

核酸适配体生物传感器用于内分泌干扰物快速检测研究进展

王紫璇^{1,2}, 孙洁芳^{2*}, 邵兵^{1,2}

(1. 中国医科大学公共卫生学院, 沈阳 110001; 2. 北京市疾病预防控制中心食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013)

摘要: 内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)是一种外源性化学物质, 食物是人体摄入这些化学物的主要来源, 当人体摄入受到环境或食物接触材料污染的食物, 其中的 EDCs 很容易进入人体并蓄积, 能在不同程度上干扰内源性激素系统, 导致不良健康影响。常用的仪器分析方法耗时费力且成本高昂, 难以满足现场快速检测的要求。核酸适配体是通过体外指数富集的配基系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)策略系统筛选出的单链寡核苷酸分子, 具有易合成、易修饰、性质稳定、特异性好和亲和常数高等优势, 已广泛应用于生物传感检测方法的构建。基于核酸适配体识别的电化学或光学的 EDCs 快速检测方法具有使用简便、响应快速、便于现场筛查使用的优势, 可以与实验室精准检测技术优势互补。本文综述了近年来基于核酸适配体识别构建的电化学、光学传感器对食品中 EDCs 快速检测的研究进展, 总结了该领域面临的挑战和发展方向, 为核酸适配体传感检测技术在 EDCs 识别深入研究提供参考。

关键词: 内分泌干扰物; 核酸适配体; 现场检测; 生物传感器

Advanced in the rapid detection of endocrine disrupting chemicals by the aptamer-based biosensor

WANG Zi-Xuan^{1,2}, SUN Jie-Fang^{2*}, SHAO Bing^{1,2}

(1. School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001, China; 2. Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing 100013, China)

ABSTRACT: Endocrine disrupting chemicals (EDCs) are exogenous chemicals, and foods are the main source of these chemicals ingested by the human body. When the human body ingests food contaminated by the environment or food contact materials, EDCs can easily enter the human body and accumulate, which can interfere with endogenous hormone systems to varying degrees, leading to adverse health effects. The commonly used instrumental analysis method is time-consuming and costly, which is difficult to meet the requirements of rapid on-site detection. Aptamers are single-stranded oligonucleotide molecules screened by *in vitro* systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) strategy system, which have advantages of easy synthesis, easy modification, stable properties,

基金项目: 首都卫生发展科研专项(2018-4-1014)、国家重点研发计划项目(2018YFC1602600)

Fund: Supported by the Capital Health Development Scientific Research Project (2018-4-1014), and the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1602600)

*通信作者: 孙洁芳, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全。E-mail: sunjf2001@163.com

*Corresponding author: SUN Jie-Fang, Ph.D, Associate Professor, Beijing Center for Disease Control and Prevention, No.16, Hepingli Road, Dongcheng District, Beijing 100013, China. E-mail: sunjf2001@163.com

good specificity, and high affinity constant, which are widely used in the construction of biosensor detection methods. Electrochemical or optical rapid detection methods for EDCs based on aptamer recognition have the advantages of simple use, quick response and convenient field screening, which can complement the advantages of precise detection technology in laboratory. This paper reviewed the research progress of electrochemical and optical sensors based on aptamer recognition for rapid detection of EDCs in food in recent years, and summarized the challenges and development direction in this field, which provides a reference for further study of aptamer sensor detection technology in the identification of EDCs.

KEY WORDS: endocrine disrupting chemicals; aptamers; on-site detection; biosensor

0 引言

随着现代工业化进程的推进,大量的化学物质被排放进入环境^[1]。其中一些被称为内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)的化学物质能干扰内分泌系统,并对人类和其他动物的生殖和发育系统造成危害,使其在整个生命周期内增加疾病风险^[2]。EDCs 化学性质稳定、不易降解、半衰期长,能在环境中积累^[3]。2012 年世界卫生组织已经将 70 多种化学物质列入 EDCs 的范畴,各种环境介质中存在的 EDCs 主要有以下 3 种: 水体中主要存在有机氯农药、重金属(铅、汞等)及双酚 A (bisphenol A, BPA); 土壤及沉积物内主要为多溴联苯醚(poly brominated diphenyl ethers, PBDEs)、滴滴涕、邻苯二甲酸酯类(phthalic acid esters, PAEs)、重金属(铅、汞、镉)、多氯联苯(process control block, PCB)等; 大气中主要有 PAEs 及有机磷酸酯类^[4]。这些化学物质广泛地应用于食品包装材料、食品贮藏容器及工业洗涤剂、塑料增塑剂和稳定剂等,并且已经在各种食品和环境基质(如水体、土壤和沉积物和水生生物)中被检测到^[5]。人类可能由职业、饮食或环境暴露(水、土壤和空气)等途径通过呼吸道、消化道和皮肤黏膜接触到 EDCs,进而引发不良健康效应^[3,6]。研究表明,EDCs 会降低雄性和雌性动物的生育能力,并与人类的生育能力低下/不育有关^[7]; 儿童患哮喘、肥胖和鼻塞的风险增加与过去 3 个月内在教室中单独或共同暴露于低浓度的 EDC 有关^[8]; LI 等^[9]分析了孕妇血液、脐带血和胎粪样本中邻苯二甲酸单-2-乙基己酯、辛基酚和 4-壬基酚及 19 种 PBDEs 同系物发现, PBDEs 几乎完全转移至胎盘并到达胎儿,从而影响胎儿健康; ROCCA 等^[10]选取磺酸盐、全氟辛酸、BPA 等几种 EDCs 进行研究,结果显示 BPA 和全氟辛酸与男性不育之间可能存在相关性。

