsou zničena a zaměněna za místa s nižší afinitou. Bloková polymerizace poskytuje polymery s heterogenními vazebnými místy, což vede k omezení

využití těchto MIP v chromatografii [61]. MIP připraveny touto metodou se využívají zejména jako sorbenty pro různé typy extrakce jako je například sorbent pro extrakci na pevné fázi (SPE) [62].



Obrázek 7 Schéma blokové polymerizace [55].

1.8 Využití MIP

MIP mají schopnost rozeznat konkrétní sloučeninu z řady chemických látek, díky tomu bývají využívány na zlepšení stávajících analytických technik nebo na vývoj nových metod. MIP se stále více používají v mnoha druzích aplikací, jako je chromatografie, předúprava vzorku, čištění, jako katalyzátory, senzory a pro dodávání léčiva. Většinou jsou MIP využívány v bioanalytických oblastech. Nacházejí své uplatnění v biomedicině, farmacii a analytické chemii [29].

MIP byly použity jako selektivní sorbenty v bioanalýze [82] pro stanovení makromolekul [83], analýzu léčiv [84] pro stanovení nesteroidních zánětlivých léčiv [85] a analýzu potravin [86] pro stanovení antibiotik ve vzorcích mléka [12]. Dále byly MIP použity pro analýzu a stanovení ochratoxinu A [65], drog [87] a organofosforových pesticidů [88], agrochemikálií [89] a dalších kontaminujících látek ve vzorcích životního prostředí.

1.8.1 Extrakce na pevné fázi

V mnoha laboratořích se využívá metod extrakce na pevné fázi pro extrakci komplexních vzorků. Extrakce na pevné fázi je jednou z metod přípravy vzorku pro analýzu.

MIP ve spojení s SPE (MIP-SPE) se používají jako sorbentové materiály o vysoké afinitě, které napomáhají k zachycení jednotlivých analytů nebo skupin analytů z komplexních vzorků. Četné studie nyní ukazují vynikající výkonnost MIP pro dodávání čistých extraktů a reprodukovatelných výtěžků zejména analytů s nízkou molekulovou hmotností. V současné době přibývá aplikací MIP v metodě SPE a tato metoda v posledních letech zaznamenává značný rozvoj [25, 90, 91]. Postup metody SPE je uveden na obrázku 8.

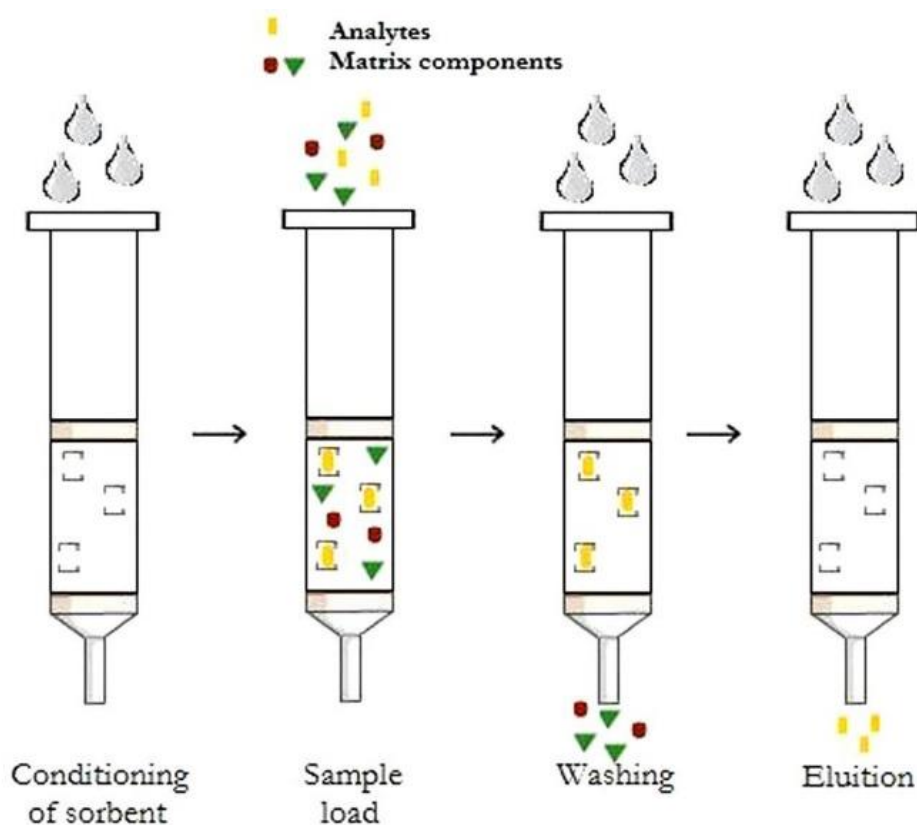
Na rozdíl od jiných metod není tato metoda časově náročná a nevyžaduje rozsáhlé předúpravy vzorku, je cenově dostupná, snadno automatizovaná a spolehlivá [24, 81]. Ačkoliv má tato metoda značné výhody, má i své nevýhody. Jednou z hlavních nevýhod při je obtížnost odstranit celou molekulu templátového analytu. I po rozsáhlém promytí se ukázalo, že je obtížné molekulu odstranit, což může vést k vyluhování analytu ve vzorcích a následným nepřesným výsledkům [92].

MIP-SPE se používá k analýze stopových organických látek, jako jsou léky, metabolity, endogenní sloučeniny, potravinářské přídatné látky, pesticidy [92, 93]. Tato metoda je využívána hlavně pro extrakci vzorků z komplexních matric, jako jsou vzorky biologické [91, 94], v analýze potravin [95] nebo vzorků z životního prostředí [96]. V nedávné studii byly MIP použité pro analýzu biomarkeru NNAL specifického pro tabák ve vzorcích moči. Tento karcinogen plic je indikátorem expozice tabáku u vystavených kuřáků i nekuřáků [97]. Shaikh et al. [98] uvedli syntézu křemičitých vláken core-shell MIP pro analýzu stopového pesticidu endosulfanu ve vzorcích říčních a odpadních vod. Endosulfan je endokrinní disruptor, který je klasifikován jako vysoce toxická chemická látka a vyžaduje pečlivé monitorování ve vodách životního prostředí.

1.8.2 Chromatografie

Nejčastěji jsou MIP využívány v chromatografii, a to především v kapalinové chromatografii (HPLC) [99, 100]. HPLC je separační technika, kde se sloučeniny vzorku rozdělují odlišně mezi stacionární fází (materiál náplně kolony) a mobilní fází (proud rozpouštědla). Látky rozpuštěné v mobilní fází se budou pohybovat rychleji než látky distribuované ve stacionární fází, a budou tedy eluovány dříve. Proces dělení závisí jak na chemické (polarita, náboj nebo velikost), tak na mechanické separaci (difúze podél sloupce). Jak se eluují ze sloupce, sloučeniny jsou snímány detektorem, který umožňuje kvantifikaci

jednotlivých složek. Bylo zjištěno, že MIP jsou velmi účinné pro zlepšení separace sloučenin nebo analytů extraktu z komplexních vzorků [101, 102]. MIP jsou pro kapalinovou chromatografii a kapilární elektrochromatografii vyráběny nejčastěji suspenzní nebo emulzní polymerizací [103]. Velmi zřídka jsou používány MIP vyrobené blokovou polymerací jako stacionární fáze pro HPLC, neboť tímto postupem vznikají nepravidelné částice [104, 105]. Do kolon se používají monolitické MIP, ale i MIP ve tvaru mikrokuliček. V případě monolitů se polymer obvykle mele a poté proseje a sedimentuje nebo odstředí, aby se snížila polydisperzita a výsledné částice mají průměr v rozmezí od 10 do 25 pm [70, 101]. Nedávné snahy o zlepšení účinnosti procesu chromatografie zahrnovaly výměnu nekovalentního imprintování za kovalentní, a také výrobu kulovitých částic s jednotným povrchem [34]. HPLC ve spojení MIP má široké uplatnění, používá se pro stanovení škodlivých látek v potravinách, například pro stanovení škodlivých zbytků z plastových obalů [106, 107], také ke stanovení množství vitaminů v potravinách [96], ale také v analýze životního prostředí, například pro analýzu vody [108, 109].



Obrázek 8 Čtyři kroky metody SPE [34].

1.8.3 Terapeutické aplikace

MIP se využívají jako nosiče pro dodávání léčiv, zejména pro řízené uvolňování terapeutických činidel. Podávání léčiva je způsob nebo proces podávání farmaceutické sloučeniny k dosažení optimálního terapeutického účinku u lidí nebo zvířat. Strategie podávání léčiva, pomocí které je léčivo dodáno do svého cíle, hraje zásadní a významnou roli při jeho účinnosti. Je známo, že některá léčiva musí být podávána v optimální koncentraci (řízené uvolňování) pro maximální terapeutické účinky, naopak vyšší nebo nižší množství některých léčiv může vyvolat toxicitu nebo zanedbatelné účinky. Matice MIP mají obvykle vysoký stupeň zesíťení a fungují jako rezervoár léčiva. Pro použití při dodávání léčiva je však obvykle výhodné připravit MIP jako gely, které nejsou tak hustě zesíťené, zejména pokud se používají ve vodě rozpustné monomery. Tyto MIP mají schopnost rozpoznávat specifické bioaktivní molekuly a jejich sorpční kapacita závisí na vlastnostech a koncentraci templátu a okolního média [110, 111]. Ukázalo se, že MIP vykazují enantiomerně selektivně řízené uvolňování léčiva při dodávání enantiomerů, beta-blokátoru propranololu, v závislosti na tom, který enantiomer byl použit při syntéze MIP [112].

Zatímco zájem o MIP jakožto materiály dodávající léky existuje více než deset let, myšlenka použití MIP jako terapeutických činidel je nový přístup. Haupt et al. [113] informovali o přípravě MIP schopných inhibovat enzym trypsin. Toho bylo dosaženo použitím polymerizovatelné verze inhibitoru jako funkčního monomeru. Monomer se navázal na aktivní enzymové místo a MIP byl vytvořen kolem komplexu enzym-monomer. Mikrogely MIP byly selektivní pro trypsin a bylo zjištěno, že kompetitivně inhibují trypsin, což vede ke zvýšení účinnosti asi o tři řády nad inhibitorem benzamidinem. Shea et al. [114] ve své studii také použili MIP jako terapeutické činidlo, vyvinuli nanočástice MIP schopné vázat se na peptidový toxin pomocí precipitační polymerizace. Vybraný toxin byl mellitin, hlavní aktivní složka včelího jedu. MIP vykazovaly afinitu podobnou protilátkám mellitinu, ukázalo se, že rozpoznávají, neutralizují a čistí toxin z jater myší.

1.8.4 MIP nanočástice

Nanočástice MIP mají malý rozměr, ale mají velký specifický povrch, takže většina templátu je umístěna na povrchu nebo v jeho blízkosti [115]. Nanočástice MIP mohou být použité jako alternativy enzymů nebo v systému aplikace léčiv [116], mohou být použité jako

alternativy protilátek v kapilární elektroforéze, ale také v senzorech [117]. Proces výroby těchto nanočástic je poměrně náročný. Při výrobě je hodně důležitý stupeň zesílení a interakce mezi templátem a monomerem musí být velmi silná. Mezi nejpoužívanější metody přípravy patří precipitační polymerizace, mini- a mikroemulzní polymerace, core-shell postup a polymerizační proces volnými radikály, jako je radikálová polymerizace s přenosem atomu [118].

Technikou emulzní polymerizace s následným roubováním byly připraveny nanočástice MIP typu core-shell se složitou architekturou a specifickou velikostí pro určitou cílovou buňku. Tyto postupy zahrnují nanosení vrstvy MIP na předem vytvořené nanosféry, které jsou složeny z různých materiálů jako je oxid křemičitý, polymery a magnetit (Fe_3O_4). Touto cestou lze použít různá jádra se specifickými vlastnostmi, které by mohly zlepšit celé provedení imprintování u nanosystémů [64, 119]. Core-shell částice, která je tvořena molekulově imprintovaným povrchem (skořepinou, shell), středem částice (core) tvořeným supermagnetickými nanočásticemi se nazývá magnetická MIP (Mag-MIP). Tyto částice si zachovávají své magnetické vlastnosti, proto je lze snadno ovlivnit pomocí vnějších magnetických polí. Další výhodou je, že na povrchu mají selektivní adsorpční materiál (MIP), který provádí rozpoznávání s vysokou účinností, navíc jsou rozpoznávací místa umístěna na povrchu materiálu, což usnadňuje přístup analytu do selektivních dutin a jeho snadné odstranění z povrchu [120, 121]. Díky těmto výhodám jsou Mag-MIP atraktivní pro širokou škálu aplikací v biotechnologii, separačních technikách a vývoji senzorů. Mag-MIP nabízejí několik možností aplikací v analýze potravin. Uzuriaga-Sánchez et al. [122] ve své studii uvedli aplikaci magnetických MIP pro rychlé a selektivní stanovení biotinu ve vzorcích mléčných potravin. Duan et al. [121] ve své studii použili Mag-MIP v kombinaci s ultrafialově viditelnou spektrofotometrií pro sledování kurkuminu ve vzorcích potravin. Dibutylftalát (DBP) je látka přítomná v obalech potravin, je rozpustný v tucích a může se tedy dostávat do potravin a nápojů, které jsou baleny do těchto plastových obalů. Mimo plasty je také přidáván do laků na nehty, do papírů, prostředků na zubní hygienu a léčiv. DBP má řadu nepříznivých účinků na organismus, hlavně na endokrinní systém [123]. Zhang et al. [124] ve své studii použili Mag-MIP v elektrochemických biosenzorech v kombinaci s SPE, ke stanovení DBP. Toto stanovení bylo úspěšně použito na DBP v kravském i sójovém mléce.

