鸟嘌呤四链体 DNAzyme 在微生物、生物小分子和核酸检测中的研究进展

吴显庸, 袁园园, 刘战民*, 宁其其

(上海大学生命科学学院, 上海 200444)

摘 要: 鸟嘌呤四链体脱氧核酶(deoxyribozyme, DNAzyme)是一种具有类过氧化物酶催化活性的脱氧核酶, 广泛应用于微生物和核酸的分析与检测中。鸟嘌呤四链体 DNAzyme 在 H_2O_2 存在时可以催化氧化 ABTS、TMB 等底物, 结合 PCR、等温扩增技术以及生物传感器等多种核酸靶标信号放大技术实现待测靶标的便捷灵敏的可视化检测, 因此受到了国内外研究者们的高度关注。优化鸟嘌呤四链体的序列和环境因素, 能够提高该 DNAzyme 的催化活性, 有助于提高可视化检测方法的灵敏度。本文主要对鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的结构与酶学性质及其应用于微生物、生物毒素和疾病标志物等的基于核酸的检测策略进行综述, 为进一步推动鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的广泛应用提供理论基础和技术支持。

关键词: 鸟嘌呤四链体; 结构分析; 酶学性质; 等温扩增技术; 生物传感器

Research progress of G-quadruplexDNAzyme in detection of microorganism, biomolecule and nucleic acids

WU Xian-Yong, YUAN Yuan-Yuan, LIU Zhan-Min*, NING Qi-Qi

(*School of Life Sciences*, *Shanghai University*, *Shanghai* 200444, *China*)

ABSTRACT: G-quadruplex deoxyribozyme (DNAzyme) is a deoxyribozyme with peroxidase-like catalytic activity and is widely used in the analysis and detection of microoganism and nucleic acids. G-quadruplex DNAzyme could catalyze the oxidation of substrates such as ABTS and TMB in the presence of H_2O_2. The targets could be detected visually, simply and rapidly based on various target signal amplification technologies such as PCR, isothermal amplification technology, and biosensors combing with G-quadruplex DNAzyme. Therefore, G-quadruplex DNAzyme has been highly concerned by researchers at home and abroad. The optimization of G-quadruplex sequence and environmental factors could enhance the catalytic activity of DNAzyme and help improving the sensitivity of the visual detection method. This article summarized the structure and enzymatic properties of G-quadruplex DNAzyme and its nucleic acid-based detection strategies for microorganisms, biological toxin, and disease markers, in order to provide theoretical basis and technical support for its further applications.

KEY WORDS: G-quadruplex; structural analysis; enzymatic properties; isothermal amplification; biosensor

---

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31972158)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31972158)

***通讯作者:** 刘战民, 教授, 主要研究方向为食品与生物安全快速检测与分析技术。E-mail: zhmliu@shu.edu.cn

***Corresponding author:** LIU Zhan-Min, Professor, School of Life Sciences, Shanghai University, No.381, Nanchen Rd, Shanghai 200444, China. E-mail: zhmliu@shu.edu.cn

1 引　言

酶是一类对底物具有高度专一性、高效催化活性的生物大分子, 绝大部分酶的本质是蛋白质[1]。然而 Joyce 等[2]在 1994 年首次发现具有切割 RNA 或 DNA 分子的活性 DNA 序列, 即脱氧核酶(deoxyribozyme, DNAzyme), 这一重大发现拓展了人们对酶的认知水平。其代表有可切割 RNA 底物而被用于检测 Pb^{2+} 等金属离子的 8-17 DNAzyme[3]、具有类辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)催化活性的鸟嘌呤四链体 DNAzyme[4]等。

鸟嘌呤四链体 DNAzyme 是近年来迅速发展的一类新型脱氧核酶, 富含鸟嘌呤(guanine, G)的单链 DNA 序列, 并能够折叠形成高级结构的鸟嘌呤四链体(G-quadruplex)[5]。Travascio 等[6]发现含有氯化血红素(hemin)作为辅因子的酶具有较强的类过氧化物酶催化活性, 并首次提出了 G-quadruplex 与 hemin 复合形成的鸟嘌呤四链体 DNAzyme, 其催化效率较单独存在的 hemin 约高 250 倍。较之天然存在的过氧化物酶, 人工合成的鸟嘌呤四链体 DNAzyme 易于制备和修饰、热稳定性良好, 广泛应用于金属离子[7]、有机小分子[8]和蛋白质[9]的分析与检测中。