目前,EDCs 检测以气相色谱法(gas chromatography, GC)^[11]、液相色谱法(liquid chromatography, LC)^[12]等仪器检测方法及酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[13]为主。这些检测方法能够实现准确、灵敏检测,但具有前处理复杂、仪器昂贵、专业技术要求高、

耗时长等缺点,难以满足现场快速检测的需求^[14-15]。考虑到环境污染的规模和伴随而来的大量环境样品筛查分析需求^[16],有必要发展低成本、易操作、便捷的现场快速 EDCs 检测方法^[17]。生物传感器是一种以生物活性物质如酶、蛋白质、核酸、微生物及生物膜等作为敏感元件与适当的信号转换器有机整合组成的分析检测装置^[18]。其中,识别元件、转换器、传感界面是生物传感器 3 个重要组成部分^[19]。当识别元件与被检测物特异性作用后,引发传感信号发生变化,信号经过转换器转变成光信号或电信号等,再经电子测量仪的放大、处理和输出,即可实现分析检测^[20]。核酸适配体(aptamers)作为一种新型受体元件,已被广泛应用于检测小分子的生物传感器的开发^[21]。其具有稳定性好、特异性强、体外合成、成本低、易于修饰等优势^[22],近年来,不同类型的适配体生物传感器被应用于医疗、农业、食品加工、环境条件监测等各个领域,具有响应速度快、简单便携、灵敏度高、成本低、技术简单等优点^[23]。适配体的优良特性与领先的检测平台技术相结合,如光学、集成纳米材料的电化学或具有高灵敏度和特异性的质量敏感技术,为将适配体传感器应用于有害小毒性化学品的检测和环境中的实时监测提供了广阔的前景^[24]。本文综述了基于核酸适配体识别构建的电化学、光学传感器对食品中 EDCs 快速检测的研究进展,总结了该领域面临的挑战和发展方向,以期为本领域的研究人员提供最新的研究概况。

1 适配体传感器在 EDCs 检测中的应用

1.1 电化学适配体传感器

基于适配体的电化学生物传感器可通过特定的分子识别实现对目标的快速、灵敏和选择性检测^[25]。当适配体与靶标作用后,导致电活性分子标记适配体(或适配体互补链)与电极界面距离发生改变(或从电极界面脱离),从而引起电流信号的变化,同时电极界面核酸适配体(或适配体互补链)空间结构发生变化,引起膜电阻变化^[26]。

复合纳米材料的出现使适配体传感器设计策略得到优化,为电化学适配体传感器检测起到积极的推动作用。

石墨烯量子点具有无毒性和光稳定性等优点, 二氧化钛具有低成本、良好的生物相容性、无毒性和化学稳定性, 因此这两种材料合成的复合材料与生物传感器的结合有很大的应用前景。DENG 等^[27]合成了石墨烯量子点(graphene quantum dots, GQDs)修饰的无规则二氧化钛(TiO₂-NTs)复合材料, 作为光电化学(photoelectrochemistry, PEC)传感平台的基底, 选择邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[bis(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]作为模型分子, 适配体对 DEHP 具有高度的亲和力和特异性, 根据光电流密度变化与 DEHP 浓度的相关性, 对 DEHP 进行定量分析, 检出限低至 0.1 ng/L, 对牛奶样品进行适用性研究, 检测结果与 HPLC 法一致, 方法操作简便且灵敏度高, 适用于现场快速检测。邻苯二甲酸酯或 PAEs 也常用于制造食品包装材料, 其中 DEHP 的使用最常见, 包装材料直接接触食品, 其中的化学物质存在迁移到食品中的可能, LEE 等^[28]使用二硫化钼纳米片(MoS₂Ns)、石墨烯纳米片(graphene nanoplatelets, GNP)和壳聚糖(chitosan, CHT)组成的二维杂化纳米复合材料(NCs)作为沉积有序金属纳米结构的合适基底, 通过差分脉冲伏安法(differential pulse voltammetry, DPV)检测与适配体结合的亚甲基蓝(methylene blue, MB)氧化还原信号的变化, 对 DEHP 进行定量, 用于监测从日常塑料制品迁移到水中的 DEHP, 检出限 2.3×10^{-2} pg/mL, 使用方法背景电流得以充分衰减, 可以将衰减的法拉第电流充分放大, 因此能达到很高的灵敏度; 分辨能力高, 可同时进行多元素, 多物质检测; 仪器价格低廉, 检测物用量少。