1.8.5 MIP jako katalyzátory

Z počátku se MIP využívaly na kontrolu chemických reakcí a enantioselektivní syntézu [125, 126]. Poté byly popsány různé přístupy pro syntézu katalyticky aktivních MIP pomocí analogů substrátu [127] a produktu nebo meziproductů [128] jako templátu. Nejpoužívanějším přístupem je použití analogů přechodného stavu (TSA) jako šablon při imprintování. V tomto případě jsou vazebná místa MIP navržena tak, aby stabilizovala tvorbu reakčního stavu, čímž se sníží energetická náročnost a dosáhne se zvýšené reakční rychlosti. Pro vývoj vysoce účinného katalytického systému je nezbytné zvolit správné funkční monomery a přesně je umístit, aby se zvýšila vazba v přechodném stavu [129].

Stability a selektivity MIP bývá využíváno také v použití MIP jako umělých rozpoznávacích prvků v biomimetických snímacích zařízeních nebo senzorech, MIP se používají pro vytvoření umělých materiálů, které fungují jako napodobeniny enzymů, neboli tzv. biomimetické katalyzátory [130, 131]. Biomimetický katalyzátor je uměle vytvořená sloučenina, která napodobuje enzym, jeho fungování a reakce. Použití MIP jako biomimetických katalyzátorů je vysoce účinná technika v oblasti biomimetické chemie [132].

1.8.6 MIP jako senzory

Senzor je zařízení, které produkuje měřitelný detekční signál v reakci na fyzický nebo chemický stimul. Chemický senzor se skládá ze dvou jednotek, rozpoznávacího prvku zodpovědného za rozpoznávání a vázání cílového analytu a části snímače, která převádí vazebnou událost na kvantifikovatelný výstupní signál. Po navázání molekuly analytu na rozpoznávací prvek je generován chemický nebo fyzikální signál. Převodník, který je v těsném kontaktu s rozpoznávacím prvkem, potom transformuje tento signál na měřitelný výstupní signál, který koreluje s koncentrací analytu. Převod signálu může být založen na optickém, elektrochemickém nebo hmotnostně citlivém zařízení [133]. MIP jsou považovány za vhodné alternativy k biologickým receptorům pro použití v senzorech hlavně kvůli jejich vysoké stabilitě. MIP lze syntetizovat pro analyty, pro které není k dispozici žádný receptor nebo enzym, nebo v rámci finanční úspory. MIP senzory byly vyvinuty pro herbicidy, cukry, nukleové kyseliny, aminokyseliny a jejich deriváty, léky, toxiny [134].

MIP byly uplatněny jako selektivní rozpoznávací prvky indiferentních typů biomimetických senzorů, protože mají mechanickou stabilitu a robustnost kombinovanou

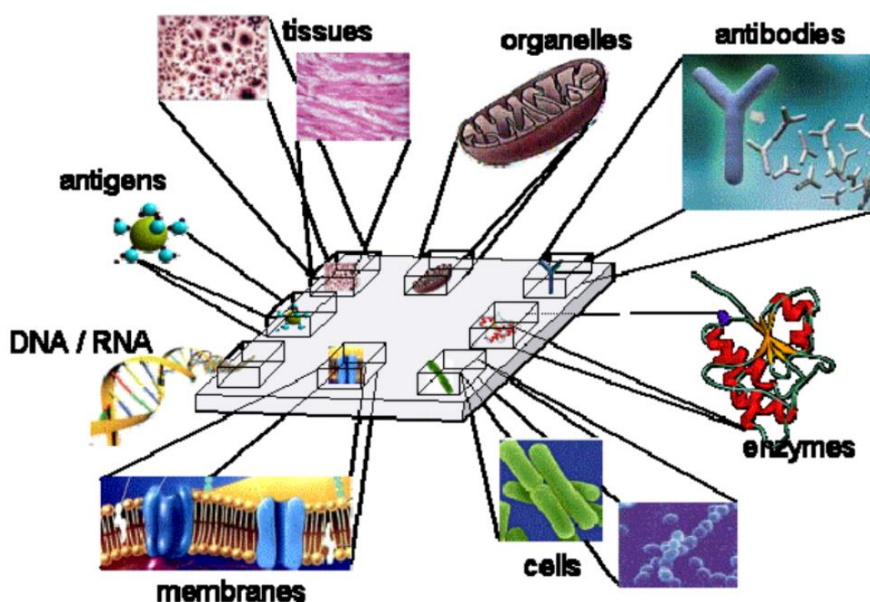
s vynikajícími rozpoznávacími vlastnostmi. Například optické senzory využívající techniky, jako je optická absorpce, fotoluminiscence, byly úspěšně kombinovány s MIP pro zvýšení selektivity [133].

2 Biosenzor

Biosenzory jsou zařízení používaná k detekci přítomnosti biologického analytu, jako je biomolekula, biologická struktura nebo mikroorganismus. Biosenzory se skládají ze tří částí: první části, která rozpoznává analyzovanou látku a produkuje signál, dále převodník signálu a čtecí zařízení [135].

Biosenzory jsou analytická zařízení, která přeměňují biologickou odpověď na elektrický signál. Biosenzory musí být vysoce specifické, nezávislé na fyzikálních parametrech, jako je pH a teplota, a měly by být možné vícekrát použít [136]. Biosenzory jsou podtřídou chemosenzorů založených na biologických receptorech (např. enzymech, DNA, protilátkách), které jsou ve většině případů imobilizovány na povrchu snímače. Na obrázku 9 jsou uvedeny různé typy biologických receptorů používaných v biosenzorech. Biologické receptory používané jako rozpoznávací prvky vykazují vysokou afinitu k ligandu, jejich použití je však omezené z důvodu jejich vysokých výrobních nákladů a omezené stability (pH, teplota, iontová síla, organická rozpouštědla a další přísady) [137].

Výroba biosenzorů, jejich materiálů, převodních zařízení a imobilizačních metod vyžaduje multidisciplinární výzkum v chemii, biologii a strojírenství. Materiály používané v biosenzorech jsou rozděleny do tří skupin na základě jejich mechanismů: biokatalytická skupina obsahující enzymy, bioafinitní skupina včetně protilátek a nukleových kyselin a třetí skupina obsahující mikroorganismy [138]. Vývoj vysoce citlivých, specifických a efektivních biosenzorů je v posledních letech velmi rozsáhlý, od vývoje biosenzorů první generace využívajících glukozovou oxidázu bylo do dnes publikováno mnoho studií zabývajících se biosenzory a zlepšením jejich vlastností [135]. Konstrukce syntetických MIP a jejich použití v biosenzorech, kde jsou MIP schopny napodobit procesy rozpoznávání a systémy, které se vyskytují v přírodě, jsou jednou z oblastí výzkumu [139].



Obrázek 9 Znárodnění různých bioreceptorů [140].

2.1 Biosenzory spojené s MIP

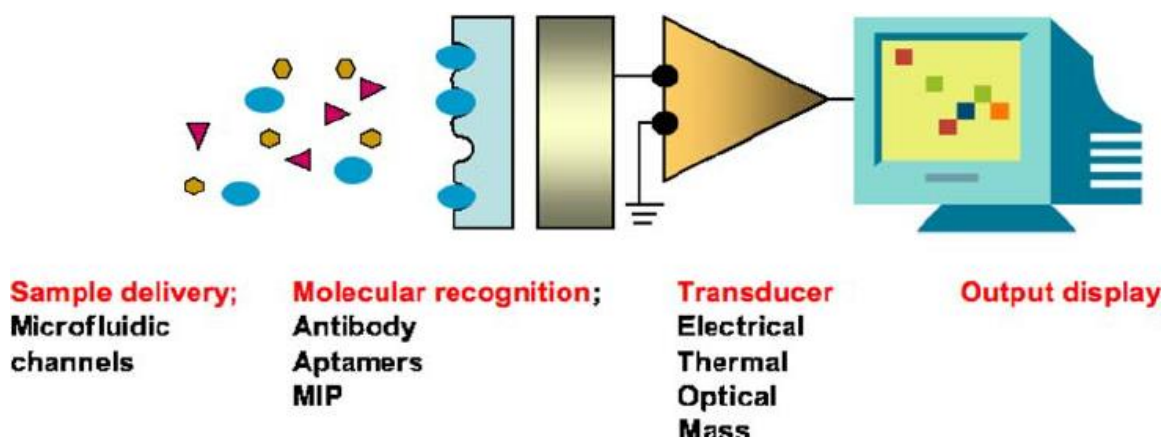
MIP se používají jako alternativní receptory k vytváření biosenzorů. MIP v biosenzorech složí jako rozpoznávací zařízení, které rozpoznává látku analytu a vytváří signál. MIP mají značné výhody oproti běžně používaným biologickým přírodním rozpoznávacím prvkům jako jsou např. enzymy a proteiny. Jako umělý polymerní nano-film jsou MIP stabilní a schopné pracovat v extrémním prostředí, jako je organické rozpouštědlo, kyselina nebo báze, při vysoké teplotě a / nebo vysokém tlaku. MIP umožňují spolupráci více

modifikátorů (převodníků signálu) v celém systému a umožňují inovativní struktury biosenzoru vyrobené s různými vlastnostmi [141]. Schéma biosenzoru s MIP je zobrazeno na obrázku 10.

MIP slouží v biosenzoru jako syntetické receptory, schopné rozpoznávat cílové molekuly mechanismem zámku a klíče, což způsobuje změny fyzikálních parametrů, jako je hmotnost, absorpance nebo index lomu v závislosti na tvaru, náboji a funkčnosti cílové molekuly [139]. Vazba cílového analytu na MIP může být detekována změnou hmotnosti v akustických senzorech, změnou indexu lomu u povrchových plazmonových rezonančních (SPR) senzorů nebo elektrochemickou impedanční spektroskopií (EIS) v elektrochemických senzorech. Četné analyty, které nemají žádné optické nebo elektrochemické vlastnosti, lze také detekovat využíváním schopnosti MIP generovat optické nebo elektrochemické signály v reakci na vazbu templátu na funkční skupiny v místě otisku [142]. Je popsáno jen velmi málo senzorů, ve kterých se MIP používají jako katalyzátory k produkci detekovatelného elektrochemického signálu [143]. Jedním z omezení spojených s vývojem MIP jako senzorů je obtížnost při jejich integraci s převodníky. Proto se často používá elektro-polymerizace, ve které lze MIP syntetizovat na povrchu elektrody jako tenký film řízeným ovlivňováním tloušťky vrstvy podle množství procházejícího náboje. Tento přístup je zvláště atraktivní pro výrobu malých biosenzorů pro klinickou diagnostiku, kontrolu životního prostředí a pro farmaceutický průmysl [144]. Pro úspěšné použití MIP v senzorech je nutné zlepšit jejich kinetiku vazby, zkrátit dobu analýzy a odstranit většinu templátu, čemuž napomáhá právě tvorba MIP v podobě tenkého filmu v nano-měřítku, kdy se zvyšuje poměr povrchu k objemu, čímž se vazebná místa zpřístupňují analytům [145].

Během posledního desetiletí se počet aplikací biosenzorů založených na MIP drasticky zvýšil. Díky jejich vysoké selektivitě a afinitě MIP pro cílové analyty z nich činí ideální rozpoznávací prvky ve vývoji senzorů [146]. MIP jako biosenzory bývají používány v analýze životního prostředí, v potravinářství, v medicíně. Na základě konduktometrické transdukce Piletsky et al. [147] vyvinuli MIP biosenzory pro analýzu herbicidu atrazinu. Sensory založené na MIP připojené k piezoelektrickým převodníkům jsou jednou z nejvíce zkoumaných oblastí. Tyto biosenzory byly použity v různých systémech v potravinářském průmyslu, jako je piezoelektrická detekce založená na MIP pro kvantifikaci obsahu kofeinu ve vzorcích kávy a čaje [148], detekce sorbitolu [149], antibiotik v mléce [150] a detekce toxických sloučenin, jako jsou např. polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) [151]. Takeuchi et al. vyvinuli

několik druhů templátů pro rozpoznávání derivátů biotinu [152], metaloporfyrinů [37], sterolů [153] nebo kyseliny indol-octové [154].



Obrázek 10 Biosenzor s MIP [155].

2.2 Využití MIP biosenzorů pro analýzu biomarkerů

Podle Správy potravin a léčiv (FDA) a Národního zdravotního ústavu Evropské unie je biomarker definován jako „charakteristika“, která je objektivně měřena a hodnocena jako indikátor běžných biologických procesů, patogenních procesů nebo farmakologických odpovědí na terapeutický zásah. Biomarker funguje jako indikátor normálního nebo patogenního biologického procesu. Používá se, pokud je třeba posoudit farmakologické odpovědi na léčbu. Biomarker ukazuje zvláštní fyzický znak nebo měřitelnou biologicky produkovanou změnu v těle, která je spojena s nemocí nebo konkrétním zdravotním stavem [156]. Obecně řečeno, pokud se koncentrace molekuly mění v závislosti na přítomnosti nebo během terapeutického léčení nemoci v biologických tekutinách, můžeme tuto molekulu označit jako klinický biomarker [157]. Biomarkery se mohou vyskytovat v tělesných tekutinách nebo tkáních v různých formách, od deoxyribonukleové kyseliny (DNA) a kyseliny ribonukleové (RNA), metabolitů, proteinů, enzymů, hormonů nebo lipidů až po celé buňky [158]. Biomarkery poskytují dynamický a výkonný přístup k porozumění spektra neurologických onemocnění pomocí aplikací v observační a analytické epidemiologii, randomizovaných klinických studiích, screeningu a diagnostice. Tyto markery, definované jako změny ve složkách tkání nebo tekutin, nabízejí prostředky pro homogenní klasifikaci nemoci a rizikových faktorů a mohou rozšířit základní informace o základní patogenezí nemoci.