在以核酸为靶标的分子生物学以及食品安全检测中, 引入鸟嘌呤四链体 DNAzyme 能够在不影响原有反应体系高特异性的前提下, 有效放大检测信号, 是一种优势明显的偶联酶的生物信号放大工具[10]。鸟嘌呤四链体 DNAzyme 在 H_2O_2 存在的条件下可以催化氧化多种底物, 如 2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(diammonium2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), ABTS)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, TMB)等, 可产生肉眼可见的颜色变化或生成新的电活性物质[11]。基于这一特性, 利用偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的核酸检测策略可以实现微生物的便捷的可视化检测以及制备灵敏的电化学生物传感器[12,13]。近年来, 通过核酸扩增等分子生物学方法生成大量鸟嘌呤四链体 DNAzyme, 并利用其对实际生物样本进行检测的方法相继报道[10,14,15], 引起研究者们极大兴趣和更为广泛的关注。本文整理并分析了显著影响鸟嘌呤四链体 DNAzyme 催化活性的结构与环境因素, 以及近年将偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的核酸检测方法应用于病原微生物、生物小分子和疾病标志物检测的策略, 以期为充分利用鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的生物和酶法偶联靶标信号放大策略提供坚实的理论依据和实际应用指导以及为这类方法检测效果的进一步改善提供新的思路。

2 鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的结构与酶学性质

2.1 鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的结构

鸟嘌呤四链体由富含鸟嘌呤(G)的单链 DNA 序列折叠而成, 每 4 个鸟嘌呤通过 8 个 Hoogsteen 氢键两两连接构成 1 个不稳定的鸟嘌呤四分体平面, 其中心空穴带负电荷, 单价阳离子能够络合鸟嘌呤上氧原子(O)的未共用电子对使其稳定[16], 2 个或多个鸟嘌呤四分体平面通过 π-π 堆积相互作用形成鸟嘌呤四链体[17]。稳定的鸟嘌呤四链体可以结合 hemin 形成鸟嘌呤四链体-hemin 复合物, 即鸟嘌呤四链体 DNAzyme, 该脱氧核酶具有类过氧化物酶的催化氧化功能。

鸟嘌呤四链体的结构是影响鸟嘌呤四链体 DNAzyme 催化活性的关键因素[18]。鸟嘌呤四链体的结构受鸟嘌呤序列及其长度等多种因素的影响, 可以形成平行、反平行或混合平行结构[19,20], 不同的结构直接决定了鸟嘌呤四链体 DNAzyme 活性的高低[21−23]。诸多学者已经通过紫外分光光度法[24,25]、圆二色光谱[25,26]以及晶体 X 射线衍射[27]等分析方法对鸟嘌呤四链体 DNAzyme 催化活性与鸟嘌呤四链体结构的关系进行了研究报道, 这些报道启发我们选择鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的合适序列组成和创造最适宜外界因素对于靶标信号的放大具有重要的意义。

研究发现由平行结构或混合平行结构的鸟嘌呤四链体复合形成的 DNAzyme 往往比反平行结构的鸟嘌呤四链体 DNAzyme 具有更高的催化活性。Kong 等[28]认为其主要原因是含有平行结构的鸟嘌呤四链体易与 hemin 结合。此外, 同为含有平行结构的鸟嘌呤四链体, 他们各自与 hemin 复合形成的 DNAzyme 的催化活性也存在较大差异, 这意味着改变鸟嘌呤四链体序列中的个别碱基有可能改善 DNAzyme 整体的催化活性。Cheng 等[29]发现鸟嘌呤四链体 loop 区域序列的排列方式能够对鸟嘌呤四链体的构象产生显著影响, 调节 loop 区域的序列可以得到催化活性更高的鸟嘌呤四链体 DNAzyme。