通过对一些已知适配体进一步的筛选, 也能更好地增加传感器检测的特异性。LU 等^[29]从固定化的单链 DNA 文库中分离出一种 DEHP 特异性适配体, 并开发了一种电化学阻抗谱(electrochemical impedance spectroscopy, EIS)适配体传感器, 直接检测水样中残留的 DEHP, 平均回收率为 76.07%~141.32%, 该适配体传感器能够快速选择和识别目标物, 降低了实验的成本、复杂性和难度。这种基于 ELS 的传感器测定法是一种“准稳态方法”, 即使扰动信号长时间作用于电极, 也不会导致极化现象的积累性发展和电极表面状态的积累性变化; 由于电势和电流间存在着线性关系, 测量过程中电极处于准稳态, 使得测量结果的数学处理简化; 这种频率域测量方法, 可测定的频率范围很宽, 因而可以比常规电化学方法得到更多的动力学信息和电极界面结构信息。HAN 等^[30]设计的靶向固定化策略成功地在体外选择了群体特异性邻苯二甲酸酯(PAE) DNA 适配体, 对固定化靶和游离的邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)、邻苯二甲酸丁酯苄基酯、DEHP 均显示纳摩尔离解常数, 测试了适配体对软饮料中常见的潜在干扰的选择性, 如葡萄糖、乙醇和抗生素, 进一步展示了适配体在高通量 PAE 分析和 DEHP 电化学生物传感器开发中的应用, 检出限低至 10^{-11} mol/L。这种进一步筛选出针对目

标待测物的特异性适配体为将来开发检测食品和环境样品的便携式、灵敏和高通量分析的生物传感器奠定了基础。

适配体传感器可以通过竞争反应产生强的电流信号, 从而达到较明显的检测效果。SHEN 等^[2]设计了一种无标记钙钛矿型光电化学适配体传感器, 借助十六烷基三甲基溴化铵(hexadecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)对邻苯二甲酸二丁酯(DBP)进行置换分析, 增强钙钛矿的光电信号, 传感器的线性范围为 1.0×10^{-13} ~ 1.0×10^{-8} mol/L, 检出限和定量限低至 2.5×10^{-14} ~ 8.2×10^{-14} mol/L ($S/N=3$), 对纯净水进行检测, DBP 的回收率在 88.70%~111.80%之间, 相对标准偏差小于 4.39%, 结果表明, 所制备的适配器传感器对实际样品分析具有较高的可靠性。钙钛矿材料不仅转换效率有明显优势, 制作工艺也相对简单; 在现有技术基础上, 进一步完善理论研究、降低成本、提高转换效率和稳定性、优化实验方案是其必然的发展趋势。

在食品安全分析中, 开发一种同时检测几种有害生物累积化合物的方法至关重要。方波伏安法(square wave voltammetry, SWV)广泛应用于物质的定量分析和动力学研究, 在定量测定方面, SWV 已广泛用于工农业、环境、医学、食品和生命科学等领域, 可检测一切具有氧化还原性质的有机物和无机物, 其结合适配体能够在 EDCs 检测中发挥更大的优势。YAN 等^[31]设计了一种简单高效的适配体传感器, 用于同时检测鱼类氯霉素(chloramphenicol, CAP)和 PCB72, 分别将 CAP 和 PCB72 标记的磁性金纳米颗粒(gold nanoparticles, AuNPs)适配体作为捕获探针(适配体 MGPs)及其互补单链 DNA(s-DNA)在纳米球形支化聚乙烯亚胺刷(s-DNA-MSPEIs)上同时合成了编码的金属离子(Cd²⁺ 和 Pb²⁺), 在 CAP 和 PCB72 存在时, 释放金属离子示踪剂(Cd²⁺ 和 Pb²⁺), 可通过 SWV 同时检测, CAP 检出限 0.3 pg/mL 的 PCB72 动态范围为 0.001~100 ng/mL。CHEN 等^[32]建立了基于多重适配体的 CAP 和 PCB72 的伏安分析方法, 基于分析物对纳米消旋体(核酸适配体标记的磁性树枝状探针)的位移导致相应编码的纳米消旋体的释放, 复合探针识别出 CAP 和 PCB72, 纳米消旋体释放到上清液中, 通过金属离子标记物 Cd(II)和 Pb(II)的伏安法实现同时检测, 检测范围为 0.001~100 ng/mL, CAP 和 PCB72 的检出限分别为 0.33 和 0.35 pg/mL ($S/N=3$), 应用于宁波 5 种不同来源鱼类样品中 CAP 和 PCB72 的痕量分析, 加标回收率在 92.0%~102.1%之间, 结果表明该方法用于鱼类检测的可行性和准确性。

电化学适配体传感器具有检测速度快、灵敏度高、特异性强、简单便携、成本效益相对较低、抗干扰能力强的优势, 是现场快速检测较为理想的检测工具。但是常受限于电化学检测仪器、电化学方法, 需对电极膜进行活化、材料修饰、适配体组装等, 限制了批量化生产及制备, 难以制备高通量适配体阵列传感器。

1.2 比色法适配体传感器

基于 AuNPs 的比色适配体传感器简单、快速、灵敏, 结果肉眼可见, 适合现场检测。其原理是 DNA 分子可以通过 DNA 碱基中 Au 和 N 原子之间的配位轻松吸附在 AuNPs, 单链 DNA 适配体可以稳定 AuNPs, 防止其在加盐时聚集, 溶液保持酒红色, 在存在靶标的情况下, 适配体通过与靶标结合并从 AuNPs 表面解吸而变为折叠状态, 导致 AuNPs 聚集, 溶液颜色从红色变为紫蓝色^[33]。