Biomarkery mohou také odrážet celý průběh nemoci od nejranějších projevů až po terminální stádia [159].

MIP biosenzory byly připraveny převážně pro biomarkery s nízkou molekulovou hmotností a léčiva, ale také pro široké spektrum proteinů, mohou být použity pro detekci biomarkerů jednotlivých proteinů a mnohem větších biomakromolekul, včetně virů a bakteriofágů [160].

2.2.1 Využití MIP biosenzorů pro analýzu proteinových biomarkerů

Budoucí vývoj proteomiky a genomiky vyžaduje důkladné pochopení struktury a funkce živých organismů na molekulární úrovni. Například proteomika zahrnuje detekci a identifikaci proteinů v různých koncentracích. Je velmi obtížné detekovat proteiny s nízkým výskytem, které často mají významné biologické funkce v přítomnosti vysokých koncentrací jiných složek. Proto jsou metody umožňující selektivní detekci a kvantifikaci cílových proteinů užitečné v celé řadě oblastí, včetně klinické diagnostiky, terapeutického monitorování, v bioreaktorech a detekce organismů a toxinů [6].

Vzhledem k jejich velkému potenciálu v lékařské diagnostice se MIP senzory pro proteiny v poslední době dostávají do centra pozornosti. Je však důležité si uvědomit, že imprintování proteinů je kvůli jejich velké velikosti a složité struktuře značně náročnější než pro nízkomolekulární sloučeniny [161]. Povrchově imprintované MIP pro proteiny jsou komplexnější než systémy pro malé molekulární rozpoznávací systémy. Je tomu tak proto, že při přípravě MIP pro rozpoznávání proteinů je třeba vzít v úvahu několik dalších základních faktorů. Za prvé, reakční podmínky musí být pečlivě kontrolovány tak, aby se struktura templátu přiblížila struktuře navázaného proteinu v biologickém prostředí, kde má být použit, protože morfologie proteinu může být významně ovlivněna teplotou, pH, koncentrací iontů atd.[162]. Za druhé, musí být překonána pomalá kinetika vázání cílového proteinu na vazebná místa, která jsou hluboko uvnitř MIP, pro vyřešení tohoto problému je preferovaným způsobem molekulový otisk na povrchu částic [163, 164], který je popsán v kapitole 2.2.1.1.

Vědci se zabývají studiem proteinů, protože mají důležitý význam pro diagnostiku a terapii. Proteomický výzkum zahrnuje dva přístupy: izolace různých proteinových složek z komplikovaných biologických vzorků (např. plazma, moč, sliny atd.) a biologická charakterizace jednotlivé proteinové složky [165]. Proteiny jsou náročné templáty pro imprintování. MIP založené na selektivních chemosenzorech pro proteiny nejsou běžné.

V posledních letech byla věnována výrazná velká pozornost syntézám nano-strukturovaným MIP [166]. Otisk makromolekul, zejména proteinů, vzbuzuje zájem hlavně kvůli potenciálu při elektrochemické detekci [167].

2.2.1.1 Povrchové imprintování

Jak již bylo zmíněno tento typ imprintování spočívá v nanosení filmu MIP o rovnoměrné tloušťce, a to nižší, než je průměr molekuly cílového proteinu (5-10 nm). Toto imprintování zaručuje, že všechny imprintované dutiny jsou umístěny na povrchu polymeru a jsou přístupné pro molekuly analytu. Navíc také zajišťuje krátkou dobu odezvy chemosenzoru MIP. Značnou nevýhodou tohoto provedení je nutnost přesné kontroly nad tloušťkou nanosené vrstvy MIP [168, 169]. Nejprve se zkombinuje pevný substrát nebo částice, proteinový komplex (tj. protein, který nese funkční skupiny, které jsou schopné interagovat s proteinem) a síťovací činidlo, poté se zahájí kopolymerace a zesílení. Výsledný produkt obsahuje pevný nosič neboli tzv. „substrátový modul“ s komplexními proteiny a zesíťovanou skořepinou. Komplexní protein je poté odstraněn a zanechává povrchová vazebná místa, na která se mohou znovu navázat cílové proteiny. Tato technika umísťuje vazebná místa na povrchy substrátu po odstranění templátu [170].

Cai et al. [171] ve své studii použili uhlíkové nanotrubičky potažené nevodivým polymerním povlakem k rozeznání proteinů s citlivostí na subpikogramy na litr. Vyvinuli povrchové MIP senzory pro lidský feritin a E7 protein z lidského papilomaviru.

Mathur et al. ve své studii stanovili protein 1 vázaný na hyaluronan (hyaluronan-linked protein, HAPLN1), u kterého bylo prokázáno, že je vysoce vylučován v maligních pleurálních mezoteliomech. Jako modelový protein byl použit hovězího sérový albumin, tento protein je molekulovou hmotností podobný proteinu HAPLN1. Albumin byl imprintován na zlaté elektrodě s alkan-thioly zakončenými hydroxylovými skupinami, které kolem albuminu tvořily monovrstvu. Analyt sérového albuminu byl poté odstraněn a jeho otisk (prázdna dutina) sloužila pro navázání a detekci sérového albuminu v roztoku pomocí potenciometrie [172].

Shi et al. [173] ve své studii nanесли templát na slídu, která je hydrofilní a negativně nabitá. To je důležité, aby se zabránilo denaturaci adsorbovaných proteinů. Povrch proteinu byl potažen disacharidovou vrstvou a poté tenkým filmem (10–30 nm) hexafluorpropylenu. Výsledný film byl upevněn na skleněný kryt pomocí kyslíkové pryskyřice, která byla nakonec

vytvrzena v peci. Pro oddělení slídy z potisknutého filmu byly použito promývání, přičemž dutiny zůstaly komplementární k šabloně a byly volné pro nové navázání. Selektivita otisků pro templátový protein byla prokázána pomocí kompetitivních vazebných experimentů. Ke zkoumání tvarové specifičnosti byly použity dva proteiny, které byly velmi podobné ve fyzikálních chemických vlastnostech a izoelektrickém bodu, a to lysozym a ribonukleáza A. V případě adsorpce ribonukleázy A ze směsi lysozymu a ribonukleázy A došlo k 20tinásobnému zvýšení selektivity pro otisk ribonukleázy A, což ukazuje na vysokou specifičnost rozpoznávání templátu.

2.2.1.2 Epitopové imprintování

Většina MIP používá molekuly templátu, které je důležité před použitím odstranit. Tento problém lze překonat použitím templátových molekul (epitopu), které se liší od cíle. Epitopová metoda je postup, který je inspirován specifickou interakcí antigen a protilátka [174]. Epitopové imprintovací techniky jsou založeny na použití krátkého peptidu jako templátu, který zastupuje však pouze část peptidu nebo proteinu (epitop představuje antigen), který může být rozpoznán syntetizovaným polymerem [175]. Schéma této metody je znázorněno na obrázku 11.

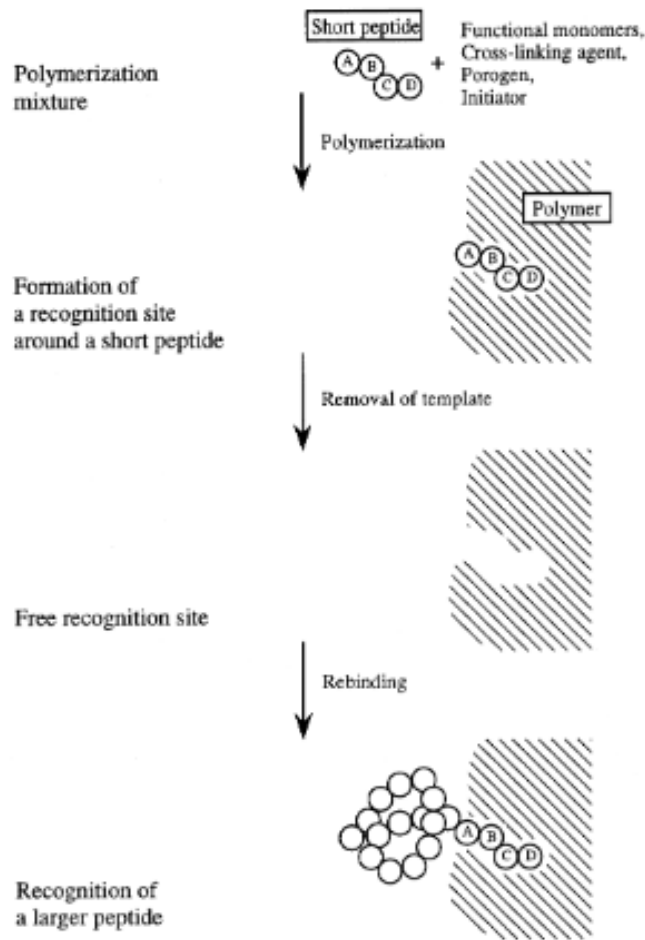
Metody imitace epitopu se staly novou metodou pro identifikaci a separaci cílových molekul. Podle tohoto přístupu je pouze konkrétní oblast makromolekuly použita jako šablona místo celé makromolekuly během procesu imprintování. Malé peptidové sekvence tak mohou rozpoznávat celý protein [176, 177]. Byly také použity fragmenty vázající antigen (F_{ab}) k detekci lidského imunoglobulinu G jako modelu proteinového fragmentu [178]. Epitopová metoda se zaměřuje spíše na vývoj síťovacího činidla pro primární strukturu peptidu než na složitější sekundární a terciární struktury cílových proteinů [175]. Metody imitace epitopu mají několik výhod, jednou z nich je možnost použití organického rozpouštědla, dále náklady na produkci peptidu jsou nižší než pro proteiny, navíc peptidy mohou být produkovány ve velmi čisté formě, takže lze dosáhnout zvýšené selektivity [20].

Rachkov et Minoura [175] poprvé demonstrovali tento přístup k rozpoznávání peptidů. Byly vybrány proteiny s exponovanými C-konci, protože toto místo je méně častým cílem pro post-translační modifikaci. Nonapeptidy byly vybrány na základě délky sekvence, protože představují téměř unikátní kódově nestruturované domény pro identifikaci specifického

proteinu. Mosbach et al. [99] prokázali účinné rozpoznávání krátkých oligopeptidů pomocí MIP.

Li et al. [179] provedli imitaci epitopu a proces zachycování a uvolňování závislý na teplotě. V jejich studii byly nanočástice SiO₂ imobilizovány kyselinou glycidoxypropyltrimethoxysilan-iminodiacetovou a 3- (trimethoxysilyl) propylmethakrylátem, aby se podpořila modifikace templátu. Po imobilizaci epitopu lidského sérového albuminu kotveného His-tag proteinem byla polymerizace provedena za použití N-isopropylakrylamidu jako monomeru, aby se získal imprintovaný povrch citlivý na teplo. Nakonec byl templát odstraněn kyselinou ethylendiamintetraoctovou a vytvořená epitopem potištěná místa mohla templát zachytit při 45 ° C a uvolnit ho při 4 ° C.

Lu et al. [180] použili metodu epitopového imprintování k detekci proteinu (glykoprotein 41, gp41). Gp41 je transmembránový protein viru HIV-1, který hraje důležitou roli při membránové fúzi mezi virem a infikovanou buňkou, tento protein je indexem určujícím průběh onemocnění a účinnost léčby. Jako funkční monomer byl použit dopamin, který byl polymerizován na povrchu čipu z křemenných krystalů (QCM, quartz crystal microbalance) v přítomnosti templátu syntetického peptidu s 35 aminokyselinovými zbytky, analogického zbytkům 579–613 proteinu gp41. Tento proces vedl k otisknutí hydrofilního filmu MIP na čip QCM. Měření QCM ukázalo, že výsledný film MIP měl nejen velkou afinitu k templátovému peptidu, ale také mohl specificky vázat odpovídající protein gp41.



Obrázek 11 Schéma epitopového imprintování [175].

2.2.1.3 Konkrétní aplikace

Albumin je hlavním proteinem krevní plazmy. Jeho syntéza probíhá v játrech. Důležitý je hlavně jeho pokles, který vede například k onemocnění jater, ledvin, tvorbě otoků a nádorů [181]. Ve studii Wang et al. [165] použili m-aminophenylborovou kyseliny (APBA) jako funkční monomer, MIP byly vyrobeny na povrchu skleněných kuliček za optimalizovaných podmínek. MIP byly imprintovány hovězím sérovým albuminem (BSA). Klíčovými faktory předpolymerizační reakce (mezi APBA a BSA) byly pH pufru, iontová síla a reakční doba. Tyto faktory byly optimalizovány a byly určeny ideální podmínky pro navázání proteinu. Výsledky ukázaly, že selektivita MIP vůči templátovému proteinu je lepší než u neimprintovaného polymeru (NIP). Zjistili, že specifické rozpoznávání závisí nejen na hydrofobních interakcích, ale také na kompatibilitě ve smyslu orientace funkční skupiny

a/nebo povrchového náboje mezi vazebnými místy a molekulami proteinu. BSA-MIP syntetizovaný pomocí této metody vykazuje dobrou selektivitu k templátu jak v jednoduchých, tak kompetitivních testech vazby na proteiny, pozorované Q_s (konečná rovnovážná adsorpční kapacita) MIP jsou nižší než u některých jiných MIP syntetizovaných analogickými přístupy, adsorpční kapacity byly hodnoceny podle množství navázaného proteinu získaného z proteinů nasycených polymerů.