针对单个鸟嘌呤四链体形成的 DNAzyme, 人们已经展开了全面而深入的研究, 研究者提出将多个鸟嘌呤四链体离散单元连接在一条序列上得到多价 DNAzyme。Adeoye 等[30]揭示了平行结构的鸟嘌呤四链体(AS1411, Bcl-2, c-MYC)离散单元可以通过多聚化形成多价 DNAzyme, 其单元之间的相互协同作用使鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的类过氧化物酶催化活性显著增强, 而反平行结构的鸟嘌呤四链体(PS5.M, PS2.M)则没有表现出类似的特征。多价 DNAzyme 的提出, 为鸟嘌呤四链体 DNAzyme 催化活性的增加提供了简单、高效的新思路, 对于提高靶标信号的放大具有重要应用价值。

2.2 鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的酶学性质

鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的催化活性受溶液的离子种类和浓度以及 pH 值等多种环境条件的影响[31]。研究表明浓度适宜的 K^+、Na^+或 NH_4^+等阳离子在弱碱性环境中有助于稳定的鸟嘌呤四链体 DNAzyme 形成[32], 其中 K^+对维持 DNAzyme 结构的稳定性效果最好[33]。

人们对于鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的催化机制尚处于探索阶段。Travascio 等[6]根据 HRP 的催化机制推断鸟嘌呤四链体 DNAzyme 在催化底物时, hemin 被 DNA 序列围绕保护在鸟嘌呤四链体平面结构的中间而不被外部的氧自由基氧化, 从而提高了催化效率。但有研究发现 hemin 在催化反应中是以大平面的共轭作用堆积在鸟嘌呤四链体的外部[11]。目前认为鸟嘌呤四链体 DNAzyme 催化反应的过程分为 2 个步骤进行。以 ABTS 作底物为例, 首先 hemin 与 H_2O_2 作用, 生成化合物 A, 接着化合物 A 与还原剂 $ABTS^{2-}$ 反应, 生成化合物 B 和 $ABTS^{\cdot-}$ 自由基, 化合物 B 最后与还原剂 $ABTS^{2-}$ 反应再次生成 $ABTS^{\cdot-}$ 自由基并使 hemin 回到初始状态。

当前对鸟嘌呤四链体 DNAzyme 结构和酶学性质的研究主要集中在对人工合成的 DNAzyme 在简单溶液环境中的研究, 由核酸扩增等分子生物学方法生成的大量鸟嘌呤四链体 DNAzyme 在复杂的核酸检测反应体系中的结构优化和酶学性质鲜有报道。

3 鸟嘌呤四链体 DNAzyme 在生物检测中的应用

鸟嘌呤四链体 DNAzyme 作为一种具有类过氧化物酶催化活性的脱氧核酶, 为高效核酸检测方法的设计与开发提供了新的思路[34], 近年来在分子生物学和食品安全领域受到高度关注。偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的核酸检测方法主要通过以下 3 步实现: (1) 设计鸟嘌呤四链体分子在反应体系中的生成方法, 其中聚合酶通过反复扩增目标序列放大检测信号, 而内切酶则是循环切刻报告探针来实现信号放大; (2) 选择合适的底物, 在反应过程中加入 hemin 形成鸟嘌呤四链体 DNAzyme, 在 H_2O_2 存在的条件下催化氧化特定底物; (3) 通过比色、荧光以及电化学等手段对产物进行定量检测, 推断反应体系中鸟嘌呤四链体的生成量, 进一步计算出待测靶标的浓度, 从而建立检测信号与目标检测物浓度之间的对应关系[35]。目前已经有多篇文献报道了利用鸟嘌呤四链体 DNAzyme 对核酸检测信号进行放大, 结合聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)[35,36]、等温扩增技术[37−44]以及生物传感器方法[45,46]对微生物基因组、microRNA(miRNA)等多种核酸分子进行检测。