CHENG 等^[34]展示了以 PCB77 结合适配体为识别元件, 以未修饰的金纳米粒子为探针的比色法检测 PCB77, 适配体可以通过 Au-S 键固定在 AuNPs 表面, 保护 AuNPs 不聚集, 在 PCB77 存在时构象从松散的随机线圈改变为高级结构, 导致 AuNPs 聚集, AuNPs 聚集程度不同, 颜色产生不同程度的变化, 通过肉眼监测金纳米粒子的颜色变化量化 PCB77, 线性范围为 0.5~900 nmol/L, 最低检出限为 0.05 nmol/L, 这种方法简单快捷易操作, 原理简单易合成, 更适用于现场快速检测, 在筛查大量样品方面具有一定的优势。CHEN 等^[35]通过将 Zn²⁺特异性 DNA 酶驱动的循环裂解过程与一系列链置换反应耦合起来, Zn²⁺特异性 DNA 酶被用作放大器, 以实现连续切割反应, 产生放大的检测信号, AuNPs 被用作试纸中的信号示踪剂, 提出了一种高灵敏度和高选择性检测 PCB77 的侧流试纸, 在最佳条件下, PCB77 的视觉检测低至 10⁻¹¹ mol/L, 使用标准加入法检测牛奶样品, 回收率 89%~106%, 与 GC-MS 测量的数据非常一致, 结果表明该视觉试纸可以作为一个有效的传感平台, 用于准确可靠地检测真实食品样品中的 PCB77。值得注意的是, 该实验设计了 PCB77 的视觉检测试纸, 具有很强的创新性, 试纸条的开发对其投入商业化检测奠定了基础。OZAWA 等^[36]在 AuNPs 表面使用高密度单链 DNA 修饰来防止非特异性聚集, 检测作为模型靶点的雌二醇, 开发了一款智能手机暗场显微镜(dark-field microscopy, DFM)来可视化 AuNPs 聚集, 并用常规台式 DFM 的结果进行了验证, 研究有助于提高基于 AuNPs 的传感器未来的现场适用性。YAN 等^[37]设计了一种具有高选择性和灵敏度的比色传感器, 使用精氨酸功能化 AuNPs (ARG-AuNPs)作为 DBP 检测的传感探针, 传感机制基于 ARG-AuNPs 和 DBP 之间的高亲和力, 有助于 ARG-AuNPs 聚集, 溶液颜色从红色变为蓝色, 利用溶液的颜色变化来半定量 DBP, 检出限 0.05 mg/L, 可有效地用于白酒中 DBP 的测定。近年来, 食品安全事件频发, 快速检测方法在保证食品质量安全方面发挥着重要作用, 现场快速检测能够在短时间内出据检测结果, 因此开发易于构建、快速响应且简单的在线检测器很有必要, 但是目前基于适配体的 EDCs 比色检测研究少有报道。

比色法适配体传感器制备周期短, 实现可视化检测、操作方便、快捷、实时的优势, 适用于靶标高通量筛查和

批量样本检测。但多采用溶液相反应, 容易受到待测体系中其他物质的干扰, 影响检测的灵敏度和可靠性。

1.3 荧光适配体传感器

核酸不具有荧光性质, 因此构建荧光法适配体传感体系一般需要引入荧光基团/分子、具有荧光性质的纳米材料、量子点等, 通过合理设计适配体分子结构(如单链、双链、三联体、G-四联体结构等)及适配体与靶标分子作用方式, 引起荧光信号增强或降低变化, 从而实现对待测物的定量分析^[26]。

KIM 等^[16]开发了一种非平衡快速替换适配体(NERRA)分析方法, 分析采用荧光 PoPo3 染料嵌入单链 DNA 适配体, 当插层染料被 PAEs 取代并在水中淬灭时, 荧光变化速率与 PAEs 浓度成正比, 使用商用荧光分光光度计, NERRA 分析能够在 30 min 内定量检测 PAE 混合物, 检出限 0.1 μg/L, 使用便携式定制分析仪, 检测时间缩短至 30 s, 这种方法快速灵敏, 并且采用便携式分析仪能够在现场快速检测中发挥其优势。LIM 等^[38]开发了一种用于检测 DEHP 的量子点核酸适配体传感器(QD aptasensor)及其附带的便携式分析仪, 传感器基于 SELEX 筛选的适配体与 DEHP 的结合亲和力进行检测, 检出限 0.5 pg/mL。WANG 等^[39]提出了一种检测 PCB72/106 的双扩增策略, 首次将杂交链式反应(HCR)、上转换纳米颗粒(UCNPs)和缺口内切酶结合起来, PCB72/106 的存在导致 cDNA 与适配体分离, 并通过磁分离收集 cDNA, 加入缺口内切酶, 在特定位置切割一条双链 DNA, UCNPs 从长双链 DNA 中释放, 并远离猝灭基团, 这有助于最大限度地恢复荧光, 可在 0.004~800 ng/mL 范围内分析, 检出限 0.0035 ng/mL (S/N=3)。FU 等^[40]开发了一个新的基于适配体 CHA(一种灵敏的无酶信号放大方法反应)的 PCB77 荧光检测策略, 适用于现场检测, PCB77 的存在导致引物链和适配体分离, 被替换的引物链触发 CHA 打开发夹并生成 DNA 荧光信号用于检测 PCB77 的适配体 CHA 反应系统, 检测范围为 0.01~500 mg/L, 检出限 0.01 mg/L, 标准加入法测定 PCB77 含量为 15.28 mg/L, 真实样品对 PCB77 浓度的荧光强度表明, 该方法可以定量测定实际饮用水中 PCB77 的含量。XU 等^[41]通过 FluMag-SELEX 体外筛选技术分离的 DNA 适配体, 识别解离常数(K_d值)低至微摩尔范围的 PCB, 使用选定的适配体, 结合 AuNPs 建立了一种基于适配体的高灵敏度荧光检测法, 用于检测 PCB, 线性范围从 0.1~100 ng/mL。