Lysozym je malý enzym široce distribuovaný v savcích tkáních, jedná se o komerčně cenný enzym pro potravinářský průmysl a farmaceutické aplikace, s potenciálním využitím pro léčbu rakoviny a antimikrobiální přístupy [182]. Lysozym lyzuje určité bakterie hydrolyzou p-vazeb mezi muramovou kyselinou a N-acetylglukosaminem mukopolysacharidů, které jsou přítomny v bakteriální buněčné stěně. V medicíně používá jako bakteriolytické činidlo, léčení rány a antibiotický aktivátor. Jedním z hojných zdrojů lysozymu je vaječný bílek [183]. Odabaşı et al. [183] ve své studii připravili polymery s potiskem lysozymu, které lze použít k získání lysozymu z roztoků a vaječných bílků. Jako monomer s komplexem kovu byl vybrán N-methakryloyl- (1) -histidinemethylester (MAH). V prvním kroku byl Cu^{2+} komplexován s MAH a lysozymem potištěným polymerem (poly methylester hydroxyethylmethakrylát-N-methakryloyl- (L) -histidin). Lys-MIP částice byly syntetizovány UV polymerací. Poté byl templát (tj. lysozym) odstraněn za použití 0,1 M roztoku NaCl. Bylo zjištěno, že měrný povrch částic Lys-MIP je $22,9 \text{ m}^2 / \text{g}$ s velikostí v rozmezí 20–63 μm v průměru a poměr bobtnání byl 57 %. Podle výsledků elementární analýzy částice obsahovaly 421 μmol MAH / g polymeru. Maximální adsorpční kapacita lysozymu byla 12,1 mg / g polymeru. Částice Lys-MIP lze použít mnohokrát, aniž by se významně snížily jejich adsorpční kapacity.

Cytochrom c je hemový protein, který je lokalizován v kompartmentu mezi vnitřní a vnější mitochondriální membránou, kde funguje pro přenos elektronů mezi komplexem III a komplexem IV respiračního řetězce, buňky pomocí něho rozkládají glukózu a získávají tím energii ve formě ATP [184]. Dále se také cytochrom c účastní apoptózy, a to tak, že když buňka dostane apoptický stimul, cytochrom c je uvolněn do cytosolu a vyvolá programovanou buněčnou smrt [185]. Dechtrirat et al. [186] ve své studii použili cytochrom c z hovězího srdce. Cytochrom c obsahuje 9 aminokyselin, což se považuje za minimální délku potřebnou pro rozpoznávání proteinu. Detekce peptidů a proteinu ve vodném roztoku je v experimentu

demonstrována pomocí kombinace epitopového a povrchového elektrochemického imprintování. Byla připravena selektivní, ultratenká vrstva MIP přímo na povrchu sondy na bázi zlata. Jako templát pro imprintování byl použit syntetický peptid odvozený z povrchově aktivního C konce cytochromu c. Byl označen fluorescenčním barvivem, aby se kvantitativně vyhodnotily všechny fáze při imprintování pomocí změn intenzity fluorescence. Značený peptidový templát byl sorbován na zlatém povrchu přes C konec cysteinu. Po elektropolymerizaci se následně templát elektrochemicky odstranil a vzorová (imprintovaná) místa byla ukotvena na povrchu. Výsledná vrstva MIP byla schopna selektivně zachytit templátový peptid a odpovídající cílový protein. V případě rozpoznávání peptidů, MIP vrstva může rozlišit jednotlivé aminokyseliny, které jsou neshodné se sekvencí cílového peptidu [186].

Kreatinkináza (CK) je intracelulární enzym, který má klíčový význam v produkci energie při katalyzování tvorby adenosintrifosfátu (ATP) z adenosindifosfátu (ADP) a kreatinfosfátu. Výsledkem je dimerní molekula s podjednotkami M (sval) a B (mozek). Kreatinkináza se vyskytuje ve formě 3 izoenzymů (CK-MM, CK-MB, CK-BB). Hladina CK se považuje za nejcitlivějšího ukazatele nervosvalového poškození. Dále je také zvýšená například u onemocnění štítné žlázy a příštítných tělísek nebo diabetu [187]. Chen et al. [187] připravili MIP pro detekci CK s použitím mikrokontaktní metody. Jako funkční monomery byly použity jak styren, tak MAA a polyethylen glykol dimethylakrylát (PEG400DMA) jako síťovací činidlo. Bylo předpokládáno, že dva funkční monomery budou působit na dvou různých místech templátu a různými mechanismy, vzhledem k jejich rozdílné hydrofilní a hydrofobní povaze. Polymer vytvořený s 5 % MAA a 95 % PEG400DMA vykazoval vynikající rozpoznávací schopnosti. MIP vykazovaly vazby s maximální absorpcí dosaženou přibližně po 2 hodinách. Vzhledem k podobnosti pI CK (6,8) a myoglobinu (7,2) v pufru o pH 7,4 obě složky mají negativní náboj, a bylo překvapivé, že se dokázala udržet dobrá úroveň diskriminace. To je zajímavé hlavně z důvodu, že myoglobin je výrazně menší než CK a proto snadněji obsadí dutinu na povrchu polymeru utvořenou templátem, což ukazuje, že záleží na komplementaritě tvaru a ne na velikosti. Denaturace templátu způsobuje ztrátu interakce templátu/polymeru, vyrobené materiály mají potenciál při výrobě rozpoznávacích materiálů pro rozpoznávací zařízení. Dospěli k závěru, že dva funkční monomery zprostředkovávají rozpoznávání na různých místech molekuly templátu, různými mechanismy, vzhledem k jejich kontrastní hydrofilní a hydrofobní povaze.

Oxytocin je peptidový hormon a neurotransmitter. Jako hormon je produkován buňkami v hypotalamu a uvolňován do krve. Oxytocin, který je uvolňován na nervových terminálech jinde v mozku, je neurotransmitter. Oxytocin inhibuje reakce strachu v amygdale, tento hormon se stal známým jako tzv. „hormon důvěry“ [188, 190]. Oxytocin také ovlivňuje některé aspekty reprodukčního chování u savců [189]. Rachkov et Minoura. [177] ve své studii použili MIP specifický pro oxytocin. Oxytocin se skládá z následujících amino kyselin: Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂. Pro syntézu MIP použili malou sekvenci oxytocinu se třemi aminokyselinami, která byla použita pro rozpoznání celé sekvence oxytocinu. Polymer byl vyroben z kyseliny methakrylové (MAA) a ethylenglykol di-methakrylátu (EGDMA). V této studii se zaměřili na pH mobilní fáze, které má klíčovou roli ve vazbě. Dalším faktorem ovlivňujícím tento rozpoznávací proces byl poměr templátu a funkčního monomeru. Optimální poměr templát-peptid / MAA byl nalezen mezi 1:10 a 1:20. Přesné vyladění všech těchto parametrů umožnilo nalézt optimální vazebné podmínky pro nalezené polymery. Pro vyhodnocení selektivity MIP byl polymer vyrobený z templátového peptidu / MAA 1:10 testován na jeho vazebnou kapacitu vůči samotnému templátu a peptidům souvisejícím s oxytocinem. Mobilní fáze sestávala z 10 % vody / 90 % acetonitrilu, s různými koncentracemi kyseliny octové. Hodnoty separačního faktoru závisely na koncentraci kyseliny octové a pH. Nejlepší hodnota, 3,64, byla získána při pH 6,0 (2,5 mM kyselina octová), zatímco při pH 5,0 hodnota separačního faktoru klesla na 1,68. Ve své studii dokázali s použitím malého tetrapeptidu jako templátu syntetizovat MIP, které byly schopné rozpoznávat oxytocin, větší peptid mající stejný strukturální fragment jako fragment templátu, což může mít značné ekonomické výhody, malý peptid je obvykle levnější a množství nezbytné pro přípravu polymeru je dostupnější než množství odpovídajícího proteinu.

3 Závěr

V této bakalářské práci byly popsány obecné vlastnosti MIP, možné způsoby jejich přípravy a jejich použití. Dále byla práce zaměřena na aplikaci MIP v biosenzorech, konkrétně k analýze proteinových biomarkerů.

MIP jsou inteligentní materiály, které mohou rozpoznávat cílové molekuly podobným způsobem jako přírodní receptory. To, jaké budou mít konečné MIP vlastnosti je ovlivněno tím, jaké vznikají interakce mezi templátem a funkčními skupinami během jejich přípravy, ale také na typu použité polymerizace. MIP mají díky svým vlastnostem široké použití v mnoha oborech, používají se v chromatografii, k extrakci na pevné fází, jako katalyzátory, mají své uplatnění v analýze různých biologických vzorků, ale také se mohou použít ve farmakologii jako nosiče léčiv.

V posledních letech roste použití MIP ve spojení s biosenzory, kde fungují jako napodobeniny biologické rozpoznávací složky, enzymů a protilátek. Díky jejich vysoké citlivosti, selektivitě, krátké době přípravy a nízkým nákladům na jejich vývoj mají biosenzory na bázi MIP velký potenciál. Existují práce o jejich využití k rychlému odhalení patogenů, biomarkerů a toxinů v klinických, environmentálních vzorcích, nebo vzorcích z potravin. Biosenzory založené na MIP jsou schopné detegovat cílové nízkomolekulární i vysokomolekulární biomarkery pomocí svých specifických imprintovaných míst.

Biosenzory ve spojení s MIP se jeví jako účinná metoda i pro analýzu proteinových biomarkerů. Ty lze stanovit metodou epitopového a povrchového imprintování. Aplikace MIP biosenzorů za účelem identifikace proteinových biomarkerů má značný přínos v diagnostice nemoci, ovšem jedná se o poměrně novou metodu a je zapotřebí dalšího výzkumu.

4 Zdroje

- [1] MOSBACH, Klaus. Molecular imprinting. *Trends in Biochemical Sciences* [online]. 1994, **19**(1), 9–14. ISSN 09680004. Dostupné z: doi:10.1016/0968-0004(94)90166-X
- [2] KATZ, Alexander a Mark E. DAVIS. Molecular imprinting of bulk, microporous silica. *Nature* [online]. 2000, **403**(6767), 286–289. ISSN 00280836. Dostupné z: doi:10.1038/35002032
- [3] CHEN, Lingxin, Xiaoyan WANG, Wenhui LU, Xiaqing WU a Jinhua LI. Molecular imprinting: Perspectives and applications. *Chemical Society Reviews* [online]. 2016, **45**(8), 2137–2211. ISSN 14604744. Dostupné z: doi:10.1039/c6cs00061d
- [4] BYRNE, Mark E., Kinam PARK a Nicholas A. PEPPAS. Molecular imprinting within hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2002, **54**(1), 149–161. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/S0169-409X(01)00246-0
- [5] ISSAQ, Haleem J., Zhen XIAO a Timothy D. VEENSTRA. Serum and plasma proteomics. *Chemical Reviews* [online]. 2007, **107**(8), 3601–3620. ISSN 00092665. Dostupné z: doi:10.1021/cr068287r
- [6] LV, Yongqin, Tianwei TAN a Frantisek SVEC. Molecular imprinting of proteins in polymers attached to the surface of nanomaterials for selective recognition of biomacromolecules. *Biotechnology Advances* [online]. 2013, **31**(8), 1172–1186. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2013.02.005
- [7] ISKIERKO, Zofia, Piyush Sindhu SHARMA, Katarzyna BARTOLD, Agnieszka PIETRZYK-LE, Krzysztof NOWORYTA a Włodzimierz KUTNER. Molecularly imprinted polymers for separating and sensing of macromolecular compounds and microorganisms. *Biotechnology Advances* [online]. 2016, **34**(1), 30–46. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2015.12.002
- [8] HILT, J. Zachary a Mark E. BYRNE. Configurational biomimesis in drug delivery: Molecular imprinting of biologically significant molecules. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2004, **56**(11), 1599–1620. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2004.04.002
- [9] CIRILLO, Giuseppe, Manuela CURCIO, Ortensia Ilaria PARISI, Francesco PUOCI, Francesca IEMMA, Umile Gianfranco SPIZZIRRI a Nevio PICCI. Gastro-intestinal sustained release of phytic acid by molecularly imprinted microparticles. *Pharmaceutical Development and Technology* [online]. 2010, **15**(5), 526–531. ISSN 10837450. Dostupné z: doi:10.3109/10837450903397602
- [10] PUOCI, Francesco, Giuseppe CIRILLO, Manuela CURCIO, Francesca IEMMA, Ortensia Ilaria PARISI, Mariarosaria CASTIGLIONE a Nevio PICCI. Molecularly imprinted polymers for α -tocopherol delivery. *Drug Delivery*. 2008, **15**(4), 253–258.
- [11] ÖPIK, Andres, Anna MENAKER, Jekaterina REUT a Vitali SYRITSKI. Molecularly imprinted polymers: A new approach to the preparation of Functional materials. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences* [online]. 2009, **58**(1), 3–11. ISSN 17366046. Dostupné z: doi:10.3176/proc.2009.1.01