3.1 聚合酶链式反应

聚合酶链式反应(PCR)是最基本的核酸扩增技术, 其操作简单, 成本低廉, 广泛用于实际生产检测之中。结合鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的 PCR 方法可以直接通过肉眼观察判断检测结果, 并利用 DNAzyme 的催化特性放大检测信号, 避免了传统 PCR 方法的多种缺点[13]。此外, PCR 反应的引物和产物结构简单, 易于实现对鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的编码与扩增。偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的 PCR 方法用于幽门螺旋杆菌的检测, 该检测方法肉眼判断的检出限可达到 50 pg/反应[35]。Mondal 等[36]结合多聚鸟嘌呤四链体 DNAzyme 与免疫磁珠分离方法检测食品中的金黄色葡萄球菌肠毒素 B, 可借助紫外分光光度计检出 10 CFU/mL 以下的致病菌, 在 PCR 方法中达到了较高的检测灵敏度。

3.2 等温扩增技术

3.2.1 环介导等温扩增

环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是一种新型的等温扩增技术[47], 它不依赖于热循环的扩增设备, 反应速度快且灵敏度高, 近年来在食品检测领域中应用广泛。根据 LAMP 反应体系与 Bst DNA 聚合酶的特性, 已经开发了基于焦磷酸镁沉淀、钙黄绿素/氯化锰指示剂以及羟基萘酚蓝(HNB)指示剂的可视化检测方法[48]。然而, 这些可视化检测方法在用肉眼观察时只能进行定性和半定量判断, 无法对检出物的浓度作可靠估计[49]。Liu 等[37]设计了偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的可视化 LAMP 方法用于检测单增李斯特菌, 肉眼判断的检出限达到 47.5 CFU/mL, 实现了对病原菌高灵敏度的可视化检测, 并可根据反应液的颜色深浅估算检出物的大致浓度。这种方法还被应用于沙门氏菌等食源性致病菌的检测[10]。Xu 等[38]偶联分子信标与鸟嘌呤四链体 DNAzyme, 通过化学发光方法检测食品中的金黄色葡萄球菌, 灵敏度高而无需对 LAMP 引物进行鸟嘌呤四链体序列修饰。

3.2.2 滚环扩增

滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)以环状 DNA 为模板, 在具有链置换活性的等温聚合酶的作用下, 将单链引物不断延伸, 产生长的单链产物。与此同时, 环形探针也被指数级扩增, 从而能够实现信号放大。将鸟嘌呤四链体的互补序列插入到环形探针中, 一旦检测到靶标, 就会大量扩增鸟嘌呤四链体。虽然这种方法的扩增效率较 PCR 和 LAMP 稍低, 但灵敏度和特异性非常高[50], 被广泛用于生物医学领域的 miRNA 及一些低表达量基因的检测与分析中[51]。

RCA 反应的长单链产物会在溶液中产生一定的空间位阻而使鸟嘌呤四链体 DNAzyme 构象的正确折叠变得困难, 从而降低了这类方法的检测效果。为了减小这种负面影响, 研究者在偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的 miRNA-21[39]、miRNA-378[40]等的可视化 RCA 检测方法中, 采取在环形探针中引入 Nb.BbvCI 切刻内切酶的识别位点的策略, 显著提高了该方法的可视化效果[41]。

为了防止样品杂质对于多酶的反应体系结果的影响, 可采取改变检测方式(如荧光等)或使用物理化学方法处理原料提高检测效果。Luo 等[42]设计了 RNA 融合触发滚环扩增策略, 通过测定鸟嘌呤四链体与硫黄素 T 相互作用的增强荧光强度, 建立了检测限低至 10^{-4} fM 的新型检测技术。Mao 等[43]将 RCA 方法和 DNA 水凝胶相结合, 利用制备的鸟嘌呤四链体功能化的 DNAzyme 水凝胶, 显著提高