荧光适配体传感器具有灵敏度高、可选择性标记、信号识别强的优势, 但荧光团修饰的花费较高、可能的假阳性信号以及荧光团的加入影响适配体与靶标物质的结合能力, 易受实际样品或检测体系中的重金属、pH、离子强度及其他干扰物等因素的影响降低检测的可靠性。因此提升

抗干扰能力及环境样品中靶标物分析的准确性, 是比色适配体和荧光法的重点研究和方向。

1.4 表面增强拉曼适配体传感器

表面增强拉曼散射光谱(surface-enhanced raman spectroscopy, SERS)具有超灵敏、实时检测和指纹识别等优点^[42]。应用扩展到化学反应分析、生物标志物检测、疾病诊断、污染物监测、食品安全等领域^[43]。SERS 常应用于 EDCs 痕量检测和分析, DNA 或 RNA 分子被用作适配体, 用于设计和构建新型多功能传感器, 以保证检测灵敏度和选择性高。靶分子存在的情况下, DNA 和 RNA 适配体可以与靶分子相互作用, 然后将自身折叠成三维结构, 例如发夹环、T-连接和 G-四链体^[44]。金属基底表面上的 DNA 构象变化可导致响应 SERS 信号的变化, 可直接监测并选择性和灵敏地测量响应 SERS 信号^[45]。

表面增强拉曼适配体传感器基底具有很强的可修饰性, 常与纳米材料等进行结合, 从而增强响应信号, 实现样品的高灵敏检测。TU 等^[46]将 DEHP 适配体固定在磁性颗粒上, 银纳米颗粒聚集形成了一个检测信号, 用 1,2,4-苯三甲酸 1,2-双(2-乙基己基)酯对 SERS 二氧化硅颗粒进行功能化, 增加其与 DEHP 适配体的亲和力, 在含有 DEHP 的样品存在下, 高亲和力 SERS 二氧化硅颗粒与 DEHP 分子竞争, 与磁性颗粒上的适配体结合, 通过测量磁分离后上清液中游离 SERS 二氧化硅颗粒的信号, 定量测定样品中的 DEHP 浓度, 检测范围 0.008~182 nmol/L, 检出限 8 pmol/L, 自来水和瓶装饮料基质中 DEHP 的回收率在 90%~116%, 表明传感器在实际样品基质中检测 DEHP 具有良好的可靠性。SUN 等^[47]提出了一种利用适配体修饰的有序 AgNR 阵列选择性检测 PCB77 表面增强拉曼光谱的新方法, 结合 PCB77 后, 单链 DNA 适配体改变其构象形成发夹环, 导致适配体中鸟嘌呤的 SERS 信号增加, 测量痕量 PCB77, 浓度低至 3.3×10^{-8} mol/L, 传感器在识别目标分子时具有高的 SERS 灵敏度和良好的重复性以及高选择性。微流控(microfluidics)技术能够把样本检测整个过程集中在几厘米的芯片上, 最终使整个检测实现微型化。由于微流控芯片的微型化特点, 其内部的反应单元腔体同样非常小, 使得整个反应体系总体积非常微小, 与传统检测体系相比, 大大降低了试剂的消耗量。与常规检测相比, 显著缩短了检测的时间, 提高了检测效率, 实现检测的高通量化。同时由于其高通量的特点, 对一次采集的样本就可以实现多项测试, 因此对于不易获取的样本检测更加具有优势。FU 等^[48]用适配体捕获技术, 在微流控装置上对 PCB77 进行了 SERS 测量, 通过复制阳极氧化铝模板, 在图案化聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)上制备了有序银纳米阵列, 银纳米阵列用于 SERS 增强区和检测区, 将 PCB77 适配体注入一个通道, 另一个通道注入分析物 PCB,