- [12] BITAS, Dimitrios a Victoria SAMANIDOU. Molecular Imprinting for Sample Preparation. *LCGC North America* [online]. 2018, **36**(10). Dostupné z: <http://www.chromatographyonline.com/molecular-imprinting-sample-preparation?pageID=3>
- [13] POLYAKOV, M. Adsorption Properties and Structure of Silica Gel. *Zhur. Fiz. Khim.* 1931, **2**, 799–805.
- [14] DICKEY, F.H. The preparation of specific adsorbents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1949, **35**, 227–229.
- [15] PAULING, Linus. A Theory of the Formation of Antibodies [online]. 1940, **372**(6). Dostupné z: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- [16] PATRIKKEEV, V., A. SCHOLIN a I. NIKIFOROVA. Specifically formed silica gels and a method of separating complex mixtures of organic substances. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Otd. Khim. Nauk.* 1963, **6**, 1031–1035.
- [17] REFAAT, Doaa, Mohamed G. AGGOUR, Ahmed A. FARGHALI, Rashmi MAHAJAN, Jesper G. WIKLANDER, Ian A. NICHOLLS a Sergey A. PILETSKY. Strategies for molecular imprinting and the evolution of MIP nanoparticles as plastic antibodies—synthesis and applications. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(24). ISSN 14220067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20246304
- [18] WULFF, G., A. SARHAN a K. ZABROCKI. Enzyme-Analogue Built Polymers and Their Use for the Resolution of Racemates. *Tetrahedron Lett.* 1973, **14**, 4329–4332.
- [19] HAUPT, Karsten a Klaus MOSBACH. Plastic antibodies: Developments and applications. *Trends in Biotechnology* [online]. 1998, **16**(11), 468–475. ISSN 01677799. Dostupné z: doi:10.1016/S0167-7799(98)01222-0
- [20] NISHINO, H., C.S. HUANG a K.J. SHEA. Selective protein capture by epitope imprinting. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 2006, **45**(15), 2392–2396.
- [21] BOLS, Pernille S. a Harry L. ANDERSON. Template-Directed Synthesis of Molecular Nanorings and Cages. *Accounts of Chemical Research* [online]. 2018, **51**(9), 2083–2092. ISSN 15204898. Dostupné z: doi:10.1021/acs.accounts.8b00313
- [22] CHAMBRON, Jean Claude a Jean Pierre SAUVAGE. Topologically complex molecules obtained by transition metal templation: It is the presentation that determines the synthesis strategy. *New Journal of Chemistry* [online]. 2013, **37**(1), 49–57. ISSN 13699261. Dostupné z: doi:10.1039/c2nj40555e
- [23] MARCOS, Vanesa, Alexander J. STEPHENS, Javier JARAMILLO-GARCIA, Alina L. NUSSBAUMER, Steffen L. WOLTERING, Alberto VALERO, Jean Francois LEMONNIER, Inigo J. VITORICA-YREZABAL a David A. LEIGH. Allosteric initiation and regulation of catalysis with a molecular knot. *Science* [online]. 2016, **352**(6293), 1555–1559. ISSN 10959203. Dostupné z: doi:10.1126/science.aaf3673
- [24] GUO, Jun, Paul C. MAYERS, Gloria A. BREAUULT a Christopher A. HUNTER. Synthesis of a molecular trefoil knot by folding and closing on an octahedral coordination template. *Nature Chemistry* [online]. 2010, **2**(3), 218–222. ISSN 17554330. Dostupné z: doi:10.1038/nchem.544

- [25] SELLERGRÉN, Borje a Andrew J. HALL. Molecularly imprinted polymers. *Supramolecular chemistry: from molecules to nanomaterials* [online]. 2012. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816906-3.00008-X
- [26] SELLERGRÉN, Börje. Polymer- and template-related factors influencing the efficiency in molecularly imprinted solid-phase extractions. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* [online]. 1999, **18**(3), 164–174. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(98)00117-4
- [27] SELLERGRÉN, Börje, Matti LEPISTOE a Klaus MOSBACHÖ. Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions. NMR and chromatographic studies on the nature of recognition. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1988, **110**(17), 5853–5860. ISSN 15205126. Dostupné z: doi:10.1021/ja00225a041
- [28] LEPISTOE, Matti a B. SELERGRÉN. Discrimination between amino acid amide conformers by imprinted polymers. *The Journal of Organic Chemistry*. 1989, **54**(26), 6010–6012.
- [29] SAMARTH, Nikesh B., Vinayak KAMBLE, Ajay Vasudeo MAHANWAR, PRAKASH A. AJAY VASUDEO RANE a Krishnan Kanny ABITHA. A historical perspective and the development of molecular imprinting polymer-A review. *Chemistry International*. 1n. 1., **4**(4), 202–210.
- [30] PERCEC, V, J. HECK, G. JOHANSSON a G. UNGAR. *Polym Preparation March*. 1993, 116–7.
- [31] STEINKE, J., D. C. SHERRINGTON a I. R. DUNKIN. Imprinting of synthetic polymers using molecular templates. *Advances in Polymer Science* [online]. 1995, **123**, 81–125. ISSN 00653195. Dostupné z: doi:10.1007/3-540-58908-2_3
- [32] THE EDITORS OF ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. *Monomer Chemical Compound* [online]. B.m.: Encyclopædia Britannica, inc., 2020. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/monomer>
- [33] HALL, Andrew J., Panagiotis MANESIOTIS, Marco EMGENBROICH, Milena QUAGLIA, Ersilia DE LORENZI a Börje SELLERGRÉN. Urea host monomers for stoichiometric molecular imprinting of oxyanions. *Journal of Organic Chemistry* [online]. 2005, **70**(5), 1732–1736. ISSN 00223263. Dostupné z: doi:10.1021/jo048470p
- [34] VASAPOLLO, Giuseppe, Roberta Del SOLE, Lucia MERGOLA, Maria Rosaria LAZZOI, Anna SCARDINO, Sonia SCORRANO a Giuseppe MELE. Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2011, **12**(9), 5908–5945. ISSN 14220067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms12095908
- [35] HART, B. R. a K. J. SHEA. Synthetic peptide receptors: Molecularly imprinted polymers for the recognition of peptides using peptide-metal interactions [8]. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 2001, **123**(9), 2072–2073. ISSN 00027863. Dostupné z: doi:10.1021/ja005661a
- [36] MAEDA, Mizuo a Richard A. BARTSCH. Molecular and Ionic Recognition with Imprinted Polymers: A Brief Overview. *ACS Symposium Series* [online]. 1998, **703**, 1–

8. ISSN 00976156. Dostupné z: doi:10.1021/bk-1998-0703.ch001

- [37] TAKEUCHI, Toshifumi, Takashi MUKAWA, Jun MATSUI, Miho HIGASHI a Ken D. SHIMIZU. Molecularly imprinted polymeric microspheres with metalloporphyrin-based molecular recognition sites coassembled with methacrylic acid. *Analytical Chemistry* [online]. 2001, **73**(16), 790–797. ISSN 09540083. Dostupné z: doi:10.1021/ac010278p
- [38] URRACA, Javier L., Andrew J. HALL, Maria C. MORENO-BONDI a Börje SELLERGREN. A stoichiometric molecularly imprinted polymer for the class-selective recognition of antibiotics in aqueous media. *Angewandte Chemie - International Edition* [online]. 2006, **45**(31), 5158–5161. ISSN 14337851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.200601636
- [39] DAUWE, Christian a Börje SELLERGREN. Influence of template basicity and hydrophobicity on the molecular recognition properties of molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A* [online]. 1996, **753**(2), 191–200. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(96)00564-X
- [40] UMPLEBY, R. J., G. T. RUSHTON, R. N. SHAH, A. M. RAMPEY, J. C. BRADSHAW, J. K. BERCH a K. D. SHIMIZU. Recognition directed site-selective chemical modification of molecularly imprinted polymers. *Macromolecules* [online]. 2001, **34**(24), 8446–8452. ISSN 00249297. Dostupné z: doi:10.1021/ma010903s
- [41] VAUGHAN, Asa D., S. Parker SIZEMORE a Mark E. BYRNE. Enhancing molecularly imprinted polymer binding properties via controlled/living radical polymerization and reaction analysis. *Polymer* [online]. 2007, **48**(1), 74–81. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2006.11.013
- [42] YOSHIMATSU, Keiichi, Kristina REIMHULT, Anatol KROZER, Klaus MOSBACH, Koji SODE a Lei YE. Uniform molecularly imprinted microspheres and nanoparticles prepared by precipitation polymerization: The control of particle size suitable for different analytical applications. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2007, **584**(1), 112–121. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2006.11.004
- [43] CORMACK, Peter A.G. a Amaia Zurutuza ELORZA. Molecularly imprinted polymers: Synthesis and characterisation. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* [online]. 2004, **804**(1), 173–182. ISSN 15700232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2004.02.013
- [44] PILETSKY, Sergey A., Antonio GUERREIRO, Elena V. PILETSKA, Iva CHIANELLA, Kal KARIM a Anthony P.F. TURNER. Polymer cookery. 2. Influence of polymerization pressure and polymer swelling on the performance of molecularly imprinted polymers. *Macromolecules* [online]. 2004, **37**(13), 5018–5022. ISSN 00249297. Dostupné z: doi:10.1021/ma0498161
- [45] SPIVAK, David, Marcella A. GILMORE a K. J. SHEA. Evaluation of binding and origins of specificity of 9-ethyladenine imprinted polymers. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1997, **119**(19), 4388–4393. ISSN 00027863. Dostupné z: doi:10.1021/ja963510v
- [46] PUOCI, Francesco, GIUSEPPE, Manuela CURCIO, Francesca IEMMA, Ortensia Ilaria PARISI, Umile Gianfranco SPIZZIRRI a Nevio PICCI. Molecularly Imprinted Polymers (PIMs) in Biomedical Applications. *Biopolymers* [online]. 2010. Dostupné z: doi:10.1002/polb.21911

z: doi:10.5772/10278

- [47] WULFF, Günter. The role of binding-site interactions in the molecular imprinting of polymers. *Trends in Biotechnology* [online]. 1993, **11**(3), 85–87. ISSN 01677799. Dostupné z: doi:10.1016/0167-7799(93)90056-F
- [48] KUGIMIYA, Akimitsu, Kazuyoshi YANO, Hitoshi MUGURUMA, Alfred V. ELGERSMAL, Isao KARUBEL, Jun MATSUI a Toshifumi TAKEUCHI. Recognition of sialic acid using molecularly imprinted polymer. *Analytical Letters* [online]. 1995, **28**(13), 2317–2323. ISSN 1532236X. Dostupné z: doi:10.1080/00032719508000375
- [49] WULFF, G., B. HEIDE a G. HELFMEIER. Enzyme-analog built polymers. 20. Molecular recognition through the exact placement of functional groups on rigid matrixes via a template approach. *Journal of the American Chemical Society*. 1986, **108**(5), 1089–1091.
- [50] WULFF, G., W. BEST a A. AKELAH. Enzyme-analogue built polymers, 17 Investigations on the racemic resolution of amino acids. *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents* [online]. 1984, **2**(3), 167–174. Dostupné z: doi:10.1016/0167-6989(84)90132-6
- [51] WULFF, G. a A. BIFFIS. Molecularly Imprinted Polymers. Man-Made Mimics of Antibodies and their Application. In: Börje SELLERGRÉN, ed. *Molecular Imprinted Polymers*. B.m.: Elsevier, Amsterdam, 2001, s. 71.
- [52] MARTIN, Paul D., Graeme R. JONES, Frances STRINGER a Ian D. WILSON. Comparison of normal and reversed-phase solid phase extraction methods for extraction of β -blockers from plasma using molecularly imprinted polymers. *Analyst* [online]. 2003, **128**(4), 345–350. ISSN 00032654. Dostupné z: doi:10.1039/b211787h
- [53] WULFF, Günter. Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers. *Chemical Reviews* [online]. 2002, **102**(1), 1–27. ISSN 00092665. Dostupné z: doi:10.1021/cr980039a
- [54] RESMINI, Marina. Molecularly imprinted polymers as biomimetic catalysts. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2012, **402**(10), 3021–3026. ISSN 16182642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-011-5671-2
- [55] MAFU, Lihle D., Titus A. M. MSAGATI a Bhekile B. MAMBA. Ion-imprinted polymers for environmental monitoring of inorganic pollutants: synthesis, characterization, and applications. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. 2013, **20**(2), 790–802. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-012-1215-3.
- [56] BONDI, M.C.M., J.L. URRACA, S. CARRASCO a F. NAVARRO-VILLOSLADA. Preparation of molecularly imprinted polymers. In: *Handbook of molecularly imprinted polymers*. B.m.: Smithers Rapra, 2013.
- [57] PARK, Joong Kon, Nasrullah SHAH, Mazhar UL-ISLAM a Muhammad HANEEF. A Brief Overview of Molecularly Imprinted Polymers: From Basics to Applications. *Journal of Pharmacy Research* [online]. 2012, **5**(6), 3309–3317. ISSN 0974-6943. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/281069506>
- [58] WHITCOMBE, Michael J., M. Esther RODRIGUEZ, Pablo VILLAR a Evgeny N.