了 ctDNA 的可视化检测的效果和可靠性。

3.2.3　链置换扩增

链置换扩增(strand displacement amplification, SDA)是另一种聚合酶、内切酶双酶辅助的等温扩增技术。包含靶标互补序列、切刻位点以及信号输出模块(如鸟嘌呤四链体互补序列)的引物通过聚合反应指数级扩增, 产物经切刻内切酶处理进一步放大了检测信号。Shen 等[44]结合错配连接体系与SDA反应建立了一种针对PIK3CA基因突变的高特异性可视化检测方法, 其中鸟嘌呤四链体 DNAzyme 充当比色信号的输出模块。该方法能够检测到 0.2%的 PIK3CA 基因突变, 可用于分析人血清样品中的低丰度突变基因。

3.3　生物传感器

近年来, 研究者们提出诸多偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的生物传感策略, 这些生物传感器具有检测时间短等优势, 其灵敏度也能够满足常规需求, 适用于即时检测(point-of-care testing, POCT)场合对微生物或生物小分子的检测需要。

3.3.1　“开-关”策略

“开-关”策略是偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 生物传感器的一种常用方法, 通过设计分子信标、结合杂交链式反应(hybridization chain reaction, HCR)等手段使鸟嘌呤四链体 DNAzyme 成为信号输出模块。Guo 等[45]建立了一种检测 HIV 病毒核酸的无标记荧光生物传感器, 设计一个含有富 G 序列的 DNA 茎环结构分子信标, 默认情况下茎部呈闭合形态, 无法形成鸟嘌呤四链体结构; 而当目标核酸存在时, 靶标与环部序列互补形成双链, 打开了茎环结构, 使分子信标由“关”变为“开”, 促使大量鸟嘌呤四链体 DNAzyme 生成, 显著增强了染料 NMM(N-甲基卟啉二丙酸(IX, N-Methyl Mesoporphyrin IX)的荧光。整个反应完成时间不足 30 min, 检出限为 1.4 nmol/L, 且不需要对 DNA 序列进行化学修饰, 非常简便、高效。

3.3.2　“分段-完整”策略

“分段-完整”策略是将鸟嘌呤四链体 DNAzyme 用于生物传感的崭新方法。2 条分段探针一般由靶标识别序列与富 G 序列(一条完整鸟嘌呤四链体序列的一半)组成, 其中靶标识别序列可以是与待测目标结合的核酸适配体(aptamer)的互补序列。当 2 条分段探针都与靶标紧密结合时, 作为“桥梁”的靶标使 2 段富 G 序列靠近, 形成鸟嘌呤四链体结构, 从而引发后续反应。Seok 等[46]提出了一种基于上述方法的黄曲霉毒素 B_1(aflaloxinB_1, AFB1)可视化检测方法。在没有 AFB_1 的情况下, 完整的探针具有鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的类过氧化物酶活性, 可以催化反应液显色。AFB_1 能够吸引它的适配体, 导致 2 条分段探针分离, 适配体-DNAzyme 复合物的结构被破坏, 类过氧化物酶催化活性降低。因此, 在 AFB_1 存在时, 比色信号以浓度依赖的方式下降, 其检测限为 0.1 ng/mL。这种方法成为开发简便、快速和低成本的微生物或生物小分子检测方法的基础。

4　结论与展望

核酸检测是生物与食品安全检测中的主要方法, 鸟嘌呤四链体 DNAzyme 具有类过氧化物酶的催化活性, 有助于开发可视化、灵敏的核酸检测方法, 受到了国内外学者的高度关注。目前已经报道了偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的核酸扩增方法与生物传感器方法用于检测食源性致病菌、病毒、miRNA 以及人体基因等多种生物靶标, 在分子生物学与食品安全领域显示出巨大的应用潜力。然而, 这类方法仍面临一些挑战, 如复杂的样品环境与核酸检测反应体系对鸟嘌呤四链体 DNAzyme 空间结构与酶学活性的影响等。此外近年来提出的多聚化 DNAzyme 以及新型核酸检测方法也可能为鸟嘌呤四链体 DNAzyme 在核酸检测中的应用带来新的可能性。对上述问题的进一步研究将大大促进偶联鸟嘌呤四链体 DNAzyme 的核酸检测方法的发展及其在生物与食品安全领域中的应用。

参考文献

[1] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.
Wang JY, Zhu SG, Xu CF. Biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 2007.