巯基适配体在混合区捕获目标, 并通过 S 固定到 SERS 检测区, 从而进一步提高 PCB77 的 SERS 灵敏度和选择性, 检出限 1.0×10^{-8} mol/L。核壳结构由于其独特的结构特性, 整合了内外两种材料的性质, 并互相补充各自的不足, 是近几年形貌决定性质的一个重要研究方向, 且经久不衰。在催化、光催化、电池、气体存储及分离方面有着广泛的应用前景。LU 等^[49]使用适配体修饰的二氧化硅-金/核壳纳米颗粒(表示为 $\text{SiO}_2@Au$)提出了通过 SERS 光谱分析核/壳纳米颗粒的方法, $\text{SiO}_2@Au$ 核/壳 NP 固定在氨基硅烷功能化玻片上, PCB77 结合适配体通过硫醇连接剂共价连接到金表面, 由单链 DNA (ssDNA)寡聚体组成的适配体, 一端位于 Au 表面, 与 PCB77 结合改变构象, 相应地引起了单链 DNA 寡聚体的光谱响应, 强度比 $I(660 \text{ cm}^{-1})/I(736 \text{ cm}^{-1})$ 随 PCB77 添加量的增加而降低, 能够测量痕量 PCB77。LIU 等^[50]通过使用 PCB72 靶向适配体作为高度特异性识别元件和金/银探针, 建立了高度灵敏的适配体传感器(Au@Ag)纳米复合材料作为 SERS 基底, 用于检测环境中的 PCB72, Au@Ag 纳米颗粒(NPs)表现出强烈的 SERS 增强, 靶向的 PCB72 可以与 PCB72 适配体竞争性结合, 导致少数适配体粘附在靶细胞上, Au@AgNPs 和基底的“热点”强化效应, 适配体传感器具有高灵敏度、高选择性和稳定性, 可用于 PCB72 的监测, 其线性相关范围为 1~1000 pg/mL, 检出限 0.3 pg/mL。

适配体 SERS 技术开发和应用时多数拉曼报告器产生的信号会干扰来自生物分子本身的信号, 许多 RNA 适配体在生物介质中容易降解, 目前可以通过使用低干扰外源报告物(如炔烃类似物)来克服, 因此如何提高基于适配体的生物传感器的稳定性、耐久性和对环境的不敏感性是适配体 SERS 技术的未来发展方向。

2 结束语

迄今为止, 有关适配体传感器的文献研究表明, 它们能够以最少的样品预处理在广泛的基质中检测目标。在高灵敏度、宽线性范围和广泛可行性方面具有突出的优势, 在小分子污染物检测中具有突出地位。作为现有高分辨率质谱法和基于抗体的筛查方法的补充方案, 基于适配体的分析方法备受期待, 并将在不久的将来开发用于测定食品基质中的持久性有机污染物。本综述中给出的示例可以为开发用于食品中 EDCs 检测的新型生物传感器提供前景。但是基于适配体的生物传感器在应用方面仍存在局限性。一方面, 适配体传感器对物理和化学干扰的稳定性和敏感性仍然是一个巨大的挑战。适配体本身的构象具有灵活性, 通过对适配体进行适当的化学修饰可以在一定程度上克服这一点, 开发用于信号增强的纳米材料和核酸放大策略对于进一步提高适配体对小分子污染物的性能仍然至关重要。

要。功能纳米材料的引入可以显著增强传感器的信号,虽然(准)零维纳米材料易于合成,但由于其在制备过程中对pH、温度和金属离子强度等物理或化学条件十分敏感,合成产物的均匀性、稳定性很难控制。二维和三维纳米材料由于具有高催化活性、高电导率和大比表面积,可以显著改善传感器的性能和增强信号,但这些纳米材料的合成相对复杂。因此,需要研究合成方法以进一步改善不同维度功能纳米材料的特性仍然是一个研究热点。另一方面,目前还没有基于适配体的商用检测试剂盒,仍面临商业化挑战,其中包括便携性、易用性、稳定性、再现性。此外,大多数适配体传感器仅针对单个污染物。但在应用场景中,特别是在食品加工中,有必要对各种污染物进行实时和同时监测。因此,高通量技术,如多通道微流控芯片,必将成为应用于小分子污染物快速、多重检测的适配体传感器的一个很有前景的领域。