- VULFSON. A New Method for the Introduction of Recognition Site Functionality into Polymers Prepared by Molecular Imprinting: Synthesis and Characterization of Polymeric Receptors for Cholesterol. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1995, **117**(27), 7105–7111. ISSN 15205126. Dostupné z: doi:10.1021/ja00132a010
- [59] KLEIN, Jens U., Michael J. WHITCOMBE, Francis MULHOLLAND a Evgeny N. VULFSON. Template-Mediated Synthesis of a Polymeric Receptor Specific to Amino Acid Sequences. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 1999, **38**(13/14), 2057–2060. ISSN 14337851. Dostupné z: doi:10.1002/(sici)1521-3773(19990712)38:13/14<2057::aid-anie2057>3.3.co;2-7
- [60] KIRSCH, N., C. ALEXANDER, S. DAVIES a M. J. WHITCOMBE. Sacrificial spacer and non-covalent routes toward the molecular imprinting of „poorly-functionalized" N-heterocycles. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2004, **504**(1), 63–71. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-2670(03)00510-5
- [61] CHEN, Lingxin, Shoufang XU a Jinhua LI. Recent advances in molecular imprinting technology: Current status, challenges and highlighted applications. *Chemical Society Reviews* [online]. 2011, **40**(5), 2922–2942. ISSN 03060012. Dostupné z: doi:10.1039/c0cs00084a
- [62] MACHYŇÁKOVÁ, Andrea a Katarína HROBOŇOVÁ. Možnosti prípravy polymérov s odtlačkami molekúl. *Chemicke Listy*. 2016, **110**(9), 609–615. ISSN 12137103.
- [63] YANG, Kaiguang, Martin Mingarini BERG, Changsheng ZHAO a Lei YE. One-pot synthesis of hydrophilic molecularly imprinted nanoparticles. *Macromolecules* [online]. 2009, **42**(22), 8739–8746. ISSN 00249297. Dostupné z: doi:10.1021/ma901761z
- [64] TAN, Chau Jin a Yen Wah TONG. Molecularly imprinted beads by surface imprinting. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2007, **389**(2), 369–376. ISSN 16182642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-007-1362-4
- [65] LI, Ping, Fei RONG a Chunwei YUAN. Morphologies and binding characteristics of molecularly imprinted polymers prepared by precipitation polymerization. *Polymer International* [online]. 2003, **52**(12), 1799–1806. ISSN 09598103. Dostupné z: doi:10.1002/pi.1381
- [66] JIN, Yuan, Ming JIANG, Yun SHI, Yi LIN, Yan PENG, Kang DAI a Bin LU. Narrowly dispersed molecularly imprinted microspheres prepared by a modified precipitation polymerization method. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2008, **612**(1), 105–113. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2008.02.011
- [67] PROKOPOVÁ, Irena. 7.5.3 Suspenzní polymerizace. In: *Makromolekulární chemie*. 2nd vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2007, s. 109. ISBN 978-80-7080-662-3.
- [68] LOVELL, PETER, A. a S. EL ASSER MOHAMED. *Emulsion polymerization and emulsion polymers*. B.m.: John Wiley & Sons, 1997. ISBN 978-0-471-96746-0.
- [69] BIFFIS, Andrea, Gita DVOŘÁKOVÁ a Aude FALCIMAIGNE-CORDIN. Physical forms of MIPs. In: *Molecular Imprinting* [online]. Berlin: Springer, 2010, s. 29–82. Dostupné z: doi:10.1007/128_2010_110

- [70] MAYES, Andrew G. a Klaus MOSBACH. Molecularly Imprinted Polymer Beads: Suspension Polymerization Using a Liquid Perfluorocarbon as the Dispersing Phase. *Analytical Chemistry* [online]. 1996, **68**(21), 3769–3774. ISSN 00032700. Dostupné z: doi:10.1021/ac960363a
- [71] KEMPE, Henrik a Maria KEMPE. Novel Method for the Synthesis of Molecularly Imprinted Polymer Bead Libraries. *Macromolecular Rapid Communications* [online]. 2004, **25**(1), 315–320. ISSN 10221336. Dostupné z: doi:10.1002/marc.200300189
- [72] KEMPE, Henrik a Maria KEMPE. Development and evaluation of spherical molecularly imprinted polymer beads. *Analytical Chemistry* [online]. 2006, **78**(11), 3659–3666. ISSN 00032700. Dostupné z: doi:10.1021/ac060068i
- [73] ZHANG, Yi, Ruijin LIU, Yuling HU a Gongke LI. Microwave heating in preparation of magnetic molecularly imprinted polymer beads for trace triazines analysis in complicated samples. *Analytical Chemistry* [online]. 2009, **81**(3), 967–976. ISSN 00032700. Dostupné z: doi:10.1021/ac8018262
- [74] CHERN, Chorng-Shyan. 1.2 Emulsion Polymerization. In: *Principles and applications of emulsion polymerization* [online]. B.m.: John Wiley & Sons, 2008, s. 5–10. Dostupné z: <https://books.google.co.nz/books?hl=cs&lr=&id=kyFg9AOW2FYC&oi=fnd&pg=PR5&dq=Principles+and+applications+of+emulsion+polymerization+chern+2008&ots=Tc0CNt0NCm&sig=5tlnFt0FnD2GZ09IJ8ZakiyNxQY#v=onepage&q=Principles and applications of emulsion polymerization>
- [75] LANDFESTER, Katharina, Nina BECHTHOLD, Franca TIARKS a Markus ANTONIETTI. Miniemulsion Polymerization with Cationic and Nonionic Surfactants: A Very Efficient Use of Surfactants for Heterophase Polymerization. *Macromolecules* [online]. 1999, **32**(8), 2679–2683. ISSN 00249297. Dostupné z: doi:10.1021/ma9819438
- [76] PÉREZ, Natalia, Michael J. WHITCOMBE a Evgeny N. VULFSON. Molecularly imprinted nanoparticles prepared by core-shell emulsion polymerization. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2000, **77**(8), 1851–1859. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/1097-4628(20000822)77:8<1851::AID-APP23>3.0.CO;2-J
- [77] VAIHINGER, Dorothea, Katharina LANDFESTER, Iris KRÄUTER, Herwig BRUNNER a Günter E.M. TOVAR. Molecularly imprinted polymer nanospheres as synthetic affinity receptors obtained by miniemulsion polymerisation. *Macromolecular Chemistry and Physics* [online]. 2002, **203**(13), 1965–1973. ISSN 10221352. Dostupné z: doi:10.1002/1521-3935(200209)203:13<1965::AID-MACP1965>3.0.CO;2-C
- [78] KOIDE, Yoshifumi, Hirofumi SENBA, Hideto SHOSENJI, Mizuo MAEDA a Makoto . TAKAGI. Selective Adsorption of Metal Ions to Surface-Template Resins Prepared by Emulsion Polymerization Using 10-(p-Vinylphenyl)decanoic Acid. *KOIDE, Yoshifumi, Hirofumi SENBA, Hideto SHOSENJI, Mizuo MAEDA a Makoto TAKAGI. Bulletin of the Chemical Society of Japan* [online]. 1996, **69**(1), 125–130. Dostupné z: doi:10.1246/bcsj.69.125
- [79] YOSHIDA, Masahiro, Kazuya UEZU, Fumiyuki NAKASHIO a Masahiro GOTO. Spacer effect of novel bifunctional organophosphorus monomers in metal-imprinted polymers prepared by surface template polymerization. *Journal of Polymer Science, Part*

- A: *Polymer Chemistry* [online]. 1998, **36**(15), 2727–2734. ISSN 0887624X. Dostupné z: doi:10.1002/(SICI)1099-0518(19981115)36:15<2727::AID-POLA8>3.0.CO;2-X
- [80] CARTER, Steven R. a Stephen RIMMER. Surface molecularly imprinted polymer core-shell particles. *Advanced Functional Materials* [online]. 2004, **14**(6), 553–561. ISSN 1616301X. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.200305069
- [81] QUIRK, R.P., D.J. KINNING a L.J. FETTERS. Block copolymers. In: *Comprehensive Polymer Science and Supplements* [online]. 1989, s. 1–26. ISSN 13590294. Dostupné z: doi:10.1016/S1359-0294(00)00078-9
- [82] GAMA, Mariana Roberto a Carla Beatriz Grespan BOTTOLI. Molecularly imprinted polymers for bioanalytical sample preparation. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* [online]. 2017, **1043**, 107–121. ISSN 1873376X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2016.09.045
- [83] STEVENSON, Derek, Hazim F. EL-SHARIF a Subrayal M. REDDY. Selective extraction of proteins and other macromolecules from biological samples using molecular imprinted polymers. *Bioanalysis* [online]. 2016, **8**(21), 2255–2263. ISSN 17576199. Dostupné z: doi:10.4155/bio-2016-0209
- [84] ANSARI, Saeedeh a Majid KARIMI. Recent configurations and progressive uses of magnetic molecularly imprinted polymers for drug analysis. *Talanta* [online]. 2017, **167**(January), 470–485. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2017.02.049
- [85] MADIKIZELA, Lawrence Mzukisi, Nikita Tawanda TAVENGWA a Luke CHIMUKA. Applications of molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs and analgesics from environmental waters and biological samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2018, **147**, 624–633. ISSN 1873264X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2017.04.010
- [86] ASHLEY, Jon, Mohammad Ali SHAHBAZI, Krishna KANT, Vinayaka Aaydha CHIDAMBARA, Anders WOLFF, Dang Duong BANG a Yi SUN. Molecularly imprinted polymers for sample preparation and biosensing in food analysis: Progress and perspectives. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2017, **91**(November 2016), 606–615. ISSN 18734235. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2017.01.018
- [87] VOGLIARDI, Susanna, Marianna TUCCI, Giulia STOCCHERO, Santo Davide FERRARA a Donata FAVRETTO. Sample preparation methods for determination of drugs of abuse in hair samples: A review. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2015, **857**, 1–27. ISSN 18734324. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2014.06.053
- [88] BOULANOUAR, S., S. MEZZACHE, A. COMBÈS a V. PICHON. Molecularly imprinted polymers for the determination of organophosphorus pesticides in complex samples. *Talanta* [online]. 2018, **176**(August 2017), 465–478. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2017.08.067
- [89] YI, Ling Xiao, Rou FANG a Guan Hua CHEN. Molecularly imprinted solid-phase extraction in the analysis of agrochemicals. *Journal of Chromatographic Science* [online]. 2013, **51**(7), 608–618. ISSN 00219665. Dostupné z: doi:10.1093/chromsci/bmt024
- [90] SARAFRAZ-YAZDI, Ali a Nourohoda RAZAVI. Application of molecularly-

- imprinted polymers in solid-phase microextraction techniques. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2015, **73**, 81–90. ISSN 18793142. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2015.05.004
- [91] SCORRANO, Sonia, Luigia LONGO a Giuseppe VASAPOLLO. Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction of 1-methyladenosine from human urine. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2010, **659**(1–2), 167–171. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2009.11.046
- [92] STEVENSON, Derek. Molecular imprinted polymers for solid-phase extraction. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* [online]. 1999, **18**(3), 154–158. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(98)00094-6
- [93] BAGGIANI, Claudio, Laura ANFOSSI a Cristina GIOVANNOLI. Solid phase extraction of food contaminants using molecular imprinted polymers. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2007, **591**(1 SPEC. ISS.), 29–39. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2007.01.056
- [94] SELLERGREN, Börje. Direct Drug Determination by Selective Sample Enrichment on an Imprinted Polymer. *Analytical Chemistry* [online]. 1994, **66**(9), 1578–1582. ISSN 15206882. Dostupné z: doi:10.1021/ac00081a036
- [95] TAMAYO, F. G., J. L. CASILLAS a A. MARTIN-ESTEBAN. Clean up of phenylurea herbicides in plant sample extracts using molecularly imprinted polymers. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2005, **381**(6), 1234–1240. ISSN 16182642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-005-3071-1
- [96] PUOCI, F., G. CIRILLO, M. CURCIO, F. IEMMA, U. G. SPIZZIRRI a N. PICCI. Molecularly imprinted solid phase extraction for the selective HPLC determination of α -tocopherol in bay leaves. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2007, **593**(2), 164–170. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2007.04.053
- [97] XIA, Yang, James E. MCGUFFEY, Sumita BHATTACHARYYA, Börje SELLERGREN, Ecevit YILMAZ, Lanqing WANG a John T. BERNERT. Analysis of the tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol in urine by extraction on a molecularly imprinted polymer column and liquid chromatography/atmospheric pressure ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* [online]. 2005, **77**(23), 7639–7645. ISSN 00032700. Dostupné z: doi:10.1021/ac058027u
- [98] SHAIKH, Huma, Najma MEMON, M. I. BHANGER, S. M. NIZAMANI a Adil DENIZLI. Core-shell molecularly imprinted polymer-based solid-phase microextraction fiber for ultra trace analysis of endosulfan I and II in real aqueous matrix through gas chromatography-micro electron capture detector. *Journal of Chromatography A* [online]. 2014, **1337**, 179–187. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2014.02.035
- [99] KEMPE, Maria a Klaus MOSBACH. Separation of amino acids, peptides and proteins on molecu.pdf. 1995, **691**, 317–323.
- [100] REMCHO, Vincent T. a Z. Jessica TAN. MIPs as chromatographic stationary. *Analytical Chemistry* [online]. 1999, **71**(7). ISSN 00032700. Dostupné z: doi:10.1021/ac990292q