[2] Breaker RR, Joyce GF. A DNA enzyme that cleaves RNA [J]. Cell Chem Biol, 1994, 1(4): 223.

[3] Hwang K, Hosseinzadeh P, Lu Y. Biochemical and biophysical understanding of metal ion selectivity of DNAzymes [J]. Inorg Chim Acta, 2016, 452: 12–24.

[4] Li Y, Sen D. A catalytic DNA for porphyrin metallation [J]. Nat Struct Mol Biol, 1996, 3(9): 743–747.

[5] Lester CHP, Stephen MP, William MP, *et al*. Guanine-rich RNAs and DNAs that bind heme robustly catalyze oxygen transfer reactions [J]. J Am Chem Soc, 2011, 133(6): 1877–1884.

[6] Travascio P, Li Y, Sen D. DNA-enhanced peroxidase activity of a DNA-aptamer-hemin complex [J]. Chem Biol, 1998, 5(9): 505–517.

[7] Pelossof G, Tel-Vered R, Willner I. Amplified surface plasmonresonance and electrochemical setection of Pb^{2+}ions using the Pb^{2+}-dependent DNAzyme and Hemin/G-quadruplex as a label [J]. Anal Chem, 2012, 84(8): 3703–3709.

[8] Zhang DW, Nie J, Zhang FT, *et al*. Novel homogeneous label-free electrochemical aptasensor based on functional DNA hairpin for target detection [J]. Anal Chem, 2013, 85(19): 9378–9382.

[9] Yong H, Jia C, Shulin Z, *et al*. Label-free colorimetric aptasensor based on nicking enzyme assisted signal amplification and DNAzyme amplification for highly sensitive detection of protein [J]. Anal Chem, 2013, 85(9): 4423–4430.

[10] Zhu L, Xu Y, Nan C, *et al*. A facile cascade signal amplification strategy using DNAzyme loop-mediated isothermal amplification for the

ultrasensitive colorimetric detection of *Salmonella* [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2016, 242: 880–888.

[11] Loic S, Franck D, David M. Insights into how nucleotide supplements enhance the peroxidase-mimicking DNAzyme activity of the G-quadruplex/hemin system [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(17): 8759–8772.

[12] Cheng X, Liu X, Bing T, *et al*. General peroxidase activity of G-quadruplex-hemin complexes and its application in ligand screening [J]. Biochem, 2009, 48(33): 7817–7823.

[13] Bhadra S, Codrea V, Ellington AD. G-quadruplex-generating polymerase chain reaction for visual colorimetric detection of amplicons [J]. Anal Biochem, 2014, 445(1): 38–40.

[14] Roembke BT, Nakayama S, Sintim HO. Nucleic acid detection using G-quadruplex amplification methodologies [J]. Method, 2013, 64(3): 185–198.

[15] Xiong E, Yan X, Zhang X, *et al*. Exonuclease III–assisted cascade signal amplification strategy for label-free and ultrasensitive electrochemical detection of nucleic acids [J]. Biosens Bioelectron, 2017, 87: 732–736.

[16] Keniry MA. Quadruplex structures in nucleic acids [J]. Biopolymers, 2010, 56(3): 123–146.

[17] Julian LH. Four-stranded nucleic acids: structure, function and targeting of G-quadruplexes [J]. Chem Soc Rev, 2008, 39(40): 1375–1384.

[18] Shizuka N, Sintim HO. Biomolecule detection with peroxidase-mimicking DNAzymes; expanding detection modality with fluorogenic compounds [J]. Mol Biosyst, 2009, 6(1): 95–97.

[19] Sarah B, Parkinson GN, Pascale H, *et al*. Quadruplex DNA: sequence, topology and structure [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(19): 5402–5415.

[20] Andreas IK, Mateus WDS. Structural probes in quadruplex nucleic acid structure determination by NMR [J]. Molecules, 2012, 17(11): 13073–13086.