参考文献

- [1] MOSES MM, ELIZABETH NN, GEOFFREY OB, *et al.* Advances in sample pretreatment and detection of PCBs in the environment [J]. *J Hazard Mater Adv*, 2021, 4: 100028.
- [2] SHEN YZ, GUAN J, MA C, *et al.* Competitive displacement triggering DBP photoelectrochemical aptasensor via cetyltrimethylammonium bromide bridging aptamer and perovskite [J]. *Anal Chem*, 2022, 94(3): 1742–1751.
- [3] HOUSTONT J, GHOSH R. Untangling the association between environmental endocrine disruptive chemicals and the etiology of male genitourinary cancers [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 172: 113743.
- [4] 王航, 张李一, 张蕴晖. 主要环境内分泌干扰物疾病负担的研究进展 [J]. *环境与职业医学*, 2021, 38(9): 1033–1043.
WANG H, ZHANG LY, ZHANG YH. Research progress on disease burden of major environmental endocrine disruptors [J]. *J Environ Occup Med*, 2021, 38(9): 1033–1043.
- [5] STREET ME, AUDOUZE K., LEGLER J, *et al.* Endocrine disrupting chemicals: Current understanding, new testing strategies and future research needs [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 933.
- [6] PACIENCIA I, RUFO JC, SILVA D, *et al.* Effects of indoor endocrine-disrupting chemicals on childhood rhinitis [J]. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2020, 30(3): 195–197.
- [7] GORE AC, CHAPPELL VA, FENTON SE, *et al.* EDC-2: The endocrine society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals [J]. *Endocr Rev*, 2015, 36(6): E1–E150.
- [8] PACIÊNCIA I, CAVALEIRO RJ, SILVA D, *et al.* Effects of indoor endocrine-disrupting chemicals on childhood rhinitis [J]. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2020, 30(3): 195–197.
- [9] LI LX, CHEN L, MENG XZ, *et al.* Exposure levels of environmental endocrine disruptors in mother-newborn pairs in China and their placental transfer characteristics [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e62526.
- [10] ROCCA CL, STAI T, GUERRANTI C, *et al.* Exposure to endocrine disruptors and nuclear receptors gene expression in infertile and fertile men from Italian areas with different environmental features [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2015, 12(10): 12426–12445.
- [11] SKRZYPEKG J, SÁLAMOJ G, VARELA-MARTÍNEZD A, *et al.* Analysis of phthalic acid esters in sea water and sea sand using polymer-coated magnetic nanoparticles as extraction sorbent [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1611: 460620.
- [12] INMACULADA MR, YOLANDA GO, SAMUEL CM, *et al.* Optimization of an ultrasound-assisted extraction method for the determination of parabens and bisphenol homologues in human saliva by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Microchem J*, 2022, 175: 107122.
- [13] 贾文哲. 水中内分泌干扰物快速检测技术研究及应用[D]. 武汉: 武汉科技大学, 2020.
JIA WZ. Research and application of rapid detection technology for endocrine in water [D]. Wuhan: Wuhan University of Science and Technology, 2020.
- [14] WU L, WANG Y, ZHOU S, *et al.* Enzyme-induced $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ conversion as the electrochemical signal for sensitive detection of ethyl carbamate [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1151(5): 338256.
- [15] METCALFE CD, BAYEN S, DESROSIERS M, *et al.* Methods for the analysis of endocrine disrupting chemicals in selected environmental matrixes [J]. *Environ Res*, 2022, 206: 112616.
- [16] KIM D, LIMH J, AHNY G, *et al.* Development of non-equilibrium rapid replacement aptamer assay for ultra-fast detection of phthalic acid esters [J]. *Talanta*, 2020, 219: 121216.
- [17] CHOI J, SEONG TW, JEUN M, *et al.* Field-effect biosensors for on-site detection: recent advances and promising targets [J]. *Adv Health Mater*, 2017. DOI: 10.1002/adhm.201700796
- [18] 雷梓阁. 生物传感器的原理与应用[J]. *科技资讯*, 2015, 13(34): 23, 25.
LEI ZG. Principle and application of object sensor [J]. *Sci Technol Inf*, 2015, 13(34): 23, 25.
- [19] YAN M, LI H, LI M, *et al.* Advances in surface-enhanced raman scattering-based aptasensors for food safety detection [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(47): 14049–14064.
- [20] 高勇, 郭艳, 安维, 等. 生物传感器的研究现状及展望[J]. *价值工程*, 2019, 38(31): 225–226.
GAO Y, GUO Y, AN W, *et al.* Research status and prospect of biosensor [J]. *Value Eng*, 2019, 38(31): 225–226.
- [21] LIU Y, YANG GJ, LI TT, *et al.* Selection of a DNA aptamer for the development of fluorescent aptasensor for carbaryl detection [J]. *Chin Chem Lett*, 2021, 32(6): 1957–1962.
- [22] ZHANG N, LIU B, CUI X, *et al.* Recent advances in aptasensors for mycotoxin detection: On the surface and in the colloid [J]. *Talanta*, 2021, 223(Pt 1): 121729.
- [23] GÁLVEZ LG, CAÑOR D, LUQUEI M, *et al.* Electrochemiluminescent nanostructured DNA biosensor for SARS-CoV-2 detection [J]. *Talanta*, 2022, 240: 123203.
- [24] NGUYEN VT, KWONY S, GUM B. Aptamer-based environmental biosensors for small molecule contaminants [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2017, 45: 15–23.
- [25] LIU Y, CANOURA J, ALKHAMIS O, *et al.* Immobilization strategies for enhancing sensitivity of electrochemical aptamer-based sensors [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2021, 13(8): 9491–9499.
- [26] 甄建辉, 孙鹏远, 巩文雯, 等. 核酸适配体生物传感器应用于食品抗生素残留检测的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(14): 5577–5585.