- [101] YE, L., R. WEISS a K MOSBACH. Synthesis and Characterization of Molecularly Imprinted Microspheres. *Macromolecules* [online]. 2000, **33**(22), 8239–8245. Dostupné z: doi:10.1021/ma000825
- [102] BELBRUNO, Joseph J. Molecularly Imprinted Polymers. *Chemical Reviews* [online]. 2019, **119**(1), 94–119. ISSN 15206890. Dostupné z: doi:10.1021/acs.chemrev.8b00171
- [103] HAGINAKA, Jun. Monodispersed, molecularly imprinted polymers as affinity-based chromatography media. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* [online]. 2008, **866**(1–2), 3–13. ISSN 15700232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2007.07.019
- [104] MATSUI, Jun, Teru KATO, Toshifumi TAKEUCHI, Masayasu SUZUKI, Kenji YOKOYAMA, Eiichi TAMIYA a Isao KARUBE. Molecular Recognition in Continuous Polymer Rods Prepared by a Molecular Imprinting Technique. *Analytical Chemistry* [online]. 1993, **65**(17), 2223–2224. ISSN 15206882. Dostupné z: doi:10.1021/ac00065a009
- [105] YIN, Junfa, Gengliang YANG a Yi CHEN. Rapid and efficient chiral separation of nateglinide and its l-enantiomer on monolithic molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A* [online]. 2005, **1090**(1–2), 68–75. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2005.06.078
- [106] BARCIELA-ALONSO, María Carmen, Nerea OTERO-LAVANDEIRA a Pilar BERMEJO-BARRERA. Solid phase extraction using molecular imprinted polymers for phthalate determination in water and wine samples by HPLC-ESI-MS. *Microchemical Journal* [online]. 2017, **132**, 233–237. ISSN 0026265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2017.02.007
- [107] ALEXIADOU, Despina K., Niki C. MARAGOU, Nikolaos S. THOMAIDIS, Georgios A. THEODORIDIS a Michael A. KOUPPARIS. Molecularly imprinted polymers for bisphenol A for HPLC and SPE from water and milk. *Journal of Separation Science* [online]. 2008, **31**(12), 2272–2282. ISSN 16159306. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.200700643
- [108] FENG, Qin Zhong, Li Xia ZHAO, Wei YAN, Jin Ming LIN a Zhi Xia ZHENG. Molecularly imprinted solid-phase extraction combined with high performance liquid chromatography for analysis of phenolic compounds from environmental water samples. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2009, **167**(1–3), 282–288. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2008.12.115
- [109] SADOWSKI, Radosław a Renata GADZAŁA-KOPCIUCH. Isolation and determination of estrogens in water samples by solid-phase extraction using molecularly imprinted polymers and HPLC. *Journal of Separation Science* [online]. 2013, **36**(14), 2299–2305. ISSN 16159306. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.201300366
- [110] ALVAREZ-LORENZO, Carmen a Angel CONCHEIRO. Molecularly imprinted polymers for drug delivery. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* [online]. 2004, **804**(1), 231–245. ISSN 15700232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2003.12.032
- [111] ZAIDI, Shabi Abbas. Molecular imprinted polymers as drug delivery vehicles. *Drug Delivery* [online]. 2016, **23**(7), 2262–2271. ISSN 15210464. Dostupné z: doi:10.1080/10717544.2016.1191111

z: doi:10.3109/10717544.2014.970297

- [112] SUEDEE, Roongnapa, Teerapol SRICHANA a Gary P. MARTIN. Evaluation of matrices containing molecularly imprinted polymers in the enantioselective-controlled delivery of β -blockers. *Journal of Controlled Release* [online]. 2000, **66**(2–3), 135–147. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-3659(99)00261-8
- [113] CUTIVET, Arnaud, Carol SCHEMBRI, Jose KOVENSKY a Karsten HAUPT. Molecularly imprinted microgels as enzyme inhibitors. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 2009, **131**(41), 14699–14702. ISSN 00027863. Dostupné z: doi:10.1021/ja901600e
- [114] HOSHINO, Yu, Takashi KODAMA, Yoshio OKAHATA a Kenneth J. SHEA. Peptide imprinted polymer nanoparticles: A plastic antibody. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 2008, **130**(46), 15242–15243. ISSN 00027863. Dostupné z: doi:10.1021/ja8062875
- [115] TOKONAMI, Shiho, Hiroshi SHIIGI a Tsutomu NAGAOKA. Review: Micro- and nanosized molecularly imprinted polymers for high-throughput analytical applications. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2009, **641**(1–2), 7–13. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2009.03.035
- [116] WULFF, Günter, Byong Oh CHONG a Ute KOLB. Soluble single-molecule nanogels of controlled structure as a matrix for efficient artificial enzymes. *Angewandte Chemie - International Edition* [online]. 2006, **45**(18), 2955–2958. ISSN 14337851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.200503926
- [117] PILETSKY, Sergey A. a Anthony P.F. TURNER. *Imprinted polymers and their application in optical sensors* [online]. Second Edi. B.m.: Elsevier B.V., 2008. ISBN 9780444531254. Dostupné z: doi:10.1016/B978-044453125-4.50016-4
- [118] POMA, Alessandro, Anthony P.F. TURNER a Sergey A. PILETSKY. Advances in the manufacture of MIP nanoparticles. *Trends in Biotechnology* [online]. 2010, **28**(12), 629–637. ISSN 01677799. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibtech.2010.08.006
- [119] MORAL, Natalia Pérez a Andrew G. MAYES. Molecular imprinting of polymeric core-shell nanoparticles. *Materials Research Society Symposium - Proceedings* [online]. 2002, **723**, 61–66. ISSN 02729172. Dostupné z: doi:10.1557/proc-723-m3.2
- [120] CHEN, Jianrong, Hong HUANG, Yanbo ZENG, Huan TANG a Lei LI. A novel composite of molecularly imprinted polymer-coated PdNPs for electrochemical sensing norepinephrine. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2015, **65**, 366–374. ISSN 18734235. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2014.10.011
- [121] DUAN, Huimin, Leilei LI, Xiaojiao WANG, Yanhui WANG, Jianbo LI a Chuannan LUO. A sensitive and selective chemiluminescence sensor for the determination of dopamine based on silanized magnetic graphene oxide-molecularly imprinted polymer. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2015, **139**, 374–379. ISSN 13861425. Dostupné z: doi:10.1016/j.saa.2014.12.051
- [122] UZURIAGA-SÁNCHEZ, Rosario Josefina, Sabir KHAN, Ademar WONG, Gino PICASSO, Maria Isabel PIVIDORI a Maria Del Pilar Taboada SOTOMAYOR. Magnetically separable polymer (Mag-MIP) for selective analysis of biotin in food

- samples. *Food Chemistry* [online]. 2016, **190**, 460–467. ISSN 18737072. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.05.129
- [123] HARRIS, Catherine A., Pirkko HENTTU, Malcolm G. PARKER a John P. SUMPTER. The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. *Environmental Health Perspectives* [online]. 1997, **105**(8), 802–811. ISSN 00916765. Dostupné z: doi:10.1289/ehp.97105802
- [124] ZHANG, Zhaohui, Lijuan LUO, Rong CAI a Hongjun CHEN. A sensitive and selective molecularly imprinted sensor combined with magnetic molecularly imprinted solid phase extraction for determination of dibutyl phthalate. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2013, **49**, 367–373. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2013.05.054
- [125] DAMEN, J. a D. C. NECKERS. Stereoselective syntheses via a photochemical template effect. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1980, **102**(9), 3265–3267. Dostupné z: doi:10.1021/ja00529a073
- [126] WULFF, G., W. BEST a A. AKELAH. Investigations on the Racemic Resolution of. *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents* [online]. 1984, **2**(3), 167–174. Dostupné z: doi:doi:10.1016/0167-6989(84)90132-6
- [127] LEONHARDT, Andreas a Klaus MOSBACH. Enzyme-mimicking polymers exhibiting specific substrate binding and catalytic functions. *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents* [online]. 1987, **6**(2–3), 285–290. ISSN 01676989. Dostupné z: doi:10.1016/0167-6989(87)90099-7
- [128] MATSUI, Jun, Ian A. NICHOLLS, Isao KARUBE a Klaus MOSBACH. Carbon-carbon bond formation using substrate selective catalytic polymers prepared by molecular imprinting: An artificial class II aldolase. *Journal of Organic Chemistry* [online]. 1996, **61**(16), 5414–5417. ISSN 00223263. Dostupné z: doi:10.1021/jo9516805
- [129] CHEN, Zhiyong, Shan HUANG a Meiping ZHAO. *Molecularly Imprinted Polymers for Biomimetic Catalysts* [online]. B.m.: Elsevier Inc., 2016. ISBN 9780128013014. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-801301-4.00011-6
- [130] ANSELL, Richard J., Dario KRIZ a Klaus MOSBACH. Molecularly imprinted polymers for bioanalysis: Chromatography, binding assays and biomimetic sensors. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. 1996, **7**(1), 89–94. ISSN 09581669. Dostupné z: doi:10.1016/S0958-1669(96)80101-7
- [131] STRIKOVSKY, Alexander G., Dirk KASPER, Michael GRÜN, Bernard S. GREEN, Jiri HRADIL a Günter WULFF. Catalytic molecularly imprinted polymers using conventional bulk polymerization or suspension polymerization: Selective hydrolysis of diphenyl carbonate and diphenyl carbamate [5]. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 2000, **122**(26), 6295–6296. ISSN 00027863. Dostupné z: doi:10.1021/ja994269y
- [132] DRAMOU, Pierre a Nazia TARANNUM. Molecularly Imprinted Catalysts: Synthesis and Applications. In: Songjun LI, Shunsheng CAO, Sergey A. PILETSKY a Anthony P.F. TURNE, ed. *Molecularly Imprinted Catalysts: Principles, Syntheses, and Applications*. B.m.: Elsevier, 2015, s. 35–55.

- [133] SURIYANARAYANAN, Subramanian, Piotr J., Artur J. CYWINSKI, Gerhard J. Mohr MORO a Włodzimierz KUTNER. Chemosensors Based on Molecularly Imprinted Polymers. In: *Molecular Imprinting* [online]. B.m.: Springer, Berlin, Heidelberg, 2010, s. 165–265. ISBN 978-3-540-73346-1. Dostupné z: doi:10.1007/128_2010_92
- [134] PILETSKY, Sergey A., Susan ALCOCK a Anthony P.F. TURNER. Molecular imprinting: At the edge of the third millennium. *Trends in Biotechnology* [online]. 2001, **19**(1), 9–12. ISSN 01677799. Dostupné z: doi:10.1016/S0167-7799(00)01523-7
- [135] KAWAMURA, Akifumi a Takashi MIYATA. 4.2 Biosensors. *Biomaterials Nanoarchitectonics* [online]. 2016, 157–176. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-37127-8/00010-8
- [136] DI LORENZO, M. *Use of Microbial Fuel Cells in Sensors* [online]. B.m.: Elsevier Ltd., 2016. ISBN 9781782423966. Dostupné z: doi:10.1016/B978-1-78242-375-1.00011-3
- [137] YANO, Kazuyoshi a Isao KARUBE. Molecularly imprinted polymers for biosensor applications. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* [online]. 1999, **18**(3), 199–204. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(98)00119-8
- [138] BETTAZZI, Francesca, Giovanna MARRAZZA, Maria MINUNNI, Ilaria PALCHETTI a Simona SCARANO. *Biosensors and Related Bioanalytical Tools* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, 2017. ISSN 0166526X. Dostupné z: doi:10.1016/bs.coac.2017.05.003
- [139] UYGUN, Zihni Onur, Hilmiye Deniz ERTUGRUL UYGUN, Nihal ERMIS a Erhan CANBAY. Molecularly Imprinted Sensors — New Sensing Technologies. *Biosensors - Micro and Nanoscale Applications* [online]. 2015. Dostupné z: doi:10.5772/60781
- [140] BELLUZO, María Soledad, María Élide RIBONE a Claudia Marina LAGIER. Assembling amperometric biosensors for clinical diagnostics. *Sensors* [online]. 2008, **8**(3), 1366–1399. ISSN 14243210. Dostupné z: doi:10.3390/s8031366
- [141] LI, Runfa, Yonghai FENG, Guoqing PAN a Lei LIU. Advances in molecularly imprinting technology for bioanalytical applications. *Sensors (Switzerland)* [online]. 2019, **19**(1). ISSN 14248220. Dostupné z: doi:10.3390/s19010177
- [142] KARFA, Paramita, Ekta ROY, Santanu PATRA, Deepak KUMAR, Rashmi MADHURI a Prashant K. SHARMA. A fluorescent molecularly-imprinted polymer gate with temperature and pH as inputs for detection of alpha-fetoprotein. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2016, **78**, 454–463. ISSN 18734235. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2015.11.092
- [143] BERTI, Francesca, Silvia TODROS, Dhana LAKSHMI, Michael J. WHITCOMBE, Iva CHIANELLA, Matteo FERRONI, Sergey A. PILETSKY, Anthony P.F. TURNER a Giovanna MARRAZZA. Quasi-monodimensional polyaniline nanostructures for enhanced molecularly imprinted polymer-based sensing. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2010, **26**(2), 497–503. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2010.07.063
- [144] PEETERS, M. Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) for bioanalytical sensors: Strategies for incorporation of MIPs into sensing platforms. *Austin J. Biosens. Bioelectron.* 2015, **1**(3), 1–5.