[21] Mateus WDS. Geometric formalism for DNA quadruplex folding [J]. Biochem, 2010, 13(35): 9738–9745.

[22] Mathieu M, Samir A, Simon L, *et al*. G-quadruplexes in viruses: function and potential therapeutic applications [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(20): 12352–12366.

[23] Zhao Y, Chen F, Li Q, *et al*. Isothermal amplification of nucleic acids [J]. Chem Rev, 2015, 115(22): 12491–12545.

[24] Wei C, Jia G, Yuan J, *et al*. A spectroscopic study on the interactions of porphyrin with G-quadruplex DNAs [J]. Biochem, 2006, 45(21): 6681–6691.

[25] Karsisiotis AI, Hessari NM, Novellino E, *et al*. Topological characterization of nucleic acid G-quadruplexes by UV absorption and circular dichroism [J]. Angew Chem Int Edit, 2011, 123(45): 10833–10836.

[26] Jaroslav K, Kejnovská I, Renčiuk D, *et al*. Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(6): 1713–1725.

[27] Sarah B, Parkinson GN, Pascale H, *et al*. Quadruplex DNA: sequence, topology and structure [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(19): 5402–5415.

[28] Kong DM, Yang W, Wu J, *et al*. Structure-function study of peroxidase-like G-quadruplex-hemin complexes [J]. Analyst, 2010, 135(2): 321–326.

[29] Cheng M, Cheng Y, Hao J, *et al*. Loop permutation affects the topology and stability of G-quadruplexes [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(18): 9264–9275.

[30] Adeoye RI, Osalaye DS, Ralebitso TK, *et al*. Catalytic activities of multimeric G-quadruplex DNAzymes [J]. Catalysts, 2019, 9(7): 13.

[31] Nicolas S, Frédéric R, Wei H, *et al*. G-quadruplex DNA assemblies: loop length, cation identity, and multimer formation [J]. J Am Chem Soc, 2008, 130(31): 10208–10216.

[32] Anthony B, Shankar B. A sequence-independent study of the influence of short loop lengths on the stability and topology of intramolecular DNA G-quadruplexes [J]. Biochem, 2008, 47(2): 689–697.

[33] Darius AK, Ling NJ, Mahesh U. Visual detection of DNA from *Salmonella* and *Mycobacterium* using split DNAzymes [J]. Mol Biosyst, 2010, 6(5): 792–794.

[34] Peng H, Newbigging AM, Wang Z, *et al*. DNAzyme-mediated assays for amplified detection of nucleic acids and proteins [J]. Anal Chem, 2018, 90(1): 190–207.

[35] Liu ZM, Yao CH, Wang YM, *et al*. Visual diagnostic of *Helicobacter pylori* based on a cascade amplification of PCR and G-quadruplex DNAzyme as a color label [J]. J Microbiol Meth, 2018, 146: 46–50.

[36] Mondal BNB, Ramlal S, Kingston J, *et al*. Colorimetric DNAzyme biosensor for convenience detection of enterotoxin B harboring *Staphylococcus aureus* from food samples [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(6): 1516–1522.

[37] Liu ZM, Yao CH, Wang YM, *et al*. A G-quadruplex DNAzyme-based LAMP biosensing platform for a novel colorimetric detection of *Listeria monocytogenes* [J]. Anal Method, 2018, 10(8): 848–854.

[38] Xu JG, Hu YM, Guo J, *et al*. A loop-mediated isothermal amplification integrated G-quadruplex molecular beacon (LAMP-GMB) method for the detection of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Food Anal Method, 2019, 12(2): 422–430.

[39] Yang ZZ, Wen ZB, Peng X, *et al*. A novel fluorescent assay for the ultrasensitive detection of miRNA-21 with the use of G-quadruplex structures as an immobilization material for a signal indicator [J]. Chem Commun, 2019, 55(45): 6453–6456.

[40] Liu ZM, Wang YM, Li LP, *et al*. Amplified visual detection of microRNA-378 through a T4 DNA ligase-mediated circular template specific to target and target-triggering rolling circle amplification [J]. Anal Method, 2019, 11(15): 2082–2088.