- ZHEN JH, SUN PY, GONG WW, *et al.* Research progress of aptamer biosensor for detection of antibiotic residues in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(14): 5577–5585.
- [27] DENG Y, YAN W, GUO Y, *et al.* Highly sensitive and selective photoelectrochemical aptasensing of di-2-ethylhexyl phthalate based on graphene quantum dots decorated TiO₂ nanotube arrays [J]. *J Hazard Mater*, 2022, 426: 128107.
- [28] LEE K, GURUDATT NG, HEO W, *et al.* Ultrasensitive detection and risk assessment of di(2-ethylhexyl) phthalate migrated from daily-use plastic products using a nanostructured electrochemical aptasensor [J]. *Sens Actuators B-Chem*, 2022, 357: 131381.
- [29] LU Q, LIU X, HOU J, *et al.* Selection of aptamers specific for DEHP based on ssDNA library immobilized SELEX and development of electrochemical impedance spectroscopy aptasensor [J]. *Molecules*, 2020, 25(3): 747.
- [30] HAN Y, DIAO D, LU Z, *et al.* Selection of group-specific phthalic acid esters binding DNA aptamers via rationally designed target immobilization and applications for ultrasensitive and highly selective detection of phthalic acid esters [J]. *Anal Chem*, 2017, 89(10): 5270–5277.
- [31] YAN Z, GAN N, WANG D, *et al.* A “signal-on” aptasensor for simultaneous detection of chloramphenicol and polychlorinated biphenyls using multi-metal ions encoded nanospherical brushes as tracers [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 74: 718–724.
- [32] CHEN M, GAN N, ZHANGH R, *et al.* Electrochemical simultaneous assay of chloramphenicol and PCB72 using magnetic and aptamer-modified quantum dot-encoded dendritic nanotracers for signal amplification [J]. *Microchim Acta*, 2016, 183(3): 1099–1106.
- [33] BAI W, ZHU C, LIU J, *et al.* Gold nanoparticle-based colorimetric aptasensor for rapid detection of six organophosphorous pesticides [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2015, 34(10): 2244–2249.
- [34] CHENG R, LIU S, SHI H, *et al.* A highly sensitive and selective aptamer-based colorimetric sensor for the rapid detection of PCB77 [J]. *J Hazard Mater*, 2018, 341: 373–380.
- [35] CHEN J, SHI G, YAN C. Visual test paper for on-site polychlorinated biphenyls detection and its logic gate applications [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(46): 15438–15444.
- [36] OZAWA YY, LOBSIGER N, MUTO Y, *et al.* Molecular detection using aptamer-modified gold nanoparticles with an immobilized DNA brush for the prevention of non-specific aggregation [J]. *RSC Adv*, 2021, 11: 11984–11991.
- [37] YAN Y, QU Y, DU R, *et al.* Colorimetric assay based on arginine-functionalized gold nanoparticles for the detection of dibutyl phthalate in Baijiu samples [J]. *Anal Methods*, 2021, 13(43): 5179–5186.
- [38] LIM HJ, KIMA R, YOONM Y, *et al.* Development of quantum dot aptasensor and its portable analyzer for the detection of di-2-ethylhexyl phthalate [J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 121: 1–9.
- [39] WANG Y, BAI J, HUO B, *et al.* Upconversion fluorescent aptasensor for polychlorinated biphenyls detection based on nicking endonuclease and hybridization chain reaction dual-amplification strategy [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(16): 9936–9942.
- [40] FU Q, YUAN L, ZHOU MJ, *et al.* Highly sensitive and selective detection of PCB77 using an aptamer-catalytic hairpin assembly in an aquatic environment [J]. *RSC Adv*, 2021, 11: 5506–5511.
- [41] XU S, YUAN H, CHEN S, *et al.* Selection of DNA aptamers against polychlorinated biphenyls as potential biorecognition elements for environmental analysis [J]. *Anal Biochem*, 2012, 423(2): 195–201.
- [42] RYCENGA M, XIA X, MORANC H, *et al.* Generation of hot spots with silver nanocubes for single-molecule detection by surface-enhanced Raman scattering [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2011, 50(24): 5473–5477.
- [43] MUHAMMAD M, HUANGQ. A review of aptamer-based SERS biosensors: Design strategies and applications [J]. *Talanta*, 2021, 227: 122188.
- [44] MCGOWN LB, JOSEPH MJ, PITNER JB, *et al.* The nucleic acid ligand. A new tool for molecular recognition [J]. *Anal Chem*, 1995, 67(21): 663a–668a.
- [45] PAGBA CV, LANE SM, WACHSMANN-HOGIU S. Conformational changes in quadruplex oligonucleotide structures probed by raman spectroscopy [J]. *Biomed Opt Express*, 2010, 2(2): 207–217.
- [46] TU D, GARZAJ T, COTÉGL. A SERS aptasensor for sensitive and selective detection of bis(2-ethylhexyl) phthalate [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(5): 2618–2625.
- [47] SUN K, HUANG Q, MENG G, *et al.* Highly sensitive and selective surface-enhanced raman spectroscopy label-free detection of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl using DNA aptamer-modified Ag-nanorod arrays [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2016, 8(8): 5723–5728.
- [48] FU C, WANGY, CHEN G, *et al.* Aptamer-based surface-enhanced Raman scattering-microfluidic sensor for sensitive and selective polychlorinated biphenyls detection [J]. *Anal Chem*, 2015, 87(19): 9555–9558.
- [49] LU Y, HUANG Q, MENG G, *et al.* Label-free selective SERS detection of PCB77 based on DNA aptamer modified SiO₂@Au core/shell nanoparticles [J]. *Analyst*, 2014, 139(12): 3083–3087.
- [50] LIU S, CHEN Q, WANG Z, *et al.* Monitoring 2,3',5,5'-tetrachlorobiphenyl with a rapid and sensitive environmental aptamer sensor [J]. *Analyst*, 2019, 144(16): 4841–4847.

(责任编辑: 郑 丽 张晓寒)

作者简介



王紫璇, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: 345518377@qq.com



孙洁芳, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: sunjf2001@163.com