- [145] MALITESTA, Cosimino, Elisabetta MAZZOTTA, Rosaria A. PICCA, Alessandro POMA, Iva CHIANELLA a Sergey A. PILETSKY. MIP sensors - The electrochemical approach. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2012, **402**(5), 1827–1846. ISSN 16182642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-011-5405-5
- [146] NUNES, G. S., D. BARCELÓ, B. S. GRABARIC, J. M. DÍAZ-CRUZ a M. L. RIBEIRO. Evaluation of a highly sensitive amperometric biosensor with low cholinesterase charge immobilized on a chemically modified carbon paste electrode for trace determination of carbamates in fruit, vegetable and water samples. *Analytica Chimica Acta* [online]. 1999, **399**(1–2), 37–49. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-2670(99)00574-7
- [147] PILETSKY, S. A., E. V. PILETSKAYA, A. V. ELGERSMA, K. YANO, I. KARUBE, Yu P. PARHOMETZ a A. V. EL'SKAYA. Atrazine sensing by molecularly imprinted membranes. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 1995, **10**(9–10), 959–964. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/0956-5663(95)99233-B
- [148] ZOUGAGH, Mohammed, Angel RÍOS a Miguel VALCÁRCEL. Automatic selective determination of caffeine in coffee and tea samples by using a supported liquid membrane-modified piezoelectric flow sensor with molecularly imprinted polymer. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2005, **539**(1–2), 117–124. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2005.02.060
- [149] FENG, Liang, Yongjun LIU, Yiyong TAN a Jiming HU. Biosensor for the determination of sorbitol based on molecularly imprinted electrosynthesized polymers. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2004, **19**(11), 1513–1519. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2003.12.007
- [150] SUEDEE, Roongnapa, Teerapol SRICHANA, Chutcharin SANGPAGAI, Chanpa TUNTHANA a Pikul VANICHAPICHAT. Development of trichloroacetic acid sensor based on molecularly imprinted polymer membrane for the screening of complex mixture of haloacetic acids in drinking water. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2004, **504**(1), 89–100. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-2670(03)00951-6
- [151] DICKERT, Franz L., Matthias TORTSCHANOFF, Wolf E. BULST a Gerhard FISCHERAUER. Molecularly imprinted sensor layers for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Analytical Chemistry* [online]. 1999, **71**(20), 4559–4563. ISSN 00032700. Dostupné z: doi:10.1021/ac990513s
- [152] TAKEUCHI, Toshifumi, Akira DOBASHI a Kanako KIMURA. Molecular imprinting of biotin derivatives and its application to competitive binding assay using nonisotopic labeled ligands. *Analytical Chemistry* [online]. 2000, **72**(11), 2418–2422. ISSN 00032700. Dostupné z: doi:10.1021/ac991357s
- [153] KUGIMIYA, Akimitsu, Yasuyuki KUWADA a Toshifumi TAKEUCHI. Preparation of sterol-imprinted polymers with the use of 2-(methacryloyloxy)ethyl phosphate. *Journal of Chromatography A* [online]. 2001, **938**(1–2), 131–135. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(01)01384-X
- [154] KUGIMIYA, Akimitsu a Toshifumi TAKEUCHI. Molecular recognition by indoleacetic acid-imprinted polymers - Effects of 2-hydroxyethyl methacrylate content. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2002, **372**(2), 305–307. ISSN 09370633.

Dostupné z: doi:10.1007/s00216-001-1176-8

- [155] LEE, Jeong O., Hye Mi SO, Eun Kyoung JEON, Hyunju CHANG, Keehoon WON a Yong Hwan KIM. Aptamers as molecular recognition elements for electrical nanobiosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2008, **390**(4), 1023–1032. ISSN 16182642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-007-1643-y
- [156] SELVOLINI, Giulia a Giovanna MARRAZZA. MIP-based sensors: Promising new tools for cancer biomarker determination. *Sensors (Switzerland)* [online]. 2017, **17**(4). ISSN 14248220. Dostupné z: doi:10.3390/s17040718
- [157] RAVALLI, Andrea, Diego VOCCIA, Iliaria PALCHETTI a Giovanna MARRAZZA. Electrochemical, electrochemiluminescence, and photoelectrochemical aptamer-based nanostructured sensors for biomarker analysis. *Biosensors* [online]. 2016, **6**(3). ISSN 20796374. Dostupné z: doi:10.3390/bios6030039
- [158] JETZSCHMANN, K. J., X. ZHANG, A. YARMAN, U. WOLLENBERGER a F. W. SCHELLER. Free MIP Sensors for Protein Biomarkers. In: Schöning M. a Poghossian A., ed. *Label-Free Biosensing: Advanced Materials, Devices and Applications* [online]. B.m.: Springer, Cham, 2017, s. 291–321. ISBN 978-3-319-75220-4. Dostupné z: doi:10.1007/5346_2017_3
- [159] MAYEUX, Richard. Biomarkers: Potential Uses and Limitations. *NeuroRx* [online]. 2004, **1**(2), 182–188. ISSN 15455343. Dostupné z: doi:10.1602/neurorx.1.2.182
- [160] ERTÜRK, Gizem a Rolf LOOD. Ultrasensitive detection of biomarkers by using a molecular imprinting based capacitive biosensor. *Journal of Visualized Experiments* [online]. 2018, **2018**(132), 1–9. ISSN 1940087X. Dostupné z: doi:10.3791/57208
- [161] DORKÓ, Zsanett, Anett SZAKOLCZAI, Tatjana VERBIC a George HORVAI. Binding capacity of molecularly imprinted polymers and their nonimprinted analogs. *Journal of Separation Science* [online]. 2015, **38**(24), 4240–4247. ISSN 16159314. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.201500874
- [162] TAN, Chau Jin, Shalom WANGRANGSIMAKUL, Renbi BAI a Yen Wan TONG. Defining the interactions between proteins and surfactants for nanoparticle surface imprinting through miniemulsion polymerization. *Chemistry of Materials* [online]. 2008, **20**(1), 118–127. ISSN 08974756. Dostupné z: doi:10.1021/cm702174y
- [163] BOSSI, A., S. A. PILETSKY, E. V. PILETSKA, P. G. RIGHETTI a A. P.F. TURNER. Surface-grafted molecularly imprinted polymers for protein recognition. *Analytical Chemistry* [online]. 2001, **73**(21), 5281–5286. ISSN 00032700. Dostupné z: doi:10.1021/ac0006526
- [164] YILMAZ, Ecevit, Karsten HAUPT a Klaus MOSBACH. The use of immobilized templates - A new approach in molecular imprinting. *Angewandte Chemie - International Edition* [online]. 2000, **39**(12), 2115–2118. ISSN 14337851. Dostupné z: doi:10.1002/1521-3773(20000616)39:12<2115::AID-ANIE2115>3.0.CO;2-V
- [165] WANG, Huafang, Wenyu LI, Xiwen HE, Langxing CHEN a Yukui ZHANG. m-Aminophenylboronic acid as a functional monomer for fabricating molecularly imprinted polymer for the recognition of bovine serum albumin. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2008, **68**(9), 1291–1296. ISSN 13815148. Dostupné

z: doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2008.06.002

- [166] DABROWSKI, Marcin, Patrycja LACH, Maciej CIEPLAK a Włodzimierz KUTNER. Nanostructured molecularly imprinted polymers for protein chemosensing. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2018, **102**, 17–26. ISSN 18734235. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2017.10.045
- [167] WANG, Zonghua, Feng LI, Jianfei XIA, Lin XIA, Feifei ZHANG, Sai BI, Guoyu SHI, Yanzhi XIA, Jingquan LIU, Yanhui LI a Linhua XIA. An ionic liquid-modified graphene based molecular imprinting electrochemical sensor for sensitive detection of bovine hemoglobin. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2014, **61**, 391–396. ISSN 18734235. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2014.05.043
- [168] MOREIRA, Felismina T.C., Rosa A.F. DUTRA, João P.C. NORONHA a M. Goreti F. SALES. Electrochemical biosensor based on biomimetic material for myoglobin detection. *Electrochimica Acta* [online]. 2013, **107**, 481–487. ISSN 00134686. Dostupné z: doi:10.1016/j.electacta.2013.06.061
- [169] MOREIRA, Felismina T.C., Sanjiv SHARMA, Rosa A.F. DUTRA, João P.C. NORONHA, Anthony E.G. CASS a M. Goreti F. SALES. Smart plastic antibody material (SPAM) tailored on disposable screen printed electrodes for protein recognition: Application to myoglobin detection. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2013, **45**(1), 237–244. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2013.02.012
- [170] DING, Xiaochu a Patricia A. HEIDEN. Recent developments in molecularly imprinted nanoparticles by surface imprinting techniques. *Macromolecular Materials and Engineering* [online]. 2014, **299**(3), 268–282. ISSN 14387492. Dostupné z: doi:10.1002/mame.201300160
- [171] CAI, Dong, Lu REN, Huaizhou ZHAO, Chenjia XU, Lu ZHANG, Ying YU, Hengzhi WANG, Yucheng LAN, Mary F. ROBERTS, Jeffrey H. CHUANG, Michael J. NAUGHTON, Zhifeng REN a Thomas C. CHILES. A molecular-imprint nanosensor for ultrasensitive detection of proteins. *Nature Nanotechnology* [online]. 2010, **5**(8), 597–601. ISSN 17483395. Dostupné z: doi:10.1038/nnano.2010.114
- [172] MATHUR, Aabhas, Steven BLAIS, Chandra M.V. GOPARAJU, Thomas NEUBERT, Harvey PASS a Kalle LEVON. Development of a Biosensor for Detection of Pleural Mesothelioma Cancer Biomarker Using Surface Imprinting. *PLoS ONE* [online]. 2013, **8**(3), 1–8. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0057681
- [173] SHI, Hualqiu, Wel Bor TSAL, Michael D. GARRISON, Sandro FERRARI a Buddy D. RATNER. Template-imprinted nanostructured surfaces for protein recognition. *Nature* [online]. 1999, **398**(6728), 593–597. ISSN 00280836. Dostupné z: doi:10.1038/19267
- [174] MA, Xiong Hui, Jian Ping LI, Chao WANG a Guo Bao XU. A Review on Bio-macromolecular Imprinted Sensors and Their Applications. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2016, **44**(1), 152–159. ISSN 18722040. Dostupné z: doi:10.1016/S1872-2040(16)60898-8
- [175] RACHKOV, Alexandre a Norihiko MINOURA. Towards molecularly imprinted polymers selective to peptides and proteins. The epitope approach. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology* [online]. 2001, **1544**(1–2), 255–266. ISSN 01674838. Dostupné z: doi:10.1016/S0167-4838(00)00226-0

- [176] RACHKOV, Alexandre a Norihiko MINOURA. Recognition of oxytocin and oxytocin-related peptides in aqueous media using a molecularly imprinted polymer synthesized by the epitope approach. *Journal of Chromatography A* [online]. 2000, **889**(1–2), 111–118. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(00)00568-9
- [177] RACHKOV, A, N MINOURA a T SHIMIZU. Peptide separation using molecularly imprinted polymer prepared by epitope approach. *Analytical sciences* [online]. 2001, **17**, 609–612. Dostupné z: http://www.soc.nii.ac.jp/jsac/analsci/ICAS2001/pdfs/0600/0609_1i05n.pdf
- [178] ERTÜRK, Gizem, Lokman UZUN, M. Aşkin TÜMER, Ridvan SAY a Adil DENIZLI. Fab fragments imprinted SPR biosensor for real-time human immunoglobulin G detection. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2011, **28**(1), 97–104. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2011.07.004
- [179] LI, Senwu, Kaiguang YANG, Nan DENG, Yi MIN, Lukuan LIU, Lihua ZHANG a Yukui ZHANG. Thermoresponsive Epitope Surface-Imprinted Nanoparticles for Specific Capture and Release of Target Protein from Human Plasma. *ACS Applied Materials and Interfaces* [online]. 2016, **8**(9), 5747–5751. ISSN 19448252. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.5b11415
- [180] LU, Chun Hua, Yan ZHANG, Shui Fen TANG, Zhi Bin FANG, Huang Hao YANG, Xi CHEN a Guo Nan CHEN. Sensing HIV related protein using epitope imprinted hydrophilic polymer coated quartz crystal microbalance. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2012, **31**(1), 439–444. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2011.11.008
- [181] ROBERTS, Ian. Human albumin administration in critically ill patients: Systematic review of randomised controlled trials. *British Medical Journal* [online]. 1998, **317**(7153), 235–240. ISSN 09598146. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.317.7153.235
- [182] GRUMEZESCU, V., A. M. HOLBAN, I. BARBU, R. C. POPESCU, A. E. OPREA, V. LAZAR, A. M. GRUMEZESCU a M. C. CHIFIRIUC. *Nanoarchitectonics Used in Antiinfective Therapy* [online]. B.m.: Elsevier Inc., 2016. ISBN 9780128036686. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-803642-6.00007-1
- [183] ODABAŞI, Mehmet, Ridvan SAY a Adil DENIZLI. Molecular imprinted particles for lysozyme purification. *Materials Science and Engineering C* [online]. 2007, **27**(1), 90–99. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2006.03.002
- [184] HOUGH, Michael A., Gary SILKSTONE, J. A.R. WORRALL a Michael T. WILSON. *NO Binding to the Proapoptotic Cytochrome c-Cardiolipin Complex* [online]. 1. vyd. B.m.: Elsevier Inc., 2014. ISBN 9780128002544. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-800254-4.00008-8
- [185] OW, Yong Ling P., Douglas R. GREEN, Zhenyue HAO a Tak W. MAK. Cytochrome c: Functions beyond respiration. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2008, **9**(7), 532–542. ISSN 14710072. Dostupné z: doi:10.1038/nrm2434
- [186] DECHTRIRAT, Decha, Katharina J. JETZSCHMANN, Walter F.M. STÖCKLEIN, Frieder W. SCHELLER a Nenad GAJOVIC-EICHELMANN. Protein rebinding to a surface-confined imprint. *Advanced Functional Materials* [online]. 2012, **22**(24), 5231–5237. ISSN 1616301X. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.201201328

- [187] CHEN, Yi Wen, John RICK a Tse Chuan CHOU. A systematic approach to forming micro-contact imprints of creatine kinase. *Organic and Biomolecular Chemistry* [online]. 2009, **7**(3), 488–494. ISSN 14770520. Dostupné z: doi:10.1039/b813361a
- [188] FEHER, Joseph. Hypothalamus and Pituitary Gland. *Quantitative Human Physiology* [online]. 2017, 870–882. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-800883-6.00085-9
- [189] GERACIOTI, T. D., J. R. STRAWN, N. N. EKHATOR, M. WORTMAN a J. KASCKOW. Neuroregulatory peptides of central nervous system origin: From laboratory to clinic. *Hormones, Brain and Behavior Online* [online]. 2009, 2541–2599. Dostupné z: doi:10.1016/B978-008088783-8.00082-6
- [190] NUMAN, Michael. *Parental Behavior* [online]. 2015. ISBN 9780124160408. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-416040-8.00005-5