[41] Mittal S, Thakur S, Mantha AK, *et al*. Bio-analytical applications of nicking endonucleases assisted signal-amplification strategies for detection of cancer biomarkers-DNA methyl transferase and microRNA [J]. Biosens Bioelectron, 2019, 124: 233–243.

[42] Luo N, Xia Q, Zhang L, *et al*. One-step discrimination of BCR/ABL(p210) transcript isoforms directly from RNA extraction with fusion-triggered rolling circle amplification [J]. Anal Chim Acta, 2019, 1067: 129–136.

[43] Mao XX, Pan SB, Zhou DQ, *et al*. Fabrication of DNAzyme-functionalized hydrogel and its application for visible detection of circulating tumor DNA [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2019, 285: 385–390.

[44] Shen CL, Shen B, Mo F, *et al*. High-sensitive colorimetric biosensing of PIK3CA gene mutation based on mismatched ligation-triggered cascade strand displacement amplification [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2018, 273: 377–383.

[45] Guo Y, Xu P, Hu H, *et al*. A label-free biosensor for DNA detection based on ligand-responsive G-quadruplex formation [J]. Talanta, 2013, 114: 138–142.

[46] Seok Y, Byun JY, Shim WB, *et al*. A structure-switchable aptasensor for aflatoxin B1 detection based on assembly of an aptamer/split DNAzyme [J]. Anal Chim Acta, 2015, 886: 182–187.

[47] Nimitphak T, Kiatpathomchai W, Flegel TW. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(12): 63.

[48] Notomi T, Mori Y, Tomita N, *et al*. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): Principle, features, and future prospects [J]. J Microbiol, 2015, 53(1): 1–5.

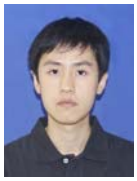
[49] Liu W, Huang S, Liu N, *et al*. Establishment of an accurate and fast detection method using molecular beacons in loop-mediated isothermal amplification assay [J]. Sci Rep, 2017, 7: 401–405.

[50] Cheng Y, Xian Z, Li Z, *et al*. Highly sensitive determination of microRNA using target-primed and branched rolling-circle amplification [J]. Angew Chem Int Edit, 2010, 48(18): 3268–3272.

[51] Zhao W, Ali MM, Brook MA, *et al*. Rolling circle amplification: applications in nanotechnology and biodetection with functional nucleic acids [J]. Angew Chem Int Edit, 2008, 47(34): 6330–6337.

(责任编辑：于梦娇)

作者简介



吴显庸，硕士研究生，主要研究方向为食品与生物安全快速检测与分析技术。
E-mail: xfkynr98@shu.edu.cn

刘战民，博士(后)，教授，主要研究方向为食品与生物安全快速检测与分析技术。
E-mail: zhmliu@shu.edu.cn

“粮油质量安全检测与分析”专题征稿函

民以食为天，食以安为先。食品安全的源头在农业，粮油产品是基础。我国作为粮食生产大国和人口大国，粮油质量安全受到政府、产业和消费者的高度关注。与此同时，随着乡村振兴战略和农业高质量发展，发掘不同产地、不同品种粮油产品特异品质，促进优质粮油产品开发，是推动粮油产业高质量发展、满足人民日益增长的消费需要的重要举措。

鉴于此，本刊特别策划了“**粮油质量安全检测与分析**”专题，由**中国农业科学院油料作物研究所张良晓副研究员**担任专题主编，主要围绕**粮油质量安全检测技术研究、粮油产品特异品质挖掘与评价、粮油产品质量安全风险评估、真实性与产地溯源、检测方法的标准化和分析质量控制技术以及粮油质量安全管理技术**等方面展开论述和研究，本专题计划在2020年4月出版。

鉴于您在该领域的成就，本刊编辑部及专题主编**张良晓副研究员**特别邀请您为本专题撰写稿件，以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述及研究论文均可，请在2020年1月20日前通过网站或E-mail投稿。我们将快速处理并优先发表。

同时，希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和E-mail。

谢谢您的参与和支持！

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com(注明专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部